

# ANÁLISE DE ÓLEOS ESSENCIAIS POR CROMATOGRAFIA A GÁS ULTRA-RÁPIDA (ULTRA FAST GC) \*

## Resumo

Três óleos essenciais, de complexidades analíticas diferentes, foram analisados por cromatografia a gás ultra-rápida, com tempos de análise ao redor de 1 minuto. A cromatografia a gás ultra-rápida combina o emprego de colunas capilares *narrow bore* (0,1 mm d.i.) curtas, com programações de temperatura muito rápidas. Estas condições cromatográficas resultam em picos com larguras entre 50-200 milissegundos e tempos de análise de 1 a 2 minutos ou até menores. As programações de temperatura muito rápidas são conseguidas pelo aquecimento resistivo direto da coluna capilar.

O sistema de cromatografia a gás ultra-rápida empregado neste trabalho contém um módulo composto por uma coluna capilar *narrow bore* curta, uma resistência elétrica e um sensor de temperatura. Este módulo é conectado ao injetor e ao detector do cromatógrafo a gás, como uma coluna capilar convencional. A precisão do controle de temperatura da coluna garante excelente repetibilidade dos tempos de retenção (desvios padrão consideravelmente menores do que as larguras dos picos) permitindo a identificação inequívoca e automática dos componentes das amostras.

Os resultados apresentados neste trabalho demonstram a equivalência entre os dados obtidos através das cromatografias convencional e ultra-rápida, com a vantagem adicional de redução no tempo de análise de até 40 vezes, alcançada pela cromatografia ultra-rápida na análise de óleos essenciais.

**Palavras-chave:** cromatografia a gás ultra-rápida, redução do tempo de análise, aquecimento resistivo direto, óleos essenciais

*Riccardo Facchetti e*

*Andrea Cadoppi*

Thermo Electron Corporation,  
Milão (Itália)

Correspondência para:  
Nova Analítica Imp. Exp. Ltda.  
R. Assungui, 432  
CEP 04131-000  
São Paulo, SP  
Fone (11) 2162-8080  
E-mail:  
analitica@novanalitica.com.br

## Summary

The application of ultra fast gas chromatography to the analysis of essential oils is presented and discussed. Ultra fast GC combines the use of short narrow bore columns with very fast temperature programming rates producing chromatographic peaks in the range of 50-200 milliseconds and permitting separations in 1-2 minutes or less. The very fast temperature programming rates are achieved by a direct resistive heating system of the capillary column. The ultra fast GC system used in this work utilizes a column module containing the capillary column, the heating element, and the temperature sensor. The module is housed in the GC oven and connected to the injector and detector, just as any conventional capillary column.

The precision of the column module's temperature control ensures excellent repeatability of retention times (SD considerably lower than peak widths) allowing therefore fully automated unambiguous identification of components.

The results show an excellent agreement with those obtained using conventional GC methods, yet with up to a 40-fold speed increase.

**Key words:** ultra fast GC, reduction in analysis time, direct resistive heating, essential oils.

## Introdução

Diferentes definições para cromatografia a gás rápida (*fast GC*) e ultra-rápida (*ultra fast GC*) foram propostas na literatura (1-3). Neste trabalho consideramos ultra-rápida a cromatografia

a gás realizada com o emprego de colunas capilares *narrow bore* curtas (2-10m x 0,1mm d.i.) e velocidades de aquecimento da coluna superiores a 1°C/s. Estas condições cromatográficas levam



**Figura 1.** Módulo UltraFast GC instalado no cromatógrafo a gás TRACE GC Ultra

a larguras de pico entre 50 e 200ms e tempos de análise ao redor de 1-2 minutos. A cromatografia a gás realizada nestas condições pode ser considerada “ultra fast” quando comparada à “fast GC”, que normalmente alcança separações em 5-10 minutos, com picos de larguras entre 0,5 e 1 segundo.

Separções cromatográficas ultra-rápidas são obtidas com o emprego de aquecimento resistivo direto da coluna capilar, capaz de velocidades de aquecimento tão altas quanto 20°C/s, muito superiores às velocidades de aquecimento máximas alcançáveis por fornos convencionais com circulação de ar.

De modo geral, a cromatografia a gás ultra-rápida pode ser empregada em todas as aplicações da cromatografia capilar, sendo especialmente interessante nos casos em que a amostra contém componentes com pontos de ebulição muito diferentes.

Óleos essenciais são constituídos principalmente por terpenos e seus derivados oxigenados. São empregados na indústria de fragrâncias, farmacêutica e na aromaterapia, que é o uso controlado dos óleos essenciais para proporcionar bem-estar físico e psicológico. Esses óleos são normalmente obtidos por destilação com arraste de vapor ou por hidrodestilação de diferentes partes das plantas, incluindo flores, folhas, sementes, raízes, tronco, casca e madeira.

O óleo de uma mesma planta, mas de fornecedores diferentes, pode apresentar grandes variações de composição, dependendo das condições e técnicas de cultivo da planta e de extração do óleo. Por esta razão, a caracterização dos óleos essenciais através de análises químicas é uma etapa fundamental no seu emprego, executada tanto por pesquisadores quanto por laboratórios de controle da qualidade.

A análise de óleos essenciais por GC e GC-MS convencionais emprega colunas capilares com 25 a 30m de comprimento, velocidades de aquecimento do forno ao redor de 3 a 5°C/min e tem duração de 30 a 60 minutos.

Este trabalho apresenta um método alternativo de análise de óleos essenciais que emprega um módulo Ultra Fast GC, que

alcança velocidades de aquecimento de centenas de graus por minuto. O resultado é uma redução no tempo de análise de óleos essenciais de até 40 vezes, com grande repetibilidade e exatidão, como usualmente necessário nesta área. Os resultados apresentados neste trabalho e a comparação com os resultados obtidos através de análises convencionais comprovam que a produtividade nas análises de óleos essenciais pode ser significativamente aumentada, de maneira confiável.

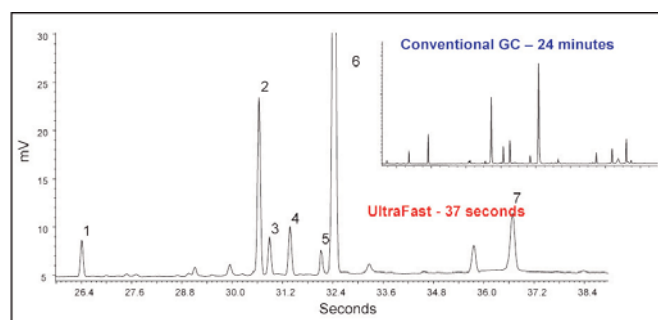
Uma avaliação exaustiva da análise de óleos essenciais por cromatografia ultra-rápida foi apresentada por Bicchí *et al.* (4).

## Parte Experimental

### Instrumentação

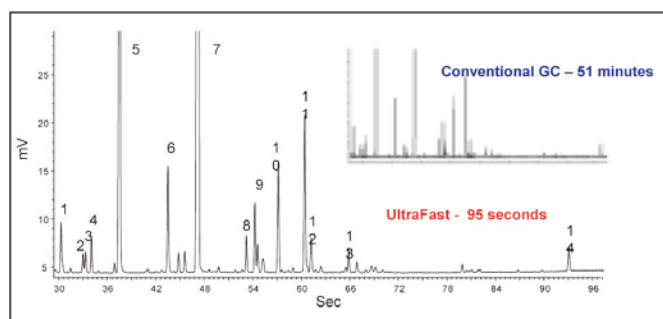
As análises por cromatografia a gás ultra-rápida foram realizadas com um cromatógrafo a gás TRACE GC Ultra (Thermo Electron Co.) configurado com injetor split/splitless, módulo UltraFast GC (contendo coluna analítica, resistência elétrica e sensor de temperatura) e detector de ionização de chama rápida (*Fast FID*) com constante de tempo igual a 6ms e frequências de aquisição de até 300Hz. Esta alta velocidade de aquisição de dados é necessária para a integração correta (15-20 pontos/pico) dos picos extremamente finos, típicos da cromatografia ultra-rápida (largura de pico na meia altura, aproximadamente 100ms).

Esta configuração do cromatógrafo permite velocidades muito altas de aquecimento (até 1200°C/min) e resfriamento de 350°C a 50°C em cerca de 1 minuto, enquanto que, nos cromatógrafos convencionais, este resfriamento pode demorar cerca de 4 minutos. O módulo UltraFast GC tem sua coluna capilar conectada ao injetor split/splitless e ao detector FID, como uma coluna capilar convencional.



1	trans- $\alpha$ -Farnesene
2	Bisabolol oxide B
3	$\alpha$ -Bisabolol
4	$\alpha$ -Bisabolone oxide A
5	Chamazulene
6	Bisabolol oxide A
7	Spiroether

**Figura 2.** Comparação entre os cromatogramas do óleo essencial de camomila obtido por cromatografia ultra-rápida e convencional, com coluna OV1701



1	Myrcene
2	cis- $\beta$ -Ocimene
3	Limonene
4	trans- $\beta$ -Ocimene
5	Linalool
6	A-Terpineol
7	Linalyl acetate
8	Neryl acetate
9	Geranyl acetate
10	$\beta$ -Caryophyllene
11	Germacrene D
12	Bicyclogermacrene
13	Geraniol
14	Sclareol

**Figura 3.** Comparação entre os cromatogramas do óleo essencial de sálvia obtidos por cromatografia ultra-rápida e convencional, com coluna SE54

As análises por cromatografia a gás convencional foram realizadas com o mesmo cromatógrafo a gás TRACE GC Ultra (Thermo Electron Co.), com a substituição do módulo UltraFast GC por colunas capilares convencionais.

As injeções das amostras foram feitas com o injetor automático AS3000 (Thermo Electron Co.), para garantir a máxima repetibilidade na injeção.

### Condições de análise e resultados obtidos

Os óleos essenciais de camomila, hortelã pimenta e sálvia foram analisados por cromatografia a gás ultra-rápida e cromatografia a gás convencional. Cada óleo essencial foi diluído em ciclohexano na proporção 1:200 e 1 $\mu$ L de cada solução foi injetada no modo split. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas constantes e iguais a 230°C e 280°C, respectivamente.

Nas análises por cromatografia a gás ultra-rápida foram empregadas colunas capilares com 5m de comprimento, 0,1mm de diâmetro interno e espessura do filme igual a 0,1mm.

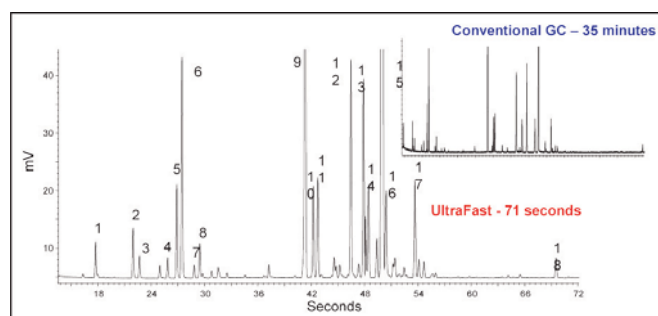
Nas análises cromatográficas convencionais foram empregadas colunas com 25m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno, espessura do filme igual a 0,3mm e velocidades de aquecimento entre 3 e 5°C/min.

## Óleo essencial de camomila

Conhecido por sua eficiência como auxiliar nos tratamentos de insônia e ansiedade, o óleo essencial de camomila é caracterizado por sete sesquiterpenos cujas quantidades variam em função da qualidade e origem do óleo essencial.

A separação crítica dos picos de óxido de a-bisaboleno A e a-bisabolol foi alcançada no menor tempo de análise, com a fase estacionária altamente seletiva OV1701.

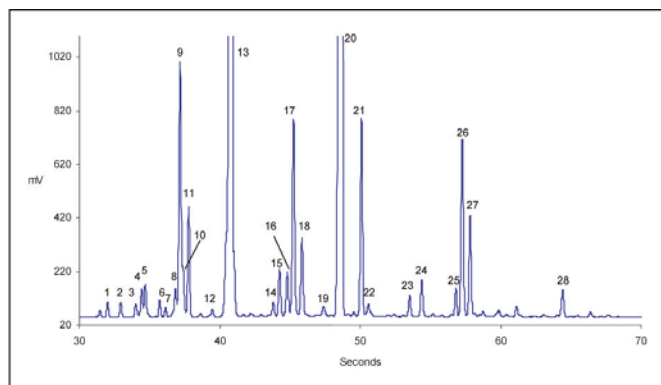
A cromatografia a gás ultra-rápida foi realizada com vazão do gás de arraste hidrogênio constante e igual a 0,7mL/min, split de 1:300 e programação linear de temperatura de 50°C a 250°C com velocidade de aquecimento igual a 500°C/min. A Figura 2 apresenta os cromatogramas obtidos para o óleo essencial de camomila nos



**Figura 4.** Comparação entre os cromatogramas do óleo essencial de hortelã pimenta obtidos por cromatografia ultra-rápida e convencional, com coluna CarboWax

		Área %	
		Cromatografia ultra-rápida	Cromatografia convencional
1	$\alpha$ -Pinene	0.96	0.94
2	$\beta$ -Pinene	1.37	1.41
3	Sabinene	0.62	0.64
4	Myrcene	0.35	0.39
5	p-Cymene	0.56	0.58
6	Limonane	2.58	2.47
7	1,8 Cineole	6.19	6.07
8	$\gamma$ -Terpinene	1.02	0.94
9	Menthone	14.18	14.21
10	Menthofurane	2.56	2.44
11	i-Menthone	2.59	2.57
12	Methyl acetate	5.69	5.74
13	Neomenthol	5.88	5.95
14	$\beta$ -Cariophyllene	2.34	2.39
15	Menthol	47.26	47.49
16	Pulegone	2.58	2.54
17	Germacrene D	2.69	2.64
18	Viridiflorol	0.56	0.58

**Tabela 1.** Resultados das análises do óleo essencial de pimenta hortelã, expressos como porcentagem em área



**Figura 5. Cromatograma do óleo essencial de Lavanda obtido por cromatografia ultra-rápida**

modos ultra-rápido (37 segundos) e convencional (24 minutos). A redução no tempo de análise alcançada pela cromatografia ultra-rápida foi de aproximadamente 40 vezes.

### Óleo essencial de sálvia

Conhecido como um auxiliar natural no tratamento das dores, o óleo essencial de sálvia apresenta complexidade analítica média e sua composição pode variar grandemente dependendo de sua origem.

O óleo essencial de sálvia analisado neste trabalho pertence a família química linalol/acetato de linalila e é caracterizado por 30 componentes de volatilidades diferentes. Foram empregadas colunas capilares com fase estacionária apolar SE54.

A cromatografia a gás ultra-rápida foi realizada com vazão do gás de arraste hidrogênio constante e igual a 0,5mL/min, split de 1:300 e programação linear de temperatura de 50°C (0,1 min) a 250°C em 150°C/min.

Na Figura 3 são apresentados os cromatogramas obtidos por cromatografia convencional e ultra-rápida. O último componente nos cromatogramas é o diterpeno esclareol, que requer até 51 minutos para eluir na cromatografia convencional contra 1,5 minutos na cromatografia ultra-rápida, ou seja, uma redução de 30 vezes no tempo de análise.

### Óleo essencial de hortelã pimenta

Empregado como auxiliar nos tratamentos de dores de cabeça e distúrbios digestivos, o óleo essencial de hortelã pimenta apresenta média complexidade analítica e é caracterizado por cerca de 30 mono e sesquiterpenos. As concentrações de alguns deles (ex. pulegona e mentofurano) são legalmente controladas devido sua toxicidade.

Este óleo é normalmente analisado com a fase polar CarboWax, uma vez que fases apolares não são suficientemente seletivas para a separação completa de alguns componentes.

A cromatografia a gás ultra-rápida foi realizada com vazão do gás de arraste hidrogênio constante e igual a 0,8mL/min, razão de divisão 1:300 e programação linear de temperatura de 50°C a 250°C a 500°C/min.

Na Figura 4 são apresentados os cromatogramas obtidos por cromatografia ultra-rápida (71 segundos) e convencional (35 minutos). Neste exemplo, a redução no tempo de análise alcançada pela cromatografia ultra-rápida foi de aproximadamente 30 vezes.

Na tabela 1 são apresentados os resultados, como porcentagem em área, obtidos nas análises do óleo essencial de pimenta hortelã por cromatografia ultra-rápida e convencional. É evidente a proximidade entre os resultados obtidos através dos dois modos de cromatografia a gás.

### Teste de repetibilidade

A repetibilidade do sistema de cromatografia ultra-rápida empregado foi avaliada através de dez injeções consecutivas do óleo essencial de lavanda, em uma coluna OV5. A vazão do gás de arraste hidrogênio foi mantida constante em 0,5 mL/min com split igual a 1:200 e programação de temperatura de 50°C a 300°C a 180°C/min.

Na Figura 5 é apresentado um cromatograma típico do óleo essencial de lavanda e na Tabela 2 são apresentados os resultados do teste de repetibilidade. Os desvios padrão dos tempos de retenção, bastante inferiores às larguras dos picos, levam à identificação inequívoca dos componentes do óleo essencial.

## Conclusões

A cromatografia a gás ultra-rápida, aplicada à análise qualitativa e quantitativa de óleos essenciais de diferentes complexidades analíticas, apresentou redução no tempo de análise de 30 a 40 vezes, mantendo a precisão e exatidão da cromatografia convencional.

Os exemplos apresentados neste trabalho mostram que é possível compensar a perda de eficiência, resultante do emprego de colunas curtas com altas velocidades de aquecimento, pela escolha de fases estacionárias com seletividade adequada à separação mais crítica na amostra.

O sistema de cromatografia a gás ultra-rápida empregado neste trabalho demonstrou-se adequado à análise das amostras reais de óleos essenciais que, devido à ampla faixa de volatilidade de seus componentes, são representativas dos problemas rotineiros de separação encontrados nesta área analítica.

## Referências

1. Blumberg LM, Klee MS, **Proceedings of 20th International Symposium of Capillary Chromatography**, PL09, Riva del Garda, Italy, May 26-29, ed. P. Sandra, 1998.
2. Magni P, Facchetti R, Cavagnino D, Trestianu S, **Proceedings of 25th International Symposium of Capillary Chromatography**, KNL05, Riva del Garda, Italy, May 13-17, ed. P. Sandra, 2002.
3. Hinshaw JV, **LCGC**, 19 (2), 170-177, 2001.
4. Bicchi C, Brunelli C, Cordero C, Rubiolo P, Galli M, Sironi A, **J.Chromatogr.**, 1024, 195-207, 2004.