



Análise dos óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica)

Miriam Cristina Leone Potzernheim¹, Humberto Ribeiro Bizzo², Roberto Fontes Vieira^{1*}

¹EMBRAPA, Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372,
70770-900, Brasília, D.F, Brasil

²EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, Av. das Américas,
29501, Guaratiba, 23020-470, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

RESUMO: Foi determinada a composição química dos óleos essenciais de 3 espécies do gênero *Piper* coletadas em Matas de Galeria no Cerrado, e comparada com composição dos óleos das mesmas espécies oriundas da Mata Atlântica. A composição química do óleo de *Piper arboreum* subsp *arboreum*, *P. dilatatum* e *P. hispidum* foi determinada por cromatografia gasosa em coluna capilar HP-5 e espectrometria de massas. As três espécies do Cerrado apresentaram predominância de sesquiterpenos. *Piper arboreum* subsp *arboreum* apresentou como constituintes majoritários biciclogermacreno (12,1%), 10-epi- γ -eudesmol (11,6%) e óxido de cariofileno (10,1%). Em *P. dilatatum* os constituintes em maior quantidade foram *cis*- β -ocimeno (19,6%) e β -cariofileno (11,3%) e em *P. hispidum* foram β -pineno (19,7%), α -pineno (9,0%).

Unitermos: *Piper arboreum* subsp *arboretum*, *Piper dilatatum*, *Piper hispidum*, óleos essenciais, Distrito Federal, Mata Atlântica.

ABSTRACT: "Analysis of the essential oil of three species of *Piper* collected in the region of the Distrito Federal (Cerrado – Brazilian Savannah) and comparison with oils of plants from region of Paraty, State of Rio de Janeiro (Atlantic Rain Forest)". The chemical composition of the essential oils of three species of *Piper*, namely *Piper arboretum* subsp *arboretum*, *P. dilatatum* and *P. hispidum*, from the Cerrado (Brazilian savannah) was determined and compared with the composition of the oils from the same species collected in the Atlantic Rain Forest. Analyses were performed by gas chromatography and mass spectrometry using a HP5 capillary column. Sesquiterpenes were the major constituents of the oils. In *P. arboreum* subsp *arboreum*, biciclogermacre (12.1%), 10-epi- γ -eudesmol (11.6%) and caryophyllene oxide (10.1%) were the main constituents. For *P. dilatatum* *cis*- β -ocimene (19.6) and β -caryophyllene (11.3%) were the major compounds. The main components in *P. hispidum* oil were β -pinene (19.7%) and α -pinene (9.0%).

Keywords: *Piper arboreum* subsp *arboretum*, *Piper dilatatum*, *Piper hispidum*, essential oil, Brazilian savannah, Atlantic rain forest.

INTRODUÇÃO

A família Piperaceae é conhecida tradicionalmente como aromática. O gênero *Piper*, o mais representativo da família, comum em matas de galeria, inclui espécies já conhecidas como produtoras de óleo essenciais tais como *P. arboreum*, *Piper cernuum*, *P. hispidum*, *P. regnellii*, e *P. tuberculatum* (Silva et al., 1998; Constantin et al., 2001; Santos, 2001; Mesquita et al., 2005; Pessini et al., 2005).

Extratos de diversas espécies de *Piper* indicam aplicações medicinais e propriedades inseticidas, bactericidas e fungicidas (Constantin et al., 2001; Pessini et al., 2003; Bara; Vanetti, 1997/1998). A análise de algumas espécies mostrou a presença de compostos com ação psicotrópica, antimicrobiana, antioxidante, citotóxica, inseticida, fungicida e antileishmania. Várias destas espécies produzem óleos essenciais compostos por

monoterpenos, sesquiterpenos e arilpropanóides (Silva et al., 1998; Santos et al., 2001; Nakamura et al., 2006).

Estudos com populações silvestres de plantas aromáticas e medicinais, relacionando a composição química com área de ocorrência destas espécies, têm demonstrado a existência de variação genética entre plantas de diferentes populações (Vieira; Simon, 2000).

A variabilidade na produção e teor de óleos essenciais é conhecida por ser afetada por fatores ambientais tais como luz, disponibilidade de nutrientes, estação do ano, período do dia, ciclo e parte da planta (Muller-Riebau et al. 1997; Perri et al. 1999; Vesela et al. 1999; Carvalho-Filho et al., 2006), como também por fatores genéticos (Vieira et al., 2001; Skoula et al. 2000; Tavares et al., 2005).

Um exemplo de aproveitamento da variabilidade genética de compostos secundários é o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), do qual existem mais de 40 tipos

Tabela 1. Rendimento de óleo essencial de 3 espécies de *Piper* coletadas na Fazenda Sucupira, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Distrito Federal.

Espécie	Peso fresco Peso seco	Peso seco (g)	Volume (mL)	Rendimento (%)
<i>P. arboreum</i> subsp. <i>arboreum</i>	3,6	155	0,5	0,3
<i>P. dilatatum</i>	5,3	56	0,2	0,4
<i>P. hispidum</i>	4,0	124	0,4	0,3

descritos, a maioria comercializada nos Estados Unidos e Europa, com fins culinários, ornamentais e aromáticos (Simon et al. 1999). Estas variedades foram selecionadas por muitos anos, e para diferentes propósitos. A seleção de diferentes aromas em alfavacas buscando espécies de interesse para a indústria de cosméticos e higiene, levou à formação de tipos químicos ricos em certos compostos, sendo denominados em função de seus altos teores de linalol, metilchavicol, eugenol, citral, entre outros (Simon et al., 1999).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar quantitativa e qualitativamente o óleo essencial presente em *Piper arboreum* subsp. *arboreum* Aubl., *Piper dilatatum* Rich. e *Piper hispidum* Sw. que ocorrem no Distrito Federal e verificar se a composição do óleo essencial nestas espécies varia em relação ao relatado para estas espécies oriundas da Mata Atlântica (Santos et al., 2001).

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de *P. arboreum* subsp. *arboreum*, *P. dilatatum* e *P. hispidum* foram coletadas na Fazenda Sucupira, Brasília, de propriedade da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em março de 2004. As folhas foram retiradas dos ramos, pesadas e armazenadas em sacos de papel e secas em estufa de ar circulante a 38 °C por um período de 2 dias. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelhos de Clevenger modificados.

Para avaliação da composição dos óleos das espécies de *Piper*, foi utilizado um cromatógrafo a gas Agilent 6890N equipado com coluna capilar HP-5 (25m x 0,32mm x 0,25 µm). A programação de temperatura do forno foi de 60° a 240°C, a 3 °C/min, usando-se hidrogênio como gás carreador (1,4 mL/min). Foram injetados 0,05 µl de óleo puro no modo com divisão de fluxo (1:100; injetor a 250 °C). Os espectros de massa foram obtidos em um sistema Agilent 5973N operado no modo impacto de elétrons (EIMS) a 70 eV, acoplado a um cromatógrafo Agilent 6890 equipado com uma coluna HP-5 MS (30m x 0,25mm x 0,25 µm), usando o mesmo procedimento de injeção e programa de temperatura como descrito acima. O hélio foi o gás carreador (1,0 mL/min). Os índices de retenção foram calculados a partir dos tempos de retenção dos componentes dos óleos e aqueles de uma série de n-alcenos (C₇-C₂₆). A identificação dos constituintes foi realizada por comparação dos espectros de massa obtidos

com os dados de biblioteca espectral (Wiley 6th ed.) e pelos dos índices de retenção calculados e comparados com valores publicados (Adams, 2001).

RESULTADOS

O rendimento de óleo essencial de *Piper arboreum* subsp. *arboreum* foi de 0,3% (Tabela 1). Foram identificados 25 constituintes representando 70,2% do óleo essencial. Os únicos monoterpenos identificados foram δ-3-careno e linalol, representando apenas 2% do total do óleo volátil. Entre os demais constituintes 39,4% são sesquiterpenos não oxigenados e 27,3% são sesquiterpenos oxigenados. Os constituintes presentes em maior concentração foram biciclogermacreno (12,1%), 10-epi-γ-eudesmol (11,6%), espatulenol (8,4%), óxido de cariofileno (10,1%) e γ-eudesmol (6,7%). A composição deste óleo essencial é apresentada na Tabela 2.

A destilação das folhas de *P. dilatatum* forneceu 0,4% de óleo essencial (Tabela 1). Foram identificados 95,5% dos constituintes do óleo essencial correspondendo a 32 compostos, sendo 24,3% de monoterpenos não oxigenados, 5,4% de monoterpenos oxigenados, 24,3% sesquiterpenos não oxigenados e 27% sesquiterpenos oxigenados. Neste óleo volátil foram encontrados em maior quantidade *cis*-β-ocimeno (19,6%), β-cariofileno (11,3%), germacreno D (8,8%), biciclogermacreno (8,8%), espatulenol (6,5%) e óxido de cariofileno (5,3%) (Tabela 2).

A destilação das folhas de *Piper hispidum* teve rendimento de 0,3% (Tabela 1). Foram identificados 26 compostos no óleo essencial, sendo que destes 23% são monoterpenos não oxigenados, 11,5% monoterpenos oxigenados, 15,4% sesquiterpenos não oxigenados e 34,6% sesquiterpenos oxigenados. Os constituintes em maior quantidade foram: β-pineno (19,7%), α-pineno (9,0%), δ-3-careno (7,4%), α-cadinol (6,9%) e espatulenol (6,2%) (Tabela 2).

DISCUSSÃO

A avaliação da composição dos óleos voláteis de *P. arboreum* subsp. *arboreum* coletados na Mata Atlântica por Santos et al. (2001) mostrou que cerca de 66% deste óleo essencial é constituído de sesquiterpenos, sendo um resultado semelhante ao observado para a mesma espécie oriunda do Distrito Federal. No óleo obtido da espécie

Tabela 2. Constituintes presentes no óleo essencial de *Piper arboreum* subsp. *arboreum*, *P. dilatatum* e *P. hispidum* do Distrito Federal.

Constituintes ^a	IR ^b	<i>P. arboreum</i>	<i>P. dilatatum</i>	<i>P. hispidum</i>
α-pineno	938	-	0,5	9,0
Sabineno	977	-	0,9	-
β-pineno	981	-	-	19,7
Mirceno	992	-	0,7	0,5
α-felandreno	1007	-	0,3	-
δ-3-careno	1012	0,9	-	7,4
p-cimeno	1028	-	0,7	1,2
Limoneno	1032	-	2,9	1,3
<i>Trans</i> -β-ocimeno	1040	-	3,3	-
<i>Cis</i> -β-ocimeno	1052	-	19,7	-
γ-terpineno	1062	-	0,3	-
Linalol	1100	1,1	0,8	-
Trans-pinocarveol	1143	-	-	1,1
E-miroxido	1145	-	0,3	-
Mirtenol	1198	-	-	1,3
<i>Trans</i> -piperitol	1207	-	-	1,0
Acetato de bornila	1291	-	-	1,0
Acetato de isoverbenila	1308	-	-	1,5
δ-Elemeno	1341	0,3	-	-
Acetato de 4-terpenila	1342	-	-	1,5
Acetato de nerila	1371	-	-	2,7
β-Elemeno	1394	0,8	2,2	-
β-Cariofileno	1423	3,0	11,4	-
β-Gurjuneno	1433	0,1	-	-
Trans-α-bergamoteno	1439	-	0,9	-
Aromadendreno	1443	0,1	-	-
α-humuleno	1457	0,5	1,7	-
Aloaromadendreno	1464	0,2	0,6	-
γ-Muuroleno	1480	0,3	-	3,1
Germacreno D	1484	1,5	8,9	-
β-selineno	1489	0,2	-	1,1
α-muuroleno	1497	-	-	2,9
Biciclogermacreno	1499	12,1	8,8	-
Germacreno A	1508	-	1,4	-
Z-α-bisaboleno	1509	0,6	-	-
Cubebol	1518	0,9	0,8	-
δ-cadineno	1527	0,5	0,8	-
α-agarofurano	1550	0,2	-	-
Elemol	1553	1,5	2,4	-
Germacreno B	1561	-	2,8	-

Continua

<i>Cis</i> -calameneno	1566	-	-	2,0
Nerolidol	1567	2,3	2,8	-
Espatulenol	1581	8,4	6,5	6,2
Óxido de cariofileno	1587	10,2	5,3	4,0
Viridiflorol	1597	-	-	1,4
Khusimono	1606	-	0,9	-
Epóxido de humuleno II	1613	1,0	1,0	-
10-epi- γ -eudesmol	1627	-	-	-
α -acorenol	1632	-	0,9	1,8
γ -eudesmol	1637	-	-	-
Cubenol	1646	-	-	3,4
β -eudesmol	1655	11,6	1,6	3,9
α -cadinol	1658	6,7	1,4	6,9
Valeraniol	1660	5,1	-	-
Total de constituintes identificados (%)		70,2	95,5	73,9

^a Listado em ordem de tempo de retenção(min), ^b IR=índice de retenção

da Mata Atlântica os constituintes majoritários foram γ -eudesmol, α -eudesmol e bulnesol, enquanto que no óleo do material coletado no Cerrado bicilogermacreno, β -cariofileno e 10-epi- γ -eudesmol estavam presentes em maior quantidade (Tabela 3). Apesar da semelhança nas classes dos constituintes, apenas 8 constituintes estão presentes nos dois óleos.

A composição do óleo essencial de *P. dilatatum* do Distrito Federal (Cerrado) apresentou 15 constituintes em comum com a mesma espécie oriunda da Mata Atlântica. As relações entre monoterpenos e sesquiterpenos, entretanto, são diferentes. Neste estudo, na amostra da região do Distrito Federal (Cerrado) predominaram os sesquiterpenos; na amostra proveniente da Mata Atlântica (Santos et al., 2001) predominaram os monoterpenos (Tabela 3).

No óleo de *P. hispidum* da região do Distrito Federal (Cerrado) verificou-se a presença de 33,5% de monoterpenos, enquanto que no óleo essencial proveniente da Mata Atlântica foram encontrados apenas 2% (Tabela 3). A composição do óleo volátil e seus componentes principais foi diferente nas plantas do Distrito Federal e da Mata Atlântica, sendo apenas 6 dos constituintes iguais: α -pineno, β -pineno, espatulenol, óxido de cariofileno, epóxido de humuleno II e cubenol.

A composição do óleo essencial de espécies de *Piper* foi bastante diferente para *P. arboreum*, *P. dilatatum* e *P. hispidum* da Mata Atlântica e do Cerrado. Estas diferenças, podem ser devidas a fatores ambientais ou genéticos, sendo necessários estudos em ambiente controlado com plantas das duas procedências para estabelecer conclusões mais definitivas.

CONCLUSÕES

O rendimento de óleo essencial de *P. arboreum*, *P. dilatatum* e *P. hispidum* no Cerrado variou entre 0,3 e 0,4%. Houve predominância de sesquiterpenos em todas as espécies. Apenas espatulenol, óxido de cariofileno, β -eudesmol, α -cadinol foram comuns às três espécies estudadas no cerrado.

A composição dos óleos essenciais de *Piper arboreum*, *P. dilatatum* e *P. hispidum* procedentes do Cerrado e da Mata Atlântica apresentou grandes variações. Poucos constituintes aparecem em ambos os óleos das diferentes localidades, e nenhum constituinte majoritário foi coincidente.

O reconhecimento da existência de raças químicas é importante quando se pensa na coleta de plantas medicinais e aromáticas, tanto para estudos químicos e farmacológicos, como para estudos agrônômicos, nos quais se tenta avaliar e melhorar a capacidade destas plantas de produzirem determinado constituinte químico. É fundamental que a conservação e o uso dos recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas tenham como base a coleta de germoplasma preservando as diferentes raças químicas existentes, permitindo ao usuário deste material genético acesso a uma maior variabilidade química.

É importante considerar que o uso de espécies com potencial medicinal e mesmo industrial deve ser precedido de um estudo de avaliação geográfica em relação à produção das substâncias de interesse. Além da variabilidade química apresentada decorrente de diferentes ambientes, é importante considerar as variações decorrentes de diferenças genéticas, que são fundamentais para uma abordagem posterior para domesticação e melhoramento das espécies de interesse.

Tabela 3. Comparação entre os constituintes do óleo essencial de espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica) (Santos et al., 2001).

Espécie	Local	Nº constituintes coincidentes	Mo ^a (%)	Mo Ox ^b (%)	Sesq ^c (%)	Sesq Ox ^d (%)	Nº Total de constituintes	Compostos majoritários
<i>P. arboreum</i> subsp <i>arboreum</i>	Cerrado	8	8,0	0,0	39,4	27,0	25	Biciclogemacreno (12,1%) Óxido de cariofileno (10,2%) 10-epi-γ-eudesmol (11,6%)
<i>P. dilatatum</i>	Mata Atlântica		4,0	0,2	22,6	43,3	27	γ-eudesmol (14,6%) α-eudesmol (12,2%) Bulnesol (8,1%)
<i>P. dilatatum</i>	Cerrado	15	24,3	5,4	24,3	27,0	32	cis-β-ocimeno (19,7%) β-cariofileno (11,4%) Espatuleno (6,5%)
<i>P. hispidum</i>	Mata Atlântica		60,3	2,8	11,0	1,0	31	α-pineno (17,7%) α-felandreno (41,8%) 1,8 cineol (2,7%)
<i>P. hispidum</i>	Cerrado	6	23,0	11,5	15,4	34,6	26	α-pineno (9,0%) β-pineno (19,7%) p-cimeno (7,4%)
<i>P. hispidum</i>	Mata Atlântica		1,7	0,0	52,1	18,1	23	β-cariofileno (9,0%) α-cariofileno (19,7%) Germacreno D (7,4%)

^aMonoterpenos, ^bmonoterpenos oxigenados, ^csesquiterpenos, ^dsesquiterpenos oxigenados.

REFERENCIAS

- Adams R.P 2001. *Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy*. Carol Stream IL: Allured Publishing Corporation, 456 pp.
- Bara MTF, Vanetti MCD 1997-1998. Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais. *Rev Bras Farmacogn* 7-8: 22-34.
- Carvalho-Filho JLS, Blank AF, Alves PB, Ehlert PAD, Melo AS, Cavalcanti SCH, Arrigoni-Blank MF, Silva-Mann R 2006. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Rev Bras Farmacogn* 16: 24-30.
- Constantin MB, Sartorelli P, Limberger R, Henriques AT, Stepe M, Ferreira MJP, Ohara MT, Emerenciano VP, Kato MJ 2001. Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnellii*: Antimicrobial activities and analysis by GC/MS and ¹³C-NMR. *Planta Med* 67: 771-773.
- Mesquita JMO, Cavaleiro C, Cunha AP, Lombardi JA, Oliveira AB 2005. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. *Rev Bras Farmacogn* 15: 6-12.
- Muller-Riebau FJ, Berger BM, Yegen O, Cakir C 1997. Seasonal variation in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing in Turkey. *J Agric Food Chem* 45:4821-4825.
- Nakamura CV, Santos AO, Vendrametto MC, Luize PS, Dias-Filho BP, Cortez DAG, Ueda-Nakamura T 2006. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Rev Bras Farmacogn* 16: 61-66.
- Perri NB, Anderson RE, Brennan NJ, Douglas MH, Heaney AJ, McGimpsey JA, Smallfield BM 1999. Essential oils from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.): Variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. *J Agric Food Chem* 47:2048-2054.
- Pessini GL, Holetz FB, Sanches NR, Cortez DAG, Dias-Filho BP, Nakamura CV 2003. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. *Rev Bras Farmacogn* 13(Supl. 1): 21-24.
- Pessini GL, Dias-Filho BP, Nakamura CV, Ferreira AG, Cortez DAG 2005. Neolignanas e análise do óleo essencial das folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Rev Bras Farmacogn* 15: 199-204.
- Santos PRD, Moreira DL, Guimarães EF, Kaplan MAC 2001. Essential oil analysis of 10 Piperaceae species from the Brazilian Atlantic Forest. *Phytochemistry* 58: 547-551.
- Simon JE, Morales MM, Phipper W, Vieira RF, Zao Z 1999. Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. In: Janick, J. *New Crops and New Uses: Biodiversity and Agricultural Sustainability*. ASHS press. pp. 499-505.
- Silva RV, Navickiene HMD, Kato MJ, Bolzani VS, Méda CI, Young MCM, Furlan M 1998. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* 49: 461-464.
- Skoula M, Abbas JE, Johnson CB 2000. Genetic variation of volatile oils and rosmarinic acid in populations of *Salvia sufruticosa* Mill. growing in Greece. *Biochem Syst Ecol* 28:551-561.
- Tavares ES, Julião LS, Lopes D, Bizzo HR, Lage CLS, Leitão SG 2005. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. *Rev Bras Farmacogn* 15: 1-5.
- Vesela D, Sman D, Valteronová I, Vanek T 1999. Seasonal variations in the contents of taxanes in the bark of *Taxus baccata* L. *Phytochem Anal* 10:319-321.
- Vieira RF, Simon JE 2000. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) germplasm used in the markets and traditional medicine in Brazil. *Econ Bot* 54: 207-216.
- Vieira RF, Grayer R, Paton A, Simon JE 2001. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. *Biochem Syst Ecol* 29: 287-304.