

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



Ciências
ULisboa

**ESTUDO DO ÓLEO DE XIMENIA AMERICANA L. DE PRODUÇÃO
ARTESANAL ANGOLANA: AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS
E BIOLÓGICAS**

Gabriel Filipe Satoto

Mestrado em Química
Especialização em Química

Versão Final
Dissertação orientada por:
Maria Eduarda M. Araújo

[2017]

Agradecimentos

Desejo manifestar os meus sinceros agradecimentos, porque muitas são as pessoas que contribuíram para a concretização deste trabalho, algumas visíveis e outras não visíveis, mas sempre presentes.

A Deus Pai Todo Poderoso, que tudo dirige e determina e que tem usado de sua infinita misericórdia para conosco, e da sua graça mediada pelo Espírito Santo e do Senhor Jesus Cristo.

Gostava de agradecer à Professora Dra. Maria Eduarda M. Araújo pela orientação, confiança, “paciência” e apoio oferecidos durante todas as etapas da elaboração deste trabalho. Apesar das minhas limitações, não hesitou em aceitar-me como seu estudante. Gostava de agradecer-lhe, ainda, por todas as sugestões, discussões e contribuições que permitiram aperfeiçoar este trabalho. O meu muito obrigado por me ter dado a oportunidade de poder fazer investigação científica, por ter contribuído grandemente para o meu crescimento científico. Foi com grande prazer, satisfação e orgulho que trabalhei sob sua orientação.

Um especial agradecimento ao Professor Dr. Fernando Santos, pela sua colaboração incondicional no estudo da viscosidade dos óleos. Os agradecimentos são extensivos ao Professor Nuno R. Neng pela ajuda na análise de CG-EM para identificação do princípio ativo do óleo.

Aos professores Tânia Almeida e Nuno Saraiva do grupo de CBIOS-Research Center for Biosciences e Health Technologies agradeço pelo apoio e disponibilidade oferecidos para o teste de citotoxicidade do óleo.

Aos professores do curso de mestrado em Química, sem a sua dedicação, incentivo, amizade e empenho, este trabalho não seria possível. Gostava de destacar alguns deles: Ana Viana Semedo, Olinda, Jorge, Maria Calhorda Estrela Melo, Ricardo Bettencourt, Maria J. Brito, Maria Serralheiro, Suzana Santos, pelo apoio incondicional e por estarem sempre presentes nos momentos mais difíceis. Os meus agradecimentos de coração.

Aos meus amigos, colegas da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, principalmente ao Luís M.C.C. de Almeida, à Joana F.S. Henriques, à Soraia R.S Bronze e ao Joel M.C. Cardoso, pela amizade, motivação, acreditem que esta etapa foi uma das melhores fases na minha vida, por terem sido fundamentais na concretização deste trabalho. Eu não teria chegado aqui sem a vossa inestimável colaboração. O meu muito obrigado!

Aos colegas do laboratório 8.5.31: A, Soraia M.S. Bronze, Maria João. Em especial, à Catarina C. Oliveira pela amizade e pelo apoio incondicional, mesmo quando já estava de malas feitas e nas horas vagas.

Aos doutorandos Alessandra Honjo Ide e Zaidi Hicham agradeço o apoio e disponibilidade oferecidos para esclarecimento de dúvidas e análise cromatográficas e pela sua companhia nas horas do almoço. Em especial ao doutorando Zéze Ngueleka, pela leitura e correção deste trabalho.

Ao Sra. Domingas do município do Município da Bibala na extração do óleo por método artesanal. E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho de pesquisa.

Um profundo agradecimento à minha segunda família, aos membros da igreja Adventista do 7º Dia de Odivelas, particular ao Pr. Ilídio Carvalho, Lurdes Carvalho, Nuno Figueiredo, Cláudia Figueiredo, Clécio, Luís Freire, Lúcia Freire, William, Hélia, Zé Pedro, Isabel Reis, Carla, Carlos, Hajira, pelo apoio prestado direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

Por último, mas não menos importante, à minha família, em especial à minha esposa, pelos momentos difíceis que tive de enfrentar, principalmente pela distância que nos separava e por ter acompanhado sozinha o desenvolvimento do nosso filho, ainda assim, esteve sempre pronta para me ajudar. O meu muito obrigado!

“Aos meus pais, que realmente acreditaram na minha conquista, e sempre acreditaram em mim. Aos meus irmãos e irmãs, cunhados, sobrinhos, pelo apoio incondicional dado no decorrer desta formação, assim como ao longo da minha vida. E à todos quantos me proporcionaram esta emoção em sentir a descoberta do meu crescimento intelectual, pessoal e profissional” Este trabalho é a eles dedicados.

Resumo

A *Ximénia americana* L. é uma planta cosmopolita tropical, vulgarmente encontrada em África, Índia, Nova Zelândia, América Central e América do Sul. Em Angola é amplamente utilizada na medicina tradicional, no combate da malária e também na cicatrização de feridas causadas pela sífilis. No entanto, a sua utilização mais frequente consiste na aplicação do óleo das sementes como emoliente, condicionador, amaciante de pele, tratamentos do cabelo e para untar o corpo.

O óleo das sementes da *Ximénia americana* L., é utilizado em Angola como cosmético alternativo pelas populações indígenas e também pela grande maioria das populações das grandes cidades.

O presente estudo teve como objetivo caracterizar e avaliar o óleo obtido das sementes da *X. americana* L., extraído, usando diferentes metodologias de extração, com a mesma variedade de sementes do município da Bibala, com a finalidade de propor uma utilização mais nobre deste produto. Foram utilizados métodos clássicos (extração com Soxhlet) e métodos não clássicos (extração pseudoartesanal) na extração do óleo de sementes desta planta

O uso de diferentes métodos de extração permitiu comparar a qualidade do óleo extraído, com a do óleo proveniente de Angola, obtido pelo método artesanal. As diferentes amostras foram caracterizadas através dos seguintes parâmetros: densidade, índice de saponificação, índice de acidez, massa molecular relativa, índice de peróxido, índice de iodo, viscosidade, espectroscopia de UV-Vis e de ¹H RMN. Foram analisadas ainda, por meio de diferentes técnicas analíticas, como: TLC e CG-EM.

A extração do óleo pelo método pseudoartesanal foi a que produziu menor rendimento em óleo bruto com $9,72 \pm 0,19\%$ (m/m), enquanto a extração com solvente orgânico utilizando o Soxhlet mostrou ser o melhor método de extração para as sementes da *Ximénia americana*, apresentando o maior rendimento de $61,78 \pm 0,53\%$ (m/m). Porém, quanto aos resultados obtidos na caracterização das três amostras de óleos, verificou-se que os mesmos apresentavam diferenças entre si em quase todas as análises realizadas. A maior diferença foi observada na determinação da viscosidade e na análise da composição por CG-EM que varia conforme o processo de extração do óleo das sementes.

O óleo produzido artesanalmente, proveniente de Angola mostrou ser eficaz e de boa qualidade para a utilização como cosmético, quando comparado com os dois extraídos no laboratório que apresentaram resultados equivalentes. Deve-se melhorar o método de extração, indicando que se pode produzir óleo de sementes de *Ximénia americana*, extraído com solvente orgânico, com maior rendimento e com qualidade equivalente ao óleo extraído artesanalmente.

Relativamente à densidade do óleo e à sua dependência com a temperatura, o óleo pareceu estável o que estaria de acordo com o baixo valor do índice de peróxido, de 30 meq de O₂/kg. O valor de índice de acidez situa-se na gama de 0,476 a 2,588 mg de KOH/g. O índice de iodo encontrado foi bastante alto na gama de 124,51 a 281,51 gI₂/100g.

Palavras-chave: *Ximénia americana*, uso tradicional, extração, viscosidade, densidade do óleo das sementes

Abstract

Ximenia americana L. is a tropical cosmopolitan plant commonly found in Africa, India, New Zealand, Central and South America. In Angola it is widely used in traditional medicine against malaria and also to heal wounds caused by syphilis. However, its major use is the application of the oil obtained from the seeds as emollient, conditioner, skin softener and in hair treatments and to oint the body.

The oil of the seeds of *Ximenia americana* L., is used in Angola as an alternative cosmetic by the indigenous populations and also by the great majority of the populations of the big cities.

The present study aimed to characterize the oil obtained from the seeds of *Ximenia americana* L., extracted using different extraction methodologies from the same variety of seeds of the Bibala municipality. Classical methods (Soxhlet extraction) and non - classical methods (pseudoartesanal extraction) were used to extract the seed oil from *Ximenia americana*.

The use of different methods of oil extraction in the laboratory allowed to compare the quality of these oil with that from Angola, extracted by the artisanal method. The different samples were characterized by the following parameters: density, saponification index, acid number, relative molecular mass, peroxide index, iodine number, viscosity η , and UV-Vis and ^1H NMR spectroscopy. Different analytical techniques, such as: TLC and GC-MS were also used.

The extraction of the oil by the pseudoartesanal method yielded the lowest yield in crude oil with $9.72 \pm 0.19\%$ (m / m), while the organic solvent extraction used the Soxhlet showed to be the best extraction method for *Ximenia americana*, with the highest yield of $61.78 \pm 0.53\%$ (m / m). However, with respect to the results obtained in the characterization of the three oil samples, it was verified that they presented differences among themselves in almost all analyzes. The greatest difference was observed in the determination of the viscosity and in the analysis of the composition by GC-MS that varies according to the process of extraction of the oil of the seeds.

Handmade oil from Angola proved to be efficient and of good quality for its use as a cosmetic when compared to the two extracted in the laboratory that presented equivalent results. The extraction method should be improved, indicating that it is possible to produce *Ximenia americana* seed oil, extracted with organic solvent, with higher yield and with equivalent quality to the oil extracted by local populations.

The density of the oil depends on temperature. The oil appeared stable as deduced from its low peroxide value of 30 meq O₂ / kg. The acid value is in the range of 0.476 to 2.588 mg KOH / g. The iodine content was quite high in the range of 124.51 to 281.51 gI₂ / 100g.

Key Words: *Ximenia americana*; traditional application; extraction; viscosity; density; oil seeds

Índice

1.	Introdução.....	4
1.1.	Descrição botânica da espécie <i>Ximenia americana</i> L.....	4
1.2	<i>Distribuição geográfica e importância económica em Angola</i>	7
1.3	Descrição do processo de extração do óleo das sementes da <i>Ximénia americana</i> L pelo método artesanal	8
1.4	Propriedades químicas e composição do óleo das sementes da <i>Ximenia americana</i> L seu uso como cosmético	11
1.5	Objetivos, motivação e organização da dissertação	15
1.5.1	Objetivos	15
1.5.2	Motivação.....	15
1.5.3	Ordem da dissertação	15
2	Detalhes experimentais.....	18
2.1	Reagentes	18
2.2	Equipamento.....	18
2.3	Material vegetal.....	18
2.4	Extração do óleo no laboratório	19
2.4.1	Extração com solvente orgânico.....	19
2.4.2	Extração do óleo no laboratório semelhante ao método artesanal (pseudoartesanal)....	20
2.4.3	Rendimento do óleo.....	20
2.5	<i>Caraterização físico-química do óleo da Ximenia americana extraídos de modos diferentes</i> 20	
2.5.1	Caraterização dos óleos	20
2.5.2	Determinação da densidade pelo método do picnómetro	20
2.5.3	Determinação do índice de acidez e massa molecular média.....	21
2.5.4	Determinação do índice de peróxido.....	22
2.5.5	Determinação do índice de saponificação	23
2.5.6	Determinação do índice de iodo	24
2.5.7	Determinação da viscosidade	24
2.5.8	Espetroscopia de absorção na região do infravermelho	26
2.5.9	Espetroscopia de ressonância magnética nuclear RMN- ¹ H.....	26
2.6	<i>Preparação dos esteres metílicos</i>	27
2.6.1	Metilação.....	27
2.6.2	Outro método de metilação com BF ₃ -MeOH (Trifluoreto de Boro em Metanol.....	27
2.7	<i>Cromatografia em camada fina por "TLC"</i>	28

2.8	<i>Cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa (CG-EM)</i>	28
3	<i>Discussão dos resultados</i>	32
3.1	<i>Extração do óleo no laboratório com solvente orgânico e extração do óleo semelhante ao método artesanal (pseudoartesanal) e rendimento</i>	32
3.2	<i>Caraterização físico-química do óleo artesanal</i>	33
3.2.1	Determinação da densidade pelo método do picnómetro.....	33
3.2.2	Determinação do índice de acidez e massa molecular média.....	34
3.2.3	Determinação da % de acidez.....	35
3.2.4	Determinação do índice de peróxido (IP).....	35
3.2.5	Determinação do índice de saponificação (IS).....	35
3.2.6	Determinação do índice de iodo (II ₂).....	36
3.2.7	Determinação da viscosidade.....	36
3.3	<i>Cromatografia em camada fina (TLC)</i>	44
3.4	<i>Espetroscopia de infravermelho</i>	44
3.5	<i>Análise do óleo por RMN-¹H</i>	45
3.6	Preparação dos esteres metílicos e análise por CG-EM.....	46
3.7	Avaliação da citotoxicidade do óleo artesanal de produção angolana.....	50
4	Conclusões e perspetivas futuras.....	55
5	Referências bibliográficas.....	58
	Anexos.....	iii

Índice de tabelas

Tabela 3.1 Rendimento de extração dos dois óleos de <i>Ximenia americana</i> extraído no laboratório por diferentes métodos com os respetivos desvios padrão	32
Tabela 3.2 Valores médios das características físico-químicas dos óleos das sementes de <i>Ximenia americana</i> extraído por diferentes métodos	33
Tabela 3.3 <i>Variação da densidade do óleo artesanal em função da temperatura</i>	34
Tabela 3.4 <i>Média da viscosidade das três amostras de óleo mumpeke (<i>Ximenia americana</i>) extraído por processos diferentes obtidos nas temperaturas de 20, 30, 35, 40 °C.</i>	37
Tabela 3.5 Valores da viscosidade cinética das três amostras.....	37
Tabela 3.6 <i>Análise do comportamento do óleo do mumpeke (<i>Ximenia americana</i>) extraído artesanalmente medida a 20 °C</i>	38
Tabela 3.7 <i>Análise do comportamento do óleo extraído pseudoartesanal do mumpeke (<i>Ximenia americana</i>) medida a 20 °C</i>	39
Tabela 3.8 <i>Análise do comportamento do óleo extraído com solvente orgânico do mumpeke (<i>Ximenia americana</i>) medida a 20 °C</i>	39
Tabela 3.9 Ácidos gordos identificados nos óleos de sementes extraídas por diferentes metodologias e suas potencialidades no uso como cosmético em algumas regiões de Angola.	47
Tabela 3.10 Valores de concentração e viabilidade celular.....	50

Índice de figuras

Figura 1.1 – <i>Planta da <i>Ximenia americana</i> L., a) flor e b) fruto nos dois estágio de maturidade</i> ¹²	5
Figura 1.2 <i>Fotografia de <i>Ximenia americana</i> que cresce no município de Bibala tirada em 2016</i>	5
Figura 1.3 <i>Mulher triturando sementes de <i>Ximenia americana</i> entre duas pedras</i> ²	9
Figura 1.4 <i>Mulher tostando sementes da <i>Ximenia americana</i></i> ²	9
Figura 1.5 <i>Mulher fazendo a separação do óleo do líquido residual com as mãos</i> ²	10
Figura 1.6 <i>Fotografia a) frutos secos, b) sementes e C) óleo extraído pseudoartesanal</i>	11
Figura 1.7 <i>Triterpenos presentes no óleo de algumas sementes</i> ³⁵	13
Figura 1.8 <i>Terpenos de alguns extratos da <i>Ximenia americana</i></i> ⁹	13
Figura 1.9 <i>Ácidos presentes em sementes de algumas plantas benéficos para pele e cabelos</i> ^{9,14}	14
Figura 2.1 <i>Soxhlet usado para extração de óleo das sementes de <i>Ximenia americana</i></i>	19
Figura 2.2 <i>Fotografia do Picnómetro usado para a determinação de densidade do óleo das sementes de <i>Ximenia</i></i>	21
Figura 2.3 <i>Reometro aparelho usado para estudo da viscosidade das três amostras de óleo da <i>Ximenia americana</i></i>	26
Figura 3.1 <i>Espetro do comportamento reológico da viscosidade do óleo extraído artesanalmente</i>	40
Figura 3.2 <i>Espetro do comportamento reológico da viscosidade do óleo extraído pseudoartesanal</i> ..	40
Figura 3.3 <i>Espetro do comportamento reológico da viscosidade do óleo extraído com solvente orgânico</i>	41
Figura 3.4 <i>Comportamento do óleo artesanal em função da equação de Arrhenius</i>	41
Figura 3.5 <i>Comportamento do óleo pseudoartesanal em função da equação de Arrhenius</i>	42
Figura 3.6 <i>Comportamento do óleo extraído com solvente orgânico em função da equação de Arrhenius</i>	42
Figura 3.7 <i>Comportamento da viscosidade do óleo artesanal em função da temperatura</i>	43
Figura 3.8 <i>Comportamento da viscosidade do óleo pseudoartesanal em função da temperatura</i>	43
Figura 3.9 <i>Comportamento da viscosidade do óleo extraído com solvente orgânico em função da temperatura</i>	43
Figura 3.10 <i>Cromatografia em camada fina dos três óleos. 1) Óleo artesanal; 2) óleo pseudoartesanal e 3) óleo extraído com solvente orgânico</i>	44

<i>Figura 3.11 Espectro de ultravioleta das três amostras de óleo da mumpeke (Ximenia americana) 1-óleo artesanal;</i>	45
<i>Figura 3.12 Espectros de ressonância magnética nuclear das três amostras de óleos mumpeke (Ximenia americana)</i>	46
<i>Figura 3.13 Cromatograma do óleo artesanal</i>	49
<i>Figura 3.14 Cromatograma do óleo pseudoartesanal</i>	49
<i>Figura 3.15 Cromatograma do óleo extraído com solvente organico</i>	50
<i>Figura 3.16 Comportamento do óleo quanto ao teste de citotoxicidade</i>	51

Abreviaturas

a- alfa

AG- ácidos gordos

ALA – Ácido a-linolenico

CG-EM – Cromatografia gasosa-espectroscopia de massa

ETB – Birr-etíope

EU – União Europeia

EUA – Estados Unidos da América

IA – índice de acidez

I₂ – índice de iodo

IP – índice de peróxido

IS – índice de saponificação

Kz – Kwanzas

LA – Ácido linoleico

OSXA – Óleo das sementes da Ximenia americana

ONGs – Organizações não-governamentais

PCP – Produtos de cuidados pessoais

PFNMs – Produtos florestais não madeireiros

ppm – parte por milhão

RMN-¹H – Ressonância magnética nuclear do próton

RSD – Desvio padrão residual

TLC – Cromatografia em camada fina

UV – Espectroscopia Ultra Violeta

XAL – Ximenia americana olocacea

Símbolos

η - rendimento

μ - viscosidade dinâmica

η – viscosidade aparente

τ – tensão de cisalhamento

γ – taxa de deformação

Capítulo 1

Introdução

1. Introdução

1.1. Descrição botânica da espécie *Ximenia americana* L

Observando os interesses das comunidades locais no plano da gestão florestal da África Central é hoje um pedido legal em vários países que retificaram as recentes reformas dos atos florestais. Promovido por diferentes ONGs, este conceito está a começar a ser aceite por numerosos protagonistas do setor de exploração florestal¹. Os produtos florestais não madeireiros (PFNMs) são produtos de origem biológica, com exceção da madeira derivada das florestas e de todos os usos da terra. Os PFNMs podem tornar-se numa parte significativa da economia doméstica que atende às necessidades da comunidade, ao mesmo tempo em que assegura a conservação dos recursos florestais².

Estudos etnobotânicos têm levado ao conhecimento do público e da comunidade científica a utilização e a importância cultural, alimentar e medicinal das plantas para as populações indígenas e comunidades tradicionais. Conhecer os recursos naturais, permitirá às populações nativas valorizar e contribuir para a preservação da biodiversidade e dos recursos naturais dos ecossistemas³.

A *Ximenia americana* L, que também é conhecida vulgarmente como ameixa selvagem, ameixa azeda e seiva, limão do mar, ameixa preta, ameixa amarela, ameixa-brava, ameixa-do-mato, ameixa-da-terra, e em Angola é conhecida, ainda, pelos nomes de *ganzi*, *lumeque*, *mupeque*, *munjaque*, *omupeque* e *umpeque*, entre de entre outros, isto de acordo com o lugar a que esta se adapta, pertence à família Olocaceae^{4,5}. Compreendendo 27 géneros com aproximadamente 200 espécies, os seus representantes são plantas lenhosas, árvores ou arbustos⁴. A *Ximenia americana* L., teve origem nos trópicos africanos⁶ e atualmente pode ser encontrada em diferentes ecossistemas, tropicais e subtropicais como, Índias Ocidentais, Ilhas do Pacífico, Nova Zelândia, América Central e América do Sul. Em África podemos citar o seu registo em Angola, Etiópia, Namíbia, Nigéria, Senegal e Sudão^{7,8}.

Mumpeke ou ameixa selvagem é parte do extrato arbusto-arbóreo da vegetação do município da Bibala no sudoeste de Angola². Esta planta caracteriza-se por apresentar as folhas sempre verdes durante todo o ano, até mesmo em períodos mais críticos, por crescer em solos diferentes, que são muitas vezes pobres e secos, o que a caracteriza como uma planta resistente à seca, pois cresce em altitudes de até 2000m do nível de mar e onde a precipitação não excede 500 mm por ano⁸. Apesar de não ser considerada uma fruta comercial, é comestível⁹ e o seu fruto quando comido é muito refrescante e tem gosto de amêndoa ácida¹⁰. É descrita como uma árvore pequena espinhosa ou um arbusto, de 5 a 6 m, porém, no geral não ultrapassa os 4m de altura⁸, com relatos de que pode atingir 7 m de altura⁹.

A sua casca é avermelhada e cinzenta, fina, pouco rugosa e lisa, muito adstringente. As suas folhas são pecioladas, oblongas, alternas, inteiras, pequenas². As flores branco-amareladas, aromáticas, com as pétalas recurvadas, dispostas em racemos curtos, auxiliares ou terminais. O fruto é uma drupa amarelo-alaranjado, ovoide, com cerca de 3 cm de comprimento e 2,5 cm de espessura diâmetro⁸, contendo polpa aromática, mais ou menos doce, adstringente, pouco aquosa, que envolve uma semente com 1,5 cm de comprimento e 1,2 cm de espessura, formando uma grande amêndoa branca⁹. A *Ximenia americana* apresenta frutas com um único tipo de amêndoa sendo a semente de cor creme. O fruto no estágio de maturidade, apresenta a pele verde e, quando maduro, a cor da pele é amarela como se pode observar na Figura 1.1¹¹. As sementes têm até 60% de teor em óleo⁸.

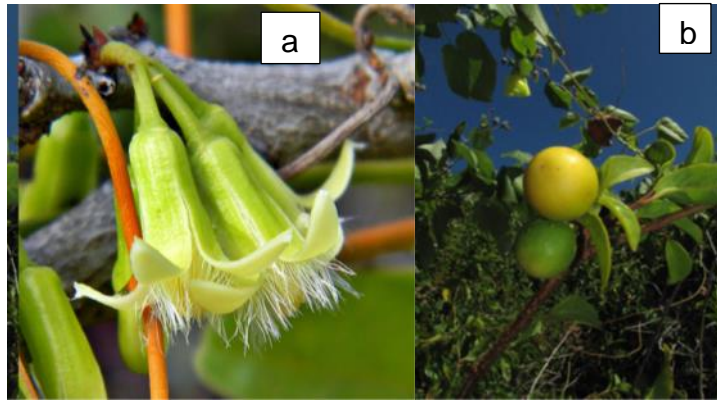


Figura 1.1 –Planta da *Ximenia americana* L., a) flor e b) fruto nos dois estágios de maturidade ¹²

O período de frutificação da planta é bastante curto, iniciando-se no mês de Janeiro e estendendo-se até ao mês de Março^{2,13}. A *Ximenia americana* pode ser facilmente reconhecida, principalmente em períodos que antecedem às chuvas, por apresentar as suas folhas sempre verdes, destacando-se sobre as demais plantas durante a estação seca¹². Também é de realçar que é uma planta que pode produzir fruto no terceiro ano depois de ser plantada ¹⁴.

A floração e frutificação ocorre ao longo de todo ano, aparentemente não controlada por regimes climáticos. Esta árvore resistente à seca, principalmente solitária, como se pode observar na Figura 1.2 cresce a baixas altitudes em uma ampla gama de habitats, incluindo savanas, bosques secos, florestas secas e ao longo de áreas costeiras ou margens dos rios^{9,12}



Figura 1.2 Fotografia de *Ximenia americana* que cresce no município de Bibala tirada em 2016

As plantas são uma valiosa fonte de novos compostos bioativos. Apesar da existência de diferentes abordagens na descoberta de medicamentos, as plantas ainda permanecem com um dos

melhores reservatórios de novos tipos estruturais. Na África, e em muitos países em desenvolvimento, as plantas medicinais são usadas para o tratamento de várias doenças e um grande número de pessoas depende de plantas medicinais porque não têm acesso a medicamentos modernos¹⁵.

Para os seres humanos a ameixa selvagem tem múltiplos usos: como alimento e medicamento⁸, em África, pode ainda ser usada tradicionalmente para o combate de múltiplas doenças. Na Nigéria, a planta é utilizada como remédio fitoterápico no tratamento da malária, úlceras, câncer, lepra e infeções cutâneas de origem mista⁶. As folhas são usadas no tratamento da febre, tuberculose e feridas. As raízes são usadas no tratamento da hanseníase, sífilis, disenteria e feridas. A casca do caule e as folhas também são usadas no tratamento de dores de cabeça e caxumba^{10,16,14,5}.

Na Shewa, Etiópia, a casca, as raízes e as folhas são usadas para tratar doenças como a lepra, a hepatite, a malária, a febre, a dor de cabeça, o inchaço do pâncreas, feridas, tanto do gado como de seres humanos, e para o tratamento da mordedura da cobra. O caule fresco ou seco, cozido em água, serve como uma bebida para tratar mordidas de cobra e o seu resíduo é aplicado na ferida para acelerar o processo da cura⁸.

O uso da madeira é muito limitado, devido à magreza do caule. A madeira também é usada como combustível. A madeira é usada para fazer varas de cozimento de guisado local (remo), pirão ou funje e para itens domésticos. É também usado para fazer colheres locais, punho de forças de foca e cabos de foice por causa da sua madeira dura e bonita. O óleo das sementes é comido e usado tradicionalmente para amolecer o couro, mas o seu principal uso é como emoliente, óleo de cabelo, condicionador e amaciador da pele, no fabrico de sabão e como componente de batons e lubrificantes. O fruto, comestível, é usado como conservante e para fazer geleias e ainda na produção de cerveja^{17,18}.

No Sudão, a madeira é usada como substituto do verdadeiro sândalo. As folhas, galhos e frutos também são usados na medicina tradicional para tratar resfriado, febres, dores de cabeça, doença do sono, edema, usada como laxante e como antídoto de veneno^{19 20,21}. A casca e a raiz seca, são usadas para queixas renais e cardíacas, bem como dores de cabeça e úlceras da pele e também em forma de um chá para uma boa saúde, enquanto o extrato da raiz triturada é usado para tratar a diarreia em crianças^{20,22}.

Em Angola a *Ximenia americana* é muito pouco explorada face ao seu potencial. São usadas predominantemente as folhas e o óleo extraído das sementes. No sudoeste do país, o óleo *mumpeke* é usado extensamente por povos, principalmente como um cosmético, para cuidados da pele e do cabelo. É usado para suavizar e hidratar a pele, para melhorar o seu tom e a sua elasticidade e para evitar estrias. É ainda utilizado como condicionador do cabelo, como um remédio para evitar dores articulares e musculares, dor abdominal e para prevenir varizes^{2,23}.

As folhas são picadas e esmagadas para obter uma pomada, que é esfregada sobre o corpo para tratar o sarampo e erupções cutâneas e para curar feridas e queimaduras. Folhas inteiras ou picadas preparadas como infusão, decocção e pomada ou maceradas em água são administradas ou aplicadas diretamente no corpo para tratar picadas de cobra, escorpião e mordidas de animais domésticos. A seiva da folha é usada para dores de ouvidos e para as folhas esmagadas e infundidas, usadas para diarreia e tosse^{2,23}. Em Angola há ainda pouca informação sobre a caracterização de populações da ameixa selvagem.

Feyssa *et al.*, (2012) encontraram que o teor de óleo das sementes da ameixa selvagem, estudo realizado em Shewa, Etiópia, era de 60 %⁸, maior do que o teor encontrado por Eromosele *et al.*, de 49,9 %²⁴.

Em estudos já realizados em alguns países do continente africano, referentes à qualidade do fruto da ameixa selvagem, relata-se a presença de alto conteúdo de açúcar, o que pode justificar o seu uso na produção de cerveja¹⁸, a planta apresenta vida útil pós-colheita sem perigo de esticção em alguns países de África como é o caso de Angola². Os frutos da ameixa selvagem, quando maduros, são uma

fonte importante de vitamina C^{9,11,12,25}, pois fornecem um suco bastante gostoso para as comunidades indígenas, podendo ser usado no fabrico de sorvetes, conservantes, geleias e doces⁸. Além de apresentar compostos fenólicos que podem aumentar o interesse desta espécie como uma fonte de antioxidantes¹¹ a avaliação do teor de nutrientes das sementes comestíveis da Nigéria, apresentou valores de cerca de 320 mg/100g de cálcio, Também foi observado que as sementes contêm grande quantidade de fósforo 870 mg/100g e valores baixos de manganês 90 mg/100g, magnésio 3,160 mg/100g, ferro 0,20 mg/100g. A proteína bruta foi baixa para as sementes, isto é, não ultrapassando os 4,5%. Assim, os valores nutricionais das sementes parecem ser o resultado dos teores em óleos e carboidratos²⁴.

1.2 Distribuição geográfica e importância económica em Angola

O cultivo de plantas medicinais pode ter um impacto muito forte em diferentes áreas do mundo²¹. Os produtos florestas não madeireiros (PFNM), podem ser uma parte significativa da economia doméstica que atende às necessidades da comunidade, ao mesmo tempo que assegura a conservação dos recursos florestas².

O uso de PFNM tem sido impulsionado como resultado de renovado interesse em produtos naturais de saúde e beleza. No entanto, os homens e mulheres (principalmente) que coletam os materiais, geralmente recebem apenas uma pequena fração do preço final da venda do produto²⁶.

As mulheres rurais estão especialmente envolvidas na colheita de matérias-primas, tais como sementes de árvores indígenas, pois fornecem alimentos e renda para cuidar das suas famílias. As sementes são utilizadas para obtenção de óleos de interesse específico para a indústria de cosméticos²⁷. O comércio formal de produtos naturais na África Austral foi estimado em apenas 12 milhões de dólares americanos (USD) por ano. Existe um crescente interesse dos consumidores por cosméticos naturais e/ou de cultura biológica, sendo os principais mercados a Europa e a América do Norte⁹. Na Etiópia, cerca de 50,33 Kg de frutos foram colhidos e vendidos a um valor monetário estimado a 2516,50 ETB (Birr etíope) na moeda local, o equivalente a 186,41 USD. Este dinheiro proveniente da venda de frutos pode ser usado para cobrir as despesas mensais de várias famílias na compra de bens de primeira necessidade como alimentos, utensílios e melhorar os meios de subsistências se não houver perda de pré e pós-colheita⁸.

Em Angola, na região em que se efetuou o estudo, as pessoas locais viviam principalmente da pecuária e da produção de carvão vegetal. O gado é considerado pelas comunidades como seu principal meio de sobrevivência e fonte de rendimento e também é considerado como um símbolo de riqueza. A agricultura é difícil nesta região, devido à incerteza das chuvas. Neste cenário socioeconómico, a colheita de PFNM desempenha um papel muito importante, fornecendo um suplemento dietético significativo, assim como medicamentos e matéria para a produção de diferentes bens, que podem ser usados dentro da comunidade, vendidos localmente ou mesmo em mercados mais distantes¹³.

Um produto obtido de plantas, como por exemplo o óleo extraído das sementes da *Ximinea americana* é produzido por uma boa parte das comunidades indígenas e, além de ser utilizado pessoalmente pelos moradores, também é vendido nos mercados locais, e não só, a um preço de 300 a 1200 Kwanzas (Kz) por litro equivalente 3 a 12 Euros aproximadamente. Devido à sua ampla utilização, o seu valor comercial real e potencial e a sua disponibilidade, este óleo pode ser considerado como um dos PFNMs mais importante localmente disponíveis nestas comunidades, desempenhando, portanto, um papel importante na sustentabilidade socioeconómica das comunidades locais^{2,13}.

Sabões de zinco, cádmio, chumbo, bário e cálcio são produzidos com óleo das sementes da ameixa selvagem, proporcionando um impulso adicional no desenvolvimento de produtos de valor acrescentado e industrialmente útil^{7,28}.

Ao coletar PFNMs da floresta, as mulheres contribuem significativamente para suprir as necessidades básicas e aumenta o rendimento familiar. Por outras palavras, o rendimento gerado a partir de atividades de PFNM por mulheres, é relevante no aumento do poder de compra das suas famílias. Portanto, capacitar as mulheres rurais no setor florestal, pode criar oportunidades de desenvolvimento enorme para elas e gerar importantes benefícios para as suas famílias e para a sua comunidade. O dinheiro arrecadado com a recolha e venda ou processamento de produtos tem uma contribuição indispensável para o rendimento familiar²⁶.

1.3 Descrição do processo de extração do óleo das sementes da *Ximénia americana* L pelo método artesanal

Em várias partes do mundo são as mulheres que coletam os frutos e dependem muito deles para a sua sobrevivência. Como se pode ver, a cadeia de produção de óleo artesanal é longa e complexa, envolvendo uma gama de intervenientes desde o recolector dos frutos, comerciantes, exportadores, importadores e produtores²⁷.

Os frutos foram coletados pela senhora Domingas de 49 anos de idade, no município da Bibala, na localidade das Mangueiras, no mês de fevereiro (estação chuvosa) sendo este o período, segundo as explicações dos populares, em que o fruto existe em maior abundância. Depois de colhidos, os frutos foram submetidos ao sol diretamente por um período de cinco dias para secar antes de serem despedaçados. Este passo é de extrema importância, porque permite que o fruto seja desidratado, prevenindo o crescimento de fungos e o processo de decomposição, relacionado com frutos frescos. Esta explicação fornecida, pela senhora Domingas está em conformidade com a encontrada na literatura².

A secagem dos frutos e das sementes também permite a inativação das enzimas responsáveis pela formação de ácidos gordos. A secagem, para além de ser usada para conservação, também é importante para o passo seguinte, por facilitar o processo do descasque e a remoção do grão que cobre a semente. Após esta etapa, os frutos são armazenados por um período de quase um ano sem problema de deterioração, facto este que permite que as sementes sejam conservadas em laboratório por longos períodos de tempo, o que está de acordo com o que está descrito na literatura².

Para a extração do óleo das sementes, estas são, em primeiro lugar, tostadas e, em seguida, trituradas entre duas pedras, uma maior e uma pequena. A maior serve de base e a pequena desempenha o papel de almofariz para triturar o grão, com o objetivo de reduzir o tamanho das sementes (Figura 1.3). Em seguida, as sementes são novamente secas diretamente ao sol, de um dia para outro, terminado este período, as sementes são novamente trituradas e a pasta que se extrai, é colocada numa panela e tostada durante um período de tempo de cerca de 10 minutos, com uma temperatura parece acima dos 100° C.



*Figura 1.3 Mulher triturando sementes de *Ximenia americana* entre duas pedras²*

Após a etapa de torra das sementes ter finalizado, a pasta oleosa obtida deste árduo trabalho é colocada numa panela (Figura 1.4) e é amassada, a seguir a isto, adiciona-se água. A massa obtida formada pela pasta oleosa e água é agitada e aquecida durante uma hora (1h), com uma temperatura superior a 90 ° C, usando como fonte de calor uma lareira, uma vez que nestas zonas não há outros meios para a produção de calor. Esta é uma etapa de extrema importância, por ser a fase em que ocorre a separação do óleo e do líquido residual^{2,27}.



*Figura 1.4 Mulher tostando sementes da *Ximenia americana*²*

Depois da separação das duas fases, isto é, finalizando o tempo de aquecimento, o líquido residual é retirado da lareira de modo a facilitar o arrefecimento da mistura residual durante duas horas ou até este ficar completamente arrefecido ou frio originando a separação do óleo, sendo esta separação do resíduo do óleo feita à mão. As mulheres que participam do processo de separação do óleo devem

ter as mãos muito limpas, uma vez que esta separação é feita à mão sem nenhuma proteção. O óleo é então recolhido, removendo a gordura da superfície do líquido arrefecido e gotejando-o para outra panela. (Figura 1.5)²

Completado o processo de separação do óleo da mistura residual, o óleo recolhido é submetido novamente a uma determinada temperatura de aproximadamente 100 °C, por um período de cerca de 20 minutos, com o propósito de matar os possíveis microrganismos presentes no óleo. Este passo é de fundamental importância, sendo utilizado como um método de secagem tradicional, na ausência de excipientes químicos como o sulfato de sódio, anidro ou o sulfato de magnésio que permitem eliminar toda a água presente no óleo. No final do tempo estabelecido de secagem, o óleo é novamente arrefecido e é colocado numa garrafa de vidro para a sua conservação e posteriormente utilizado pelas populações sendo a maior parte levada ao mercado ou aos grandes centros urbanos para ser comercializado^{2,27}.



Figura 1.5 Mulher fazendo a separação do óleo do líquido residual com as mãos²

A cor do óleo *mumpeke*, como é possível observar na (Figura 1.6), pode variar entre castanho-amarelado e castanho-escuro, devido às temperaturas atingidas durante as diferentes fases do processo de extração do óleo. Todo o trabalho de produção artesanal é intensivo, desde a etapa inicial até à final, uma vez que, a mão-de-obra da produção do óleo *mumpeke* é uma tarefa realizada apenas por mulheres e crianças, como foi observado por Ursa (2013). São as mulheres que colhem e armazenam os frutos, processam o grão para produzir o óleo e vendem o óleo ou sementes nos mercados locais. É um processo bastante demorado e muito dispendioso no que concerne à matéria-prima, uma vez que são necessários seis quilogramas ($6\text{kg} \pm 0,58$) de sementes para produzir um litro de óleo².

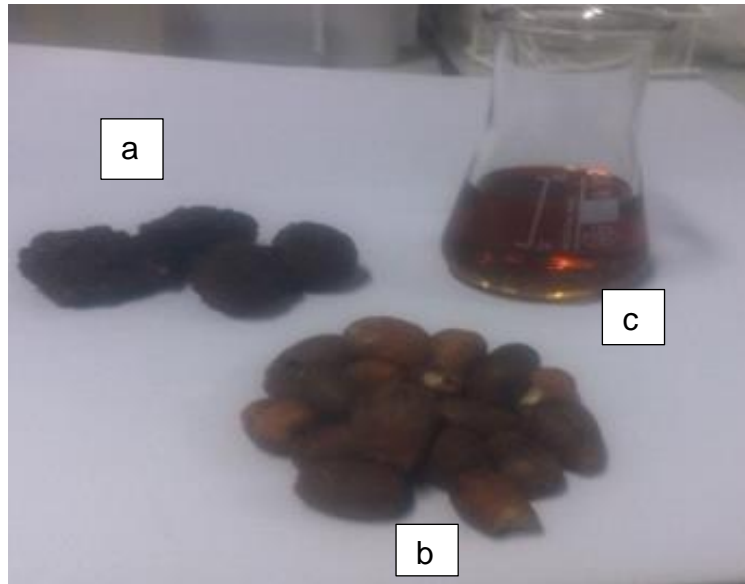


Figura 1.6 Fotografia a) frutos secos, b) sementes e c) óleo extraído pseudoartesanal

No laboratório procedeu-se à extração um processo o mais semelhante possível ao artesanal obtendo-se um óleo a que se deu o nome de pseudoartesanal.

1.4 Propriedades químicas e composição do óleo das sementes da *Ximenia americana* L seu uso como cosmético

Os óleos vegetais tornam-se cada vez mais importantes, não apenas para fins nutricionais, mas também como matéria-prima para uma vasta cadeia de produtos industriais que incluem combustíveis, produtos de cuidado da pele, lubrificantes de alta pressão e resinas alquídicas para pinturas. Essas aplicações levam a que existam estudos extensivos sobre as propriedades físico-químicas dos óleos a fim de verificar a sua adequação como matéria-prima.^{27,28}

Além de ser uma fonte de alimentos, muitas espécies de plantas são usadas como fonte de produtos industriais não-alimentares. Materiais a granel, tais como óleos, carboidratos e fibras que são obtidas de várias plantas²⁹. Atualmente tem havido um interesse crescente no óleo das sementes da *Ximénia americana* como cosmético para cuidados da pele e do cabelo¹⁹.

Os óleos extraídos de fontes vegetais têm uma importante história de uso por pessoas locais como fonte de alimentos, energia, medicamentos e para aplicações cosméticas⁸. Um produto cosmético é definido como “uma substância ou preparação destinada a ser aplicada em qualquer superfície externa do corpo humano, (isto é, epiderme, cabelo, unhas, lábios e órgãos genitais), dentes ou mucosa bucal ou combate, com a finalidade de limpar, perfumar ou proteger, mantê-lo em boas condições ou mudar a sua aparência ou combater o odor ou transpiração corporal, exceto quando tal limpeza, aromatização ou proteção seja inteiramente com o objetivo de tratar ou prevenir a doença”^{29,30,29}.

Os produtos de higiene pessoal incluem uma grande variedade de tipos de formulação, tais como sabões, champôs, e produtos de banho, protetores solares, produtos para cuidado da pele e do cabelo, corantes capilares, maquiagens, batom para os lábios, pastas dentárias, desodorizantes, entre outros. No Reino Unido, essa categoria de produtos de consumo é definida como cosméticos, como em outras partes do mundo industrializado. Nos (EUA), estes produtos são, cada vez mais, chamados de produtos de higiene pessoal, e, por conseguinte, o termo a seguir apresentado, caracterizado como sendo um produto de cuidado pessoal (PCP), será utilizado para estes produtos^{31,30}.

Os óleos de sementes têm sido comumente usados para aplicação tópica na pele desde os tempos antigos e, até hoje, são usados em diversas partes do globo. Durante cerca de 100 anos, substitutos sintéticos tornaram-se disponíveis e foram usados para a substituição dos óleos naturais.³¹ Atualmente tem-se verificado uma grande tendência na substituição destes produtos sintéticos e voltar à utilização de óleos naturais nas indústrias de cosméticos e farmacêuticas. O óleo da *Ximenia americana* apresenta um excelente poder emoliente e alta estabilidade oxidativa³².

Hoje verifica-se uma crescente demanda por PCP, contendo ingredientes naturais e /ou biológicos. Constata-se um crescimento dramático nas vendas de PCP natural e biológicos em supermercados, farmácias, salões de beleza e em todas as farmácias de todo o mundo e especialmente na América do Norte e na Europa Ocidental. Por exemplo, os inquéritos americanos revelaram que a percentagem de adultos usando ervas para tratar algumas doenças, aumentou de cerca de 3% em 1990 para 12% em 1997 e atingiu 21% em 2001. Estima-se que em 2002, cerca de 19% de adultos americanos usaram fitoterapia, totalizando 38 milhões de pessoas⁸.

O ácido oleico é o ácido gordo insaturado mais eficaz com intensificador de absorção, enquanto o ácido palmítico é o ácido gordo saturado potenciador da penetração da pele. Estas qualidades incentivam a utilização de sementes com outros ingredientes ativos^{33,34}.

Determinados óleos fixos são utilizados como ingredientes em preparação de cosméticos como: óleo de abacate, óleo de amêndoa, óleo de colza, óleo de sésamo, óleo de girassol, óleo de linhaça e óleo de palma²⁹. Entre os nutrientes de beleza africana tradicionais, usados para produtos de cuidados de pele e do cabelo a *Ximenia americana* apresenta um forte potencial para utilização como cosmético, por ser adequado para aplicação tópica devido à presença de vários ácidos gordos de cadeia longa, tais como linolénico, linoleico, oleico, e esteárico). O ácido ximenínico, que foi formulado em como ximeniol, melhora a circulação sanguínea após uma hora, especialmente em áreas com celulite^{11,23}.

Nos últimos anos observa-se que os ácidos gordos, constituintes de óleo das sementes, sesquiterpenos, triterpenos e fitoesteróis são encontrados em óleos voláteis a partir das sementes³². Os óleos de sementes de plantas da família *olacaceae* são ainda uma rica fonte de lípidos acetilénicos e ácidos gordos insaturados¹³.

Os óleos de sementes, utilizados em cosméticos, são ricos em ácidos gordos os quais contribuem com várias propriedades benéficas aquando da sua utilização como produtos de cuidado pessoal³³. Os ácidos gordos são divididos em ácidos gordos saturados, como por exemplo, palmítico, esteárico e araquídico e ácidos gordos insaturado, por exemplo, o oleico, linoleico e linolénico. Os ácidos palmíticos, oleico e esteárico são sintetizados pelo organismo, mas o ácido linoleico não é sintetizado e a sua deficiência causa vários sinais na pele. A pele fica seca e torna-se escamosa, as unhas quebradas, perda de cabelo, bem como perda de água transepidermica, aumenta. O ácido linoleico é o ácido gordo mais usado nos produtos cosméticos, pois hidrata a pele, auxilia no processo de cicatrização de dermatoses e queimaduras solares e é usado no tratamento de Acne vulgares^{7,8}.

O ácido linoleico (LA, C18:2 ω -6 e o ácido α -linolénico (ALA, C18:3 ω -3 foram encontrados no óleo da semente. São ácidos gordos essenciais que são vitais na manutenção de algumas funções fisiológicas importantes do corpo do animal. O ácido linoleico é essencial para manter a integridade da pele, membranas celulares, sistema imunológico e síntese de icosanóides³³.

O óleo de *Ximenia americana* é vantajoso devido ao seu conteúdo em ácidos gordos saturados e mono insaturado (cerca de 99%), o que o torna estável à oxidação e várias experiências mostram que o óleo é útil para a pele seca, propensa a senescência precoce (processo natural de envelhecimento ao nível celular) e foi útil a melhorar o funcionamento de tecidos sebáceos. Além disso, ele também contém ácidos gordos insaturados e têm um valor nutricional excepcional para nutrir a pele enquanto hidratam, suavizam e revitalizam a pele⁷.

A seguir apresenta-se alguns terpenos presentes em óleo de sementes de plantas que se revelam benéficos para o seu uso em cosméticos.

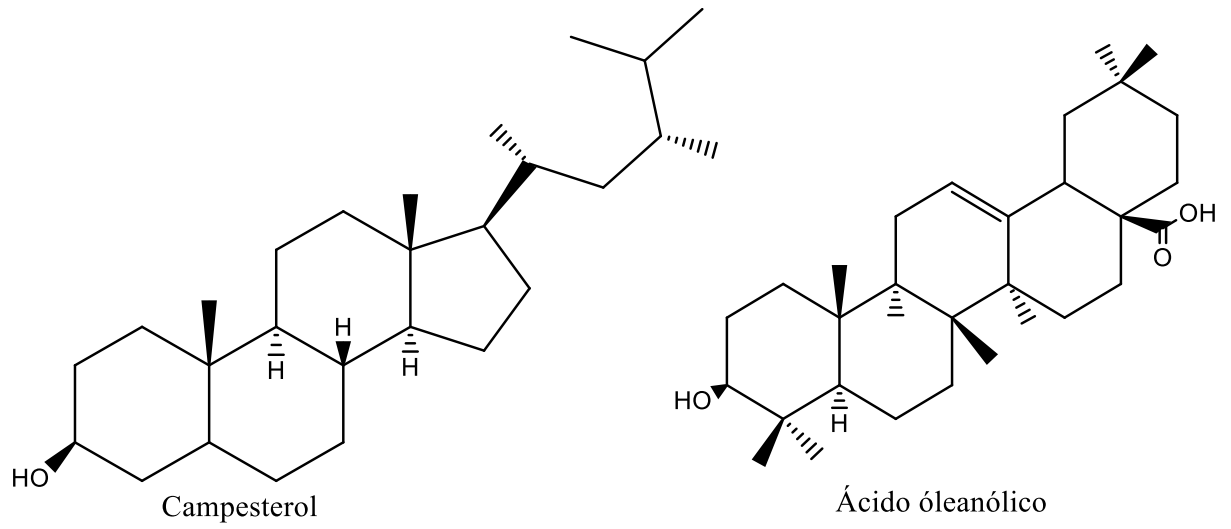


Figura 1.7 Triterpenos presentes no óleo de algumas sementes³⁵.

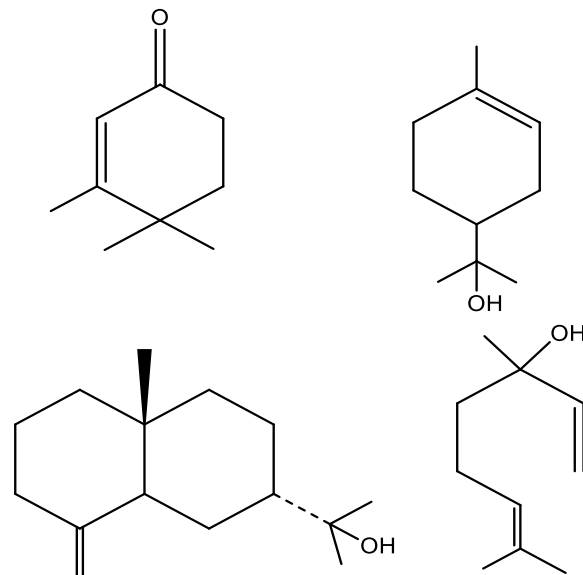


Figura 1.8 Terpenos de alguns extratos da *Ximenia americana*⁹

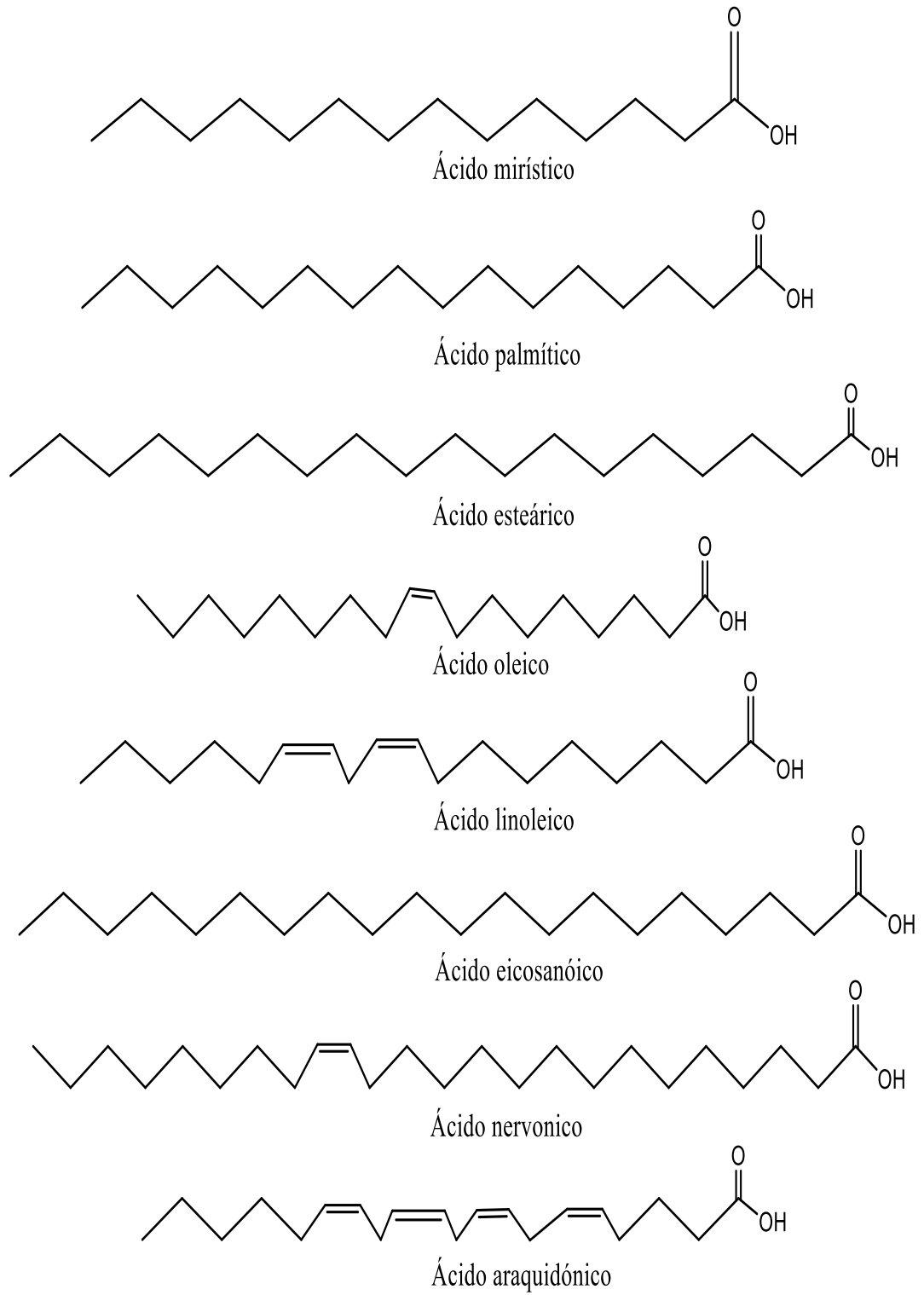


Figura 1.9 Ácidos presentes em sementes de algumas plantas benéficos para pele e cabelos^{9,14}

1.5 Objetivos, motivação e organização da dissertação

1.5.1 Objetivos

O objetivo geral deste trabalho é a caracterização do óleo das sementes da *Ximenia americana*. Para a concretização do presente trabalho experimental, foram analisadas três amostras de óleo a primeira extraída artesanalmente, foi trazida de Angola, a segunda obtida por um processo pseudoartesanal e a terceira extraída com solvente orgânico no laboratório. Para concretizar este objetivo pretendia-se:

- Determinar as características físico-químicas: índice de acidez, índice de saponificação, índice de peróxido e índice de iodo. Proceder à caracterização por: UV-Vis e ¹H RMN. Efetuar a análise por TLC e CG-EM.
- Realizar a caracterização física através da determinação da densidade e da viscosidade às temperaturas de 20, 30, 35, e 40 °C;
- Comparar a qualidade do óleo extraído artesanalmente com o extraído laboratorialmente quanto à utilização como hidratante do cabelo da pele (cosmético);
- Identificar os compostos benéficos no tratamento da pele e cabelos;
- Determinar os constituintes químicos ou princípios ativos do óleo das sementes da *Ximenia americana* que justificam o seu uso como cosmético e no combate a algumas doenças da pele.

1.5.2 Motivação

Angola é um país em desenvolvimento, com flora bastante rica, razão esta que nos últimos anos tem levado as comunidades do interior a explorar os frutos da *Ximenia americana* para a extração do óleo das sementes, sendo que a mesma é uma grande fonte de óleo.

O óleo extraído artesanalmente destas sementes, tem sido bastante utilizado por um bom número da população angolana, tanto rurais como urbanas, como hidratante do cabelo e da pele, o que motivou o estudo das propriedades físico-químicas do óleo, por estas não serem conhecidas pela maioria da população angolana. Pretendia-se ainda estudar um sistema de extração do óleo mais rentável que o processo de extração artesanal, sendo que o artesanal é muito dispendioso, no que diz respeito à matéria-prima.

Apesar da sua importância, em Angola pouco se sabe ou nada do potencial do óleo da *Ximenia americana* L, por carência de informação teórica sobre os verdadeiros benefícios dessa planta no seu todo.

1.5.3 Ordem da dissertação

Nos capítulos seguintes serão abordados os detalhes experimentais e a base teórica das técnicas utilizadas para a efetiva realização deste trabalho (capítulo 2). A discussão dos resultados relativo à concretização dos objetivos propostos 1,2,3,e 4 são apresentados no (capítulo 3) e, finalmente, são apresentadas as conclusões lavradas no presente trabalho e traçadas perspectivas futuras (capítulo 4).

..

Capítulo 2

Detalhe Experimental

2 Detalhes experimentais

Este capítulo destina-se à descrição dos materiais e detalhes experimentais empregue no desenvolvimento desta pesquisa, bem como à descrição das metodologias analíticas utilizadas para a caracterização dos diferentes OSXA. Inicialmente são descritos os reagentes e equipamentos utilizados para a realização deste trabalho.

2.1 Reagentes

As substâncias sólidas utilizadas foram: iodeto de potássio (KI; M=166,00 g/mol), tiosulfato de sódio 5-hidratado ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; M=248,18 g/mol), iodo sublimado (I_2 ; M= 253,81 g/mol), cloreto de sódio (NaCl; M= 58, 44 g/mol; Pareac Castellar del Vallés), hidróxido de potássio (KOH; M= 56,11 g/mol), sulfato de magnésio (MgSO_4 ; M= 120,366 g/mol). Os reagentes líquidos utilizados foram: dimetilsulfóxido (CH_3SOCH_3 ; M= 78,13 g/mol), etanol absoluto ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$; M= 46,07 g/mol; Val de Reuil; France), éter dietílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{COOC}_2\text{H}_5$; M= 74,12 g/mol; Barcelona, Espanha), n-pentano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$; M= ; Val de Reuil, France) n-hexano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$; M= ; Val de Reuil, France), clorofórmio (CHCl_3 ; M= 119,38 g/mol; Barcelona , Espanha), ácido clorídrico (HCl ~37%; d=1,18; Fischer Chemical), Boron trifluoride-methanol-complex-solution ($\text{C}_2\text{H}_8\text{BF}_3\text{O}_2$; M= 131,89 g/mol; Sigma Aldrich), Metanol (MeOH)

Todos os reagentes referidos anteriormente foram utilizados diretamente, sem qualquer purificação.

2.2 Equipamento

Para a caracterização do OSXA, usado como hidratante do cabelo e da pele em Angola, todas as massas foram pesadas numa balança PR 1203, Mettler Toledo.

O excesso de álcool foi retirado num evaporador rotativo Janke & Kunkel, Ika®- Labortechnik. WTB binder 7200 tuttlingen/ Germany.

Para a análise de RMN utilizou-se aparelho de marca Bruker Ultra Shield™

Para a determinação de viscosidade foi utilizado um Reómetro

Para a determinação da densidade foi utilizado um banho-maria de marca SELECTA com temperatura controlada.

2.3 Material vegetal

O material vegetal, frutos da *Ximenia americana*, foi trazido do sudoeste de Angola, Município da Bibala, Província do Namibe (13° 21' S, 14° 46' E), aproximadamente 200 km NE da capital provincial do Namibe, (Figura F). O clima é semiárido, sazonal, com uma temperatura anual de 21,6° C e uma precipitação média de 300 a 600 mm. É caracterizada pela presença de duas estações: uma estação chuvosa e quente que vai de Janeiro a Março e um inverno seco e longo que dura nove meses. Nesta região, a altitude varia de 700 a 1000 metros, o solo é definido como paraferalítico de textura média ou grosseira². As sementes usadas neste estudo foram compradas à senhora Domingas, de 49 anos de idade, em Agosto de 2015, a quem foi também dada a responsabilidade de realizar a extração do óleo das sementes pelo método artesanal. Os frutos foram coletados e às sementes foi retirada a camada de revestimento, dividindo o fruto em duas partes. Uma parte significativa das sementes foi seca, cerca de 2 kg, tendo obtido 333,33 mL de óleo, o qual foi utilizado neste estudo.

2.4 Extração do óleo no laboratório

A extração de óleo foi realizada, utilizando dois métodos diferentes: métodos clássicos (extração num Soxhlet com pentano), a 40° C e método não clássicos (extração pseudoartesanal) a 100 °C.

2.4.1 Extração com solvente orgânico

A extração do óleo nas sementes X.A.L, foi feita a cru, extraído com solvente orgânico não polar como o n-pentano, e para a extração do óleo vegetal foram usadas aproximadamente 100 g de sementes, as quais foram trituradas com ajuda de um parelho de triturar denominado (1,2,3) de maneira a diminuir a superfície de contacto. As sementes tinham sido previamente secas na estufa a uma temperatura de 80 ° C. O cartucho de papel de filtro usado foi pesado vazio e registou-se a massa, e também se pesou o papel de filtro com a amostra e registou-se o valor, igualmente pesou-se o balão esmerilado de fundo redondo vazio usado na extração antes e após a extração.

A extração do óleo das sementes X.A.L foi realizada utilizando o método de refluxo. Utilizou-se 100 mL de n-pentano com uma temperatura de (40-60 ° C) num extrator de Soxhlet, (Figura 2.1). Foram realizadas oito ensaios. Ao final das 18 horas tempo ao fim do qual o material ficava totalmente exausto este era retirado e colocado no evaporador rotativo de marca Buchi R-200, para eliminar o excesso de n-pentano estando o banho a tempera 40 ° C terminado o processo de secagem ou eliminação completa do solvente orgânico, o óleo era guardado num balão esmerilado e armazenado a temperatura ambiente para futuras análises. O cálculo do rendimento foi obtido pela relação entre a quantidade de óleo obtido em grama e a quantidade de sementes usadas para a extração, ou determinada através da seguinte equação: Posteriormente o óleo foi submetida a caracterização.

$$\eta = \frac{m_{(Obtida)}}{m_{(Esperada)}} \times 100\% \quad \text{Equação 2.4.1}$$

η - rendimento obtido %

$m_{(obtida)}$ – massa de óleo obtida (g)

$m_{(esperada)}$ – massa de sementes usadas (g)

Posteriormente o óleo foi submetida a caracterização.

A figura abaixo mostra o esquema montado para a extração do óleo das sementes da *Ximenia americana* com solvente orgânico.



Figura 2.1 Soxhlet usado para extração de óleo das sementes de *Ximenia americana*

2.4.2 *Extração do óleo no laboratório semelhante ao método artesanal (pseudoartesanal)*

Utilizaram-se sementes provenientes de Angola, Província do Namibe, localizada na parte sul do país, tendo sido empregue o método de extração semelhante ao artesanal.

A extração aquosa, a altas temperaturas é o principal método utilizado para a produção de óleo das sementes da *Ximenia americana* pelas comunidades indígenas do sul de Angola.

Neste segundo método as sementes trazidas de Angola, antes da sua extração, foram colocadas dentro de uma estufa a uma temperatura de 50 °C, para facilitar o processo de desidratação e ao fim de 48 horas foram tostadas num recipiente de alumínio com a ajuda de uma manta de aquecimento, seguida de uma trituração numa picadora doméstica 1,2,3, criando uma pasta oleosa. Esta pasta foi seguidamente retirada e colocada noutra recipiente para ser novamente tostada e depois de tostada adicionou-se água destilada. Com a ajuda de uma vareta mexeu-se lentamente a mistura que de seguida foi aquecida e mantida a uma agitação contínua (50 rpm) a uma temperatura de 100 °C, sendo a mesma controlada com a ajuda de um termómetro, durante 1 hora.

Ao final de uma hora foi retirado o líquido residual, arrefecido à temperatura ambiente e foi filtrado a vácuo durante 20 minutos. De seguida colocado num funil de decantação para a separação das duas substâncias não miscíveis. Finalmente o óleo foi seco com sulfato de sódio anidro e depois colocado numa garrafa de vidro para posteriores ensaios.

2.4.3 *Rendimento do óleo*

O cálculo do rendimento do óleo extraído foi obtido usando a equação 2.4.1.

2.5 *Caraterização físico-química do óleo da Ximenia americana extraídos de modos diferentes*

2.5.1 *Caraterização dos óleos*

A caraterização do óleo das sementes da *Ximénia americana* L., extraídos por dois métodos diferentes no laboratório e do óleo trazido de Angola, extraído artesanalmente, foi realizada utilizando os seguintes parâmetros: densidade, índice de acidez, índice de saponificação, índice de peróxido e índice de iodo. Cada análise foi realizada em triplicada, igualmente fez-se a caracterização por ¹H-RMN, viscosidade e análise por TLC e CG-EM.

2.5.2 *Determinação da densidade pelo método do picnómetro*

Para a determinação da densidade pelo método do picnómetro seguiu-se o seguinte procedimento.

Inicialmente a determinação foi realizada à temperatura de 25 °C. A densidade foi feita recorrendo a um picnómetro de vidro de 25 mL (Figura 2.2). O volume do picnómetro foi adquirido pela relação peso/volume, com água milipore. Para a determinação da massa da amostra, os picnómetros foram lavados com água destilada e passados por acetona e foram secos em estufa a uma temperatura de 50° C. Encheu-se este com a amostra em estudo e depois foi colocado imerso em banho-maria com as condições de temperatura pretendidas. À medida que o óleo foi subindo pelo capilar do picnómetro, com a ajuda de um papel absorvente, retirou-se o excesso. Quando este já não subia pelo capilar, foi retirado do banho termostato e deixou-se arrefecer até à temperatura ambiente. Depois de arrefecido e estabilizada a temperatura determinou-se a massa numa balança analítica

Os ensaios foram realizados em triplicados. Os resultados são apresentados na tabela 3.2.



Figura 2.2 Fotografia do Picnómetro usado para a determinação de densidade do óleo das sementes de *Ximenia Americana*

2.5.3 Determinação do índice de acidez e massa molecular média

O índice de acidez pode ser entendido como a massa de hidróxido de potássio, expressa em miligramas, necessária para neutralizar os ácidos gordos livres presentes num grama de óleo. Este teste permite determinar a quantidade de ácidos gordos livres, presentes numa amostra de óleo. Este teste foi realizado baseando-se na norma Portuguesa NP903 (1987)^{35,36} em que, a toma de mostra de óleo é dissolvida numa mistura de solventes obtido pela adição de volumes iguais de etanol absoluto e de éter etílico 1:1 e, posteriormente, neutralizado³⁷.

Esta mistura foi neutralizada com uma solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,1N, usando a solução de fenolftaleína com indicador.

A solução aquosa de hidróxido de potássio (0,1N) foi preparada dissolvendo-se 0,112 g de KOH em 200 mL de água destilada. A padronização da solução foi feita com ácido clorídrico 0,1N de modos a confirmar a normalidade de KOH.

Técnica

- 1- Pesou-se 5 g de amostra de óleo que foi seco com sulfato de sódio anidro;
- 2- Pesou-se, em triplicado, para um erlenmeyer, tomas de 1 g de óleo já seco;
- 3- Juntou-se 5 mL da mistura de solvente (etanol absoluto e éter etílico) a cada erlenmeyer e algumas gotas de fenolftaleína;
- 4- Titulou-se com a solução de KOH 0,1N, sob forte agitação até ao aparecimento de uma cor rosa persistente;
- 5- Padronizou-se a solução de KOH 0,1 M com ácido clorídrico.

O índice de acidez foi calculado através da seguinte fórmula:

$$IA_{mgKOH/g} = \frac{V_{KOH} \times N_{KOH} \times 56,11}{m_{amostra}} \quad \text{Equação 2.5.1}$$

em que:

V_{KOH} - volume gasto da solução de KOH, na titulação (mL);

N_{KOH} - normalidade da solução de KOH (N);

56,11 - massa molecular de KOH (g/mol);

m – massa da toma de óleo (g).

A percentagem de ácidos gordos livres, AGL, foi determinada de acordo com a seguinte equação:

$$\%_{AGL} = \frac{V_{KOH} \times N_{KOH} \times 282,45}{10 \times m_{amostra}} \quad \text{Equação 2.5.2}$$

em que:

V_{KOH} - volume da solução de KOH gasto na titulação (mL);

N_{KOH} - normalidade da solução de KOH (N);

282,45 – massa equivalente do ácido oleico (g/eq);

10 – fator de conversão para percentagem;

m – massa da toma da amostra de óleo.

Para a normalidade da solução de KOH obteve-se um valor de 0.0098N, cujo cálculo foi feito através da seguinte fórmula:

$$N_{KOH} = \frac{N_{HCl} \times V_{HCl}}{V_{KOH}} \quad \text{Equação 2.5.3}$$

em que:

N_{KOH} – normalidade da solução calculada (N);

N_{HCl} – normalidade da solução padrão de HCl(N);

V_{KOH} – volume de KOH gasto na titulação (mL);

V_{HCl} – volume de amostra da solução padrão (mL)

2.5.4 Determinação do índice de peróxido

O índice de peróxido foi determinado como descrito de acordo com o método 965.33 encontrado no “Official Methods of Analysis of ADAC” que permite estabelecer o grau de oxidabilidade do óleo.

Entende-se por índice de peróxido a quantidade de substâncias oxidantes (peróxidos) presentes no óleo, expresso em miliequivalente de oxigénio ativo por quilograma de amostra, capaz de oxidar uma solução de iodeto de potássio³⁵

Técnica

Pesaram-se $1 \pm 0,01$ g de amostra de óleo da *Ximénia americana* num balão de erlenmeyer de 50 mL e adicionaram-se 6 mL de mistura dissolvente de ácido acético e clorofórmio (3:2) para dissolver a amostra. Seguiu-se a adição de 0,5 mL de solução aquosa saturada de iodeto de potássio, recentemente preparada. O balão foi imediatamente fechado, agitando ocasionalmente durante 1 minuto e mantido à temperatura ambiente ao abrigo da luz aproximadamente 5 minutos. Cerca de 6 mL de água destilada foram adicionados ao conteúdo do balão e depois agitados vigorosamente. Foram adicionadas 3 gotas de solução de cozimento de amido como indicador. O iodo libertado foi titulado com a solução de tiosulfato de sódio 0,01N sob forte agitação até ao aparecimento de uma coloração amarelo claro. Em paralelo, realizou-se o mesmo procedimento para um ensaio em branco em que o valor gasto de tiosulfato de sódio gasto foi inferior a 0,1mL^{36,37} O índice de peróxido foi determinado através da seguinte expressão:

$$IP_{mgO/Kg} = \frac{(Va - Vb) \times N \times 1000}{m_{amostra}} \quad \text{Equação 2.5.4}$$

em que:

Va- Volume (mL) de Tiosulfato de Sódio gasto na titulação da amostra;

Vb- Volume (mL) de Tiosulfato de Sódio gasto no ensaio em branco;

N- Normalidade do Tiosulfato de Sódio;

m- Massa da amostra em (g);

1000- Fator de conversão em (Kg).

2.5.5 Determinação do índice de saponificação

O índice de saponificação pode ser definido, como a massa de hidróxido de potássio, expressa em miligramas, que é necessária para transformar os ácidos gordos e triglicéridos presentes num grama de óleo, em sabões. Este teste permite de uma forma expedita determinar o peso molecular médio do óleo. Este parâmetro é essencial para os cálculos estequiométricos nas reações de transesterificação química. Este parâmetro foi determinado segundo a metodologia 920.160, descrita no `` Official Methods of Analysis of the AOAC³⁷.

Técnicas

- 1- Pesou-se em triplicado, para balões esmerilados de 100 mL, tomas de 1,012 g, 1,008g, e 1,000g de óleo respetivamente. A massa do ensaio em branco foi de 1,007g;
- 2- Adicionou-se seguidamente 10 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH), agitando um pouco a solução;
- 3- Adicionou-se reguladores de ebulição e a mistura foi aquecida em refluxo durante 30 minutos. No final deixou-se arrefecer na sua totalidade;
- 4- Titulou-se com HCl 0,5N, na presença de indicador fenolftaleína, até a solução adquirir uma coloração amarela. O volume do titulante gasto foi, 3,9; 4,1 e 4,0 mL, respetivamente e, para o ensaio em branco o volume gasto foi de 11,4 mL, de titulante, onde neste caso, a titulação se deu até a solução ficar incolor.

O índice de saponificação foi calculado através da seguinte equação:

$$IS_{\left(\frac{mgKOH}{g}\right)} = \left(\frac{(Vb - Va) \times N_{HCl} \times 56,11}{m_{amostra}}\right) \quad \text{Equação 2.5.5}$$

em que:

IS- índice de saponificação;

V_b- volume gasto de HCl na titulação do ensaio em branco (mL);

V_a- volume gasto de HCl na titulação do ensaio com amostra (mL);

N- normalidade do HCl (N);

m- massa da amostra (g);

2.5.6 Determinação do índice de iodo

O índice de iodo é um parâmetro que permite realizar uma estimativa do grau de insaturação das cadeias dos ácidos gordos presentes num determinado óleo ou gordura. O mesmo foi determinado, segundo a norma europeia EN 14111 ³⁵.

Pesaram-se 0,05 g de amostra de óleo num balão de erlenmeyer de 250 mL rolhado e adicionaram-se 7,5 ml de álcool etílico ao óleo. Adicionaram-se 10 mL de solução alcoólica de iodo e 100 mL de água destilada e a mistura resultante foi submetida a forte agitação durante 5 minutos e então titulada com tiosulfato de sódio 0,1M utilizando cozimento de amido como indicador imediatamente antes do ponto final. Igualmente realizou-se um ensaio em branco, seguindo o mesmo procedimento ^{36,37}. O índice de iodo foi determinado através da seguinte expressão matemática:

$$II_{2gI_2/100g} = \frac{((Vb - Va) \times N \times 12,69)}{m_{amostra(g)}} \quad \text{Equação 2.5.6}$$

em que:

V_b-é o volume do tiosulfato de sódio gasto na titulação do ensaio em branco (mL);

V_a-é o volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação com amostra com indicador de amido até a obtenção da cor branca (mL)

N-é a concentração da solução de tiosulfato de sódio (N)

m_{amostra}-é a massa da amostra de óleo (g)

12,69

2.5.7 Determinação da viscosidade

Os óleos vegetais tornaram-se cada vez mais importantes não apenas para fins nutricionais, mas como matéria-prima para uma vasta variedade de produtos a nível industriais que incluem combustíveis, produtos de cuidado da pele, lubrificante de alta pressão e resinas alquídicas para pintura ^{7,24,28,38}. Essas aplicações requerem amplos estudos sobre as propriedades físico-químicas dos óleos das sementes, a fim de verificar sua harmonização como matéria-prima, tais propriedades incluem a viscosidade que é uma fator importante na conceção de equipamento de processo para óleos ^{9,28, 39,40}.

Segundo Machado (1996) os fluidos podem ser classificados, reologicamente, como newtonianos e não-newtonianos conforme for o caso.

No caso em que a relação entre o esforço do corte e a rapidez de deformação é linear diz-se que o fluido é newtoniano ou ainda, se existe uma relação linear entre a tensão cisalhante e a taxa de cisalhamento, nos quais a viscosidade só é influenciada pela temperatura e pressão. Como exemplos de

fluido newtoniano, tem-se o ar, a água, os óleos finos e seus derivados. A relação matemática que existe entre o esforço de corte e a rapidez de deformação é denominada de equação constitutiva^{20,41,42}. Pode ser expressa da seguinte maneira:

$$\tau = \mu * \gamma \quad \text{Equação 2.5.7}$$

em que:

τ -tensão de cisalhamento

μ -viscosidade dinâmica

γ -taxa de deformação

Os fluídos não-newtonianos são caracterizados pela maneira como a viscosidade de um fluido deslizante e dilatante modifica-se, em resposta às variações na taxa de cisalhamento, cujo coeficiente de viscosidade (μ), é chamado como viscosidade aparente (η), definido como a taxa de deformação (ou gradiente de viscosidade). Como exemplo têm-se soluções poliméricas, algumas tintas, polímeros e suspensões⁴⁴. A sua equação matemática pode ser expressa da seguinte maneira:

$$\mu = \frac{\tau}{\gamma} \quad \text{Equação 2.5.8}$$

em que:

μ -viscosidade aparente

τ -tensão de cisalhamento

γ -taxa de deformação

De todos os óleos vegetais utilizados no presente trabalho só o óleo extraído artesanalmente foi usado com um tratamento prévio, Já os óleos extraídos no laboratório foram usados sem nenhum tratamento prévio.

As propriedades líquidas são inferidas a partir da resposta da célula de amostra para uma força aplicada conhecida⁴⁴. Para a determinação da viscosidade dos diferentes tipos de óleos das sementes da *Ximenia americana*, artesanal, pseudoartesanal e óleo extraído com solvente orgânico, foi utilizado um reômetro. As medições da viscosidade foram feitas com um reômetro de análise térmica (AR 1500 ex) utilizando a geometria de placa /placa, com uma placa superior de 40 mm SS e uma placa inferior Peltier de 100 mm de diâmetro (cromada dura). Por outras palavras o reômetro é equipado com cilindros de diâmetro diferente adequado, conforme a viscosidade do fluido. Para os OSXA utilizados neste trabalho foi utilizado um cilindro de diâmetro de placa paralela de 40 mm e placa Peltier de aço.

O reômetro foi acoplado a um banho termostático, permitindo assim manusear a viscosidade do óleo nos seguintes intervalo 20 a 40 ° C, com precisão na temperatura de 20, 30, 35, 40° C respetivamente. Uma vez que o *software* do reômetro fornece, além dos valores de viscosidade, os dados da tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento, estes foram utilizados para a caracterização reológica dos três óleos. O fluido (amostra) é colocado no cilindro placa inferior, (Figura 2.3).



Figura 2.3 Reometro aparelho usado para estudo da viscosidade das três amostras de óleo da *Ximenia americana*

O volume da amostra necessária para o intervalo selecionado (cerca de 1300 μL) foi carregado no centro geométrico da placa inferior e a placa superior foi enviada para o intervalo sombrio (espaço selecionada + 200 μm). O espaço final foi ajustado para satisfazer o enchimento adequado da geometria.

Não foi utilizado pré-cisalhamento antes das medições e a amostra foi deixada a ajustar adequadamente à temperatura selecionada.

Foi feita uma varredura de tensão de cisalhamento para estabelecer o comportamento de fluxo da amostra, desde o menor esforço de cisalhamento utilizável (0,008 Pa) até cerca de 200 Pa, sendo feita provisão para evitar taxas de cisalhamento superiores a 1000 1/s

Se for detetado um planalto newtoniano, então podem ser feitas medições de Peak Hold (pico de espera) para algumas taxas de cisalhamento consideradas semelhantes aos valores utilizados por outros viscosímetros.

Quando a temperatura desejada era atingida pela amostra contida no cilindro interno, fez-se a leitura dos respectivos valores com ajuda do computador ligado ao viscosímetro. É de ressaltar que as leituras de viscosidade são efetuadas automaticamente a cada temperatura, variando-se a velocidade de rotação do cilindro (Peltier) até ao limite máximo estabelecido.

2.5.8 *Espetroscopia de absorção na região do infravermelho*

A espectroscopia de infravermelho é uma técnica usada para a identificação de compostos. É um método analítico, baseado na absorção da radiação infravermelho do espectro eletrónico, à qual afeta a vibração das ligações químicas intramoleculares.

2.5.9 *Espetroscopia de ressonância magnética nuclear RMN-¹H*

A análise por espectroscopia de RMN-¹H das três amostras de óleo foi realizada num aparelho de Bruker Advance 400 MHz. Aproximadamente 12 mg de amostra de cada um dos três óleos estudados foram dissolvidas em 600 μL clorofórmio deuterado puro, sem adição de mais outro solvente, a solução resultante foi colocado num tubo de RMN de 5 mm.

2.6 Preparação dos ésteres metílicos

Para avaliar qualitativa e quantitativamente por CG-EM os OSXA em termos de composição de ácidos gordos, foram usados dois métodos de derivatização das amostras. O processo de preparação encontra-se descrito na norma EN ISSO 5509.

2.6.1 Metilação

As reações de transesterificação dos óleos, para a obtenção de ésteres metílicos foram realizadas com o óleo extraído artesanalmente proveniente de Angola e o óleo extraído no laboratório com n-pentano.

As reações foram realizadas com uma razão molar metanol: óleo 6:1 (7,5 mL MeOH e 1,25 mL de óleo) e 1,2% em massa de hidróxido de sódio, referente à massa de óleo utilizada, pois estas condições são consideradas como otimizadas, sendo geralmente empregues na produção de biodiesel por via alcalina.

Num erlenmeyer, que foi colocado sobre uma placa de agitação com aquecimento e uma barra magnética, adicionou-se 375 mL de MeOH e 617 mg de NaOH como catalisador, tendo esta solução reagido em sistema fechado, até o catalisador ter dissolvido completamente.

Foram então pesados cerca de 50,009 g de óleo, previamente tratados, que foram adicionados a esta solução. Esta mistura foi, de seguida, colocada mais uma vez sobre a manta de aquecimento com o termómetro para o controlo da temperatura, a 60° C, com agitação de 100 rpm. Deixou-se a reagir (transesterificação).

Após 2h de reação, a mistura foi deixada em repouso, de um dia para outro de modos a que se desse a separação das fases.

Este é um processo bastante lento, mas depois do repouso foi possível observar-se a separação das fases, sendo a fase aquosa inferior e consistindo na mistura de água, glicerol, metanol e catalisador, e a fase superior consistindo nos ésteres metílicos. Esta última foi retirada e posteriormente purificada, efetuando a sua pesagem, para o cálculo do rendimento.

A fase orgânica resultante do processo de transesterificação foi lavada com 5 mL de água destilada quente, por grama de óleo, durante 3 min, sob agitação lenta e cuidadosa, para que se não formasse emulsões.

A mistura foi mais uma vez colocada numa ampola de decantação, para separação das duas fases (fase orgânica e água de lavagem), tendo-se procedido a uma nova lavagem da fase superior (fase orgânica contendo os ésteres).

Mediu-se o pH da água de lavagem recolhida da separação com papel indicador para verificar se já estava neutro. Em seguida, passou-se à fase orgânica de pH neutro para um balão de fundo redondo ou balão esmerilhado para ser seca em rotavapor (Buchi, modelo R200) de modos a eliminar todos os contaminantes como metanol e água. As condições de secagem no evaporador rotativo foram de 40° C, durante 1 hora, a uma pressão de 70 mbar. Após a secagem do biodiesel, adicionou-se 3g de sulfato de sódio anidro para que fossem removidos todos os vestígios de água. Finalmente, o líquido foi filtrado por sucção num funil de Büchner e pesou-se a quantidade obtida (23,254 g). Seguidamente foi armazenado e bem rotulado para futuras análises em termos de conteúdos em ésteres metílicos por cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa, GC-EM.

Os resultados da análise por GC-EM estão indicados na secção 3.6.

2.6.2 Outro método de metilação com BF₃-MeOH (Trifluoreto de Boro em Metanol)

As três amostras de óleo artesanal, pseudoartesanal e o extraído com solvente orgânico, foram metilados com trifluoreto de boro em metanol e convertidas em derivados de boro, segundo a seguinte

metodologia. A cada amostra de 48,6 mg de óleo foi adicionado 3 mL de metóxido de sódio e colocou-se numa placa de aquecimento mantida sob agitação a 60° C durante 20 min, em refluxo até homogeneizar. De seguida, foi adicionada à mistura reacional 5 mL de C₂H₈BF₃O₂ e depois de a mistura entrar em ebulição, esta foi mantida durante 5 min. Finalmente a mistura reacional foi colocada numa ampola de decantação e foram adicionados 2 mL de n-hexano e 25 mL de solução saturada de cloreto de sódio. As fases foram separadas e o produto final foi seco com 1,010 g de sulfato de magnésio anidro. Com ajuda de um seringador de 1 mL e um filtro de náilon fez-se a filtração e o excesso de n-hexano foi evaporado com azoto e o produto foi colocado no congelador até à análise por CG-EM.

2.7 Cromatografia em camada fina por "TLC"

A cromatografia em camada fina (TLC) foi utilizada para determinar a pureza das três amostras de óleo em estudo e identificar os componentes presentes na mistura.

Na realização da TLC os solventes foram utilizados sem purificação adicional. A cromatografia em camada fina (TLC) foi realizada em placas revestidas com sílica gel (Darmstadt, Germany) e foram expostas numa câmara de iodo para revelação.

2.8 Cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa (CG-EM)

Tendo em conta um dos objetivos principais deste trabalho, analisar o OSXA, utilizado como cosmético para hidratar o cabelo e a pele, foi feita a identificação dos componentes químicos no óleo das sementes por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS).

Esta foram realizadas em um aparelho Agilent 6890, usando as seguintes condições:

O sistema CG-EM era constituído por um GC (Agilent 6890 Séries) equipado com um amostrador automático (Agilent 7683), acoplado a um detetor seletivo de massa (Agilent 5973N). O registo de dados e o controlo instrumental foram efetuados a partir de software EM ChemStation (G1701; versão C.00.00; Agilent Technologies, Alemanha). A coluna capilar utilizada foi a TRB-5MS (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura de fase estacionária; 95% dimetil, 5 % difenil polisiloxano) da Teknokroma (Espanha). O gás de arraste foi o hélio a um fluxo de 1,1 mL/min, e a pressão constante de (14,3 cm/s). A temperatura do forno foi programada a partir dos 80 °C durante 1 min, sendo depois aquecido até aos 300 °C a 20 °C/min onde permaneceu durante 10,00 min, do tempo total 22 min, de análise.

A temperatura da linha de transferência da fonte de ião e do quadropolo foram 280 °C, 230 °C e 150 °C, respetivamente e o Solvente Delay foi de 4,00 min. No modo de aquisição full-scan o espectro de massa por ionização eletrónica foi obtido na gama de 45 a 550 Da com a energia de 70 eV e a corrente de ionização de 34,6 µA.

De modos a evitar alguns erros, por a análise do óleo ser bastante difícil e o mesmo ficar agarrado no detetor do cromatógrafo, antes e depois de cada análise realizada, foram efetuados ensaios em branco, para permitir a adsorção térmica de qualquer composto que tenha sido absorvido pelo invólucro após a última análise.

Capitulo 3

Discussão dos resultados

3 Discussão dos resultados

Neste capítulo são discutidos e apresentados os resultados obtidos com as várias amostras de óleos das sementes da *Ximenia americana* quanto às suas características físico-químicas e à composição química dos diferentes óleos pelos dois processos de derivação a que foram submetidos.

3.1 Extração do óleo no laboratório com solvente orgânico e extração do óleo semelhante ao método artesanal (pseudoartesanal) e rendimento

Na tabela abaixo são apresentados os resultados de rendimentos de extração dos óleos das sementes da *Ximenia americana* com os respetivos desvios padrão.

Tabela 3.1 Rendimento de extração dos dois óleos de *Ximenia americana* extraído no laboratório por diferentes métodos com os respetivos desvios padrão

Processo de Extração	Massa das Sementes (g)	Massa de óleo (g)	Rendimento (% m/m)	Rendimento Média	RSD
Extração pseudoartesanal	1º 217,419	20,824	9,58	9,72%	0,19
	2º 217,204	21,567	9,93		
	3º 217,163	20,953	9,65		
Extração com n-pentano	1º 29,464	18,114	61,48	61,78%	0,53
	2º 29,183	18,211	62,40		
	3º 29,352	18,044	61,47		

A extração de óleo de frutos oleaginosos envolve várias operações unitárias, como limpeza, descasque, maceração, extração e separação. Na extração com solvente orgânico a partir de 29,33 ± 0,14 g de sementes da *Ximenia americana* foi obtido 18,12 ± 0,08 g sendo o rendimento médio de 61,78 ± 0,53% (m/m) de óleo. O óleo era de cor amarela, inodoro e sem gosto. O valor obtido com solvente orgânico neste trabalho foi relativamente mais alto quando comparando com o valor observado anteriormente por Eomosele et al. (1993) na extração de óleo das sementes da *Ximenia americana* em que foi utilizado como solvente orgânico o éter de petróleo tendo sido obtido um rendimento de 49,9% e o encontrado por (Saeed 2010) de 51,34%^{24,39}. O rendimento obtido no laboratório na extração de óleo de sementes de *Ximenia americana* com solvente orgânico permite que esta seja classificada com uma planta oleaginosa⁷.

A diferença acima indicada pode estar relacionada com a utilização de solventes diferentes e diferente tempo de extração do óleo das sementes. Na extração do óleo das sementes utilizando o método semelhante ao artesanal, a partir de 217,262 ± 0,14 g de sementes foi obtido 21,11 ± 0,39 g de óleo a que corresponde um rendimento médio de aproximadamente 9,72 ± 0,19% (m/m). Este processo pseudoartesanal apresenta um rendimento muito baixo quando comparado ao outro processo de extração com solvente orgânico. O baixo rendimento do processo de extração aquosa pelo método pseudoartesanal pode ser explicado devido à alta viscosidade do óleo, o que dificulta a separação. Além disso, as altas temperaturas utilizadas para a redução da viscosidade promovem a oxidação química de ácidos gordos insaturados com formação de aldeídos, muitas vezes responsáveis pelos aromas

indesejáveis em gorduras e óleos⁴⁵. O baixo rendimento também foi observado por outros autores, que constataram que para a obtenção de um litro de óleo na extração pelo método artesanal são necessários 6 kg de sementes, sendo o rendimento de 16%, o que torna este método muito dispendioso em matéria prima².

3.2 Caracterização físico-química do óleo artesanal

Foram determinadas as seguintes propriedades: densidade, índice de acidez, massa molecular média, índice de peróxido, índice de saponificação e índice de iodo. Os resultados encontram-se na Tabela 3.2.

Verificando os resultados obtidos constata-se que os valores obtidos experimentalmente para estas propriedades físico-químicas, estão próximas das indicadas na literatura ou bem próximas do padrão estabelecido⁷. Ainda na mesma tabela observa-se algumas variações nos resultados obtidos dos diferentes óleos estudados no presente trabalho.

Tabela 3.2 Valores médios das características físico-químicas dos óleos das sementes de *Ximenia americana* extraído por diferentes métodos

Nomes dos óleos	Densidade (gcm ⁻³)	Índice de acidez (mg KOH/g)	Massa Mol. Média (g/mol)	Índice de Peróxido (meq/kg)	Índice de Saponificação (mg KOH/g)	Índice de Iodo (gI ₂ /100g)
Artesanal	0,914 ± 0,01	a 2,588 b 0,476	a 814,58 b 757,55	30	(1) 206,24 (2) 221,76	(1) 124,51 (2) 229,29
Pseudoartesanal		(1) 1,71 (2) 0,508	(1) 757,33 (2) 741,05	29	(1) 230,01 (2) 229,67	(1) 228,30 (2) 281,51
Extração com solvente orgânico		(1) 1,71 (2) 0,588	(1) 731,04 (2) 746,67	31	(1) 229,81 (2) 295,00	144,88 227,12

a) São valores obtidos em 2015; b) São valores obtidos em 2016; (1) Sementes recolhidas em 2015; (2) Sementes recolhidas em 2016.

Observando a tabela acima é possível notar que algumas propriedades apresentam dois valores, o fato é que os ensaios foram realizados em anos diferentes ou com sementes recolhidas em anos diferentes. Para o óleo proveniente de Angola de produção artesanal, a variação dos resultados obtidos deve-se ao fato de que após um ano foi observado um precipitado e o óleo tornou-se mais límpido, ou seja, podem estar relacionado com o fato de óleo bruto possuir uma grande quantidade de impurezas, ate mais sujeito a rancidez hidrolítica, portanto, possuindo um teor maior de acidez maior quando comparado os resultados do óleo com ensaios realizados em ano diferentes, visto que ao final de um ano foi observado um precipitado, podendo concluir que este precipitado terá influenciado grandemente no valor do índice de acidez e como consequência disto o valor da massa molecular média também foi inferior

3.2.1 Determinação da densidade pelo método do picnómetro

Foi determinada a densidade do óleo da *Ximenia americana* L, à temperatura de 25° C. O valor da densidade do óleo de sementes de X.A.L encontrado foi de 0,914 ± 0,01 g /cm³. Este valor é quase idêntico ao indicado na literatura⁷ e que é de 0,912 g/cm³. No entanto o valor reportado na literatura foi obtido à temperatura de 30° C. Outros autores obtiveram para a densidade o valor de 0,974 g/cm³,

contudo a temperatura a que a determinação foi efetuada era de 15 °C³⁸. Estas diferenças podem ser explicadas porque a densidade do óleo varia com a temperatura, quanto maior é a temperatura menor será a densidade do óleo e vice-versa.

Na Tabela 3.3 estão indicados valores da densidade do óleo artesanal trazido de Angola medido nas diferentes temperaturas 20, 30, 35 e 40 °C.

Tabela 3.3 Variação da densidade do óleo artesanal em função da temperatura

Temperatura (t °C)	Densidade do óleo artesanal (g cm ⁻³)
20	0,914 ± 0,0003
30	0,910 ± 0,0001
35	0,909 ± 0,0004
40	0,908 ± 0,0002

Observando os valores da densidade do óleo artesanal estes variam de 0,914 a 0,908 g cm⁻³ para temperaturas, variando de 20 a 40° C. percebe-se que a densidade diminui ligeiramente à medida que a temperatura aumenta. Nota-se, porém, que o valor obtido a 20° C é praticamente igual ao valor obtido a 25° C. O comportamento decrescente obtido com o aumento da temperatura é típico dos fluidos newtonianos. Comportamento semelhante também foi obtido por outros autores quando estudaram a densidade de vários óleos, incluindo o óleo da *Ximenia americana*⁴⁶.

3.2.2 Determinação do índice de acidez e massa molecular média

Os valores obtidos para o índice de acidez do óleo artesanal determinado em 2015 foi de 2,588 mg KOH/ g o qual foi bastante alto quando comparado com o valor obtido para o mesmo óleo um ano depois, em 2016, que foi de 0,476 mg KOH/g, facto que pode ser explicado apenas por se ter observado, depois de um longo período de tempo, um precipitado no fundo do recipiente. Para os dois óleos extraídos no laboratório o pseudoartesanal e o extraído com solvente orgânico foram obtidos os seguintes valores: para o pseudoartesanal preparado em 2015 e 2016 foram de 1,710 e 0,588 mg KOH/g respetivamente, e para o óleo extraído com solvente orgânico os valores obtidos para as extrações efetuadas em 2015 e 2016 foram de 1,620, e 0,508 mg KOH/g respetivamente. Os valores observados do índice de acidez para as três amostras de óleo, sugerem que os mesmos apresentam menor risco de rancidez, indicando um bom estado não degradado do óleo, sendo que o aumento do índice de acidez aumenta a rancidez do óleo e vice-versa³⁹.

O aumento do índice de acidez de um óleo bruto, pode ser também indicador de sementes de baixa qualidade, de manuseio e armazenamento impróprios ou de um processamento não adequado. No entanto, os valores obtidos no presente estudo são muito baixos, quando comparados com o valor 16,13 mg KOH/g encontrado por (Gabriel et al., 2013)⁷. Os mesmos valores podem ser considerados altos quando comparados com o valor reportado por Eromosele (1994) de 0,14 mg KOH/g²⁴. Pelos valores obtidos do OSXA no presente trabalho este pode ser considerado de ótima qualidade, uma vez que as amostras analisadas apresentaram um valor de índice de acidez relativamente baixo. A boa qualidade das sementes utilizadas é fator preponderante para o processamento, tendo em vista que a elevada acidez pode dificultar o processo de transesterificação em virtude da formação de sabão. O índice de acidez baixo também evidencia a potencialidade do óleo na indústria de cosmético. O índice de acidez do óleo das sementes da *Ximenia americana* determinado neste trabalho é comparável ao valor encontrado na literatura.

Foram determinadas as massas moleculares médias dos diferentes óleos tendo-se obtidos os seguintes valores: óleo artesanal 814,58 e 757,55 g/mol, óleo pseudoartesanal 757,33 e 741,05 g/mol e óleo extraído com solvente orgânico 731,04 e 746,67 g/mol. Observando os valores das diferentes amostras podemos nos aperceber que os mesmos não diferem muito entre si. Mas quando comparado com a massa molecular média de 314,34 g/mol encontrada na literatura estes apresentaram valores bastante elevados⁷.

3.2.3 Determinação da % de acidez

A percentagem de acidez foi determinada, tendo em conta o valor médio encontrado para o óleo artesanal que foi de 1,31%. Este valor pode ser considerado bom, tendo em conta que o número de ácidos identificados no presente trabalho é baixo. O mesmo não se pode dizer quando comparado com o valor 8,07% reportado na literatura⁷.

3.2.4 Determinação do índice de peróxido (IP)

Os resultados de índice de peróxido obtido nos OSXA extraídos por métodos diferentes são os seguintes: 30,0 meq /kg para o óleo artesanal trazido de Angola, 29,0 meq /kg para o óleo pseudoartesanal e 30,14 meq /kg para o óleo extraído com solvente orgânico. Pode-se dizer que, quando comparado com o valor encontrado por Erimosele (1994) que é de 29,4 meq peróxido/kg, os valores obtidos são da mesma ordem de grandeza²⁴.

Observações semelhantes foram relatadas por Gabriel (2013), obtendo no seu estudo, o valor de 31,25 meq /kg sendo o valor um pouco superior aos encontrados no nosso estudo⁷. Os valores obtidos podem ser considerados normais, o que nos leva a concluir que os diferentes processos de extração do OSXA não alteram a qualidade do óleo, uma vez que era de esperar que o aquecimento em estufa tivesse provocado uma oxidação durante o processo de secagem, ou ainda podia ter sido afetado pelo alto nível de humidade, mas os resultados obtidos em ambos os processos são bastantes próximos desprezando-se assim tal possibilidade.

3.2.5 Determinação do índice de saponificação (IS)

Na determinação do índice de saponificação dos OSXA extraído por métodos diferentes foram obtidos os seguintes valores: 206,24 mg KOH/g e 221,76 mg KOH/g para o óleo extraído artesanalmente proveniente de Angola, 229,81 mg KOH/g, e 229,67 mg KOH/g para o óleo extraído com solvente orgânico e 227,30 mg KOH/g e 225,00 mg KOH/g para o óleo pseudoartesanal. Erimosele *et al.*, (1994) relatam ter encontrado um valor de índice de saponificação do OSXA de 182,3 mg KOH/g²⁴. Outros autores estudando igualmente o óleo das sementes obtiveram o valor de índice de saponificação de 178,5 mg KOH/g⁷. Comparando os resultados do IS obtidos pode-se perceber que o óleo extraído artesanalmente apresentou o valor mais baixo, seguido do pseudoartesanal e o extraído com solvente orgânico apresentou o valor mais alto. Quando comparados com os valores reportados na literatura, podemos constatar que os valores obtidos neste trabalho são bastante altos, podendo ser atribuída esta diferença relativamente aos valores encontrados nos métodos usados para a extração dos óleos, uma vez que quanto menor for o peso molecular dos ácidos gordos que constituem o óleo, para a mesma massa de óleo, tanto maior será o índice de saponificação. Os ácidos gordos livres aumentam o IS bruscamente. Para as gorduras vegetais, quanto mais alto for o IS, mais estes óleos servem para fins alimentares.⁴⁷ Alguns autores sugerem que altos valores de índice de saponificação podem ser benéficos para a produção de sabão⁷.

Outras razões da variabilidade podem ser: a variação da espécie em si, localização ou origem geográfica da planta, idade da planta, uso de diferentes porções de plantas, diferenças climáticas anuais, tempo e condição de colheita, processamento, armazenamento e embalagem. Também é de salientar que as sementes usadas para realização deste estudo são provenientes de Angola e os estudos anteriores foram realizados na Nigéria tendo os autores encontrados valores relativamente baixos. Pelos valores de índice de saponificação obtidos pode-se concluir que as três amostras de óleos extraídos por métodos diferentes e analisados podem ser adequados para a preparação de sabão^{7,30,48}.

3.2.6 Determinação do índice de iodo (I_2)

Os OSXA extraído artesanalmente e os óleos extraídos no laboratório por diferentes métodos apresentaram os seguintes índice de iodo: O.A 124,51 g $I_2/100g$ em 2015 e no ano seguinte repetidas as análises o valor obtido foi de 229,29 g $I_2/100g$ e para os óleos extraídos no laboratório o pseudoartesanal e o extraído com solvente orgânico (n-pentano) os índices de iodo obtidos foram 227,12 g $I_2/100g$; e 281,51 g $I_2/100g$ para as sementes recolhidas em 2016. Para as sementes recolhidas em 2015 foram de 228,30 e 144,88 g $I_2/100g$ respetivamente. Os valores de índice de iodo reportados por Eromosele *et al.*, (1994) foram de 149,8 g $I_2/100g$ ²⁴ e o de Gabriel *et al.*, (2013) que foi de 152,28 g $I_2/100g$ ⁷. Os valores obtidos do índice de iodo das três amostras, o óleo trazido de Angola extraído artesanalmente apresentou um valor médio do índice de iodo mais baixo em Novembro de 2015 quando comparados com o valor do mesmo óleo encontrado em Outubro de 2016 e os valores médias das duas amostras extraídas no laboratório e os valores reportados por outros autores quando estudando o óleo da semente da *Ximenia americana* na Nigéria. Quando comparados os restantes valores com os reportados na literatura, os índices de iodo médios obtidos nas três amostras de óleo em estudo neste trabalho foram superiores aos encontrados na literatura. Facto que pode estar relacionado com a origem das sementes e o método de extração sendo que o produto da extração pode variar em qualidade e em quantidade e composição em função do clima e órgão da planta. A diferença encontrada nos valores reportados também podem estar associados com a origem das sementes, no caso dos estudos anteriores as sementes são da Nigéria e o processo de extração também é diferente. Ainda podemos atribuir esta diferença ao tipo de solo e sua composição em que a planta se desenvolve, aos nutrientes, ao tipo de solvente utilizado, idade da planta, período de colheita dos frutos e ciclo vegetativo^{48,30}.

Analisando os valores encontrados do índice de iodo, índice de saponificação e índice de peróxido tudo indica que o óleo da semente da *Ximenia americana* é comestível³⁹, o que contrasta com o que é relatado por outros autores que encontraram alguns ácidos gordos no óleo das sementes da *Ximenia americana* que são geralmente considerado como tóxicos para seres humanos¹⁸. Estes resultados contrariam os resultados relatados por outros autores que relatam que o óleo de sementes de *Ximenia americana* pode ser uma boa fonte de polinsaturado para a nutrição humana²⁴.

3.2.7 Determinação da viscosidade

Na tabela abaixo é possível observar os resultados da análise da variação efetuada para os valores da viscosidade das amostras dos três óleos a quatro temperaturas. As medidas para a determinação da viscosidade foram feitas utilizando um reómetro e não um viscosímetro como tem sido descrito por outros autores. Além de se ter o valor da viscosidade também foi obtido o espectro da viscosidade⁴⁶.

Tabela 3.4 Média da viscosidade das três amostras de óleo mumpeke (*Ximenia americana*) extraído por processos diferentes obtidos nas temperaturas de 20, 30, 35, 40 °C.

ÓLEO	20 °C	30 °C	35 °C	40 °C
	Viscosidade (Pa.s)	Viscosidade (Pa.s)	Viscosidade (Pa.s)	Viscosidade (Pa.s)
Óleo extraído artesanalmente	0,206 ± 0,001	0,132 ± 0,001	0,107 ± 0,001	0,088 ± 0001
Pseudoartesanal	0,392 ± 0,001	0,231 ± 0,001	0, 206 ± 0,001	0,170 ± 0,001
Óleo ext C/solv. Orgânico	0,641 ± 0,001	0,445 ± 0,001	0,370 ± 0,001	0,316 ± 0,001

De modo a poder comparar os resultados da viscosidade dos diferentes óleos estudados no presente trabalho com os encontrados na literatura^{39,46}, apresenta-se na tabela abaixo os valores da viscosidade cinética das três amostras de óleo da *Ximenia americana* extraído por diferentes métodos.

Tabela 3.5 Valores da viscosidade cinética das três amostras

Temperatura	20 °C	30 °C	35 °C	40 °C
Óleo extraído artesanalmente	225,38 cSt	145,05 cSt	117,71 cSt	96,92 cSt
Pseudoartesanal	428,88 cSt	253,85 cSt	226,62 cSt	187,22 cSt
Óleo ext. c/solv. org	701,31 cSt	489,01 cSt	407,85 cSt	348,02 cSt

Na tabela acima apresenta-se os valores da viscosidade cinética das três amostras de óleo sendo possível notar que o óleo artesanal trazido de Angola foi estimado como aquele que apresenta o menor valor de viscosidade quando comparados com as outras duas amostras, o extraído com solvente orgânico e o pseudoartesanal, em todas as temperaturas estudadas ou em que estas amostras foram submetidas.

Com relação ao fator temperatura, observou-se decréscimo da viscosidade do óleo com o aumento da temperatura aos 30 °C e a partir de 35 até 40 °C, não existe diferença significativa. Este comportamento é idêntico para as outras duas amostras estudadas para o óleo pseudoartesanal e o extraído com solvente orgânico.

Estudos anteriores de alguns óleos vegetais encontraram valores de viscosidade de 900 e 938,2 mPa.s para os óleos das sementes da *Ximenia americana*. Para o óleo estudado neste trabalho e extraído por métodos diferentes à temperatura de 30 °C, foram obtidos os seguintes valores da viscosidade 145,05, 253,85 e 489,01 mPa.s respetivamente^{7,24}. Comparando com os valores obtidos neste trabalho às temperaturas de 30 e 40 °C, para as três amostras de óleo respetivamente os valores são tão diferentes que são comparáveis com os encontrados na literatura. Se considerarmos ainda que os valores encontrados na literatura também foram medidos a 30 °C uma das temperaturas utilizada neste trabalho, pode dizer-se que os valores da viscosidade obtidos são inferiores aos reportados na literatura, visto que alguns valores foram obtidos a 27 °C³⁸. Mas os mesmos valores também não podem ser comparados uma vez que os autores não explicam o procedimento ou metodologia utilizado para a determinação da viscosidade.

A análise da variação da viscosidade decorreu com diferença significativa de temperatura na gama de 20 a 40 °C, com 43,00, 43,65 e 49,62% respetivamente, o que sugere um potencial uso do óleo das sementes da *Ximinia americana* na indústria cosmética. A 40 °C, registou-se uma redução significativa na viscosidade dos diferentes óleos tendo sido registrado a esta temperatura os seguintes valores (96,92; 187,22 e 348,02 cSt) e a 20 °C registaram-se os seguintes valores (225,62; 428,88 e 701,31 cSt).

Observando os valores da viscosidade dos óleos artesanal, pseudoartesanal e o extraído com solvente orgânico com as temperaturas variando de 20 a 40 °C, percebe-se que a viscosidade diminui à medida que a temperatura aumenta. Nota-se porém que o valor obtido a 20 °C quando comparado com o valor obtido a 40 °C apresenta uma diferença de acima dos 43%. O comportamento decrescente obtido com o aumento da temperatura é típico dos fluídos. Comportamento semelhante também foi obtido por outros autores quando estudaram a viscosidade de vários óleos incluindo o óleo da *Ximenia americana*^{46,49}.

Os resultados de viscosidade das três amostras de óleos de sementes de *Ximeia americana* sugerem de um modo geral uma grande aplicação como lubrificante, ainda que sejam fundamentais outras pesquisas de viscosidade a altas temperaturas⁴⁶.

A análise do óleo artesanal apresentou característica de redução de cisalhamento (*shear-thinning*) até atingir um planalto newtoniano para shear rates entre 5 e 1100 s⁻¹, com uma viscosidade de 0,132 mPa.s a 30 °C (cerca de 130 vezes a viscosidade da água) e sem indícios de desenvolvimento de escoamentos turbulento.

Foi detetada alguma estruturação que apresenta um yield stress de 0,015 Pa.s correspondente a alguma plasticidade de tipo Bingham.

Tabela 3.6 Análise do comportamento do óleo do mumpeke (*Ximenia americana*) extraído artesanalmente medida a 20 °C

Melhor ajuste de fluxo (Estresse e Taxa)	Viscosidade e taxa
Newtonian R ² : 0.999999 Bingham R ² : 0.999999 Casson R ² : 0.999999 Power Law R ² : 0.999999 Herschel-Bulkley R²: 1.00000	Cross R ² : 0.999974 Carreau R ² : 0.999974 Carreau-Yasuda R²: 0.999975 Sisko R ² : 0.999974 Williamson R ² : 0.600804
yield stress: 0.0121747 Pa viscosity: 0.207141 Pa.s rate index: 0.998549 R ² : 1.00000	zero-rate viscosity: 25925.3 Pa.s infinite-rate viscosity: 0.206804 Pa.s consistency: 1685040 s rate index: 3.45069e-4 transition index: 42.6078 R ² : 0.999975

Observando a Tabela 3.6 que descreve os vários modelos para a determinação de viscosidade é possível observar que o modelo de Herschel-Bulkley com o R² = 1.00000 é o mais eficiente apesar de os de mais modelos estarem bem próximo deste valor. Quanto a taxa de viscosidade o de Carreau-Yasuda R²= 0.999975 mostrou melhor resultado quando medido a temperatura de 20 °C.

Ainda observando o resultado obtido para a viscosidade do óleo artesanal pode-se concluir que o fluido apresenta alguma estrutura e tem uma certa organização e esta organização corresponde basicamente com o comportamento reológico do óleo.

Tabela 3.7 Análise do comportamento do óleo extraído pseudoartesanal do mumpeke (*Ximenia americana*) medida a 20 °C

Best fit of flow (stress vs rate)	(viscosity vs rate)
Newtonian R ² : 0.999883 Bingham R ² : 0.999897 Casson R ² : 0.999952 Power Law R ² : 0.999980 Herschel-Bulkley R²: 0.999982	Cross R ² : 0.933795 Carreau R ² : 0.946067 Carreau-Yasuda R²: 0.949264 Sisko R ² : 0.908996 Williamson R ² : 0.889921
yield stress: -0.0763340 Pa viscosity: 0.414978 Pa.s rate index: 0.980484 R ² : 0.999982	zero-rate viscosity: 0.420237 Pa.s infinite-rate viscosity: 0.367825 Pa.s consistency: 8.85409 s rate index: 0.697371 transition index: 8.65829 R ² : 0.949264

A amostra do óleo pseudoartesanal apresentou características de *shear-thinning* sem nunca definir um planalto Newtoniano, com uma viscosidade de 0,392 Pa.s a 20 °C (cerca de 400 vezes a viscosidade de água) e sem indícios de desenvolvimento de escoamento turbulento.

Não foi detetada qualquer estruturação indicada por *yield stress* que corresponda a alguma plasticidade de Bingham.

As características gerais são significativamente diferentes quando comparadas com outras duas amostras, indicando composição significativamente diferente e um carácter mais Newtoniano.

Comparando os valores obtidos tanto do óleo artesanal e o pseudoartesanal, embora os valores encontrados sejam diferentes, ambos os óleos apresentam comportamentos quase semelhantes. O processo semelhante ao artesanal promove a hidrólise da parede celular e a redução da viscosidade da polpa, contribuindo com pelo menos 9,72% de aumento na produtividade da etapa de extração do óleo com água e terra.

Tabela 3.8 Análise do comportamento do óleo extraído com solvente orgânico do mumpeke (*Ximenia americana*) medida a 20 °C

Best fit of flow (stress vs rate)	(viscosity vs rate)
Newtonian R ² : 0.997439 Bingham R ² : 0.997999 Casson R ² : 0.999469 Power Law R ² : 0.999972 Herschel-Bulkley R²: 0.999982	Cross R ² : 0.993830 Carreau R ² : 0.993830 Carreau-Yasuda R ² : 0.993830 Sisko R²: 0.993830 Williamson R ² : 0.553833
yield stress: -0.148020 Pa viscosity: 0.799751 Pa.s rate index: 0.909637 R ² : 0.999982	infinite-rate viscosity: 0.579067 Pa.s consistency: 0.0225847 s rate index: 0.0450348 R ² : 0.993830

A amostra de óleo extraída com solvente orgânico apresentou características de *shear-thinning* sem nunca definir o planalto Newtoniano, com uma viscosidade de 0,475 Pa.s a 20 °C (cerca de 500 vezes a viscosidade da água), sem indícios de desenvolvimento de escoamento turbulento.

Foi detetada alguma estruturação que apresenta um *yield stress* de 0,015 Pa correspondente a alguma plasticidade de tipo Bingham. Observando as propriedades e o escoamento do óleo extraído artesanalmente é possível notar que o mesmo começa a escoar muito mais depressa em comparação com as duas outras amostras de óleos.

Para os três modelos, verificou-se que o índice de comportamento (n) em todas as temperaturas analisadas as amostras apresentaram valores inferiores a um (1), confirmando um comportamento não newtoniano e tipicamente pseudoplástico para os três óleos da *Ximenia americana* L.

Neste estudo, para a quantificação da viscosidade dinâmica (η) optou-se pelo modelo Carreau-Yasuda no caso do óleo artesanal, modelo Carreau-Yesuda no óleo pseudoartesanal e modelo Sisko para o óleo extraído com solvente orgânico por terem apresentada um melhor ajuste e tendo se mostrado bastante adequado na previsão do comportamento reológico dos três óleos, com coeficiente de determinação $r^2 > 0,99$, para duas das quatro temperaturas investigadas.

Os valores obtidos da tensão de cisalhamento (τ) foram baixos, pois variaram de 0,089 a 0,503 Pa, indicando que o modelo da Lei da Potência é o mais apropriado para descrever o comportamento reológico do óleo.

Desseguida são apresentados os espectros do comportamento reológico dos três óleos da *Ximenia americana* extraído por diferentes métodos.

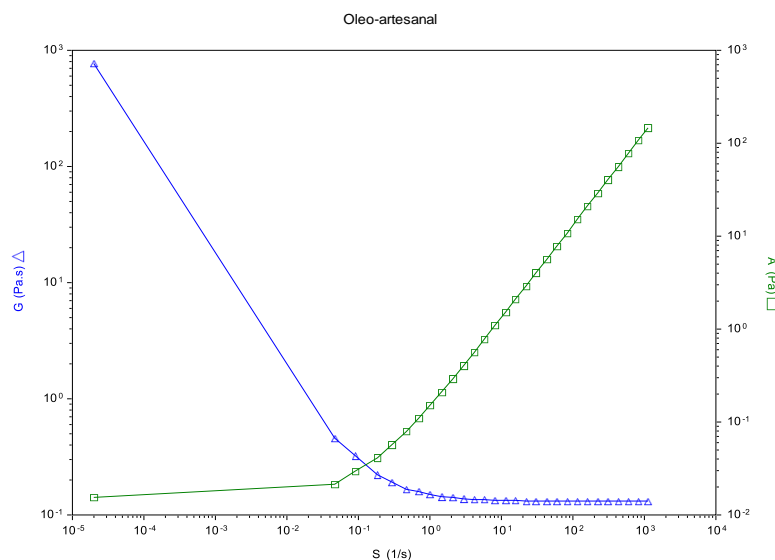


Figura 3.1 Espectro do comportamento reológico da viscosidade do óleo extraído artesanalmente

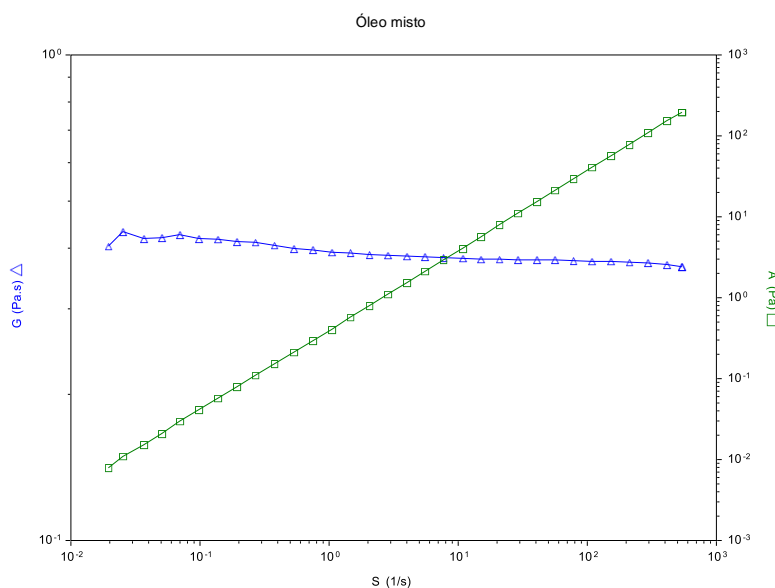


Figura 3.2 Espectro do comportamento reológico da viscosidade do óleo extraído pseudoartesanal

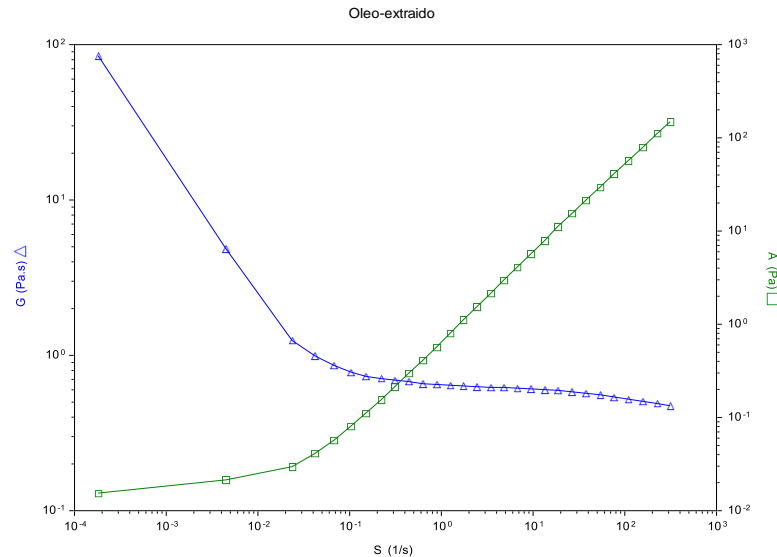


Figura 3.3 Espectro do comportamento reológico da viscosidade do óleo extraído com solvente orgânico

Observando os espectros da variação da viscosidade viscosidades em função da temperatura apresentados nas Figura 3.1 a Figura 3.3 dos três óleos da *Ximenia americana* extraídos por diferentes métodos, é possível notar a partir destes espectros que o comportamento reológico do óleo extraído artesanalmente e do óleo extraído com solvente orgânico são quase semelhantes. Nos dois óleos ao começo, a estrutura é diferente com valores da viscosidade absoluta na gama de 10^3 a 10^0 e depois voltaram a apresentar outra estrutura diferente com a viscosidade absoluta na gama de 10^0 a 10^{-2} com a taxa de deformação na gama 10^{-2} a 10^2 como se de duas substâncias numa só se tratasse, ou seja, apresenta características diferentes em duas zonas. Quanto ao óleo pseudoartesanal, apresentou somente uma única característica na gama de 10^{-1} a 10^0 , não havendo mudanças na sua estrutura com a variação da temperatura, assim como com a taxa de deformação que variou entre 10^{-1} a 10^3 sem indícios de variação. De uma forma geral, foi possível concluir que as três amostras de óleos estudadas apresentaram um comportamento que pode ser classificado como Newtoniano, apesar de o óleo pseudoartesanal apresentar comportamento reológico diferente quando comprado com as duas outras amostras.

Observam-se a seguir as figuras que demonstram o comportamento da viscosidade em função da equação de Arrhenius das três amostras de óleos.

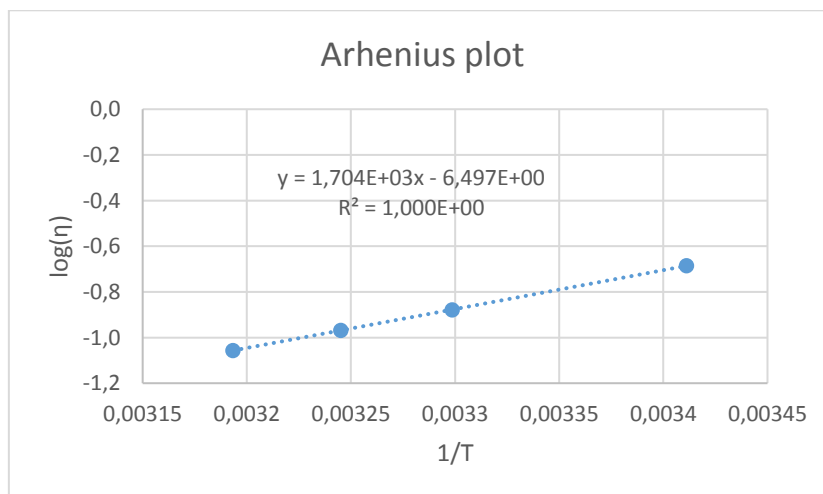


Figura 3.4 Comportamento do óleo artesanal em função da equação de Arrhenius

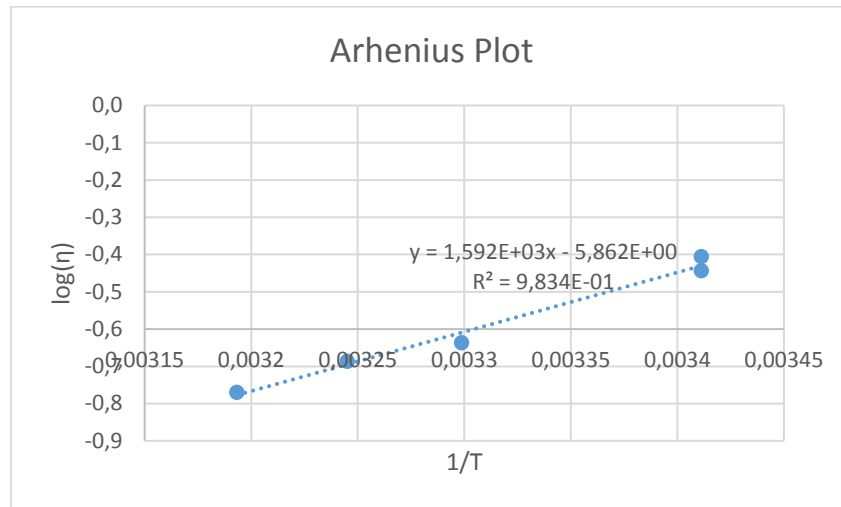


Figura 3.5 Comportamento do óleo pseudoartesanal em função da equação de Arhenius

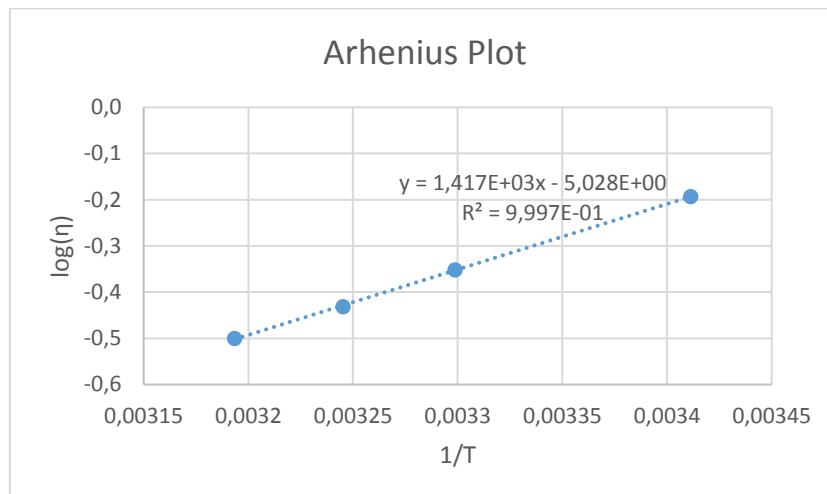


Figura 3.6 Comportamento do óleo extraído com solvente orgânico em função da equação de Arhenius

A partir das Figura 3.4 a Figura 3.6 analisando o comportamento de escoamento dos três óleos estudados é possível observar que a condutividade térmica apresenta, de um modo geral, um comportamento praticamente linear em função da temperatura e nos intervalos de temperatura estudadas, verificou-se uma diminuição nos valores desta propriedade de escoamento da três amostras estudadas em função da variável medida.

Observando a figura é possível notar que à medida que a temperatura aumenta a viscosidade diminui, o que nos leva a concluir que os óleos extraídos das sementes da *Ximenia americana* podem ser usados como cosmético apesar de algumas das amostras serem mais ou menos viscosas não influenciando o seu uso em aplicação direta sobre a pele, antes pelo contrário é benéfico para aplicação típica uma vez que medida que a temperatura aumenta ele se torna menos viscoso.

Independentemente dos valores da viscosidade do óleo artesanal ser menor, quando comparada com as outras amostras, a tendência da viscosidade com a temperatura tem a característica de um líquido. O mesmo comportamento é observado para as outras duas amostras, que apresentam a mesma tendência.

Por ser possível traçar uma reta, isto significa que independentemente das estruturas que os diferentes óleos apresentam, eles têm comportamento normal de um líquido.

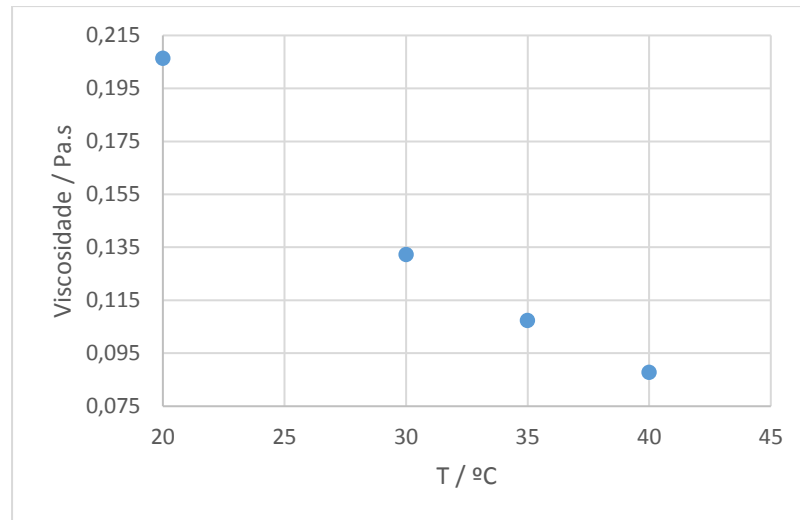


Figura 3.7 Comportamento da viscosidade do óleo artesanal em função da temperatura

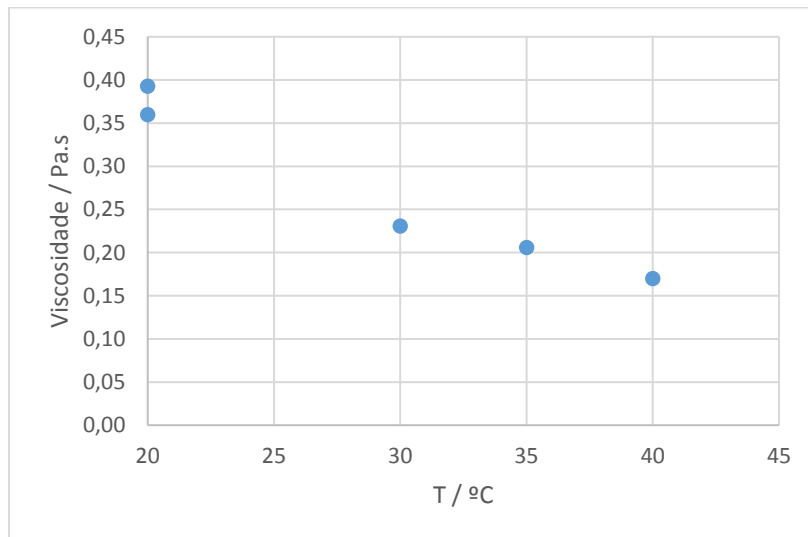


Figura 3.8 Comportamento da viscosidade do óleo pseudoartesanal em função da temperatura

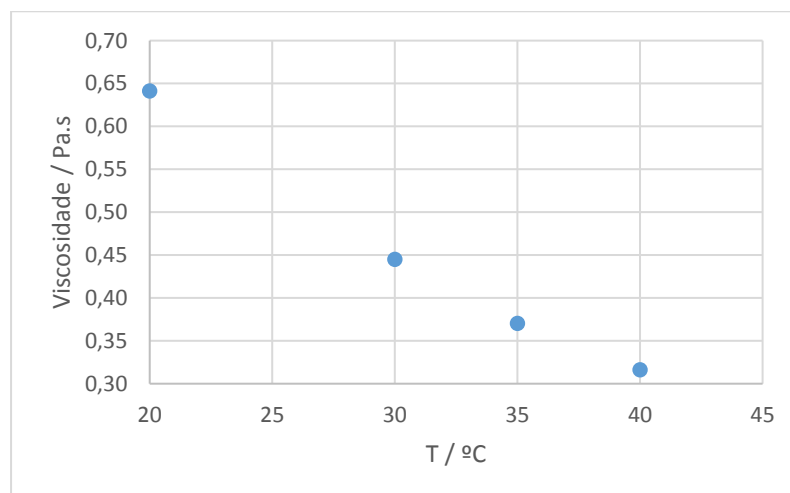


Figura 3.9 Comportamento da viscosidade do óleo extraído com solvente orgânico em função da temperatura

Inicialmente, para as medidas de viscosidade dos óleos da *Ximenia americana* obtidos no presente trabalho, foi realizada uma modelagem de viscosidade em função da temperatura.

Pode-se observar a partir das Figura 3.7 a Figura 3.9, que há uma diminuição acentuada na viscosidade dos três fluídos à medida que a temperatura aumenta. É possível notar-se ainda que, para os três óleos estudados à mesma temperatura, ocorre uma grande diferença entre os valores da viscosidade dos óleos vegetais. Pelo que se pode concluir do comportamento reológico apresentado pelas três amostras, quanto ao seu comportamento em função da temperatura, o seguinte: dos três óleos estudados o óleo artesanal apresentou-se como o menos viscoso e por conseguinte mais rápido é o seu escoamento, o que faz com que seja bom na sua utilização como cosmético para aplicação tópica, mesmo a baixas temperaturas. Quanto mais baixa for a temperatura mais espesso é o óleo mas, à medida que o mesmo é aplicado por meio de uma fricção, a temperatura vai aumentando e a camada torna-se mais fina. O mesmo não acontece com o óleo extraído com solvente orgânico que apresentou valor muito alto de viscosidade e, quanto maior é o valor da viscosidade do fluído, mais difícil é o seu deslizamento.

Analisando o comportamento dos três óleos, relativamente ao estudo da viscosidade, estes apresentaram comportamento com diferenças significativas, indicando assim algumas diferenças de composição química, o que pode estar de acordo com os resultados obtidos na análise, de CG-EM na tabela da secção 3.6, influenciando significativamente os valores das propriedades térmicas medidas.

3.3 Cromatografia em camada fina (TLC)

Análise por TLC revelou que os OSXA extraído por métodos diferentes têm composição semelhantes.

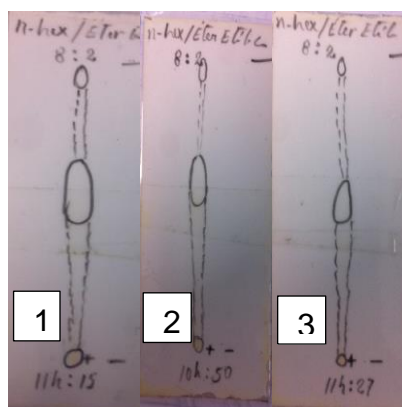


Figura 3.10 Cromatografia em camada fina dos três óleos. 1) Óleo artesanal; 2) óleo pseudoartesanal e 3) óleo extraído com solvente orgânico.

Neste método as três porções de 0,10 mg de cada amostra de óleo das sementes da *Ximenia americana*, foram separadamente cromatografadas em placa com gel de sílica utilizando diferentes misturas de solventes. As placas depois de retiradas da câmara de foram observadas duas bandas uma inferior e outra superior.

3.4 Espectroscopia de infravermelho

As três amostras de óleos foram submetidas a análise por espectroscopia de UV-Vis, tendo estas apresentadas espectro na região do ultravioleta, onde o máximo de observância ocorreu a 212 nm. A presença destes máximos indica que o óleo não é apenas formado por triglicerídeos, mas contém outros

compostos com elevada observância como sejam compostos aromáticos, o que está de acordo com a presença de phenantrenophandieno.

Vale a pena ressaltar que para as três amostras de óleos analisadas, os espectros na região do UV são muito semelhantes apesar de ter sido usado processo de extração diferente.

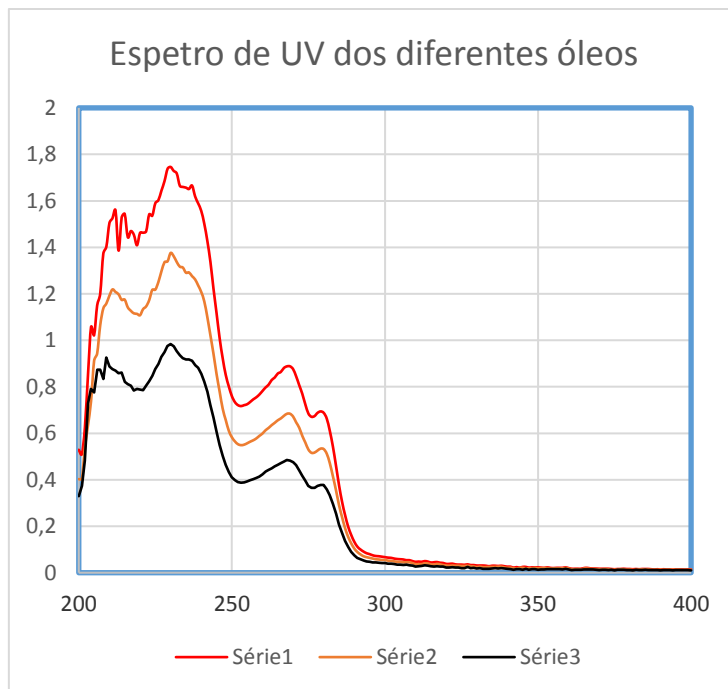


Figura 3.11 Espectro de ultravioleta das três amostras de óleo da mumpeke (*Ximenia americana*) 1-óleo artesanal; 2-óleo pseudoartesanal e 3-óleo extraído com solvente orgânico.

3.5 Análise do óleo por RMN-¹H

Os óleos das diferentes amostras foram caracterizadas por RMN-¹H.

Um sinal na região de 5,38 ppm, que indica a presença de prótons das duplas ligações dos ácidos gordos insaturados. Outros sinais que são observados na região dos 5,28 a 5,29 ppm, correspondem aos prótons que fazem parte do glicerol pertencente aos triglicéridos.

Na região de 4,23 ppm é observado um multipletto correspondente aos prótons ligado aos átomos de carbono 1 e 3 da parte do glicerol presente no triglicérido. Na região de 2,33 ppm, observa-se um triplete que corresponde ao metileno na posição 2 dado que pode ser um resíduo do ácido gordo.

Na região de 2,02 ppm, são observados os metilenos adjacentes a uma dupla ligação (metilenos alílicos). Na região 1,80 ppm, há um pico não resolvido que é a zona dos metilenos da posição 3. Na região correspondente a 1,70 ppm, existe uma substância que não é um triglicérido. Na zona entre 1,24 e 1,28 ppm, foi igualmente observado, para todos os óleos, um multipletto. Na região entre 0,856 a 0,90 ppm, observa-se em todos os espectros um triplete correspondente ao metilo (CH₃-) dos grupos terminais dos ácidos gordos saturados e não saturados presentes nas amostras analisadas.

Os dados dos espectros de RMN-¹H foram consistentes com os encontrados na literatura⁵⁰ para um óleo vegetal.

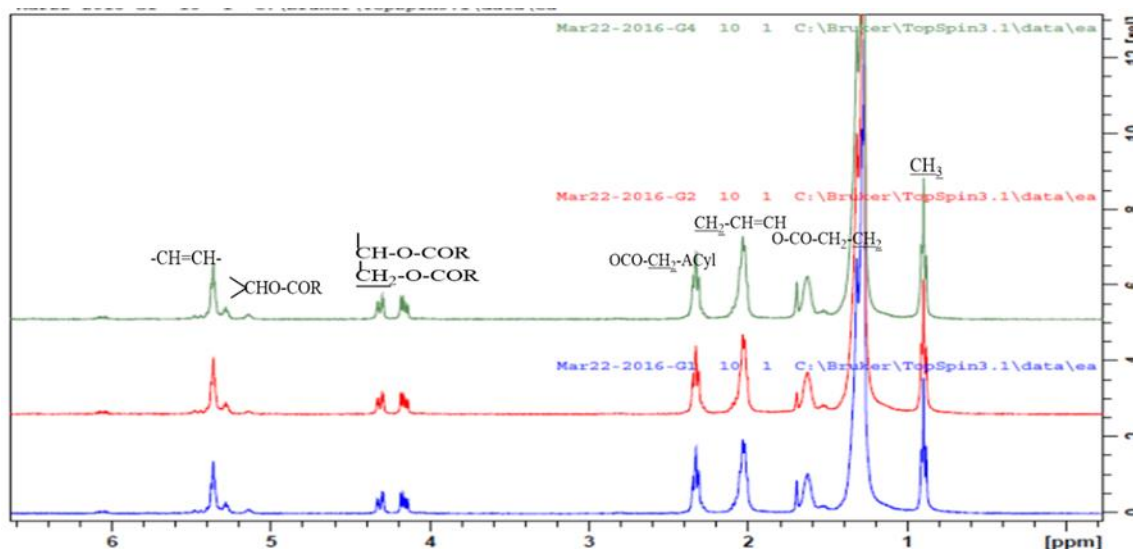


Figura 3.12 Espectros de ressonância magnética nuclear das três amostras de óleos mumpeke (*Ximenia americana*)



3.6 Preparação dos esteres metílicos e análise por CG-EM

Com o objetivo de conhecer a composição química dos óleos foram preparados os ésteres metílicos das três amostras o que possibilitou a realização de análise por CG-EM, capaz de diferenciar, identificar e quantificar os respectivos componentes. A preparação dos esteres metílicos foi realizada por dois processos. Para o óleo artesanal, uma vez que existia em quantidade suficiente procedeu-se à metanolise com metanol em hidróxido de sódio. Para as outras amostras procedeu-se à derivatização com trifluoreto de boro como está descrito na Parte Experimental.

De acordo com a literatura o óleo das sementes da *Ximenia americana* contem níveis significativos de ácidos gordos insaturados⁵¹

Estudando a composição dos ácidos gordos das sementes da *Ximenia americana* verifica-se que o óleo contém níveis significativos de ácidos gordos insaturados. Neste estudo foram identificados 19 ácidos gordos indicados na tabela 3.7 sendo que 7 são ácidos insaturados, tendo sido identificados mais ácidos de que no estudo realizado por outros autores os quais encontraram 12 ácidos⁷. E noutro estudo foram identificado 38 ácidos⁵¹. Os estudos anteriores demonstraram que o óleo contem ácidos gordos essenciais como o linoleico, e o araquídico, conferindo ao óleo um considerável valor nutricional, além de variados níveis de ácidos gordos insaturados de alto peso molecular^{12,7}.

A fração acídica dos três óleos obtidos, após esterificação com metanol, permitiu por CG-EM a identificação de diversos ácidos gordos na forma de esteres metílicos: ácido 7-hexadecenóico (ácido palmitoléico), ácido 9-hexadecenóico (ácido palmitoléico), ácido hexadecanóico ou ácido palmítico, ácido 9-octadecenóico (ácido petroselínico ác. oleico), ácido octadecanóico, (ácido esteárico), beta-fencheno, ácido 9-octadecinoico, ácido 9,12-octadecadienóico, (ácido linoleico), ácido 6,9-octadecadienóico, ácido 7,10-octadecadienóico, ácido 11-eicosenóico (ácido gondóico), ácido eicosanoico (ácido araquídico), ácido hexanedioico, dioctyl ester (dioctil adipate), ácido 14-octadecenóico, ácido 13-docosenóico (ácido erúico), ácido docosanóico (ácido behênico), ácido 15-tetracosenóico (ácido nervônico), ácido tetracosanóico (ácido lignocérico), ácido hexacosanóico (ácido tricosanóico ou cerótico) e ácido octacosanóico (ácido montanico).

Conforme mencionado acima, os ácidos gordos foram identificados e quantificados por cromatografia gasosa nas três amostras de óleos.

Tabela Tabela 3.9 Ácidos gordos identificados nos óleos de sementes extraídas por diferentes metodologias e suas potencialidades no uso como cosmético em algumas regiões de Angola.

Nome sistemático (nome corrente)	Fórmula química	Óleo artesana 1 1 % total	Óleo artesana 1 2 % total	Óleo pseudoartesanal 1 % total	Óleo ext.c/ n-pentano 1 % total	Óleo ext.c/ n-pentano 2 % total
Ácido 7-hexadecenoico (ácido palmitoleico)	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	0,185	0,052	0,047	Vestígio	0,010
Ácido 9-hexadecenoico (ácido Palmitoleico)	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	0,113	0,055	0,022	Vestígio	0,010
Ácido hexadecanoico ou ácido palmítico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	3,034	1,809	1,306	1,3	1,126
Ácido 9-Octadecenoico (ácido Oleico)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	40,003	31,815	33,986	66,66	36,146
Ácido Octadecanoico (ácido esteárico)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1,828	0,989	0,890	1,601	0,800
Beta-fenmeno		0,326	0,231	0,155	0,895	nd
Ácido 9-Octadecenoico (ácido Ximénico)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	nd	0,263	nd	nd	nd
Ácido 9,12-Octadecadienoico (ácido linoleico)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	0,643	nd	0,646	nd	nd
Ácido 6,9-Octadecadienoico	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	nd	0,035	0,035	nd	nd
Ácido 7,10-Octadecadienoico	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	nd	0,083	nd	nd	nd
Triciclo (4.2.2.0(1,5) decano-4-one,		10,928	5,887	6,660	nd	5,166
Ácido 11-eicosenoico (ácido gondóico)	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	3,505	2,088	1,807	1,932	1,589
Spiro[5,5]undeca-1,7dieno		2,482	nd	nd	nd	0,175
Ácido eicosanoico (ácido araquídico)	C ₂₀ H ₄₂ O ₂	0,413	0,328	0,380	0,416	0,277
ácido Hexanedioico,		nd	nd	0,102	nd	nd
Ácido 14-Octadecenoico	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	nd	nd	1,728	nd	nd
Ácido 13-Docosenoico (ácido erúico)	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	2,203	2,416	2,441	1,031	1,965
Ácido Docosanoico (ácido behênico)	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	1,011	1,181	1,182	0,380	1,154
Ácido 15-tetracosenoico (ácido nervônico)	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	9,845	11,090	10,149	3,904	10,639
Ácido tetracosanoico (ácido lignocérico)	C ₂₄ H ₅₀ O ₂	1,433	2,981	2,630	0,726	3,520
Não identificado		7,439	10,217	9,318	nd	9,868
Ácido hexacosanoico (Ácido tricosanoico)	C ₂₆ H ₅₄ O ₂ C ₂₃ H ₄₈ O ₂	0,427	2,786	2,376	nd	3,970
(2,2)(3,6)-Phenanthrenophanediene *		8,494	14,592	12,793	0,942	914,514
Ácido Octacosanoico (ácido montânico)	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	nd	0,915	1,252	nd	3,001
Não identificado		1,135	2,501	2,179	nd	
% compostos identificados		64,906		59,501	77,244	

¹ Ésteres metílicos obtidos por metanólise; ² ésteres metílicos obtidos com trifluoreto de boro em metanol; vestígio ≤0,1% * de acordo com o melhor ajuste encontrado na base de dados., nd- não detetado.

Observando a Tabela Tabela 3.9 verifica-se que um total de 19 ácidos foram identificados nas amostras de OSXA. Observou-se que há compostos como é o caso do ácido 9-octadecínico foi identificado no óleo artesanal e não foi identificado tanto no óleo pseudoartesanal como no óleo extraído com solvente orgânico, o ácido 9,12-octadecadienóico e 6,9-octadecadienóico foram detetados nas duas amostras de óleo artesanal e pseudoartesanal e não foram detetados no óleo extraído com solvente orgânico, o ácido 7,10-octadecadienóico foi detetado no óleo artesanal, o spiro (5,5) undeca 1,7 dieno foi detetado no óleo artesanal e no extraído com solvente orgânico e não foi detetado no óleo pseudoartesanal, o ácido hexanodíoco e ácido 14-octadecénico foram detetados no óleo pseudoartesanal e o não foram detetado tanto no óleo artesanal como no óleo extraído com solvente, razão esta que pode ser atribuída ao processo de extração diferente e também ao processo de derivatização para obtenção dos esteres metílicos. Num foi utilizado metanólise e no outro a derivatização com trifluoreto de boro.

Observações semelhantes foram relatadas por outros autores que também encontraram a presença de tais ácidos⁷.

Ácidos gordos com mais de 22 átomos são raramente encontrados na natureza. No presente trabalho foram encontrados ácidos com 26 átomos de carbono. Rezanka e Sigler (2007) estudando o óleo das sementes *Ximenia americana* utilizando RP-HPLC identificaram 38 ácidos, e também foi detetado pela primeira vez um ácido natural contendo 40 átomos de carbono representando 0,003% total dos ácidos⁵¹

Nas 3 amostras estudadas verificou-se, relativamente ao óleo artesanal, que este continha na sua composição como constituintes encontrados em maior quantidade de ácidos gordos mono insaturados equivalentes a 56,117%, seguida pelos ácidos gordos saturados (AGS) correspondente a 8,146% de 0,643% de ácidos insaturados apresentando uma ligação tripla na cadeia e finalmente 30,804% de compostos não identificados, fazendo um total de 95,71%.

No óleo pseudoartesanal verificou-se uma composição quase semelhante, tendo sido identificado 50,18% do componente maioritário ácidos gordos mono insaturados, seguido de 8,64% de ácidos gordos saturados, 0,681% de ácidos gordos com uma tripla ligação e finalmente 31,105% de componentes não identificados perfazendo um total de 90,73%.

No óleo extraído com solvente orgânico este continha na sua composição 73,547% de ácidos gordos mono insaturado, 3,697% de ácidos gordos saturado e 1,892% de composto não identificados, tendo-se obtido um valor percentual de 79,136%.

Comparando o resultado das amostras de OSXA é possível notar que o óleo extraído com solvente orgânico apresentou maior valor de AGs mono insaturados seguido do artesanal e finalmente o pseudoartesanal. Quanto aos ácidos gordos saturados e ácidos gordos polinsaturados, o óleo pseudoartesanal apresentou o maior valor para ambos os ácidos, seguido pelo óleo artesanal e finalmente o óleo extraído com solvente orgânico o qual não apresentou ácidos gordos polinsaturados. Quanto aos componentes não detetados o óleo pseudoartesanal apresentou maior valor seguido do óleo artesanal e por fim o óleo extraído com solvente orgânico.

A diferença encontrada nas percentagens dos óleos das diferentes amostras pode estar relacionada com o processo de derivatização.

No óleo pseudoartesanal foi obtido dois ácidos polinsaturados isómeros de posição da dupla ligação, o ácido 9,12-octadecadienóico e o ácido 6,9-octadecadienóico, apesar de se encontrarem numa percentagem relativamente baixa.

Neste estudo foi possível identificar nos diferentes óleos da *Ximenia americana* AG com até 28:0 átomos de carbono o octacosanóico. A tabela mostra todos os ácidos gordos AGs, encontrado no OSXA. No presente estudo apenas foi detetado um ácido com 28 átomos de carbono, confirmando os dados encontrados na literatura¹⁷, o que abre novas investigações futuras para OSXA.

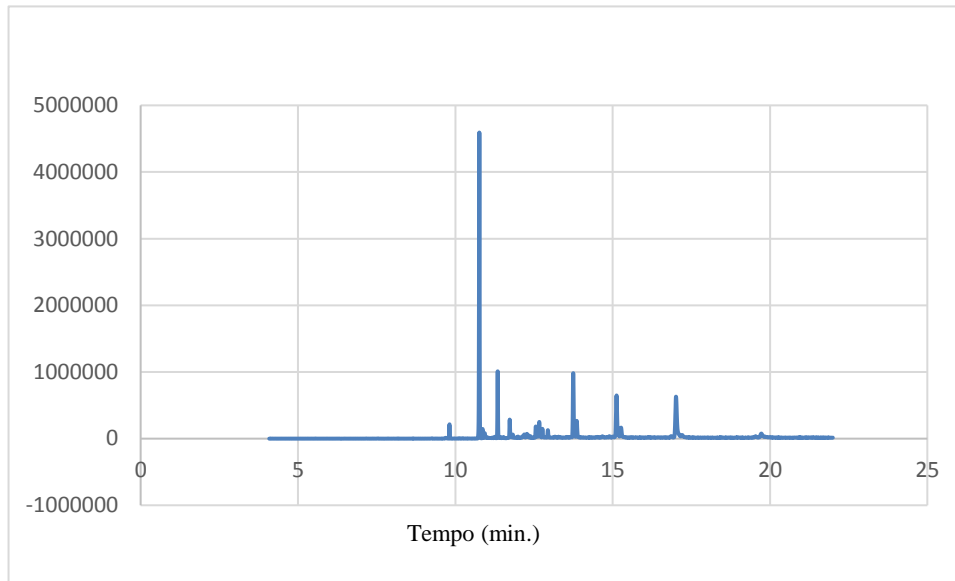


Figura 3.13 Cromatograma do óleo artesanal

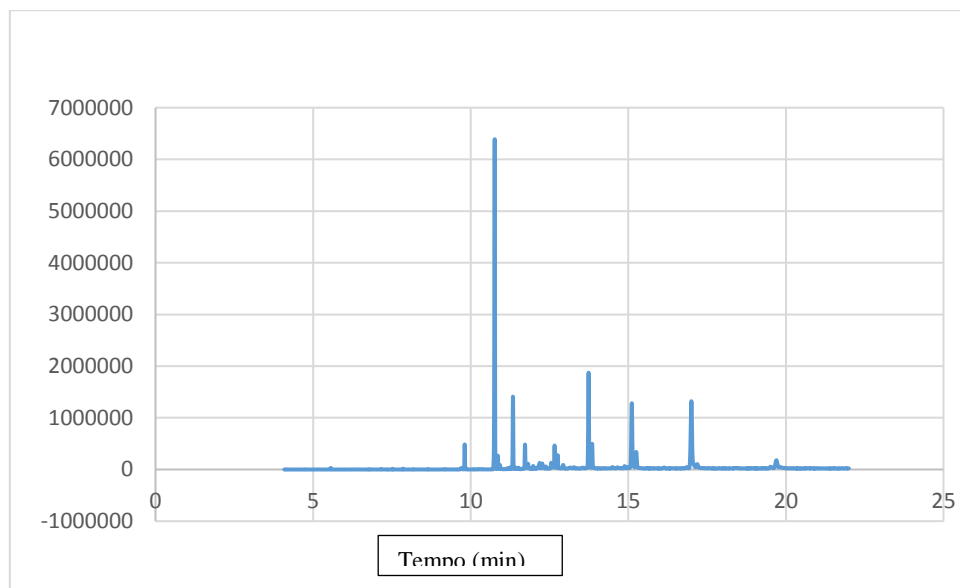


Figura 3.14 Cromatograma do óleo pseudoartesanal

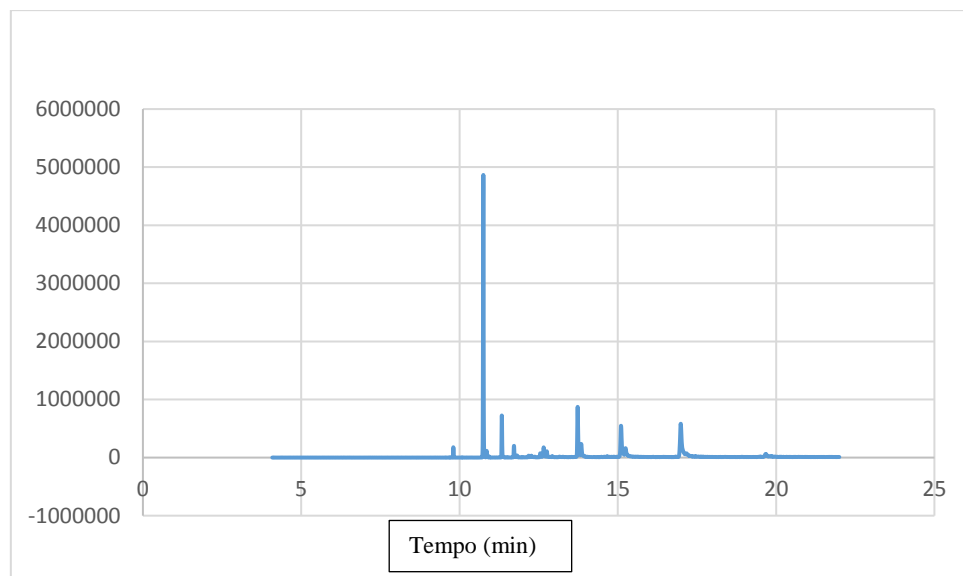


Figura 3.15 Cromatograma do óleo extraído com solvente orgânico

Nas figuras acima são apresentados os cromatogramas das três amostras de óleos de sementes da *Ximenia americana* os quais apresentaram perfis cromatográficos semelhantes relativamente aos ácidos gordos maioritários.

A análise dos espectros de massa revelou que a maioria dos picos cromatográficos não eram homogêneos, mas que eram formados por vários isômeros posicionais como é o caso dos seguintes ácidos ácido 9,12-octadecadienóico (ácido linoleico), ácido 6,9-octadecadienóico e ácido 7,10-octadecadienóico caso do óleo artesanal e pseudoartesanal que constituem cerca de 0,761 e 0,681% total de ácido respetivamente.

3.7 Avaliação da citotoxicidade do óleo artesanal de produção angolana

A citotoxicidade do óleo artesanal foi caracterizada em células de HaCat (queratinócitos de alta temperatura de baixo teor de cálcio humano). As células de HaCat foram mantidas em DMEM suplementado com 10% de soro bovino fetal, 100 U/mL de penicilina e 0,1 mg/mL de estreptomicina. Aproximadamente 5 10³ células foram cultivadas em 200 µL de meio de cultura por poço, em placas de 96 poços e incubadas 24 h a 37 ° C sob uma atmosfera de CO₂ a 5%. As culturas foram então tratadas com o óleo (0,1-10 µg/mL) durante um período de 24 h. Posteriormente, o teste de violeta de cristal foi realizado como descrito na literatura⁵². Foram realizados dois ensaios independentes e foram utilizadas quatro culturas replicadas em cada experimento independente.

Tabela 3.10 Valores de concentração e viabilidade celular

Concentração (µg/mL)	Viabilidade celular (%)				Média	Desvio padrão
	1	2	3	4		
10	1,20971473	1,154202	1,18195837	1,22821897	1,19352352	0,028044
5	1,37933693	1,25597533	1,29915189	1,077101	1,25289129	0,1107252
2,5	1,13569776	1,02467232	1,33307633	1,1387818	1,15805705	0,11101206
1	1,28681573	1,0925212	1,24980725	1,14494988	1,19352352	0,07815395
0,5	1,24363917	1,06784888	1,29915189	1,11719352	1,18195837	0,09321253

O gráfico seguinte demonstra o comportamento do óleo artesanal, e como é possível observar o óleo nas concentrações medidas não apresentou toxicidade.

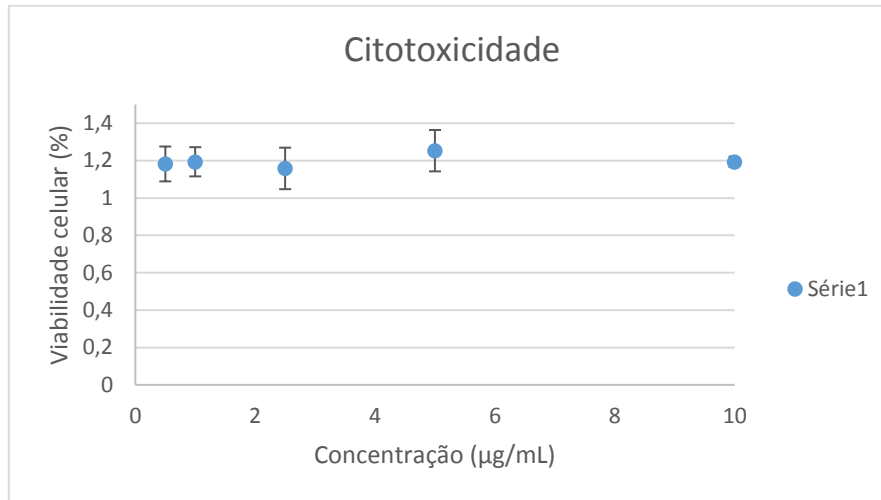


Figura 3.16 Comportamento do óleo quanto ao teste de citotoxicidade

Capítulo 4

Conclusões e perspectivas futuras

4 Conclusões e perspetivas futuras

O processo de extração do óleo das sementes da *Ximenia americana* L. pode ser dividido em três grandes etapas: recolha e secagem dos frutos para obtenção das sementes, preparação das sementes e extração do óleo. As comunidades indígenas usam grandes quantidades de sementes para a extração. O método de extração artesanal apresenta um rendimento baixo provavelmente devido ao tamanho das partículas, à humidade, ao tempo de hidrólise ou devido à presença de outros componentes como os constituintes celulares possivelmente proteínas e mucilagem, que impedem a separação do óleo. Nos dois métodos de extração usados no laboratório foram identificadas diferenças no procedimento em cada uma das etapas de ambos os métodos, pseudoartesanal e extração com solvente orgânico, o que provavelmente é a causa da diferença significativa do rendimento.

Pode-se concluir claramente que o método artesanal e pseudoartesanal, em que é usada água apresentaram baixos rendimentos, tendo também promovido uma maior oxidação dos ácidos gordos insaturado. No entanto, a extração com n-pentano, apresentou maior rendimento, mas o óleo pareceu ser de menor qualidade, deste modo são necessárias investigações adicionais para que se possa obter produto de igual qualidade. Os resultados do presente estudo mostraram que o rendimento de óleo das sementes da *Ximenia americana* extraído no laboratório com solvente orgânico foi bastante alto quando comparado com o pseudoartesanal.

Os resultados indicam que o óleo das sementes da *Ximenia americana* pode eventualmente ser benéfico e ser empregado para fins nutricionais, industrial e cosmético devido à presença de compostos bioativos como os ácidos gordos insaturados, por exemplo o ácido octadecenoico (ácido oleico). No entanto, sem uma total identificação dos componentes não é possível aconselhar o seu uso para fins alimentares. Devido às suas propriedades reológicas pode ser utilizado em formulações farmacêuticas.

No que se refere à densidade, esta foi apenas determinada apenas para o óleo artesanal, tendo sido obtido o valor de $0,914 \text{ gcm}^{-3}$. Além disso a densidade foi medida a diferentes temperaturas de 20 a 40 °C e observou-se que não há diferença significativa nos valores desta propriedade à medida que a temperatura aumenta, sendo que a diferença não ultrapassa os 1%. O mesmo comportamento foi observado pelos valores reportados por outros autores.

A viscosidade aparente dos óleos da *Ximenia americana* foi comparada satisfatoriamente em função da temperatura, mediante a equação de Arrhenius.

Os resultados reportados no presente trabalho podem ser de grande importância para valorização do óleo extraído artesanalmente em Angola.

Perspetivas futuras

Estudos futuros são recomendados para que sejam feitas mais pesquisas sobre o óleo de sementes de *Ximenia americana* para que se possa melhor conhecer a sua composição, uma vez que não existe um consenso quanto a comestibilidade do óleo das sementes e dos seus frutos.

O óleo de sementes de *Ximenia americana* pode ser bem aproveitado para a sua utilização como cosmético, devido a sua composição lipídica. Daí, a importância de desenvolver juntos destas comunidades tecnologia de extração que produza óleo com maior rendimento nas zonas rurais, principalmente pelas comunidades indígenas com objetivo de obterem um desenvolvimento sustentável.

Divulgar a qualidade e seu potencial como cosmético, de modo que a sua utilização no País, Angola, seja em grande escala e as comunidades indígenas possam ter a sua vida melhorada.

Capítulo 5

Referências bibliográficas

5 Referências bibliográficas

1. Vermuelen, C. & Doucet, J.-L. Conservation and Sustainable Use of Non-Timber Forest Products in Favour of Local Communities within Integrated Forest Management in Central Africa. *Organization* (2004).
2. Valeria Urso, M. A. S. and P. B. Survey of the ethnobotanical uses of *Ximenia americana* L. (mumpeke) among rural communities in South Angola Valeria. *J. Med. Plant Res.* **7**, 7–18 (2013).
3. Caeté-taperacu, M. Plantas nativas úteis na Vila dos Pescadores da Reserva Extrativista. *Acta Bot. Brasilica* **24**, 1027–1033 (2010).
4. Brasileiro, M.T; Do Egito, A.A; Lima, J.R. de; Randau, K.P; Pereira, G.C; Rolim Neto, P. . *Ximenia americana*: botânica, química e farmacologia. *Fitoterapia* **89**, 164–167 (2008).
5. James, D. B., Owolabi, a O., Ibiyeye, H., Magaji, J. & Ikugiyi, Y. a. Assessment of the hepatic effects , heamatological effect and some phytochemical constituents of *Ximenia americana* (Leaves , stem and root) extracts. *African Joul Pharmacol.* **7**, 4274-4278, (2008).
6. Shettar, A. K., Sateesh, M. K., Kaliwal, B. B. & Vedamurthy, A. B. In vitro antidiabetic activities and GC-MS phytochemical analysis of *Ximenia americana* extracts. *South African J. Bot.* **111**, 202–211 (2017).
7. Oladipo, G. O., Eromosele, I. C. & Folarin, O. M. Formation and Characterization of Paint Based on Alkyd Resin Derivative of *Ximenia americana* (Wild Olive) Seed Oil. *Environ. Nat. Resour. Res.* **3**, 52–62 (2013).
8. Feyssa, D. H., Njoka, J. T., Asfaw, Z. & Nyangito, M. M. Uses and management of *Ximenia americana*, Olacaceae in semi-arid east Shewa, Ethiopia. *Pakistan J. Bot.* **44**, 1177–1184 (2012).
9. Vermaak, I., Kamatou, G. P. P., Komane-Mofokeng, B., Viljoen, A. M. & Beckett, K. Vermaak, I., Kamatou, G. P. P., Komane-Mofokeng, B., Viljoen, A. M. & Beckett, K. African seed oils of commercial importance - Cosmetic applications. *South African J. Bot.* **77**, 920–933 (2011). *South African J. Bot.* **77**, 920–933 (2011).
10. Maikai, V. A.; Kobo, P. I.; Auda, A. O. Antimicrobial Properties of Stem Bark Extracts of *Ximenia Americana*. *J. Agric. Sci.* **1**, 30 (2009).
11. Almeida, M. L. B., Freitas, W. E. D. S., Morais, P. L. D. De, Sarmiento, J. D. A. & Alves, R. E. Bioactive compounds and antioxidant potential fruit of *Ximenia americana* L. *Food Chem.* **192**, 1078–1082 (2016).
12. Hetta, M. H. Phytocosmetics in Africa. *Int. J. Phytocosmetics Nat. Ingredients* 1–7 (2016). doi:10.15171/ijpni.2016.0
13. Urso, V., Signorini, M. A., Tonini, M. & Bruschi, P. Wild medicinal and food plants used by communities living in Mopane woodlands of southern Angola: Results of an ethnobotanical field investigation. *J. Ethnopharmacol.* **177**, 126–139 (2016).
14. Fatope, M. O., Adoum, O. A. & Takeda, Y. C18 acetylenic fatty acids of *Ximenia americana* with potential pesticidal activity. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 1872–1874 (2000).
15. Runyoro, D. K. B., Ngassapa, O. D., Matee, M. I. N., Joseph, C. C. & Moshi, M. J. Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of *Candida* infections. *J. Ethnopharmacol.* **106**, 158–165 (2006).
16. Maikai, V. A.; Kobo, P. I.; Auda, A. O. Antioxidant properties of *Ximenia americana*. *J. Biotechnol.* **9**, 7744–7746 (2010).
17. Řezanka, T. , Sigler, K. Odd-numbered very-long-chain fatty acids from the microbial, animal and plant kingdoms. *Prog. Lipid Res.* **48**, 206–238 (2009).
18. Aitzetmüller, K. Santalbic acid in the plant kingdom. *Plant Syst. Evol.* **298**, 1609–1617 (2012).
19. Grønhaug, T. E. *et al.* Ethnopharmacological survey of six medicinal plants from Mali ., *J. Ethnobiol. Ethnomed.* **11**, 1–11 (2008).
20. Serway, R. A. *Física I Mecânica e Gravitação*. **3ª edição**, (1996).
21. Pignone, D. & Hammer, K. Parasitic angiosperms as cultivated plants? *Genet. Resour. Crop Evol.* **63**, 1273–1284 (2016).

22. Guinand, Y. & Lemessa, D. Wild-food plants in Ethiopia: Reflections on the role of wild foods and famine foods at a time of drought. *potential Indig. wild foods* 31–46 (2001).
23. Adoum, O. A. Spectral Determination of Components Isolated from the Root of *Ximenia Americana* Linn. *World J. Org. Chem.* **3**, 12–15 (2015).
24. Eromosele, I. C., Eromosele, C. O., Akintoye, A. O. & Komolafe, T. O. Characterization of oils and chemical analyses of the seeds of wild plants. *Plant Foods Hum. Nutr.* **46**, 361–365 (1994).
25. Queiroz, T. M. De, Laurertan, E., França, T. & Raquel, A. Determinação da Atividade Antioxidante , in vitro , da casca de *Ximenia americana* L ., pelo método DPPH. (2012).
26. Kassa, G. & Yigezu, E. Women Economic Empowerment Through Non Timber Forest Products in Gimbo District , South West Ethiopia. *Am. J. Agric. For.* **3**, 99–104 (2015).
27. Carr, M., Hartl, M., Lubbock, A., Mwanundu, S. & Firmian, I. Gender and non-timber forest products. Promoting food security and economic empowerment. 44 (2008). doi:10.1038/153689a0
28. Folarin, O. Relative thermal stability of metal soaps of *Ximenia americana* and *Balanites aegyptiaca* seed oils. *Sci. Res. ...* **6**, 1922–1927 (2010).
29. Aburjai, T. & Natsheh, F. M. Plants Used in Cosmetics. *Phyther. Res.* **17**, 987–1000 (2003).
30. Antignac, E., Nohynek, G. J., Re, T., Clouzeau, J. & Toutain, H. Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. *Food Chem. Toxicol.* **49**, 324–341 (2011).
31. Kleiman, R., Ashley, D. A. & Brown, J. H. Comparison of two seed oils used in cosmetics, moringa and marula. *Ind. Crops Prod.* **28**, 361–364 (2008).
32. Da Silva, K. M. *et al.* Modulation of the erythromycin resistance in *Staphylococcus aureus* by ethanolic extracts of *Ximenia americana* L and *Schinopsis brasiliensis* Engl. *Boletín Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromáticas* **14**, 92–98 (2015).
33. Lautenschläger, H. Essential fatty acids - cosmetic from inside and outside. *Beauty Forum* **2003**, 54–56. (2003).
34. Francisco José Queiroz Montel, Telma Leda Gomes de Lemos, M. R. S. de A. and E. de S. G. *Ximenia americana : Chemistry , Pharmacology and Biological Properties , a Review.* (2012).
35. Díaz, M. F. *et al.* Comparative study of ozonized olive oil and ozonized sunflower oil. *J. Braz. Chem. Soc.* **17**, 403–407 (2006).
36. Banji Adaramola, Adebayo Onigbinde, O. S. Physicochemical properties and antioxidant potential of *Persea Americana* seed oil. *Chem. Int.* **2**, 168–175 (2016).
37. Banji Adaramola, Adebayo Onigbinde, O. S. Physicochemical properties and Mineral Compositions of Pawpaw and Watermelon Seed Oils. *Pakistan J. Nutr.* **15**, 23–27 (2016).
38. Kibuge, R. M., Kariuki, S. T. & Njue, M. R. Influence of fuel properties on the burning characteristics of sour plum (*Ximenia americana* L.) seed oil compared with *Jatropha curcas* L. seed oil. *Renew. Energy* **78**, 128–131 (2015).
39. Saeed, A. E. M. & Bashier, R. S. M. Physico-chemical analysis of *Ximenia americana* L seed oil and structure elucidation of some chemical constituents of its seed oil and fruit pulp. *J. Pharmacogn. Phyther.* **2**, 49–55 (2010).
40. Debela Hunde Feyssa^{1*}, Jesse T. Njoka^{2a}, Z. A. A. M. M. N. ¹Department. uses and management of *ximenia americana*, olacaceae in semi-arid east shewa, ethiopia. *pak J. Bot* **44**, 1177–1184 (2012).
41. Méndez, A., Pérez, L., Paniagua, A. *et al.* Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos y no newtonianos (una revisión del viscosímetro de Couette). *Latin-American J. Phys. Educ.* **4**, 237–245 (2010).
42. Franks, F. *Water A comprehensive treatise.* **1**, (1972).
43. Trejo, L. P. *et al.* Velocidad terminal de una esfera descendente y la viscosidad de fluidos : diferencia entre fluidos newtonianos y no newtonianos. *Latin-American J. Phys. Educ.* **4**, 237–245 (2010).
44. C. G. Kuper, S. G. L. and M. R. *Liquid and solid helium.* (1974).
45. Mariano, R. G. D., Couri, S. & Freitas, S. P. Enzymatic Technology to Improve Oil Extraction from *Caryocar Brasiliense* Camb (Pequi) Pulp. *Rev. Bras. Frutic.* **31**, 637–643 (2009).
46. Eromosele, C. O. & Paschal, N. H. Characterization and viscosity parameters of seed oils from wild plants. *Bioresour. Technol.* **86**, 203–205 (2003).
47. Em, C. D. E. P. & Agrícola, E. Dissertação Apresentada na Área de Armazenamento e

- Processamento de Produtos Agrícolas características físicas e físico- químicas do óleo de duas cultivares de características físicas e físico - químicas do. (2006).
48. F. Bakkali a, b, S. Averbeck a, D. Averbeck a,*, M. I. b *et al.* Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.* **46**, 446–475 (2008).
 49. Brock, J. *et al.* Determinação experimental da viscosidade e condutividade térmica de óleos vegetais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **28**, (2008).
 50. Pires, J., Brasil, B. & Araújo, M. E. M. Reduction of free fatty acids in acidic nonedible oils by modified K10 clay. *Jaocs, J. Am. Oil Chem. Soc.* **90**, 555–561 (2013).
 51. Řezanka, T. & Sigler, K. Identification of very long chain unsaturated fatty acids from Ximenia oil by atmospheric pressure chemical ionization liquid chromatography-mass spectroscopy. *Phytochemistry* **68**, 925–934 (2007).
 52. Pereira, F. *et al.* Production and characterization of nanoparticles containing methanol extracts of Portuguese Lavenders. *measurement* **74**, 170–177 (2015).

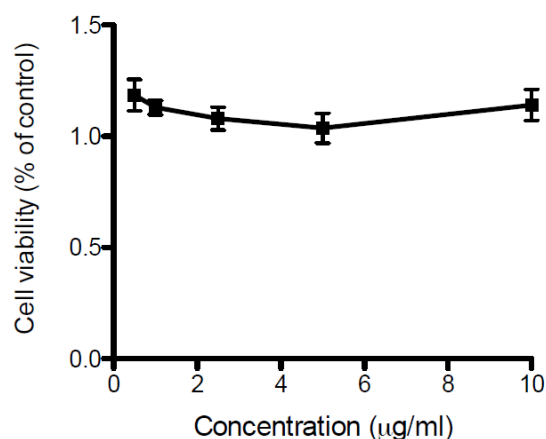
Capítulo 6

Anexos

Anexos

Avaliação da Citotoxicidade

A avaliação da citotoxicidade foi feita em células HaCat (carotenoides) de acordo com o protocolo escrito no anexo 1. Os ensaios de citotoxicidade foram realizados pelo grupo da Universidade Lusofona. No ensaio da citotoxicidade foi utilizado o óleo produzido artesanalmente. Os resultados obtidos encontram-se na figura W. A análise desta figura indica que o óleo produzido artesanalmente não apresenta toxicidade nas células de carotenoides.



A seguir apresenta-se o protocolo da citotoxicidade.

Cytotoxicity

The cytotoxicity of the compound was characterized in HaCat cells (human adult low-calcium high-temperature keratinocytes). HaCat cells were maintained in DMEM supplemented with 10% fetal bovine serum, 100 U mL⁻¹ penicillin, and 0.1 mg mL⁻¹ streptomycin. Approximately 5 × 10³ cells were cultured in 200 µL of culture medium per well, in 96-well plates, and incubated 24 h at 37 °C under a 5% CO₂ atmosphere. Cultures were then treated with the extracts (0.1–10 µg mL⁻¹) for a 24 h-period. Afterward, the crystal violet assay was carried out as previously described [4]. Two independent experiments were performed and four replicate cultures were used in each independent experiment.

(F. Pereira et al. / Measurement 74 (2015) 170–1779)

The CV assay was performed as described in Fernandes et al. [24]. After the 24 h incubation with the compound the cells were then washed with PBS to remove non-adherent cells. The adherent cells were fixed with 96% ethanol for 10 min and then stained with 0.1% crystal violet in 10% ethanol for 5 min at room temperature. After staining, the extracellular dye was removed by rinsing thoroughly the cell monolayers with tap water. The remaining cell-attached dye was dissolved in 200 µL of 96% ethanol with 1% acetic acid and the absorbance was measured at 595 nm in a Zenyth 3100 microplate reader. Two independent experiments were performed, each one comprising five replicate cultures. Vehicle-treated cells were used to determine 100% viability. Results are expressed as means ± SD

(Fernandes et al, Free Radical Research, April 2010; 44(4): 430–440)