

TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS PARA A DIFERENCIAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS DE LIMÃO SICILIANO E TAHITI *

Helena Yuco YABIKU **
Walkyria H. LARA **

RIALA6/608

YABIKU, H.Y. & LARA, W.H. — Técnicas cromatográficas para a diferenciação de óleos essenciais cítricos de limão siciliano e Tahiti. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):45-51, 1986.

RESUMO: Para verificação das diferenças qualitativas e quantitativas dos óleos essenciais de limão dos tipos Siciliano e Tahiti, foram estudadas duas técnicas cromatográficas: a da camada delgada e a gasosa. A técnica da cromatografia em camada delgada baseou-se na utilização de placas de vidro de 20 x 20 cm, recobertas com sílica gel G; a fase móvel utilizada foi benzeno — acetato de etila — ácido acético glacial, na proporção de 90:10:1. A detecção foi feita de duas maneiras: uma, através da visualização na câmara de luz ultravioleta, outra através de pulverização com reagente químico. A técnica de cromatografia em fase gasosa utilizou o detector de ionização de chama, com fase estacionária de 5% SP-1000 em Supelcoport, para mostrar as diferenças existentes entre estes dois óleos. Verificou-se que, tanto na técnica da cromatografia em camada delgada quanto na cromatografia em fase gasosa, houve diferenças de comportamento destes dois óleos que permitem facilmente identificá-los. Na cromatografia em camada delgada houve diferença no número de manchas e, também, na intensidade de algumas. Na cromatografia em fase gasosa foram identificados picos e áreas diferentes dos componentes dos óleos essenciais.

DESCRITORES: óleos essenciais de limão siciliano (*Citrus limon* Burm) e de limão Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), análise; cromatografia em camada delgada; cromatografia em fase gasosa.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de frutos cítricos, sendo que quase toda a totalidade é exportada. Segundo a Carteira de Comércio Exterior do Banco do Brasil, em 1984, o suco de laranja, sozinho, arrecadou US\$ 1,225 bilhão¹.

Das cascas destes frutos cítricos obtêm-se os correspondentes óleos essenciais. São três os processos de extração: pela destilação a vapor, por expressão a frio e por abrasão da superfície da casca². No Brasil, o processo de extração por expressão a frio, conhecido como *cold pressed*, é o comumente utilizado.

Os óleos essenciais vêm tendo crescente uso como fontes de isolados e derivados aromá-

ticos. Leis recentes, no tocante às indústrias alimentícias, vêm incentivando o uso de substâncias naturais, como é o caso de óleos essenciais e corantes naturais. Seu uso é regulamentado, em nosso País, pelo Decreto-lei n.º 55.871, de 26 de março de 1965¹.

Graças às suas fragrâncias delicadas, persistentes e agradáveis, os óleos essenciais encontram grande aplicação nas indústrias de perfumaria e alimentos. Sendo estes óleos obtidos de produtos naturais, eles são misturas bastante complexas, constituídas principalmente de hidrocarbonetos monoterpênicos, derivados terpenóides oxigenados e sesquiterpênicos. Em aromas, é muito importante reconhecer que, mesmo quando um componente do aroma está presente em grande concentração, não é ele necessariamente o responsável pelo aroma e/ou odor do produto.

* Realizado na Seção de Aditivos e Resíduos de Pesticidas do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.
** Do Instituto Adolfo Lutz.

Este componente pode ser inodoro ou mesmo um realçador de odor⁵. Este fato ocorre com os óleos cítricos, onde os terpenóides oxigenados, que são constituintes menores, contribuem com maior intensidade no aroma e odor destes óleos².

Visando mostrar diferenças na composição entre os óleos essenciais de limão das variedades siciliano (*Citrus limon* Burm) e Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), independentemente de pequenas variações qualitativas e quantitativas que ocorrem quando os frutos são cultivados em diferentes condições, tais como clima, irrigação, natureza do solo, foram utilizadas duas técnicas cromatográficas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 18 amostras de óleo essencial de limão siciliano e 9 amostras de limão Tahiti, procedentes de diversas regiões do Estado de São Paulo, colhidas em diferentes épocas.

Método de cromatografia em camada delgada

Material

Aparelho para preparação de placas para cromatografia em camada delgada (c.c.d.)

Placas de vidro de 20 x 20 cm para c.c.d.

Cuba de vidro para c.c.d.

Câmara de luz ultravioleta (254 e 366 nm)

Microseringas

Reagentes

Sílica gel G (tipo 60)

Solvente (fase móvel): benzeno — acetato de etila — ácido acético glacial (90:10:1)

Revelador: ácido sulfúrico (1:1)

Procedimento — Agitar vigorosamente sílica gel com água, na proporção de 10 g para 20 ml, e aplicar esta solução nas placas de vidro, na espessura de 250 μ m. Secar ao ar em torno de 10 minutos e, depois, deixar durante 30 minutos em estufa a 105 °C. Retirar da estufa, resfriar e aplicar na placa alíquotas de 5 μ l das amostras de óleos essenciais de limão siciliano e Tahiti. Correr com o solvente até atingir aproximadamente 14 cm de altura da placa. Retirar da cuba e secar à temperatura ambiente na capela. Observar a placa inicialmente na câmara de luz ultravioleta, nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm, e depois pulverizar com o revelador. Ativar a 105 °C na estufa, por aproximadamente 10 minutos.

Método de cromatografia em fase gasosa

Equipamento

Cromatógrafo a gás (Varian 3700), com detetor de ionização de chama e coluna de vidro de 3,5 m por 1/4 de pol. (empacotada com 5% de polietileno glicol (SP-1000), em Supelcoport, 80 — 100 mesh, nas seguintes condições de operação:

Temperatura do detetor: 280 °C

Temperatura do injetor: 270 °C

Temperatura da coluna: inicialmente a 89 °C, por 5 min e, depois, a uma razão de 4 °C por min, até 250 °C

Gás de arraste: nitrogênio

Fluxo de gás: 88 ml/min

Volume injetado: 1 μ l

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que, tanto na técnica de cromatografia em camada delgada quanto na de cromatografia em fase gasosa, houve diferenças de comportamento dos dois óleos, que permitem facilmente identificá-los.

Na cromatografia em camada delgada há diferenças no número de manchas e também na intensidade de algumas, conforme a figura 1. Nesta figura observam-se as amostras de dois óleos desenvolvidos no solvente (fase móvel), sendo a detecção apenas pela visualização na câmara de luz ultravioleta. Foram detectadas 16 e 18 manchas respectivamente nos óleos de limão siciliano e Tahiti, cujos valores de R_f são vistos na tabela 1. As diferenças mais visíveis foram observadas da metade para baixo nas placas correspondentes provavelmente aos derivados oxigenados. As manchas mais distintas são as fluorescentes, com valores de R_f 0,52, 0,47 e 0,40. As outras manchas são praticamente iguais, variando apenas suas intensidades.

As placas, uma vez observadas na luz ultravioleta, foram pulverizadas com reagente químico e posteriormente ativadas (fig. 2). As diferenças entre os dois óleos também são bastante visíveis, indicando que as duas técnicas de revelação foram bastante úteis.

A constituição química genérica dos óleos essenciais de frutos cítricos compreende hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados (álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas) e hidrocarbonetos sesquiterpênicos, que podem ser visualizados nos cromatogramas obtidos dos óleos essenciais de limão siciliano e Tahiti, respectivamente representados nas figuras 3 e 4.

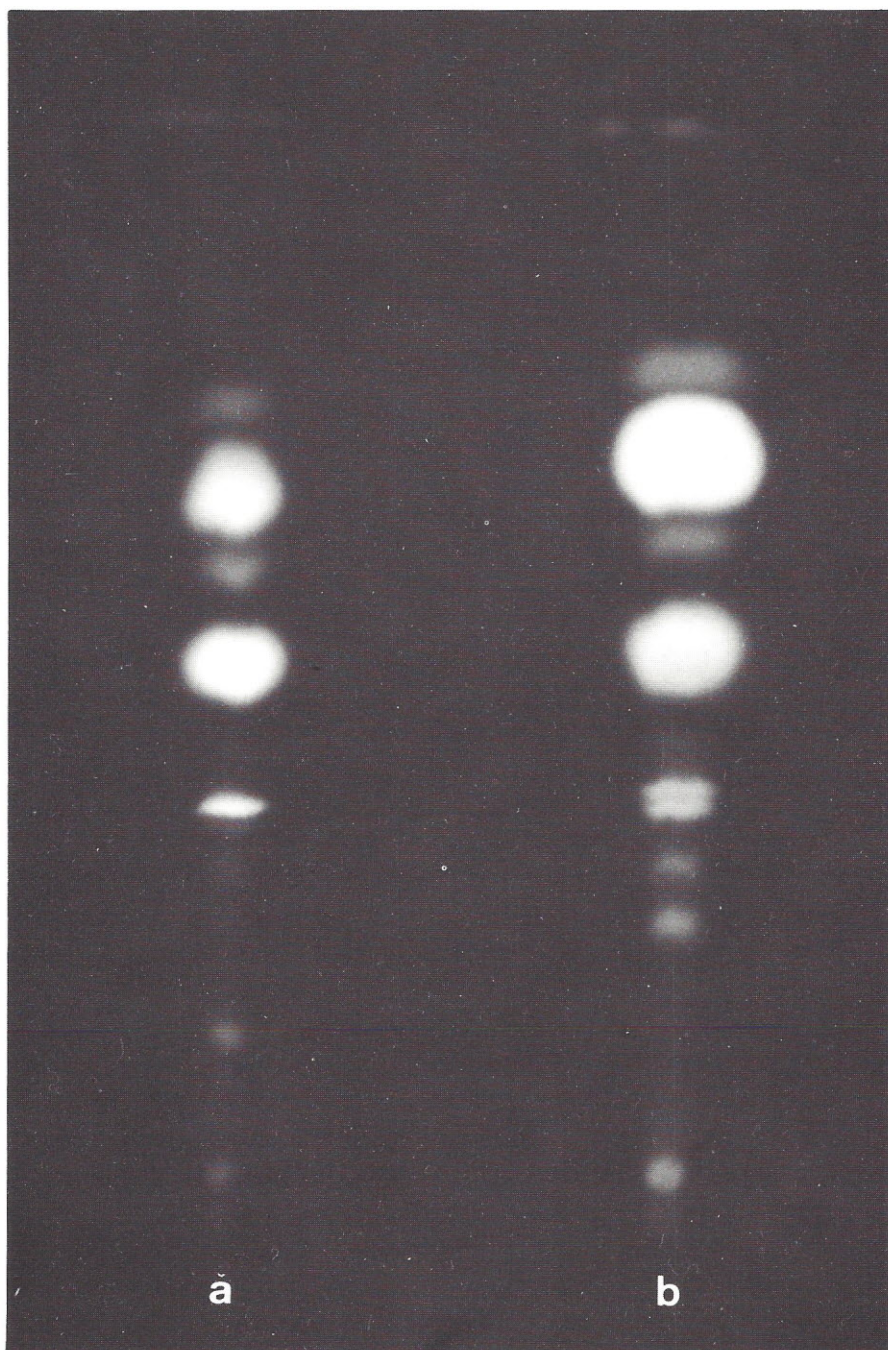


FIGURA 1 — Cromatogramas dos óleos essenciais de limão siciliano (a) e Tahiti (b), sob visualização na câmara de luz ultravioleta.

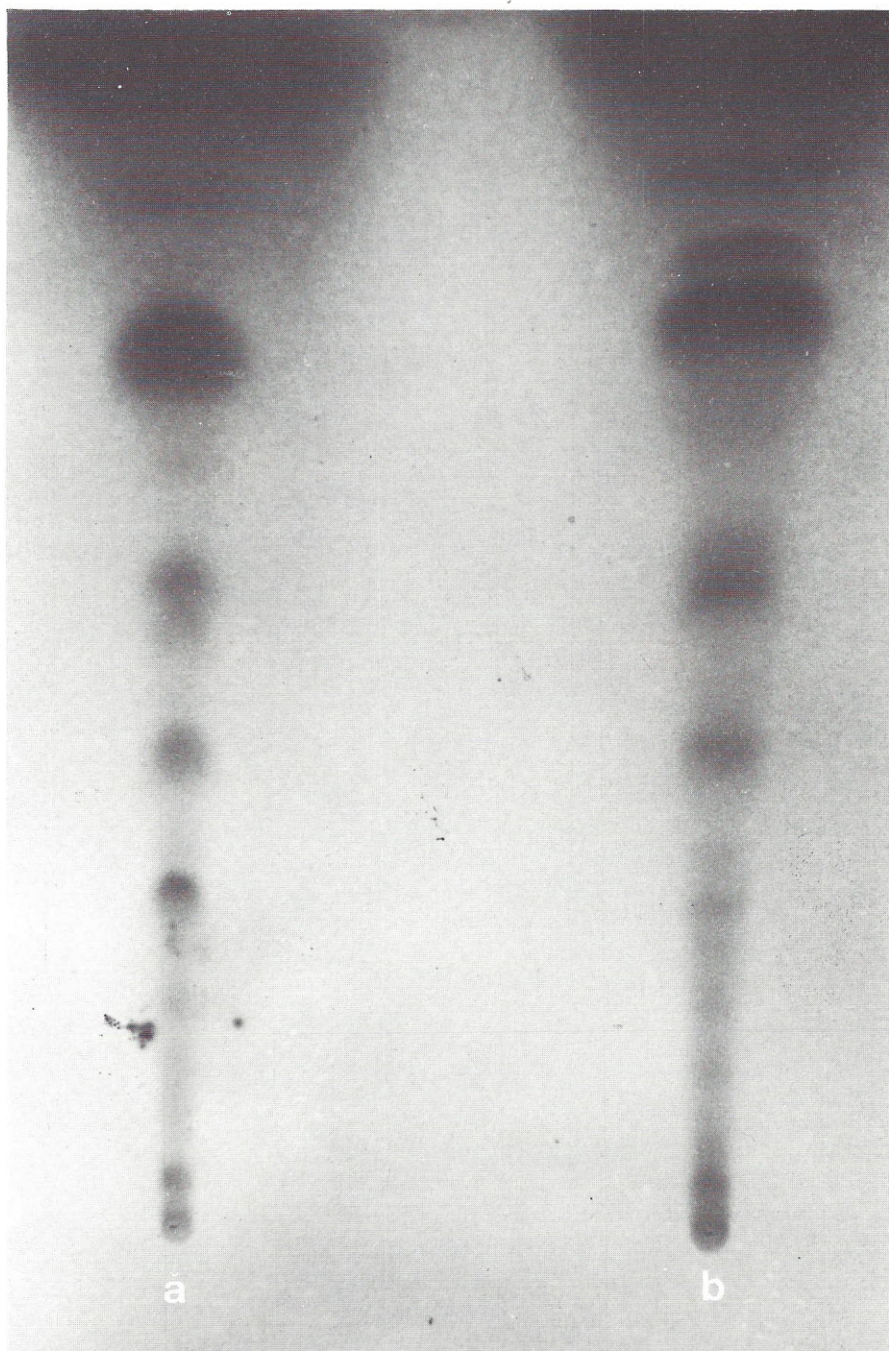


FIGURA 2 — Cromatogramas dos óleos essenciais de limão siciliano (a) e Tahiti (b), após pulverização com revelador.

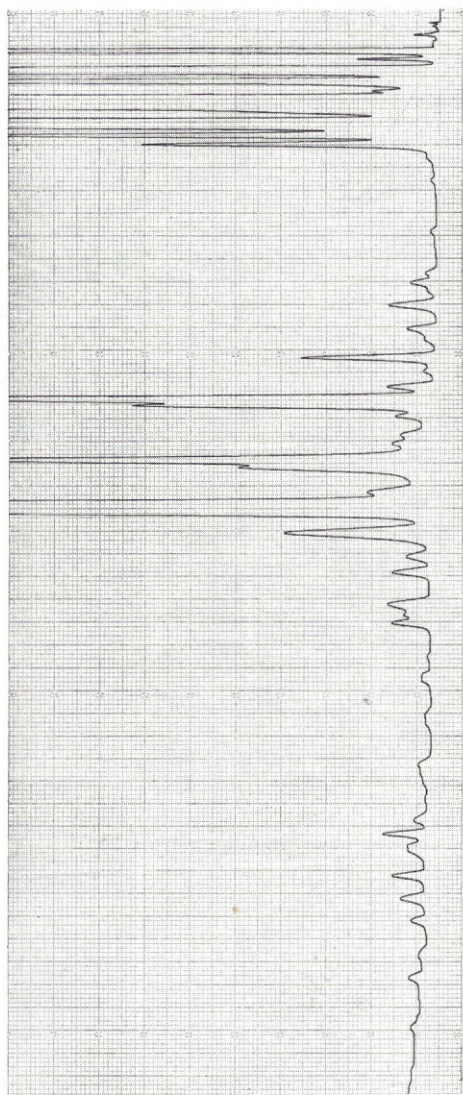


FIGURA 3 — Perfil cromatográfico do óleo essencial de limão Tahiti.

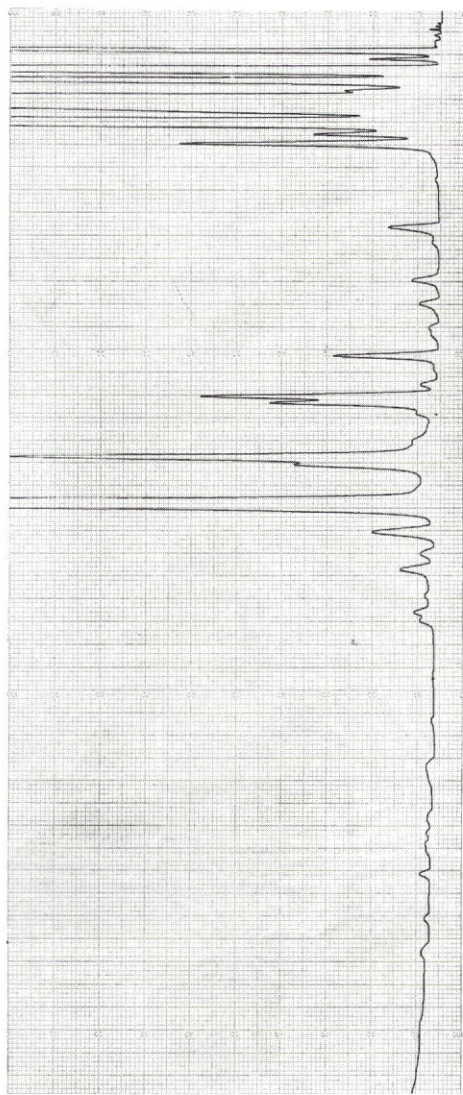


FIGURA 4 — Perfil cromatográfico do óleo essencial de limão siciliano.

TABELA

Valores de Rf das manchas dos óleos essenciais de limão siciliano e Tahiti

Manchas n.º	Valores de Rf x 100	
	Limão siciliano	Limão Tahiti
1	0	0
2	6	7
3	19	13
4	26	22
5	33	28
6	39	31
7	43	35
8	49	40
9	52	47
10	59	52
11	65	54
12	68	57
13	72	59
14	80	66
15	89	74
16	100	81
17	—	90
18	—	100

Os primeiros picos dos cromatogramas dos óleos essenciais de limão siciliano e Tahiti, obtidos nas condições acima citadas, diferem entre si apenas nas áreas e não nos picos dos diferentes componentes dos óleos. Portanto, bastante compatíveis com os resultados obtidos com as placas. As diferenças residem basicamente nos picos correspondentes aos derivados oxigenados e aos hidrocarbonetos sesquiterpênicos.

CONCLUSÃO

As duas técnicas utilizadas, cromatografia em camada delgada e cromatografia em fase gasosa, são bastante viáveis e úteis na iden-

tificação de óleos de limão siciliano e Tahiti. Estas técnicas possuem grande vantagem em relação às determinações físico-químicas, que são os parâmetros normalmente utilizados, pois necessitam apenas de pequenas quantidades de amostra, em torno de 1 a 5 μ l, além de serem mais rápidas.

Agradecimentos

A Ruth Ogawa, da firma Firmenich & Cia. Ltda., São Paulo, pelos cromatogramas traçados no cromatógrafo gasoso, e a Sérgio Viana, do Instituto Biológico de São Paulo, pela execução dos filmes.

RIALA6/608

YABIKU, H.Y. & LARA, W.H. — Chromatographic techniques for differentiation of essential oils of Sicilian lemon and Tahiti lemon. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):45-51, 1986.

ABSTRACT: Thin-layer chromatography and gas liquid chromatography were employed for qualitative and quantitative differentiation of essential oils from Tahiti and Sicilian types of lemon. TLC employed 20 x 20 cm glass plates which were coated with benzene — ethyl acetate — glacial acetic acid in the proportion 90:10:1. Detection was made through visual examination in an ultraviolet light chamber as well as through a chemical spray. GC used the flame ionization with stationary phase of 5% SP-1000 in Supelcoport for disclosing differences between the two oils. The behaviour of the oils allowed their easy differentiation. The TLC showed differences in the number of spots as well as in the intensity of some spots. GC identified peaks and different areas corresponding to components of the two essential oils.

DESCRIPTORS: essencial oils; Sicilian lemon (*Citrus limon* Burm) essential oils, analysis; Tahiti lemon (*Citrus latifolia* Tanaka) essential oil, analysis; thin-layer chromatography; gas-liquid chromatography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Leis, decretos etc. — Decreto n.º 55.871, de 26 de março de 1965. *Diário Oficial*, Brasília, 9 abr. 1965. Seção I, pt. I, p. 3610-22. Modifica o Decreto n.º 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto n.º 691, de 13 de março de 1962.
2. BURCHFIELD, H.P. & STORRS, E.E. — *Biochemical applications of gas chromatography*. New York, Academic press, 1962. p. 371-82.
3. GUENTHER, E. — *The essential oils*. New York, Van Nostrand, 1949. v. 3, p. 5-38.
4. NOGUEIRA, C.R. — Suco de laranja vai para os Estados Unidos. *Folha de S. Paulo*, São Paulo, 17 jan. 1985. p. 13.
5. SWAN, D.F.K. — Analysis of essential oils by capillary gas chromatography. *Analyst*, London, 110(4): I-II, 1984.

Recebido para publicação em 23 de janeiro de 1986.

