**INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper longum* Linn**

Raissa Gerald Santos1; Jamile Silva da Costa 2; Pablo Luis Baia Figueiredo3

1 Especialista em Produtos Naturais derivados de plantas. Faculdade Iguaçu.

raissagerald@gmail.com

2 Doutoranda em Farmacologia e Bioquímica. Universidade Federal do Pará.

jamile.costa@ics.ufpa.br

3 Doutor em Química. Universidade Federal do Pará.

pablo.figueiredo@uepa.br

**RESUMO**

*Piper longum* Linn (Piperaceae), conhecida popularmente como "pimenta longa", apresenta potencial na produção de óleo essencial com diversas propriedades biológicas. No contexto das mudanças climáticas a composição química e o rendimento podem ser afetados pelas variações sazonais, influenciando sua aplicabilidade farmacológica. O objetivo do trabalho foi investigar a influência da sazonalidade na extração de compostos bioativos no óleo essencial de *P. longum*. Para tanto, um espécime foi obtido na região metropolitana de Belém, Pará, Brasil, durante diferentes períodos climáticos: chuvoso, transição e seco, com coletas bimestrais. As folhas foram submetidas à hidrodestilação por 3 horas em um aparelho Clevenger, e suas composições químicas foram analisadas por cromatografia gasosa/espectrometria de massas. Análises estatísticas avaliaram as influências climáticas sobre os rendimentos e a composição do óleo essencial. Observou-se que o maior rendimento ocorreu no período chuvoso (1,2%) e o menor no seco (0,7%). Estastisticamente, a produção de óleo essencial foi independente dos agentes sazonais. A classe química predominante foi a dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (52,4 – 72,2%). Os principais constituintes bioativos identificados foram o sesquiterpeno *E*-cariofileno e o sesquiterpeno oxigenado *E*-nerolidol, com concentrações que variaram ao longo das estações. O período de transição (maio) foi indicado com maior concentração de sesquiterpenos anti-inflamatórios, sendo o *E*-cariofileno com o teor de 21,7% , e o *E*-nerolidol com 29,8%. Apesar da mínima influência dos fatores sazonais na produção e composição química, é necessário o monitoramento para ajustar as coletas a períodos de maior concentração, além de estudos adicionais para validar as atividades biológicas desses compostos. Assim, o estudo contribui para o conhecimento fitoquímico desta espécie na região amazônica paraense.

**Palavras-chave:** Metabólitos secundários; Mundanças climáticas; Atividade anti-inflamatória.

**Área de Interesse do Simpósio**: Ciências Exatas e da Terra.

**1. INTRODUÇÃO**

A região Amazônica abriga diversas espécies vegetais de relevância econômica, medicinal e ecológica. Entre essas, *Piper longum* Linn (Piperaceae), conhecida como "pimenta longa", destaca-se pela produção de óleo essencial com propriedades biológicas diversas, incluindo atividades inseticida, acaricida, antifúngica, antibacteriana, anti-inflamatória, analgésica, antidiabética e anti-helmíntica (Singh *et al*., 2009; Kumar; Sharma; Vasudeva, 2013; Taiz *et al*., 2017).

Análises fitoquímicas do óleo essencial de *P. longum* demonstram uma composição predominante de fenilpropanóides como safrol, dilapiol e miristicina, e uma concentração significativa de terpenos como limoneno, *E*-cariofileno e espatulenol (Varughese *et al.,* 2016). Os metabólitos secundários são necessários para defesa contra estresses ambientais e bióticos, no entanto, sua biossíntese pode ser influenciada por diversos fatores bioquímicos, ecológicos, fisiológicos e sazonais (Ramos *et al*., 2020).

As condições climáticas da Amazônia, com suas variações sazonais, podem afetar diretamente a biossíntese de metabólitos secundários. Altas temperaturas tendem a aumentar a concentração de óleos essenciais nas plantas, embora possam resultar em perda excessiva desses produtos. Estresses hídricos durante as estações seca e chuvosa também podem alterar a concentração e o perfil químico dos compostos voláteis (Gouvea, Gobbo-Neto e Lopes, 2012).

Entretanto, o aquecimento global tem alterado padrões climáticos e desestabilizado o equilíbrio ambiental, representando um grave risco para a biodiversidade da Amazônia (Carvalho *et al.*, 2024). Alterações significativas na precipitação e temperatura têm impacto profundo na região, dessa forma é fundamental a compreensão desses efeitos para desenvolver estratégias de manejo sustentável dos compostos bioativos de espécies amazônicas (Zogahib *et al*., 2024).

Nessa perspectiva, diante das aceleradas mudanças climáticas é relevante o conhecimento sobre os padrões sazonais de biossíntese das espécies aromáticas amazônicas. A presente pesquisa visou investigar a influência da sazonalidade na extração de compostos bioativos no óleo essencial de *Piper longum L*., na Amazônia paraense.

**2. MATERIAL E MÉTODOS**

2.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

A amostra botânica foi coletada na região metropolitana de Belém, Pará, e monitorada durante os períodos climáticos: chuvoso (fevereiro), transição (maio) e seco (agosto). As coletas bimestrais basearam-se na fenologia da espécie (Verçoza, 2023). Uma exsicata foi preparada e registrada no herbário Dra. Marlene Freitas da Silva, da Universidade do Estado do Pará (MFS009529) e no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (AB059EE).

2.2 SECAGEM, PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO E EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

O material botânico foi seco à temperatura ambiente por sete dias, moído e submetido à hidrodestilação por três horas em um aparelho Clevenger modificado e sistema de refrigeração a 10-15 ºC (Costa *et al*., 2022). Os óleos essenciais extraídos foram centrifugados, desidratados com sulfato de sódio anidro (Na2SO4) e tiveram seus percentuais de rendimento determinados a partir das biomassas livres de umidade (Equação 1). A umidade residual foi obtida a partir de secagem em estufa a 110 ºC durante duas horas, em triplicata.

$\% óleo obtido \left(BLU\right)=\frac{vol. de óleo obtido \left(ml\right)}{massa do material \left(g\right)-\left(\frac{massa do material \left(g\right)-umidade \left(\%\right)}{100}\right)}×100 $ (Equação 1)

2.3 DADOS CLIMÁTICOS

Os parâmetros climáticos (temperatura, insolação, precipitação e umidade relativa do ar) da área de coleta foram obtidos mensalmente no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Os dados meteorológicos foram registrados em estação automática A-201, localizada na cidade de Belém, estado do Pará, Brasil, equipada com um sistema Vaisala, modelo MAWS 301 (Vaisala Corporation, Helsinque, Finlândia).

2.4 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição química dos óleos essenciais foi analisada em um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM), Modelo QP2010 Ultra (Shimadzu), equipado com coluna capilar Rtx-5MS. As condições operacionais incluíram um programa de temperatura de 60°C a 240°C, gás de arraste hélio e injeção split 1:20 (solução de 5 μL de óleo essencial : 500 μL de hexano). Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico a 70 eV, com fragmentos de massa entre 35 - 400 m/z. A identificação dos componentes químicos foi baseada no índice de retenção linear e padrões de fragmentação, comparados com as bibliotecas Adams e Flavor and Fragrance 2 (Adams, 2007; Mondello, 2011; Raposo *et al*., 2018).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os coeficientes de Correlação de Pearson (r) que determinam a relação entre os parâmetros climáticos (precipitação, temperatura, umidade e insolação) e o rendimento e composição química dos óleos essenciais foram calculados por meio do software OriginPro 2021 (OriginPro trial version, OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

**3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

3.1 CONDIÇÕES CLIMÁTICAS E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

Os parâmetros climáticos, incluindo temperatura, insolação, precipitação e umidade relativa do ar, foram monitorados durante os períodos chuvoso, de transição e seco, para avaliar seu impacto na produção e composição do óleo essencial extraído de *P. longum*. As medições de insolação variaram de 90,3 hrs (fevereiro) a 289,5 hrs (agosto), a umidade relativa do ar de 77,3% (agosto) a 93,2% (fevereiro), as temperaturas médias de 26,2ºC (fevereiro) a 28,1ºC (agosto), e a precipitação de 76,1 mm (agosto) a 428,1 mm (fevereiro). Baseado nos dados, fevereiro foi identificado como período chuvoso, agosto como seco, e maio como período de transição. Os dados relacionados ao rendimento e as condições climáticas estão expostos na Figura 1.

Fonte: Autores (2024).

Figura 1- Relação dos rendimentos de óleo essencial de P. longum com os parâmetros climáticos

O clima da região amazônica paraense varia entre estações chuvosa e seca, influenciadas por fenômenos atmosféricos tropicais. No ano de estudo, mudanças drásticas na temperatura média global causaram desequilíbrios ambientais, resultando em um período de seca prolongado (INPE, 2023).

O rendimento de óleo essencial de *P. longum* foi de 1,2% na estação chuvosa, 0,8% na transição e 0,7% na seca. Estudos anteriores demostraram rendimentos semelhantes, variando de 0,2 a 1,2%, confirmando a consistência dos resultados com a literatura existente (Andrade *et al*., 2011; Varughese *et al*., 2016).

A análise de correlação de Pearson apresentou que temperatura (r= -0,98) e insolação (r= -0,97) tiveram uma correlação forte e negativa com o rendimento, mas não significativa (p>0,05). O rendimento do óleo expressou correlação forte e positiva com a umidade (r= 0,93), também sem significância estatística (p>0,05). Portanto, a produção de óleo essencial de *P. longum* não foi significativamente influenciada pelos fatores sazonais.

3.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E SAZONALIDADE

Foram identificados 35 constituintes químicos nos óleos essenciais de *P. longum*, representando em média 98,9% da composição total. A classe predominante foi a dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (52,4 – 72,2%), seguida pelos sesquiterpenos oxigenados (24,7 – 47,5%). Os hidrocarbonetos monoterpênicos (0,7%) e os monoterpenos oxigenados (0,5%) foram identificados em baixa concentração (Tabela 1).

Tabela 1**-** Composição química dos óleos essenciais das folhas de P. longum analisados no período chuvoso (FEV), transição (MAI) e seco (AGO) (≥2,0%)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **IR(c)** | **IR(L)** | **Meses****Constituintes** | **FEV** | **MAI****%** | **AGO** |
| 1 | 1377 | 1374a | α-Copaeno | 2,2 | 1,2 | 1,8 |
| 2 | 1422 | 1417a | ***E*-Cariofileno** | **20,7** | **21,7** | **16,5** |
| 3 | 1430 | 1430a | β-Copaeno | 4,1 | 2,8 | 3,1 |
| 4 | 1435 | 1434a | γ-Elemeno |  |  | 2,9 |
| 5 | 1454 | 1452a | α-Humuleno | 2,1 | 1,5 | 2,2 |
| 6 | 1478 | 1478a | γ-Muuroleno | 6,8 | 4,6 | 4,1 |
| 7 | 1482 | 1480b | **Germacreno D** | **4,0** | **2,8** | **12,4** |
| 8 | 1496 | 1495a | γ-Amorfeno | 4,9 | 3,6 | 4,2 |
| 9 | 1499 | 1500a | Biciclogermacreno |  |  | 2,2 |
| 10 | 1501 | 1500a | α-Muuroleno | 2,5 | 1,3 | 1,8 |
| 11 | 1516 | 1513a | γ-Cadineno | 5,7 | 4,3 | 3,6 |
| 12 | 1525 | 1523a | **δ-Cadineno** | **7,0** | **5,5** | **8,0** |
| 13 | 1558 | 1559a | Germacreno B | 3,4 | 2,6 | 2,0 |
| 14 | 1566 | 1563a | ***E*-Nerolidol** | **8,0** | **29,8** | **9,1** |
| 15 | 1585 | 1587a | Óxido de cariofileno | 4,9 | 5,5 | 1,4 |
| 16 | 1644 | 1644a | α-Muurolol | 6,1 | 3,9 | 4,0 |
| 17 | 1657 | 1652a | **α-Cadinol** | **8,4** | **6,2** | **6,5** |
|  |  |  | Hidrocarboneto monoterpênico | 0,0 | 0,0 | 0,7 |
|  |  |  | Monoterpeno oxigenado | 0,0 | 0,0 | 0,5 |
|  |  |  | Hidrocarboneto sesquiterpênico | 66,6 | 52,4 | 72,2 |
|  |  |  | Sesquiterpeno oxigenado | 32,3 | 47,5 | 24,7 |
|  |  |  | Total identificado (%) | 98,9 | 99,9 | 98,1 |
|  |  |  | Rendimento (%) | 1,2 | 0,8 | 0,7 |

**IRC**: Índice de retenção calculado; **IRL**: Índice de retenção da literatura; **a**: (Adams, 2007); **b**: (Mondello,2011); **FEV**: Fevereiro; **MAI**: Maio; **AGO**: Agosto

Fonte: Autores (2024).

Durante o período de análise, o sesquiterpeno *E*-cariofileno foi o principal componente dos óleos essenciais, variando entre 16,5% em agosto e 21,7% em maio. Outros sesquiterpenos, como germacreno D e δ-cadineno, também apresentaram concentrações significativas (>8%). O sesquiterpeno oxigenado α-cadinol variou de 6,2% (maio) a 8,4% (fevereiro). Outro sesquiterpeno oxigenado, o *E*-nerolidol, apresentou elevado teor no período de transição (maio) com 29,8%, em contraste com fevereiro (8,0%).

Os compostos identificados em maior teor no óleo de *P. longum* possuem diversas atividades biológicas, especialmente o *E*-cariofileno e *E*-nerolidol, que apresentam ações farmacológicas similares, como a atividade anti-inflamatória (Bezerra *et al*., 2013). Dessa forma, considerando a relevância biológica desses compostos, P. longum demostrou-se como uma fonte de *E*-cariofileno, apresentando maior teor durante o estudo, com o pico no mês de transição (21,7%). Ainda, o *E*-nerolidol expressou-se em maior concentração no mesmo mês (29,8%) . Esses resultados evidenciam que o período de transição (maio) os compostos bioativos apresentaram os maiores teores, indicando uma maior concentração desses sesquiterpenos com potencial anti-inflamatório.

Em estudos anteriores, o *E*-cariofileno expressou efeitos anti-inflamatórios ao diminuir a atividade da enzima óxido nítrico sintase, reduzindo a produção de óxido nítrico ligada ao estresse oxidativo e inflamação. Inibiu a expressão de citocinas inflamatórias, aumentou os níveis de glutationa no fígado, fortalecendo o sistema antioxidante. Ademais, em modelos de neuroinflamação, impediu a produção de mediadores inflamatórios em células microgliais do sistema imunológico cerebral (Francomano *et al,* 2019).

Além disso, o *E*-nerolidol apresentou efeitos anti-inflamatórios significativos em modelos experimentais de dor em camundongos, reduzindo o edema de pata induzido por carragenina e diminuimdo os níveis dos citocinas pró-inflamatórias, destacando seu potencial farmacológico (Fonsêca *et al.*, 2016). Ademais, uma fomulação de *E*-nerolidol nanoencapsulado avaliada em um modelo de artrite induzida por zimosano em camundongos, demostrou menor infiltração inflamatória e edema na membrana sinovial em comparação ao grupo controle (Souza *et al.*, 2019).

A análise de correlação de Pearson indicou que temperatura, insolação e umidade relativa do ar não expressaran correlação significativa com os principais constituintes do óleo essencial de *Piper longum*. Apenas os hidrocarbonetos monoterpênicos e os monoterpenos oxigenados apresentaram correlação forte, negativa e significativa (p<0,05) com a precipitação (r = -1,00). Embora fatores climáticos não tenham influenciado significativamente outras classes químicas, a obtenção de compostos bioativos pode ocorrer em períodos de maior concentração, como o de transição. Variações quantitativas podem ser atribuídas à fisiologia da planta, localização geográfica, aspectos ecológicos, período de coleta, condições de armazenamento e método de extração de óleo (Figueiredo *et al*., 2008).

**4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A influência das condições sazonais na biossíntese de compostos bioativos de *Piper longum* destaca a importância de estudos ambientais para otimizar o uso de espécies amazônicas na produção de óleos essenciais. Resultados indicaram que o planejamento das coletas pode melhorar a extração de componentes farmacológicos, contribuindo para estratégias de manejo sustentável diante das mudanças climáticas. Estudos mais detalhados são necessários para confirmar as atividades biológicas dos compostos. Portanto, este estudo contribuiu para o conhecimento fitoquímico de *P. longum* na Amazônia paraense.

**REFERÊNCIAS**

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, p. 804. 2007.

ANDRADE, E. H. A. *et al*. Variability in essential oil composition of Piper dilatatum L. C. Rich. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, n. 4-6, p. 669-675, 2011. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197811001165. Acesso em: 25 out. 2024.

BEZERRA, D. P. *et al*. Overview of the therapeutic potential of piplartine (piperlongumine). **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, p. 453-463, 2013. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23238172/. Aceso em: 11 nov. 2024.

CARVALHO, A. S. *et al*. Mudanças climáticas em avaliação de impactos ambientais. **Boletim de Conjuntura** **(BOCA)**, Boa Vista, v. 18, n. 53, p. 192–210, 2024. Disponível em: https://revista.ioles.com.br/boca/index.php/revista/article/view/4313/1158. Acesso em: 24 out. 2024.

COSTA, J. S. *et al*. Chemical Composition and Variability of the Volatile Components of Myrciaria Species Growing in the Amazon Region. **Molecules**, v. 27, n. 7, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules27072234. Acesso em: 23 out. 2024.

FIGUEIREDO, A. C. *et al*. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p. 213-226, 2008. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ffj.1875. Acesso em: 25 out. 2024.

FONSÊCA, D. V. *et al*. Nerolidol exhibits antinociceptive and anti-inflammatory activity: involvement of the GABAergic system and proinflammatory cytokines***.* Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 14–22, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1111/fcp.12166. Acesso em: 25 out. 2024.

FRANCOMANO, F. *et al*. β-Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. **Applied Sciences**, v. 9, n. 24, p. 5420, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app9245420>. Acesso em: 24 out. 2024.

GOUVEA, D. R.; GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. The influence of biotic and abiotic factors on the production of secondary metabolites in medicinal plants. *In:* CECHINEL FILHO, V (ed.). **Plant bioactives and drug discovery**: principles, practice, and perspectives. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, p. 419-452, 2012.

INPE. INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Condições de déficit de chuva na Amazônia**. Nota técnica conjunta CPTEC/Inpe e Inmet, 2023, 3 p. Disponível em: https://clima.cptec.inpe.br/. Acesso em: 15 nov. 2023.

KUMAR, S.; SHARMA, S.; VASUDEVA, N. Screening of antidiabetic and antihyperlipidemic potential of oil from Piper longum and piperine with their possible mechanism. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 14, n. 13, p. 1723–1736, 2013. DOI: 10.1517/14656566.2013.815725. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23875561/. Acesso em: 23 out. 2024.

MONDELLO, L. **FFNSC 2**: Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds, Mass Spectral Database. [*S. l*.] John Wiley & Sons Inc, 2011.

RAMOS, Y. J. *et al*. **Produção e variações químicas de óleos essenciais**: uma breve revisão sobre os fatores que afetam a qualidade e a quantidade. *In*: FRANCISCO, A. L. O. (org). Avanços científicos, tecnológicos e de inovação na botânica. Ponta Grossa: Antena, p. 78-104, 2020.

RAPOSO, J. D. A. *et al*. Seasonal and circadian study of the essential oil of Myrcia sylvatica (G. Mey) DC., a valuable aromatic species occurring in the Lower Amazon River region**. Biochem. Syst. Ecol.,** v. 79, p. 21–29, 2018. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305197818301881. Acesso em: 23 out. 2024.

SINGH, T. U. *et al*. Inhibitory effect of essential oils of Allium sativum and Piper longum on spontaneous muscular activity of liver fluke, Fasciola gigantica. **Exp Parasitol**., v. 123, n. 4, p. 302-308, 2009 DOI: 10.1016/j.exppara.2009.08.002. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001448940900215X. Acesso em: 23 out. 2024.

SOUZA, E. P. B. S.S. *et al*. Anti-inflammatory effect of nano-encapsulated nerolidol on zymosan-induced arthritis in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, p. 110958, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110958. Acesso em:25 out. 2024.

TAIZ, L. *et al*. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6ª Ed., Porto Alegre, Artmed, 2017.

VARUGHESE, T. *et al.* Chemical Composition of the Essential Oils from Stem,Root, Fruit and Leaf of Piper longum Linn, **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 1, p. 52-58, 2016. DOI: 10.1080/0972060X.2015.1119065. Disponível me: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2015.1119065. Acesso em: 23 out. 2023.

VERÇOZA, F. C. Contribuição ao conhecimento da fenologia reprodutiva de Passiflora cuprea L. e P. suberosa L. (Passifloraceae) em floresta litorânea de solo arenoso da península de Varadero, Cidade de Matanzas, Cuba. **Revista Souza Marques**, v. 21, n. 40, p. 17-25, 2023. Disponível em: https://revista.souzamarques.br/index.php/REVISTA\_SOUZA\_MARQUES/article/view/553/645. Acesso em: 23 out. 2024.

ZACARONI, L. M. *et al*. Potencial fungitóxico do óleo essencial de Piper hispidinervum (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos Bipolaris sorokiniana, Fusarium oxysporum e Colletotrichum gloeosporioides. **Acta Amaz**, v. 39, n. 1, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0044-596720090001000202009. Acesso em: 23 out. 2024.