

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

Alyce Camille da Silva Marques<sup>(1)</sup>, Murilo Fazolin<sup>(2)</sup>, Thais Paiva da Silva<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** – 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 *P. hispidinervum* C.DC., por meio do processo de retificação, aplicado industrialmente para refinamento de óleos essenciais. Na aplicação dessa técnica têm-se obtido três frações principais. Este trabalho teve como objetivo avaliar a importância dos monoterpenos hidrocarbonados na ação inseticida dessas frações do óleo essencial de *P. aduncum*. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre. Em todos os bioensaios, foram utilizadas larvas de terceiro instar da espécie *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). A adição de um *blend* completo aumentou a toxicidade nas frações terpênica e intermediária nas proporções de 2 e 10% (V/V) e a retirada dos monoterpenos hidrocarbonados na fração propanoica aumentou sua toxicidade em quaisquer proporções.

Termos para indexação: Piperaceae, pimenta-de-macaco, misturas, terpenoides.

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

**Abstract** – Piperaceae such as *Piper aduncum* L. are abundant in Acre, with an industrialization process similar to that used to obtain safrole-rich oil from *P. hispidinervum* C.DC. through the rectification process, industrially applied for essential oil refinement. In applying this technique, three main fractions are obtained. This study aimed to evaluate the importance of hydrocarbon monoterpenes in the insecticidal action of these fractions of the essential oil of *P. aduncum*. Experiments were conducted at the Entomology Laboratory of Embrapa Acre. Third instar larvae of the species *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) were used in all bioassays. The addition of a complete *blend* increased toxicity in the terpene and intermediate fractions at proportions of 2 and 10% (V/V), and the removal of hydrocarbon monoterpenes in the propanoic fraction increased its toxicity at any proportion.

Index terms: monkey pepper, Piperaceae, *blends*, terpenoids.

## Introdução

Piperáceas como *Piper aduncum* L. são abundantes no Acre, sendo o seu processo de industrialização semelhante ao utilizado para obtenção do óleo rico em safrol a partir de *Piper hispidinervum* C.DC. (Fazolin et al., 2006).

É provável que a resistência dos insetos possa ser desenvolvida mais lentamente para pesticidas à base de óleo essencial, devido às misturas complexas de muitos constituintes de diferentes grupos e com distintos modos de ação, alterando a capacidade de desintoxicação (Nollet; Rathore, 2017). A empresa EcoSMART Technologies desenvolveu uma combinação distinta de diferentes óleos essenciais que aumenta consideravelmente a atividade inseticida contra insetos. Produziu uma gama de pesticidas contendo diferentes misturas de óleos de alecrim, hortelã-pimenta, capim-limão, cravo, canela e/ou monoterpenos como ingredientes ativos (Nollet; Rathore, 2017).

O óleo essencial de *P. aduncum* (Oepa) é composto majoritariamente por dilapiol (Fazolin et al., 2007). O processo de retificação é aplicado industrialmente para refinamento de óleos essenciais (Andrade et al., 2011). Na aplicação dessa técnica para o Oepa, têm-se três frações principais: terpênica (teor de dilapiol em torno de 26%, obtida nas primeiras fases do processo), intermediária (teor de dilapiol em torno de 50%) e propanoica (obtida nas últimas fases do processo com teor de dilapiol acima de 70%). Caso não seja investigada a utilização de todas as frações do Oepa, é possível que algumas delas se tornem resíduos descartáveis, o que poderá elevar aproximadamente a 30% os produtos passíveis de tratamentos para descarte no meio ambiente.

As interações entre os constituintes de um determinado óleo essencial podem ter uma interferência significativa na eficácia inseticida e, tomando como referência esse fenômeno, poderão ser desenvolvidos novos (bio) inseticidas à base de óleos essenciais, cujas formulações serão misturas padronizadas com eficácia conhecida (Hummelbrunner; Isman 2001; Pavela, 2008, 2014). Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia inseticida das frações do óleo essencial de *P. aduncum* enriquecidas com *blends* completos ou incompletos pela ausência de monoterpenos hidrocarbonados presentes na composição de óleos essenciais do gênero *Piper*.

## Material e métodos

O óleo essencial foi obtido em um extrator, utilizando o princípio de arraste de vapor em um sistema com caldeira aquecida a diesel adaptada de Pimentel e Silva (2000). O óleo essencial de *P. aduncum* obtido por destilação foi submetido à retificação fracionada, utilizando coluna de recheio. Na aplicação dessa técnica para a purificação do Oepa, obtiveram-se três frações, as quais foram enriquecidas com *blends* completos ou incompletos de distintos grupos de compostos nos estudos de interferência biológica sobre ação inseticida.

As frações foram submetidas a análises em cromatógrafo gasoso (detector DIC) acoplado ao espectrômetro de massa (CG-EM). Após a caracterização química de cada fração do Oepa, para enriquecê-las foi elaborado um *blend* completo pela combinação de 37 compostos em quantidades equivalentes (1:1) presentes na composição original de Oepa ou nos óleos essenciais do gênero *Piper*, adquiridos na sua forma purificada na Sigma Aldrich Brasil (Tabela 1). 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 monoterpenos hidrocarbonados.

Inicialmente foram obtidas faixas de resposta para o inseto teste. A partir daí, foram estabelecidas entre cinco e seis concentrações, além de um controle (solvente acetona). Após a obtenção das DL<sub>50</sub> das frações não enriquecidas isoladamente, foram realizadas as combinações dos *blends* completos ou incompletos de compostos com as três frações do Oepa. Os bioensaios consistiram na aplicação dorsal (1 µL) em lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), com auxílio de uma microseringa graduada. As lagartas foram individualizadas e confinadas em placas de Petri (5,0 x 1,5 cm), mantidas em câmara climatizada BOD em temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 70 ± 5% e fotofase de 12 horas, até o momento da avaliação da mortalidade dos indivíduos (no mínimo de 24 horas). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições (Fazolin et al., 2022).

Para todos os bioensaios, os dados de mortalidade de concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit (Finney, 1971), utilizando-se o programa de análises estatístico SAS (SAS Institute, 2001). Os valores de mortalidade foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925). Intervalos de confiança (IC com p > 95%) dos valores das DL<sub>50</sub> foram

utilizados para definir a significância da diferença entre os tratamentos. De modo similar, a eficácia inseticida das formulações de *blends* incompletos sem os monoterpenos hidrocarbonados (2, 10 e

25% (V/V)) combinados com as frações foi comparada com as formulações dos *blends* completos combinados com as demais frações.

**Tabela 1.** Padrões adquiridos da Sigma Aldrich Brasil presentes no *blend* completo adicionado no enriquecimento das três frações (f1, f2 e f3) 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 cariofileno
$\beta$ -pineno	citral	<i>p</i> -anisaldeído	
canfeno	citronellal	sarisan (asaricin)	
felandreno	eucaliptol (1,8-cineol)	<i>trans</i> -cinamaldeído	
$\gamma$ -terpineno	geraniol		
limoneno	isoborneol		
mirceno	<i>L</i> -carvona		
ocimeno	<i>L</i> -linalol		
<i>p</i> -cimeno	<i>L</i> -mentona		
sabineno	<i>s</i> -carvona		
terpinoleno	terpinen-4-ol		
	timol		

## Resultados e discussão

A toxicidade das frações do óleo essencial de *P. aduncum* foi aumentando, seguindo a tendência do crescimento do teor de dilapiol na composição de cada uma das frações. A fração terpênica (teor de dilapiol de 26%) pode ser definida como a menos tóxica em relação às 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, por contato tóxico do produto entre 68 e 88% para larvas de *S. frugiperda*. Considerando 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.

Adicionalmente, a fração terpênica combinada com o *blend* completo de compostos a 10% (V/V) foi a mais tóxica dentre as combinações observadas, diferindo do valor de todas as outras combinações dessa fração avaliada. Pode-se inferir que essa seja uma combinação inseticida promissora para a fração terpênica, salientando-se a importância da presença dos monoterpenos hidrocarbonados na combinação na concentração de 10% (V/V).

Considerando-se o enriquecimento completo da fração intermediária com terpenoides e fenilpropanoides, pode-se observar que a combinação mais tóxica ocorreu quando a adição do *blend* completo

foi de 2 e 10% (V/V), não diferindo significativamente entre si. A diminuição significativa da toxicidade foi observada quando foram retirados os monoterpenos hidrocarbonados dos *blends* combinados à fração a 2 e 10% (V/V); não houve diferença significativa entre as demais combinações de compostos com a fração intermediária. Tal resultado comprova que alguns compostos presentes nos *blends* e nas frações podem apresentar interação, principalmente aditiva, com vistas ao aumento da toxicidade individual de cada um deles.

O enriquecimento completo da fração propanoica com terpenoides e fenilpropanoides a 2 e 10% (V/V) não diferiu significativamente quanto à toxicidade da fração sem enriquecimento algum. Nesse caso, em todas as combinações, observou-se maior toxicidade quando a adição do *blend* de compostos foi incompleta, pela ausência dos monoterpenos hidrocarbonados em quaisquer concentrações avaliadas. Provavelmente, a adição do *blend* completo em todas as concentrações avaliadas pode ter ultrapassado o limite da proporcionalidade aceitável dos monoterpenos hidrocarbonados, causando um antagonismo na expressão da toxicidade. Monoterpenos hidrocarbonados, como o  $\beta$ -pineno e  $\alpha$ -pineno, presentes na composição do Oepa e como parte dos *blends* completos, apresentam evidências de que podem ao mesmo tempo inibir e ativar várias enzimas da família das monooxigenases P450 (Fazolin et al., 2023).

## Conclusões

- 1) A toxicidade da fração terpênica (f1) aumenta apenas com o enriquecimento com *blend* completo na proporção de 10% (V/V).
- 2) A toxicidade da fração intermediária (f2) e da fração propanoica (f3) não aumenta com o enriquecimento com *blend* completo na proporção (V/V) utilizada.
- 3) Na fração propanoica há um aumento da toxicidade quando os monoterpenos hidrocarbonados são retirados dos *blends* em todas as proporções avaliadas, evidenciando ser esse grupo químico possivelmente antagonico aos fenilpropanoides presentes nessa fração.

## 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>.
- 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.
- HUMMELBRUNNER, L. A.; ISMAN, M. B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 715-720, Jan. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf000749t>.
- NOLLETT, L. M. L.; RHATHORE, H. S. **Green pesticides handbook: essential oils for pest control**. Boca Raton: CRC Press, 2017. 570 p.
- PAVELA, R. Acute and synergistic effects of some monoterpenoid essential oil compounds on the house fly (*Musca domestica* L.). **Journal of Essential Oil Bearing**, v. 11, n. 5, p. 451-459, Aug. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643653>.
- PAVELA, R. Acute, synergistic and antagonistic effects of some aromatic compounds on the *Spodoptera littoralis* Bois. (Lep., Noctuidae) larvae. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 247-258, Sept. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.030>.
- 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.