

Comportamento do composto majoritário de óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia sob armazenamento

Comunicação

Jacson Rondinelli da Silva Negreiros¹, Daniela Popim Miqueloni^{2*}, Virgínia de Souza Álvares³

Resumo

Devido à importância econômica do safrol, dilapiol e sarisan, objetivou-se analisar seus teores nos óleos essenciais de *Piper hispidinervum*, *P. aducum* e *P. affinis hispidinervum*, respectivamente, ao longo do tempo de armazenamento. No ensaio experimental foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo 2 x 3 x 15 (dois recipientes de vidro: âmbar e transparente; três ambientes: interno ao laboratório, externo e geladeira; e tempo: 15 leituras durante 12 meses) com três repetições, análise de variância e regressão a 5%. O óleo essencial foi extraído da biomassa seca de indivíduos das três espécies e o teor dos compostos majoritários quantificados por cromatografia gasosa. Houve alterações nos teores de todos os compostos, tendendo à concentração com o tempo no armazenamento em ambiente externo e interno para safrol e sarisan, respectivamente, e ambos com recipiente âmbar e externo para dilapiol com recipiente transparente.

Palavras-chave: Dilapiol. Pimenta. Safrol. Sarisan.

Behavior of major compound of essential oils from Amazon *Piper* species under storage

Communication

Abstract

Due to the economic importance of safrole, dilapiolle and sarisan, it was aimed to analyze their levels in essential oil contents of *Piper hispidinervum*, *P. aduncum* and *P. affinis hispidinervum* respectively, through time. Experimental design was completely randomized in triple factorial scheme 2 x 3 x 15 (two glass flasks: amber and transparent; three environments: internal to laboratory, external, and refrigerator;

¹Doutor em Genética e Melhoramento, Pesquisador da Embrapa Acre

²Mestre em Ciência do Solo, Doutoranda em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Acre

*Autora correspondente: danimique@yahoo.com.br

³Doutora em Fitotecnia, Pesquisadora da Embrapa Acre.

Recebido para publicação em 04 de abril de 2017

Aceito para publicação em 18 de julho de 2017

and time: 15 readings over 12 months) with three repetitions, analysis of variance and regression at 5%. The essential oil was extracted from dry biomass of the three species-individuals, according to treatments, and content of the major compounds quantified by gas chromatography. There have been changes in the levels of all compounds, tending to concentration along time and with external and internal storage of safrole and sarisan, respectively; both with amber flask, and external to dilapiolle with transparent flask.

Keywords: Dilapiol. Pepper. Safrol. Sarisan.

A Amazônia é fonte de diversos produtos naturais e dentre eles os óleos essenciais, compostos metabólitos secundários produzidos por diversas plantas, que se destacam pela ampla aplicação (SILVA *et al.*, 2013; TUREK; STINTZING, 2013) e, por consequência, pela alta demanda industrial (BERGO; MENDONÇA; SILVA, 2005; GUIMARÃES *et al.*, 2008). Dentre as plantas de maior produção de óleos essenciais estão as piperáceas, como a *Piper hispidinervum* (pimenta longa), *P. aduncum* (pimenta de macaco) e *P. affinis hispidinervum* (um quimiotipo da pimenta longa), das quais são extraídos os compostos majoritários: safrol, dilapiol e sarisan, respectivamente. Estes fenilpropanóides possuem atividade inseticida, bactericida, fungicida, além de usos medicinais e na indústria de perfumaria (BIZZO *et al.*, 2001).

A demanda por estes compostos incentiva pesquisas relacionadas ao melhoramento, cultivo e manejo das espécies (BERGO; MENDONÇA; SILVA, 2005; NEGREIROS; MIQUELONI, 2013). No entanto, estudos relacionados ao armazenamento do óleo essencial dessas espécies são escassos (TUREK; STINTZING, 2013), uma vez que este é geralmente obtido em campo, com armazenamento em grandes recipientes sob condições ambientais diversas, sem qualquer base experimental. Desse modo, a forma de armazenamento pode interferir na quantidade e qualidade do composto majoritário dos óleos essenciais. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar o comportamento dos teores dos compostos majoritários dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum*, *P. aducum* e *P. affinis hispidinervum* com relação aos tipos de recipiente e ambiente de armazenamento ao longo do tempo.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Óleos da Embrapa Acre durante o período de maio de 2012 a maio de 2013, a partir da

extração do óleo essencial de biomassa seca de indivíduos de *Piper hispidinervum*, *P. aduncum* e *P. affinis hispidinervum* coletadas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Acre em Rio Branco. O município está localizado a 9°58'22"S de latitude e 67°48'40"W de longitude (datum WGS 84), a 160 m de altitude. O clima da região é classificado como Aw (quente e úmido), conforme a classificação de Köppen, com temperaturas médias variando de 31°C a 21°C, precipitação anual de 1.940 mm e umidade relativa de 80%.

Para a análise do comportamento do óleo essencial ao longo do tempo de armazenamento foram determinadas duas condições: frascos de vidro comuns com capacidade de 50 mL de coloração âmbar ou transparente, lacrados com filme de PVC e preenchidos totalmente com óleo, de forma a verificar a interferência da luz no teor do composto majoritário do óleo essencial; e o ambiente onde os recipientes foram acondicionados, consistindo este em: interno ao laboratório (temperatura média de 25±5°C); externo ao laboratório, onde os recipientes foram submetidos às oscilações climáticas, com incidência direta de luz solar e sujeitos a amplitudes térmicas variáveis ao longo do dia (TABELA 1), e em geladeira (temperatura constante de 15±0,5°C) de modo a se verificar a interferência da temperatura sobre os compostos majoritários de cada óleo.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial triplo 2 x 3 x 15 (dois recipientes de vidro para armazenamento do óleo: âmbar e transparente; três ambientes de armazenamento: interno, externo e geladeira; e tempo: 15 leituras ao longo de 12 meses, com intervalos de três a quatro semanas entre as leituras). Foram utilizadas três repetições, totalizando 54 amostras por leitura, incluindo as três espécies.

Tabela 1 – Dados climatológicos no período do experimento. Rio Branco, AC

Mês/ano	ER (mm)	IT (horas)	NM (décimo)	DP	TMax	TMed	TMin	UR (%)
Mai/2012	110,16	207,80	5,67	13	31,23	24,92	20,62	85,93
Jun/2012	96,30	206,60	5,31	10	30,37	24,40	19,90	86,21
Jul/2012	85,57	280,50	3,71	3	31,48	23,35	17,68	79,77
Ago/2012	103,45	266,50	3,81	6	33,54	24,51	18,50	75,36
Set/2012	88,81	223,40	5,21	6	34,41	26,15	21,03	79,28
Out/2012	139,08	189,80	6,99	16	32,96	26,30	22,31	84,01
Nov/2012	137,21	148,70	7,64	22	31,92	26,35	23,22	87,54
Dez/2012	134,53	136,70	7,74	20	31,24	25,91	22,88	87,90
Jan/2013	137,30	134,50	8,13	22	31,52	26,18	22,99	89,06
Fev/2013	122,00	97,50	7,55	19	30,63	26,12	23,10	89,33
Mar/2013	127,51	102,50	8,02	23	30,99	25,89	22,94	90,50
Abr/2013	110,35	207,50	5,78	11	32,19	25,99	21,77	84,63
Mai/2013	66,91	168,30	6,72	2	31,12	25,30	21,53	87,04

ER: evapotranspiração real; IT: insolação total; NM: nebulosidade média; DP: número de dias com precipitação; TMax: temperatura máxima; TMed: temperatura média; TMin: temperatura mínima e UR: umidade relativa do ar.

Fonte: INMET, (2017).

Para a análise do óleo essencial, foram coletadas, para cada espécie, amostras da biomassa aérea contendo folhas e ramos finos, que foram levadas para um secador solar por 4 a 6 dias com revolvimento diário até atingir umidade média de 10%. Para verificação do efeito do armazenamento na estabilidade dos óleos, analisou-se o teor do componente majoritário de cada óleo essencial das espécies: safrol para *P. hispidinervum*; dilapiol para *P. aduncum* e sarisan para *P. affinis hispidinervum*.

Para determinação dos teores de safrol, dilapiol e sarisan (%), os óleos essenciais foram extraídos pelo método de coação ou de recirculação de água condensada conforme Heath (1977). Nas extrações, para cada espécie foram utilizados 35 g de biomassa aérea seca picotada. As amostras foram acondicionadas separadamente em balão volumétrico, misturadas a 450 mL de água destilada e submetidas à temperatura de ebulição da água em manta aquecedora por 60 minutos. No final desse período, a fração mais densa constituída de óleo foi coletada segundo Santos *et al.* (2004). Para quantificação, foi utilizado cromatógrafo gasoso (HP, modelo 6890, Palo Alto, US), com coluna (Agilent J&W DB-5ht modelo 123-5731) de 3,2 mm de diâmetro por

30 m de comprimento e detector de ionização de chama. A temperatura do injetor foi de 300°C e velocidade do gás de arraste (hélio) de 5 mm/min. Os óleos foram solubilizados em metanol (100 µL de óleo/900 µL de solvente) e injetado 1 µL de solução; Split 1:20. A temperatura inicial foi de 80°C, subindo a 250°C nos primeiros 17 minutos, finalizando aos 20 min. Os padrões dos tempos de retenção foram: safrol 7'09", sarisan 12'52" e dilapiol 15'60".

Os resultados dos teores de cada composto majoritário dos óleos essenciais foram submetidos à análise de variância (Anova) e análise de regressão a 5% de probabilidade no programa Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2011).

Foram observadas interações entre todos os fatores para as três espécies de *Piper*, com ajustes do modelo de regressão acima de 70%. Houve tendência de concentração máxima de safrol, sarisan e dilapiol no óleo nos ambientes interno e externo ao laboratório, independente do tipo de recipiente, possivelmente pela presença de compostos minoritários e voláteis nos óleos. Exceto o dilapiol, que não mostrou ajuste de regressão para o ambiente interno e recipiente transparente (TABELA 2).

Tabela 2 – Modelos de regressão, coeficiente de determinação (R^2) e ponto de máxima concentração (máximo) em meses de armazenamento para cada composto majoritário. Rio Branco, AC

Ambiente		Recipiente Âmbar		
		Modelo*	R^2	Máximo (meses)
Safrol	Interno	$y = -0,0116x^2 + 0,2816x + 88,288$	0,79	10
	Externo	$y = -0,0048x^2 + 0,1763x + 88,742$	0,86	15
	Geladeira	sem ajuste	-	-
Sarizan	Interno	$y = -0,002x^2 + 0,0753x + 75,394$	0,72	90
	Externo	$y = 0,006x^2 + 0,0157x + 75,528$	0,80	15
	Geladeira	sem ajuste	-	-
Dilapiol	Interno	$y = -0,0124x^2 + 0,507x + 75,074$	0,71	16
	Externo	$y = -0,0255x^2 + 0,6027x + 75,167$	0,71	9
	Geladeira	sem ajuste	-	-
Recipiente Transparente				
Safrol	Interno	$y = -0,0073x^2 + 0,1949x + 88,587$	0,81	11
	Externo	$y = -0,0099x^2 + 0,3161x + 88,726$	0,88	13
	Geladeira	sem ajuste	-	-
Sarizan	Interno	$y = -0,0014x^2 + 0,0573x + 75,516$	0,71	16
	Externo	$y = -0,0165x^2 + 0,3092x + 75,377$	0,65	9
	Geladeira	sem ajuste	-	-
Dilapiol	Interno	sem ajuste		-
	Externo	$y = -0,0314x^2 + 0,6777x + 75,665$	0,70	9
	Geladeira	sem ajuste	-	-

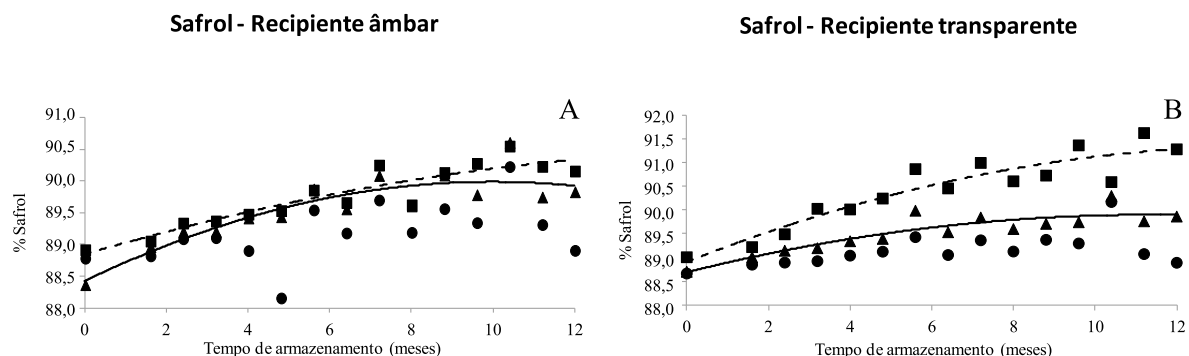
* significativo a 5%.

Fonte: Elaborada pelos autores, 2017.

Todos os tratamentos envolvendo o armazenamento sob refrigeração em geladeira não obtiveram ajustes da curva de regressão, possivelmente pela condição ambiental ser mais estável em função do controle da temperatura e incidência de luz, com maior equilíbrio dos óleos (GRÁFICOS 1, 2 e 3). No entanto, a variabilidade do dilapiol foi maior, com coeficiente de variação de 0,94%, se comparado a 0,19% e 0,23% do

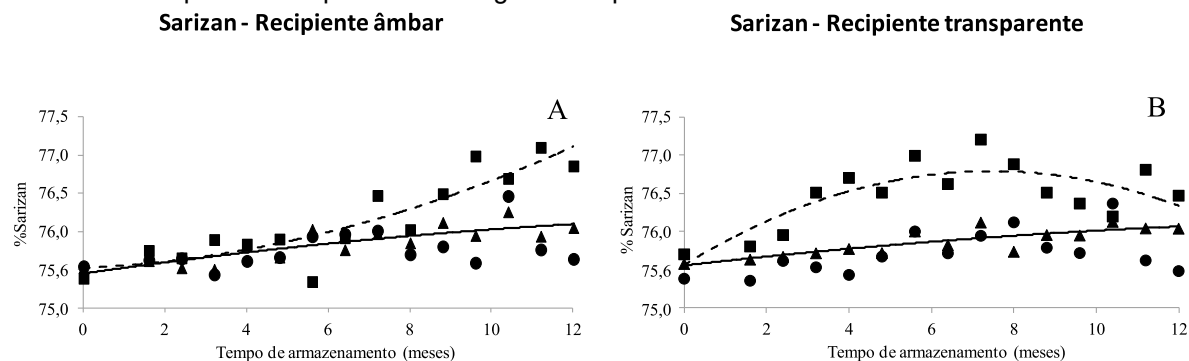
safrol e sarizan, respectivamente. Os pontos de máxima concentração estimados pelas curvas de regressão variaram segundo o tratamento, sendo estes de 9 a 90 meses (TABELA 2). Já o sarizan apresentou um ajuste quadrático de curva ascendente para o tratamento com recipiente âmbar e ambiente externo, indicando que, provavelmente, o ponto de máxima concentração não tenha sido atingido pelo período de análise.

Gráfico 1 – Modelos de regressão ajustados para os teores de safrol em ambiente interno (▲, ajuste —), externo (■, ajuste - - -) e refrigerado (●, sem ajuste) para: A) recipiente âmbar e B) recipiente transparente ao longo do tempo



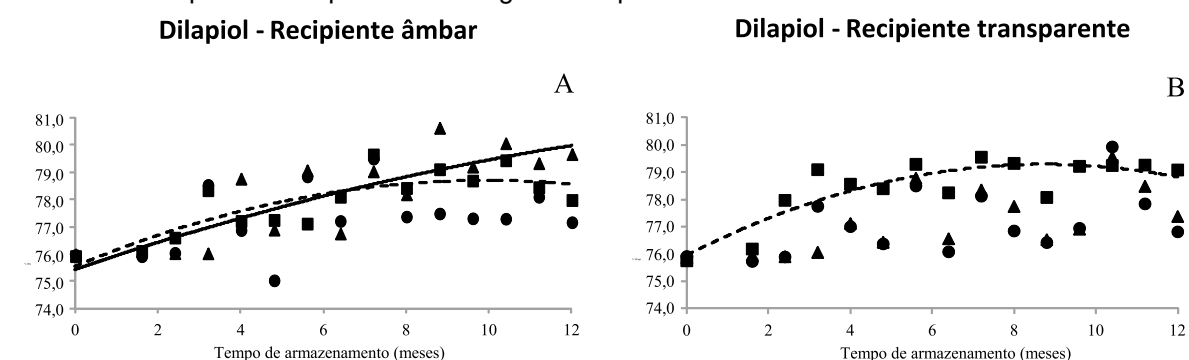
Fonte: Elaborado pelos autores, 2017.

Gráfico 2 – Modelos de regressão ajustados para os teores de sarizan em ambiente interno (▲, ajuste —), externo (■, ajuste - - -) e refrigerado (●, sem ajuste) para: A) recipiente âmbar e B) recipiente transparente ao longo do tempo



Fonte: elaborado pelos autores, 2017.

Gráfico 3 – Modelos de regressão ajustados para os teores de dilapiol em ambiente interno (▲, sem ajuste), externo (■, ajuste - - -) e refrigerado (●, sem ajuste) para: A) recipiente âmbar e B) recipiente transparente ao longo do tempo



Fonte: Elaborado pelos autores, 2017.

O teor dos compostos majoritários é amplamente influenciado pelo manejo, cultivo e extração para diversas espécies (BERGO; MENDONÇA; SILVA, 2005; NEGREIROS; MIQUELONI, 2013). Segundo Turek e Stintzing (2013), o armazenamento provoca alterações significativas no óleo essencial, principalmente

quanto à concentração dos compostos, o que pode ocorrer pela oxidação, com perda de componentes (GUIMARÃES *et al.*, 2008) ou concentração pela perda dos compostos minoritários mais voláteis (CHOE; MIN, 2006), devido a atuação da temperatura e, principalmente, da luz. Esta pode ser uma hipótese verificada no atual trabalho, uma vez

que o teor dos compostos majoritários tendeu à maior concentração ao longo do armazenamento em ambiente externo. Entretanto os compostos voláteis não foram determinados. Guimarães *et al.* (2008) observaram que a luz e temperatura degradaram os compostos majoritários do óleo de *Cymbopogon citratus*. Da mesma forma, Silva *et al.* (2013) verificaram que, para o óleo essencial de *Baccharis trimera*, o tipo da embalagem também atua na manutenção das características do óleo, não havendo, contudo, alterações neste quando armazenado sob refrigeração, como observado por Silva *et al.* (2010), o que indica comportamento distinto entre os tipos de compostos de cada óleo.

A reação do óleo sob armazenamento ainda dependerá de vários fatores, como estrutura molecular, energia e impacto das reações adjacentes dos compostos voláteis e, principalmente, da concentração de oxigênio, que pode acelerar as reações envolvidas (TUREK; STINTZING, 2013). Óleos armazenados em recipientes pela metade da sua capacidade tendem a sofrer maior degradação que os completamente cheios, oxidando principalmente monoterpenos de forma acentuada ao longo do tempo (CHOE; MIN, 2006). Além disso, óleos de diferentes plantas respondem de forma diversa. Turek e Stintzing (2013) revisando o armazenamento do óleo de *Thymus*

vulgaris não observaram alterações significativas, enquanto que o óleo de *Rosmarinus officinalis* se mostrou muito suscetível à luz, mudando sua composição com aumento de compostos oxidados e diminuição dos monoterpenos. Os autores também observaram um aumento nos componentes minoritários de *Lavandula angustifolia* devido à quebra pela incidência de luz e a síntese de outros compostos após um mês de armazenamento, porém com degradação ao longo do tempo.

Neste contexto, para o óleo essencial de *Piper* a forma de armazenamento interfere nos teores dos compostos majoritários estudados ao longo do tempo. Para as três espécies, o ambiente e o recipiente influenciam a concentração do teor do composto majoritário. Há concentração de safrol e sarizan no ambiente interno e externo, respectivamente, ambos com o recipiente âmbar, já para o dilapiol, em ambiente externo apenas o recipiente transparente contribui para concentrar seu teor. O Armazenamento sob refrigeração não mostra diferenças na concentração dos compostos majoritários.

Agradecimentos

Ao Tesouro Nacional pelo recurso financeiro.

Referências

- BERGO, C. L.; MENDONÇA, H. A.; SILVA, M. R. Efeito da época e frequência de corte de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) no rendimento de óleo essencial. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 35, n. 2, p. 111-117, abr./jun. 2005.
- BIZZO, H. R. *et al.* Sarisan from leaves of *Piper affinis hispidinervum* C. DC (long peper). **Flavour and Fragrance Journal**, Hoboken, v. 16, n. 2, p. 113-115, Mar./Apr. 2001.
- CHOE E.; MIN, D. B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Malden, v. 5, n. 4, p. 169-86, Sep. 2006.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, nov./dez. 2011.
- GUIMARÃES, L. G. de L. *et al.* Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF). **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 1476-1480, [jul.] 2008.
- HEATH, H. B. Flavorings, condiments and relishes. In: DESROSIER, N. W. (Ed.). **Elements of Food Technology**. The Avipublishing Company: Wesport, 1977. p. 666-701.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. INMET - BDMEP - **Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa**. Disponível em < <https://goo.gl/z9Jdc6> >. Acesso em 14 jan. 2017.
- NEGREIROS, J. R. da S.; MIQUELONI, D. P. Teor de dilapiol em função do tipo de biomassa aérea em populações de *Piper aduncum*. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, PA, v. 56, n. 1, p. 73-79. [jan./mar.] 2013.
- SANTOS, A. S. *et al.* **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Embrapa Amazônia Oriental: Belém, PA, 2004. 6 p. (Comunicado técnico, 99).
- SILVA, F. *et al.* Avaliação do teor de óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em diferentes embalagens durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 15, n. 1, p. 54-58, [jan./mar.] 2013.
- SILVA, F. G. *et al.* Influência do processamento pós-colheita e armazenamento na composição química da droga vegetal e do óleo essencial de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.]. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 12, n. 4, p. 436-442, [out./dez.] 2010.
- TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Malden, v. 12, n. 1, p. 40-53, Jan. 2013.