



Variabilidade química do óleo essencial de *Piper obliquum* Ruiz & Pavan. coletada na Estação Ecológica de Cuniã, Porto Velho-Rondônia

Essential oil chemical variability of *Piper obliquum* Ruiz & Pavan collected at the Cuniã Ecological Station, Porto Velho-Rondônia

J. Rojas e Silva Aizzo¹; A. G. Manzatto^{2*}; A. F. Sampaio²; M. S. Azevedo²

¹SEDAM- RO - Secretaria de Estado e Desenvolvimento Ambiental de Rondônia

²Departamento Acadêmico de Química, Universidade Federal do Rondônia

* manzatto@unir.br

(Recebido em 14 de junho de 2023; aceito em 15 de novembro de 2023)

A sazonalidade é um dos fatores que influenciam no metabolismo secundário das plantas, afetando a composição dos óleos essenciais. A família Piperaceae tem importância ecológica e econômica, sendo a *Piper obliquum* Ruiz & Pav. representante dessa família. Esta espécie é denominada pelos índios Yanomani de Papiu como *xama-hanaki*. A planta foi coletada na Estação Ecológica de Cuniã, Porto Velho, Rondônia, em cinco períodos do ano, abrangendo os meses de outubro, novembro de 2011 e fevereiro, maio e agosto de 2012. A extração do óleo essencial foi realizada por meio da hidrodestilação e análise do material foi através de cromatografia a gás associada à espectrometria de massas. Os componentes determinados nas foram majoritariamente da classe dos terpenos, onde o maior teor foi de α -pineno, canfeno e β -pineno. A análise de agrupamento hierárquico resultou na formação de grupos distintos para as amostras nos meses de outubro, novembro e agosto para os períodos de fevereiro e maio. Através da Análise de Correspondência Múltipla (ACM) e Análise de Componentes Principais (ACP) verificou-se que alguns constituintes não apresentaram variações significativas, porém muitas substâncias demonstraram correlação positiva concernente ao período coletado. A maioria dos compostos apresentou baixa composição independente do período coletado. A variação química observada dos espécimes obtidos nos diferentes meses corrobora com a influência do ambiente na variação dos componentes do metabolismo secundário dos vegetais.

Palavras-chave: Piperaceae, variação sazonal, terpenos.

Seasonality is one of the factors that influence the secondary metabolism of plants, affecting the composition of essential oils. The Piperaceae family is ecologically and economically important, with *Piper obliquum* Ruiz & Pav. representative of that family. This species is called by the Yanomani Indians of Papiu as *xama-hanaki*. The plant was collected at the Cuniã Ecological Station, Porto Velho, Rondônia, in five periods of the year, covering the months of October, November 2011 and February, May and August 2012. The extraction of essential oil was carried out through hydrodistillation and material analysis was through gas chromatography associated with mass spectrometry. The components determined in were mostly from the terpene class, where the highest content was α -pinene, camphene and β -pinene. The hierarchical cluster analysis resulted in the formation of distinct groups for the samples in the months of October, November and August for the periods of February and May. Through Multiple Correspondence Analysis (MCA) and Principal Component Analysis (PCA) it was verified that some constituents did not show significant variations, but many substances showed a positive correlation concerning the period collected. Most compounds showed low composition regardless of the period collected. The chemical variation observed in the specimens obtained in different months corroborates the influence of the environment on the variation of the components of the secondary metabolism of plants.

Keyword: Piperaceae, seasonal variation, terpenes.

1. INTRODUÇÃO

Piper L. é o maior gênero da família Piperaceae [1], distribuído em regiões tropicais e subtropicais. Este gênero é rico em metabólitos secundários, característicos de plantas utilizadas

na medicina popular [2]. A espécie *Piper obliquum* Ruiz & Pav. denominados *xama hanaki* pelos índios Yanomami do Papiu [3] estão entre as Piperaceae utilizadas pelas comunidades tradicionais por suas propriedades anticoagulantes [4], tônico para crianças e atuam na eliminação de doenças cutâneas [5].

Estudos anteriores do óleo essencial de espécimes de *P. obliquum* coletados no Panamá [6], Costa Rica [7] e Equador [8] foram analisados e apresentaram diferentes constituintes químicos. São vários os fatores que influenciam na composição química das plantas, tanto genéticos quanto abióticos, estes podem sofrer alterações dependendo da estação do ano [9, 10].

A sazonalidade tem sido um atributo que se comporta como um fator na divergência dos constituintes químicos do óleo essencial [10-13]. No entanto, algumas amostras demonstram consistência em seus metabólitos secundários ao longo do tempo [14].

As amostras de diferentes ambientes diferem em relação aos metabólitos secundários. Essa diferença na composição química dessas ervas, criada por adaptações ao longo das gerações, é chamada de quimiotipo [15]. A determinação é essencial para a obtenção do material químico desejado, além de ser necessária a análise do óleo essencial na escala de tempo para obtenção desse produto em maior concentração [16].

Considerando o uso medicinal e a divergência em relação aos constituintes químicos presentes no óleo essencial de *P. obliquum* apresentados na literatura, este trabalho teve como objetivo analisar o perfil químico do óleo essencial desta espécie, oriunda da Amazônia brasileira, em diferentes escalas temporais, a fim de determinar as variações das composições deste óleo, estimar a melhor época de amostragem para sua utilização na medicina popular e subsidiar pesquisas futuras no entendimento das interações ecológicas desta espécie com seu habitat natural.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material Vegetal

Folhas de espécimes silvestres de *P. obliquum* foram coletadas na área de amostragem da Estação Ecológica de Cuniã (ESEC Cuniã), que utiliza o método RAPELD [17]. Os espécimes estão localizados na linha LO4 3550 com as seguintes coordenadas 08°05'49,435" S; 063°27'44,696" W.

Cinco amostras foram coletadas em diferentes escalas de tempo: outubro (Pobl-1) e novembro (Pobl-2) de 2011; e fevereiro (Pobl-3), maio (Pobl-4) e agosto (Pobl-5) de 2012, ressaltando que esses períodos correspondem ao período de chuva para outubro e novembro; menos chuva para fevereiro e maio; seca para agosto [18].

A amostragem das espécies vegetais foi realizada com autorização do Sisbio/MMA (nº 26.222 em 14/06/11). O espécime voucher consta do Herbário RON (Herbário da Universidade Federal de Rondônia) sob o número RON 4696. A identificação do material vegetal foi feita pela Dra. Elsie Franklin Guimarães do Herbário RB (Jardim Botânico do Rio de Janeiro).

2.1.1 Extração dos óleos essenciais de *P. obliquum*

A extração do óleo essencial foi realizada com folhas frescas de *P. obliquum*, utilizando 1,0 kg de material para cada extração. Para obtenção do óleo essencial foi utilizado o método de hidrodestilação por 4 h, utilizando o extrator de Clevenger, no laboratório de Fitoquímica da Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho-Rondônia. O óleo essencial foi coletado sob Na₂SO₄ em recipiente de vidro ambar, sendo posteriormente armazenado a -20 °C.

2.1.2 Análise química dos óleos essenciais de *P. obliquum*

As análises químicas dos óleos essenciais foram realizadas no Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, usando Cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (CG-EM). As análises de CG

foram realizadas no aparelho da SHIMADZU GC-14B, equipado com uma coluna LM-5 (30 m×0,25 mm×0,3 µm).

A temperatura programada da coluna foi: 40 °C (8 min.) para 150 °C a 2 °C/min, seguida por um aumento de 10 °C/min para 280 °C (15 min.). A temperatura do injetor foi de 250 °C e o detector de Ionização de Chama (FID) 310 °C, gás de arraste He (1 mL/min.). O volume de injeção foi de 0,2 µL do óleo essencial e a razão da taxa de 1:40. As análises de GC/MS foram realizadas no aparelho Agilent Technologies 5975 Series MSD (70 eV), equipado com coluna DB-5 (30 m×0,25 mm×0,25 µm).

As condições do experimento foram: gás carreador: He (1 mL/min); a temperatura de coluna programada usada foi a mesma descrita acima para análise de CG, temperatura do injetor 260 °C, detector 280 °C. O volume de amostra injetado foi de 1 µL, na razão 1:10.

Os constituintes dos óleos essenciais foram identificados pela comparação de seus espectros de massa e índices de retenção linear (RI) calculados com os dados descritos na literatura [19]. Os índices de retenção foram calculados por meio da co-injeção de uma mistura da série de n-alcenos (C8-C19) e utilizando a equação descrita por Van Den Dool & Kratz [20]. Os óleos PObl-1, PObl-3, PObl-4 apresentaram perfil CG muito semelhante ao obtido com PObl-2 e assim os constituintes destes óleos foram identificados pela comparação de seus tempos de retenção e valores de Índice de Retenção (RI). Os constituintes do óleo PObl-5 foram identificados por comparação de seus espectros de massa com o óleo PObl-2 e dados da literatura [19]. As concentrações dos constituintes nos óleos foram calculadas usando as áreas de pico individuais para cada substância.

2.2 Análise estatística

O primeiro teste foi realizado para determinar quais grupos diferem entre si por Análise de Agrupamento Hierárquico (CAH), empregando o conceito de distância, medida de dissimilaridade de Bray & Curtis.

Foi utilizada a técnica de agrupamento aglomerativo hierárquico (UPGMA) com o intuito de classificar as amostras, em relação às substâncias, em vários estágios de forma hierárquica, a fim de verificar o grau de dissimilaridade das amostras. Essa técnica resulta em uma árvore de classificação, onde os constituintes de um grupo passam a ser membros do grupo superior [21].

Para identificar variações entre as substâncias em períodos de amostragem, abordagens complementares foram realizadas conforme sugerido por Valentin (2000) [21]. Foi utilizada a Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Correspondência Múltipla (ACM) com o auxílio do software XLSTAT 7.5, Addinsoft [22] para entender o comportamento das variáveis (substâncias; concentração e período de coleta).

As transformações dos dados foram feitas para a ACM, que visa investigar a relação entre mais de duas variáveis nominais e representá-las em poucas dimensões, permitindo assim a construção de gráficos e uma melhor divisão entre categorias [23].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Perfil de constituintes químicos dos óleos essenciais de *P. obliquum*

Ao analisar as cinco amostras dos óleos essenciais da *P. obliquum* foi possível verificar que estes apresentaram um perfil semelhante. No total foram detectados 43 substâncias e destas foram observados monoterpenos (oxigenados e hidrocarbonetos), sesquiterpenos (oxigenados e hidrocarbonetos) e apenas um fenilpropanoide. (Tabela 1).

O óleo essencial de *P. obliquum* apresentou quantidades crescentes da concentração dos compostos identificados, 92,61%; 93,2%; 95,93%; 99,11%, respectivamente, até o período de maio-2012, já no mês de agosto-2012 (mês de menos chuvoso) ocorreu um decréscimo (92%).

Os componentes mais abundantes observados foram o α -pineno, canfeno, β -pineno, mirceno e limoneno, destacando o α -pineno, que apresentou maior concentração nos meses estudados

seguido do canfeno (Tabela 1). Além disso, os óleos diferem ligeiramente em relação à concentração de seus componentes.

Tabela 1: Constituintes químicos (%) dos óleos essenciais de *Piper obliquum* Ruiz & Pavan, em diferentes épocas de coleta de material botânica na ESEC Cuniã – Porto Velho – Rondônia.

Substâncias	Período de Coleta				
	Out/2011	Nov/2011	Fev/2012	Mai/2012	Ago/2012
Monoterpenos					
Triciclono	0,85	0,95	1,4	1,02	2,7
α -pineno	28,3	26,6	37,1	37,7	23,8
Canfeno	19,6	20,2	23,5	22,6	17,1
β -pineno	17,1	16,4	17,5	17,5	12,5
Mirceno	3,4	3,3	3,2	3,7	3,4
Limoneno	4,8	5,7	3,9	4,0	4,3
Terpinoleno	0,09	0,4	0,12	0,07	0,1
Óxido de α -pineno	0,09	0,61	0,1	0,052	0,2
Llinalol	0,04	0,05	-	-	-
α -canfolenal	0,08	0,49	0,08	0,051	-
Trans-pinocarveol	0,36	0,55	0,25	0,32	0,2
Isoborneol	0,06	0,22	0,07	0,03	0,4
Terpinen-4-ol	-	0,04	-	-	0,2
α -terpineol	0,12	0,32	-	-	0,5
Acetato de bornil	0,7	0,05	0,4	0,3	0,7
1,8-cineol	-	-	-	-	0,4
Sesquiterpenos					
α -cubebeno	0,12	0,16	0,05	0,06	0,1
α -copaeno	0,17	0,07	0,11	0,1	0,5
β -elemeno	1,66	2,3	0,6	0,8	2,3
α -gurjuneno	0,3	0,3	0,2	0,4	0,4
(E)-cariofileno	2,8	2,9	1,7	1,9	-
β -gurjuneno	0,34	0,34	0,17	1,9	0,3
γ -elemeno	0,3	0,4	0,11	0,16	1,1
α -humuleno	0,58	0,7	0,33	0,36	0,8
Allo-aromandreno	0,5	0,18	0,68	0,35	0,5
γ -muuroleno	0,3	0,16	0,04	0,18	0,7
Germacreno-D	0,78	0,77	0,41	0,58	0,8
Viridifloreno	1,03	0,93	0,42	0,83	1,1
Epi-cubedol	0,7	1,3	0,2	0,24	1,7
α -muuroleno	0,6	0,7	0,2	0,62	0,4
Germacreno A	0,93	0,42	0,2	0,62	1,6
γ -cadineno	1,46	1,27	0,5	0,7	0,4
δ -cadineno	1,9	1,4	1,7	1,16	1,0
Germacreno B	0,54	0,46	0,47	0,3	1,0
β -bourboneno	-	-	-	-	0,3
α -calacoreno	-	-	-	-	0,8
Óxido de cariofileno	0,98	0,64	0,2	0,13	1,6
α -cadinol	0,75	0,75	-	-	2,3
Carotol (35)	0,26	0,26	-	-	0,8
Elemol (41)	-	-	-	-	0,4
(E)-nerolidol (42)	0,7	0,55	0,02	0,3	0,4
Espatulenol (43)	-	-	-	-	1,0
Fenilpropanoide					
Metil-eugenol (39)	-	-	-	-	2,3

Todos os compostos identificados nos meses mais chuvosos e menos chuvosos [18] são da classe dos terpenos, os quais são substâncias produzidas por meio das vias mais importantes do metabolismo secundário, ácido mevalônico e isopentenilpirofosfato [23].

Fatores como localidade, período de coleta e parte da planta podem influenciar nos componentes do óleo essencial [24]. No presente trabalho, observamos que o óleo essencial das folhas da *P. obliquum* apresentou monoterpenos como componentes majoritários, já o óleo essencial das raízes de *Piper hispidum* Sw coletada em Rondônia-Brasil, demonstrou pertencer ao quimiotipo fenilpropanoides [25].

Neste trabalho foi observado que a amostra de Ago-2012, mês menos chuvoso, apresentou terpenos e um fenilpropanóide. A alternativa desta rota revela indícios de que a *P. obliquum* passou por estresse, provavelmente, relacionado à temperatura e/ou regime hídrico. Os vegetais afetados por condições desfavoráveis precisam de opções de ganho de energia sobressalente para a conservação das funções vitais, portanto, caminhos metabólicos especiais são essenciais na regulação do meio interno [26]. Nesta situação as plantas podem necessitar do redirecionamento da rota metabólica [27]. A literatura relata que próximo ao período chuvoso, foi observado que para *Piper hispidinervum* C. DC favoreceu o rendimento global do óleo essencial [27], o que corrobora com nossos resultados, já que nos meses de maior precipitação (Out e Nov 2011; Fev e Mai 2012) obtivemos maior porcentagem de compostos identificados.

A variação das concentrações de substâncias, semelhante ao presente estudo, demonstra uma maior produção de metabólitos no verão [14]. Por outro lado, relatos da literatura são divergentes, reportando o período seco como o de maior composição de substâncias no óleo essencial [11, 28]. Pesquisas relatam que, os altos índices de radiação solar são necessários para o aumento na produção dos metabólitos secundários, pois as reações biossintéticas necessitam de esqueletos carbônicos, que são sintetizados por meio de processos fotossintéticos e de compostos energéticos que atuam na regulação destas reações [29].

No presente trabalho, todas as análises da *P. obliquum*, os cinco compostos majoritários encontrados nas amostras de óleos essenciais são monoterpenos, com 85,50% (α -pineno), 85,20% (canfeno), 73,20% (β -pineno), 72,20% (limoneno) e 61,10% (mirceno) (Tabela 1), o que significa que esta é a classe de substância marcadora da composição dos compostos voláteis desta planta.

Em relação à quantidade de substâncias em cada óleo essencial, os sesquiterpenos hidrocarbonetos apresentaram-se mais expressivos, com 20 compostos, seguido dos monoterpenos oxigenados (9=21%) e hidrocarbonetos (7=16%), sesquiterpenos oxigenados (6=14%) e fenilpropanóides (1=2%). A classe de substâncias que se destaca são os sesquiterpenos hidrocarbonetos (47%). A literatura relata que óleo essencial da *P. obliquum* coletada na ESEC Cuniã, foi avaliada quanto a atividade antimicrobiana, demonstrando a inibição frente a *S. aureus* MRSA (*Staphylococcus* resistente a metilicina) no teste de difusão em ágar, apresentando halos de inibição 17,0 e 11,0 mm [30]. Esses resultados demonstram que a *P. obliquum* pode ser um alvo importante para estudos mais aprofundados sobre a espécie.

A *P. obliquum* é citada na literatura em relação ao estudo de variabilidade química do óleo essencial da planta, coletada no Panamá [6], Costa Rica [7] e Equador [8]. Uma comparação com os óleos essenciais de *P. obliquum* coletado em Rondônia-Brasil, com Panamá [6], Costa Rica [7] e Equador [8], foi realizada, já que esses países podem apresentar situações climáticas diferentes. Além disso, essas foram as primeiras ocorrências relacionado ao óleo essencial de *P. obliquum* na literatura (Tabela 2).

Neste trabalho, foi possível observar que as substâncias que predominam no óleo essencial das folhas de *P. obliquum*, são o α -pineno (37,7% - Maio/2012), canfeno (23,5% -Fevereiro/2012) e o β -pineno (17,5% - Fevereiro e Maio/2012). Tal resultado demonstra que o espécime amazônico possui um quimiotipo semelhante ao da Costa Rica [7], porém é divergente em relação aos espécimes coletados no Panamá [6] e Equador [8]. Ressalta-se que a determinação do quimiotipo é imprescindível na obtenção de fitofármacos seguros, considerando a ampla variedade de metabólitos secundários [31].

A análise do óleo essencial de *P. obliquum* obtido na Costa Rica [7], quando comparado ao perfil químico dos compostos voláteis do presente trabalho, demonstra que ambos os espécimes se apresentam ricos em terpenos como, o α -pineno, germacreno-D, β -pineno e α -copaeno (Tabela 2). Além disso, há várias substâncias em comum entre o espécime coletado na Costa Rica [7] e a

amostra proveniente da ESEC Cuniã, como o α -cubebeno, α -gurjuneno, γ -elemeno, germacreno-D, γ -cadineno e α -calacoreno.

Tabela 2: Composição química do óleo essencial de *Piper obliquum* e as substâncias em comum com o Panamá, Costa Rica e Equador.

Substância	Brasil - ESEC-Cuniã (%)	Panamá (%) ^[6]	Costa Rica ^[7] (%)	Equador (%) ^[8]
α -pineno	26,60 - 37,70	0,20	20,67	1,75
β -pineno	16,40 - 17,50	0,20	12,43	2,01
α -copaeno	0,07 - 0,17	5,60	11,78	0,50
α -humuleno	0,33 - 0,70	2,30	< 0,01	0,09
γ -muuroleno	0,04 - 0,18	0,60	1,06	0,24
α -muuroleno	0,20 - 0,70	0,80	7,61	0,32

Apesar da similaridade de concentração dos componentes principais de *P. obliquum* provenientes da Costa Rica [7] e da ESEC Cuniã, muitos compostos divergem em relação às concentrações, como é o caso do germacreno-D e do α -copaeno. Estes compostos tiveram concentração de 12,89% e 11,78%, respectivamente, no primeiro caso, enquanto o percentual no óleo essencial do espécime brasileiro variou de 0,41-0,80% e 0,07-0,50%. Tanto a variação entre os constituintes de uma espécie como a prevalência de um quimiotipo pode estar relacionada com as condições ambientais que uma região oferece [26].

Espécimes de *P. obliquum* coletadas no Equador, em contraste com os resultados da presente pesquisa, mostraram baixo teor no óleo essencial de α -pineno (1,75%), canfeno (0,52%) e β -pineno (2,01%) [8].

Das substâncias químicas de *P. obliquum* coletada na ESEC Cuniã, apenas seis são comuns para os outros espécimes estudados no Panamá [6], Costa Rica [7] e Equador [8] (Tabela 2).

A divergência na composição do óleo essencial dos espécimes de *P. obliquum* dos quatro países pode estar correlacionada a diferenças de pressão ambiental, fatores genéticos e estágio de vida [9].

3.2 Relação entre Amostra, Concentração e Substância

Os resultados obtidos a partir da aplicação da técnica de análise hierárquica de agrupamento (CAH), baseada nos constituintes químicos dos óleos essenciais coletados nos diferentes períodos, estabeleceu nitidamente a formação de dois grupos, representados pelas amostras dos meses de fevereiro e maio (2012), e o outro por outubro, novembro (2011) e agosto (2012), o que evidencia a influência sazonal nos compostos predominantes de *P. obliquum* (Figura 1).

O complexo fator biótico e abiótico tem a capacidade de influenciar nos componentes químicos do óleo essencial, pela adaptação fisiológica das plantas em resposta as condições oferecidas. Estas adaptações revelam diferentes composições químicas determinando assim os quimiotipos [32, 33].

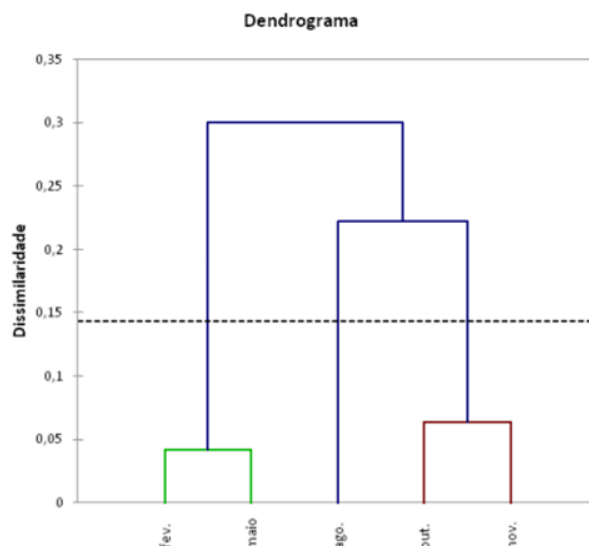


Figura 1: Classificação por CAH para os constituintes químicos do óleo essencial da ESEC Cuniã, nos diferentes períodos. Fonte: Elaborado no XLSTAT 7.5, Addinsoft [22].

O grupo formado pelas amostras dos períodos de fevereiro e maio possuem mais características em comum, tendo o menor intervalo (0,042) de similaridade (Tabela 3).

Tabela 3: Resultado da matriz de proximidade (distância de Bray e Curtis), aplicada para as cinco unidades amostrais de *P. obliquum* usando dados de teor das substâncias.

	OUT (2011)	NOV (2011)	FEV (2012)	MAI (2012)	AGO (2012)
OUT	0	0,063	0,130	0,124	0,185
NOV	0,063	0	0,161	0,152	0,181
FEV	0,130	0,161	0	0,042	0,269
MAI	0,124	0,152	0,042	0	0,264
AGO	0,185	0,181	0,269	0,264	0

Nestes períodos há a presença das mesmas substâncias e oito destas apresentaram um padrão de variação semelhante, com seu menor teor no mês de fevereiro e um aumento na concentração no mês de maio. Além disso, muitos compostos apresentaram valores baixíssimos no óleo essencial e poucos exibiram altas concentrações, como é o caso do α -pineno, canfeno e β -pineno.

A maior diferença está entre os períodos de fevereiro e agosto (0,269%), pois o óleo essencial teve o maior quantitativo de substâncias (40) no mês de fevereiro, e a amostra proveniente do mês de agosto apresentou o de menor quantidade (32) (Tabela 4). Nestes meses, os fatores abióticos, como chuva *versus* seca são opostos. A disponibilidade de água no ambiente contribui na delimitação de produção de compostos primários [34], o que influencia diretamente na formação de produtos da rota metabólica secundária [35]. Os meses de out-2011, nov-2011 e ago-2012, apesar de formar um grupo, dividem-se em duas classes, pois há uma distância significativa entre eles, sendo 0,185% (out-2011) e 0,181% (nov-2011) em relação a ago-2012 (zero) (Tabela 3).

As substâncias que apresentaram um médio e alto teor no óleo essencial são as principais responsáveis por definir os grupos (Tabela 3). Estas possuem valores próximos em relação às concentrações, tanto entre o grupo formado pelas amostras 3 e 4 (fev e maio), quanto para o grupo formado pelas amostras 1, 2 e 3 (out, nov e ago), com exceção do β -pineno que apresentou pouca variação entre os meses de outubro, novembro, fevereiro e maio. O α -pineno e o limoneno foram as substâncias que apresentaram a diferença mais visível entre os meses de outubro (28,3% e 4,8%), novembro (26,6% e 5,7%), fevereiro (37,1% e 3,9%), maio (37,7% e 4,0%) e agosto (23,8%; 4,3%).

Apesar de estas substâncias serem as responsáveis pela separação dos grupos 1, 2, 5 e 3, 4 (Figura 1), os componentes de baixa concentração também são determinantes e importantes na divisão das classes. Algumas substâncias foram identificadas apenas no mês de agosto, como o 1,8-cineol, bourboneno, α -calacorene, elemol, espatulenol e metil-eugenol. A síntese das substâncias é proveniente de informações genéticas da planta, porém, fatores bióticos ou abióticos possuem a capacidade de redirecionar a rota sintética dos metabólitos secundários [26].

Os resultados da Análise de Componentes Principais (ACP) realizados com dados das substâncias do óleo essencial de *P. obliquum* obtidos em cinco períodos, mostraram que há relação da concentração e presença de muitos compostos químicos com o período de coleta (Tabela 4).

Tabela 4: Resultados da Análise de componentes principais (ACP) com os autovalores e variância explicadas para os três primeiros eixos.

Eixo	Autovalor	Variância explicada (%)	Variância acumulada (%)
1	26,823	59,606	59,606
2	10,476	23,279	82,886
3	7,701	17,114	100,000

A análise evidenciou que 77,27% de variação para o primeiro eixo está relacionada a uma significativa influência das variáveis na distribuição de substâncias em relação ao período de coleta. Os autovalores, as variâncias explicada e acumulada estão descritos na Tabela 4. Algumas substâncias apresentaram variação relacionada às condições ambientais do período de coleta, demonstrando possuir correlações positiva e negativa com o período coletado (Figura 2).

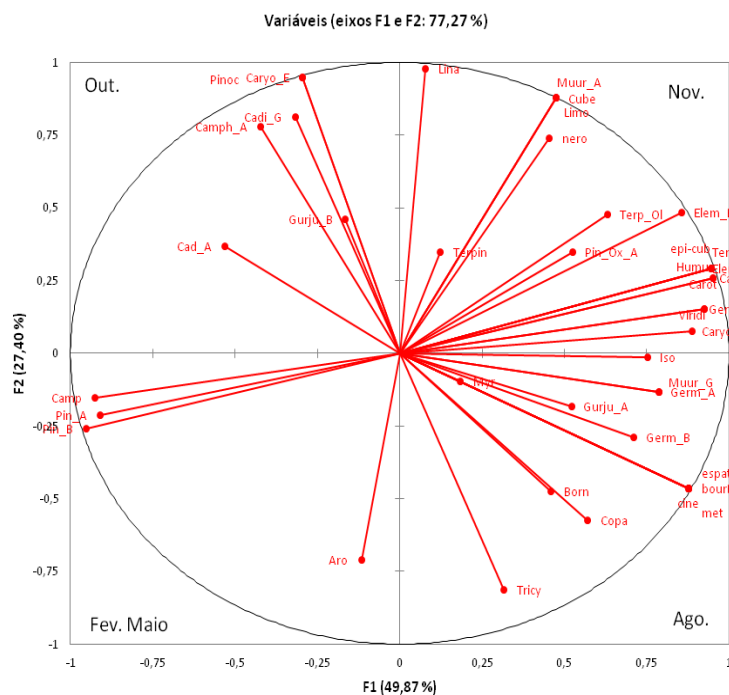


Figura 2: Análise Classificatória e de Componentes Principais para os compostos característicos do óleo volátil foliar de *Piper obliquum* em função do período coletado. Fonte: Elaborado no XLSTAT 7.5, Addinsoft [22].

A análise também demonstrou que alguns compostos também estão correlacionados entre si, com um nível de significância de α 0,05%, como: bourboneno, metil-eugenol, elemol, α -calacoreno, 1,8-cineol e espatulenol; e o α -cadinol, carotol, γ -elemeno, epi-cubebeno,

α -humuleno e terpinoleno. As substâncias em destaque da CP1 apresentam correlação positivas entre si, ou seja, possuem o mesmo comportamento de variação ao longo do tempo, e várias destas possuem correlação positiva com o período de agosto. Todas as substâncias destacadas da CP2 possuem suas maiores concentrações no mês de novembro, com exceção do γ -cadineno e nerolidol, os quais possuíram maior teor no mês de outubro. Porém, esta diferença não é significativa, pois pela análise hierárquica, verifica-se que estes meses estão agrupados em uma mesma classe.

A CP3 evidenciou o mirceno como componente principal, pois teve o seu maior teor no mês de maio. Esta substância é uma das que não apresentaram variação significativa ao longo do tempo (3,2% - 3,7%), como pode ser visualizado na Tabela 2.

O α -pineno, β -pineno e outras substâncias exibiram correlação positiva com os meses de fevereiro e maio, e correlação negativa com os meses de outubro e novembro. Portanto, estes compostos químicos apresentaram uma influência diretamente proporcional com o mês de fevereiro, ao contrário do limoneno, que nesses períodos, apresentaram suas menores concentrações (Figura 2, Tabela 2).

Algumas piperáceas da Amazônia possuem alto teor de α -pineno e β -pineno, em detrimento do limoneno, como é o caso da *Piper anonifolium* Kunth (53,1%; 22,9% e 1,7%) e *Piper hostimianum* (Miq.) D.DC (45,6%; 6,1% e 5,7%) [36]. Outras piperáceas revelam que, quando o teor de limoneno está com altíssimo, o α -pineno e o β -pineno possuem baixa concentração.

Espécimes de *Piper demeraranum* (Miq.) D.DC e *Piper tuberculatum* Jacq. apresentaram este padrão de variação, mas este modelo não é identificado em todas as plantas deste gênero [37].

Influências ambientais dos períodos de fevereiro-maio, provavelmente não interferiram na concentração de algumas substâncias do presente estudo, como o β -pineno, pois este permaneceu constante (17,5%) e o α -pineno, que evidenciou sua maior concentração em maio (37,7%) e um valor aproximado no período de fevereiro (37,1%). Lima et al. (2003) [32] afirma que a maioria das espécies apresenta um padrão de diminuição na produção de monoterpenos frente à baixa intensidade luminosa, mas a maioria dos estudos é realizada em regiões com condições diferentes da região amazônica. Este modelo provavelmente não se aplica para espécimes amazônicos, pois o α -pineno, β -pineno e limoneno são todos da classe dos monoterpenos e apresentaram repostas diferentes em relação ao período coletado.

Outras substâncias que possuem uma correlação positiva com o mês de fevereiro são o canfeno e allo-aromandreno (Figura 2), e as que revelaram uma correlação positiva com o mês de outubro foram o trans-pinocarveol, E-cariofileno, γ -cadineno, α -canfolenal, β -gurjuneno e α -cadinol.

Entre as várias substâncias que demonstraram possuir uma correlação positiva com os meses de outubro e novembro se destaca o linalol, que apenas nestes períodos fez parte da composição do óleo essencial de *P. obliquum*. O estudo realizado por Mendes et al. (2012) [38] verificou que o linalol não ocorreu na composição do óleo essencial da *Dalbergia frutescens* (Vell.) Britton no período de maior precipitação, exibindo seus maiores índices nos meses de menor precipitação e maior insolação. É importante ressaltar que o ciclo circadiano tem um papel importante na coleta do material vegetal, pois o horário da coleta tem influência no rendimento e composição do óleo essencial [38, 39].

No presente trabalho, o α -terpineol apresentou baixa concentração (0-0,5%) e mostrou uma correlação positiva com o mês de agosto. Este composto também estava presente nos meses de outubro e novembro, porém, no mês de fevereiro foi ausente, retornando a aparecer no mês de maio (0,03%) (Figura 3). Na avaliação sazonal do óleo essencial de *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd o α -terpineol demonstra baixo teor em todos os períodos analisados (0,57%-0,83%) com maior concentração no verão (dez.-fev.) [11].

O α -cadinol e o carotol foram identificados apenas nos meses de outubro (0,3% e 0,03%, respectivamente), novembro (0,75% e 0,2%) e agosto (2,3% e 0,8%). Para a espécie *T. riparia*, este composto apresentou suas maiores porcentagens (8,33%) nos meses de primavera-verão (out.-fev.) [11].

Por meio do ACM foi possível verificar que a maioria das substâncias apresentou baixíssimo e baixo teor (Figura 3), independente do período coletado. Os compostos que demonstraram padrões divergentes foram o α -pineno, o canfeno e o β -pineno, apresentando alta concentração 37,7%; 23,5%; 175%, respectivamente. O limoneno no mês de novembro-2011 apresentou um

teor alto (5,7%) e concentrações médias para os demais períodos. O α -pineno foi o composto majoritário para todos os períodos analisados, compreendendo entre 23,8% (agosto) e 37,7% (maio). O canfeno mostrou-se como a segunda substância em teor, variando entre 17,1% e 23,5%, para os meses de agosto e fevereiro, respectivamente (Tabela 2).

A maioria das piperáceas da região amazônica, independente do período coletado, apresenta o canfeno em baixa concentração [37].

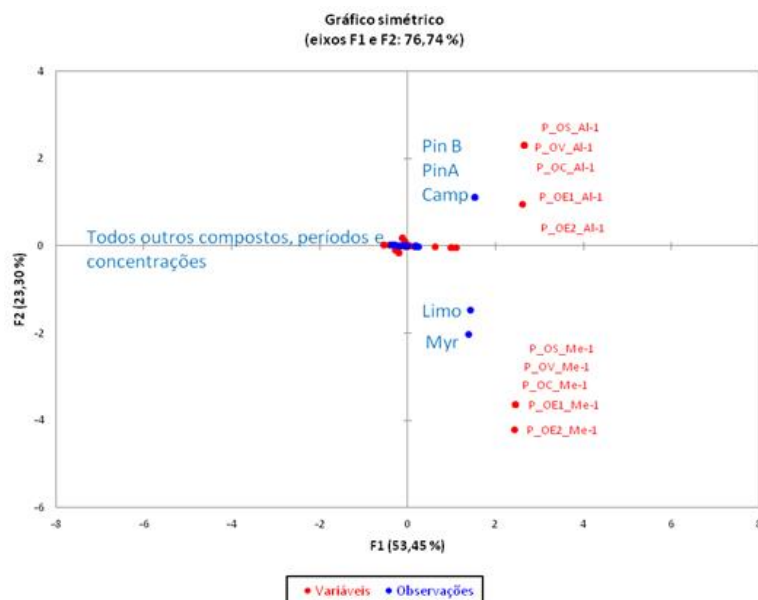


Figura 3: Resultado gerado por meio da ACM, com dados de substâncias obtidas do óleo volátil foliar de *Piper obliquum* em função do período coletado. Fonte: Elaborado no XLSTAT 7.5, Addinsoft [22].

4. CONCLUSÃO

Todos os compostos presentes no óleo essencial de *P. obliquum*, que compreende os meses de outubro e novembro (2011) e fevereiro e maio (2012), pertencem à classe dos terpenos, sendo a maioria sesquiterpenos hidrocarbonetos, apesar dos compostos majoritários terem sido monoterpenos hidrocarbonetos. Os compostos deste óleo essencial, do mês de agosto, mostraram ser divergentes em relação aos dos demais períodos, por apresentar cinco substâncias restritas a esta amostra, da classe dos fenilpropanóides, e diminuir em sua composição a presença de monoterpenos hidrocarbonetos.

A dupla rota biossintética de *P. obliquum* demonstra a plasticidade metabólica dos espécimes frente às pressões ao longo do ciclo climático. A análise de agrupamento demonstra que houve variabilidade química das concentrações dos compostos α -pineno, canfeno, β -pineno e limoneno, e estas parecem estar relacionadas aos fatores abióticos (chuva *versus* seca) dos períodos de outubro e novembro de 2011, fevereiro, maio e agosto de 2012.

Estes resultados são apoiados pelas análises de componentes principais e análise de correspondência múltipla, que demonstram também que a maioria das substâncias produzidas foi em baixa (e baixíssima) concentração independente do período coletado.

As substâncias de maior concentração (α -pineno, canfeno, β -pineno e limoneno) demonstraram claramente suas correlações positivas com os períodos coletados. O maior rendimento dos compostos majoritários foi no período chuvoso, provavelmente o sistema hídrico deste período pode ter sido a influência essencial para o aumento da produtividade dos metabólitos secundários. A variabilidade química de *P. obliquum* frente às condições climáticas enfatiza a sazonalidade como fator chave na variação das concentrações dos compostos encontrados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Quijano-Abril MA, Callejas-Posada R, Miranda-Esquivel DR. Areas of endemism and distribution patterns for Neotropical *Piper* species (Piperaceae). J Biogeogr. 2006 Jun;33(7):1266-78. doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01501
2. Parmar VS, Jain SC, Bisht KS, Jain R, Taneja P, Jha A, et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. Phytochemistry. 1997 Oct;46(4):591-673. doi: 10.1016/S0031-9422(97)00328-2
3. Albert B, Millikan W. UHIRI A: A terra floresta Yanomami. São Paulo (SP): Instituto Socioambiental; 2009.
4. Biblioteca Digital de La Medicina Tradicional Mexicana (BDMTM) [Internet]. Flora Medicinal Indígena de México Zapoteca; [acesso em 12 abr 2013]. Disponível em: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/fmim/index.html>
5. Valadeau C, Castillo JA, Sauvain M, Lores AF, Bourdy G. The rainbow hurts my skin: Medicinal concepts and plants uses among the Yanesha (Amuesha), an Amazonian Peruvian ethnic group. J Ethnopharmacol. 2010 Jan; 27(1):175-92. doi: 10.1016/j.jep.2009.09.024
6. Mundina M, Vila R, Tomi F, Gupta MP, Adzet T, Casanova J, et al. Leaf essential oils of three Panamanian *Piper* species. Phytochemistry. 1998 Abr;47(7):1277-82. doi: 10.1016/S0031-9422(97)00762-0
7. Mayer V, Schaber D, Hadacek F. Volatiles of myrmecophytic *Piper* plants signal stem tissue damage to inhabiting Pheidole ant-partners. J Ecol. 2008 Ago;96:962-70. doi: 10.1111/j.1365-2745.2008.01390.x
8. Guerrini A, Sacchetti G, Rossi D, Paganetto G, Muzzoli M, Andreotti E, et al. Bioactivities of *Piper aduncum* L and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. Environ Toxicol Pharmacol. 2009 Jan;27(1):39-48. doi: 10.1016/j.etap.2008.08.002
9. Morais LAS. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. Hortic Bras, 2009 Ago;27(2):S4050-63.
10. Oliveira BMS, Blank AF, Nizio DAC, Nogueira PCL, Arrigoni-Blank MF, Bacci L, et al. Chemical analyses of the essential oils from *Varronia curassavica* accessions in two seasons. J Essent Oil Res. 2020 Jun;32(6):494-511. doi: 10.1080/10412905.2020.1789001
11. Gazim ZC, Amorim ACL, Hovell AMC, Rezende CM, Nascimento IA, Ferreira GA, et al. Seasonal variation, chemical composition, and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in southern Brazil. Molecules. 2010 Ago;15(8):5509-24. doi: 10.3390/molecules15085509
12. Defaveri ACA, Sato A, Borré LB, Aguiar DLM, Gil RASS, Arruda RCO, et al. *Eugenia neonitida* Sobral and *Eugenia rotundifolia* Casar. (Myrtaceae) essential oils: composition, seasonality influence, antioxidant activity and leaf histochemistry. J Braz Chem Soc. 2011 Ago;22(8):1531-8. doi: 10.1590/S0103-50532011000800018
13. Volpini-Klein AFN, Lima Jr. SE, Cardoso CAL, Cabral MRP, Louro GM, Coutinho EJ, et al. Chemical composition of essential oils from leaves and fruits of *Schinus mole* obtained by different extraction methods (hydrodistillation, fractional hydrodistillation and steam distillation) and seasonal variations. J Essent Oil-Bear Plants. 2021 May;24(2):228-42. doi: 10.1080/0972060X.2021.1914739
14. Botrel PP, Pinto JEBP, Araújo ACC, Bertolucci SKV, Figueiredo PH, Ferri, DPC. Variações no teor e na composição volátil de *Hyptis Marruboides* Epl. cultivada no campo e em casa de vegetação. Quim Nova. 2010 Nov;33(1):33-7. doi: 10.1590/S0100-40422010000100007
15. Alves M, Silva LCP, Pereira EAD, Espósito EP, Fagundes LM, Faria TS, et al. Diversidade química dos óleos essenciais de plantas do Jardim Botânico da UFRRJ e de outras localidades, baseado em análise de imagem e estatística multivariada. Rev Virtual Quim. 2019 Nov;11(5):1635-56. doi: 10.21577/1984-6835.20019115
16. Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quim Nova. 2007 Abr;30 (2):374-81. doi: 10.1590/S0100-40422007000200026
17. Magnusson WE, Lima AP, Luizão R, Costa FRC, Castilho CV, Kinupp VF. Rapeld: Uma modificação do método de Gentry para inventários de biodiversidade em sítios para pesquisa ecológica de longa duração. Biota Neotrop. 2005 Jan;5(2):1-6. doi: 10.1590/S1676-06032005000300002
18. WeatherSpark.com [Internet]. Probabilidade diária de precipitação em Porto Velho. Mineápolis (US): Cedar Lake Ventures, Inc.; [acesso em 21 nov 2022]. Disponível em: <https://pt.weatherspark.com/y/28383/Clima-caracter%C3%ADstico-em-Porto-Velho-Brasil-durante-o-ano>
19. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Illinois (US): Allured Pub. Corporation; 1995.

20. Van Den Dool H, Kratz PD. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. *J Chromatogr A*. 1963;11:463-71. doi: 10.1016/S0021-9673(01)80947-X
21. Valentin JL. *Ecologia Numérica: Uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos*. Rio de Janeiro: Interciência; 2000.
22. Addinsoft XLSTA Statistical and data analysis solution. New York (US): Lumivero; [acesso em ago 2012]. Disponível em: <https://www.xlstat.com>
23. Pestana MH, Gageiro JN. *Análise de dados para ciências sociais: a complementariedade do SPSS*. 5. ed. Lisboa (PT): Sílabo; 2008.
24. Larcher W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos (SP): RiMa; 2000.
25. Facundo VA, Polli AR, Rodrigues RV, Militão JSLT, Stabelli RG, Cardoso CT. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *Piper hispidum* H. B. K. *Acta Amazon*. 2008 Dez;38(4):733-42. doi: 10.1590/S0044-59672008000400018
26. Morais LAS. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: Bettiol W, Morandi MAB, editores. *Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas*. Jaguariúna (SP): EMBRAPA Meio Ambiente; 2009. p. 139-52.
27. Bergo LC, Mendonça HA, Silva MR. Efeito da época e frequência de corte de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C.DC.) no rendimento de óleo essencial. *Acta Amazon*. 2005 Mai;35(2):111-7. doi: 10.1590/S0044-59672005000200001
28. Valentini CMA, Silva LE, Maciel EM, Franceschini E, Sousa Jr PT, Oglio ELD, et al. Variação anual do rendimento e composição química dos componentes voláteis da *Siparuna guianensis* AUBLET. *Quím Nova*. 2010 Jul;33(7):1506-9. doi: 10.1590/S0100-40422010000700015
29. Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre (RS): Artimed; 2009.
30. Nobre HSMF, Azevedo MS, Matos NB, Manzatto AG, Romão NF, Aizzo JRS, et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato, frações e óleo essencial da *Piper obliquum* Ruiz e Pavon – ESEC Cuniã, Porto Velho, Rondônia. *South Am J Basic Educ, Tech Technol*. 2019 Jun;6(1):48-66.
31. Karami A, Khoshbakht T, Esmaeili H, Maggi F. Essential oil chemical variability in *Oliveria decumbens* (Apiaceae) from different regions of Iran and its relationship with environmental factor. *Plants*. 2020 Mai;9(6):2-13. doi: 10.3390/plants9060680
32. Lima HRP, Kaplan MAC, Cruz AVM. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. *Floresta e Ambient*. 2003;10(2):71-7.
33. Odum EP. *Fundamentos de Ecologia*. Lisboa. Lisboa (PT): Fundação Calouste Gulbenkian; 1971.
34. Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE. *Biologia vegetal*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.
35. Santos RI. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: Simões MO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR, organizadores. *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre (RS)/Florianópolis (SC): UFRGS/UFSC; 2004.
36. Andrade EHA, Guimarães EF, Maia JGS. Essential oil composition of *Piper Anonofolium* (Kunth) C. DC. *J. Essent. Oil-Bear*. 2013 Mar;8(3):289-94. doi: 10.1080/0972060X.2005.10662140
37. Andrade EHA, Alves CN, Guimarães EF, Carreira LM, Maia JGS. Variability in essential oil composition of *Piper dilatatum* L.C. Rich. *Biochem Syst Ecol*. 2011 Ago;39(4):669-75. doi: 10.1016/j.bse.2011.05.021
38. Mendes CE, Casarin F, Ohland AL. Efeitos das condições ambientais sobre o teor e variabilidade dos óleos voláteis de *Dalbergia frutescens* (Vell.) Britton (Fabaceae). *Quím Nova*. 2012 Ago;35(9):1787-93. doi: 10.1590/S0100-40422012000900016
39. Ribeiro SM, Binilla OH, Lucena EMP. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais do *Croton* ssp. da Caatinga. *Iheringia, Série Botânica*. 2018 Mai;73(1):31-8. doi: 10.21826/2446-8231201873104

MATERIAL COMPLEMENTAR

Tabela 5: Dados de cromatografia gasosa acoplada ao espectrofotômetro de massas.

Nº Estr.	TR	IR	IR (Lit.)	Composto	ABR
1	10,713	909	926	Triciclono	Tricy
2	11,753	931	939	α -pineno	Pin_A
3	12,490	945	953	Canfeno	Camp
4	14,051	973	980	β -pineno	Pin_B
5	15,015	989	991	Mirceno	Myr
6	17,190	1022	1031	Limoneno	Limo
37	17,242	1019	1033	1,8-cineol	Cine
7	20,906	1072	1088	Terpinoleno	Terpin
8	21,454	1078	1095	Óxido de α -pineno	Pin_Ox_A
9	21,861	1083	1098	Linalol	Lina
10	23,459	1101	1125	α -canfolenal	Camph_A
11	24,168	1112	1139	Trans-pinocarveol	Pinoc
12	26,049	1138	1156	Isoborneol	Iso
13	26,872	1149	1177	Terpin-4-ol	Terp_Ol
14	27,817	1161	1189	α -terpineol	Terpi_A
15	34,209	1248	1285	acetato de bornila	born
16	38,275	1304	1351	α -cubebene	Cube
17	39,864	1332	1376	α -copaeno	Copa
38	40,271	1337	1384	β -bourboneno	bour
18	40,989	1352	1391	β -elemeno	Elem_B
39	41,481	1358	1401	metil-eugenol	met
19	41,953	1368	1409	α -gurjuneno	Gurju_A
20	42,549	1378	1418	(E)-cariofileno	Caryo_E
21	43,126	1387	1432	β -gurjuneno	Gurju_B
22	43,532	1395	1433	γ -elemeno	Elem_G
23	44,610	1409	1454	α -humuleno	Humu
24	45,007	1415	1461	Allo-aromandreno	Aro
25	46,113	1429	1477	γ -muuroleno	Muur_G
26	46,303	1432	1480	Germacreno- D	Germ_D
27	45,577	1435	1493	Viridifloreno	Viridi
28	47,163	1443	1494	epi-cubedol	epi-cub
29	47,560	1448	1499	α -muuroleno	Muur_A
30	47,721	1450	1503	Germacreno- A	Germ_A
31	48,326	1457	1513	γ -cadineno	Cadi_G
32	48,941	1465	1524	α -cadineno	Cad_A
40	49,124	1465	1542	α -calacorene	Cala
41	50,415	1481	1549	elemol	Elem
33	50,690	1486	1556	Germacreno- B	Germ_B
42	51,891	1500	1564	(E)-nerolidol	nero
43	51,989	1502	1576	espatulenol	espat
34	52,184	1507	1581	Óxido de cariofileno	Caryo_Ox
35	55,559	1577	1594	Carotol	Carot
36	56,269	1591	1653	α -cadinol	Caol-A