

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

CRISTINA BORDIN NASCIMENTO

Bioatividade de óleos essenciais de *Citrus* spp. e *Cinnamomum* spp. e
nanoemulsões de *Cinnamomum cassia* contra *Alphitobius diaperinus*

CASCAVEL-PR

março de 2020

CRISTINA BORDIN NASCIMENTO

Bioatividade de óleos essenciais de *Citrus* spp. e *Cinnamomum* spp. e nanoemulsões de *Cinnamomum cassia* contra *Alphitobius diaperinus*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Dejene Santos Alves

Área de Concentração: Ciências Ambientais

CASCADEL-PR

março de 2020

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Nascimento , Cristina Bordin
Bioatividade de óleos essenciais de Citrus spp. e Cinnamomum spp. e nanoemulsões de Cinnamomum cassia contra Alphitobius diaperinus / Cristina Bordin Nascimento ; orientador(a), Luis Francisco Angeli Alves; coorientador(a), DeJane Santos Alves, 2020.
49 f.

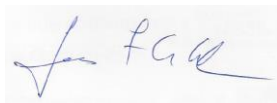
Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, 2020.

1. Controle de pragas . 2. Óleos essenciais. 3. Nanoestruturas. I. Alves, Luis Francisco Angeli . II. Alves, DeJane Santos . III. Título.

CRISTINA BORDIN NASCIMENTO

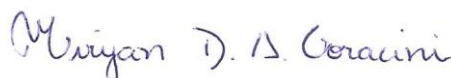
Bioatividade de óleos essenciais de *Citrus* spp. e *Cinnamomum* spp. e nanoemulsões de *Cinnamomum cassia* contra *Alphitobius diaperinus*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, área de concentração Ciências Ambientais, linha de pesquisa Biologia Aplicada e Indicadores de Qualidade no Ambiente Terrestre, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



Orientador(a) - Luis Francisco Angeli Alves

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



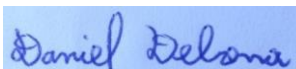
Miryan Denise de Araújo Coracini

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Dejane Santos Alves

Universidade Federal Tecnológica do Paraná – Santa Helena



Daniel Debona

Universidade Federal Tecnológica do Paraná – Santa Helena

30 de Março de 2020

A Espiritualidade e a minha valorosa mãe Maria Bordin, que graças ao seu amparo, carinho e principalmente compreensão pela minha ausência, essa etapa pode ser concluída.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Espiritualidade por todo atendimento e amparo em situações difíceis.

A minha mãe Maria Bordin por toda sua cumplicidade, por estar ao meu lado em todos os meus momentos, por compartilhar comigo todos os seus momentos e por ser minha motivação que, sem a qual nada disso teria a importância que tem.

Aos colegas de laboratório pelos ensinamentos e auxílios em inúmeros momentos da pesquisa, em especial a Andreia Bonini que voluntariamente doou sua expertise e seu tempo além do acolhimento em diversos momentos.

As amigas valorosas Jaqueline Suelen Loeblein e Priscila de Andrade Rode por tantas trocas durante os momentos de trabalho e também a Cristiane Ritter Rauber por compartilhar inúmeros momentos dentro e fora do meio acadêmico.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Luis Francisco Angeli Alves e Prof^a. Dr^a. DeJane Santos Alves pelas orientações e correções dedicadas à conclusão desse trabalho.

“A experiência nunca falha, apenas as nossas opiniões falham, ao esperar da experiência aquilo que ela não é capaz de oferecer.”

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	5
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Óleos essenciais	13
2.2 Caracterização química	15
2.3 Insetos	15
2.4 Toxicidade de OEs para <i>A. diaperinus</i>	16
2.4.1 Screening da bioatividade de OEs em ensaio de ingestão	16
2.4.2 <i>Screening</i> da bioatividade de OEs em ensaio de aplicação tópica	10
2.4.3 Determinação da resposta concentração – mortalidade do OE de <i>C. cassia</i> em ensaio de ingestão	10
2.5 Nanoemulsões do OE de <i>C. cassia</i>	11
2.5.1 Obtenção das nanoemulsões (NE)	118
2.5.2. Estudo de estabilidade das NEs.....	20
2.5.3 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).....	20
2.5.4. Ensaio de ingestão com o OE e NEs de <i>C. cassia</i> para <i>A. diaperinus</i>	20
2.5.5 Efeito residual do OE e NEs de <i>C. cassia</i> para <i>A. diaperinus</i>	21
2.6 Análise dos dados	22
3. RESULTADOS	23
3.1 Caracterização química	23
3.2 Screening da bioatividade de OEs em ensaio de ingestão	23
3.2.1 <i>Screening</i> da bioatividade de OEs em ensaio de aplicação tópica	25
3.2.3 Determinação da resposta concentração – mortalidade do OE de <i>C. cassia</i> em ensaio de ingestão e ingrediente ativo cipermetrina	25
3.2.4 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).....	25
3.2.5. Ensaio de ingestão com o OE e NEs de <i>C. cassia</i> para <i>A. diaperinus</i>	26
3.2.6 Efeito residual do OE e NEs de <i>C. cassia</i> para <i>A. diaperinus</i>	27
4. DISCUSSÃO	28
5. AGRADECIMENTOS	32
6. MATERIAL SUPLEMENTAR	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXO 1	43

RESUMO

BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Citrus* spp. E *Cinnamomum* spp. E NANOEMULSÕES DE *Cinnamomum cassia* CONTRA *Alphitobius diaperinus*

O cascudinho dos aviários *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) é considerada a principal praga da avicultura de corte. Os inseticidas químicos atualmente disponíveis para o seu controle causam danos ambientais e a saúde do consumidor, por isso faz-se necessário o desenvolvimento de pesquisas buscando por novas alternativas. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar a bioatividade de óleos essenciais (OEs) provenientes de *Citrus aurantium* var. *bergamia*, *Citrus reticulata* var. *tangerine*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus aurantium*, *Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum*, *Cinnamomum camphora* e *Cinnamomum cassia* e nanoemulsões (NEs) para *A. diaperinus*. Os OE *C. aurantium* var. *bergamia* e *C. reticulata* var. *tangerine* apresentaram toxicidade de forma tópica em relação aos demais OE, porém com baixa probabilidade de sobrevivência (0,68). O OE de *C. cassia* apresentou alta toxicidade para *A. diaperinus* em ensaio de ingestão resultando em $TL_{50} = 35$ h e $CL_{50} = 29,54$ µg/mg, 6,4 vezes maior comparada a CL_{50} obtida para o ingrediente ativo cipermetrina ($TL_{50} = 48$ h; $CL_{50} = 4,57$ µg/mg). A análise do perfil metabólico por CG/MS revelou que o *E*-Cinamaldeído (84,21%) foi o composto majoritário. Adicionalmente, esse OE foi selecionado para ser submetido a ensaios visando o desenvolvimento de NEs. Foram selecionadas duas NEs que se mostraram mais estáveis com base em ensaio de stress termodinâmico. As análises de DLS das NEs revelaram que o diâmetro médio das partículas foi de 159,4 e 99,20; potencial zeta: -2,3 e -0,647 e índice de polidispersidade: 0,43 e 0,14. Quando as NEs foram submetidas a ensaio com *A. diaperinus* foi constatado que elas foram mais tóxicas ($TL_{50} = 66$ h) do que o OE não nanoemulsionado ($TL_{50} = 96$ h). Destaca-se ainda que as NEs mostraram-se bioativas mesmo após 21 dias da sua aplicação em dieta de *A. diaperinus*. Assim, as NEs mostraram-se mais tóxicas para *A. diaperinus* do que o OE.

Palavras-chaves: Inseticidas botânicos, cascudinho-do-aviário, coleóptera, nanotecnologia.

ABSTRACT

BIOACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF *Citrus* spp. AND *Cinnamomum* spp. AND NANOEMULSIONS OF *Cinnamomum cassia* AGAINST *Alphitobius diaperinus*

The lesser mealworm of aviaries *Alphitobius diaperinus* (Panzer 1970) (Coleoptera: Tenebrionidae) is considered the main pest of poultry. The chemical insecticides currently available for its control cause environmental damage and consumer health, so it is necessary to develop research seeking new methods of control. Thus, this work aimed to evaluate the bioactivity of essential oils (EOs) from *Citrus aurantium* var. *bergamia*, *Citrus reticulata* var. *tangerine*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus aurantium*, *Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum*, *Cinnamomum camphora* and *Cinnamomum cassia* and nanoemulsions (NEs) for *A. diaperinus*. The OE *C. aurantium* var. *bergamia* and *C. reticulata* var. *tangerine* presented toxicity in a topical way in relation to the other EO, but with low probability of survival (0.68). The EO of *C. cassia* showed high toxicity for *A. diaperinus*, in ingestion test, resulting in $TL_{50} = 35$ h and $LC_{50} = 29.54$ $\mu\text{g}/\text{mg}$, 6.4 times higher compared to the LC_{50} obtained for the active ingredient cypermethrin ($TL_{50} = 48$ h; $CL_{50} = 4, 57$ $\mu\text{g}/\text{mg}$). The analysis of the metabolic profile by GC/MS revealed that E-Cinnamaldehyde (84.21%) was the major compound. Additionally, this EO was selected to be submitted to tests aiming at the development of NEs. Two NEs were selected that were more stable based on a thermodynamic stress test. DLS analyzes of NEs revealed that the average particle diameter was 159.4 and 99.20; zeta potential: -2.3 and -0.647 and polydispersity index: 0.43 and 0.14. When the NEs were subjected to a test with *A. diaperinus* it was found that they were more toxic ($TL_{50} = 66$ h) than the non-nanoemulsified OE ($TL_{50} = 96$ h). It is also noteworthy that the NEs were bioactive even after 21 days of their application in *A. diaperinus* diet. Thus, NEs proved to be more toxic to *A. diaperinus* than EO.

Keywords: Botanical insecticides, lesser mealworm of aviaries, Coleoptera, nanotechnology.

1. INTRODUÇÃO

A alta demanda pela carne de frango propicia a aglomeração das aves nos aviários de corte, o que cria condições ideais para o aumento da densidade populacional de insetos pragas, tais como o cascudinho-dos-aviários *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). Esse inseto é considerado a principal praga da avicultura de corte (Japp e Bicho 2010; Loftin e Corder, 2012). Entre os prejuízos causados por *A. diaperinus* pode-se citar que esse inseto atua como vetor e reservatório de diversas enterobactérias patogênicas (Segabinazi et al., 2005; Ou et al., 2012; Crippen et al., 2018; Arena et al., 2020). Além disso, as aves jovens, ao se alimentarem das larvas desse inseto, apresentam redução no ganho de peso (Despins and Axtel, 1995) e lesões gastrointestinais (Japp and Bicho, 2010).

O método mais empregado para o controle de *A. diaperinus* é por meio da aplicação de inseticidas químicos sintéticos como o piretroide cipermetrina que tem sido apontada como uma das substâncias responsáveis por causar redução da suscetibilidade dos insetos aos pesticidas (Hickmann et al., 2018; Katsavou et al., 2020), acarretando na seleção de populações de insetos resistentes (Singh e Johnson, 2015; Bolzan et al., 2019; Silva et al., 2019), além de contaminação de insetos não-alvos (Morales et al., 2020) e alimentos de origem animal causada por serem compostos lipofílicos, facilmente se acumulando nos tecidos gordurosos como o apresentado pelos autores Dallegrave et al. (2018). Diante dessa problemática, justifica-se a importância pela busca por métodos eficientes e de baixo impacto ambiental para o controle de *A. diaperinus*.

Nesse contexto, os metabólitos secundários de plantas apresentam-se promissores para o desenvolvimento de novos pesticidas. Entre os produtos do metabolismo secundário de plantas, destacam-se os óleos essenciais (OEs), os quais podem atuar em artrópodes principalmente através da inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), modulação em canais mediados pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) e ação no sistema octopaminérgico (Jankowska et al., 2017). Entre os OEs com atividade pesticida pode-se destacar os gêneros *Citrus* L. spp. (Papachristos et al., 2009; Vinturelle et al., 2017; Giunti et al., 2019) e *Cinnamomum* spp. (Guo et al., 2015; Kang e Lee, 2018; Martínez et al., 2018). Entretanto, estudos com plantas pertencentes a esses gêneros para *A. diaperinus* são escassos até o

momento (Wang et al., 2014a; Volpato et al., 2016; Arena et al., 2020), o que encorajou essa pesquisa.

Apesar da reconhecida toxicidade de metabólitos secundários para artrópodes, entre alguns fatores que impedem a comercialização dos OEs em larga escala são a baixa estabilidade físico-química e sua sensibilidade térmica, que ocasionam fácil degradação (Cai et al., 2015; Shetta et al., 2019; Xu et al., 2019). Em resposta a essa problemática, uma das possibilidades é o uso de nanoformulações (Gorri *et al.*, 2017; Abdel-Tawab, 2016).

Entre as nanoformulações encontram-se as nanoemulsões (NEs) que, por apresentarem tamanho de partícula reduzida, apresentam maior estabilidade e proteção contra a degradação rápida (Athanassiou et al., 2018; De Castro e Silva et al., 2019). Assim a submissão dos produtos botânicos a nanotecnologia possibilita reduzir a quantidade de ingrediente por facilitar maior solubilidade do produto (Sasson et al., 2007), reduz também a dose e os custos a serem empregados devido a entrega e ação direcionada do pesticidas nanoemulsionados (Yasur e Usha Rani, 2015) a um alvo específico, conseqüentemente mantendo alta eficácia no controle de pragas (Goswami et al., 2010), além de exigir aplicações menos frequentes devido a liberação gradual dos produtos nanoemulsionados (Sasson et al., 2007; Athanassiou et al., 2018).

Assim, esse estudo objetivou 1) avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de *Citrus L. spp.* e *Cinnamomum Schaeff spp.* para *A. diaperinus*; 2) determinar e comparar a resposta concentração-mortalidade do OE mais tóxico e do ingrediente ativo cipermetrina 3) caracterizar quimicamente o OE de maior toxicidade para *A. diaperinus*; 4) avaliar a estabilidade das NEs e avaliar sua bioatividade para *A. diaperinus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2. 1 Óleos essenciais

Os OEs empregados nesse trabalho foram adquiridos da empresa FERQUIMA Indústria e Comércio Ltda, São Paulo - Brasil (<https://www.ferquima.com.br>) (Tabela 1).

Tabela 1. Nomes científico e comercial, método de extração e Nomenclatura Internacional de Ingredientes Cosméticos (INCI) pertencentes aos óleos essenciais empregados nesse estudo.

Nome científico	Nome INCI	Método de extração	Nome comercial do produto
<i>Citrus aurantium</i> var. <i>bergamia</i> (Risso) Brandis	Citrus Aurantium Bergamia Fruit Oil	Prensagem a frio da casca dos frutos	Óleo Essencial de Bergamota
<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	Citrus Aurantifolia Peel Oil Distilled	Destilação a vapor do óleo prensado a frio dos frutos	Óleo Essencial de Lima Destilada
<i>Citrus reticulata</i> var. <i>tangerine</i> Blanco	Citrus Reticulata Peel Oil	Prensagem a frio da casca dos frutos	Óleo Essencial de Tangerina
<i>Citrus aurantium</i> L.	Citrus Aurantium Leaf Oil	Destilação a vapor das folhas	Óleo Essencial de Petitgrain Paraguai
<i>Cinnamomum camphora</i> var. <i>linalooliferum</i> (Y.Fujita) Sugim.	Cinnamomum Camphora Linalooliferum Wood Oil	Destilação a vapor da madeira	Óleo Essencial de Ho Wood
<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J.Presl	Cinnamomum Camphora Bark Oil	Destilação a vapor da madeira	Óleo Essencial de Cânfora Branca
<i>Cinnamomum cassia</i> (L.) Presl	Cinnamomum Cassia Oil	Destilação a vapor das folhas, casca, talo	Óleo Essencial de Canela Cássia

2.2 Caracterização química

O óleo essencial proveniente de *C. cassia*, que apresentou maiores níveis de toxicidade para *A. diaperinus*, foi analisado em Cromatógrafo a Gás Shimadzu GCMS-QP2010 Plus em coluna capilar apolar RTx5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Foram empregadas as seguintes condições: modo split a uma razão de injeção de 1/20, temperatura de 250°C para o injetor e fonte de íons e 280°C para a interface. A temperatura inicial foi programada para 60°C para os 5 primeiros minutos, aumentando a uma taxa de 3°C/min até a temperatura final de 240°C, completando com uma isoterma de 5 minutos. Os componentes foram identificados baseados em comparações com o índice de retenção relativo usando dados de uma série de n-alcenos (C8-C19), espectro de massas do banco de dados do equipamento, seguida por comparação com os índices de retenção de dados publicados (Adams, 2009).

Para as análises quantitativas foi empregado o Cromatógrafo Shimadzu Gas 2010 com Detector de Ionização de Chama (GC-FID), em uma coluna OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) sob as seguintes condições: He foi usado com gás de arraste a fluxo constante de 1 mL/min, taxa de injeção de 1/20, volume de injeção de 1 µl do óleo diluído em éter etílico, com detector a temperatura de 280°C, e o injetor a 250°C. A temperatura inicial da coluna foi de 60°C por 5 minutos, programada para aquecimento a uma taxa de 3°C/min até atingir a temperatura final de 240°C, completando com uma isoterma por 5 minutos.

2.3 Insetos

Os insetos foram obtidos de criação mantida em condições de laboratório (32 ± 5 °C, UR de 50% e fotofase de 14 h) de acordo com metodologia proposta por Rice e Lambkin (2009). A dieta empregada para a manutenção dos insetos foi constituída por farelo de trigo (76%), levedo de cerveja (7%) e ração para frangos de corte (17%). Como fonte de água foram empregados pedaços de maçãs *in natura*.

Para obtenção de insetos, de mesma idade, aproximadamente 200 adultos não sexados foram transferidos para a dieta artificial. Após 72 h, os adultos foram retirados, obtendo-se assim a dieta com os ovos. Assim, assegurou-se que as larvas resultantes

desse processo tivessem diferença máxima de 72 h de idade. Em todos os bioensaios foram empregadas larvas com 12 dias de idade (± 3 dias).

Todos os ensaios foram conduzidos em condições de laboratório (32 ± 5 °C, UR a 50% e fotofase de 14h). Cada ensaio foi repetido duas vezes em dias diferentes. Para as avaliações de sobrevivência foi considerado morto o indivíduo que não respondia ao toque de um pincel.

2.4 Toxicidade de OEs para *A. diaperinus*

2.4.1 Screening da bioatividade de OEs em ensaio de ingestão

A metodologia empregada foi a descrita por Szczepanik et al. (2018), com o mínimo de modificações. Os OEs (100 mg) (Tabela 1) foram solubilizados em acetona P.A (1000 μ L) e adicionados a 1 g de dieta. Após evaporação do solvente, em capela de fluxo laminar, por aproximadamente 1 hora, 20 mg da dieta contendo OEs foram transferidos para tubos tipo microtubo com tampa perfurada. Para a testemunha negativa empregou-se apenas, dieta acrescida de acetona P.A.. Em seguida, adicionou-se uma larva do cascudinho. Para todos os tratamentos e também para a testemunha foram utilizadas 5 repetições com 10 larvas cada uma. As avaliações da sobrevivência foram realizadas após 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a transferência dos insetos para a dieta. Cada ensaio foi repetido duas vezes em dias diferentes.

2.4.2 *Screening* da bioatividade de OEs em ensaio de aplicação tópica

A metodologia empregada foi adaptada de Phillips et al. (2010). Para isso, os OEs (Tabela 1) (10 mg) foram diluídos em acetona P.A (100 µL). Alíquotas de 1 µL foram aplicadas no dorso das larvas utilizando um microaplicador acoplado ao aparelho Burkard Scientific PAX 100-3 de microaplicação e auxílio de lupa de mesa. Após a aplicação, os insetos foram individualizados em microtubos do tipo Eppendorf, contendo 20 mg de dieta. A testemunha negativa consistiu de aplicação de acetona P.A. Foram empregadas 50 repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por uma larva individualizada. As avaliações da sobrevivência ao longo do tempo foram realizadas após 6, 12, 24, 36 e 48 horas da aplicação dos tratamentos

2.4.3 Determinação da resposta concentração – mortalidade do OE de *C. cassia* em ensaio de ingestão

Foram preparadas diluições do OE de *C. cassia*, nas concentrações de 25; 40; 70; 115 e 200 µg/mg de dieta. As faixas de concentração foram determinadas através de testes prévios, empregando progressão aritmética, de modo a encontrar faixas de concentrações que causassem mortalidade variando entre 20 e 80% (Finney, 1971).

A resposta concentração-mortalidade foi comparada com aquela obtida para o ingrediente ativo cipermetrina, PESTANAL[®], Sigma-Aldrich Products. Para isso foram empregadas as concentrações de 1; 1,77; 3,16; 5,62 e 10 µg/mg de dieta.

Como testemunha negativa, utilizou-se acetona P.A. O ensaio foi conduzido conforme ensaio de ingestão (item 2.4.1). Foram empregadas 50 repetições por tratamento, sendo a parcela experimental constituída de uma larva, mantida individualizada. A sobrevivência dos insetos foi avaliada às 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a transferência dos insetos para a dieta.

2.5 Nanoemulsões do OE de *C. cassia*

2.5.1 Obtenção das nanoemulsões (NE)

Para a obtenção das NEs com o OE de *Cinnamomum cassia* foram empregadas três diferentes combinações de tensoativos. Na primeira combinação a fase 1 consistiu de Emulsogen TS160 e a fase 2 foi o OE; o outro tratamento foi constituído da fase 1: Emulsogen EL360 e a fase 2: OE, obtendo-se assim as NEs 1 e 2, respectivamente (Tabela 1). Na segunda combinação foi empregado Emulsogen TS160 e Tween 80 como fase 1 e o OE foi a fase 2 e o outro tratamento teve como fase 1: Emulsogen EL360 e Tween 80 e fase 2: OE, o que permitiu a obtenção das NEs 3 e 4, respectivamente (Tabela 1). Na terceira combinação usou-se como fase 1: Emulsogen TS160 e fase 2: OE solubilizado em Tween 80; Emulsogen EL360 como fase 1 e OE solubilizado em Tween 80 como fase 2, obtendo-se as NEs 5 e 6, respectivamente (Tabela 1). Adicionalmente foram obtidas nanoemulsões em branco, sem o OE, as quais foram denominadas NEs 7 e 8. Em todos os casos foi empregado 0,5 g do óleo essencial, 0,5 g do Emulsogen TS160 ou Emulsogen EL360 e 0,5 g de Tween 80. O volume final da solução foi completado para 10 mL com água ultrapura (Tabela 1).

Dessa forma, à água MiliQ foi adicionado o Emulsogen e/ou Tween 80, que consistiu na fase 1, o qual foi submetido a agitação em Vortex. Em seguida, a mistura foi submetida a agitação em UltraTurrax® T10 basic em velocidade de 9.500 rpm. Paralelamente, a fase 2 contendo apenas OE ou OE + Tween 80 foi gradualmente injetada (200 µL) na fase 1. Após o OE ser injetado na fase 1 a mistura permaneceu em agitação no UltraTurrax nas velocidades de 11.500, 14.500, 20.500 e 30.000 rpm, por 3 minutos. Assim, após atingir a rotação máxima a velocidade foi reduzida a cada 3 minutos, obtendo-se as NEs.

Tabela 1. Combinações de tensoativos utilizadas na preparação das nanoemulsões com o óleo essencial de *Cinnamomum cassia*.

Nanoemulsão	Emulsogen® TS 160 (g)	Emulsogen® EL360 (g)	Tween 80 (g)	Óleo essencial <i>C. cassia</i> (g)	Água destilada(Fase 1) (mL)	Água (Fase 2) (mL)
1	0,5287	-	-	0,5218	4,5	4,5
2	0,5149	-	0,5095	0,5098	4,5	4,0
3	-	0,5068	-	0,5278	4,5	4,5
4	-	0,5285	0,5161	0,5213	4,5	4,0
5	0,5162	-	0,5081	0,5049	4,5	4,0
6	-	0,5012	0,5023	0,5044	4,5	4,0
7	0,5000	-	0,5000	-	4,5	4,5
8	-	0,5000	0,5000	-	4,5	4,5

2.5.2. Estudo de estabilidade das NEs

A estabilidade das NEs foi avaliada após armazenamento das NEs, por 24 h, em diferentes temperaturas sendo, temperatura baixa (4°C), temperatura ambiente (25°C) e temperatura alta (60°C). A estabilidade foi avaliada através da inversão e separação de fases (Shafiq et al., 2007). As formulações que se apresentaram mais estáveis no teste de estresse termodinâmico foram selecionadas para serem caracterizadas e submetidas aos ensaios biológicos.

2.5.3 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

Para as análises de DLS foram empregadas as NEs 5 e 6, que demonstraram estabilidade no teste de estabilidade por estresse termodinâmico através da não separação de fases (item 2.5.2). As NEs foram diluídas em água

ultrapura (1:9), antes das medições serem realizadas. O tamanho e a distribuição de partículas das NEs do OE de *C. cassia* foram determinados usando Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments. O índice de refração foi calibrado em 1,60. As amostras foram lidas em triplicata. Dessa forma, foram obtidos os valores para o diâmetro médio das partículas, índice de polidispersidade (PDI) e potencial Zeta (ζ).

2.5.4. Ensaio de ingestão com o OE e NEs de *C. cassia* para *A. diaperinus*

Foi utilizado o OE de *C. cassia* em concentração equivalente a CL_{50} , determinada no item 2.4.3 (29 $\mu\text{g}/\text{mg}$). As NEs 5 e 6 de *C. cassia* também foram utilizadas de forma que a quantidade de OE fosse equivalente a CL_{50} determinada previamente para o OE (29 μg do óleo essencial nanoemulsionado/ mg de dieta). O OE e as NEs foram previamente solubilizadas em água destilada e incorporadas em dieta. Alíquotas da dieta (20 mg) foram oferecidas a larvas de *A. diaperinus* conforme descrito (item 2.4.1). Foram empregadas 50 repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por uma larva, mantida individualizada. Como testemunhas negativas foi empregada dieta acrescida de água destilada e das NEs controle (referentes às NEs 5 e 6 listada no item 2.5.1). A sobrevivência foi avaliada às 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a transferência dos insetos para a dieta.

2.5.5 Efeito residual do OE e NEs de *C. cassia* para *A. diaperinus*

O efeito residual do OE e NEs de *C. cassia* foi avaliado após 7, 14 e 21 dias da aplicação dos tratamentos em dieta que foi oferecida para larvas de *A. diaperinus*. Assim, o OE foi solubilizados em água destilada e incorporados em dieta artificial na concentração de 29 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de dieta. Para as NEs foi utilizada a concentração de 29 μg do óleo essencial nanoemulsionado/ mg de dieta. Alíquotas da dieta com os tratamentos foram ofertadas a larvas e sobrevivência avaliada após 24, 48, 72, 96 e 120 horas em cada dia avaliado, de acordo com item 2.4.1.

Como testemunhas negativas foram empregados tratamentos com as NEs controle (item 2.5.1) e tratamento contendo apenas dieta acrescida de água destilada.

O experimento foi conduzido com 50 repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por uma larva, mantida individualizada.

2.6 Análise dos dados

Todos os ensaios foram conduzidos empregando delineamento experimental inteiramente aleatorizado.

Para realizar a análise conjunta dos dados, os mesmos foram submetidos ao teste de Bartlett ($p \geq 0,05$). Os dados referentes à sobrevivência dos insetos ao longo do tempo foram submetidos à análise de sobrevivência empregando a distribuição de Weibull. O ajuste dos dados à distribuição de Weibull foi verificado através do teste de aderência de Kolmogorov–Smirnov. Ainda, realizou-se a análise de contraste visando à formação de grupos de efeitos semelhantes. O tempo letal mediano (TL_{50}) para cada grupo formado foi calculado empregando-se a fórmula:

$S(LT50) = \exp(-(LT50/\delta)\alpha)$, onde: S = sobrevivência; δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala.

Para a determinação da resposta concentração – mortalidade os dados foram submetidos a análise de Logit, sendo que a concentração letal mediana (CL_{50}) foi estimada empregando a fórmula:

$f(x) = 1/1 + \exp(b(\log(x) - \log(e)))$, onde “b” e “e” = coeficientes da equação

Todas as análises estatísticas empregaram o software R® (R Development Core Team, 2019).

3. RESULTADOS

3.1 Caracterização química

Através de análises por CG-MS do OE *C. cassia* revelou que o constituinte majoritário foi o *E*- cinamaldeído (84,21%). O segundo composto mais abundante foi o *E*- cinamaldeído-*p*-metoxi (7,98%) (S1T2).

3.2 Screening da bioatividade de OEs em ensaio de ingestão

A análise de sobrevivência de *A. diaperinus*, submetido aos tratamentos com OEs em ensaio de ingestão, permitiu a formação de dois grupos congêneres ($\chi^2 = 439.14$; $df = 7$; $p < 0,01$). O grupo 1 foi formado pelo OE de *C. cassia*, com TL_{50} de 35 h e probabilidade de sobrevivência de apenas 0,01, ao passo que o grupo 2 englobou os tratamentos com OE de *C. aurantium* var. *bergamia*, *C. aurantifolia*, *C. reticulata* var. *tangerine*, *C. aurantium*, *C. camphora* var. *linalooliferum*, *C. camphora* e a testemunha negativa acetona com sobrevivência acumulada de 0,94 (Fig. 1).

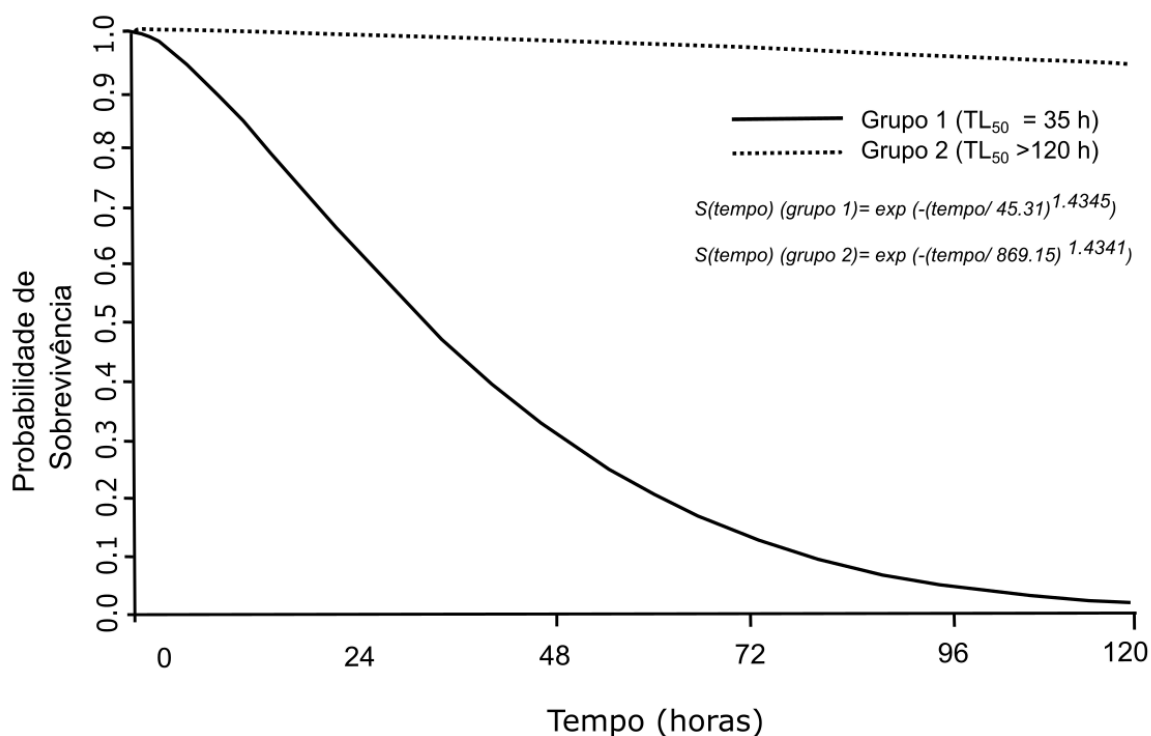


Fig 1. Sobrevivência de *Alphitobius diaperinus* ao longo do tempo em ensaio de ingestão com os óleos essenciais de *Citrus* spp. e *Cinnamomum* spp. $S(t) = \exp(-(\text{tempo} / \delta)^\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: *Cinnamomum cassia* (n=100). Grupo 2: *Citrus aurantium* var. *bergamia* (n=100), *Citrus aurantifolia* (n=100), *Citrus reticulata* var. *tangerine* (n=100), *Citrus aurantium* (n=100), *Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum* (n=100), *Cinnamomum camphora* (n=100) e a testemunha negativa acetona (n=100).

3.2.1 Screening da bioatividade de OEs em ensaio de aplicação tópica

Foi constatada diferença estatística entre os tratamentos ($\chi^2 = 74,26$; $df = 7$; $p < 0,05$) na análise de sobrevivência de *A. diaperinus*, sendo possível a formação de três grupos congêneres (S1F1). O grupo 1 foi formado pelos OEs de *C. aurantium* var. *bergamia* e *C. reticulata* var. *tangerine*, com TL₅₀ de 48 h e probabilidade de sobrevivência de 0,68. O grupo 2 englobou os tratamentos com os OEs de *C. aurantifolia*, *C. aurantium*, *C. camphora* var. *linalooliferum*, *C. camphora* e *C. cassia* com probabilidade de sobrevivência de 0,89. Ao passo que

grupo 3 foi representado pela testemunha negativa acetona com sobrevivência acumulada de 0,97.

3.2.3 Determinação da resposta concentração – mortalidade do OE de *C. cassia* em ensaio de ingestão e ingrediente ativo cipermetrina

Após 48 h, a CL_{50} do OE de *C. cassia* para *A. diaperinus* foi de 29,54 (LI: 26,74; LS: 32,34) e a CL_{90} foi de 58,70 (LI: 50,55; LS: 66,84) $\mu\text{g}/\text{mg}$ ($\chi^2=452,75$; $df=498$, $p=0,92$).

Para o ingrediente ativo cipermetrina os valores de CL_{50} e CL_{90} foram de 4,57 (LI: 3,87; LS: 5,27) e 22,56 (LI: 13,68; LS: 31,44) $\mu\text{g}/\text{mg}$, respectivamente ($\chi^2=491,87$; $df=498$, $p=0,56$).

3.2.4 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

As NEs denominadas 5 e 6 mostraram-se estáveis ao ensaio de estresse termodinâmico por isso selecionadas para essa etapa (S1F2) (Tabela 1). Para a nanoemulsão 5 os valores foram de 159,4; -2,3 e 0,43, respectivamente, para o diâmetro médio das partículas, potencial zeta e PDI. No que se refere a emulsão 6 foram obtidos os seguintes valores: 99,20 (diâmetro médio das partículas); -0,647 (potencial zeta) e 0,14 (PDI).

3.2.5. Ensaio de ingestão com o OE e NEs de *C. cassia* para *A. diaperinus*

Foi constatada diferença significativa entre os tratamentos ($\chi^2 = 206,68$; $df = 5$; $p < 0,05$), sendo possível a formação de três grupos congêneres (Fig. 2). O grupo 1 foi formado por NEs 5 e 6 com TL_{50} de 66 h e probabilidade de sobrevivência de 0,20. O grupo 2 englobou os tratamentos com OE de *C. cassia* com TL_{50} de 96h sobrevivência de 0,39. Ao passo que o grupo 3 foi constituído

pelos NEs controle (7 e 8) e a testemunha negativa água destilada com sobrevivência acumulada de 0,80.

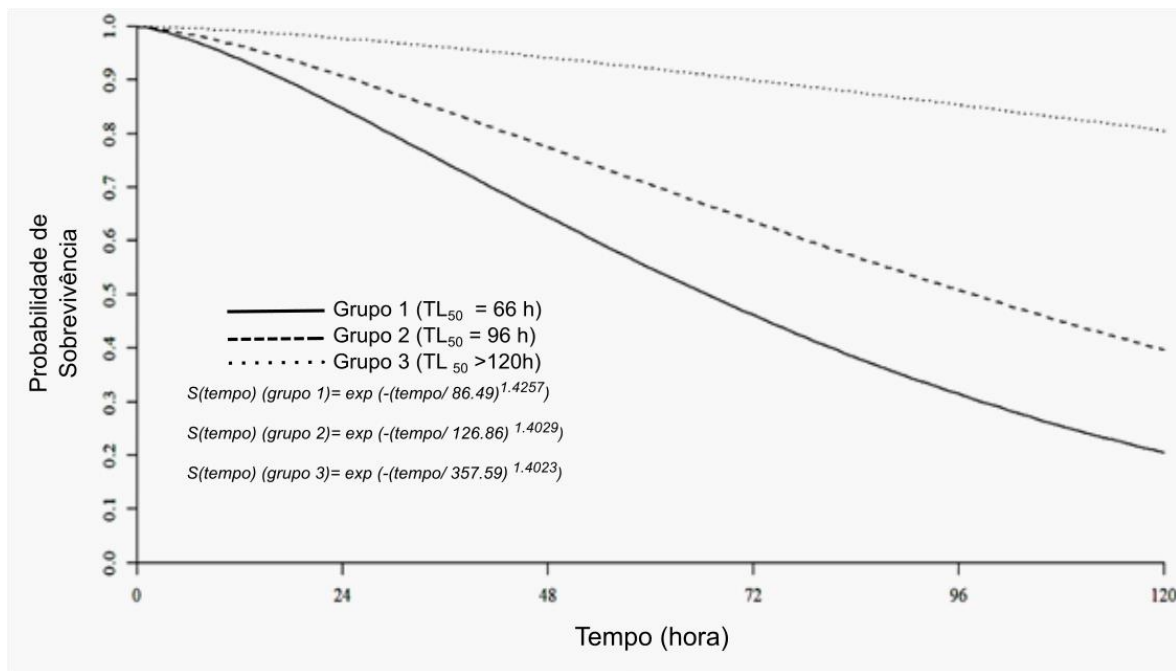


Fig. 2. Sobrevivência de *Alphitobius diaperinus* ao longo do tempo em ensaio de ingestão com óleo essencial (OE) e nanoemulsões (NEs) de *Cinnamomum cassia*. $S(t) = \exp(-(\text{tempo}/\delta)^\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: NEs 5 (n=100) e 6 (n=101). Grupo 2: OE de *Cinnamomum cassia* (n=105). Grupo 3: NE 7 (n=101); NE 8 (n=100) e água destilada (n=100).

3.2.6 Efeito residual do OE e NEs de *C. cassia* para *A. diaperinus*

Após 7 dias da incorporação do OE e NEs de *C. cassia* na dieta de *A. diaperinus* houve efeito tóxico dos tratamentos para o inseto ($\chi^2 = 224,15$; $df = 5$; $p < 0,05$). Foi possível a formação de três grupos, o grupo 1 foi formado por NEs 5 e 6 com TL₅₀ de 67 h e probabilidade de sobrevivência de 0,20. O grupo 2 englobou o tratamento com OE de *C. cassia* com TL₅₀ de 93 h sobrevivência de 0,37. As testemunhas das NEs (7 e 8) e o tratamento com água destilada formaram o terceiro grupo com sobrevivência acumulada de 0,82 (S1F3A).

De forma análoga, também foi verificado efeito tóxico residual para *A. diaperinus* após 14 dias da incorporação dos tratamentos em dieta ($\chi^2 = 49,77$; $df = 5$; $p < 0,05$). O primeiro grupo foi formado pelas NEs 5 e 6 e pelo tratamento com OE de *C. cassia*, com probabilidade de sobrevivência de 0,61. Ao passo que o segundo grupo foi constituído pelas NEs controle (7 e 8) e água destilada com probabilidade de sobrevivência de 0,84 (S1F3B).

Após 21 dias da incorporação dos tratamentos em dieta ainda pode ser constatada toxicidade para *A. diaperinus* ($\chi^2 = 49,77$; $df = 5$; $p < 0,05$). O grupo 1 foi formado por NEs 5 e 6 com TL_{50} de 120 h probabilidade de sobrevivência. O grupo 2 foi formado pelo OE de *C. cassia*; NEs controle (7 e 8) e água destilada com probabilidade de sobrevivência de 0,79 (S1F3B).

4. DISCUSSÃO

O OE proveniente de *C. cassia* foi tóxico para *A. diaperinus* em ensaio de ingestão, para os demais OEs avaliado não foi detectada alta toxicidade para *A. diaperinus* em nenhum dos ensaios realizados, apesar de existirem relatos desses OEs para coleópteros. Nesse sentido, *C. camphora*, é descrito por apresentar toxicidade para *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae) (Cansian et al., 2015), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) (Wang et al., 2014a), *Tribolium castaneum* (H.) e *Lasioderma serricorne* (Fabr.) (Guo et al., 2016). Por outro lado, *C. aurantium* já foi reportado por afetar aspectos da biologia de *Rhyzopertha dominica* (F.) (Souza et al., 2016) e *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) (Jayakumar, 2010). Por sua vez, *Ci. reticulata* apresenta toxicidade para *Cryptolestes ferrugineus* (Steph.) (Lü, 2017), *S. zeamais* (Fouad e Camara, 2017), *T. castaneum* (Mobki et al., 2014) e *S. oryzae* (Mishra et al., 2014). De maneira análoga, *C. aurantifolia* é conhecida por apresentar efeito letal e subletal para *C. maculatus* (Boodram e Khan, 2019) e *T. castaneum* (Abdelgaleil et al., 2015).

A diferença entre os resultados pode ser devida a bioatividade é espécie-específica (Gao et al., 2020). Também, é possível que as plantas apresentem variação na produção de metabólitos secundários, tais como a existência de

quimiotipos (Haghighi et al., 2019), local de coleta (Khalid et al., 2018); Ray et al., 2019), idade da planta (Boukhris et al., 2015) e a parte vegetal analisada (Lebanov et al., 2019).

O OE de *C. cassia* é reportado em literatura por apresentar atividade tóxica para alguns coleópteros, tais como *T. castaneum*, *L. serricornis* e *S. oryzae* (Lee et al., 2008; Wang et al., 2018). Entretanto, esse é o primeiro relato do efeito tóxico do OE de *C. cassia* em ensaio de ingestão para *A. diaperinus*.

Estudos mostraram que o OE extraído de folhas de *C. cassia* causou apenas aproximadamente 30% de mortalidade em *A. diaperinus*, em ensaios de contato e de fumigação (Wang et al., 2014a). A diferença entre os resultados aqui encontrados e aqueles previamente descritos na literatura pode ser devido à variação na produção de metabólitos secundários de *C. cassia* (Gao et al., 2020) e diferenças entre as metodologias de contato empregadas (Wang et al., 2014a).

A CL₅₀ para larvas de *A. diaperinus* submetidas à dieta contendo óleo de *C. cassia* foi de apenas 29 µg/mg de dieta, que foi 6,3 vezes maior do que a constatada para a dieta com inseticida cipermetrina (4,5717 µg/mg de dieta). Todavia, esse resultado apresenta-se promissor para o controle de larvas de *A. diaperinus*, haja vista que o óleo essencial de *C. cassia* é constituído por uma mistura complexa de substâncias. Assim é possível que apenas uma das substâncias presentes no OE apresente bioatividade, o que reduziria o valor de CL₅₀.

Na análise do perfil metabólito de *C. cassia* foi constatada a presença do *E*-cinamaldeído, como constituinte majoritário, tal como observado por Jardim et al. (2018), Ma et al. (2019) e Zhang et al. (2019) que também constataram o mesmo constituinte majoritário para *C. cassia*.

A atividade inseticida do *E*-cinamaldeído é descrita na literatura para outros artrópodes como o coleóptero *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) (Saad e Abdelgaleil, 2018) submetidos a ensaios com monoterpenos e fenilpropenos, e o lepidóptero *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Abdelgaleil et al., 2020; Al-Nagar et al., 2020) que foram submetidos a ensaios com terpenos e fenilpropenos.

No que se refere ao modo de ação do *E*-cinamaldeído em insetos, já foi reportado que ele como potente inibidor de α-amilase (Abdelgaleil et al., 2020) e da acetilcolinesterase (Saad et al., 2018) e também causou moderada inibição de

ATPases (Saad et al., 2019). Entretanto, apesar do *E*- cinamaldeído ser o constituinte majoritário do OE não se pode afirmar que o mesmo seja o composto ativo. É possível que algum composto presente em menor quantidade também seja bioativo (Tabari et al., 2020) ou ainda que haja sinergismo entre as substâncias (Tak e Isman, 2017; Scalerandi et al., 2018; Feng et al., 2020).

Em relação às NEs obtidas com o OE de *C. cassia*, o diâmetro médio das partículas foi de 159,4 e 99,20 nm para as NEs 5 e 6. Esses valores estão de acordo com o reportado por Pongsumpun et al. (2020) que concluiu, que no geral o tamanho das partículas de nanoemulsões variam entre 20 e 500 nm. Segundo Tadros et al. (2004), quanto menor o tamanho, menor é a força de atração entre as partículas causando maior estabilidade, corroborando Pongsumpun et al., (2020), quando diz que menor tamanho melhora a eficiência de retenção (Pongsumpun et al., 2020).

As NEs 5 e 6 apresentaram valores de PDI de 0,43 e 0,14, respectivamente. Valores de PDI abaixo de 0,2 indicam uma distribuição de tamanho homogênea o que pode conferir maior estabilidade da NE a longo prazo (Adak et al., 2020). Assim, no presente trabalho verificou-se que o dispersante Emulsogen EL360 conferiu maior homogeneidade e menor diâmetro médio de partícula à NE do OE de *C. cassia*, comparado ao Emulsogen TS160. Por outro lado, foram detectados valores baixos de potencial zeta, -2,3 e -0,647, respectivamente para as NEs 5 e 6. O potencial zeta é uma medida da estabilidade do sistema, sendo que quanto maior o seu valor absoluto melhor a estabilidade do sistema (Liao et al., 2020).

As NEs de *C. cassia* foram mais tóxicas para *A. diaperinus* do que o OE. A redução no tamanho das partículas pode ter favorecido à penetração direcionada dos componentes ativos no sítio de ação no organismo do inseto, pois como apresentado por Adak et al. (2020), os OEs podem ser reduzidos de 3,5 a 4,8 vezes quando submetidos ao processo de nanoemulsão, além de melhorar a estabilidade do OE.

Destaca-se ainda o efeito residual prolongado constatado para as NEs, sendo verificado que após 21 dias da incorporação das NEs em dieta em artificial, a probabilidade de sobrevivência de *A. diaperinus* foi de apenas 0,59. Isso pode ser explicado pelo fato de que as NEs favorecem o aumento da bioatividade dos OEs

por impedirem a volatilidade e a degradação prematura dos ingredientes ativos (Jesser et al., 2020).

Assim, pode-se constatar a alta atividade inseticida do OE de *C. cassia* para *A. diaperinus*. Foi possível também o desenvolvimento de NEs as quais mostraram-se mais tóxicas para *A. diaperinus* do que o OE não nanoemulsionado. Além disso, as NEs apresentaram aumento no período residual, quando comparadas com os OEs.

Quanto a aplicabilidade das NEs não foram encontrados trabalhos voltados à realidade do cascudinho em aviários, demonstrando uma lacuna entre os estudos e a prática em larga escala já apontada por Athanassiou et al. (2018). Todavia, Volpato et al., (2016) avaliaram os efeitos das NEs e nanocápsulas (NCs) contendo OE de *Cinnamomum zeylanicum* contra *A. diaperinus* e em amostras de solo com o colêmbolo *Folsomia candida* Willem (utilizados como bioindicadores de qualidade, por não sobreviverem em solos contaminados), em condições de laboratório. Foi observado que o OE em sua forma livre afetou a sobrevivência de *F. candida*, ao passo que, quando nanoestruturação esse efeito sobre *F. candida* foi minimizado sem afetar sua ação contra o coleóptero avaliado.

Da Costa et al. (2014) observaram que o OE *Azadirachtina indica* A. Juss. sofreu degradação total ao 7º dia de exposição à radiação UV, diferentemente das nanopartículas contendo o OE de *A. indica* que sofreram apenas 20% de degradação em 14 dias de exposição. Além disso, o OE nanoestruturado apresentou capacidade de dispersão 13 vezes maior que o OE apenas diluído em água.

Apesar da escassez de estudos em campo, a confiabilidade do desenvolvimento e aplicação de produtos nanoestruturados mais seguros e eficazes, indicam o potencial para promover mudanças nos métodos de controle do cascudinho, tornando a avicultura mais sustentável e segura ao consumidor, devido a redução no uso de produtos químicos.

5. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa, a Fundação Araucária e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo suporte financeiro.

6. MATERIAL SUPLEMENTAR

O material suplementar relacionado a este artigo pode ser encontrado no anexo 1 deste trabalho.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelgaleil, S.A.M., Abou-Taleb, H.K., Al-Nagar, N.M.A., Shawir, M.S., 2020. Antifeedant, growth regulatory and biochemical effects of terpenes and phenylpropenes on *Spodoptera littoralis* Boisduval. *International Journal of Tropical Insect Science* 1–11. <https://doi.org/10.1007/s42690-019-00093-8>
- Abdelgaleil, S.A.M., Badawy, M.E.I., Shawir, M.S., Mohamed, M.I.E., 2015. Chemical composition, fumigant and contact toxicities of essential oils isolated from egyptian plants against the stored grain insects; *Sitophilus oryzae* L. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *International Medical Journal* 25, 639–647.
- Adak, T., Barik, N., Patil, N.B., Govindharaj, G.P.P., Gadratagi, B.G., Annamalai, M., Mukherjee, A.K., Rath, P.C., 2020. Nanoemulsion of eucalyptus oil: An alternative to synthetic pesticides against two major storage insects (*Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst)) of rice. *Industrial Crops and Products* 143, 111849. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111849>
- Al-Nagar, N.M.A., Abou-Taleb, H.K., Shawir, M.S., Abdelgaleil, S.A.M., 2020. Comparative toxicity, growth inhibitory and biochemical effects of terpenes and phenylpropenes on *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Journal of Asia-Pacific Entomology* 23, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.09.005>
- Arena, J.S., Merlo, C., Defagó, M.T., Zygadlo, J.A., 2020. Insecticidal and antibacterial effects of some essential oils against the poultry pest *Alphitobius*

- diaperinus and its associated microorganisms. *Journal of Pest Science* 93, 403–414. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01141-5>
- Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Benelli, G., Losic, D., Usha Rani, P., Desneux, N., 2018. Nanoparticles for pest control: current status and future perspectives. *Journal of Pest Science* 91. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0898-0>
- Bolzan, A., Padovez, F.E.O., Nascimento, A.R.B., Kaiser, I.S., Lira, E.C., Amaral, F.S.A., Kanno, R.H., Malaquias, J.B., Omoto, C., 2019. Selection and characterization of the inheritance of resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole and cross-resistance to other diamide insecticides. *Pest Management Science* 75, 2682–2689. <https://doi.org/10.1002/ps.5376>
- Boodram, R., Khan, A., 2019. Bioactivity of essential oils Bioactivity of Citrus aurantifolia , Citrus limon and Piper nigrum essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F .) (Coleoptera : Bruchidae). *Journal of Biopesticides* 12, 76–82.
- Boukhris, M., Hadrich, F., Chtourou, H., Dhouib, A., Bouaziz, M., Sayadi, S., 2015. Chemical composition, biological activities and DNA damage protective effect of *Pelargonium graveolens* L'Hér. essential oils at different phenological stages. *Industrial Crops and Products* 74, 600–606. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.051>
- Cai, X.M., Xu, X.X., Bian, L., Luo, Z.X., Chen, Z.M., 2015. Measurement of volatile plant compounds in field ambient air by thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407, 9105–9114. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9076-5>
- Cansian, R.L., Astolfi, V., Cardoso, R.I., Paroul, N., Roman, S.S., Mielniczki-Pereira, A.A., Pauletti, G.F., Mossi, A.J., 2015. Insecticidal and repellent activity of the essential oil of *Cinnamomum camphora* var. *linaloolifera* Y. Fujita (Ho-Sho) and *Cinnamomum camphora* (L.) J Presl. var. *hosyo* (Hon-Sho) on *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 17, 769–773. https://doi.org/10.1590/1983-084x/14_074
- Crippen, T.L., Sheffield, C.L., Beier, R.C., Nisbet, D.J., 2018. The horizontal

transfer of *Salmonella* between the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and poultry manure. *Zoonoses and Public Health* 65, e23–e33.

<https://doi.org/10.1111/zph.12404>

Da Costa, J.T., Forim, M.R., Costa, E.S., De Souza, J.R., Mondego, J.M., Boiça Junior, A.L., 2014. Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. *Journal of Stored Products Research* 56, 49–53.

<https://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.10.004>

Dallegreave, A., Pizzolato, T.M., Barreto, F., Bica, V.C., Eljarrat, E., Barceló, D., 2018. Residue of insecticides in foodstuff and dietary exposure assessment of Brazilian citizens. *Food and Chemical Toxicology* 115, 329–335.

<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.028>

De Castro e Silva, P., Pereira, L.A.S., de Rezende, É.M., dos Reis, M.V., Lago, A.M.T., Carvalho, G.R., Paiva, R., Oliveira, J.E., Marconcini, J.M., 2019.

Production and efficacy of neem nanoemulsion in the control of *Aspergillus flavus* and *Penicillium citrinum* in soybean seeds. *European Journal of Plant Pathology* 155, 1105–1116. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01838-4>

Despins, J.L., Axtel, R.C., 1995. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle , *Alphitobius diaperinus*. *Poult Sci* 74, 331–336.

Feng, Y.X., Wang, Y., Geng, Z.F., Zhang, D., Almaz, B., Du, S.S., 2020. Contact toxicity and repellent efficacy of Valerianaceae spp. to three stored-product insects and synergistic interactions between two major compounds camphene and bornyl acetate. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 190, 110106.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110106>

Fouad, H.A., da Camara, C.A.G., 2017. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae).

Journal of Stored Products Research 73, 30–36.

<https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.06.001>

Gao, H., Xu, D., Zhang, H., Qian, J., Yang, Q., 2020. Transcriptomics and metabolomics analyses reveal the differential accumulation of phenylpropanoids between *Cinnamomum cassia* Presl and *Cinnamomum cassia* Presl var. *macrophyllum* Chu. *Industrial Crops and Products* 148,

112282. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112282>
- Giunti, G., Palermo, D., Laudani, F., Algeri, G.M., Campolo, O., Palmeri, V., 2019. Repellence and acute toxicity of a nano-emulsion of sweet orange essential oil toward two major stored grain insect pests. *Industrial Crops and Products* 142, 111869. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111869>
- Goswami, A., Roy, I., Sengupta, S., Debnath, N., 2010. Novel applications of solid and liquid formulations of nanoparticles against insect pests and pathogens. *Thin Solid Films* 519, 1252–1257. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.08.079>
- Guo, S., Geng, Z., Zhang, W., Liang, J., Wang, C., Deng, Z., Du, S., 2016. The chemical composition of essential oils from *Cinnamomum camphora* and their insecticidal activity against the stored product pests. *International Journal of Molecular Sciences* 17. <https://doi.org/10.3390/ijms17111836>
- Guo, S.S., You, C.X., Liang, J.Y., Zhang, W.J., Geng, Z.F., Wang, C.F., Du, S.S., Lei, N., 2015. Chemical composition and bioactivities of the essential oil from *Etlingeria yunnanensis* against two stored product insects. *Molecules* 20, 15735–15747. <https://doi.org/10.3390/molecules200915735>
- Haghighi, T.M., Saharkhiz, M.J., Naddaf, F., 2019. Ontogenetic variability of *Vitex pseudo-negundo* essential oil and its phytotoxic activity. *Scientia Horticulturae* 257, 108735. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108735>
- Hickmann, F., Morais, A.F. De, Bronzatto, E.S., Giacomelli, T., Guedes, J.V.C., Bernardi, O., 2018. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), from broiler farms of southern Brazil to insecticides. *Journal of Economic Entomology* 111, 980–985. <https://doi.org/10.1093/jee/toy059>
- Jankowska, M., Rogalska, J., Wyszowska, J., Stankiewicz, M., 2017. Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system—A review. *Molecules* 23, 34. <https://doi.org/10.3390/molecules23010034>
- Japp, A.K., Bicho, C.D.L., 2010. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários 1–6.
- Jardim, I.N., Oliveira, D.F., Silva, G.H., Campos, V.P., de Souza, P.E., 2018. (E)-cinnamaldehyde from the essential oil of *Cinnamomum cassia* controls *Meloidogyne incognita* in soybean plants. *Journal of Pest Science* 91, 479–487. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0850-3>

- Jayakumar, M., 2010. Oviposition deterrent and adult emergence activities of some plant aqueous extracts against *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Biopesticides* 3, 325–329.
- Jesser, E., Lorenzetti, A.S., Yeguerman, C., Murray, A.P., Domini, C., Werdin-González, J.O., 2020. Ultrasound assisted formation of essential oil nanoemulsions: Emerging alternative for *Culex pipiens* Say (Diptera: Culicidae) and *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) management. *Ultrasonics Sonochemistry* 61, 104832. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104832>
- Kang, M.-S., Lee, H.-S., 2018. Acaricidal and insecticidal responses of *Cinnamomum cassia* oils and main constituents. *Applied Biological Chemistry* 61, 653–659. <https://doi.org/10.1007/s13765-018-0402-4>
- Katsavou, E., Vlogiannitis, S., Karp-Tatham, E., Blake, D.P., Ilias, A., Strube, C., Kioulos, I., Dermauw, W., Van Leeuwen, T., Vontas, J., 2020. Identification and geographical distribution of pyrethroid resistance mutations in the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Pest Management Science* 76, 125–133. <https://doi.org/10.1002/ps.5582>
- Khalid, K.A., El-Gohary, A.E., Ahmed, A.M.A., 2018. Effect of the interaction between salicylic acid and geographical locations on grapefruit essential oil. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 21, 1594–1603. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1557078>
- Lebanov, L., Tedone, L., Kaykhail, M., Linford, M.R., Paull, B., 2019. Multidimensional gas chromatography in essential oil analysis. Part 2: Application to characterisation and identification. *Chromatographia* 82, 399–414. <https://doi.org/10.1007/s10337-018-3651-9>
- Lee, E.-J., Kim, J.-R., Choi, D.-R., Ahn, Y.-J., 2008. Toxicity of Cassia and Cinnamon oil compounds and cinnamaldehyde-related Compounds to *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology* 101, 1960–1966. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-101.6.1960>
- Liao, Y., Zhong, L., Liu, L., Xie, L., Tang, H., Zhang, L., Li, X., 2020. Comparison of surfactants at solubilizing, forming and stabilizing nanoemulsion of hesperidin. *Journal of Food Engineering* 281, 110000. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110000>

- Lopes, E.A., Filho, A.C., Nobre, D.A.C., Mendes, F.Q., Fernandes, F.L., Pinto, F.G., Silva, G.H., Tronto, J., Visôto, L.E., Borges, P.D., God, P.I.V.G., Ruas, R.A.A., Novais, R.F., 2017. A Química na Produção Vegetal.
- Lü, J., 2017. Effect of *Citrus reticulata* Blanco essential oil on *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) adults. *Journal of Food Protection*.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-225>
- Ma, Y.N., Chen, C.J., Li, Q., Wang, W., Xu, F.R., Cheng, Y.X., Dong, X., 2019. Fungicidal activity of essential oils from *Cinnamomum cassia* against the pathogenic fungi of *Panax notoginseng* diseases. *Chemistry and Biodiversity* 16. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900416>
- Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Colares, H.C., Campos, J.M., Dos Santos, M.H., Fernandes, F.L., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2018. Toxic effects of two essential oils and their constituents on the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Bulletin of Entomological Research* 108, 716–725.
<https://doi.org/10.1017/S0007485317001262>
- Mishra, B.B., Tripathi, S.P., Tripathi, C.P.M., 2014. Chronic activity of plant volatiles essential oils in management of rice weevil *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomology* 11, 78–86.
<https://doi.org/10.3923/je.2014.78.86>
- Mobki, M., Safavi, S.A., Safaralizadeh, M.H., Panahi, O., Afshar, A.T., 2014. Effect of diethyl maleate on the toxicity of essential oil from *Citrus reticulata* fruit peels to *Tribolium castaneum* Herbst under laboratory conditions. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection* 47, 1023–1029.
<https://doi.org/10.1080/03235408.2013.817069>
- Murcia Morales, M., Gómez Ramos, M.J., Parrilla Vázquez, P., Díaz Galiano, F.J., García Valverde, M., Gámiz López, V., Manuel Flores, J., Fernández-Alba, A.R., 2020. Distribution of chemical residues in the beehive compartments and their transfer to the honeybee brood. *Science of the Total Environment* 710, 136288. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136288>
- Ou, S.C., Giambone, J.J., Macklin, K.S., 2012. Detection of infectious laryngotracheitis virus from darkling beetles and their immature stage (lesser mealworms) by quantitative polymerase chain reaction and virus isolation. *Journal of Applied Poultry Research* 21, 33–38.

- <https://doi.org/10.3382/japr.2010-00314>
- Papachristos, D.P., Kimbaris, A.C., Papadopoulos, N.T., Polissiou, M.G., 2009. Toxicity of citrus essential oils against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) larvae. *Annals of Applied Biology* 155, 381–389.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00350.x>
- Pazinato, R., Volpato, A., Baldissera, M.D., Santos, R.C.V., Baretta, D., Vaucher, R.A., Giongo, J.L., Boligon, A.A., Stefani, L.M., Da Silva, A.S., 2016. In vitro effect of seven essential oils on the reproduction of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Journal of Advanced Research* 7, 1029–1034.
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2016.05.003>
- Phillips, A.K., Appel, A.G., Sims, S.R., 2010. Topical toxicity of essential oils to the german cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology* 103, 448–459. <https://doi.org/10.1603/ec09192>
- Pongsumpun, P., Iwamoto, S., Siripatrawan, U., 2020. Response surface methodology for optimization of cinnamon essential oil nanoemulsion with improved stability and antifungal activity. *Ultrasonics Sonochemistry* 60, 104604. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.021>
- R Development Core Team, 2018. R: The R Project for Statistical Computing [WWW Document].
- Ray, A., Jena, S., Haldar, T., Sahoo, A., Kar, B., Patnaik, J., Ghosh, B., Chandra Panda, P., Mahapatra, N., Nayak, S., 2019. Population genetic structure and diversity analysis in *Hedychium coronarium* populations using morphological, phytochemical and molecular markers. *Industrial Crops and Products* 132, 118–133. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.015>
- Rice, S.J., Lambkin, T.A., 2009. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. *Journal of Applied Entomology* 133, 67–72.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2008.01314.x>
- Saad, M.M.G., Abdelgaleil, S.A.M., 2018. Effectiveness of monoterpenes and phenylpropenes on *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 21, 1153–1158.
<https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.08.006>
- Saad, M.M.G., Abou-Taleb, H.K., Abdelgaleil, S.A.M., 2018. Insecticidal activities of monoterpenes and phenylpropenes against *Sitophilus oryzae* and their

- inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Applied Entomology and Zoology* 53, 173–181.
<https://doi.org/10.1007/s13355-017-0532-x>
- Saad, M.M.G., El-Deeb, D.A., Abdelgaleil, S.A.M., 2019. Insecticidal potential and repellent and biochemical effects of phenylpropenes and monoterpenes on the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *Environmental Science and Pollution Research* 26, 6801–6810. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04151-z>
- Sallet, L., 2014. Seleção de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae).
- Sasson, Y., Levy-Ruso, G., Toledano, O. e Ishaaya, I., 2007. Nanosuspensions : Emerging Novel Agrochemical 1–6.
- Scalerandi, E., Flores, G.A., Palacio, M., Defagó, M.T., Carpinella, M.C., Valladares, G., Bertoni, A., Palacios, S.M., 2018. Understanding synergistic toxicity of terpenes as insecticides: Contribution of metabolic detoxification in *Musca domestica*. *Frontiers in Plant Science* 9, 1579.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01579>
- Segabinazi, S.D., Flôres, M.L., Barcelos, S., Jacobsen, G., 2005. Bactérias da família Enterobacteriaceae em *Alphitobius diaperinus* oriundos de granjas avícolas dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina , Brasil *
Enterobacteriaceae in the *Alphitobius diaperinus* got from avian farms from Rio Grande do Sul.
- Shafiq, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ahmad, F.J., Khar, R.K., Ali, M., 2007. Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 66, 227–243. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2006.10.014>
- Shetta, A., Kegere, J., Mamdouh, W., 2019. Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *International Journal of Biological Macromolecules* 126, 731–742.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.161>
- Silva, J.E., Ribeiro, L.M. da S., Vinasco, N., Guedes, R.N.C., Siqueira, H.Á.A., 2019. Field-evolved resistance to chlorantraniliprole in the tomato pinworm

- Tuta absoluta: inheritance, cross-resistance profile, and metabolism. *Journal of Pest Science* 92, 1421–1431. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-1064-z>
- Singh, N., Johnson, D., 2015. Baseline susceptibility and cross-Resistance in adult and larval *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera : Tenebrionidae) collected from poultry farms in Arkansas. <https://doi.org/10.1093/jee/tov133>
- Souza, V., Oliveira, C., Matos, C., Almeida, D., 2016. Fumigation toxicity of essential oils against *Rhyzopertha dominica* (F.) in stored maize grain. *Revista Caatinga* 29, 435–440. <https://doi.org/10.1590/1983-21252016v29n220rc>
- Szczepanik, M., Walczak, M., Zawitowska, B., Michalska-Sionkowska, M., Szumny, A., Wawrzeńczyk, C., Brzezinska, M.S., 2018. Chemical composition, antimicrobrial activity and insecticidal activity against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) and *Artemisia dracuncululus* L. essential oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98, 767–774. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8524>
- Tabari, M.A., Khodashenas, A., Jafari, M., Petrelli, R., Cappellacci, L., Nabissi, M., Maggi, F., Pavela, R., Youssefi, M.R., 2020. Acaricidal properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) essential oil against *Dermanyssus gallinae* and *Hyalomma dromedarii*. *Industrial Crops and Products* 147, 112238. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112238>
- Tadros, T.F., Vandamme, A., Leveck, B., Booten, K., Stevens, C. V., 2004. Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin. *Advances in Colloid and Interface Science* 108–109, 207–226. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.024>
- Tak, J.H., Isman, M.B., 2017. Acaricidal and repellent activity of plant essential oil-derived terpenes and the effect of binary mixtures against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products* 108, 786–792. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.003>
- Vinturelle, R., Mattos, C., Meloni, J., Nogueira, J., Nunes, M.J., Vaz, I.S., Rocha, L., Lione, V., Castro, H.C., Das Chagas, E.F., 2017. In vitro evaluation of essential oils derived from *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Citrus limonum* (Rutaceae) against the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari:

- Ixodidae). *Biochemistry Research International* 2017.
<https://doi.org/10.1155/2017/5342947>
- Volpato, A., Baretta, D., Zortéa, T., Campigotto, G., Galli, G.M., Glombowsky, P., Santos, R.C.V., Quatrin, P.M., Ourique, A.F., Baldissera, M.D., Stefani, L.M., Da Silva, A.S., 2016. Larvicidal and insecticidal effect of *Cinnamomum zeylanicum* oil (pure and nanostructured) against mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and its possible environmental effects. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 19, 1159–1165. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2016.10.008>
- Wang, H., Yang, Z., Ying, G., Yang, M., Nian, Y., Wei, F., Kong, W., 2018. Antifungal evaluation of plant essential oils and their major components against toxigenic fungi. *Industrial Crops and Products* 120, 180–186.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.053>
- Wang, X., Li, Q., Shen, L., Yang, J., Cheng, H., Jiang, S., Jiang, C., Wang, H., 2014a. Fumigant, contact, and repellent activities of essential oils against the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Journal of Insect Science* 14, 1–11.
<https://doi.org/10.1093/jis/14.1.75>
- Wang, X., Li, Q., Shen, L., Yang, J., Cheng, H., Jiang, S., Jiang, C., Wang, X., Li, Q., Shen, L., Yang, J., Cheng, H., Jiang, S., 2014b. Fumigante , atividades contato , e repelente de óleos essenciais contra o besouro darkling , *Alphitobius diaperinus* *Abstrato* 14, 1–11.
- Xu, T., Gao, C.C., Feng, X., Huang, M., Yang, Y., Shen, X., Tang, X., 2019. Cinnamon and clove essential oils to improve physical, thermal and antimicrobial properties of chitosan-gum arabic polyelectrolyte complexed films. *Carbohydrate Polymers* 217, 116–125.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.084>
- Yasur, J., Usha Rani, P., 2015. Lepidopteran insect susceptibility to silver nanoparticles and measurement of changes in their growth, development and physiology. *Chemosphere* 124, 92–102.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.029>
- Zhang, C., Fan, L., Fan, S., Wang, J., Luo, T., Tang, Y., Chen, Z., Yu, L., 2019. *Cinnamomum cassia* Presl: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Molecules* 24, 3473.
<https://doi.org/10.3390/molecules24193473>

ANEXO 1

MATERIAL SUPLEMENTAR

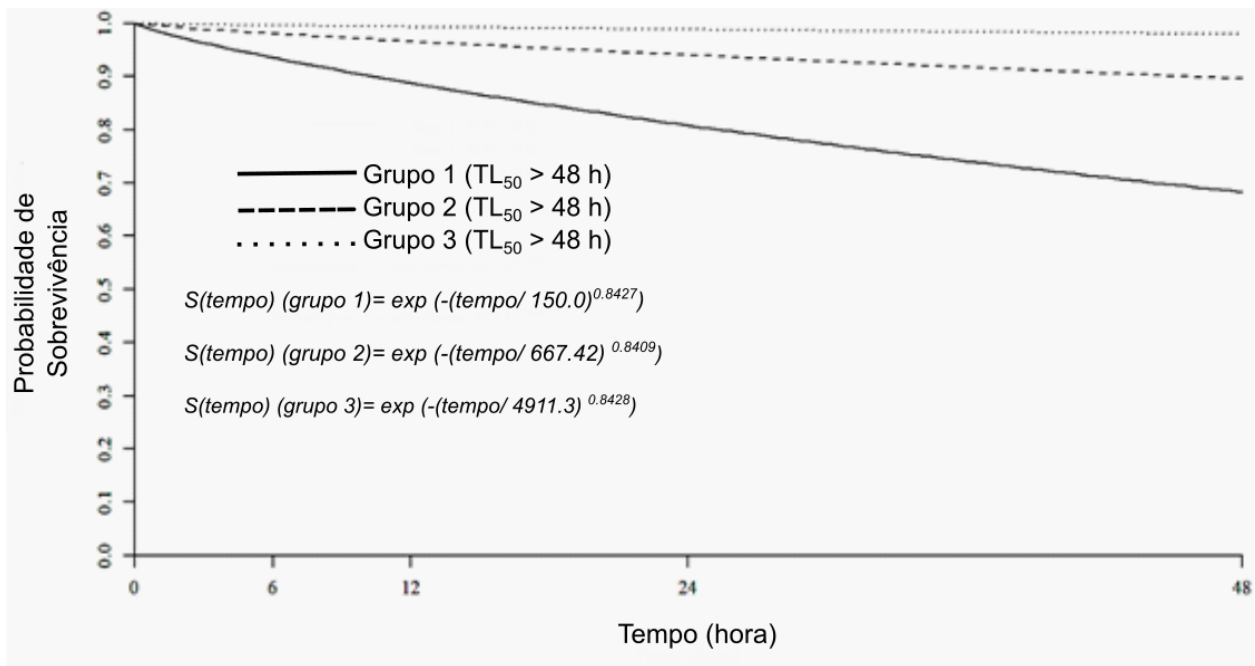
S1T1. Nanoemulsões obtidas com o óleo essencial de *Cinnamomum cassia*.

Nanoemulsões	Emulsogen® TS 160	Emulsogen® EL360	Tween 80	Óleo essencial	Volume de água na fase 1	Volume de água na fase 2
1	0,5287 g	-	-	0,5218 g	4,5 mL	4,5 mL
2	0,5149 g	-	0,5095 g	0,5098 g	4,5 mL	4,0 mL
3	-	0,5068 g	-	0,5278 g	4,5 mL	4,5 mL
4	-	0,5285 g	0,5161 g	0,5213 g	4,5 mL	4,0 mL
5	0,5162 g	-	0,5081 g	0,5049 g	4,5 mL	4,0 mL
6	-	0,5012 g	0,5023 g	0,5044 g	4,5 mL	4,0 mL
7	0,5000g	-	0,5000g	-	4,5 mL	4,5 mL
8	-	0,5000g	0,5000g	-	4,5 mL	4,5 mL

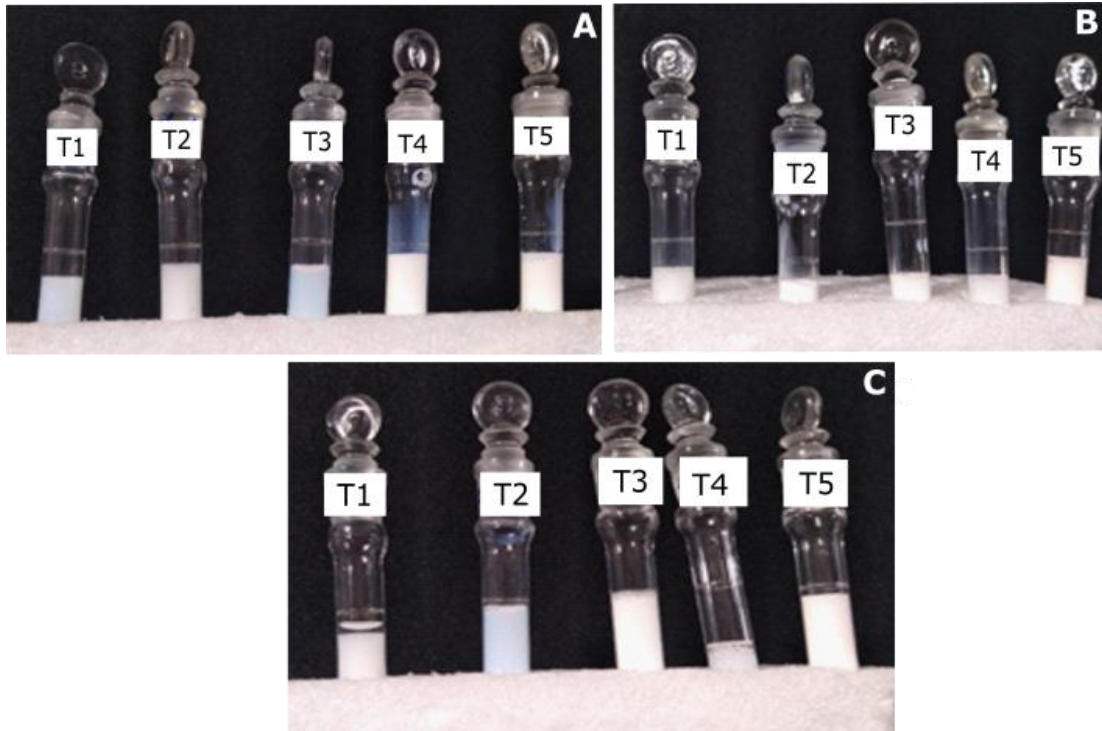
S1T2. Perfil metabólico do óleo essencial de *Cinnamomum cassia* empregando Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas.

Compostos	RI ^a	RI ^b	<i>Cinnamomum cassia</i>
Benzaldeído	959	960	0,75
Fenil-etil-álcool	1114	1108	0,33
Borneol	1166	1169	0,13
Z- Cinamaldeído	1220	1219	0,30
O-Anisaldeído	1244	1242	0,38
E- Cinamaldeído	1282	1270	84,21
α -Copaeno	1375	1376	0,38
Coumarin	1439	1434	1,31
E- Acetato de cinamina	1449	1446	2,82
E- cinamaldeído - p-metoxi	1537	1564	7,98
Porcentual de compostos (%)			98,59

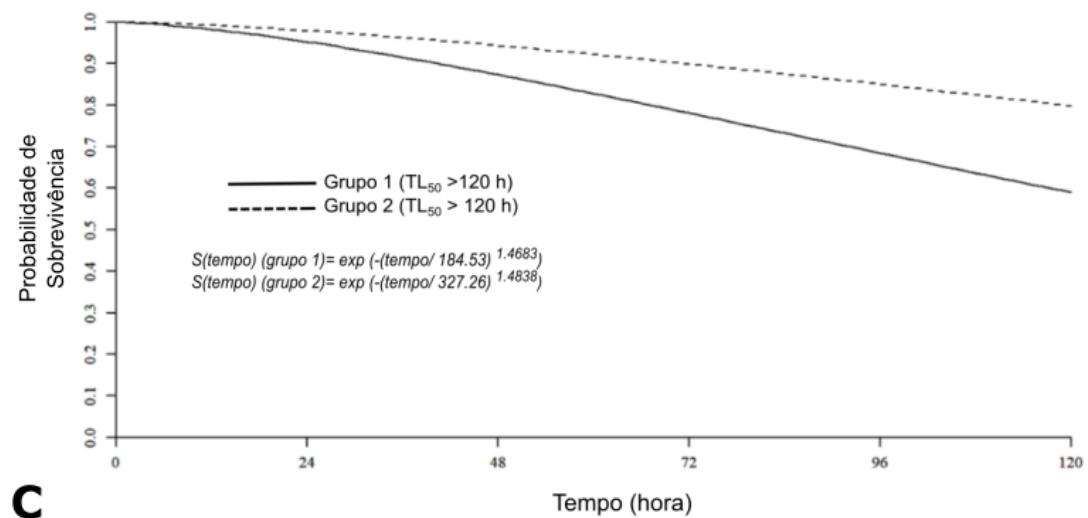
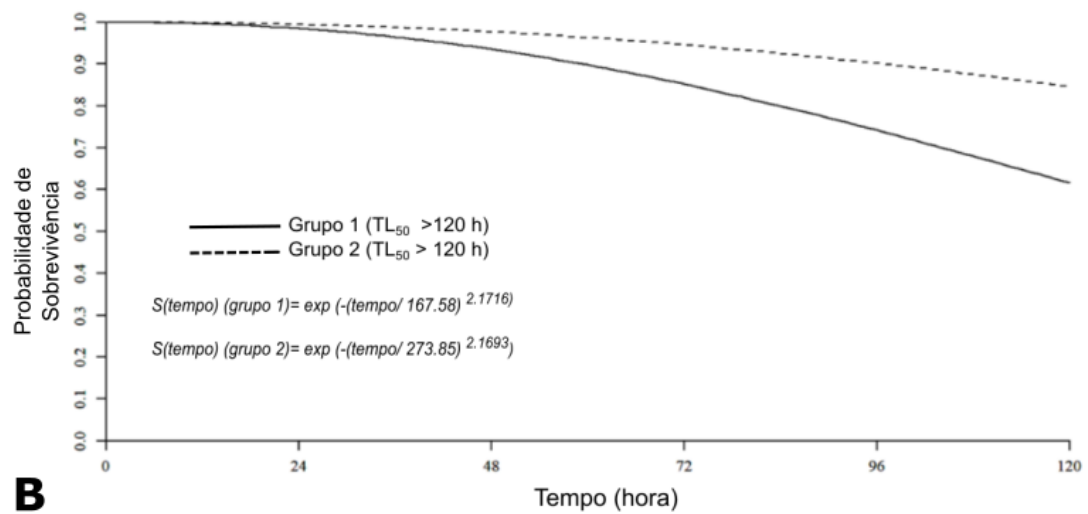
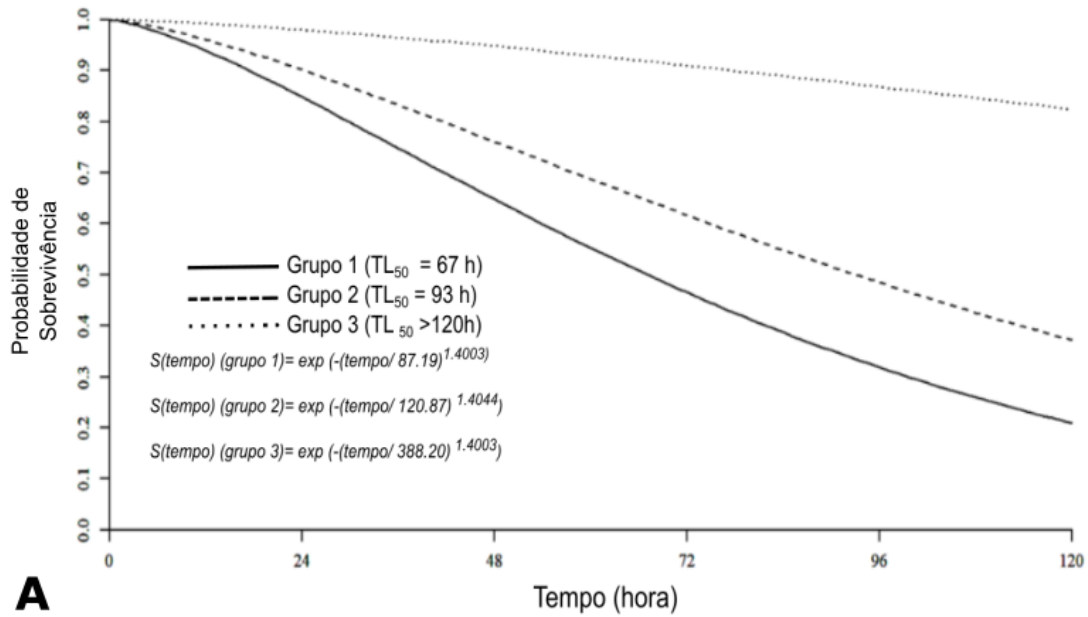
RI^a: Valores de índices de retenção relativa calculado utilizando a coluna RTX-5 (CG-EM) e a série de n- alcanos C8–C19. RI^b: índices de retenção relativa publicados com uma coluna DB-5; ND: não detectado ou <0,10%.



S1F1. Sobrevivência de *Alphitobius diaperinus* ao longo do tempo em ensaio tópico com os óleos essenciais de *Citrus* spp. e *Cinnamomum* spp. $S(t) = \exp(-(\text{time} / \delta)^\alpha)$, onde: δ = parâmetro de forma; α = parâmetro de escala. Grupo 1: óleos essenciais de *Citrus aurantium* var. *bergamia* (n=100) e *Citrus reticulata* var. *tangerine* (n=100). Grupo 2: óleos essenciais de *Citrus aurantifolia* (n=100), *Citrus aurantium* (n=100), *Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum* (n=100), *C. camphora* (n=100) e *C. cassia* (n=100). O grupo 3: testemunha negativa acetona (n=100).



S1F2. Teste de estabilidade termodinâmica com amostras das nanoemulsões controles contendo Emulsogen TS 160 e Emulsogen EL 360 e nanoemulsões contendo Emulsogen TS 160 + óleo essencial de *C. cassia* e Emulsogen EL 360 + óleo essencial de *C. cassia*. (A) Temperatura baixa (4 °C) (B) Temperatura ambiente (25 °C) (C) Temperatura alta (60 °C).



S1F3. Sobrevivência de *Alphitobius diaperinus* ao efeito residual do óleo essencial e NEs de *Cinnamomum cassia* em ensaio de ingestão. $S(t) = \exp(-(\text{time} / \delta)^\alpha)$, where: δ = form parameter; α = scale parameter. (A) 7º dia da aplicação dos tratamentos. Grupo 1. nanoemulsões contendo Emulsogen TS 160+ óleo essencial de *C. cassia* (n=100) e por nanoemulsões contendo Emulsogen EL360+ óleo essencial de *C. cassia* (n=100). Grupo 2. Óleo essencial de *C. cassia* diluído em água destilada (n=100). Grupo 3 nanoemulsões controle contendo Emulsogen TS 160 (n=100) e Emulsogen EL360 (n=100) e testemunha negativa água destilada (n=100). (B) 14º dia da aplicação dos tratamentos. Grupo 1 nanoemulsão com Emulsogen TS 160+ OE de *C. cassia* (n=100), por nanoemulsão contendo com Emulsogen EL360+OE de *C. cassia* e por OE de *C. cassia* diluído em água destilada (n=100). Grupo 2. Nanoemulsões controle contendo Emulsogen TS 160 (n=100) e Emulsogen EL360 (n=100) e testemunha negativa água destilada (n=100). (C) 21º dia da aplicação dos tratamentos. Grupo 1 nanoemulsão contendo Emulsogen TS 160+ OE de *C. cassia* (n=100), por nanoemulsão contendo Emulsogen EL360+ óleo essencial de *C. cassia* (n=100). Grupo 2 óleo essencial de *C. cassia* diluído em água destilada (n=100), nanoemulsões controle contendo Emulsogen TS 160 (n=100), Emulsogen EL360 (n=100) e a testemunha negativa água destilada (n=100).