

## Importância dos fenilpropanoides na ação inseticida das frações do óleo essencial de *Piper aduncum* L.

Thais Paiva da Silva<sup>(1)</sup>, Murilo Fazolin<sup>(2)</sup>, Alyce Camille da Silva Marques<sup>(1)</sup> e André Fábio Medeiros Monteiro<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Bolsistas, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. <sup>(2)</sup> Pesquisador, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. <sup>(3)</sup> Analista, Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

**Resumo** – O uso de pesticidas convencionais é marcado por muitas externalidades negativas, incluindo contaminação ambiental e resistência às pragas. Piperáceas como *Piper aduncum* L. são abundantes no Acre, sendo o processo de industrialização semelhante ao utilizado para obtenção do óleo rico em safrol a partir de *Piper hispidinervum* C.DC. Este trabalho teve como objetivo avaliar a importância dos fenilpropanoides na ação inseticida das frações do óleo essencial de *P. aduncum* (Oepa). Para tanto, foram elaborados *blends* com 37 compostos adicionados em diferentes proporções a essas frações. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre, utilizando larvas de terceiro instar da espécie *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae). A adição de um *blend* completo de compostos à fração terpênica aumenta sua toxicidade para larvas de *S. frugiperda* na proporção de 10,0% (V/V). As frações intermediária e propanoica não necessitam de adição de um *blend* completo de compostos majoritariamente terpênicos para aumentar a sua toxicidade. Foi observado que a retirada dos fenilpropanoides dos *blends* adicionados à fração propanoica a 2,0, 10,0 e 25,0% (V/V) ocasionou um decréscimo significativo da toxicidade da fração com seus respectivos enriquecimentos.

Termos para indexação: Piperaceae, lagarta-do-cartucho-do-milho, pimenta-de-macaco.

## Importance of phenylpropanoids in the insecticidal action of essential oil fractions of *Piper aduncum* L.

**Abstract** – The use of conventional pesticides is marked by many negative externalities, including environmental contamination and pest resistance. Piperaceae such as *Piper aduncum* L. are abundant in Acre, with industrialization processes similar to those used to obtain safrole-rich oil from *Piper hispidinervum* C.DC. This study aimed to evaluate the importance of phenylpropanoids in the insecticidal action of fractions of the essential oil of *P. aduncum* (Oepa). To do so, *blends* were formulated with 37 compounds added in different proportions to these fractions. Experiments were conducted at the Entomology Laboratory of Embrapa Acre, using third instar larvae of the species *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae). Adding a complete *blend* of compounds to the terpene fraction increases its toxicity to *S. frugiperda* larvae at a rate of 10.0% (V/V). Intermediate and propanoic fractions do not require the addition of a complete *blend* of mostly terpene compounds to increase their toxicity. It was observed that removing phenylpropanoids from the *blends* added to the propanoic fraction at 2.0, 10.0, and 25.0% (V/V) caused a significant decrease in the toxicity of the fraction with their respective enrichments.

Index terms: fall armyworm, Piperaceae, monkey pepper.

## Introdução

Piperáceas como a pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) são abundantes no Acre, sendo o processo de industrialização semelhante ao utilizado para obtenção do óleo rico em safrol a partir de *Piper hispidinervum* C.DC. (Fazolin et al., 2006). O óleo essencial de *P. aduncum* (Oepa) é composto por dilapiol (Fazolin et al., 2007), cuja estrutura química apresenta o grupo metilendioxifenil, unido a dois grupos metoxila ( $\text{OCH}_3$ ). Esses compostos interferem nas funções do citocromo P450, esterases e glutatona S-transferase dos insetos, alterando o processo de destoxificação, o que viabiliza a utilização do Oepa como inseticida e sinérgico de inseticidas convencionais (Nagabu; Lakshmaiah, 1994; Janiaud et al., 1997).

Os compostos considerados inseticidas presentes no Oepa pertencem aos grupos químicos dos fenilpropanoides e terpenoides (monoterpenos e sesquiterpenos) (Fazolin et al., 2023). Durante o processo de ajuste do teor de dilapiol, para que o Oepa expresse a máxima ação inseticida são produzidas diferentes frações utilizando a técnica de destilação fracionada aplicada industrialmente para purificação de óleos essenciais (Andrade et al., 2011).

Na aplicação dessa técnica para a purificação do Oepa, obtêm-se três frações principais: terpênica (nas primeiras fases do processo), intermediária (teor de dilapiol em torno de 26,0%) e propanoica (nas últimas fases do processo com teor de dilapiol acima de 70,0%).

Caso não seja investigada a utilização de todas as frações do Oepa, elas se tornarão resíduos indesejáveis. Uma delas poderá ser utilizada como inseticida pela adição (enriquecimento) de compostos do grupo químico dos terpenoides e dos fenilpropanoides, os quais fazem parte da composição original desse óleo.

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia inseticida das frações do óleo essencial de *P. aduncum* enriquecidas com *blends* completos ou incompletos pela ausência de fenilpropanoides na composição de óleos essenciais do gênero *Piper*.

## Material e métodos

Inicialmente foram obtidas faixas de resposta para o inseto teste (Finney, 1971). A partir daí, foram estabelecidas entre cinco e seis concentrações, além de um controle (solvente acetona). Após a obtenção das  $DL_{50}$  das frações não enriquecidas isoladamente, foram realizadas as combinações dos *blends* completos ou incompletos de compostos

com as três frações do óleo essencial. Os bioensaios consistiram na aplicação dorsal (1,00  $\mu\text{L}$ ) em lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), com auxílio de uma microsseringa graduada. As lagartas foram confinadas em placas de Petri (5,0 x 1,5 cm) e mantidas em câmara climatizada BOD à temperatura de  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $70,0 \pm 5,0\%$  e fotofase de 12 horas, até o momento da avaliação da mortalidade dos indivíduos (no mínimo 24 horas). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições.

Após a caracterização química de cada fração do Oepa, foi elaborado um *blend* completo pela combinação de 37 compostos presentes em grande parte nos óleos essenciais de piperáceas (Tabela 1), adquiridos na sua forma purificada da empresa Sigma Aldrich Brasil com pureza superior a 98,0%.

Os *blends* utilizados seguiram as concentrações de 2,0% (V/V) (1,00  $\mu\text{L}$  de cada composto líquido e 1,00  $\mu\text{g}$  de cada composto sólido); 10,0% (V/V) (5,60  $\mu\text{L}$  de cada composto líquido e 5,60  $\mu\text{g}$  de cada composto sólido) e 25,0% (V/V) (13,90  $\mu\text{L}$  de cada composto líquido e 13,90  $\mu\text{g}$  de composto sólido). Em todos os casos o volume foi completado a 2,00 mL com a fração correspondente e os *blends* foram armazenados em frascos de vidro âmbar e fechados com batoque e tampa rosqueável.

Para todos os bioensaios, os dados de mortalidade de concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit, utilizando o programa estatístico SAS (SAS Institute, 2001). Os valores de mortalidade foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925). Intervalos de confiança (IC com  $p > 95,0\%$ ) dos valores das  $DL_{50}$  foram utilizados para definir a significância da diferença entre os tratamentos. De modo similar, a eficácia inseticida das formulações de *blends* incompletos sem os fenilpropanoides (2,0, 10,0 e 25,0% (V/V)) foi comparada com as formulações dos *blends* completos.

O óleo essencial foi obtido em um extrator, utilizando o princípio de arraste de vapor em um sistema de caldeira aquecida a diesel, adaptada de Pimentel e Silva (2000).

As frações foram submetidas a análises em cromatógrafo gasoso (detector DIC) acoplado ao espectrômetro de massa (CG-EM), para a identificação e quantificação dos constituintes químicos. A caracterização química foi feita pela comparação de seus espectros de massas com os disponíveis no banco de dados da espectroteca do CG-EM (Adams, 1995). A quantificação dos constituintes foi realizada por meio de CG-DIC e nas mesmas

condições operacionais descritas para a identificação no CG-EM.

Para avaliação da influência de cada grupo de compostos sobre a atividade sinérgica da composição, foram elaborados *blends* incompletos

combinados com cada fração, retirando-se o grupo de compostos dos fenilpropanoides, visando manter as proporcionalidades anteriores admitidas entre os demais grupos/compostos.

**Tabela 1.** Listagem dos compostos presentes no *blend* completo adicionado às três frações do óleo essencial de *Piper aduncum* (Oepa).

Monoterpeno hidrocarbonado	Monoterpeno oxigenado	Fenilpropanoide	Sesquiterpeno
3-careno	$\alpha$ -terpineol	anetol	$\beta$ -cariofileno
$\alpha$ -pineno	borneol	dilapiol	nerolidol
$\alpha$ -terpineno	carvacrol	eugenol	óxido de
$\beta$ -pineno	citral	<i>p</i> -anisaldeído	cariofileno
canfeno	citronellal	sarisan (asaricin)	
felandreno	eucaliptol	<i>trans</i> -cinamaldeído	
$\gamma$ -terpineno	(1,8-cineol)		
limoneno	geraniol		
mirceno	isoborneol		
ocimeno	<i>L</i> -carvona		
<i>p</i> -cimeno	<i>L</i> -linalol		

## Resultados e discussão

Como controle positivo considerou-se o efeito inseticida da fração não enriquecida para lagartas de *S. frugiperda*. Os grupos químicos de cada fração, assim como o teor de dilapiol em cada uma delas, podem ser observados na Tabela 2.

A toxicidade das frações do Oepa seguiu a tendência do decréscimo do teor de dilapiol, na composição de cada uma das frações. A fração propanoica (teor de dilapiol de 87,0%) apresentou uma  $DL_{50}$  de 5,16 (4,70–5,65) parte por milhão ( $\mu$ l/L), praticamente o dobro do dilapiol purificado, indicando que essa fração é 50,0% menos tóxica que o fenilpropanoide

puro. Na sequência, o decréscimo da toxicidade pode ser evidenciado pelos valores da  $DL_{50}$  de 7,46 (6,87–8,07)  $\mu$ l/L obtidos pelo contato das larvas com a fração intermediária do Oepa (teor de dilapiol de 59,1%), culminando com o maior valor da  $DL_{50}$  de 18,31 (17,03–20,23)  $\mu$ l/L observado para a fração terpênica (teor de dilapiol de 26,0%), a menos tóxica das três frações avaliadas. Tais resultados confirmam os obtidos por Fazolin et al. (2022), que definiram a faixa de maior toxicidade do óleo em função do teor de dilapiol, para contato tóxico do produto, entre 68,0 e 88,0%, para larvas de *S. frugiperda*.

**Tabela 2.** Porcentagem do teor de dilapiol nas frações terpênica (f1), intermediária (f2) e propanoica (f3).

Fração	Fenilpropanoide	Terpeno	Outros grupos de compostos
f1	27,0	66,0	7,0
f2	60,0	35,0	5,0
f3	87,0	12,0	1,0

Considerando-se os intervalos de confiança de cada tratamento, houve diferença significativa entre as três frações, evidenciando o nítido acréscimo de toxicidade em função do aumento do teor de dilapiol (fenilpropanoide) contido em cada uma delas.

Para o enriquecimento completo da fração terpênica com terpenoides e fenilpropanoides, pode-se observar que a combinação mais tóxica ocorreu com a adição do *blend* de compostos na proporção de 10,0% (V/V) na composição dessa fração, obtendo-se um valor de  $DL_{50}$  de 12,51 (11,64–13,31)  $\mu\text{L/L}$ , significativamente mais tóxica que as combinações dessa fração com 2,0% (V/V) [ $DL_{50}$  = 17,31 (16,19–18,88)  $\mu\text{L/L}$ ] e 25,0% (V/V) [ $DL_{50}$  = 16,99 (15,64–18,44)  $\mu\text{L/L}$ ] do *blend* completo de compostos. Nesse último caso, não houve diferença significativa entre os valores das  $DL_{50}$  das duas porcentagens de combinação.

No enriquecimento completo da fração intermediária com terpenoides e fenilpropanoides, pode-se observar que a combinação mais tóxica ocorreu com a adição do *blend* completo de compostos de 10,0% (V/V) na combinação com essa fração, obtendo-se um valor de  $DL_{50}$  de 6,70 (6,00–7,34)  $\mu\text{L/L}$ , não diferindo significativamente da fração sem adição de compostos [ $DL_{50}$  = 7,46 (6,87–8,07)  $\mu\text{L/L}$ ] e da combinação dessa fração com 2,0% do *blend* completo de compostos [ $DL_{50}$  = 7,48 (6,90–8,09)  $\mu\text{L/L}$ ]. Nesse último caso, não houve diferença significativa entre os valores das  $DL_{50}$ .

Considerando-se o enriquecimento completo da fração propanoica com terpenoides e fenilpropanoides, pode-se observar que as combinações mais tóxicas ocorreram com a adição do *blend* de compostos completa na proporção de 2,0% (V/V) [ $DL_{50}$  = 5,66 (4,99–6,70)  $\mu\text{L/L}$ ] e 10,0% (V/V) [ $DL_{50}$  = 4,82 (4,50–5,17)  $\mu\text{L/L}$ ], respectivamente, na composição dessa fração. Pela sobreposição dos valores dos intervalos de confiança, esses tratamentos não diferiram significativamente entre si quanto à toxicidade para larvas de *S. frugiperda*, como também não diferiram significativamente da fração propanoica sem adição de compostos [ $DL_{50}$  = [5,16 (4,70–5,65)  $\mu\text{L/L}$ ].

No entanto, a retirada dos fenilpropanoides dos *blends*, adicionados à fração propanoica a 10,0 e 25,0% (V/V) ocasionou um decréscimo significativo da toxicidade da fração com seus respectivos enriquecimentos, o que pôde ser observado pelos valores da  $DL_{50}$  e seus intervalos de confiança, evidenciando a importância dos fenilpropanoides para a toxicidade da fração propanoica do Oepa.

## Conclusões

- 1) A toxicidade da fração terpênica (f1) aumenta apenas com o enriquecimento com *blend* completo na proporção de 10,0% (V/V).
- 2) A toxicidade das frações intermediária (f2) e propanoica (f3) não aumenta com o enriquecimento com *blends* independentemente da proporção (V/V) utilizada.
- 3) A retirada de fenilpropanoides dos *blends* reduz a toxicidade na maioria dos enriquecimentos das frações, demonstrando a importância desse grupo para otimizar a atividade inseticida das frações do Oepa.

## Agradecimentos

A todos os colaboradores do Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de iniciação científica à primeira autora.

## Referências

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, Apr. 1925. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography mass spectroscopy**. Illinois: Allured Publishing Corporation, 1995.
- ANDRADE, E. L.; AZEVEDO, MAUÉS, F. F. de; MORAES, QUEIROZ, H. H.; FARIA, L. J. G. de; MACHADO, N. T.; ARAÚJO, M. E. Projeto de fracionamento do óleo essencial de *Piper aduncum* L. empregando o simulador HYSYS. In: ENCONTRO DE PROFISSIONAIS DA QUÍMICA DA AMAZÔNIA, 12., 2011, Belém. **Anais...** Belém, PA: Conselho Regional de Química 6ª Região, 2011. 11 p.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALECIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC., *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur.e; K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 113-120, jan./fev. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542007000100017>.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; COSTA, C. R. da. **Potencialidades da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.):** características gerais e resultados de pesquisa. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2006. 53 p. (Embrapa Acre. Documentos, 103). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/505568>. Acesso em: 15 ago. 2023.

FAZOLIN, M.; MONTEIRO, A. F. M.; BIZZO, H. R.; GAMA, P. E.; VIANA, L. de O.; LIMA, M. E. C. de. Insecticidal activity of *Piper aduncum* oil: variation in dillapiole content and chemical and toxicological stability during storage. **Acta Amazonica**, v. 52, n. 3, p. 179-188, jul./set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-4392202102292>.

FAZOLIN, M.; MONTEIRO, A. F. M.; MALAVAZI, F. W.; ESTRELA, J. L. V. Óleos essenciais como sinergistas de formulações inseticidas. In: RIBEIRO, R. P.; VENDRAMIM, J. D.; BALDIN, E. L. L. (ed.). **Inseticidas botânicos no Brasil:** aplicações, potencialidades e perspectivas. Piracicaba: FEALQ, 2023, p. 557-615.

FINNEY, D. J. **A statistical treatment of the sigmoid response curve:** probit analysis. London: Cambridge University Press, 1971. 633 p.

JANIAUD, P.; DELAFORGE, M.; LEVI, P.; BONNARD, O.; MCRIZOT, J. P.; PADIEU, P. Epithelial-cells of adult liver in culture and hepatocarcinogenic metabolism of safrrol and analogs. **Biologie Cellulaire**, v. 30, n. 1, p. 14, Jan. 1997.

NAGABU, E.; LAKSHMAIAH, N. Inhibition of microsomal lipid-proxidation and monooxygenase activities by Eugenol. **Free Radical Research**, v. 20, n. 4, p. 253-266, 1994. DOI: <https://doi.org/10.3109/10715769409147521>.

PIMENTEL, F. A.; SILVA, M. R. da. **Recomendações sobre processo de destilação comercial de biomassa triturada de pimenta longa (*Piper hispidinervum*).** Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2000. 3 p. (Embrapa Acre. Comunicado técnico, 123). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/492672>. Acesso em: 15 ago. 2023.

SAS Institute. **User's Guide:** statistics, version 8.2. 6. ed. Cary, NC: SAS Institute, 2001.