

# PERFUMES DE ORQUÍDEAS

## Parte II

### ANÁLISE POR GC-MS.

A.V. Pinto\*

#### ABSTRACT:

A synopsis of the GC-MS methodology was described. Special attention was given to the analysis of perfumes on orchids. Flower odor analyses are treated as an especially dedicated method to attend orchidology studies, considering the peculiarity and specificity of this topic to science and perfume industry.

**D**E PRESENÇA UNIVERSAL, os odores fazem parte de um segmento dos mais complexos nas ciências naturais.

Na indústria, os odores se constituem em uma vertente das mais lucrativas, fruto de uma política mercadológica contundente e de tecnologias avançadas.

Em particular, nas ciências naturais, os odores vegetais são importantes variáveis em estudos ecológicos, fisiológicos e na botânica, entre outros tópicos da fenomenologia biológica. Bem mais recente, sucedâneos medicinais fundados em emoções sensoriais provocadas pelos odores, como os florais de Bach e a Aromaterapia, a que são atribuídos efeitos curativos. Práticas de muita aceitação popular e em ex-

pansão em todo mundo.

Na indústria e no comércio, os insumos odoríferos emanam lucros.

O panorama atual do manejo industrial de odores em muito sobrepõe o tradicional preparo de perfumes e de materiais de uso ao toucador. Hoje, novas tecnologias e pesquisas químicas superaram a antiga prática extrativista de odores de origem vegetal.

Até a primeira metade do século XIX, o paradigma técnico das indústrias foi o extrativismo de princípios ativos de vegetais, disponíveis em abundância, nas condições de fornecê-los na escala material necessária à demanda do consumo. A partir desta época, com o nascimento da química orgânica, esta ciência proporcionou uma reviravolta na tradicional indústria de perfumes. Foi o início do estabelecimento de métodos laboratoriais preparativos, o que provocou uma política de substituição de essências de origem vegetal por substâncias sintéticas dotadas de odores próprios, gerando novas matérias de uso em perfumaria, sem, entretanto causar prejuízos na qualidade do produto final. De modo contumaz, instalou-se uma compulsão aos "cheiros", que leva os químicos de perfumes a inalarem as substâncias que lhes vêm às mãos, à procura de conspícuos odo-



res ativos. Diversas “famílias” de materiais sintéticos odoríferos são assim selecionadas para uso prático industrial.

Progressivamente, desde então, a indústria odorífera utiliza-se da química orgânica, empregando técnicas que superam em muito o empírico extrativismo de vegetais, cuja origem no mundo ocidental remonta à alquimia medieval. A troca por alternativas sintéticas mais avançadas, de muito maior eficiência técnica, econômica e material, foi um marco na trajetória ascensional da perfumaria competitiva moderna.

Entretanto, só a partir do primeiro quarto do presente século é que se deu a maior taxa de prosperidade no uso de materiais sintéticos. O emprego racional e sistemático em perfumaria de um elevado e diversificado acúmulo de conhecimentos sobre sínteses químicas ocasionou este ascensional impulso. A partir desta época, a indústria de odores passou maciçamente a utilizar-se da química orgânica, adotando-a como ferramenta fundamental de trabalho.

Atualmente, as indústrias odoríferas já dispõem de um arquivo seleto não só de princípios isolados de plantas, mas, em muito maior número, de substâncias sintéticas dotadas de odores, de pronto uso na feitura de essências artificiais. Um segmento da química orgânica voltada à olfação - a química dos odores - já se estabeleceu como área autônoma da ciência moderna, inclusive empregando teorias apodícticas próprias.

Hoje, mais de mil e quinhem-

tas substâncias odoríferas básicas, selecionadas pelas indústrias odoríferas modernas, são utilizadas, em variadas combinações, na formulação de receituários práticos (Kaiser, 2000). Entre várias substâncias clássicas produzidas pela indústria, destaca-se, entre as mais comuns, a vanilina, flavorizante conhecido como aroma vanila (ou baunilha); o mentol, que caracteriza a menta; a cânfora sintética, ingrediente muito comum de perfumes; o citral, componente do capim limão, muito usado em perfumaria; os terpenos e ésteres, de amplo uso em produtos odoríferos; as iononas, que mimetizam fragrâncias de flores ou frutas; os pentadecanolídeos, substâncias macrocíclicas conhecidas como almíscares e que confere aos perfumes pungente penetração e um longo tempo de atuação; os álcoois fenilético e citronílico, muito usados em perfumaria em geral, muito apreciados por conferirem aromas de rosas; a vetivona (capim cheiroso), usada em perfumes fortes; o éter metílico do cresol, que lembra o aroma de cravo; o aldeído octílico, que confere aromas cítricos; a metilacetofenona, aroma de violetas; o acetato de bornila, usado em águas de toalete; etc. Todo um rol de nomes incomuns, mas que tecnicamente designam insumos de grande valor comercial (Amoore, 1982; Trindade & Deus, 1988 e Kaiser, 1993).

De consenso comum, uma coisa ainda parecia faltar neste contexto de prosperidade. Até os anos cinquenta do presente século, ape-





sar do grande arsenal de sintéticos a serviço da perfumaria, sentia-se que há na natureza uma vastíssima fonte de perfumes e de estímulos odoríferos fora do alcance prático industrial. Até então, o devaneio sentir de ocasionais e furtivos perfumes florais, de raras e singulares espécies, não passava de um elo perdido na corrente da percepção olfativa da humanidade.

Não sem motivos, desde tempos imemoriais o uso geral de quaisquer odores para fins comerciais teve fatores quantitativos e qualitativos restritivos, principalmente devido às dificuldades em capturá-los em larga escala material. Para uma idéia dos problemas materiais do extrativismo convencional, basta dizer que são necessários de 3 a 5 toneladas de flores de rosas para produzir cerca de um quilo de extrato odorífero. No caso de jasmims, uma tonelada de flores/quilo de extrato. Sob um ponto de vista econômico, estes níveis excluem grande parte de materiais vegetais desta prática tradicional (Kaiser, 1993).

Outro grande fator restritivo associado ao uso do extrativismo vegetal em geral decorre das dificuldades de se obter aromas vegetais sob um controle eficaz da qualidade, principalmente quando destinados à feitura de produtos de padronização rigorosa, como são os perfumes. Isto decorre de perdas aleatórias de princípios ativos durante a extração de vegetais odoríferos por técnicas tradicionais, ocasionadas pelos tratamentos químicos ou tér-

micos um pouco drásticos que são empregados.

Estes fatores limitavam ou excluíaam de todo o uso à industrialização o universo de aromas aliciantes que se sente na exuberante família das orquídeas, (Kaiser, 2000).

Felizmente, o acesso a este mundo de odores peculiares, raros e ocasionalíssimos, foi finalmente conseguido. Na segunda metade do nosso século, com o apoio dos avanços da tecnologia científica instrumental moderna, uma inovadora revolução no estudo da composição de emanações naturais trouxe o progresso que possibilitou a industrialização do grande manancial de “cheiros” naturais agradáveis. A decifração do “código secreto” das fórmulas das essências naturais foi a principal alavanca desta mudança.

Hoje, há a possibilidade técnica de se decifrar e, por conseguinte, de se reproduzir em laboratório, com elevado grau de confiabilidade e eficiência, a composição química de emanações naturais, seja de florais, de frutos odoríferos, ou de outro qualquer órgão vegetal emissor de odores. A descoberta das fórmulas de perfumes naturais veio possibilitar a feitura de perfumes similares sintéticos, que imitam à perfeição os seus congêneres *in natura*. De modo irrestrito, esta nova *praxis* proporcionada pela química analítica moderna colocou a pesquisa científica a serviço da moderna indústria de odores (Bicchi & Joulain, 1990).

A modelagem sintética de matrizes odoríferas em laboratório via-



bilizou uma racional estratégia comercial voltada ao desenvolvimento de infindáveis receituários, cujos buquês atingem elevado grau de paridade às agradabilíssimas e refinadas fragrâncias naturais. Pode-se dizer que a química conferiu ao homem o capricho de imitar a obra do Criador, ao produzir odores sintéticos comparáveis, no íntimo, aos ares da vida vegetal. Os perfumes sintéticos possibilitaram a recriação de pequenas jóias selvagens nos lazers domiciliares. Atualmente, há uma alucinante corrida aos perfumes naturais, que em nada deve à do ouro de épocas passadas.

Entretanto, não foi só a perfumaria a única beneficiada com esta nova pesquisa de receituários à base de odores vegetais sintéticos, mas mil e uma aplicações, por exemplo, na adoção de aromas miméticos e similares em alimentos, em desodorização e a criação de buquês ambientais artificiais, entre outras aplicações em geral. De repente, não mais que de repente, o mundo tornou-se um atávico éden de aromas.

A possibilidade de se poder determinar a composição de odores naturais singulares, deve-se à metodologia conhecida como Gas Chromatography - Mass Spectrometry<sup>(1)</sup>, ou simplesmente, GC-MS<sup>(2)</sup>.

O método GC-MS fornece uma ferramenta das mais simples, poderosa e completa, na resolução simultânea de problemas analíticos envolvendo a separação e a determinação da identidade química de

constituintes em misturas. Esta nova metodologia é a pedra de toque que possibilita desvendar os segredos arquivados da composição de odores naturais. Sem estas análises fica impossível de recriar os odores naturais *in totum*.

Uma maior elaboração teórica desta metodologia foge ao escopo da presente resenha, mas pode-se dizer que os princípios físico-químicos que a constitui foram estabelecidos ao longo do segundo e terceiro quadriênios do século XX. Hoje, esta metodologia é um capítulo avançado da velha química analítica fundada no século XVIII por Lavoisier (Bicchi & Joulain, 1990).

#### O MÉTODO CG-MS

Historicamente, a origem do atual estado da arte da metodologia CG-MS remonta à segunda metade do século XVIII, quando foi fundada a química analítica moderna. Nessa época, uma grande reviravolta ocorreu na alquimia, quando Lavoisier, um aristocrata da corte de Luiz XVI, introduziu nas práticas da alquimia o uso criterioso de medidas ponderais, empregando pela primeira vez a balança de pesagens como utensílio laboratorial.

Depois de Lavoisier, ficou patente que o conhecimento da composição do mundo material representa os alicerces do saber científico, que por isso desbancou a velha alquimia do seu trono medieval.

Atualmente, de uso diversificado, a GC-MS, veio revolucionar os estudos sobre emanações naturais, determinando com grande pre-





cisão a composição de ingredientes de odores. Descritivamente, compõe-se do acoplamento de duas diferentes técnicas da química analítica, a GC e a MS, porém consensuais quando empregadas em conjunto para formar a metodologia GC-MS.

Em atuações isoladas, a técnica GC, (Gas Chromatography)<sup>(3)</sup>, de forma precípua, possibilita a análise de misturas gasosas, ou muito voláteis sob determinadas temperaturas, permitindo a separação de misturas em seus componentes, etapa imprescindível para a revelação da composição de materiais. Em uma analogia pictórica, esta técnica separa, entre si, os diversos componentes de uma mistura, tal como ocorre com a luz branca do sol nas ocasiões em que se decompõe ao caleidoscópio de cores primárias do arco-íris, ao trespassar minúsculas gotas de chuva.

Outra grande vantagem prática desta técnica é o uso mínimo de amostras para análises, da ordem ínfima de 10 micrograma de material, grosso modo, a quantidade de perfume exalado por uma única flor de orquídea no espaço de uma hora. Anteriormente, diminuta escala material escapava da sensibilidade dos antigos instrumentos até então usados para análise. No século XX, a cromatografia alcançou o sucesso que a balança teve no século XVIII.

A segunda técnica, Mass Spectrometry<sup>(4)</sup>, MS, possibilita o cálculo da estrutura molecular de uma substância desconhecida, deter-

minando não só o seu peso molecular, como também a composição atômica. A MS, semelhante à GC, faz uso de pequeníssimas quantidades de amostras para análise. Hoje, as duas são técnicas corriqueiras em laboratórios de química.

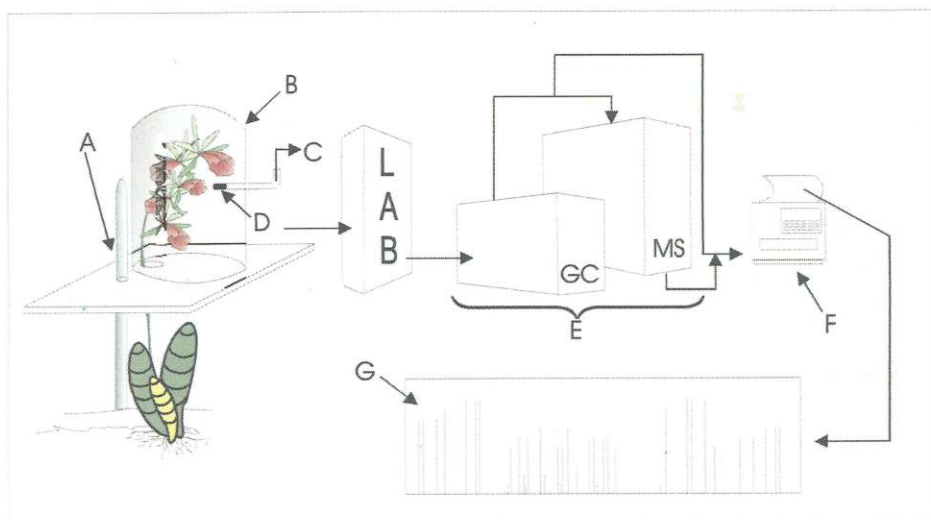
Facilitado pela moderna computação, o acoplamento metódico e sincronizado destas duas técnicas configura uma só arquitetura instrumental, o GC-MS, onde o grande poder de separação da cromatografia gasosa se associa à qualidade de se poder determinar a estrutura molecular pela espectrometria de massas. A combinação espaço-temporal destas técnicas permite determinar a composição de um perfume floral, em rápida e eficiente análise.

Operacionalmente, numa primeira etapa o bloco responsável pela cromatografia (o cromatógrafo) separa individualmente os diversos componentes de uma mistura, que escalonados no tempo vão a seguir à unidade da espectrometria de massas (o espectrômetro de massas) para identificação molecular de cada um deles (Holman & Heimermann, 1973).

A metodologia GC-MS é de desenvolvimento recente, pioneiramente aplicada no estudo da composição da fumaça de cigarros (Grob, 1964).

Em seus desdobramentos, os resultados separadamente obtidos pelas técnicas GC e MS confluem a um módulo computacional, onde são totalizados em conjunto. O resultado final da análise dos perfumes é





**FIGURA-1: Fluxograma da Análise do Perfume Floral de uma Orquídea por GC-MS, (fora de escala).**

A: Haste e plataforma. B: Invólucro retentor de perfumes. Outros tipos podem ser usados com a mesma finalidade. C: Um pequeno tubo, por onde se faz ligeira sucção externa para obrigar o ar perfumado, retido em B, a passar pelo seu interior. D: filtro absorvente, semelhante aos filtros de cigarros, que retêm por sucção os perfumes do "orto-espaço" floral\* (espaço incubado, próximo da inflorescência). Após a retenção dos perfumes, o filtro segue para um laboratório, LAB, onde processos químicos seletivos recuperam-no do absorvente. O minúsculo sumo obtido -o perfume concentrado- é conduzido ao aparelho GC-MS (E), e injetado no módulo GC, para separação dos componentes. Os componentes são separados, e cada um que sai (em tempos diferentes) do módulo GC, segue isoladamente ao módulo MS para a determinação da estrutura química. Os resultados destes dois módulos são convergidos no sistema computacional F, resultando no registro G, o Olfatograma, que simboliza o perfil do perfume analisado; na ordenada (vertical), a percentagem do componente no perfume e na abscissa (horizontal), a sua identidade molecular. Cada linha representa uma substância (componente) diferente e a sua altura, a percentagem no perfume floral. A espécie do desenho, representa uma *Catasobrana*, um cruzamento livre feito pelo desenhista, híbrido hipotético entre um *Catasetum* com uma *Sobralia*. Salvo engano, uma planta virtual, porém inédita nos jardins da orquidofilia universal. A Figura-2 mostra um aparelho GC-MS em tamanho real, da marca Shimadzu.

\*Neologismo para o termo técnico inglês, headspace. A análise aqui mostrada é conhecida por dynamic headspace analysis. Sugere-se que em português seja: análise dinâmica do orto-espaço.



um registro único, em coordenadas cartesianas bidimensionais, onde a abscissa (eixo horizontal) identifica quimicamente os componentes e a ordenada (eixo vertical), as suas respectivas percentagens no perfume. O registro completo da análise da composição de odores fornece um bloco de linhas, conhecido como o perfil da fragrância. Em analogia, este registro um pouco lembra o código de barras do comércio, usados para qualificar mercadorias. O químico suíço Kaiser (1993), cunhou o termo Olfatograma para o registro da análise de perfumes feitas por GC-MS, um formato gráfico próprio, característico de um determinado perfume natural. Ver item G, **Figura 1** (pag 19).

Nos tempos modernos, da mesma forma que se pode fixar a morfologia policromática das flores pela fotografia, já se pode “retratar” em papel os perfumes de uma flor pelo registro olfatográfico. Inequivocamente, ambos registros representam marcas ligadas univocamente à identidade genética de uma espécie botânica.

Apesar de recente, o método GC-MS é muito difundido em vários ciclos da atividade humana, quan-

do se faz necessário à determinação analítica de materiais. Pioneiramente foi empregado no estudo da composição da fumaça de cigarros (Grob, 1964). O método é utilíssimo para a determinação de amostras na faixa de traços em locais inacessíveis ou inóspitos ao contato humano direto. Entre outras aplicações,

atua como ferramenta de análise em pesquisas espaciais, na determinação de traços materiais em ambientes extraterrestres. No planeta Terra, inúmeras e distintas atividades fazem uso do GC-MS: em medicina ortomolecular; na análise ambiental; em estudos sobre poluição de modo geral; em análises

clínicas; na análise de alimentos; em perícias criminais; em ecologia e na moderna biologia, como recurso na compreensão de diversos fenômenos relativos à exalação de odores. Pouco a pouco, o exótico e inebriante ambiente da vida natural perde encantos nas mãos da ciência moderna.

Um fluxograma pictórico da coleta e análise de perfumes de uma floração é mostrado na **Figura 1**. De modo geral, uma determinada inflorescência é recoberta por um envólucro, que retém os perfumes no



“na análise dos perfumes de *labiata*, trinta e um diferentes componentes foram quimicamente identificados, restando ainda vinte e seis outros desconhecidos, presentes em baixíssimos teores na mistura.”



seu inferior. O ar perfumado retido é continuamente arrastado, por uma fraca sucção externa, por dentro de um pequeno tubo contendo um adsorvente, geralmente um filtro contendo um adsorvente muito eficiente, por exemplo, carvão em pó ativado, que concentra os perfumes exalados pelas flores, por gradual captura ao longo do tempo. A coleta de perfumes pode inclusive ser aplicado em plantas no habitat. Em próxima etapa, o filtro contendo os perfumes retidos por adsorção é levado a um laboratório, onde processos químicos seletivos e amenos retiram o perfume apreendido, recuperando-o sob a forma de um sumo residual, que representa o concentrado do perfume exalado pela inflorescência analisada. O sumo fragrância, geralmente na faixa de 1-100 microgramas<sup>(5)</sup>, vai diretamente para análise na unidade GC-MS. (Ler texto da **Figura 1**).

Até recentemente, ao nosso conhecimento, cerca de 300 espécies de orquídeas odorescentes foram analisadas por GC-MS nos laboratórios da indústria suíça Givaudan-Roure Research Ltd, entre um total de 750 diferentes espécies de famílias diversas. (Kaiser, 2000). Estes números relativos sopesam o grande interesse que hoje se tem no manancial odorífero da família das orquídeas, de forte potencial industrial. Não há dúvidas de que o número de orquídeas estudadas seria muito maior, caso fossem dados a público os resultados de outras indústrias perfumistas espalhados pelo mundo, mas ainda secretos.

Entretanto, convém ressaltar que a análise pelo método GC-MS tem um limite de sensibilidade, abaixo do qual é impossível de determinar a identidade de componentes minoritários. Por exemplo, na análise dos perfumes da *Cattleya labiata*, trinta e um diferentes componentes foram quimicamente identificados, restando ainda vinte e seis outros desconhecidos, presentes em baixíssimos teores na mistura (<0,1%), (Kaiser, 1993).

O mesmo panorama se pode observar na análise de outras espécies odorescentes, quando quase sempre restam componentes minoritários não identificados. A seguir, apresentamos algumas espécies estudadas pelo grupo da Givaudan Roure, mostrando, entre parênteses, um número que indica a quantidade de componentes odoríferos já determinados em cada caso<sup>(6)</sup>: *Brassavola digbyana* (24); *Catasetum viridiflavum* (32); *Cattleya araguaiensis* (28); *C. leopoldii* (35); *C. schilleriana* (19); *Constantia cipoensis* (28); *Coryanthes mastersiana* (6); *Dendrobium cariniferum* (42); *Laelia autumnalis* (41); *Neofinetia falcata* (51); *Miltonia spectabilis* (26); *Phalaenopsis violacea* Malaia (42); *P. violacea* Borneu (12); *Vanda tessellata* (24); *Zygopetalum crinitum* (39).

Os exemplos acima são alguns dos estudados pela citada firma suíça (Kaiser, 2000). O grande número de componentes do perfume espelha o panorama de complexidade em que se compraz o fugaz buquê floral de uma orquídea.





Hoje, discute-se sobre a utilidade dos perfumes das espécies como indicador de auxílio à taxonomia vegetal. Expressivamente, constata-se que o fenômeno da variabilidade das espécies também se manifesta em seus perfumes. A orquídea *Phalaenopsis violacea*, por exemplo, tem perfumes distintos, que depende da região geográfica da planta de origem. No gênero *Cattleya*, diversas plantas de tipos diferentes, apresentam perfumes tão dispare, impossibilitando a delimitação do gênero pelos seus odores. Ao estudar plantas do gênero *Gongora*, Dodson, Hills & Williams (1968), encontraram 18 plantas botanicamente classificadas como *G. quinquenervis*, porém todas, de modo inusitado, possuem diferentes perfumes. Este grupo foi, tentativamente, definido como variedades químicas, ou odoríferas. Estes autores também constataram que cada gongora atrai um distinto polinizador. Nilsson também observou que espécies geográficas distintas de *Cypripedium calceolus* mostram perfumes e polinizadores conspícuos (Nilsson, 1992).

Contudo, os perfumes foram úteis na definição de grupos em plantas pertencentes aos gêneros *Catasetum* e *Cycnoches* (Hills, 1972 & Gregg, 1983). Dodson (1963), baseado em perfis perfumistas, pode dividir a espécie *Stanhopea tricornis* em duas diferentes linhagens, que ele denominou de variantes químicas. Este autor também constatou duas variantes odoríferas em

*Gongora* aff. *quinquenervis*, polinizadas por abelhas *Euglossa* diferentes, levando-o a considerá-las orquídeas ecologicamente distintas.

Embora de exemplos controversos, os estudos já realizados sinalizam para uma metodologia interdisciplinar normativa, congregando conhecimentos da química com a botânica, uma união que ainda está em suas bodas matrimoniais.

A variabilidade odorescente das orquídeas só foi cientificamente reconhecida após o advento do método GC-MS, assim como a descoberta da atração seletiva de polinizadores por odores ultra-específicos (Dodson & Hills, 1961). As variações do perfume ao longo do dia e do tempo de vida das flores foram outras descobertas da GC-MS. É de pensar que não está longe o dia que os botânicos acrescentarão às diagnoses das espécies as suas conspícuas características químicas, tanto para a tipificação quanto na delimitação de variedades botânicas. O pioneiro e o bizarro são características que muito estigmatizam o mundo fantástico das orquídeas. E deixam estupefatos os seus admiradores.

Enfim, não há mais tempo. No dia a dia, muitos produtos industriais já incorporam odores orquidáceos sintéticos, refeitos à base de espécies naturais odoríferas avaliadas por GC-MS. Por seu lado, a ciência se compraz em empregá-los como marcadores de fenômenos naturais. Dada a sua importância, já se supõe que agentes da máfia internacional



estejam freqüentando, “anonimamente”, orquidários e sociedades orquidófilas, em busca da fungada perfeita. O veio de maior filão ainda não foi cavado pelas forças econômicas nacionais. Continua-se na velha cantilena, de dar às orquídeas as rotas mercadológicas dadas às bananas. O estudo dos odores de orquídeas, a orquidomologia, um dia há de se pôr sobre a longa noite em que jazem os nossos biogarimpos. Esperamos que isto ocorra antes que as orquídeas se extinguem. No próximo seguimento, abordar-se-á os odores orquidáceos em perfumaria e em práticas médicas.

A Parte I, Os Odores na Polinização de Orquídeas, foi publicada em **ORQUIDÁRIO**, Vol. 17, Nº 2, 43-47 (2000).

#### Notas

(1) Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas, em portu-

guês técnico.

(2) Mesmo em português é costume o uso das siglas GC-MS, como no inglês.

(3) Cromatografia em fase Gasosa. Ou GC, como se usa na literatura internacional.

(4) Espectrometria de Massas. Ou MS, na literatura internacional.

(5) O micrograma representa a divisão de um grama por um milhão.

(6) Números calculados pelo autor do presente artigo, analisando dados publicados na literatura.

\* Caixa Postal nº 68035, Rio de Janeiro, 21944-970/RJ.  
E-mail: [avpinto@wip.com.br](mailto:avpinto@wip.com.br)



**FIGURA-2: Aparelho GC-MS Comercial Compacto, Modelo da Shimadzu (<http://www.shimadzu.com/>).**