

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

DANIELLI ANDREA NARDINO

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DO *ZINGIBER OFFICINALE* (GENGIBRE) PARA
INCORPORAÇÃO EM LIPOSSOMAS E ESTUDO DO POTENCIAL EM
APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

APUCARANA

2021

DANIELLI ANDREA NARDINO

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO
ZINGIBER OFFICINALE (GENGIBRE) PARA INCORPORAÇÃO EM
LIPOSSOMAS E ESTUDO DO POTENCIAL EM APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS**

**OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF BIOACTIVE
COMPOUNDS FROM *ZINGIBER OFFICINALE* (GINGER) FOR INCORPORATION
IN LIPOSOMES AND STUDY OF THE POTENTIAL IN PHARMACEUTICAL
APPLICATIONS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de Concentração: Desenvolvimento de Processos

Orientadora: Profa. Dra. Rúbia Michele Suzuki

Coorientadora: Profa. Dra. Caroline Casagrande Sipoli.

APUCARANA

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



DANIELLI ANDREA NARDINO

OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO ZINGIBER OFFICINALE (GENGIBRE) PARA INCORPORAÇÃO EM LIPOSSOMAS E ESTUDO DO POTENCIAL EM APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Desenvolvimento De Processos.

Data de aprovação: 26 de Maio de 2021

Prof.a Rubia Michele Suzuki, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Andre Luiz Tessaro, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Caroline Casagrande Sipoli, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Lilian Tatiani Dusman Tonin, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 26/05/2021.

Aos meus pais,
Itacir (in memoriam) e Wilma,
e aos meus irmãos, Júnior e Débora
Pelo apoio, amor e incentivo

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força para superar as dificuldades, mostrar o caminho nas horas incertas e suprir minhas necessidades.

À minha família, que me apoiaram e incentivaram a seguir, por toda educação e todos ensinamentos, valores e compreensão durante toda essa caminhada.

Ao grupo de professores do programa PPGEQ – Apucarana, por todo conhecimento que me foi passado, principalmente a professora Lilian Tatiani Dusman Camargo e ao professor Rafael Oliveira Defendi, por todo apoio no laboratório e pela parceria no desenvolvimento e escrita dos artigos.

Um agradecimento especial à minhas orientadoras, professora Dra. Rúbia Michele Suzuki e a professora Dra. Caroline Casagrande Sipoli, pela oportunidade, paciência, compreensão e ensinamentos durante todo esse tempo de convívio. Agradeço ainda, pela competência e dedicação incessante em cada etapa deste trabalho.

Ao professor Edson dos Anjos dos Santos, da UFMS, pela colaboração e disponibilidade para realização das análises de inibição da enzima AChE.

A professora Elisângela Dusman, da UTFPR – Francisco Beltrão, pela colaboração e disponibilidade para realização das análises biológicas do gengibre.

Ao Laboratório Multiusuário do Câmpus Apucarana (LAMAP), pela disposição dos equipamentos para as devidas análises realizadas.

Aos amigos que fizeram parte desses momentos, sempre ajudando e incentivando. E aos novos amigos que fiz nessa fase da minha vinha vida, Ana Caroline, Ana Isabela, Bruno, Mariane, Sirlei e Virgínia, sem vocês a caminhada seria muito mais difícil.

Aos professores da banca, pela participação e colaboração e a todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta, para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

Ao apoio financeiro da UTFPR – Apucarana (UTFPR/Recursos Próprios 2019, processo SEI: 23064.017754/2019-78).

Muito obrigada a todos.

“Devemos acreditar que somos talentosos para algumas coisas, e que essas coisas, a qualquer custo, devem ser alcançadas. ”

Marie Curie

RESUMO

O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) é uma planta que vem ganhando destaque pela comunidade científica por apresentar diversas propriedades farmacológicas decorrentes da presença de compostos bioativos, como ação antibiótica, anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante e também ação antitumoral. Apesar das potencialidades dos compostos bioativos, estes por sua vez são susceptíveis à agentes externos, assim, a encapsulação surge como alternativa para a proteção destes compostos contra o estresse ambiental e a degradação química, além de aumentar a estabilidade e a biodisponibilidade durante um certo período. Dentre os sistemas de nanocarregadores, os lipossomas têm maior relevância devido à sua estrutura, composta por fosfolipídios que possuem uma região polar e outra apolar, as quais, quando em meio aquoso, se auto organizam formando vesículas que possibilitam a encapsulação de compostos hidrofóbicos e, principalmente, não apresentam toxicidade para o organismo. Tendo em vista o potencial farmacológico do extrato de gengibre, o presente trabalho teve como objetivo a otimização da extração dos compostos bioativos e a avaliação da extração através dos ensaios DPPH, ABTS e habilidade quelante de ferro (II), com o melhor extrato (preparado a 60°C por 12 h) determinou-se os parâmetros cinéticos para as reações do DPPH e ABTS, em que as ordens de reação foram de 4 e 5, respectivamente, com a energia de ativação variando entre 38,6 e 43,0 kJ mol⁻¹. A caracterização do melhor extrato foi realizada através dos testes de TGA/DTA, DSC e espectrometria de massas, a avaliação do potencial biológico pela ação antitumoral e inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) e a produção dos lipossomas feita com lecitina de soja pelo método de injeção de etanol, com diferentes proporções do extrato. A avaliação físico-química dos lipossomas se deu a partir de diâmetro hidrodinâmico, Potencial zeta e eficiência de encapsulação. Pelas análises térmicas, observou-se que o gengibre possui baixa resistência, com degradação a partir de aproximadamente 40 °C. Em relação aos testes com a enzima AChE, o extrato não apresentou resposta em termos de ação inibitória, entretanto, se mostrou atóxica, característica que permite aplicação para tratamento em células. Apresentou efeito antitumoral a partir da administração de 200 µg mL⁻¹ de extrato livre. Os resultados das análises de tamanho de partícula mostraram que os lipossomas produzidos possuem baixos valores de polidispersidade, com diâmetro hidrodinâmico de na faixa de 139,50 até 168,15 nm de 10 até 30% do extrato encapsulado, respectivamente, e o potencial zeta variou de -29,9 a -36,0 mV, esses resultados possibilitam a aplicação farmacêutica e/ou alimentícia dos lipossomas. Pelo teste de eficiência de encapsulação, não se observou diferença significativa entre os lipossomas produzidos com 20 e 30% do extrato de gengibre.

Palavras-chaves: Antioxidante, aplicação farmacêutica, sistemas nanoparticulados, lecitina de soja, acetilcolinesterase e antitumoral.

ABSTRACT

Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) is a plant that has gained prominence by the scientific community for presenting several pharmacological properties resulting from the presence of bioactive compounds, such as antibiotic, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant and also antitumor action. Despite the potential of bioactive compounds, these in turn are susceptible to external agents, thus, encapsulation appears as an alternative to protect these compounds against environmental stress and chemical degradation, in addition to increasing stability and bioavailability for a certain period. . Among the nanocarrier systems, liposomes have greater relevance due to their structure, consisting of phospholipids that have a polar and a nonpolar region, which, when in an aqueous medium, self-organize forming vesicles that enable the encapsulation of hydrophobic compounds and, mainly, they do not present toxicity to the organism. In view of the pharmacological potential of ginger extract, this work aimed to optimize the extraction of bioactive compounds and the evaluation of the extraction through the DPPH, ABTS and iron (II) chelating ability tests, with the best extract (prepared at 60°C for 12 h) the kinetic parameters for the DPPH and ABTS reactions were determined, in which the reaction orders were 4 and 5, respectively, with the activation energy varying between 38.6 and 43.0 kJ mol⁻¹. The characterization of the best extract was performed using TGA/DTA, DSC and mass spectrometry tests, the evaluation of the biological potential by the antitumor action and inhibition of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) and the production of liposomes made with soy lecithin by the method of ethanol injection, with different proportions of the extract. The physicochemical evaluation of liposomes was based on hydrodynamic diameter, zeta potential and encapsulation efficiency. By thermal analysis, it was observed that ginger has low resistance, with degradation from approximately 40 °C. Regarding the tests with the AChE enzyme, the extract did not show a response in terms of inhibitory action, however, it was shown to be non-toxic, a characteristic that allows application for treatment in cells. It showed an antitumor effect from the administration of 200 µg mL⁻¹ of free extract. The results of the particle size analysis showed that the liposomes produced have low polydispersity values, with a hydrodynamic diameter ranging from 139.50 to 168.15 nm from 10 to 30% of the encapsulated extract, respectively, and the zeta potential varied from -29.9 to -36.0 mV, these results enable the pharmaceutical and/or food application of liposomes. By the encapsulation efficiency test, no significant difference was observed between liposomes produced with 20 and 30% of ginger extract.

Keywords: Antioxidant, pharmaceutical application, nanoparticulate systems, soy lecithin, acetylcholinesterase and antitumor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Imagens do gengibre - a) Planta herbácea e seu rizoma b) Rizoma de gengibre.....	19
Figura 02 – Compostos voláteis do gengibre, (a) Zingibereno; (b) Curcumeno; (c) Farneseno; (d) Bisaboleno (e) Sesquifelandreno, (f) Cariofileno e (g) Zerumbona.....	20
Figura 03 – Compostos não voláteis do gengibre. a) 6, 8 ou 10 Gingerol, b) 6, 8 ou 10 Shogaol, c) Zingerona e d) Paradol.....	20
Figura 04 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo no Brasil.....	21
Figura 05 – Etapas das reações de auto oxidação: (1) Iniciação; (2) Propagação e (3) Terminação.....	25
Figura 06 – Estrutura química dos principais compostos fenólicos sintéticos. a) BHA, b) BHT, c) TBHQ e d) PG.....	26
Figura 07 – Estrutura química do fenol.....	27
Figura 08 – Fluxograma das classes de compostos fitoquímicos com propriedades antioxidantes.....	28
Figura 09 – Estrutura genérica dos flavonoides.....	29
Figura 10 – Estrutura genérica dos Ácidos Fenólicos.....	29
Figura 11 – Reação de redução do radical DPPH'	31
Figura 12 – Reação de oxidação do radical ABTS ⁺	32
Figura 13 – Reação do quelamento de ferro pela ferrozina.....	33
Figura 14 – Esquema hipotético do lipossoma. a) Vesícula unilamelar, b) Vesícula multilamelar e c) Estrutura fosfolipídio.....	36
Figura 15 – Esquema de encapsulação lipofílico e hidrofílica.....	36
Figura 16 – Estrutura molecular dos fosfolipídios vegetais e animal. a) fosfatidilcolinas b) fosfatidiletanolamina c) fosfatidilinositol aniônico d) esfingomielina.....	37
Figura 17 – Representação da produção de lipossoma pelo método injeção de etanol.....	39
Figura 18 – Espectro de massas genérico.....	40
Figura 19 – Gráfico representando o tempo de secagem.....	59
Figura 20 – Modelos propostos pelo planejamento fatorial 2 ² para os testes a) DPPH e b) ABTS.....	64

Figura 21 – Superfície de resposta para o teste DPPH em relação a temperatura (°C) e tempo (horas). a) Gráfico 3D e b) Gráfico de contorno.....	64
Figura 22 – Superfície de resposta para o teste ABTS em relação a temperatura (°C) e tempo (horas). a) Gráfico 3D e b) Gráfico de contorno.....	65
Figura 23 – Modelo proposto pelo planejamento fatorial 2 ² para o teste de habilidade quelante de ferro (II).....	66
Figura 24 – Superfície de resposta para o teste Habilidade Quelante de Ferro (II) em relação a temperatura (°C) e tempo (horas). a) Gráfico 3D e b) Gráfico de contorno.....	66
Figura 25 – Gráfico da análise PCA para as variáveis aplicadas. a) Projeção das variáveis no plano fatorial e b) Projeção dos resultados no plano fatorial.....	67
Figura 26 - Consumo do radical livre DPPH ao longo do tempo variando a temperatura do meio reacional e a ordem de reação para o extrato 6.....	70
Figura 27 - Consumo do radical livre ABTS ^{•+} ao longo do tempo variando a temperatura do meio reacional e a ordem de reação para o extrato 6.....	71
Figura 28 - Ajustes para k ₀ e E para a cinética de consumo do radical livre. a) DPPH; b) ABTS ^{•+}	72
Figura 29 – Curvas a) TG (linha cheia), DTA (linha tracejada) e b) DSC.....	74
Figura 30 - Espectro de massas do extrato de gengibre.....	76
Figura 31 - Inibição da atividade da AChE pelo extrato de gengibre.....	79
Figura 32 - Absorbância média e desvio-padrão de células tumorais de fígado de rato (HTC) tratadas por 24, 48 e 72 horas com as concentrações (µg mL ⁻¹) do extrato.....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Variáveis codificadas do planejamento fatorial 2^2	49
Tabela 02 - Resultados das porcentagens de atividade antioxidante (%AA) pelos diferentes métodos aplicados a cada extrato.....	61
Tabela 03 - Valores de k e α para cinética dos radicais DPPH e ABTS ^{•+} variando a temperatura do meio reacional.....	68
Tabela 04 - Ajustes de α , k_0 , E , χ^2 , MSE, RMSE, NRMSE e EF para a cinética de consumo dos radicais livres DPPH e ABTS.....	71
Tabela 05 - Relação de compostos do extrato etanólico do gengibre identificados pelo espectro de massas com suas respectivas m/z e estruturas.....	77
Tabela 06 - Percentual de viabilidade de células (VC) tumorais de fígado de rato (HTC), tratadas com as diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do extrato de gengibre, por 24, 48 e 72 horas, pelo teste do MTT.....	81
Tabela 07 - Diâmetro hidrodinâmico, polidispersidade, potencial zeta e eficiência de encapsulação dos lipossomas.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
AChE	Acetilcolinesterase
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
D _h	Diâmetro hidrodinâmico
DLS	Dynamic Light Scattering
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DTA	Differential Thermal Analysis
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
EE%	Eficiência de encapsulação
HQ	Habilidade quelante
MS	Espectrometria de massas
TBHQ	Terc-butil-hidroquinona
PCA	Principal Component Analysis
PG	Propil galato
TG	Termogravimetria

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1	PRODUTOS NATURAIS E SEUS COMPOSTOS BIOATIVOS	16
2.2	EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	17
2.3	GENGIBRE	18
2.3.1	Compostos Bioativos do Gengibre	19
2.4	APLICAÇÃO DO EXTRATO DE GENGIBRE NA ÁREA FARMACÊUTICA	21
2.4.1	Ação Citotóxica do gengibre	21
2.4.2	Acetilcolinesterase (AChE)	22
2.5	ESPÉCIES REATIVAS E ANTIOXIDANTES.....	23
2.5.1	Atividade Antioxidante.....	25
2.5.2	Classe de Antioxidantes.....	26
2.5.3	Determinação da Atividade Antioxidante	30
2.6	ENCAPSULAÇÃO EM SISTEMAS NANOPARTICULADOS	33
2.6.1	Lipossomas	35
2.6.2	Produção de Lipossomas Pelo Método de Injeção de Etanol	38
2.6.3	Utilização de Lipossomas para Incorporação de Compostos Bioativos	40
2.7	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	42
2.7.1	Análise Térmica.....	42
2.7.1.1.	Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial - (TG-DTA)	42
2.7.1.2.	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	43
2.7.2	Espectrometria de Massas.....	44
2.7.3	Diâmetro Hidrodinâmico e Polidispersidade.....	44
2.7.4	Potencial Zeta (ζ)	45
2.7.5	Eficiência de Encapsulação (EE%).....	46
3	OBJETIVOS	47
4	MATERIAIS E METODOS	48
4.1	REAGENTES E SOLVENTES	48
4.2	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	48
4.2.1	Amostragem.....	48
4.2.2	Umidade	48
4.3	EXTRATOS	49

4.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	50
4.4.1	Avaliação da Capacidade Antioxidante – Método DPPH.....	50
4.4.2	Avaliação da Capacidade Antioxidante – Método ABTS	50
4.4.3	Avaliação da Capacidade Antioxidante – Habilidade Quelante de Ferro (II).....	51
4.4.4	Avaliação da Cinética de Reação dos Métodos DPPH e ABTS.....	52
4.5	AVALIAÇÃO TÉRMICA DO EXTRATO DE GENGIBRE.....	53
4.5.1	Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA).....	53
4.5.2	Análise Calorimétrica Exploratória Diferencial (DSC).....	53
4.6	ESPECTROSCOPIA DE MASSAS.....	53
4.7	ANÁLISE BIOLÓGICA	54
4.7.1	Atividade Enzimática da AChE.....	54
4.7.1.1.	Dissecação das Estruturas Encefálicas.....	54
4.7.1.2.	Quantificação da Atividade Enzimática da AChE.....	54
4.7.1.3.	Aspectos Éticos	55
4.7.2	Atividade Citotóxica.....	55
4.8	PRODUÇÃO DE LIPOSSOMAS	56
4.8.1	Dispersão dinâmica de luz (DLS) e potencial Zeta	56
4.8.2	Eficiência de Encapsulação	57
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	59
5.1	UMIDADE	59
5.2	SECAGEM	59
5.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	61
5.3.1	Análise da Superfície de Resposta e Avaliação do Componente Principal.....	63
5.3.2	Avaliação da Cinética de Reação dos Métodos DPPH e ABTS.....	68
5.3.3	ANÁLISES TÉRMICAS - TG-DTA-DSC	72
5.4	ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MS)	75
5.5	ENSAIOS BIOLÓGICOS	79
5.5.1	Inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE).....	79
5.5.2	Citotoxicidade.....	80
5.6	CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS	83
6	CONCLUSÃO.....	85
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	86
	REFERÊNCIAS	87

1 INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais de origem vegetal para obtenção de extratos é uma prática de grande interesse industrial e realizada desde a antiguidade pela população, com o intuito de curar, prevenir e tratar doenças (RAMÍREZ-GODÍNEZ *et al.*, 2017; ZAID *et al.*, 2017). O conhecimento sobre medicina tradicional desses povos, torna-se de grande importância quando se trata do desenvolvimento de produtos naturais com fins terapêuticos (WEN *et al.*, 2017).

Entre as diversas plantas utilizadas em terapias alternativas, o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) se destaca por apresentar diversas atividades farmacológicas, como a ação anti-inflamatória, antimicrobiana, bactericida e antioxidante (MAHOMOODALLY *et al.*, 2019; NILE; PARK, 2015). A atividade biológica do gengibre se dá, devido aos compostos bioativos presentes, como terpenos e compostos fenólicos, principalmente gingeróis, shogaols e paradóis (CAMARGO *et al.*, 2019; PRASAD; TYAGI, 2015).

Esses compostos bioativos são substâncias que apresentam benefícios nutricionais e são formados por metabólitos secundários, os quais podem apresentar propriedades antioxidantes, citotóxicas, antivirais, analgésicas, sedativas, antibacterianas entre outras (KUDANGA; NEMADZIVA; ROES-HILL, 2017). Entretanto, a produção desses metabólitos pode sofrer influência de fatores ambientais, como grau de maturação, temperatura, radiações, disponibilidade hídrica, composição do solo e localização geográfica (CUTLER; CUTLER, 2000; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Estudos epidemiológicos têm associado o consumo regular de vegetais e frutas com a redução de certas doenças, entre elas, tipos diferentes de câncer, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas, devido à presença de compostos bioativos em suas estruturas (HASHEMZAEI *et al.*, 2017; LANZETTI *et al.*, 2012; LIU, 2004; SARKAR *et al.*, 2017). Há indícios de que os responsáveis pela ação protetora são os compostos fitoquímicos, que agem de forma a reduzir o estresse oxidativo no organismo, assim, a comunidade científica tem aumentado seu interesse na caracterização destes compostos, entre eles, os compostos fenólicos (RIBEIRO *et al.*, 2019).

Os compostos bioativos podem ter origem vegetal ou animal, com isso, a técnica de extração deve ser aplicada conforme a matriz a ser estudada (CUNHA *et al.*, 2016). Dentre as técnicas existentes para a extração de tais compostos, a extração com solvente orgânico tem sido a mais empregada, principalmente quando o intuito é a obtenção de compostos fenólicos (FERREIRA, 2020).

Classificada como uma técnica simples e de fácil aplicação, a extração com solvente orgânico deve passar por um estudo prévio a fim de se obter as melhores condições de processo, uma vez que, a composição química, em consequência a polaridade dos compostos presentes em vegetais pode variar frente a diferentes fatores como por exemplo a condição de plantio, clima e altitude, sendo que essas condições podem influenciar de maneiras diferentes uma mesma espécie de vegetal (DAI; MUMPER, 2010; MAKANJUOLA, 2017; NAWAZ; SHAD; RAUF, 2018).

Apesar das potencialidades dos compostos bioativos, sabe-se que estes são extremamente instáveis a temperaturas elevadas, assim como na presença de luz e de oxigênio. Considerando a susceptibilidade desses compostos frente à agentes externos, a encapsulação ganha o interesse dos pesquisadores, pois é uma técnica que permite prolongar o tempo de vida útil protegendo contra a ação de agentes externos e liberar controladamente os compostos de interesse (DEVI *et al.*, 2017; HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010).

As nanopartículas podem ser produzidas a partir de materiais sintéticos como sílica, metais e também provenientes de fontes naturais como quitosana, zeína, alginato, genipina, lecitina de soja, *whey protein* (BAMRUNGSAP *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2019; VAUTHIER; BOUCHEMAL, 2009). Um outro sistema de liberação controlada são os lipossomas, que ganham destaque por apresentar vantagens como a biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, melhoram a ação do composto bioativo encapsulado e também permitem a formação de diversos diâmetros de nanopartículas, conforme a aplicação desejada (AKBARZADEH *et al.*, 2013; CAVALCANTI *et al.*, 2011; WILLIAM *et al.*, 2020).

Lipossomas são estruturas formadas por fosfolipídios que se estruturam em bicamadas formando vesículas, uni ou multilamelares. Esse arranjo possibilita a encapsulação de compostos ativos hidrofílicos ou hidrofóbicos para posterior aplicação em sistemas biológicos (JOHNSEN; MOOS, 2016; PATIL; JADHAV, 2014; WILLIAM *et al.*, 2020).

Considerando o que foi exposto, o presente trabalho tem como objetivo o estudo e a otimização da extração de compostos ANTIOXIDANTES presentes no gengibre, variando temperatura e tempo de extração utilizando como solvente etanol:água 70:30 (v/v) e a encapsulação em lipossomas para posterior realização de testes de atividade biológica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PRODUTOS NATURAIS E SEUS COMPOSTOS BIOATIVOS

O conhecimento popular sobre a utilização e eficácia de plantas medicinais contribuem de forma significativa para a pesquisa científica sobre as propriedades terapêuticas dos produtos naturais, pois apresentam efeitos medicinais que podem diminuir ou curar doenças por meio da composição química dos seus extratos, que, de forma eficaz e menos agressiva do que medicamentos convencionais, apresentam menor custo de processamento (CARDOSO; OLIVEIRA; CARDOSO, 2019; LI *et al.*, 2020).

Devido a vasta aplicabilidade de plantas na medicina, se faz importante a realização de pesquisas para identificar as substâncias bioativas ali presentes para correta introdução nos tratamentos terapêuticos visando melhores resultados (PEREIRA; CARDOSO, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2019; SHISHIR *et al.*, 2018).

Além de substâncias essenciais para a nutrição humana como os minerais e vitaminas, as plantas produzem metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários estão diretamente relacionados com o processo fisiológico e desenvolvimento, por exemplo os carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, que são sintetizadas por vias de glicose e ciclo de Krebs, ou seja, processos que geram energia (GÜRBUZ *et al.*, 2018; REZENDE *et al.*, 2016).

Já os metabólitos secundários são derivados dos metabólitos primários e apesar de ser dispensáveis nas funções básicas das plantas, é neste processo que são produzidos os compostos bioativos que possuem ação de defesa contra micro-organismos, ANTIOXIDANTES e também com ação antiviral (GÜRBUZ *et al.*, 2018; OLIVEIRA, 2018).

A síntese e concentração dos compostos bioativos provenientes dos metabólitos secundários é diversificada e pode variar conforme o tipo de célula, desenvolvimento e maturidade da planta, vegetal ou animal e além das práticas de cultivo e condições climáticas, e com isso podem apresentar propriedades medicinais diferentes caracterizando sua individualidade mesmo dentro de uma família, gênero e espécie (FERREIRA, 2020; LI, YANQUN *et al.*, 2020; REZENDE *et al.*, 2016).

2.2 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Matrizes vegetais possuem composição química e física complexa, afetando diretamente na extração de compostos bioativos, tornando-se a principal fonte de erros experimentais (PINELA *et al.*, 2016; RORIZ *et al.*, 2017). Assim, a extração é uma etapa essencial e por isso tem sido objeto de muitos estudos e, apesar de apresentar inúmeras condições de extração relatadas na literatura, ainda não existe um método padrão de extração (BUCIĆ-KOJIĆ *et al.*, 2011; CRAVOTTO *et al.*, 2018).

Juntamente com a otimização do processo de extração, envolvendo diferentes variáveis, buscam-se técnicas que apresentem baixo custo, baixo impacto ambiental e alta eficiência, como por exemplo extração por micro-ondas, extração por solvente, extração assistida por ultrassom, extração assistida por enzima, extração por fluido supercrítico e assim por diante (CHEN *et al.*, 2019; EKEZIE; SUN; CHENG, 2017; PINELA *et al.*, 2016; RORIZ *et al.*, 2017).

O método e as condições de extração podem afetar as propriedades físico-químicas, a qualidade e concentração dos compostos bioativos (CHEN *et al.*, 2019; PASRIJA; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2015; SIVASOTHY *et al.*, 2011).

Apesar do grande número de pesquisas que aplicam técnicas com maior desenvolvimento tecnológico de extração, técnicas convencionais ainda são abordadas pois além de apresentarem baixo custo, possibilitam a mistura de solventes, garantindo uma melhor obtenção de tais compostos (MUNEKATA *et al.*, 2020; RAJAN *et al.*, 2020).

A extração com solventes orgânicos é usualmente utilizada para a extração dos compostos bioativos, sendo que o rendimento da extração e atividade antioxidante dos extratos dependem do tipo de solvente, devido às diferentes composições dos antioxidantes e, conseqüentemente, sua polaridade (ANDREO; JORGE, 2006; JULKUNEN-TIITTO, 1985; MARINOVA; YANISHLIEVA, 1997). Com isso, a escolha do solvente é determinante na extração, uma vez que é constatado que a polaridade do solvente afeta a eficiência da extração, principalmente dos compostos fenólicos presentes em matrizes alimentares (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010; MARUENDA *et al.*, 2013; SHUI; LEONG, 2006). Rogez *et al.* (2011), relatam que os compostos fenólicos estão dissolvidos nos vacúolos celulares das plantas e são facilmente extraídos por meio de solventes orgânicos.

Os solventes mais empregados para a extração dos compostos bioativos, principalmente os compostos fenólicos, em matrizes vegetais são água e etanol (BONFIGLI *et al.*, 2017; CALDAS *et al.*, 2018; SHUKLA; GOUD; DAS, 2019).

A mistura de solventes com diferentes polaridades resulta em uma extração mais eficaz quando comparada com o uso de um único solvente, devido a diferença da composição química dos compostos a serem extraídos (NAWAZ; SHAD; RAUF, 2018; TANWEER *et al.*, 2020).

Além do solvente, outros parâmetros podem influenciar na extração de compostos bioativos, incluindo o tempo de extração, temperatura, pH, a relação solvente-amostra, bem como a granulometria (CHENG *et al.*, 2012; KHODDAMI; WILKES; ROBERTS, 2013; MAKANJUOLA, 2017; NACZK; SHAHIDI, 2006).

O tempo de extração vai depender do método aplicado, pois curtos períodos podem apresentar baixo rendimento e em contrapartida, um maior tempo de processo pode elevar o custo (CHENG *et al.*, 2016; DOMINGUES *et al.*, 2014).

O aumento da temperatura melhora a solubilidade e facilita a difusão dos compostos bioativos, entretanto, elevadas temperaturas podem causar a sua degradação (KOU *et al.*, 2018). Um outro fator que pode influenciar a solubilidade é o pH, tendo em vista que compostos hidrofílicos ou lipofílicos apresentam solubilidade diferente em cada faixa de pH (RECHARLA *et al.*, 2017).

A quantidade de solvente usado deve ser suficiente para garantir a extração dos compostos bioativos, pois a proporção de solvente-amostra, influencia na concentração e capacidade de obtenção destes compostos, onde o aumento da relação solvente-amostra pode apresentar uma transferência de massa mais eficiente, desde que tenha uma boa agitação garantindo que todo o solvente entre em contato com a amostra (CALDAS *et al.*, 2018; JOVANOVIĆ *et al.*, 2017).

A granulometria do material está relacionada com a eficiência dos compostos obtidos, visto que partículas pequenas favorecem a extração pois possibilitam uma melhor interação da matéria prima com o solvente (JOVANOVIĆ *et al.*, 2017; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2017).

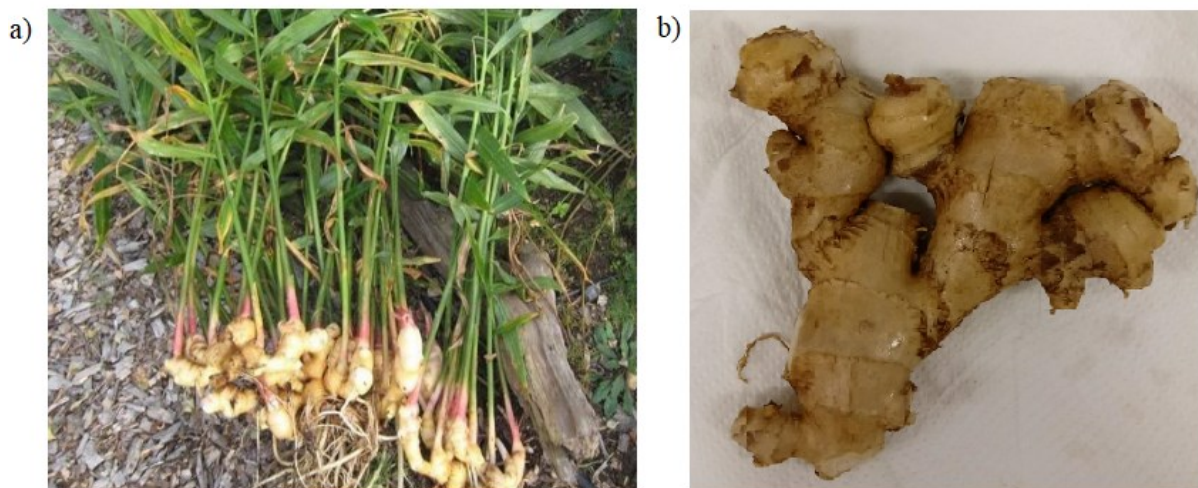
Sendo assim, torna-se indispensável a avaliação da extração de compostos bioativos em cada matriz, no qual estudos comparativos devem ser realizados, de forma individual, com o propósito de otimizar condições que resultem na extração de maior quantidade destes compostos (GONZÁLEZ-MONTELONGO; LOBO; GONZÁLEZ, 2010).

2.3 GENGIBRE

O gengibre (Figura 01), *Zingiber officinale* Roscoe, é uma planta herbácea que pertence à família Zingiberaceae, a qual é composta por cerca de 47 gêneros e 1400 espécies

sendo que 150 espécies pertencem ao gênero *Zingiber* (BLANCO, 2015). Tem origem Asiática e hoje em dia tem seu cultivo difundido pelo mundo, principalmente em regiões de clima tropical (HANIADKA *et al.*, 2013; SEMWAL *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2019).

Figura 01 – Imagens do gengibre - a) Planta herbácea e seu rizoma b) Rizoma de gengibre



Fonte: a) Souza *et al.* (2019) e b) Autora (2020)

O gengibre é uma planta perene de rizoma subterrânea ramificada que pode chegar a 16 cm de comprimento 4 cm de largura e 2 cm de espessura. Sua coloração pode variar de amarelo a castanha. Suas hastes chegam a 1,5 metros de altura, possui folhas lineares, alternadas e lisas de coloração verde. Quando florida, apresenta flores grandes com coloração variando de amarela a verde (BACHMANN, 2016; SOUZA *et al.*, 2019).

Considerada como uma especiaria de grande importância, principalmente no âmbito terapêutico e na medicina tradicional, é utilizado no tratamento de patologias como diabetes, náuseas, doenças gástricas, resfriados e até mesmo no controle da obesidade (HASSAN *et al.*, 2016; MISAWA *et al.*, 2015; SRINIVASAN, 2017).

Além de apresentar um elevado valor nutricional, o gengibre apresenta em sua composição fitoquímica flavonoides e polifenóis que lhe garantem ações ANTIOXIDANTES, anti-inflamatória, antidiabéticas e anticancerígenas (AKBARI *et al.*, 2017; WALLACE, 2016).

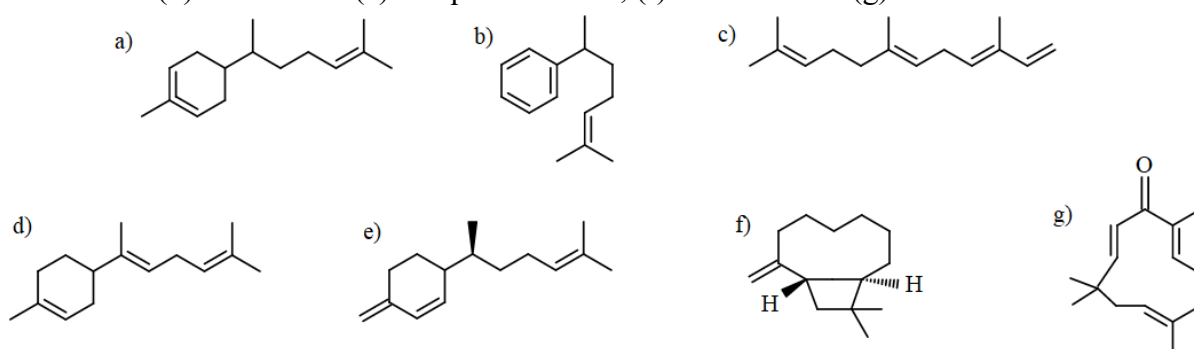
2.3.1 Compostos Bioativos do Gengibre

A composição química do gengibre pode variar de acordo com o local de origem, espécie e se analisados de forma fresca ou depois de seco (SHAHRAJABIAN; SUN; CHENG, 2019). Estudos anteriores sobre o gengibre, relatam a identificação de compostos bioativos, o

que justifica suas propriedades terapêuticas, nos quais os principais grupos fitoquímicos encontrados foram os compostos fenólicos, flavonoides, alcaloides, glicosídeos, saponinas, esteróis, terpenos e taninos (DHANIK; ARYA; NAND, 2017).

Os compostos bioativos presentes no gengibre, podem ser divididos entre compostos voláteis e não voláteis. Os compostos voláteis (Figura 02), ou óleos essenciais, contribuem para o seu aroma e geralmente são encontrados em maiores proporções os compostos zingibereno, curcumeno e farneseno, e em menores proporções os compostos bisaboleno, sesquifelandreno, cariofileno e zerumbona (AN *et al.*, 2016; CHAGONDA; CHALCHAT, 2016).

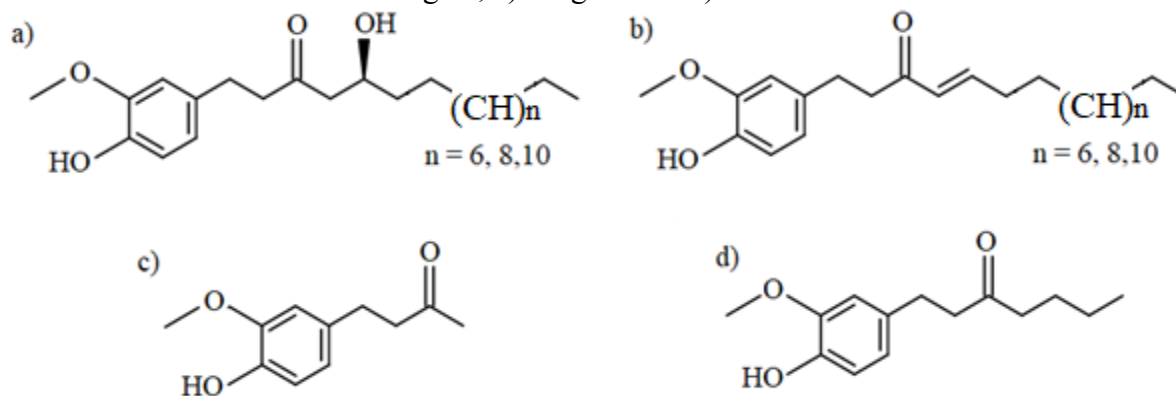
Figura 02 – Compostos voláteis do gengibre, (a) Zingibereno; (b) Curcumeno; (c) Farneseno; (d) Bisaboleno (e) Sesquifelandreno, (f) Cariofileno e (g) Zerumbona.



Fonte: Autora (2021)

Os compostos não voláteis (Figura 03) são os responsáveis pelas ações farmacológicas do gengibre, destes os que apresentam maior proporção são os gingeróis, shogaol, zingerona e paradol (LI *et al.*, 2019).

Figura 03 – Compostos não voláteis do gengibre. a) 6, 8 ou 10 Gingerol, b) 6, 8 ou 10 Shogaol, c) Zingerona e d) Paradol.



Fonte: Adaptado de Li *et al.* (2019)

Alguns destes compostos, por exemplo a zingerona, não são identificados no gengibre *in natura*, isso porque são produzidos a partir da aplicação de algum tratamento térmico

(secagem e cozimento) exercido sobre ele (AN *et al.*, 2016; PAN *et al.*, 2019; RAHMANI; SHABRMI; ALY, 2014).



2.4 APLICAÇÃO DO EXTRATO DE GENGIBRE NA ÁREA FARMACÊUTICA

2.4.1 Ação Citotóxica do gengibre

O câncer refere-se a um tipo de doença maligna, na qual observa-se o crescimento desordenado das células. Devido ao rápido desenvolvimento, estas células se tornam de difícil controle e apresentam como característica a agressividade, ocasionando a formação de tumores que podem se espalhar por todo o organismo (INCA, 2020).

Em dados divulgados pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA), a estimativa do desenvolvimento da doença, entre homens e mulheres, foi de 685.960 casos para o ano de 2020. A Figura 04, relaciona os 10 tipos de câncer com maior incidência no Brasil.

Figura 04 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo no Brasil.

Localização primária	Casos	%			Localização primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%	Homens  Mulheres 		Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e Reto	20.540	9,1%			Cólon e Reto	20.470	9,2%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.710	7,5%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.440	5,6%
Cavidade Oral	11.200	5,0%			Glândula Tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema Nervoso Central	5.230	2,3%

Fonte: INCA (2020)

Pesquisas relatam sobre a importância da prevenção e do tratamento precoce do câncer, deixando em destaque a ação benéfica dos compostos fitoquímicos para tal finalidade (DIMARCO-CROOK; XIAO, 2015; MARU *et al.*, 2016). Neste sentido, o gengibre, que já vem sendo usado na medicina tradicional, também tem sido explorado como um agente anticâncer, podendo ser uma alternativa para o tratamento de diferentes linhagens de câncer (SOUZA *et al.*, 2019). Isso porque, os compostos biologicamente ativos presentes no gengibre, especialmente o gingerol e o shogaol, demonstram efeitos preventivos, associados a atividades antioxidantes e anti-inflamatória (HAMZA *et al.*, 2021; PRASAD; TYAGI, 2015).

Kumara *et al.* (2017) observaram diferentes linhagens de câncer *in vitro*, durante 24 h, e notaram a redução de 13% na viabilidade celular de fibrosarcoma, 25% em células cancerígenas do cólon e 26% em macrófagos de ratos com leucemia, e confirmaram as ações quimiopreventivas e quimioterápicas do gengibre.

A ação do gengibre tem sido avaliada frente a diferentes linhas de células cancerígenas, como de pâncreas (AKIMOTO *et al.*, 2015), colorretal (EL-NAGGAR *et al.*, 2017; ELKADY; HUSSEIN; ABU-ZINADAH, 2014), mama (BAWADOOD *et al.*, 2020), ovário (PASHAEI-ASL *et al.*, 2017) e fígado (HAMZA *et al.*, 2021). Esses estudos mostram que o gengibre, além de prevenir o desenvolvimento de doenças, atua diretamente na célula cancerígena, causando o controle e até mesmo morte destas, sem causar danos às células saudáveis.

2.4.2 Acetilcolinesterase (AChE)

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima com função de regularizar o sistema neurotransmissor colinérgico, responsável pela hidrólise rápida do neurotransmissor acetilcolina e acetato durante o ciclo colinérgico, regulando a concentração do neurotransmissor na sinapse e permitindo que o ciclo seja finalizado. Quando a ação da AChE não apresenta atividade normal, tende a desenvolver doenças neurodegenerativas como o Alzheimer e Parkinson (COLOVIĆ *et al.*, 2013; SOREQ; SEIDMAN, 2001).

Algumas drogas são conhecidas por interferir na desativação dos neurotransmissores após sua liberação, prolongando sua ação, ou seja, elas agem de forma a impedir que as enzimas (AChE) degradem esses neurotransmissores (MASONDO *et al.*, 2019). Quando utilizados inibidores irreversíveis, como os organofosfatos, podem causar paralisia muscular, convulsões, constrição do brônquio respiratório, e em estados mais graves, levando a morte por asfixia (HILMAS *et al.*, 2009). Por isso buscam-se novas fontes que consigam inibir a AChE de forma reversível, em especial substâncias compostas com diferentes grupos funcionais que possam exercer a ação inibidora (COLOVIĆ *et al.*, 2013).

Assim a utilização de matrizes de fonte natural surge de forma promissora, devido à grande carga de compostos bioativos em suas composições. Dados de pesquisas realizadas *in vitro*, mostram que os compostos bioativos encontrados no gengibre são capazes de proteger as células e os neurotransmissores, impedindo sua degradação, o que lhe compete potencial para o tratamento de doenças como o Alzheimer (KIM; KIM; OPPEL, 2002).

Diversos estudos trazem os efeitos benéficos do gengibre em relação ao sistema neurológico. El-Akabawy e El-Kholy (2014) mostraram que a administração de gengibre em

ratos diabéticos, além de baixar a glicemia no sangue, apresentou efeito protetor nas células pancreáticas e também impediu o desenvolvimento da atividade da AChE. Assim como Park *et al.* (2016) também mostraram o efeito inibidor da AChE, inclusive, constataram que, o efeito inibidor da enzima aumenta conforme acontece a conversão do 6-shogaol para 6-paradol.

A partir do que foi apresentado, nota-se que o gengibre apresenta potencial para aplicação farmacológica, sendo que seu uso a longo prazo pode ser considerado seguro.

2.5 ESPÉCIES REATIVAS E ANTIOXIDANTES

Os radicais livres são átomos, moléculas ou íons que possuem elétrons não emparelhados e por serem instáveis são propensos a reagirem com outras moléculas buscando a estabilidade, dando início às reações de oxidação (PAN *et al.*, 2019). Pesquisas indicam que essas reações influenciam o envelhecimento e morte celular acarretando o desenvolvimento de doenças (ENCIU; GHERGHICEANU; POPESCU, 2013; LISSER *et al.*, 2017; PEÑA-BAUTISTA *et al.*, 2019).

Estes radicais, podem ser gerados no metabolismo celular via ação catalítica de enzimas ou por fatores exógenos como dieta, tabagismo, medicamentos, ozônio, radiações gama e ultravioleta (BIANCHI; ANTUNES, 1999; HUANG; OU; PRIOR, 2005). A presença dos radicais livres no organismo, quando produzidos de forma adequada, é fundamental para o funcionamento fisiológico e celular adequado, produção de energia e metabolismo bem regulado (RAHAL *et al.*, 2014). Assim, sua presença, se faz importante para a preservação de mecanismos de defesa inflamatória entre outras funções biológicas (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Em condições celulares normais, há um equilíbrio entre a produção de radicais livres e sua neutralização pelos sistemas antioxidante. No entanto, quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e estes sistemas, a tendência é que ocorra a produção excessiva desses radicais deixando o sistema de defesa deficiente dando origem ao estresse oxidativo. (CAROCHO; FERREIRA, 2013). Diversas patologias tem sido associadas aos danos causados pelo estresse oxidativo, como doenças degenerativas, problemas pulmonares, doenças cardiovasculares e o envelhecimento precoce (BIANCHI; ANTUNES, 1999; CAROCHO; FERREIRA, 2013; CRAFT *et al.*, 2012; HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Antioxidantes podem ser definidos como substâncias que retardam ou inibem as reações de oxidação causadas pelos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Ao reagir com os radicais livres, a estrutura molecular dos antioxidantes entram em ressonância,

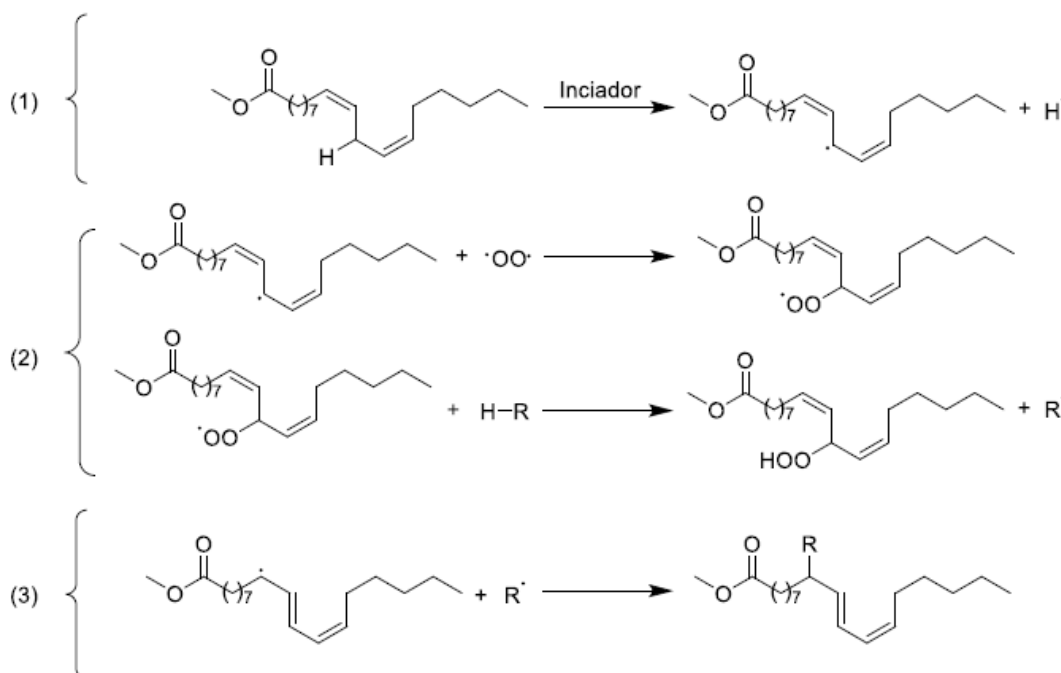
tornando-os compostos inertes e os mantendo estáveis, dando fim as reações de oxidação além de inibir o ataque aos lipídios, proteínas e ao DNA (BABBAR *et al.*, 2011; HUANG; OU; PRIOR, 2005). A eficiência da ação de um composto antioxidante depende de diferentes fatores tais como o tipo de radical livre formado, a dose ideal para efetiva proteção, onde e como foram gerados os radicais, por essa razão, quando um antioxidante é usado de modo aleatório, ao invés de agir como protetor ele pode atuar de forma a aumentar as lesões causadas pelos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Para evitar os danos causados pelo excesso de radicais livres, o organismo apresenta mecanismos de defesa via ação enzimática e não enzimática (BIANCHI; ANTUNES, 1999). O sistema de defesa enzimático inclui as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), este sistema serve como linha primária de defesa enzimático. Tais enzimas atuam através de mecanismos de prevenção, de forma a impedir e/ou controlar a formação de espécies não-radicaais e radicais livres, envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que resultam com propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativo (BARBOSA *et al.*, 2010; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Já o sistema não enzimático atua como linha de defesa secundária, no qual inclui compostos sintetizados pelo organismo humano como bilirrubina, ceruloplasmina, hormônios sexuais, melancamargo, coenzima Q, ácido úrico, e outros, provenientes de fontes exógenas através da dieta alimentar formado por antioxidantes hidrofílicos como vitaminas C e B, carotenoides, compostos fenólicos e antioxidantes lipofílicos como vitamina E e A (BIANCHI; ANTUNES, 1999; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Nos alimentos, os compostos antioxidantes são substâncias que retardam a degradação lipídica podendo estar presentes de forma natural ou adicionados aos mesmos. As reações de autoxidação ocorrem, principalmente, devido a formação de radicais livres nas estruturas dos ácidos graxos e lipídios, desencadeando as reações de oxidação, que ocorrem em três etapas: iniciação, propagação e término (Figura 05). A fase de iniciação é o momento em que o ácido graxo recebe incentivo externo como calor, radiação ou agente químico causando a perda de um hidrogênio. Na fase de propagação, o radical formado reage com o oxigênio dissolvido formando radicais peróxidos, estes apresentam elevada reatividade com isso dão continuidade a oxidação. Na última fase o radical reage com substâncias que geram um produto estável, finalizando o processo de oxidação (CAROCHO; FERREIRA, 2013; PAN *et al.*, 2019).

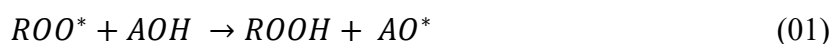
Figura 05 – Etapas das reações de auto oxidação: (1) Iniciação; (2) Propagação e (3) Terminação



Fonte: Martins (2019)

2.5.1 Atividade Antioxidante

A estrutura dos compostos antioxidantes permite a ressonância, assim, ao reagir com os radicais livres, os antioxidantes se tornam radicais estáveis, interrompendo a reação de oxidação. As Equações 01 e 02 descrevem a reação da atividade antioxidante (BOROSKI *et al.*, 2015).



Em que, ROO^\bullet e R^\bullet são os radicais livres, o AOH representa os antioxidantes com um átomo de hidrogênio e o AO^\bullet simboliza um radical inerte ao organismo.

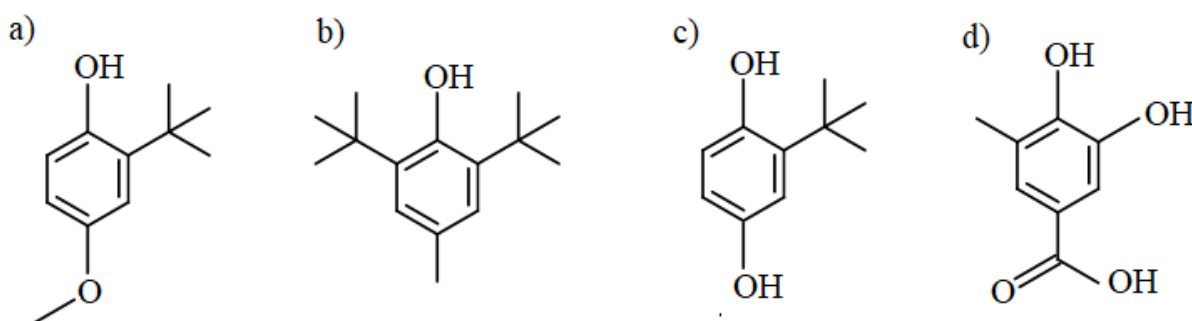
Sobre sua forma de ação, ela pode acontecer de duas maneiras, de forma primária e secundária. A forma primária, também chamada de preventiva, está relacionada com a quelação de compostos metálicos e sequestro de oxigênio (reduzindo a espécie reativa de oxigênio). Na forma secundária, o ANTIOXIDANTES atua de forma a eliminar os radicais livres já formados, ou seja, vai agir como doador de elétrons para encerrar as reações de oxidação (BOROSKI *et al.*, 2015; LIMA, 2008; SILVA *et al.*, 2010).

2.5.2 Classe de Antioxidantes

Uma das classificações dos antioxidantes reatadas na literatura é relacionada a sua origem, sintéticos ou natural. Os antioxidantes sintéticos (Figura 06) são substâncias que apresentam segurança de consumo dentro de um limite de ingestão diária e estão sujeitos às legislações específicas de cada país. Sendo a classe de antioxidante mais empregada na indústria de alimentos, e os compostos mais utilizados nesses processos são o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG) (ARAÚJO, 2015).

Apesar de serem estáveis, pesquisas relatam que os antioxidantes sintéticos podem provocar carcinomas e, com isso, tem sido removido do mercado (RAMÍREZ-GODÍNEZ *et al.*, 2017; SI *et al.*, 2018; TOHMA *et al.*, 2017). Dessa forma, há um grande interesse em encontrar novos antioxidantes que sejam seguros e obtidos de fontes naturais. No Brasil, o órgão que fiscaliza a aplicação dos antioxidantes na indústria é o Ministério da Saúde, que limita em 0,01 g 100 g⁻¹ para o BHA e BHT e 0,02 g 100 g⁻¹ para o TBHQ (BRASIL, 2019).

Figura 06 - Estrutura química dos principais compostos fenólicos sintéticos. a) BHA, b) BHT, c) TBHQ e d) PG



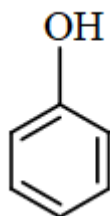
Fonte: Autora (2020)

Do ponto de vista químico, os antioxidantes naturais assemelham-se aos sintéticos por apresentarem estruturas fenólicas, moléculas que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos que interagem com radicais livres e são consumidas durante a reação.

Dentre os antioxidantes naturais estão algumas enzimas, ácidos orgânicos, vitaminas e compostos fenólicos. Os antioxidantes mais abundantes na natureza pertencem ao grupo dos compostos fenólicos que engloba uma vasta gama de substâncias, as quais possuem no mínimo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos (Figura 07), ou seja, que pode

doar o hidrogênio da hidroxila para um radical livre, sendo assim chamados de sequestradores de radicais livres (ANGELO; JORGE, 2007; SOARES, 2002).

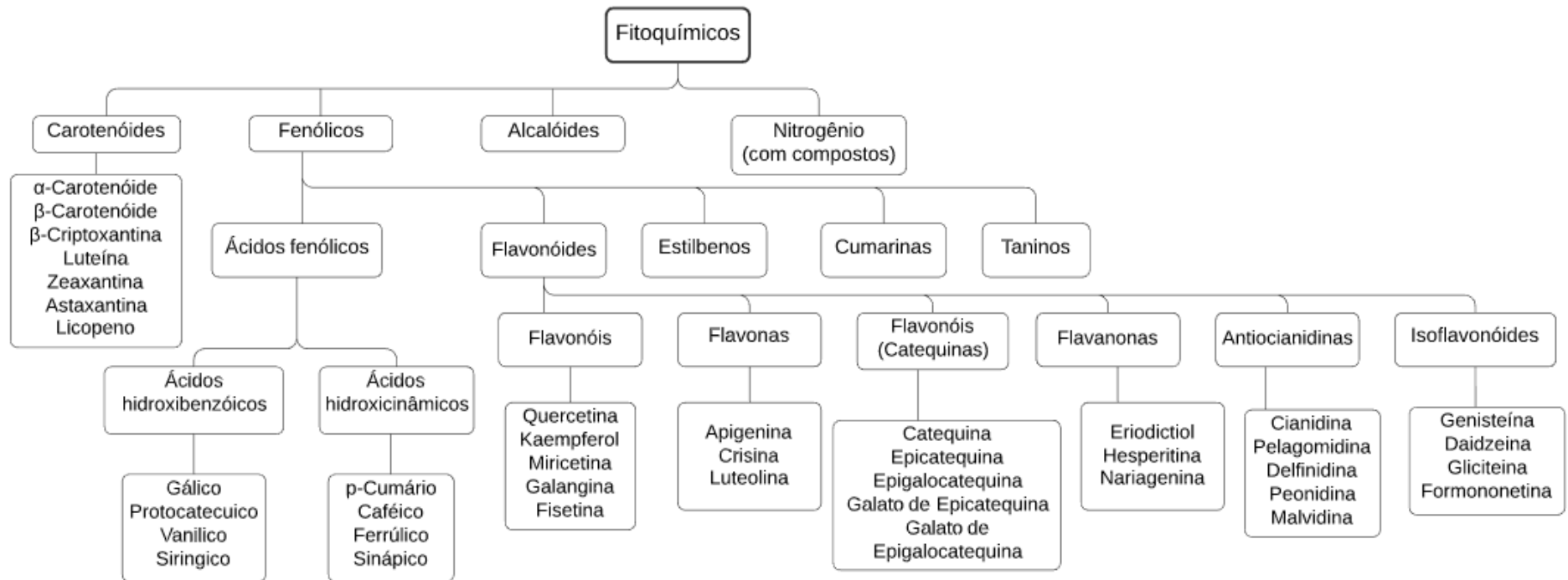
Figura 07 – Estrutura química do fenol



Fonte: Autora (2021)

A Figura 08 ilustra os compostos fitoquímicos e os principais subgrupos de compostos que têm sido investigados por apresentarem propriedades antioxidantes. Os compostos fenólicos são subdivididos em classes, sendo que aproximadamente dois terços dos compostos antioxidantes encontrados nas frutas e nos vegetais pertencem à classe dos flavonoides, o outro um terço são ácidos fenólicos e os demais antioxidantes existentes são menos frequentes (LIU, 2004).

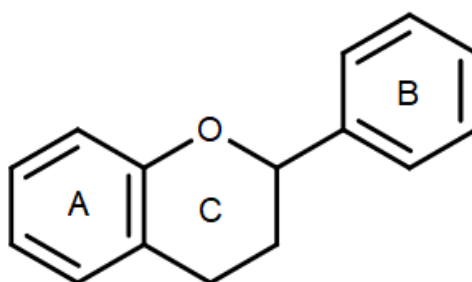
Figura 08 – Fluxograma das classes de compostos fitoquímicos com propriedades antioxidantes.



Fonte: LIU (2004)

Os flavonoides exercem um papel de defesa ao organismo e, por não apresentar toxicidade, suas atividades farmacológicas são amplamente exploradas no âmbito medicinal. Sua estrutura apresenta baixo peso molecular (Figura 09), e é composta por dois anéis aromáticos (A e B) interligados por três átomos de carbono, formando um anel heterocíclico (C) (WEN *et al.*, 2017; ZENG *et al.*, 2016).

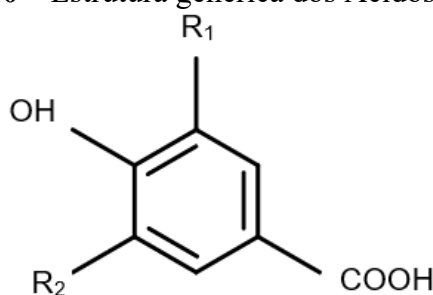
Figura 09 – Estrutura genérica dos flavonoides



Fonte: Liu (2004)

Os ácidos fenólicos, além de apresentarem ação contra o estresse oxidativo, possuem propriedades biológicas e farmacológicas que lhe garantem proteção às doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Sua estrutura (Figura 10) é representada por um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxilas, garantindo sua propriedade antioxidantes (ANGELO; JORGE, 2007; ZHANG *et al.*, 2018).

Figura 10 – Estrutura genérica dos Ácidos Fenólicos



Fonte: Angelo e Jorge (2007)

A atividade antioxidantes de um produto natural tem dois pontos importantes a serem abordados. O primeiro, está relacionado ao consumo de alimentos ricos em antioxidantes para prevenir e até mesmo retardar a oxidação das principais biomoléculas na célula, produzindo quelatos com metais e eliminando radicais livres que são produzidos como consequências do metabolismo celular. O segundo ponto refere-se sobre a utilização dos antioxidantes na

preservação de alimentos, de modo a impedir a oxidação dos mesmos aumentando sua vida útil e retardando o processo de peroxidação lipídica, uma das principais razões para a deterioração de alimentos e produtos farmacêuticos durante o processamento e armazenamento (TOHMA *et al.*, 2017).

Antioxidantes naturais podem ainda ser subdivididos em enzimáticos (endógeno) e não enzimáticos (exógeno). O sistema endógeno é composto por um conjunto de enzimas produzidas naturalmente pelo organismo, entretanto, tendem a diminuir com o passar dos anos (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

O sistema exógeno vem para suprir a diminuição dos compostos antioxidantes enzimáticos. Estes são compostos por vitaminas, substâncias vegetais, e minerais que podem ser ingeridos seguindo uma dieta alimentar (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Apesar dos benefícios que os antioxidantes naturais podem oferecer, existem limitações que acabam restringindo sua aplicação, como a baixa solubilidade no organismo, sensibilidade aos processos industriais alimentares (secagem, cozimento, fervura) e degradações promovidas pelas ações ambientais (luz, calor, oxigênio, pH e temperatura) (MAQSOU DLOU *et al.*, 2020), com isso busca-se soluções visando seu máximo aproveitamento.

2.5.3 Determinação da Atividade Antioxidante

Diversas metodologias são descritas na literatura para investigação da capacidade antioxidantes em matrizes alimentares, as quais contemplam diferentes características destes compostos, tais como o mecanismo de ação.

Tendo em vista a diversidade química e diferenças de polaridade dos antioxidantes juntamente com os diferentes modos de formação e ação dos radicais livres, é importante que sejam aplicados diferentes testes para avaliação da atividade antioxidantes de uma amostra (BECKER, 2019; BRITO, 2017; LI, YUXIN *et al.*, 2016; TOHMA *et al.*, 2017). Dessa forma, os resultados devem ser interpretados de acordo com o método analítico empregado, uma vez que cada metodologia tem sua escala própria para expressar os seus resultados, o que torna difícil a comparação entre diferentes metodologias (MOHARRAM; YOUSSEF, 2014).

Os métodos podem ser classificados de acordo com a natureza dos ensaios em experimentos *in vivo* e *in vitro*. Os testes *in vivo* são aqueles aplicados em animais, geralmente camundongos, por período e dosagens determinadas conforme a metodologia aplicada e após o tempo determinado, as cobaias são sacrificadas e o sangue ou tecido são utilizados nos ensaios.

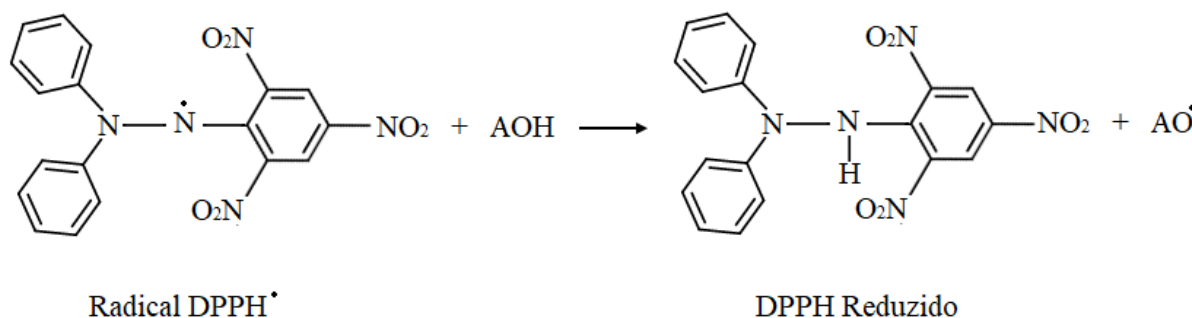
Já os testes *in vitro* são aqueles que envolvem ensaios químicos com aplicação de técnicas instrumentais, sendo os mais aplicados em estudos de antioxidantes devido ao baixo custo de processo, fácil aplicação e boa replicabilidade (ALAM; BRISTI; RAFIQUZZAMAN, 2013; ALVES *et al.*, 2010).

Os métodos de análise antioxidantes se diferem conforme o mecanismo de geração das fontes oxidantes e também pelo tipo de reação com tais compostos, podendo ser classificada como reação de transferência de elétrons ou átomos de hidrogênio, reação química ou reação enzimática (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

As reações por transferência de elétrons/átomos baseiam-se na reação de um radical, cátion radical ou complexo com uma molécula antioxidantes, que é capaz de transferir um átomo de hidrogênio e/ou um elétron (MOHARRAM; YOUSSEF, 2014). As reações de transferência de elétrons/átomo acontecem paralelamente em todos os sistemas, o que varia a predominância de um mecanismo ou outro é o ensaio realizado, pois em cada um envolve estruturas e solventes diferentes, entre outros fatores, como o pH do meio reacional (APAK *et al.*, 2013).

Os métodos de análise DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico)) são ensaios realizados *in vitro* para determinar o potencial antioxidantes de diversas matrizes vegetais, e tem como princípio a estabilização dos radicais DPPH[•] e ABTS^{•+} pela transferência de elétrons ou átomos de hidrogênio fornecido por um composto antioxidantes (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Vale ressaltar que, para ambos ensaios, quanto menor for o valor da absorbância obtida, maior será a capacidade de eliminação dos radicais livres (BECKER, 2019; LI, YUXIN *et al.*, 2016; TOHMA *et al.*, 2017). No método DPPH, a reação é observada pela mudança de cor, de púrpura para amarelo quando o radical DPPH[•] é reduzido à DPPH-H (Figura 11) (BOROSKI *et al.*, 2015; HUANG; OU; PRIOR, 2005).

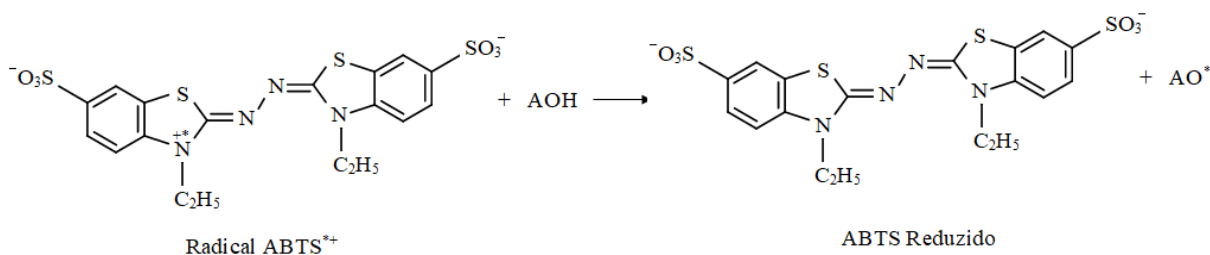
Figura 11 – Reação de redução do radical DPPH[•]



Fonte: Adaptado de Becker (2019)

A metodologia de sequestro do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ é comumente aplicada para realização da atividade antioxidante tanto em amostras hidrossolúveis quanto lipossolúveis, onde é possível observar espectrofotometricamente o decaimento da absorbância quando entra em contato com um antioxidantes (Figura 12) (BOROSKI *et al.*, 2015; BRITO, 2017).

Figura 12 – Reação de oxidação do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$

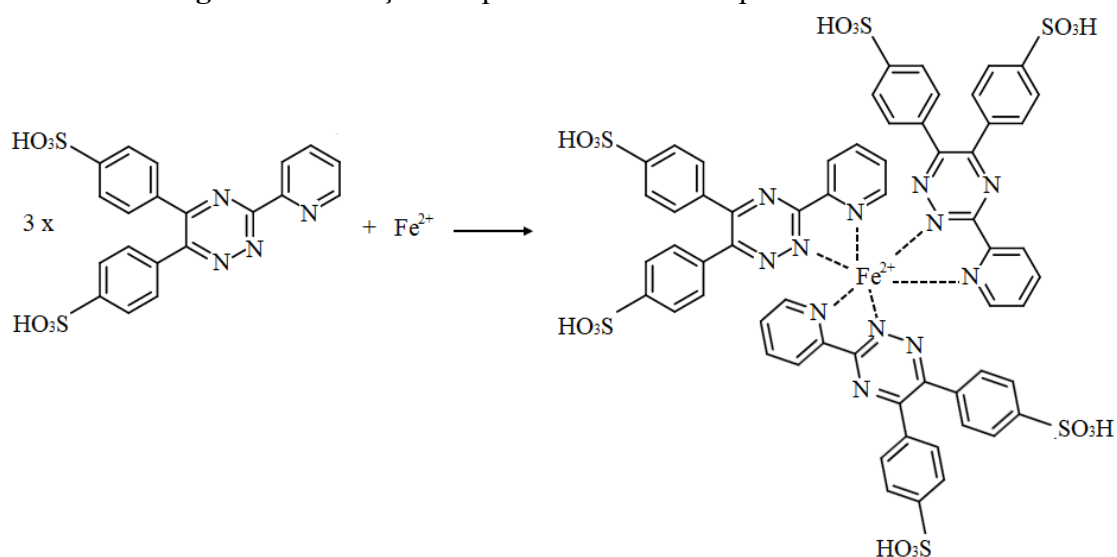


Fonte: Adaptado de Becker (2019)

O método de habilidade quelante tem como objetivo a determinação do potencial em reduzir a quantidade de Fe (II) . Este método é baseado na habilidade quelante da ferrozina (3-(2 piridil)-5,6 bis(ácido 4-fenilsulfônico)-1,2,4-triazina) em formar o complexo estável e solúvel em água com este íon, para impedir a oxidação de íons metálicos. Tais substâncias devem ter um ou mais pares de elétrons livres para possibilitar a ligação com o metal central (BOROSKI *et al.*, 2015; DELIGÖNÜL; TÜMER; SERIN, 2006; VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2018). A reação entre a ferrozina e ferro pode ser observada na Figura 13.

Durante a análise da habilidade quelante de ferro (II) a diminuição da absorbância indica a presença de substâncias que conseguem formar complexos estáveis com o excedente de Fe^{2+} no sistema.

Figura 13 – Reação do quelamento de ferro pela ferrozina.



Fonte: Boroski *et al.* (2015)

2.6 ENCAPSULAÇÃO EM SISTEMAS NANOPARTICULADOS

Com o intuito de preservar e garantir uma melhor eficiência da liberação dos compostos bioativos, nutrientes e fármacos, pesquisas envolvendo técnicas de encapsulação vem sendo desenvolvidas, das quais apresentam resultados significativos, possibilitando posterior aplicação, principalmente nas áreas alimentícias e farmacêutica (HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010; RAO; GECKELER, 2011).

A técnica de encapsulação atua de modo a corrigir possíveis restrições que os antioxidantes possam apresentar quando administrados de forma *in natura*, tais como baixa solubilidade, baixo tempo de vida útil, sabor e aromas indesejados, liberação não direcionada e fácil degradação (MAQSOUDELOU *et al.*, 2020). Assim, trabalhar com sistemas nanoparticulados apresentam algumas vantagens como liberação controlada de fármacos, maior superfície de contato, melhor estabilidade e solubilidade dos compostos ativos e, dependendo da sua origem, apresentam biocompatibilidade, ou seja, não agridem o organismo viabilizando sua aplicação em fármacos e alimentos (GUEDES, 2017; HUERTAS; FESSI; ELAISSARI, 2010; MOHAMMADIAN *et al.*, 2020).

De uma forma geral, nanopartículas podem ser definidas como estruturas de tamanho nanométrico, podendo variar entre 1 e 100 nm (RIGON, 2017). Nos últimos anos a nanotecnologia tem se mostrado uma ferramenta poderosa quando se trata de incorporação de fármacos, pois apresentam características interessantes para sua utilização nessa área (KHATIB *et al.*, 2020; MURA; NICOLAS; COUVREUR, 2013). Os sistemas nanoparticulados podem

ser divididos em duas classes de acordo com o tipo de material que é usado para sua produção, como nanopartículas inorgânicas e orgânicas (VINHAS *et al.*, 2017), e em certos casos realiza-se a combinação desses sistemas.

Entretanto, nanopartículas orgânicas, de origem natural ou sintetizadas, têm sido a classe de nanocarregadores mais explorada quando se refere a aplicação e administração de fármacos, tendo em vista sua biocompatibilidade em comparação com os inorgânicos, apresentando menor probabilidade de gerar efeito adverso ao organismo de um paciente, em especial os que possuem como base os lipídios, por exemplo os lipossomas (LEE; YAZAN; CHE ABDULLAH, 2017; TATAR *et al.*, 2016; VINHAS *et al.*, 2017).

Diferentes materiais podem compor os nanossistemas de origem orgânica e, dependendo da sua estrutura e composição, esses nanossistemas podem ser denominados como nanopartículas poliméricas, nanotubos de carbono e nanopartículas lipídicas (SURI; FENNIRI; SINGH, 2007).

As nanopartículas poliméricas são sistemas coloidais preparados a partir de polímeros naturais ou sintéticos, nos quais o fármaco é dissolvido, aprisionado, encapsulado ou adsorvido na matriz polimérica. Para sua obtenção, diferentes métodos são citados tais como evaporação do solvente, nanoprecipitação, *salting-out*, entre outros (JAYARAMAN *et al.*, 2015; PRABHU; PATRAVALE; JOSHI, 2015).

Os nanotubos de carbono são constituídos por materiais ricos em carbono, como por exemplo o grafeno. Podem ser classificados como parede simples ou paredes múltiplas, e se organizam em formato cilíndrico, com diâmetro na ordem de nanômetros, podendo chegar até a ordem de micrômetros (MONTES, 2015). Podem ser sintetizados utilizando processos de baixa e alta temperatura, por exemplo decomposição química por vapor (temperatura < 1100°C) e descarga por arco elétrico (temperatura > 1100°C), respectivamente (YAN *et al.*, 2015).

Já as nanopartículas lipídicas incluem as nanoemulsões, que são nanodispersões aquosas de lipídios líquidos e nanopartículas lipídicas sólidas. São sistemas lipofílicos coloidais formados por uma matriz lipídica estabilizada em meio aquoso devido a ação de um surfactante, que pode conter fármacos hidrofílicos e lipofílicos (CAVALLI *et al.*, 2002). Podem ser produzidas pela homogeneização a quente ou a frio. No método a quente, os lipídios, surfactantes e a fase aquosa dispersante são aquecidas acima da temperatura de fusão do lipídio e em seguida são submetidos à técnicas de alta energia para a formação das nanopartículas, seguindo pelo resfriamento a temperatura ambiente (SALVI; PAWAR, 2019).

O processo de homogeneização a frio é indicado para compostos bioativos com sensibilidade a temperatura, pois o processo ocorre a temperaturas abaixo do ponto de fusão do

lipídio. Neste método, os compostos bioativos são dispersos em uma fase lipídica previamente fundida, sendo a mistura resfriada em banho de nitrogênio líquido. Após solidificação, o tamanho das partículas é reduzido por moagem para chegar em escala micrométrica. As micropartículas são então dispersas em solução aquosa de tensoativos, resfriada e posteriormente submetida às técnicas de alta energia para a formação das nanopartículas (KATOUZIAN *et al.*, 2017).

As características que um agente encapsulante deve apresentar para ser considerado ideal são: apresentar fácil metodologia de preparo, ser biocompatível, ser capaz de proteger o composto encapsulado da degradação e liberação prematura, permitir liberação controlada e contínua no sítio de ação (FLOREK; CAILLARD; KLEITZ, 2017).

Dentre as diversas fontes e estruturas químicas desenvolvidas para a aplicação em sistemas de encapsulação nanométrica, os lipossomas se mostram propícios para aplicação nas áreas alimentícia e farmacêutica, pois além de apresentar as características ideais, possibilitam a obtenção de estruturas com diversos diâmetros, cargas superficiais e capacidade para a encapsulação de compostos hidrofílicos e hidrofóbicos (HERRERO; MEDARDE, 2015; WILLIAM *et al.*, 2020; ZÔMPERO *et al.*, 2015).

2.6.1 Lipossomas

Os lipossomas são constituídos de uma ou mais bicamadas lipídicas concêntricas, quando em meio aquoso, se organizam em bicamadas e formam vesículas, que são compostas basicamente por fosfolipídios anfífilicos de origem natural ou sintética (KIAIE *et al.*, 2020; WILLIAM *et al.*, 2020).

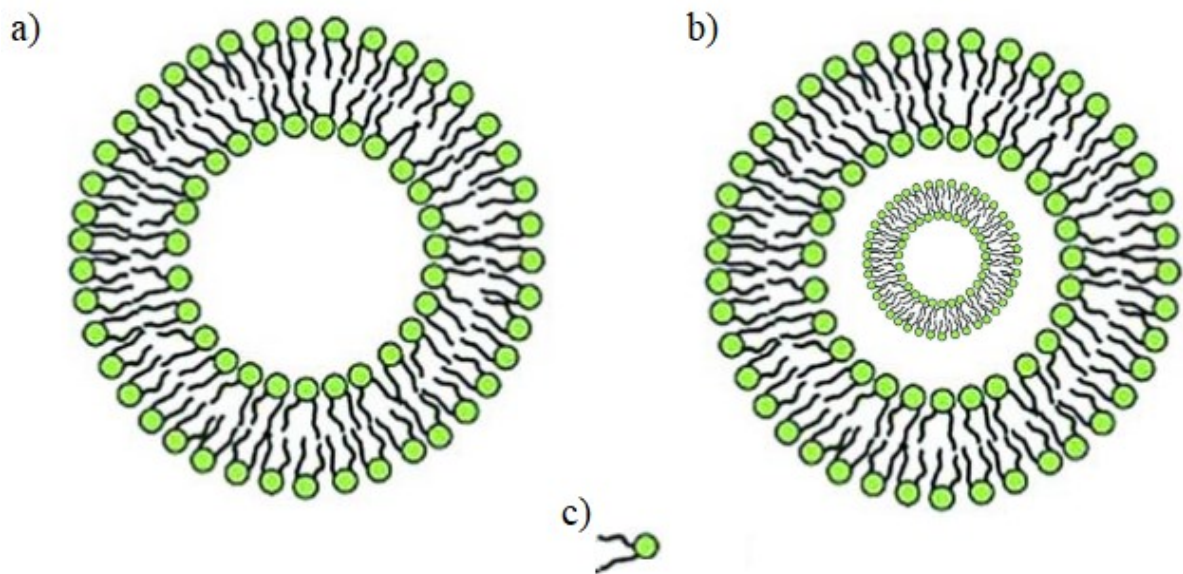
Quando o objetivo é a incorporação de compostos naturais, resultados eficientes são obtidos, por serem sistemas biodegradáveis, biocompatíveis e por não apresentarem toxicidade, além de aumentar a solubilidade e a estabilidade química do composto encapsulado (SEBAALY *et al.*, 2015; SHERRY *et al.*, 2013).

Em relação a classificação, os lipossomas podem ser divididos de acordo com a quantidade de camadas, tamanho das vesículas, modo de preparo, ou ainda quanto as características de interação com o sistema biológico. Em relação à quantidade de lamelas, os lipossomas podem ser unilamelares ou multilamelares (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007).

O tamanho dos lipossomas é um importante parâmetro a ser avaliado, pois está relacionado com o tempo de meia-vida e também com a capacidade de encapsulamento

(AKBARZADEH *et al.*, 2013). Vesículas unilamelares apresentam apenas uma esfera composta pela bicamada lipídica e podem ser divididas em três grupos: pequenas (20 a 100 nm), grandes (>100 nm) e gigantes (>1000 nm), já as vesículas multilamelares se sobrepõem, podem ser encontradas com tamanhos a partir de 500 nm (AKBARZADEH *et al.*, 2013; LAOUINI *et al.*, 2012; PATTNI; CHUPIN; TORCHILIN, 2015). Um esquema hipotético da formação dos lipossomas pode ser visto na Figura 14.

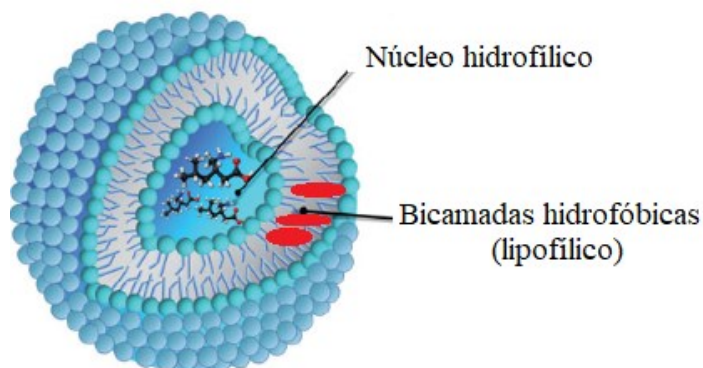
Figura 14 – Esquema hipotético do lipossoma. a) Vesícula unilamelar, b) Vesícula multilamelar e c) Estrutura fosfolipídio



Fonte: Adaptado de Koynova e Tenchov (2015)

As estruturas formadas garantem aos lipossomas versatilidade, pois permite a encapsulação de substâncias hidrofílicas (na parte aquosa) e/ou lipofílicas (adsorvidas ou inseridas na membrana), como mostra a Figura 15 (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007; BROCHADO, 2013; CHANG; YEH, 2012; KNEIDL *et al.*, 2014).

Figura 15 – Esquema de encapsulação lipofílico e hidrofílica

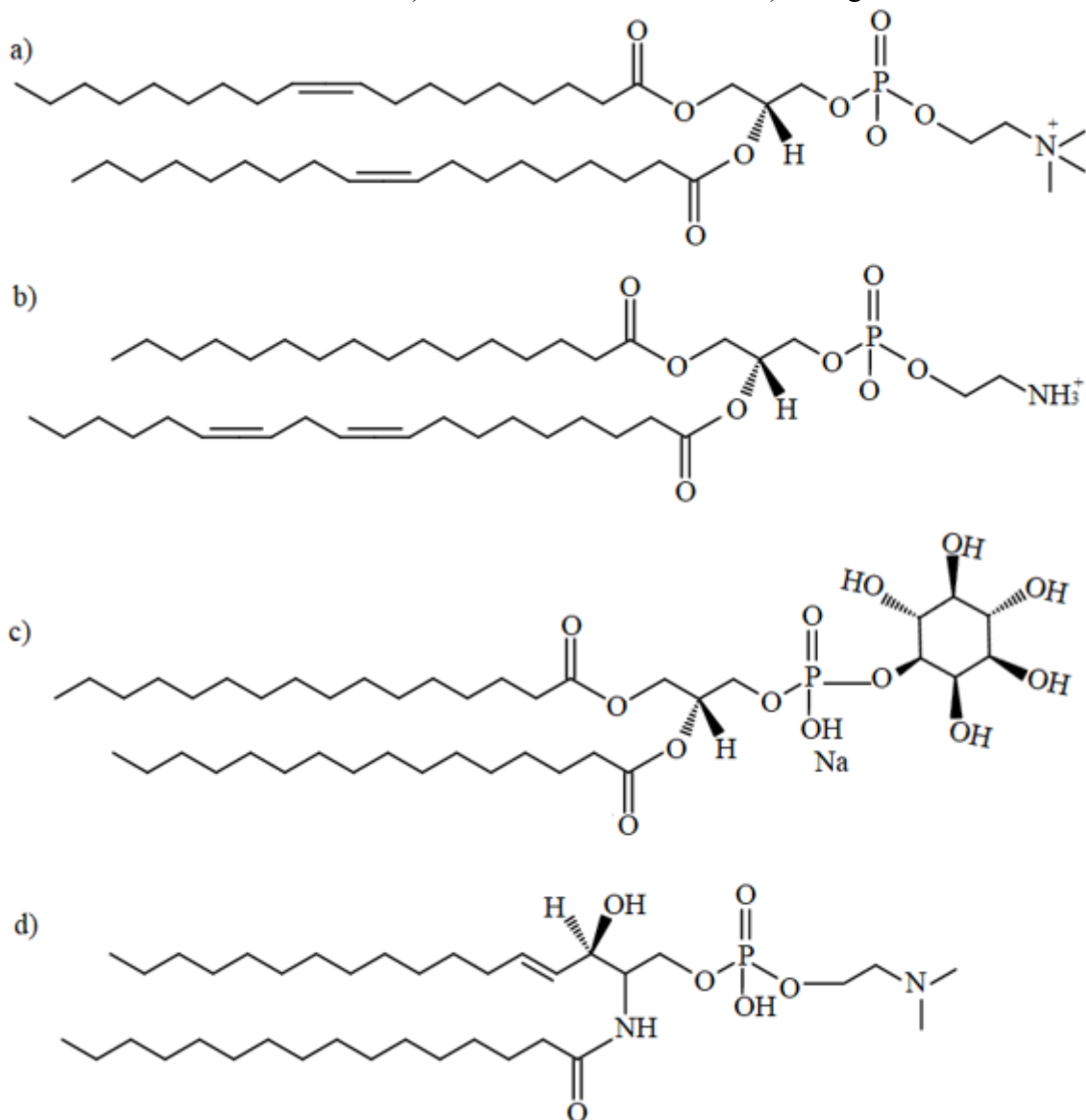


Fonte: Adaptado de Ioele *et al.* (2017)

Vale ressaltar que nem sempre serão formadas estruturas bem definidas, isso por que existem diversos tipos de fosfolipídios e dependendo da composição química, podem ser agregados de diferentes formas (ZÔMPERO *et al.*, 2015).

Os fosfolipídios são moléculas anfífilas que possuem cadeias longas de hidrocarboneto e na extremidade da sua estrutura possuem características polar com grupos de nitrogênio ou fósforo (Figura 16), tem origem vegetal (fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol aniônico) e animal (esfingomielina) (WU *et al.*, 2020).

Figura 16 – Estrutura molecular dos fosfolipídios vegetais e animal. a) fosfatidilcolinas b) fosfatidiletanolamina c) fosfatidilinositol aniônico d) esfingomielina



Fonte: Wu *et al.* (2020)

Segundo Akbarzadeh *et al.* (2013) as principais vantagens da utilização dos lipossomas como sistemas de encapsulação estão relacionadas com o aumento da eficiência e o índice

terapêutico do fármaco, maior estabilidade quando encapsulado, reduzem a toxicidade do composto encapsulado, auxiliam a reduzir a exposição de tecidos sensíveis a drogas tóxicas, são flexíveis, biocompatíveis, biodegradáveis e não imunogênicos. Além dos itens já citados, Tran, Moon e Lee (2019) relatam que os lipossomas são facilmente removidos do organismo por vias metabólicas simples e é possível a modificação da sua superfície e tamanho. Entretanto, Akbarzadeh *et al.* (2013) traz também algumas desvantagens relacionadas a este método tais como baixa solubilidade, tempo de meia-vida curto, o fosfolípido pode sofrer oxidação e reação semelhante à hidrólise durante o processo, vazamento e fusão de drogas ou moléculas encapsuladas, além do custo de produção elevado.

Os lipossomas podem ser obtidos por diferentes processos, dentre eles estão as técnicas de *spray drying*, liofilização, sublimação, precipitação por fluido supercrítico, hidratação de filme fino, injeção de solvente, evaporação de fase reversa, método de emulsão, dentre outros (AKBARZADEH *et al.*, 2013; TRAN; MOON; LEE, 2019; WILLIAM *et al.*, 2020). Sendo que, a eficiência da encapsulação está relacionada com a composição do lipossoma, propriedades físico-químicas e origem do composto a ser encapsulado juntamente com o método de produção (ÇAĞDAŞ; SEZER; BUCAK, 2014; ZÔMPERO, 2013).

2.6.2 Produção de Lipossomas Pelo Método de Injeção de Etanol

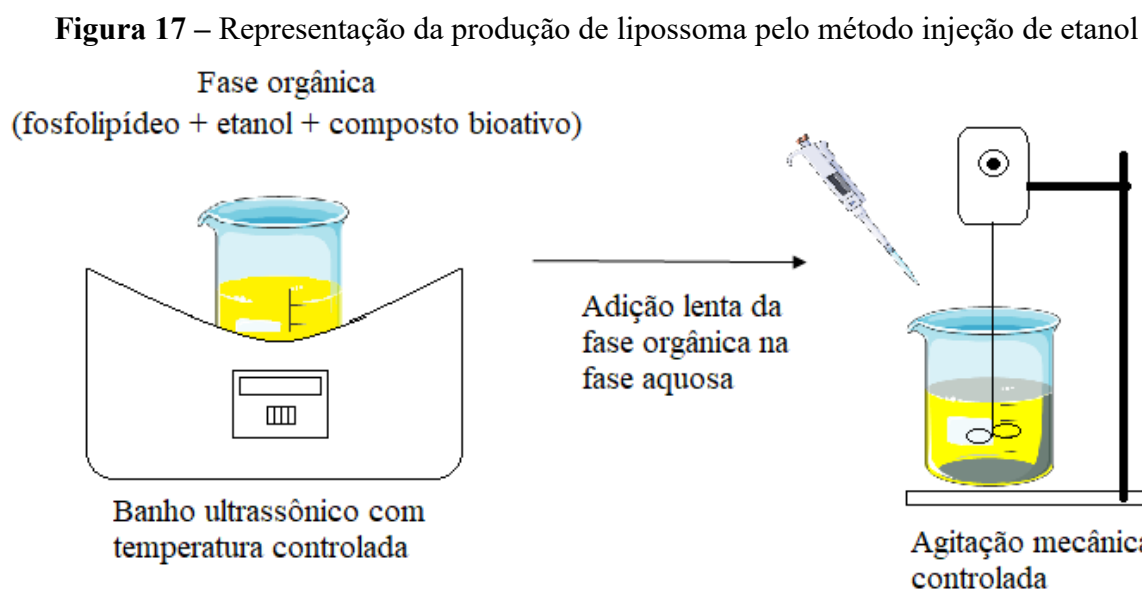
Conhecidos como os pioneiros a sistematizar a formação de estruturas fechadas em bicamadas, Bangham, Standish e Watkins (1965) descreveram o primeiro método de produção de lipossomas, conhecido como hidratação por filme seco (PATTNI; CHUPIN; TORCHILIN, 2015). Desde então, diferentes métodos foram desenvolvidos para a produção de lipossomas, entretanto, poucos são viáveis à aplicação industrial pois apresentam desvantagens como falta de padronização no tamanho dos lipossomas, difícil escalonamento e presença de resíduos orgânicos (CHARCOSSET *et al.*, 2015; FAN *et al.*, 2008).

Um método que se destaca na produção de lipossomas é a injeção de etanol que, além de ser uma técnica simples e facilmente escalonada, não causa a degradação lipídica, tem boa reprodutibilidade e torna viável a produção industrial (CHARCOSSET *et al.*, 2015). Apesar do baixo rendimento de encapsulação de compostos bioativos, cerca de 40%, a técnica de injeção de etanol é ainda preferível quando se trata de aplicação em alimentos e em fármacos, pois é livre de produtos químicos que sejam tóxicos e produz lipossomas homogêneos (SHIN *et al.*, 2013).

Descrito na década de 1970 por Batzri e Korn, o método de injeção por etanol (Figura 17) é uma técnica simples e rápida, em que se baseia na solubilização de um fosfolipídio em etanol sob condições de temperatura controlada (fase orgânica) e em seguida injeta-se essa solução em água. A diluição da fase orgânica em água faz com que os fosfolipídios fiquem expostos ao meio aquoso, estimulando a formação dos lipossomas (SHAKER; GARDOUH; GHORAB, 2017).

A desvantagem que este método oferece é que, dependendo da concentração do lipídio utilizado podem não solubilizar completamente em etanol com isso são formadas vesículas de tamanhos que variam de 30 a 110 nm, resultando em uma capacidade limitada de encapsulação do composto (JUSTO; MORAES, 2011; MEURE; FOSTER; DEHGHANI, 2008; WAGNER *et al.*, 2002).

A relação entre o fosfolipídio e o composto a ser encapsulado, proporção entre a fase orgânica e a fase aquosa, também são fatores que influenciam na capacidade de encapsulação do lipossoma produzido, havendo a necessidade de um estudo prévio para determinar as melhores concentrações de preparo (VITOR *et al.*, 2017; YANG, K. *et al.*, 2011; ZÔMPERO *et al.*, 2015).



Fonte: Autora (2020)

Desde o primeiro relato na literatura sobre o método de injeção de etanol, diversos pesquisadores têm realizado suas pesquisas com o objetivo de desenvolver melhores condições conforme o lipídio utilizado. Sebaaly *et al.* (2016), avaliaram a ação antioxidante, as propriedades físico-químicas e morfológicas do óleo de cravo, hidrogenado e não hidrogenado,

após a encapsulação em lipossomas utilizando o método de injeção de etanol. Por fim, obtiveram elevada eficiência de encapsulação com tamanhos de partículas em escala nanométrica e homogêneas, também relataram que os compostos bioativos presentes no óleo de cravo ficaram protegidos à exposição de raios UV, mantendo a atividade antioxidante e estabilidade após dois meses de armazenamento.

2.6.3 Utilização de Lipossomas para Incorporação de Compostos Bioativos

Lipossomas começaram a ser explorados em 1965 por Bangham, que obteve cristais líquidos a partir da dispersão de lecitina em meio aquoso e apesar dos resultados obtidos terem sido promissores, o desenvolvimento propriamente dito dos lipossomas ocorreu em 1982 e desde então tem se mostrado como um recurso versátil em diferentes áreas, como a biológica, bioquímica e farmacológica (CHANG; YEH, 2012; KNEIDL *et al.*, 2014; LEITGEB; KNEZ; PRIMOŽIČ, 2020; SHARMA *et al.*, 2006).

Em estudo desenvolvido por CHEN *et al.* (2014), foi realizado a encapsulação do composto tangeretina (5, 6, 7, 8, 4 – pentamethoxiflavona) em nanopartículas de zeína, utilizando como emulsificante β -lactoglobulina, o qual apresenta como função auxiliar a formação e estabilização das nanopartículas, sendo o sistema preparado pelo método de dispersão líquido-líquido. As nanopartículas obtidas tiveram um tamanho médio de 249 nm com eficiência de encapsulação em torno de 73%, resultados que viabilizam a incorporação do processo em diversos produtos alimentícios e bebidas.

Gómez-Mascaraque *et al.* (2017) apresentaram estruturas híbridas de encapsulação de curcumina em lipossomas (fosfatidilcolina) dentro de uma matriz proteica (proteína de soro concentrado) avaliando a estabilidade e bioacessibilidade da curcumina. Os lipossomas foram produzidos pelo método de injeção de etanol e em seguida os lipossomas formados foram submetidos à técnica de *eletrospray* para formação da matrix de proteína de soja concentrada. Os autores notaram aumento no tamanho e polidispersidade dos lipossomas carregados de curcumina quando aumentaram a concentração lipídica. Além disso, a eficiência de encapsulação diminuiu com o aumento da curcumina incorporada, com eficiência máxima de $79 \pm 1\%$ e as nanocápsulas chegaram a 104 nm. Este estudo mostrou também que o processo de dupla encapsulação aumentou a bioacessibilidade, independente do teor de curcumina aplicada.

Chen e Chiang (2020) produziram lipossomas carregados com curcumina, através do método de hidratação de filme fino, realizando modificações da superfície por diferentes

concentrações de ácido siálico acoplados a aglutinina presente no germe de trigo, visando a prevenção de doenças cerebrais. Perceberam que o lipossoma modificado apresentou uma efetiva resistência às enzimas digestivas, o que significa uma maior capacidade de absorção pelo organismo.

Dutta e Bhattacharjee (2017) usaram lipossomas para encapsular extrato de pimenta preta, que são ricos em piperina, e obtiveram uma boa estabilidade dos agentes antioxidantes e com uma eficiência de encapsulação na faixa de 78,6%.

Em outro trabalho, Ramezanzade, Hosseini e Nikkhah (2017) extraíram peptídeos bioativos da pele de truta e encapsularam em lipossomas (1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina) revestidos com quitosana e relataram que, além do sistema empregado ter preservado as características antioxidantes, obtiveram nanopartículas de tamanhos que variaram de 169,2 a 234 nm, conforme o aumento na concentração de quitosana, sendo que a encapsulação mais eficiente chegou a 80,2% com nanopartículas de 197,0 nm e um potencial zeta neutro.

Roostae *et al.* (2017) investigaram os efeitos na estabilidade oxidativa do óleo de soja quando incorporado compostos fenólicos, oriundos de pistache (*Pistachia vera* L.), encapsulados em lipossomas (lecitina de soja), e como resultado, relataram que os lipossomas foram produzidos de forma homogênea com tamanhos médios de 105,8 nm com eficiência de encapsulação na faixa de 32,47% e apresentaram ainda boa estabilidade, pois o potencial zeta foi inferior a -30 mV, aumentando, de forma significativa, o tempo de armazenamento do óleo de soja.

Ye *et al.* (2020) produziram lipossomas, visando a encapsulação de ácido clorogênico, pelo método de evaporação de solvente, para tratamento de tumor cerebral, do qual obtiveram resultados eficazes na liberação seletiva da droga, inibindo assim o crescimento dos tumores, sendo que a taxa de toxicidade foi considerada insignificante.

Chotphruethipong, Battino e Benjakul (2020) investigaram o efeito de diferentes agentes estabilizadores na eficiência da encapsulação, comparando o efeito da estabilidade dos lipossomas após o processo de liofilização durante o armazenamento e determinaram a ação antioxidante dos lipossomas liofilizados em tratamento gastrointestinal, sendo que os sistemas foram produzidos utilizando fosfatidilcolina de soja através do método de hidratação por película fina e o agente encapsulado foi colágeno hidrolisado provenientes da espécie robalo asiático. Por fim, chegaram à conclusão de que a melhor eficiência de encapsulação foi obtida quando utilizaram colesterol como estabilizador, evitando a oxidação precoce do lipossoma

produzido, além de também apresentar uma maior atividade antioxidante, que foi avaliada pelo método de redução dos radicais ABTS e DPPH.

Wang *et al.* (2018) extraíram o composto 6-gingerol do gengibre e encapsularam em sistemas de prolipossomas (lipossoma seco e de escoamento livre) com o objetivo de melhorar a solubilidade do composto bioativo e analisar a liberação controlada de fármacos. Para a produção dos prolipossomas foi empregado a técnica de dispersão por filme fino, sendo produzidos nanopartículas com tamanho médio de 44,77 nm com potencial zeta de -3,61 mV, indicando uma dispersão relativamente homogênea, o que garantiria a liberação seletiva do fármaco a ser encapsulado, com uma efetividade de encapsulação de 88%.

Até o momento não foram encontrados trabalhos na literatura que relatem a encapsulação do extrato etanólico do gengibre em lipossomas.

2.7 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

2.7.1 Análise Térmica

Segundo Matos (2015), trata-se de um grupo de técnicas analíticas que são utilizadas com o objetivo de monitorar o comportamento de um determinado material em função do tempo ou temperatura. Tais métodos possibilita a obtenção de informações relacionadas à variação de massa, estabilidade térmica, água livre e ligada, ponto de fusão e ebulição, calor de transição, calor específico, etc (CAIRES; GOMES; IONASHIRO, 2015). Dentre as análises térmicas existentes, as mais utilizadas são Termogravimetria (*TG thermogravimetry*), Análise Térmica Diferencial (*DTA differential thermal analysis*) e Calorimetria Exploratória Diferencial (*DSC differential scanning calorimetry*) (MATOS, 2015).

2.7.1.1. Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial - (TG-DTA)

A termogravimetria é uma técnica analítica cujo princípio é o acompanhamento da variação da massa de uma amostra, quando esta é submetida a uma variação controlada de temperatura, ao longo do tempo. Durante esse processo, obtém-se uma curva termogravimétrica, curva TG, na qual contém dados necessários para prever a estabilidade térmica, composição e estabilidade dos compostos intermediários e a composição final da amostra (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2012; MATOS, 2015).

Segundo Caires, Gomes e Ionashiro (2015) em uma curva TG, os desníveis em relação ao eixo das ordenadas correspondem às variações de massa sofridas pela amostra, circunstância que permite a quantificação dos dados.

A Análise Térmica Diferencial (DTA) não é uma técnica analítica propriamente dita, mas sim um recurso matemático que auxilia a compreensão da TG. A DTA é obtida a partir da primeira derivada da curva TG em função do tempo ou temperatura. As curvas obtidas através deste recurso são semelhantes às obtidas pela técnica TG, e apresentam como vantagens a exatidão das temperaturas correspondentes do início ao instante de velocidade de reação máxima, utilização das áreas dos picos para determinações quantitativas e, principalmente, permite uma clara distinção entre os picos de reações que, muitas vezes, não são visíveis apenas com as curvas TG (GABBOTT, 2008; IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2012).

Vale ressaltar que existem fatores que afetem a curva TG, podendo ser tanto das amostras analisadas quanto do sistema de análise. Em relação a amostra, a influência pode estar relacionada ao tamanho das partículas, quantidade de amostra, solubilidade dos gases liberados na própria amostra, calor de reação, compactação, condutividade térmica e natureza do material analisado. Já os fatores instrumentais que podem induzir ao erro estão o suporte da amostra, a razão de aquecimento, atmosfera e condições do forno (CAIRES; GOMES; IONASHIRO, 2015; MATOS, 2015).

O que torna a análise de TG uma técnica importante é a multidisciplinariedade que esta consegue abordar, sendo usada nas indústrias químicas, farmacêuticas, alimentícias, de materiais, entre outras (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2012; TAVARES; NOREÑA, 2020).

2.7.1.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é uma técnica que associa os efeitos do calor com as mudanças no estado físico ou alterações químicas de uma amostra. Relacionados com os eventos físicos destaca-se a transição de fases, como fusão, ebulição, sublimação, além de mudanças na cristalinidade da amostra. Sobre os eventos químicos, ressaltam-se a desidratação, dissociação, decomposição, reação de oxirredução, ou seja, ações que são capazes de gerar variações no calor do sistema (GABBOTT, 2008; MITIĆ *et al.*, 2017).

Dentre as vantagens da aplicação da técnica de DSC, estão: análises rápidas, necessita de pouca amostra, pode ser realizado com amostra líquida ou sólida, aplicável a processo de

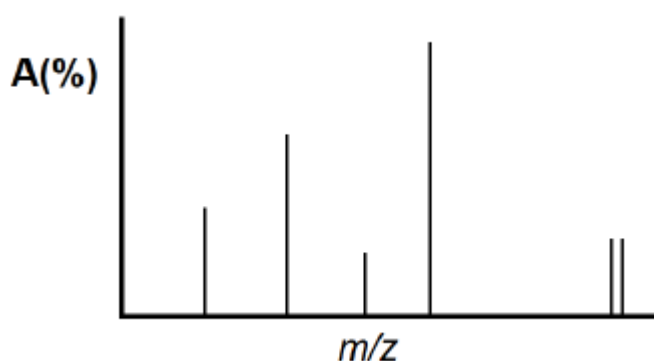
resfriamento e medidas sob alta pressão e permite o estudo de diferentes tipos de reações químicas (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2014).

2.7.2 Espectrometria de Massas

A técnica de espectrometria de massas pode ser definida como o estudo de um sistema molecular, no qual o objetivo é identificar possíveis compostos através da relação massa/carga (m/z) gerada pela transferência, formação ou fragmentação de íons oriundos de uma determinada amostra (MEURER, 2020).

De uma maneira geral, um espectrômetro de massas é um instrumento constituído por uma fonte de íons, um analisador de massas, um detector e um sistema de aquisição de dados. As fontes de ionização apresentam função de ionizar e transferir as espécies a serem analisadas para a fase gasosa. O analisador de massa, tem como papel a separação dos íons formados de acordo com a relação m/z . Depois de separados, os íons são identificados por um sistema detector que transmite o sinal a um sistema de aquisição de dados, onde serão convertidos em gráficos nominados de espectro de massas (Figura 18).

Figura 18 – Espectro de massas genérico



Fonte: Meurer (2020)

2.7.3 Diâmetro Hidrodinâmico e Polidispersidade

Considerados dois parâmetros de grande importância na caracterização dos lipossomas no ponto de vista terapêutico, o diâmetro hidrodinâmico (D_h) e a polidispersidade, são essenciais para determinar a qualidade e possíveis variações associadas ao processo de produção dos lipossomas (PATTNI; CHUPIN; TORCHILIN, 2015). O controle do tamanho das vesículas produzidas torna-se crucial quando se deseja aplicações médicas, especialmente

tratando-se de administração via parenteral, em que o D_h deve variar entre 50 e 450 nm. Em relação a polidispersidade, esta demonstra a distribuição de tamanhos presentes em uma amostra de lipossomas (BOZZUTO; MOLINARI, 2015; LAOUINI *et al.*, 2012; PATTNI; CHUPIN; TORCHILIN, 2015).

Existem várias técnicas que possibilitam a análise do tamanho e polidispersidade, sendo elas: Dispersão Dinâmica da Luz (DLS), Cromatografia de Exclusão de Tamanho (SEC), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Microscopia de Transmissão Eletrônica (TEM) e a Microscopia de Força Atômica (AFM) (MITIĆ *et al.*, 2017; PATTNI; CHUPIN; TORCHILIN, 2015). A técnica DLS é a mais utilizada pois, em comparação com os outros métodos, é uma técnica rápida e de fácil aplicação, além de permitir que sejam analisados os lipossomas em seu próprio meio de síntese, sem a necessidade de um preparo prévio (LAOUINI *et al.*, 2012; MITIĆ *et al.*, 2017).

2.7.4 Potencial Zeta (ζ)

O potencial zeta é uma característica específica de partículas suspensas, a partir dela determina-se a estabilidade das partículas que compõem um sistema coloidal, assim como sua capacidade de interação, condições que permitem a utilização dessa propriedade na caracterização dos lipossomas (LAOUINI *et al.*, 2012).

Dependendo da origem e composição dos lipossomas, sua carga pode ser positiva, negativa ou neutra. Quanto maior for a carga (positiva ou negativa), maior será a repulsão entre as vesículas formadas, com isso menor será a chance de aglomeração desses lipossomas (BOZZUTO; MOLINARI, 2015; MITIĆ *et al.*, 2017). Sendo assim, lipossomas com um ζ baixo ou nulo (próximos de zero), terão uma maior probabilidade de agregação. Desse modo, o ideal é que os lipossomas apresentem ζ maior ou menor que $|30 \text{ mV}|$ para serem considerados estáveis (LAOUINI *et al.*, 2012).

Um outro fator importante da análise do ζ , é a possibilidade de avaliar a interação entre lipossomas e células, onde a carga elevada facilita e beneficia esta interação, e, por sua vez, a entrega de um fármaco no interior das células. Lipossomas com carga neutra possuem uma interação reduzida com as células, provocando a liberação dos compostos encapsulados no meio extracelular (BOZZUTO; MOLINARI, 2015).

2.7.5 Eficiência de Encapsulação (EE%)

A eficiência de encapsulação é uma das mais importantes formas de caracterização, uma vez que a eficácia do lipossoma quando aplicado *in vivo*, bem como suas propriedades físico-químicas depende totalmente da quantidade de composto ativo incorporado às nanoestruturas (LOPES, 2014).

Tal análise pode ser definida como a quantidade encapsulada nos lipossomas em relação à quantidade inicial adicionada a solução encapsulante. A eficiência de encapsulação está relacionada com a capacidade de encapsulação dos lipossomas, sendo influenciada pela composição do fosfolípido utilizado, método de produção, lamelaridade e a quantidade inicial tanto do agente encapsulante como do material a ser encapsulado (LAOUINI *et al.*, 2012).

Diferentes métodos são utilizados na quantificação dos teores de material encapsulado, além de serem utilizadas para monitorar a estabilidade de armazenamento dos lipossomas em relação a retenção ou liberação do material encapsulado ao longo do tempo. Dentre tais técnicas destacam-se: espectrofotometria, espectroscopia de fluorescência, métodos enzimáticos, técnicas eletroquímicas e cromatografia líquida de alta eficiência (LAOUINI *et al.*, 2012; PINILLA; BRANDELLI, 2016). Para a escolha da técnica de quantificação do encapsulamento deve ser levado em consideração a natureza das moléculas encapsuladas (LAOUINI *et al.*, 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar a extração de compostos bioativos do gengibre e incorporá-los em matriz lipossomal para aplicação biológica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar a extração do gengibre, seco a 80 °C, em diferentes tempos e temperaturas, utilizando como solvente EtOH:H₂O 70:30 (v/v);
- Determinar a capacidade antioxidante dos extratos, buscando a melhor resposta em termos de sequestro dos radicais DPPH e ABTS e habilidade quelante de Fe (II);
- Caracterizar o melhor extrato pelo espectro de massas;
- Avaliar a cinética de reação em diferentes temperaturas entre o melhor extrato e os testes de DPPH e ABTS;
- Avaliar a capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase;
- Incorporar o extrato de gengibre em lipossomas e escolher a melhor condição de produção;
- Caracterizar as propriedades físico-químicas dos sistemas nanoparticulados obtidos;
- Avaliar o potencial biológico, em células tumorais, do extrato incorporado nas nanopartículas e comparar com o extrato livre.

4 MATERIAIS E METODOS

4.1 REAGENTES E SOLVENTES

Os reagentes utilizados foram de alta pureza analítica: Etanol absoluto (Química moderna), metanol (Synth), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) (Sigma – Aldrich), ABTS (ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) (Sigma – Aldrich), $K_2S_2O_8$ (persulfato de potássio) Synth, EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético) (Neon), Cloreto de ferro tetra hidratado ($FeCl_2 \cdot 4H_2O$) (Sigma – Aldrich), ferrozina (3-(2-piridil)-5,6-bis(ácido 4-fenilsulfônico)-1,2,4-triazina) (Sigma – Aldrich), lecitina de soja (SolecTM SG), brometo de neostigmina (Sigma N2001), DNTB (5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) ($\geq 98\%$; Sigma D8130), HEPES (Methyl 12-hydroxystearate) (Sigma H7006), Isso-OMPA (Tetraisopropyl pyrophosphoramide) (Sigma T1505), iodeto de acetiltiocolina (AcSCh; Sigma A5751), azul coomassie (Vetec V001021) e albumina de soro bovino (Sigma A2153).

4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

4.2.1 Amostragem

O gengibre foi adquirido em supermercado local da cidade de Apucarana, estado do Paraná, Brasil. Foi lavado em água corrente, a casca foi retirada das amostras, fatiadas em pequenos pedaços para posteriormente serem secos a 80 °C, em estufa de circulação (Solab modelo SL-102) com pesagens frequentes até obtenção de peso constante. Após secagem, a amostra foi triturada em um liquidificador industrial (FAK modelo LAR 2L), embalada e mantida sob refrigeração a 2 °C e isolada da interferência de luz, evitando a degradação dos compostos bioativos pela exposição ao calor.

4.2.2 Umidade

O teor de umidade das amostras de gengibre foi determinado por aquecimento em estufa (Solab modelo SL-102) a 105 °C por 3 horas, esse processo foi repetido até peso constante, conforme a metodologia descrita pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985). Os ensaios de umidade foram realizados em triplicata.

4.3 EXTRATOS

Para obter a melhor condição de extração, variou-se os parâmetros tempo e temperatura, utilizando um planejamento composto central rotacional 2^2 com 3 experimentos no ponto central, totalizando 11 pontos de análise. Todos os experimentos foram realizados em duplicata. Para a produção dos extratos, 0,5 g de amostra foram adicionados a 50 mL de etanol (EtOH:H₂O 70:30 (v/v)), sob agitação constante a 140 rpm em *shaker* (Marconi modelo MA-420). Após serem filtrados, os respectivos volumes foram ajudados com etanol em balão volumétrico de 50 mL, em seguida foram transferidos para frascos âmbar e armazenados sob refrigeração para análises posteriores.

A Tabela 01 apresenta os valores reais e codificados da matriz de planejamento. Cada variável independente foi investigada para um nível alto (+1) e um baixo (-1). Os experimentos do ponto central (0) foram incluídos na matriz e na análise estatística, para identificar o efeito de cada variável em função da eficiência da extração. Os pontos axiais foram acrescentados de maneira a extrapolar os resultados.

Tabela 01 – Variáveis codificadas do planejamento composto central rotacional 2^2

Ensaio	Temperatura (°C)		Tempo (h)	
	Codificada	Real	Codificado	Real
1	(-1)	25	(-1)	4
2	(+1)	55	(+1)	20
3	(0)	40	(-1,41)	0,5
4	(-1)	25	(+1)	20
5	(0)	40	(0)	12
6	(+1,41)	60	(0)	12
7	(0)	40	(0)	12
8	(+1)	55	(-1)	4
9	(-1,41)	20	(0)	12
10	(0)	40	(0)	12
11	(0)	40	(+1,41)	24

Fonte: Autora (2020)

Os extratos foram preparados em ordem aleatória, para evitar o erro sistemático, variando-se simultaneamente as variáveis estudadas, tempo e temperatura.

4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pela aplicação dos métodos de sequestro dos radicais livres DPPH e ABTS, e também pela habilidade quelante de ferro (II).

Para a realização dos ensaios de sequestro de radical livre, os extratos foram submetidos a diluição prévia na proporção de 1:1 (extrato:etanol).

4.4.1 Avaliação da Capacidade Antioxidante – Método DPPH

O método envolvendo a captura do radical livre DPPH (2,2-Difenil-1-picrilidrazila) foi realizado de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações (BOROSKI *et al.*, 2015), onde a atividade antioxidante é determinada através do consumo de DPPH livre nas amostras pelo decaimento da absorbância.

O radical livre DPPH (0,1192 mmol L⁻¹) foi preparado a partir da dissolução de 4,7 mg de DPPH em 100 mL de metanol sob proteção da luz. Para cada extrato fez-se um branco contendo 1 mL da amostra e 2 mL de MeOH. As replicatas foram preparadas a partir da mistura de 1 mL da amostra e 2 mL da solução de DPPH e como controle 1 mL de MeOH e 2 mL de DPPH. Após 30 minutos foram realizadas as leituras em um espectrofotômetro (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis model), a 517 nm. A atividade antioxidante foi expressa em porcentagem de inibição do controle, conforme a equação 03:

$$\% \text{ inibição DPPH}^{\bullet} = \left\{ \frac{[Ac - (Aa - Ab)]}{Ac} \right\} * 100 \quad (03)$$

Onde, Ac é Absorbância do controle, Aa é Absorbância da amostra e Ab é Absorbância do branco.

4.4.2 Avaliação da Capacidade Antioxidante – Método ABTS

A metodologia abordada para a realização do teste de sequestro do radical ABTS foi descrita por Rufino *et al.* (2007), com modificações (BOROSKI *et al.*, 2015), sendo que o princípio desta técnica está em avaliar a capacidade antioxidante da amostra em estabilizar o cátion radicalar ABTS^{•+} presente na solução, retornando ao seu estado mais estável.

Inicialmente formou-se o cátion radicalar $ABTS^{\bullet+}$ a partir da reação de 5 mL da solução estoque de ABTS ($7,0 \text{ mmol L}^{-1}$) com 88 μL da solução de persulfato de potássio (140 mmol L^{-1}), essa mistura foi mantida em frasco âmbar em temperatura ambiente por 16 horas antes do uso. Após esse período, 1 mL do cátion formado foi diluído em etanol (aproximadamente 60 mL), até obter-se uma solução com absorvância de $0,700 \pm 0,050$, em 734 nm.

Para as análises, foram realizadas as seguintes composições 30 μL de EtOH em 3 mL da solução estoque de $ABTS^{\bullet+}$ (controle), para cada branco 30 μL da amostra e 3 mL de EtOH e as replicatas foram preparadas adicionado 30 μL da amostra e 3 mL da solução estoque de $ABTS^{\bullet+}$, em seguida as misturas foram homogeneizadas e após 6 minutos de repouso determinou-se a absorvância em espectrofotômetro (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis model) a 734 nm. A atividade antioxidante foi expressa em porcentagem de inibição do controle, de forma semelhante a equação 03.

4.4.3 Avaliação da Capacidade Antioxidante – Habilidade Quelante de Ferro (II)

A atividade antioxidante pelo método de habilidade quelante de ferro (II), foi determinada através da metodologia desenvolvida por Stookey (1970), com modificações (BOROSKI *et al.*, 2015).

Para esta análise, foram preparadas soluções de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($2,0 \text{ mmol L}^{-1}$) e ferrozina ($5,0 \text{ mmol L}^{-1}$), dissolvendo respectivamente 0,0040 g e 0,0250 g em 10 mL de água para cada reagente.

A análise foi realizada com a adição de 3,7 mL do extrato e 0,1 mL de FeCl_2 a um tubo de ensaio, o mesmo procedimento foi realizado para o branco, com 3,7 mL do solvente (A_b) em substituição das amostras. A leitura (A_0) foi realizada em espectrofotômetro (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis model) a um comprimento de onda de 562 nm. Foi adicionado a esta solução, 0,2 mL de ferrozina e depois de 10 minutos a leitura foi realizada no mesmo comprimento de onda (A_1). O cálculo da porcentagem da habilidade quelante de ferro (II) do extrato foi obtido a partir da equação 04 (BOROSKI *et al.*, 2015)

$$\% \text{ habilidade quelante} = \left\{ \frac{[A_b - (A_1 - A_0)]}{A_b} \right\} * 100 \quad (04)$$

4.4.4 Avaliação da Cinética de Reação dos Métodos DPPH e ABTS

Foram obtidos os parâmetros cinéticos (taxa de reação, k , ordem de reação, α , fator pré exponencial, k_0 , e energia de ativação, E) para as reações entre os radicais DPPH e ABTS^{*+} e o extrato de gengibre ($C = 0,01 \text{ g mL}^{-1}$) que apresentou melhor atividade antioxidante. Para isso, os ensaios foram conduzidos nas temperaturas de 20, 40 e 50 °C, os experimentos realizados em triplicata e as leituras em espectrofotômetro executadas nos tempos: 0, 2,5, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos, conforme metodologia descrita anteriormente para cada método.

As absorbâncias obtidas foram utilizadas para determinar as concentrações dos extratos ao longo do tempo, pela Lei de Beer conforme a equação 05 (MAYERHÖFER; POPP, 2019), onde A é o valor da absorbância, α é constante, C é a concentração e l é o comprimento do caminho óptico.

$$A = 1 - e^{-\alpha Cl} \quad (05)$$

Em seguida, foi calculado o consumo do radical livre através da reação com o antioxidante presente no extrato. As equações 6 e 7 foram utilizadas para obter k e α por meio do consumo de DPPH e ABTS^{*+}, respectivamente (FOGLER, 2009), onde $[DPPH]$ e $[ABTS^{*+}]$ correspondem às concentrações consumidas dos radicais livres ao longo do tempo, k e α são a taxa e ordem de reação, respectivamente.

$$\frac{d[DPPH]}{dt} = -k[DPPH]^\alpha \quad (06)$$

$$\frac{d[ABTS^{*+}]}{dt} = -k[ABTS^{*+}]^\alpha \quad (07)$$

Posteriormente, os resultados obtidos através das Equações 04 e 05 foram comparados com os dados experimentais de acordo com a função objetivo, minimizada para cada condição experimental (Equações 08 e 09).

$$\Phi = \sum ([DPPH]_{exp} - [DPPH]_{cal})^2 \quad (08)$$

$$\Phi = \sum ([ABTS^{*+}]_{exp} - [ABTS^{*+}]_{cal})^2 \quad (09)$$

Conhecendo os valores de α e de k e considerando a variação de temperatura do meio reacional, obteve-se o fator pré-exponencial (k_0) e a energia de ativação (E) pela lei de Arrhenius (Equação 10) (SATHIVEL; HUANG; PRINYAWIWATKUL, 2008), onde R corresponde a constante do gás ideal, $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$.

$$k = k_0 \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \quad (10)$$

4.5 AVALIAÇÃO TÉRMICA DO EXTRATO DE GENGIBRE

4.5.1 Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

As propriedades térmicas do extrato de gengibre foram determinadas a partir das análises de TG – DTA, usando o analisador Termogravimétrico (TGA-50, Shimadzu), sob atmosfera de ar sintético com fluxo de argônio de 50 mL min^{-1} . As amostras foram aquecidas a partir da temperatura ambiente ($\approx 23 \text{ }^\circ\text{C}$) até $800 \text{ }^\circ\text{C}$ com taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. A massa da amostra utilizada foi de $0,0073 \text{ g}$.

4.5.2 Análise Calorimétrica Exploratória Diferencial (DSC)

A análise Calorimétrica Exploratória Diferencial (DSC) do extrato de gengibre foi determinada em Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC-60 Plus, Shimadzu). Utilizou-se $0,0059 \text{ g}$ de extrato de gengibre em cadinho de alumínio, atmosfera de ar sintético com fluxo de argônio de 50 mL min^{-1} e taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $350 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.6 ESPECTROSCOPIA DE MASSAS

A espectroscopia de massas no modo Scan, foi utilizada para avaliar de forma qualitativa o extrato de gengibre que apresentou a melhor atividade antioxidante, na forma bruta. Os experimentos foram realizados no espectrômetro de massas, quadrupolo triplo, Premier XE (Waters, Milford, MA, EUA), equipado com ionização por eletrospray (ESI), operando em modo negativo. Os parâmetros ESI (-) foram: capilar de 2 kV , cone de 20 V com quadrupolo ajustado para resolução de unidade. Para a fase móvel foi utilizada uma solução de MeOH e NH_4OH ($0,1\%$) e o gás de dessolvatação mantido a $200 \text{ }^\circ\text{C}$.

Inicialmente, o extrato de gengibre (0,0100 g) foi diluído em 10 mL da solução móvel com o auxílio de ultrassom, obtendo uma concentração inicial de $0,001 \text{ g mL}^{-1}$, em seguida a solução obtida foi filtrada em Millex-HV $0,45 \mu\text{m}$. Para a análise, a solução filtrada foi diluída três vezes em fase móvel antes da injeção no equipamento, com uma concentração final de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os dados foram analisados com o auxílio do *software* Spartan 18.

4.7 ANÁLISE BIOLÓGICA

4.7.1 Atividade Enzimática da AChE

4.7.1.1. Dissecção das Estruturas Encefálicas

Os ratos foram eutanasiados e os encéfalos foram armazenados em tubos de ensaio com tampão Tris HCl 10 mM [pH 7,2] gelado, na proporção (1:10 (m:v)). Em seguida, foram homogeneizadas em Potter de vidro. Após a homogeneização, as estruturas foram centrifugadas a 1000 g (2500 rpm) por 15 min. O sobrenadante foi separado em microtubos e congelado imediatamente à $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ para posteriormente ser utilizado na quantificação e inibição da AChE.

O conteúdo proteico das amostras foi determinado de acordo com o método descrito por Bradford (1976), utilizando albumina bovina sérica como padrão.

4.7.1.2. Quantificação da Atividade Enzimática da AChE

Os sobrenadantes dos homogenatos foram utilizados para o ensaio enzimático da atividade da AChE, determinada espectrofotometricamente através do método de Ellman *et al.* (1961), com modificações (DINGOVA *et al.*, 2014).

A análise da atividade enzimática foi realizada em placas de 96 poços. Procedeu-se à análise da atividade enzimática, através da execução do seguinte procedimento experimental: 150 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH= 7,0), 80 μL de água destilada, 20 μL de homogenato e 20 μL de Iso-OMPA (inibidor da BChEi), foi deixado pré-incubando por 30 min. Após isso foi adicionado 30 μL de acetiltiocolina (10 mM) para dar início à reação, no qual foi deixado incubando por 10 min à 37°C .

A reação foi parada pela adição de 20 μL de brometo de neostigmina (inibidor da AChEi) 51 mM e para revelação foi adicionado 20 μL de ácido 5,5-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB) 8,5 mM. A hidrólise do iodeto de acetiltiocolina catalisado pela AChE forma o ânion

5-tio-2-nitrobenzoato (TNB). Este ânion é formado pela reação do DTNB com as tiocolinas resultantes da hidrólise. No final da reação, a concentração deste ânion pode ser determinada em $\lambda_{\text{máx}} = 412 \text{ nm}$, recorrendo a um espectrofotômetro em temperatura ambiente. A atividade da AChE foi expressa em μmol de acetiltiocolina hidrolisada/hora/miligrama de proteína.

4.7.1.3. Aspectos Éticos

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMS. A manipulação e cuidados com os animais foram realizados de acordo com a Lei nº 11.794, de 2008 e com a diretriz Brasileira de Prática Para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBPA).

4.7.2 Atividade Citotóxica

Inicialmente, realizou-se o preparo da solução a ser testada no teste citotoxicidade. Foram pesadas 4 mg do extrato de gengibre e diluídas, com o auxílio de vórtex, em 1 mL de meio de cultura. Desta solução foram preparadas as seguintes concentrações teste: 5, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de meio de cultura suplementado com soro bovino fetal.

As células de hepatoma de *Rattus norvegicus* (HTC), adquiridas do Banco de Células do Rio de Janeiro, foram cultivadas em frascos de cultura de 25 cm^2 contendo 10 mL de meio de cultura DMEM suplementado com 10% de soro bovino fetal (Invitrogen – Carlsbad, CA, EUA) e incubadas em estufa tipo BOD a 37 °C.

O teste da atividade citotóxica foi realizado pelo ensaio MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenil tetrazolium bromide], de acordo com o protocolo sugerido por Mosmann (1983), com modificações. Foram utilizadas placas de cultivo de 96 poços onde, em cada poço, foram semeadas $2,0 \times 10^4$ células HTC, com exceção do poço de controle sem célula (branco). Após 24 horas, o meio de cultura de cada poço foi descartado e adicionou-se 100 μL de meio completo para os grupos: controle negativo (CO^-) (meio de cultura), controle positivo (CO^+) com o agente citotóxico metil metanossulfanato (MMS 500 μM) e os tratamentos com as diferentes concentrações do extrato.

As células foram incubadas por 24, 48 e 72 horas e, após esse tempo, o meio de cultura foi substituído por 100 μL de meio de cultura não suplementado, acrescido de MTT (0,167 mg mL^{-1}). A placa foi incubada novamente por mais 4 horas e, na sequência, foi descartado o meio

contendo MTT e aos poços foram adicionados 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) para solubilização dos cristais de formazan. As leituras das absorvâncias foram realizadas em uma leitora de microplaca (Thermo Plate) a 560 nm.

Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão das absorvâncias e submetidos à análise de variância (one way ANOVA), seguido do teste de Dunnet, com o uso do programa Action Stat. As diferenças foram consideradas sendo estatisticamente significativas quando o valor de p foi menor que 0,05. Os valores percentuais de viabilidade celular (VC) foram estimados por meio da Equação 11.

$$VC = \left(\frac{ABS_T}{ABS_{C0-}} \right) \times 100 \quad (11)$$

Onde, VC é a viabilidade celular (%), ABS_T é a absorvância do tratamento e ABS_{C0-} é a absorvância do controle negativo.

4.8 PRODUÇÃO DE LIPOSSOMAS

A produção dos lipossomas foi realizada pelo método de injeção de etanol conforme proposto por Zômpero *et al.* (2015), com modificações.

Para a produção da fase orgânica, o fosfolípido (lecitina de soja- $\text{MM}:780 \text{ g mol}^{-1}$) foi disperso em etanol a uma concentração de 4,64 mM em banho ultrassônico (cuba de ultrassom Cristófoli, 42 KHz) com temperatura controlada ($40 \pm 2^\circ\text{C}$), até total dissolução. A proporção de extrato de gengibre foi de 10, 20 e 30% (m/m) em relação ao fosfolípido, o qual foi adicionado a mistura etanólica. Na sequência, realizou-se a injeção da fase orgânica em água em temperatura ambiente, considerando uma razão de 10% (v/v) de solução orgânica em água a uma vazão de $10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com velocidade de agitação controlada em 1300 rpm.

4.8.1 Dispersão dinâmica de luz (DLS) e potencial Zeta

A análise do tamanho, polidispersidade e potencial zeta dos lipossomas foi realizada com o equipamento DLS Litesizer 500 (Aton Paar), na temperatura de 25°C . As análises dos dados foram realizadas pelo software incluído no sistema.

4.8.2 Eficiência de Encapsulação

A eficiência de encapsulação (%EE) foi realizada conforme metodologia descrita por Trucillo *et al.* (2018), com modificações.

As suspensões lipossomais obtidas, foram mantidas sob refrigeração (≈ -15 °C) por 50 min, posteriormente as soluções foram centrifugadas a 8000 rpm por 1 h, o sobrenadante foi removido para a determinação da %EE.

A quantidade de compostos fenólicos no sobrenadante foi estimada utilizando-se o ensaio colorimétrico Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis model) no comprimento de onda de 725 nm. As concentrações dos compostos fenólicos foram expressas em miligrama equivalente de ácido gálico por grama de amostra (EAG gEG^{-1}), através de uma curva padrão de ácido gálico com diferentes concentrações (0 – 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, $R^2 = 0,9993$).

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram avaliados através da análise de variância Anova (n=6), teste Tukey (p<5), superfície de resposta e a análise da componente principal (PCA) utilizando software Statistica® 8.0. Para análise dos parâmetros cinéticos utilizou-se qui-quadrado reduzido (χ^2), erro quadrático médio (MSE), raiz do erro quadrático médio (RMSE), raiz do erro quadrático médio normalizado (NRMSE) e a análise estatística da eficiência do modelo (EF), representados pelas Equação de 12 a 13, respectivamente (MEISAMI-ASL *et al.*, 2010).

$$\chi^2 = \frac{\sum([Rad Liv]_{exp} - [Rad Liv]_{cal})^2}{N_o - N_c} \quad (12)$$

$$MSE = \frac{1}{N_o} \sum ([Rad Liv]_{exp} - [Rad Liv]_{cal})^2 \quad (13)$$

$$RMSE = \left(\frac{1}{N_o} \sum ([Rad Liv]_{exp} - [Rad Liv]_{cal})^2 \right)^{\frac{1}{2}} \quad (14)$$

$$NRMSE = \frac{RMSE}{[Rad Liv]_{max} - [Rad Liv]_{min}} \quad (15)$$

$$EF = \frac{\sum([Rad Liv]_{exp} - [Rad Liv]_{exp})^2 - \sum([Rad Liv]_{cal} - [Rad Liv]_{exp})^2}{\sum([Rad Liv]_{exp} - [Rad Liv]_{exp})^2} \quad (16)$$

Sendo que $[Rad\ Liv]_{exp}$ corresponde ao valor do consumo de DPPH e ABTS^{•+} experimentalmente, $[Rad\ Liv]_{max}$ e $[Rad\ Liv]_{min}$ o máximo e mínimo valor de consumo do radical livre, N_0 o número de observações e N_c o número de constantes do modelo. Para a análise estatística da eficiência do modelo, os melhores ajustes são valores próximos de 1, para as demais análises o melhor valor corresponde a aproximadamente 0 (MEISAMI-ASL *et al.*, 2010).

Os resultados obtidos através dos ensaios enzimáticos *in vitro* foram analisados pelo GraphPad Prism através da análise de variância de uma via (one-way ANOVA) seguida pelo teste post hoc de Dunnett, ou testes não paramétricos equivalentes. Os resultados foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$. Para os ensaios da atividade citotóxica foi aplicado o teste post hoc de Dunnett.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

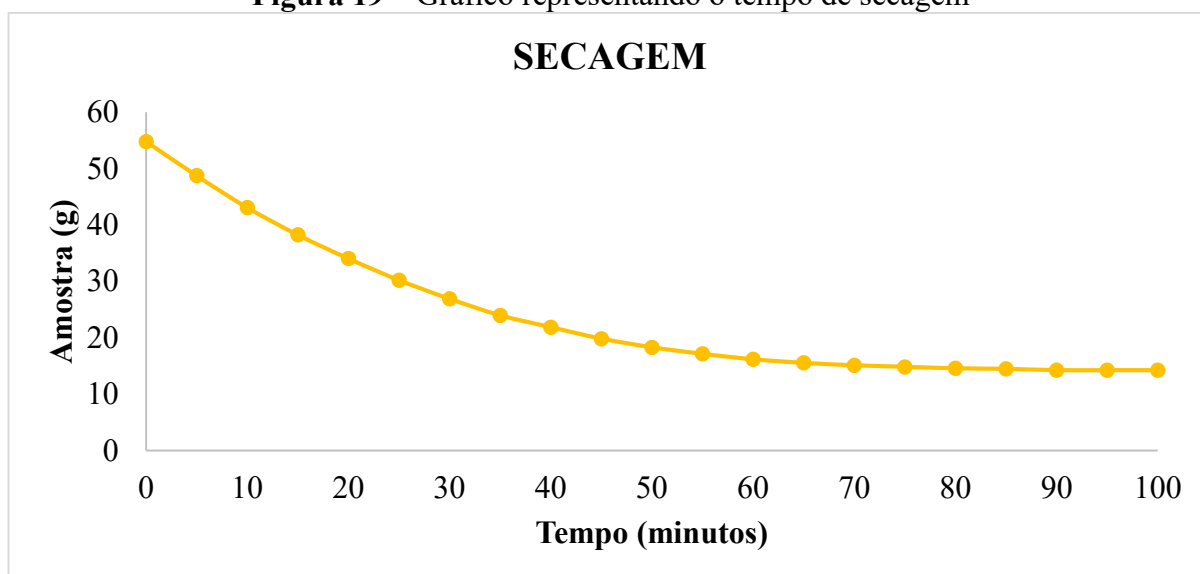
5.1 UMIDADE

O teor de umidade da amostra avaliada ($81,1214 \pm 0,5496$ %) foi próximo a valores encontrados por Oliveira (2018), que comparou o teor de umidade do gengibre de dois estados e obteve uma variação de (85 a 86,25 %). Conforme Souza *et al.* (2019), o teor de umidade do gengibre pode variar de 80 a 90%, devido as condições climáticas e técnicas de cultivo.

5.2 SECAGEM

A partir da curva (Figura 19) obtida através dos dados da cinética de secagem, foi possível determinar o tempo de secagem das amostras, onde a curva apresenta o decaimento da massa de gengibre *in natura* em relação do tempo (t).

Figura 19 – Gráfico representando o tempo de secagem



Fonte: Autora (2020)

Os primeiros minutos correspondem ao período em que o gengibre se adapta às condições de secagem, é possível observar no gráfico que a massa tem um maior decaimento nos primeiros 40 minutos do processo. Segundo Celestino (2010), nesse intervalo de tempo a superfície do alimento fica saturada, o que facilita a evaporação da água livre ali presente. A partir de então, há um aumento na resistência interna dificultando que o líquido presente no

interior do gengibre chegue à superfície para suprir a água evaporada, fato esse que se mantém até a obtenção de massa constante.

A técnica de secagem tem como objetivo a remoção de água presente no material a ser trabalhado através dos processos de transferência de massa e de calor, envolvendo condições controladas de temperatura, umidade e corrente de ar (CELESTINO, 2010; NADAR; RAO; RATHOD, 2018). Sabe-se que a água presente nos alimentos é a responsável pelo equilíbrio químico, físico e também é utilizada como controle no desenvolvimento microbiano. Assim sendo, a secagem é utilizada como um meio de conservação pois, ao reduzir o teor de água no alimento conseqüentemente o desenvolvimento microbiológico também será reduzido, retardando as reações químicas de deterioração (AN *et al.*, 2016; FRAZIER, 2015). Além de promover o aumento da porosidade do sólido pela remoção da água, o que facilita a etapa de extração (NADAR; RAO; RATHOD, 2018).

A temperatura de secagem dos alimentos tem influência direta na preservação de seus compostos bioativos. Em estudos realizados por Mahayothee *et al.* (2020), foram comparadas diferentes temperaturas de secagem (40, 50, 60, 70 e 80 °C) do gengibre e observou-se que o processo realizado a 80°C proporcionou um melhor resultado de atividade antioxidante, indicando que não houve a degradação dos compostos bioativos ali presentes. Camargo *et al.* (2019) comparou a atividade antioxidante do gengibre exposto a diferentes temperaturas de secagem (40, 60 e 80 °C), e também constatou uma melhor atividade antioxidante quando seco a 80 °C. Com base nesses estudos, determinou-se que a temperatura de 80 °C deveria ser a condição de secagem para as amostras utilizadas neste trabalho.

Além de facilitar o transporte, aumentar a vida útil do alimento e a concentração dos compostos, uma outra vantagem que a secagem com temperatura controlada oferece é a conversão de compostos bioativos (BORAH *et al.*, 2017). Ghasemzadeh *et al.* (2018), analisaram o efeito da secagem no rizoma de gengibre comparando diferentes tipos de secagem e temperaturas, notando que, ao elevar a temperatura de 120 °C para 150 °C, foi possível identificar o shogaol, comprovando a conversão de gingerol em shogaol. Um outro ponto observado por Ghasemzadeh *et al.* (2018), foi que a secagem a elevadas temperaturas apresentava elevada concentração de shogaol quando realizadas por um período de até 6 horas, depois disso o composto começava a se degradar, conclui-se então que ao realizar a secagem com temperatura elevada, o tempo de permanência da amostra em estufa deve ser menor para não comprometer a amostra estudada.

Independentemente do método aplicado para a determinação da capacidade antioxidante do gengibre, a literatura mostra que o extrato preparado com o gengibre seco e

utilizando como solvente o etanol, apresentam uma maior atividade antioxidante. Com isso, entende-se que o gengibre, ao passar por um processo térmico, a energia recebida dá início a uma reação química que converte os compostos presentes em substâncias com maior atividade antioxidante (LI, YUXIN *et al.*, 2016).

5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Foi avaliado o efeito de duas variáveis independentes no processo de extração, a temperatura (20, 25, 40, 55 e 60°C) e o tempo (0,5; 4; 12, 20 e 24 horas). O ensaio de atividade antioxidante foi utilizado para avaliar a qualidade dos extratos etanólicos, conforme o planejamento experimental descrito anteriormente.

O solvente utilizado para a produção dos extratos foi escolhido com base em estudos desenvolvidos por Camargo *et al.* (2019), no qual comparou-se as extrações do gengibre seco à diferentes temperaturas (40, 60 e 80 °C) com dois solventes, etanol e metanol, 70:30 e 95:5 (v/v), respectivamente, sendo que o extrato produzido com etanol (70:30 v/v) apresentou elevado teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

A Tabela 02 consta os resultados obtidos para a avaliação da atividade antioxidante dos ensaios DPPH, ABTS e habilidade quelante de ferro (II).

Tabela 02 – Resultados das porcentagens de atividade antioxidante (%AA) para os diferentes extratos do gengibre

EG	T (°C)	t (h)	DPPH (%)	ABTS (%)	HB (%)
1	25	4	82,2009 ^{e,g} (± 0,1284)	21,0511 ^g (± 0,2081)	92,6253 ^{b,c} (± 0,1525)
2	55	20	82,5175 ^{f,g} (± 0,0815)	27,2929 ^b (± 0,1480)	99,8951 ^a (± 0,0231)
3	40	0,5	86,3379 ^b (± 0,1491)	23,3601 ^{d,e} (± 0,1743)	88,6078 ^f (± 0,1488)
4	25	20	88,4858 ^a (± 0,1320)	27,6013 ^b (± 0,2662)	90,3522 ^e (± 0,0600)
5	40	12	82,4591 ^{f,g} (± 0,1702)	22,3872 ^f (± 0,2170)	91,5952 ^d (± 0,0898)
6	60	12	83,5804 ^d (± 0,1349)	29,8673 ^a (± 0,2074)	99,7810 ^a (± 0,0592)
7	40	12	82,7765 ^f (± 0,1509)	22,5749 ^{e,f} (± 0,0919)	91,2749 ^d (± 0,1830)
8	55	4	81,7739 ^e (± 0,0452)	23,5181 ^d (± 0,0673)	92,2745 ^e (± 0,1326)
9	20	12	85,1680 ^c (± 0,0506)	24,7036 ^c (± 0,1091)	87,1463 ^g (± 0,2179)
10	40	12	82,4948 ^{f,g} (± 0,0947)	23,1409 ^{d,e,f} (± 0,0367)	91,2709 ^d (± 0,2089)
11	40	24	85,6610 ^c (± 0,1059)	23,7348 ^d (± 0,1648)	93,2244 ^b (± 0,1145)

EG: Extrato de Gengibre, T: temperatura, t: tempo, HB: Habilidade quelante de ferro (II). Os dados representam a média das amostras (n=6). Na mesma coluna, valores com letras iguais não diferenciam significativamente (p<0,05)

Fonte: Autora (2020)

A atividade antioxidante avaliada pelo método de redução do radical DPPH apresentou como melhor resposta o ensaio 4 (25 °C por 20 h), e a menor proporção de redução do radical foram obtidos para os ensaios 1 (25 °C por 4 h) e 6 (60 °C por 12h). Os resultados obtidos do extrato etanólico de gengibre indicam uma efetiva extração dos compostos bioativos responsáveis pela ação antioxidante da amostra avaliada, chegando a aproximadamente 88,50% de redução do radical formado. O resultado obtido no presente trabalho está entre os resultados encontrados por Camargo *et al.* (2019) e Tanweer *et al.* (2020), onde avaliaram a atividade antioxidante de extratos etanólicos de gengibre seco, alcançando 91,29% e 51,10% de redução do radical DPPH, respectivamente. A diferença na porcentagem de atividade antioxidante encontrada pelos pesquisadores citados pode estar relacionada com a diferença da proporção de solvente de extração que utilizaram, tendo em vista que Camargo *et al.* (2019) utilizou uma solução de etanol:água 70:30 (v/v), já Tanweer *et al.* (2020), apesar de também ter utilizado como solvente etanol:água, alterou a proporção empregada, sendo ela 50:50 (v/v), observa-se que uma maior quantidade de solvente polar garante uma melhor atividade antioxidante ao extrato de gengibre, indicando que os compostos bioativos extraídos apresentam característica polar.

Para o teste de redução do radical ABTS (Tabela 02), a variação foi de $21,0511 \pm 0,2081\%$ (ensaio 1) a $29,8673 \pm 0,2074\%$ (ensaio 6), mostrando que o extrato etanólico de gengibre apresenta uma baixa ação redutora do radical ABTS^{*+}, sendo que a maior porcentagem de redução obtida foi nas condições de 60 °C por 12 horas. Apesar de ter utilizado a mesma proporção e tipo de solvente para a extração do gengibre, etanol:água (70:30 (v/v)), Camargo *et al.* (2019) obtiveram uma resposta superior ao encontrado nesse trabalho, com um potencial de redução de 69,97% do radical ABTS^{*+}. A diferença de porcentagem de redução do radical ABTS^{*+} pode ser atribuída ao método de agitação (magnética e shaker) e às condições de cultivo (plantio e colheita provenientes de épocas diferentes), haja vista que ambos trabalhos utilizaram as mesmas proporções em relação amostra:solvente (1:2, m/v).

Os resultados (Tabela 02) mostram o elevado potencial do gengibre referente ao teste de HB, com destaque para os extratos 2 ($99,8951 \pm 0,0231\%$) e 6 ($99,7810 \pm 0,0592\%$), que foram preparados nas condições de 55 °C por 20 h e 60 °C por 12 h, respectivamente, não apresentando diferença significativa entre seus valores ($p < 0.5$). Os resultados obtidos para este ensaio foram superiores aos resultados obtidos por Zhang *et al.* (2011), que aplicou esse mesmo teste em três extratos do rizoma de gengibre, ácido, aquoso e alcalino, obtendo valores de 96,3%, 82,4% e 62,5%, respectivamente. Já Tanweer *et al.* (2020), avaliaram a extração

(etanol:água 50:50 v/v) de diferentes partes do gengibre, sendo elas folhas, flor e rizoma e obtiveram valores bem abaixo, sendo 32,02%, 18,70% e 15,62%, respectivamente.

Diferenças na atividade antioxidante podem estar associadas a diversos fatores que influenciam no resultado final, tais como ponto de maturação e condições do cultivo do gengibre, solvente de extração, condições de secagem e tempo de armazenamento da amostra (FERREIRA, F. B., 2020; TANWEER *et al.*, 2020).

Cada teste aplicado responde de forma diferente, o DPPH e ABTS estão relacionados com a capacidade do extrato em estabilizar o radical formado através da troca eletrônica/atômica. Entretanto, como os radicais formados são diferentes, o composto extraído reage de maneira distinta, ou seja, pelos testes aplicados observa-se que o extrato de gengibre consegue inibir o radical DPPH mas a reação com o radical ABTS não é tão efetiva.

A habilidade quelante de ferro (II) refere-se ao potencial da amostra em quelar metais livres, visto que, quando em excesso, esses íons são um dos responsáveis pela fase inicial das reações de oxidação. Pelos resultados obtidos, as condições de extração que apresentaram as melhores respostas ao teste de habilidade quelante de ferro (II) foram 60 °C por 12 horas, sendo as mesmas condições encontradas para o teste de redução do radical ABTS.

A otimização de extração estudada mostrou que o aumento da temperatura de extração (50 a 60 °C) influenciou de maneira positiva na obtenção dos compostos bioativos do gengibre, pois esse aumento faz com que as amostras permanecessem por um menor tempo em contato com o calor, evitando a degradação dos compostos. Hsieh *et al.* (2020) relata em seu estudo sobre o gengibre que, em baixas temperaturas a extração não é eficiente, pois dificulta a solubilização do composto no solvente e em temperaturas acima de 60 °C podem levar a deterioração dos compostos extraídos.

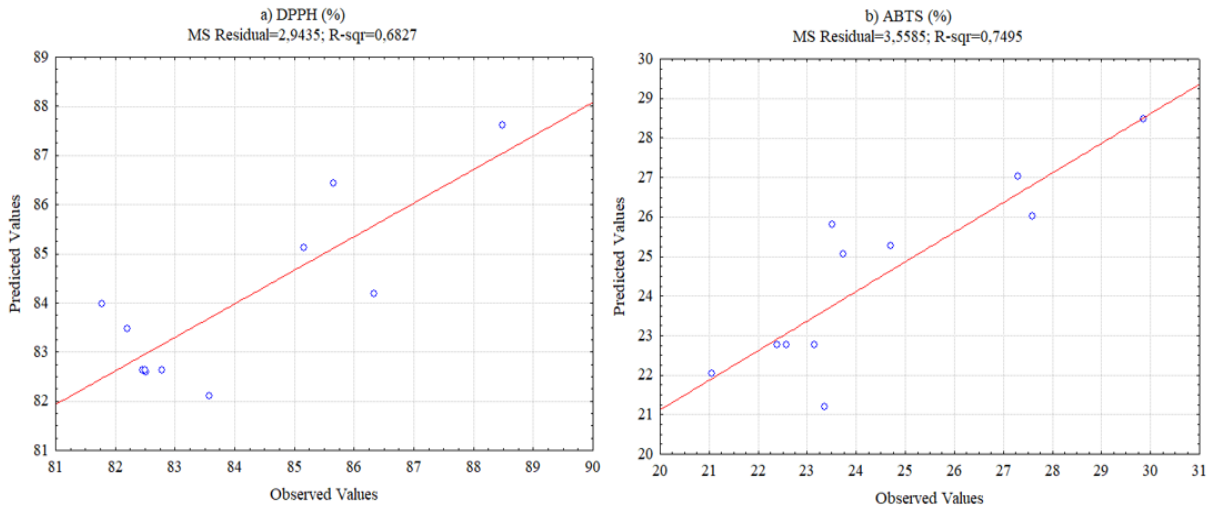
5.3.1 Análise da Superfície de Resposta e Avaliação do Componente Principal

O planejamento fatorial apresenta como principal vantagem a redução de experimentos, devido a possibilidade de gerar um modelo matemático no qual permite prever o comportamento da amostra em condições que não foram avaliadas. Neste trabalho foi realizado um delineamento composto central rotacional 2² e avaliados individualmente para cada teste antioxidante.

O planejamento fatorial escolhido não se ajustou aos modelos referentes aos ensaios de DPPH e ABTS, conforme os gráficos de tendência (Figura 20), apresentaram R² baixo, 0,6827 e 0,7495, respectivamente, e também, apresentou erro residual relativamente alto

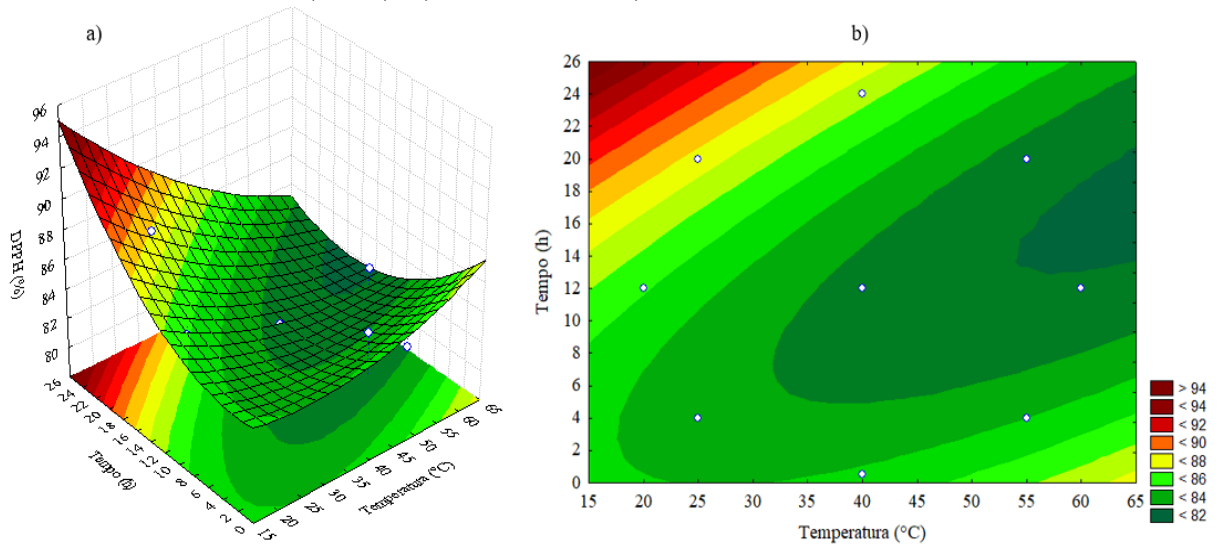
(2,9435 para o DPPH e 3,5585 para o ABTS), que é justificável pela não adequação do modelo proposto, quanto mais próximo for os valores sugeridos ao modelo proposto e os obtidos experimentalmente, menor será o erro. Apesar disso, é possível gerar o gráfico de superfície de resposta (Figuras 21 e 22) para uma melhor visualização dos resultados experimentais obtidos.

Figura 20 – Modelos propostos pelo planejamento fatorial 2^2 para os testes a) DPPH e b) ABTS



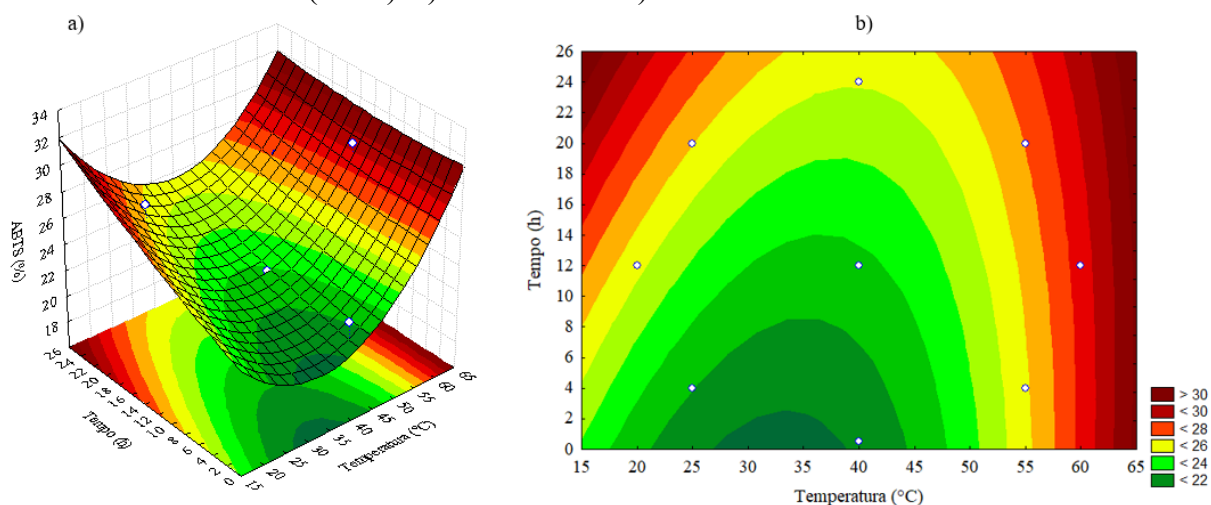
Fonte: Autora (2021)

Figura 21 – Superfície de resposta para o teste DPPH em relação a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e tempo (horas). a) Gráfico 3D e b) Gráfico de contorno



Fonte: Autora (2021)

Figura 22 – Superfície de resposta para o teste ABTS em relação a temperatura (°C) e tempo (horas). a) Gráfico 3D e b) Gráfico de contorno



Fonte: Autora (2021)

Pelos gráficos de superfícies de resposta que indicam a relação entre as variáveis tempo e temperatura para o teste de DPPH (Figura 20), nota-se que para a obtenção do percentual máximo de redução do radical DPPH, o extrato deve ser produzido em temperaturas mais baixas (20 a 40 °C) e tempos mais longos (20 a 26 h). Os resultados obtidos mostram que as condições aplicadas (40 °C por 12 h) estão dentro da faixa ótima estimada pelo modelo, alcançando até 88% de redução do radical.

Os gráficos de superfície de resposta para o teste de redução do radical ABTS (Figura 21), apresentaram duas regiões para obtenção do potencial máximo das amostras. A primeira está relacionada com a faixa de 55 a 65 °C com tempo variando de 6 a 18 h, maiores temperaturas e menores tempos de extração e a segunda região mostra que os extratos podem ser preparados em baixas temperaturas quando o tempo de extração for maior (15 a 20°C por 22 a 28 h). Os resultados reais obtidos condizem com a primeira região descrita (29% de redução do radical ABTS a condição de 60 °C por 12 h).

Para avaliação da habilidade quelante de ferro (II), o modelo proposto apresentou ajuste conforme o gráfico de tendência de resposta (Figura 23), apresentando R^2 igual a 0,9029 e erro residual de 3,1158. Observa-se que o teste de habilidade quelante apresenta os resultados experimentais que mais se aproximam dos valores preditos pelo modelo (linha vermelha), ao contrário do que foi obtido nos testes anteriores.

Figura 23 – Modelo proposto pelo planejamento fatorial 2^2 para o teste de habilidade quelante de ferro (II)

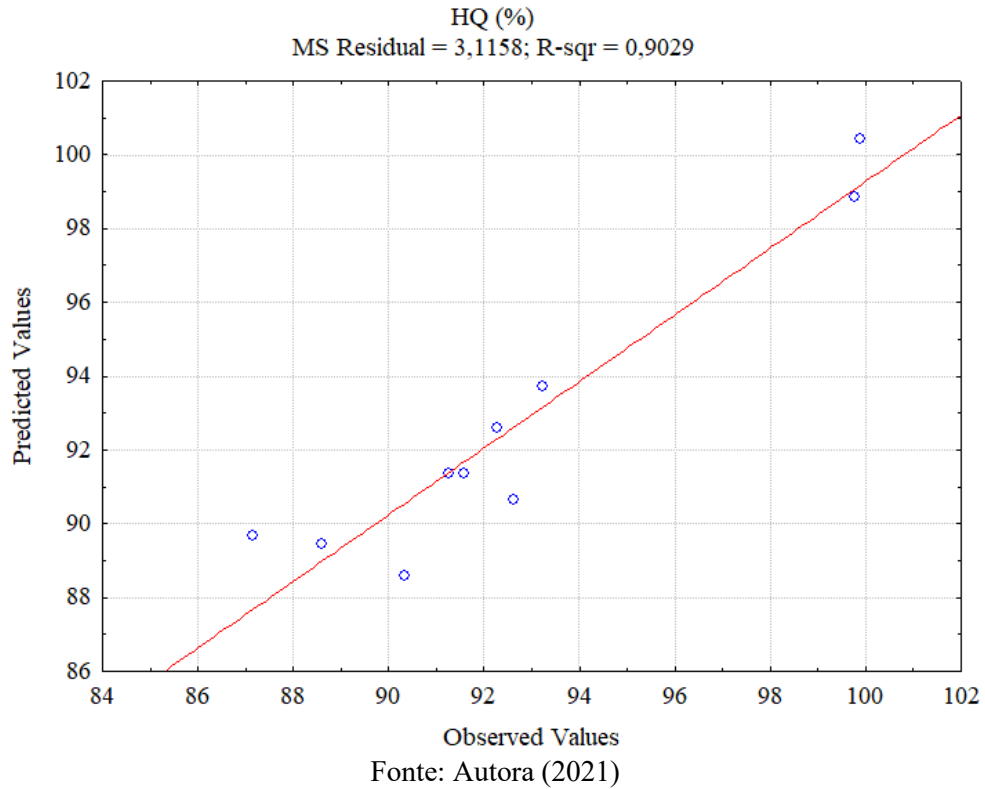
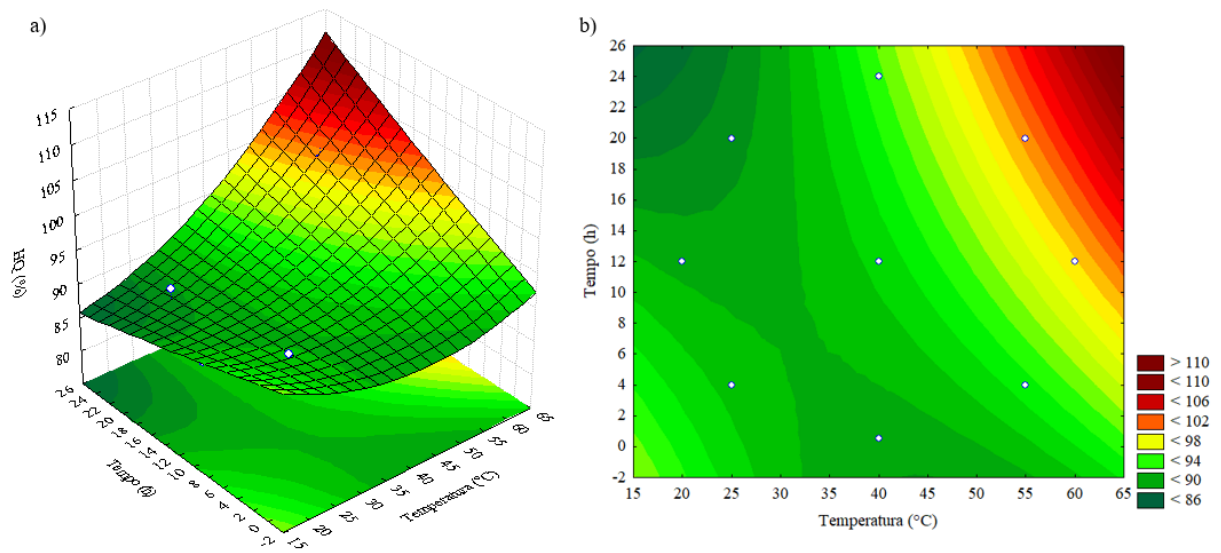


Figura 24 – Superfície de resposta para o teste Habilidade Quelante de Ferro (II) em relação a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e tempo (horas). a) Gráfico 3D e b) Gráfico de contorno

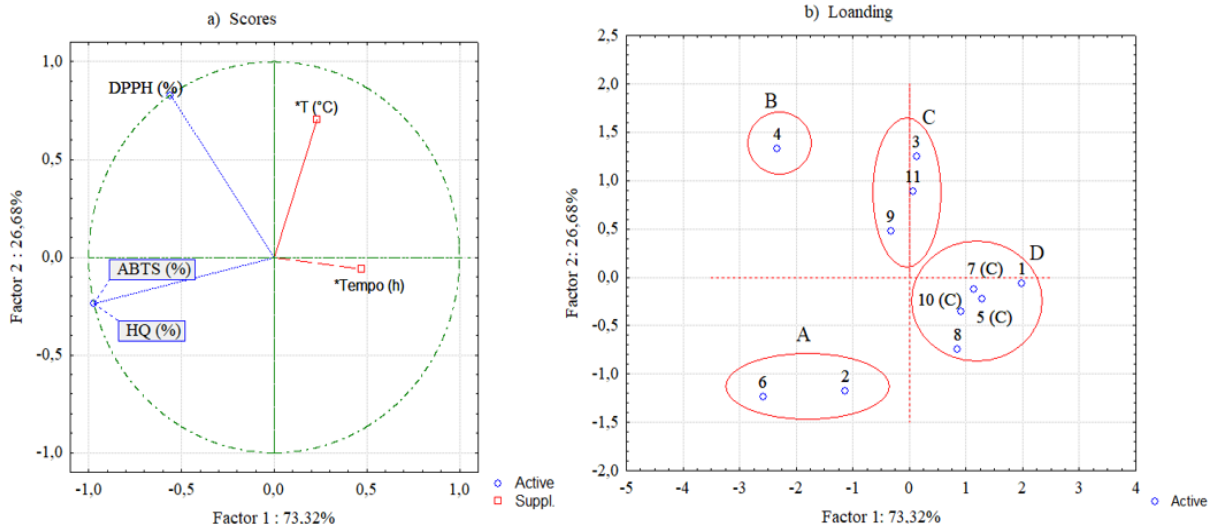


Como pode ser observado nos gráficos da Figura 24 e pelos resultados experimentais obtidos, tanto para o teste de redução do radical ABTS quanto para habilidade quelante de ferro (II), a condição ideal de extração seria 60°C por 12 h.

Para uma melhor percepção dos resultados e uma avaliação mais minuciosa dos dados obtidos, aplicou-se a análise de componentes principais (PCA), afim de observar semelhanças e/ou diferenças e a influência que os parâmetros temperatura e tempo exercem sobre os extratos de gengibre, a partir dos resultados dos testes referentes a atividade antioxidante. Esta análise baseia-se em uma técnica de multivariáveis que transforma um conjunto de resultados originais em outro conjunto de variáveis com mesma dimensão chamadas de componentes principais.

Na Figura 25, observa-se a projeção da PCA em um espaço no plano, do qual somente as duas primeiras componentes foram mais significativas para a variância explicada dos dados, sendo que, combinadas, explicou 100% da variância total dos dados originais.

Figura 25 – Gráfico da análise PCA para as variáveis aplicadas. a) Projeção das variáveis no plano fatorial e b) Projeção dos resultados no plano fatorial



Fonte: Autora (2021)

Os gráficos gerados pelo PCA exemplificam e direcionam sobre a melhor condição de extração, sendo que a Figura 25 (a) expõem os testes aplicados (DPPH, ABTS e habilidade quelante de ferro (II)), nota-se que os ensaios ABTS e quelante de ferro (II) apresentam uma associação negativa tanto pra PC1 como para a PC2, e estão no mesmo quadrante indicando que nesses pontos existe uma relação entre os melhores pontos, que podem ser identificados na Figura 25 (b). Já o DPPH aparece no quadrante seguinte e apresenta uma associação positiva para a PC2 e negativa para a PC1, indicando que os pontos de maior atividade antioxidante são diferentes dos pontos referentes aos outros testes citados.

Pela Figura 25 (b), através da projeção da PC1 x PC2, observa-se a formação de quatro grupos A, B, C e D. O grupo A, formado pelos extratos 2 e 6, o grupo B, pelo extrato 4, o grupo C pelos extratos 3, 9 e 11 e o grupo D pelos extratos dos pontos centrais 5, 7 e 10 e pelos

extratos 1 e 8. Através da distribuição das amostras no plano bidimensional verificaram-se semelhança entre os extratos pertencentes aos grupos C e D, posicionadas positivamente na PC1, sendo a componente que mais contribuiu para a separação dos grupos, explicando 73,32% da variância dos dados.

Já os extratos do grupo A posicionados negativamente na PC1 e PC2, e o extrato do grupo B posicionado negativamente na PC1 e positivamente na PC2 correspondem a 26,68% da variância dos dados. Com o modelo obtido da análise PCA, confirmou-se a influência da temperatura e tempo de extração sobre os testes relacionados a atividade antioxidante, mostrando que o tempo tem uma maior influência sobre os testes de ABTS e habilidade quelante de ferro (II), visto que pertencem ao mesmo quadrante. Já para o teste DPPH, o fator com maior influência é a temperatura.

A técnica de análise PCA mostrou-se eficaz na interpretação dos resultados referentes aos testes de atividade antioxidante aplicados ao EG, estando de acordo com os resultados apresentados pela metodologia da superfície de resposta. Em função disso, foi comparado a Figura 25 (a) e (b) com a resposta estatística Anova. Sendo assim, o extrato de gengibre número 6 (60 °C por 12h) foi o escolhido como a melhor opção, dentre as condições avaliadas, para dar continuidade às etapas subsequentes do trabalho.

5.3.2 Avaliação da Cinética de Reação dos Métodos DPPH e ABTS

Os ajustes matemáticos para determinação dos parâmetros cinéticos, entre o melhor extrato de gengibre e os radicais DPPH e ABTS^{•+}, foram realizados através da minimização das Equações 06 e 07. Foram plotados os gráficos relacionados ao consumo dos radicais livres DPPH e ABTS^{•+} durante a reação com o extrato 6 (Figuras 26 e 27) e na Tabela 3, é apresentado os dados de k e α ajustados para cada condição experimental, juntamente com as análises estatísticas. Vale ressaltar que para o ensaio de ABTS^{•+}, para as ordens 1 e 2, os valores de α não foram relacionados pois não apresentaram valores positivos aos ajustes matemáticos.

Tabela 3 - Valores de k e α para cinética de reação do extrato de gengibre com os radicais DPPH e ABTS^{•+} variando a temperatura do meio reacional.

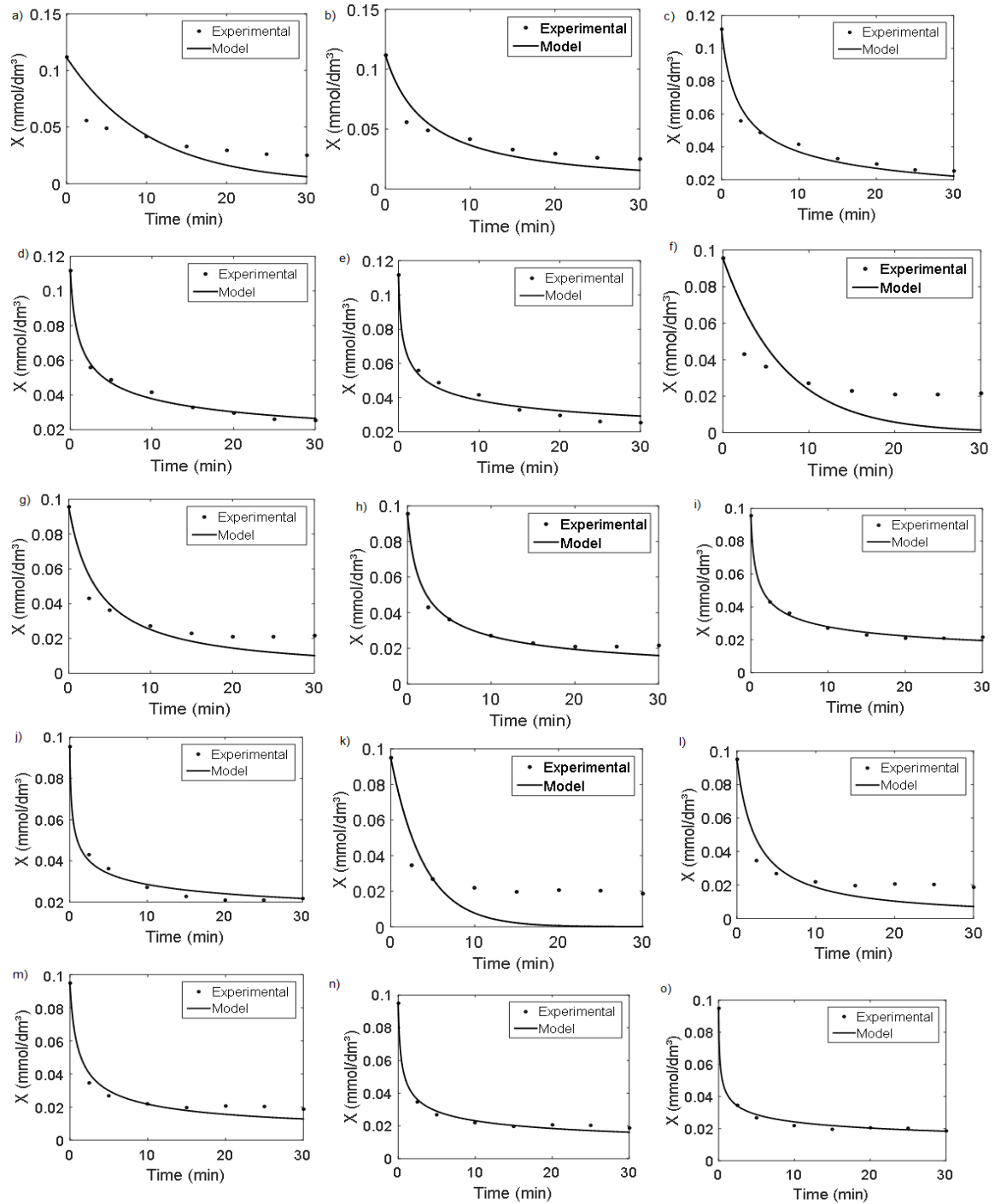
AJUSTES DE k E α PARA CINÉTICA DOS RADICAIS LIVRES									
α	DPPH					ABTS ^{•+}			
	1	2	3	4	5	3	4	5	
$k(20^{\circ}\text{C})$	9,59E-02	1,84E+00	3,25E+01	5,90E+02	1,14E+04	8,55E-03	5,99E-03	4,19E-03	
χ^2	3,75E-04	1,04E-04	1,89E-05	4,88E-06	1,34E-05	3,61E-02	2,88E-02	2,27E-02	

MSE	2,81E-04	7,80E-05	1,42E-05	3,66E-06	1,00E-05	2,71E-02	2,16E-02	1,70E-02
RMSE	1,68E-02	8,83E-03	3,77E-03	1,91E-03	3,17E-03	1,65E-01	1,47E-01	1,30E-01
NRMSE	1,94E-01	1,02E-01	4,36E-02	2,21E-02	3,67E-02	2,90E-01	2,59E-01	2,30E-01
EF	6,05E-01	8,90E-01	9,80E-01	9,95E-01	9,86E-01	1,29E-01	3,04E-01	4,53E-01
k(40°C)	1,40E-01	2,94E+00	6,37E+01	1,49E+03	3,73E+04	2,81E-02	2,24E-02	1,77E-02
χ^2	3,02E-04	7,69E-05	1,25E-05	2,24E-06	7,93E-06	2,04E-02	8,81E-03	3,86E-03
MSE	2,26E-04	5,76E-05	9,36E-06	1,68E-06	5,95E-06	1,53E-02	6,61E-03	2,89E-03
RMSE	1,50E-02	7,59E-03	3,06E-03	1,30E-03	2,44E-03	1,24E-01	8,13E-02	5,38E-02
NRMSE	2,02E-01	1,02E-01	4,10E-02	1,74E-02	3,27E-02	1,08E-01	7,10E-02	4,70E-02
EF	5,98E-01	8,98E-01	9,83E-01	9,97E-01	9,89E-01	8,73E-01	9,45E-01	9,76E-01
k(50°C)	2,51E-01	4,29E+00	1,00E+02	2,66E+03	7,17E+04	3,66E-02	2,99E-02	2,43E-02
χ^2	3,17E-04	9,84E-05	2,38E+00	5,66E-06	7,75E-06	3,44E-02	1,42E-02	4,89E-03
MSE	2,38E-04	7,38E-05	1,78E-05	4,24E-06	5,81E-06	2,58E-02	1,07E-02	3,66E-03
RMSE	1,54E-02	8,59E-03	4,22E-03	2,06E-03	2,41E-03	1,61E-01	1,03E-01	6,05E-02
NRMSE	2,02E-01	1,13E-01	5,54E-02	2,70E-02	3,16E-02	1,35E-01	8,64E-02	5,07E-02
EF	5,95E-01	8,74E-01	9,70E-01	9,93E-01	9,90E-01	8,13E-01	9,23E-01	9,73E-01

Os valores de k , χ^2 , MSE, RMSE, NRMSE e EF estão expressos em J mol^{-1}

Através da Tabela 3, observa-se que os melhores ajustes cinéticos de α para o consumo dos radicais DPPH e ABTS^{•+} foram 4 e 5, respectivamente. Além disso, nota-se que temperaturas mais elevadas contribuem com o aumento da taxa de reação, assim como os resultados da atividade antioxidante dos extratos de gengibre também apresentaram uma melhor ação em temperaturas relativamente elevadas. Esse perfil é verificado em reações elementares do tipo irreversível e ocorre devido ao aumento de temperatura do meio reacional, levando ao aumento da energia cinética média dos reagentes (BALL; KEY, 2014). Os fatores que mais influenciam o valor de k são a concentração do reagente, o estado físico em que ocorre a reação, área superficial, temperatura e a presença de catalisadores (AQUILANTI; COUTINHO; SILVA, 2017; BALL; KEY, 2014).

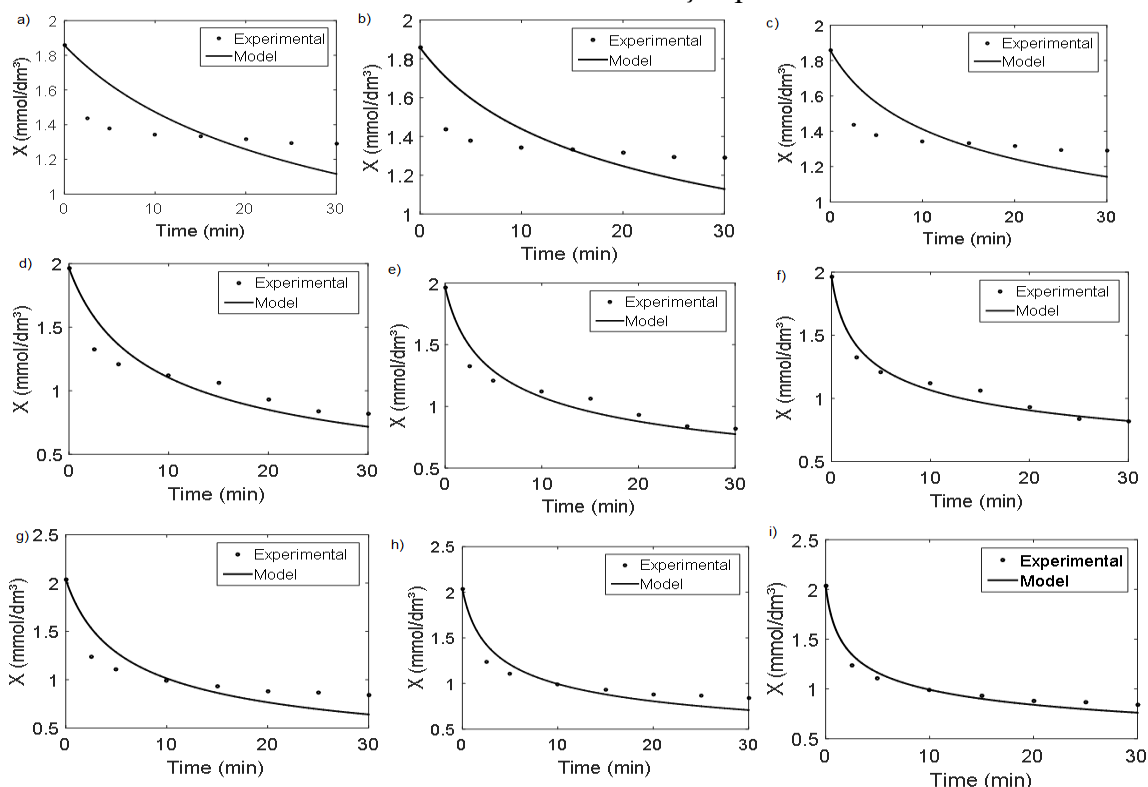
Figura 26 - Consumo do radical livre DPPH ao longo do tempo variando a temperatura do meio reacional e a ordem de reação para o EXTRATO 6.



a) $T=20^\circ\text{C}$ e $\alpha=1$; b) $T=20^\circ\text{C}$ e $\alpha=2$; c) $T=20^\circ\text{C}$ e $\alpha=3$; d) $T=20^\circ\text{C}$ e $\alpha=4$; e) $T=20^\circ\text{C}$ e $\alpha=5$; f) $T=40^\circ\text{C}$ e $\alpha=1$; g) $T=40^\circ\text{C}$ e $\alpha=2$; h) $T=40^\circ\text{C}$ e $\alpha=3$; i) $T=40^\circ\text{C}$ e $\alpha=4$; j) $T=40^\circ\text{C}$ e $\alpha=5$; k) $T=50^\circ\text{C}$ e $\alpha=1$; l) $T=50^\circ\text{C}$ e $\alpha=2$; m) $T=50^\circ\text{C}$ e $\alpha=3$; n) $T=50^\circ\text{C}$ e $\alpha=4$; o) $T=50^\circ\text{C}$ e $\alpha=5$.

Fonte: Autora (2021)

Figura 27 - Consumo do radical livre ABTS•⁺ ao longo do tempo variando a temperatura do meio reacional e a ordem de reação para o extrato 6.



a) T=20°C e $\alpha=3$; b) T=20°C e $\alpha=4$; c) T=20°C e $\alpha=5$; d) T=40°C e $\alpha=3$; e) T=40°C e $\alpha=4$; f) T=40°C e $\alpha=5$; g) T=50°C e $\alpha=3$; h) T=50°C e $\alpha=4$; i) T=50°C e $\alpha=5$.

Fonte: Autora (2021)

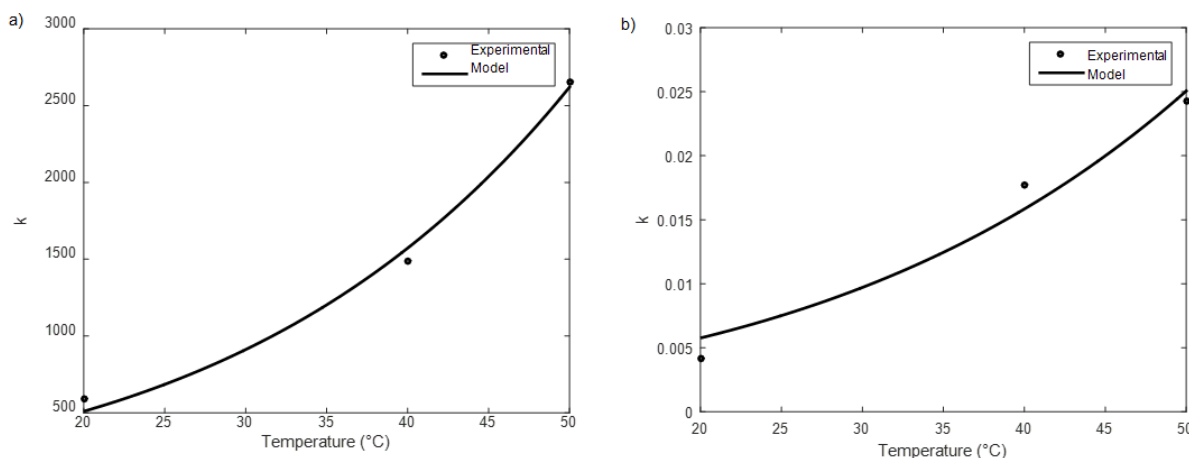
Após obtenção dos valores de k e α para a cinética de consumo dos radicais livres, ajustou-se a Equação 10, possibilitando determinar os valores de k_0 e E para cada temperatura do meio reacional. Os resultados estão expressos na Tabela 04 juntamente com as análises estatísticas. A Figura 28 apresenta os dados ajustados de acordo com o modelo proposto.

Tabela 04 - Ajustes de α , k_0 , E , χ^2 , MSE, RMSE, NRMSE e EF para a cinética de consumo dos radicais livres DPPH e ABTS.

AJUSTE DE k_0 e E PARA A CINÉTICA DOS RADICAIS		
	DPPH	ABTS ^{•+}
α	4	5
k_0	2,32E+10	4,36E+04
E	4,30E+04	3,86E+04
χ^2	1,45E+04	6,45E-06
MSE	4,85E+03	2,15E-06
RMSE	6,96E+01	1,47E-03
NRMSE	3,37E-02	7,30E-02
EF	9,93E-01	9,69E-01

Os valores de k_0 , E , χ^2 , MSE, RMSE, NRMSE e EF estão expressos em J mol⁻¹

Figura 28 - Ajustes para k_0 e E para a cinética de consumo do radical livre. a) DPPH; b) ABTS \bullet^+ .



Fonte: Autora (2021)

A ordem de reação (α) está relacionada diretamente com o tipo de material estudado e condições de reação empregadas ao processo, por exemplo, sabe-se que com o aumento da temperatura de análise obtém-se elevados valores de α (MANZOCCO; ANESE; NICOLI, 1998). Em relação aos valores de E , obteve-se para os testes de DPPH e para o teste ABTS \bullet^+ os valores de $43,0 \text{ kJ mol}^{-1}$ e $38,6 \text{ kJ mol}^{-1}$, respectivamente. Esses dados estão relacionados com a energia necessária para que se dê início a uma reação.

Valores entre $19,3$ e $35,7 \text{ kJ mol}^{-1}$ foram obtidos para o gengibre por Thorat et al. (2012), Akpinar e Toraman (2016) e também para a extração da casca de romã e cereja azeda (BERTOLO *et al.*, 2020; OANCEA *et al.*, 2017). Zogzas et al. (1996) relataram que os valores de energia de ativação podem variar entre $12,7$ e 110 kJ mol^{-1} quando se trabalha com produtos alimentícios que passam por secagem, no caso dos extratos de gengibre avaliados, o valor elevado de E pode ser justificado pela secagem do gengibre a $80 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.3.3 ANÁLISES TÉRMICAS - TG-DTA-DSC

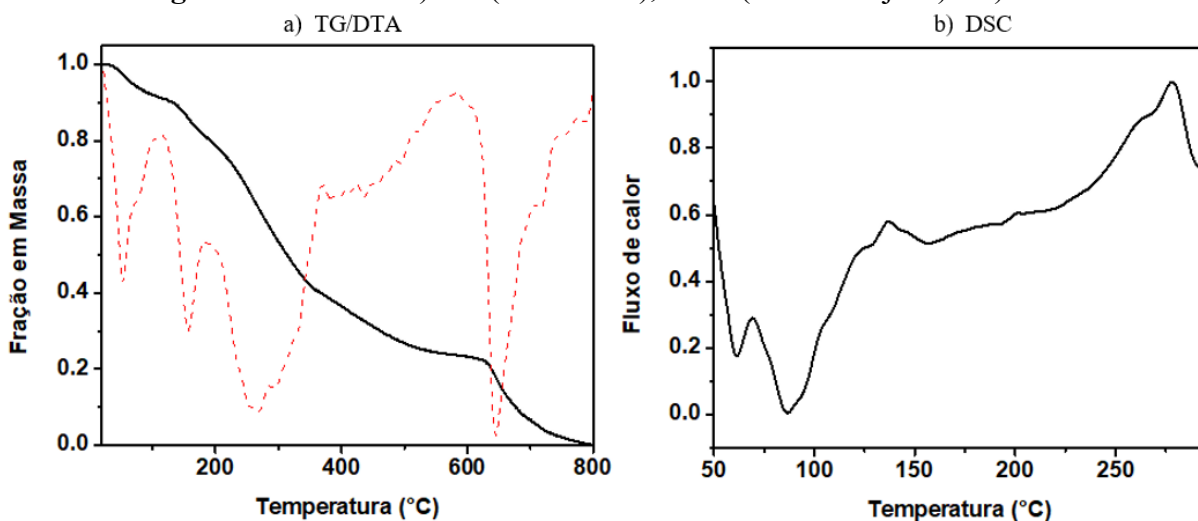
As análises térmicas (TG-DTA-DSC) foram aplicadas com o intuito de submeter as amostras às situações de aquecimento, simulando possíveis processos industriais. No entanto, cada análise apresenta características próprias, a TG pode ser comparada com processos a elevadas temperaturas, chegando a $800 \text{ }^\circ\text{C}$, avaliando a perda de massa com o aumento da temperatura. Já a DSC, simula processos com temperatura até $350 \text{ }^\circ\text{C}$, permitindo a observação das transições de fases que a entalpia proporciona às amostras.

As propriedades térmicas do extrato de gengibre avaliadas por TG-DTA estão demonstradas na Figura 29 (a), em que a curva do TG, representa a perda de massa em função da temperatura e a curva DTA corresponde à primeira derivada da curva do TG.

A temperatura de análise variou de 22 a 800 °C e, com o aumento gradativo da temperatura, observa-se quatro faixas de degradação térmica do extrato de gengibre. A primeira está associada a desidratação da amostra, sendo observado um pico endotérmico na curva DTA que auxilia essa afirmação, já a segunda, terceira e quarta perda de massa podem estar relacionadas à decomposição, volatilização e oxidação do material orgânico, em função disso, apresentam picos endotérmicos no gráfico DTA pela provável absorção de energia provocado pela volatilização de compostos gerados durante a decomposição do material. Os gráficos referentes a TG e DTA apresentam certa estabilidade após os quatro processos descritos sendo que o quarto processo gera a decomposição completa do material analisado, tendo em vista a formação de cinzas (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

A faixa inicial de degradação (25 a 125 °C), relacionada com a desidratação, observou-se uma perda de massa aproximadamente de 6,84%, caracterizada como fase endotérmica devido a necessidade de energia para remover a água presente na estrutura da amostra. A segunda faixa, entre 130 e 190 °C, apresentou uma perda de massa de 9,42% indicando o início da degradação da matéria orgânica presente na amostra.

A terceira faixa (200 a 355 °C) apresenta aproximadamente 39,53% de degradação, região onde pode ser caracterizada como início da decomposição dos compostos bioativos. Este resultado pode ser justificado pelo trabalho desenvolvido por Silva *et al.* (2021), em que relatam que a temperatura de degradação para o 6-gingerol, composto de maior quantidade no gengibre, é aproximadamente 224 °C. A última faixa (600 a 720 °C), e com o pico mais agudo, apresenta uma perda de massa de aproximadamente 48,20%.

Figura 29 – Curvas a) TG (linha cheia), DTA (linha tracejada) e b) DSC

Fonte: Autora (2021)

DSC é uma técnica de grande importância para avaliação e caracterização de diferentes tipos de amostras, pois fornece informações relacionadas ao estado físico e grau de cristalinidade da amostra, através do comportamento térmico indicando se seu comportamento é exotérmico (liberação do calor) ou endotérmico (absorção do calor) (MITIĆ *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2013).

As curvas obtidas para o DSC (Figura 29 (b)) indicaram dois picos endotérmicos entre 50 e 125 °C, que podem ser atribuídos a desidratação da amostra, tendo em vista a necessidade de absorver o calor para que seja possível a liberação de água presente (GARAVAND *et al.*, 2017). A partir desse ponto, observa-se dois picos exotérmicos, justificados pelas possíveis rupturas nos compostos presentes, liberando a energia previamente absorvida, assim que os produtos de degradação começam a se formar.

O último pico formado, que aparece na faixa de 250 a 300 °C pode estar relacionado com a degradação dos produtos formados durante a decomposição térmica dos compostos presentes no extrato de gengibre (PHINICHKA; KAENTHONG, 2018). Não foram encontrados na literatura outros trabalhos que avaliassem tais análises térmicas para o extrato bruto do gengibre.

Jacob *et al.* (2019) avaliaram as possíveis influências quando adicionado glicerol às suspensões, logo perceberam a suavização dos picos endotérmicos causada pela estabilização térmica e interação entre as nanofibras do gengibre, glicerol e quitosana. Zhang *et al.* (2018) encapsularam o óleo essencial de gengibre com β -ciclodextrina e quitosana, e também notaram uma maior resistência dos compostos encapsulados, uma maior entalpia com o aumento de temperatura, logo uma melhor estabilidade térmica.

Segundo a literatura, é evidente que através da técnica de encapsulação gera uma maior estabilidade térmica, garantindo assim uma maior aplicabilidade dos compostos de interesse tornando viável a aplicação. Posteriormente serão realizadas as análises térmicas do extrato de gengibre encapsulado em lipossomas, a fim de comparação com o extrato livre.

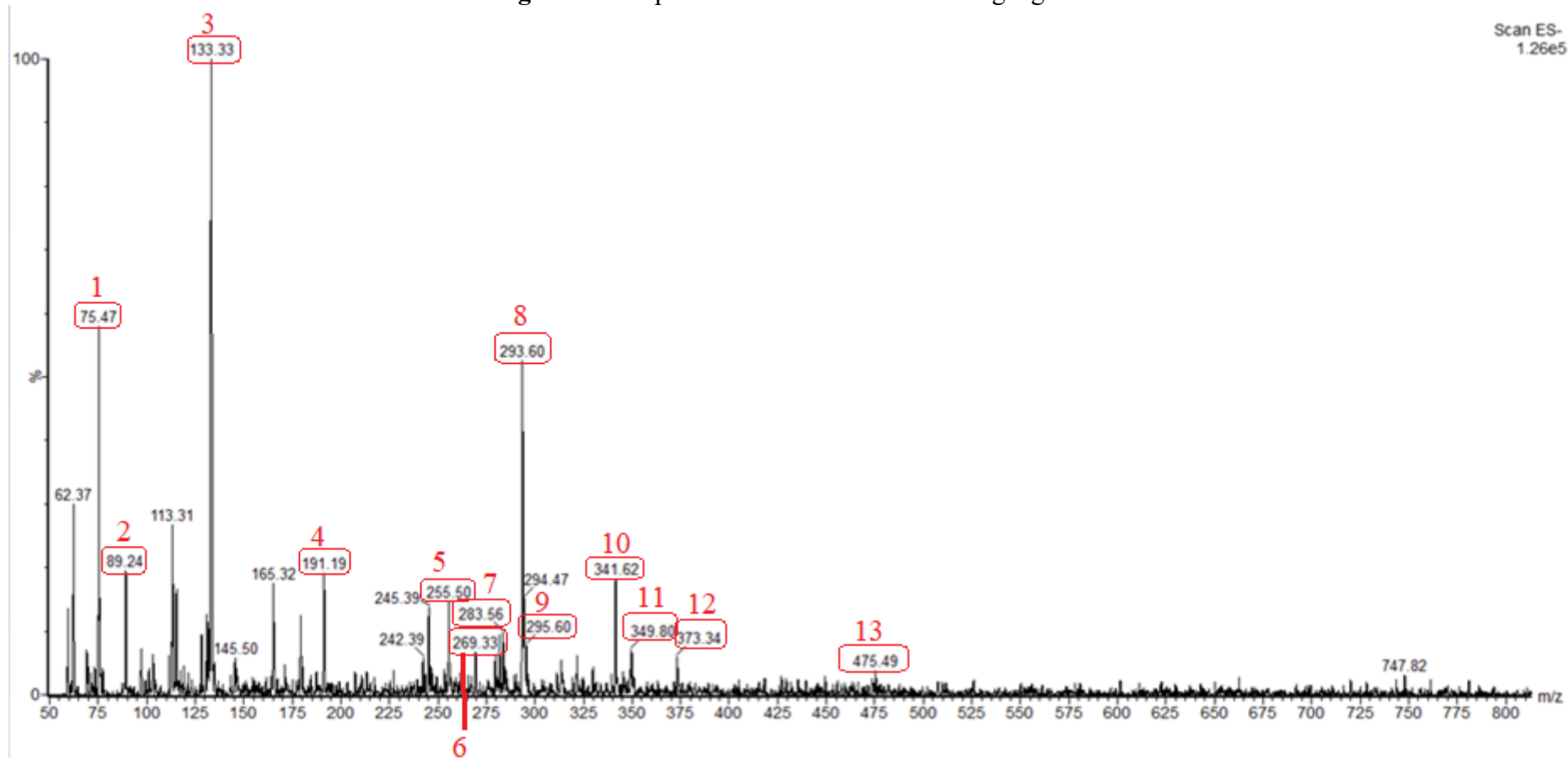
5.4 ESPECTROMETRIA DE MASSAS (MS)

Os compostos presentes no extrato do gengibre foram identificados pelo espectro de massas (MS) no modo Scan, realizando assim uma varredura para identificação dos compostos de forma qualitativa. No espectro obtido (Figura 30), foi possível identificar 13 compostos relacionados ao extrato de gengibre, listados na Tabela 05, entretanto não foi possível identificar alguns compostos característicos do gengibre, como por exemplo o shogaol e seus derivados.

No espectro obtido para o extrato de gengibre, o pico base que ficou em evidência foi o de m/z 133, cujo composto de referência é o ácido málico. Tal composto apresenta como característica a ser um conservante alimentício e também a ação antimicrobiana (IYYAPPAN *et al.*, 2020). Além do pico base, vários outros íons foram observados, sugerindo a amostra como uma matriz complexa.

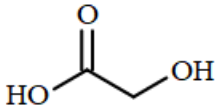
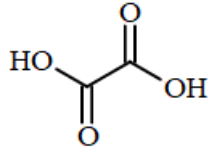
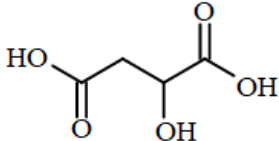
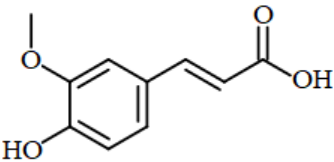
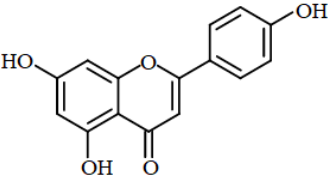
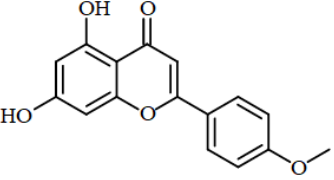
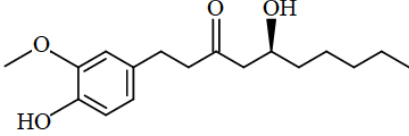
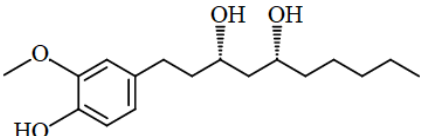
Dentre as substâncias propostas, o 6-gingerol (m/z 293) também foi descrito na análise do DSC (Figura 29 (b)), sendo observado a formação de uma faixa de temperatura que caracteriza a presença deste. Segundo Kumara *et al.* (2017) o 6-gingerol e 10-gingerol apresentam potencial antioxidante e anticâncer, assim é possível relacionar os resultados dos testes antioxidantes e ação citotóxica do extrato de gengibre a esse composto também.

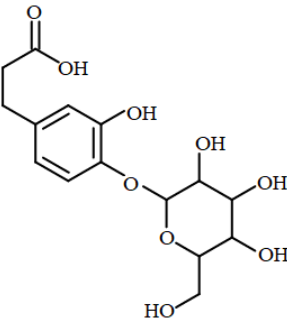
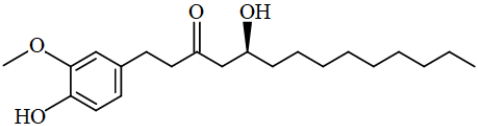
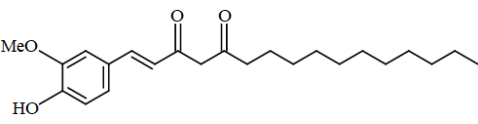
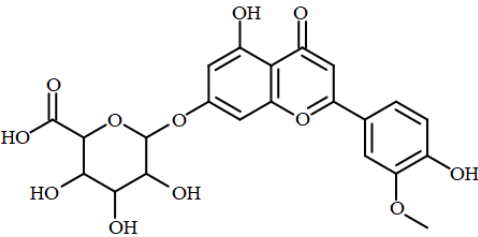
Figura 30 - Espectro de massas do extrato de gengibre



Fonte: Autora (2021)

Tabela 05 – Relação de compostos do extrato etanólico do gengibre identificados pelo espectro de massas com suas respectivas m/z e estruturas

	Composto sugerido	[M-H] ⁻	Estrutura	Referências
1	Ácido glicólico	75,47		(AMORIM <i>et al.</i> , 2009)
2	Ácido oxálico	89,24		(YEH <i>et al.</i> , 2014)
3	Ácido málico	133,33		(CORREIA <i>et al.</i> , 2021; EL SAYED <i>et al.</i> , 2020)
4	Ácido ferúlico	191,19		(AMORIM <i>et al.</i> , 2009)
5	1-O-Dihydrocaffeoylglycerol	255	-	(KANG <i>et al.</i> , 2016)
6	Apigenina	269,33		(EL SAYED <i>et al.</i> , 2020; GHAREEB <i>et al.</i> , 2018)
7	Acacetina	283,56		(EL SAYED <i>et al.</i> , 2020)
8	6-gingerol	293,60		(AKAMINE; MEDINA; LANÇAS, 2021)
9	6-gingerdiol	295,60		(ASAMENEW <i>et al.</i> , 2019)

10	Hexose de ácido cafeico	341,62		(KOOLEN <i>et al.</i> , 2013)
11	10-gingerol	349		(AKAMINE; MEDINA; LANÇAS, 2021)
12	1-Di hidro-[12]-gingerdiol	373,34		(JIANG <i>et al.</i> , 2005)
13	Chrysoeriol-7-O-glycuronyl	475,49		(EL SAYED <i>et al.</i> , 2016)

Fonte: Autora (2021)

Com base nesses compostos que, por suposição, foram identificados, fica confirmada a ação antioxidante e anticâncer do gengibre pela presença dos grupos fenólicos extraídos. Vale ressaltar que alguns dos compostos identificados são derivados dos compostos principais, por exemplo o 1-Di hidro-[12]-gingerdiol é um derivado do gingerol (JIANG, 2005).

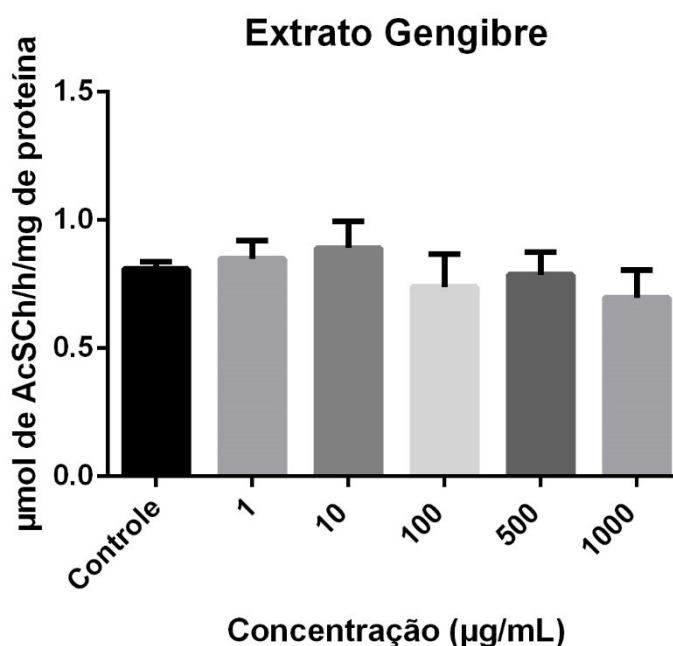
Para a confirmação dos compostos citados e para possibilitar a identificação dos compostos não listados, é necessário que sejam realizadas novas análises no espectro de massas onde seja aplicada a técnica que faça a fragmentação dos íons. Também devem ser avaliados os padrões dos possíveis compostos para que, além de obter resultados qualitativos, seja possível quantificar os compostos bioativos extraídos (MENET, 2011; MEURER, 2020).

5.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.5.1 Inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE)

O teste de inativação da enzima acetilcolinesterase (AChE), foi realizado para o extrato de gengibre que apresentou as melhores condições de extração (extrato 6, 60 °C por 12 h), referente as análises antioxidantes aplicadas. As análises *in vitro* foram realizadas com diferentes concentrações do extrato (1, 10, 100, 500, e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$), o controle foi conduzido nas mesmas condições, sem a presença do extrato de gengibre. Os resultados estão expressos na Figura 31.

Figura 31 - Inibição da atividade da AChE pelo extrato de gengibre



Inibição da atividade da AChE *in vitro* no encéfalo total na presença de diferentes concentrações de extrato de gengibre dissolvidos em DMSO (1, 10, 100, 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$); (n = 5). Todos os dados foram expressos como média \pm S.E.M (erro padrão da média). * Diferença significativa em relação ao controle com H₂O (teste ANOVA de uma via, seguido do teste de Dunnett's, $p < 0,001$).

Observa-se pelo gráfico (Figura 31) que o extrato de gengibre, nas condições estudadas, não apresentou significativa inibição da AChE, entretanto não teve efeito neurotóxico. Fathy *et al.* (2015) relataram que os extratos de gengibre preparados com metanol também não apresentaram atividade inibitória da AChE. Entretanto, em pesquisa desenvolvida por Oboh, Ademiluyi e Akinyemi (2012), compararam a ação dos extratos aquosos de duas espécies de gengibre, *Zingiber officinale* Roscoe e *Zingiber officinale* Rubra, e identificaram a inibição da AChE, de forma independente (as espécies analisadas separadamente), com

concentrações a partir de 2,86 mg mL⁻¹ para o *Z. officinale* Roscoe e 3,03 mg mL⁻¹ *Z. officinale* Rubra. Essa divergência nos resultados pode estar relacionada com o solvente utilizado para a extração dos compostos bioativos, onde solventes orgânicos não apresentaram tais atividades, em contrapartida, extratos com água se mostraram efetivos para a inibição da enzima AChE. Adicionalmente, a concentração de extrato utilizado no presente trabalho pode não ter sido suficiente para gerar ação inibitória de tal enzima, com isso, estudos posteriores serão necessários para verificar melhor concentração.

Akinyemi *et al.* (2016) observaram o efeito de uma dieta composta por gengibre em ratos com hipertensão, e observaram que houve a prevenção de atividade da AChE, indicando um possível aumento na produção da acetilcolina, permitindo uma melhora em funções cognitivas, como memória, aprendizagem e modulação do fluxo sanguíneo.

É de conhecimento que algumas plantas, com compostos bioativos que apresentam atividade antioxidante, têm mostrado efeitos favoráveis no combate a ação da AChE tais como *Eupatorium adenophorum*, *Myrciaria floribunda* (jaboticabinha), pimenta do reino, *Achillea millefolium*, *Dodonaea viscosa* (BARBOSA *et al.*, 2020; CHONPATHOMPIKUNLERT; WATTANATHORN; MUCHIMAPURA, 2010; LI *et al.*, 2020; MUHAMMAD *et al.*, 2015; SEVINDIK *et al.*, 2015).

Doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer, são síndromes que afetam o sistema colinérgico e como consequência a alteração de humor, perda de memória e demência (MORRIS *et al.*, 2019). Tais doenças são desenvolvidas pela ação descontrolada da acetilcolinesterase (AChE), enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina, fazendo-o retornar ao estado de repouso (COLOVIĆ *et al.*, 2013).

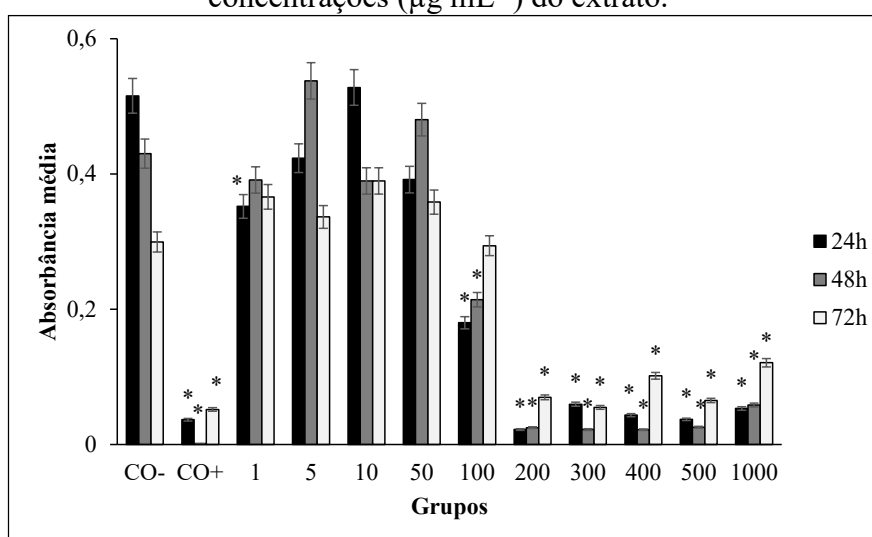
A busca por inibidores da AChE, agem de forma a impedir sua ação frente a acetilcolina, aumentando o nível e a duração em possíveis fissuras sinápticas. Com isso, se faz necessário encontrar novas fontes compostas por compostos bioativos que sejam capazes de impedir a AChE, evitando e controlando o avanço das doenças neurodegenerativas (COLOVIĆ *et al.*, 2013; MORRIS *et al.*, 2019).

5.5.2 Citotoxicidade

O potencial terapêutico do gengibre, como um agente citotóxico, tem sido amplamente discutido na literatura. Recentemente, vários estudos têm reportado que o gengibre apresenta ação citotóxica para diferentes linhagens de tumores (CAMARGO *et al.*, 2019; INDU *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2017; VIPIN *et al.*, 2017).

Desta forma, ao analisar o efeito do gengibre livre em células tumorais de fígado de rato (Figura 32) observou-se que, pela análise estatística, concentrações acima de $200 \mu\text{g mL}^{-1}$, nos três tempos de avaliação (24, 48 e 72 h), foram citotóxicas, com absorvâncias médias estatisticamente menores que a do controle negativo. As concentrações de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ (24 h) e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (24 e 48 h) também foram citotóxicas para as células HTC. Inclusive, as viabilidades celulares atingiram 4,27% (24 h), 5,06% (48 h) e 18,29% (72 h), como pode ser observado na Tabela 06.

Figura 32 - Absorbância média e desvio-padrão de células tumorais de fígado de rato (HTC) tratadas por 24, 48 e 72 horas com as concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do extrato.



* Resultado estatisticamente diferente do controle negativo (Teste de Dunnet, $p < 0,05$).

Observa-se que, estatisticamente, todas as concentrações de extrato de gengibre avaliadas apresentaram efeito citotóxico, ou seja, conseguiram impedir o desenvolvimento das células com câncer de fígado. O destaque é para o tratamento realizado com $200 \mu\text{g mL}^{-1}$, apresentando resultados próximos ao controle positivo na avaliação por 48 e 72 h, já para o período de 24 h obteve uma melhor eficiência.

Tabela 06 - Percentual de viabilidade de células (VC) tumorais de fígado de rato (HTC), tratadas com as diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do extrato de gengibre, por 24, 48 e 72 horas, pelo teste do MTT.

GRUPOS	CÉLULA HTC		
	VC [%]		
	24 h	48 h	72 h
CO-	100,00	100,00	100,00
CO+	7,08	0,27	17,26

1	68,30	90,93	122,27
5	82,12	125,00	112,42
10	102,40	90,64	130,18
50	75,99	111,71	119,71
100	34,92	49,77	98,13
200	4,27	5,76	23,22
300	11,54	5,12	18,29
400	8,39	5,06	33,91
500	7,18	5,93	21,71
1000	10,33	13,55	40,34

Alguns dos compostos presentes no extrato de gengibre, como gingerol, shogaol e zingerona potencializam o sistema antioxidante, combatendo os radicais livres, além de apresentar ação antitumoral, evitando o desenvolvimento e também agindo como tratamento preventivo de várias linhagens de tumores (HAMZA *et al.*, 2021; MAHOMOODALLY *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2019).

Os resultados obtidos neste trabalho condizem com estudos anteriores, que analisaram o efeito do extrato etanólico do gengibre bruto e seus compostos isolados, obtiveram indicativos de ação protetora, ou seja, os resultados sugerem que o gengibre pode ser utilizado de maneira a prevenir as doenças hepáticas, com também controlar o avanço do câncer de fígado (CHEN, H. *et al.*, 2013; HABIB *et al.*, 2008; LIU, C.-T. *et al.*, 2013; POORROSTAMI; FAROKHI; HEIDARI, 2014).

Assim como neste trabalho, as ações sinérgicas do gengibre foram relatadas por Gundala *et al.* (2014), em que a administração oral do extrato de gengibre teve uma ação antiproliferativa 2,4 vezes maior que uma mistura artificial de compostos derivados do gengibre em tumor de próstata humana.

Hamza *et al.* (2021) observaram uma significativa redução no crescimento de novos nódulos, e ao aplicar elevadas concentrações chegaram à zero, o número de nódulos hepáticos

Outros relatos confirmaram a ação antiproliferativa do gengibre em outras células tumorais como colorretal, hepatoma, câncer de pele em ratos (ELKADY; HUSSEIN; ABU-ZINADAH, 2014; NIGAM *et al.*, 2010; YANG, G. *et al.*, 2012).

No entanto, os efeitos citotóxicos referentes ao gengibre, abordam a aplicação de seus compostos isolados ou de forma encapsulada. No presente trabalho, o objetivo foi a aplicação do extrato bruto do gengibre para observar seu potencial sem a necessidade de um tratamento

prévio. Como resposta, observou-se a efetividade do extrato de gengibre bruto, que mostrou efeito citotóxico em baixas concentrações, viabilizando sua aplicação.

5.6 CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS

Com o intuito de realizar a caracterização físico-química, os lipossomas produzidos foram avaliados quanto ao diâmetro hidrodinâmico, polidispersidade e potencial zeta (Tabela 07). As formulações são compostas por um valor fixo de lecitina de soja (4,64 mM) e, com base nesse valor, foram encapsulados extrato de gengibre nas proporções de 10, 20 e 30% (m/m).

Tabela 07 – Diâmetro hidrodinâmico, polidispersidade, potencial zeta e eficiência de encapsulação dos lipossomas

	Extrato de gengibre (%)			
	0	10	20	30
D_h (nm)	184,73 ± 0,52 ^a	174,45 ± 0,70 ^a	168,04 ± 5,02 ^a	168,06 ± 5,14 ^a
POLIDISPERSIDADE (%)	26,17 ± 1,14 ^a	25,33 ± 0,50 ^a	25,93 ± 0,29 ^a	26,23 ± 0,74 ^a
ζ – POTENCIAL (mV)	-34,80 ± 0,40 ^a	-31,80 ± 0,93 ^a	-30,80 ± 1,12 ^a	-31,47 ± 1,13 ^a
EE (%)	nc	21,55 ± 2,54 ^b	33,50 ± 0,77 ^a	35,15 ± 0,97 ^a

Onde EG é Extrato de gengibre, D_h é diâmetro hidrodinâmico, ζ é o potencial Zeta, EE é referente a eficiência de encapsulação e nc nada consta. Os dados representam a média das amostras (n=3). Na mesma linha, valores com letras iguais não diferenciam significamente (p<0,05)

A técnica escolhida para a produção dos lipossomas, injeção de etanol, se mostrou eficiente quanto ao D_h das vesículas obtidas, com tamanhos inferiores a 200 nm, o que representa uma vantagem para a aplicação industrial, pois sugere um considerável incremento na área superficial das partículas, que resulta na potencialização das funções dos compostos encapsulados. Como não houve um aumento significativo do tamanho dos lipossomas com o aumento da porcentagem de extrato, sugere-se novos estudos com concentrações maiores do extrato.

As diferentes porcentagens de encapsulação do extrato de gengibre apresentaram carga superficial negativa, que pode estar associada à carga elétrica dos grupos hidrofílicos que constituem a membrana lipídica, entre os quais destaca-se a fosfatidilcolina e o ácido fosfático, principais componentes da lecitina de soja. Deste modo, os sistemas lipossomais formados apresentaram potencial Zeta superior a |-30 mV|, com essa carga indica que existe repulsão entre as partículas, evitando a aglomeração, contribuindo para a estabilidade cinética da dispersão (LU *et al.*, 2014; PATTNI; CHUPIN; TORCHILIN, 2015; SERCOMBE *et al.*, 2015).

A polidispersidade faz referência à distribuição de homogeneidade das partículas presentes em cada amostra. Com os resultados obtidos, nota-se que todas as condições apresentaram baixos valores de polidispersidade, indicando que as vesículas obtidas têm como característica a homogeneidade.

Em relação a EE%, as diferentes porcentagens testadas apresentaram resultados variáveis, compreendidos entre 21 e 35%, não apresentando diferença significativa entre as condições de 20 e 30%. Tal variação referente a EE% pode estar relacionada às propriedades das membranas características à composição estrutural do lipossoma como espessura, fluidez, permeabilidade e polaridade, que em conjunto determinam o poder de encapsulação (RAMAZANI *et al.*, 2016).

Não foram encontrados na literatura outros trabalhos cujo objeto de estudo fosse a encapsulação do extrato de gengibre, apenas trabalhos, que serão relatados a ser, que empregaram seus compostos isolados, em especial o 6-gingerol. Observou-se nesses estudos que a eficiência de encapsulação de um composto isolado apresenta um elevado índice, acima de 70% de eficiência.

Xu *et al.* (2016) isolaram e encapsularam o 6-gingerol, em sistemas envolvendo apenas emulsificadores para a formação de micro emulsão, como resposta 89,40% de eficiência de encapsulação, já o tamanho, polidispersidade e o potencial zeta das estruturas formadas foram de 73,06 nm, 0,32% e -2,45 mV, respectivamente. Wei *et al.* (2018) também isolaram e encapsularam o 6-gingerol, entretanto o método de produção das nanopartículas foi realizado pela homogeneização de alta pressão, com a presença de lipídios sólidos e líquidos, sendo que os resultados obtidos foram condizentes com os apresentados anteriormente 63,59 nm, 0,24%, -12,18 mV e 76,71%, referentes ao tamanho, polidispersidade, potencial zeta e eficiência de encapsulação, respectivamente.

Tendo em vista a diferença de encapsulação do presente trabalho com o que foi encontrado na literatura, sugere-se que compostos isolados apresentam uma efetividade maior de encapsulação, assim como o método de produção das nanopartículas.

Estudos posteriores serão realizados para verificar a potencialidade dos lipossomas com o extrato de gengibre encapsulado. Para confirmação do tamanho e morfologia das vesículas formadas, será realizada a microscopia eletrônica de transmissão (MET).

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, o gengibre apresenta-se como uma boa fonte de compostos bioativos. Os fatores avaliados (tempo e temperatura) para os extratos etanólicos afetaram de forma significativa o rendimento da extração. A condição de extração que apresentou melhor aproveitamento do gengibre como fonte de tais compostos foi de: 60 °C por 12 h.

Os gráficos gerados pela análise de componentes principais (PCA), mostraram que existe uma relação entre os resultados obtidos para os ensaios de ABTS e habilidade quelante de ferro (II), tendo em comum os ensaios 2 e 6, sendo que o de maior destaque foi o extrato de número 6, realizado a 60 °C por 12 h, pois apresentou as melhores respostas para ambos os testes. Em relação aos parâmetros cinéticos do consumo de radical livre, a ordem de reação ficou entre 4 e 5 para a cinética de DPPH e ABTS^{•+}, respectivamente. Já a energia de ativação calculada para a reação com o DPPH foi de 43,0 kJ mol⁻¹ e com o ABTS^{•+} 38,6 kJ mol⁻¹. Os valores das constantes cinéticas mostraram que o aumento da temperatura acelerou o processo de degradação, assim, as informações obtidas neste estudo podem ser úteis para a otimização das condições de processamento industrial, a fim de minimizar as perdas dos compostos bioativos.

Através do espectro de massas obtido e comparando com a literatura, foi possível propor a presença de 13 compostos, sendo eles Ácido glicólico, Ácido oxálico, Ácido málico, Ácido ferrúlico, 1-O-Dihydrocaffeoylglycerol, Apigenina, Acetina, 6-gingerol, 6-gingerdiol, Hexose de ácido Cafeico, 10-gingerol, 1-Di hidro-[12]-gingerdiol e Chrysoeriol-7-O-glycuronyl. As análises térmicas, comprovaram a sensibilidade de tais compostos frente ao efeito da temperatura nos compostos extraídos, com aproximadamente 40 °C observou-se a primeira faixa de degradação do extrato de gengibre.

Quanto a obtenção dos lipossomas pelo método de injeção de etanol, formaram-se nanovesículas lipídicas, com carga superficial negativa, sendo que essa característica se manteve com a encapsulação do extrato de gengibre, assim como o diâmetro hidrodinâmico, polidispersidade e a eficiência de encapsulação também não apresentaram diferença significativa após a encapsulação.

A aplicação biológica do extrato puro do gengibre estudado, não teve resposta positiva para a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), possivelmente, devido a concentração testada. Como ponto positivo, o estudo da inibição da enzima AChE caracterizou o extrato de

gingibre como atóxico, fato confirmado pela aplicação em células tumorais, em que observou-se o controle do câncer.

O extrato de gengibre, objeto de estudo deste trabalho, de uma forma geral, mostrou um grande potencial como agente antioxidante e antitumoral. No entanto, devem ainda ser desenvolvidos outros estudos e otimizações na formulação dos lipossomas, para assim possibilitar a comparação da aplicabilidade entre o extrato encapsulado e na forma bruta em testes *in vivo*.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar diferentes concentrações de extrato de gengibre na ação de inibição da enzima AChE;
- Avaliação do potencial biológico do extrato de gengibre encapsulado em lipossomas em células;
- Estudar a possibilidade de incorporar uma maior concentração de extrato de gengibre em lipossomas;
- Avaliar novas formulações de lipossomas com outros lipídios, que podem ser mais específicos para a aplicação desejada;
- Incorporação de colesterol para aumentar a estabilidade;
- Caracterizar os lipossomas através de análises térmicas e microscópicas; e,
- Avaliar a extração do óleo de gengibre, encapsulação em sistemas nanoparticulados e aplicação biológica.

REFERÊNCIAS

- AKAMINE, L. A.; MEDINA, D. A. V; LANÇAS, F. M. Magnetic solid-phase extraction of gingerols in ginger containing products. **Talanta**, v. 222, p. 121683, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914020309747>>.
- AKBARI, A. *et al.* The Protective Effect of Hydroalcoholic Extract of *Zingiber officinale* Roscoe (Ginger) on Ethanol-Induced Reproductive Toxicity in Male Rats. **Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 22, n. 4, p. 609–617, 2017.
- AKBARZADEH, A. *et al.* Liposome: classification, preparation, and applications. **Nanoscale Research Letters**, v. 8, n. 1, p. 102, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102>>.
- AKIMOTO, M. *et al.* Anticancer Effect of Ginger Extract against Pancreatic Cancer Cells Mainly through Reactive Oxygen Species-Mediated Autotic Cell Death. **PLOS ONE**, v. 10, n. 5, p. e0126605, 11 maio 2015. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0126605>>.
- AKINYEMI, A. J. *et al.* Effect of Ginger and Turmeric Rhizomes on Inflammatory Cytokines Levels and Enzyme Activities of Cholinergic and Purinergic Systems in Hypertensive Rats. **Planta Med**, v. 82, n. 07, p. 612–620, 2016.
- AKPINAR, E. K.; TORAMAN, S. Determination of drying kinetics and convective heat transfer coefficients of ginger slices. **Heat and Mass Transfer**, v. 52, n. 10, p. 2271–2281, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00231-015-1729-6>>.
- ALAM, M. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 2, p. 143–152, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016412000357>>.
- ALVES, C. Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.
- AMORIM, A. C. L. *et al.* Green and roasted Arabica coffees differentiated by ripeness, process and cup quality via electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 2, p. 313–321, 2009.
- AN, K. *et al.* Comparison of different drying methods on Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): Changes in volatiles, chemical profile, antioxidant properties, and microstructure. **Food Chemistry**, v. 197, p. 1292–1300, 15 abr. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615301783>>.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes Naturais: Técnicas De Extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 319–336, 2006.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- APAK, R. *et al.* Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity

(IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 5, p. 957–998, 2013.

AQUILANTI, V.; COUTINHO, N. D.; SILVA, V. H. C. Kinetics of low-temperature transitions and a reaction rate theory from non-equilibrium distributions. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 375, n. 2092, 2017.

ARAÚJO, J. *Característica dos Antioxidantes Primários*. . Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. , 2015

ASAMENEW, G. *et al.* Characterization of phenolic compounds from normal ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and black ginger (*Kaempferia parviflora* Wall.) using UPLC–DAD–QToF–MS. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 3, p. 653–665, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00217-018-3188-z>>.

BABBAR, N. *et al.* Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 391–396, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910003625>>.

BACHMANN, C. Ingwer: Gewürz und Arzneipflanze - wenig bekannte und unterschätzte therapeutische Eigenschaften. **Schweizerische Zeitschrift für Ganzheitsmedizin / Swiss Journal of Integrative Medicine**, v. 28, n. 1, p. 9–13, 2016. Disponível em: <<https://www.karger.com/DOI/10.1159/000443545>>.

BALL, D. W.; KEY, J. A. *Introductory Chemistry*. 1. ed. [S.l.]: BCcampus, 2014.

BAMRUNGSAP, S. *et al.* Nanotechnology in therapeutics: a focus on nanoparticles as a drug delivery system. **Nanomedicine (London, England)**, v. 7, n. 8, p. 1253–1271, ago. 2012.

BANGHAM, A. D.; STANDISH, M. M.; WATKINS, J. C. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. **Journal of Molecular Biology**, v. 13, n. 1, p. 238–IN27, 1965. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283665800936>>.

BARBOSA, D. C. DA S. *et al.* Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory potential, in silico, of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg fruit peel essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 151, p. 112372, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669020302880>>.

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutricao**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B. DE; MAGALHÃES, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, p. 167–179, jun. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322007000200003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

BAWADOOD, A. S. *et al.* 6-Shogaol suppresses the growth of breast cancer cells by inducing apoptosis and suppressing autophagy via targeting notch signaling pathway. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 128, p. 110302, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332220304947>>.

BECKER, M. M. *CARACTERIZAÇÃO DE FRUTOS NATIVOS DA REGIÃO AMAZÔNICA E DESENVOLVIMENTO DE UM BIOSSENSOR APEROMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE*. 2019. 183 f. Universidade Federal do Maranhão, 2019.

BERTOLO, M. R. V *et al.* Rheological and antioxidant properties of chitosan/gelatin-based materials functionalized by pomegranate peel extract. **Carbohydrate Polymers**, v. 228, p. 115386, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861719310537>>.

BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta. **Revista Nutrição**, v. 12, p. 123–130, 1999.

BLANCO, E. Z. *Diversidade genética e química em germoplasma de gengibre (Zingiber officinale)*. 2015. 1–168 f. Universidade de São Paulo, 2015.

BONFIGLI, M. *et al.* Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 207, p. 56–72, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877417301061>>.

BORAH, A. *et al.* Effect of Drying on Texture and Color Characteristics of Ginger and Turmeric in a Solar Biomass Integrated Dryer. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 1, p. e12310, 1 fev. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jfpe.12310>>.

BOROSKI, M. *et al.* **ANTIOXIDANTES - Princípios e Métodos Analíticos**. 1. ed. Curitiba: [s.n.], 2015.

BOZZUTO, G.; MOLINARI, A. Liposomes as nanomedical devices. **International journal of nanomedicine**, v. 10, p. 975–999, 2015.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1, p. 248–254, 1976. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273>>.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>>.

BRASIL, A. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação Brasileira para Antioxidantes*. . Brasil: [s.n.], 2019

BRITO, E. DOS S. *AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE VARIEDADES DE MELÃO (Cucumis melo L .) COMERCIALIZADAS NO BRASIL E DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GLUTATIONA REDUZIDA (GSH) AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE VARIEDADES DE MELÃO (Cucumis melo L .) COMERCIALIZADAS*. 2017. 130 f. Universidade Estadual de Campinas, 2017.

BROCHADO, P. M. D. DE S. C. *Nanotecnologia e a sua aplicação à terapêutica oncológica*. 2013. 93 f. 2013. Disponível em: <<http://recil.grupolusofona.pt/handle/10437/4618>>.

BUCIĆ-KOJIĆ, A. *et al.* Effect of Extraction Conditions on the Extractability of Phenolic Compounds from Lyophilised Fig Fruits (*Ficus Carica* L.). **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 61, p. 195–199, 2011.

ÇAĞDAŞ, M.; SEZER, A. D.; BUCAK, S. Liposomes as Potential Drug Carrier Systems for Drug Delivery. *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*. [S.l.]: InTech, 2014. .

CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C.; IONASHIRO, M. *Giolito: Fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. São Paulo: Giz Editora, 2015.

CALDAS, T. W. *et al.* Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 86–91, 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092666901730688X?via%3Dihub>>.

CAMARGO, J. DO N. A. *et al.* Antitumoral activity, antioxidant capacity and bioactive compounds of ginger (*Zingiber officinale*). **Acta Scientiarum. Technology**, v. 42, n. 1, p. e45724, 2019. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciTechnol/article/view/45724>>.

CARDOSO, J. C.; OLIVEIRA, M. E. B. S. DE; CARDOSO, F. DE C. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 124–132, jun. 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362019000200124&tlng=en>.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15–25, 1 jan. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691512006941?casa_token=zAaG_nbIubIAAAAA:unKO-g8wCmvUGlMVay2MX4g2p9LySVIVgMLz-uyft6cM4IqneqgrwXetqexA25ReZzPT0TJV1ID0>.

CAVALCANTI, I. M. F. *et al.* The encapsulation of β -lapachone in 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex into liposomes: A physicochemical evaluation and molecular modeling approach. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 3, p. 332–340, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098711002843>>.

CAVALLI, R. *et al.* Solid lipid nanoparticles (SLN) as ocular delivery system for tobramycin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 238, n. 1, p. 241–245, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517302000807>>.

CELESTINO, S. M. C. *Princípios de Secagem de Alimentos*. . Planaltina: [s.n.], 2010. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br>>.

CHAGONDA, L. S.; CHALCHAT, J.-C. Essential oil Composition of *Zingiber officinale* Roscoe from Eastern Zimbabwe. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 2, p. 510–515, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.1001142>>.

CHANG, H.-I.; YEH, M.-K. Clinical development of liposome-based drugs: formulation, characterization, and therapeutic efficacy. **International journal of nanomedicine**, v. 7, p. 49–60, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22275822>>.

CHARCOSSET, C. *et al.* Preparation of liposomes at large scale using the ethanol injection method: Effect of scale-up and injection devices. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 94, p. 508–515, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263876214004092>>.

CHEN, G. *et al.* Characterization and antioxidant activity of polysaccharides obtained from ginger pomace using two different extraction processes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 801–809, 15 out. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019349463?via%3Dihub>>.

CHEN, H. *et al.* Metabolism of ginger component [6]-shogaol in liver microsomes from mouse, rat, dog, monkey, and human. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 57, n. 5, p. 865–876, 2013.

CHEN, J. *et al.* Tangeretin-loaded protein nanoparticles fabricated from zein/ β -lactoglobulin: Preparation, characterization, and functional performance. **Food Chemistry**, v. 158, p. 466–472, set. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614003884>>.

CHEN, M.-H.; CHIANG, B.-H. Modification of curcumin-loaded liposome with edible compounds to enhance ability of crossing blood brain barrier. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 599, p. 124862, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775720304556>>.

CHENG, V. J. *et al.* Effect of extraction solvent, waste fraction and grape variety on the antimicrobial and antioxidant activities of extracts from wine residue from cool climate. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 474–482, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612002919>>.

CHENG, Z. *et al.* Extraction optimization, characterization and antioxidant activity of polysaccharide from *Gentiana scabra* bge. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 369–380, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813016313290>>.

CHONPATHOMPIKUNLERT, P.; WATTANATHORN, J.; MUCHIMAPURA, S. Piperine, the main alkaloid of Thai black pepper, protects against neurodegeneration and cognitive impairment in animal model of cognitive deficit like condition of Alzheimer's disease. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 3, p. 798–802, 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691509005912>>.

CHOTPHRUETHIPONG, L.; BATTINO, M.; BENJAKUL, S. Effect of stabilizing agents on characteristics, antioxidant activities and stability of liposome loaded with hydrolyzed collagen from defatted Asian sea bass skin. **Food Chemistry**, v. 328, p. 127127, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814620309894>>.

COLOVIĆ, M. B. *et al.* Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current neuropharmacology**, v. 11, n. 3, p. 315–335, maio 2013.

CORREIA, V. T. DA V. *et al.* Perfil químico da farinha extrusada de sorgo do genótipo BRS 305 por paper spray. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e40710111414, 2021.

CRAFT, B. D. *et al.* Phenol-Based Antioxidants and the In Vitro Methods Used for Their Assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, n. 2, p. 148–173, 2012.

CRAVOTTO, G. *et al.* Pilot Scale Cavitation Reactors and Other Enabling Technologies to Design the Industrial Recovery of Polyphenols from Agro-Food By-Products, a Technical and Economical Overview. **Foods**, v. 7, n. 9, p. 130, 21 ago. 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2304-8158/7/9/130>>.

CUNHA, A. L. *et al.* Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, v. 1, n. 2, p. 175–181, 2016.

CUTLER, S. J.; CUTLER, H. G. *Biological Activity Natural Products: Pharmaceutical*. Washington DC: [s.n.], 2000.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 21 out. 2010. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/15/10/7313>>.

DELIGÖNÜL, N.; TÜMER, M.; SERIN, S. Synthesis, characterization, catalytic, electrochemical and thermal properties of tetradentate Schiff base complexes. **Transition Metal Chemistry**, v. 31, n. 7, p. 920–929, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11243-006-0087-0>>.

DEVI, N. *et al.* Encapsulation of active ingredients in polysaccharide–protein complex coacervates. **Advances in Colloid and Interface Science**. [S.l.]: Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868616300446>>. Acesso em: 22 nov. 2019. , 1 jan. 2017

DHANIK, J.; ARYA, N.; NAND, V. A Review on Zingiber officinale. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 3, p. 174–184, 2017.

DIMARCO-CROOK, C.; XIAO, H. Diet-Based Strategies for Cancer Chemoprevention: The Role of Combination Regimens Using Dietary Bioactive Components. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 505–526, 10 abr. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-food-081114-110833>>.

DINGOVA, D. *et al.* Optimal detection of cholinesterase activity in biological samples: Modifications to the standard Ellman’s assay. **Analytical Biochemistry**, v. 462, p. 67–75, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269714002504>>.

DOMINGUES, R. C. C. *et al.* Microfiltration of passion fruit juice using hollow fibre membranes and evaluation of fouling mechanisms. **Journal of Food Engineering**, v. 121, p. 73–79, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413004032>>.

DUTTA, S.; BHATTACHARJEE, P. Nanoliposomal encapsulates of piperine-rich black pepper extract obtained by enzyme-assisted supercritical carbon dioxide extraction. **Journal of**

Food Engineering, v. 201, p. 49–56, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877417300067>>.

EKEZIE, F.-G. C.; SUN, D.-W.; CHENG, J.-H. Acceleration of microwave-assisted extraction processes of food components by integrating technologies and applying emerging solvents: A review of latest developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 67, p. 160–172, 1 set. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224417302601?via%3Dihub>>.

EL-AKABAWY, G.; EL-KHOLY, W. Neuroprotective effect of ginger in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**, v. 196, n. 2, p. 119–128, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0940960214000223>>.

EL-NAGGAR, M. H. *et al.* Synthesis, docking, cytotoxicity, and LTA4H inhibitory activity of new gingerol derivatives as potential colorectal cancer therapy. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 1277–1285, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096808961631149X>>.

EL SAYED, A. M. *et al.* In vivo diabetic wound healing effect and HPLC–DAD–ESI–MS/MS profiling of the methanol extracts of eight Aloe species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 3, p. 352–362, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.009>>.

EL SAYED, A. M. *et al.* LC–MS/MS and GC–MS profiling as well as the antimicrobial effect of leaves of selected Yucca species introduced to Egypt. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–15, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-020-74440-y>>.

ELKADY, A. I.; HUSSEIN, R. A. E. H.; ABU-ZINADAH, O. A. Differential control of growth, apoptotic activity and gene expression in human colon cancer cells by extracts derived from medicinal herbs, *Rhazya stricta* and *Zingiber officinale* and their combination. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 41, p. 15275–15288, 2014.

ELLMAN, G. L. *et al.* A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88–95, 1961. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006295261901459>>.

ENCIU, A. M.; GHERGHICEANU, M.; POPESCU, B. O. Triggers and effectors of oxidative stress at blood-brain barrier level: Relevance for brain ageing and neurodegeneration. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, n. Figure 1, 2013.

FAN, M. *et al.* Preparation of solid lipid nano-liposomes by ethanol injection method and in vitro release study. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 1, p. 167–174, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00217-007-0706-9>>.

FATHY, M. M. *et al.* The role of *Zingiber officinale* in the treatment of Alzheimer's disease: In-vitro and in-vivo evidences. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 6, p. 735–749, 1 jan. 2015.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61–68, mar. 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-

42301997000100014&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

FERREIRA, F. B. *EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE CUBIU (Solanum sessiliflorum), CAMU-CAMU (Myrcaria dubia) e ARAÇÁ-ROXO (Psidium myrtilloides) UTILIZANDO FILTRAÇÃO POR MEMBRANAS COM E SEM PROMOTORES DE TURBULÊNCIA*. 2020. 133 f. Universidade Federal de Uberlândia, 2020.

FLOREK, J.; CAILLARD, R.; KLEITZ, F. Evaluation of mesoporous silica nanoparticles for oral drug delivery – current status and perspective of MSNs drug carriers. **Nanoscale**, v. 9, n. 40, p. 15252–15277, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C7NR05762H>>.

FOGLER, H. S. *Elementos de Engenharia das Reações Químicas Tradução Verônica Calado, Evaristo C. Biscaia Dr.; revisão técnica Frederico W. Tavares.* . [S.l: s.n.], 2009

FRAZIER, R. A. Ciência e Tecnologia de Alimentos. In: CAMPBELL-PLATT, G. (Org.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 1. ed. Barueri: [s.n.], 2015. p. 5–31. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520448458/pageid/4>>.

GABBOTT, P. *Principles and Applications of Thermal Analysis*. Oxford UK: Blackwell Publishing Ltd., 2008. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=1u4v_tGUEQoC&lpq=PP2&ots=IKGzbUEPIT&lr&hl=pt-BR&pg=PR4#v=onepage&q&f=false>.

GARAVAND, F. *et al.* Improving the integrity of natural biopolymer films used in food packaging by crosslinking approach: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 687–707, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017309509>>.

GHAREEB, M. A. *et al.* HPLC-ESI-MS/MS profiling of polyphenolics of a leaf extract from *Alpinia zerumbet* (Zingiberaceae) and its anti-inflammatory, anti-nociceptive, and antipyretic activities in vivo. **Molecules**, v. 23, n. 12, 2018.

GHASEMZADEH, A. *et al.* Formation of 6-, 8- and 10-shogaol in ginger through application of different drying methods: Altered antioxidant and antimicrobial activity. **Molecules**, v. 23, n. 7, 2018.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G. *et al.* Microencapsulation structures based on protein-coated liposomes obtained through electrospraying for the stabilization and improved bioaccessibility of curcumin. **Food Chemistry**, v. 233, p. 343–350, 15 out. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617307112?via%3Dihub>>.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, R.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1030–1039, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609009819>>.

GUEDES, A. E. D. S. *Síntese e Caracterização de Nanopartículas Superparamagnéticas para aditivação de lubrificantes industriais*. 2017. 164 f. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2017.

GUNDALA, S. R. *et al.* Enterohepatic recirculation of bioactive ginger phytochemicals is associated with enhanced tumor growth-inhibitory activity of ginger extract. **Carcinogenesis**, v. 35, n. 6, p. 1320–1329, 1 jun. 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/carcin/bgu011>>.

GÜRBÜZ, N. *et al.* Health benefits and bioactive compounds of eggplant. **Food Chemistry**, v. 268, p. 602–610, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618310665>>.

HABIB, S. H. M. *et al.* Ginger extract (*Zingiber officinale*) has anti-cancer and anti-inflammatory effects on ethionine-induced hepatoma rats. **Clinics**, v. 63, n. 6, p. 807–813, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322008000600017&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

HAMZA, A. A. *et al.* Standardized extract of ginger ameliorates liver cancer by reducing proliferation and inducing apoptosis through inhibition oxidative stress/ inflammation pathway. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 134, p. 111102, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332220312956>>.

HANIADKA, R. *et al.* A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Food Funct.**, v. 4, n. 6, p. 845–855, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C3FO30337C>>.

HASHEMZAIEI, M. *et al.* Regulation of autophagy by some natural products as a potential therapeutic strategy for cardiovascular disorders. **European Journal of Pharmacology**, v. 802, p. 44–51, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299917301152>>.

HASSAN, N. A. *et al.* Anti-diabetic effect of *Zingiber officinale* on Sprague Dawley rats. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 8, n. 12, p. 1940–1943, 2016.

HERRERO, E. P.; MEDARDE, A. F. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 93, p. 52–79, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641115001514>>.

HILMAS, C. J. *et al.* Galantamine is a novel post-exposure therapeutic against lethal VX challenge. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 240, n. 2, p. 166–173, 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X09003160>>.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 1 mar. 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf030723c>>.

HUERTAS, C. E. M.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 385, n. 1–2, p. 113–142, 29 jan. 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517309007273?via%3Dihub>>.

INCA, I. N. DO C. J. A. G. DA S. *O que é câncer? | INCA - Instituto Nacional de Câncer.* Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 22 abr. 2021.

INDU, P. K. *et al.* Anticancer potential of ginger: mechanistic and pharmaceutical aspects. **Current pharmaceutical design**, v. 22, n. 27, p. 4160–4172, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. NORMAS ANALITICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos*. 3. ed. [S.l.: s.n.], 1985. p. 21–22.

IOELE, G. *et al.* Photosensitive drugs: a review on their photoprotection by liposomes and cyclodextrins. **Drug Delivery**, v. 24, p. 33–44, 2017.

IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C. *Giolito: Fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. 2. ed. São Paulo, Brasil: Éspor, 2012.

IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C. *Giolito: Fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*. 2. ed. São Paulo: Giz Editora, 2014.

IYYAPPAN, J. *et al.* Enhanced malic acid production using *Aspergillus niger* coupled with in situ product recovery. **Bioresource Technology**, v. 308, p. 123259, 1 jul. 2020.

JACOB, J. *et al.* Chitosan and polyvinyl alcohol nanocomposites with cellulose nanofibers from ginger rhizomes and its antimicrobial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 129, p. 370–376, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813018370855>>.

JAYARAMAN, P. *et al.* Controlled release of drugs in electrosprayed nanoparticles for bone tissue engineering. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 94, p. 77–95, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X15002100>>.

JIANG, H. *et al.* Characterization of gingerol-related compounds in ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc.) by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 19, n. 20, p. 2957–2964, 2005.

JIANG, H. Modern tools to study traditional medicinal plants: Ginger and turmeric. **Proquest Dissertations and Thesis**, p. 293 p., 2005. Disponível em: <http://search.proquest.com.ezp-prod1.hul.harvard.edu/docview/305025206?accountid=11311%5Cnhttp://sfx.hul.harvard.edu/sfx_local?url_ver=Z39.88-2004&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:mtx:dissertation&genre=dissertations+&+theses&sid=ProQuest+Dissertations+&>.

JOHNSEN, K. B.; MOOS, T. Revisiting nanoparticle technology for blood–brain barrier transport: Unfolding at the endothelial gate improves the fate of transferrin receptor-targeted liposomes. **Journal of Controlled Release**, v. 222, p. 32–46, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365915302522>>.

JOVANOVIĆ, A. A. *et al.* Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. **Separation and Purification Technology**, v. 179, p. 369–380, 31 maio 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586616318421?via%3Dihub>>.

JULKUNEN-TIITTO, R. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for

the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n. 2, p. 213–217, 1 mar. 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf00062a013>>.

JUSTO, O. R.; MORAES, Â. M. Analysis of process parameters on the characteristics of liposomes prepared by ethanol injection with a view to process scale-up: Effect of temperature and batch volume. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 89, n. 6, p. 785–792, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263876210002856>>.

KANG, J. *et al.* Identification and characterization of phenolic compounds in hydromethanolic extracts of. **Food Chemistry**, v. 211, p. 215–226, 2016.

KATOZIAN, I. *et al.* Formulation and application of a new generation of lipid nano-carriers for the food bioactive ingredients. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 14–25, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224416305969>>.

KHATIB, I. *et al.* Formation of ciprofloxacin nanocrystals within liposomes by spray drying for controlled release via inhalation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 578, p. 119045, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517320300272>>.

KHODDAMI, A.; WILKES, M.; ROBERTS, T. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. **Molecules**, v. 18, n. 2, p. 2328–2375, 19 fev. 2013. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1420-3049/18/2/2328>>.

KIAIE, N. *et al.* A new approach to the diagnosis and treatment of atherosclerosis: the era of the liposome. **Drug Discovery Today**, v. 25, n. 1, p. 58–72, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644619303496>>.

KIM, D. S. H. L.; KIM, D. S.; OPPEL, M. N. Shogaols from *Zingiber officinale* Protect IMR32 Human Neuroblastoma and Normal Human Umbilical Vein Endothelial Cells from β -Amyloid (25 ± 35) Insult. **Planta Med**, v. 68, p. 375–376, 2002.

KNEIDL, B. *et al.* Thermosensitive liposomal drug delivery systems: state of the art review. **International journal of nanomedicine**, v. 9, p. 4387–4398, 2014.

KOOLEN, H. H. F. *et al.* Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 467–473, 1 maio 2013.

KOU, X. *et al.* Simultaneous extraction of hydrophobic and hydrophilic bioactive compounds from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Food Chemistry**, v. 257, p. 223–229, 15 ago. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618303741?casa_token=GO2zKiZoA1AAAAA:NwQenWYAX35mOiBAzTW2eRmACSet-JZazaDljah9N9woVx_32NDb1UvUIFTWu7TtUmeq8xm5BcHY>.

KOYNOVA, R.; TENCHOV, B. Recent Progress in Liposome Production, Relevance to Drug Delivery and Nanomedicine. **Recent Patents on Nanotechnology**, v. 9, n. 2, p. 86–93, 2015.

KUDANGA, T.; NEMADZIVA, B.; ROES-HILL, M. L. Laccase catalysis for the synthesis of bioactive compounds. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 1, p. 13–33, 2017.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-016-7987-5>>.

KUMARA, M. *et al.* 6-Gingerol is the most Potent Anticancerous Compound in Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). v. 6, n. 1, p. 6–11, 2017.

LANZETTI, M. *et al.* Ready-to-drink matte® tea shows anti-inflammatory and antioxidant properties on a cigarette smoke exposure model. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 798–801, 1 out. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912002177>>.

LAOUINI, A. *et al.* Preparation, Characterization and Applications of Liposomes: State of the Art. **Journal of Colloid Science and Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 147–168, 2012.

LEE, J. J.; YAZAN, L. S.; CHE ABDULLAH, C. A. A review on current nanomaterials and their drug conjugate for targeted breast cancer treatment. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 12, p. 2373–2384, 27 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.dovepress.com/a-review-on-current-nanomaterials-and-their-drug-conjugate-for-targete-peer-reviewed-article-IJN>>.

LEITGEB, M.; KNEZ, Ž.; PRIMOŽIČ, M. Sustainable technologies for liposome preparation. **The Journal of Supercritical Fluids**, p. 104984, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844620302357>>.

LI, L. L. *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of gingerols and shogaols from ginger (*zingiber officinale* rosc.) in rats by UPLC–Q-Exactive–HRMS. **Molecules**, v. 24, n. 3, p. 1–12, 2019.

LI, M. *et al.* Inhibitory activities of flavonoids from *Eupatorium adenophorum* against acetylcholinesterase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 170, p. 104701, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357520301966>>.

LI, YANLI *et al.* 6-Gingerol protects intestinal barrier from ischemia/reperfusion-induced damage via inhibition of p38 MAPK to NF- κ B signalling. **Pharmacological Research**, v. 119, p. 137–148, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661816310337>>.

LI, YANQUN *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, n. June 2019, p. 80–89, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>>.

LI, YUXIN *et al.* Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1011, p. 223–232, 1 fev. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570023216300095?via%3Dihub>>.

LIMA, A. *Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (Caryocar brasilienses, Camb.)*. 2008. 182 f. 2008.

LISSER, D. F. J. *et al.* Relationship between oxidative stress and brain swelling in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to high environmental ammonia. **American Journal of**

Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology, v. 312, n. 1, p. R114–R124, 2017.

LIU, C.-T. *et al.* Metabolomics of Ginger Essential Oil against Alcoholic Fatty Liver in Mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 11231–11240, 20 nov. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf403523g>>.

LIU, R. H. Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention: Mechanism of Action. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479S–3485S, 2004.

LOPES, S. C. DE A. *LIPOSSOMAS CONTENDO ÁCIDO URSÓLICO: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE*. 2014. 150 f. UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, 2014.

LU, Q. *et al.* Preparation and physicochemical characteristics of an allicin nanoliposome and its release behavior. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 686–695, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814000619>>.

MAHAYOTHEE, B. *et al.* Effect of drying temperature and drying method on drying rate and bioactive compounds in cassumunar ginger (*Zingiber montanum*). **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 18, p. 100262, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214786120300231>>.

MAHOMOODALLY, M. F. *et al.* *Ginger and its active compounds in cancer therapy: From folk uses to nano-therapeutic applications*. **Seminars in Cancer Biology**. [S.l.: s.n.], 2019

MAKANJUOLA, S. A. Influence of particle size and extraction solvent on antioxidant properties of extracts of tea, ginger, and tea–ginger blend. **Food Science and Nutrition**, v. 5, n. 6, p. 1179–1185, 2017.

MANZOCCO, L.; ANESE, M.; NICOLI, M. C. Antioxidant Properties of Tea Extracts as Affected by Processing. **LWT - Food Science and Technology**, v. 31, n. 7, p. 694–698, 1998. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643898904911>>.

MAQSOULOU, A. *et al.* Improving the efficiency of natural antioxidant compounds via different nanocarriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 278, p. 102122, 1 abr. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868619304464>>.

MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 245–248, 1997. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814696002233>>.

MARTINS, L. F. *Síntese de novo composto imínico com atividade antioxidante e anticorrosiva aplicado em biodiesel de soja*. 2019. 82 f. Universidade Federal do Espírito Santo, 2019.

MARU, G. B. *et al.* Understanding the molecular mechanisms of cancer prevention by dietary phytochemicals: From experimental models to clinical trials. **World Journal of Biological Chemistry**, v. 7, n. 1, p. 88, 2016.

MARUENDA, H. *et al.* Exploration of Vanilla pompona from the Peruvian Amazon as a potential source of vanilla essence: Quantification of phenolics by HPLC-DAD. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 161–167, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612015543>>.

MASONDO, N. A. *et al.* Acetylcholinesterase inhibitors from southern African plants: An overview of ethnobotanical, pharmacological potential and phytochemical research including and beyond Alzheimer's disease treatment. **South African Journal of Botany**, v. 120, p. 39–64, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629918309426>>.

MATOS, S. P. DE. *Técnicas de análise química - métodos clássicos e instrumentais*. 1. ed. São Paulo: [s.n.], 2015. Disponível em: <<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536531359/>>.

MAYERHÖFER, T. G.; POPP, J. Beer's Law - Why Absorbance Depends (Almost) Linearly on Concentration. **Chemphyschem : a European journal of chemical physics and physical chemistry**, v. 20, n. 4, p. 511–515, fev. 2019.

MEISAMI-ASL, E. *et al.* Determination of suitable thin layer drying curve model for apple slices (variety-Golab). **Plant OMICS**, v. 3, n. 3, p. 103–108, 2010.

MENET, M. C. Principes de la spectrométrie de masse. **Revue Francophone des Laboratoires**, v. 2011, n. 437, p. 41–53, 2011. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)71211-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X(11)71211-4)>.

MEURE, L. A.; FOSTER, N. R.; DEGHANI, F. Conventional and Dense Gas Techniques for the Production of Liposomes: A Review. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, n. 3, p. 798, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1208/s12249-008-9097-x>>.

MEURER, E. C. *Espectrometria de Massas Para Iniciantes*. 1. ed. Curitiba: Appris, 2020.

MISAWA, K. *et al.* Ginger extract prevents high-fat diet-induced obesity in mice via activation of the peroxisome proliferator-activated receptor δ pathway. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n. 10, p. 1058–1067, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286315001321>>.

MITIĆ, Ž. *et al.* Instrumental methods and techniques for structural and physicochemical characterization of biomaterials and bone tissue: A review. **Materials Science and Engineering: C**, v. 79, p. 930–949, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493117311529>>.

MOHAMMADIAN, M. *et al.* Nanostructured food proteins as efficient systems for the encapsulation of bioactive compounds. **Food Science and Human Wellness**, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213453020301385>>.

MOHARRAM, H. A.; YOUSSEF, M. M. Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. **Alexandria Journal of Food Science and Technology**, v. 11, n. 1, p. 31–41, 2014.

MONTES, R. H. DE O. *Efeito do Tamanho de Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas em Sensores Eletroquímicos para Moléculas de Interesse Farmacêutico e Ambiental*. 2015. 152 f. Universidade Federal de Uberlândia, 2015.

MORRIS, R. *et al.* Overview of the cholinergic contribution to gait, balance and falls in Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 63, p. 20–30, 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135380201930063X>>.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1, p. 55–63, 1983. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022175983903034>>.

MUHAMMAD, A. *et al.* Biologically active flavonoids from *Dodonaea viscosa* and their structure–activity relationships. **Industrial Crops and Products**, v. 78, p. 66–72, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015304556>>.

MUNEKATA, P. E. S. *et al.* Impact of ultrasound-assisted extraction and solvent composition on bioactive compounds and in vitro biological activities of thyme and rosemary. **Food Research International**, v. 134, p. 109242, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920302672>>.

MURA, S.; NICOLAS, J.; COUVREUR, P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. **Nature Materials**, v. 12, n. 11, p. 991–1003, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nmat3776>>.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 5, p. 1523–1542, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708506003062>>.

NADAR, S. S.; RAO, P.; RATHOD, V. K. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. **Food Research International**, v. 108, p. 309–330, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996918301741>>.

NAWAZ, H.; SHAD, M. A.; RAUF, A. Optimization of extraction yield and antioxidant properties of *Brassica oleracea* Convar *Capitata* Var L. leaf extracts. **Food Chemistry**, v. 242, p. 182–187, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617314978>>.

NIGAM, N. *et al.* Induction of apoptosis by [6]-gingerol associated with the modulation of p53 and involvement of mitochondrial signaling pathway in B[a]P-induced mouse skin tumorigenesis. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 65, n. 4, p. 687–696, 2010.

NILE, S. H.; PARK, S. W. Chromatographic analysis, antioxidant, anti-inflammatory, and xanthine oxidase inhibitory activities of ginger extracts and its reference compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 238–244, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015002228>>.

OANCEA, A.-M. *et al.* Phytochemicals and antioxidant activity degradation kinetics during thermal treatments of sour cherry extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 82, p. 139–146, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817302451>>.

OBOH, G.; ADEMILUYI, A. O.; AKINYEMI, A. J. Inhibition of acetylcholinesterase

activities and some pro-oxidant induced lipid peroxidation in rat brain by two varieties of ginger (*Zingiber officinale*). **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 4, p. 315–319, 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0940299310001569>>.

OLIVEIRA, C. T. *CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA , DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DO GENGIBRE (Zingiber officinale) CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA , QUANTIFICAÇÃO DO 6-GINGEROL E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DO GENG.* 2018. Universidade Federal de Minas Gerais, 2018.

OLIVEIRA, C. S. DE *et al.* Thermal, structural and rheological behaviour of native and modified waxy corn starch with hydrochloric acid at different temperatures. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 1, p. 13–18, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10973-013-3307-9>>.

OLIVEIRA, J. L. DE *et al.* Association of zein nanoparticles with botanical compounds for effective pest control systems. **Pest Management Science**, v. 75, n. 7, p. 1855–1865, 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.5338>>.

PAN, B. *et al.* Environmentally persistent free radicals: Occurrence, formation mechanisms and implications. **Environmental Pollution**, v. 248, p. 320–331, 1 maio 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749119301216>>.

PAN, D. *et al.* Non-volatile pungent compounds isolated from *Zingiber officinale* and their mechanisms of action. **Food Funct.**, v. 10, n. 2, p. 1203–1211, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C8FO02019A>>.

PARK, H.-Y. *et al.* Fermentation enhances the neuroprotective effect of shogaol-enriched ginger extract via an increase in 6-paradol content. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 147–152, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615005964>>.

PASHAEI-ASL, R. *et al.* The Inhibitory Effect of Ginger Extract on Ovarian Cancer Cell Line; Application of Systems Biology. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 7, p. 241–249, 1 jun. 2017.

PASRIJA, D.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Techniques for Extraction of Green Tea Polyphenols: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 5, p. 935–950, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11947-015-1479-y>>.

PATIL, Y. P.; JADHAV, S. Novel methods for liposome preparation. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 177, p. 8–18, 1 jan. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009308413001497?casa_token=LQB1JhCcQ_UAAAAA:jMxHOTzg1cClOImzGmaXxs7TtzeWiVisUD3L3x4pJf6GeP-IWIHeUi2cLBjul8DaRNGyrpFwxL67>.

PATTNI, B. S.; CHUPIN, V. V.; TORCHILIN, V. P. New Developments in Liposomal Drug Delivery. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 19, p. 10938–10966, 14 out. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00046>>.

PEÑA-BAUTISTA, C. *et al.* Free radicals in Alzheimer's disease: Lipid peroxidation biomarkers. **Clinica Chimica Acta**, v. 491, p. 85–90, 1 abr. 2019. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898119300452>>.

PEREIRA, B. L. C. *et al.* Estudo da degradação térmica da madeira de Eucalyptus através de termogravimetria e calorimetria. **Revista Arvore**, v. 37, n. 3, p. 567–576, 2013.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. DAS G. Metabólitos secundários e hipertireodismo. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 1, p. 146–152, 2012.

PHINICHKA, N.; KAENTHONG, S. Regenerated cellulose from high alpha cellulose pulp of steam-exploded sugarcane bagasse. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 7, n. 1, p. 55–65, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2238785416301831>>.

PINELA, J. *et al.* Microwave-assisted extraction of phenolic acids and flavonoids and production of antioxidant ingredients from tomato: A nutraceutical-oriented optimization study. **Separation and Purification Technology**, v. 164, p. 114–124, 30 maio 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586616301356?via%3Dihub>>.

PINILLA, C. B.; BRANDELLI, A. Antimicrobial activity of nanoliposomes co-encapsulating nisin and garlic extract against Gram-positive and Gram-negative bacteria in milk. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 36, 1 jul. 2016.

POORROSTAMI, A.; FAROKHI, F.; HEIDARI, R. Effect of hydroalcoholic extract of ginger on the liver of epileptic female rats treated with lamotrigine. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 4, n. 4, p. 276–286, 2014.

PRABHU, R. H.; PATRAVALE, V. B.; JOSHI, M. D. Polymeric nanoparticles for targeted treatment in oncology: current insights. **International journal of nanomedicine**, v. 10, p. 1001–1018, 2015.

PRASAD, S.; TYAGI, A. K. Ginger and Its Constituents: Role in Prevention and Treatment of Gastrointestinal Cancer. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2015, p. 142979, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2015/142979>>.

RAHAL, A. *et al.* Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 761264, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2014/761264>>.

RAHMANI, A. H.; SHABRMI, F. M. AL; ALY, S. M. Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities. **International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology**, v. 6, n. 2, p. 125–136, 12 jul. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25057339>>.

RAJAN, M. *et al.* Performance of different solvents on extraction of bioactive compounds, antioxidant and cytotoxic activities in Phoenix loureiroi Kunth leaves. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 17, p. 100247, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214786120300085>>.

RAMAZANI, F. *et al.* Strategies for encapsulation of small hydrophilic and amphiphilic drugs in PLGA microspheres: State-of-the-art and challenges. **International journal of pharmaceutics**, v. 499, n. 1–2, p. 358–367, fev. 2016.

RAMEZANZADE, L.; HOSSEINI, S. F.; NIKKHAH, M. Biopolymer-coated nanoliposomes as carriers of rainbow trout skin-derived antioxidant peptides. **Food Chemistry**, v. 234, p. 220–229, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617307653>>.

RAMÍREZ-GODÍNEZ, J. *et al.* Optimization of Physical Conditions for the Aqueous Extraction of Antioxidant Compounds from Ginger (*Zingiber officinale*) Applying a Box-Behnken Design. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 72, n. 1, p. 34–40, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11130-016-0582-1>>.

RAO, J. P.; GECKELER, K. E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 7, p. 887–913, 1 jul. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670011000232?via%3Dihub>>.

RECHARLA, N. *et al.* Novel technologies to enhance solubility of food-derived bioactive compounds: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 39, p. 63–73, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464617305868>>.

REZENDE, F. M. *et al.* Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. *VI Botânica no Inverno 2016*. São Paulo: [s.n.], 2016. p. 93–104.

REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Comparison and optimization of conventional and ultrasound assisted extraction for bioactive compounds and antioxidant activity from agro-industrial acerola (*Malpighia emarginata* DC) residue. **LWT - Food Science and Technology**, v. 85, p. 158–169, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817304991>>.

RIBEIRO, V. R. *et al.* *Bringing together Saccharomyces cerevisiae and bioactive compounds from plants: A new function for a well-known biosorbent.* **Journal of Functional Foods**. [S.l.]: Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464619303573#b0215>>. Acesso em: 8 nov. 2019. , 1 set. 2019

RIGON, R. B. *Nanopartículas lipídicas sólidas para incorporação do trans - resveratrol no tratamento tópico do melanoma : avaliação in vitro e in vivo e elucidação dos mecanismos de internalização celular.* 2017. 190 f. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2017.

ROGEZ, H. *et al.* Sigmoidal kinetics of anthocyanin accumulation during fruit ripening: A comparison between açai fruits (*Euterpe oleracea*) and other anthocyanin-rich fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 6, p. 796–800, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157511000895>>.

ROOSTAEE, M. *et al.* The enhancement of pistachio green hull extract functionality via nanoliposomal formulation: studying in soybean oil. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 3620–3629, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13197-017-2822-2>>.

RORIZ, C. L. *et al.* Modern extraction techniques optimized to extract betacyanins from *Gomphrena globosa* L. **Industrial Crops and Products**, v. 105, p. 29–40, 15 out. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669017303114?via%3Dihub>>.

RUFINO, M. DO S. M. *et al.* *Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS.* , Comunicado Técnico., nº 128. Fortaleza, CE: [s.n.], 2007.

SALVI, V. R.; PAWAR, P. Nanostructured lipid carriers (NLC) system: A novel drug targeting carrier. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 51, p. 255–267, 2019. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224718314473>>.

SARKAR, D. *et al.* In vitro screening and evaluation of phenolic antioxidant-linked anti-hyperglycemic functions of rabbit-eye blueberry (*Vaccinium ashei*) cultivars. **Journal of Berry Research**, v. 7, p. 163–177, 2017.

SATHIVEL, S.; HUANG, J.; PRINYAWIWATKUL, W. Thermal properties and applications of the Arrhenius equation for evaluating viscosity and oxidation rates of unrefined pollock oil. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n. 2, p. 187–193, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877407002646>>.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. DE. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308–313, ago. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922004000400008&lng=pt&tlng=pt>.

SEBAALY, C. *et al.* Effect of composition, hydrogenation of phospholipids and lyophilization on the characteristics of eugenol-loaded liposomes prepared by ethanol injection method. **Food Bioscience**, v. 15, p. 1–10, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429216300219>>.

SEBAALY, C. *et al.* Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. **Food Chemistry**, v. 178, p. 52–62, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615000692>>.

SEMWAL, R. B. *et al.* Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger. **Phytochemistry**, v. 117, p. 554–568, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942215300509>>.

SERCOMBE, L. *et al.* Advances and Challenges of Liposome Assisted Drug Delivery. **Frontiers in pharmacology**, v. 6, p. 286, 2015.

SEVINDIK, H. G. *et al.* The discovery of potential anticholinesterase compounds from *Achillea millefolium* L. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 873–879, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015301291>>.

SHAHRAJABIAN, M. H.; SUN, W.; CHENG, Q. Clinical aspects and health benefits of ginger (*Zingiber officinale*) in both traditional Chinese medicine and modern industry. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, v. 69, n. 6, p. 546–556, 18 ago. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/09064710.2019.1606930>>.

SHAKER, S.; GARDOUH, A. R.; GHORAB, M. M. Factors affecting liposomes particle size prepared by ethanol injection method. **Res Pharm Sci**, v. 12, n. 5, p. 346–352, 2017.

SHARMA, G. *et al.* Liposomes as targeted drug delivery systems in the treatment of breast

cancer. **Journal of Drug Targeting**, v. 14, n. 5, p. 301–310, 2006.

SHERRY, M. *et al.* Essential oils encapsulated in liposomes: a review. **Journal of liposome research**, v. 23, n. 4, p. 268–275, 2013. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mdc&AN=23879218&lang=pt-br&site=ehost-live>>.

SHIN, G. H. *et al.* Preparation of Chitosan-Coated Nanoliposomes for Improving the Mucoadhesive Property of Curcumin Using the Ethanol Injection Method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 46, p. 11119–11126, 20 nov. 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/jf4035404>>.

SHISHIR, M. R. I. *et al.* Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. **Trends in Food Science & Technology**, v. 78, p. 34–60, 1 ago. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092422441730777X?casa_token=qBUjuLL1SNUAAAAA:erc69SiiyIGXiikLBMvOvctWnB8v7IC2vCNGf-fitJrM2HUxF1fmsUToWZJO6Xv8bJDYFbzchA7g>.

SHUI, G.; LEONG, L. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 97, p. 277–284, 2006.

SHUKLA, A.; GOUD, V. V.; DAS, C. Antioxidant potential and nutritional compositions of selected ginger varieties found in Northeast India. **Industrial Crops and Products**, v. 128, p. 167–176, 2019. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092666901830966X>>.

SI, W. *et al.* Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. **Food Chemistry**, v. 239, p. 1117–1125, 15 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617311998?via%3Dihub>>.

SILVA, J. A. DA *et al.* Preparation and characterization of [6]-gingerol/ β -cyclodextrin inclusion complexes. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, p. 102103, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224720313927>>.

SILVA, M. L. C. *et al.* Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965. Disponível em: <<https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>>.

SIVASOTHY, Y. *et al.* Essential oils of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and their antibacterial activities. **Food Chemistry**, v. 124, n. 2, p. 514–517, 15 jan. 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610007727?via%3Dihub>>.

SOARES, S. E. Ácidos Fenólicos Como Antioxidantes. **Revista de Nutricao**, v. 15, n. 1, p. 71–81, 2002.

SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase — new roles for an old actor. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 4, p. 294–302, 2001. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1038/35067589>>.

SOUZA, J. P. *et al.* BREVE RELATO SOBRE OS EFEITOS TERAPÊUTICOS DO GENGIBRE (*Zingiber officinale* Roscoe). **Revista Científica FAEMA**, v. 10, n. 1, p. 44–53, 2019.

SRINIVASAN, K. Ginger rhizomes (*Zingiber officinale*): A spice with multiple health beneficial potentials. **PharmaNutrition**, v. 5, n. 1, p. 18–28, 1 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213434416300676?via%3Dihub>>.

STOOKEY, L. L. Ferrozine - A new spectrophotometric reagent for iron. **Analytical Chemistry**, v. 42, n. 7, p. 779–781, 1 jun. 1970. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/ac60289a016>>.

SURI, S. S.; FENNIRI, H.; SINGH, B. Nanotechnology-based drug delivery systems. **Journal of occupational medicine and toxicology (London, England)**, v. 2, p. 16, dez. 2007.

TANWEER, S. *et al.* Comparison and HPLC quantification of antioxidant profiling of ginger rhizome, leaves and flower extracts. **Clinical Phytoscience**, v. 6, n. 1, 2020.

TATAR, A.-S. *et al.* Nanomedicine approaches in acute lymphoblastic leukemia. **Journal of Controlled Release**, v. 238, p. 123–138, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365916304709>>.

TAVARES, L.; NOREÑA, C. P. Z. Encapsulation of Ginger Essential Oil Using Complex Coacervation Method: Coacervate Formation, Rheological Property, and Physicochemical Characterization. **Food and Bioprocess Technology**, v. 13, n. 8, p. 1405–1420, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11947-020-02480-3>>.

THORAT, I. D. *et al.* Mathematical Modeling and Experimental Study on Thin-Layer Vacuum Drying of Ginger (*Zingiber Officinale* R.) Slices. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 4, p. 1379–1383, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11947-010-0429-y>>.

TOHMA, H. *et al.* Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 11, n. 2, p. 556–566, jun. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11694-016-9423-z>>.

TRAN, V. V; MOON, J. Y.; LEE, Y. C. Liposomes for delivery of antioxidants in cosmeceuticals: Challenges and development strategies. **Journal of Controlled Release**, v. 300, n. January, p. 114–140, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.03.003>>.

TRUCILLO, P. *et al.* Supercritical assisted process for the encapsulation of olive pomace extract into liposomes. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 152–159, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844617307775>>.

VARATHARAJAN, K. .; PUSHPARANI, D. S. Screening of antioxidant additives for biodiesel fuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2017–2028, 1 fev. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032117310870>>.

VAUTHIER, C.; BOUCHEMAL, K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. **Pharmaceutical research**, v. 26, n. 5, p. 1025–1058, maio 2009.

VINHAS, R. *et al.* Nanoparticles—Emerging Potential for Managing Leukemia and Lymphoma. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 5, p. 79, 2017. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fbioe.2017.00079>>.

VIPIN, A. V *et al.* Protective effects of phenolics rich extract of ginger against Aflatoxin B1-induced oxidative stress and hepatotoxicity. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 91, p. 415–424, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332217307941>>.

VITOR, M. T. *et al.* Cationic liposomes produced via ethanol injection method for dendritic cell therapy. **Journal of liposome research**, v. 27, n. 4, p. 249–263, dez. 2017.

WAGNER, A. *et al.* THE CROSSFLOW INJECTION TECHNIQUE: AN IMPROVEMENT OF THE ETHANOL INJECTION METHOD. **Journal of Liposome Research**, v. 12, n. 3, p. 259–270, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1081/LPR-120014761>>.

WALLACE, D. Natural Products as a Source of Anti-Cancer Lead Compounds: Ginger and Breast Cancer. **Journal of pharmacology & clinical research**, v. 1, n. 3, 2016.

WANG, Q. *et al.* A novel formulation of [6]-gingerol: Proliposomes with enhanced oral bioavailability and antitumor effect. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 535, n. 1, p. 308–315, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517317310505>>.

WEI, Q. *et al.* Formulation, Characterization, and Pharmacokinetic Studies of 6-Gingerol-Loaded Nanostructured Lipid Carriers. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 8, p. 3661–3669, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1208/s12249-018-1165-2>>.

WEN, L. *et al.* Structure, bioactivity, and synthesis of methylated flavonoids. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1398, n. 1, p. 120–129, 2017.

WILLIAM, B. *et al.* Supercritical fluid methods: An alternative to conventional methods to prepare liposomes. **Chemical Engineering Journal**, v. 383, p. 123106, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894719325185>>.

WU, Y. *et al.* Curcumin-loaded liposomes prepared from bovine milk and krill phospholipids: Effects of chemical composition on storage stability, in-vitro digestibility and anti-hyperglycemic properties. **Food Research International**, v. 136, p. 109301, 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920303264>>.

XU, Y. *et al.* Enhanced oral bioavailability of [6]-Gingerol-SMEDDS: Preparation, in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Functional Foods**, v. 27, p. 703–710, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464616303206>>.

YAN, Y. *et al.* Carbon nanotube catalysts: recent advances in synthesis, characterization and applications. **Chem. Soc. Rev.**, v. 44, n. 10, p. 3295–3346, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C4CS00492B>>.

YANG, G. *et al.* 6-gingerol induces apoptosis through lysosomal-mitochondrial axis in human

hepatoma G2 cells. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 11, p. 1667–1673, 2012.

YANG, K. *et al.* Fast high-throughput screening of temoporfin-loaded liposomal formulations prepared by ethanol injection method. **Journal of liposome research**, v. 22, p. 31–41, 20 jun. 2011.

YE, J. *et al.* Targeted delivery of chlorogenic acid by mannosylated liposomes to effectively promote the polarization of TAMs for the treatment of glioblastoma. **Bioactive Materials**, v. 5, n. 3, p. 694–708, 2020. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452199X20300839>>.

YEH, H. Y. *et al.* Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 329–334, 1 jan. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643813002892?casa_token=zApaolrWw4IAAAAA:5yJr6eldUMKygu1KzvUrzJav8Dc1UAOw1k8nJBBQwXLxwq14umVMS_jQywILVx7QbjNCAsCL_R0t>.

ZAID, A. N. *et al.* Ethnopharmacological survey of home remedies used for treatment of hair and scalp and their methods of preparation in the West Bank-Palestine. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, 15 jun. 2017. Disponível em: <<https://link.gale.com/apps/doc/A511312130/AONE?u=capes&sid=AONE&xid=b47de0cd>>.

ZENG, L. *et al.* Inhibitory Mechanism of Apigenin on α -Glucosidase and Synergy Analysis of Flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 37, p. 6939–6949, 21 set. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02314>>.

ZHANG, YAN *et al.* Preparation and Properties of Ginger Essential Oil β -Cyclodextrin/Chitosan Inclusion Complexes. **Coatings**, v. 8, n. 9, 2018. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6412/8/9/305>>.

ZHANG, YUNYUE *et al.* Interaction of phenolic acids and their derivatives with human serum albumin: Structure–affinity relationships and effects on antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 240, p. 1072–1080, 2018. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617312530>>.

ZHANG, Z. *et al.* Potential antioxidant activities in vitro of polysaccharides extracted from ginger (*Zingiber officinale*). **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 2, p. 448–452, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861711003407>>.

ZOGZAS, N. P.; MAROULIS, Z. B.; MARINOS-KOURIS, D. Moisture Diffusivity Data Compilation in Foodstuffs. **Drying Technology**, v. 14, n. 10, p. 2225–2253, 1 jan. 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/07373939608917205>>.

ZÔMPERO, R. H. DE F. Desenvolvimento e otimização do método de injeção de tanol para produção de lipossomas contendo beta-caroteno visando sua aplicação na indústria de alimentos. **Universidade de Campinas**, p. 1–121, 2013.

ZÔMPERO, R. H. DE F. *et al.* Hybrid encapsulation structures based on β -carotene-loaded nanoliposomes within electrospun fibers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 134, p. 475–482, 1 out. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776515001496?casa_token=wcUsc0>.

s2WjAAAAAA:m91V0aKLCIeLzNUtn-Zky-38ZRRU5Zu3Z8C_7fceW-9I1Mcc3PLOYQejYqvMX0ya-BIPeh3H7Inc>.