

DETERMINAÇÃO DOS COMPONENTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE LIMÃO SICILIANO POR CROMATOGRAFIA

AUTORES

COSTA, Lucas dos Santos

Discente do Curso de Engenharia de Alimentos- UNILAGO

BUENO, Silvia Messias

Docente do Curso de Engenharia de Alimentos- UNILAGO

RESUMO

O Óleo Essencial de Limão Siciliano é empregado nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, e de produtos de limpeza, para dar sabor a bebidas, produtos de padaria e confeitaria, água mineral, sorvetes, medicamentos, aromaterapia, cosméticos como sabonetes, perfumes e solventes de acordo com as características predominantes dos compostos presente em sua composição. Esse trabalho tem como foco determinar os principais compostos mais abundantes no óleo essencial de limão siciliano, extraído a frio pelo processo de centrifugação, através da cromatografia gasosa e a confirmação desses compostos pela cromatografia gasosa acoplada espectrômetro de massas. O estudo em questão mostra a predominância de terpenos como o D'Limoneno presente na composição, e outros compostos importantes para o desenvolvimento de fragrâncias como os aldeídos Neral e Geranial e Sesquiterpenos como Bisaboleno.

PALAVRAS - CHAVE

Óleo Essencial, Cromatografia, Limão Siciliano

1. INTRODUÇÃO

A produção comercial de limão iniciou-se na Itália e, por muitos anos, foi umas das principais produtoras mundiais. No final da década de 1970, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos publicou uma lista contendo mais de 60 países produtores desta espécie. Entre estes, Estados Unidos, Itália, Argentina, Espanha e Turquia representavam mais de 60% da produção mundial (PANCCIONI, 2015).

No Brasil, em 2006, a produção de limão teve valor de produção aproximadamente de R\$ 372 milhões ou seja, uma cultura que antes não era considerada como negócio lucrativo, hoje é fonte de renda de muitos produtores rurais. A quantidade de limão exportada pelo Brasil no período 1998 a 2007 cresceu 2.431%, atingindo a marca de 58.250 toneladas. No ranking de exportações brasileiras de frutas em 2007, quanto ao valor de exportação, o limão ficou em sexto lugar atrás de uva, melão, manga, maçã e banana (IEA, 2008).

Quando o fruto é pressionado durante a extração e sua casca é arranhada pelos copos da extratora as glândulas esfericamente formadas que se encontram na casca, são raspadas e rompidas pela superfície rugosa do interior dos copos das extratoras, liberando um óleo que é arrastado por um spray de água, formando uma emulsão de água-óleo. Filtra-se a emulsão para a retenção de fragmentos maiores de casca e menores denominados bagacilhos. Finalmente direciona-se ao processo de separação nas centrífugas, que se divide em três etapas: Concentração (5000RPM), Clarificação e Polimento (entre 6000 a 7000 RPM) (YAMANAKA, 2005).

O Óleo essencial tem maior aplicação nas indústrias alimentícias e farmacêutica. Podem ser usados para dar sabor a bebidas, produtos para padaria e confeitaria, água mineral, sorvetes e outros alimentos, e na fabricação de medicamentos e cosméticos, como sabonetes e perfumes. Há também uso como agentes mascaradores em muitos alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos, incluindo aromaterapia. Também utilizado para mascarar o gosto desagradável de medicamentos. São usadas ainda pelas indústrias de produtos de limpeza (TITA, 2011).

Nos óleos essenciais de frutas cítricas, os hidrocarbonetos constituem a fração majoritária. Entre eles o Limoneno é o mais abundante. A Tabela 1 mostra os principais compostos do óleo essencial, bem como a classe química a qual pertence (AMADOR, 1992).

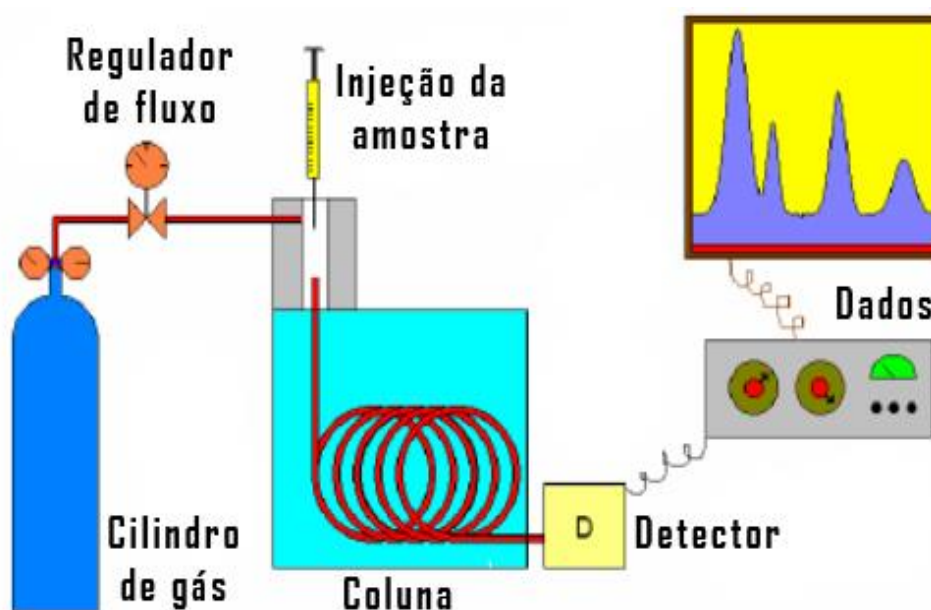
A cromatografia gasosa é muito utilizada em diversas áreas dentre elas, nas indústrias alimentícias e farmacêutica para a extração de óleo essencial, por ser muito versátil e separar e quantificar diversas substâncias, além de ser capaz de identificar algumas delas, podendo também ser associada a espectrofotometria de Massa proporcionando melhores resultados. A cromatografia gasosa é uma técnica para separação e análise de misturas de substâncias voláteis que possuem ponto de fusão até 300°C, desde que sejam termoestáveis, através da introdução do material gasoso na fase estacionária que pode ser sólida ou líquida pouco volátil e posteriormente análise de cada substância separada pela coluna cromatográfica (ISSUFO, 2012).

Tabela 1- Principais compostos dos óleos essenciais cítricos.

COMPONENTES	CLASSE QUÍMICA
α -Thujeno	Hidrorcarbonetos Terpênicos
α -Pino	
β -Pino	
Campheno	
Sabineno	
Mirceno	
Limoneno	
δ -Terpineno	
Citronelal	Aldeídos
Neral	
Geranial	
Octanal	
Nonanal	
Decanal	Álcoois
δ -Terpineol	
Linalol	
Citronelol	
Geraniol	Ésteres
Acetato de Nerila	
Acetato de Geranila	Sesquiterpenos
β -Bisaboleno	
β -Cariofileno	
α -Bergamoteno	

Fonte: AMADOR, 1992.

Figura 1- Esquema do Processo de Cromatografia Gasosa.



Fonte: ISSUFO, 2009.

O trabalho tem como objetivo determinar os principais compostos presentes no Óleo Essencial de Limão Siciliano através de métodos analíticos de alta resolução como a Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa acoplada com Espectro de Massas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados para esse experimento foram:

- Acetonitrila;
- Bequer;
- Coluna HP-1;
- Coluna HP-5;
- Conta-Gotas;
- Cromatografo Gasoso Agilent 7820A;
- Cromatografo Gasoso Agilent 7890B;
- Espectro de Massas 5977B;
- Filtro para Seringa de 15mm e 0,20µm;
- Óleo Essencial de Limão Siciliano;
- Seringa Hipodérmica, Estéril e Atoxica;
- Seringa 10µL, para Cromatografo Gasoso (Agilent);
- Vial;

Para injeção do Óleo Essencial de Limão Siciliano no Cromatógrafo Gasoso, filtrou-se o óleo com filtro seringa 0,20µm para eliminação de cera e seguiram-se as seguintes configurações cromatográficas:

Quadro 1- Condições Cromatograficas para o Cromatografo de Gases.

Parâmetro	Valor / Atributo
Temperatura da Coluna	40°C
Temperatura de Injeção	200°C
Modo	Split (1:100)
Pressão	4.8 psi
Fluxo Total	76.379 mL/min
Fluxo da Coluna	0.76 mL/min
Velocidade Linear	23.354 cm/s
Rampa de Aquecimento	Manter 40°C por 3 min; Aumentar 4°C/min; Atingir 190°C e manter por 20 min
Tempo de Corrida	60 min
Coluna Cromatográfica	HP-1

Para injeção do Óleo Essencial de Limão Siciliano no Cromatógrafo Gasoso acoplado com Espectrômetro de Massas, filtrou-se o óleo com filtro seringa 0,20µm para eliminação de cera, dilui-se com acetonitrila na proporção de 8mg/mL, e seguiram-se as seguintes configurações cromatográficas:

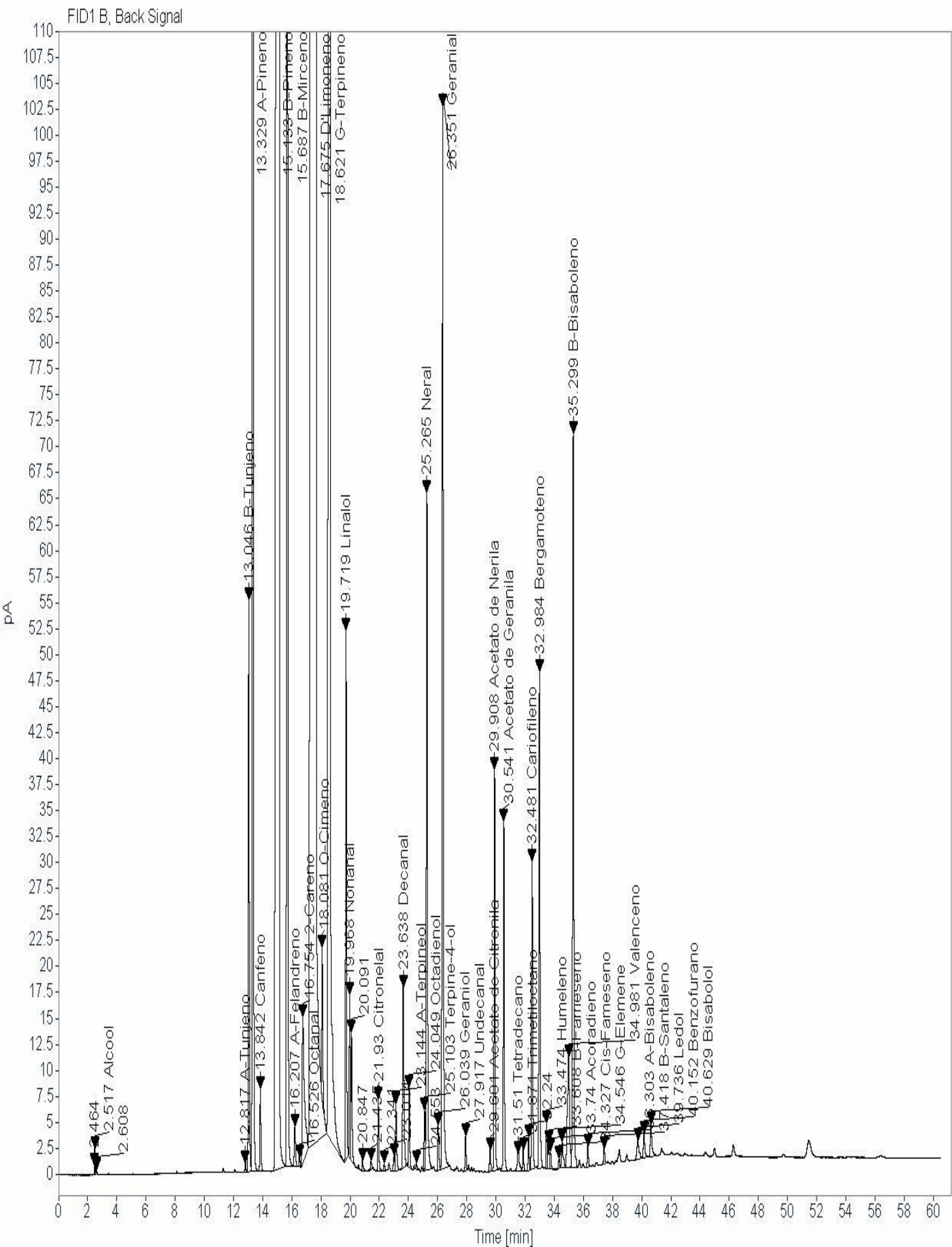
Quadro 2- Condições Cromatograficas para o Cromatografo de Gases acoplado Espetômetro de Massas.

Parâmetro	Valor / Atributo
Temperatura da Coluna	40°C
Temperatura de Injeção	250°C
Modo	Split (1:100)
Pressão	87.3 kPa
Fluxo Total	160.9 mL/min
Fluxo da Coluna	1.56 mL/min
Velocidade Linear	45 cm/s
Rampa de Aquecimento	Manter 40°C por 3 min; Aumentar 2°C/min; Atingir 180°C e manter por 10 min
Tempo de Corrida	83 min
Vazão de Purga	3 mL/min
Coluna Cromatográfica	HP-5
Espctômetro de Massas	
Temp. Fonte de Ionização	150°C
Ionização	Ionização Eletrônica
Temperatura da Interface	250°C
Corte do Solvente	2 min
Aquisição	Scan
Enventime	0.5 s
Velocidade do Scan	1250 uma/seg
Faixa de Massa Início	m/z=40
Faixa de Massa Fim	m/z=600

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método utilizado foi o de Normalização, onde a área de cada pico é obtida de uma série de injeções de réplicas de uma mistura contendo quantidades iguais ou conhecidas de todos os componentes. O D'Limoneno, por ser mais abundante foi escolhido como referência, e as respostas relativas dos outros componentes, foram determinadas pela razão entre as suas áreas e a do componente de referencia (D'Limoneno), escolheu-se esse método, por ser economicamente mais viável em comparação aos outros métodos como Padrão Interno e Padrão Externo, e também por consequentemente, a utilização do Espectrômetro de Massas e Biblioteca NIST do Software de quantificação Agilent MassHunter Qualitative Analysis. Segue abaixo resultados obtidos através dos Cromatogramas:

Figura 2. Cromatograma da amostra de Óleo Essencial de Limão Siciliano



RT [min]	Type	Width [min]	Area	Height	Area%	Name
2.517	VV R	0.0351	5.8257	2.4230	0.0090	Etanol
2.608	VB E	0.0225	0.3941	0.2779	0.0006	
12.817	BV	0.0690	3.9206	0.8633	0.0061	A-Tunjeno
13.046	VV	0.0712	250.6489	54.9937	0.3881	B-Tunjeno
13.329	VB	0.0693	1186.2177	264.7286	1.8367	A-Pineno
13.842	BB	0.0728	38.5640	7.9192	0.0597	Canfeno
15.133	BB	0.1020	9088.2910	1218.2002	14.0722	B-Pineno
15.687	BB	0.0747	1024.8408	207.3380	1.5868	B-Mirceno
16.207	BB	0.0942	23.9427	3.8688	0.0371	A-Felandreno
16.526	BB	0.0809	5.2905	1.0304	0.0082	Octanal
16.754	BB	0.1545	149.2769	14.1034	0.2311	2-Careno
17.675	BV R	0.1802	43930.5273	2976.1013	68.0213	D'Limoneno
18.081	VB E	0.0748	70.2379	14.6913	0.1088	O-Cimeno
18.621	BB	0.0943	5717.0332	886.0650	8.8522	G-Terpineno
19.719	BB	0.0700	231.2499	50.8924	0.3581	Linalol
19.968	BV	0.0706	70.8006	15.6891	0.1096	Nonanal
21.930	BB	0.0758	34.5005	6.9583	0.0534	Citronelal
23.144	VB	0.0887	37.7521	6.4147	0.0585	A-Terpineol
23.638	BB	0.0946	107.9256	17.3416	0.1671	Decanal
24.049	BB	0.0742	36.5012	7.7081	0.0565	Octadienol
25.103	BV E	0.0763	28.0553	5.7150	0.0434	Terpine-4-ol
25.265	VB R	0.0848	361.8551	65.1195	0.5603	Neral
26.039	BV	0.0864	25.0499	4.4024	0.0388	Geraniol
26.351	VB	0.0852	570.9192	102.2248	0.8840	Geranial
27.917	BB	0.0752	16.5189	3.3670	0.0256	Undecanal
29.601	BB	0.0870	11.4132	2.0492	0.0177	Acetato de Citronila
29.908	BB	0.0745	186.7052	38.5569	0.2891	Acetato de Nerila
30.541	BB	0.0774	168.5465	33.6782	0.2610	Acetato de Geranila
31.510	BV	0.1478	19.5641	1.7581	0.0303	Tetradecano
31.871	VB	0.0753	9.9179	2.0543	0.0154	Trimetiloctano
32.481	VB	0.0854	163.4000	29.5972	0.2530	Cariofileno
32.984	BB	0.0804	251.5852	47.8288	0.3896	Bergamoteno
33.474	BV	0.0755	21.5453	4.3736	0.0334	Humeleno
33.608	VV	0.0963	15.9465	2.5026	0.0247	B-Fameseno
33.740	VB	0.0838	9.6347	1.7339	0.0149	Acoradieno
34.327	BB	0.0773	4.6707	0.9503	0.0072	Cis-Fameseno
34.546	BV	0.1034	17.8550	2.4404	0.0276	G-Elemene

Figura 3. Espectro do Terpeno encontrado no óleo essencial:

Name: D-Limonene

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 Exact Mass: 136.1252 CAS#: 5989-27-5 NIST#: 365767 ID#: 8354 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, HODOC, EINECS, IRDB

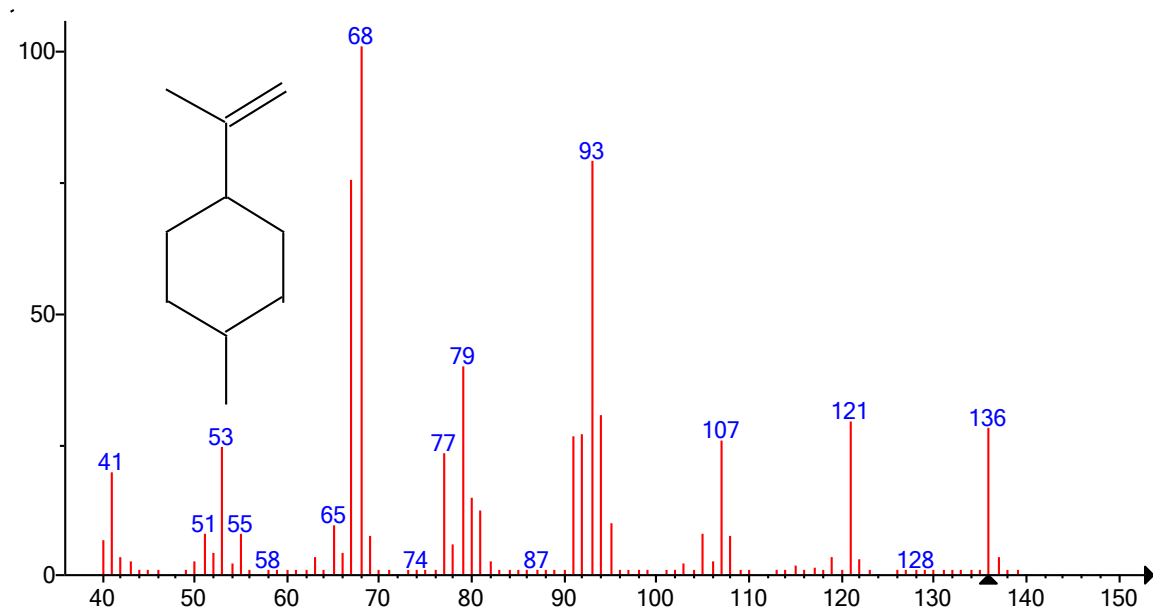
Contributor: J.V. Goodpaster, Purdue University, Indianapolis USA

Related CAS#: 7705-13-7; 95327-98-3

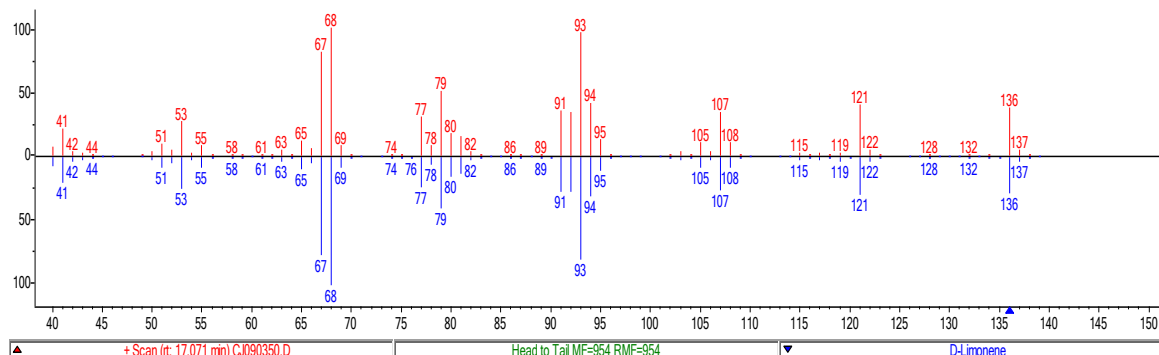
InChIKey: XMGQYMWWDQXJHM-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

10 largest peaks:

68999		93783		67746		79391		94300	
121		286		136		276		92 264	
91		259		107		252			



(replib) D-Limonene



+ Scan (rt: 17.071 min) C:\090350.D

Head to Tail MF=954 RMF=954

D-Limonene

Figura 4. Espectro do Aldeído encontrado no óleo essencial

Name: Neral, β -Citral

Formula: $C_{10}H_{16}O$

MW: 152 Exact Mass: 152.120115 CAS#: 106-26-3 NIST#: 290609 ID#: 1162 DB: replib

Other DBs: TSCA, HODOC, EINECS

Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center, 1998.

InChIKey: WTEVQBCEXWBHNA-JXMROGBWSA-N Non-stereo

10 largest peaks:

41	99	69	829	393	09	94	253	109	237
84	220	67	201	53	188	95	184	83	168

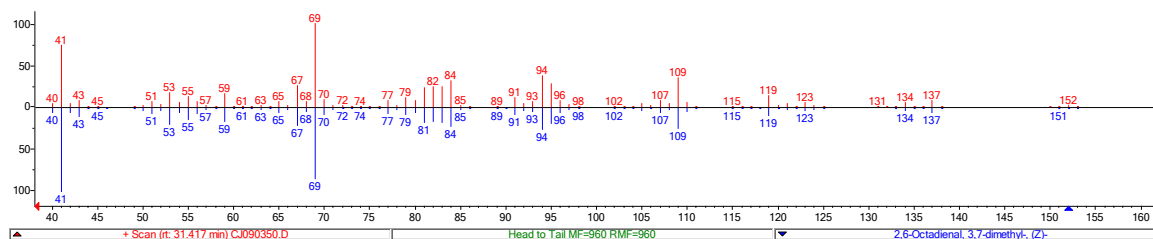
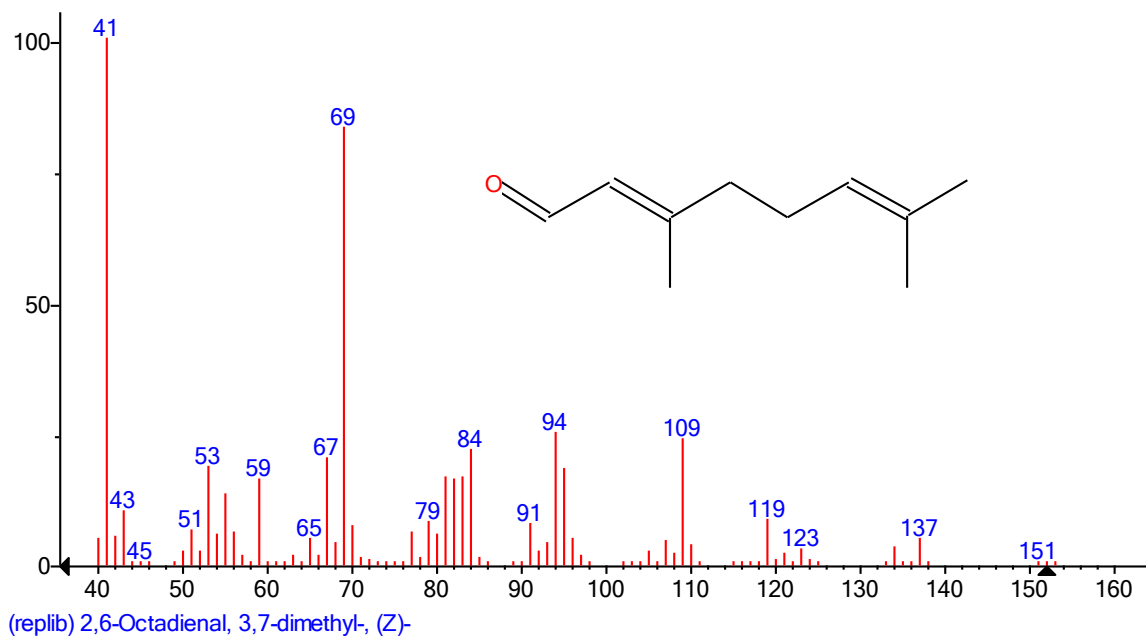


Figura 5. Espectro do Álcool encontrado no óleo essencial

Name: Linalool

Formula: C₁₀H₁₈O

MW: 154 Exact Mass: 154.135765 CAS#: 78-70-6 NIST#: 352637 ID#: 39161 DB: mainlib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, NIH, EINECS, IRDB

Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center

Related CAS#: 11024-20-7; 22564-99-4

InChIKey: CDOSHBSSFJOMGT-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

10 largest peaks:

71999	93760	55637	43598	41564
69426	80321	121	232	67206
39	179			

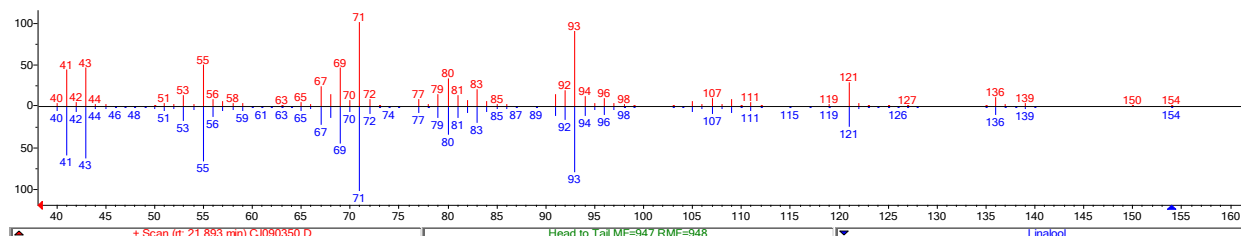
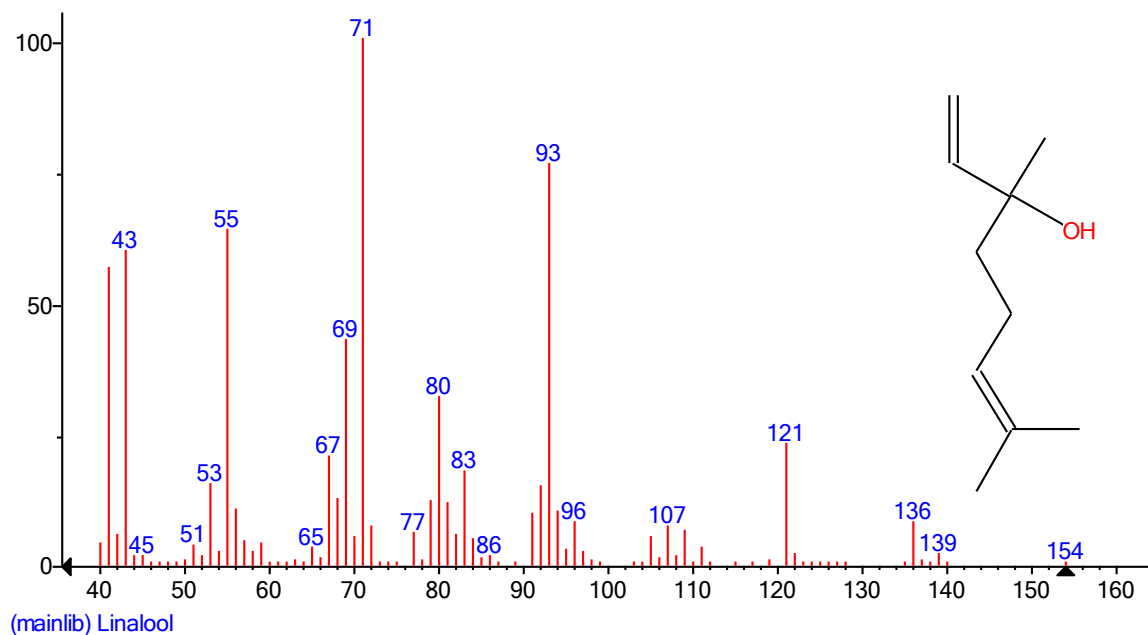


Figura 6. Espectro do Sesquiterpeno encontrado no óleo essencial

Name: β -Bisabolene

Formula: $C_{15}H_{24}$

MW: 204 Exact Mass: 204.1878 CAS#: 495-61-4 NIST#: 412943 ID#: 8537 DB: replib

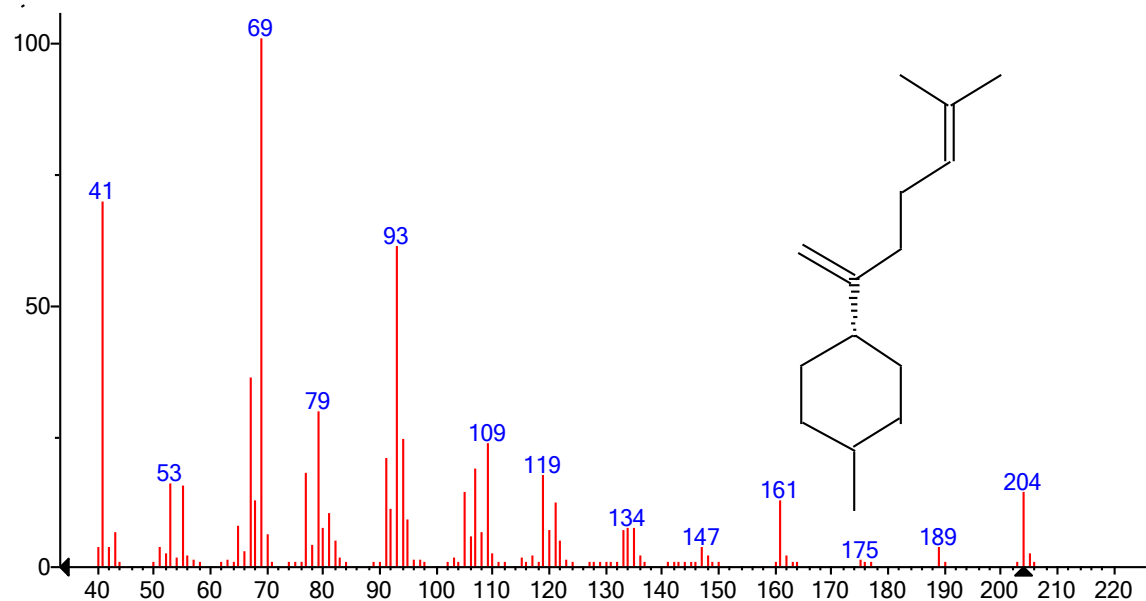
Other DBs: HODOC

Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center

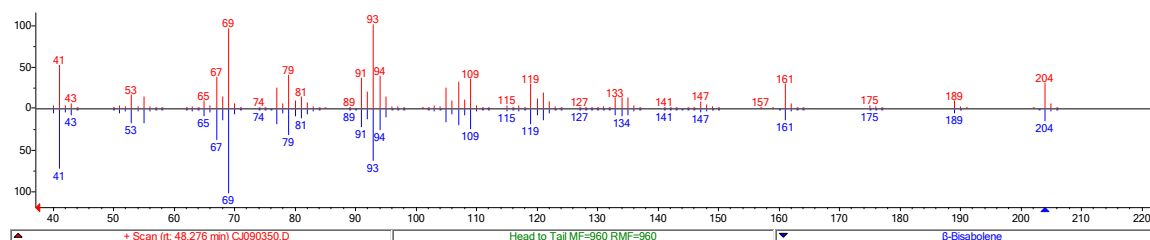
InChIKey: XZRVRYFILCSYSP-OAHLLOKOSA-N Non-stereo

10 largest peaks:

69999 | 41689 | 93604 | 67355 | 79291 |
94237 | 109 230 | 91 201 | 107 184 | 77 174 |



(replib) β -Bisabolene



A amostra de óleo essencial analisada, forneceu resultados satisfatórios e suficientes para se traçar e identificar o perfil cromatografico e de concentração desses compostos através da % de área.

Os componentes identificados correspondem a 96% de Hidrocarbonetos Terpênicos, 2% de Aldeídos, 0,5% de Alcoois e 1% de Sesquiterpenos.

4. CONCLUSÃO

Através dos resultados apresentados concluiu-se que a análise por Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa acoplada Espectrometro de Massas, mostraram a possibilidade de classificar e identificar todos os compostos presentes no óleo essencial de limão siciliano, onde foram encontrados hidrocarbonetos Terpênicos, aldeídos, alcoois e sesquiterpenos. Há a predominância de terpenos como o D'Limoneno presente na composição, e outros compostos importantes para o desenvolvimento de fragrâncias como os aldeídos Neral e Geranial e Sesquiterpenos como Bisaboleno.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADOR, J. R.; **Estudo cromatográfico dos Principais componentes de Óleos Essenciais de Frutas Cítricas**. USP. Departamento de Química e Física Molecular.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA (IEA); **O Mercado de Lima Ácida Tahiti**. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=9661>. Acesso em: 10/09/2017.

ISSUFO, C.H.N.; **Introdução à cromatografia**. Métodos Cromatográficos. Bio Medicina Brasil. Outubro 2012. Disponível em: <http://www.biomedicinabrasil.com/2012/10/metodos-cromatograficos.html>. Acesso em: 20/09/2017.

PANCCIONI, T. M.; **Caracterização dos sintomas de HLB e da infecção por *Candidatus Liberibacter asiaticus* em limão verdadeiro**. FUNDECITRUS, 2015.

TITA, M. L.; **Identificação dos Componentes dos Óleos Essenciais e Proposição de Procedimentos Industriais para a Obtenção de Produtos Diferenciados**. UFSCAR, 2011.

YAMANAKA, H. T.; **Sucos Cítricos**. São Paulo: CETESB 2005. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/Tecnologia/producao_limpa/documentos/sucos_citricos. Acesso em: 20/09/2017.