

Dana-Mihaela POP

**BIOPROTECȚIA LEMNULUI CU ULEIURI  
ESEȚIALE**

**Eficiență *versus* Eco-impact**



Editura  
Universității  
Transilvania  
din Brașov

2025

## **EDITURA UNIVERSITĂȚII TRANSILVANIA DIN BRAȘOV**

Adresa: Str. Iuliu Maniu nr. 41A  
500091 Brașov  
Tel.: 0268 476 050  
Fax: 0268 476 051  
E-mail: editura@unitbv.ro

**Editură recunoscută CNCSIS, cod 81**

**ISBN 978-606-19-1784-6 (ebook)**

Copyright © Autorul, 2025

### **Referenți științifici:**

Prof. dr. Maria Cristina TIMAR, Universitatea Transilvania din Brașov

Prof. dr. ing. Gabriela-Elena BAHRIM, Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Motto: „Și-a imaginat, oare, natura, că în numai câteva decenii va ajunge zdrențe?”

Vasile Ghica

Dedic această carte Lui,  
băiatului meu TME și  
părinților mei

## Prefață argument

Bazată pe cercetarea aprofundată în cadrul programului de doctorat, volumul "*Bioprotecția lemnului cu uleiuri esențiale - eficiență versus eco-impact*", reprezintă o valoroasă premieră editorială în România. Lucrarea se constituie ca o abordare responsabilă, originală, îndrăzneată și necesară a bioprotecției lemnului, punând concomitent în balanță eficiența și eco-impactul produselor/tratamentelor aplicate. În același timp, caracterul de premieră rezidă în caracterizarea complexă a unor uleiuri esențiale și explorarea oportunităților și limitelor acestora ca potențiale soluții alternative pentru bioprotecția antifungică a lemnului. Mai mult, domeniul de aplicabilitate vizat cu precădere este cel al conservării bunurilor de patrimoniu cultural, în care artefactele din lemn / pe suport lemn ocupă un loc important. Aceste aspecte vor fi detaliate într-o apariție viitoare.

Dezvoltarea și validarea unui protocol analitic complex, ce reprezintă cheia experimentală pentru caracterizarea și evaluarea unui potențial nou produs pentru bioprotecția antifungică a lemnului, constituie un alt argument în favoarea originalității lucrării. Acesta poate fi preluat și replicat în viitoare cercetări experimentale. La toate acestea se adaugă bogăția bazelor de date științifice incluse în lucrare, ca o invitație generoasă pentru explorări și colaborări viitoare. Acestea cuprind informații sintetizate, prelucrate, ordonate privind stadiul actual al cercetărilor în domeniu la nivel mondial, precum și rezultatele experimentale în extenso obținute prin cercetările proprii în programul de doctorat.

Actualitatea și importanță practică a tematicii abordate, precum și valoarea științifică și didactică a materialului elaborat sunt evidente. Lemnul ca resursă naturală și regenerabilă, material ecologic și reciclabil, versatil și ușor de prelucrat, cu rezistențe fizico-mecanice remarcabile raportate la densitate, a fost, este și va fi o constantă în viața omului și dezvoltarea civilizației. De asemenea, biodegradabilitatea lemnului trebuie înțeleasă și asumată în bipolaritatea: calitate din punct de vedere ecologic *versus* vulnerabilitate din punct de vedere al duratei de viață a lemnului în diverse aplicații. Atacul fungic în condiții de umiditate ridicată (peste pragul critic de 20% umiditate în lemn) reprezintă factorul major în degradarea lemnului, de la discolorări superficiale (ciuperci de discolorare și mucegai) până la afectarea gravă a componentelor chimici principali, a integrității structurale și rezistențelor fizico-mecanice ale lemnului (ciuperci xilofage), respectiv ruperea, dezintegrarea materialului, conducând în final la deteriorarea iremediabilă a elementelor, artefactelor, structurilor din lemn.

Contracararea acestui risc implică în primul rând o evaluare corectă funcție de durabilitatea naturală a lemnului, foarte diferită între specii și în cadrul aceleiași specii (duramen *versus* alburn), condițiile / clasa de utilizare, protecția constructivă prin proiectare inteligentă a artefactelor și structurilor din lemn, măsuri de conservare preventivă, dar și tratamente de bioprotecție preventivă sau curativă cu produse cu ingrediente active biocide. De-a lungul timpului s-au dezvoltat și utilizat practic o multitudine de produse biocide anorganice sau organice, promovate inițial pe criteriul eficienței biocide (toxicitatea

față de biodăunători), fără a se considera toxicitatea față de om și mediu, efectele de bioacumulare cu consecințe negative pe termen lung. Conștientizarea ulterioară a acestor riscuri a condus la interzicerea sau restricționarea drastică privind utilizarea și comercializarea unora dintre biocidele clasice, precum și la o legislație mult mai restrictivă și complexă privind testarea, omologarea și punerea pe piață a produselor biocide.

În acest context, apariția lucrării analizate este mai mult decât oportună, atenția cercetărilor la nivel mondial în domeniul bioprotecției lemnului îndreptându-se spre soluții alternative pe bază de produse naturale, care să fie concomitent eficiente ca tratamente, sigure pentru om și prietenoase cu mediul. Uleiurile esențiale, produse aromatice cu compoziție chimică complexă, extrase din diverse plante, care au jucat un rol major în supraviețuirea și evoluția speciilor vegetale, prezentând activitate biologică complexă, inclusiv antifungică, se înscriu între opțiunile alternative considerate pe plan mondial pentru bioprotecția lemnului.

Premisele fundamentale, frecvent asumate *ab initio*, care stau la baza interesului crescut pentru uleiurile esențiale în diverse domenii incluzând protecția lemnului sunt caracterul lor presupus ecologic și nocivitatea redusă pentru om. Aspectele legate de posibilul impact ecologic datorită unor componenți cu activitate fitotoxică, precum și efectele toxice pentru om demonstrate de anumiți componenți ai unor uleiuri esențiale peste un anumit prag de concentrație, au fost neglijate sau prea puțin studiate și necesită atenție și investigații. Lucrarea de față propune o metodologie adecvată de testare a potențialului impact ecologic al produselor de bioprotecție a lemnului combinând un test de lavabilitate (spălare cu apă) cu un test de fitotoxicitate (germinare a semințelor). Datele experimentale prezentate permit o evaluare corectă și responsabilă, precum și o comparare a diverselor biocide și tratamente de bioprotecție a lemnului.

Rezultat al unui demers de cercetare științifică inter- și multidisciplinară, ce îmbină riguros și adecvat elemente de știința și ingineria lemnului, chimia lemnului, biologie, știința mediului și protecția mediului, volumul de față este structurat pe 8 capitole, referitoare la: 1. Uleiurile esențiale; 2. Obiectivele cercetărilor experimentale; 3. Conceptul metodologic, materiale și metode; 4. Crearea și validarea protocolului analitic (O1); 5. Identificarea și caracterizarea unor uleiuri esențiale cu potențial efect biocid antifungic (O2); 6. Evaluarea comparativă a efectului biocid antifungic și selectarea produselor cu potențial (O3); 7. Determinarea eficienței biocide și a potențialului impact ecologic pentru produsele cu potențial selectate (Ulei esențial de cuișoare C-EO și ulei esențial de cimbru T-EO) (O4); 8. Concluzii și direcții viitoare de dezvoltare.

Prin tematică și abordare, lucrarea are o adresabilitate multiplă, fiind utilă în formarea și dezvoltarea profesională pentru studenți, masteranzi, doctoranzi, cercetători, specialiști din diverse domenii, de la ingineria lemnului, la știința și ingineria mediului, chimie, biologie, eco-design, conservare-restaurare. Sper ca această lucrare, realizată cu mult efort, pasiune, dedicare și rigoare, să își găsească cititorii

căroră li se adresează, să constituie o sursă de inspirație și o bază de date utilă pentru cercetări și dezvoltări viitoare, un argument pentru un lemn mai durabil și un mediu mai curat!

Sincere felicitări autoarei, Dr. Dana-Mihaela POP, pentru această remarcabilă lucrare, generată de pasiunea sa pentru uleiurile esențiale și devenită realitate printr-un efort de voință și determinare, dublat de dezvoltare, diversificare și aprofundare a pregătirii sale profesionale (studii de licență în Știința mediului, masterat în Eco-design de mobilier și restaurare), prin asimilarea și aplicarea unor cunoștințe și abilități practice în domeniul investigațiilor științifice avansate și domeniul special al testelor micologice de laborator. Colaborarea inter-instituțională și internațională au sprijinit acest demers și trebuie să rămână obiective de viitor.

Sper ca acest pas să fie motivația pentru a merge mai departe, pe un drum de succes profesional și personal!

Prof. dr. Maria Cristina Timar

Brașov, 13.03. 2025

## Notă asupra ediției

Această carte reprezintă o parte revizuită și adaptată din teza de doctorat intitulată „*Cercetări privind utilizarea unor uleiuri esențiale pentru bioprotecția antifungică a lemnului - oportunități și limite în contextul eficiență versus eco-impact*”, susținută în 4 septembrie 2024, la Facultatea de Design de Mobilier și Inginerie a Lemnului a Universității Transilvania din Brașov, pentru obținerea titlului de doctor în domeniul Inginerie Forestieră. Teza susținută și titlul confirmat reprezintă încununarea programului de cercetare și formare prin doctorat în domeniul fundamental Științe ingineresti, domeniul de doctorat Inginerie forestieră, în cadrul Școlii Doctorale Interdisciplinare a IOSUD Universitatea Transilvania din Brașov, sub îndrumarea științifică a doamnei prof. dr. chim. Maria-Cristina Timar.

Tematica abordată, născută din pasiunea mea pentru uleiurile esențiale, a impus o cercetare complexă, inter- și multidisciplinară, desfășurată în perioada 2015-2024, îmbinând cunoștințe din multiple domenii: știința și ingineria lemnului, chimie, biologie, știința și protecția mediului, precum și conservarea patrimoniului cultural.

Doresc să-mi exprim recunoștința tuturor celor care au făcut posibilă realizarea acestei lucrări. Înainte de toate, doresc să-l mulțumesc lui Dumnezeu pentru că mi-a dat putere, răbdare și înțelepciune pe tot parcursul acestui drum. Fără ajutorul Său, această lucrare nu ar fi fost posibilă.

Mulțumiri deosebite se îndreaptă către prof. dr. chim. Maria-Cristina Timar, conducătorul științific al tezei de doctorat, pentru îndrumarea competentă, sprijinul constant oferit și suportul motivațional. Contribuția sa a fost esențială atât în structurarea și finalizarea cercetării, cât și în redactarea tezei de doctorat și a prezentei lucrări.

Mulțumesc membrilor comisiei de îndrumare și integritate academică pentru asistența valoroasă și sfaturile oferite.

Cercetarea a beneficiat de colaborarea unor instituții prestigioase: Universitatea Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca (analize GC-MS), Ecole Supérieure du Bois din Nantes (investigații SEM), Universitatea Tehnică din Zvolen (teste micologice) și Centrul Astra pentru Patrimoniu din Sibiu (teste de implementare în conservare-restaurare), cărora le aduc mulțumiri pentru oportunitatea colaborării și sprijinul acordat.

Sunt recunoscătoare corpului profesoral al Facultății de Design de Mobilier și Inginerie a Lemnului și personalului Laboratorului de Chimia Lemnului pentru contribuția lor la formarea mea academică și profesională.

Nu în ultimul rând, mulțumesc familiei mele pentru sprijinul necondiționat, precum și colegilor și prietenilor care m-au susținut pe parcursul întregii perioade de cercetare și studiu.

Autorul

Brașov 2025

## Cuvânt înainte

Lemnul, acest material nobil și viu, ne însoțește existența de milenii. De la simple unelte și adăposturi la opere de artă și construcții sofisticate, lemnul a fost și rămâne un pilon al civilizației noastre. Dar, ca orice material organic, este vulnerabil la atacul agenților biologici, în special a fungilor, care îi pot compromite integritatea și frumusețea.

De-a lungul istoriei, oamenii au căutat soluții pentru bioprotecția lemnului, prelungindu-i durata de viața în operă și utilitatea. În ultimele decenii, biocidele de sinteză au dominat acest domeniu, dar efectele lor secundare asupra sănătății și mediului au devenit din ce în ce mai evidente și mai îngrijorătoare. Astăzi, ne aflăm într-un punct de cotitură, în care nevoia de alternative sustenabile este mai presantă ca niciodată.

Această carte își propune să exploreze o astfel de alternativă: uleiurile esențiale. Aceste comori aromatice ale naturii, folosite de secole în medicină, cosmetică și ritualuri, ascund în compoziția lor complexă un potențial remarcabil de a proteja lemnul împotriva atacului fungic. Dar, dincolo de eficiență, este esențial să înțelegem și impactul lor asupra mediului.

În paginile ce urmează, veți descoperi o cercetare aprofundată, care pornește de la o întrebare fundamentală: *Pot uleiurile esențiale să ofere o protecție eficientă lemnului, având în același timp un impact ecologic redus?*

Am abordat această întrebare dintr-o perspectivă integrată, punând în balanță eficiența și eco-impactul. Am dezvoltat o metodologie riguroasă, am analizat compoziția chimică a uleiurilor, am testat efectul lor antifungic și am evaluat potențialele riscuri pentru mediu. Rezultatele obținute deschid perspective interesante și oferă soluții concrete pentru o protecție a lemnului mai prietenoasă cu natura.

Această carte nu este doar o prezentare a unor date științifice, ci și o invitație la reflecție. Este o pledoarie pentru o abordare mai responsabilă și mai sustenabilă în relația noastră cu lemnul și cu mediul înconjurător. Sper ca informațiile și concluziile prezentate să fie utile atât specialiștilor din domeniu, cât și tuturor celor interesați de un viitor mai verde și mai sănătos.

Vă invit să pășiți alături de mine în această călătorie fascinantă în lumea uleiurilor esențiale și a bioprotecției lemnului, o călătorie în care știința se împletește cu respectul pentru natură.

Dana-Mihaela Pop

## Cuprins

Lista de abrevieri .....	12
Introducere.....	13
Capitolul 1 – Uleiurile esențiale.....	15
1.1. Istoricul uleiurilor esențiale.....	15
1.2. Definiție și surse .....	17
1.3. Proprietăți fizice.....	19
1.4. Metode de extracție a uleiurilor esențiale .....	19
1.4.1. Metode de extracție convenționale.....	20
1.4.2. Metode de extracție inovative .....	25
1.5. Compoziția chimică a uleiurilor esențiale .....	27
1.5.1. Terpenele .....	28
1.5.2. Compușii aromatici .....	31
1.6. Domenii de aplicabilitate .....	36
1.7. Efectul antifungic al uleiurilor esențiale.....	37
1.8. Cercetări privind utilizarea uleiurilor esențiale în bioprotecția lemnului.....	44
1.9. Toxicitatea și eco-toxicitatea uleiurilor esențiale.....	53
1.10. Concluzii.....	54
Capitolul 2 - Obiectivele cercetărilor experimentale.....	56
2.1. Scopul lucrării.....	57
2.2. Prezentare generală a obiectivelor.....	57
Capitolul 3 - Metodologia de cercetare.....	59
3.1. Concept metodologic.....	59
3.2. Materiale.....	59
3.2.1. Hârtie suport pentru teste biologice tip screening .....	59
3.2.2. Material lemnos.....	59
3.2.3. Uleiuri esențiale .....	60
3.2.4. Produse biocide clasice.....	60
3.2.5. Material biologic – Fungi xilofage.....	61
3.2.6. Mediu de cultură – teste biologice .....	62
3.2.7. Semințe pentru teste de fitotoxicitate .....	62
3.3. Echipamente utilizate pentru pregătire probe și teste biologice.....	62
3.4. Metode de investigare și echipamente .....	63
3.4.1. Analiză macroscopică.....	64
3.4.2. Microscopie optică.....	64

3.4.3. Spectrometrie FT-IR.....	65
3.4.4. Gaz cromatografie cuplată cu spectroscopie de masă GC-MS .....	65
3.4.5. Microscopie electronică tip SEM (Scanning Electron Microscopy) .....	66
3.5. Softuri utilizate.....	66
3.6. Teste pentru evaluarea potențialului biocid, eficienței și eco-impactului.....	66
Capitolul 4 - Stabilirea și validarea unui protocol analitic de laborator .....	68
4.1. Teste screening.....	69
4.1.1. Metoda Humar and Pohleven (Test HP -Fig. 4.2 a) .....	70
4.1.2. Metoda Humar and Pohleven (Test HPI -Fig. 4.2 a).....	70
4.1.3. Testul Reinprecht (Test R-Fig. 4.2 b) .....	71
4.1.4. Testul adaptat după Reinprecht (Test CT-Fig. 4.2 c) .....	71
4.1.5. Testul ICWSE (Test DH - Fig. 4.2 d) .....	71
4.1.6. Testul RS (Reinprecht - Fig. 4.2 e) .....	71
4.1.7. Metoda diluției în mediul de agar (Test VM- Fig. 4.2 f).....	71
4.1.8. Evaluarea calitativă și cantitativă în testele screening.....	72
4.1.9. Realizarea de teste screening pentru stabilirea unui protocol de aplicat în cercetare .....	74
4.1.10. Validarea testului CT folosind patru tipuri de fungi .....	77
4.1.11. Validarea testului RS cu două tipuri de fungi .....	77
4.1.12. Concluzii teste screening .....	78
4.2. Teste minibloc .....	79
4.2.1. Testul minibloc A .....	80
4.2.2. Testul minibloc R .....	80
4.2.3. Realizarea testelor minibloc pentru stabilirea unui protocolului analitic al lucrării.....	80
4.2.4. Validarea testelor minibloc.....	84
4.2.5. Concluzii teste minibloc .....	87
4.3. Test fitotoxicitate .....	87
4.3.1. Validarea testului de fitotoxicitate TF.....	88
4.3.2. Implementarea testului de fitotoxicitate TF în cazul produselor de protecție a lemnului ....	89
4.3.3. Concluzii test fitotoxicitate TF .....	90
4.4. Concluzii .....	90
Capitolul 5 - Identificarea și caracterizarea unor uleiuri esențiale cu potențial efect biocid antifungic	91
5.1. Aspecte metodologice.....	91
5.2. Fișe de caracterizare a uleiurilor esențiale.....	92
5.3. Analiză comparativă a celor 5 uleiuri esențiale.....	93
5.3.1. Proprietăți fizice.....	93
5.3.2. Compoziție chimică determinată prin GC-MS.....	94

5.3.3. Analiză FTIR .....	103
Capitolul 6 - Evaluarea comparativă a efectului biocid antifungic – selectarea produselor cu potențial .....	106
6.1. Considerații generale asupra testelor screening efectuate și etape de cercetare.....	106
6.2. Aspecte metodologice privind testarea potențialului fungicid prin teste screening (Zvolen)...	107
6.3. Rezultatele testării și validării potențialului antifungic prin teste screening .....	108
6.3.1. Fișele de rezultate privind testarea și validarea potențialului antifungic.....	108
6.3.2. Analiza comparativă a potențialului biocid antifungic al uleiurilor esențiale testate.....	109
6.3.3. Analiza comparativă a rezultatelor experimentale obținute în etapa de validare a potențialului antifungic pentru C-EO și T-EO .....	116
6.4. Concluzii .....	125
Capitolul 7 - Determinarea eficienței biocide și a potențialului impact ecologic pentru două produse selectate (ulei esențial de cuișoare C-EO, ulei esențial de cimbru T-EO).....	127
7.1. Aspecte metodologice.....	127
7.1.1. Tratarea epruvetelor de lemn și pregătirea pentru testul minibloc .....	127
7.1.2. Testul minibloc .....	130
7.1.3. Testul de spălare a probelor de lemn și testul de fitotoxicitate .....	130
7.2. Rezultate experimentale .....	132
7.2.1. Testul minibloc .....	132
7.2.2. Testul de fitotoxicitate .....	150
Capitolul 8 - Concluzii și perspective practice ale cercetării.....	160
Bibliografie .....	162
Baza de date Capitolul 1 - BD 1.....	170
Baza de date Capitolul 4 - BD-01 .....	182
Baza de date Capitolul 5 - BD-02 .....	234
Baza de date Capitolul 6 - BD-03 .....	274

**Lista de abrevieri**

Nr.crt	Abreviere	Denumire completă	Observații
1	O1.....O5	Obiectivele lucrării	Original
2	R-O1.....R-O5	Rezultatele obiectivelor lucrării	Original
3	EO	Ulei esențial	Comun
4	B-EO	Ulei esențial de busuioc	Original
5	C-EO	Ulei esențial de cuișoare	Original
6	O-EO	Ulei esențial de oregano	Original
7	S-EO	Ulei esențial de scorțișoară	Original
8	T-EO	Ulei esențial de cimbru	Original
9	LO	Ulei de in	Comun
10	BRE	Biocide clasice cu eficiență recunoscută	Original
11	RN	Romalit N	Original
12	FTIR	Spectrometrie în intraroșu cu transformată Fourier	Comun
13	GC-MS	Gaz cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă	Comun
14	SEM	Microscopie electronică de scanare	Comun
15	TV	Ciuperca <i>Trametes versicolor</i>	Comun
16	CP	Ciuperca <i>Coniophora puteana</i>	Comun
17	PP	Ciuperca <i>Postia placenta</i> ( sin. <i>Rhodonia placenta</i> )	Comun
18	GT	Ciuperca <i>Gloeophyllum trabeum</i>	Comun
19	SL	Ciuperca <i>Serpula lacrymans</i>	Comun
20	HP, HPI, CT, DH, R, RS, VM	Teste screening	Original
21	TF	Test fitotoxicitate	Original
22	TPr	Test tratare preventivă	Original
23	Tcu	Test tratare curativă	Original
24	I <sub>sol</sub>	Indice de inhibiție pe mediu	Preluat
25	I <sub>paper</sub>	Indice de inhibiție pe hârtie	Preluat
26	PM	Pierdere de masă	Original
27	RPM	Reducere de pierdere de masă	Original
28	U	Umiditate	Comun
29	Abs	Absorbție de produs	Comun
30	WPG	Reținere de produs	Comun
31	PG	Procent de germinare	Comun
32	LMG	Lungimea medie a germenilor	Comun
33	IG	Index de germinare	Comun
34	E1.....E10	Ape de spălare	Comun

## Introducere

Lemnul, un material natural cu o istorie îndelungată de utilizare în diverse domenii, reprezintă o resursă inestimabilă pentru omenire. Cu toate acestea, în ciuda multiplelor sale calități, structura sa îl face vulnerabil la atacul agenților biologici de degradare (Eriksson et al., 1990; Zabel & Morrell, 2020). Această vulnerabilitate a necesitat, de-a lungul timpului, dezvoltarea unor metode de tratare și conservare, atât preventive, cât și curative, pentru a asigura longevitatea și integritatea obiectelor și structurilor din lemn (Brischke, 2020; Reinprecht, 2016).

Produsele biocide de sinteză au fost multă vreme considerate soluția ideală pentru protejarea lemnului împotriva degradării biologice. Aceste substanțe, dezvoltate și utilizate intensiv de-a lungul deceniilor, au demonstrat eficacitate în combaterea agenților patogeni, dar cu toate acestea, cercetările ulterioare au scos la iveală efecte secundare îngrijorătoare ale acestor biocide sintetice, atât asupra sănătății umane, cât și asupra mediului înconjurător (Jadon et al., 2022; Reinprecht, 2010).

În fața acestei situații, autoritățile competente au fost nevoite să impună reglementări stricte privind utilizarea produselor biocide de sinteză. Aceste măsuri au inclus interzicerea completă a anumitor substanțe deosebit de nocive și limitarea severă a utilizării altora<sup>1</sup> (Kumar et al., 2022; Marcias et al., 2005).

În acest context, atenția cercetătorilor și a specialiștilor s-a îndreptat către soluții naturale, iar uleiurile esențiale au început să fie considerate o opțiune promițătoare. Aceste substanțe aromatice și volatile, extrase din diverse plante, au jucat un rol crucial în supraviețuirea și evoluția speciilor vegetale de-a lungul mileniilor. Uleiurile esențiale au fascinat omenirea încă din antichitate, fiind apreciate pentru proprietățile lor terapeutice și aromatice.

Odată cu avansul tehnologic și dezvoltarea metodelor moderne de investigare științifică, cercetătorii au reușit să analizeze în detaliu compoziția chimică a uleiurilor esențiale. Aceste studii au relevat prezența unor compuși cu proprietăți remarcabile împotriva unei game largi de microorganisme, inclusiv fungi, bacterii și virusuri. Această descoperire a deschis noi perspective în ceea ce privește utilizarea uleiurilor esențiale ca agenți de conservare pentru lemn și alte materiale organice.

Premisa fundamentală care stă la baza interesului crescut pentru uleiurile esențiale în domeniul conservării este caracterul lor presupus ecologic. Fiind produse naturale care susțin viața și imunitatea plantelor din care provin, este de așteptat ca aceste uleiuri să reprezinte o alternativă mult mai prietenoasă cu mediul în comparație cu biocidele sintetice tradiționale. Totuși, aspectele legate de posibilul impact ecologic datorită unor componente cu activitate fitotoxică, au fost prea puțin studiate și necesită atenție și investigații (Ferraz et al., 2022).

Prin urmare, tranziția către utilizare a uleiurilor esențiale în bioprotecția lemnului nu este lipsită de provocări. Este necesară o cercetare aprofundată pentru a determina eficacitatea specifică a diferitelor

---

<sup>1</sup> <https://faolex.fao.org/docs/pdf/eur19011.pdf>

uleiuri esențiale împotriva diverselor tipuri de agenți de degradare a lemnului. De asemenea, trebuie stabilite protocoale clare de aplicare și dozare, pentru a asigura eficiența tratamentului cu efecte secundare minime față de mediu și sănătatea omului.

Abordând tematica potențialului unor uleiuri esențiale în bioprotecția antifungică a lemnului, lucrarea de față are ca idee de bază sintagma eficiență *versus* eco-impact, fiind structurată în 8 capitole, după cum urmează:

Capitolul 1 – Uleiurile esențiale;

Capitolul 2 - Obiectivele cercetărilor experimentale;

Capitolul 3 - Metodologia de cercetare;

Capitolul 4 - Stabilirea și validarea unui protocol analitic de laborator;

Capitolul 5 - Identificarea și caracterizarea unor uleiuri esențiale cu potențial efect biocid antifungic;

Capitolul 6 - Evaluarea comparativă a efectului biocid antifungic și selectarea produselor cu potențial;

Capitolul 7 - Determinarea eficienței biocide și a potențialului impact ecologic pentru două produse selectate (ulei esențial de cuișoare C-EO, ulei esențial de cimbru T-EO);

Capitolul 8: Concluzii și perspective practice ale cercetării.

## Capitolul 1 – Uleiurile esențiale

Termenul "uleiuri esențiale" are o origine fascinantă, fiind derivat din expresia "uleiul cel mai important". Această denumire își are rădăcinile în filozofia aristotelică, care propunea că întreaga materie este alcătuită din patru elemente fundamentale: foc, aer, pământ și apă. În această concepție, se considera că există un al cincilea element, numit "quinta esență", care reprezenta spiritul sau forța vitală a materiei (Bașer & Buchbauer, 2010).

Uleiurile esențiale reprezintă o componentă fundamentală în lumea plantelor aromatice, fiind un amestec complex de substanțe secretate de acestea în diferite părți ale structurii lor. Ele nu doar că oferă plantelor aroma lor caracteristică, ci le conferă și o serie de proprietăți specifice, necesare pentru supraviețuirea lor. Uleiurile esențiale fac parte dintre metaboliții secundari ai plantelor aromatice și au roluri importante atât în reproducere, facilitând polenizarea prin atracția insectelor benefice, cât și în sistemul lor de apărare. Pot acționa ca repelente naturale împotriva insectelor și altor dăunători, pot inhiba creșterea microorganismelor patogene, fiind în același timp componente adaptogene, care ajută planta să facă față condițiilor de mediu solicitante: temperaturi extreme, stres hidric. Astfel uleiurile esențiale sunt considerate echivalentul sistemului imunitar al plantelor și sunt frecvent denumite "forța vitală" a acestora (Fokou et al., 2020; Kumar et al., 2022; *Metode de Obținere și de Prelucrare a Uleiurilor Volatile*, f.a.; Shankar et al., 2021).

### 1.1. Istoricul uleiurilor esențiale

Importanța și utilizarea uleiurilor esențiale în istoria omenirii sunt remarcabile, cu origini ce se întind până în Antichitate. Dovezile istorice indică faptul că folosirea plantelor aromatice și a uleiurilor esențiale a fost o practică comună în civilizații străvechi precum China, India (5000 î.Hr.), Mesopotamia, Egipt sau Grecia (3000 î.Hr.). Există înscrisuri datând din aproximativ 4500 î.Hr. care descriu utilizarea substanțelor balsamice aromatice în contextul ritualurilor religioase și al aplicațiilor medicale (*Essential Oils pocket reference*, 2019). De la descoperirea lor uleiurile esențiale au fost utilizate pentru arome și aditivi în mâncăruri, ca și afrodisiace, parfumuri, în cosmetică, medicină și ritualuri religioase și ezoterice (Dima & Dima, 2015).

Egiptul este considerat ca fiind locul de unde a început aromaterapia. Civilizația egipteană antică a dezvoltat o abordare sofisticată a îngrijirii corporale, integrând plantele aromatice în rutina zilnică. Procesul lor de igienă personală era structurat și sistematic, constând într-o secvență de două etape principale. Prima etapă implica curățarea corpului cu apă, urmată de o a doua etapă, care consta în aplicarea de uleiuri arome pe piele. Această metodă nu doar că înlocuia practicile tradiționale de igienă, dar era și reglementată, subliniind importanța sa în cultura egipteană (Laur, 2022). Istoria medicinei egiptene antice este marcată de contribuții semnificative, printre care se remarcă în mod deosebit figura lui Imhotep. Conform documentelor istorice, acest remarcabil personaj, care a ocupat poziția de Mare Vizir în timpul domniei regelui Djoser (2780-2720 î.Hr.), este considerat unul dintre pionierii medicinei faraonice. Imhotep și-a câștigat renumele nu doar ca arhitect, ci și ca inovator în domeniul medical, fiind creditat cu introducerea unor practici revoluționare pentru acea vreme. Printre

acestea se numără utilizarea uleiurilor, a plantelor medicinale și a celor aromatice în scopuri terapeutice și religioase (*Essential Oils pocket reference*, 2019).

În tradiția indiană, utilizarea plantelor aromatice sub diverse forme, precum condimente, uleiuri și fumigații, rămâne o practică curentă, atât în context religios, cât și terapeutic (Aggarwal & Yost, 2016). Un aspect notabil este încorporarea uleiurilor aromate în mortarul utilizat la construcția templelor, o tehnică ingenioasă care servește dublu scop: dezinfectarea aerului și crearea unei atmosfere propice pentru liniște și meditație (Laur, 2022). Sistemul medicinal ayurvedic, cu o istorie milenară, încorporează uleiurile esențiale ca element cheie în promovarea sănătății și longevității. Conform acestei filozofii, uleiurile esențiale sunt considerate a avea proprietăți remarcabile în stimularea funcțiilor cognitive și îmbunătățirea inteligenței organismelor vii. În practica spirituală tibetană, arderea ienupărului este frecvent utilizată în templele budiste, unde fumul său este considerat a avea proprietăți purificatoare și protectoare (Pant et al., 2019).

Sistemul medicinal tradițional chinezesc abordează uleiurile esențiale dintr-o perspectivă holistică, depășind simpla lor utilizare ca remedii pentru sănătate. În acest context, uleiurile sunt considerate agenți complecși care pot influența atât starea fizică, cât și conștiința umană (Pant et al., 2019). Afirmatia „*Aroma este un medicament*” subliniază importanța și eficacitatea aromaterapiei în procesul de vindecare. Această abordare holistică a sănătății recunoaște puterea terapeutică a aromelor, integrându-le în mod complementar alături de alte practici medicale consacrate, precum acupunctura, masajul și fitoterapia (Laur, 2022).

Grecii au acordat o importanță deosebită uleiurilor aromatice, considerându-le daruri divine menite să aducă alinare și vindecare muritorilor. Cunoștințele despre proprietățile terapeutice ale extractelor din plante au fost integrate în viața cotidiană a grecilor, influențând inclusiv prepararea vinurilor. Un exemplu notabil este Mirrina, un vin îmbogățit cu smirnă, care se bucura de o largă apreciere în societatea elenă. Hipocrat, părintele medicinei moderne, a recunoscut potențialul terapeutic al acestor substanțe naturale, recomandând pacienților săi băi aromatice și masaje cu uleiuri aromate pentru tratarea diverselor afecțiuni (Laur, 2022).

Imperiul Roman a asimilat și dezvoltat cunoștințele acumulate de civilizațiile precedente, în special cele egipteană și greacă. O atenție deosebită a fost acordată proprietăților terapeutice ale plantelor aromatice în tratarea diverselor afecțiuni. În acest context, o contribuție semnificativă a fost adusă de medicul Dioscoride, care a servit în armata împăratului Nero. Opera sa monumentală, „*De Materia Medica*”, compusă din cinci volume, a catalogat nu mai puțin de 500 de plante, incluzând specii precum ienupărul, smirna și chiparosul (Laur, 2022). Această lucrare a avut o influență extraordinară, dominând practica medicală o foarte lungă perioadă, peste un mileniu și jumătate. Cu toate acestea, este important de menționat că, deși lucrarea lui Dioscoride era vastă și detaliată, ea se concentra asupra plantelor în general, mai degrabă decât asupra uleiurilor în mod specific. Singura excepție notabilă este uleiul de terebentină, pentru care autorul oferă informații despre metodele de obținere și utilizare (Guenther, 2014).

Importanța plantelor aromatice și a uleiurilor esențiale este evidențiată și în numeroase pasaje ale Bibliei, atât în Vechiul, cât și în Noul Testament. Aceste substanțe naturale au fost prețuite și folosite

în diverse contexte religioase și culturale ale vremii. Un exemplu elocvent este episodul nașterii lui Iisus, când Pruncul a primit în dar aur, smirnă și tămâie de la cei trei magi. Această ofrandă subliniază valoarea extraordinară atribuită acestor esențe aromatice, care erau considerate la fel de prețioase ca aurul.

Uleiul esențial de trandafir a fost primul ulei esențial obținut prin procesul de distilare, deși inițial a fost considerat un produs secundar al procesului. În perioada respectivă, accentul principal era pus pe utilizarea apelor florale distilate, care erau mult mai populare și apreciate (Guenther, 2014; Laur, 2022).

În perioada medievală europeană, plantele aromatice și extractele lor și-au menținut statutul de remedii prețioase, fiind apreciate atât pentru proprietățile lor terapeutice, cât și pentru calitățile aromatice. Un exemplu notabil al importanței acestora este legenda "*vinului celor patru hoți*", care a apărut în contextul epidemiilor de ciumă. Conform acestei povești, un grup de hoți ar fi jefuit casele victimelor ciumei fără a se îmbolnăvi, datorită consumului unui vin special. Se spune că, în schimbul rețetei acestui vin, care conținea plante aromatice, hoții ar fi fost eliberați (Laur, 2022). Această legendă a inspirat ulterior crearea unui amestec de uleiuri esențiale, renumit pentru proprietățile sale antiseptice, antifungice, antivirale și antiinfecțioase puternice (*Essential Oils pocket reference*, 2019).

În secolul al XVI-lea, Paracelsus von Hohenheim din Elveția a folosit expresia latină *Quinta essentia*, tradusă ca *al 5-lea element*, din care s-a născut termenul de ulei esențial (Dhifi et al., 2016; Shankar et al., 2021).

Între secolele XVI și XVIII, uleiurile esențiale au căpătat o importanță deosebită, fiind extrase și utilizate preponderent în domeniile farmaceutic și al parfumeriei. Diversele scrieri ale epocii menționează aceste uleiuri, detaliind metodele de obținere și aplicațiile lor. Apotecarii erau principalii responsabili pentru producerea și implementarea acestor substanțe prețioase (Guenther, 2014). Franța a devenit un centru important al industriei parfumurilor, nu doar importând și prelucrând plante din diverse regiuni ale lumii, ci și inițiind cultivarea lor pe teritoriul propriu. Această industrie s-a dovedit a fi extrem de profitabilă în Franța, înflorind și dezvoltându-se constant pe parcursul secolelor XVII-XIX (Laur, 2022).

Progresul științific și tehnologic a adus o contribuție semnificativă la aprofundarea cunoștințelor despre compoziția și proprietățile uleiurilor esențiale. Această evoluție a deschis noi orizonturi pentru cercetare și studii avansate în domeniu, conducând la descoperirea unui număr tot mai mare de potențiale aplicații pentru aceste substanțe naturale complexe.

## 1.2. Definiție și surse

În conformitate cu a 7-a ediție a Farmacopeei Europene, un ulei esențial este un "*Produs odorizant, în general cu o compoziție complexă, obținut dintr-o materie primă definită botanic ca și plantă crudă, fie prin antrenare cu vapori de apă, fie prin distilare uscată sau printr-o procedură mecanică adecvată, fără încălzire. Un ulei esențial este de obicei separat din faza apoasă printr-o metodă fizică care nu conduce la modificări semnificative în compoziția sa chimică.*" (Asbahani et al., 2015).

Aproximativ 3000 de uleiuri esențiale sunt cunoscute, dintre care 300 sunt importante din punct de vedere comercial, în special pentru industriile farmaceutică, agronomică, alimentară, sanitară, cosmetică și parfumerie (Bakkali et al., 2008; Bhavaniramya et al., 2019; Butnariu & Sarac, 2018).

Farmacopeea Europeană enumeră ca fiind sigure un număr de 28 de uleiuri esențiale (Sadgrove et al., 2021).

Uleiurile esențiale sunt cunoscute în literatura de specialitate și sub denumirile de: uleiuri aromatice, uleiuri eterice, uleiuri volatile, esențe aromatice, etc. Ele reprezintă o categorie de compuși naturali, caracterizați prin volatilitate și complexitate structurală. Aceste substanțe, produse de plantele aromatice ca metaboliți secundari, se remarcă prin mirosul lor intens și distinct (Bakkali et al., 2008).

Sinteza substanțelor organice volatile este realizată de către protoplastul celulei, iar acumularea substanțelor sintetizate are loc în țesuturile secretoare externe (peri glandulari și secretori, de exemplu plantele încadrate în familia *Lamiaceae*, respectiv *Asteraceae*) sau interne (precum canalele schizogene la *Myrtaceae* și schizolysigene la *Rutaceae* sau cavități secretoare la conifere) ale plantelor (Bodrug & Calalb, 2009; Preedy, 2016). Deși acești compuși pot fi prezenți în întreaga plantă, există cazuri în care se concentrează preponderent în anumite organe sau țesuturi (Tab. 1.1).

Tab. 1.1 Surse ale uleiurilor esențiale

Partea plantei	Planta
Flori	trandafir, iasomie, lavandă, neroli, zambilă, cuișoare, ylang-ylang,
Boboci florali și muguri	cuișoare, plop negru, coacăz
Frunze și vlăstari	dafin, eucalipt, mentă, mușcată, paciuli, petitgrain, rozmarin
Frunze uscate	eucalipt, mentă, niaouli, paciuli
Ace și ramuri	chiparos, brad, pin, cajeput, cassia, cedru
Fructe uscate	coriandru, ienupăr, fenicul, anason
Coaja fructelor	lămâi, portocal, grepfrut, bergamot, mandarin, limet
Semințe	chimen, mărar, muștar, pătrunjel, morcov
Planta întreagă	cimbru, lavandă, coada-șoricelului, salvie, busuioc, coriandru, isop
Rădăcini	ghimbir, iris, obligeană, valeriană, vetiver, angelica
Scoarță	cassia, scorțișoară, mesteacăn
Lemn	cedru, lemn de trandafir, santal, ienupăr
Balsamuri și rășini	smirnă, tămâie, galbanum,
(Dhifi et al., 2016; Laur, 2022; <i>Metode de Obținere și de Prelucrare a Uleiurilor Volatile</i> , f.a.)	

În regnul vegetal, distribuția compușilor organici volatili prezintă un tipar taxonomic distinct. Speciile care sintetizează aceste substanțe în cantități semnificative sunt concentrate preponderent în familiile botanice: *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Apiaceae*, *Pinaceae*, *Lauraceae* (Bodrug & Calalb, 2009).

În general compoziția uleiurilor esențiale este uniformă în întreaga plantă, dar există totuși cazuri notabile care contrazic această tendință. Arborele de scortişoară produce trei tipuri distincte de uleiuri volatile: un ulei bogat în eugenol extras din frunze, un ulei cu conținut ridicat de aldehydă cinamică obținut din scoarță, și un ulei cu o concentrație semnificativă de camfor provenit din rădăcină (Liyanage et al., 2017; *Metode de Obținere și de Prelucrare a Uleiurilor Volatile*, f.a.). În mod similar, portocalul amar oferă o gamă variată de uleiuri: uleiul și absolutul de neroli extrase din flori, uleiul de portocale obținut din coaja fructelor și uleiul petitgrain derivat din frunze, fructe imature și ramuri tinere (Laur, 2022).

### 1.3. Proprietăți fizice

Uleiurile esențiale sunt compuși volatili, transparentți, incolori sau ușor colorați, variind de la nuanțe de albastru (specifice mușețelului) până la tonuri de brun (asociate cuișoarelor) sau galben-portocaliu (caracteristice portocalului), care se disting prin aroma lor inconfundabilă (Dhifi et al., 2016; Laur, 2022).

În ciuda denumirii lor, uleiurile esențiale nu sunt, de fapt, grăsimi lichide în sensul tradițional al termenului. În timp ce uleiurile convenționale conțin gliceride ale acizilor grași, uleiurile esențiale sunt compuse din molecule complet diferite, care le conferă capacitatea de a se evapora la temperatura ambientală fără a lăsa reziduuri uleioase (*Essential Oils pocket reference*, 2019; Laur, 2022). Această proprietate este esențială pentru aplicațiile lor diverse în aromaterapie și industria parfumurilor.

Uleiurile esențiale au masa moleculară mică și densitatea în general mai mică decât cea a apei. Uleiurile esențiale sunt practic total insolubile în apă /medii apoase, dar sunt solubile în solvenți organici și produse grase (Dima & Dima, 2015).

Solubilitatea excelentă în grăsimi și solvenți organici facilitează absorbția rapidă prin piele, permițându-le să pătrundă eficient în sistemele limfatic și sangvin (Bakkali et al., 2008; Dima & Dima, 2015; Laur, 2022).

Este important de menționat că uleiurile esențiale au un indice de refracție ridicat și activitate optică, iar sensibilitatea lor la oxidare în prezența luminii este un aspect crucial pentru conservarea și utilizarea adecvată a acestor substanțe valoroase (Dhifi et al., 2016; Laur, 2022).

### 1.4. Metode de extracție a uleiurilor esențiale

Extracția uleiurilor esențiale este un proces complex și există o gamă variată de tehnici ce se pot utiliza în acest scop, așa cum este ilustrat în Fig. 1.1. Alegerea metodei optime de extracție depinde de o serie de factori critici, printre care se numără tipul de plantă procesată, compoziția uleiurilor, cantitatea dorită de ulei esențial, calitatea finală a produsului, precum și considerente economice și de eficiență.

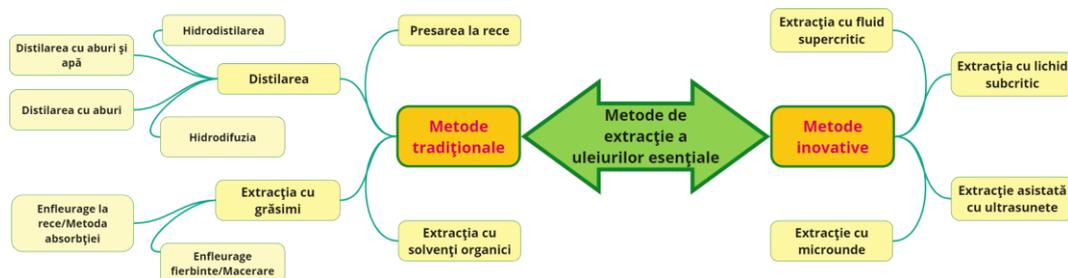


Fig. 1.1 Sintează a tehnicilor de extracție a uleiurilor esențiale

În practica industrială, randamentele de extracție rămân preponderent scăzute, situându-se în general în jurul valorii de 1%, ceea ce explică costurile ridicate ale uleiurilor esențiale pure pe piață (Tab. 1.2). Acest aspect conferă uleiurilor esențiale statutul de substanțe rare și extrem de valoroase. Fiecare metodă de extracție prezintă avantaje și dezavantaje specifice, iar selectarea celei mai adecvate tehnici necesită o analiză atentă.

Tab. 1.2 Randamentul mediu de extragere al unor uleiuri esențiale din diverse plante<sup>2</sup>

Cantitate materie primă	Cantitate ulei esențial obținut
100kg Eucalipt	3 kg
100kg Lavandă	2,9 kg
100kg Salvie	1,4-1,7 kg
100kg Mușețel	0,7-1 kg
100kg Flori de portocal amar	50 g
1-2 tone petale de trandafir	1 kg

#### 1.4.1. Metode de extracție convenționale

##### 1.4.1.1. Distilarea

Distilarea este una dintre cele mai vechi (Fig. 1.2) și mai răspândite metode de extracție a uleiurilor esențiale. Istoricul E. J. Holmyard a scris că procesul de distilare are o vechime foarte mare, iar o formă primitivă de aparat de distilare, datând din aproximativ 3500 î.Hr. a fost descoperită la Tepe Gawra în nord-estul Mesopotamiei (astăzi Irak) (*Essential Oils pocket reference*, 2019).

<sup>2</sup> (Laur, 2022)



Fig. 1.2 Instalție de distilat din teracotă datând din 350 îHr. Expusă în muzeul Taxila, Pakistan<sup>3</sup>

#### 1.4.1.1.1. Hidrodistilarea

Hidrodistilarea sau distilarea cu apă (Fig. 1.3) sau antrenarea la foc direct este cel mai vechi procedeu de extragere a uleiurilor volatile, care este aplicat și astăzi, dar doar acelor materiale vegetale care nu sunt deteriorate prin fierbere (Shankar et al., 2021). Istoric, Avicenna, (980-1037), a fost primul care a dezvoltat extractia prin alambic (Asbahani et al., 2015).

Materialul vegetal este imersat direct în apa din interiorul vasului și întreaga soluție este adusă la fierbere. Vaporii de apă și uleiul volatil se răcesc și condensează când trec prin serpentinele de răcire și apoi se separă natural de apă prin diferența de densitate a lor. Ulterior uleiul se colectează, iar amestecul de apă cu ulei esențial se poate distila din nou.

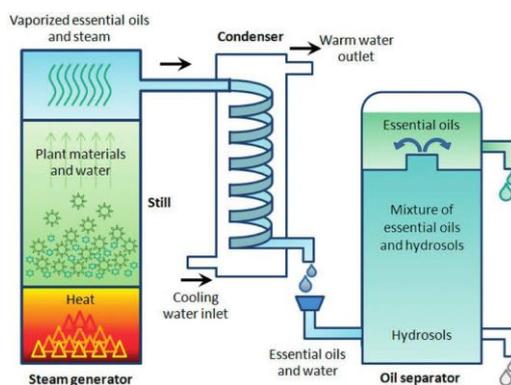


Fig. 1.3 Schema instalației și a procesului de hidrodistilare<sup>4</sup>

#### 1.4.1.1.2. Antrenarea cu vapori de apă

Antrenarea cu abur reprezintă o metodă eficientă și larg utilizată în extragerea uleiurilor eterice din plante. 93% dintre uleiurile esențiale sunt extrase prin această metodă (Shankar et al., 2021). Această tehnică se bazează pe proprietatea vaporilor de apă de a capta și transporta moleculele volatile ale uleiurilor eterice. Extracție uleiurilor esențiale prin acest procedeu durează mai puțin comparativ cu hidrodistilarea, iar materialul vegetal nu vine în contact direct cu apa (Asbahani et al., 2015). Avantajele

<sup>3</sup> <https://richardfoss.com/2015/02/28/evidence-for-the-earliest-distillation-of-sugar/>

<sup>4</sup> <https://essentialoilwizardry.com/methods-for-extracting-essential-oils/>

acestei metode includ o extracție completă, menținerea integrității compușilor volatili datorită temperaturilor relativ scăzute (sub 100°C), precum și posibilitatea recuperării uleiurilor reziduale din apele de distilare.

Uleiurile obținute prin această tehnică se numesc uleiuri pure și se consideră de înaltă calitate, fiind preferate în industria parfumurilor și aromaterapie (Laur, 2022).

#### 1.4.1.1.2.1. Distilarea cu abur

Distilarea cu abur implică expunerea materialului vegetal mărunțit la vapori de apă, prin plasarea lui într-o cameră separată de sursa de abur (Fig. 1.4), care facilitează eliberarea și transportul uleiurilor eterice. La condensare, amestecul de apă și ulei se separă natural prin decantare, datorită diferenței de densitate, uleiurile eterice fiind mai ușoare decât apa (Asbahani et al., 2015; Jerry Atoche Medrano, 2020).

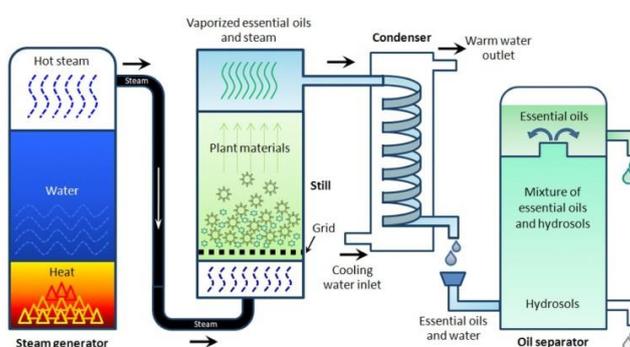


Fig. 1.4 Schema instalației și a procesului de distilare cu abur<sup>5</sup>

#### 1.4.1.1.2.2. Distilarea cu abur și apă (Vapo-hidrodistilarea)

Distilarea cu abur și apă presupune expunerea materialului vegetal mărunțit la vapori de apă, prin plasarea lui pe o sită deasupra sursei de abur (Fig. 1.5), dar în aceeași incintă. Uleiul esențial se obține la fel ca și în cazul distilării cu abur și a hidrodistilării (Asbahani et al., 2015; Jerry Atoche Medrano, 2020; Shankar et al., 2021).

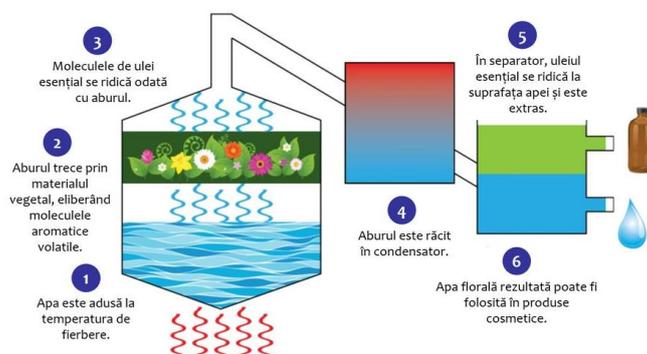


Fig. 1.5 Schema instalației și a procesului de distilare cu abur și apă<sup>6</sup>

<sup>5</sup> <https://vriaroma.com/blog/95/methods-of-producing-essential-oils--and-thier-practices>

<sup>6</sup> <https://armonie-uleiuriesentiale.ro/tehnici-de-obtinere-a-uleiurilor-esentiale/>

#### 1.4.1.1.2.3. Hidrodifuzia

Hidrodifuzia este un proces similar de extracție al uleiurilor esențiale prin antrenarea cu vapori de apă, cu diferența că acești vapori au un traseu descendent prin instalație, penetrând materialul vegetal de sus în jos (Asbahani et al., 2015).

#### 1.4.1.2. Extracția cu solvenți organici

Extracția cu solvenți organici reprezintă o metodă eficientă de obținere a uleiurilor esențiale, în special pentru materialele vegetale delicate care nu pot fi supuse temperaturilor ridicate specifice distilării (Shankar et al., 2021). Materialul vegetal se amestecă cu solvent (hexan, eter de petrol, etanol, ș.a.) (la rece-macerare; la cald-digerare), (Fig. 1.6) apoi amestecul se concentrează eliminând solventul prin distilare la o temperatură mai scăzută. Extractul obținut este un amestec de ulei esențial și alte produse reziduale, de multe ori solventul neputând fi îndepărtat în totalitate, limitând astfel utilizarea sa în industria alimentară, farmaceutică sau medicală (Asbahani et al., 2015; Laur, 2022).

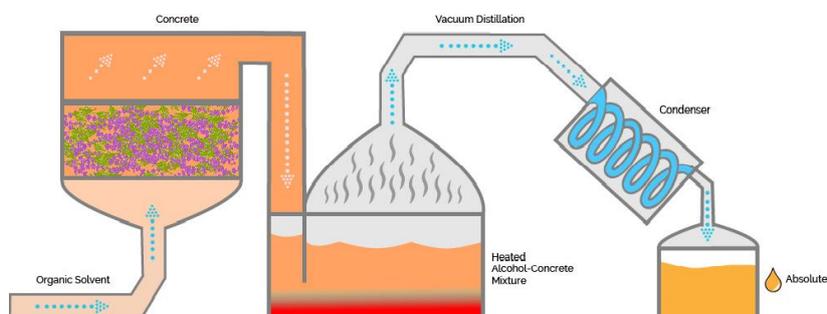


Fig. 1.6 Schema instalației și a procesului de extracție a uleiurilor esențiale cu solvenți organici<sup>7</sup>

#### 1.4.1.3. Extracția cu grăsimi

Extracția în grăsimi reprezintă o tehnică tradițională și eficientă în industria parfumeriei, utilizată pentru obținerea uleiurilor esențiale de înaltă calitate. Această metodă se bazează pe principiul solubilității uleiurilor volatile în substanțe grase, precum și pe capacitatea remarcabilă a grăsimilor de a reține și păstra compușii aromatici. Procesul de extracție în grăsimi se distinge prin capacitatea sa de a capta și a reproduce cu fidelitate maximă esența olfactivă a florii, oferind astfel o reprezentare autentică și nuanțată a parfumului natural (*Metode de Obținere și de Prelucrare a Uleiurilor Volatile*, f.a.; Shankar et al., 2021).

##### 1.4.1.3.1. Extracția cu grăsimi la rece -Enfleurage

Procesul de extracție a uleiurilor esențiale prin metoda enfleurage-ului este o tehnică veche, dar încă eficientă, pentru flori delicate. Această metodă implică presarea florilor proaspăt culese pe suprafețe acoperite cu uleiuri grase sau grăsimi. Florile sunt lăsate între 24 și 72 de ore (Laur, 2022), putând ajunge până la o săptămână (Shankar et al., 2021), după care sunt înlocuite cu altele proaspete. Acest ciclu se repetă până când grăsimea devine saturată cu uleiuri esențiale. Ulterior, uleiul esențial este extras prin spălarea cu alcool a acestei grăsimi. Metoda este deosebit de potrivită pentru flori precum

<sup>7</sup> <https://www.wfmed.com/organic-solvent-extraction/>

iasomie și tuberoză, ale căror esențe sunt prea delicate pentru alte metode de extracție și de asemenea activitățile lor fiziologice continuă după recoltare pentru 24 h sau chiar mai mult (Guenther, 2014).

Regiunea Grasse din sudul Franței este renumită pentru tradiția sa în industria parfumurilor, iar tehnica enfleurage reprezintă o parte importantă a acestei moșteniri. Această metodă de extragere a uleiurilor esențiale a continuat să fie utilizată în zonă chiar și după apariția unor tehnici mai moderne. Cu adevărat remarcabil este faptul că această artă delicată este transmisă și perfecționată de la o generație la alta, de la tată la fiu (Guenther, 2014).

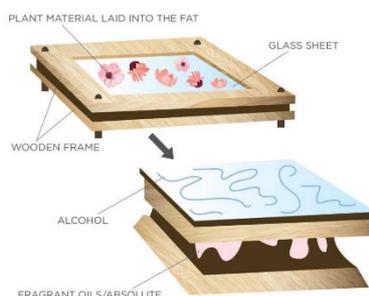


Fig. 1.7 Schema procesului de extracție a uleiului esențial cu grăsimi la rece – enfleurage<sup>8</sup>

#### 1.4.1.3.2. Extracția cu grăsimi la cald – Enfleurage la cald

Extracția cu grăsimi la cald a uleiurilor esențiale, cunoscută și sub denumirea de enfleurage fierbinte sau macerare, se bazează pe principii similare cu cele ale enfleurage-ului la rece, dar prezintă anumite particularități care îl fac potrivit pentru anumite tipuri de flori (Shankar et al., 2021).

Procesul începe cu încălzirea grăsimii la o temperatură cuprinsă între 60 și 70 grade Celsius. În această grăsime încălzită se adaugă florile proaspăt culese, care își eliberează uleiurile esențiale sub acțiunea căldurii. Acest ciclu se repetă în mod continuu, adăugându-se noi flori în grăsime, până când aceasta atinge punctul de saturație. Grăsimea saturată cu uleiul esențial extras, odată răcită, primește denumirea de pomadă florală. Pentru a obține uleiul esențial propriu-zis, pomada florală este reîncălzită, iar apoi se adaugă alcool pentru a extrage uleiurile esențiale din grăsime (Laur, 2022).

Enfleurage-ul fierbinte este deosebit de potrivit pentru anumite specii de flori, printre care se numără trandafirii, mimoza și bobocii de flori de portocal (Guenther, 2014).

#### 1.4.1.4. Presarea la rece

Presarea la rece reprezintă o metodă eficientă de extragere a uleiurilor esențiale, în special în cazul citricelor, datorită abundenței acestor compuși volatili în coaja fructelor. Acest proces implică aplicarea unei presiuni mecanice asupra cojii, fără utilizarea căldurii, pentru a păstra integritatea și calitatea uleiurilor esențiale (Fig. 1.8). După etapa de presare, lichidul obținut este supus unui proces de centrifugare, care permite separarea uleiului esențial de alte componente (Dima & Dima, 2015; Laur, 2022; Shankar et al., 2021).

<sup>8</sup> [https://www.facebook.com/109496256286/photos/this-week-i-am-sharing-more-information-about-different-types-of-distillation-di/10155251639981287/?paipv=0&eav=AfbwZxnZgd-4tN\\_L91dKH6XAUHQ-MtOmTna0aUpclpV6ZArmb3LUX0MZpdm-WkYxo&\\_rd](https://www.facebook.com/109496256286/photos/this-week-i-am-sharing-more-information-about-different-types-of-distillation-di/10155251639981287/?paipv=0&eav=AfbwZxnZgd-4tN_L91dKH6XAUHQ-MtOmTna0aUpclpV6ZArmb3LUX0MZpdm-WkYxo&_rd)

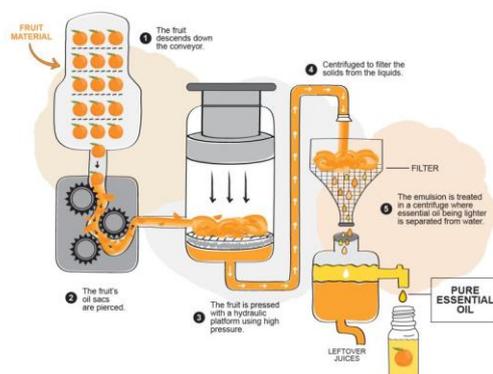


Fig. 1.8 Schema instalației și a procesului de presare la rece<sup>9</sup>

### 1.4.2. Metode de extracție inovative

Inovațiile în domeniul tehnologiilor de extracție reprezintă un pas important în evoluția industriei, aducând soluții promițătoare pentru provocările existente. Aceste noi abordări, precum extracția asistată de ultrasunete sau microunde, exploatează surse alternative de energie pentru a optimiza procesul, în timp ce metodele bazate pe fluide supercritice sau subcritice se concentrează pe îmbunătățirea proprietăților solvenților. Aceste tehnici inovatoare nu doar că elimină o parte din dezavantajele asociate cu metodele convenționale, dar oferă și posibilitatea creșterii semnificative a randamentului de extracție. Prin eficiența și selectivitatea lor îmbunătățită, aceste tehnologii deschid noi perspective în domeniul extracției, promițând o utilizare mai eficientă a resurselor și o calitate superioară a produselor finale (Dima & Dima, 2015).

#### 1.4.2.1. Extracția cu fluid supercritic

Pentru a atinge o stare supercritică, un fluid trebuie să fie supus unor condiții specifice de presiune și temperatură, care sunt bine definite și riguros stabilite. Aceste condiții variază în funcție de natura chimică a fluidului în cauză și sunt caracterizate de așa-numitul punct critic, unde proprietățile lichidului și ale vaporilor devin indistincte. În general, pentru a ajunge în starea supercritică, fluidul trebuie să fie supus unei presiuni și unei temperaturi care depășesc valorile critice ale acestuia (Asbahani et al., 2015).

##### 1.4.2.1.1. Extracția cu CO<sub>2</sub> supercritic

Extracția cu CO<sub>2</sub> supercritic reprezintă o metodă inovatoare și eficientă în domeniul obținerii uleiurilor esențiale. Această tehnică avansată folosește dioxidul de carbon în stare supercritică ( $T_{cr}=31,1^{\circ}\text{C}$  și  $P_{cr}=7,4\text{ Mpa}$ ) (Dima & Dima, 2015), care acționează ca un solvent natural, pentru a extrage compuși volatili din diverse plante. Avantajul principal al acestei metode constă în faptul că nu lasă reziduuri în produsul final, asigurând astfel o puritate și o calitate superioară a uleiurilor obținute. Procesul este aplicabil unei game largi de materii prime vegetale și prezintă beneficii semnificative în ceea ce privește păstrarea integrității compușilor bioactivi. În plus, CO<sub>2</sub> este un gaz neinflamabil și reciclabil, care este disponibil la costuri reduse și la puritate ridicată și poate fi separat de uleiurile extrase printr-o depresurizare simplă sub punctul critic (Koubaa et al., 2016). Cu toate acestea, implementarea acestei

<sup>9</sup> <https://www.osperfume.com/fragrance-extraction.html>

tehnologii necesită investiții substanțiale în echipamente specializate și expertiză tehnică, ceea ce o face mai costisitoare comparativ cu metodele tradiționale de extracție (Asbahani et al., 2015; Shankar et al., 2021).

#### 1.4.2.2. Extracția cu lichid subcritic

Starea subcritică reprezintă o condiție specifică în care un fluid se află atunci când parametrii săi termofizici se situează în apropierea punctului critic, fără a-l atinge complet. Această stare este caracterizată fie de o presiune care depășește presiunea critică ( $P_{cr}$ ), în timp ce temperatura rămâne sub temperatura critică ( $T_{cr}$ ), fie de situația inversă. În contextul extracției uleiurilor esențiale, apa și dioxidul de carbon sunt cele mai frecvent utilizate fluide în stare subcritică, datorită proprietăților lor avantajoase. Totuși se pare că extractele obținute cu  $CO_2$  subcritic sunt superioare celor obținute cu apă subcritică (Asbahani et al., 2015). În principal se folosește în laboratoare și instituții pentru obținerea unor cantități reduse de uleiuri esențiale (Dima & Dima, 2015).

#### 1.4.2.3. Extracția asistată cu ultrasunete

Extracția asistată cu ultrasunete a fost concepută în anul 1950, inițial fiind implementată la nivel de laborator (Asbahani et al., 2015).

Principiul de bază al acestei metode de extracție a uleiurilor esențiale din surse naturale constă în generarea unor unde sonore (frecvența ultrasunetelor este în jurul a 20 kHz), care creează bule de cavitație în soluție (Rosello-Soto et al., 2015) și trebuie să producă suficientă energie pentru a sparge structurile ce conțin uleiurile volatile și astfel să le elibereze.

Utilizarea ultrasunetelor combinată cu alte tehnici consacrate, precum hidrodistilarea sau extracția cu solvenți, s-a dovedit a fi o metodă eficientă pentru îmbunătățirea procesului de extracție a uleiurilor esențiale, oferind atât o intensificare a procesului, cât și o facilitare a separării (Asbahani et al., 2015). După cum se poate observa și în Fig. 1.9, de la 2,5 h timpul necesar pentru hidrodistilarea convențională, prin utilizarea ultrasunetelor acesta se reduce la 45 de min.

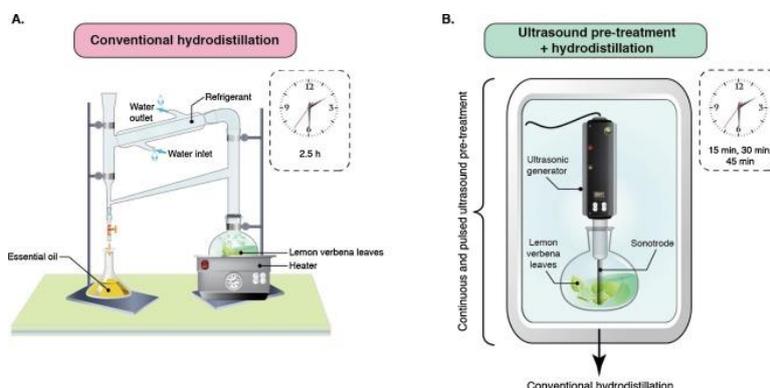


Fig. 1.9 Comparație între hidrodistilarea convențională (A.) și cea asistată de ultrasunete (B.)<sup>10</sup>

<sup>10</sup> (Hashemi et al., 2018)

#### 1.4.2.4. Extracția uleiurilor esențiale asistată cu microunde

Extracția cu ajutorul microundelor și a încălzirii dielectrice datează de la sfârșitul anilor 1970 (Koubaa et al., 2016). Încălzirea volumetrică eficientă furnizată de microunde face ca această tehnologie să fie mult mai eficientă decât alte tratamente termice. Datorită numeroaselor sale proprietăți superioare (realizarea unor rate ridicate de încălzire, reducerea duratei de tratament, o omogenitate mai bună a încălzirii și întreținere redusă cu manipulare sigură) în comparație cu metodele convenționale de extracție, tehnologia pe bază de microunde pentru extracția uleiurilor esențiale din plante duce la modificări minime ale aromelor, în comparație cu încălzirea convențională (Asbahani et al., 2015).

Printre metodele de extracție cu microunde, cele mai utilizate sunt hidrodistilarea cu microunde (Fig. 1.10), hidrodifuzia cu ajutorul microundelor și extracția fără solvenți cu ajutorul microundelor.

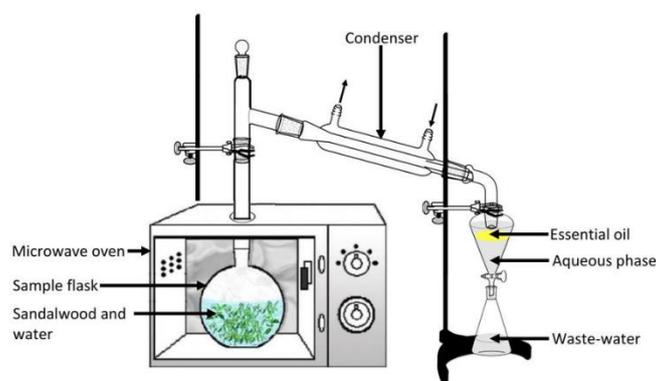


Fig. 1.10 Schema instalației și a procesului de hidrodistilare cu microunde<sup>11</sup>

Cu toate beneficiile pe care le au metodele inovative de extracție, totuși, încă cele mai folosite metode pentru obținerea uleiurilor esențiale rămân cele convenționale și în special distilarea cu aburi și presare la rece pentru uleiul esențial din citrice.

### 1.5. Compoziția chimică a uleiurilor esențiale

Uleiurile esențiale reprezintă produse naturale complexe, caracterizate printr-o diversitate remarcabilă în ceea ce privește compoziția lor chimică, prezentând o variabilitate semnificativă atât în termeni calitativi, cât și cantitativi (Dhifi et al., 2016; Jürgens & Viljoen, 2010).

Cercetările au evidențiat prezența unei multitudini de componenți chimici diferiți în compoziția uleiurilor esențiale, mulți dintre aceștia fiind înrudiți din punct de vedere structural. Uleiul esențial reprezintă o compoziție complexă și variată, ce poate conține peste 100 de componente distincte, în proporții ce variază considerabil, de la 1% până la 70%. Această diversitate remarcabilă a compoziției chimice oferă fiecărui ulei esențial proprietăți unice și potențial terapeutic specific (Dima & Dima, 2015).

<sup>11</sup> (Kusuma & Mahfud, 2016)

Compoziția chimică a uleiurilor esențiale poate varia semnificativ în funcție de factori precum genotipul plantei, chimiotipul, organul plantei, originea geografică, sezonul, condițiile de mediu, practicile agronomice, metodele de extracție și condițiile de depozitare (Butta et al., 2023; Shirzad et al., 2011).

Compușii volatili sunt derivați în principal din trei căi de biosinteză, calea mevalonatului care duce la sesquiterpene, calea metil-eritritol care duce la mono- și diterpene și calea acidului shikimic din care rezultă fenilpropene (Bașer & Buchbauer, 2010). Aceste grupuri conțin compuși ciclici și aciclici din diferite clase, cum ar fi alcoolii, esterii, fenolii, cetonele, lactonele, aldehydele și oxizii (Fig. 1.11; Tab. 1.3) (Turek & Stintzing, 2013).

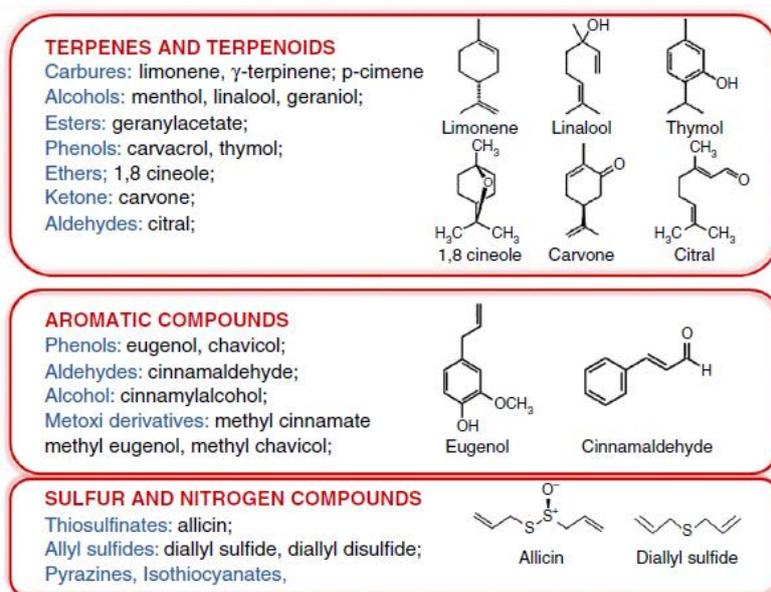


Fig. 1.11 Principalii compuși chimici ai uleiurilor esențiale<sup>12</sup>

### 1.5.1. Terpenele

Terpenele sunt hidrocarburi cu structuri compuse din unități de izopren repetate ( $C_5H_8$ ), iar structura lor poate fi aciclică, ciclică sau aromatică. Clasificarea terpenelor se bazează pe numărul de unități de izopren pe care le conțin. În uleiurile esențiale, cele mai frecvente tipuri de terpene sunt monoterpenele ( $C_{10}$ ) și sesquiterpenele ( $C_{15}$ ), care sunt formate din două și, respectiv, trei unități de izopren (Shankar et al., 2021), dar există și hemiterpene ( $C_5$ ), diterpene ( $C_{20}$ ), triterpene ( $C_{30}$ ) și tetraterpene ( $C_{40}$ ). O terpenă care conține un oxigen se numește terpenoid (Bakkali et al., 2008).

Procesul de dimerizare a două unități de izopren ( $C_{10}$ ) conduce la formarea monoterpenele. Aceste molecule, alcătuite din 10 atomi de carbon, constituie aproximativ 90% din compoziția uleiurilor esențiale, reprezentând astfel componenta lor predominantă (Bakkali et al., 2008). Monoterpenele se remarcă prin diversitatea lor structurală, prezentând o gamă variată de configurații moleculare (Fig. 1.12; Tab. 1.3).

<sup>12</sup> (Dima & Dima, 2015)

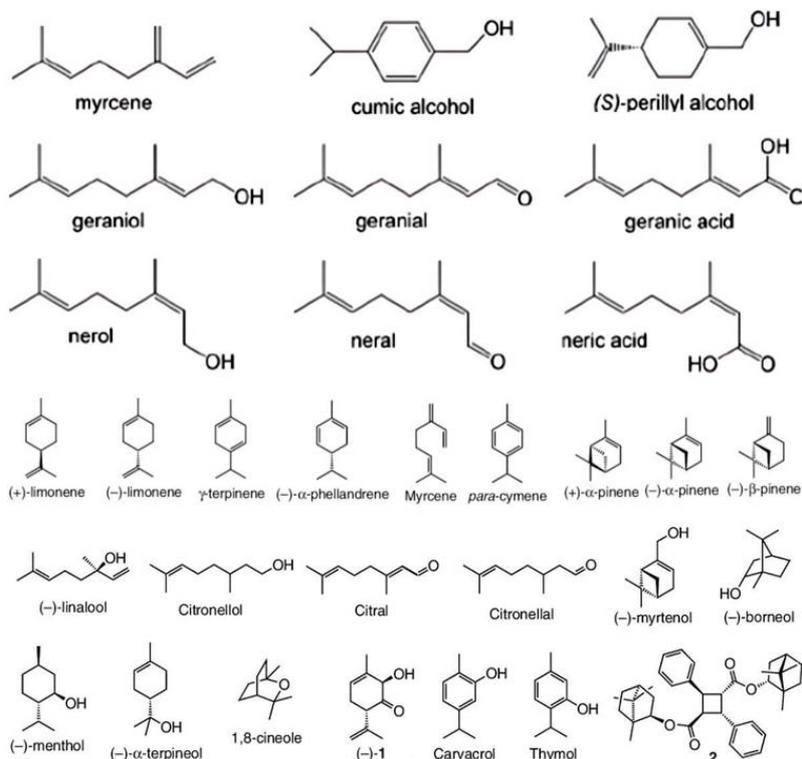


Fig. 1.12 Structuri chimice ale monoterpenelor și monoterpenoidelor din uleiurile esențiale<sup>13</sup>

Procesul de biosinteza a sesquiterpenelor implică condensarea a trei unități de izopren ( $C_5H_8$ ), rezultând astfel molecule cu formula moleculară  $C_{15}H_{24}$ . Această unică compoziție permite o varietate remarcabilă de configurații structurale. Pe măsură ce lanțul carbonic se extinde, probabilitatea apariției reacțiilor de ciclizare crește semnificativ. Aceste ciclizări pot genera diverse forme moleculare, incluzând structuri monocilice, biciclice și chiar triciclice (Fig. 1.13; Tab. 1.3).

<sup>13</sup> <https://www.aquaportal.com/dictionnaire/definition/1734/monoterpene>

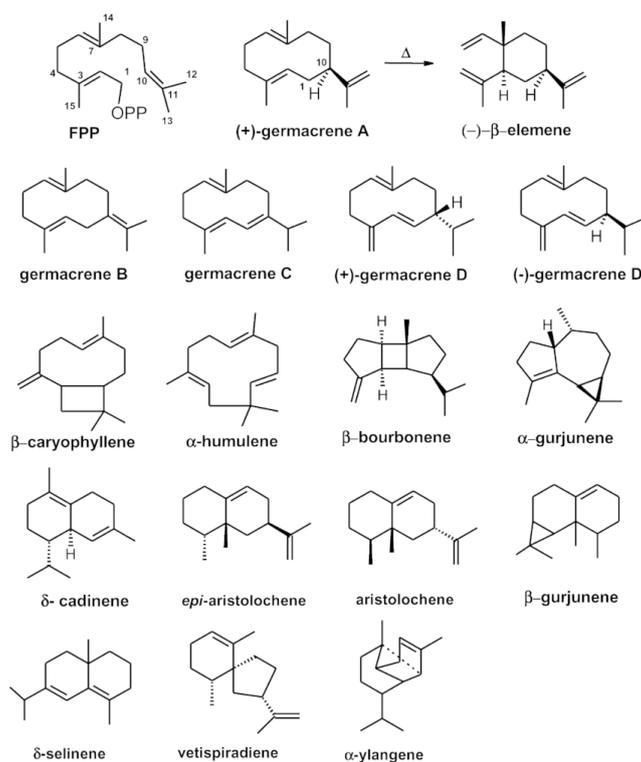


Fig. 1.13 Structuri chimice ale sesquiterpenelor din compoziția uleiurilor esențiale<sup>14</sup>

### 1.5.1.1. Efecte biologice

Monoterpenele prezintă o gamă largă de activități biologice, inclusiv efecte antimicrobiene, antifungice, antioxidante și antivirale. Acești compuși, care includ (Tab. 1.3) sabinenul, limonenul, β-mircenul, γ-terpinenul și p-cimenul, pot suferi modificări enzimatică pentru a forma terpenoizi, care sunt responsabili pentru activitatea lor antimicrobiană (Perumal et al., 2022). Timolul și carvacrolul au demonstrat o eficacitate ridicată împotriva insectelor și ciupercilor (Zabka et al., 2014). α-terpineolul și geraniolul au demonstrat o activitate antifungică semnificativă (S.-Y. Wang et al., 2005). Ele posedă proprietăți antivirale, în special împotriva virusului herpes simplex tip 1 (HSV-1), prin reducerea numărului de plăci virale în timpul replicării intracelulare a virusului (Astani et al., 2010).

Proprietățile antioxidante ale monoterpenelor sunt, de asemenea, importante deoarece pot elimina radicalii liberi și pot spori activitățile enzimelor antioxidante din țesuturile plantelor, îmbunătățind astfel rezistența la boli și minimizând degradarea fiziologică (Perumal et al., 2022).

Monoterpenele pot suferi oxidare, ceea ce le poate afecta activitatea. Cu toate acestea, prezența fenolilor mai puțin volatili în EO poate ajuta la menținerea efectelor antifungice ale acestora în ciuda expunerii la factori chimici și fizici (Zabka et al., 2014).

<sup>14</sup> (Prosser et al., 2002)

Sesquiterpenele, sunt cunoscute pentru potențialul lor de a scădea proliferarea celulelor canceroase, așa cum se evidențiază prin proprietățile lor naturale anticanceroase (Dhifi et al., 2016).  $\beta$ -cariofilena, humulena și oxidul de cariofilenă, care sunt predominante în diferite EO, contribuie la efectele lor terapeutice (Cheng et al., 2006). Studiile arată că pot neutraliza radicalii liberi și pot preveni stresul oxidativ, care este crucial în prevenirea bolilor precum cancerul, bolile de inimă și disfuncția creierului (Dhifi et al., 2016). În plus, sesquiterpenele au demonstrat activități antimicrobiene semnificative. De exemplu, ele pot inhiba creșterea bacteriilor și ciupercilor prin perturbarea membranelor celulare microbiene, ducând la scurgerea conținutului celular și eventuala moarte celulară (Ju et al., 2020; Kinninmonth et al., 2013). Mai mult, prezintă proprietăți antiinflamatorii, care pot fi atribuite capacității lor de a modula căile inflamatorii și de a reduce producția de mediatori pro-inflamatori (Ju et al., 2020). S-a demonstrat că sesquiterpenele au proprietăți insecticide, reducând în mod eficient fertilitatea și longevitatea dăunătorilor, făcându-le astfel valoroase în managementul dăunătorilor agricoli (Righi-Assia et al., 2020).

### 1.5.2. Compușii aromatici

Compușii aromatici (Fig. 1.14; Tab. 1.3) cu structură fenilpropanică reprezintă o clasă importantă de metaboliți secundari, deși apariția lor este mai puțin frecventă comparativ cu terpenele. Aceste două grupe de compuși urmează, în general, căi de biosinteză distincte în organismele vegetale. Cu toate acestea, în anumite specii de plante, se poate observa o coexistență a ambelor căi metabolice, cu o prevalență a uneia dintre ele (de exemplu uleiul de scorțișoară cu substanța cinamaldehydă ca majoritară și eugenolul ca și constituent minor) (Bakkali et al., 2008).

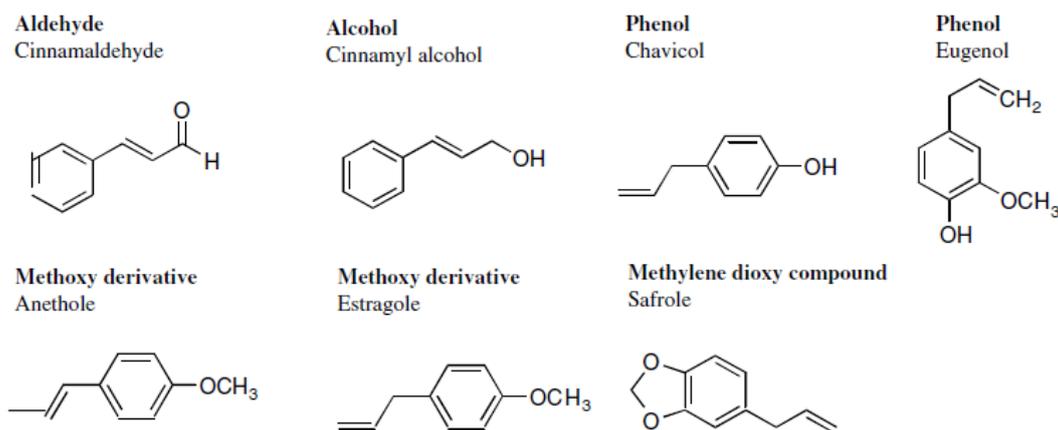


Fig. 1.14 Structuri chimice ale unor compuși aromatici din compoziția uleiurilor esențiale<sup>15</sup>

<sup>15</sup> (Bakkali et al., 2008)

### 1.5.2.1. Efecte biologice

Compușii aromatici din uleiurile esențiale prezintă o gamă largă de efecte, atât benefice, cât și potențial dăunătoare (pentru om), în funcție de compoziția și aplicarea lor chimică. De exemplu, compușii precum eugenolul, găsiți în uleiurile de cimbru și cuișoare, au demonstrat proprietăți antimicrobiene și antioxidante semnificative, făcându-i utili ca și conservanți naturali în industria alimentară și cosmetică (Bakkali et al., 2008; Eisenhut, 2007; Vella et al., 2020). Acești compuși nu numai că inhibă creșterea microbiană, dar protejează și împotriva stresului oxidativ, prelungind astfel termenul de valabilitate al produselor alimentare (Vella et al., 2020). Cu toate acestea, eugenolul este, de asemenea, hepatotoxic și poate provoca probleme grave de sănătate, cum ar fi insuficiența hepatică, iritarea mucoasei și depresia sistemului nervos central atunci când este ingerat în cantități mari. Alți compuși aromatici precum linalolul, metileugenolul, safrolul și terpineolul s-au dovedit a fi citotoxici și, respectiv, mutageni, indicând necesitatea unei utilizări prudente (Bakkali et al., 2008; Eisenhut, 2007).

Tab. 1.3 Clasele de compuși existenți în compoziția uleiurilor esențiale, exemple de reprezentanți și plantele în care se regăsesc (sinteză date literatură)

	Clasă de compuși	Compuși chimici	Plante în care se găsește reprezentativ	Referință
Monoterpene / Monoterpenoide (C <sub>10</sub> )	Hidrocarburi	Mircen	Dafin de India	(Zabka et al., 2014)
		Ocimen		
		Limonen	Citrice, Lămâie	(Laur, 2022; Mohareb et al., 2013)
		$\gamma$ -Terpinen	Oregano Cimbru de grădină Arbore de ceai	(Pánek et al., 2014a)
		$\alpha$ -Terpinen	Chiparos Tuia	(Mohareb et al., 2013)
		p-cimen	Cimbru Chimen indian	(Shirzad et al., 2011; Zabka et al., 2014)
		Felandren	Piper peruvian Turmeric	(Mohareb et al., 2013; Phothisuwan et al., 2013)
		Pinen	Pin, Eucalipt, Chiparos, Tuia	(Laur, 2022; Mohareb et al., 2013)
		-3-caren		

	Clasă de compuși	Compuși chimici	Plante în care se găsește reprezentativ	Referință
Monoterpene / Monoterpenoide (C <sub>10</sub> )	Hidrocarburi	Camfen	Pin	(Laur, 2022)
		Sabinen	Nucșoară	(Phothisuwan et al., 2013)
	Alcooli	Geraniol	Mușcată Trandafir	(Laur, 2022; Stević et al., 2014)
		Linalol	Coriandru Busuioc Lavandă	(Páneek et al., 2014a; Zabka et al., 2014; Zyani et al., 2011)
		Citronelol	Mușcată trandafir Trandafir	(Mohareb et al., 2013; Stević et al., 2014)
		Lavandulol	Lavandă	(Laur, 2022)
		Nerol	Bergamotă	(Laur, 2022)
		Mentol	Mentă	(Laur, 2022)
		$\alpha$ -terpineol		
		Carveol		
		Borneol	Lavandă Cimbru	(Laur, 2022) (Zabka et al., 2014)
		Fenchol		
		Crizantenol		
		Tuian-3-ol		
	Aldehyde	Geranial	Lămâie Busuioc lămâios	(Laur, 2022) (Zabka et al., 2014)
		Neral		
		Citronelal	Citronela	(Barkman, 2013)
	Cetone	Tegetone		
		Mentonă		
		Carvone	Chimen	(Zabka et al., 2014)

	Clasă de compuși	Compuși chimici	Plante în care se găsește reprezentativ	Referință
Monoterpene / Monoterpenoide (C <sub>10</sub> )	Cetone	Piperitone		
		Camfor	Salvia	(Páneek et al., 2014a)
		Fenchon		
		Tuion	Salvia	(Páneek et al., 2014a)
		Pinocamfon		
		Pinocarvon		
	Esteri	Acetat de linalil/propionat	Lavandă	(Páneek et al., 2014a)
		Acetat de citronelil		
		Mentil sau acetat $\alpha$ -terpinil		
		Acetat izobornil		
Eteri	1,8-cineol	Rozmarin Salvia Arbore de ceai	(Da Silva Bomfim et al., 2015; Páneek et al., 2014a)	
	Mentofuran			
Sesquiterpene / Sesquiterpenoide (C <sub>15</sub> )	Hidrocarburi	Azulene		
		$\beta$ -bisabolen		
		Cardinen		
		$\beta$ -cariofilen	Cuișoare	(Medeiros et al., 2016)
		Curcumen		
		Farnesen		
		Elemen		
	Alcooli	Bisabol		
		Cedrol		
$\beta$ -nerolidol				

	Clasă de compuși	Compuși chimici	Plante în care se găsește reprezentativ	Referință
Sesquiterpene /Sesquiterpenoide (C <sub>15</sub> )	Alcooli	Farnesol	Tămâie, Trandafir	(Laur, 2022)
		Carotol		
		β-santalol		
		Paciulol		
	Cetone	cis-longipinan-2,7dione,		
		Germacrone		
		β-vetinone		
		Turmerone		
	Epoxide	Oxid de cariofilenă		
		Epoxid de humulenă		
Compuși aromatici	Aldehide	<b>Cinamaldehydă</b>	Scorțișoară	(Bakkali et al., 2008)
	Alcooli	Alcool cinamic		
	Fenoli	Chavicol	Busuioc	(Zyani et al., 2011)
		<b>Eugenol</b>	Cuișoare Dafin de India de vest Scorțișoară	(Laur, 2022; Yingprasert et al., 2015; Zabka et al., 2014)
		Timol	Cimbru, Oregano	(Laur, 2022; Zabka et al., 2014; Zyani et al., 2011)

	Clasă de compuși	Compuși chimici	Plante în care se găsește reprezentativ	Referință
Compuși aromatici	Fenoli	<b>Carvacrol</b>	Oregano Cimbru de grădină <i>Thymus capitatus</i> <i>Coridothymus capitatus</i>	(Mutlu-Ingok et al., 2020; Pánek et al., 2014a; Vettraino et al., 2022; Zabka et al., 2014; Zyani et al., 2011)
	Methoxiderivate	Anetol	Fenicul Anason	(Laur, 2022; Phothisuwan et al., 2013)
		<b>Estragol</b>	Busuioc Anason	(Stević et al., 2014)
		Metileugenol		
	Compuși dioximetilenici	Apiol		
		Safrol		

### 1.6. Domenii de aplicabilitate

Uleiurile esențiale au un spectru larg de aplicații în diferite industrii datorită complexității compoziției lor chimice și activității lor biologice. Au fost folosite în mare măsură pentru proprietățile lor deja observate în natură, adică pentru activitățile lor antibacteriene, antifungice și insecticide.

Amestecul natural de monoterpene, sesquiterpene, diterpene și compuși aromatici, cu o varietate de grupe funcționale, oferă uleiurilor esențiale proprietăți: antibacteriene, antifungice, antitermite și insecticide (Mohareb et al., 2013).

În sectoarele **farmaceutice, medicale, terapeutice** și de **uz veterinar** s-au raportat abordări promițătoare cu utilizarea uleiurilor esențiale sau a componentelor acestora în medicamente, fiind utilizate pentru potențialul lor ca tratamente pentru o serie de afecțiuni, inclusiv probleme respiratorii, infecții și probleme dermatologice (Bakkali et al., 2008; Dhifi et al., 2016; Fokou et al., 2020; Jerry Atoche Medrano, 2020; Laur, 2022; Mohammed et al., 2024; Pant et al., 2019; Raut & Karuppaiyl, 2014; Shankar et al., 2021; Stević et al., 2014; Turek & Stintzing, 2013; L.-H. Wang & Sung, 2011). De exemplu, uleiul de eucalipt servește ca expectorant pentru bronșită, în timp ce uleiul de cuișoare este utilizat în stomatologie pentru proprietățile sale antimicrobiene și analgezice, iar uleiul de arbore de ceai este aplicat în dermatologie pentru efectele sale anti-acnee (Laur, 2022; Shankar et al., 2021).

În **industria alimentară** uleiurile esențiale se folosesc ca și conservanți naturali datorită proprietăților lor antimicrobiene și antioxidante (Bhavaniramy et al., 2019), care ajută la prelungirea duratei de valabilitate a produselor alimentare. Ele sunt utilizate în ambalaje, conservarea alimentelor (Bakkali et al., 2008; Dima & Dima, 2015; Gatto et al., 2016; Juárez et al., 2015; Khalili et al., 2015; Nedorostova et al., 2009; Varona et al., 2013) sau chiar încorporați în ambalajul produselor alimentare materiale (Kuorwel et al., 2011; Perumal et al., 2022). Uleiurile esențiale de cuișoare și oregano, în special, au demonstrat activități puternice antioxidante și, respectiv, anti-drojdie, făcându-le valoroase pentru prevenirea alterării alimentelor (Bakkali et al., 2008; Preedy, 2016; Sendra, 2016; Vella et al., 2020).

În **industria cosmetică** și a parfumurilor, uleiurile esențiale sunt apreciate pentru calitățile lor aromatice și sunt încorporate în parfumuri, creme, săpunuri și alte produse de îngrijire personală (Başer & Buchbauer, 2010; Laur, 2022). Ele sunt folosite chiar și în industria produselor sanitare (Katekar et al., 2023). De asemenea, sunt utilizate în aromoterapie și masaj, adesea amestecate cu uleiuri purtătoare pentru a îmbunătăți experiențele senzoriale și pentru a oferi beneficii terapeutice, stimulând inclusiv sistemul nervos (Bakkali et al., 2008; Bouaziz et al., 2009; Laur, 2022; Viuda-Martos et al., 2008; Vora et al., 2024).

**Sectorul agricol** beneficiază de proprietățile insecticide, fungicide și bactericide ale uleiurilor, care sunt utilizate pentru a proteja culturile și stocurile alimentare de dăunători, fără efectele adverse asociate cu substanțele chimice sintetice (Bakkali et al., 2008; Butta et al., 2023; Gatto et al., 2016; Kumar et al., 2022; Righi-Assia et al., 2020).

Uleiurile esențiale au potențial de utilizare în **bioprotecția lemnului** împotriva atacului ciupecilor de mucegai și a celor xilofage (de putregai) datorită proprietăților lor antifungice (Bahmani & Schmidt, 2018; Brischke, 2020; Cheng et al., 2008; Marcias et al., 2005; Mohareb et al., 2013; Pánek et al., 2014; Šimůnková et al., 2022; Singh & Chittenden, 2008; Timar et al., 2022; Vettrano et al., 2022; S.-Y. Wang et al., 2005; Yang & Clausen, 2007; Zhang et al., 2016; Zyani et al., 2011). Mai multe detalii sunt cuprinse în secțiunea 1.8.

### 1.7.Efectul antifungic al uleiurilor esențiale

Efectul uleiurilor esențiale asupra fungilor patogeni poate fi urmărit/observat atât la nivel macromorfologic cât și la nivel celular. Unele dintre modificările macromorfologice sunt: lipsa sporulării sau a pigmentării, modificarea numărului de conidii, ramificarea crescută a hifelor sau modificarea dimensiunii acestora. Aceste modificări sunt consecința activităților componentelor uleiurilor asupra reacțiilor enzimaticе și sintezei peretelui celular, care afectează creșterea ciupercii și morfogeneza, de asemenea, ca urmare retragerii citoplasmei din hife, prin care are loc moartea miceliului (Butta et al., 2023; Plavsic et al., 2017).

Componetele uleiurilor esențiale au capacitatea de a întrerupe homeostazia peretelui celular fungic și a membranei citoplasmaticе. Perturbarea echilibrului membranelor, în special a membranei mitocondriale, determină la nivelul acesteia modificarea fluxului de electroni. Un alt mecanism de acțiune, tot la nivelul membranelor mitocondriale, presupune depolarizarea membranelor, rezultând scăderea potențialelor membranare, afectând astfel canalele ionice. Afectarea canalelor ionice duce la

o scădere a pH-ului care ulterior va afecta efectul de pompare de protoni, rezultând în final apoptoza și necroza celulelor fungice (Fig. 1.15) (Dhifi et al., 2016; Perumal et al., 2022; Shankar et al., 2021).

Prin modificarea permeabilității membranei celulare pentru cationii  $H^+$  și  $K^+$ , pe lângă afectarea pH-ului intracelular, se produce și deteriorarea organelor celulare. În plus, uleiurile esențiale inhibă sinteza ADN-ului fungic, ARN-ului, a proteinelor și polizaharidelor (Fig. 1.15). De asemenea, uleiurile esențiale pot produce chiar dezintegrarea membranei mitocondriale (Popescu et al., 2021).

Acțiunile uleiurilor esențiale au următoarele efecte la nivel de celulă fungică/bacteriană (Nazzaro et al., 2013):

- degradarea peretelui celular;
- deteriorarea membranelor citoplasmatic;
- coagularea citoplasmei;
- deteriorarea proteinelor membranare;
- creșterea permeabilității membranei celulare care duce la scurgerea conținutului celular;
- scăderea sintezei de ATP;
- acțiuni asupra unor enzime precum ATP-ază, histidin carboxilază, amilază și protează.

Uleiurile esențiale pot induce stresul oxidativ în celulele fungice prin generarea de specii reactive de oxigen (ROS), care dăunează componentelor celulare și duc la moartea celulară (Perumal et al., 2022). Proprietățile citotoxice ale EO, adesea datorate fenolilor, aldehydelor și alcoolilor, sunt cruciale pentru efectele lor antifungice, deoarece acești compuși pot pătrunde în celulele fungice mai eficient în timpul fazelor de creștere activă (Bakkali et al., 2008).

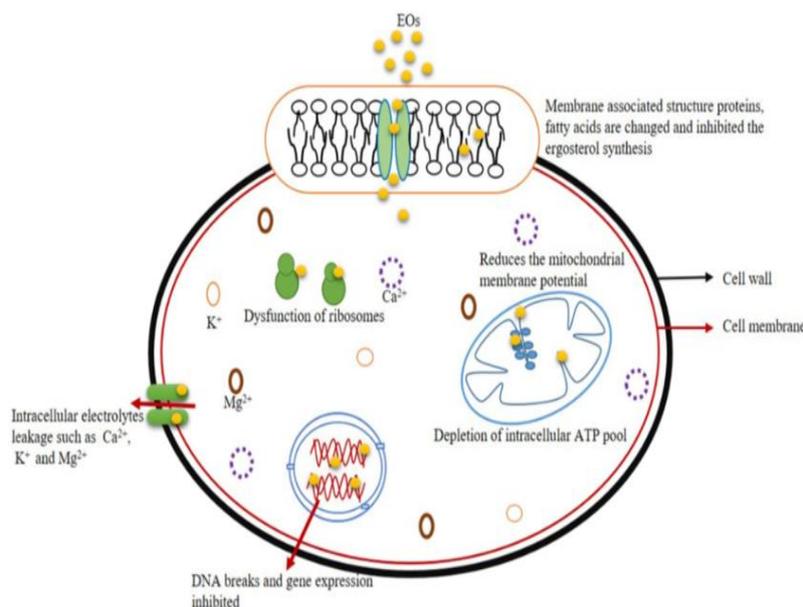


Fig. 1.15 Mecanismul de acțiune antifungic al uleiurilor esențiale<sup>16</sup>

<sup>16</sup> (Maurya et al., 2021)

În urma cercetării bibliografice din 15 articole s-au identificat 43 de uleiuri esențiale cu potențial antifungic, sintetizate tabelar în Baza de date (BD 1) inclusă la finalul prezentei lucrări. În Tab. 1.4 este prezentată o mică parte din această sinteză, cu informații despre compoziția chimică a uleiurilor, tipurile de fungi față de care s-a testat activitatea antifungică și eficiența dovedită. În prima coloană, la unele uleiuri, pe lângă numărul de ordine mai apare și un cod (ex O-EO, T-EO \_), respectivele celule tabelare fiind colorate în verde. Aceste uleiuri marcate, sunt cele care au fost utilizate pe parcursul acestei cercetări.

Din Tab. 1.4 se observă că uleiurile esențiale conțin diferiți compuși chimici, câteodată foarte mulți și variați, alții în număr mai redus. Inclusiv în cazul aceluiași ulei esențial, provenind din surse diferite, pot să apară deosebiri în compoziție, atât privind concentrația unor compuși, cât inclusiv existența sau lipsa unora.

De exemplu în cazul uleiului esențial de busuioc se poate observa (Tab. 1.4) că în cazul cercetărilor întreprinse de Zyani și colaboratorii (Zyani et al., 2011) uleiul avea doi compuși principali: chavicol 30,87% (fenol) și linalol 20,1% (alcool monoterpenic) și a rezultat o foarte bună eficiență împotriva ciupercilor de putregai brun și alb studiate, pe când în cazul studiat de Stević și colaboratorii săi (Stević et al., 2014) uleiul conținea în principal metil chavicol 89% (eter fenolic Estragol) și în cantități mult mai mici alcoolii monoterpenici 1,8-Cineol (3,0%), linalol (1,3%) și  $\gamma$ -terpinen (1,1%), iar efectele față de ciupercile de mușgai din teste s-au dovedit a fi doar moderate, chiar spre slabe. Se pare că metil chavicol s-a comportat diferențiat în funcție de organism (Stević et al., 2014; Tadtong et al., 2009).

**Tab. 1.4 Uleiuri esențiale cu efect antifungic identificate din literatură – (Extras parțial din Anexa 1) Cu culoarea verde sunt marcate uleiurile esențiale alese pentru cercetare în lucrare**

Nr. Crt. cod	Ulei esențial	Compoziție	Specie fungi	Eficiență	Observații	Referință
1 - O-EO	Oregano ( <i>Origanum vulgare</i> )	Carvacrol (86.9%) Linalol (4.6%) p-cimen (2.7%) Timol (2%) $\gamma$ -terpinen (1.4%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)
		Carvacrol (55,81%) p-cimen (19,61%) Timol (7,43%) $\gamma$ -terpinen (5,23%) Linalol (3,71%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență foarte ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
		Carvacrol (71.8%) Timol (5%) $\gamma$ -terpinen (4.5%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Pánek et al., 2014b)
			<i>Aspergillus tabacinus</i> <i>Aspergillus tennesseensis</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci izolate din piele mumificată	(Sanchis et al., 2023)

Nr. Crt. cod	Ulei esențial	Compoziție	Specie fungi	Eficiență	Observații	Referință
2	<b>Oregano</b> <i>(Origanum compactum)</i>	Carvacrol (51.2%) Timol (43,3%)	<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Eficiență foarte ridicată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
3	<b>Cimbru</b> <i>(Thymus vulgaris)</i>	Timol (60.2%) p-cimen (19.9%) Carvacrol (5.9%) Linalol (5.8%) Geraniol (1.6%) γ-terpinen (1.4%) β-cariofilen (1.1%) Terpinil acetat (1.1%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci toxice și alergenic	(Zabka et al., 2014)
		Timol (46,21%)	<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Eficiență moderată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
		Timol (34,36%) p-cimen (29,51%) γ-terpinen (28,69%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
		Timol (41.3%) p-cimol (22.6%) γ-terpinen (7.7%) Carvacrol (2.9%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Páneek et al., 2014b)
		β-ocimen (12.62%) Timol (10.56%) Carvacrol (6.85%).	<i>Botrytis cinerea</i>	Eficiență moderată	Ciupercă pe kiwi în depozit	(Shirzad et al., 2011)
		Timol (47,9%) p-cimen (15,8%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Poria monticola</i> <i>Gloeophyllum trabeum</i>	Eficiență semnificativă	2 - Putregai alb și 2 - putregai brun	(Vettraino et al., 2022)

Nr. Crt. cod	Ulei esențial	Compoziție	Specie fungi	Eficiență	Observații	Referință
4 - T-EO	Cimbru de grădină ( <i>Satureja hortensis</i> )	Carvacrol (50,0%) p-cimen (12,2%) Timol (9,6%) γ-terpinen (6,5%) E-cariofilen (5,2%) Borneol (2,41%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante. Versiune modificată a tehnicii microdiluiției. Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă.	(Stević et al., 2014)
		Carvacrol (54.14%) Terpinolene (20.59%) α-felandren (5.31%).	<i>Botrytis cinerea</i>	Eficiență moderată	Ciupercă pe kiwi în depozit	(Shirzad et al., 2011)
		γ-terpinen (41.3%) Carvacrol (31.6%) p-cimol (13.8%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Pánek et al., 2014b)
5	Rozmarin ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )	1,8 cineol (52,2%) Camfor (15,2%) α-pinen (12,4%)	<i>Fusarium verticillioides</i>	Eficiență ridicată	Ciupercă izolată de pe porumb	(Da Silva Bomfim et al., 2015)
6	Chiparos - ( <i>Cupressus sempervirens</i> )	α-Pinen (37.88%) d-Caren (20.05%) α-terpinolen (6.91%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
7	Lămâie - coajă ( <i>Citrus limon</i> )	dL-Limonen (56.30%) β-pinen (8.81%) γ-terpinen (6.42%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată în special împotriva <i>H. apiaria</i>	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
			<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium verrucosum</i>	Eficient împotriva <i>A. niger</i> <i>P. verrucosum</i>	Mucegaiuri – alimente Agar dilution	(Viuda-Martos et al., 2008)

Nr. Crt. cod	Ulei esențial	Compoziție	Specie fungi	Eficiență	Observații	Referință
8	Tuia – frunze <i>Thuja occidentalis</i>	α-Pinen (35.49%) β-careen (25.42%) α-cedrol (9.05%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
9	Piper peruvian – frunze <i>Schinus molle</i>	α-felandren (29.87%) β-felandren (21.08%) Elemol (13.00%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
10	<i>Artemisia monosperma</i> - frunze	1,2-Dihidroacenaftilen (36.86%) 2,4-pentadinilbenzen (14.68%) γ-terpinen (12.46%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență foarte ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
11 – C-EO	Cuișoare <i>Eugenia caryophyllata</i>		<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Eficiență foarte ridicată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
		Eugenol (77,83%) β-cariofilen (15,80%) δ-cadinen (1,35%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
		Eugenol (82%) Cariofilen (16.5%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Páneek et al., 2014b)
		Eugenol (75%)	<i>Trametes versicolor</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Phothisuwan et al., 2013)
		Eugenol (85%)	<i>Trametes Gloeophyllum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Yingprasert et al., 2015)
			<i>Aspergillus tabacinus</i> <i>Aspergillus tennesseensis</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Eficiență semnificativă	Ciuperci izolate din piele mumificată	(Sanchis et al., 2023)

Nr. Crt. cod	Ulei esențial	Compoziție	Specie fungi	Eficiență	Observații	Referință
12 – B-EO	Busuioc <i>Ocimum basilicum</i>	Chavicol (30,87%) Linalol (20,1%)	<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Eficiență foarte ridicată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
		Metil chavicol (89%) 1,8-Cineol (3,0%) Linalol (1,3%) γ-terpinen (1,1%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante. Versiune modificată a tehnicii microdiluției. Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă.	(Stević et al., 2014)
13	Busuioc lămâios <i>(Ocimum basilicum citriodora)</i>	Geranial (31.1%) Neral (23.6%) Linalol (16.4%) Limonen (8.9%) 1,8-cineol (3.3%) Eugenol (2%) β-cariofilen (1.2%) Citronelal (1.2%) Mircen (1.2%) α-pinen (1.1%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență semnificativă	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)
14	Fenicul <i>(Foeniculum vulgare)</i>	Trans-anetol (64.72%) Fenchon (14.59%) Metil chavicol (6.67%)	<i>Botrytis cinerea</i>	Eficiență moderată	Ciupercă pe kiwi în depozit	(Shirzad et al., 2011)

Nr. Crt. cod	Ulei esențial	Compoziție	Specie fungi	Eficiență	Observații	Referință
15	Mușcată trandafir – frunze <i>Pelargonium graveolens</i>	β-Citronelol (35.92%) trans-geraniol (11.66%) Citronelil format (11.40%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
		Citronelol (24,88) Linalol (14,46%) Mentonă (8,51%) Geraniol (7,89%) Citronelil format (6,21%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență moderată	Ulei din boboci Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
16	Lemongrass – frunze <i>(Cymbopogon citratus)</i>	Citral (32,53%) Geraniol (32,42%) Longifolen (3,83%) Acid geranic (2,93%) Acetat de geranil (2,85%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
17	Scorțișoară - frunze <i>(Cinnamomum zeylanicum)</i>	Acetat de cinamil (34,28%) Cinamaldehydă (30,26%) Salicilaldehydă (19,49%) Cumarina (11,98%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
18 – S-EO	Scorțișoară <i>(Cinnamomum zeylanicum)</i>	Cinamaldehydă (74%)	<i>Trametes versicolor</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Phothisuwan et al., 2013)
		Cinamaldehydă (45%) Eugenol (25%)	<i>Trametes</i> <i>Gloeophyllum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Yingprasert et al., 2015)
19	Obligeană <i>(Acorus calamus)</i>	Cis-isoasarol trimetileter (78%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Páneek et al., 2014b)

În cazul uleiului esențial de cuișoare, variația se observă mai mult în concentrația compușilor, dar aceștia sunt aproximativ aceiași, eugenolul reprezentând compusul principal, în jur de 75-85%. În toate studiile întâlnite acest ulei a prezentat o eficiență antifungică semnificativă (Sanchis et al., 2023), ridicată (Páneek et al., 2014; Phothisuwan et al., 2013; Xie et al., 2017; Yingprasert et al., 2015) sau chiar foarte ridicată (Zyani et al., 2011).

### 1.8. Cercetări privind utilizarea uleiurilor esențiale în bioprotecția lemnului

Lemnul este un material natural cu proprietăți remarcabile, care se folosește în multiple domenii datorită versatilității sale. Aplicațiile sale variază de la industria construcțiilor și mobilier până la obiecte de artă și design interior. Cu toate acestea, natura organică a lemnului îl face vulnerabil la degradarea

biologică, provocată de factori precum fungi, insecte, bacterii, în funcție de condițiile de utilizare. Această susceptibilitate la atacuri biologice poate compromite semnificativ, în timp, integritatea structurală a lemnului și impune diferite tratamente și modalități eficiente de bioprotecție preventivă și curativă (Martín & López, 2023; Miklósová, 2013). Bioprotecția preventivă este mai rațională, eficientă și economică.

O mare parte din biocidele clasice de sinteză, anorganice și organice, utilizate frecvent în protecția antifungică a lemnului s-au dovedit a fi toxice pentru om și mediu. Acest lucru se observă și prin directivele Uniunii Europene privind reducerea și utilizarea controlată a acestor substanțe biocide (Sanchis et al., 2023).

Uleiurile esențiale, chiar dacă cu anumite restricții, s-au dovedit a fi alternative mai bune în ceea ce privește înlocuirea unor substanțe biocide de sinteză, în diferite domenii, acestea având eficiență și o toxicitate mai redusă (Kumar et al., 2022; Pietrzak et al., 2017; Sanchis et al., 2023). Ținând cont de caracteristicile compușilor chimici componenți ai uleiurilor esențiale, acestea au făcut obiectul mai multor cercetări și în ceea ce privește utilizarea lor pentru protecția lemnului împotriva fungilor lignicole din categoria ciupercilor de mușgai și ciupercilor de putregai brun, alb, moale (Cheng et al., 2008; Chittenden & Singh, 2011; Juárez et al., 2015; Mohareb et al., 2013; S.-Y. Wang et al., 2005; Zyani et al., 2011).

În Tab. 1.5 este prezentată o sinteză a cercetării din literatură privind utilizarea uleiurilor esențiale sau a unor compuși chimici puri, componenți caracteristici ai uleiurilor esențiale (Tab. 1.3) pentru protecția lemnului împotriva ciupercilor de putregai (brun și alb). Pe prima coloană este specificat tipul de putregai prin text și culoare fond: alb pentru putregaiul alb și maro pentru putregaiul brun. Ultimele 5 coloane sunt colorate diferențiat, în funcție de tipul de substanța testată: cu gri sunt marcate cercetările ce au fost făcute cu produși chimici puri (componenți principali ai unor uleiuri esențiale), iar cu galben studiile în care s-au folosit efectiv uleiuri esențiale. Cu font îngroșat s-au marcat uleiurile sau compușii existenți în uleiurile folosite mai departe în această lucrare.

În cadrul cercetărilor efectuate asupra efectelor uleiurilor esențiale împotriva ciupercilor de putregai alb și brun, s-au evidențiat rezultate promițătoare și semnificative, conform datelor prezentate în Tab. 1.5:

- O serie de uleiuri esențiale, printre care cele de oregano, cimbru, cuișoare, busuioc și scorțișoară, au demonstrat în mod constant eficacitate împotriva ambelor tipuri de fungi, fiind incluse în multiple studii;
- Aceste constatări sunt susținute și de investigațiile care au examinat compuși puri, unde cinamaldehida (componentul principal al uleiului de scorțișoară) și eugenolul (compusul predominant în uleiul de cuișoare) s-au remarcat ca fiind cei mai frecvent testați și cu o eficiență remarcabilă. De asemenea, carvacrolul, component esențial al uleiului de oregano, și metilchavicolul (estragol), constituent principal al uleiului de busuioc, au prezentat rezultate notabile în combaterea acestor agenți patogeni;

Tab. 1.5 Cercetări privind utilizarea uleiurilor esențiale sau a compușilor lor chimici împotriva ciupercilor de putregai brun și alb care atacă lemnul

Tip de putregai	Specie fungi	Ulei esențial/ Compus chimic	Metoda de testare	Eficiență	Obs	Referință
Alb	<i>Lenzites betulina</i>	Cinamaldehydă, Eugenol și congeneri	Adăugat în mediu MEA, incubat 26 ± 2°C, 70% RH pt 10-14 zile	Cinamaldehyda, α-metil cinamaldehyda, acidul (E) -2-metilcinamic, <b>eugenolul</b> și izoeugenolul – eficiență ridicată.	Comparativ cu fungicid din comerț (clorură de didecil dimetil amoniu)	(Cheng et al., 2008)
		Cinamaldehydă	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27°C	Eficiență foarte ridicată.		(S.-Y. Wang et al., 2005)
Alb	<i>Hexagonia apiaria</i>	Chiparos Lămâie Tuia Piper peruvian <i>Artemisia monosperma</i> Mușcată trandafir	Diluate cu acetonă și adăugat în mediu MEA, incubat 27°C, <b>Test pe lemn</b>	Toate au prezentat eficiență. Uleiul de lămâie a fost deosebit de eficient.		(Mohareb et al., 2013)
Alb	<i>Ganoderma lucidum</i>	Chiparos Lămâie Tuia Piper peruvian <i>Artemisia monosperma</i> Mușcată trandafir	Diluate cu acetonă și adăugat în mediu MEA, incubat 27°C, <b>Test pe lemn</b>	Toate au prezentat eficiență. <i>Artemisia monosperma</i> a fost cel mai eficient.		(Mohareb et al., 2013)
Alb	<i>Thielavia hyalocarpa</i>	<b>Oregano</b> <b>Cuișoare</b> <b>Busuioc</b> Cimbru Arbore de ceai Busuioc+Oregano	Disc diffusion Agar dilution Vapor exposure	<b>Oregano, cuișoare și busuioc</b> au avut eficiență ridicată. Cimbru și Arbore de ceai eficiență moderată. Mixul s-a dovedit cel mai bun.	Ciupercile izolate de pe lemn dintr-o casă din Medina. Ulei de parafină – control.	(Zyani et al., 2011)

Tip de putragai	Specie fungi	Ulei esențial/ Compus chimic	Metoda de testare	Eficiență	Obs	Referință
Alb	<i>Pleurotus ostreatu</i>	4 specii de cimbru ( <i>Thymus capitatus</i> <i>Coridothymus capitatus</i> <i>T. vulgaris</i> <i>T. vulgaris</i> <i>Demeter</i> )	Diluate în dimetilsulfoxid și adăugate în mediu MEA	Toate cele 4 uleiuri au prezentat eficiență antifungică.		(Vettraino et al., 2022)
Alb	<i>Penicillium commune</i>	<b>Oregano</b> <b>Cuișoare</b> <b>Busuioc</b> Cimbru Arbore de ceai Busuioc+Oregano	Disc diffusion Agar dilution Vapor exposure	<b>Oregano, cuișoare și busuioc</b> au avut eficiență ridicată. Arbore de ceai eficiență moderată. Mixul s-a dovedit cel mai bun.	Ciupercile izolate de pe lemn dintr-o casă din Medina. Ulei de parafină – control.	(Zyani et al., 2011)
Alb	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<b>Oregano</b> <b>Cuișoare</b> <b>Busuioc</b> Cimbru Arbore de ceai Busuioc+Oregano	Disc diffusion Agar dilution Vapor exposure	<b>Oregano, cuișoare și busuioc</b> au avut eficiență ridicată. Arbore de ceai eficiență moderată. Mixul s-a dovedit cel mai bun.	Ciupercile izolate de pe lemn dintr-o casă din Medina. Ulei de parafină – control.	(Zyani et al., 2011)
Alb	<i>Penicillium expansum</i>	<b>Oregano</b> <b>Cuișoare</b> <b>Busuioc</b> Cimbru Arbore de ceai Busuioc+Oregano	Disc diffusion Agar dilution Vapor exposure	<b>Oregano, cuișoare și busuioc</b> au avut eficiență ridicată. Arbore de ceai eficiență moderată. Mixul s-a dovedit cel mai bun.	Ciupercile izolate de pe lemn dintr-o casă din Medina. Ulei de parafină – control.	(Zyani et al., 2011)

Tip de putragai	Specie fungi	Ulei esențial/ Compus chimic	Metoda de testare	Eficiență	Obs	Referință
Alb	<i>Schizophyllum comune</i>	41 terpeni pure	Dluate în acetonă și adăugate în mediu PDA Incubat la 26 ± 1 °C pt. 7 zile	β-citronellol, geraniol, <b>carvacrol</b> , timol, <b>eugenol</b> și citral au foarte bună eficiență. Carvacrol cel mai toxic.	monoterpenele oxigenate mai eficiente față de hidrocarburile monoterpene	(Zhang et al., 2016)
Alb	<i>Pycnoporus sanguineus</i>	41 terpeni pure	Dluate în acetonă și adăugate în mediu PDA Incubat la 26 ± 1 °C pt. 7 zile	β-citronellol, geraniol, <b>carvacrol</b> , timol, <b>eugenol</b> și citral au foarte bună eficiență. Carvacrol cel mai toxic.	monoterpenele oxigenate mai eficiente față de hidrocarburile monoterpene	(Zhang et al., 2016)
Alb	<i>Pycnoporus coccineus</i>	<b>Cinamaldehydă</b>	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27 °C	Eficiență foarte ridicată		(S.-Y. Wang et al., 2005)
Alb	<i>Trichaptum abietinum</i>	<b>Cinamaldehydă</b>	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27 °C	Eficiență foarte ridicată		(S.-Y. Wang et al., 2005)
Alb	<i>Oligoporus lowei</i>	<b>Cinamaldehydă</b>	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27 °C	Eficiență ridicată (71,45%)		(S.-Y. Wang et al., 2005)
Alb	<i>Trametes hirsuta</i>	41 terpeni pure	Dluate în acetonă și adăugate în mediu PDA Incubat la 26 ± 1 °C pt. 7 zile	β-citronellol, geraniol, <b>carvacrol</b> , timol, <b>eugenol</b> și citral au foarte bună eficiență. Carvacrol cel mai toxic.	monoterpenele oxigenate mai eficiente față de hidrocarburile monoterpene	(Zhang et al., 2016)

Tip de putragai	Specie fungi	Ulei esențial/ Compus chimic	Metoda de testare	Eficiență	Obs	Referință
Alb	<i>Trametes hirsuta</i>	<b>Oregano</b> Lemongrass Cimbru Mușcată trandafir <b>Scorțișoară</b> <b>Cuișoare</b>		Toate uleiurile au avut eficiență, dar <b>oregano</b> a avut cea mai mare.	A depins de concentrații	(Xie et al., 2017)
Alb	<i>Trametes versicolor</i>	22 de compuși existenți în uleiurile esențiale: fenoli, eter-fenoli și aldehide aromatice	adăugate în mediu PDA 25° C și 75% RH pt 7 zile	Timolul, <b>carvacrolul</b> , trans-anetolul, <b>metil chavicolul</b> și cuminaldehida au fost cei mai eficienți.	o-cresol, guaiacol, hidrochinonă și coniferaldehidă s-au dovedit a fi cei mai puțin eficienți.	(Voda et al., 2003)
		4 specii de cimbru ( <i>Thymus capitatus</i> , <i>Coridothymus capitatus</i> , <i>T. vulgaris</i> , <i>T. vulgaris Demeter</i> )	Diluate în dimetilsulfoxid și adăugate în mediu MEA	Toate cele 4 uleiuri au prezentat eficiență antifungică.	TC > CC, deși TC < carvacrol, arată rolul celorlalți compuși (p-cimen)	(Vettraino et al., 2022)
		<i>Lippia origanoides</i> (Oregano mexican) <i>Lippia lacunosa</i> <b>Cuișoare</b>	Diluate în etanol, plasate în gaură în mediu MEA 27° C și 70% RH	<i>L. origanoides</i> cea mai mare eficiență (timol). <i>L. lacunosa</i> și <b>cuișoare</b> depinde de concentrație.	Soluție în gaură/mediu în mijlocul cutiei, câte 2 inoculi/cutie, pe margini	(Medeiros et al., 2016)
		16 uleiuri esențiale	Diluate în ulei de măsline 10%. <b>Lemn tratat</b> pus pe mediu MEA	Lavandă, lemongrass cimbru, mușcată, anason stelat, mentă și chimen indian cele mai eficiente.	Mușcata și menta apar eficiente doar la pin, iar anasonul stelat doar la fag.	(Bahmani & Schmidt, 2018)

Tip de putregai	Specie fungi	Ulei esențial/ Compus chimic	Metoda de testare	Eficiență	Obs	Referință
Alb	<i>Trametes versicolor</i>	10 uleiuri esențiale	Diluate în etanol  <b>Test RS,</b>  <b>Test minibloc lemn</b>	<b>Oregano,</b> cimbru, <b>cimbru de grădină,</b> <b>cuișoare,</b> obligeană și mesteacăn au arătat eficiență.	Eficiență mai mică pe TV față de CP, ref (Voda et al., 2003)	(Páneek et al., 2014b)
		<b>Scorțișoară,</b> <b>cuișoare,</b> anason, citronelă, portocală, mandarină, turmeric, frunze de guava, nucșoară, limetă	Disc dilution  <b>Test pe lemn de cauciuc</b>	<b>Scorțișoară,</b> <b>cuișoare</b> și anason au prezentat eficiență.		(Phothisuwan et al., 2013)
		Scorțișoară indigenă congeneri ai cinamalhidei	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27°C	Eficiență ridicată uleiuri cu cinamaldehydă. <b>Cinamaldehyda</b> și <b>eugenolul</b> cele mai eficiente.	3 uleiuri extrase din frunze de la 3 arbori = compoziție diferită.	(S.-Y. Wang et al., 2005)
Alb	<i>Trametes</i>	<b>Scorțișoară,</b> <b>cuișoare</b>	Diluate în etanol  ASTM D1413-07 cu modificări	Eficiență ridicată ambele	Mai mică decât față de putregai brun	(Yingprasert et al., 2015)
Brun	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<b>Oregano</b> <b>Cuișoare</b> <b>Busuioc</b> Cimbru Arbore de ceai Busuioc+Oregano	Disc diffusion  Agar dilution  Vapor exposure	<b>Oregano,</b> <b>cuișoare</b> și <b>busuioc</b> au avut eficiență ridicată.  Cimbru și Arbore de ceai eficiență moderată.  Mixul s-a dovedit cel mai bun.	Ciuperca izolată de pe lemn dintr-o casă din Medina.  Ulei de parafină – control.	(Zyani et al., 2011)

Tip de putragai	Specie fungi	Ulei esențial/ Compus chimic	Metoda de testare	Eficiență	Obs	Referință
Brun	<i>Antrodia Xantha</i>	Arbore de ceai, eucalip, anason, mușcată, <b>oregano</b> , kanuka, <b>cinamaldehydă</b> , <b>eugenol</b> ,	EN 113 modificat <b>Test pe lemn</b>	<b>Eugenolul</b> , <b>cinamaldehyda</b> și mușcata - eficiență ridicată.	Arbore de ceai, anason, <b>oregano</b> - eficiență selectivă.	(Chittenden & Singh, 2011)
Brun	<i>Antrodia taxa</i>	<b>Cinamaldehydă</b>	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27°C	Eficiență foarte ridicată		(S.-Y. Wang et al., 2005)
Brun	<i>Laetiporus sulphureus</i>	<b>Cinamaldehydă</b> , <b>eugenol</b> și congeneri	Adăugat în mediu MEA, incubat 26 ± 2°C, 70% RH pt 10-14 zile	<b>Cinamaldehyda</b> , α-metil cinamaldehyda, acidul (E) -2-metilcinamic, <b>eugenolul</b> și izoeugenolul – ridicată.	Comparativ cu fungicid din comerț (clorură de didecil dimetil amoniu)	(Cheng et al., 2008)
		<b>Oregano</b> Lemongrass Cimbru Mușcată trandafir <b>Scorțișoară</b> <b>Cuișoare</b>		Toate uleiurile au avut eficiență, dar <b>oregano</b> a avut cea mai mare.	A depins de concentrații	(Xie et al., 2017)
		Scorțișoară indigenă congeneri ai cinamaldehydei	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27°C	Eficiență ridicată uleiuri cu cinamaldehydă. <b>Cinamaldehyda</b> și <b>eugenolul</b> cele mai eficiente.	3 uleiuri extrase din frunze de la 3 arbori = compoziție diferită.	(S.-Y. Wang et al., 2005)
Brun	<i>Oligoporus placenta</i>	Arbore de ceai, eucalip, anason, mușcată, <b>oregano</b> , kanuka, <b>cinamaldehydă</b> , <b>eugenol</b>	EN 113 modificat <b>Test pe lemn</b>	<b>Eugenolul</b> , <b>cinamaldehyda</b> și mușcata - eficiență ridicată.	Arbore de ceai, anason, <b>oregano</b> - eficiență selectivă.	(Chittenden & Singh, 2011)

Tip de putregai	Specie fungi	Ulei esențial/ Compus chimic	Metoda de testare	Eficiență	Obs	Referință
Brun	<i>Poria monticola</i>	4 specii de cimbru ( <i>Thymus capitatus</i> <i>Coridothymus capitatus</i> <i>T. vulgaris</i> <i>T. vulgaris</i> <i>Demeter</i> )	Diluate în dimetilsulfoxid și adăugate în mediu MEA	Toate cele 4 uleiuri au prezentat eficiență antifungică.	TC > CC, deși TC < carvacrol, arată rolul celorlalți compuși (p-cimen)	(Vettraino et al., 2022)
Brun	<i>Gloeophyllum</i>	<b>Scorțișoară, cuișoare</b>	Diluate în etanol ASTM D1413-07 cu modificări	Eficiență ridicată ambele	Mai mare decât față de putregai alb	(Yingprasert et al., 2015)
Brun	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	4 specii de cimbru ( <i>Thymus capitatus</i> <i>Coridothymus capitatus</i> <i>T. vulgaris</i> <i>T. vulgaris</i> <i>Demeter</i> )	Diluate în dimetilsulfoxid și adăugate în mediu MEA	Toate cele 4 uleiuri au prezentat eficiență antifungică.	TC > CC, deși TC < carvacrol, arată rolul celorlalți compuși (p-cimen)	(Vettraino et al., 2022)
		<i>Lippia origanoides</i> (Oregano mexican) <i>Lippia lacunosa</i> <b>Cuișoare</b>	Diluate în etanol, plasate în gaură în mediu MEA 27°C și 70% RH	<i>L. origanoides</i> cea mai mare eficiență (timol). <i>L. lacunosa</i> eficiență mai mică decât cuișoare.	Sol în gaură în mijlocul cutiei, câte 2 inoculi/cutie, pe margini	(Medeiros et al., 2016)
Brun	<i>Coniophora puteana</i>	16 uleiuri esențiale	Diluate în ulei de măsline 10%. <b>Lemn tratat</b> pus pe mediu MEA	Lavandă, lemongrass cimbru, mușcată, fenicul, eucalipt și chimen indian au fost cele mai eficiente.	Muscata și eucaliptul apar eficiente doar la pin, iar feniculul doar la fag.	(Bahmani & Schmidt, 2018)
		10 uleiuri esențiale	Diluate în etanol <b>Test RS, minibloc</b>	<b>Oregano</b> , cimbru, obligeană și mesteacăn au arătat eficiență.	Eficiență mai mică pe TV față de CP, ref (Voda et al., 2003)	(Páneek et al., 2014b)

Tip de putregai	Specie fungi	Ulei esențial/ Compus chimic	Metoda de testare	Eficiență	Obs	Referință
Brun	<i>Coniophora puteana</i>	22 de compuși existenți în uleiurile esențiale: fenoli, eter-fenoli și aldehide aromatice	adăugate în mediu PDA 25° C și 75% RH pt 7 zile	Timolul, <b>carvacrolul</b> , trans-anetolul, <b>metil chavicolul</b> și cuminaldehida au fost cei mai eficienți.	o-cresol, guaiacol, hidrochinonă și coniferaldehidă s-au dovedit a fi cei mai puțin eficienți.	(Voda et al., 2003)
		Arbore de ceai, eucalip, anason, mușcată, oregano, kanuka, <b>cinamaldehydă</b> , <b>eugenol</b>	EN 113 modificat <b>Test pe lemn</b>	<b>Eugenolul</b> , <b>cinamaldehydă</b> și mușcata - eficiență ridicată. Kanuka - eficiență	Arbore de ceai, anason, <b>oregano</b> - eficiență selectivă.	(Chittenden & Singh, 2011)
Brun	<i>Fomitopsis pinicola</i>	<b>Cinamaldehydă</b>	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27°C	Eficiență foarte ridicată		(S.-Y. Wang et al., 2005)
Brun	<i>Phaeolus schweinitzii</i>	<b>Cinamaldehydă</b>	Adăugate în mediu PDA. Incubate la 27°C	Eficiență foarte ridicată		(S.-Y. Wang et al., 2005)
Notă:	Conform informațiilor din coloana 4, metodele de testare au fost preponderent teste screening <i>in vitro</i> , pe mediu de cultură MEA, prin metoda diluției EO în mediu sau a difuziei în mediu (de pe un suport/hârtie) Testele de laborator pe lemn tratat (EN 113 modificat, minibloc) sunt foarte puține					

- Analizele comparative au relevat faptul că, în general, eficacitatea uleiurilor esențiale s-a dovedit a fi superioară împotriva ciupercilor de putregai brun în comparație cu cele de putregai alb;
- Aceste descoperiri oferă perspective valoroase pentru dezvoltarea de noi strategii de protecție a lemnului și a altor materiale susceptibile la atacul fungic, subliniind potențialul semnificativ al uleiurilor esențiale ca alternativă naturală și ecologică la tratamentele convenționale.

### 1.9. Toxicitatea și eco-toxicitatea uleiurilor esențiale

Eco-toxicitatea uleiurilor esențiale este un subiect cu mai multe fațete, cuprinzând efectele lor asupra diferitelor organisme și ecosisteme. Uleiurile esențiale, derivate din diferite părți ale plantelor, sunt bogate în compuși precum monoterpene, sesquiterpene și compuși fenolici, care conferă diverse activități biologice, inclusiv proprietăți insecticide, respingătoare și fungicide (Kumar et al., 2022).

Aceste uleiuri pot traversa membranele celulare, provocând efecte citotoxice prin perturbarea polizaharidelor, fosfolipidelor și acizilor grași, ducând la permeabilizarea membranei, pierderea ionilor și epuizarea ATP în bacterii și perturbări similare în celulele eucariote, rezultând apoptoză și necroză

(Bakkali et al., 2008; Butta et al., 2023; Dhifi et al., 2016). În ciuda activităților lor biologice puternice, uleiurile esențiale prezintă în general toxicitate scăzută pentru mamifere și pești datorită absenței unor ținte specifice în aceste organisme, făcându-le potrivite pentru utilizare ca „pesticide verzi” în agricultură și producția de alimente ecologice (Kumar et al., 2022). Cu toate acestea, unele uleiuri esențiale pot provoca efecte adverse; de exemplu, uleiul de *Melaleuca alternifolia* a fost legat de toxicoza la animalele de companie, în timp ce thujona din *Artemisia absinthium* este o neurotoxină care afectează sistemul GABA (Kumar et al., 2022). În plus, eugenolul, o componentă majoră a uleiului esențial de cuișoare de exemplu, a arătat o activitate antiparazitară semnificativă prin inhibarea complexului mitocondrial I la insecte, dar prezintă toxicitate specifică speciei, fiind mai puțin dăunător pentru mamifere (Shang et al., 2021).

Pentru om uleiurile esențiale sunt considerate destul de sigure în utilizare, cu condiția respectării recomandărilor specifice și concentrațiilor. Datorită proprietăților lor sunt folosite foarte des în aromaterapie și masaj (Laur, 2022). Cu toate acestea, există uleiuri esențiale a căror compuși pot provoca efecte adverse; de exemplu, uleiul de *Melaleuca alternifolia* a fost legat de dermatita de contact (Kumar et al., 2022). Există de asemenea utilizări prin ingerare a acestor uleiuri, dar acest lucru impune și mai multă atenție. De exemplu eugenolul, dacă este ingerat în cantități mai mari este hepatotoxic și poate provoca boli (Eisenhut, 2007). Proprietățile antioxidante ale uleiurilor esențiale, atribuite compușilor precum timolul și carvacrolul, joacă, de asemenea, un rol în atenuarea bolilor legate de stresul oxidativ, evidențiind în continuare beneficiile și riscurile potențiale ale acestora (Dhifi et al., 2016).

Concluzionând, uleiurile esențiale, ca produse naturale cu activitate biologică complexă, au potențial ca alternative la biocidurile sintetice, dar impactul lor eco-toxicologic necesită o analiză atentă și o evaluare amănunțită pentru a echilibra beneficiile lor cu riscurile potențiale pentru sănătatea umană și mediu.

## 1.10. Concluzii

Uleiurile esențiale reprezintă o categorie de substanțe naturale cu o diversitate și complexitate remarcabile. Aceste extracte vegetale conțin o gamă largă de compuși chimici, ceea ce le conferă proprietăți valoroase pentru numeroase aplicații industriale. Datorită compoziției lor variate, uleiurile esențiale sunt utilizate în mod extensiv în industria farmaceutică, agricultură, industria alimentară și în produsele de salubritate.

Utilizarea uleiurilor esențiale are o istorie îndelungată, fiind documentată încă din antichitate. Dovezile arheologice și textele istorice sugerează că diverse civilizații, de la egipteni la greci și romani, au recunoscut și exploatat proprietățile benefice ale acestor substanțe naturale. De-a lungul timpului, tehnicile de extracție a uleiurilor esențiale au evoluat semnificativ, de la metode primitive de presare și macerare, la tehnologii avansate precum distilarea cu abur, extracția cu solvenți, asistate cu ultrasunete sau microunde, precum și extracția cu fluide în stare hiper critică.

Cercetările științifice au confirmat că uleiurile esențiale prezintă o gamă largă de proprietăți benefice, printre care se evidențiază în mod deosebit efectele lor antifungice. Aceste substanțe naturale, extrase

din diverse plante aromatice, s-au dovedit a fi eficiente în combaterea diverselor tipuri de funghi, oferind o alternativă promițătoare la tratamentele convenționale.

În domeniul protecției lemnului împotriva atacurilor fungice, mai multe studii au evidențiat potențialul antifungic al unor uleiuri esențiale naturale. În combaterea ciupercilor responsabile pentru putregaiul brun și alb, s-au remarcat uleiurile de busuioc, oregano, cuișoare, scorțișoară, cimbru și cimbru de vară. Aceste uleiuri au demonstrat o eficacitate promițătoare în inhibarea creșterii și dezvoltării acestor agenți patogeni, oferind o posibilă alternativă, potențial mai ecologică, la tratamentele cu biocide convenționale pentru protecția lemnului.

Deși uleiurile esențiale sunt adesea considerate, apriori, doar produse naturale benefice, implicit fără riscuri de toxicitate și eco-impact, este important să recunoaștem că acestea pot prezenta și anumite riscuri. Compușii lor constituenți pot fi toxici la concentrații ridicate, ceea ce subliniază necesitatea unei abordări precaute în utilizarea lor. În consecință, se impune o cercetare mai aprofundată a acestor uleiuri, cu accent pe potențialul lor impact asupra mediului înconjurător. O înțelegere exhaustivă a proprietăților și efectelor acestor compuși naturali va permite o utilizare mai sigură și mai responsabilă, atât pentru sănătatea umană, cât și pentru ecosistemele naturale.

Este esențial să se efectueze cercetări aprofundate privind eficacitatea pe termen lung și impactul ecologic al utilizării uleiurilor esențiale în protecția lemnului. Aceste studii ar trebui să evalueze și să pună în balanță atât eficacitatea tratamentului, cât și potențialele efecte asupra mediului înconjurător.

Având în vedere rezultatele promițătoare care reies din literatură, este esențial să investigăm în continuare unele uleiuri esențiale precum busuioc, oregano, cuișoare, scorțișoară și cimbru de vară privind aplicabilitatea lor în bioprotecția antifungică a lemnului, ținând cont în același timp și de potențialul lor impact asupra mediului.

Rezultatele obținute vor putea contribui la dezvoltarea unor metode alternative de bioprotecție antifungică a lemnului care să fie atât eficiente cât și sustenabile. Doar prin cercetare aprofundată asupra oportunităților și limitelor utilizării EOs se va putea aprecia corect în ce măsură utilizarea acestor uleiuri esențiale reprezintă o soluție viabilă și responsabilă pentru bioprotecția lemnului.

## Capitolul 2 - Obiectivele cercetărilor experimentale

În contextul celor prezentate în capitolul anterior această cercetare reprezintă o contribuție originală prin identificarea unor soluții alternative pentru bioprotecția antifungică a lemnului, bazate pe produse naturale din resurse vegetale regenerabile, care să cumuleze eficiența biocidă cu un impact de mediu redus și toxicitate cât mai scăzută pentru om.

În acest sens lucrarea vizează o selecție de uleiuri esențiale, produse naturale cu o compoziție extrem de complexă, care le conferă activitate biologică diversă, inclusiv antifungică. Promovarea unor astfel de produse alternative, implică însă un demers științific asumat și responsabil pentru o caracterizare complexă și testare, care să considere și să pună în balanță eficiența și aspectele de eco-toxicitate.

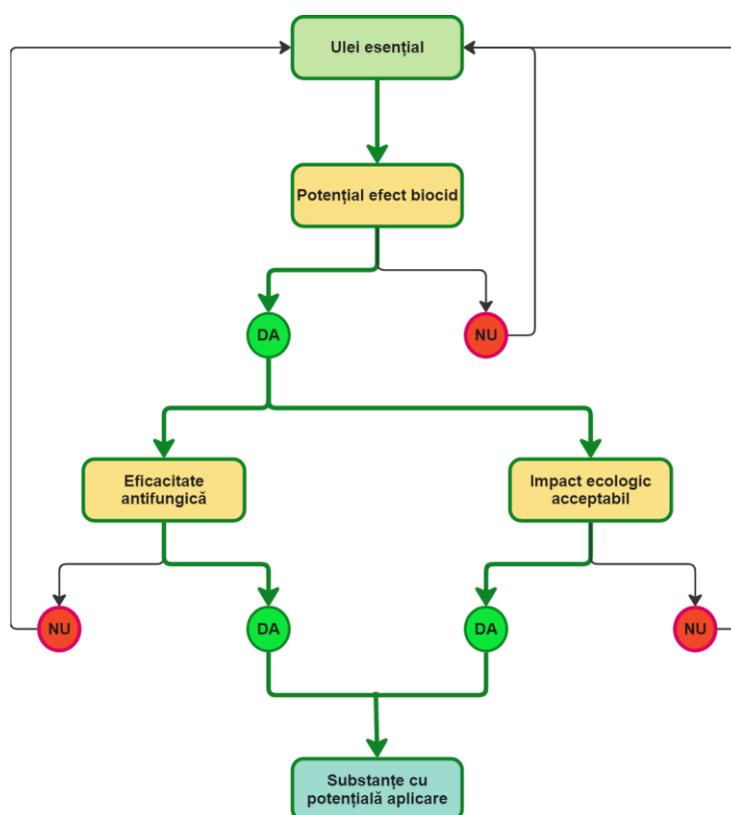


Fig. 2.1 Schema principală a ideii de bază și conceptului cercetării

În Fig. 2.1 este prezentată schema principală de abordare metodică și structurată a demersului științific asociat acestei cercetări, pentru identificarea, testarea și validarea uleiurilor esențiale cu potențial antifungic.

Punctul de plecare îl constituie analiza bibliografică din capitolul 1, în urma căreia sunt selectate uleiuri esențiale promițătoare. Acestea sunt apoi supuse unor teste screening riguroase pentru a confirma potențialul biocid antifungic menționat în literatura de specialitate. Uleiurile cu potențial trec în etapa următoare, unde sunt evaluate simultan sub aspectul eficienței protecției antifungice a lemnului și al

impactului ecologic. Doar uleiurile care îndeplinesc ambele condiții sunt considerate pentru aplicabilitate practică.

## 2.1. Scopul lucrării

Scopul lucrării este testarea aplicabilității unor uleiuri esențiale în protecția antifungică a lemnului. Ideea centrală a studiului este identificarea unor uleiuri esențiale care să prezinte o eficiență adecvată în protecția antifungică a lemnului, având în același timp o nocivitate redusă pentru om și mediu.

## 2.2. Prezentare generală a obiectivelor

Pentru atingerea scopului propus și considerând concluziile studiului literaturii de specialitate, în cadrul acestei cercetări au fost stabilite o serie de obiective experimentale clare și bine definite, menite să ghideze întregul proces de cercetare.

Obiectivele concrete ale cercetărilor experimentale au fost următoarele:

- O1: Stabilirea și validarea unui protocol analitic de laborator, complex, adecvat scopului lucrării;
- O2: Identificarea și caracterizarea unor uleiuri esențiale cu potential efect biocid antifungic pentru protecția lemnului;
- O3: Evaluarea efectului biocid antifungic prin teste screening și selectarea produselor cu potential;
- O4: Determinarea eficienței de protecție antifungică a lemnului și a potențialului impact ecologic pentru produsele selectate;

Conceptul lucrării și obiectivele experimentale, au fost formulate cu scopul de a asigura o abordare structurată și metodică a subiectului studiat, fiind urmărite pe tot parcursul cercetării. Fiecare obiectiv a fost conceput pentru a contribui la aprofundarea cunoștințelor în domeniul de interes și pentru a facilita obținerea unor rezultate relevante și valoroase. Astfel, s-a conturat un flux de cercetare coerent și bine structurat, care a permis abordarea sistematică a temei investigate și atingerea scopului propus.

Cercetarea bibliografică a fost esențială pentru a avea un punct de pornire concret și actualizat și pentru atingerea primelor două obiective ale proiectului. Prin selectarea unor variante de teste, adaptarea și implementarea lor practică, s-a elaborat un protocol analitic (**R-01**), rezultat al primului obiectiv (**O1**). De asemenea, identificarea și caracterizarea a cinci uleiuri esențiale cu proprietăți fungicide (**O2**) a condus la crearea unor fișe de caracterizare a uleiurilor (**R-02**), reprezentând rezultatul celui de-al doilea obiectiv.

Obiectivul **O3** a fost atins prin aplicarea protocolului analitic dezvoltat în cadrul **O1** asupra celor 5 uleiuri selectate în cadrul **O2**. Rezultatele au constat în elaborarea unor fișe de evaluare a potențialului biocid pentru fiecare ulei (**R-03-1**), alegerea uleiurilor cu potențial (2 uleiuri), realizarea unor fișe de validare a potențialului biocid pentru cele două uleiuri alese (**R-03-2**) și realizarea unor fișe de evaluare comparativă a potențialului biocid a celor două uleiuri funcție de tipul de ciupercă (**R-03-3**).

Obiectivul **O4** a fost îndeplinit cu succes prin utilizarea produselor selectate în cadrul obiectivului **O3** și aplicarea protocolului analitic dezvoltat în obiectivul **O1**. Rezultatele obținute au permis efectuarea unei analize comprehensive a eficienței antifungice a uleiurilor esențiale selectate, luând în considerare și potențialul impact asupra mediului.

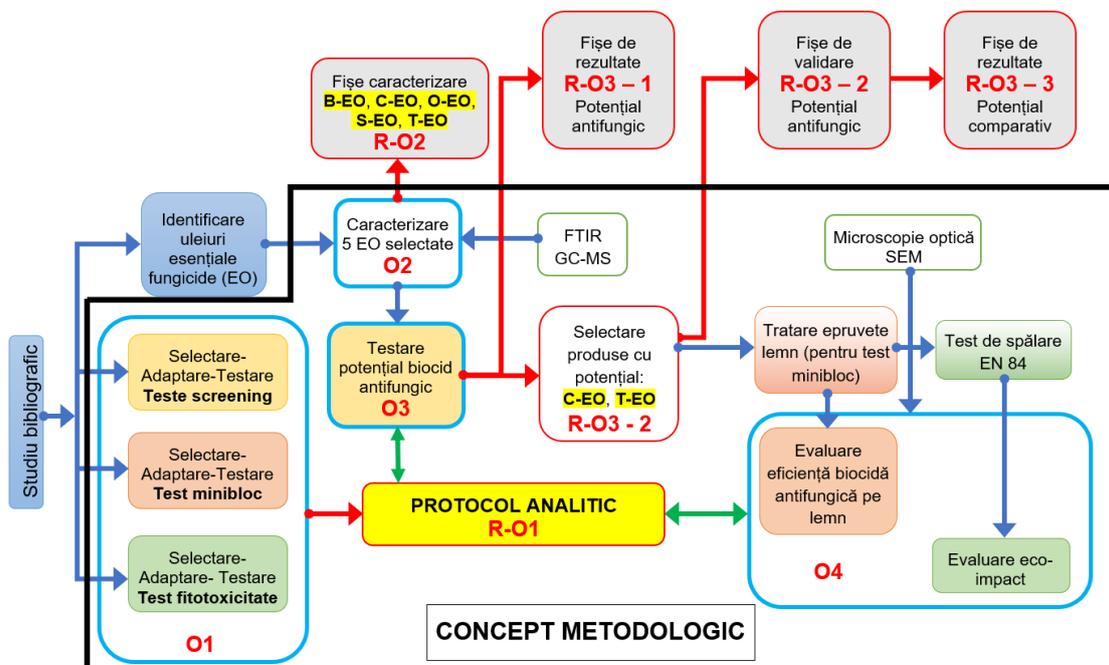


Fig. 2.2 Conceptul general al lucrării care evidențiază conexiunile dintre obiective și rezultatele obținute

În Fig. 2.2 se prezintă într-o manieră schematică structura lucrării de cercetare, evidențiind obiectivele principale și rezultatele asociate acestora. Această reprezentare schematică oferă o imagine de ansamblu asupra demersului de cercetare, facilitând înțelegerea rapidă a elementelor esențiale ale lucrării și a relațiilor de interconectare dintre acestea.

## Capitolul 3 - Metodologia de cercetare

### 3.1. Concept metodologic

Conceptul metodologic reprezintă o componentă esențială a structurii generale a lucrării, fiind integrat în aceasta (Fig. 2.2- chenar negru). Acesta cuprinde procesul de selecție, adaptare și implementare practică a diferitelor tipuri de teste în vederea selectării variantelor adecvate pentru elaborarea protocolului analitic specific obiectivelor lucrării, aplicarea acestuia pe parcursul întregii cercetări, precum și alegerea materialelor și a metodelor de investigație adecvate pentru caracterizarea acestora. Dezvoltarea conceptului metodologic s-a bazat inițial pe o cercetare aprofundată a literaturii de specialitate și pe identificarea necesităților specifice de cercetare, în vederea îndeplinirii obiectivelor lucrării.

Acesta este un concept metodologic complex ce cuprinde:

- Teste biologice pentru evaluarea potențialului biocid antifungic (teste screening) și evaluarea eficienței protecției lemnului (teste minibloc);
- Teste de fitotoxicitate pentru evaluarea potențialului impact ecologic;
- Metode moderne de investigare științifică: spectroscopie FTIR, gaz-cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă (GC-MS), microscopie optică și electronică (SEM).

### 3.2. Materiale

#### 3.2.1. Hârtie suport pentru teste biologice tip screening

Hârtia de filtru cromatografică Whatman (nr.1 și nr.3) și Antibiotics test paper – Fisher Scientific (13 mm) au fost utilizate pe parcursul întregii cercetări. Anterior tratamentelor, acestea au fost supuse unui proces de sterilizare, fie prin autoclavare la 121 °C timp de 20 de minute, într-un recipient închis ermetic (pentru testele screening), fie prin expunere la radiații UV câte 10 minute pe fiecare parte în hota bacteriologică (pentru testele de fitotoxicitate).

Tratamentele aplicate hârtiilor de filtru au variat în funcție de specificul fiecărui test, conform descrierilor detaliate în capitolul corespunzător.

#### 3.2.2. Material lemnos

Materialul lemnos folosit în testele minibloc (metodă adaptată după EN 113:1995) a fost lemn masiv de fag neaburit (*Fagus sylvatica* L.) și alburn de pin (*Pinus sylvestris* L.), acestea fiind speciile nedurabile de referință conform SR-EN 335:2002. S-au folosit epruvete cu dimensiuni de 20x20x5 mm (L x Ra x Tg), debitate din material sănătos, fără defecte.

Epruvetele de lemn au fost sterilizate cu abur la temperatură înaltă (121 °C, timp de 20 de minute în autoclavă (REYPA AES 75)), condiționate în mediu controlat (22 °C și 65% RH) până la atingerea masei

constante (în camera climatică FEUTRON FKS 400). Aceste etape asigură un nivel optim de umiditate și elimină potențiala infestare biologică a probelor înainte de tratamentul ulterior, respectiv testare.

### 3.2.3. Uleiuri esențiale

Cercetarea a fost realizată utilizând cinci uleiuri esențiale pure (concentrație 100%), ambalate în sticlucțe de 10 ml, comercializate sub marca Steaua Divină<sup>17</sup> (Tab. 3.1). Pe parcursul experimentelor, aceste uleiuri esențiale au fost folosite atât în stare pură (C=100%), cât și diluate în doi solvenți diferiți: alcool etilic și ulei de in (Tab. 3.2). Scopul acestei abordări a fost de a evalua eficacitatea și potențialul aplicativ al uleiurilor esențiale în diferite condiții și concentrații, permițând o analiză comparativă a rezultatelor obținute. Utilizarea a două tipuri de solvenți a oferit, de asemenea, o perspectivă asupra compatibilității și stabilității uleiurilor esențiale în medii diferite.

Tab. 3.1 Uleiurile esențiale (EO) utilizate experimental.

Nr.crt.	Ulei esențial	Denumire științifică	Cod
1.	Busuioc	<i>Ocimum basilicum</i>	B-EO
2.	Cuișoare	<i>Eugenia caryophyllata</i>	C-EO
3.	Oregano	<i>Origanum vulgare</i>	O-EO
4.	Scorțișoară	<i>Cinnamomum verum</i>	S-EO
5.	Cimbru	<i>Satureja hortensis</i>	T-EO

Tab. 3.2 Solvenții utilizați experimental

Nr. crt.	Denumire	Producător	Cod
1	Alcool etilic	Chemical	Etanol
2	Ulei de in	Fabryo - Economic	LO

### 3.2.4. Produse biocide clasice

În cadrul cercetării, au fost utilizate și unele substanțe biocide clasice cu eficiență recunoscută (BRE), precum sulfatul de cupru ( $\text{CuSO}_4$ ), Romalit N (55%  $\text{CuSO}_4$ / 45%  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), cu scopul validării protocolului analitic.

Tab. 3.3 Produse biocide cu eficiență recunoscută folosite experimental

Nr. crt.	Denumire produs	Principii active/Compoziție	Producător	Rol în cercetare
1	Sulfat de Cupru	Sulfat de cupru		Validarea testelor screening
2	Romalit N	55% $\text{CuSO}_4$ /45% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	Preparat în laborator	Validarea testelor screening

<sup>17</sup> <https://www.steauadivina.ro/catalog/uleiuri-esentiale-10ml-71>

### 3.2.5. Material biologic – Funghi xilofage

În cadrul testelor biologice s-au utilizat, în diferite etape, cinci tipuri de ciuperci lignicole xilofage din familia *Basidiomycetes*, existente în colecția micologică a laboratorului din cadrul C11-ICDT. Dintre acestea, o specie aparține categoriei de putregai alb, în timp ce celelalte patru specii fac parte din categoria de putregai brun. (Tab. 3.4). Toate aceste funghi au fost utilizate în faza inițială de stabilire a protocolului analitic. Ulterior, testările au fost efectuate în paralel, folosind câte o specie de putregai brun și una de putregai alb, pentru a asigura o analiză comparativă a rezultatelor.

Tab. 3.4 Tipuri de funghi, denumire și coduri experimentale utilizate în lucrare<sup>18</sup>

Nr.Crt.	Tip	Denumire	Cod
1	Putregai alb	<i>Trametes versicolor</i> (L.) Lloyd 1921 – din IndexFungorum	TV
2	Putregai brun	<i>Coniophora puteana</i> (Schumach.) P. Karst. 1868 – din IndexFungorum	CP
3	Putregai brun	<i>Postia placenta</i> (Fr.) M.J. Larsen & Lombard 1986 – din IndexFungorum <sup>19</sup> Sinonim: <i>Rhodonia placenta</i> (Fr.)	PP
4	Putregai brun	<i>Gloeophyllum trabeum</i> (Pers.) Murrill 1908 – din IndexFungorum	GT
5	Putregai brun	<i>Serpula lacrymans</i> (Wulfen) J. Schröt. 1888) – din IndexFungorum	SL

Ciupercile de putregai brun sunt responsabile pentru descompunerea selectivă a celulozei și hemicelulozelor din lemnul infectat. Acest proces lasă în urmă un reziduu bogat în lignină, de culoare brun închis, care prezintă multiple fisuri și crăpături interne, atât în direcția fibrelor, cât și perpendicular pe acestea. Ca rezultat al acestei degradări, lemnul afectat se dezagreghează în fragmente cubice (Fig. 3.1 b), compromițând integritatea structurală a materialului.

Ciupercile de putregai alb posedă un sistem enzimatic complex care le permite să descompună eficient toți compușii chimici principali (celuloza, hemicelulozele și lignina), deși uneori lignina este degradată preferențial. Degradarea ligninei din stratul de lipire duce la albirea lemnului și tendința de separare a elementelor anatomice, proces cunoscut sub numele de defibrare (Fig. 3.1 a).

<sup>18</sup> <https://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>

<sup>19</sup> Numele actual este *Rhodonia placenta* (Fr.) Niemelä, K.H. Larss. & Schigel, in Niemelä, Kinnunen, Schige & Larsson, Karstenia 45(2): 79 (2005), dar deoarece sușa ciupercii folosite în lucrare a fost adusă de la NIBIO (Norwegian Institute of Bioeconomy Research – Forestry and Forest Resources) Norvegia în anul 2015, sub numele de *Postia placenta*, pe parcursul întregii cercetări s-a folosit această denumire și s-au inscripționat toate probele cu codul PP, în lucrare se va folosi această denumire, care este sinonimă celei curente.



Fig. 3.1 Aspectul lemnului atacat de ciuperci de putregai alb (a) și brun (b)<sup>20</sup>

### 3.2.6. Mediu de cultură – teste biologice

În toate testele biologice s-a utilizat un mediu de cultură de tip MEA (extract de malț/agar). Mediul de cultură s-a preparat într-un vas Erlenmeyer, din extract de malț (extract de malț standard, de la firma ROTH) și agar (agar-agar, purificat și fără inhibitori pentru microbiologie, de la firma MERCK și ulterior ROTH), utilizând 40 g malț și 20 g agar pentru 1 litru apă distilată. Dizolvarea s-a realizat la rece, prin agitare după care vasul a fost acoperit cu un dop și sterilizat la temperatura de 121°C, timp de 20 de minute în autoclavă (REYPA AES 75). După sterilizare, mediul a fost repartizat în cutii Petri (30 ml mediu/cutie) și lăsat la răcit timp de 24h, în hota bacteriologică (APRIL, model HVF 1200 cu flux laminar vertical) cu o expunere de jumătate de oră la UV, pentru a preveni contaminarea.

### 3.2.7. Semințe pentru teste de fitotoxicitate

În cadrul studiului de fitotoxicitate, s-au utilizat inițial două specii de semințe, și anume salată (*Lactuca sativa* L.) și cresson (*Lepidium sativum* L.), pentru a evalua potențialul impact al substanțelor testate asupra germinăției semințelor și dezvoltării germenilor. Cu toate acestea, pe parcursul experimentului, s-a luat decizia de a se lucra exclusiv cu semințele de salată, datorită dezvoltării mai rapide a germenilor și a manevrabilității mai bune a acestora. Semințele folosite au fost achiziționate din surse comerciale, fiind furnizate de firma Agrosel în pliculețe de 4 grame, pentru a se asigura uniformitatea și calitatea materialului biologic utilizat în cadrul testelor de fitotoxicitate.

## 3.3. Echipamente utilizate pentru pregătire probe și teste biologice

Experimentele din cadrul cercetării s-au realizat în cadrul Laboratorului de teste biologice și îmbătrânire din cadrul Centrului de cercetare C11: *Eco-design de mobilier, restaurare și certificare în industria lemnului*, din cadrul ICDT al Universității Transilvania din Brașov, folosind echipamentele din dotare.

<sup>20</sup> <http://website.nbm-mnb.ca/mycologywebpages/naturalhistoryoffungi/saprotrophs.html>

Camera climatică **FEUTRON KPK 400**, permițând setarea și controlul precis al parametrilor de mediu, precum temperatura, umiditatea și iluminarea, a fost utilizată pentru condiționarea epruvetelor din lemn în diferite etape experimentale, precum și pentru realizarea testelor de fitotoxicitate.

Incubatorul biologic cu control de umiditate și temperatură, modelul **CLIMACEL 404 Comfort** produs de BMT Cehia, reprezintă o cameră climatică de înaltă performanță, care oferă un mediu controlat cu precizie, ea fiind utilizată pentru toate testele biologice cu fungi (screening, minibloc și teste originale dezvoltate pentru evaluare potențială aplicabilitate EO în conservare-restaurare).

Hota bacteriologică **APRIL - model HVF 1200**, cu flux laminar vertical și lampă pentru sterilizare UV, a reprezentat un echipament esențial și intens utilizat pe parcursul întregului proces de cercetare: Hota bacteriologică este concepută pentru a reduce riscul de contaminare accidentală a probelor, respectiv invalidarea testelor, cât și pentru a crea condiții de siguranță pentru operator. Pregătirea testelor cu fungi (turnarea mediilor sterile, inocularea mediilor, montarea testelor, finalizarea testelor), sterilizarea cu UV a hârtiilor pentru testele de fitotoxicitate, precum și și alte etape intermediare s-au făcut în nișa acestui echipament. Caracteristicile tehnice ale hotei au asigurat un mediu steril și controlat, indispensabil pentru desfășurarea precisă și în condiții optime a experimentelor.

Stația de sterilizare cu abur și temperatură - Autoclava **REYPA AES 75** a fost folosită pentru sterilizarea epruvetelor, hârtiilor, mediului de cultură și instrumentarului. Prin utilizarea aburului sub presiune și a temperaturilor ridicate ( $p_{max}=2.5$  bar,  $T=121^{\circ}C$ , durata 20 min), acest dispozitiv elimină microorganismele și asigură sterilizarea materialelor și instrumentarului. De asemenea, prin re-sterilizarea instrumentarului și a tuturor materialelor/deșeurilor rezultate la finalul testelor se asigură reducerea riscului de infestare necontrolată a laboratorului, ca o condiție esențială pentru realizarea unor teste corecte.

Etuva **VENTICELL 111 Comfort BMT Cehia** s-a utilizat la uscarea materialului lemnos pentru aducerea la masă anhidră, determinarea umidității și alte întrebuințări.

Incubatorul biologic cu răcire **FRIOCELL 222 BMT Cehia** a fost folosit pentru menținerea fungilor în stare de hibernare.

### 3.4. Metode de investigare și echipamente

În Tab. 3.5 sunt prezentate pe scurt metodele de investigare folosite pe parcursul prezentei cercetări pentru caracterizarea uleiurilor esențiale, identificarea/evidențierea biodegradării suferite de epruvetele expuse la fungi, unele particularități ale fungilor de putregai și analiza germenilor din cadrul testelor de fitotoxicitate.

Tab. 3.5 Metode de investigare utilizate în cadrul cercetării

Metoda de investigare	Epruvete lemn	Uleiuri esențiale	Epruvete lemn tratate	Fungi	Test fito	Echipament folosit	Localizare echipament
Macroscopic - Evaluare vizuală - Foto	DA	DA	DA	DA	DA	Aparat Foto Canon 400D Telefon Samsung note 10 plus Lupă	ICDT Brașov
Microscopie optică	DA	NU	DA	DA	DA	Stereomicroscop Nikon SMZ25/SMZ18 Microscop portabil	ICDT Brașov
Spectrometrie FT-IR	NU	DA	DA	NU	NU	Spectrometrul FT-IR BRUKER ALPHA	ICDT Brașov
Gaz cromatografie cu spectroscopie de masă GC-MS	NU	DA	NU	NU	NU	Focus GC echipat cu un Spectrometru de masă DSQII și un autosampler TriPlus (Thermo Electron Corporation)	FSIM UBB Cluj-Napoca
Microscopie electronică cu baleiaj SEM	DA	NU	DA	NU	NU	FEI, Quanta 250	Ecole Supérieure du Bois from Nantes-France

### 3.4.1. Analiză macroscopică

Echipamente precum aparatul foto Canon 400D și camera foto a telefonului Samsung Note10+, au fost utilizate pe parcursul tuturor etapelor cercetării. Cu ajutorul acestor dispozitive s-au obținut fotografii precise și de înaltă calitate, asigurând astfel documentarea tuturor pașilor întreprinși în cadrul studiului. De asemenea, evaluarea evoluției dezvoltării fungice în diferitele teste biologice s-a bazat pe tehnica foto cuplată cu măsurători în Corel Draw.

### 3.4.2. Microscopie optică

Investigațiile microscopice au fost efectuate utilizând două instrumente de precizie: un microscop digital portabil și un stereomicroscop NIKON SMZ25/SMZ18. Aceste aparate oferă imagini de înaltă rezoluție și permit o analiză detaliată a probelor. Au fost analizate atât epruvete de lemn netratat cât și tratat, expuse și neexpuse la fungi, probe de miceliu și chiar și germeni rezultați în urma testului de fitotoxicitate.

### 3.4.3. Spectrometrie FT-IR

Spectrometria în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR) (BRUKER ALPHA) cu reflexie totală atenuată (ATR) este o tehnică analitică valoroasă pentru studiul compoziției/structurii chimice a compușilor organici, precum și pentru evidențierea modificărilor structurale asociate unor procese chimice sau biochimice. Această metodă permite obținerea rapidă a informațiilor spectrale (spectre de vibrație cu maxime de absorbție specifice diferitelor tipuri de legături chimice, grupe funcționale, entități structurale), fără a fi necesară o pregătire prealabilă a probei. Această metodă s-a folosit pentru analiza comparativă a uleiurilor esențiale, precum și pentru investigarea probelor de lemn control și tratate, ne-expuse și expuse în teste biologice.

Înregistrarea spectrelor s-a făcut în modul ATR, cu compensare atmosferică, în domeniul 4000-600  $\text{cm}^{-1}$ , la o rezoluție de  $4\text{cm}^{-1}$  și 22 de scanări per spectru. Pentru fiecare situație s-au înregistrat și prelucrat ulterior minimum 3 spectre (3 probe paralele). Prelucrarea spectrelor s-a făcut cu softul dedicat OPUS și a constat în corectarea liniei de bază, netezire (atenuare zgomot cu funcția smooth), calcularea mediei pentru înregistrările multiple (minimum 3) pe aceeași probă. Spectrele medii au fost ulterior normalizate (Min-Max). Asocierea maximelor de absorbție (picuri) cu particularități structurale specifice, respectiv cu componenți chimici ai materialelor analizate s-a făcut pe baza datelor din literatura de specialitate și baze de date disponibile online.<sup>2122</sup>

### 3.4.4. Gaz cromatografie cuplată cu spectroscopie de masă GC-MS

GC-MS s-a folosit ca și metodă de bază pentru caracterizarea uleiurilor esențiale din punct de vedere al compoziției chimice complexe. Analizele s-au realizat în cadrul Facultății de Știința și Ingineria Mediului, Universitatea Babeș Bolyai din Cluj-Napoca.

Preparare probe: Diluție 1:1 v/v cu metanol

Pentru analiza uleiurilor volatile s-a utilizat un cromatograf de gaze model de Focus GC echipat cu un Spectrometru de masă DSQII și un autosampler TriPlus (Thermo Electron Corporation). Injectarea s-a făcut cu divizarea probei utilizând un raport de divizare (splitare) de 1:100. Separarea s-a efectuat pe o coloană DB-5MS (25 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ) cu un gradient de temperatură (pornind de la 45°C cu un gradient de 5°C/minut până la 210°C). Faza mobilă a fost heliu 99.999% puritate la un debit 1,0 mL/min.

Temperatura injectorului și a liniei de transfer a fost de 250°C. Temperatura sursei de ionizare a fost de 220°C, iar pentru ionizare s-a folosit o tensiune de 70 eV. Detectarea compușilor a fost efectuată în modul SCAN utilizând un raport m/z cuprins între 50 și 250 uam. Identificarea compușilor s-a făcut prin compararea spectrelor obținute cu cele ale compușilor din librăria de spectre NIST.<sup>23</sup> Doar compușii pentru a căror probabilitate de identificare a depășit 50% au fost luați în considerare.

<sup>21</sup> <http://www.irug.org/resources/spectral-databases-for-infrared>

<sup>22</sup> <https://sdb.sdb.aist.go.jp/>

<sup>23</sup> <https://www.nist.gov/srd/nist-standard-reference-database-1a>

### 3.4.5. Microscopie electronică tip SEM (Scanning Electron Microscopy)

S-a realizat în cadrul Ecole Supérieure du Bois din Nantes-Franța, utilizând un Microscop Electronic tip Environmental SEM (FEI, Quanta 250), în modul low vacuum (LoVac). Imaginile au fost colectate folosind o tensiune de accelerare de 5-7 kV și o presiune parțială de 70-90 Pa.

Investigațiile s-au făcut pe probe de lemn control și expuse atacului fungic în teste minibloc și au vizat particularitățile atacului fungic (colonizare) și al degradărilor determinate în structura microscopică a lemnului. Au fost examinate fețele cu secțiune transversală a probelor, după o prealabilă îndepărtare a stratului de suprafață prin tăiere "curată" cu lamă nouă pentru a permite o vizualizare cât mai bună a structurii lemnului/evidențierea elementelor anatomice. Zonele observate au fost amplasate la aproximativ 1-2 mm de fața de așezare a probelor pe sita suport (fața cea mai apropiată de miceliul dezvoltat pe mediul de agar, iar imaginile SEM au fost luate la magnificări de 300x, 600x și 1200x.

### 3.5. Softuri utilizate

Pe parcursul cercetării și a elaborării prezentei lucrări s-au utilizat diferite softuri pentru prelucrarea diferitelor tipuri de date. Acestea sunt prezentate în Tab. 3.6.

Tab. 3.6 Softuri utilizate pe parcursul lucrării

Nr.crt	Denumire	Scop
1	Microsoft Word	Editare documente
2	Microsoft Excel	Calcul tabelar
3	Opus	Prelucrare spectre FTIR
4	CorelDraw; Inkscape; Miro	Scheme, măsurători creștere miceliu pe poze
5	Photoshop, Paint	Prelucrare foto
6	Zotero	Soft gestionare referințe bibliografice

### 3.6. Teste pentru evaluarea potențialului biocid, eficienței și eco-impactului

În cadrul acestei cercetări, au fost atent identificate/selectate, adaptate și realizate diverse tipuri de teste biologice standardizate sau consacrate prin cercetări anterioare. Totodată, au fost concepute și utilizate teste originale, pentru a răspunde nevoilor specifice ale obiectivelor de cercetare. Un sumar al testelor bio este prezentat în Tab. 3.7.

Au fost efectuate inițial 7 teste de tip screening (evidențiate cu fundal albastru în Tab. 3.7) pentru determinarea potențialului biocid antifungic al produsului. Ulterior, protocolul analitic a fost rafinat, fiind selectate doar două teste, iar în final s-a optat continuarea cercetărilor cu un singur test, care s-a dovedit a fi cel mai relevant și cu referințe în literatură.

Evaluarea eficienței fungicide și a impactului ecologic al unui produs destinat tratării lemnului a fost realizată prin intermediul a două teste specifice. Pentru determinarea eficacității fungicide, s-a aplicat un test de tip minibloc R, evidențiat prin fundal galben și scris negru în Tab. 3.7. În ceea ce privește

evaluarea eco-impactului, mai precis a fitotoxicității produsului, s-a apelat la un test de fitotoxicitate TF, marcat în același tabel Tab. 3.7 prin fundalul verde.

**Tab. 3.7 Tipuri de teste realizate pe parcursul cercetării**

Nr crt	Tip test	Denumire test	Cod	Referință
1	Evaluare potențial biocid	Metoda Humar and Pohleven	HP	Vek et al. (2013)
2		Metoda Humar and Pohleven	HPI	Vek et al. (2013)
3		Test Reinprecht	R	Reinprecht et al. (2003)
4		Test CT (test adaptat după testul Reinprecht)	CT	Original
5		Test ICWSE	DH	Delenk et al. (2015)
6		Test RS (Reinprecht)	RS	Panek et al. (2014)
7		Metoda diluției în mediu de agar	VM	Viuda-Martos et al. (2008)
Nr crt	Tip test	Denumire test	Cod	Referință
8	Evaluare eficiență biocidă	Test minibloc	R	Panek et al (2014)
9	Evaluare eco-impact	Test fitotoxicitate	TF	Combinat Adaptat

Pe parcursul capitolelor viitoare, fiecare test prezentat în Tab. 3.7 va fi analizat în detaliu, oferindu-se explicațiile necesare cu privire la metodologia, scopul, importanța acestuia și rezultatele obținute.

## Capitolul 4 - Stabilirea și validarea unui protocol analitic de laborator

Acest capitol urmărește stabilirea unui protocol analitic, util în atingerea tuturor obiectivelor propuse.

În Fig. 4.1 este prezentat schematic protocolul analitic care cuprinde trei tipuri de metode de testare. În primă fază se studiază potențialul antifungic al produselor utilizate. Astfel este necesar a se stabili o metodologie de testare care să permită stabilirea efectului biocid antifungic. După această primă fază în care s-a demonstrat eficiența produselor asupra fungilor, se poate trece la următoarea etapă care cuprinde alte două tipuri de teste, unul care evaluează efectul antifungic demonstrat, prin testarea produsului pe lemn și în paralel se studiază impactul ecologic.

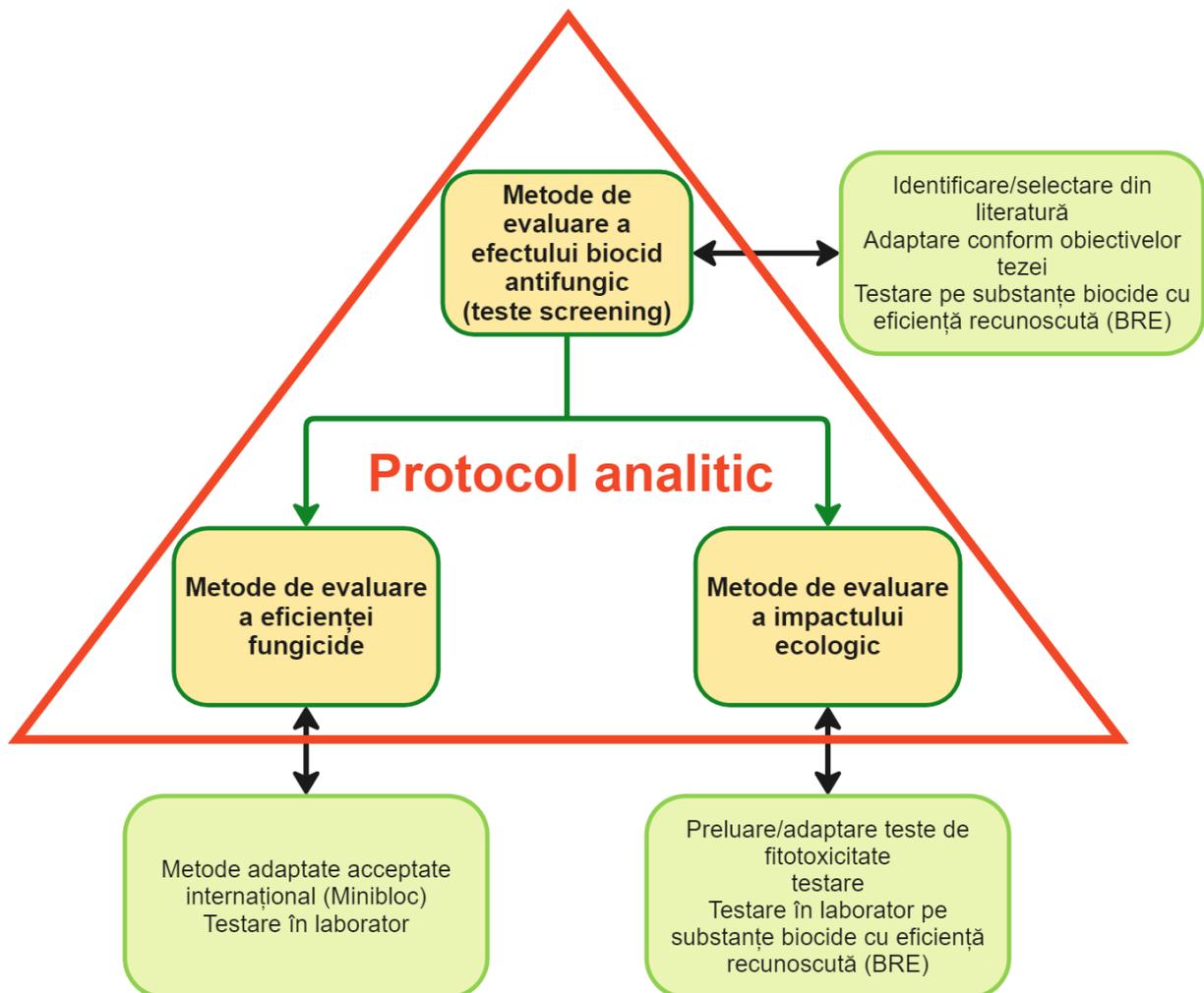


Fig. 4.1 Schema protocolului analitic

#### 4.1. Teste screening

Principial, testele screening urmăresc identificarea rapidă a substanțelor cu potențial biocid, relevant în prin inhibarea dezvoltării/efectul letal asupra fungilor inoculate controlat pe un mediu de cultură steril. Aceste teste se încadrează în categoria de teste in vitro.

Testele screening se utilizează pentru selectarea preliminară a produselor biocide, înaintea testării eficienței de bioprotecție a lemnului prin metoda clasică EN 113, care este laborioasă și de lungă durată.

În literatura de specialitate sunt prezentate diferite teste de tip screening, cu aplicabilitate generală sau specifică pe alte domenii decât protecția lemnului: protecția patrimoniului documentar (Borrego et al., 2012; GÓMEZ DE SARAVIA et al., 2008), agricultură (Ûrgeová et al., 2013), nutriție (Gatto et al., 2016; Gurnani et al., 2016; Juárez et al., 2015; Varona et al., 2013; Viuda-Martos et al., 2008), medicină (Ullah et al., 2016).

Testele screening se împart în trei categorii, în funcție de modul prin care substanțele cu potențial biocid ajung în mediul de cultură, pe care îl transformă într-un mediu toxic, nefavorabil dezvoltării fungice:

- Metode de difuzie – în care substanțele difuzează în mediul de cultură (gelificat) de pe un material suport (rezervor) aplicat pe mediul de cultură;
- Metode de aplicare pe mediu – în care substanțele cu potențial biocid se aplică pe suprafața mediului gelificat;
- Metode de diluție directă - în care substanțele cu potențial biocid testate sunt adăugate direct, la anumite diluții, în mediul de cultură (aflat în stare lichidă, înainte de repartizare în cutii și gelifiere).

Identificarea celei mai potrivite metodologii de testare preliminară a efectului biocid al uleiurilor esențiale a necesitat mai multe etape experimentale în care s-au realizat 7 tipuri de teste screening, alese din literatură și adaptate (Tab. 3.7 de la 1-7).

Pentru validarea testelor de tip screening s-au folosit substanțe biocide cu eficiență recunoscută (BRE-Sulfat de cupru ( $\text{CuSO}_4$ ) și Romalit N (55% Sulfat de cupru  $\text{Cu SO}_4$  + 45% Bicromat de potasiu  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ )) precum și o primă selecție de uleiuri esențiale, alese după studiul bibliografic.

În Fig. 4.2 sunt prezentate schemele principale ale testelor screening realizate. Pentru fiecare situație în parte inoculul de ciupercă s-a plasat pe mediu, în poziție centrală, cu miceliul în jos în contact cu mediul.

Fiecare cutie Petri a fost sigilată cu parafilm și inscripționată corespunzător. Cutiile au fost introduse în camera de cultură (CLIMACEL 404 Comfort BMT Cehia) la temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  și umiditatea de  $75 \pm 5\%$ . Dezvoltarea fungică s-a monitorizat și documentat fotografic la diverse intervale de timp.

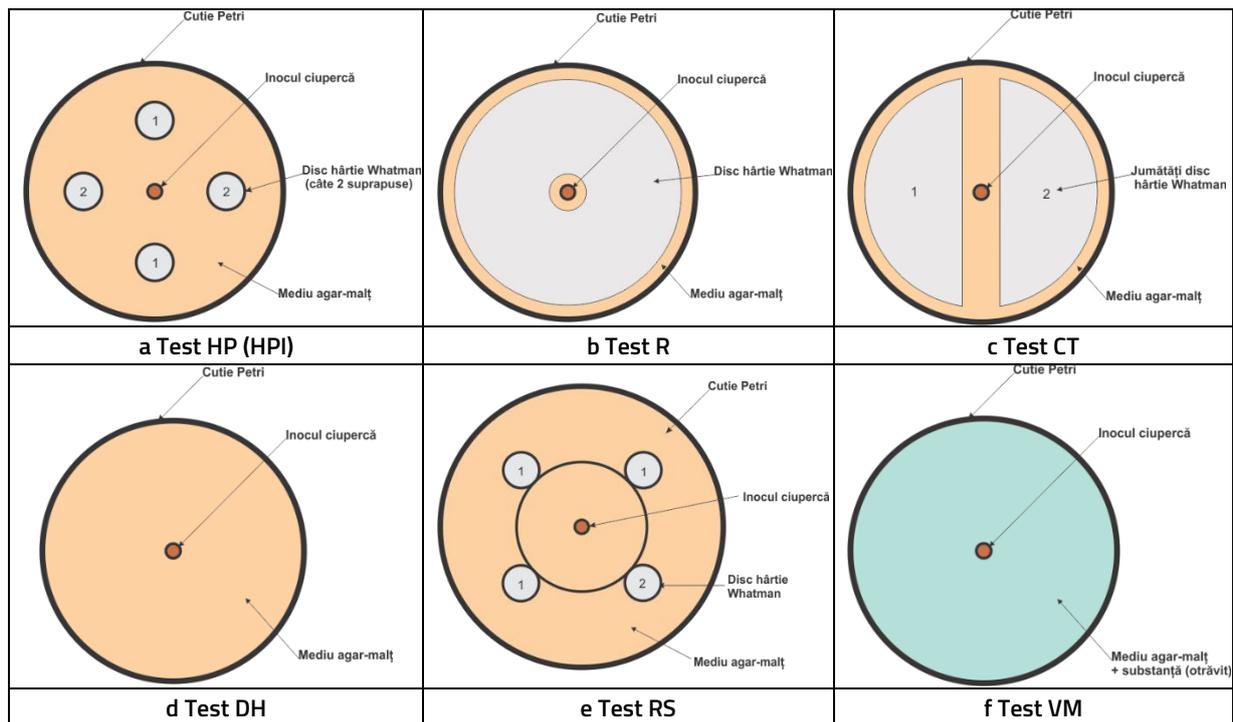


Fig. 4.2 Schemele principale ale testelor screening

#### 4.1.1. Metoda Humar and Pohleven (Test HP -Fig. 4.2 a)

Testul s-a realizat conform metodologiei prezentate de Vek et al. (2013) ce au preluat metoda propusă de Humar and Pohleven (2007).

În test s-au folosit discuri de hârtie (13 mm diametru) de filtru cromatografică de tip Whatman nr.1. Acestea s-au plasat în cutii Petri, pe un mediu de agar și malț gelifiat (24 h în hota bacteriologică), câte 8 discuri în fiecare cutie sub formă de cruce (2 câte 2) și s-au picurat cu câte 100 microlitri de soluție pe fiecare.

În fiecare cutie Petri patru hârtii au fost picurate cu apă distilată - control (numerotate 2 și 2), iar celelalte patru (numerotate 1 și 1) cu substanță biocidă cu eficiență recunoscută BRE (cu sulfat de cupru în unele cutii și cu Romalit N în alte cutii). Inocularea s-a realizat la câteva minute după așezarea hârtiilor.

#### 4.1.2. Metoda Humar and Pohleven (Test HPI -Fig. 4.2 a)

În cazul acestui test s-au folosit discuri de hârtie (13 mm diametru) de filtru cromatografică de tip Whatman nr.1. Acestea au fost imersate 1 minut în soluții, iar apoi uscate și plasate în cutii Petri, pe un mediu de agar și malț gelifiat (24 h în hota bacteriologică), câte 8 discuri în fiecare cutie sub formă de cruce (2 câte 2).

În fiecare cutie Petri patru hârtii au fost tratate cu apă distilată - control (numerotate 2 și 2), iar celelalte patru (numerotate 1 și 1) au fost tratate cu substanță biocidă cu eficiență recunoscută BRE (cu sulfat de cupru în unele cutii și cu Romalit N în alte cutii). Inocularea s-a realizat după așezarea hârtiilor pe mediu.

#### 4.1.3. Testul Reinprecht (Test R-Fig. 4.2 b)

În acest caz s-au folosit discuri de hârtie (diametru 8 cm) de filtru cromatografică de tip Whatman nr.1, cu câte un orificiu la mijloc pentru inocul. Acestea au fost imersate timp de 1 minut în soluții (apă distilată – control și substanțe biocide cu eficiență recunoscută BRE - sulfat de cupru și Romalit N), uscate și plasate în cutii Petri, pe mediu de agar și malț gelifiat (24 h în hota bacteriologică). În fiecare cutie s-a folosit o singură hârtie/soluție. Inocularea s-a realizat la câteva minute după așezarea hârtiilor.

#### 4.1.4. Testul adaptat după Reinprecht (Test CT-Fig. 4.2 c)

Necesitatea utilizării unei probe control a dus la adaptarea testului Reinprecht (test R), discurile de hârtie mari au fost înjumătățite, permițând astfel amplasarea într-o singură cutie Petri atât a unei soluții biocide cu eficiență recunoscută - BRE (numerotat 1 – sulfat de cupru, Romalit N) cât și a soluției control (numerotat 2 – apa distilată). Hârtiile au fost de asemenea imersate timp de 1 minut și uscate înainte de așezarea lor în cutie, pe mediu gelifiat (24 h în hota bacteriologică). Inocularea s-a realizat la câteva minute după așezarea hârtiilor.

#### 4.1.5. Testul ICWSE (Test DH - Fig. 4.2 d)

În cutii Petri, pe suprafața mediului de malț-agar gelifiat (24 h în hota bacteriologică), s-au picurat și s-au împrăștiat uniform, cu spatula, 200 microlitri de soluție (1 soluție/cutie Petri). După 5 minute inoculul de ciupercă s-a plasat pe mediu.

#### 4.1.6. Testul RS (Reinprecht - Fig. 4.2 e)

Inoculul de ciupercă s-a plasat pe mediu, în poziție centrală, înainte de plasarea hârtiilor.

Pentru acest test s-au folosit discuri de hârtie cu diametru de 13 mm (Antibiotics test paper – Fisher Scientific), câte patru bucăți în fiecare cutie Petri. Dintre acestea, 3 hârtii tratate cu substanța de testat (substanțe biocide cu eficiență recunoscută – BRE – sulfat de cupru și Romalit N – numerotate 1) și una control (apă distilată – numerotată 2) (Fig. 4.2 e). Hârtiile au fost în prealabil sterilizate, iar pe urmă au fost imersate timp de 10-15 secunde în soluții și apoi plasate pe o hârtie de filtru (sterilizată anterior în etuvă) pentru a elimina surplusul, iar apoi așezate pe mediu la 2 cm față de inocul (după o schemă printată).

#### 4.1.7. Metoda diluției în mediul de agar (Test VM- Fig. 4.2 f)

Mediul de cultură, preparat după cum s-a prezentat în secțiunea 3.2.6, după sterilizare, se lasă la răcit până ce ajunge la temperatura de 40-45 °C. La această temperatură se adaugă în mediu substanța de testat (hidrodiluabilă sau nu), se agită și abia pe urmă se repartizează în cutiile Petri. Se lasă în hotă la gelifiat, pentru 24h, după care se inoculează cu ciupercă.

#### 4.1.8. Evaluarea calitativă și cantitativă în testele screening

Evaluarea calitativă s-a realizat prin analiză vizuală a modului de dezvoltare a ciupercii din inoculul inițial și documentare fotografică, după următoarele intervale de timp de la inoculare: 7, 9, 11 și 15 zile. S-a urmărit gradul de dezvoltare/extindere a miceliului ciupercii precum și eventuala orientare preferențială (control *vs.* biocid). Acest lucru a fost necesar atât pentru a urmări evoluția dezvoltării ciupercii funcție de condițiile de testare cât și pentru a stabili perioadele de examinare relevante și duratele maxime de testare (stabilindu-se în final intervalele 3, 5, 7, 9, și 11 zile de la punerea în test).

Cuantificarea rezultatelor vizuale (evaluare cantitativă) s-a realizat astfel:

Pentru testele **HP**, **HPI**, **R**, **CT**, **DH** și **VM** s-a elaborat o metodă de măsurare a dezvoltării miceliului ciupercii făcută pe fotografiile, în softul CorelDraw și de calculare a unui **Indice de dezvoltare (I)** care reprezintă raportul dintre creșterea ciupercii înspre/pe soluția de testat și creșterea ei înspre/pe soluția control (inițial).

Pentru fiecare test în parte s-a elaborat o schemă specifică de măsurare prezentată în Fig. 4.3.

Dacă  $I > 1$ , substanța testată prezintă efect de potențare a dezvoltării ciupercii.

Dacă  $I = 1$ , substanța nu are efect vizibil, nici nu potențează și nici nu inhibă dezvoltarea ciupercii.

Dacă  $I < 1$ , substanța prezintă potențial biocid, prin încetinirea sau stoparea dezvoltării ciupercii.

Dacă  $I = 0$ , substanța are efect biocid, omorând ciuperca.

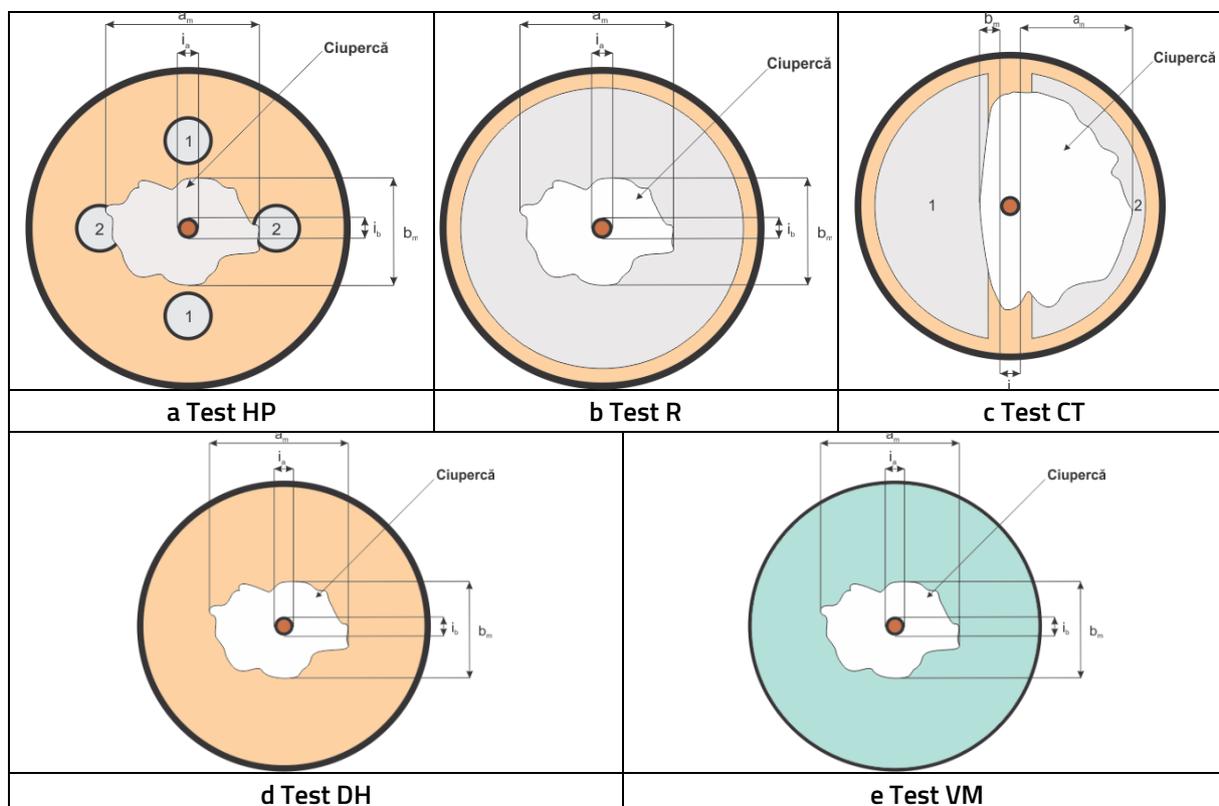


Fig. 4.3 Reprezentarea schematică a modului principal de măsurare a gradului de dezvoltare a ciupercii (evaluare cantitativă)

În cazul testelor **HP** și **HPI** soluția de testat și soluția control sunt în aceeași cutie Petri. În aceste cazuri, **indicele de dezvoltare** a ciupercii se calculează conform Ec. 4.1.

$$I = \frac{b_m - i_b}{a_m - i_a} \quad \text{Ec. 4.1}$$

Unde:

- $a_m$  - dezvoltarea măsurată pe foto a ciupercii (în mm) înspre soluția control
- $b_m$  - dezvoltarea măsurată pe foto a ciupercii (în mm) înspre soluția de verificat
- $i_a$  și  $i_b$  - dimensiunile măsurate pe foto ale inoculului

Pentru testele **R**, **DH** și **VM** substanța de testat și cea control sunt în cutii Petri diferite. În aceste cazuri, **indicele de dezvoltare** a ciupercii se calculează conform Ec. 4.2.

$$I = \frac{M}{M_{control}} \quad \text{Ec. 4.2}$$

Unde:

- $M$  - media creșterii ciupercii în cutia Petri conținând substanța de testat;
- $M_{control}$  - media creșterii ciupercii în cutia Petri conținând substanța control.

$$M = \frac{(a_m - i_a) + (b_m - i_b)}{2} \quad \text{Ec. 4.3}$$

Unde:

- $a_m$  și  $b_m$  - dezvoltarea măsurată (în mm) a ciupercii pe cele două axe;
- $i_a$  și  $i_b$  - dimensiunile măsurate ale inoculului pe cele două direcții.

În cazul testului **CT**, soluția de testat este plasată de asemenea în aceeași cutie Petri cu soluția control. **Indicele de dezvoltare** a ciupercii se calculează conform Ec. 4.4.

$$I = \frac{b_m}{a_m} \quad \text{Ec. 4.4}$$

Unde:

- $a_m$  - dezvoltarea măsurată (în mm) a ciupercii înspre zona cu soluție control
- $b_m$  - dezvoltarea măsurată (în mm) a ciupercii înspre zona cu soluția de testat

Acest test s-a utilizat de mai multe ori, dezvoltându-se ulterior alți doi indici, pe baza aceluiași măsurători prezente în schemă: un **Indice relativ de dezvoltare (ID)** a ciupercii și un **Indice de reducere a dezvoltării (IRD)**

**Indice relativ de dezvoltare a ciupercii se calculează (ID, %)**

$$ID = \frac{b_m}{a_m} \times 100 \quad \text{Ec. 4.5}$$

**Indicele de reducere a dezvoltării ciupercii se calculează (IRD, %)**

$$IRD = \frac{a_m - b_m}{a_m} \times 100 \quad \text{Ec. 4.6}$$

Unde:

- $a_m$  - dezvoltarea măsurată (în mm) a ciupercii înspre zona cu soluție control;
- $b_m$  - dezvoltarea măsurată (în mm) a ciupercii înspre zona cu soluția de testat.

Pentru Testul RS s-a preluat metoda de evaluare cantitativă de la laboratorul de teste micologice de la Universitatea tehnică din Zvolen, respectiv metoda aplicată de profesorul Reinprecht și anume măsurarea cu rigla a creșterii miceliului pe mediu și pe hârtie (Fig. 4.4).

Măsurarea s-a făcut până la acoperirea totală a hârtiilor control de către miceliu, sau până la finalul numărului de zile a testului (14, ulterior 11 zile).

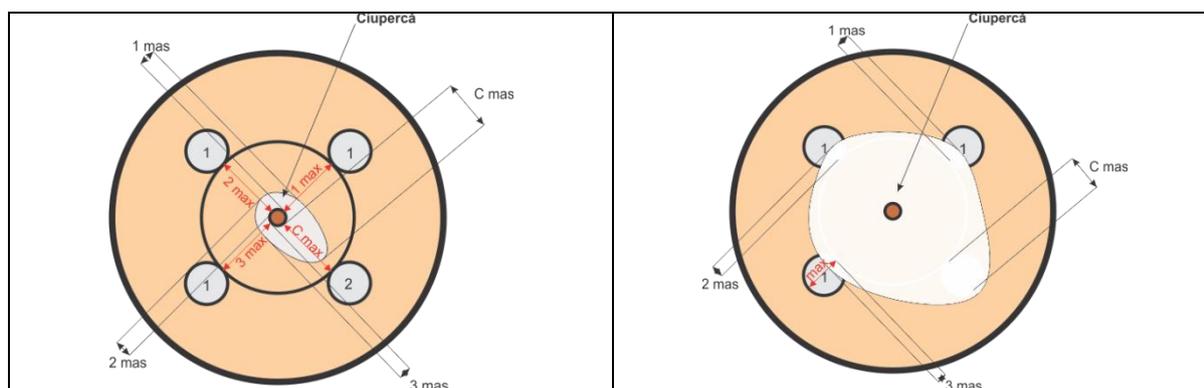


Fig. 4.4 Reprezentarea schematică a modului principal de măsurare a gradului de dezvoltare a ciupercii (evaluare cantitativă) pe mediu (stânga) și pe hârtie (dreapta) pentru testul RS

Aceste valori sunt importante pentru a putea calcula cei doi indici: **indicele de inhibiție a creșterii ciupercii pe mediu ( $I_{sol}$ , %)** (Ec. 4.7) și **indicele de inhibiție a creșterii ciupercii pe hârtie ( $I_{paper}$ , %)** (Ec. 4.8).

$$I_{sol} = \frac{I_{zEO} - I_{zC}}{20 - I_{zC}} \times 100 \quad \text{Ec. 4.7}$$

Unde:

$I_{zEO}$  – zona de inhibiție spre hârtiile tratate;

$I_{zEO} = ((1_{max} - 1_{măs}) + (2_{max} - 2_{măs}) + (3_{max} - 3_{măs})) / 3$ ;

$I_{zC}$  – zona de inhibiție spre control;

$I_{zC} = C_{max} - C_{măs}$ ;

20 – distanța maximă teoretică dintre inocul și hârtie.

În cazul măsurării creșterii miceliului pe hârtie, valorile maxime posibile ( $1_{max} = 2_{max} = 3_{max} = C_{max}$ ) sunt egale, deoarece discurile de hârtie sunt tăiate la aceeași dimensiune, în acest caz  $max = 12$  mm.

$$I_{paper} = \frac{L_C - L_{EO}}{L_C} \times 100 \quad \text{Ec. 4.8}$$

Unde:

$L_C$  – media lungimii creșterii pe hârtia control  $L_C = C_{măs}$ ;

$L_{EO}$  – media lungimii creșterii pe hârtiile tratate  $L_{EO} = (1_{măs} + 2_{măs} + 3_{măs}) / 3$ .

#### 4.1.9. Realizarea de teste screening pentru stabilirea unui protocol de aplicat în cercetare

O primă etapă a cuprins testele screening HP, HPI, R, CT, DH prezentate în Tab. 3.7 realizate cu o singură ciupercă de putregai brun *Coniophora puteana* – notată CP și substanțele biocide cu eficiență recunoscută (BRE): sulfat de cupru și Romalit N (notat RN). S-a făcut o singură probă pe test. Rezultatele obținute sunt incluse în **Baza de date BD-01/1**.

În Fig. 4.5 se prezintă comparativ evoluția dezvoltării ciupercii în timp în cazul fiecărui test, pentru probele control (apă distilată) și sulfat cu cupru (în aceeași cutie sau cutii diferite după caz). Se observă că durata maximă de testare de 11 zile este optimă, interval de timp în care ciuperca acoperă în totalitate suprafața mediului de cultură din cutia Petri. După acest interval dezvoltarea ciupercii nu mai poate oferi informații relevante scopului testării.

Totodată analiza acestor imagini evidențiază modul specific prin care se poate evalua potențialul biocid antifungic în aceste teste. În testele **HP**, **HPI** și **CT**, care conțin atât controlul și cât proba testată, efectul biocid se observă clar și măsurabil prin tendința preferențială de dezvoltare spre zona control. Dintre aceste teste, această evidențiere apare mai clară în cazul testului **CT**.

În testele **DH** și **R** efectul biocid se observă prin inhibarea totală a dezvoltării ciupercii, în cutiile cu sulfat de cupru și Romalit N.

Astfel se poate observa că testul **HP** a indicat clar efectul biocid pentru sulfatul de cupru (dezvoltare preferențială spre zona de control cu apă distilată - Fig. 4.5), dar a fost neconcludent pentru Romalit N, deși eficiența biocidă a acestuia este clar dovedită în practică.

Testul **HPI** a oferit rezultate similare cu testul **HP**, adică efectul biocid al sulfatului de cupru este evident prin preferința de dezvoltare a ciupercii înspre zona cu apă distilată, iar pentru Romalit N este și în acest caz neconcludent.

Testul **CT** oferă o confirmare evidentă a efectului biocid al sulfatului de cupru, prin dezvoltarea ciupercii pe zona control (apă distilată)(Fig. 4.5). Pentru proba conținând Romalit N nu a existat creștere a ciupercii, ceea ce confirmă efectul biocid al acestuia.

Ambele teste, **R** și **DH** confirmă efectul biocid atât pentru sulfatul de cupru cât și pentru Romalit N. În cutiile Petri conținând substanțele BRE, ciuperca nu s-a dezvoltat deloc, iar în cea control, cu apă distilată, aceasta a avut o creștere frumoasă și uniformă (Fig. 4.5).

Rezultatele obținute în urma acestor teste au dus la concluzia că în testările viitoare monitorizarea poate să se facă începând cu ziua 3 după inoculare, cu monitorizare din 2 în 2 zile, până la maxim ziua 11, când ciuperca martor acoperă întreaga suprafață a cutiei Petri. Toate testele efectuate au generat rezultate bune, dar în urma acestei etape s-a ales testul **CT** pentru a continua cercetările.

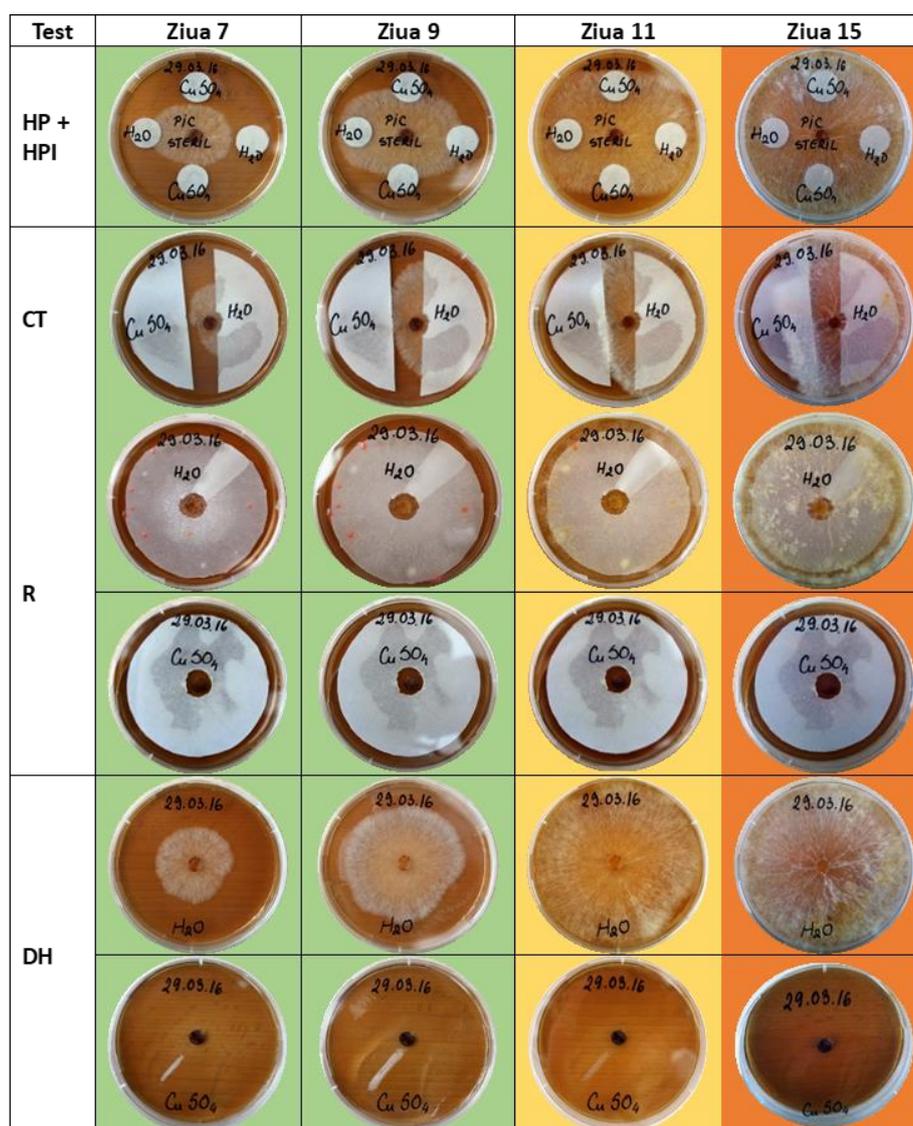


Fig. 4.5 Evoluția dezvoltării miceliului ciupercii pe probele control și cele cu sulfat de cupru, în cele cinci teste realizate experimental; cod coloristic: verde – perioade relevante pentru evaluare, galben – durata maximă de testare, portocaliu – perioadă de testare prelungită, nerelevantă<sup>24</sup>

Testul screening (VM), în care substanța testată este diluată/dispersată în mediu de cultură înainte de gelificare s-a realizat experimental doar cu ulei esențial de cimbru (T-EO) în 3 diluții direct în mediu (1:10; 1:400 și 1:800) cu două ciuperci: una de putregai brun (*Postia placenta* - PP) și una de putregai alb (*Trametes versicolor* - TV). Rezultatele detaliate sunt cuprinse în Baza de date BD-O1/4. Pentru fiecare diluție s-au făcut două probe paralele pe ciupercă. Spre deosebire de celelalte teste încercate anterior, la care principiul era cel de difuzie a substanței de testat în mediu dintr-un rezervor sau plasarea ei direct pe mediu, acest test se bazează pe otrăvirea mediului. Rezultatele obținute arată potențialul biocid al T-EO cunoscut din literatură, în toate variantele de diluție, ambele ciuperci murind după inoculare.

<sup>24</sup> [https://webbut.unitbv.ro/index.php/Series\\_II/article/view/777](https://webbut.unitbv.ro/index.php/Series_II/article/view/777)

#### 4.1.10. Validarea testului CT folosind patru tipuri de fungi

În urma etapelor anterioare s-a ales testul CT în care produsul testat este impregnat într-un material suport (hârtie) de unde poate difuza în mediu. Impregnarea hârtiilor s-a făcut tot cu BRE (sulfat de cupru și Romalit N), iar testul s-a efectuat cu patru tipuri de fungi (existente în dotarea laboratorului la acel moment), trei de putregai brun – *Coniophora puteana* (CP), *Postia placenta* (PP) și *Gloeophyllum trabeum* (GT) și una de putregai alb – *Trametes versicolor* (TV). Au fost realizate câte 3 probe paralele/test. În fiecare caz în parte s-a utilizat ca probă control apa distilată. Rezultatele sunt cuprinse în Baza de date BD-O1/2.

În figura Fig. 4.6 este prezentată dezvoltarea unei ciuperci de putregai brun (CP) pe durata a 11 zile, pentru cele două BRE studiate, utilizând testul CT.

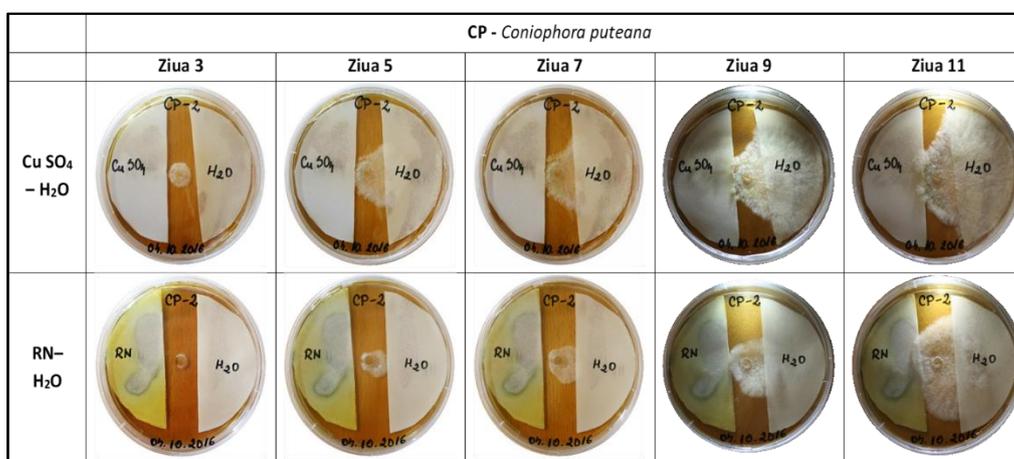


Fig. 4.6 Evoluția dezvoltării miceliului ciupercii *Coniophora puteana* CP în cazul testului CT, pentru sulfatul de cupru și Romalit N

Se poate observa că ciuperca de putregai brun *Coniophora puteana* are încă din ziua 5 o preferință clară de dezvoltare înspre zona control, cu apă distilată atât în cazul sulfatului de cupru, cât și în cazul Romalitului N. La finalul testului (ziua 11) ciuperca este crescută pe hârtia control și aproape deloc pe hârtiile tratate cu BRE.

În urma acestei etape de studiu se poate concluziona faptul că testul de tip screening CT utilizat este valid obținând rezultate concludente pentru testarea efectului antifungic indiferent de tipul de ciupercă de degradare utilizat.

#### 4.1.11. Validarea testului RS cu două tipuri de fungi

În urma unui schimb de experiență realizat la Universitatea tehnică din Zvolen, Slovacia, s-a realizat testul (RS). Acesta test de tip screening este bazat pe difuzia substanței în mediu, asemănător cu testul HPI. Și în acest caz s-au folosit aceleași substanțe cu eficiență biocidă recunoscută BRE (sulfat de cupru și Romalit N) în două concentrații (5% și 10%) cu două ciuperci de degradare, una de putregai brun *Postia placenta* – PP și una de putregai alb *Trametes versicolor* – TV. Experimentele s-au efectuat pe câte două probe paralele, iar rezultatele sunt prezentate în Baza de date BD-O1/5.

În cazul ciupercii **PP** (Fig. 4.7), ambele BRE la concentrația de 5% nu au indicat nici un fel de efect biocid, iar la concentrația de 10% cele două produse studiate au demonstrat doar o mică întârziere în dezvoltarea ciupercii, fără a arăta vreun efect biocid.

În cazul ciupercii **TV** (Fig. 4.8) în cutiile Petri cu sulfatul de cupru 5% se observă tendința ciupercii de dezvoltare înspre control și chiar și la finalul testului hârtiile tratate cu sulfat de cupru nu sunt total acoperite de miceliu. Romalitul N 5% arată doar o mică întârziere în dezvoltarea ciupercii, iar cel 10% pe lângă întârziere în dezvoltare, are și ceva efect, hârtiile tratate nefiind complet acoperite de miceliu la finalul testului, ciuperca preferând să se dezvolte în jurul lor. În cutiile Petri cu sulfat de cupru 10% se observă cel mai frumos efect biocid și cum se așteaptă de fapt să arate acest test, ciuperca dezvoltându-se preferențial înspre zona control și evitând hârtiile tratate.

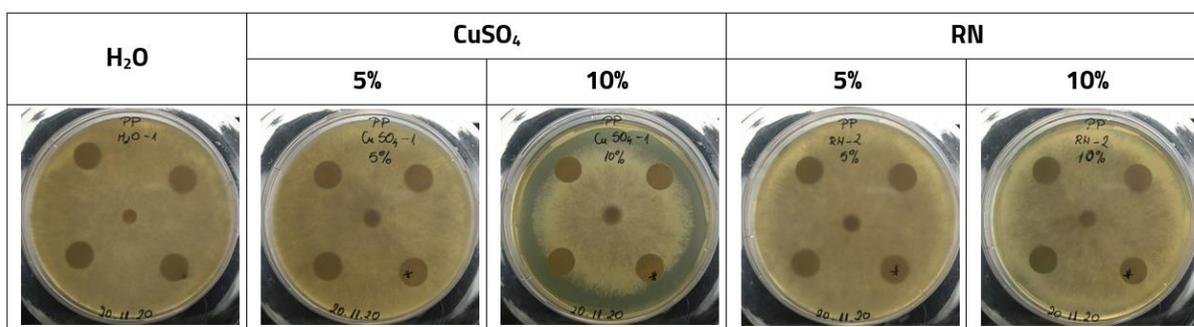


Fig. 4.7 Aspectul dezvoltării miceliului ciupercii PP la final de test (ziua 11) în cazul testului RS.

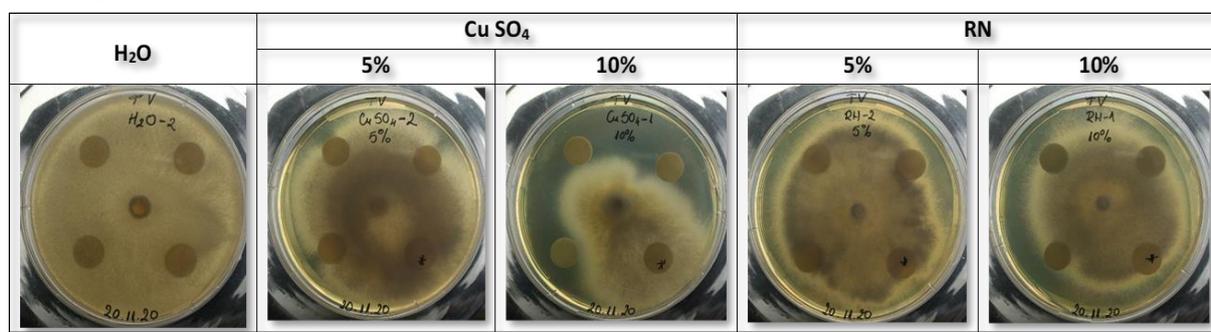


Fig. 4.8 Aspectul dezvoltării miceliului ciupercii TV la final de test (ziua 11) în cazul testului RS.

#### 4.1.12. Concluzii teste screening

Atât testul **RS** cât și testul **CT** au avut rezultate similare (Fig. 4.9) sau cu aceeași tendință, dar datorită faptului că pentru testul **RS** metoda de măsurare s-a dovedit mai fezabilă și că pentru acest test există și referințe în literatură (Pánek et al., 2014), s-a decis folosirea acestui test mai departe în cercetarea din prezenta lucrare.

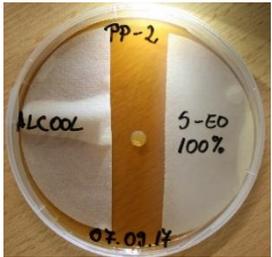
	Ulei esențial	CT	RS	Observații
TV	S-EO (0,25%)			Rezultatele testelor CT și RS coincid, neexistând semne de inhibiție a ciupercii.
PP	S-EO (100%)			Rezultatele testelor coincid, ciuperca nedevelopându-se deloc (inhibiție absolută)

Fig. 4.9 Comparare test CT și RS pentru 2 concentrații a uleiului esențial de scorțișoară și 2 ciuperci.

#### 4.2. Teste minibloc

Testele minibloc au ca scop verificarea pe lemn tratat a efectului biocid (fungicid) al unor produse cu potențial efect biocid prefigurată anterior prin teste screening. S-au realizat două tipuri de teste minibloc, prezentate în figurile Fig. 4.10 și Fig. 4.11 ca scheme principale, comparativ cu testele screening validate corespunzătoare.

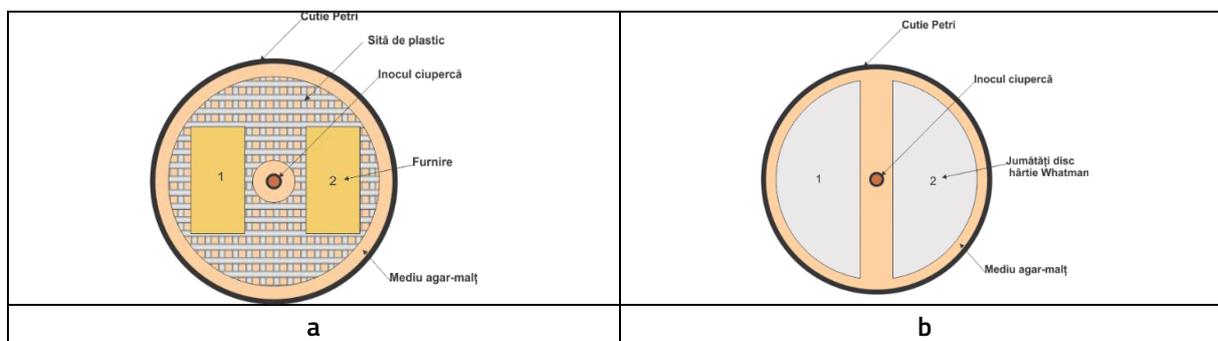


Fig. 4.10 Aspecte comparative privind modul de dispunere a epruvetelor între testul minibloc A (a) și testul screening CT (b)

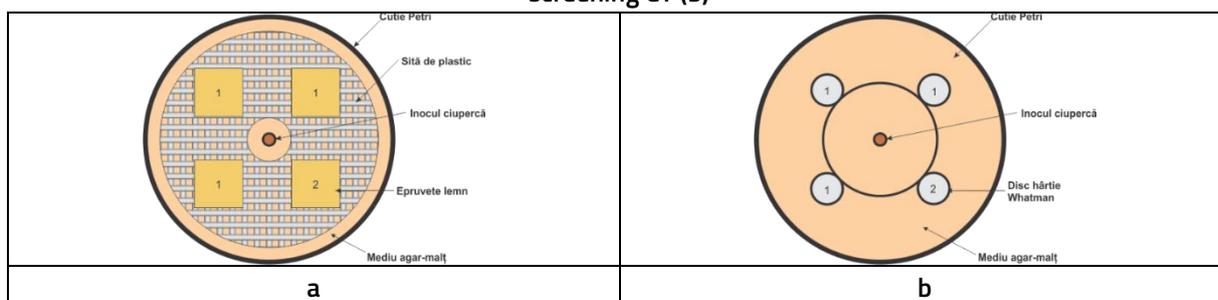


Fig. 4.11 Aspecte comparative privind modul de dispunere a epruvetelor între testul minibloc R (a) și testul screening RS (b)

Aceste teste sunt realizate conform principiilor de testare din EN 113, dar cu epruvete de mici dimensiuni, pentru reducerea timpului de testare. Testele minibloc urmăresc pierderea de masă a epruvetelor în urma atacului fungic, epruvetele fiind plasate pe un mediu de cultură inoculat cu ciuperca de testare.

Inoculul de ciupercă s-a plasat pe mediu, în poziție centrală, cu miceliul în jos în contact cu mediul. Fiecare cutie Petri a fost sigilată cu parafilm și inscripționată corespunzător. Cutiile au fost introduse în camera de cultură (CLIMACEL 404 Comfort BMT Cehia) la temperatura de  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$  și umiditatea de  $75\pm 5\%$ . Durata de testare a fost diferită pentru fiecare tip de test minibloc.

Pentru a stabili cea mai potrivită metodologie de testare a efectului biocid al uleiurilor esențiale aplicate pe lemn s-au realizat cele 2 tipuri de teste minibloc, în care s-au folosit două uleiuri esențiale, alese după studiul bibliografic.

#### 4.2.1. Testul minibloc A

Acest test este asemănător ca și mod de dispunere a epruvetelor în cutia Petri cu testul screening CT, prezentat detaliat anterior. În acest caz în loc de hârtia de filtru s-au folosit epruvete din furnire. Dispunerea epruvetelor de lemn în cutia Petri se face la fel ca la testul screening, folosind o epruvetă control și o epruvetă tratată cu soluția testată. În testul minibloc probele se așează pe o sită de plastic plasată pe mediu, iar în testul screening plasarea hârtiei (tratate) se face direct pe mediu.

#### 4.2.2. Testul minibloc R

Și pentru acest test există similitudine cu testele screening, respectiv cu testul RS. Acest test respectă modul de dispunere a epruvetelor în cutia Petri cu testul RS, prezentat detaliat anterior, doar că în acest caz în loc de hârtia de filtru se folosesc epruvete de lemn masiv. Și în acest test probele se așează pe o sită de plastic plasată pe mediu, iar în testul screening plasarea hârtiei (tratate) se face direct pe mediu.

#### 4.2.3. Realizarea testelor minibloc pentru stabilirea unui protocolului analitic al lucrării

##### 4.2.3.1. Testul minibloc A

Testul minibloc s-a efectuat pe epruvete din furnir tehnic de fag (*Fagus sylvatica*) cu grosimea de 1 mm (dimensiuni de  $40\times 20\times 1$  mm), supuse atacului fungic cu o singură ciupercă de putregai brun *Postia placenta* - PP. Ca substanță biocidă s-au folosit uleiul esențial de cimbru (*Satureja hortensis*) – codificat T-EO. Acesta s-a utilizat sub forma a trei diluții în ulei de in – codificat LO (1:800, 1:400 și 1:10) și o diluție în apă (1:10).

Epruvetele au fost aduse la masă constantă anhidră în etuvă, după care au fost imersate în soluțiile preparate pentru 15 min (Fig. 4.12 a) și ulterior menținute în condiții normale de laborator pentru 2 zile (Fig. 4.12 b) pentru întărirea uleiului /uscarea. După uscare epruvetele de furnir au fost sterilizate în hota bacteriologică, prin expunere la UV pentru 30 min pe fiecare parte.



Fig. 4.12 Etape ale tratării epruvetelor de furnir înainte de test: a – lmersia epruvetelor, b – uscarea epruvetelor în condiții de laborator

Ulterior sterilizării, o parte dintre epruvete s-au utilizat în cadrul testului, iar celelalte s-au transferat în etuvă unde au fost uscate până la masă anhidră. S-au utilizat în total un număr de 75 epruvete de furnir, dintre care 40 au mers în test, iar 35 s-au uscat până la masă constantă, fiind utilizate pentru calcul retenție de produs (Ec. 4.9) și ca probe martor de umiditate.

$$\text{Retenția de produs} = 100 \times \frac{m_{t0} - m_{i0}}{m_{i0}}, \% \quad \text{Ec. 4.9}$$

Unde:

$m_{t0}$  - masa constantă a probelor tratate (după etuvă);

$m_{i0}$  - masa constantă inițială a probelor (după etuvă).

Pentru fiecare diluție a T-EO în LO (1:800, 1:400, 1:10), în apă (1:10) și pentru LO ca atare s-au pregătit câte 3 cutii Petri după cum urmează:

- 2 cutii conținând câte două epruvete de furnir tratate în fiecare cutie;
- 1 cutie conținând câte 1 epruvetă tratată și una martor (netratată).

Pentru o mai bună monitorizare a probelor martor s-au mai montat 5 cutii Petri conținând doar probe martor, câte 2 în fiecare cutie.

Cutiile Petri s-au sigilat și s-au pus în camera climatică (CLIMACEL 404 Comfort BMT Cehia) la temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  și umiditatea de  $75 \pm 5\%$  pentru 47 de zile.

După 47 de zile de la începutul testului, epruvetele supuse degradării au fost fotografiate după curățarea miceliului aderent la suprafață (Fig. 4.13), cântărite și puse în etuvă la uscat, până la aducerea lor la masă constantă, ulterior calculându-se pierderea de masă PM (Ec. 4.10) pentru fiecare epruvetă și umiditatea ei (Ec. 4.11) la scoaterea din test.

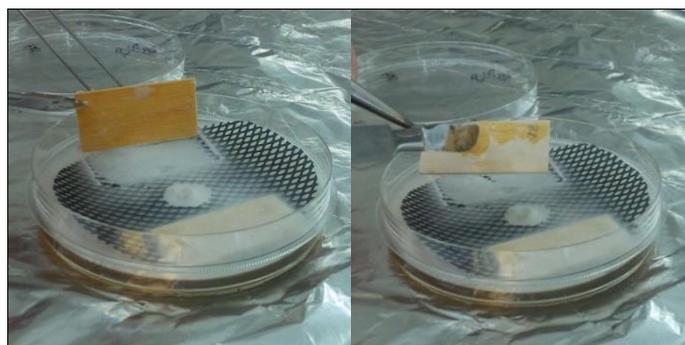


Fig. 4.13 Aspectul epruvetelor de furnir la sfârșitul testului minibloc

**Pierderea de masă** se calculează după formula următoare:

$$PM = 100 \times \frac{m_{i0} - m_{f0}}{m_{i0}}, \%$$

**Ec. 4.10**

Unde:

$m_{i0}$  - masa constantă după tratare, dată de media maselor constante după tratare a epruvetelor tratate, a celor 7 epruvete tratate și uscate, din fiecare soluție ce nu au intrat în test;

$m_{f0}$  - masa constantă finală după test a fiecărei epruvete din test.

**Umiditatea** epruvetelor la scoaterea din test se calculează:

$$U = 100 \times \frac{m_d - m_f}{m_f}, \%$$

**Ec. 4.11**

Unde:

$m_d$  - masa epruvetelor la finalul testului;

$m_f$  - masa constantă finală după test.

Deoarece uleiul esențial se degradează la temperaturi ridicate, furnirele tratate nu au putut fi uscate în etuvă după tratare, de aceea câte un număr de 7 epruvete tratate cu fiecare diluție, nu s-au pus la test ci au fost puse în etuvă, aduse la masă constantă anhidră și utilizate în calculele finale.

#### 4.2.3.2 Testul minibloc R

Pentru testele minibloc pe epruvete de lemn s-au folosit două ciuperci de putregai: una de putregai brun *Postia placenta* (PP) și una de putregai alb *Trametes versicolor* (TV). Produsul utilizat fiind de această dată uleiul esențial de cuișoare (*Eugenia caryophyllata*) – codificat C-EO. Acesta s-a utilizat sub forma a două diluții în alcool etilic (5% și 10%).

S-au folosit epruvete de lemn din două specii lemnoase: fag (*Fagus sylvatica*) neaburit și alburn de pin (*Pinus sylvestris*). Epruvetele utilizate au avut dimensiunile de 20x20x5 mm. Acestea au fost inițial condiționate în camera climatică la 22°C și 55% RH până la masă constantă, apoi au fost introduse în etuvă la 130°C pentru 18 h. Impregnarea s-a făcut în vid-presiune atmosferică (100kPa) timp de 24 h, urmată de imersie 2h (menținere timp de 2h a epruvetelor în soluțiile de tratare) în condiții de laborator. După impregnare epruvetele au fost din nou condiționate în camera climatică la 22°C și 55% RH până la masă constantă. A urmat o sterilizare în hota bacteriologică, prin expunere la UV timp de 30 min pe fiecare parte și introduse în test. La momentul începerii testului ciuperca avea o săptămână, adică era dezvoltată și acoperea întreaga suprafață a mediului din cutia Petri.

Numărul total de 76 de epruvete/specie s-au împărțit în test astfel: 13 probe martor, 21 probe control (tratate cu alcool), 21 probe tratate cu C-EO 5% și 21 probe tratate cu C-EO 10%. Dintre acestea câte 5 epruvete din fiecare nu au intrat în test, au fost puse în etuvă până la masă anhidră și au fost folosite ca epruvete martor de umiditate.

În test pentru fiecare situație s-au folosit 6 cutii Petri/specie/ciupercă, în total s-au folosit 12 cutii Petri/ ciupercă:

- 1 cutie conținând 4 epruvete martor (netratate);
- 1 cutie conținând 4 epruvete control (tratate cu alcool);

- 2 cutii/diluție conținând fiecare câte 3 epruvete tratate (cu soluții 5% sau 10%) și una control (alcool).

Alte 4 cutii Petri au fost montate pentru corecții ale pierderilor de masă. Aceste cutii nu sunt inoculate cu ciupercă, conținând doar câte 4 epruvete tratate (cu soluții 5% sau 10%) din fiecare specie.

Toate cutiile s-au sigilat și s-au pus în camera climatică (CLIMACEL 404 Comfort BMT Cehia) la temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  și umiditatea de  $75 \pm 5\%$  pentru 61 de zile.

S-a calculat: absorbția de produs (exprimată procentual și în  $\text{kg}/\text{m}^3$ ) (Ec. 4.12, Ec. 4.13), retenția de produs (exprimată procentual și în  $\text{kg}/\text{m}^3$ ) (Ec. 4.9) și umiditatea la introducerea în test a epruvetelor (umiditate de echilibru după condiționare la umiditate relativă a aerului  $\text{RH } 55 \pm 3\%$  și temperatură de  $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ) (Ec. 4.14).

Formulele de calcul sunt după cum urmează:

**Absorbția:**

$$\text{Abs} = 100 \times \frac{m_t - m_0}{m_0}, \%$$

Ec. 4.12

$$\text{Abs} = 1000 \times \frac{m_t - m_0}{V_e}, \text{kg}/\text{m}^3$$

Ec. 4.13

Unde:

- $m_t$  - masa udă după tratare a epruvetelor;
- $m_0$  - masa înainte de tratare a epruvetelor;
- $V_e$  - volumul în  $\text{m}^3$  a epruvetelor.

**Umiditatea** la introducerea în test se obține pe probe martor de umiditate neintroduse în test prin următoarea formulă:

$$U = 100 \times \frac{m_{tc} - m_{fa}}{m_{fa}}, \%$$

Ec. 4.14

Unde:

- $m_{tc}$  - masa constantă după condiționarea epruvetelor tratate;
- $m_f$  - reprezintă masa constantă anhidră după condiționarea epruvetelor tratate.

După o perioadă de 61 de zile, epruvetele supuse degradării au fost scoase din cutii (Fig. 4.14), fotografiate, curățate de miceliu, cântărite, puse în etuvă la uscat până la aducerea lor la masă constantă și apoi puse la condiționat în camera climatică la  $22^\circ\text{C}$  și  $55\% \text{RH}$  până la masă constantă.

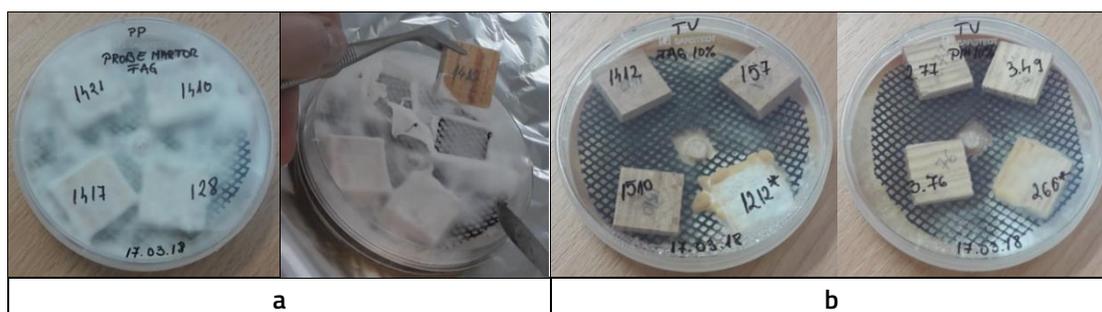


Fig. 4.14 Aspecte ale epruvetelor de pin și fag din cutiile Petri la sfârșitul testului minibloc: a - *Postia placenta* și b - *Trametes versicolor*

Ulterior s-au calculat pierderea de masă PM (Ec. 4.15.), pierderea de masă PM corectată (Ec. 4.16), reducerile de pierdere de masă necorectată (Ec. 4.17) și corectată (Ec. 4.17) pentru fiecare epruvetă precum și umiditatea probelor la scoaterea din test (Ec. 4.18).

**Pierderea de masă** se calculează după formula următoare:

$$PM = 100 \times \frac{m_{i0} - m_{f0}}{m_{i0}}, \% \quad \text{Ec. 4.15}$$

Unde:

- $m_{i0}$  - masa constantă după condiționare a probelor tratate;
- $m_{f0}$  - masa constantă finală după test a fiecărei epruvete din test.

Corecția se face scăzând din valorile pierderilor de masă calculate inițial media pierderilor de masă a probelor din cutiile Petri puse special în acest scop. Epruvetele din aceste cutii au fost tratate exact la fel ca și celelalte, doar că au fost plasate în cutii Petri ce nu conțineau nici un tip de ciupercă, pierderile de masă în acest caz, reprezentând pierderile naturale a unor compuși din lemn fără intervenția ciupercilor.

**Pierderea de masă corectată** se obține după următoarea formulă:

$$PM_{corectată} = PM - PM_{corecție}, \% \quad \text{Ec. 4.16}$$

Unde :

- PM - media pierderilor de masă a epruvetelor tratate;
- $PM_{corecție}$  - media pierderilor de masă a epruvetelor pentru corecție.

**Reducerea de pierdere de masă** se calculează:

$$RPM = 100 \times \frac{(PM_c - PM_p)}{PM_c}, \% \quad \text{Ec. 4.17}$$

Unde:

- $PM_c$  - media pierderilor de masă a probelor control plasate în aceeași cutie Petri cu cele tratate;
- $PM_p$  - media pierderilor de masă a probelor tratate.

**Umiditatea** epruvetelor la scoaterea din test se calculează:

$$U = 100 \times \frac{m_d - m_f}{m_f}, \% \quad \text{Ec. 4.18}$$

Unde:

- $m_d$  - masa epruvetelor la finalul testului;
- $m_f$  - masa constantă anhidră după test.

#### 4.2.4. Validarea testelor minibloc

##### 4.2.4.1. Testul minibloc A

Pentru validarea testelor în Fig. 4.15 sunt prezentate retenția de produs de tratare pentru probele de furnir tratate și pierderile de masa aferente.

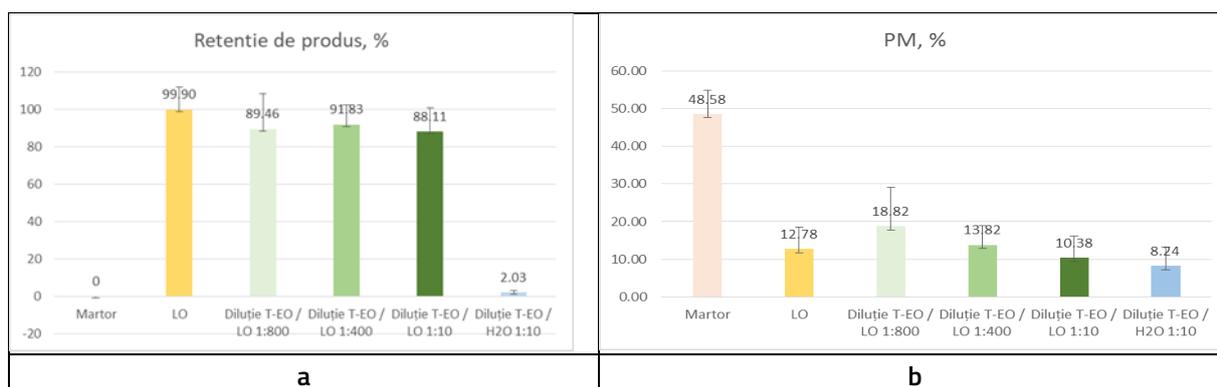


Fig. 4.15 Retenția de produs de tratare și pierderea de masă după testul minibloc (PM, %)

Se constată că pentru probele tratate cu ulei de in retenția de produs este de 99,90%, iar pentru probele tratate cu ulei de in modificat cu EO în jur de 90%, fără diferențe semnificative funcție de proporția de EO în uleiul de in, ce este în toate cazurile produsul net majoritar. Diferența notabilă față de probele tratate cu emulsie apoasă (retenție circa 2%) este perfect explicabilă prin faptul că mediul de dispersie este apa, ce se evaporă prin uscare. În cazul uleiului de in vorbim despre un material peliculogen, cu conținut de substanță uscată de circa 50% corp solid rezultat prin procesul de întărire chimică (polimerizare oxidativă) și evaporarea solvenților. Cea mai ridicată valoare pentru pierderea de masă este înregistrată pentru proba martor, respectiv 48,58%. Tratarea cu LO a condus la un efect de protecție, valoarea medie a PM scăzând la 12,78%. Modificarea LO cu T-EO nu a avut însă efectul scontat de mărire a efectului de protecție antifungică, un ușor efect de scădere a pierderii de masă obținându-se doar la diluția de 1:10 a T-EO în LO. La concentrații mai mici de T-EO s-a observat un ușor efect de diminuare a protecției antifungice conferită de LO prin formarea unui film protector intern/extern ca urmare a procesului de întărire. În cazul testelor pe epruvete tratate cu T-EO în apă la aceeași diluție (1:10) s-a obținut un efect de protecție antifungică aproximativ similar (PM= 8,24%).

Testul minibloc A realizat a confirmat efectul biocid antifungic al uleiului esențial de cimbru (*Satureja hortensis*)-T-EO, relevat de testele screening. Testul a scos în evidență importanța concentrației și a mediului de diluție a T-EO.

#### 4.2.4.2. Testul minibloc R

Acest test s-a realizat cu ulei esențial de cuișoare C-EO diluat în alcool etilic la concentrații de 5% și 10%. În tabelul Tab. 4.1 sunt prezentate valorile indicilor privind caracteristicile probelor înainte de intrarea în testul minibloc R. Valorile absorbției și retenției de produs sunt date de mediile tuturor probelor care corespund categoriei de tratare, indiferent de testul în care au fost implicate ulterior (ex. tip ciupercă, probă test sau control umiditate). Umiditatea este determinată doar pe probele control de umiditate, respectiv cele 5 epruvete din fiecare tip de tratare nesupuse degradării, destinate special pentru acest scop).

Tab. 4.1 Caracteristicile probelor înainte de intrarea în testul minibloc

Specia	Indice	Control alcool	Probe 5% C-EO	Probe 10% C-EO	Specia	Indice	Control alcool	Probe 5% C-EO	Probe 10% C-EO
PIN	Ue, %	10,69	9,69	9,16	FAG	Ue, %	9,82	8,40	7,51
		0,16	0,07	0,16			0,13	0,10	0,22
	Abs, %	64,33	62,27	58,42		Abs, %	56,30	51,89	52,05
		3,50	4,72	2,63			2,10	1,20	1,37
	Abs, Kg/m <sup>3</sup>	254,34	241,00	231,63		Abs, Kg/m <sup>3</sup>	362,38	333,91	335,44
		12,21	16,24	15,47			11,44	6,83	7,44
	Retentie, %	-0,73	0,76	2,24		Retentie, %	1,22	2,45	4,04
		0,39	0,61	0,27			0,18	0,21	0,27
	Retentie, kg/m <sup>3</sup>	-3,22	3,22	9,81		Retentie, kg/m <sup>3</sup>	8,56	17,13	28,31
		1,73	2,42	1,21			1,26	1,32	1,70

Analizând datele din tabel se constată că în cazul epruvetelor de fag absorbția și retenția de produs au valori mai ridicate decât în cazul epruvetelor de alburn de pin, fapt explicabil prin diferența de impregnabilitate dintre cele două tipuri de material lemnos.

Tratarea cu ulei esențial a condus la reducerea higroscopicității probelor, astfel în cazul probelor tratate umiditatea de echilibru scade odată cu creșterea concentrației soluției.

Rezultatele privind pierderea de masă sunt prezentate în Tab. 4.2, ce conține valorile medii corectate ale PM, reducerea PM, precum și umiditatea probelor.

Tab. 4.2 Valorii medii ale pierderilor de masă cu corecții și reducerea pierderii de masă, în corelație cu umiditatea probelor în timpul testului

Ulei C-EO		Pierderi de masă PM, % valori medii - cu corecții - rezultate în corelație cu umiditatea probelor în timpul testului								
Specia	Martor	Control-alcool	Probe 5% C-EO			Probe 10% C-EO				
			Control	Probe corectate	Reducere PM corectată, %	Control	Probe corectate	Reducere PM corectată, %		
PIN	PP	22,77	28,50	3,90	0,91	76,80	0,63	0,88	-40,10	
		62,56	86,38	77,30	43,53		30,45	53,45		Umiditate
	TV	7,66	6,10	11,13	5,45	51,08	12,02	2,93	75,64	
		34,66	28,28	36,44	42,73		33,88	31,36		Umiditate
FAG	PP	20,26	23,54	12,38	0,39	96,89	4,44	-0,50	111,36	
		68,64	75,05	40,55	48,87		49,64	55,33		Umiditate
	TV	12,12	16,81	30,77	10,56	65,67	29,81	2,59	91,32	
		37,87	34,87	42,76	38,58		46,95	38,19		Umiditate

Pentru TV, epruvetele martor și cele control plasate singure într-o cutie Petri prezintă pierderi de masă neașteptat de mici, atât pentru pin cât și pentru fag, fapt ce se poate corela cu umiditatea mai scăzută a acestor probe.

Considerând epruvetele control și tratate plasate în aceeași cutie (condiții similare de dezvoltare a ciupercii), se constată efectul fungicid al C-EO prin reducerea pierderilor de masă față de epruvetele control astfel:

- pentru fag: 65.67% la C-EO 5% și 91.32% la C-EO 10%;
- pentru alburn de pin: 51.08% la C-EO 5% și 75.64% la C-EO 10%.

Comparând valorile reducerilor pierderii de masă pentru aceeași concentrație a soluției de tratare și aceeași specie, se observă că efectul antifungic este mai puternic față de ciuperca de putregai brun **PP** față de ciuperca de putregai alb **TV**.

#### 4.2.5. Concluzii teste minibloc

Testul minibloc **R** este validat pentru a se folosi în continuare, atât datorită rezultatelor obținute în această primă etapă de folosire cât și datorită apropierii de cerințele standardului EN 113.

Un alt aspect important de menționat în urma acestor teste este că uleiul esențial de cimbru (*Satureja hortensis*) – codificat **T-EO** și cel de cuișoare (*Eugenia caryophyllata*) – codificat **C-EO** prezintă efect fungicid, reducând pierderile de masă ale epruvetelor tratate, efectul fiind mai puternic față de **PP** decât față de **TV**.

Degradarea fungică este strâns legată de umiditatea din lemn, pentru o umiditate ridicată rezultă o degradare mai accentuată, astfel s-a stabilit ca în continuare condiționarea epruvetelor să fie făcută la 65% RH în loc de 55% RH.

Diferențele notabile de umiditate între probe ce s-au aflat în aceeași cutie Petri (condiții absolut similare) ar putea fi datorate neomogenității materialului lemnos.

#### 4.3. Test fitotoxicitate

Evaluarea impactului de mediu este una din căile cele mai moderne de abordare a relațiilor dintre componentele de mediu și societatea umană. În literatura de specialitate există peste 50 de metodologii de evaluare a impactului antropic și social (Barrow, 2007), neexistând o sinteză a principalelor metode și tehnici care pot fi aplicate într-un teritoriu dat. Această evaluare a impactului environmental urmează în general următoarele etape (Barrow, 2007):

- identificarea și măsurarea impactului;
- evaluarea impactului, care implică predicția și interpretarea lui;
- comunicarea impactului (celor care iau decizii sau opiniei publice).

În contextul protecției lemnului impactul ecologic poate să fie atât direct (în momentul aplicării tehnologiei de tratare a lemnului) cât și indirect (prin substanțele care ajung să influențeze diferite componente de mediu prin folosirea lemnului tratat). Un impact indirect mare au substanțele lavabile aplicate pe lemnul cu utilizare în exterior sau care ajunge depozitat/aruncat în exterior după ieșirea din perioada de folosință. Multe dintre substanțele folosite în trecut pentru protecția lemnului conțineau metale grele, iar acestea au proprietatea nedorită de a se bioacumula sau chiar bioamplifica pe parcursul lanțului trofic (Ferraz et al., 2022; Reinprecht, 2010). În momentul pătrunderii în organismul uman, concentrația inițială a acestora este mult crescută și ajung să se fixeze în organismul uman provocând diferite dezechilibre și boli.

Interesul este să se găsească alternative eficiente ale produselor de bioprotecție a lemnului dar cu toxicitate redusă și evident impact ecologic redus.

În urma cercetărilor bibliografice s-a ales un test de fitotoxicitate realizat pe semințe, în care se analizează atât calitativ, vizual, cât și cantitativ modul în care o substanță influențează germinarea și creșterea germenilor (Roccotiello et al., 2011). Teste asemănătoare testului ales se comercializează sub formă de kituri de testare.<sup>25</sup>

#### 4.3.1. Validarea testului de fitotoxicitate TF

Pentru validarea testului s-au utilizat soluții BRE (sulfat de cupru și Romalit N).

În cutii Petri standard ( $\phi$  100 mm și  $\phi$  90 mm) s-au plasat discuri din hârtie de filtru Whatman nr.3 curate și sterilizate în hota bacteriologică prin expunere la UV câte 10 minute pe fiecare parte, pe care s-au pus semințe de salată/creson.

Într-o cutie Petri, pe o hârtie de filtru se așează 20 de semințe peste care se adaugă un volum de 2 ml de soluție (Fig. 4.16). Cutia se acoperă, se sigilează cu parafilm și se pune în întuneric în camera climatică la 23°C și 70% RH pentru 72h.

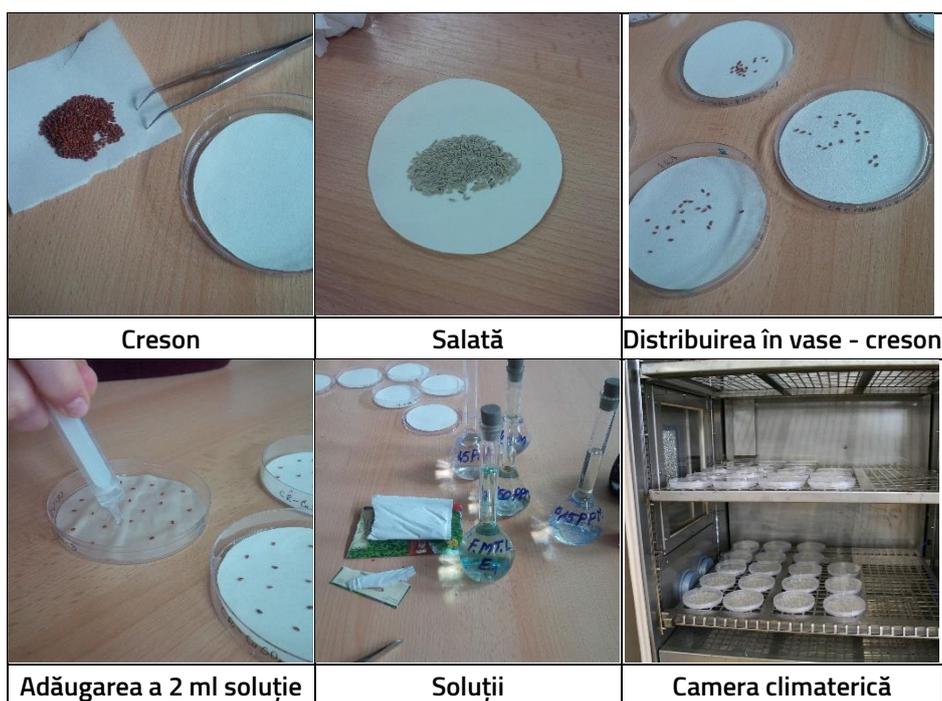


Fig. 4.16 Etapele testului de fitotoxicitate

După această perioadă fiecare cutie este atent examinată determinându-se pentru fiecare sămânță dacă a germinat sau nu și se măsoară lungimea germenului, cu ajutorul hârtiei milimetrice.

<sup>25</sup><https://www.microbiotests.com/toxkit/phytotoxicity-test-with-phytotoxkit-liquid-samples/>

Pentru fiecare cutie se calculează indicele procentual de germinare (Ec. 4.19) și lungimea medie a germenilor (Ec. 4.20). Testele s-au realizat pe câte 3 probele paralele pentru fiecare soluție testată și concentrație, calculându-se ulterior valoarea medie.

**Procentul de germinare** se calculează după următoarea formulă:

$$PG = 100 \times \frac{N_g}{20}, \% \quad \text{Ec. 4.19}$$

Unde:

$N_g$  - numărul de semințe germinate dintr-o cutie Petri

20 - numărul de semințe dintr-o cutie Petri

**Lungimea medie a germenilor** se obține din:

$$LMG = \frac{S_g}{N_g}, mm \quad \text{Ec. 4.20}$$

Unde:

$S_g$  - suma lungimilor germenilor dintr-o cutie Petri

$N_g$  - numărul de semințe germinate dintr-o cutie Petri

În urma acestei faze de validare s-a constatat că testul **TF** este potrivit pentru a fi utilizat în continuare în cercetare și s-a decis folosirea exclusiv a semințelor de salată, deoarece au avut o creștere mai pronunțată și au dovedit o mai bună maleabilitate în momentul măsurării lungimii germenilor.

#### 4.3.2. Implementarea testului de fitotoxicitate TF în cazul produselor de protecție a lemnului

Pentru a putea fi testat cât mai corect potențialul efect fitotoxic al produselor folosite în tratarea lemnului (epruvetele de la testul minibloc **R**) a fost necesară efectuarea unui test anterior testului de fitotoxicitate, cu scopul de a obține soluțiile folosite în testul **TF**.

Astfel s-a realizat un test de spălare cu apă distilată a epruvetelor de lemn tratate (**C-E0**) pentru testul minibloc **R**, conform SR EN 84:2000.

S-a folosit apă distilată, 5 volume de apă la 1 volum de probă (material lemnos).

Au rezultat în final 3 ape de spălare, în care s-au extras substanțele lavabile:

- Prima apă s-a obținut prin impregnarea cu apă a probelor în vid (40 mbari) timp de 20 minute – codificată E1;
- A doua apă a rezultat din imersia probelor (după impregnare în vid, după E1) timp de 24 h, în condiții normale de laborator – codificată E2;
- A treia apă s-a obținut prin imersarea probelor timp de 48 h, după obținerea E2 – codificată E3.

Aceste ape au fost utilizate în testul **TF**, folosindu-se la umezirea substratului (hârtiei de filtru) pe care au germinat semințele de salată.

În Fig. 4.17 este prezentat un exemplu de rezultat grafic obținut în care sunt reprezentate procentul de germinare (stânga) și lungimea medie a germenilor (dreapta) pentru apele de spălare obținute de pe lemnul de Pin supus testului de spălare.

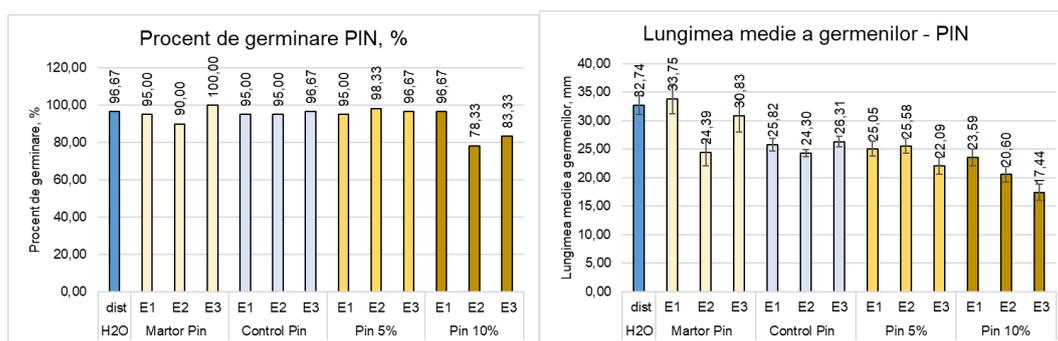


Fig. 4.17 Procentul de germinare (stânga) și lungimea medie a germenilor (dreapta) pentru fiecare apă de spălare pe lemnul de pin comparativ cu apa distilată

Se observă că uleiul esențial de cuișoare (C-EO) are un oarecare efect fitotoxic, care crește odată cu concentrației soluției de tratare a lemnului. Procentul de germinare este foarte puțin afectat în cazul concentrației de 5% C-EO, dar se vede că lungimea medie a germenilor este mai redusă decât în cazul apei distilate. La o concentrație de 10% ambii parametrii calculați arată scădere față de control, apă distilată.

#### 4.3.3. Concluzii test fitotoxicitate TF

Testul TF ales, completat cu testul anterior de spălare este potrivit pentru a putea analiza eco-impactul pe care îl poate avea un produs de tratare a lemnului.

#### 4.4. Concluzii

Primul obiectiv al cercetării a fost realizat stabilindu-se metodologii și teste pentru toate cele trei tipuri de analize dorite.

Pentru evaluarea potențialului biocid antifungic al unor uleiuri esențiale s-a decis folosirea testului screening RS.

Studierea eficienței pe lemn a efectului biocid antifungic al uleiurilor care au trecut de testele screening se va realiza prin testul minibloc R.

Evaluarea impactului asupra mediului se va evalua pe baza rezultatelor obținute prin testul de fitotoxicitate TF, cuplat cu testul anterior de spălare de pe lemn a substanțelor lavabile, conform SR EN 84:2000, dar se vor realiza toate cele 10 etape de spălare cu apă distilată normate. Extractele apoase folosite vor fi E1, E5, E10, pentru a evidenția evoluția impactului ecologic în timp.

## Capitolul 5 - Identificarea și caracterizarea unor uleiuri esențiale cu potențial efect biocid antifungic

Uleiurile esențiale, obținute prin extracția din diverse plante aromatice, reprezintă o sursă valoroasă de compuși naturali cu un potențial remarcabil în protecția lemnului împotriva acțiunii distructive a ciupercilor de putregai. Așa cum s-a evidențiat în capitolul 1, aceste uleiuri conțin o gamă largă de substanțe bioactive, precum terpenele, fenolii și alcooli, care prezintă proprietăți antifungice semnificative. Mecanismul de acțiune al acestor compuși se bazează pe capacitatea lor de a perturba integritatea membranei celulare a ciupercilor, de a inhiba sinteza de proteine esențiale și de a interfera cu procesele metabolice cheie, conducând astfel la inhibarea creșterii și dezvoltării acestor organisme dăunătoare.

Identificarea și caracterizarea uleiurilor esențiale cu potențial antifungic reprezintă un pas crucial în dezvoltarea unor alternative naturale și durabile la produsele biocide utilizate în prezent pentru protecția lemnului împotriva ciupercilor de putregai.

Acest capitol se concentrează pe analiza detaliată a compoziției chimice a unor uleiuri esențiale, aspect deosebit de important pentru înțelegerea și explicarea modului în care acestea interacționează cu ciupercile lignicole, precum și cu solvenții/mediile de diluare sau suportul lemnos tratat.

Pe baza unei analize bibliografice amănunțite, au fost identificate în literatura de specialitate diverse uleiuri esențiale cu potențial antifungic, care ar putea fi utilizate împotriva ciupercilor de putregai ce afectează lemnul. Astfel, pentru cercetările efectuate și prezentate în cadrul acestei lucrări s-au ales inițial cinci uleiuri esențiale: **B-EO** (*Ocimum basilicum*), **C-EO** (*Eugenia caryophyllata*), **O-EO** (*Origanum vulgare*), **S-EO** (*Cinnamomum verum*) și **T-EO** (*Satureja hortensis*).

Cunoașterea compoziției chimice a acestor uleiuri esențiale reprezintă fundamentul necesar pentru a putea evalua eficacitatea lor, precum și pentru a dezvolta noi formulări și strategii de aplicare a acestora în vederea protejării lemnului împotriva degradării biologice.

Caracterizarea uleiurilor esențiale din punct de vedere al compoziției chimice reprezintă un proces dificil, care necesită utilizarea unei game largi de tehnici analitice avansate, uleiurile esențiale fiind amestecuri complexe în care se regăsesc, în proporții diferite, un număr mare de compuși chimici individuali foarte diferiți.

### 5.1. Aspecte metodologice

În cadrul ICDT Brașov, s-a recurs la spectroscopia FT-IR (BRUKER ALPHA) cu modul ATR pentru analiza compoziției uleiurilor esențiale, această metodă fiind una dintre cele utilizate pe plan mondial în acest scop (ex. Al Tameme et al., 2015; Valderrama & Rojas De, 2017; Chambre et al., 2020; Popa, Socaci, et al., 2021 a; Tarhan et al., 2022).

În cercetarea de față s-a recurs la analiza probelor sub formă de picături, metodă ce a permis înregistrarea unor spectre de absorbție în IR de înaltă rezoluție și acuratețe ale uleiurilor esențiale,

conform metodei detaliate în capitolul 3. Complexitatea compoziției uleiurilor esențiale se reflectă și în complexitatea spectrelor obținute, a căror interpretare riguroasă este un demers cu dificultate ridicată. Astfel, multe benzi de absorbție caracteristice unor elemente structurale (tipuri de legături, grupări de atomi, grupări funcționale) comune pentru compuși organici diferiți nu pot fi univoc atribuite, iar contextul complex în care se regăsesc pot determina deplasări față de numerele de unde caracteristice și/sau cumulări de benzi de absorbție individuale în benzi compuse. Totuși, analiza în detaliu a listei picurilor de absorbție cu valorile numerelor de undă înregistrate în comparație cu date din literatura de specialitate, a permis atribuirea benzilor specifice unor compuși chimici principali (majoritari) în compoziția uleiurilor esențiale studiate. Mai important însă, este faptul că prin analiza FTIR comparativă a celor 5 uleiuri esențiale s-au putut sesiza o serie de elemente de diferențiere (picuri specifice). Diferențele între spectrele FTIR ale celor 5 uleiuri esențiale reflectă compoziția chimică diferită a acestora, cu consecințe asupra proprietăților lor biocide.

În mod complementar, la Facultatea de Știința și Ingineria Mediului din cadrul Universității Babeș-Bolyai Cluj-Napoca, uleiurile au fost investigate prin tehnica GC-MS (gaz cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă), conform metodologiei detaliate în capitolul 3. Această metodă performantă de analiză, utilizată frecvent în investigarea compoziției complexe a EO (ex. Vasile et al., 2017; Skubij & Dzida, 2019; Chambre et al., 2020; Popa, Socaci, et al., 2021 b; Al Kamaly et al., 2023) permite separarea componentelor individuali ai amestecurilor complexe, detectarea individuală a componentelor și identificarea lor pe baza spectrelor de masă. Compararea minuțioasă a spectrelor de masă obținute pentru fiecare dintre componentele separate cu cele ale compușilor din librăria de spectre NIST<sup>26</sup> a facilitat identificarea cu un grad înalt de certitudine a constituenților uleiurilor. Specificăm că în prelucrarea rezultatelor au fost luați în considerare doar acei compuși pentru care probabilitatea de identificare a depășit pragul de 50%.

## 5.2. Fișe de caracterizare a uleiurilor esențiale

Prin compilarea rezultatelor obținute în urma analizelor de laborator (FTIR, GC-MS) cu informațiile furnizate de comerciant și cu alte date din bibliografia consultată, s-a realizat o evaluare detaliată a profilului și calității fiecărui ulei esențial. Aceste date au fost sintetizate în **fișe de caracterizare** pentru fiecare **ulei esențial**, oferind o imagine completă asupra acestor produse.

Fișele de caracterizare a celor 5 uleiuri esențiale se regăsesc în forma lor integrală în secțiunea de Baze de date BD-O2 și cuprind următoarele părți:

- I. Date de identificare detaliate a produsului, specificându-se denumirea comercială, tipul de ulei și aplicațiile recomandate.
- II. Proprietăți fizico-chimice ale uleiului și alte caracteristici relevante, conform fișelor tehnice.
- III. Informații despre compoziția chimică a uleiului, conform fișelor tehnice, indicându-se principalele componente și procentajul acestora, completate cu numerele CAS de identificare ale componentelor chimici principali și formulele structurale ale acestora.

<sup>26</sup> <https://www.nist.gov/srd/nist-standard-reference-database-1a>

- IV. Informații toxicologice și ecologice care să ofere indicații asupra potențialelor riscuri asociate utilizării uleiului și a impactului acestuia asupra mediului înconjurător, în măsura disponibilității acestora.
- V. Compoziție chimică determinată experimental prin GC-MS în cadrul cercetării
- VI. Sintează date comparative din literatura de specialitate privind compoziție chimică a sortimentelor de uleiuri esențiale considerate determinate prin GC-MS în alte cercetări.
- VII. Analiză FTIR realizată experimental în cadrul cercetării, cuprinzând spectrele înregistrate, lista maximelor de absorbție și atribuirea acestora pe baza datelor din librării de spectre și literatura de specialitate.

Aceste informații referitoare la compușii chimici prezenți joacă un rol esențial în analiza comportamentului uleiurilor esențiale în timpul testelor de laborator, precum și a interacțiunilor acestora cu alte materiale. Totodată ele permit corelații/concluzii fundamentate cu privire la eficiența și potențialele domenii de utilizare și implementare a uleiurilor esențiale.

### 5.3. Analiză comparativă a celor 5 uleiuri esențiale

În această secțiune se prezintă o analiză comparativă a principalelor proprietăți fizice și a compoziției chimice determinate experimental (analize GC-MS și FTIR) pentru cele 5 uleiuri esențiale: **B-EO (busuioc)**, **C-EO (cuișoare)**, **O-EO (oregano)**, **S-EO (scorțișoară)** și **T-EO (cimbru)** considerate în această cercetare. Analiza a fost realizată pe baza datelor și rezultatelor experimentale din fișele individuale de caracterizare a uleiurilor esențiale.

#### 5.3.1. Proprietăți fizice

Datele comparative pentru cele 5 uleiuri esențiale sunt centralizate în tabelul Tab. 5.1

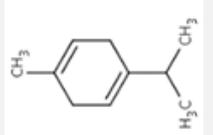
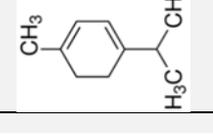
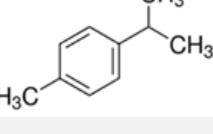
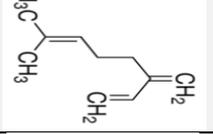
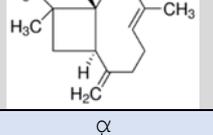
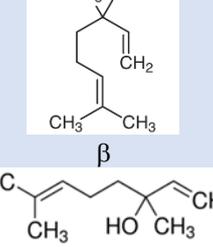
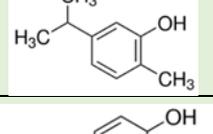
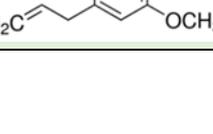
Tab. 5.1 Proprietăți fizico-chimice comparative ale celor 5 uleiuri esențiale utilizate

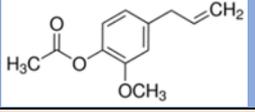
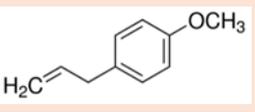
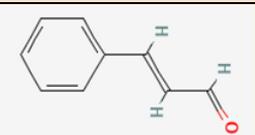
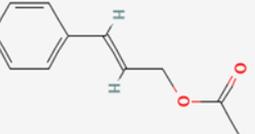
Nr.Crt.	Caracteristică	B-EO	C-EO	O-EO	S-EO	T-EO
1	Aspect	lichid omogen limpede				
2	Culoare	galben pal	galben, galben- brun	galben pal – brun roșcat	galben– brun roșcat	galben – brun gălbui
3	Miros	caracteristic	caracteristic	aromatic, fenolenic	caracteristic: puternic, picant, cald	caracteristic. fenolic
4	Punct de inflamabilitate	> 110°C	+100°C	+65°C	115°C	+64°C
5	Densitate la 20 °C, [g/cm <sup>3</sup> ]	0.936 (25°C)	1.042 - 1.065	0.940 - 0.980	0.990 - 1.050	0.875 - 0.954
6	Indice de refracție la 20°C	1.5042 (25°C)	1.528 - 1.538	1.495 - 1.525	1.545 - 1.600	1.486 - 1.505
7	Rotație optică la 20°C	- 6.1°	nespecificat	-3 ° la +1°	-3 ° la +2°	-5° la +4°
8	Solubilitate	Etanol, Cloroform	Etanol	Etanol Uleiuri	Etanol Uleiuri	Etanol

### 5.3.2. Compoziție chimică determinată prin GC-MS

În tabelul Tab. 5.2 se prezintă comparativ date privind compușii chimici principali (cu concentrații peste 3%) din compoziția celor 5 uleiuri esențiale, conform datelor din fișele tehnice/buletine de analiză producător, compoziția chimică completă fiind prezentată în fișele de caracterizare ale uleiurilor.

Tab. 5.2 Compoziția chimică comparativă a celor 5 uleiuri esențiale utilizate experimental: compuși chimici cu concentrații  $\geq 3\%$  conform datelor din fișele tehnice/buletine analiză

Nr. Crt.	Component chimic	CAS Formulă Clasă compuși	Formulă structurală	Compoziție procentuală [%]				
				B-EO	C-EO	O-EO	S-EO	T-EO
1	$\gamma$ -Terpinen	99-85-4 $C_{10}H_{16}$ Monoterpene				4.37		20-40
2	$\alpha$ -Terpinen	99-86-5 $C_{10}H_{16}$ Monoterpene						<5
3	p-Cimen	99-87-6 $C_{10}H_{14}$ Hc. aromatică (monoterpenă dehidrogenată)				6.34	<5	5-18
4	Mircen	123-35-3 $C_{10}H_{16}$ Monoterpene						<5
5	Beta-cariofilen	87-44-5 $C_{15}H_{24}$ Sesquiterpene			5.46		<10	
6	Linalol	598-07-2 ( $\alpha$ ) 78-70-6 ( $\beta$ ) $C_{10}H_{18}O$ Alcool terpenic		17.11			3	
7	Carvacrol	499-75-2 $C_{10}H_{14}O$ Fenol				68.64		30-50
8	Eugenol	97-53-0 $C_{10}H_{12}O_2$ Fenol			82.63		3	

Nr. Crt.	Component chimic	CAS Formulă Clasă compuși	Formulă structurală	Compoziție procentuală [%]				
				B-EO	C-EO	O-EO	S-EO	T-EO
9	Eugenil acetat	93-28-7 C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> Ester fenolic			9.88			
10	Taragon (Metil-Chavicol Estragol)	140-67-0 C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O Eter fenolic		75.64				
11	Cinam aldehydă (trans)	14371-10-9 C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O Aldehydă aromatică					40-70	
12	Cinamil acetat	103-54-8 C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> Ester aromatic					<10	

Prin analiza datelor din tabel rezultă că în compoziția celor 5 uleiuri esențiale se regăsesc în proporție de minimum 3% un număr de 12 componenți chimici individuali și anume: 4 hidrocarburi cu structură monoterpenică C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> sau derivată din aceasta ( $\alpha$ -terpinen,  $\gamma$ -terpinen, mircen, p-cimen), 1 sequiterpenă C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> ( $\beta$ -cariofilen), 4 compuși de tip mono-terpenoide cu structuri derivate din terpene și grupări funcționale de tip alcool ( $\beta$ -linalol), fenol (carvacrol, eugenol), eter (metil-chavicol *sin.* taragon, estragol), 1 aldehydă aromatică (aldehydă cinamică) și doi derivații funcționali de tip esteric rezultați din aceștia (acetat de eugenil, acetat de cinamil).

Se observă totodată că pentru 4 din cele 5 EOs se evidențiază clar câte un component majoritar, și anume: estragol (B-EO), eugenol (C-EO), carvacrol (O-EO), aldehydă cinamică (S-EO). Pentru T-EO sunt indicați 2 compuși majoritari:  $\gamma$ -terpinen (20-40%) și carvacrol (30-50%), precum și o variabilitate mare a concentrației acestora.

În acest context, este important de specificat faptul că există în general o variabilitate a compoziției uleiurilor esențiale dintr-o anumită sursă vegetală funcție de o multitudine de factori incluzând condițiile de vegetație, perioada de vegetație, vârsta plantei, perioada de recoltare, timpul de stocare (ex. Toncer et al., 2017; Liyanage et al., 2017; Skubij & Dzida, 2019; Mohtashami et al., 2018). Componenții chimici ai EOs sunt biosintetizați de plante prin căi complexe de transformare reciprocă. Un exemplu elocvent în contextul acestei discuții, respectiv compoziția variabilă a T-EO dpdv al componenților majoritari este posibilitatea de transformare de la  $\gamma$ -terpinen la p-cimen (aromatizare) și apoi la doi fenoli izomeri: carvacrol și timol (Mohtashami et al., 2018).

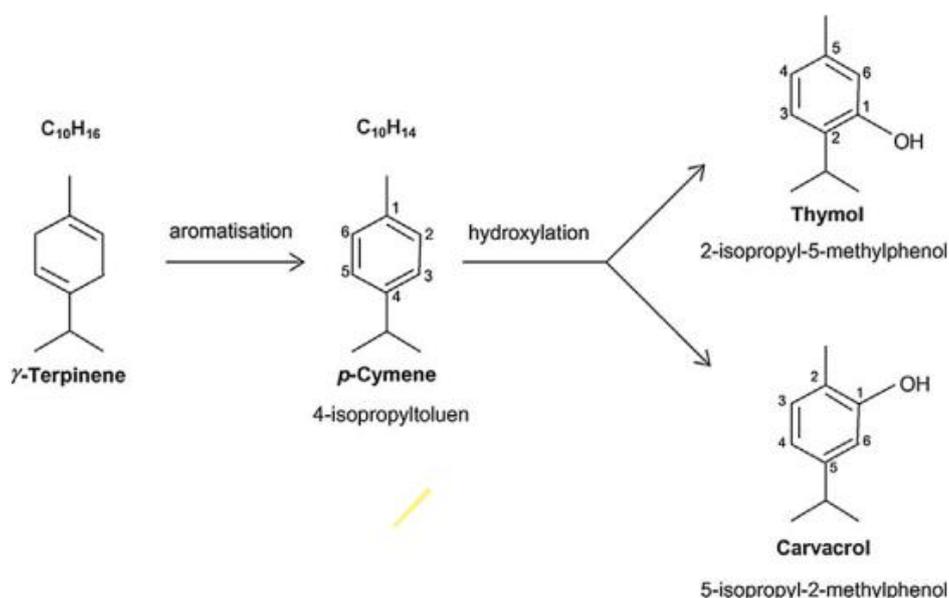


Fig. 5.1 Calea de biosinteză a carvacrolului și timolului pornind de la  $\gamma$ -terpinen<sup>27</sup>

În Fig. 5.2, Fig. 5.3, Fig. 5.4, Fig. 5.5, Fig. 5.6 se prezintă cumulativ rezultatele experimentale calitative (cromatograme și listă compuși chimici individuali identificați) și cantitative (concentrații procentuale relative) pentru fiecare din cele 5 uleiuri. Cromatogramele înregistrate sunt prezentate în coordonate intensitate relativă pic/timp de eluție, fiecare pic (maxim) corespunzând unui compus chimic separat din amestecul complex reprezentat de uleiurile esențiale. Identificarea componentelor individuali separați s-a făcut pe baza spectrelor de masă din bazele de date NIST<sup>28</sup>. Concentrația fiecărui component individual separat este direct proporțională cu aria picului reprezentat de acesta, astfel că datele incluse în tabelele de sub fiecare cromatogramă (Fig. 5.2, Fig. 5.3, Fig. 5.4, Fig. 5.5, Fig. 5.6) sunt cuprinse rezultatele evaluării cantitative relative a compușilor chimici individuali listați în ordinea timpilor de eluție, respectiv concentrațiile procentuale relative pe baza ariilor raportate la total compuși chimici identificați (arie pic compus identificat/suma arii compuși identificați, %). Mai multe picuri atribuite aceluiași compus chimic pot fi asociate cu existența acestuia sub forma mai multor stereozomeri sau forme conformaționale. Compușii chimici identificați care sunt specificați în fișele tehnice de produs sunt evidențiați prin fondul gri al liniilor respective, în timp ce toți compușii identificați pentru care s-a calculat o concentrație relativă arie peste 3% sunt evidențiați prin font îngroșat.

<sup>27</sup> după (Mohtashami et al., 2018)

<sup>28</sup> <https://www.nist.gov/srd/nist-standard-reference-database-1a>

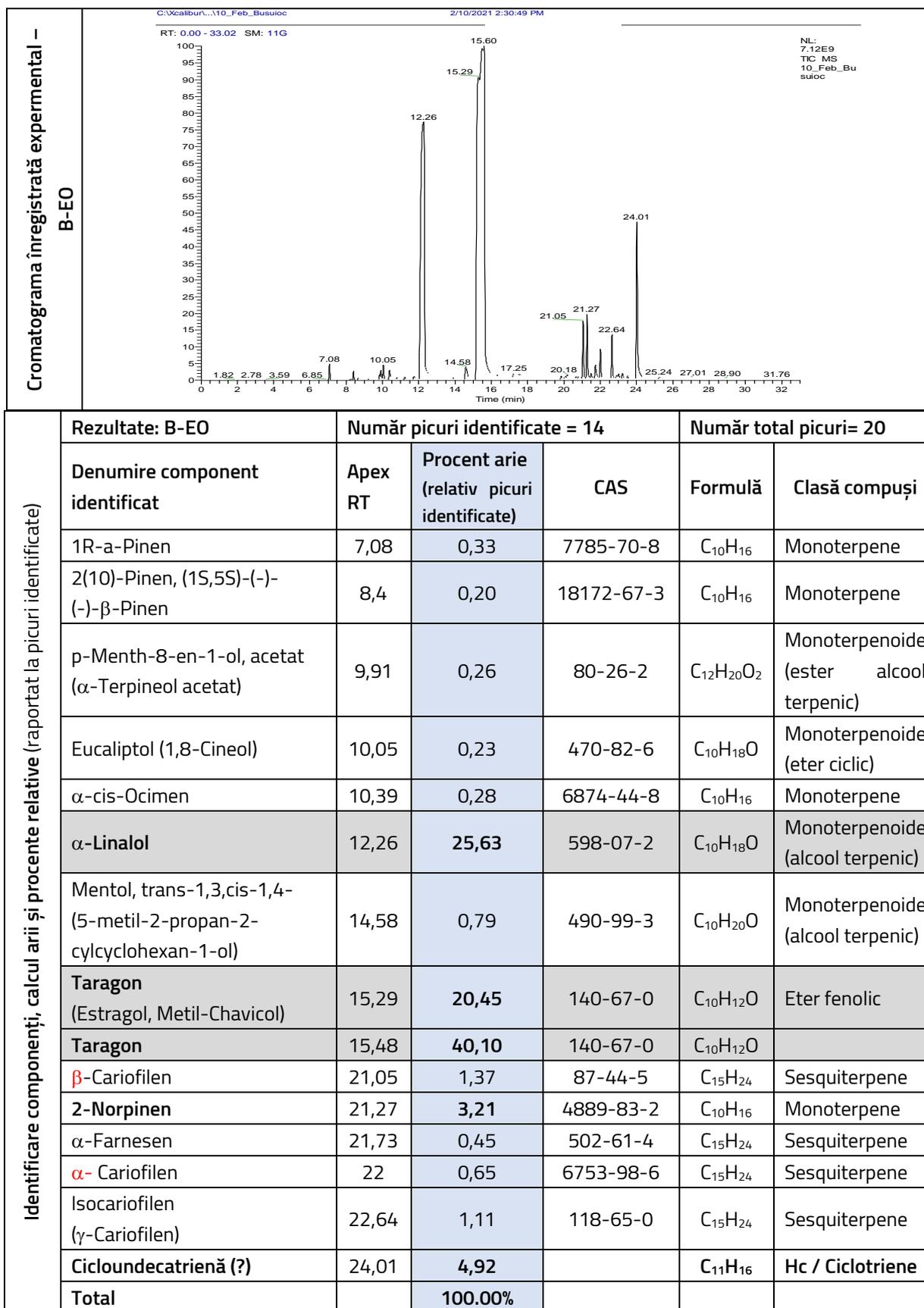
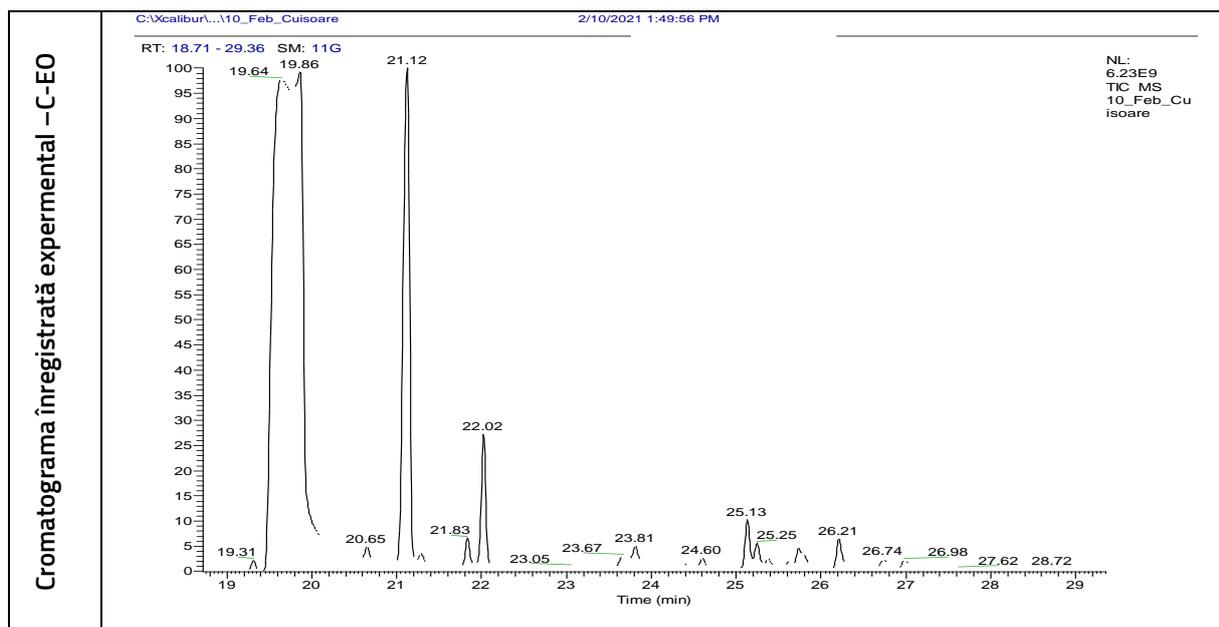


Fig. 5.2 Rezultate experimentale analiză GC-MS pentru uleiul esențial de busuioac B-EO



Identificare componenți, calcul arii și procente relative (picuri identificate)	Rezultate: C-EO		Număr picuri identificate = 7		Număr total picuri= 19	
	Denumire component identificat	Apex RT	Procent arie (relativ picuri identificate)	CAS	Formulă	Clasă compuși
	Eugenol	19.63	77.34	97-53-0	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Fenol
	β- Cariofilen	21.12	17.12	87-44-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Terpene (S)
	α-Humulen-(v1)	21.83	0.64	6753-98-6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Terpene (S)
	α- Cariofilen	22.02	3.09	6753-98-6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Terpene (S)
	Cariofilen alcool	25.13	0.99	472-97-9	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	Alcool terpenic
	Epiglobulol	25.13	0.19	88728-58-9	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	Alcool terpenic
	1H-Benzociclohepten-7-ol	26.21	0.64	6892-80-4	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	Alcool terpenic
<b>Total</b>		<b>100.00%</b>				

Fig. 5.3 Rezultate experimentale analiză GC-MS pentru uleiul esențial de cuișoare C-EO

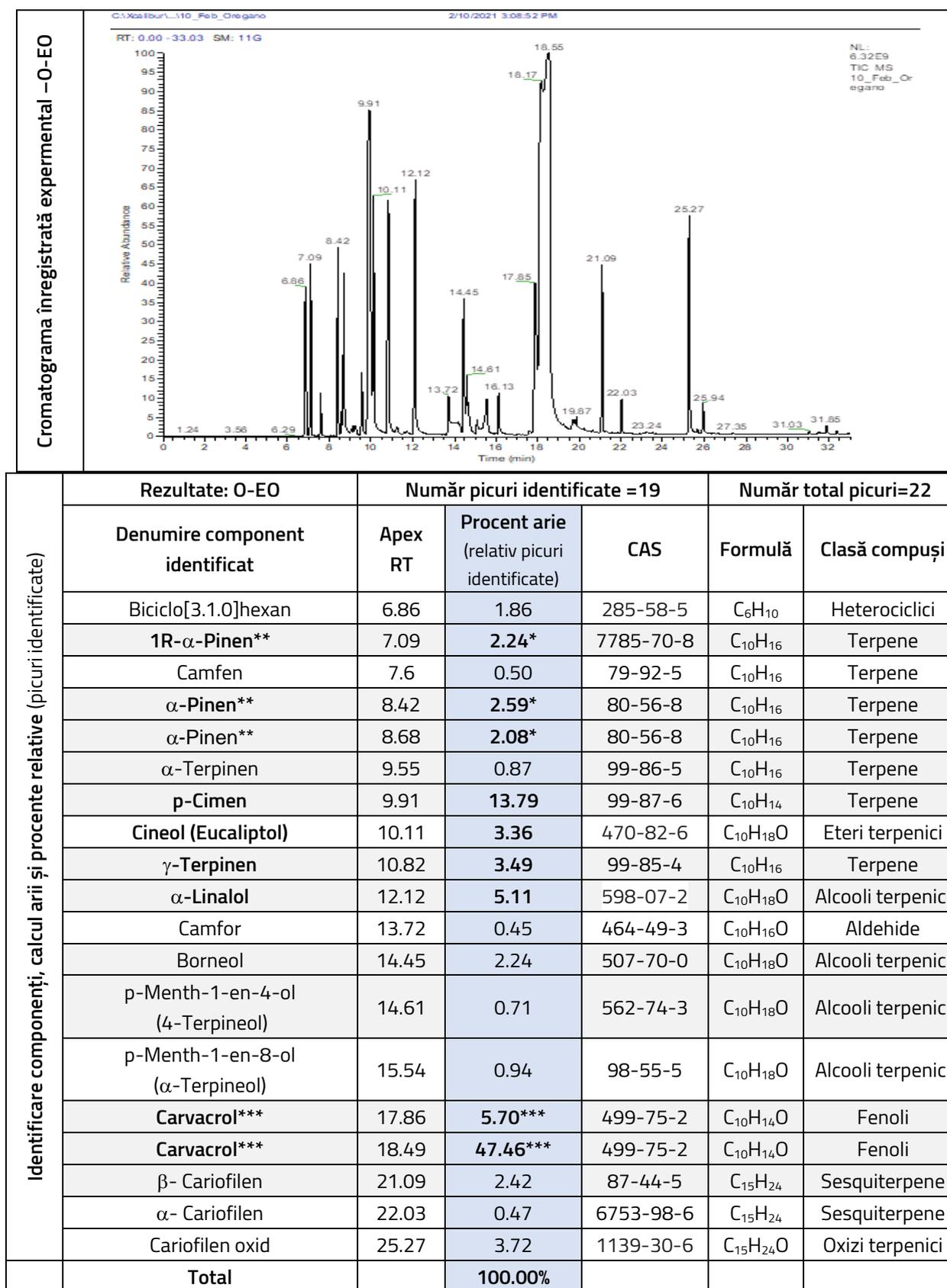


Fig. 5.4 Rezultate experimentale analiză GC-MS pentru uleiul esențial de oregano O-EO

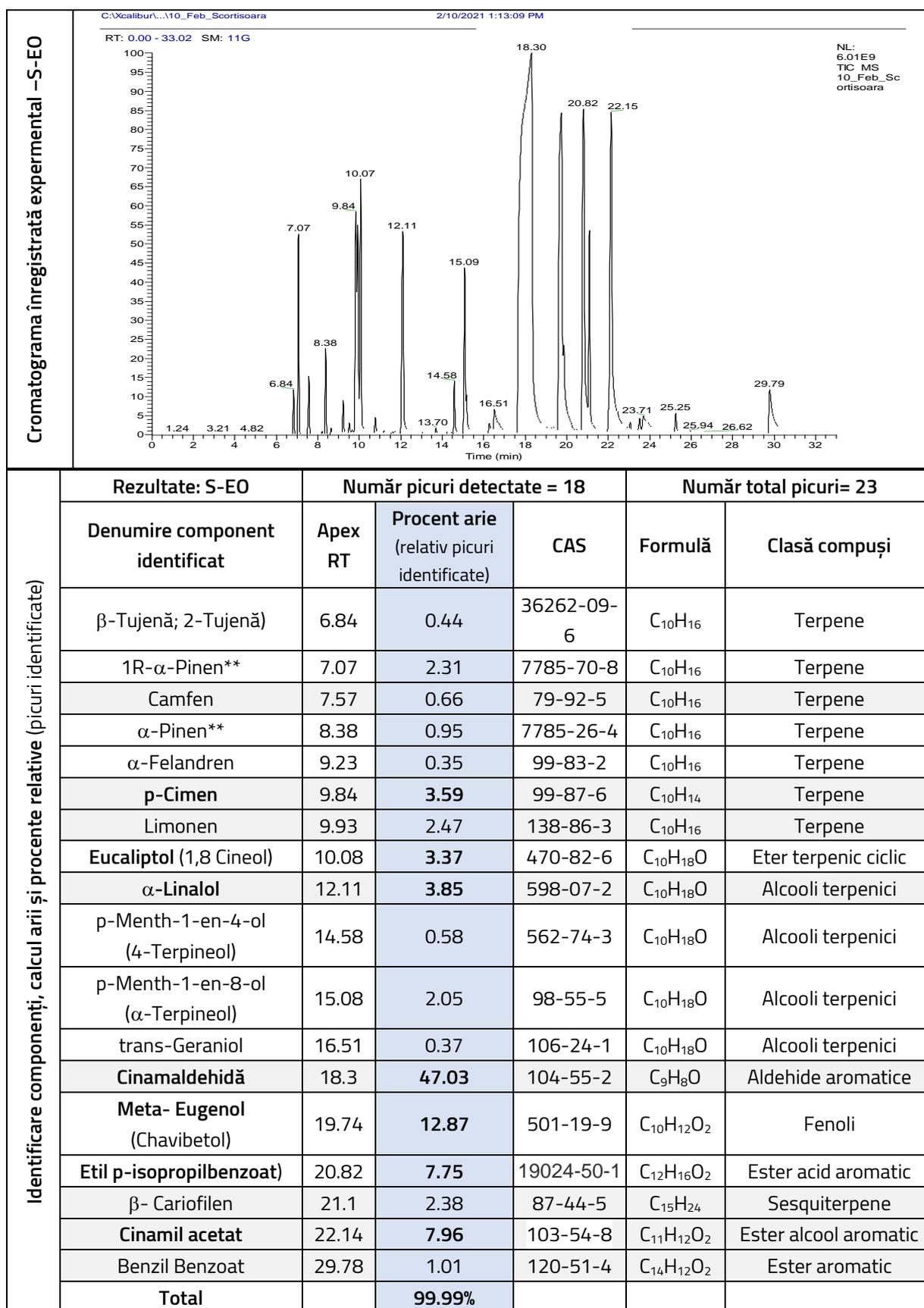
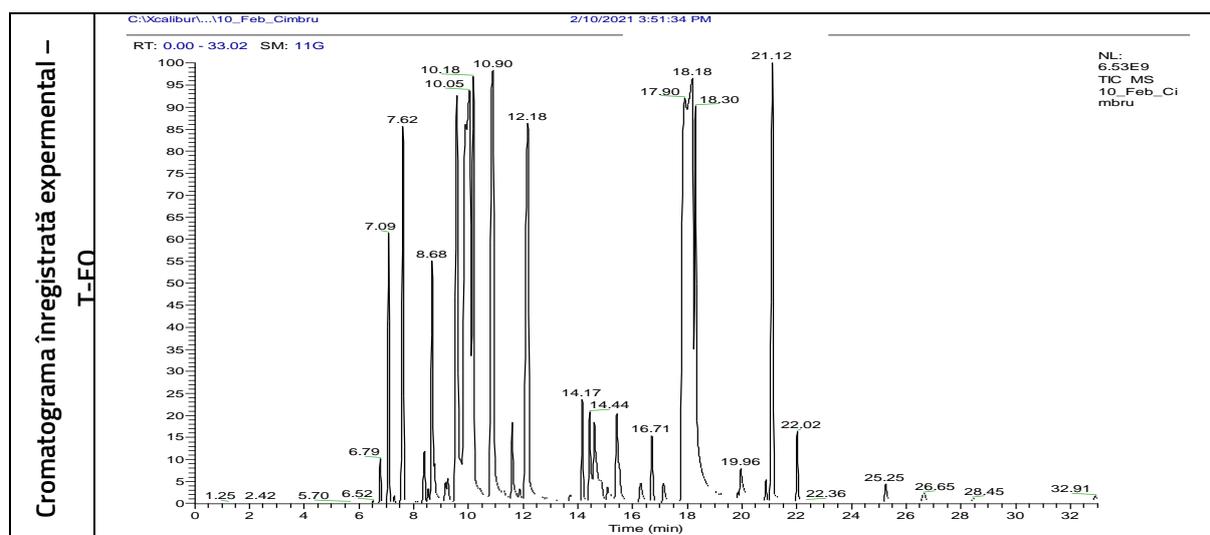


Fig. 5.5 Rezultate experimentale analiză GC-MS pentru uleiul esențial de scorțisoară S-EO



Identificare componentă, calcul arii și procente relative (picuri identificate)	Rezultate: T-EO		Număr picuri detectate = 20		Număr total picuri=27		
	Denumire identificat	component	Apex RT	Procent arie (relativ picuri identificate)	CAS	Formulă	Clasă compuși
	Triciclene		6,79	0,44	508-32-7	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	1R (+)- $\alpha$ -Pinen**		7,09	3,05	7785-70-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	Camfen		7,62	4,99	79-92-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Pinen**		8,4	0,68	80-56-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Pinen**		8,68	3,50	80-56-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Terpinen		9,89	15,07	99-86-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	1,8-Cineol (Eucaliptol)		10,19	4,63	470-82-6	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Eter ciclic
	$\gamma$ -Terpinen		10,9	11,37	99-85-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	p-Mentha-1,4(8)-diene (Carven, Limonen)		11,61	1,04	D,L 138-86-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Linalol -		12,17	9,42	598-07-2	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	Isoborneol		14,17	1,12	124-76-5	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	Borneol		14,44	0,85	507-70-0	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	4-Terpinenol (p-Menth-1-en-4-ol, 4-Carvo-menthenol)		14,61	0,92	562-74-3	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	$\alpha$ -Terpineol (p-Menth-1-en-8-ol)		15,43	1,78	10482-56-1	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	Antranilic acid		16,71	0,87	118-92-3	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	Amino-acid
	Carvacrol***		17,9	16,00	499-75-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	Fenoli
	Carvacrol***		18,03	13,00	499-75-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	Fenoli
	Carvacrol***		18,3	3,22	499-75-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	Fenoli
	$\beta$ -Cariofilen		21,12	7,28	87-44-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
	$\alpha$ -Cariofilen		22,02	0,78	6753-98-6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
	<b>Total</b>			<b>100.00%</b>			

 Fig. 5.6 Rezultate experimentale analiză GC-MS pentru uleiul esențial de cimbru (*Satureja hortensis*) T-EO

Rezultatele privind compoziția chimică comparativă, determinată experimental prin GC-MS, pentru cele 5 uleiuri esențiale sunt centralizate în Tab. 5.3 care prezintă procentele de arii relativ la total arii componenți identificați, exclusiv pentru componenții identificați cu procent  $\geq 3\%$ .

**Tab. 5.3 Compoziția chimică comparativă a celor 5 uleiuri esențiale utilizate determinată experimental prin GC-MS: compuși chimici cu concentrații relative  $\geq 3\%$  față de total compuși identificați**

Nr. Crt.	Component chimic identificat	Concentrații relative [%] (Procent arie pic / total arii picuri identificate)					Obs.
		B-EO	C-EO	O-EO	S-EO	T-EO	
1	$\gamma$ -Terpinen			3,49		11,37	MT
2	$\alpha$ -Terpinen					15,07	MT
3	p-Cimen			13,79	3,59		MT ar.
4	Mircen						MT
5	$\beta$ -Cariofilen		17,12			7,28	ST
6	$\alpha$ -Linalol	25,63		5,11	3,85	9,42	Alcool
7	<b>Carvacrol</b>			<b>53,16</b>		<b>32,22</b>	Fenol
8	<b>Eugenol</b>		<b>77,34</b>				Fenol
9	Eugenil acetat						Ester
10	<b>Taragon (Estragol, metil-chavicol)</b>	<b>60,55</b>					Eter
11	<b>Cinamaldehydă</b>				<b>47,03</b>		Aldehydă aromatică
12	Cinamil acetat				7,96		Ester
13	2-Norpinen	3,21					MT
14	$\alpha$ -Pinen			6,91	3,26	7,23	MT
15	Camfen					4,99	MT
16	Eucaliptol (Cineol)			3,36	3,37	4,63	Eter
17	$\alpha$ -Cariofilen (Humulen)					3,73	ST
18	meta-Eugenol				12,87		Fenol
19	Cariofilen oxide			3,72			Eter
20	para-Isopropil-benzoat de etil				7,75		Ester
21	Ciclundecatriena	4,92					Trienă
	<b>Total</b>	<b>94,31</b>	<b>94,46</b>	<b>89,54</b>	<b>89,68</b>	<b>95,94</b>	

Datele experimentale confirmă informațiile privind compoziția chimică majoritari din compoziția EO specificate în fișele tehnice de produs (Tab. 5.2) dar reliefează în același timp diferențe de concentrație, precum și existența în procentaj de minimum 3% și a altor compuși (listați la numerele 13-21 din Tab. 5.3). Aceștia sunt monoterpene (2-Norpinen,  $\alpha$ -Pinen, camfen), sesquiterpene ( $\alpha$ -Cariofilen sin. Humulen), eteri terpenici (eucaliptol, cariofilen oxid), fenoli (meta-Eugenol), esteri (p-isopropil-benzoat de etil) și se regăsesc diferențiat în compoziția uleiurilor analizate. Deși datele centralizate se referă exclusiv la componenți cu concentrație de minimum 3%, datele experimentale reliefează complexitatea compozițională a uleiurilor esențiale, precum și individualitatea acestora dpdv compozițional.

### 5.3.3. Analiză FTIR

În Fig. 5.7 se prezintă spectrele FTIR-ATR comparative ale celor 5 uleiuri esențiale analizate. În concordanță cu concluziile analizei GC-MS spectrele FTIR vin să confirme complexitatea și individualitatea compozițională a uleiurilor esențiale analizate. Astfel, deși se evidențiază unele asemănări între spectre (O-EO cu T-EO, C-EO cu B-EO), respectiv existența unor benzi de absorbție comune pentru diverse EO, centralizate în Tab. 5.4, spectrele nu se suprapun, fiind strict specifice, cu precădere în zona de amprentă digitală.

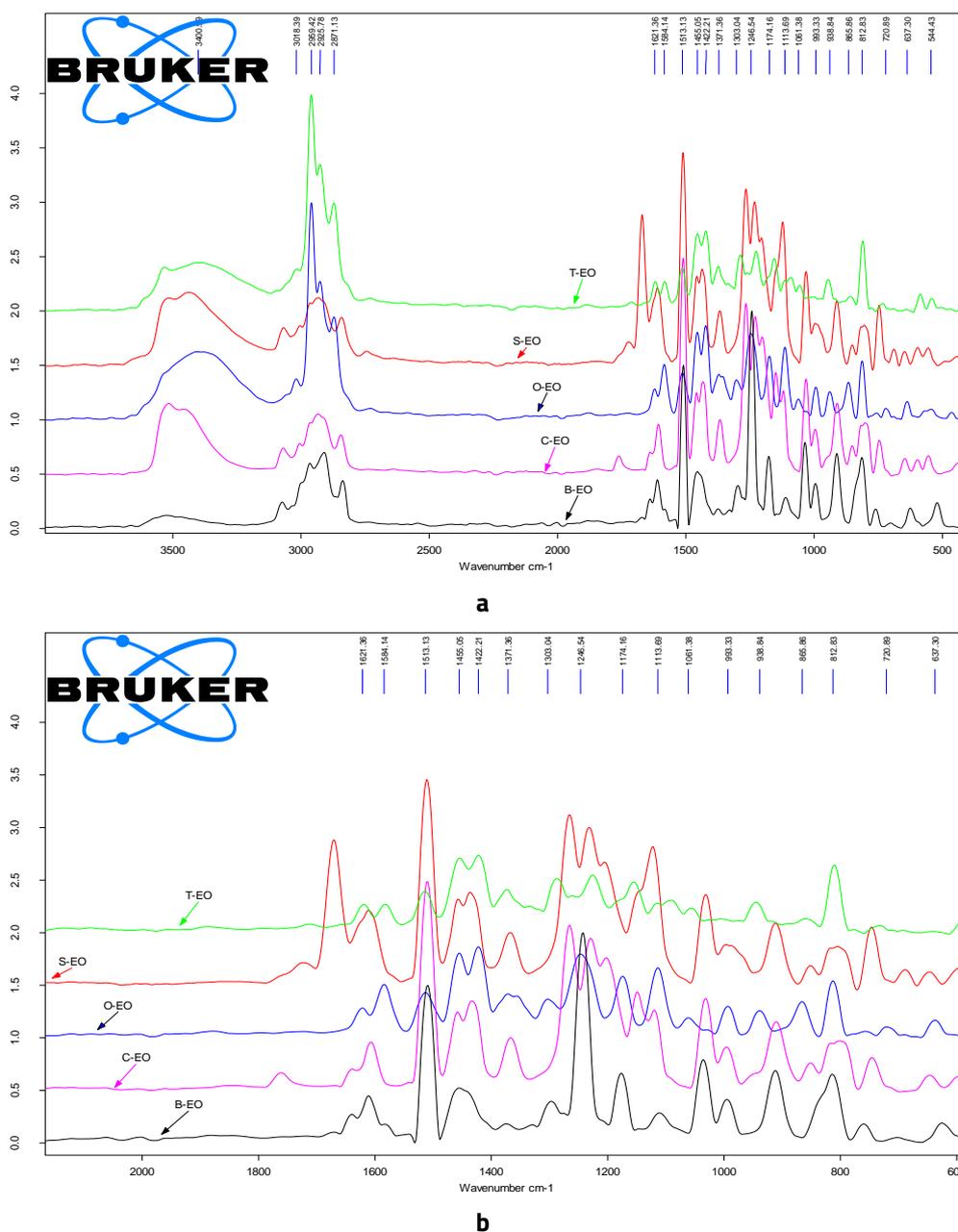


Fig. 5.7 Spectrele FTIR-ATR comparative pentru cele 5 uleiuri esențiale, înregistrate pe tot domeniul 4000-6000  $\text{cm}^{-1}$  (a) și zona de amprentă digitală 1800-600  $\text{cm}^{-1}$  (b)

Tab. 5.4 Lista benzilor de absorbție în spectrele FTIR ale uleiurilor esențiale și atribuire

B-EO	C-EO	O-EO	S-EO	T-EO	Date referință literatură / IR Handouts	
Benzi de absorbție / Numere de undă, cm <sup>-1</sup>					Număr de undă, cm <sup>-1</sup>	Atribuire
3523,0	3515,1		3514,2	3532,5	3500-3200	H bonded -O-H stretch Alcooli, Fenoli
		3401,0	3438,0	3408,6		
3073,2	3069,5	3018,4	3068,3		3100-300	=C-H stretch / Alchene, Structuri aromatice
2965,4	3005,0	2959,4		2959,9	3000-2800	-C-H stretch / Alcani Vibrații - CH <sub>2</sub> -, -CH <sub>3</sub>
2909,3	2932,7	2925,8	2932,6	2925,4		
2837,5	2844,5	2871,1	2841,6	2871,6		
			2743,9		2820-2720	C-H stretch / Aldehyde
	1761,0		1723,3	1711,0	1720-1705 1780-1715 1740-1680	C=O stretch / carbonil neconjugat Acizi Esteri Aldehyde, cetone
1639,3		1621,4	1670,4	1619,0	1680-1600	C=C stretch / Alchene
1610,9	1606,8	1584,1	1611,1	1582,4	1600-1500	C=C stretch/ nucleu aromatic
1509,5	1510,0	1513,1	1510,8	1514,2	1510-1505	unitate fenil-propanică
1455,0	1458,1	1455,0	1457,0	1454,4	1460	C-H bending / metil -CH <sub>3</sub> , metilen -CH <sub>2</sub> -
	1433,4	1422,2	1436,6	1421,9		
1374,1	1366,6	1371,4	1367,4	1373,2	1385-1370	C-H (split) metil, isopropil
		1303,0			1300-1160	C-O / esteri; 1240 cm <sup>-1</sup> -acetați
1296,9	1265,4		1265,5	1287,2	1260-1180	C-O / Fenoli
1242,6	1229,4	1246,5	1231,8	1225,6	1260-1180	
	1202,6		1205,2			
1176,6	1149,1	1174,2		1155,2	1200-1125	C-O stretch / Alcooli terțiari
1111,1	1119,8	1113,7	1122,5	1090,3	1125-1085	C-O stretch / Alcooli secundari
1035,6	1031,5	1061,4	1031,4	1056,1	1085-1050	C-O stretch / Alcooli primari, Eteri
995,1	995,7	993,3	996,7	945,0	1000-960 și 940-900	C-H bending/ Alchene R-CH=CH <sub>2</sub>
911,7	910,4	938,8	911,5		990-940	C-H bending/ Alchene <i>trans</i>
	851,3	865,9	851,4	860,5	915-870	C-H bending / Alchene R <sub>2</sub> C=CH <sub>2</sub>
813,9	801,8	812,8	804,8	810,5	860-800 810-750	C-H Benzen p-substituit C-H Benzen m-substituit
760,1	745,6	720,9	746,3	732,4	790-650	C-H bending/ Alchene <i>cis</i>
701,5			688,6		710-690	C-H Benzen m-substituit
625,5	646,3	637,3	647,0		770-735	C-H Benzen o-substituit

În toate spectrele se observă benzi de absorbție ale grupărilor –OH alcoolice și/sau fenolice în zona 3500-3200  $\text{cm}^{-1}$ , ușor diferențiate ca poziție, alură și intensitate datorită conținutului și tipului diferit de astfel de compuși. Absorbțiile în zona 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$ , prezente în toate spectrele sunt datorate vibrațiilor simetrice și asimetrice ale legăturilor C-H în alcani, fiind asociate cu grupările metilen și metil de pe catene/structuri alifatic saturate. În zona 3100-3000  $\text{cm}^{-1}$  se observă o absorbție redusă pentru **B-EO**, **C-EO**, **O-EO** și **S-EO**, respectiv umăr pentru **T-EO** datorată vibrațiilor legăturilor =C-H în alchene și/sau structuri aromatice. Prezența nucleului aromatic este confirmată de absorbții puternice în zona 1500-1600  $\text{cm}^{-1}$  pentru toate uleiurile esențiale datorită conținutului lor de compuși aromatici de tip fenoli, eteri fenolici sau aldehide aromatice: taragon (**B-EO**), eugenol (**C-EO**), carvacrol (**O-EO**), cinamaldehydă și meta-eugenol (**S-EO**), carvacrol (**T-EO**). Prezența nucleelor aromatice substituie este reliefată și de absorbțiile multiple specifice sub 900  $\text{cm}^{-1}$  pentru structuri aromatice disubstituite în poziții o, m, p. În același timp marea majoritate a componentelor EOs studiate conțin și duble legături de tip alchene, evidențiate și de benzile de absorbție din zonele 1680-1600  $\text{cm}^{-1}$ , respectiv 1000-650  $\text{cm}^{-1}$ , cu evidențierea clară a **S-EO** prin banda de absorbție maximă la 1670  $\text{cm}^{-1}$ , atribuită dublei grupării carbonil conjugate cu dubla legătură C=C din structura cinamaldehydei.

Ca elemente de diferențiere se observă poziția și intensitatea diferită a benzilor de absorbție ale grupărilor carbonil neconjugate, situate la: 1761  $\text{cm}^{-1}$  (intensitate mică) în **C-EO** (grupare esterică din acetil eugenol) (**C-EO**); 1723  $\text{cm}^{-1}$  în **S-EO** și 1711  $\text{cm}^{-1}$  în **T-EO**. De asemenea, **C-EO**; **S-EO** și **B-EO** se evidențiază prin benzi mai puternice de absorbție în zona 1510-1505  $\text{cm}^{-1}$  atribuite vibrațiilor de schelet ale structurilor fenil-propanice din eugenol, cinamaldehydă și estragol. În zona de amprentă digitală diferențierile sunt multiple și greu de atribuit, constând în unele deplasări ale pozițiilor maximelor de absorbție și diferențe ale intensităților lor relative. Specificitatea/unicitatea spectrelor FTIR pentru fiecare compus chimic individual, respectiv amestec complex cu compoziție dată, respectiv acest caracter de amprentă digitală justifică importanța și versatilitatea investigațiilor FTIR în caracterizarea diverselor materiale și evidențierea modificărilor compoziționale rezultate din diverse cauze.

În concluzie, rezultatele investigațiilor din acest capitol reliefează particularitățile fizico-chimice și compoziționale, asemănările și deosebirile dintre cele 5 uleiuri esențiale investigate (**B-EO**, **C-EO**, **O-EO**, **S-EO**, **T-EO**), oferind o bază fundamentală în înțelegerea/explicarea proprietăților lor biologice, inclusiv caracterul fungicid. Caracterul activ antifungic al unor componente majoritari ai acestor uleiuri, cum ar fi eugenolul, carvacrolul, aldehida cinamică a fost demonstrat prin teste specifice (ex. Xie et al., 2017) și constituie un argument pentru un potențial biocid al EOs testate. Diferența de compoziție a EOs va determina foarte probabil diferențe de potențial antifungic, iar eficiența va fi influențată de tipul fungilor.

## Capitolul 6 - Evaluarea comparativă a efectului biocid antifungic – selectarea produselor cu potențial

În capitolul de față este detaliată procedura de testare și evaluare a potențialului fungicid al celor cinci uleiuri esențiale (EOs) selectate: B-EO (*Ocimum basilicum*), C-EO (*Eugenia caryophyllata*), O-EO (*Origanum vulgare*), S-EO (*Cinnamomum verum*) și T-EO (*Satureja hortensis*) și rezultatele obținute. Aceste uleiuri au fost alese pe baza unei analize aprofundate a literaturii de specialitate și au fost caracterizate din punct de vedere al proprietăților fizice și compoziției chimice (FTIR, GC-MS), rezultatele fiind prezentate în capitolul anterior.

Pentru a determina potențialul lor antifungic față de o serie de ciuperci lignicole xilofage importante în biodegradarea lemnului, uleiurile esențiale au fost supuse unor teste de screening, urmând protocolul analitic prezentat în capitolul 4.

### 6.1. Considerații generale asupra testelor screening efectuate și etape de cercetare

Cercetările efectuate și prezentate în acest capitol au vizat următoarele:

- Evaluarea potențialului antifungic față de ciuperci xilofage reprezentative pentru biodegradarea lemnului pentru fiecare dintre cele 5 uleiuri esențiale considerate;
- Evaluarea comparativă a rezultatelor obținute pentru cele 5 uleiuri esențiale în vederea unei ierarhizări a acestora dpdv al potențialului biocid antifungic;
- Selectarea a două uleiuri esențiale cu potențial pentru continuarea cercetărilor;
- Validarea rezultatelor prin retestarea uleiurilor esențiale cu potențial selectate.

Prin urmare, cercetarea s-a realizat în mai multe etape și a implicat realizarea și repetarea testelor screening în laboratoare și/sau etape diferite.

Elementele importante au fost: tipul de test aplicat, respectarea procedurii de realizare și evaluare, precum și modul de utilizare a EOs (medii de diluare și concentrații) în cadrul aceluiași test.

În toate situațiile, testele screening aplicate s-au realizat pe două tipuri de ciuperci, una reprezentativă pentru putregaiul brun (*Serpula lacrymans*, *Postia placenta*) și cealaltă pentru putregaiul alb (*Trametes versicolor*).

- Etapa 1: Au fost testate cele 5 uleiuri esențiale aplicând testul screening RS. Testele au fost realizate la Universitatea Tehnică din Zvolen Slovacia, Facultatea de Știința și Tehnologia Lemnului, unde există o experiență bogată în teste biologice. Concluziile au fundamentat selecția a două EOs cu potențial, pentru utilizare în etapele ulterioare de cercetare.
- Etapa 2: Validarea potențialului antifungic pentru cele două EOs selectate, prin repetarea aceluiași test screening RS, efectuat conform metodei de testare prezentată în detaliu în capitolul 4, la Brașov în cadrul ICDT al Universității Transilvania.

În cadrul testelor s-au utilizat trei tipuri de ciuperci standard de încercare (prezentate în capitolul 3) folosite conform cu disponibilitatea acestora în fiecare laborator. Astfel, pentru testele din Brașov s-a

folosit specia de putregai brun *Postia placenta*, iar la Zvolen s-a optat pentru *Serpula lacrymans*. Acestea au fost utilizate în teste comparativ cu specia de putregai alb *Trametes versicolor*, comună în testele de la Brașov și Zvolen, dar provenită din sușe (ciuperci mamă) diferite.

Datorită desfășurării experimentelor în locații diferite, cu logistică diferită, au existat unele variații în ceea ce privește materialele utilizate, perioadele de monitorizare, echipamentele folosite și speciile de fungi testate. Cu toate acestea, în ambele situații și laboratoare ale instituțiilor implicate, s-au respectat protocoalele pentru a asigura validitatea și comparabilitatea rezultatelor obținute.

Cele 5 uleiuri esențiale utilizate: B-EO (*Ocimum basilicum*), C-EO (*Eugenia caryophyllata*), O-EO (*Origanum vulgare*), S-EO (*Cinnamomum verum*) și T-EO (*Satureja hortensis*), au fost testate la diverse diluții în doi solvenți diferiți: ulei de in sicativat (cod LO) și etanol (alcool etilic pa, 96%), variantele de testare fiind prezentate în Tab. 6.1.

Tab. 6.1 Testele screening RS realizate: datele privind concentrațiile uleiurilor esențiale, solvenții și materialul biologic utilizate în testarea și validarea potențialului antifungic (etapele de realizare O3)

Etapă O3	Obiectiv	Test screening	EOs	Solvent	Concentrație EO în solvent [ml/100 ml]	Material biologic	
1	Testare potențial antifungic (Zvolen) Selectare 2 EOs	RS	B-EO C-EO O-EO S-EO T-EO	Etanol	0,25	Putregai brun: <i>Serpula lacrymans</i> Putregai alb: <i>Trametes versicolor</i>	
					1		
					10		
					100		
2	Validare potențial antifungic (Brașov) EOs selectate	RS	C-EO T-EO	Etanol	0 / Control	Putregai brun: <i>Postia placenta</i> Putregai alb: <i>Trametes versicolor</i>	
					1*		
					5		
					10		
			RS	C-EO T-EO	Ulei de in (LO)	0 / Control LO	Putregai brun: <i>Postia placenta</i> Putregai alb: <i>Trametes versicolor</i>
						1*	
						5	
						10	

NOTĂ: \* Concentrația de 1% ulei esențial s-a folosit doar pentru uleiul esențial de cuișoare C-EO.

## 6.2. Aspecte metodologice privind testarea potențialului fungicid prin teste screening (Zvolen)

Testul screening realizat a fost cel codificat RS, prezentat principal în capitolul 4. Față de metoda de lucru prezentată în același capitol și adoptată ca parte a conceptului metodologic dezvoltat în această lucrare, testele realizate la Zvolen au diferit printr-o serie de aspecte legate de materiale, echipamente și condiții asigurate, precum și intervalele de timp după care s-a făcut evaluarea. Din acest motiv se prezintă procedura testului realizat la Zvolen.

Pentru toate testele micologice efectuate au fost utilizate cutii Petri standard ( $\phi$  100 mm) din sticlă și mediu de cultură pe bază de agar și extract de malț. Sterilizarea cutiilor Petri de sticlă (Zvolen) s-a realizat în etuvă la 150°C timp de 2-3 zile.

Mediul de cultură a fost preparat folosind un amestec comercial de 45g (30g malț + 15g agar) la 1 litru de apă distilată. Acesta a fost supus unui proces de sterilizare, fiind autoclavat de două ori la 120°C, cu o pauză de 30 de minute între sterilizări. Ulterior, mediul a fost turnat în cutiile Petri într-o hotă, fără a utiliza ventilația, și lăsat să se răcească în aceleași condiții timp de 24 de ore. Pe parcursul acestei perioade, cutiile Petri au fost expuse și la o sterilizare suplimentară cu raze UV. Inocularea mediului de cultură și montarea testelor (plasarea hârtiilor suport control și tratate cu EO) au fost efectuate după 24 de ore.

Inocularea ciupercilor a fost efectuată în condiții sterile și de siguranță, într-o hotă microbiologică, folosind o ansă sterilizată prin fierbere (ansă diferită pt fiecare ciupercă). Tehnica utilizată a implicat tăierea inoculului sub forma unei prisme pătrate cu ajutorul acului ansei, urmată de transferul acestuia pe mediul de cultură din cutia Petri, respectând o schemă prestabilită. Poziționarea inoculului s-a realizat cu miceliul orientat în sus, evitând contactul direct cu suprafața mediului de cultură.

Testele au fost efectuate utilizând materiale specifice. Astfel, s-au utilizat discuri de hârtie cu diametru de 12 mm (Antibiotics test paper – Fisher Scientific), câte patru bucăți per cutie Petri, trei fiind impregnate cu substanța de testat (notate 1), iar una reprezentând controlul (notată 2).

Pentru a asigura sterilitatea, hârtiile au fost supuse unui proces de sterilizare în două etape, mai întâi în etuvă la 100°C timp de 1-2 zile, apoi în autoclavă. Ulterior, hârtiile au fost imersate în soluțiile de testare, respectiv alcool etilic (probă control) pentru o perioadă scurtă de 10-15 secunde și plasate pe hârtii de filtru sterile pentru a îndepărta excesul de lichid. Pentru a verifica reproductibilitatea, au fost realizate câte două probe în paralel pentru fiecare ulei esențial și fiecare concentrație.

Cutiile Petri au fost amplasate în camera climatică la o temperatură constantă de 23°C și într-un mediu umed, asigurat prin prezența unui recipient deschis cu apă sterilă. Monitorizarea atentă a evoluției dezvoltării fungice pentru toate probele a fost efectuată la intervale prestabilite de 4, 7, 10 și 14 zile. S-au documentat evoluția testului prin fotografii de înaltă rezoluție și măsurători direct pe probe. S-au măsurat dimensiunile miceliului de la inocul în direcția hârtiilor suport control și tratate în vederea calculării indicilor de inhibiție (reducere a dezvoltării fungice)  $I_{sol}$  și  $I_{paper}$  specifici testului RS (detalii în capitolul 4).

### **6.3. Rezultatele testării și validării potențialului antifungic prin teste screening**

Rezultatele testelor, concretizate în documentarea fotografică a evoluției dezvoltării fungice pe parcursul testului, indicii de inhibiție specifici calculați, precum și o serie de reprezentări grafice au fost sintetizate în fișe de evaluare a potențialului fungicid pentru fiecare ulei și experiment în parte.

#### **6.3.1. Fișele de rezultate privind testarea și validarea potențialului antifungic**

Datele experimentale rezultate în urma testelor screening au fost sintetizate în 3 tipuri de fișe:

- Fișe de rezultate privind potențialul antifungic (R-03-1), în număr de 5 fișe realizate separat pentru fiecare tip de ulei esențial;
- Fișe de validare a potențialului antifungic (R-03-2), în număr de 2 fișe de validare realizate separat pentru fiecare tip de ulei esențial ce a fost selectat după faza 1 de testare (conținut similar cu R-03-1);
- Fișe de rezultate privind potențialul antifungic comparativ în funcție de tipul de fungi (R-03-3), în număr de 2 fișe realizate pentru fiecare tip de ciupercă testată, cuprinzând comparativ rezultatele cu ambele uleiuri selectate.

Fișele de tip R-03-1 se regăsesc în forma lor integrală în secțiunea de Baze de date BD-03, iar fiecare fișă cuprinde următoarele părți:

- I. Date de identificare detaliată privind tipul de ulei folosit, concentrațiile acestuia, solventul folosit, tipurile de ciuperci, locul desfășurării testelor;
  - II. Imagini privind evoluția dezvoltării ciupercii pe toată durata testului (pentru 4, 7, 10 și 14 zile);
  - III. Valori ale celor doi indici, de inhibiție a creșterii miceliului pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii miceliului pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru uleiul esențial folosit, pe ambele ciuperci testate;
  - IV. Analiză a datelor experimentale obținute, cuprinzând grafice, interpretări discuții și concluzii.
- Prezentul capitol integrează informațiile relevante din fișele de tip R-03-2 și R-03-3, date care nu sunt replicate în baza de date finală a acestei lucrări.

Fișele elaborate (BD-03) oferă nu doar informații esențiale, ci facilitează și stabilirea unor corelații semnificative cu datele privind compoziția chimică variată a uleiurilor esențiale (EOs), detaliate în capitolul 5 și BD-02. Acestea fundamentează concluziile referitoare la selecția și validarea potențialului biocid al uleiurilor esențiale utilizate ulterior în testele pe epruvete de lemn, descrise în Capitolul 7.

În continuare, se prezintă o analiză sintetică a rezultatelor experimentale cuprinse în aceste fișe, evidențiind evaluarea comparativă a celor cinci uleiuri esențiale din perspectiva potențialului biocid (etapa inițială), respectiv validarea acestui potențial pentru două EOs selectate, conform obiectivelor specifice aferente fiecărui tip de fișe rezultate. Această analiză comparativă aprofundează rezultatele obținute în urma testării potențialului antifungic al celor cinci uleiuri esențiale investigate.

### 6.3.2. Analiza comparativă a potențialului biocid antifungic al uleiurilor esențiale testate

În această subcapitol se prezintă o analiză comparativă a rezultatelor experimentale privind potențialul biocid antifungic pentru cele 5 uleiuri esențiale: **B-EO (busuioc)**, **C-EO (cuișoare)**, **O-EO (oregano)**, **S-EO (scorțișoară)** și **T-EO (cimbru)** utilizate. Analiza a fost realizată utilizând datele și rezultatele experimentale din fișele R-03-1 prezentate în Baza de date BD-03.

#### 6.3.2.1. Exemplificarea rezultatelor și a modului de interpretare

În Fig. 6.1 se exemplifică imagistic rezultatul testului screening RS pentru determinarea potențialului antifungic față de *Trametes versicolor* al uleiului esențial de scorțișoară S-EO, la concentrații descrescătoare de la ulei pur (100%) la concentrații de 10%, 1% și 0.25% în etanol. Conform metodologiei de la Zvolen, testul se consideră încheiat atunci când miceliul a acoperit complet hârtia de control. Acest aspect duce în anumite cazuri la reducerea timpului de observație, fapt ce se poate constata din

imaginile prezentate în Fig. 6.1. Aceasta prezintă evoluția miceliului ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor* pe toată durata testului (max 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de **scorțișoară S-EO**. Situațiile diferite de finalizare a testului sunt marcate prin chenare colorate, după cum urmează:

- chenar galben - finalizarea testului la 14 zile (perioada maximă de testare conform metodologiei din Zvolen);
- chenar roșu - finalizarea testului la acoperirea totală a hârtiei control de către miceliu.

În Fig. 6.1 se poate observa că utilizând **S-EO** la o concentrație de 100%, dezvoltarea ciupercii este total inhibată, iar finalul testului a fost considerat la 14 zile, în lipsa oricărei dezvoltări de miceliu. Acesta este un caz de inhibiție absolută (abs), ceea ce poate conduce la ideea de sterilizare a incintei de testare prin volatilizarea **S-EO**.

Contrar cu această situație, pentru concentrațiile mici, de 0,25% și 1%, ulei esențial de **scorțișoară S-EO** în alcool etilic, miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control), în ziua a 7-a, situație ce corespunde, conform metodologiei stabilite, finalizării testului (chenar roșu). Prin urmare, nu s-au mai înregistrat fotografii în cea de a zecea zi de testare, deși cutiile Petri s-au menținut în incubator pentru a avea fotografia la perioada maximă de incubare de 14 zile. Totodată, acoperirea totală, neselectivă, a hârtiilor control și tratate începând cu ziua a 7-a relevă faptul că pentru aceste concentrații **S-EO** nu prezintă potențial fungicid. Pentru concentrația de 10% finalul testului se consideră la 10 zile, iar dezvoltarea selectivă a miceliului spre control evitând hârtiile tratate demonstrează potențialul antifungic la această concentrație. Cutiile s-au menținut în test pentru imagine finală dezvoltare miceliu la 14 zile, când se observă, că miceliul a acoperit în întregime hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control).

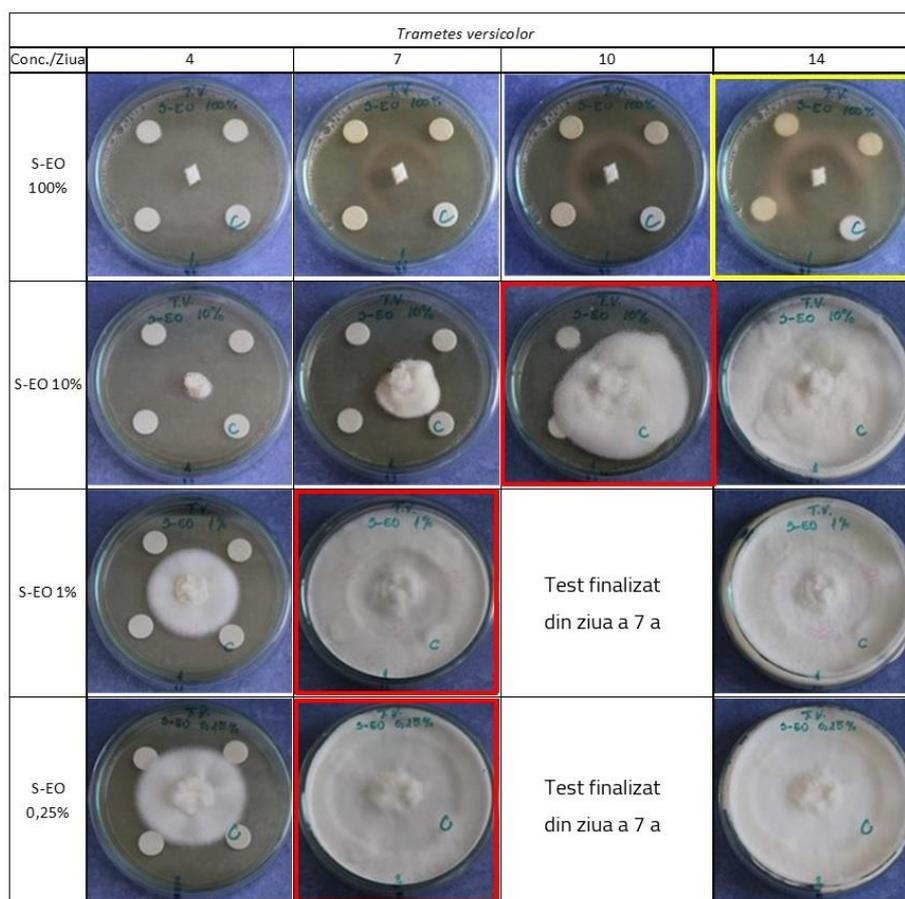


Fig. 6.1 Evoluția dezvoltării miceliului ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor* pe toată durata testului (max 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de scorțișoară (*Cinnamomum verum*) S-EO diluat în etanol

În testul RS indicii de inhibiție a dezvoltării fungice se calculează în două etape

- Prima etapă ( $I_{sol}$ ) se referă la inhibiția dezvoltării fungice pe mediul de cultură și se calculează până când miceliul ajunge la hârtia de control. De obicei această valoare înregistrată privind inhibiția se încheie la 4 zile de observație;
- A doua etapă ( $I_{paper}$ ) se calculează de când miceliul începe să se dezvolte pe hârtia control.

În Fig. 6.2 sunt prezentate, spre exemplificare, diferite cazuri/tipuri de inhibiție, prin imagini și valorile indicilor de inhibiție corespunzători ( $I_{sol}$  sau  $I_{paper}$ ), precum și observațiile aferente, pentru o mai clară asociere dintre valoarea numerică calculată și situația reală a dezvoltării ciupercii.

Marcarea cu notația „abs.” în loc de valoare numerică reprezintă inhibiție absolută, miceliul nu s-a dezvoltat deloc.

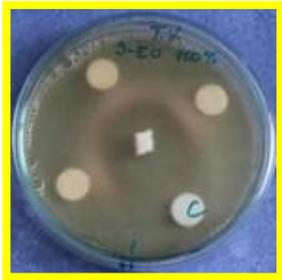
Nr. crt.	$I_{sol}$ sau $I_{paper}$	Imagine fotografică	Observații
1.	Inhibiție 0.00% $I_{sol}=0.00\%$		Ciuperca s-a dezvoltat treptat acoperind progresiv și uniform mediul (neselectiv)
2.	Inhibiție 0.00% $I_{paper}=0.00\%$		Ciuperca s-a dezvoltat neselectiv acoperind progresiv întreaga suprafață a mediului și apoi a hârtiilor, acoperind în final toată suprafața cutiei Petri
3.	Inhibiție totală $I_{sol}=100\%$		Ciuperca s-a dezvoltat pe mediu cu preferință vizibilă spre control
4.	Inhibiție totală $I_{paper}=100\%$		Ciuperca s-a dezvoltat selectiv (pe mediu și hârtia control), evitând zonele tratate. Acoperirea totală a controlului corespunde finalizării testului (chenar roșu)
5.	Inhibiție absolută (abs) $I_{sol} = \text{abs}$ , marcată absolut		În acest caz ciuperca nu s-a dezvoltat deloc, uleiul esențial a sterilizat întreaga incintă.
6.	Inhibiție intermediară, $I_{paper}=46,67\%$		Ciuperca se dezvoltă preferențial spre control

 Fig. 6.2 Exemple ale tipurilor de inhibiții pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) care pot să apară în testul de tip RS.

### 6.3.2.2. Evaluarea comparativă a potențialului antifungic pentru cele 5 uleiuri esențiale

Valorile comparative ale celor doi indici, de inhibiție a creșterii miceliului pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii miceliului pe hârtie ( $I_{paper}$ ), ale celor 5 uleiuri esențiale, pentru ziua 4 de observație și ziua considerată final de test, pentru ambele ciuperci, sunt prezentate centralizat în Tab. 6.2.

Analizând datele din Tab. 6.2 se poate observa că, în general, după primele 4 zile de testare ciupercile studiate s-au dezvoltat treptat acoperind progresiv mediul pentru toate EO și concentrațiile studiate, excepție făcând uleiul esențial de busuioc B-EO (*Ocimum basilicum*) și cel de scorțișoară S-EO (*Cinnamomum verum*) la concentrația de 100%. Pentru aceste uleiuri pure (100%) se observă inhibiție absolută, miceliul nu s-a dezvoltat deloc, ce poate duce la concluzia că s-a realizat o posibilă sterilizare totală a incintelor.

Pentru toate uleiurile esențiale studiate în cadrul lucrării se poate observa o creștere a potențialului biocid odată cu creșterea concentrației de ulei esențial. Astfel, se poate vedea majorarea indicelui de inhibiție pe mediu sau pe hârtie paralel cu creșterea concentrației, încă de la începutul testului, din prima zi de observație, dar și pe parcurs, până la finalul testării, maxim 14 zile.

**Tab. 6.2** Indicii de inhibiție a creșterii miceliului pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii miceliului pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru ambele ciuperci folosite, cele 5 uleiuri esențiale (în ziua 4 și în ultima zi de monitorizare (maxim 14 zile))

Fungi	Conc, %	Tipuri de ulei esențial/ Ziua de observație									
		B-EO		C-EO		O-EO		S-EO		T-EO	
		Ziua 4	Final test	Ziua 4	Final test	Ziua 4	Final test	Ziua 4	Final test	Ziua 4	Final test
<i>Trametes versicolor</i>	0.25	1.67	0.00	0.00	0.00	6.67	0.00	-3.16	0.00	19.33	0.00
	1	3.75	0.00	36.27	38,89**	8.08	0.00	15.38	0.00	7.94	0.00
	10	100	0.00	25.56	41,67*	30.86	0.00**	95.83	46,67**	17.24	15,28*
	100	abs	abs	25.00	100	41.67	100	abs	abs	100	100**
<i>Serpula lacrymans</i>	0.25	0.00	0.00	4.76	0.00	-2.94	0.00	0.00	0.00	4.76	0.00
	1	0.00	0.00	20.95	70.83**	17.59	0.00	7.50	0.00	11.67	0.00
	10	100	0.00	31.48	43.06*	33.33	0.00**	70.83	0.00	18.06	0.00**
	100	abs	abs	44.79	97.22**	55.56	100	abs	abs	100	100
$I_{sol}$ – indice inhibiție pe mediu											
$I_{paper}$ – indice inhibiție pe hârtie											
NOTĂ:											
* finalul testului a survenit în cea de a șaptea zi de monitorizare când în urma dezvoltării miceliului hârtia de control a fost acoperită complet;											
** finalul testului a survenit în cea de a zecea zi de monitorizare când în urma dezvoltării miceliului hârtia de control a fost acoperită complet;											

Concentrațiile mici, de 0,25 și 1%, nu generează inhibiție privind dezvoltarea ciupercilor studiate în cele mai multe cazuri, totuși uleiul esențial de **cuișoare** prezintă potențial biocid și la concentrația de 1%, pentru care s-au înregistrat valori ale indicelui de inhibiție pe hârtie de 38,89% pentru putregaiul alb, valoare înregistrată la finalul testului, după 10 zile de testare și de 30,56% pentru putregaiul brun, valoare determinată după perioada maximă de testare la 14 zile.

### 6.3.2.3. Evaluarea potențialului antifungic a celor 5 uleiuri esențiale funcție de tipul de ciupercă

Potențialul antifungic pentru fiecare tip de ulei studiat și concentrație în funcție de tipul de ciupercă utilizată, respectiv *Trametes versicolor* - putregai alb și *Serpula lacrymans* - putregai brun este ilustrat mai clar în Fig. 6.3(a,b), unde sunt prezentate sub formă grafică rezultatele experimentale obținute la finalul testului, respectiv indicii de inhibiție în ultima zi a testului, ce poate fi diferită în funcție de caz.

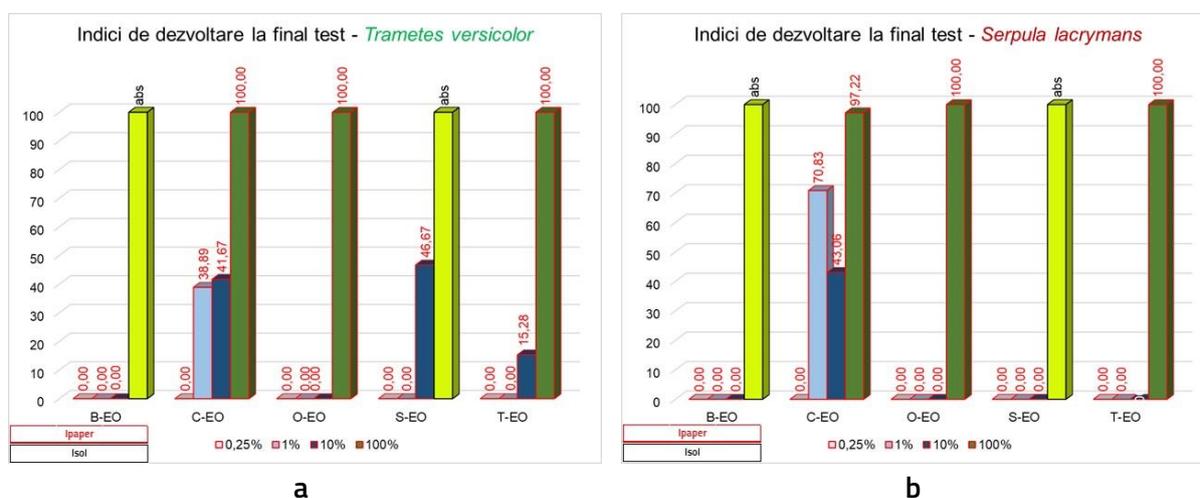


Fig. 6.3 Indicele de inhibiție a creșterii ciupercii ( $I_{sol}$  sau  $I_{paper}$ ) determinat la finalul testului (zile diferite pentru fiecare ulei și concentrație), comparativ pe tip de ciupercă *Trametes versicolor*- putregai alb - a și *Serpula lacrymans* - putregai brun - b pentru toate uleiurile esențiale testate la concentrațiile studiate.

În urma evaluării comparative a datelor din figura Fig. 6.3 se poate observa că toate uleiurile esențiale prezintă potențial biocid antifungic dacă acestea sunt folosite ca atare, adică nediluate la concentrația de 100%. Uleiurile esențiale de **scorțișoară S-EO** (*Cinnamomum verum*) și de **busuioc B-EO** (*Ocimum basilicum*) au înregistrat inhibiție absolută pentru testarea cu ambele ciuperci considerate.

În cazul ciupercii de putregai alb (*Trametes versicolor*), uleiul esențial de **cuișoare C-EO** (*Eugenia caryophyllata*), prezintă potențial biocid de la concentrația de 1%, pentru care s-a obținut valoarea indicelui de inhibiție pe hârtie de 38,89%. La concentrația de 10% uleiurile esențiale de **cuișoare C-EO**, de **cimbru T-EO** (*Satureja hortensis*) și de **scorțișoară S-EO** prezintă potențial biocid, obținându-se valori ale indicelui de inhibiție pe hârtie de 41,67%; 15,28% și respectiv 46,67%.

Uleiul esențial de **busuioc B-EO** și uleiul esențial de **oregano O-EO** (*Origanum vulgare*) nu prezintă potențial biocid pentru nici una din concentrațiile de 0,25%; 1%; și 10%.

**Concluzie TV:** Datele obținute pentru uleiul esențial de **cuișoare C-EO**, indică potențialul biocid cel mai ridicat față de putregaiul alb (*Trametes versicolor*), prin faptul că acesta se manifestă de la concentrația de 1%. Potențial antifungic față de TV prezintă și uleiurile esențiale de **scorțișoară S-EO** și de **cimbru T-**

EO, după cum se poate observa din valorile comparative înregistrate pentru indicii de inhibiție a creșterii ciupercii pe hârtie. La concentrația de 10% valoare maximă  $I_{paper}=46,67\%$  a fost obținută pentru S-EO.

În cazul ciupercii de putregai brun (*Serpula lacrymans*), uleiul esențial de busuioc B-EO și cel de scorțișoară S-EO nu prezintă potențial biocid pentru nici una din concentrațiile de 0,25%; 1%; și 10%. Uleiul esențial de oregano O-EO (*Origanum vulgare*) și cel de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) au prezentat pe durata testării semne de existență a potențialului biocid antifungic la concentrațiile studiate (Fig. 6.4 b – T-EO), dar acesta nu s-a păstrat până la finalul testului, când valorile indicelui de inhibiție a fost de 0,00%. Posibil să fie doar o întârziere a dezvoltării fungice, nu contracarare a acesteia.

În Fig. 6.4 se poate observa evoluția efectului antifungic a uleiului esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) demonstrat pe parcursul testului pentru putregaiul alb - *Trametes versicolor* - a și putregaiul brun - *Serpula lacrymans* putregai brun - b la concentrațiile studiate pentru întreaga durată de testare.

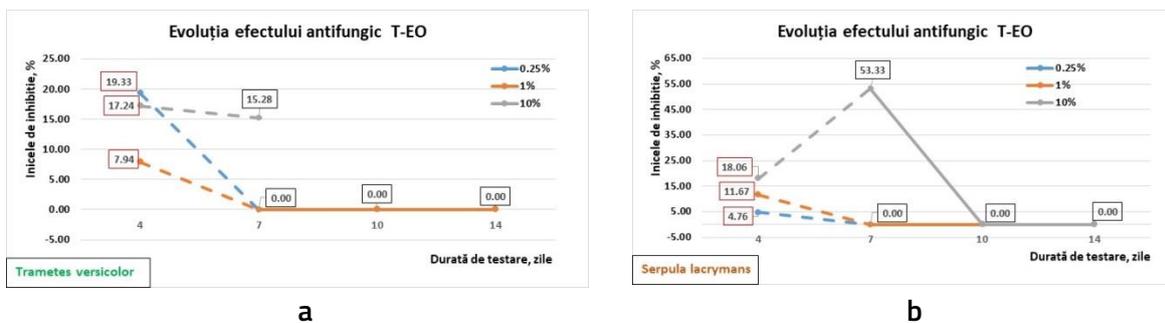


Fig. 6.4 Evoluția efectului antifungic al uleiului esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) demonstrat pe parcursul testului pentru putregaiul alb - *Trametes versicolor* - a și putregaiul brun - *Serpula lacrymans* - b la concentrațiile studiate pentru întreaga durată de testare (14 zile). Notă: liniile punctate reprezintă valori  $I_{sol}$ , iar liniile continue valori  $I_{paper}$ ; după 7 zile ciuperca a ajuns pe hârtie

Din figura Fig. 6.4 se poate observa faptul că uleiul esențial de cimbru T-EO ( $c=10\%$ ) a înregistrat o valoare de inhibiție pe mediu de 15,28% la sfârșitul testului, respectiv după 7 zile de testare pentru putregaiul alb. În cazul analizei potențialului antifungic asupra putregaiul brun (Fig. 6.4) se poate observa că după 7 zile de testare uleiul esențial de cimbru la concentrație 10% a prezentat efect biocid, având o valoare de inhibiție pe mediu de 53,33%, însă aceasta nu s-a menținut pe tot parcursul testului.

**Concluzie SL:** Uleiul esențial de cuișoare C-EO este singurul ulei esențial care prezintă potențial biocid antifungic, începând cu concentrația de 1% până la 100%. Uleiul de cimbru (10%) prezintă un efect inițial de inhibiție a dezvoltării miceliului pe mediu, dar acesta dispare după 7 zile de la inoculare, când ciuperca ajunge pe hârtie.

Pentru a cumula rezultatele analizei comparative a datelor experimentale înregistrate privind potențialul biocid antifungic al celor 5 EOs la toate concentrațiile analizate în funcție de tipul ciupercii, s-a realizat o schemă sub formă de "tablă de șah", prezentată în Fig. 6.5. În această schemă sunt marcate cu culoarea verde uleiurile esențiale la concentrațiile la care au arătat eficiență antifungică.

Ulei esențial	Conc.	<i>Trametes versicolor</i>	<i>Serpula lacrymans</i>
B-EO	0.25%		
	1%		
	10%		
	100%	Z_14 (abs)	Z_14 (abs)
C-EO	0.25%		
	1%	Z_10 (38.89%)	Z_10 (70.83%)
	10%	Z_7 (41.67%)	Z_7 (43.06%)
	100%	Z_14 (100%)	Z_14 (97.22%)
O-EO	0.25%		
	1%		
	10%		Z_7 (54.39%)
	100%	Z_14 (100%)	Z_14 (100%)
S-EO	0.25%		
	1%		
	10%	Z_10 (46.67%)	
	100%	Z_14 (abs)	Z_14 (abs)
T-EO	0.25%		
	1%		
	10%	Z_7 (15.28%)	Z_7 (53.33%)
	100%	Z_14 (100%)	Z_14 (100%)
Indice de inhibiție înregistrat la finalul testului I <sub>sol</sub> / I <sub>paper</sub> (Zx – funcție de caz)			
Indice de inhibiție pe parcursul testului, pînă în ziua Zy			

Fig. 6.5 Prezentare schematică, de tip "tabla de șah", a uleiurilor esențiale la concentrațiile studiate, cu reliefaarea concentrațiilor pentru care s-a demonstrat potențial biocid antifungic, comparativ pentru cele două ciuperci testate *Trametes versicolor* (putregai alb) și *Serpula lacrymans* (putregai brun)

Aceste rezultate oferă informații valoroase pentru selectarea celor mai potrivite uleiuri și concentrații în vederea controlului eficient al dezvoltării fungice.

**Concluzie:** În urma evaluării comparative a potențialului biocid antifungic a celor 5 uleiuri testate, au fost selectate două uleiuri esențiale pentru continuarea cercetărilor: uleiul esențial de cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) și uleiul esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*).

Totodată, pentru o mai mare acuratețe și relevanță a rezultatelor, în următoarea etapă s-a efectuat validarea rezultatelor obținute utilizând cele două tipuri de uleiuri esențiale selectate, C-EO și T-EO, repetând același test RS în laboratorul din cadrul ICDT Brașov. În acest test s-au folosit *Trametes versicolor* (TV) și *Postia placenta* (PP) din colecția micologică proprie.

### 6.3.3. Analiza comparativă a rezultatelor experimentale obținute în etapa de validare a potențialului antifungic pentru C-EO și T-EO

Pentru a aprofunda cercetările privind potențialul biocid al celor două uleiuri esențiale selectate: uleiul esențial de cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) și cel de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) și validarea rezultatelor ce au fundamentat selecția acestora, s-a realizat din nou un test pe tip screening RS, în cadrul ICDT Brașov.

Validarea potențialului antifungic s-a realizat prin testarea celor două uleiuri selectate diluate în doi solvenți diferiți: ulei de in fiert sicativat (cod LO) și etanol (alcool etilic pa, 96%, cod ET), variantele de testare fiind prezentate anterior în Tab. 6.1. Ciupercile utilizate în testul de validare au fost *Postia placenta* -putregai brun și *Trametes versicolor* -putregai alb.

### 6.3.3.1. Efectul mediilor de diluare asupra inhibării dezvoltării fungice

Pentru validarea potențialului biocid al uleiurilor esențiale și diferențierea acestuia de potențialul efect al mediilor de diluare (LO, etanol), s-au efectuat teste pe probe control la concentrația de 0% ulei esențial, respectiv teste cu solvenții/mediile de diluare ca atare, cu scopul de verificare a efectului acestora în dezvoltarea ciupercilor de putregai.

Spre exemplificare în Fig. 6.6 sunt prezentate imagini ce evidențiază evoluția dezvoltării miceliului ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor* pe toată durata testului, pentru martorul de ciupercă și concentrația de 0% ulei esențial cu cei doi solvenți utilizați, respectiv uleiul de in (LO) și alcoolul etilic. Analizând imaginile din Fig. 6.6 se poate observa că la concentrația de 0% atât în cazul uleiului de in cât și pentru etanol în primele zile de monitorizare ciuperca **TV** se dezvoltă uniform pe mediu, comparativ cu martorul de ciupercă. Din ziua a 7 a ciuperca a ajuns pe hârtie în cazul etanolului și nu se observă diferențe notabile în dezvoltarea ciupercii între etanol și martorul de ciupercă.

În cazul uleiului de in (LO), în ziua a 5 ciuperca **TV** a ajuns până la hârtie și și-a continuat dezvoltarea pe mediu, evitând hârtiile tratate. La finalul testului (ziua 11) mediul era acoperit cu ciupercă, dar hârtiile tratate cu LO nu erau acoperite complet. Astfel se observă că LO prezintă un oarecare potențial fungicid împotriva ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor*.

Complementar în Fig. 6.7 sunt prezentate spre exemplificare imagini ce evidențiază evoluția ciupercii de putregai brun *Postia placenta* pe toată durata testului, pentru martorul de ciupercă și concentrația de 0% ulei esențial, probe control cu cei doi solvenți utilizați, respectiv uleiul de in (LO) și alcoolul etilic.

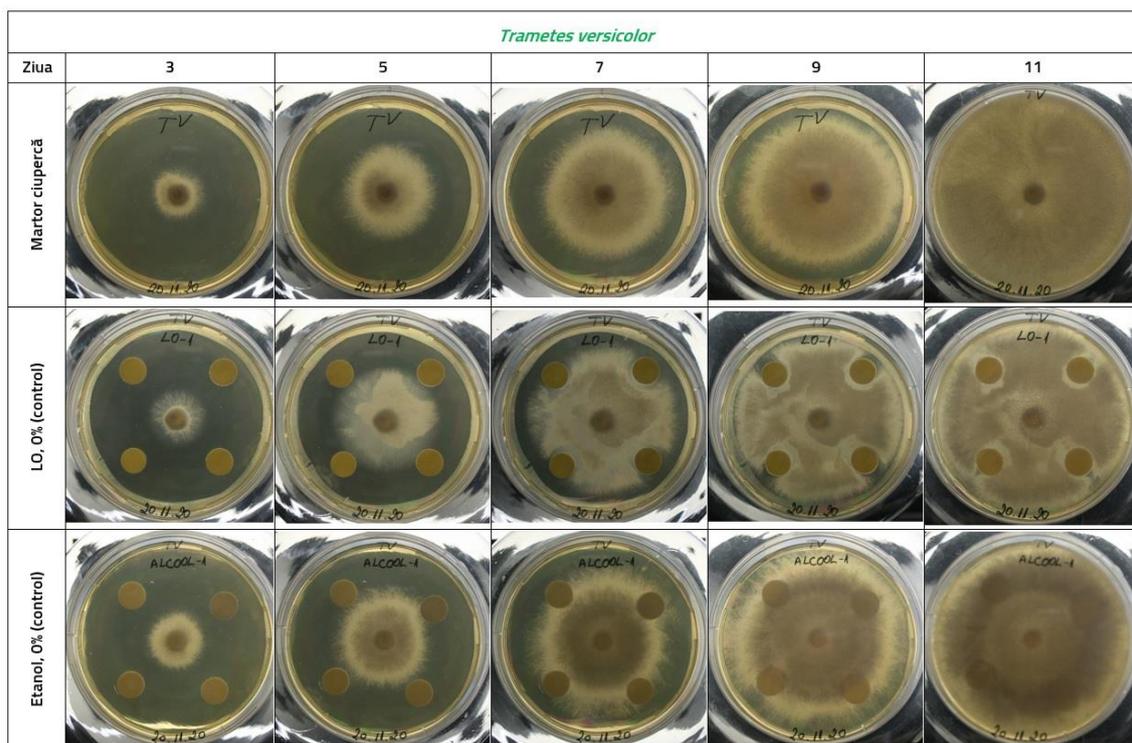


Fig. 6.6 Evoluția dezvoltării miceliului pentru ciuperca de putregai alb *Trametes versicolor* pe toată durata testului pentru probele control (0% ulei esențial) cu cei doi solvenți utilizați, respectiv uleiul de in (LO) și alcoolul etilic comparativ cu martorul de ciupercă

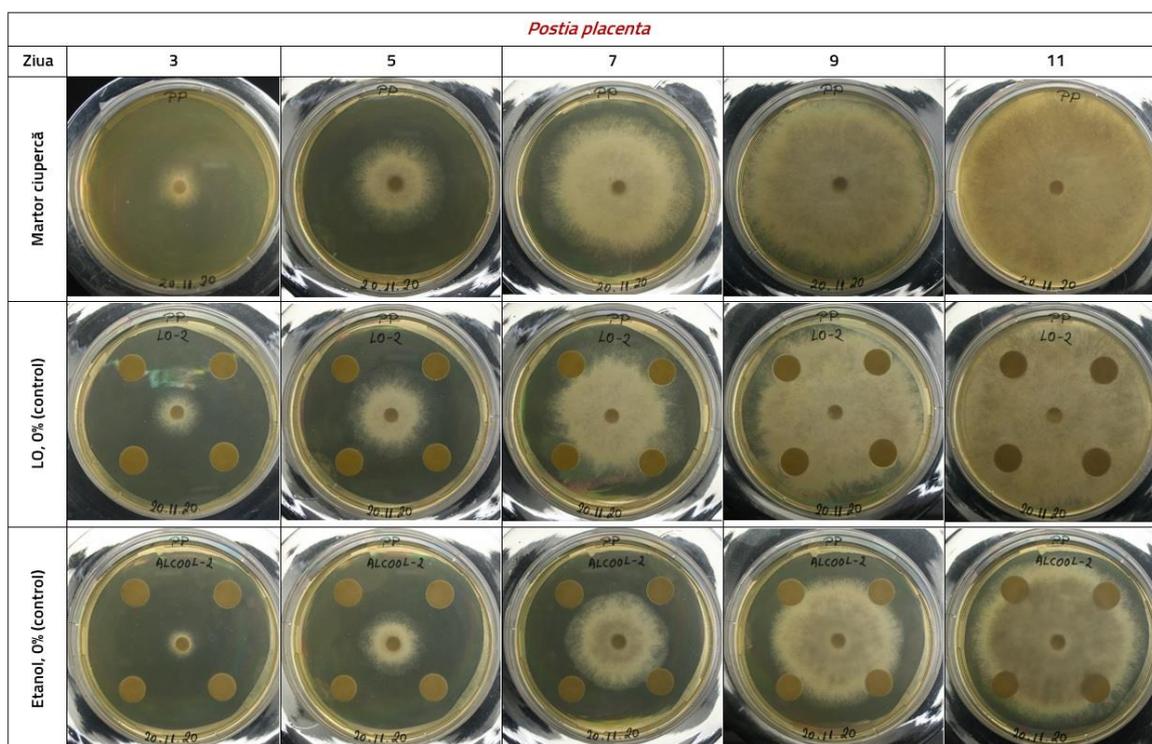


Fig. 6.7 Evoluția ciupercii de putregai brun *Postia placenta* pe toată durata testului pentru probele control (0% ulei esențial) cu cei doi solvenți utilizați, respectiv uleiul de in (LO) și alcoolul etilic comparativ cu martorul de ciupercă

Analizând imaginile din Fig. 6.7 se poate observa că în primele zile ciuperca *Postia placenta* se dezvoltă relativ uniform pe mediu, cu o tendință de întârziere în cazul etanolului (observabilă din ziua 5). Această tendință de întârziere a creșterii ciupercii **PP** se menține, în cazul etanolului până la finalul testului, când ciuperca încă nu este dezvoltată pe întreaga suprafață a cutiei Petri, comparativ cu martorul de ciupercă, care a acoperit în totalitate suprafața cutiei.

În cazul LO din ziua a 7-a ciuperca **PP** ajunge pe hârtie și se dezvoltă uniform, fără diferențe notabile față de martor. La finalul testului (ziua 11) toată suprafața cutiei Petri este acoperită cu ciupercă **PP** atât în cazul martorului de ciupercă, cât și în cazul hârtiilor tratate cu LO.

Se poate afirma că în cazul ciupercii de putregai brun *Postia placenta*, etanolul arată un ușor efect de inhibare a dezvoltării

### 6.3.3.2. Validarea potențialul biocid pentru uleiul esențial de cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*)

Validarea efectului biocid dovedit de uleiul esențial de cuișoare s-a efectuat utilizând aceleași două ciuperci. Conform celor prezentate anterior (Capitolul 6 6.3.2.2, 6.3.2.3) uleiul esențial de cuișoare C-EO a demonstrat potențial biocid începând cu concentrația de 1%.

Rezultatele obținute în testul de validare a potențialului biocid al C-EO, la diverse diluții în cele două medii considerate (LO, etanol), față de cele două ciuperci **TV** și **PP** sunt reprezentate grafic prin evoluția indicilor de inhibiție calculați. Graficele complexe prezintă evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pe toată perioada de monitorizare, pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) în cei doi solvenți studiați.

Un exemplu de interpretare a acestor reprezentări grafice complexe ale unui proces evolutiv, cu faze succesive de dezvoltare miceliu pe mediu, corespunzător  $I_{sol}$ , urmat de dezvoltare miceliu pe hârtie, corespunzător  $I_{paper}$ , este prezentat în cele ce urmează. Succesiunea acestor faze este evidențiată prin culoarea diferită a chenarelor coloanelor (negru pentru dezvoltare pe mediu și roșu la dezvoltarea succesivă pe hârtie) și este important de observat că aceasta poate surveni după durate diferite de incubare funcție de concentrația EO și mediul de diluție. Valorile indicilor de inhibiție calculați sunt figurate cu negru sau roșu, după cum se referă la  $I_{sol}$  sau  $I_{paper}$ .

Exemplu interpretare grafic – Fig. 6.8 pentru potențialul biocid al C-EO în ulei de in (Fig. 6.8 a) și etanol (Fig. 6.8 b) față de *Trametes versicolor*.

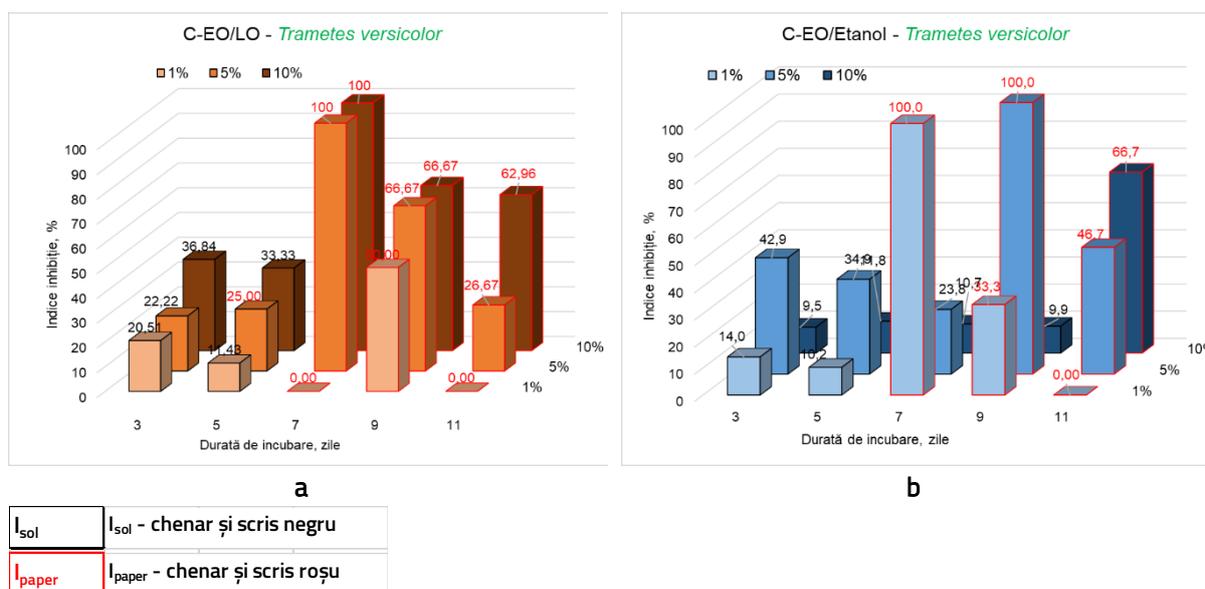


Fig. 6.8 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru uleiul esențial de cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) la concentrațiile testate în cei doi solvenți studiați (ulei de in – a; etanol – b) pentru putregaiul alb *Trametes versicolor*.

La concentrația de 1% C-EO în ambii solvenți utilizați ciuperca se dezvoltă aparent uniform (BD-O3/2 – R-O3-2/C-EO) în primele zile de monitorizare, cu ușoare tendințe înspre control. În ziua 7 ciuperca TV ajunge de pe mediu doar pe hârtia control, în cazul C-EO/Etanol, prezența marcajului de chenar roșu, prezentând la acel moment inhibiție totală de 100%. Aceasta se diminuează pe parcurs, indicele de inhibiție ( $I_{paper}$ ) scăzând de la 100% la 0% valoare înregistrată la sfârșitul testului (ziua 11). În cazul C-EO/LO în ziua 7 ciuperca TV începe să urce pe hârtie, neobservându-se însă vreo preferință (BD-O3/2 – R-O3-2/C-EO). Ulterior, în ziua 9 se poate vedea un efect de inhibare ( $I_{paper}=50\%$ ), care însă nu se va menține, la finalul testului toate hârtiile fiind acoperite de miceliu ( $I_{paper}=0\%$ )

La concentrația de 5% C-EO/LO în ziua 7 ciuperca ajunge pe hârtie, preferând hârtia control și până la sfârșitul testului se menține această tendință de inhibare a ciupercii TV, în ziua 11 indicele de inhibiție ( $I_{paper}$ ) fiind 26,67%.

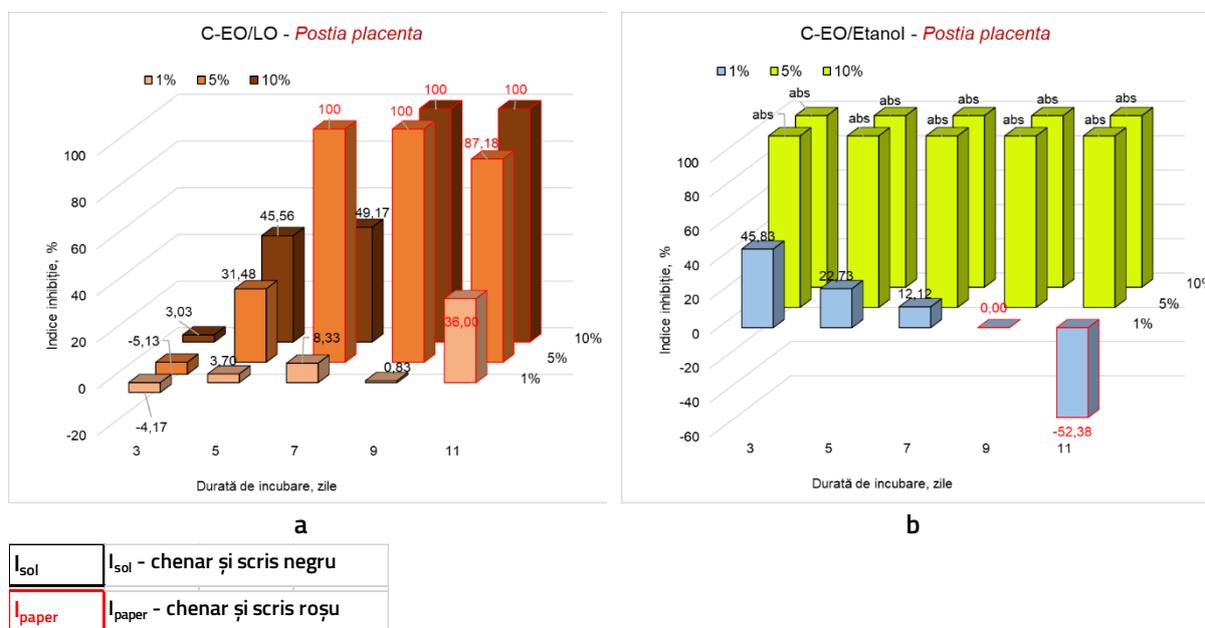
C-EO/Etanol la această concentrație (5%) prezintă efect de inhibare a dezvoltării ciupercii TV. Abia în ziua 9 ciuperca ajunge pe hârtia control ( $I_{paper}=100\%$ ), dar până la sfârșitul testului valoare indicelui ( $I_{paper}$ ) ajunge la 46,7%.

La concentrația de 10% C-EO/LO ciuperca TV ajunge pe hârtia control ( $I_{paper}=100\%$ ) în ziua a 7 a de monitorizare. Efectul inhibitor se menține până la sfârșitul testului, dar valoarea indicelui ( $I_{paper}$ ) scade de la 100% la 62,96%, valoare obținută în ziua 11.

În ceea ce privește C-EO/Etanol la concentrația de 10% se observă clar o întârziere în dezvoltarea ciupercii TV, prin faptul că aceasta ajunge pe hârtie doar la finalul testului, iar indicele de inhibiție ( $I_{paper}$ ) are la final valoare 66,7%.

Pentru putregaiul brun *Postia placenta* se observă inhibiție în dezvoltare în testele efectuate cu ulei esențial de cuișoare, acest efect este prezentat grafic în Fig. 6.9 unde se poate observa evoluția indicilor

de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pe parcursul celor 11 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de cuișoare C-EO în cei doi solvenți studiați (ulei de in – Fig. 6.9 a; etanol – Fig. 6.9 b).



**Fig. 6.9** Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pe toată durata de monitorizare, pentru uleiul esențial de cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) la concentrațiile testate cu cei doi solvenți studiați (ulei de in – a; etanol – b) pentru putregaiul brun *Postia placenta*.

La concentrația de 1% C-EO/LO, ciuperca PP are întârzieri în dezvoltare, ajungând pe hârtie doar în ziua 11 la finalul testului, când valoarea indicelui de inhibiție calculate ( $I_{paper}$ ) este 36%.

La această concentrație, de 1% și în cazul C-EO/Etanol, ciuperca PP se comportă diferit. Ciuperca ajunge pe hârtie doar din ziua 9, moment în care avem inhibiție absolută ( $I_{paper}=100\%$ ), dar la finalul testului (ziua 11), indicele de inhibiție are o valoare negativă mare ( $I_{paper} = -52,38$ ), ceea ce ar arăta că tratamentul C-EO/Etanol 1% ar favoriza creșterea ciupercii PP.

La concentrația de 5% C-EO/LO în ziua 7 ciuperca PP ajunge pe hârtie, având inhibiție totală ( $I_{paper}=100\%$ ), dar până la finalul testului, ziua 11 indicele ( $I_{paper}$ ) are valoarea 87,18%. C-EO/Etanol la această concentrație prezintă efect de inhibare absolută a dezvoltării ciupercii PP, care se menține până la sfârșitul testului.

La concentrația de 10% C-EO/LO ciuperca PP este încetinită în dezvoltare, ea ajungând pe hârtie doar din ziua 9 și preferința ei de creștere este evidentă înspre zona control. Atât în ziua 9 cât și la finalul testului se întâlnește cazul de inhibiție totală, indicele ( $I_{paper}$ ) având valoare de 100%.

În ceea ce privește C-EO/Etanol la concentrația de 10% situația este similară cu C-EO/Etanol 5%, adică prezintă efect de inhibare absolută a dezvoltării ciupercii PP și se menține pe întreaga durată a testului.

### 6.3.3.3. Validarea potențialul biocid pentru uleiul esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*)

Validarea potențialul biocid al uleiului esențial de cimbru T-EO în cele două tipuri de medii de diluție (LO și Etanol) se cuantifică și de această dată prin determinarea indicilor de inhibiție a dezvoltării ciupercilor utilizate în testare.

Astfel, pentru putregaiul alb *Trametes versicolor* evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pe toată perioada de monitorizare, pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) cu cei doi solvenți studiați (ulei de in – Fig. 6.10 a; etanol – Fig. 6.10 b) se prezintă sub formă grafică în Fig. 6.10.

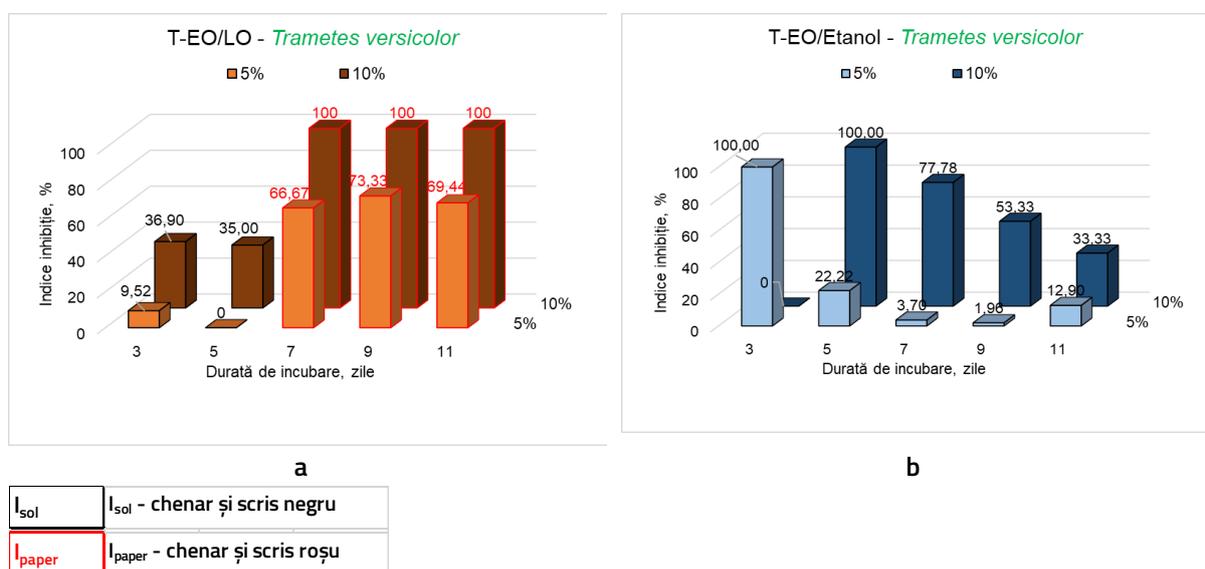


Fig. 6.10 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru uleiul esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) la concentrațiile testate cu cei doi solvenți studiați (ulei de in – a; etanol – b) pentru putregaiul alb *Trametes versicolor*.

La concentrația de 5% T-EO/LO în ziua 7 ciuperca TV ajunge pe hârtie (apare marcajul roșu, respectiv indicele de inhibiție  $I_{paper}$ ), preferând hârtia control și până la sfârșitul testului se menține această inhibare când indicele de inhibiție ( $I_{paper}$ ) este de 69,44%. T-EO/Etanol la această concentrație prezintă efect de inhibare a dezvoltării ciupercii TV, până la finalul testului (ziua 11) ciuperca neajungând încă pe hârtie.

La concentrația de 10% T-EO/LO din ziua 7 se manifestă inhibiție totală ( $I_{paper}=100\%$ ) și se menține până la finalul testului. Față de concentrația de 5% T-EO/LO, la sfârșitul testului ciuperca TV este mai slab dezvoltată. În ceea ce privește T-EO/Etanol la concentrația de 10% avem două situații diferite în cele două cutii Petri. Una dintre ele prezintă inhibiție absolută (ciuperca nu s-a dezvoltat deloc după inoculare), iar cealaltă prezintă inhibiție totală ( $I_{sol} = 33,33\%$ , la finalul testului) (BD-O3/2 - R-O3-2/T-EO).

Pentru putregaiul brun *Postia placenta* în Fig. 6.11 se prezintă sub formă grafică evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pe parcursul celor 11 zile de monitorizare, pentru

fiecare concentrație a uleiului esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) cu cei doi solvenți studiați (ulei de in – Fig. 6.11 a; etanol – Fig. 6.11 b).

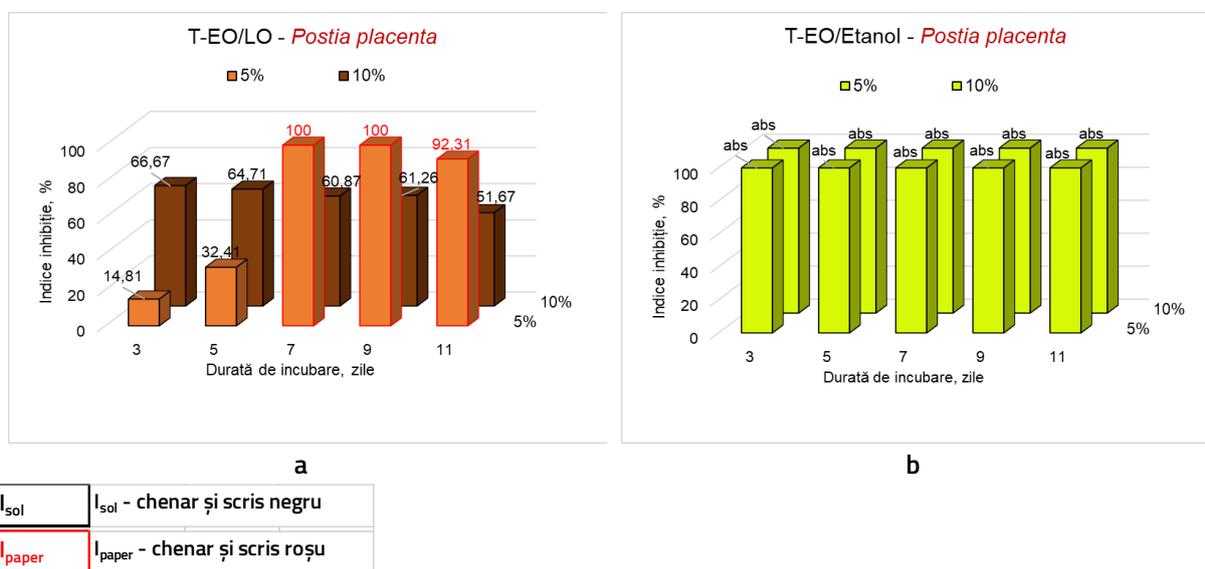


Fig. 6.11 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pe toată durata de monitorizare, pentru uleiul esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) la concentrațiile testate cu cei doi solvenți studiați (ulei de in – a; etanol – b) pentru putregaiul brun *Postia placenta*.

La concentrația de 5% T-EO/LO prezintă potențial antifungic prin inhibarea dezvoltării ciupercii PP, în ziua 11 indicele de inhibiție ( $I_{paper}$ ) este de 92,31%, fiind aproape de o inhibare totală. T-EO/Etanol la această concentrație prezintă efect de inhibare absolută a dezvoltării ciupercii PP, care se menține până la sfârșitul testului.

Pentru concentrația de 10% T-EO/LO ciuperca PP este mult încetinită în dezvoltare, cu o preferință clară înspre control. În ultima zi de testare ciuperca încă nu a ajuns pe hârtie, iar indicele de inhibiție ( $I_{sol}$ ) este 51,67%. În ceea ce privește T-EO/Etanol 10%, apare efect de inhibare absolută a dezvoltării ciupercii PP, care se menține până la sfârșitul testului.

#### 6.3.3.4. Analiza rezultatelor experimentale obținute în funcție de tipul de fungi

Valorile celor doi indici: de inhibiție a creșterii miceliului pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii miceliului pe hârtie ( $I_{paper}$ ) la sfârșitul testului (ziua 11) pentru cele două uleiuri esențiale: cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) și cimbru T-EO (*Satureja hortensis*), utilizând ca solvenți uleiul de in LO și alcoolul etilic la toate concentrațiile studiate sunt prezentate în comparativ în Fig. 6.12, pentru ambele tipuri de ciuperci.

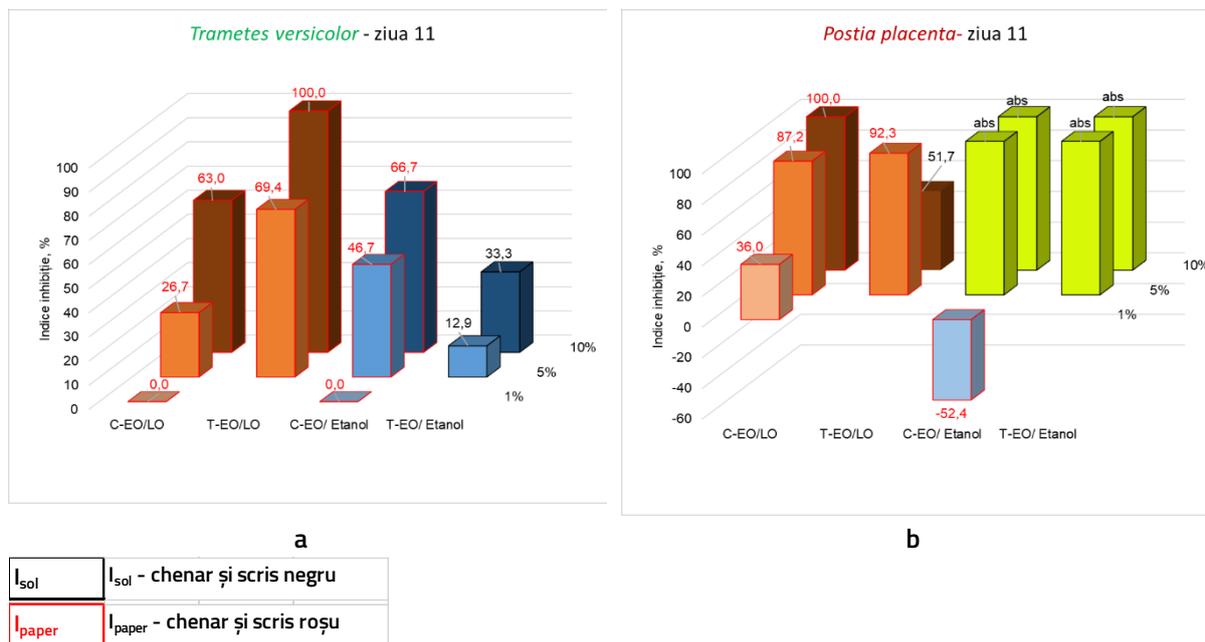


Fig. 6.12 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și hârtie ( $I_{paper}$ ) la final de test, pentru uleiul esențial de cuișoare C-EO și uleiul esențial ce cimbru T-EO la concentrațiile testate în cele două medii de diluție pentru putregaiul alb – *Trametes versicolor* - a și putregaiul brun *Postia placenta* - b.

**TV (*Trametes versicolor*)**

- 1% C-EO/LO ciuperca nu prezintă nici un fel inhibiție ( $I_{paper}=0\%$ )
- 5% C-EO/LO prezintă potențial de inhibiție mai mare față de 1% C-EO/LO ( $I_{paper}=26,7\%$ )
- 10% C-EO/LO prezintă potențial de inhibiție mai mare față de 5% C-EO/LO ( $I_{paper}=63\%$ )

- 1% C-EO/Etanol ciuperca nu prezintă nici un fel inhibiție ( $I_{paper}=0\%$ )
- 5% C-EO/Etanol ciuperca prezintă potențial de inhibiție mai mare față de 1% C-EO/Etanol ( $I_{paper}=46,7\%$ )
- 10% C-EO/Etanol ciuperca prezintă potențial de inhibiție mai mare față de 5% C-EO/Etanol ( $I_{paper}=66,7\%$ )

**PP (*Postia placenta*)**

- 1% C-EO/LO prezintă un mic potențial de inhibiție ( $I_{paper}=36\%$ )
- 5% C-EO/LO prezintă potențial de inhibiție mai mare față de 1% C-EO/LO ( $I_{paper}=87,2\%$ )
- 10% C-EO/LO prezintă inhibiție totală,  $I_{paper}=100\%$

- 1% C-EO/Etanol ciuperca prezintă un caz aparte de favorizare a creșterii ciupercii ( $I_{paper}=-52,4\%$ )
- 5% C-EO/Etanol ciuperca prezintă inhibiție absolută ( $I_{sol}=100\%=\text{abs}$ )
- 10% C-EO/Etanol ciuperca prezintă inhibiție absolută ( $I_{sol}=100\%=\text{abs}$ )

TV ( <i>Trametes versicolor</i> )		PP ( <i>Postia placenta</i> )
<ul style="list-style-type: none"> <li>5% T-EO/LO prezintă potențial de inhibiție (<math>I_{\text{paper}}=69,4\%</math>)</li> <li>10% T-EO/LO ciuperca prezintă inhibiție totală (<math>I_{\text{paper}}=100\%</math>)</li> </ul>	<	<ul style="list-style-type: none"> <li>5% T-EO/LO prezintă potențial de inhibiție (<math>I_{\text{paper}}=92,3\%</math>)</li> <li>10% T-EO/LO ciuperca prezintă inhibiție mult mai mare față de 5% T-EO/LO (<math>I_{\text{sol}}=51,7\%</math>)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>5% T-EO/Etanol prezintă potențial de inhibiție (<math>I_{\text{sol}}=12,9\%</math>)</li> <li>10% T-EO/Etanol prezintă potențial de inhibiție mai mare față de 5% T-EO/Etanol (<math>I_{\text{sol}}=33,3\%</math>)</li> </ul>	<	<ul style="list-style-type: none"> <li>5% T-EO/Etanol ciuperca prezintă inhibiție absolută (<math>I_{\text{sol}}=100\%=\text{abs}</math>)</li> <li>10% T-EO/Etanol ciuperca prezintă inhibiție absolută (<math>I_{\text{sol}}=100\%=\text{abs}</math>)</li> </ul>

În cazul utilizării C-EO și T-EO în etanol la concentrații de 5% și 10%, ambele uleiuri esențiale produc inhibiție absolută a ciupercii de putregai brun *Postia placenta* (PP), datorată foarte probabil volatilizării EOs și sterilizării incintei de tratare.

În cazul diluției în etanol, la concentrațiile de 5% și 10% uleiul esențial de cimbru T-EO are un potențial antifungic mai ridicat față de uleiul esențial de cuișoare C-EO, împotriva putregaiului alb *Trametes versicolor* (TV), caz în care ciuperca ajunge pe hârtie.

În cazul utilizării C-EO și T-EO în LO, nu s-au obținut inhibări absolute pentru niciuna din cele două ciuperci testate, la nici una dintre concentrațiile 1-10%, ceea ce s-ar putea corela cu o fixare în hârtia suport a EOs datorită uleiului de in, astfel încât nu se produce sterilizarea incintei de testare. S-au obținut însă indici de inhibiție totală ( $I_{\text{paper}}=100\%$ ) pentru T-EO/LO 10% pentru de *Trametes versicolor* și C-EO/LO 10% pentru *Postia placenta*.

#### 6.4. Concluzii

- Toate cele 5 uleiuri esențiale studiate B-EO, C-EO, O-EO, S-EO, T-EO prezintă potențial biocid antifungic față de ciupercile de putregai alb (*Trametes versicolor*) și brun (*Serpula lacrymans*, *Postia placenta*) testate, dacă acestea sunt folosite ca atare, adică la concentrația maximă de 100%.
- În baza testelor screening, considerând observațiile calitative și indicii cantitativi de inhibiție a dezvoltării fungice calculați, domeniul de concentrații în care se manifestă potențialul biocid antifungic și rezultatele diferențiate pentru ciupercile de putregai brun și alb testate, cele 5 uleiuri esențiale se pot ordona descrescător dpdv al potențialul antifungic după cum urmează C-EO (cuișoare), T-EO (cimbru), S-EO (scorțișoară), O-EO (oregano) și B-EO (busuioc).
- În baza indicilor de inhibiție a dezvoltării fungice la finalul testelor screening de evaluare comparativă a potențialului biocid antifungic al EOs testate, au fost selectate două uleiuri esențiale pentru continuarea cercetărilor: uleiul esențial de cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) și uleiul esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*).

- Ambele uleiuri esențiale selectate au demonstrat în testele de validare potențial biocid față de ciuperca de putregai alb *Trametes versicolor* (TV) și ciuperca de putregai brun *Postia placenta* (PP), începând de la concentrație de 5%, indiferent de tipul de solvent folosit.
- Uleiul esențial de cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) prezintă un potențial de inhibiție mai mare față de uleiul esențial de cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) pentru ambele ciuperci TV (*Trametes versicolor*) și PP (*Postia placenta*), indiferent de tipul de mediu de diluție și de concentrație.
- Uleiul esențial de cuișoare C-EO (la 5% și 10%) a prezentat un potențial antifungic mai crescut față de ciuperca de putregai brun *Postia placenta*, decât față de ciuperca de putregai alb *Trametes versicolor*, indiferent de mediul de diluție folosit.
- Uleiul esențial de cimbru T-EO (la 5% și 10%) a prezentat un potențial antifungic mai crescut față de ciuperca de putregai brun *Postia placenta*, decât față de ciuperca de putregai alb *Trametes versicolor*, indiferent de mediul de diluție folosit.
- Potențialul antifungic mai redus al uleiurilor esențiale (C-EO și T-EO) față de *Trametes versicolor*, în comparație cu *Postia placenta* se corelează cu capacitatea ciupercii de putregai alb (TV) de a degrada compușii fenolici, inclusiv eugenolul și carvacrolul, componenții chimici principali ai C-EO și T-EO. (Páneek et al., 2014; Voda et al., 2003)

Ca urmare a acestor concluzii cercetările au continuat cu teste minibloc pe lemn de fag tratat cu soluții de C-EO și T-EO, concentrații 5% și 10%, diluate în ulei de in (LO) și etanol.

## Capitolul 7 - Determinarea eficienței biocide și a potențialului impact ecologic pentru două produse selectate (ulei esențial de cuișoare C-EO, ulei esențial de cimbru T-EO)

În conformitate cu conceptul de bază al lucrării, acest capitol prezintă evaluarea a două aspecte deosebit de importante în dezvoltarea unor potențiale noi produse pentru bioprotecția antifungică a lemnului și anume: eficiența lor biocidă și potențialul lor eco-impact. Punerea în balanță și evaluarea în aceeași etapă de dezvoltare a acestor aspecte reprezintă o necesitate într-o abordare ecologică și sustenabilă în bioprotecția lemnului, respectiv dezvoltarea și testarea de noi produse aplicabile în domeniu.

Pentru atingerea acestui obiectiv s-au realizat în paralel două tipuri de teste:

- Test minibloc pentru validarea efectului antifungic și evaluarea eficienței pe probe de lemn tratat;
- Test de fitotoxicitate pentru evaluarea potențialului eco-impact datorită fenomenului de spălare de pe lemnul tratat a unor posibili compuși toxici (Fig. 7.1).

### 7.1. Aspecte metodologice

#### 7.1.1. Tratarea epruvetelor de lemn și pregătirea pentru testul minibloc

Cele două uleiuri selectate pe baza potențialului fungicid demonstrat anterior prin testele screening au fost uleiul de cuișoare C-EO și uleiul de cimbru T-EO. Cele două EOs au fost diluate în două medii diferite: ulei de in (LO) și etanol la diferite concentrații, soluțiile obținute fiind folosite pentru a trata materialul lemnos. Pentru C-EO s-au folosit diluții 0%, 1%, 5% și 10%, iar în cazul T-EO diluțiile au fost 0%, 5% și 10%, în ambii solvenți.

Materialul lemnos folosit a fost lemn de fag neaburit (*Fagus sylvatica*) și alburn de pin (*Pinus sylvestris*), care constituie speciile de referință nedurabile. Rezultatele prezentate în acest capitol sunt exclusiv pentru lemn de fag. Epruvetele cu dimensiuni de (20x20x5), mm pe direcțiile L, Tg, Ra au fost pregătite pentru a intra în teste prin parcurgerea mai multor procese succesive (Fig. 7.1, Fig. 7.2). Etapele, echipamentele și parametrii utilizați în cadrul proceselor sunt prezentate în Fig. 7.2. Modul de debitare a probelor și procedurile de tratare și pregătire pentru testare sunt similare principial cu cele raportate de Reinprecht și colaboratorii (Pánek et al., 2014).

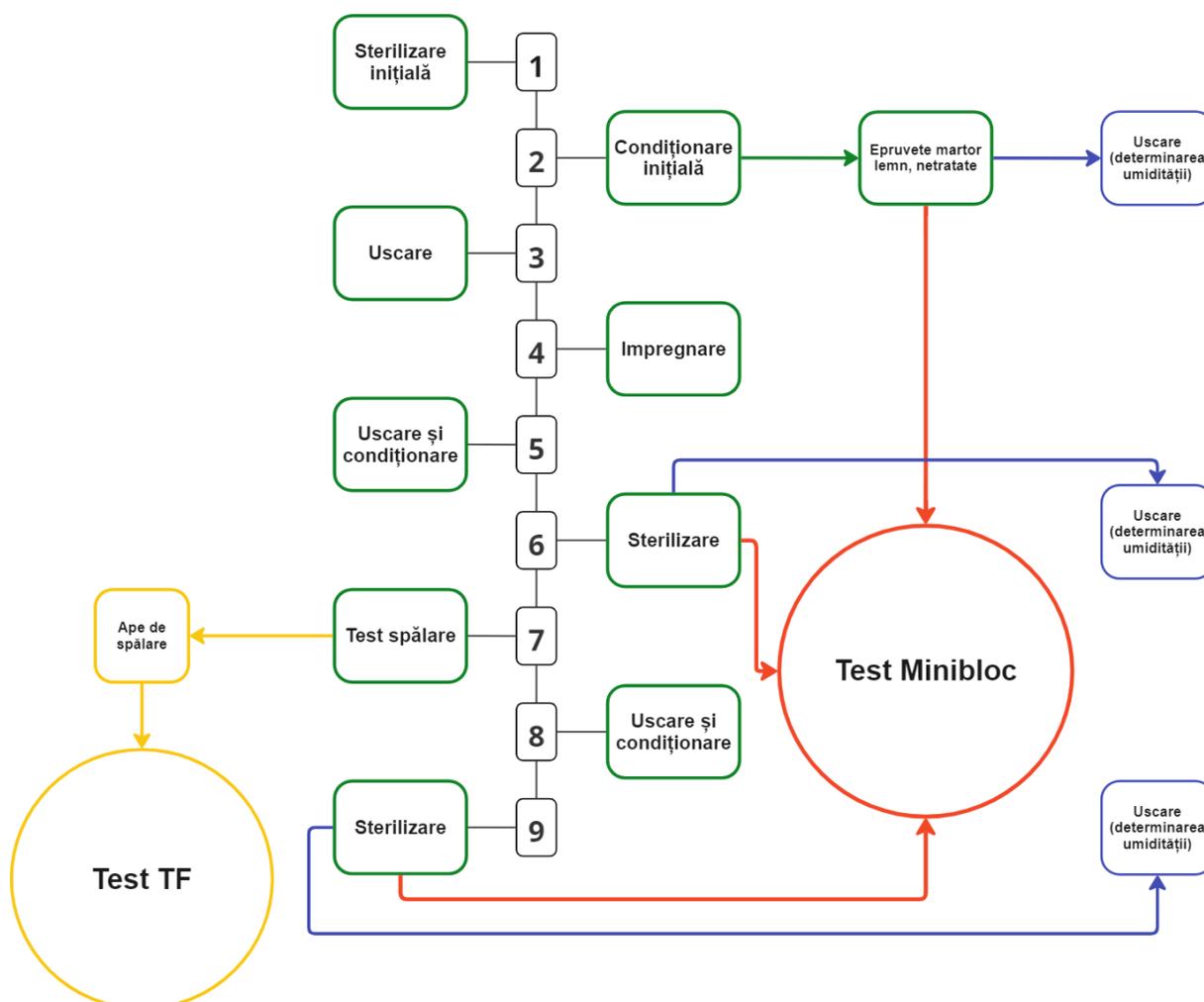


Fig. 7.1 Schema proceselor de pregătire a epruvetelor de lemn pentru testul minibloc și obținerea apelor de spălare pentru testul de fitotoxicitate

Primii 6 pași din flux sunt comuni pentru toate epruvetele tratate. După cum se poate observa în Fig. 7.2 cu font galben, în cazul tratării epruvetelor cu uleiuri esențiale diluate în ulei de in LO, în etapa 5 de uscare și condiționare (după impregnare), înainte de introducerea în camera climatică sterilă apare o etapă intermediară de menținere a epruvetelor în condiții de laborator pentru 24h pentru a permite uleiului de in LO să se întărească și să formeze peliculă.

După sterilizarea de la pasul 6 epruvetele se împart în două categorii mari, cele care intră în testul minibloc în acel moment și cele care vor fi supuse în continuare unor procese (Fig. 7.1). Se începe cu un test de spălare conform EN 84:2000 cu scopul de a studia lavabilitatea produselor de tratare a lemnului. Apoi epruvetele spălate sunt supuse din nou proceselor de condiționare și sterilizare (8, 9 din Fig. 7.1), care sunt similare ca și echipamente și parametrii folosiți cu etapele 5 și 6 (Fig. 7.2).

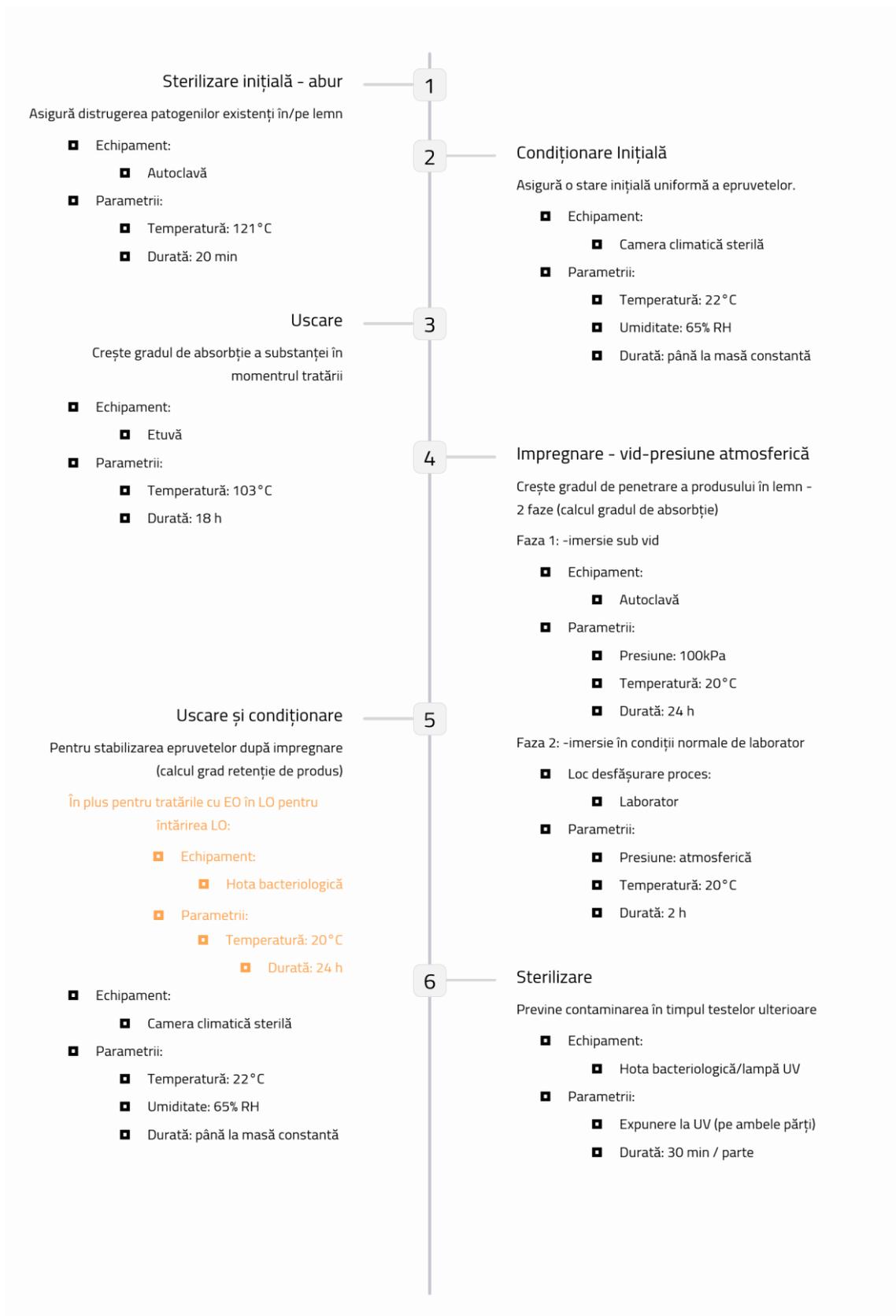


Fig. 7.2 Schema detaliată a proceselor de pregătire a epruvetelor lemnoase pentru teste – partea comună

Pentru fiecare epruvetă s-au calculat gradul de absorbție a produsului de tratare, după impregnare (Abs, %) și gradul de retenție a produsului după uscare și condiționare, exprimat prin creșterea procentuală de masă (WPG, %), rezultând medii ale acestora pentru fiecare tratament (conform formulelor din capitolul 4). Acestea s-au folosit pentru o caracterizare a epruvetelor înainte de intrarea lor în testul minibloc. Pe lângă acești parametri s-a analizat și umiditatea probelor la intrarea în test, folosind epruvete suplimentare destinate ca martore de umiditate. Acestea au fost în număr de 6 epruvete tratate pentru fiecare tratament, 6 probe control (tratate doar cu solventul) și 6 probe martor de lemn netratat.

### 7.1.2. Testul minibloc

Testul minibloc R folosit este cel prezentat pe larg în capitolul 4. Astfel pentru fiecare ciupercă și fiecare tratament au fost incluse în test câte 6 epruvete, rezultând (conform modului de dispunere a epruvetelor în test capitolul 4) câte două cutii Petri. Fiecare cutie a conținut, pe lângă probele tratate (3), și câte o probă control (tratată doar cu solventul folosit). Acestea au fost numite probe control cp. Suplimentar s-au inclus în test, în cutii Petri separate, câte 4 probe control (control independent, ci) și 4 probe martor (lemn netratat).

Suplimentar, s-au pregătit cutii Petri pentru corectarea valorilor pierderilor de masă datorită altor procese decât biodegradarea de către fungi. În acest scop s-au pregătit cutii Petri în mod similar, cu câte 4 epruvete pentru fiecare tratament, probe martor și control, care s-au plasat pe o sită pe mediul de cultură, în cutii care nu au fost inoculate cu ciupercă. Aceste cutii au fost plasate în incubatorul Climacel împreună cu celelalte cutii cu probe. Testarea s-a făcut în paralel cu două tipuri de fungi, una de putregai brun *Postia placenta* PP și una de putregai alb *Trametes versicolor* TV.

### 7.1.3. Testul de spălare a probelor de lemn și testul de fitotoxicitate

În cea de a doua fază a rezolvării acestui obiectiv, care se referă la determinarea potențialului eco-impact pe care cele două uleiuri esențiale îl pot avea asupra mediului, s-a utilizat testul de fitotoxicitate (TF) prezentat în detaliu capitolul 4. Testele de fitotoxicitate, precum cel de germinare a semințelor, sunt utilizate frecvent în cercetare pentru a evalua riscul pentru mediu al anumitor produse sau tehnologii (Roccotiello et al., 2011).

Principial, într-un astfel de test de (fito)toxicitate se evaluează potențialul impact ecologic al tratamentelor de bioprotecție a lemnului datorită lavabilității (îndepărtării datorită precipitațiilor) al unor compuși toxici ce pot ajunge în mediu, în sol, ape de suprafață, cu posibilă acumulare în timp chiar în apele freactice, având un posibil efect negativ asupra organismelor. În mod particular, în testul de fitotoxicitate se studiază efectul acestor ape de spălare a lemnului (tratate) asupra germinării semințelor și dezvoltării germenilor. Efectul toxic poate afecta puterea de germinare (numărul, respectiv procentul de germinare) și dezvoltarea germenilor (lungimea medie a germenilor, LMG, mm, într-un timp dat), respectiv indicele relativ de germinare (GI, %), indicator complex ce cumulează indicii anteriori (Bae et al., 2014; Di Salvatore et al., 2008). Testul poate continua cu urmărirea efectelor toxice asupra dezvoltării

ulterioare a plantelor, efect ce poate fi manifestat inclusiv de anumiți compuși lavabili din lemnul netratat.<sup>29</sup>

Prin urmare, testarea potențialului eco-impact al tratamentelor aplicate lemnului implică 2 etape:

- efectuarea unui test de spălare controlată cu apă distilată a probelor și colectarea apelor de spălare rezultate; testul de spălare simulează îndepărtarea unor compuși (toxici) lavabili sub influența condițiilor de mediu;
- utilizarea apelor de spălare într-un test de germinare a semințelor, comparativ cu apă distilată.

Apele folosite în cadrul testului de fitotoxicitate realizat experimental în cadrul lucrării au fost o parte din apele de spălare rezultate în urma testului de spălare conform EN 84:2000 (Fig. 7.1.). Acest test este un test de îmbătrânire artificială asociat testelor de determinare a eficienței substanțelor /tratamentelor biocide, cu rolul de a permite simularea modificării acestora ca urmare a lavabilității produselor de tratare și îndepărtării acestora în timp de pe lemnul tratat. Consecințele sunt scăderea rezistenței la biodegradare a materialului tratat, precum și impactul negativ asupra mediului, biocidele putând contamina solul și apele. Astfel, s-a considerat că aceste ape de spălare pot fi utilizate pentru a estima și evalua comparativ potențialul impact ecologic al EOs propuse pentru tratarea lemnului.

#### 7.1.3.1. Procedura de spălare

Conform standardului menționat, spălarea probelor se face în mod repetat (10 spălări succesive cu apă distilată proaspătă) folosind constant un raport volumic apă/lemn de 5/1.

- prima apă de spălare (E1) s-a obținut după impregnarea probelor lestate, în vid (40 mbari) timp de 20 minute, urmată de menținerea acestora în această apă în condiții de presiune atmosferică încă 2 h;
- următoarele 9 ape de spălare (E2-E10) s-au obținut pe parcursul următoarelor 14 zile, în care probele au fost menținute imersate în apă, care s-a schimbat la intervale de minim o zi și maxim 3 zile, ultima apă (E10) fiind apa finală din ziua 14.

Dintre aceste 10 ape de spălare în testul TF s-au utilizat 3 ape, și anume: E1, E5 și E10, pentru fiecare tratament, comparativ cu ape de spălare a epruvetelor martor de lemn (netratat) și cu apă distilată.

Testarea s-a făcut conform metodologiei (capitolul 4) pe semințe de salată (*Lactuca sativa*) puse la germinat pe hârtie de filtru umectată cu apele de spălare și menținute pentru 72 h în condiții controlate (întuneric, temperatură, umiditate). Pentru fiecare apă de spălare s-au testat trei probe în paralel, respectiv s-au pregătit și urmărit câte trei cutii Petri (20 semințe salată/cutie).

La finalul testului s-a analizat gradul de germinare PG(%), s-a măsurat lungimea germenilor LMG(mm), iar ulterior s-a calculat indexul de germinare GI(%).

---

<sup>29</sup> (<https://www.greenhousemag.com/article/wood-substrates-can-wood-substrates-be-phytotoxic-to-greenhouse-crops/>)

## 7.2. Rezultate experimentale

### 7.2.1. Testul minibloc

Testele minibloc pentru uleiurile esențiale de **cuișoare (C-EO)** și **cimbru (T-EO)** au fost realizate în două etape de cercetare plasate diferențiat în timp:

- Etapa 1: 2019 - testele inițiale de validare a rezultatelor prefigurate prin testele screening prezentate în capitolul anterior;
- Etapa 2: 2020 - repetarea testelor pentru verificarea rezultatelor.

Uleiurile esențiale **C-EO** și **T-EO** au fost diluate în cei doi solvenți prezentați anterior: ulei de in (LO) și etanol la concentrații diferite. În Tab. 7.1 se prezintă un sumar al testelor realizate în cele 2 etape.

Tab. 7.1 Sumarul testelor minibloc realizate în lucrare

Fungi testate	An	EO	Tip probe	Etanol			Ulei de in (LO)		
				1/100	5/100	10/100	1/100	5/100	10/100
PP	2019	C-EO	Nespălate	DA	DA	DA	DA	DA	DA
			Spălate	DA	DA	DA	DA	DA	DA
TV		C-EO	Nespălate	DA	DA	DA	DA	DA	DA
			Spălate	DA	DA	DA	DA	DA	DA
PP	2020	C-EO	Nespălate	NU	DA	DA	NU	DA	DA
		T-EO	Nespălate	NU	DA	DA	NU	DA	DA
TV		C-EO	Nespălate	NU	DA	DA	NU	DA	DA
		T-EO	Nespălate	NU	DA	DA	NU	DA	DA

În prezentul capitol se prezintă rezumativ rezultatele din cele două etape de testare. În interpretarea rezultatelor, pe lângă pierderile de masă au fost considerate și aspecte macroscopice și microscopice ale colonizării fungice și biodegradării lemnului, investigate prin metode optice de reflexie (nedistructiv) și investigarea SEM a secțiunilor transversale. Aceste aspecte sunt ilustrate pentru testele din 2019 cu **PP** pentru probe tratate cu **C-EO** în etanol și ulei de in.

#### 7.2.1.1. Lemn tratat cu uleiuri esențiale în ulei de in

În Tab. 7.2 se prezintă centralizarea rezultatelor testelor minibloc din etapa 1 (2019), realizate cu soluții de **C-EO** în ulei de in (LO), respectiv pierderile de masă prin biodegradare, atât pe probe înainte de spălare cât și pe probe spălate cu apă. Pentru o mai bună înțelegere și interpretare a rezultatelor, Tab. 7.3 cuprinde date privind tratarea probelor, respectiv retenția de produs de tratare (EOs și LO solidificat) exprimată prin valoarea WPG, %, precum și umiditatea probelor condiționate, la intrarea în testul minibloc.

Se observă că tratarea cu LO (proba control) a determinat creșteri de masă WPG de circa 19.5-21 % prin retenția de LO care are capacitatea de a se întări prin polimerizare oxidativă. Uleiul de in (fiert sicativat) utilizat în experimente a avut un conținut de corp solid de circa 50%, restul fiind solvenți care s-au

volatilizat în perioada de 24 h de uscare la aer, de după tratare epruvete. Tratamentele cu soluții de C-EO în LO au condus la creșteri de masă ușor mai reduse 15.2-17.2%. În mod surprinzător, umiditatea probelor tratate cu LO ca atare și modificat cu EO (9.87-11.72%) nu a fost semnificativ diferită de cea a probelor martor (11.36±0.44).

Tab. 7.2 Test minibloc lemn de fag C-EO/LO (2019): valorile pierderilor de masă (PM, %) medii (Av) și deviațiile standard (st.dev), cu corecții

Fungi	Tip probe		Martor fag	Control total LO (ct)	Control indep. LO (ci)	1% C-EO/LO		5% C-EO/LO		10% C-EO/LO	
						Control LO (cp)	Probe tratate	Control LO (cp)	Probe tratate	Control LO (cp)	Probe tratate
PP	NESP.	Av	17,88	6,93	7,25	6,04	12,12	5,05	13,70	8,41	16,58
		St.dev	5,17	2,48	2,99	1,63	2,67	0,07	3,13	0,99	1,44
	SP.	Av	12,05	5,41	6,76	4,16	13,64	3,15	12,73	3,53	11,74
		St.dev	8,80	2,23	1,78	0,52	3,46	2,52	3,44	0,77	2,35
TV	NESP.	Av	8,63	6,70	6,66	6,79	10,63	8,21	7,90	5,27	9,88
		St.dev	3,07	1,31	1,13	1,15	2,54	1,35	3,38	1,29	2,95
	SP.	Av	3,66	0,79	1,15	0,15	3,18	-0,03	1,33	0,83	2,59
		St.dev	2,60	1,27	1,56	0,30	2,01	0,26	0,90	0,69	2,33

Tab. 7.3 Test minibloc lemn de fag C-EO/LO (2019): caracteristicile epruvetelor testate: creșterea procentuală de masă prin tratare WPG, % și umiditatea la intrare în test U, % (probe condiționate la 22 °C și 65% RH)

Fungi	Tip probe		Control LO		1% C-EO/LO		5% C-EO/LO		10% C-EO/LO	
			WPG %	U %	WPG %	U %	WPG %	U %	WPG %	U %
PP	NESP.	Av.	19.52	11.72	15.28	10.30	17.19	9.87	15.26	10.71
		St.dev	2.85	0.10	2.92	0.08	1.94	0.17	1.09	0.97
	SP.	Av.	20.26	12.84	16.99	12.54	17.77	11.90	17.43	11.96
		St.dev	2.80	0.66	4.14	0.41	1.69	0.29	1.01	0.17
TV	NESP.	Av.	20.96	11.72	16.75	10.30	17.24	9.87	16.46	10.71
		St.dev	3.14	0.10	4.04	0.08	1.28	0.17	0.98	0.97
	SP.	Av.	19.95	12.84	19.19	12.54	18.04	11.90	16.40	11.96
		St.dev	3.16	0.66	1.33	0.41	1.39	0.29	1.20	0.17

#### 7.2.1.1.1. Analiza pierderilor de masă C-EO/LO (Tab. 7.2)

Din analiza datelor obținute pentru *Postia placenta* (PP) se observă următoarele :

Există diferențe notabile între pierderile de masă determinate pe probele martor netratate ( $17.88 \pm 5.17$  %) și probele control LO independent ( $7.25 \pm 2.99$ %), respectiv o reducere cu 59.5% a PM datorată tratamentului cu ulei, respectiv retenției în lemn, considerând proprietatea sa de siccitate, respectiv capacitatea de a forma o peliculă întărită prin polimerizare oxidativă (proces lent).

Diferențele între pierderile de masă determinate pe probele control independent ( $7.25 \pm 2.99$ %) și probele control din fiecare cutie cu probe, variază în limitele 5.05-8.41%, motivând calcularea unei valori **control total** ( $6.93 \pm 2.48$ %), ca valoare medie pentru toate probele control independent și din cutii probe, valoare față de care se va aprecia efectul tratării cu **C-EO**, respectiv eficiența antifungică.

Prin comparație cu valoarea control total, valorile PM obținute pentru probele tratate cu LO modificat cu **C-EO** au fost surprinzător net superioare, variind în intervalul 12.12-16.58%, în funcție de concentrația crescătoare a **C-EO**. Deci, deși testele screening au arătat un potențial fungicid al soluțiilor **C-EO/LO** comparativ cu control LO, acest efect nu s-a confirmat prin testul minibloc. Mai mult, un conținut de 10% **C-EO** în LO anulează practic efectul benefic al tratării cu LO asupra rezistenței la atacul fungic al **PP**, valoarea de 16.58% fiind practic similară celei pentru lemn netratat.

În urma testului de spălare cu apă, au scăzut valorile PM determinate pentru probele martor netratat (de la 17.88 la 12.05%) precum și pentru probele control LO (independent și din cutii probe), respectiv valoarea control total calculată de  $5.41 \pm 2.23$ %. Pentru probele tratate cu **C-EO/LO** s-au înregistrat o serie de diferențe ale PM față de cele de dinainte de spălare, cea mai importantă modificare fiind scăderea PM pentru **C-EO/LO** 10% de la  $16.59 \pm 1.44$ % la  $11.74 \pm 2.35$ %, valoare practic similară cu cea determinată pentru probele martor spălate ( $12.35 \pm 8.80$ %).

Pentru a ilustra parte din cele anterior prezentate, în Fig. 7.3 se prezintă un colaj de imagini macroscopice și microscopice SEM pentru probe de fag control LO și tratate cu LO modificat cu **C-EO** la cele 3 concentrații, după testul minibloc cu **PP**. Se pot observa umplerea parțială a zonelor de fibre datorită retenției de LO (ca atare sau modificat cu **C-EO**), precum și grade diferite de colonizare fungică în elemente de vase. Compararea gradului de colonizare fungică la nivel macroscopic, cu gradul aparent de colonizare în zona investigată SEM și valorile PM corespunzătoare, susțin ideea de neuniformitate a atacului fungic ca fenomen, respectiv diferențieri remarcabile de colonizare fungică la nivel de distanțe microscopice, elemente anatomice învecinate. Acest aspect corespunde cu informații din literatura de specialitate (Fackler & Schwanninger, 2012).

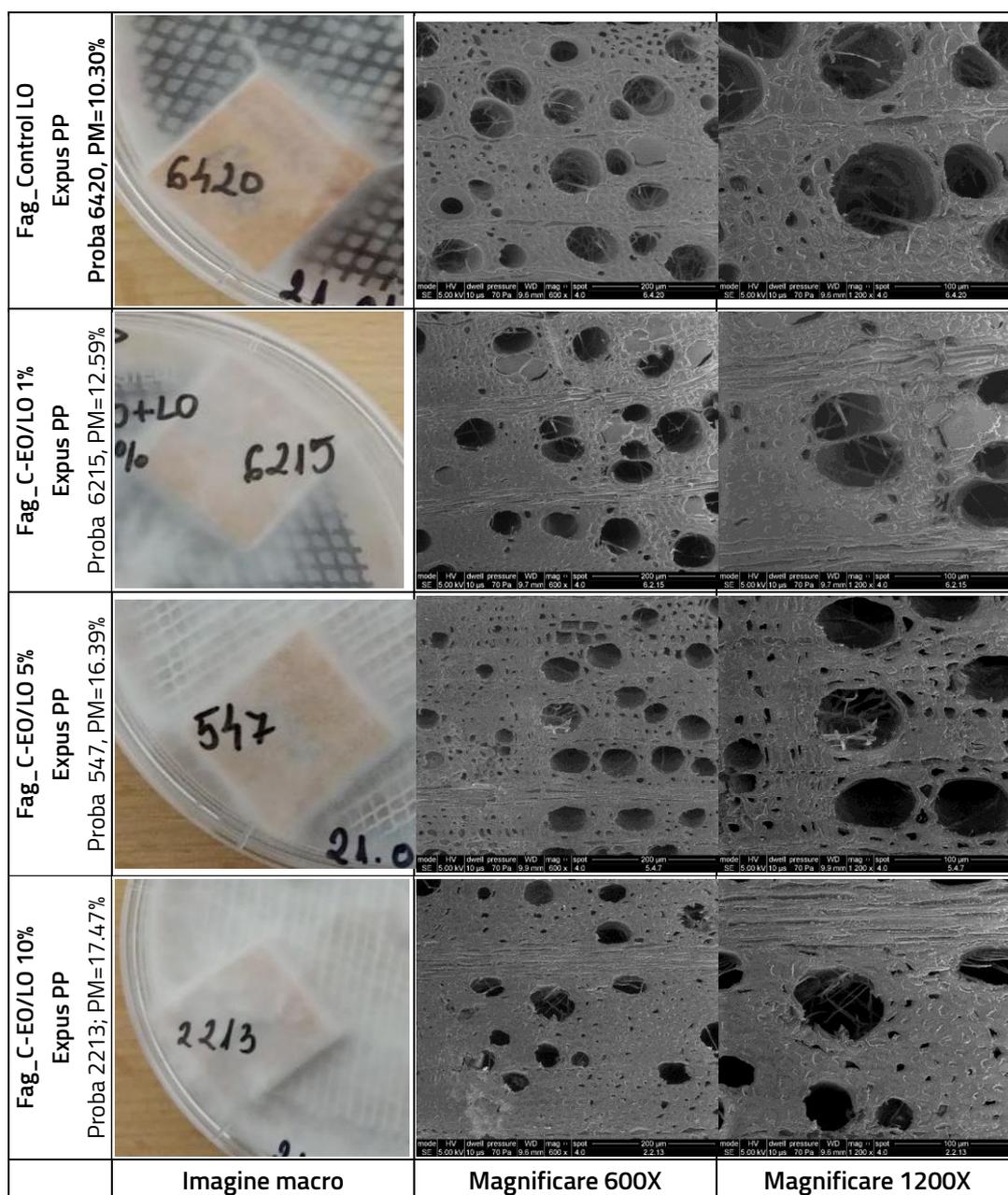


Fig. 7.3 Imagini comparative macro și SEM pentru probe de lemn de fag control LO și tratate cu C-EO în LO (1%, 5%, 10%), după expunere la PP în test minibloc; probele prezintă valori PM diferite, crescătoare cu concentrația de C-EO; colonizare fungică la nivel macro relativ asemănătoare; imaginile SEM sunt ilustrative și pentru neuniformitatea atacului biologic, pe zona investigată SEM (600X) colonizarea fungică pare mai intensă pentru proba control (PM=10.30%) față de probele C-EO/LO 5% (PM=16.39%) și C-EO/LO 10% (PM=17.47%).

Printr-o analiză similară a datelor obținute în urma testului cu *Trametes vesicolor* (TV) se constată următoarele:

Diferențele între pierderile de masă determinate pe probele martor netratate ( $8.63 \pm 3.07$  %) și probele control LO independent ( $6.66 \pm 1.13$  %), respectiv reducere PM cu 22.7% datorită tratamentului cu ulei de în reținut în lemn sunt mult mai mici față de cele determinate în cazul PP (reducere cu 59.5%), deși

valorile WPG determinate au fost asemănătoare. Rezultă deci că efectul de protecție antifungică al LO este dependent de tipul ciupercii, fiind semnificativ mai mic pentru **TV** față de **PP**.

Există diferențe mici între pierderile de masă determinate pe probele control independent ( $6.66 \pm 1.13\%$ ) și probele control din fiecare cutie cu probe, care variază în limitele 5.27-8.21%, respectiv o valoare **control total** ( $6.7 \pm 1.31\%$ ) apropiată de cea pentru controlul independent.

Prin comparație cu valoarea control total  $6.7 \pm 1.31\%$ , valorile PM obținute pentru probele tratate cu LO modificat cu **C-EO** au fost cu 18-58% mai mari, variind în intervalul 7.90-10.63%, fără a se identifica un trend clar corelabil cu concentrația de **C-EO** adăugat în LO.

În urma procesului de spălare cu apă se reduc diferențiat valorile PM datorită atacului **TV** pentru toate categoriile de probe (martor, control, tratate), dar valorile PM pentru probele tratate cu LO modificat cu **C-EO** se mențin peste valorile control total, deși rămân ceva mai mici decât pentru proba martor de lemn netratat.

Variația valorilor medii ale pierderilor de masă prin biodegradare funcție de tipul de probă/ tratamentul **C-EO/LO** aplicat sunt reprezentate grafic în Fig. 7.4, pentru ambele tipuri de fungi (**PP**, **TV**), comparativ pentru probe înainte și după spălare cu apă. Acestea reflectă aspectele prezentate anterior.

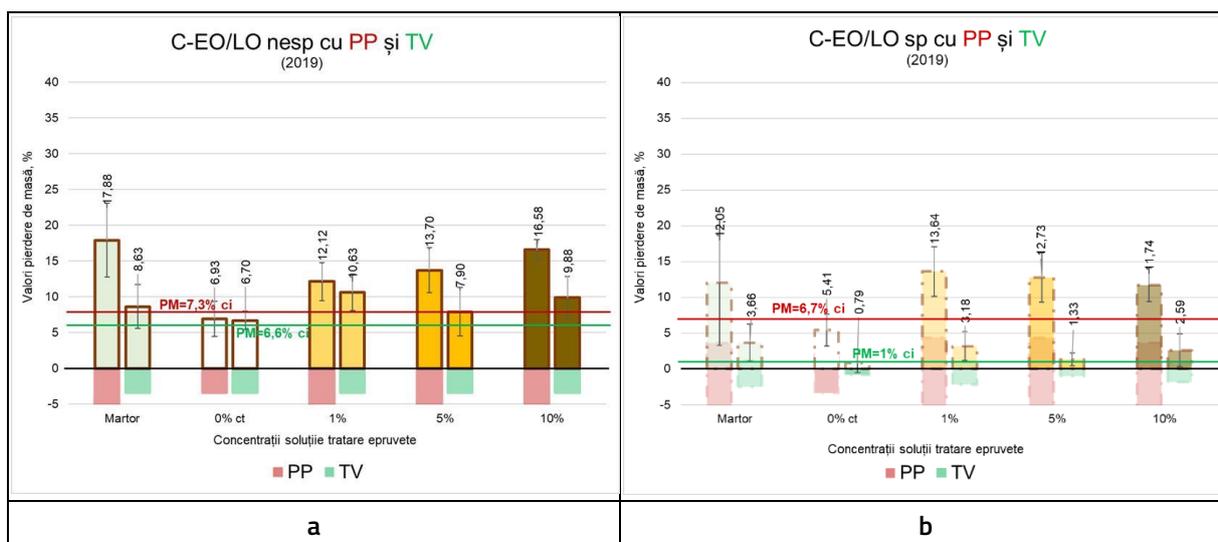


Fig. 7.4 Influența tratării lemnului de fag cu C-EO/LO asupra pierderilor de masă în testul minibloc cu *Postia placenta* (PP) și *Trametes versicolor* (TV), comparativ pentru probe înainte (a) și după spălare cu apă (b)

În Tab. 7.4 și Tab. 7.5 se prezintă centralizarea rezultatelor testelor minibloc din etapa 2 (2020), realizate cu soluții de **C-EO** și **T-EO** în LO, exclusiv pe probe nesupuse testului de spălare, iar Tab. 7.6 cuprinde date sugestive privind tratarea probelor, respectiv retenția de produs de tratare (**C-EO/LO** sau **T-EO/LO**) exprimată prin valori WPG, %, precum și umiditatea probelor condiționate, la intrarea în testul minibloc.

Tab. 7.4 Test minibloc lemn de fag: C-EO/LO (2020) – Centralizarea valorilor pierderilor de masă (PM, %) medii (Av) și a deviațiilor standard (st.dev), cu corecții

Fungi	Tip probe		Martor Fag	Control total LO (ct)	Control indep. LO (ci)	5% C-EO/LO		10% C-EO/LO	
						Control LO (cp)	Probe tratate	Control LO (cp)	Probe tratate
PP	NESP.	Av.	<b>10,89</b>	<b>34,98</b>	<b>37,95</b>	<b>37,42</b>	<b>48,82</b>	<b>20,66</b>	<b>44,03</b>
		St.dev	23,35	9,42	4,69	5,26	8,45	17,38	25,59
TV	NESP.	Av.	<b>54,21</b>	<b>29,07</b>	<b>30,98</b>	<b>31,63</b>	<b>40,31</b>	<b>18,86</b>	<b>26,69</b>
		St.dev	15,06	6,29	4,35	5,02	3,79	5,20	15,51

Tab. 7.5 Test minibloc lemn de fag: T-EO/LO (2020) – Centralizarea valorilor pierderilor de masă (PM, %) medii (Av) și a deviațiilor standard (st.dev), cu corecții

Fungi	Tip probe		Martor Fag	Control total LO (ct)	Control indep. LO (ci)	5% T-EO/LO		10% T-EO/LO	
						Control LO (cp)	Probe tratate	Control LO (cp)	Probe tratate
PP	NESP.	Av.	<b>10,89</b>	<b>36,20</b>	<b>37,95</b>	<b>38,35</b>	<b>32,42</b>	<b>27,07</b>	<b>19,88</b>
		St.dev	23,35	10,63	4,69	13,46	7,84	26,59	11,39
TV	NESP.	Av.	<b>54,21</b>	<b>31,73</b>	<b>30,98</b>	<b>34,43</b>	<b>41,76</b>	<b>32,00</b>	<b>33,76</b>
		St.dev	15,06	4,21	4,35	4,23	6,49	5,03	4,39

Se observă că tratarea cu soluții de C-EO și T-EO în ulei de in LO (concentrații 5% și 10%) a determinat creșteri de masă prin retenția de produs de circa 37-40% pentru control și valori ușor mai scăzute de 31-34% pentru probele tratate cu EOs în LO. Același trend a fost obținut și în testul anterior (2019), dar valorile WPG au fost în general mai reduse (17-20%). Umiditatea probelor la intrarea în test a fost cvasi-constantă indiferent de tratament de circa 7%, inferioară celei din 2019 (11.2-11.9%). Această umiditate de echilibru mai mică cu circa 39% se corelează cu retenția cu până la 100% mai mare de LO ca atare sau modificat cu EOs.

**Tab. 7.6 C-EO/LO și T-EO/LO (2020) - Caracteristicile epruvetelor testate: creșterea procentuală de masă prin tratare WPG, % și umiditatea la intrare în test U, % (probe condiționate la 22 °C și 65% RH)**

Fungi	Tip probe		Control LO		5% C-EO/LO		10% C-EO/LO	
			WPG %	U %	WPG %	U %	WPG %	U %
PP	NESP.	Av.	39,92	6.94	34.14	6.98	31.22	6.80
		St.dev	3,50	0.20	8.71	1.87	5.06	1.62
TV	NESP.	Av.	37,42	6.94	31.18	6.98	28.26	6.80
		St.dev	3,62	0.20	7.25	1.87	2.19	1.62
Fungi	Tip probe		Control LO		5% T-EO/LO		10% T-EO/LO	
			WPG %	U %	WPG %	U %	WPG %	U %
PP	NESP.	Av.	39,92	6.94	34.14	6.96	31.22	6.82
		St.dev	3,50	0.29	8.71	1.42	5.06	0.28
TV	NESP.	Av.	37,42	6.94	31.52	6.96	28.29	6.82
		St.dev	3,62	0.29	4.40	1.42	3.76	0.28

Analiza valorilor PM pentru testul cu C-EO/LO (Tab. 7.4) au relevat următoarele aspecte:

Variabilitatea extrem de mare a valorilor PM pentru probele martor netratate:  $10.89 \pm 23.35$  pt **PP** și  $54.21 \pm 15.26$  pt **TV**, respectiv deviații standard foarte mari, în special pentru **PP**, corelate cu diferențe notabile de dezvoltare miceliu pe probe similare în aceleași cutii sau cutii diferite.

Existența unor diferențe de valori între probele martor și control independent, pentru ambele tipuri de fungi, ceea ce indică un efect al tratării cu LO asupra biodegradării de către ciupercile testate, cu observația că pentru **PP** valoare PM pentru controlul independent ( $37.95 \pm 4.69\%$ ) este mai mare decât la martor ( $10.89 \pm 23.35\%$ ), iar în cazul **TV** situația este inversată: ( $30.98 \pm 4.35\%$ ) față de  $54.21 \pm 15.06\%$ . Diferențele de PM asociate testelor cu **PP** și **TV**, superioară pentru aceasta din urmă, se explică prin preferința fungilor de putregai alb (**TV**) pentru specii de foioase, contrar fungilor de putregai brun (**PP**) ce preferă rășinoase. Testele fiind făcute pe fag, atacul mai pronunțat al **TV** față de **PP** este explicabil pentru probele martor, dar valorile PM pentru probele control independent ( $37.95 \pm 4.69\%$ ) și total ( $34.98 \pm 9.42\%$ ) mai mari decât pentru proba martor ( $10.89 \pm 23.35$ ) în cazul **PP** sunt total neașteptate. Acestea ar indica că ciuperca **PP** nu este inhibată ci din contră stimulată în prezența LO.

Abaterile standard foarte mari, cu precădere pentru probele martor, dar și control de diverse categorii și pentru probele tratate cu C-EO/LO 10%, reliefează, o variabilitate extremă în colonizarea și atacul fungic.

Pentru **PP**, valorile PM pentru probele tratate cu C-EO/LO comparate cu valoarea control total NU arată un efect antifungic, ci contrar un efect negativ de creștere a sensibilității la biodegradare cu circa 25-40%. Rezultatul este contrar rezultatelor testului screening.

Pentru TV, valorile PM pentru probe tratate cu C-EO/LO comparate cu valoarea control total NU arată un efect antifungic la concentrație de 5% ci contrar creștere de PM cu circa 40% și doar un ușor efect de protecție (scădere PM cu 8%) la concentrație C-EO de 10%. Cu toate acestea, valorile PM la ambele concentrații ale C-EO în LO sunt mai mici decât pentru lemnul martor netratat. Deci LO ca atare are un efect pozitiv, dar acesta se diminuează prin adaosul de C-EO în LO.

Analiza valorilor PM pentru testul cu T-EO/LO (Tab. 7.5) au relevat următoarele aspecte:

Existența unor diferențe de valori între probele martor și control independent, pentru ambele tipuri de fungi și deviații standard mari.

Valorile PM control total și independent arată că tratarea cu LO are un efect negativ asupra rezistenței la atacul PP ce este stimulat de tratamentul cu ulei. Contrar, valorile în cazul probelor control total și independent în testul cu TV arată un efect pozitiv de creștere a rezistenței la atacul TV.

Pentru PP, valorile PM pentru probe tratate cu T-EO/LO comparate cu valoarea control total arată un efect antifungic (scădere PM cu circa 10-45%).

Pentru TV, valorile PM pentru probe tratate cu T-EO/LO comparate cu valoarea control total arată un efect contrar (creștere a PM cu 6- 31%).

Variația valorilor medii ale pierderilor de masă prin biodegradare în funcție de tipul de probă/tratamentul aplicat sunt reprezentate grafic în Fig. 7.5, pentru ambele tipuri de fungi (PP, TV), comparativ pentru probe tratate cu C-EO și probe tratate cu T-EO, exclusiv probe nespălate. Acestea reflectă aspectele prezentate anterior.

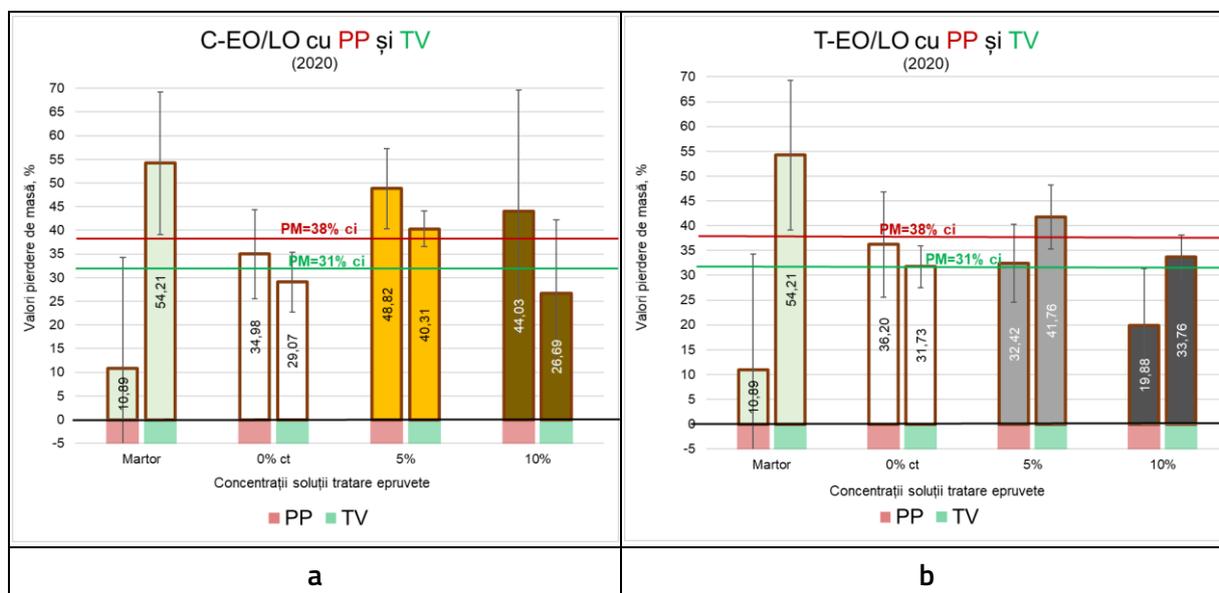


Fig. 7.5 Influența tratării lemnului de fag cu EO/LO asupra pierderilor de masă în testul minibloc cu *Postia placenta* (PP) și *Trametes versicolor* (TV), comparativ pentru probe cu C-EO/LO (a) și probe cu T-EO/LO (b)

### 7.2.1.1.2. Aspecte macroscopice și microscopice

În analiza anterioară a datelor s-a insistat pe variabilitatea extremă a acestora în anumite situații, ceea ce face uneori imposibilă formularea unei concluzii. În acest context este important de arătat că această situație nu presupune implicit deficiențe în realizarea testului ci cauze interne/specifice testelor biologice, dificil de explicat și înțeles.

În acest sens se prezintă o serie de imagini sugestive pentru faptul că variabilitatea datelor privind pierderile de masă într-o anumită serie de probe (martor, control sau tratate) se datorează în mare măsură și variațiilor în virulența ciupercii și neuniformității atacului la nivel macroscopic și microscopic. Detaliile microscopice din figurile (Fig. 7.6, Fig. 7.7, Fig. 7.8) ilustrează nu numai diferite grade de degradare pe probe cu colonizare diferențiată, ci și diferențierile între tipurile de degradare pentru *Postia placenta* (putregai brun, cubic) și *Trametes versicolor* (putregai alb, fibros).

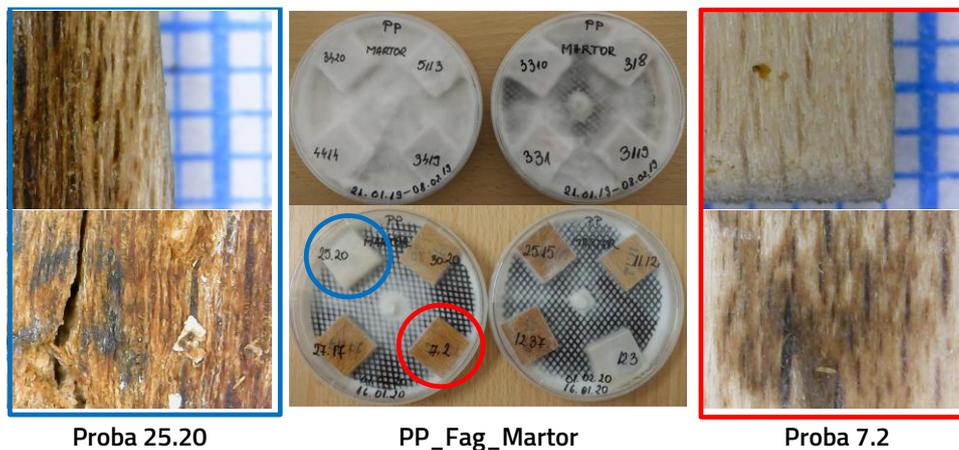


Fig. 7.6. Exemplificarea variabilității dezvoltării fungice și a gradului de atac pe diverse probe similare, în condiții identice de testare, pentru fag martor după testul minibloc cu PP (2019 și 2020): imagini macro cutii Petri și detalii microscopice atac

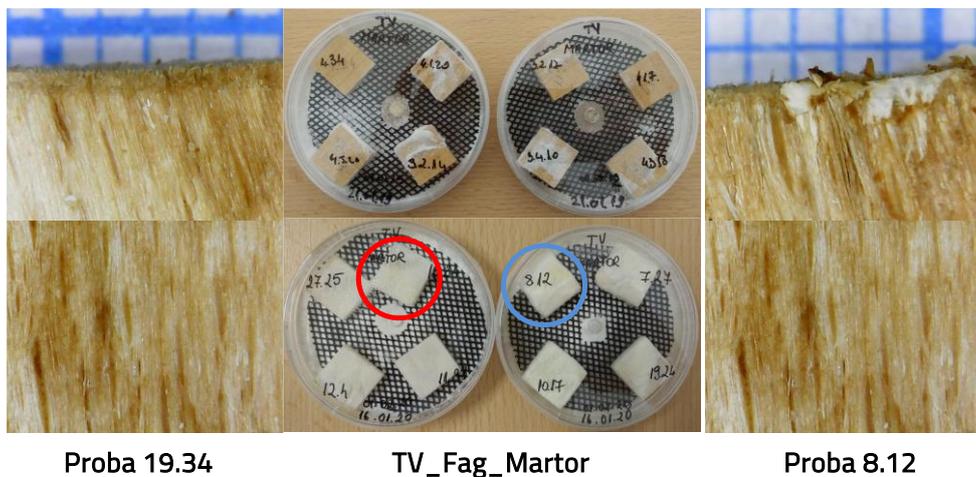


Fig. 7.7 Exemplificarea variabilității dezvoltării fungice pentru două teste în condiții similare și detaliile gradului de atac pe două probe martor de fag după testul minibloc cu TV (2019 și 2020): imagini macro cutii Petri și detalii microscopice atac

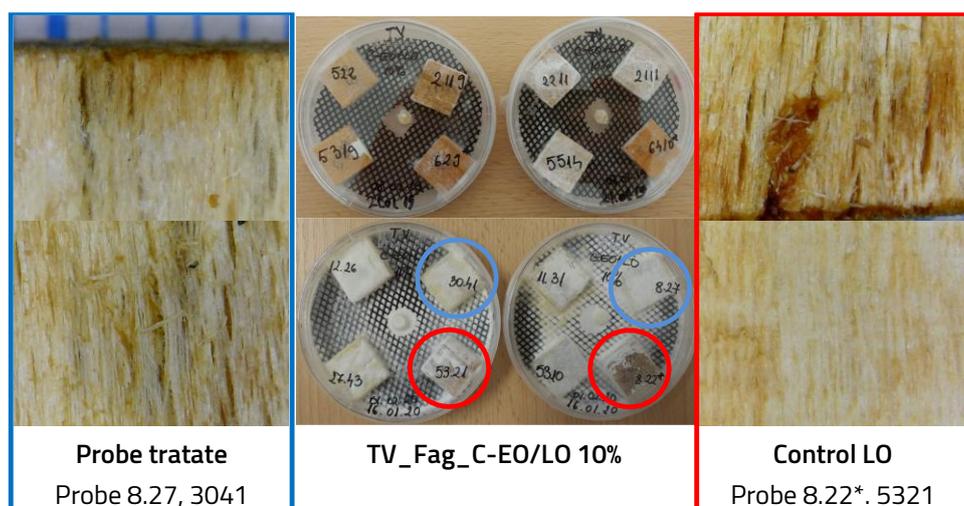


Fig. 7.8 Exemplificarea variabilității dezvoltării fungice pentru două teste în condiții similare și detaliile gradului de atac pe probe de fag control și tratate cu C-EO/LO după testul minibloc cu TV (2019 și 2020): imagini macro cutii Petri și detalii microscopice atac, aspect putregai alb, fibros

### 7.2.1.1.3. Concluzii EOs/LO

În testele minibloc cu C-EO și T-EO în mediu de LO realizate în cele două etape au existat unele diferențe ca retenții de produs, durată de testare, virulență fungi și valori efective ale PM determinate, dar s-au conturat o serie de concluzii:

- Rezultatele testului minibloc sunt, cel puțin parțial, în contradicție cu cele ale testului screening pentru că acestea au testat în fapt aspecte și stări diferite ale LO: compuși cu potențial antifungic ce au putut migra în mediul de cultură, respectiv film solidificat în interiorul structurii lemnului protejând prin izolare și caracter hidrofob.
- Tratarea lemnului de fag cu ulei de in poate avea un efect de protecție antifungică prin capacitatea sa de pătrundere în lemn și întărire formând filme externe și interne protectoare față de umiditate și penetrabilitatea hifelor (Walsh-Korb & Avérous, 2019).
- Efectul concret de reducere a pierderilor de masă depinde de ciupercă și virulența acesteia, ce poate varia și genera o mare variabilitate a datelor și dificultăți în interpretare: în testul din 2019 LO proteja mai bine față de PP decât TV, iar în testul din 2020 situația a fost contrară.
- Modificarea LO cu C-EO are un efect negativ în sensul creșterii PM prin atacul ambelor ciuperci PP și TV, dar mai pronunțat pentru PP.
- Modificarea LO cu T-EO are un efect pozitiv asupra rezistenței lemnului tratat față de PP, dar reduce rezistența față de atacul TV.
- Utilizarea LO ca mediu de diluție pentru uleiurile esențiale testate nu este recomandată, efectul de protecție al acestora fiind diminuat prin interferența acestora în procesul oxidativ de întărire.
- Întârzierea/împiedicarea formării unei pelicule reduce sau anulează efectul de protecție al LO. Această ipoteză a fost dezvoltată într-o publicație anterioară (Timar et al., 2021).

### 7.2.1.2. Lemn tratat cu uleiuri esențiale diluate în etanol

În Tab. 7.7 se prezintă centralizarea rezultatelor testelor minibloc din etapa 1 (2019), realizate cu soluții de C-EO în etanol, atât pe probe înainte de spălare cât și pe probe spălate cu apă. Pentru o mai bună înțelegere și interpretare a rezultatelor, Tab. 7.8 cuprinde date privind tratarea probelor, respectiv retenția de produs de tratare (C-EO) exprimată prin valoarea WPG, %, precum și umiditatea probelor condiționate, la intrarea în testul minibloc. Se observă că tratarea cu soluții de C-EO în etanol a determinat ușoare creșteri de masă prin retenția C-EO, de la circa 1% până la maximum 3%, funcție de concentrația soluției de tratare (1%, 5%, 10%). Tratarea cu C-EO a avut o ușoară influență asupra umidității de echilibru, care a variat descrescător ca medie de la 12.01( $\pm 0.15$ ) % pentru probele control la 9.89% la cele tratate cu soluția C-EO de 10%.( $\pm 0.13$ ).

Tab. 7.7 Test minibloc lemn de fag C-EO/Etanol (2019): valorile pierderilor de masă (PM, %) medii (Av) și deviațiile standard (st.dev), cu corecții

Fungi	Tip probe		Martor fag	Control	Control	1% C-EO/Etanol		5% C-EO/Etanol		10% C-EO/Etanol	
				total Etanol (ct)	indep. Etanol (ci)	Control Etanol (cp)	Probe tratate	Control Etanol (cp)	Probe tratate	Control Etanol (cp)	Probe tratate
PP	NESP.	Av	17,88	8,68	7,77	21,66	4,75	8,55	0,26	-0,53	0,01
		St.dev	5,17	6,78	3,23	0,68	2,77	3,31	0,60	0,56	0,65
	SP.	Av	12,05	8,07	6,19	3,04	6,22	13,81	4,77	14,87	-0,27
		St.dev	8,80	5,58	2,10	2,36	7,64	11,39	3,34	1,17	0,85
TV	NESP.	Av	8,63	9,52	7,32	12,78	17,41	12,15	7,32	12,41	3,67
		St.dev	3,07	5,07	5,63	1,48	4,18	1,17	4,02	4,32	3,13
	SP.	Av	3,66	1,44	5,49	-2,36	-3,79	-5,29	8,08	-5,29	15,09
		St.dev	2,60	6,96	5,49	8,27	8,48	7,20	7,90	7,20	3,19

Tab. 7.8 Test minibloc lemn de fag C-EO/Etanol (2019): caracteristicile epruvetelor testate: creșterea procentuală de masă prin tratare WPG, % și umiditatea la intrare în test U, % (probe condiționate la 22 °C și 65% RH)

Test Fungi	Tip probe		Control Etanol		1% C-EO/Etanol		5% C-EO/Etanol		10% C-EO/Etanol	
			WPG %	U %	WPG %	U %	WPG %	U %	WPG %	U %
pp	NESP.	Av.	0.58	12.01	0.92	12.10	1.88	10.82	3.03	9.89
		St.dev	0.17	0.15	0.08	0.12	0.20	0.16	0.28	0.13
	SP.	Av.	0.75	13.23	1.07	13.32	1.33	13.02	1.82	12.25
		St.dev	0.36	0.15	0.13	0.11	0.31	0.20	0.40	0.19
TV	NESP.	Av.	0.52	12.01	0.85	12.10	1.69	10.82	2.88	9.89
		St.dev	0.18	0.15	0.14	0.12	0.31	0.16	0.18	0.13
	SP.	Av.	0.80	13.23	0.90	13.32	1.56	13.02	1.97	12.25
		St.dev	0.12	0.15	0.37	0.11	0.16	0.20	0.15	0.19

### 7.2.1.2.1. Analiza pierderilor de masă C-EO/Etanol

Din analiza datelor obținute pentru *Postia placenta* (PP) se observă următoarele:

Există diferențe notabile între pierderile de masă determinate pe probele martor netratate ( $17.88 \pm 5.17$  %) și probele control independent ( $7.77 \pm 3.23$ %), ce ar putea fi datorate solubilității în alcool a unor compuși biodegradabili sau retenției unei cantități mici de alcool în probă, cu efect negativ asupra dezvoltării fungilor, după cum ar rezulta din valorile WPG pozitive surprinzătoare calculate pentru probele control (0.58-0.80%). Deviațiile standard mari calculate pentru aceste valori indică însă și o neuniformitate considerabilă în dezvoltarea și agresivitatea fungilor în diverse cutii Petri în condiții similare de testare (Fig. 7.6), aspectat ilustrat și de studiul SEM al probelor după test (Fig. 7.9). Neuniformitatea dezvoltării fungice, inclusiv pe aceeași probă, respectiv grade diferite de atac pe zone relativ apropiate din aceeași probă au fost raportate în literatură (Fackler & Schwanninger, 2012) și trebuie luate în considerare în interpretarea rezultatelor testelor biologice.

Diferențele între pierderile de masă determinate pe probele control independent ( $7.77 \pm 3.23$ %) și probele control din fiecare cutie cu probe, variază descrescător în funcție de concentrația C-EO (de la  $7.77 \pm 3.33$ % la  $-0.53 \pm 0.56$ %) până la practic 0 pentru C-EO 10%. Se poate presupune un efect de inhibare a dezvoltării fungice datorită volatilizării C-EO în volumul limitat de aer din cutiile Petri ( Fig. 7.10, Fig. 7.11).

Din aceste considerente s-a calculat o valoare Control total ( $8.68 \pm 7.78$ ), considerând valoarea medie pentru toate probele control independent și cele din cutiile cu probe tratate, valoare față de care se va aprecia efectul tratării cu C-EO, respectiv eficiența antifungică (Fig. 7.12).

Probele tratate cu C-EO Etanol au prezentat valori reduse ale PM comparativ cu controlul total, cu 45-100% corelat cu concentrația soluției, ceea ce demonstrează efectul antifungic pe lemn, confirmând concluziile testelor screening. Efectul antifungic al tratării cu soluții de C-EO se păstrează și pentru probele spălate, deși PM calculate au fost mai mari atât pentru control cât și pentru probele tratate. Reducerile procentuale ale pierderilor de masă datorate tratării cu C-EO au variat de la 20-100% în funcție de concentrație.

### 7.2.1.2.2. Aspecte macroscopice și microscopice ale biodegradării

O serie de imagini macroscopice și detalii microscopice optice la mărimi mici, complementate cu investigație SEM vin să ilustreze aspectele anterior menționate.

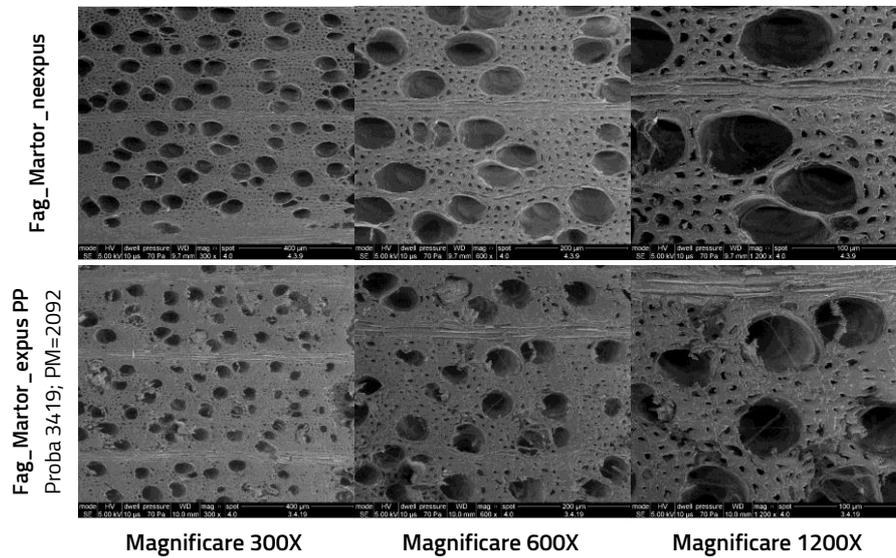


Fig. 7.9 Imagini SEM comparative pentru lemnul martor de fag înainte (neexpus) și după expunere la PP în testul minibloc; se observă degradarea neuniformă a structurii

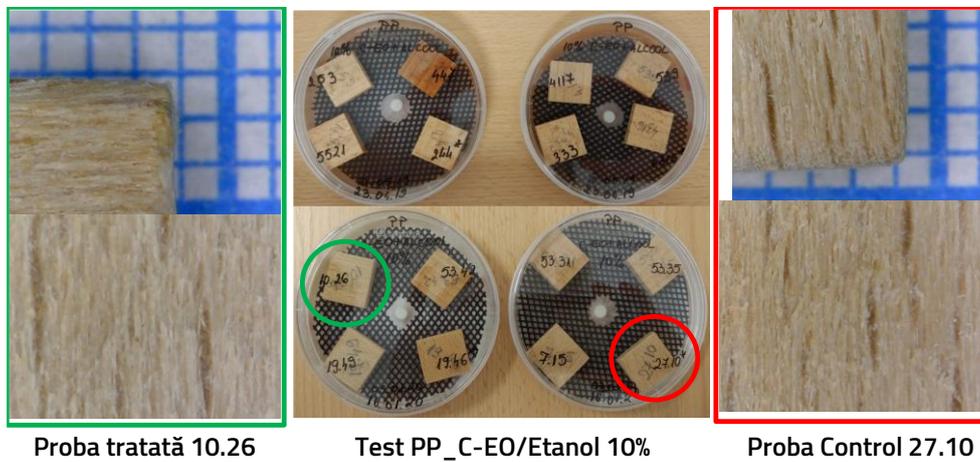


Fig. 7.10 Exemplificarea inhibării dezvoltării fungice pentru PP în cutiile Petri cu probe tratate cu C-EO/Etanol 10%: miceliul nu acoperă probele control sau tratate (imagine macro) și nu se evidențiază modificări structurale (detalii microscopice)

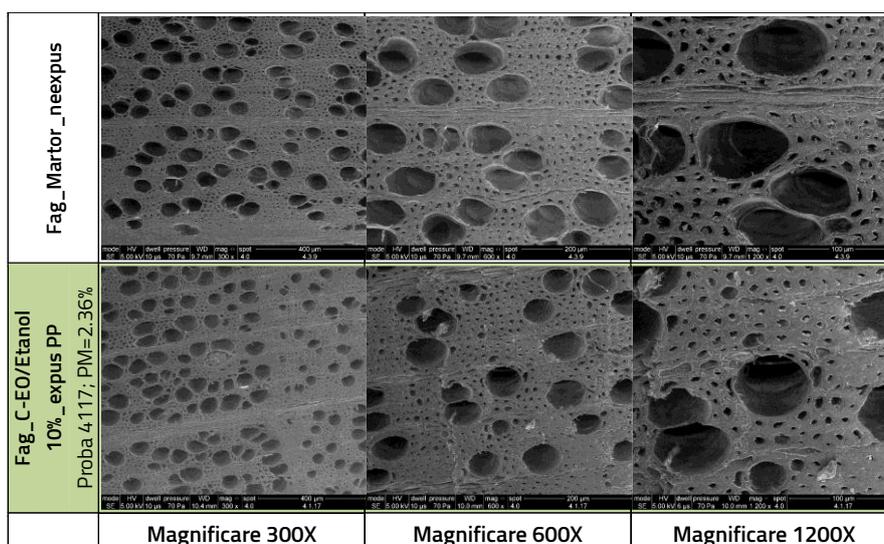


Fig. 7.11. Imagini SEM comparative pentru lemnul martor de fag neexpus și lemnul de fag tratat cu C-EO/Etanol 10% după expunere la PP în testul minibloc; nu se observă degradarea structurii lemnului datorită înhibării dezvoltării fungice (PM= 2.36%)

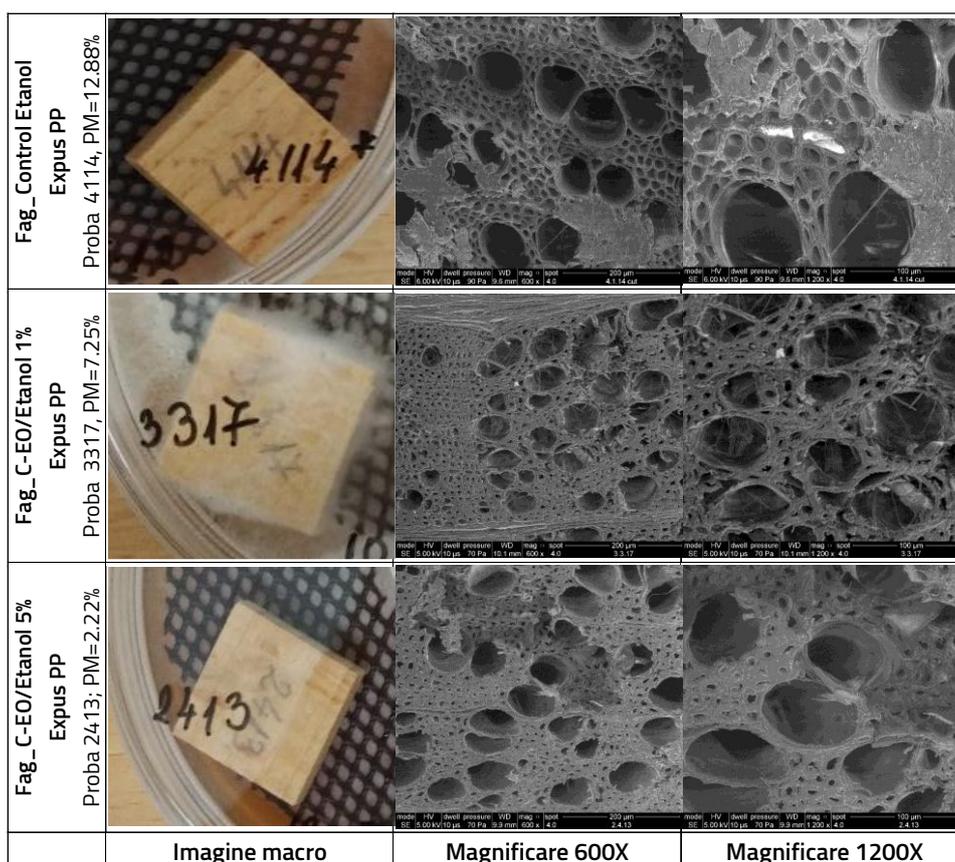


Fig. 7.12 Imagini comparative macro și SEM pentru diferite probe de lemn de fag Control etanol și tratate cu C-EO/Etanol (1%, 5%) după expunere la PP în testul minibloc; probele prezintă valori PM diferite ce demonstrează efectul fungicid al C-EO; imaginile sunt ilustrative și pentru neuniformitatea atacului biologic: pe zona investigată colonizarea fungică și degradarea apar mai avansate pentru proba 3317 (PM=7.25%) față de control 4114 (PM=12.88%)

Din analiza datelor obținute pentru *Trametes versicolor* (TV) se observă următoarele:

Există diferențe mai mici între pierderile de masă determinate pe probele martor netratate ( $8.63 \pm 3.07\%$ ) și probele control independent ( $7.32 \pm 5.63\%$ ). Se mențin deviații standard relativ mari pentru aceste valori, indicând și în acest caz o neuniformitate considerabilă în dezvoltarea fungică și agresivitatea ciupercii TV în diverse cutii Petri în condiții similare de testare (Fig. 7.7).

Diferențele între pierderile de masă determinate pe probele control independent ( $7.32 \pm 5.63\%$ ) și probele control din fiecare set, variază de la 12.15-12.78% independent de concentrația C-EO, ceea ce ar indica faptul că ciuperca TV este mai puțin sensibilă la compușii volatili din C-EO și nu apare efectul de inhibare constat pentru PP.

Din aceste considerente s-a calculat o valoare control total ( $9.52 \pm 5.07\%$ ), considerând valoarea medie pentru toate probele control independent și din cutii probe, valoare față de care se va aprecia efectul tratării cu C-EO, respectiv eficiența antifungică.

Probele tratate cu C-EO Etanol au prezentat valori reduse ale PM prin atac TV comparativ cu controlul total, cu 45-100% doar la concentrațiile de 5% și 10%, ceea ce demonstrează un efect antifungic pe lemn, mai redus față de acest tip de ciupercă.

Efectul antifungic al tratării cu soluții de C-EO dispare în urma spălării cu apă a probelor, situație în care pentru probele control valorile medii ale PM calculate sunt negative.

Variația valorilor medii ale pierderilor de masă prin biodegradare în funcție de tipul de probă/tratamentul aplicat sunt reprezentate grafic în Fig. 7.13, pentru ambele tipuri de fungi (PP, TV), comparativ pentru probe înainte și după spălare cu apă. Acestea reflectă aspectele prezentate anterior.

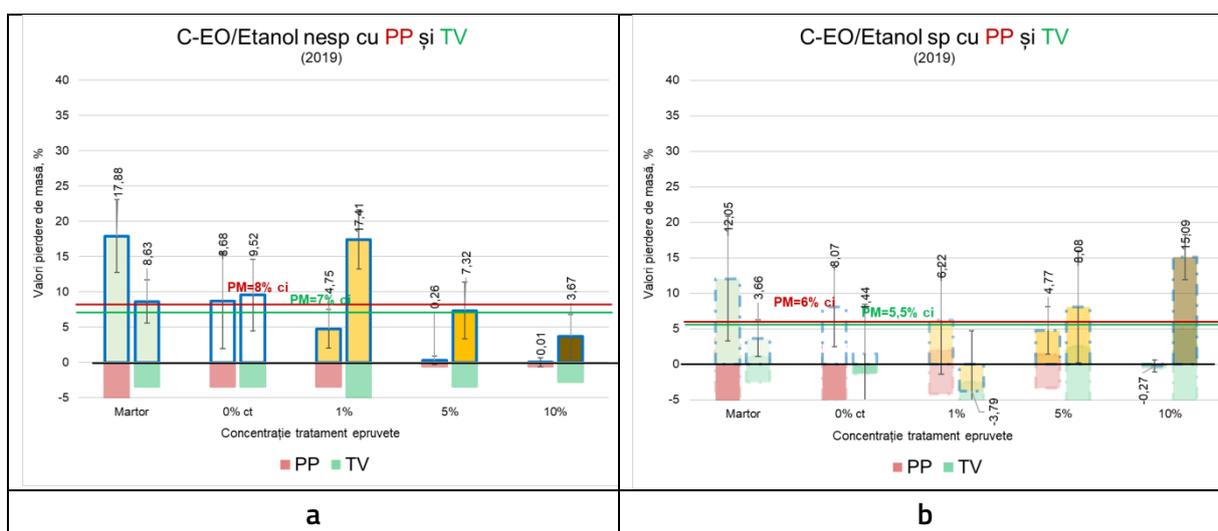


Fig. 7.13 Influența tratării lemnului de fag cu C-EO/Etanol asupra pierderilor de masă în testul minibloc cu *Postia placenta* (PP) și *Trametes versicolor* (TV), comparativ pentru probe înainte (a) și după spălare (b)

În Tab. 7.9 și Tab. 7.10 se prezintă centralizarea rezultatelor testelor minibloc din etapa 2 (2020), realizate cu soluții de C-EO și T-EO în etanol, exclusiv pe probe nesupuse testului de spălare, iar Tab. 7.11 cuprinde date sugestive privind tratarea probelor, respectiv retenția de produs de tratare (C-EO

sau L-EO) exprimată prin valori WPG, %, precum și umiditatea probelor condiționate, la intrarea în testul minibloc.

Tab. 7.9 Test minibloc lemn de fag: C-EO/Etanol (2020): valorile pierderilor de masă (PM, %) medii (Av) și deviațiile standard (st.dev), cu corecții

Fungi	Tip probe		Martor Fag	Control total Etanol (ct)	Control indep. Etanol (ci)	5% C-EO/Etanol		10% C-EO/Etanol	
						Control Etanol (cp)	Probe tratate	Control Etanol (cp)	Probe tratate
PP	NESP.	Av.	10,89	25,49	37,58	1,48	2,25	1,11	2,32
		St.dev	23,35	24,03	20,15	0,33	0,22	0,14	0,20
TV	NESP.	Av.	54,21	32,59	24,01	34,68	32,74	64,86	39,13
		St.dev	15,06	28,01	23,24	46,57	27,11	0,92	4,51

Tab. 7.10 Test minibloc lemn de fag: T-EO/Etanol (2020): valorile pierderilor de masă (PM, %) medii (Av) și deviațiile standard (st.dev), cu corecții

Fungi	Tip probe		Martor Fag	Control total Etanol (ct)	Control indep. Etanol (ci)	5% T-EO/Etanol		10% T-EO/Etanol	
						Control Etanol (cp)	Probe tratate	Control Etanol (cp)	Probe tratate
PP	NESP.	Av.	10,89	30,86	37,58	32,87	3,73	1,97	2,14
		St.dev	23,35	21,09	20,15	3,63	3,04	0,42	0,30
TV	NESP.	Av.	54,21	17,41	24,01	5,81	3,21	2,61	2,65
		St.dev	15,06	21,02	23,24	46,57	27,11	0,05	0,35

Tab. 7.11 Test minibloc lemn de fag C-EO și T-EO/Etanol (2020): caracteristicile epruvetelor testate: WPG, % și umiditatea la intrare în test U, % (probe condiționate la 22 °C și 65% RH)

Fungi	Tip probe		Control Etanol		5% C-EO/Etanol		10% C-EO/Etanol	
			WPG, %	U, %	WPG, %	U, %	WPG, %	U, %
PP	NESP.	Av.	1,95	11.91	3.41	10.94	5.28	10.03
		St.dev	0,54	0.16	0.72	0.09	0.24	0.19
TV	NESP.	Av.	1,82	11.91	3.44	10.94	5.16	10.03
		St.dev	0,49	0.16	0.52	0.09	0.93	0.19
Fungi	Tip probe		Control Etanol		5% T-EO/Etanol		10% T-EO/Etanol	
			WPG, %	U, %	WPG, %	U, %	WPG, %	U, %
PP	NESP.	Av.	1,95	11.91	2.59	11.22	2.55	11.18
		St.dev	0,54	0.16	0.37	0.22	0.67	0.13
TV	NESP.	Av.	1,82	11.91	2.16	11.22	3.37	11.18
		St.dev	0,49	0.16	0.70	0.22	0.37	0.13

Se observă că tratarea cu soluții de C-EO și T-EO în etanol (concentrații 5% și 10%) a determinat creșteri de masă prin retenția de produs de la circa 3.4% până la 5.2% pentru C-EO și circa 2.4-3.0% pentru T-EO. Similar cu testul din 2019 se observă o valoare WPG pozitivă (1.95% superioară față de circa 0.5%

în testul anterior) pentru probele control, ceea ce ar indica o posibilă retenție de alcool în probe. Umiditatea probelor la intrarea în test a fost cvasi-constantă indiferent de tratament (11.2-11.9%).

Analiza valorilor PM pentru testul cu **C-EO/Etanol** (Tab. 7.9) au relevat următoarele aspecte:

Existența unor diferențe de valori între probele martor și control independent, pentru ambele tipuri de fungi, cu observația că pentru **PP** valoarea PM pentru controlul independent ( $10.89 \pm 23.35\%$ ) este mai mare decât la martor ( $37.89 \pm 20.15\%$ ), iar în cazul **TV** situația este inversată:  $54.21 \pm 15.06\%$  față de  $24.91 \pm 23.24\%$ . Diferențele de PM asociate testelor cu **PP** și **TV**, superioară pentru aceasta din urmă, se explică prin preferința fungilor de putregai alb (**TV**) pentru specii de foioase, contrar fungilor de putregai brun (**PP**) ce preferă rășinoase. Testele fiind făcute pe fag, atacul mai pronunțat al **TV** față de **PP** este explicabil.

Abaterile standard foarte mari, cu precădere pentru probele martor (Fig. 7.6, Fig. 7.7) și control de diverse categorii, dar și pentru probele tratate cu **C-EO 5%** în testul cu **TV**, reliefează, o variabilitate extremă în colonizarea și atacul fungic.

**Pentru PP**, valorile PM pentru probele tratate cu **C-EO/Etanol** comparate cu valoarea control total arată un efect antifungic (scădere PM cu circa 90%), deși valorile PM mici calculate (circa 2%) sunt ușor mai mari decât valorile pentru controlul din cutiile cu probe. Se confirmă deci efectul de inhibare a fungilor datorită volatilității unor compuși toxici pentru fungi.

**Pentru TV**, valorile PM pentru probele tratate cu **C-EO/Etanol** comparate cu valoarea control total NU arată un efect antifungic (contrar creștere PM cu până la 20%), deși valorile PM calculate (circa 32-39%) sunt mai mici decât valorile pentru martor netratat (54%).

Analiza valorilor PM pentru testul cu **T-EO/Etanol** (

Tab. 7.10) au relevat următoarele aspecte:

Existența unor diferențe de valori între probele martor și control independent, pentru ambele tipuri de fungi și deviațiile standard mari:

**Pentru PP**, valorile PM pentru probele tratate cu **T-EO/Etanol** comparate cu valoarea control total arată un efect antifungic (scădere PM cu circa 10-45%).

**Pentru TV**, valorile PM pentru probele tratate cu **T-EO/Etanol** comparate cu valoarea control total arată un efect antifungic (scădere PM cu circa 81-94%), dovedind o eficiență mai mare față de ciupercile de putregai alb (**TV**) comparativ cu cele de putregai brun (**PP**).

Variația valorilor medii ale pierderilor de masă prin biodegradare funcție de tipul de probă/ tratamentul aplicat sunt reprezentate grafic în Fig. 7.14, pentru ambele tipuri de ciuperci (**PP**, **TV**), comparativ pentru probe tratate cu **C-EO** și probe tratate cu **T-EO**, exclusiv probe nespălate. Acestea reflectă aspectele prezentate anterior.

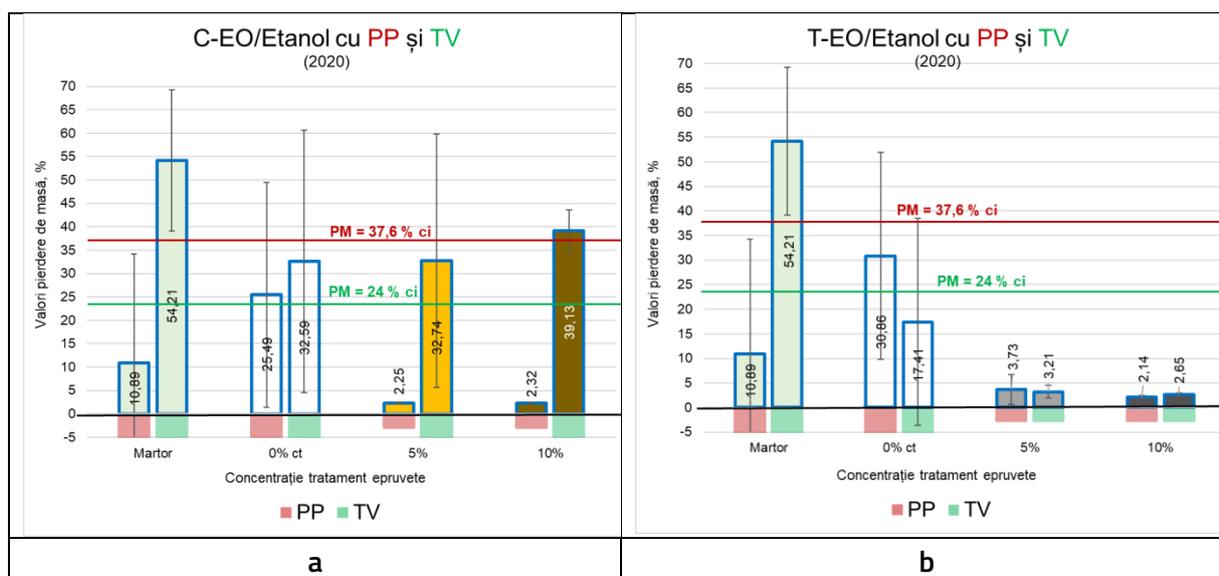


Fig. 7.14 Influența tratării lemnului de fag cu C-EO/Etanol (a) și T-EO/Etanol (b) asupra pierderilor de masă în testul minibloc cu *Postia placenta* (PP) și *Trametes versicolor* (TV)

### 7.2.1.2.3. Concluzii C-EO și T-EO /Etanol

În testele minibloc cu C-EO și T-EO în etanol realizate în cele două etape au existat unele diferențe ca retenții de produs, durată de testare, virulență fungi și valori efective ale PM determinate, dar s-au conturat o serie de concluzii:

- Testele minibloc cu C-EO și T-EO în alcool confirmă rezultatele testelor screening, evidențiindu-se efect antifungic pe lemnul tratat de la concentrații de 5%.
- Soluțiile de C-EO și T-EO cu concentrații de 5-10% în etanol prezintă potențial ca produse alternative pentru protecția antifungică a lemnului, dar prezintă eficiență specifică diferențiată corelată cu compoziția lor chimică.
- C-EO este bogat în eugenol și are activitate antifungică față de ciuperca de putregai brun PP (ce degradează celuloza și hemicelulozele din lemn, dar nu poate scinda lignina), reducând pierderile de masă cu 90% față de control.
- C-EO nu are eficiență antifungică față de ciuperca de putregai alb TV, ce are capacitatea de a degrada compuși polifenolici complecși precum lignina din lemn. Eugenolul este un fenol cu structură fenil-propanică asemănătoare unităților de bază din structura ligninei.
- T-EO este bogat în carvacrol și terpineni și prezintă activitate antifungică atât față de PP (reducere PM cu 45%) cât și față de TV (reducere PM cu 80-90%).

Aceste concluzii sunt în acord cu alte cercetări similare din literatura de specialitate (Cheng et al., 2008; Medeiros et al., 2016; Páneek et al., 2014; Voda et al., 2003; Xie et al., 2017; Yingprasert et al., 2015; Zhang et al., 2016; Zyani et al., 2011).

## 7.2.2. Testul de fitotoxicitate

### 7.2.2.1. Detalii metodologice și produse de comparație

Potențialul eco-impact al noilor produse alternative de bioprotecție antifungică a lemnului a fost evaluat cu un test de fitotoxicitate cu semințe de salată (*Lactuca sativa*), conform procedurii din protocolul analitic (capitolul 4).

Indicii de fitotoxicitate determinați pe câte 3 probe paralele cu 20 de semințe/probă au fost:

- Procentul de germinare, PG, %
- Lungimea medie a germenilor, LMG, mm
- Indexul de germinare (Germination index), GI, %.

Cel de al treilea indice, numit index de germinare (germination index), GI, %, este recomandat în literatura de specialitate ca un indicator complex care combină cele două posibile efecte de toxicitate ale compușilor toxici lavabili asupra germinării semințelor și dezvoltării germenilor, respectiv numărul de semințe germinate și lungimea germenilor. Mai mult, acest indice este un indice procentual relativ față de parametrii de germinare obținuți folosind apa (distilată) ca probă control.

Modul de definire și calcul conform literaturii consultate (Roccoliello et al., 2011) este următorul:

$$GI = 100 \times \frac{G \times L}{G_0 \times L_0}, \% \quad \text{Ec. 7.1}$$

Unde:

- $G_0$  – numărul de semințe germinate pentru proba control cu apă (distilată);
- $L_0$  – lungimea medie a germenilor pentru proba control cu apă (distilată);
- $G$  – numărul de semințe germinate pentru proba analizată (apă potențial contaminată);
- $L$  – lungimea medie a germenilor pentru proba analizată (apă potențial contaminată).

În prezenta cercetare, indexul de germinare s-a calculat din valorile medii ale procentului de germinare (PG, %) și a lungimii medii a germenilor (LMG, mm) obținute pe seturile de 3 probe paralele cu câte 20 semințe/probă.

Formula de calcul pentru GI a fost următoarea:

$$GI = 100 \times \frac{PG \times LMG}{PG_0 \times LMG_0}, \% \quad \text{Ec. 7.2}$$

Unde:

- PG – procentul de germinare pentru proba analizată;
- LMG – lungimea medie a germenilor pentru proba analizată;
- $PG_0$  – procentul de germinare pentru proba control cu apă distilată;
- $LMG_0$  – lungimea medie a germenilor pentru proba control cu apă distilată.

Probele analizate au fost extractele apoase (E1, E5, E10) obținute prin testul de spălare cu apă conform EN 84/2000. Raportarea la o probă control comună, respectiv apa distilată din același lot cu apa distilată folosită în testele de spălare, permite o comparare univocă a tuturor probelor analizate.



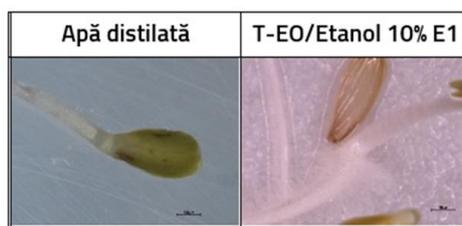


Fig. 7.16 Detalii microscopice ale germenilor (0,75x) pentru extractele apoase (E1) din lemn tratat cu T-EO în Etanol la concentrația de 10% și apă distilată

În tabelele Tab. 7.12, Tab. 7.13, Tab. 7.14 se prezintă rezultatele medii pentru cei trei indici de fitotoxicitate determinați pentru toate probele anterior enumerate în comparație cu apă distilată, ca probă control lipsită de toxicitate, iar în figurile Fig. 7.17, Fig. 7.18 . sunt reprezentați comparativ acești indici pentru diverse grupe de produse testate

Tab. 7.12 Procentul de germinare, PG [%] Centralizarea valorilor experimentale (medii)

Extract		Fag	Control	Control	C-EO/	C-EO/	C-EO/	T-EO/	T-EO/	T-EO/	C-EO/	C-EO/	C-EO/	Apa distilata Control
		Martor	Etanol	LO	ET 1%	ET 5%	ET 10%	ET 1%	ET 5%	ET 10%	LO 1%	LO 5%	LO 10%	
E1	Av.	95,00	96,67	98,33	88,33	48,33	55,00	90,00	86,67	88,33	100,00	98,33	100,00	
	St. Dev	8,66	2,89	2,89	7,64	12,58	5,00	8,66	2,89	2,89	0,00	2,89	0,00	
E5	Av.	95,00	98,33	71,67	98,33	91,67	58,33	98,33	90,00	81,67	96,67	95,00	100,00	100,00
	St. Dev	8,66	2,89	28,43	2,89	7,64	10,41	2,89	5,00	11,55	5,77	0,00	0,00	0,00
E10	Av.	98,33	95,00	100,00	100,00	96,67	88,33	98,33	90,00	91,67	100,00	98,33	98,33	
	St. Dev	2,89	5,00	0,00	0,00	5,77	7,64	2,89	8,66	2,89	0,00	2,89	2,89	
Medie		96,11	96,67	90,00	95,56	78,89	67,22	95,56	88,89	87,22	98,89	97,22	99,44	100,00

Tab. 7.13 Lungimea medie a germenilor, LG [mm]: Centralizarea valorilor experimentale (medii)

Extract		Fag	Control	Control	C-EO/	C-EO/	C-EO/	T-EO/	T-EO/	T-EO/	C-EO/	C-EO/	C-EO/	Apa distilata Control
		Martor	Etanol	LO	ET 1%	ET 5%	ET 10%	ET 1%	ET 5%	ET 10%	LO 1%	LO 5%	LO 10%	
E1	Av.	32,70	29,07	23,85	24,49	14,81	14,13	29,46	26,88	31,24	25,23	24,33	23,98	
	St. Dev	1,10	1,95	1,82	7,49	0,48	2,72	2,09	6,12	7,09	3,05	1,40	0,91	
E5	Av.	32,02	26,20	21,21	26,53	28,21	18,93	30,73	32,56	21,07	25,40	28,75	25,07	27,62
	St. Dev	1,85	3,57	2,32	3,18	3,92	3,26	1,56	5,15	2,85	0,14	2,88	1,68	0,49
E10	Av.	26,59	20,29	23,98	27,20	26,32	26,21	33,88	35,02	22,06	23,73	25,47	24,79	
	St. Dev	2,87	9,74	0,93	0,72	1,06	5,44	3,03	3,68	1,23	1,01	1,98	1,60	
Medie		30,43	25,19	23,01	26,07	23,11	19,75	31,35	31,48	24,79	24,79	26,19	24,61	27,62

Tab. 7.14 Indexul de germinare, GI [%] Centralizarea valorilor experimentale (medii)

Extract	Fag Martor	Control	Control	C-EO/	C-EO/	C-EO/	T-EO/	T-EO/	T-EO/	C-EO/	C-EO/	C-EO/	Apa distilata Control
		Etanol	LO	ET 1%	ET 5%	ET 10%	ET 1%	ET 5%	ET 10%	LO 1%	LO 5%	LO 10%	
E1	112,46	101,75	84,90	78,31	25,91	28,13	95,99	84,33	99,91	91,36	86,63	86,83	
E5	110,13	93,29	55,04	94,45	93,63	39,98	109,39	106,08	62,31	88,90	98,90	90,76	100,00
E10	94,67	69,80	86,83	98,48	92,12	83,81	120,62	114,10	73,20	85,93	90,68	88,25	
Medie	105,75	88,28	75,59	90,41	70,56	50,64	108,66	101,51	78,48	88,73	92,07	88,61	

Din analiza datelor experimentale se constată următoarele:

Pentru apa distilată, probă control, toate semințele au germinat (PG=100%) iar lungimea medie măsurată a germenilor, LMG, a fost de  $27.62 \pm 0.49$  mm.

Pentru apele rezultate prin spălarea epruvetelor de fag martor (netratat) PG a fost doar foarte ușor mai scăzut, cu valori între 95.0% și 98.33%, pentru cele trei extracte succesive, respectiv, valoarea medie PG=96.11%. LMG a fost superioară valorii control pentru apă pentru extractele E1, E5 și ușor mai scăzut pentru E10, cu valoarea medie LMG=30.43 superioară față de control apă distilată. Indexul de germinare a variat descrescător de la E1 la E10, cu valoare medie 105.75%, față de control 100%. Aceste date arată că pentru lemnul de fag netratat nu se constată un potențial eco-impact negativ dpdv al fitotoxicității compușilor lavabili în apă. (Svensson, 2014; Witcher et al., 2011)

Pentru lemnul de fag tratat cu etanol (control etanol), valorile PG au fost asemănătoare cu cele pentru martor, dar lungimile germenilor au fost mai scăzute (LMG mediu 25.19 mm), astfel încât indexul de germinare GI a fost 88.28% ca medie pe 3 extracte, ceea ce indică un potențial eco-impact redus.

Pentru lemnul de fag tratat cu ulei de in (control LO), valorile PG au fost vizibil mai reduse decât pentru martor, variind în intervalul 55-86.8%, cu valoare medie pe cele 3 extracte de 75.59%. Lungimile germenilor au fost și ele mai scăzute (LMG mediu 23 mm), astfel încât indexul de germinare GI = 75.59% ca medie pe 3 extracte, indică un potențial eco-impact negativ mai crescut comparativ cu lemnul martor și controlul cu etanol.

Pentru lemnul de fag tratat cu soluții de **C-EO** în etanol (concentrații 1%, 5%, 10%) se observă, în primul rând, o variație notabilă pentru toți indicii considerați (PG, LMG, GI) între cele trei ape de spălare E1, E5, E10, în sensul unui efect de fitotoxicitate maxim la prima spălare (E1), ceea ce indică lavabilitatea crescută a unor compuși toxici, care se îndepărtează majoritar la prima spălare. Al doilea aspect de sesizat este variația tuturor celor 3 indici, în sensul creșterii fitotoxicității odată cu creșterea concentrației de **C-EO** în soluția de tratare. Per global, GI mediu pentru cele 3 extracte E1, E5, E10, au fost de 90.41%, 70.56% și 50.64% pentru lemnul de fag tratat cu soluții de **C-EO** în etanol de 1%, 5% și 10%. Deci efectul de fitotoxicitate se manifestă începând de la concentrații de 5% și acest fapt trebuie considerat în aplicarea practică, impunându-se tratamente suplimentare de izolare față de apă pentru a conserva eficiența tratării și a evita un eco-impact negativ.

Pentru lemnul de fag tratat cu soluții de **T-EO** în etanol (concentrații 1%, 5%, 10%) se observă aceleași tendințe în variația indicilor de fitotoxicitate cu numărul spălării și concentrația soluției de tratare, dar efectul toxic este mai redus. Astfel valorile GI globale (medie pentru E1, E5, E10) au variat descrescător de la 108.6% la 101.5% și 78.5% odată cu creșterea concentrației de **T-EO**, Valorile PG ușor mai scăzute au fost compensate de valori LMG mai crescute, astfel că în indicele cumulat GI efectul de fitotoxicitate se vede de la concentrație de 10%. Efectul de fitotoxicitate este mai mic decât pentru **C-EO**.

Pentru lemnul de fag tratat cu soluții de **C-EO** în LO variația indicilor de fitotoxicitate funcție de extract și concentrația de **C-EO** nu prezintă un trend clar, dar valorile PG și LMG sunt mai mari decât pentru control LO, astfel că valorile GI globale (medii 3 extracte) se situează în intervalul 88.6-92%, superioare față de control LO (GI= 75.6), ceea ce înseamnă că uleiul de in prin calitățile sale peliculogene, fixează

mai bine pe lemn compușii toxici din **C-EO**, chiar dacă întărirea acestuia este parțial disturbată de efectul antioxidant puternic al **C-EO**.

O privire de ansamblu asupra rezultatelor, considerând valorile indexului de germinare global GI, %, ca medie a valorilor independente pentru cele 3 extracte (E1, E5, E10), arată că nu ar prezenta eco-impact negativ prin fitotoxicitate doar lemnul de fag martor și cel tratat cu soluții **T-EO**/etanol cu concentrații de 1% și 5%. Un eco-impact redus, asociat unor valori  $GI \geq 90\%$  (valoare propusă de autor), ar fi posibil pentru lemnul de fag tratat cu **C-EO**/etanol 1% și **C-EO**/LO 5%, pentru toate celelalte variante obținându-se GI sub 90%.

Toate aceste aspecte sunt clar reliefate prin graficele din figurile Fig. 7.17, Fig. 7.18, care reflectă și diferențele de fitotoxicitate între extracte succesive.

Efectul concentrației soluției de tratare este evident important și cuprins în discuția anterioară, dar o comparație a diferitelor produse/tratamente la o concentrație constantă (ex. 5%, 10%) este mai bine ilustrată de graficele din Fig. 7.19, Fig. 7.20.

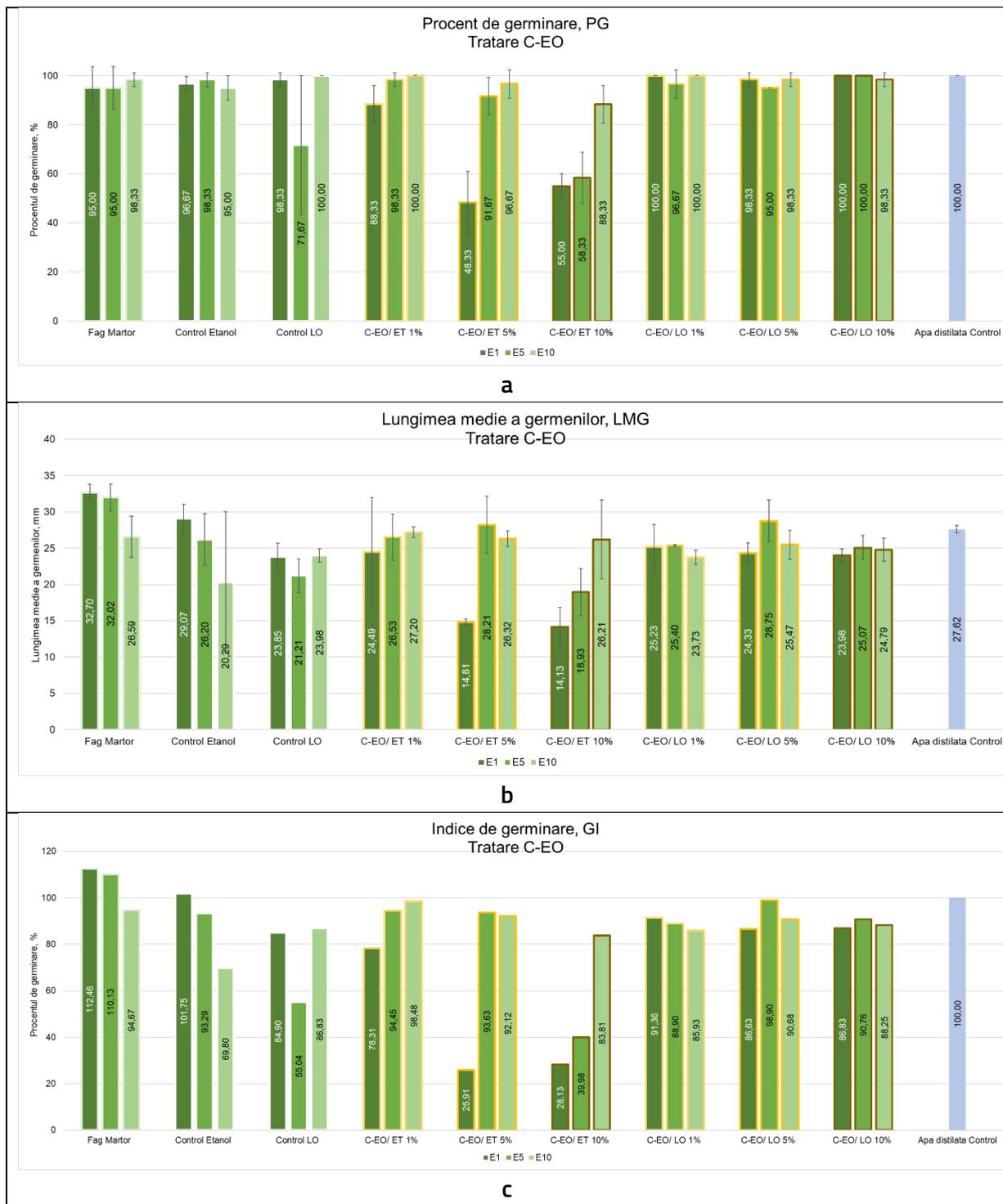


Fig. 7.17 Parametrii de fitotoxicitate pentru extractele apoase din lemn de fag martor și tratat cu soluții de C-EO în etanol (ET) și ulei de in (LO), comparativ cu control apă distilată.

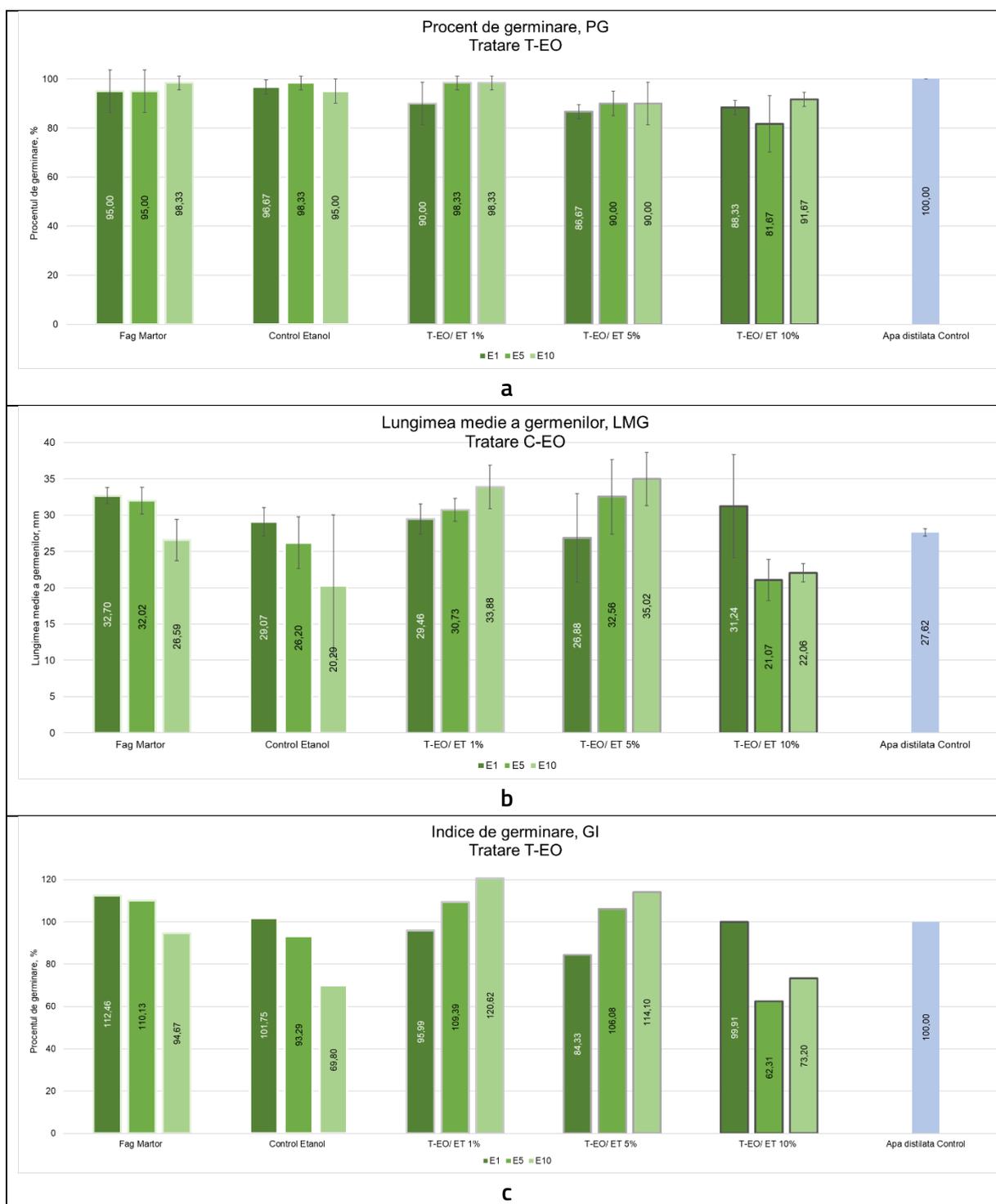


Fig. 7.18 . Parametrii de fitotoxicitate pentru extractele apoase din lemn de fag martor și tratat cu soluții de T-EO în etanol (ET), comparativ cu control apă distilată

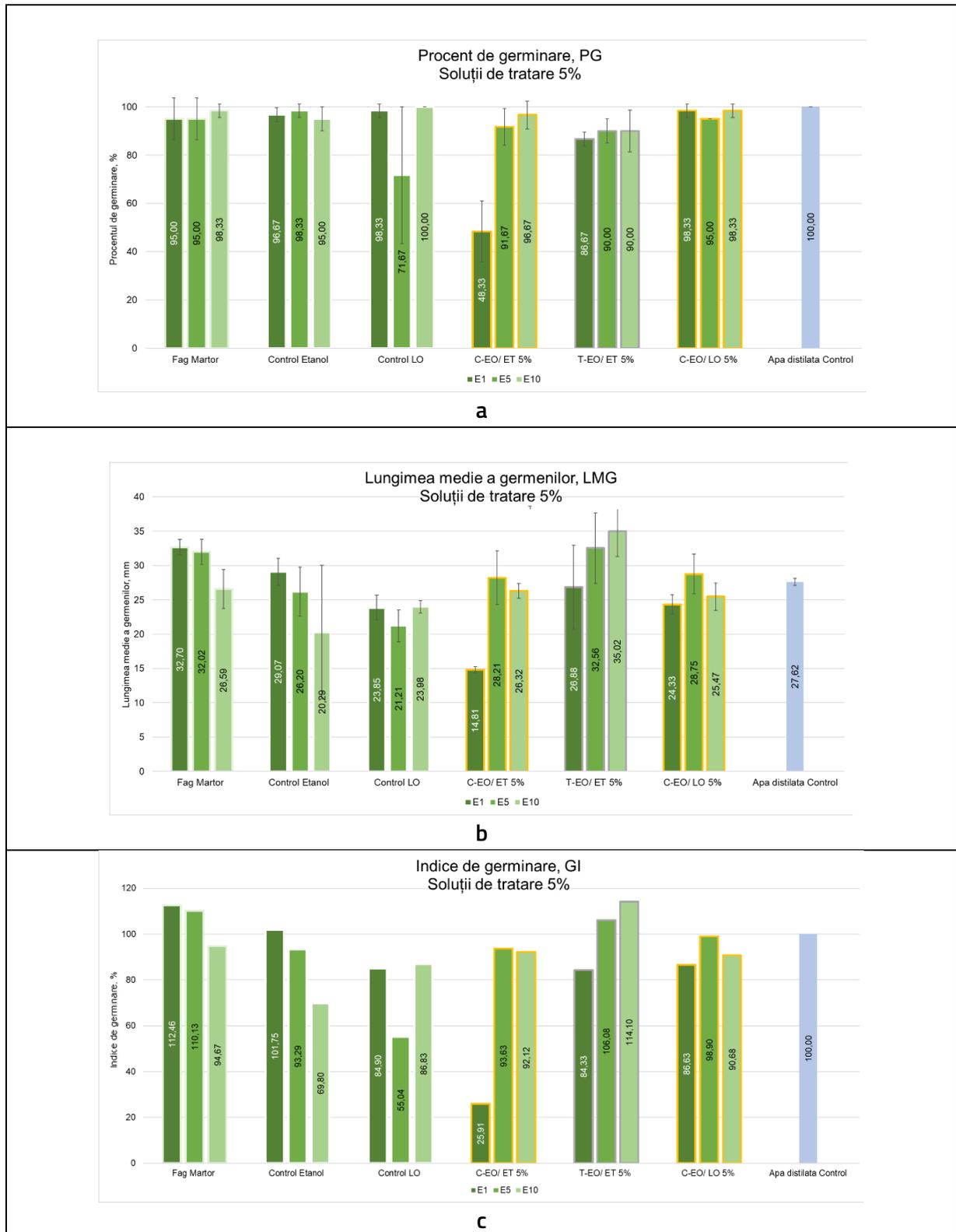


Fig. 7.19 Parametrii de fitotoxicitate pentru extractele apoase din lemn de fag martor și tratat cu diverse soluții de bioprotecție cu concentrație 5%: C-EO și T-EO în etanol (ET) și ulei de in (LO) comparativ cu etanol (ET), ulei de in (LO) și apă distilată

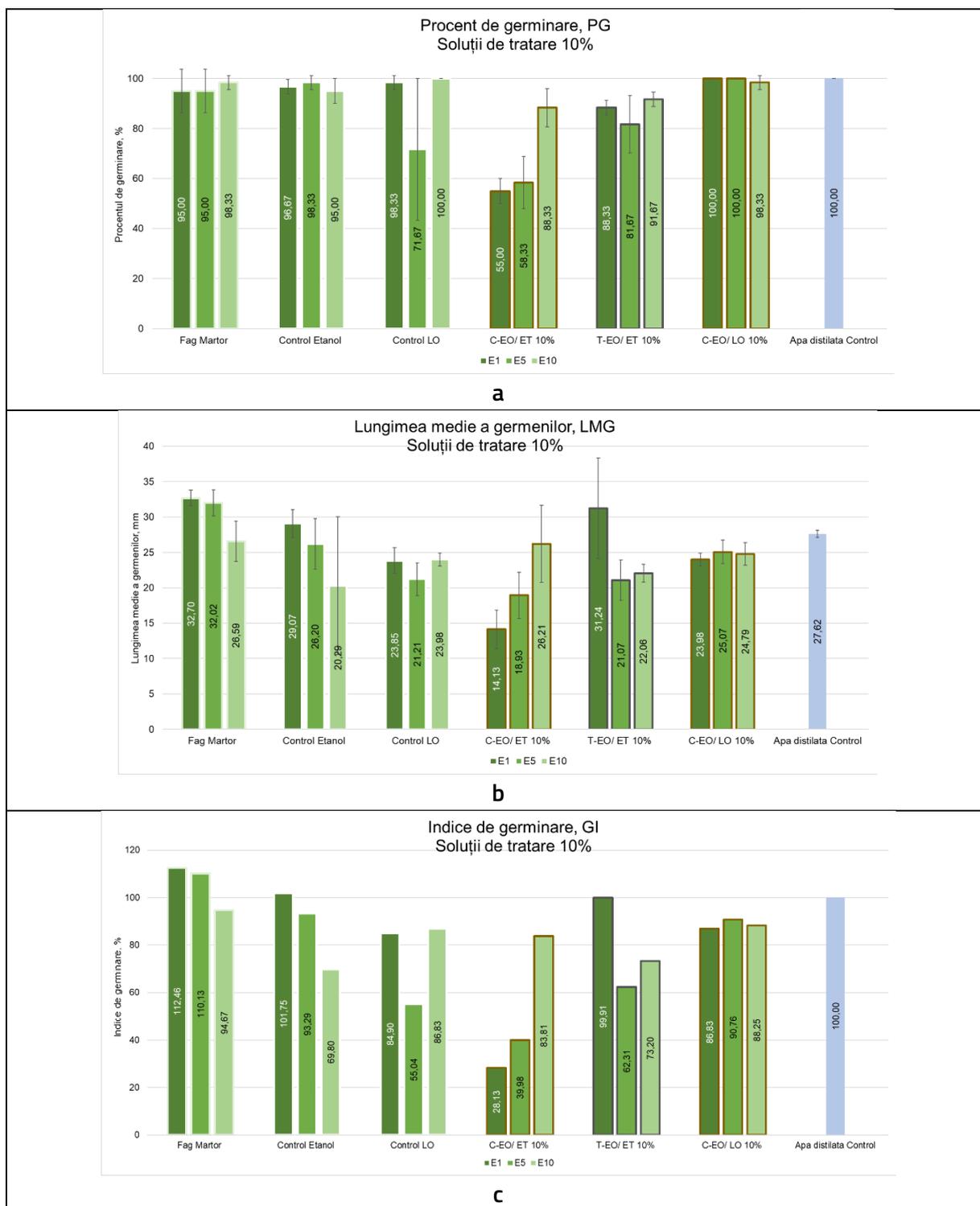


Fig. 7.20 Parametrii de fitotoxicitate pentru extractele apoase din lemn de fag martor și tratat cu diverse soluții de bioprotecție cu concentrație 10%: C-EO și T-EO în etanol (ET) și ulei de in (LO) comparativ cu etanol (ET), ulei de in (LO) și apă distilată

### 7.2.2.3. Concluzii test fitotoxicitate

Testul de fitotoxicitate, realizat după o metodă adaptată din diverse normative de mediu, protecția plantelor și lucrări științifice, a relevat o nouă dimensiune în caracterizarea și evaluarea comparativă a tratamentelor de bioprotecție a lemnului.

Realizarea acestui test în corelație cu testul minibloc de verificare a activității de protecție antifungică a celor două uleiuri esențiale pe probe de lemn tratat reprezintă implementarea în demersul de cercetare a ideii fundamentale a lucrării: *eficiență versus eco-impact*.

Utilizarea în test a apelor de spălare obținute conform EN 84 ancorează testarea potențialului eco-impact prin fitotoxicitate în metodologia de testare a produselor biocide în vederea implementării și constituie un element de noutate și originalitate.

Datele experimentale subliniază un potențial eco-impact negativ mai mare pentru **C-EO** comparativ cu **T-EO**. De asemenea ele relevă informații importante privind potențialul eco-impact al tratamentelor cu ulei de in/uleiuri sicative, cu o lungă istorie în utilizare, aplicabilitate largă, dar mai puțin studiate din acest punct de vedere.

Dintre toate variantele de tratare a lemnului de fag studiate, eco-impact negativ minim prin fitotoxicitate s-a obținut pentru tratamentele cu soluții de **T-EO** în etanol la concentrații de 1 și 5%, iar potențial eco-impact negativ maxim pentru soluțiile de **C-EO** în etanol (la concentrația de 10%).

Conștientizarea acestor aspecte este un prim pas necesar pentru cuplarea tratamentelor de bioprotecție cu tratamente de hidrofugare sau peliculizare în cazul unor aplicații în care există riscul de lavabilitate de pe lemn a produselor de tratare și afectarea în consecință a mediului.

## Capitolul 8 - Concluzii și perspective practice ale cercetării

Lucrarea de față explorează potențialul semnificativ al uleiurilor esențiale ca agenți naturali de protecție a lemnului, oferind o alternativă sustenabilă și ecologică la biocidele sintetice convenționale. Fundamentată pe o cercetare riguroasă și dedicată, cartea prezintă o analiză aprofundată a modului în care compușii naturali pot oferi soluții inovatoare și eficiente pentru bioprotecția lemnului, minimizând impactul negativ asupra mediului înconjurător. Astfel, se subliniază importanța adoptării unor practici responsabile și se promovează utilizarea resurselor naturale într-un mod conștient și durabil.

Studiul de față reprezintă o sinteză a unei abordări metodologice complexe, ce îmbină exigențele cercetării științifice fundamentale cu imperativele unei perspective ecologice responsabile. Abordarea s-a bazat pe principiul fundamental al menținerii unui echilibru optim între eficacitatea tratamentelor antifungice și minimizarea impactului acestora asupra mediului înconjurător. În acest sens, s-au elaborat și implementat un protocol analitic original și multistratificat, ce integrează o serie de teste complementare, concepute pentru a oferi o evaluare complexă și riguroasă a potențialelor produse antifungice. Acest protocol include, în primă fază, teste de screening și evaluare a potențialului antifungic *in vitro*, destinate identificării rapide a compușilor cu activitate biocidă pronunțată.

Rezultatele obținute în această etapă preliminară au fost ulterior validate prin teste efectuate pe material lemnos, simulând astfel condițiile reale de aplicare și permițând o evaluare realistă a eficienței practice a formulărilor selectate. În completarea acestor evaluări, s-au efectuat analize detaliate de fitotoxicitate, cu scopul de a asigura un impact ecologic redus al compușilor identificați, garantând astfel sustenabilitatea soluțiilor propuse.

Prin intermediul acestei metodologii integrate, s-a demonstrat că uleiurile esențiale, în special cele de cuișoare și cimbru, sunt candidați promițători, datorită compoziției lor chimice complexe, care se traduce printr-o activitate antifungică remarcabilă, dublată de un profil ecologic favorabil, sugerând un potențial ridicat pentru aplicații practice în protecția sustenabilă a materialelor lemnoase.

Această înțelegere aprofundată a relațiilor cauză-efect deschide perspective promițătoare pentru cercetări ulterioare și pentru dezvoltarea unor tratamente antifungice eficiente și impact redus

În final, un aspect esențial al lucrării îl reprezintă aplicabilitatea practică a rezultatelor obținute. Formulările propuse demonstrează un potențial ridicat de adaptare la scară largă, putând fi utilizate într-o gamă variată de domenii, de la conservarea și restaurarea obiectelor de patrimoniu cultural realizate din lemn, până la implementarea în construcții ecologice și în industria mobilei, contribuind astfel la promovarea unor soluții durabile și responsabile față de mediu.

Deși rezultatele prezentei lucrări sunt încurajatoare, acestea evidențiază și o serie de perspective și provocări viitoare ce necesită investigații suplimentare. O evaluare a potențialului pe termen lung este esențială, concentrându-se pe persistența efectelor antifungice ale uleiurilor esențiale în condiții de

mediu variabile. De asemenea, stabilitatea și variația compozițională a uleiurilor, influențate de factori precum sursa, sezonul de recoltare și metoda de extracție, impun studii detaliate pentru a asigura o eficacitate constantă. În final, explorarea interacțiunilor sinergice dintre diferiți compuși din uleiurile esențiale, prin crearea de combinații specifice, reprezintă o direcție promițătoare pentru amplificarea efectului de bioprotecție antifungică a lemnului.

Cartea de față nu trasează o concluzie definitivă, ci lansează o viziune orientată spre viitor, o chemare la inovație și responsabilitate în gestionarea resurselor naturale. Viziunea propusă vizează transformarea fundamentală a metodelor de protecție a lemnului, prioritizând soluțiile ecologice și o sinergie între avansul tehnologic și protecția mediului. Rezultatele prezentate constituie fundamente pentru cercetări ulterioare și aplicări specifice, de exemplu în domeniul conservării și restaurării lemnului, unde utilizarea produselor pe bază de uleiuri esențiale prezintă un potențial semnificativ, ce va fi detaliat într-o publicație viitoare.

Această abordare se dorește a fi un catalizator pentru cercetători și profesioniști, încurajând investigații aprofundate și dezvoltarea de noi tehnologii sustenabile, esențiale pentru un viitor responsabil.

## Bibliografie

- Aggarwal, B. B., & Yost, D. (2016). *Mirodenii vindecătoare*. Adevăr divin.
- Al Kamaly, O., Alanazi, A. S., Conte, R., & Imtara, H. (2023). Phytochemical Composition and Insight into Antibacterial Potential of *Origanum vulgare* Essential Oil from Saudi Arabia Using In Vitro and In Silico Approaches. *Processes*, *11*(3), 650. <https://doi.org/10.3390/pr11030650>
- Al Tameme, H. J., Hameed, I. H., Idan, S. A., & Hadi, M. Y. (2015). Biochemical analysis of *Origanum vulgare* seeds by fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, *7*(9), 221–237. <https://doi.org/10.5897/JPP2015.0362>
- Asbahani, A. E., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. H. A., Casabianca, H., Mousadik, A. E., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F. N. R., & Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, *483*(1–2), 220–243. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
- Astani, A., Reichling, J., & Schnitzler, P. (2010). Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytotherapy Research*, *24*(5), 673–679. <https://doi.org/10.1002/ptr.2955>
- Bae, J., Mercier, G., Watson, A. K., & Benoit, D. L. (2014). Seed germination test for heavy metal phytotoxicity assessment. *Canadian Journal of Plant Science*, *94*(8), 1519–1521. <https://doi.org/10.4141/cjps-2014-018>
- Bahmani, M., & Schmidt, O. (2018). Plant essential oils for environment-friendly protection of wood objects against fungi. *Maderas. Ciencia y Tecnología, ahead*, 0–0. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2018005003301>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Barkman, B. (2013). *Repellent, irritant and toxic effects of essential oil constituents on Bemisia tabaci (Gennadius)*.
- Barrow, C. J. (2007). *Environmental and social impact assessment: An introduction*. Arnold, Hodder Headline, PLC.
- Başer, K. H. C., & Buchbauer, G. (Ed.). (2010). *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications*. CRC Press/Taylor & Francis.
- Bhavaniramy, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, MS., Vijayakumar, R., & Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*, *2*, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.03.001>
- Bodrug, M., & Calalb, T. (2009). *Botanică farmaceutică: Pentru uzul studenților*.
- Borrego, S., Valdés, O., Vivar, I., Lavin, P., Guiamet, P., Battistoni, P., Gómez De Saravia, S., & Borges, P. (2012). Essential Oils of Plants as Biocides against Microorganisms Isolated from Cuban and Argentine Documentary Heritage. *ISRN Microbiology*, *2012*, 1–7. <https://doi.org/10.5402/2012/826786>
- Bouaziz, M., Yangui, T., Sayadi, S., & Dhouib, A. (2009). Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, *47*(11), 2755–2760. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.08.005>
- Brischke, C. (2020). *WOOD PROTECTION AND PRESERVATION*. MDPI AG.
- Butnariu, M., & Sarac, I. (2018). Essential Oils from Plants. *ournal of Biotechnology and Biomedical Science*, *1*(4), 35–43. <https://doi.org/10.14302/issn.2576-6694.jbbs-18-2489>
- Butta, L. D., Neacșu, A., Smuleac, L. I., Pascalau, R., Imbrea, F., Bătrîna, Ștefan L., & Imbrea, I. M. (2023). ANTIFUNGAL AND ANTI-MYCOTIC PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS EXTRACTED FROM DIFFERENT

- PLANTS ON PATHOGENIC FUNGI THAT BIOSYNTHESIZE MYCOTOXINS. *Scientific Papers. Series A. Agronomy, Vol 66(1)*, 251.
- Chambre, D. R., Moisa, C., Lupitu, A., Copolovici, L., Pop, G., & Copolovici, D.-M. (2020). Chemical composition, antioxidant capacity, and thermal behavior of *Satureja hortensis* essential oil. *Scientific Reports*, *10(1)*, 21322. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78263-9>
- Cheng, S.-S., Liu, J.-Y., Chang, E.-H., & Chang, S.-T. (2008). Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource Technology*, *99(11)*, 5145–5149. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.013>
- Cheng, S.-S., Liu, J.-Y., Hsui, Y.-R., & Chang, S.-T. (2006). Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Bioresource Technology*, *97(2)*, 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.030>
- Chittenden, C., & Singh, T. (2011). Antifungal activity of essential oils against wood degrading fungi and their applications as wood preservatives. *International Wood Products Journal*, *2(1)*, 44–48. <https://doi.org/10.1179/2042645311Y.0000000004>
- Da Silva Bomfim, N., Nakassugi, L. P., Faggion Pinheiro Oliveira, J., Kohiyama, C. Y., Mossini, S. A. G., Grespan, R., Nerilo, S. B., Mallmann, C. A., Alves Abreu Filho, B., & Machinski, M. (2015). Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food Chemistry*, *166*, 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.019>
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, *3(4)*, 25. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
- Di Salvatore, M., Carafa, A. M., & Carratù, G. (2008). Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: A comparison of two growth substrates. *Chemosphere*, *73(9)*, 1461–1464. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.061>
- Dima, C., & Dima, S. (2015). Essential oils in foods: Extraction, stabilization, and toxicity. *Current Opinion in Food Science*, *5*, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.07.003>
- Eisenhut, M. (2007). The toxicity of essential oils. *International Journal of Infectious Diseases*, 365—375.
- Eriksson, K. E. L., Blanchette, R. A., & Ander, P. (1990). *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*. Springer.
- Essential Oils pocket reference* (8-lea ed). (2019). Life Science Publishing.
- Fackler, K., & Schwanninger, M. (2012). How spectroscopy and microspectroscopy of degraded wood contribute to understand fungal wood decay. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *96(3)*, 587–599. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4369-5>
- Ferraz, C. A., Pastorinho, M. R., Palmeira-de-Oliveira, A., & Sousa, A. C. A. (2022). Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. *Environmental Pollution*, *292*, 118319. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118319>
- Fokou, J. B. H., Dongmo, P. M. J., & Boyom, F. F. (2020). *Essential oil's chemical composition and pharmacological properties*. IntechOpen.
- Gatto, M. A., Sergio, L., Ippolito, A., & Di Venere, D. (2016). Phenolic extracts from wild edible plants to control postharvest diseases of sweet cherry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *120*, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.06.010>
- GÓMEZ DE SARAVIA, S. G., DE LA PAZ NARANJO, J., Guiamet, P., ARENAS, P., & Borrego, S. F. (2008). Biocide activity of natural extracts against microorganisms affecting archives. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, *7(1)*, 25–29.

- Guenther, E. (2014). *The Essential Oils—HISTORY—ORIGIN IN PLANTSPRODUCTION—ANALYSIS* (Vol. 1). Read Books Ltd.
- Gurnani, N., Gupta, M., Mehta, D., & Mehta, B. K. (2016). Chemical composition, total phenolic and flavonoid contents, and *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts from red chilli seeds (*Capsicum frutescens* L.). *Journal of Taibah University for Science*, *10*(4), 462–470. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2015.06.011>
- Hashemi, S. M. B., Khaneghah, A. M., Koubaa, M., Barba, F. J., Abedi, E., Niakousari, M., & Tavakoli, J. (2018). Extraction of essential oil from *Aloysia citriodora* Palau leaves using continuous and pulsed ultrasound: Kinetics, antioxidant activity and antimicrobial properties. *Process Biochemistry*, *65*, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.10.020>
- Jadon, P. K., Yadav, S., & Dr. Bhimrao Ambedkar University, Agra, U.P (INDIA). (2022). Toxicity of Heavy Metals to the Human Health and Environment. *Journal of Ultra Chemistry*, *18*(4), 44–50. <https://doi.org/10.22147/juc/180401>
- Jeong, S. H., Lee, H. J., Kim, D. W., & Chung, Y. J. (2018). New biocide for eco-friendly biofilm removal on outdoor stone monuments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *131*, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.03.004>
- Jerry Atoche Medrano, J. (2020). Essential Oils in the Development of New Medicinal Products. În H. A. El-Shemy (Ed.), *Essential Oils—Oils of Nature*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86572>
- Ju, J., Xie, Y., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. (2020). Analysis of the synergistic antifungal mechanism of eugenol and citral. *LWT*, *123*, 109128. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109128>
- Juárez, Z. N., Hernández, L. R., Bach, H., Sánchez-Arreola, E., & Bach, H. (2015). Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *Xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. *Industrial Crops and Products*, *74*, 178–182. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.058>
- Jürgens, A., & Viljoen, A. M. (2010). Chemical diversity and biological functions of plant volatiles. *South African Journal of Botany*, *76*(4), 607–611. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.09.008>
- Katekar, V. P., Rao, A. B., & Sardeshpande, V. R. (2023). A hydrodistillation-based essential oils extraction: A quest for the most effective and cleaner technology. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, *36*, 101270. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101270>
- Khalili, S. T., Mohsenifar, A., Beyki, M., Zhavah, S., Rahmani-Cherati, T., Abdollahi, A., Bayat, M., & Tabatabaei, M. (2015). Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *LWT - Food Science and Technology*, *60*(1), 502–508. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.054>
- Kinninmonth, M. A., Liauw, C. M., Verran, J., Taylor, R., Edwards-Jones, V., Shaw, D., & Webb, M. (2013). Investigation into the suitability of layered silicates as adsorption media for essential oils using FTIR and GC-MS. *Applied Clay Science*, *83–84*, 415–425. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2013.07.009>
- Koubaa, M., Mhemdi, H., Barba, F. J., Roohinejad, S., Greiner, R., & Vorobiev, E. (2016). Oilseed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Res Int*, *85*, 59–66.
- Kumar, S., Mahapatro, G. K., Yadav, D. K., Tripathi, K., Koli, P., Kaushik, P., Sharma, K., & Nebapure, S. (2022). Essential oils as green pesticides: An overview. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, *92*(11). <https://doi.org/10.56093/ijas.v92i11.122746>
- Kuorwel, K., Cran, M.J., Sonneveld, K., Miltz, J., & Bigger, S. W. (2011). Essential Oils and Their Principal Constituents as Antimicrobial Agents for Synthetic Packaging Films. *Journal of Food and Science*, *76*(9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02384.x>

- Kusuma, H. S., & Mahfud, M. (2016). Preliminary study: Kinetics of oil extraction from sandalwood by microwave-assisted hydrodistillation. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 128, 012009. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/128/1/012009>
- Laur, A. (2022). *Aromaterapia în viața de zi cu zi* (2-lea ed).
- Liyanage, T., Madhujith, T., & Wijesinghe, K. G. G. (2017). Comparative study on major chemical constituents in volatile oil of true cinnamon (*Cinnamomum verum* Presl. Syn. *C. zeylanicum* Blum.) and five wild cinnamon species grown in Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research*, 28(3), 270. <https://doi.org/10.4038/tar.v28i3.8231>
- Marcias, F. A., Torres, A., Maya, C. C., & Fernández, B. (2005). Natural biocides from citrus waste as new wood preservatives. *Fourth World Congress on Allelopathy 2005 „Establishing the scientific base”*.
- Martín, J. A., & López, R. (2023). Biological Deterioration and Natural Durability of Wood in Europe. *Forests*, 14(2), 283. <https://doi.org/10.3390/f14020283>
- Maurya, A., Prasad, J., Das, S., & Dwivedy, A. K. (2021). Essential Oils and Their Application in Food Safety. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 653420. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.653420>
- Medeiros, F. C. M. D., Gouveia, F. N., Bizzo, H. R., Vieira, R. F., & Del Menezzi, C. H. S. (2016). Fungicidal activity of essential oils from Brazilian Cerrado species against wood decay fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 114, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.06.003>
- Metode de Obținere și de Prelucrare a Uleiurilor Volatile*. (f.a.).
- Miklósová, T. (2013). Damage of the Wood by Biological Factors, Fire and Methods of its Protection. *Advanced Materials Research*, 855, 19–21. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.855.19>
- Mohammed, H. A., Sulaiman, G. M., Khan, R. A., Al-Saffar, A. Z., Mohsin, M. H., Albukhaty, S., & Ismail, A. (2024). Essential oils pharmacological activity: Chemical markers, biogenesis, plant sources, and commercial products. *Process Biochemistry*, 144, 112–132. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.05.021>
- Mohareb, A. S. O., Badawy, M. E. I., & Abdelgaleil, S. A. M. (2013). Antifungal activity of essential oils isolated from Egyptian plants against wood decay fungi. *Journal of Wood Science*, 59(6), 499–505. <https://doi.org/10.1007/s10086-013-1361-3>
- Mohtashami, S., Rowshan, V., Tabrizi, L., Babalar, M., & Ghani, A. (2018). Summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil constituent oscillation at different storage conditions. *Industrial Crops and Products*, 111, 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.055>
- Mutlu-Ingok, A., Devencioglu, D., Dikmetas, D. N., Karbancioglu-Guler, F., & Capanoglu, E. (2020). Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils: An Updated Review. *Molecules*, 25(20), 4711. <https://doi.org/10.3390/molecules25204711>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
- Nedorostova, L., Kloucek, P., Kokoska, L., Stolcova, M., & Pulkrabek, J. (2009). Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control*, 20(2), 157–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.03.007>
- Pánek, M., Reinprecht, L., & Hulla, M. (2014). Ten Essential Oils for Beech Wood Protection—Efficacy Against Wood-destroying Fungi and Moulds, and Effect on Wood Discoloration. *BioResources*, 9(3), 5588–5603. <https://doi.org/10.15376/biores.9.3.5588-5603>
- Pant, A., Agarwal, S., Jha, K., & Singh, M. (2019). PHARMACOLOGICAL NEUROPROTECTIVE EFFICACY OF ESSENTIAL OILS (EO) BASED AROMATHERAPY: AN INSIGHT. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*, 8(5). <https://doi.org/10.32553/jbpr.v8i5.646>

- Perumal, A. B., Huang, L., Nambiar, R. B., He, Y., Li, X., & Sellamuthu, P. S. (2022). Application of essential oils in packaging films for the preservation of fruits and vegetables: A review. *Food Chemistry*, *375*, 131810. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131810>
- Phothisuwan, S., Matan, N., & Matan, N. (2013). Efficacy of Edible Film Incorporated with Essential Oils against White-rot Decay Fungus (*Trametes versicolor*). *International Journal of Environmental Science and Development*, *4*(12–14). <https://doi.org/10.7763/IJESD.2013.V4.383>
- Pietrzak, K., Otlewska, A., Danielewicz, D., Dybka, K., Pangallo, D., Kraková, L., Puškárová, A., Bučková, M., Scholtz, V., Ďurovič, M., Surma-Ślusarska, B., Demnerová, K., & Gutarowska, B. (2017). Disinfection of archival documents using thyme essential oil, silver nanoparticles misting and low temperature plasma. *Journal of Cultural Heritage*, *24*, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2016.10.011>
- Plavsic, D., Dimic, G., Psodorov, D., Saric, L., Cabarkapa, I., & Kosutic, M. (2017). Antifungal Activity of Mentha Piperita and Carum Carvi Essential Oils. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 201–207. <https://doi.org/doi:10.2298/ZMSPN1733201P>
- Pop, D. M., Timar, M. C., & Varodi, A. M. (2020). Comparative Assessment of The Biocidal Potential of 3 Essential Oils. *Series II - Forestry ■ Wood Industry ■ Agricultural Food Engineering*, *12(61)(1)*, 83–96. <https://doi.org/10.31926/but.fwiafe.2019.12.61.1.7>
- Pop, D.-M., Timar, M. C., & Varodi, A. M. (2018). COMPARATIVE ASSESSMENT OF ANTIFUNGAL POTENTIAL OF CLOVE (*EUGENIA CARYOPHYLLATA*) AND CINNAMON (*CINNAMOMUM VERUM*) ESSENTIAL OILS. *ProLigno*, *14(4)*, 82–91.
- Pop, D.-M., & Varodi, A. M. (2017). COMPARATIVE EVALUATION OF FIVE LABORATORY SCREENING TESTS FOR ASSESING THE ANTIFUNGAL POTENTIAL OF PRODUCTS FOR WOOD PRESERVATION. *10(1)*.
- Pop, D.-M., Varodi, A. M., & Timar, M. C. (2019). ESSENTIAL OILS AS POTENTIAL ECOLOGICAL WOOD PRESERVATIVES – A PRELIMINARY TEST ON THYME ESSENTIAL OIL. *INNOVATION IN WOODWORKING INDUSTRY AND ENGINEERING DESIGN*, *15(1)*, 28–36.
- Popa, R. M., Socaci, S., Fărcaș, A., & Socaciu, C. M. (2021a). Comparative Authenticity Signatures of Six Essential Oils Used as Food Flavors: A Gas chromatography - Mass Spectrometry Approach. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, *78(1)*, 88–100. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:2021.0008>
- Popa, R. M., Socaci, S., Fărcaș, A., & Socaciu, C. M. (2021b). Comparative Authenticity Signatures of Six Essential Oils Used as Food Flavors: A Gas chromatography - Mass Spectrometry Approach. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, *78(1)*, 88–100. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:2021.0008>
- Popescu, A., Tindeche, C., Mărcuță, A., Mărcuță, L., & Honțuș, A. (2021). PESTICIDES - A PROBLEM IN ROMANIA'S AGRICULTURE? *21(4)*.
- Preedy, V. (2016). *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Boston : Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Prosser, I., Phillips, A. L., Gittings, S., Lewis, M. J., Hooper, A. M., Pickett, J. A., & Beale, M. H. (2002). (+)-(10R)-Germacrene A synthase from goldenrod, *Solidago canadensis*; cDNA isolation, bacterial expression and functional analysis. *Phytochemistry*, *60(7)*, 691–702. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00165-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00165-6)
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, *62*, 250–264. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>
- Reinprecht, L., Pop, D.-M., Vidholdova, Z., & Timar, M.C. (2019) ANTI-DECAY POTENTIAL OF FIVE ESSENTIAL OILS AGAINST THE WOOD-DECAYING FUNGI SERPULA LACRYMANS AND TRAMETES VERSICOLOR. *ACTA FACULTATIS XYLOLOGIAE ZVOLEN*, *61(2)*: 63–72. DOI: 10.17423/afx.2019.61.2.06

- Reinprecht, L. (2010). Fungicides for Wood Protection—World Viewpoint and Evaluation/Testing in Slovakia. În O. Carisse (Ed.), *Fungicides*. InTech. <https://doi.org/10.5772/13233>
- Reinprecht, L. (2016). *Wood Deterioration, Protection and Maintenance* (1 ed). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119106500>
- Righi-Assia, A. F., Khelil, M. A., Medjdoub-Bensaad, F., & Righi, K. (2020). Efficacy of oils and powders of some medicinal plants in biological control of the pea weevil (*Callosobruchus chinensis* L.). *African Journal of Agricultural Research*, *5*(12), 1474–1481. <https://doi.org/10.5897/AJAR09.618>
- Roccotiello, E., Viale, I., & Cornara, L. (2011). Phytotoxicity tests with higher plants for environmental risk assessment. *Journal of Biological Research - Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale*, *84*(1). <https://doi.org/10.4081/jbr.2011.4489>
- Rosello-Soto, E., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Orlien, V., Trujillo, F. J., Mawson, R., Knoerzer, K., Tiwari, B. K., & Barba, F. J. (2015). Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. *Trends Food Sci Technol*, *42*, 134–149.
- Sadgrove, N., Padilla-González, G., Leuner, Melnikovova, I., & Fernandez-Cusimamani, E. (2021). Pharmacology of Natural Volatiles and Essential Oils in Food, Therapy, and Disease Prophylaxis. *Front Pharmacol*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.740302>
- Sanchis, C. M., Bosch-Roig, P., Moliner, B. C., & Miller, A. Z. (2023). Antifungal properties of oregano and clove volatile essential oils tested on biodeteriorated archaeological mummified skin. *Journal of Cultural Heritage*, *61*, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2023.02.006>
- Sendra, E. (2016). Essential Oils in Foods: From Ancient Times to the 21st Century. *Foods*, *5*(2), 43. <https://doi.org/10.3390/foods5020043>
- Shang, X.-F., Dai, L.-X., Yang, C.-J., Guo, X., Liu, Y.-Q., Miao, X.-L., & Zhang, J.-Y. (2021). A value-added application of eugenol as acaricidal agent: The mechanism of action and the safety evaluation. *Journal of Advanced Research*, *34*, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.12.010>
- Shankar, S., Prasad, S., Owaiz, M., Yadav, S., Manhas, S., & Yaqoob, M. (2021). ESSENTIAL OILS, COMPONENTS AND THEIR APPLICATIONS: A REVIEW. *PLANT ARCHIVES*, *21*(Suppliment-1), 2027–2033. <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.331>
- Shirzad, H., Hassani, A., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Finidokht, R., & Meshkatalasadat, M. (2011). Assessment of the Antifungal Activity of Natural Compounds to Reduce Postharvest Gray Mould (*Botrytis Cinerea* Pers.: FR.) of Kiwifruits (*Actinidia Deliciosa*) During Storage. *Journal of Plant Protection Research*, *51*(1), 1–6. <https://doi.org/10.2478/v10045-011-0001-4>
- Šimůnková, K., Hýsek, Š., Reinprecht, L., Šobotník, J., Lišková, T., & Pánek, M. (2022). Lavender oil as eco-friendly alternative to protect wood against termites without negative effect on wood properties. *Scientific Reports*, *12*(1), 1909. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05959-5>
- Singh, T., & Chittenden, C. (2008). In-vitro antifungal activity of chilli extracts in combination with *Lactobacillus casei* against common sapstain fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *62*(4), 364–367. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.10.009>
- Skubij, N., & Dzida, K. (2019). Essential oil composition of summer savory (*Satureja hortensis* L.) cv. Saturn depending on nitrogen nutrition and plant development phases in raw material cultivated for industrial use. *Industrial Crops and Products*, *135*, 260–270. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.057>
- Stević, T., Beriç, T., Šavikin, K., Soković, M., Gođevac, D., Dimkić, I., & Stanković, S. (2014). Antifungal activity of selected essential oils against fungi isolated from medicinal plant. *Industrial Crops and Products*, *55*, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.011>

- Svensson, H. (2014). *Characterization, toxicity and treatment of wood leachate generated outdoors by the wood-based industry*.
- Tadtong, S., Wannakhot, P., Poolsawat, W., Athikomkulchai, S., & Ruangrungsi, N. (2009). *ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OIL FROM ETLINGERA PUNICEA RHIZOME*.
- Tarhan, İ., Bakır, M. R., Kalkan, O., Yöntem, M., & Kara, H. (2022). Rapid determination of adulteration of clove essential oil with benzyl alcohol and ethyl acetate: Towards quality control analysis by FTIR with chemometrics. *Vibrational Spectroscopy*, *118*, 103339. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2022.103339>
- Timar, M. C., Buchner, J., Pop, D. M., & Irle, M. (2021). The Protection of Beech Wood ("Fagus Sylvatic"a) against the brown Rot "Postia Placenta" using Clove ("Eugenia Caryophyllata") Essential Oil in a Linseed Oil Medium. *Series II: Forestry ■ Wood Industry ■ Agricultural Food Engineering*, *14(63)(2)*, 61–74. <https://doi.org/10.31926/but.fwiafe.2021.14.63.2.6>
- Timar, M. C., Buchner, J., Pop, D. M., & Irle, M. (2022). The Protection of Beech Wood ("Fagus Sylvatic"a) against the brown Rot "Postia Placenta" using Clove ("Eugenia Caryophyllata") Essential Oil in a Linseed Oil Medium. *Series II: Forestry ■ Wood Industry ■ Agricultural Food Engineering*, *14(63)(2)*, 61–74. <https://doi.org/10.31926/but.fwiafe.2021.14.63.2.6>
- Toncer, O., Karaman, S., Diraz, E., & Tansi, S. (2017). Essential oil composition of Ocimum basilicum L. at different phenological stages in semi-arid environmental conditions. *Fresenius Environmental Bulletin*, *26(8)*, 5441–5446.
- Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of Essential Oils: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *12(1)*, 40–53. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12006>
- Ullah, N., Parveen, A., Bano, R., Zulfiqar, I., Maryam, M., Jabeen, S., Liaqat, A., & Ahmad, S. (2016). In vitro and in vivo protocols of antimicrobial bioassay of medicinal herbal extracts: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *6(8)*, 660–667. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(16\)61106-4](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61106-4)
- Ûrgeov, E., Vulganov, K., & Polvka, L. (2013). Content of selected secondary metabolites in wild hop. *Chemical Papers*, *67(3)*. <https://doi.org/10.2478/s11696-012-0213-8>
- Valderrama, A. C. S., & Rojas De, G. C. (2017). Traceability of Active Compounds of Essential Oils in Antimicrobial Food Packaging Using a Chemometric Method by ATR-FTIR. *American Journal of Analytical Chemistry*, *08(11)*, 726–741. <https://doi.org/10.4236/ajac.2017.811053>
- Varona, S., Rodríguez Rojo, S., Martín, ., Cocero, M. J., Serra, A. T., Crespo, T., & Duarte, C. M. M. (2013). Antimicrobial activity of lavandin essential oil formulations against three pathogenic food-borne bacteria. *Industrial Crops and Products*, *42*, 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.020>
- Vasile, C., Sivertsvik, M., Mitelu , A., Brebu, M., Stoleru, E., Rosnes, J., Tnase, E., Khan, W., Pamfil, D., Cornea, C., Irimia, A., & Popa, M. (2017). Comparative Analysis of the Composition and Active Property Evaluation of Certain Essential Oils to Assess their Potential Applications in Active Food Packaging. *Materials*, *10(1)*, 45. <https://doi.org/10.3390/ma10010045>
- Vella, F. M., Calandrelli, R., Cautela, D., Fiume, I., Pocsfalvi, G., & Laratta, B. (2020). Chemometric Screening of Fourteen Essential Oils for Their Composition and Biological Properties. *Molecules*, *25(21)*, 5126. <https://doi.org/10.3390/molecules25215126>
- Vettraino, A. M., Zikeli, F., Humar, M., Biscontri, M., Bergamasco, S., & Romagnoli, M. (2022). *Essential oils as natural biocide against common brown- and white-rot fungi in degradation of wood products: Antifungal activity evaluation by in vitro and FTIR analysis*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1903709/v1>
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (Citrus lemon L.), mandarin (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.) and orange (Citrus sinensis L.) essential oils. *Food Control*, *19(12)*, 1130–1138. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.12.003>

- Voda, K., Boh, B., Vrtačnik, M., & Pohleven, F. (2003). Effect of the antifungal activity of oxygenated aromatic essential oil compounds on the white-rot *Trametes versicolor* and the brown-rot *Coniophora puteana*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *51*(1), 51–59. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(02\)00075-6](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00075-6)
- Vora, L. K., Gholap, A. D., Hatvate, N. T., Naren, P., Khan, S., Chavda, V. P., Balar, P. C., Gandhi, J., & Khatri, D. K. (2024). Essential oils for clinical aromatherapy: A comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology*, *330*, 118180. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118180>
- Walsh-Korb, Z., & Avérous, L. (2019). Recent developments in the conservation of materials properties of historical wood. *Progress in Materials Science*, *102*, 167–221. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2018.12.001>
- Wang, L.-H., & Sung, W.-C. (2011). Rapid evaluation and quantitative analysis of eugenol derivatives in essential oils and cosmetic formulations on human skin using attenuated total reflectance–infrared spectroscopy. *Spectroscopy*, *26*(1), 43–52. <https://doi.org/10.1155/2011/176163>
- Wang, S.-Y., Chen, P.-F., & Chang, S.-T. (2005). Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresource Technology*, *96*(7), 813–818. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.07.010>
- Witcher, A. L., Blythe, E. K., Fain, G. B., Curry, K. J., & Pounders, C. T. (2011). *Assessing Phytotoxicity in Fresh and Aged Whole Pine Tree Substrates*. 61.
- Xie, Y., Wang, Z., Huang, Q., & Zhang, D. (2017). Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. *Industrial Crops and Products*, *108*, 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.041>
- Yang, V. W., & Clausen, C. A. (2007). Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *59*(4), 302–306. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.09.004>
- Yingprasert, W., Matan, N., Chaowana, P., & Matan, N. (2015). FUNGAL RESISTANCE AND PHYSICO-MECHANICAL PROPERTIES OF CINNAMON OIL- AND CLOVE OIL-TREATED RUBBERWOOD PARTICLEBOARDS. *Journal of Tropical Forest Science*.
- Zabel, R. A., & Morrell, J. J. (2020). *Wood Microbiology Decay and Its Prevention*. Elsevier Academic Press.
- Zabka, M., Pavela, R., & Prokinova, E. (2014). Antifungal activity and chemical composition of twenty essential oils against significant indoor and outdoor toxigenic and aeroallergenic fungi. *Chemosphere*, *112*, 443–448. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.014>
- Zhang, Z., Yang, T., Mi, N., Wang, Y., Li, G., Wang, L., & Xie, Y. (2016). Antifungal activity of monoterpenes against wood white-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *106*, 157–160. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.10.018>
- Zyani, M., Mortabit, D., Abed, S. E., Remmal, A., & Ibsouda, S. (2011). Antifungal activity of Five Plant Essential Oils against wood decay fungi isolated from an old house at the Medina of Fez. *International Research Journal of Microbiology*, *2*(3), 104–108.

## Baza de date Capitolul 1 - BD 1

Tab.1 Sinteză bibliografică cuprinzând uleiuri esențiale cu efect antifungic, cu detalii privind compoziția chimică, metoda de testare, eficiența antifungică și referința din literatură

Notă: Cu culoarea verde sunt marcate uleiurile esențiale alese pentru cercetare în lucrare

Nr. Crt. cod	Ulei esențial	Compoziție	Specie fungi	Eficiență	Observații	Referință
1 - O-EO	Oregano ( <i>Origanum vulgare</i> )	Carvacrol (86.9%) Linalol (4.6%) p-cimen (2.7%) Timol (2%) $\gamma$ -terpinen (1.4%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)
		Carvacrol (55,81%) p-cimen (19,61%) Timol (7,43%) $\gamma$ -terpinen (5,23%) Linalol (3,71%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență foarte ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
		Carvacrol (71.8%) Timol (5%) $\gamma$ -terpinen (4.5%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Páneek et al., 2014b)
			<i>Aspergillus tabacinus</i> <i>Aspergillus tennesseensis</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci izolate din piele mumificată	(Sanchis et al., 2023)
2	Oregano ( <i>Origanum heracleoticum</i> )	Carvacrol (75,8%) Timol (3,7%) E-Cariofilen (2,76%) $\gamma$ -terpinen (2,61%) Linalol (2,54%) p-Cimen (2,11%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdilueții Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
3	Oregano ( <i>Origanum compactum</i> )	Carvacrol (51.2%) Timol (43,3%)	<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Foarte ridicată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
4	Cimbru ( <i>Thymus vulgaris</i> )	Timol (60.2%) p-cimen (19.9%) Carvacrol (5.9%) Linalol (5.8%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)

		Geraniol (1.6%) $\gamma$ -terpinen (1.4%) $\beta$ -cariofilen (1.1%) terpinil acetat (1.1%)				
		Timol (46,21%)	<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Eficiență moderată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
		Timol (43,7%) p-Cimen (23,2%) $\gamma$ -Terpinen (6,9%) Linalol (4,9%) 1,8-Cineol (3,7%) E-Cariofilen (3,1%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Glilocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp.</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluiției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
		Timol (34,36%) p-Cimen (29,51%) $\gamma$ -terpinen (28,69%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
		Timol (41.3%) p-cimol (22.6%) $\gamma$ -terpinen (7.7%) Carvacrol (2.9%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Pánek et al., 2014b)
		$\beta$ -ocimen (12.62%) Timol (10.56%) Carvacrol (6.85%).	<i>Botrytis cinerea</i>	Eficiență moderată	Ciupercă pe kiwi în depozit	(Shirzad et al., 2011)
		Timol (47,9%) p-cimen (15,8%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Pleurotus ostreatu</i> <i>Poria monticola</i> <i>Gloeophyllum trabeum</i>	Eficiență semnificativă	2 Putregai alb și 2 putregai brun	(Vettraino et al., 2022)
5	<b>Cimbru</b> <i>(Thymus vulgaris Demeter)</i>	Timol (20,7%) p-cimen (15,8%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Pleurotus ostreatu</i> <i>Poria monticola</i> <i>Gloeophyllum trabeum</i>	Eficiență semnificativă	2 Putregai alb și 2 putregai brun	(Vettraino et al., 2022)
6	<b>Cimbru cu vârf conic</b> <i>(Thymus capitatus)</i>	Carvacrol (68,6%) p-cimen (26,7%) $\gamma$ -terpinen (6,8%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Pleurotus ostreatu</i> <i>Poria monticola</i> <i>Gloeophyllum trabeum</i>	Eficiență semnificativă	2 Putregai alb și 2 putregai brun	(Vettraino et al., 2022)
7	<b>Cimbru cu vârf conic</b> <i>(Coridothymus capitatus)</i>	carvacrol (76,9%) p-cimen (7,7%) $\alpha$ -bisabolen (3,7%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Pleurotus ostreatu</i> <i>Poria monticola</i> <i>Gloeophyllum trabeum</i>	Eficiență semnificativă	2 Putregai alb și 2 putregai brun	(Vettraino et al., 2022)
8	<b>Cimbru</b>	Borneol (29,8%) Timol (12%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Eficiență semnificativă	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)

	<i>(Thymus satureioides)</i>	Carvacrol (10%) α-terpineol (7.6%) Camfen (7.6%) α-pinen (4.6%) β-cariofilen (4.8%) p-cimen (3.8%) Linalol (3.2%) metil eter timol (2.9%) bornil acetat (1.8%) terpin-4-ol (1.6%) Camfor (1.2%) γ-terpinen (1.1%) cis-pinan (1%)	<i>Aspergillus niger</i>			
9 – T-EO	Cimbru de grădină <i>(Satureja hortensis)</i>	Carvacrol (50,0%) p-Cimen (12,2%) Timol (9,6%) γ-terpinen (6,5%) E-cariofilen (5,2%) Borneol (2,41%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluei Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
		Carvacrol (54.14%) Terpinolene (20.59%) α-felandren (5.31%).	<i>Botrytis cinerea</i>	Eficiență moderată	Ciupercă pe kiwi în depozit	(Shirzad et al., 2011)
		γ-terpinen (41.3%) Carvacrol (31.6%) p-cimol (13.8%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Pánek et al., 2014b)
10	Dafin de India de vest <i>(Pimenta racemosa)</i>	Eugenol (64%) Mircen (14.6%) Chavicol (7.7%) β-cariofilen (4.9%) Limonen (2%) Linalol (1.6%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)
11	Coriandru <i>(Coriandrum sativum)</i>	Linalol (66.7%) Limonen (5.7%) α-pinen (4.1%) Geraniol (4.5%) Geranil acetat (3.8%) Camfor (3.3%) p-cimen (2.6%) β-pinen (2.4%) α-terpineol (2.2%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență semnificativă	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)
		Linalol (71,2%) α-Pinen (7,8%) γ-terpinen (4,2%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite	(Stević et al., 2014)

		Camfor (4,3%) Geranil acetat (3,2%) Limonen (2,8%)	<i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>		izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	
12	Chimen ( <i>Carum carvi</i> )	Carvon (68.7%) Limonen (21.5%) $\alpha$ -pinen (6.2%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență semnificativă	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)
			<i>Alternaria alternata</i> <i>Aspegillus flavus</i> <i>A. niger</i> <i>A. versicolor</i> <i>Eurotium herbariorum</i> <i>Penicillium aurantiogriseum</i> <i>P. chrysogenum</i> <i>P. expansum.</i>	Eficiență ridicată	Mucegaiuri - alimente Disc diffusion	(Plavsic et al., 2017)
13	Chimen indian ( <i>Carum copticum</i> )	Timol (63.18%) p-cimen (21.4%) $\gamma$ -terpinen (13.8%)	<i>Botrytis cinerea</i>	Eficiență moderată	Ciupercă pe kiwi în depozit	(Shirzad et al., 2011)
14	Rozmarin ( <i>Rosmarinus officinalis</i> )	1,8 cineol (52,2%) Camfor (15,2%) $\alpha$ -pinen (12,4%)	<i>Fusarium verticillioides</i>	Eficiență ridicată	Ciupercă izolată de pe porumb	(Da Silva Bomfim et al., 2015)
15	Chiparos - frunze ( <i>Cupressus sempervirens</i> )	$\alpha$ -Pinen (37.88%) d-Caren (20.05%) $\alpha$ -terpinolen (6.91%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
16	Lămâie – coajă ( <i>Citrus limon</i> )	dL-Limonen (56.30%) $\beta$ -pinen (8.81%) $\gamma$ -terpinen (6.42%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Ridicată în special împotriva <i>H. apiaria</i>	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
			<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium verrucosum</i>	Eficient împotriva <i>A. niger</i> <i>P.verrucosum</i>	Mucegaiuri – alimente Agar dilution	(Viuda-Martos et al., 2008)
		Limonen (65,9%) $\beta$ -Pinen (13,9%) $\gamma$ -terpinen (6,2%) Geranial (2,3%) Sabinen (2,2%) $\alpha$ -Pinen (2,1%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției	(Stević et al., 2014)

			<p><i>Penicillium sp</i>  <i>Chaetomium sp.</i>  <i>Gliocladium roseum</i>  <i>Curvularia lunata</i>  <i>Verticillium dahliae</i>  <i>Trichoderma viride</i>  <i>Trichotechium roseum</i>  <i>Phomopsis sp</i>  <i>Phoma sp.</i>  <i>Myrothecium verrucaria.</i></p>		Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	
17	<b>Mandarină</b> <i>(Citrus reticulata)</i>		<p><i>Aspergillus niger</i>  <i>Aspergillus flavus</i>  <i>Penicillium chrysogenum</i>  <i>Penicillium verrucosum</i></p>	Eficient împotriva <i>A. flavus</i>	Mucegaiuri – alimente Agar dilution	(Viuda-Martos et al., 2008)
18	<b>Grepfrut</b> <i>(Citrus paradisi)</i>		<p><i>Aspergillus niger</i>  <i>Aspergillus flavus</i>  <i>Penicillium chrysogenum</i>  <i>Penicillium verrucosum</i></p>	Eficient împotriva <i>P.chrysogenum</i> <i>P.verrucosum</i>	Mucegaiuri – alimente Agar dilution	(Viuda-Martos et al., 2008)
19	<b>Portocală</b> <i>(Citrus sinensis)</i>		<p><i>Aspergillus niger</i>  <i>Aspergillus flavus</i>  <i>Penicillium chrysogenum</i>  <i>Penicillium verrucosum</i></p>	Eficient împotriva <i>A. niger</i>	Mucegaiuri – alimente Agar dilution	(Viuda-Martos et al., 2008)
20	<b>Portocală amară</b> <i>(Citrus aurantium amara)</i>	<p>Limonen (90,1%)                      Linalol acetat (1,6%)                      Mircen (1,4%)  <math>\gamma</math>-terpinen (1,0%)</p>	<p><i>Aspergillus flavus</i>  <i>Aspergillus niger</i>  <i>Alternaria alternata</i>  <i>Fusarium solani</i>  <i>Fusarium tricinctum</i>  <i>Fusarium sporotrichioides</i>  <i>Fusarium verticillioides</i>  <i>Fusarium oxysporum</i>  <i>Fusarium semitectum</i>  <i>Fusarium subglutinans</i>  <i>Fusarium equiseti</i>  <i>Penicillium sp</i>  <i>Chaetomium sp.</i>  <i>Gliocladium roseum</i>  <i>Curvularia lunata</i>  <i>Verticillium dahliae</i>  <i>Trichoderma viride</i>  <i>Trichotechium roseum</i>  <i>Phomopsis sp</i>  <i>Phoma sp.</i>  <i>Myrothecium verrucaria.</i></p>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
21	<b>Bergamotă</b> <i>(Citrus aurantium bergamia)</i>	<p>Limonen (37%)                      Linalol acetat (37%)                      Linalol (13%)  <math>\gamma</math>-terpinen (3,0%)  <math>\beta</math>-Pinen (3,0%)</p>	<p><i>Aspergillus flavus</i>  <i>Aspergillus niger</i>  <i>Alternaria alternata</i>  <i>Fusarium solani</i>  <i>Fusarium tricinctum</i>  <i>Fusarium sporotrichioides</i>  <i>Fusarium verticillioides</i>  <i>Fusarium oxysporum</i>  <i>Fusarium semitectum</i>  <i>Fusarium subglutinans</i>  <i>Fusarium equiseti</i>  <i>Penicillium sp</i>  <i>Chaetomium sp.</i>  <i>Gliocladium roseum</i>  <i>Curvularia lunata</i>  <i>Verticillium dahliae</i>  <i>Trichoderma viride</i></p>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO	(Stević et al., 2014)

			<i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>		în pungă închisă	
22	Tuia – frunze ( <i>Thuja occidentalis</i> )	α-Pinen (35.49%) β-caren (25.42%) α-cedrol (9.05%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
23	Piper peruvian – frunze ( <i>Schinus molle</i> )	α-felandren (29.87%) β-felandren (21.08%) Elemol (13.00%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
24	<i>Artemisia monosperma</i> - frunze	1,2-Dihidroacenaftilen (36.86%) 2,4-pentadinilbenzen (14.68%) γ -terpinen (12.46%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Cea mai ridicată față de ambele	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
25 – C-EO	Cuișoare ( <i>Eugenia caryophyllata</i> )		<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Foarte ridicată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
		Eugenol (77,83%) β -cariofilen (15,80%) δ -cadinen (1,35%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
		Eugenol (82%) Cariofilen (16.5%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Pánek et al., 2014b)
		Eugenol (75%)	<i>Trametes versicolor</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Phothisuwan et al., 2013)
		Eugenol (85%)	<i>Trametes Gloeophyllum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Yingprasert et al., 2015)
			<i>Aspergillus tabacinus</i> <i>Aspergillus tennesseensis</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Eficiență semnificativă	Ciuperci izolate din piele mumificată	(Sanchis et al., 2023)
26 – B-EO	Busuioc ( <i>Ocimum basilicum</i> )	Chavicol (30,87%) Linalol (20,1%)	<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Foarte ridicată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
		Metil chavicol (89%) 1,8-Cineol (3,0%) Linalol (1,3%) γ -terpinen (1,1%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluei Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)

			<i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>			
27	<b>Busuioc lămâios</b> <i>(Ocimum basilicum citriodora)</i>	Geranial (31.1%) Neral (23.6%) Linalol (16.4%) Limonen (8.9%) 1,8-cineol (3.3%) Eugenol (2%) β-cariofilen (1.2%) Citronelal (1.2%) Mircen (1.2%) α-pinen (1.1%)	<i>Alternaria alternata</i> <i>Stachybotrys chartarum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Aspergillus niger</i>	Eficiență semnificativă	Ciuperci toxice și alergice	(Zabka et al., 2014)
28	<b>Arbore de ceai</b> <i>Melaleuca alternafolia</i>	terpinen-4-ol (36,1%) α-terpineol (2,98%)	<i>Thielavia hyalocarpa</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Eficiență moderată	Primele 4 putregai alb și ultima putregai brun	(Zyani et al., 2011)
		Terpinen-4-ol (40,7%) γ-terpinen (17,8%) α-Terpinen (7,1%) α-Terpineol (4,5%) Terpinolen (4,2%) Limonen (3,9%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdilueții Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
29	<b>Mentă</b> <i>(Mentha piperita)</i>		<i>Alternaria alternata</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>A. niger</i> <i>A. versicolor</i> <i>Eurotium herbariorum</i> <i>Penicillium aurantiogriseum</i> <i>P. chrysogenum</i> <i>P. expansum.</i>	Eficiență ridicată	Mucegaiuri - alimente Disc diffusion	(Plavsic et al., 2017)
30	<b>Agastache mexicana ssp. xolocotziana</b>	Metil-eugenol (36.41%) Estragol (27.92%) Linalol (10.66%) Mentonă (10.29%)	<i>Aspergillus amylovorus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. nomius</i> <i>A. ostianus</i> <i>Eurotium halophilicum</i> <i>Eupenicillium hirayamae</i> <i>E. hyrayamae</i> <i>E. hyrayamae</i> <i>E. hyrayamae</i> <i>Penicillium cinnamopurpureum</i> <i>P. viridicatum var. ii</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci post recoltare izolate de pe grâne	(Juárez et al., 2015)
31	<b>Porophyllum linaria</b>	Acid linoleic (29.50%) Fitol (25.50%) n-Hexadecanoic acid (18.37%)	<i>Aspergillus amylovorus</i> <i>A. flavus</i> <i>A. nomius</i> <i>A. ostianus</i> <i>Eurotium halophilicum</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci post recoltare izolate de pe grâne	(Juárez et al., 2015)

			<i>Eupenicillium hirayamae</i> <i>E. hirayamae</i> <i>E. hirayamae</i> <i>E. hirayamae</i> <i>Penicillium cinnamopurpureum</i> <i>P. viridicatum var. ii</i>			
32	<b>Eucalipt</b> <i>(Eucalyptus globulus)</i>	Limonen (89,9%) $\gamma$ -terpinen (2,5%) p-Cimen (2,2%) $\alpha$ -Pinen (2,1%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
33	<b>Anason</b> <i>(Illicium verum)</i>	E-Anetol (91,8%) Metil chavicol (3,6%) Foeniculin (1,20%) Linalol (1,0%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
		Trans-anetol (95%)	<i>Trametes versicolor</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Phothisuwan et al., 2013)
34	<b>Fenicul</b> <i>(Foeniculum vulgare)</i>	Trans-anetol (64.72%) Fencon (14.59%) Metil chavicol (6.67%)	<i>Botrytis cinerea</i>	Eficiență moderată	Ciupercă pe kiwi în depozit	(Shirzad et al., 2011)
35	<b>Lavendă</b> <i>(Lavandula angustifolia)</i>	Linalol (35%) Linalol acetat (37%) $\alpha$ -Pinen (3,2%) E-Cariofilen (3,2%) Borneol (2,6%) Neril acetat (2,4%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante	(Stević et al., 2014)

			<i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>		Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	
36	<b>Mușețel albastru</b> <i>(Matricaria recutita)</i>	α-Bisabolol oxid A (38%) Bisabolol (21,1%) Farnesen (18,5%) Bisabolol oxid II (5,1%) Z-Spiroeter (4,7%) Hamazulen (2,2%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
37	<b>Trandafir</b> <i>(Rosa damascena)</i>	Citronelol (51,3%) Geraniol (25,8%) Fenetil alcool (6,0%) Citronelil format (1,3%) 6,9-Guaiadien (1,4%) Linalol (1,2%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență ridicată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
38	<b>Mușcată trandafir – frunze</b> <i>Pelargonium graveolens</i>	β-Citronelol (35.92%) trans-geraniol (11.66%) Citronelil format (11.40%)	<i>Hexagonia apiaria</i> <i>Ganoderma lucidum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Mohareb et al., 2013)
		Citronelol (39,0%) Geraniol (11,3%) Fenetil alcool (7,5%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite	(Stević et al., 2014)

		Citronelil format (5,1%) 6,9-Guaiadien (4,1%) Linalol (1,7%)	<i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp.</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>		izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	
		Citronelol (24,88) Linalol (14,46%) Mentonă (8,51%) Geraniol (7,89%) Citronelil format (6,21%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență moderată	Ulei din boboci Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
39	Toporaș ( <i>Viola odorata</i> )	Triacetin (53,7%) α-Ionon (9,4%) Fenil etil propionat (6,8%) β-Ionon (4,8%) Linalol (3,9%) Linalol acetat (3,8%)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium tricinctum</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum</i> <i>Fusarium subglutinans</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Chaetomium sp.</i> <i>Gliocladium roseum</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Verticillium dahliae</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Trichotechium roseum</i> <i>Phomopsis sp.</i> <i>Phoma sp.</i> <i>Myrothecium verrucaria.</i>	Eficiență moderată	Ciuperci fitopatogene și saprofite izolate de pe plante Versiune modificată a tehnicii microdiluției Metodă modificată de evaporare a EO în pungă închisă	(Stević et al., 2014)
40	Lemongrass – frunze ( <i>Cymbopogon citratus</i> )	Citral (32,53%) Geraniol (32,42%) Longifolen (3,83%) Acid geranic (2,93%) Acetat de geranil (2,85%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
41	Scorțișoară - frunze ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> )	Acetat de cinamil (34,28%) Cinalaldehidă (30,26%) Salicilaldehidă (19,49%) Cumarina (11,98%)	<i>Trametes hirsuta</i> <i>Laetiporus sulphureus</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Xie et al., 2017)
42 – S-EO	Scorțișoară ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> )	Cinalaldehidă (74%)	<i>Trametes versicolor</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb	(Phothisuwan et al., 2013)
		Cinalaldehidă (45%) Eugenol (25%)	<i>Trametes Gloeophyllum</i>	Eficiență ridicată	Putregai alb și putregai brun	(Yingprasert et al., 2015)

43	<b>Obligeană</b> ( <i>Acorus calamus</i> )	Cis-isoasarol trimetileter (78%)	<i>Trametes versicolor</i> <i>Coniophora puteana</i>	Eficiență ridică	Putregai alb și putregai brun	(Pánek et al., 2014b)
----	---	-------------------------------------	---	---------------------	----------------------------------	--------------------------

## Bibliografie

- Da Silva Bomfim, N., Nakassugi, L. P., Faggion Pinheiro Oliveira, J., Kohiyama, C. Y., Mossini, S. A. G., Grespan, R., Nerilo, S. B., Mallmann, C. A., Alves Abreu Filho, B., & Machinski, M. (2015). Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food Chemistry*, *166*, 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.019>
- Juárez, Z. N., Hernández, L. R., Bach, H., Sánchez-Arreola, E., & Bach, H. (2015). Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *Xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. *Industrial Crops and Products*, *74*, 178–182. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.058>
- Mohareb, A. S. O., Badawy, M. E. I., & Abdelgaleil, S. A. M. (2013). Antifungal activity of essential oils isolated from Egyptian plants against wood decay fungi. *Journal of Wood Science*, *59*(6), 499–505. <https://doi.org/10.1007/s10086-013-1361-3>
- Pánek, M., Reinprecht, L., & Hulla, M. (2014). Ten Essential Oils for Beech Wood Protection—Efficacy Against Wood-destroying Fungi and Moulds, and Effect on Wood Discoloration. *BioResources*, *9*(3), 5588–5603. <https://doi.org/10.15376/biores.9.3.5588-5603>
- Phothisuwan, S., Matan, N., & Matan, N. (2013). Efficacy of Edible Film Incorporated with Essential Oils against White-rot Decay Fungus (*Trametes versicolor*). *International Journal of Environmental Science and Development*, *4*(12–414). <https://doi.org/10.7763/IJESD.2013.V4.383>
- Plavsic, D., Dimic, G., Psodorov, D., Saric, L., Cabarkapa, I., & Kosutic, M. (2017). Antifungal Activity of *Mentha Piperita* and *Carum Carvi* Essential Oils. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 201–207. <https://doi.org/doi:10.2298/ZMSPN1733201P>
- Sanchis, C. M., Bosch-Roig, P., Moliner, B. C., & Miller, A. Z. (2023). Antifungal properties of oregano and clove volatile essential oils tested on biodeteriorated archaeological mummified skin. *Journal of Cultural Heritage*, *61*, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2023.02.006>
- Shirzad, H., Hassani, A., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Finidokht, R., & Meshkatalasadat, M. (2011). Assessment of the Antifungal Activity of Natural Compounds to Reduce Postharvest Gray Mould (*Botrytis Cinerea* Pers.: FR.) of Kiwifruits (*Actinidia Deliciosa*) During Storage. *Journal of Plant Protection Research*, *51*(1), 1–6. <https://doi.org/10.2478/v10045-011-0001-4>
- Stević, T., Berić, T., Šavikin, K., Soković, M., Gođevac, D., Dimkić, I., & Stanković, S. (2014). Antifungal activity of selected essential oils against fungi isolated from medicinal plant. *Industrial Crops and Products*, *55*, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.011>
- Vettraino, A. M., Zikeli, F., Humar, M., Biscontri, M., Bergamasco, S., & Romagnoli, M. (2022). *Essential oils as natural biocide against common brown- and white-rot fungi in degradation of wood products: Antifungal activity evaluation by in vitro and FTIR analysis*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1903709/v1>
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control*, *19*(12), 1130–1138. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.12.003>
- Xie, Y., Wang, Z., Huang, Q., & Zhang, D. (2017). Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. *Industrial Crops and Products*, *108*, 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.041>

- Yingprasert, W., Matan, N., Chaowana, P., & Matan, N. (2015). FUNGAL RESISTANCE AND PHYSICO-MECHANICAL PROPERTIES OF CINNAMON OIL- AND CLOVE OIL-TREATED RUBBERWOOD PARTICLEBOARDS. *Journal of Tropical Forest Science*.
- Zabka, M., Pavela, R., & Prokinova, E. (2014). Antifungal activity and chemical composition of twenty essential oils against significant indoor and outdoor toxigenic and aeroallergenic fungi. *Chemosphere*, 112, 443–448. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.014>
- Zyani, M., Mortabit, D., Abed, S. E., Remmal, A., & Ibsouda, S. (2011). Antifungal activity of Five Plant Essential Oils against wood decay fungi isolated from an old house at the Medina of Fez. *International Research Journal of Microbiology*, 2(3), 104–108.

## Baza de date Capitolul 4 - BD-O1

BD-01/1

### FIȘĂ DE REZULTATE

#### Validarea testelor screening

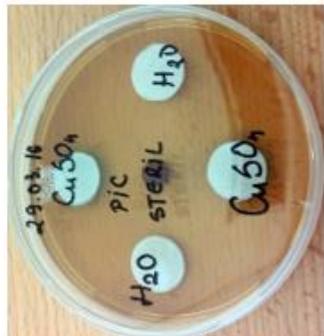
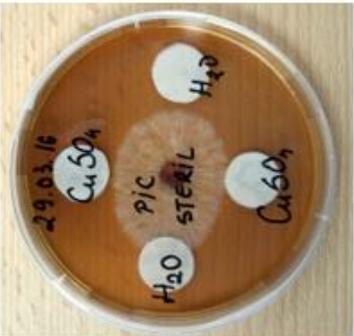
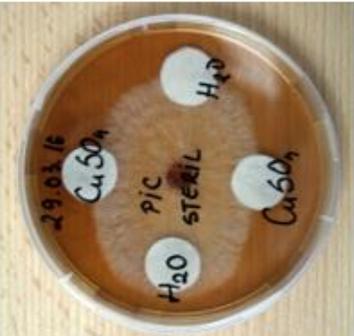
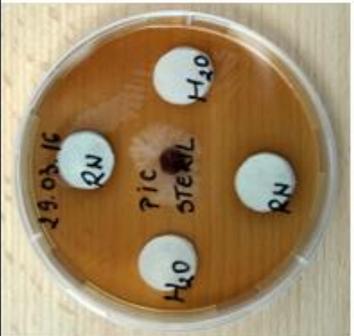
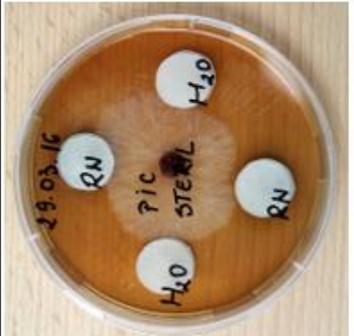
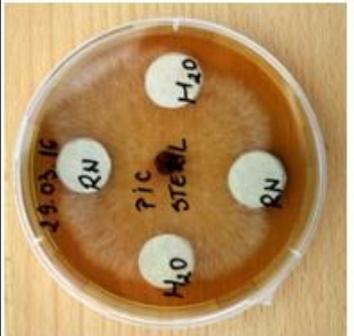
Teste: HP, HPI, R, CT, DH

Substanțe biocide: Sulfat de Cupru, Romalit N

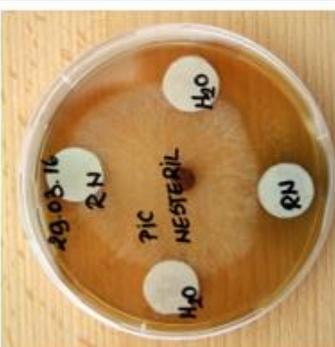
Control: Apă distilată

Specie fungi: *Coniophora puteana* - CP

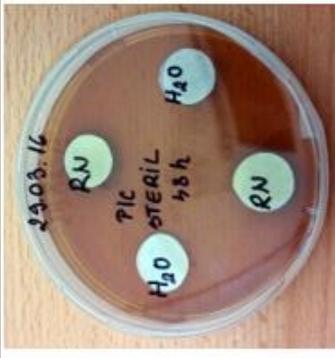
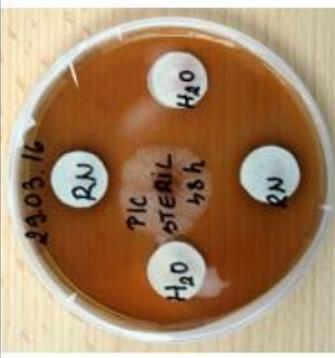
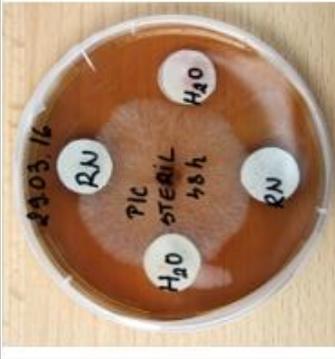
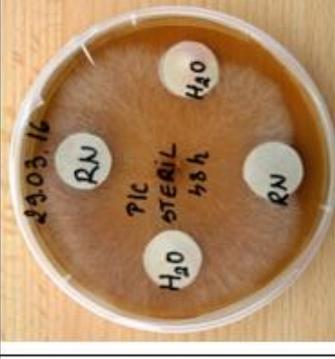
Rezultatele testului după metoda Humar and Pohleven (2007) – cod HP - tip de inoculare faza 0 – hârtie sterilă - CP

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
<p>Biocid: Sulfat de Cupru (<math>Cu SO_4</math>) / Control: Apă distilată (<math>H_2O</math>)</p>				
				
<p>Se observă o tendință de dezvoltare a ciuperii înspre hârtiile control până în ziua 11. În ziua 15 ciuperca fiind deja prea bătrână și extinsă pe toată suprafața mediului pentru a mai putea avea vreo relevanță.</p>				
<p>Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru <math>Cu SO_4</math> + 45% Bicromat de potasiu <math>K_2Cr_2O_7</math>)/Control: Apă distilată (<math>H_2O</math>)</p>				
				
<p>Și în cazul Romalitului N, în ziua 9 se observă o preferință a ciuperii pentru zonele cu hârtii control și o evitare a celor tratate cu Romalit N. în ziua 11 această tendință începe să fie mai puțin vizibilă, ciuperca dezvoltându-se și peste discurile cu Romalit N, iar în ziua 15 nu mai există relevanță, întreaga suprafață fiind acoperită cu ciupercă.</p>				

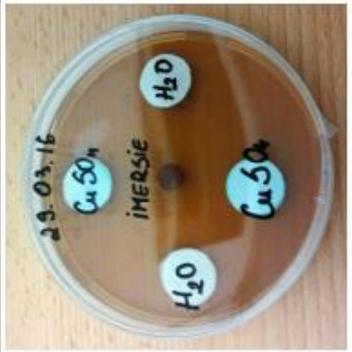
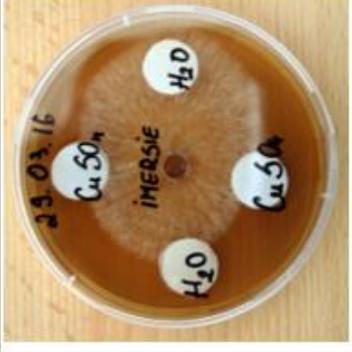
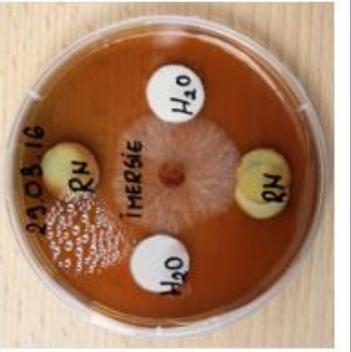
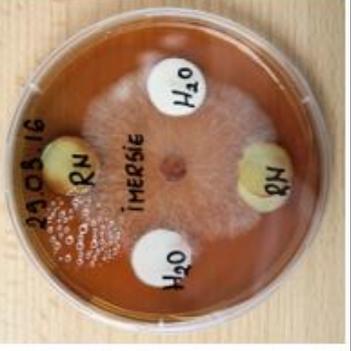
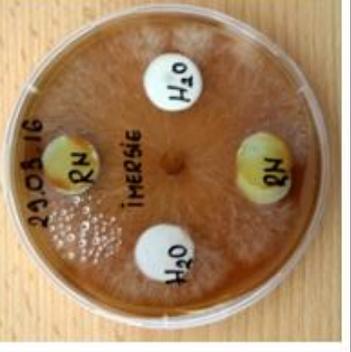
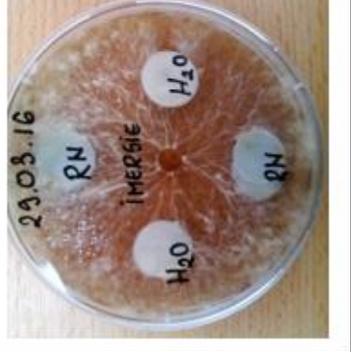
Rezultatele testului după metoda Humar and Pohleven (2007) – cod HP - tip de inoculare faza 0 – hârtie nesterilă - CP

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) / Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
Nu există diferențe semnificative față de testul cu hârtie sterilă. Se observă aceeași preferință a ciupercii pentru discurile cu apă până în ziua 11, în ziua 15 întreaga suprafață a mediului fiind acoperită cu ciupercă.				
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
Nu există diferențe semnificative față de testul cu hârtie sterilă. Se observă aceeași preferință a ciupercii pentru discurile cu apă, mai ales în ziua 11. În ziua 15 întreaga suprafață a mediului fiind acoperită cu ciupercă.				

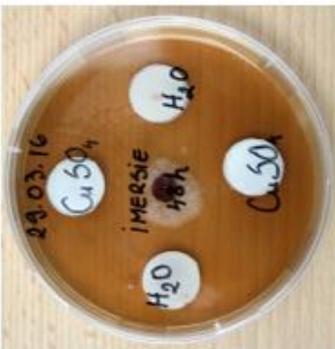
Rezultatele testului după metoda Humar and Pohleven (2007) – cod HP - tip de inoculare faza 48h – hârtie sterilă - CP

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) / Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
Nici în acest caz (cu inocularea făcută după 48h) nu au apărut diferențe semnificative față de celelalte două, aceeași preferință pentru apă observabilă până în ziua 11 și nerelevanța zilei 15.				
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
Diferențe prea mari nu există nici în cazul Romalitului N cu inoculare la 48h, este poate mai puțin relevant față de celelalte, ciuperca dezvoltându-se aproape la fel pe discurile control și cele tratate cu Romalit N.				

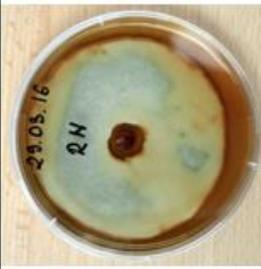
Rezultatele testului Diffusion disc – cod HPI - tip de inoculare faza 0 - CP

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) / Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
Se observă o tendință de dezvoltare a ciupercii înspre discurile control. Până în ziua 11 se poate observa această tendință, în ziua 15 ciuperca fiind deja prea bătrână pentru a mai putea avea vreo relevanță.				
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
Doar în ziua 9, în partea de sus a cutiei, la discul cu Romalit N se poate observa tendința ciupercii de a evita discul, aceasta dezvoltându-se în jurul lui dar nu și pe el. În ziua 15 ciuperca acoperă întreaga suprafață de mediu.				

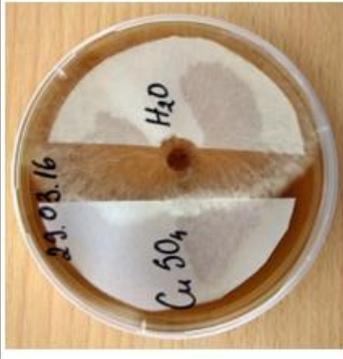
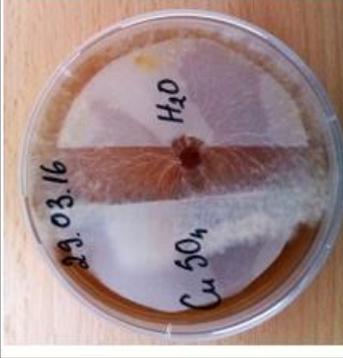
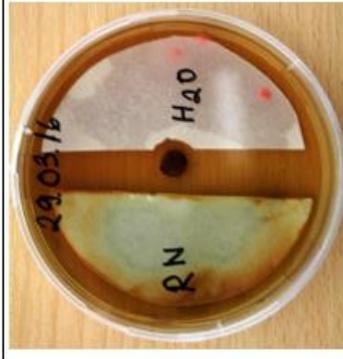
Rezultatele testului Diffusion disc – cod HPI - tip de inoculare faza 48h - CP

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) / Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
În cazul de inoculare la 48 h se observă tendința ciupercii de a se dezvolta înspre și peste hărțile control, imersate cu apă. În ziua 15 (13 pentru ciupercă în acest caz) se observă că ciuperca a început să acopere și zonele cu Sulfat de Cupru, dar încă nu este acoperită întreaga suprafață din cutie.				
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
În cazul Romalitului N se observă că ciuperca a murit după inoculare, neexistând nici un fel de semne de viață.				

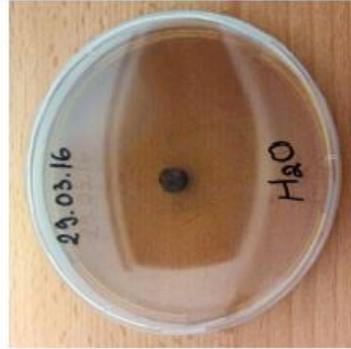
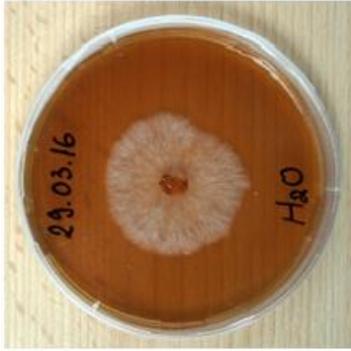
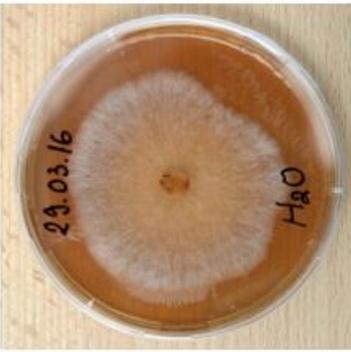
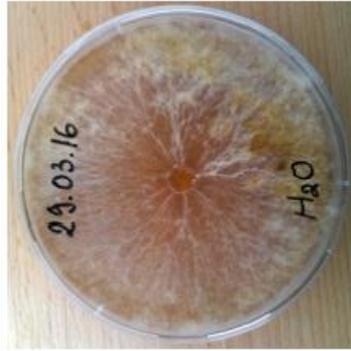
Rezultatele testului Reinprecht – cod R – CP

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
Se poate observa că dezvoltarea ciupercii este una normală și uniformă, în ziua 11 ea acoperind întreaga suprafață din cutie. Petele roz apărute pe hârtie sunt de natură necunoscută, presupunem că ar fi putut apărea datorită unor impurități existente în apa distilată, oricum ele nu par a fi influențat dezvoltarea ciupercii.				
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> )				
				
Se observă ca ciuperca a murit după inoculare, nedezvoltându-se deloc.				
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )				
				
Se observă ca ciuperca a murit după inoculare, nedezvoltându-se deloc.				

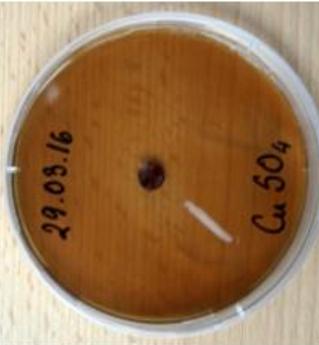
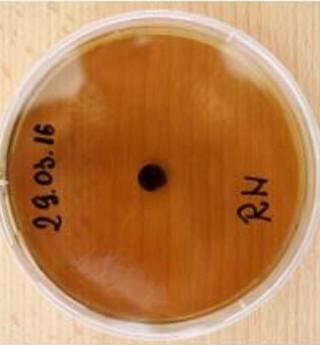
Rezultatele testului C.Timar – cod CT - CP

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
<p>Biocid: Sulfat de Cupru (<math>\text{Cu SO}_4</math>) / Control: Apă distilată (<math>\text{H}_2\text{O}</math>)</p>				
				
<p>Se poate observa foarte bine în acest test preferința ciupercii de a se dezvolta înspre zonele control, cu apă și de a evita (în primă fază) zonele cu Sulfat de Cupru. Ulterior, după ocuparea întregii suprafețe cu apă sau liberă, ciuperca începe să se dezvolte și în zona cu Sulfat de Cupru. În ziua 15 încă nu este acoperită întreaga suprafață cu Sulfat de Cupru.</p>				
<p>Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru <math>\text{Cu SO}_4</math> + 45% Bicromat de potasiu <math>\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7</math>)/Control: Apă distilată (<math>\text{H}_2\text{O}</math>)</p>				
				
<p>Se observă ca ciuperca a murit după inoculare, nedezvoltându-se deloc. De asemenea apar acele pete roz pe jumătățile de disc imersate în apă.</p>				

Rezultatele testului ICWSE – cod DH (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) – CP

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
Ciupercă martor				
				
Se observă dezvoltarea normală și uniformă a ciupercii, aceasta acoperind întreaga suprafață cu mediu în 11 zile.				
Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
				
La fel ca și în cazul ciupercii martor și în cazul apei dezvoltarea ciupercii este una normală și uniformă.				

Rezultatele testului ICWSE – cod DH (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) – CP – continuare

Ziua 1	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	Ziua 15
Biocid: Sulfat de Cupru ( $Cu SO_4$ )				
				
În acest caz se poate observa că după inoculare ciuperca a supraviețuit, existând încercări de dezvoltare a ciupercii în sus, pe inocul. Totuși pe suprafața mediului cu Sulfat de cupru nu s-a dezvoltat deloc.				
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru $Cu SO_4$ + 45% Bicromat de potasiu $K_2Cr_2O_7$ )				
				
Se observă ca ciuperca a murit după inoculare, nedevelopându-se deloc.				

## FIȘĂ DE REZULTATE

### Validarea testelor screening

Teste: CT, DH

Substanțe biocide: Sulfat de Cupru, Romalit N

Control: Apă distilată

Specii fungi: *Coniophora puteana* - CP

*Postia placenta* – PP

*Gloeophyllum trabeum* – GT

*Trametes versicolor* - TV

Rezultatele testului C.Timar – cod CT

		CP - <i>Coniophora puteana</i>					
		Biocid: Sulfat de Cupru ( $\text{Cu SO}_4$ ) / Control: Apă distilată ( $\text{H}_2\text{O}$ )					
		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	
1							
2	$\text{Cu SO}_4$ - $\text{H}_2\text{O}$						
3							

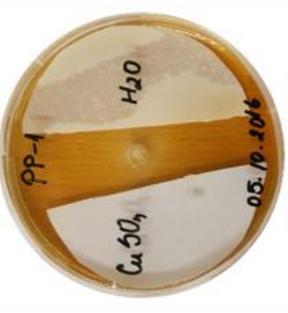
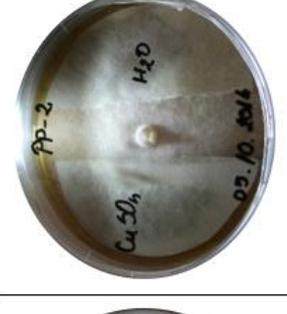
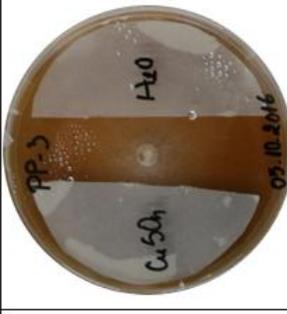
În toate cele trei probe paralele se observă clar preferința de dezvoltare a ciupercii CP înspre zona control, cu apă distilată.

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

CP - <i>Coniophora puteana</i>					
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
1					
2					
3					
RN- H <sub>2</sub> O					

Din cele trei probe ciuperca CP s-a dezvoltat doar în două dintre cutii. În acestea se observă clar preferința de dezvoltare a ciupercii CP înspre zona control, cu apă distilată. În cea de-a treia cutie ciuperca CP a murit după inoculare, nedezvoltându-se deloc

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

PP - <i>Postia placenta</i>					
Biocid: Sulfat de Cupru ( $\text{Cu SO}_4$ ) / Control: Apă distilată ( $\text{H}_2\text{O}$ )					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
1					
2					
3					
$\text{Cu SO}_4$ - $\text{H}_2\text{O}$					
PP pare să fie mult mai virulentă decât CP, ea dezvoltându-se puternic și puțin preferențial înspre control în primele zile, în toate cele trei cutii paralele					

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

		PP - <i>Postia placenta</i>				
		Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)				
		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
1						
2						
3						
	RN - H <sub>2</sub> O					

În toate cele trei probe se observă preferința clară a ciupercii PP înspre control, apă distilată, iar la modul general, față de probele cu sulfat de cupru se observă o dezvoltare mai redusă a ciupercii PP

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

GT - <i>Gloeophyllum trabeum</i>					
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) / Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
1					
2					
3					
<p>Cu SO<sub>4</sub> – H<sub>2</sub>O</p>					

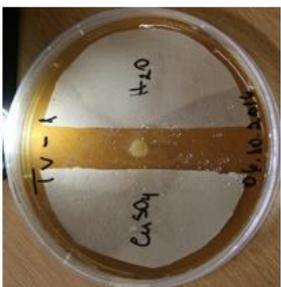
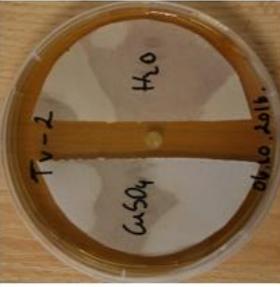
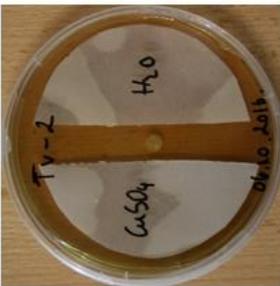
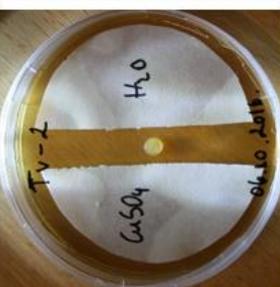
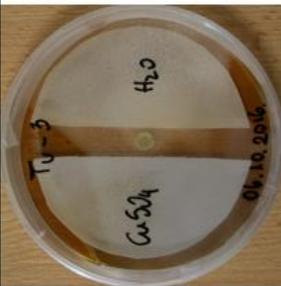
În toate cutiile ciuperca GT a dat semne de viață. În primele două cutii ea s-a dezvoltat foarte puțin și în special pe inocul în sus. În cea de-a treia cutie, ciuperca GT s-a dezvoltat și pe mediu înspre zona control, dar foarte firavă.

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

GT - <i>Gloeophyllum trabeum</i>					
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
1					
2					
3					
RN - H <sub>2</sub> O					

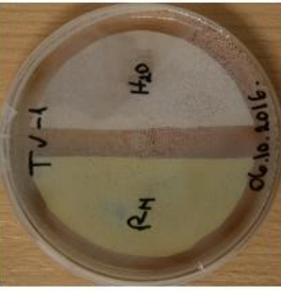
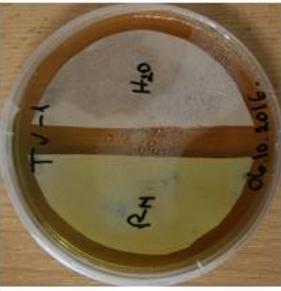
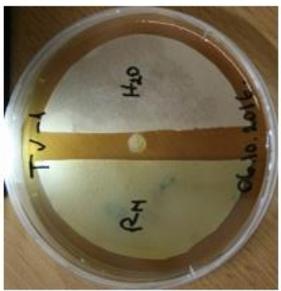
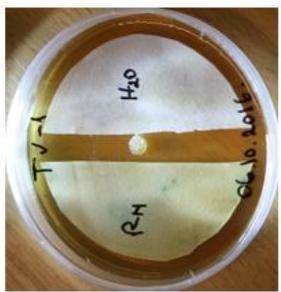
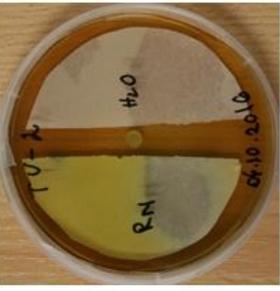
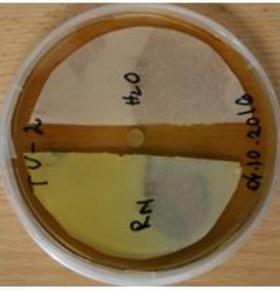
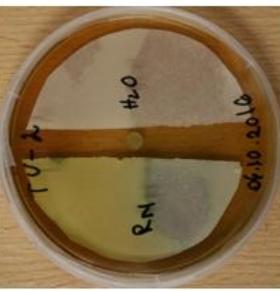
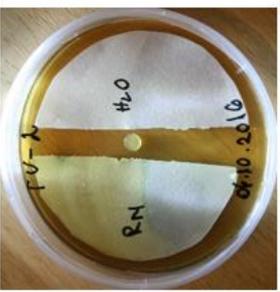
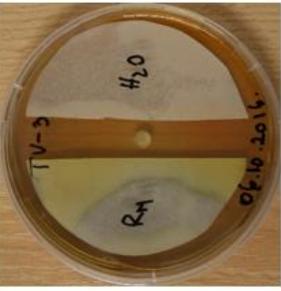
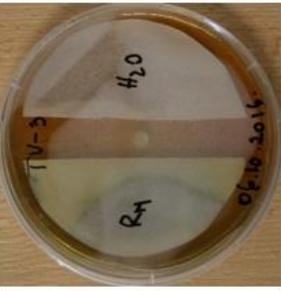
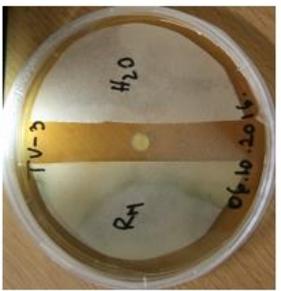
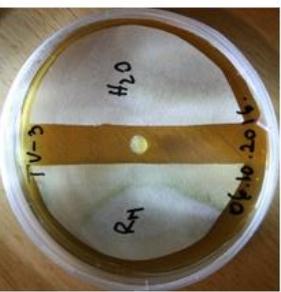
În prima cutie ciuperca GT s-a dezvoltat doar pe inocul, pe când în celelalte două cutii ea s-a dezvoltat și pe mediu, preferențial înspre zona de control, cu apă distilată, totuși doar în cutia 3, ciuperca GT acoperă mare parte din hârtia control, până la finalul testului. Oricum față de cutiile cu sulfat de cupru, ciuperca este mult mai dezvoltată.

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

TV - <i>Trametes versicolor</i>						
Biocid: Sulfat de Cupru ( $\text{Cu SO}_4$ ) / Control: Apă distilată ( $\text{H}_2\text{O}$ )						
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	
1						
2						
3						

În prima cutie ciuperca TV prezintă o dezvoltare foarte firavă, dar preferențială înspre control. În cutia 2 ciuperca TV a murit după inoculare, iar în cea de-a treia cutie ciuperca TV s-a dezvoltat până la sfârșitul testului pe aproape întreaga suprafață a hârtiei control și deloc pe cea tratată.

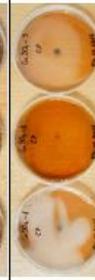
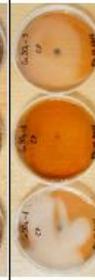
Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

TV - <i>Trametes versicolor</i>					
Biocid: Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
1					
2					
3					

În două dintre cele două cutii (1 și 3) ciuperca TV a dat semne de viață, crescând doar pe inocul în cutia 3 și foarte puțin pe mediu/hârtie înspre control, în prima cutie. În cea de-a doua cutie ciuperca TV a murit după inoculare. Comparativ cu cutiile tratate cu sulfat de cupru, ciuperca TV s-a dezvoltat mult mai puțin în acestea cu romalit N

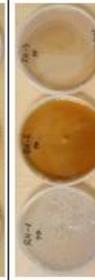
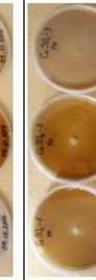
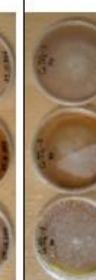
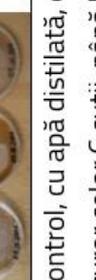
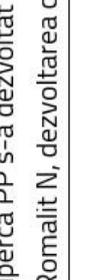
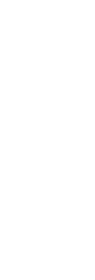
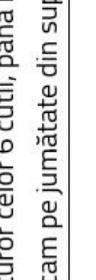
Rezultatele testului ICWSE – cod **DH** (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.)

 CP - *Coniophora puteana*

Biocide: Sulfat de Cupru ( $\text{Cu SO}_4$ ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru $\text{Cu SO}_4$ + 45% Bicromat de potasiu $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ )/Control: Apă distilată ( $\text{H}_2\text{O}$ )		Ziua 3		Ziua 5		Ziua 7		Ziua 9		Ziua 11	
$\text{H}_2\text{O}$											
RN											
$\text{CuSO}_4$											

În cutiile control, cu apă distilată, ciuperca CP a crescut frumos și uniform, acoperind întreaga suprafață în fiecare din cele trei cutii. Atât în cutiile cu sulfat de cupru, cât și în cele cu romalit N ciuperca a murit după inoculare.

 PP - *Postia placenta*

Biocide: Sulfat de Cupru ( $\text{Cu SO}_4$ ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru $\text{Cu SO}_4$ + 45% Bicromat de potasiu $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ )/Control: Apă distilată ( $\text{H}_2\text{O}$ )		Ziua 3		Ziua 5		Ziua 7		Ziua 9		Ziua 11	
$\text{H}_2\text{O}$											
RN											
$\text{CuSO}_4$											

În toate cutiile, indiferent de soluția existentă, ciuperca PP s-a dezvoltat. Atât în cutiile control, cu apă distilată, cât și în cele cu sulfat de cupru, ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform acoperind întreaga suprafață a tuturor celor 6 cutii, până la finalul testului. În cele trei cutii cu Romalit N, dezvoltarea ciupericii a fost încetinită, aceasta crescând în medie cam pe jumătate din suprafața cutiei Petri.

Rezultatele testului ICWSE – cod **DH** (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare

GT - <i>Gloeophyllum trabeum</i>															
Biocide: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)															
	Ziua 3			Ziua 5			Ziua 7			Ziua 9			Ziua 11		
H <sub>2</sub> O															
RN															
CuSO <sub>4</sub>															
În cutiile control, cu apă distilată, ciuperca GT a acoperit întreaga suprafață a cutiilor, având totuși o creștere cumva neuniformă, cu mai multe focare de creștere (nu este infestare). În toate cele trei cutii cu Romalit N, ciuperca GT prezintă creștere, dar foarte redusă și concentrată în jurul inoculului. În cazul tratării cu sulfat de cupru ciuperca GT a murit după inoculare, nedevelopându-se deloc.															
TV - <i>Trametes versicolor</i>															
Biocide: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)															
	Ziua 3			Ziua 5			Ziua 7			Ziua 9			Ziua 11		
H <sub>2</sub> O															
RN															
CuSO <sub>4</sub>															
În cutiile control, cu apă distilată, ciuperca TV s-a dezvoltat frumos și uniform pe întreaga suprafață a cutiilor. Atât în cutiile cu sulfat de cupru, cât și în cele cu romalit N ciuperca TV a murit după inoculare.															

## FIȘĂ DE REZULTATE

### Validarea testelor screening

Teste: CT, DH

Produse: Ulei esențial de Busuioc (*Ocimum basilicum*) – B-EO

Ulei esențial de Oregano (*Origanum vulgare*) – O-EO

Ulei esențial de Cimbru (*Satureja hortensis*) – T-EO

Solvent: Ulei de in - LO

Control solvent: Apă distilată

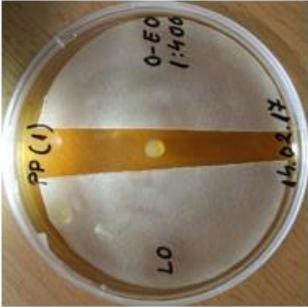
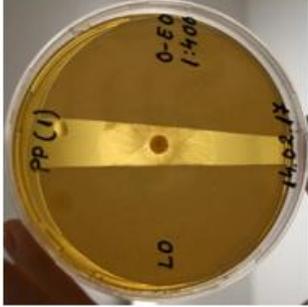
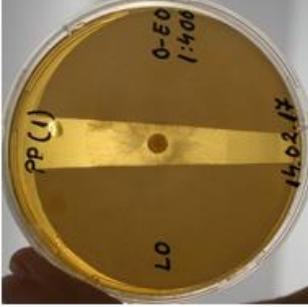
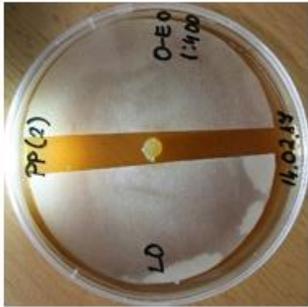
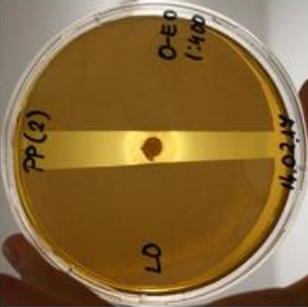
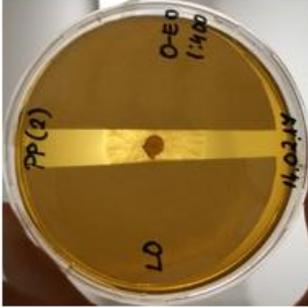
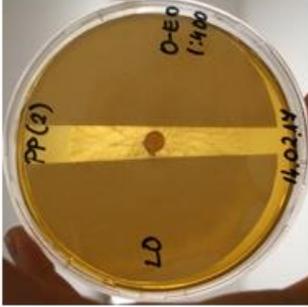
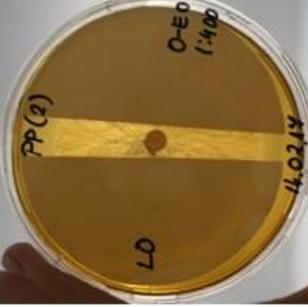
Specii fungi: *Postia placenta* – PP

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

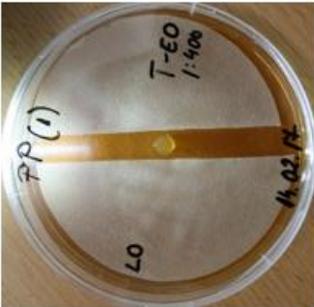
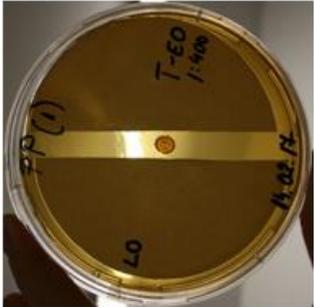
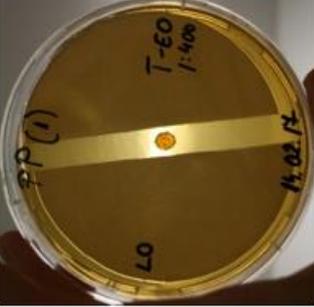
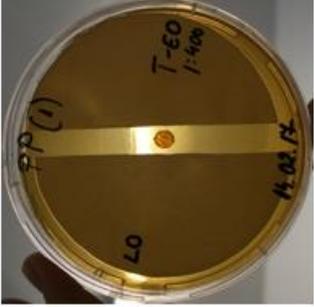
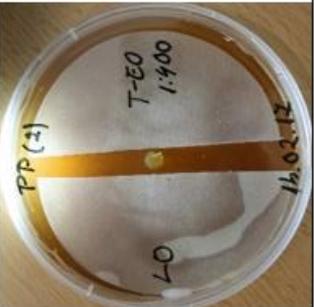
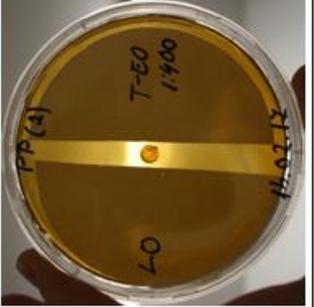
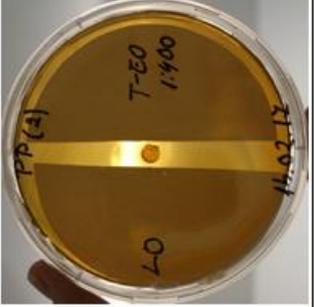
PP – <i>Postia placenta</i>						
Produs: Ulei esențial (T-EO, B-EO, O-EO – 1:400) / Control: Ulei de in (LO) / Control pt ulei de in: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)						
		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
B-EO – LO	1					
	2					

În cazul B-EO ciuperca PP a murit după inoculare.

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

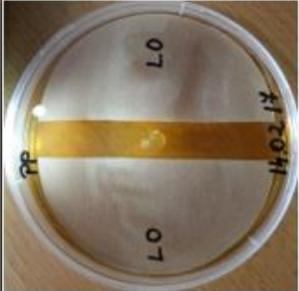
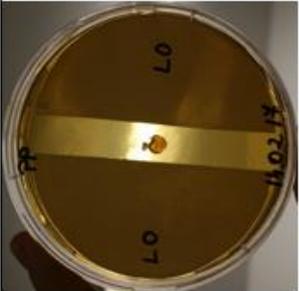
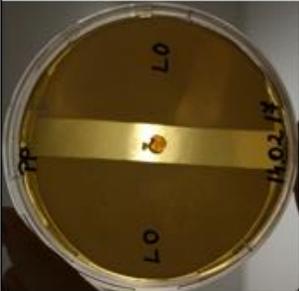
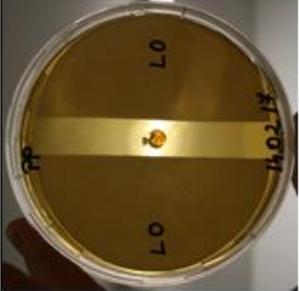
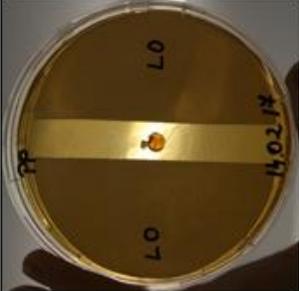
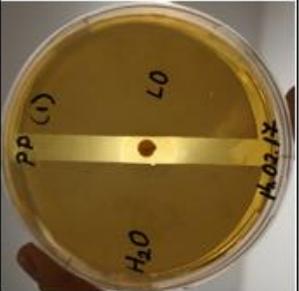
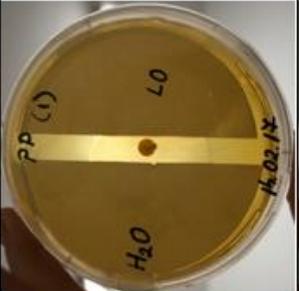
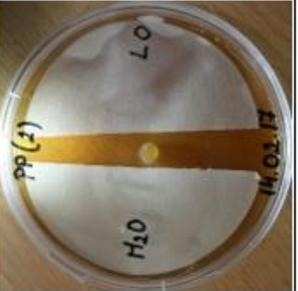
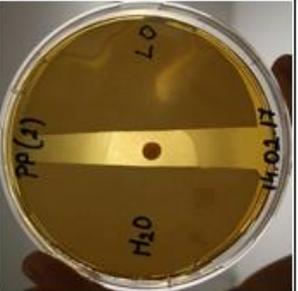
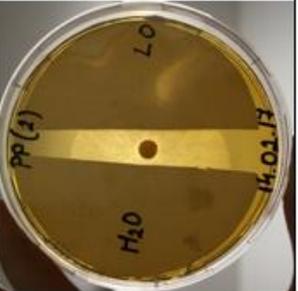
		PP – <i>Postia placenta</i>				
Produs: Ulei esențial (T-EO, B-EO, O-EO – 1:400) / Control: Ulei de in (LO) / Control pt ulei de in: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)						
		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
1	O-EO – LO					
2						
În cazul O-EO ciuperca PP s-a dezvoltat uniform pe mediu, în momentul întâlnirii hârtiei schimbându-și dezvoltarea preponderent pe zona de mediu liber. Până la finalul testului aceasta a crescut puțin și pe hârtii, mai pufoasă pe hârtia tratată cu LO						

Rezultatele testului C.Timar – cod CT

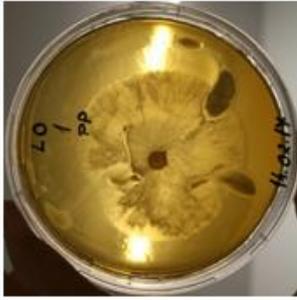
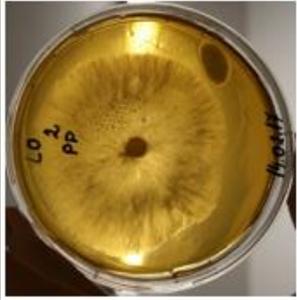
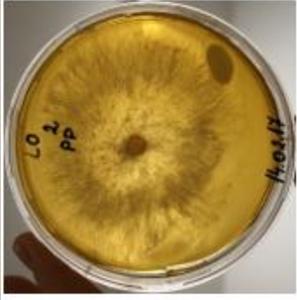
PP – Postia placenta					
Produs: Ulei esențial (T-EO, B-EO, O-EO – 1:400) / Control: Ulei de in (LO) / Control pt ulei de in: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
1					
2					
T-EO – LO					

În cazul T-EO ciuperca PP a murit după inoculare.

Rezultatele testului C.Timar – cod CT - continuare

PP – <i>Postia placenta</i>					
Produs: Ulei esențial (T-EO, B-EO, O-EO – 1:400) / Control: Ulei de in (LO) / Control pt ulei de in: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
LO – LO					
În cazul LO ciuperca PP a murit după inoculare.					
H <sub>2</sub> O – LO	1				
	2				
În cazul acest caz ciuperca PP s-a dezvoltat uniform pe mediu, în momentul întâlnirii hârtiei schimbându-și dezvoltarea preponderent pe zona de mediu liber și pe hârtia control cu apă distilată. Pe hârtia tratată cu LO creșterea fiind redusă.					

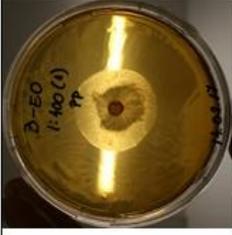
Rezultatele testului ICWSE – cod **DH** (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.)

PP – <i>Postia placenta</i>						
Martor ciupercă; Control: Ulei de in (LO) / Control pt ulei de in: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)						
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	
Martor						
Ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform						
LO	1					
	2					
Uleiul a format o peliculă neomogenă pe suprafața mediului de cultură, dar ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform						

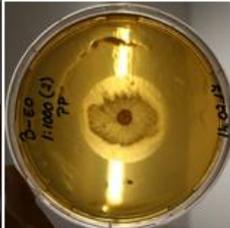
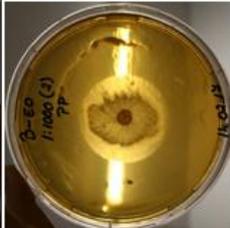
Rezultatele testului ICWSE – cod **DH** (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare  
 PP – *Postia placenta*

Produs: Ulei esențial B-EO		Ziua 3				Ziua 5				Ziua 7				Ziua 9				Ziua 11			
B-EO 1:100	1																				
	2																				
<p>În cazul B-EO 1:100 pelicula este neomogenă, cu zone în care prezintă încrețituri, ciuperca PP s-a dezvoltat uniform cu zone peste peliculă și unele sub peliculă</p>																					
B-EO 1:200	1																				
	2																				
<p>În cazul B-EO 1:200 pelicula este neomogenă, ciuperca PP s-a dezvoltat uniform cu zone peste peliculă și unele sub peliculă</p>																					

Rezultatele testului ICWSE – cod **DH** (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare  
 PP – *Postia placenta*

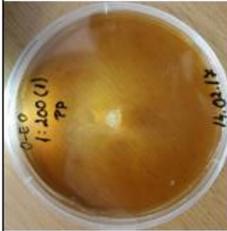
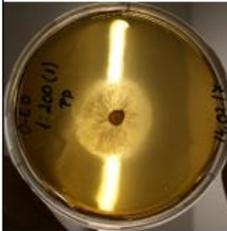
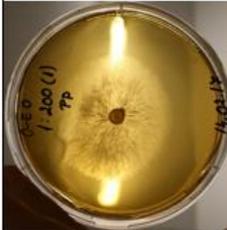
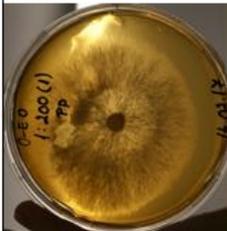
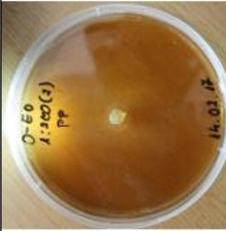
Produs: Ulei esențial B-EO		PP – <i>Postia placenta</i>				
		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
B-EO 1:400	1					
	2					
În cazul B-EO 1:400 pelicula este neomogenă, cu zone în care prezintă denivelări, ciuperca PP s-a dezvoltat uniform cu zone peste peliculă și unele sub peliculă						
B-EO 1:800	1					
	2					
În cazul B-EO 1:800 pelicula este neomogenă, cu zone în care prezintă încrețituri, ciuperca PP s-a dezvoltat uniform cu zone peste peliculă și unele sub peliculă						

Rezultatele testului ICWSE – cod DH (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare

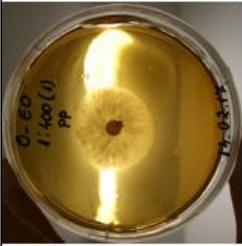
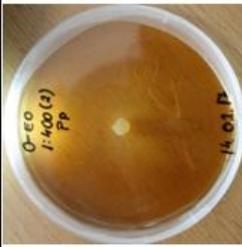
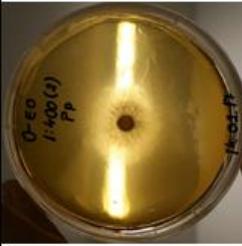
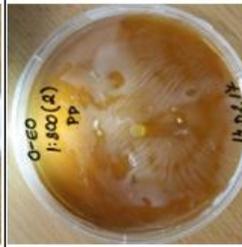
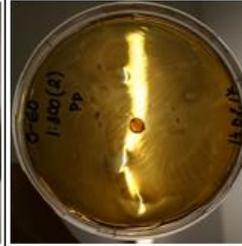
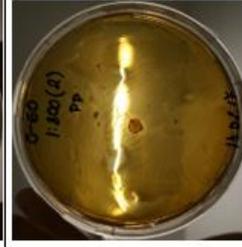
		PP – <i>Postia placenta</i>									
Produs: Ulei esențial B-EO		Ziua 3		Ziua 5		Ziua 7		Ziua 9		Ziua 11	
1	B-EO 1:1000										
											

În cazul B-EO 1:1000 pelicula este neomogenă, cu zone în care prezintă denivelări, ciuperca PP s-a dezvoltat uniform cu zone peste peliculă și unele sub peliculă

Rezultatele testului ICWSE – cod DH (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare

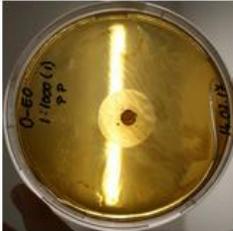
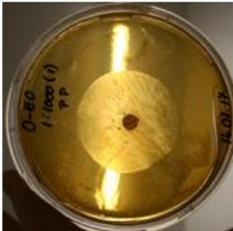
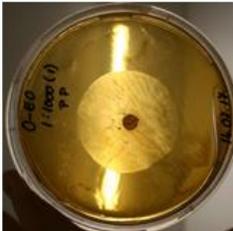
		PP – <i>Postia placenta</i>				
Produs: Ulei esențial O-EO		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
O-EO 1:100	1					
	2					
În cazul O-EO 1:100 pelicula arată mult mai omogen, iar ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform, dar mai puțin decât în cutia control						
O-EO 1:200	1					
	2					
În cazul O-EO 1:200 pelicula arată mult mai omogen, iar ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform, comparativ cu dezvoltarea în cutia control						

Rezultatele testului ICWSE – cod DH (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare

		PP – <i>Postia placenta</i>				
Produs: Ulei esențial O-EO		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
O-EO 1:400	1					
	2					
În cazul O-EO 1:400 pelicula arată omogenă, iar ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform						
O-EO 1:800	1					
	2					
În cazul O-EO 1:800 pelicula este neomogenă și prezintă denivelări, iar ciuperca PP a murit după inoculare						

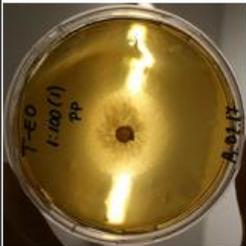
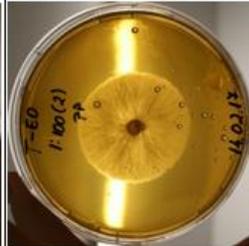
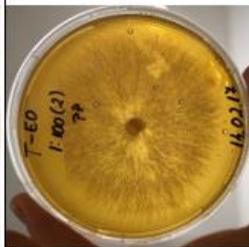
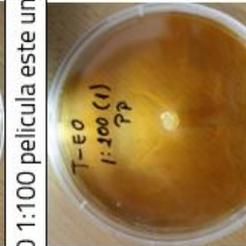
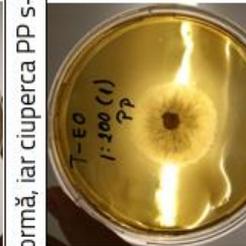
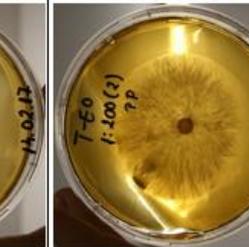
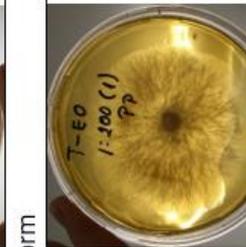
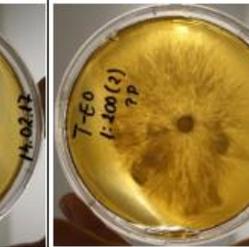
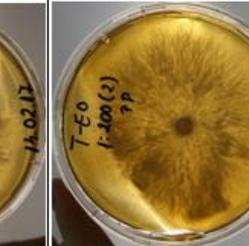
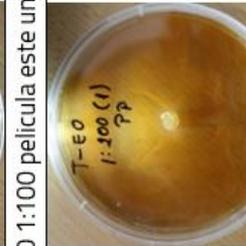
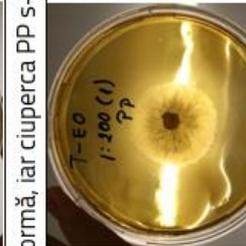
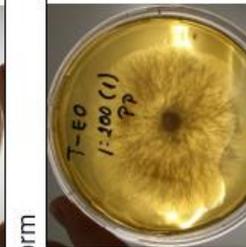
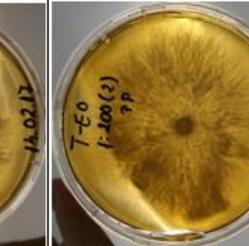
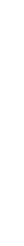
**Rezultatele testului ICWSE – cod DH (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare**

**PP – *Postia placenta***

Produs: Ulei esențial O-EO		Ziua 3		Ziua 5		Ziua 7		Ziua 9		Ziua 11	
<b>O-EO 1:1000</b>	1										
	2										

În cazul O-EO 1:1000 pelicula este neuniformă, dar ciuperca s-a dezvoltat uniform și frumos atât pe peliculă cât și pe sub ea

Rezultatele testului ICWSE – cod **DH** (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare

		PP – <i>Postia placenta</i>									
Produs: Ulei esențial T-EO		Ziua 3		Ziua 5		Ziua 7		Ziua 9		Ziua 11	
T-EO 1:100	1										
	Z										
În cazul T-EO 1:100 pelicula este uniformă, iar ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform											
T-EO 1:200	1										
	Z										
În cazul T-EO 1:200 pelicula este neuniformă, prezintă unele zone cu denivelări, iar ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform											

Rezultatele testului ICWSE – cod **DH** (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare

		PP – <i>Postia placenta</i>									
Produs: Ulei esențial T-EO		Ziua 3		Ziua 5		Ziua 7		Ziua 9		Ziua 11	
T-EO 1:400	1										
	2										
În cazul T-EO 1:400 pelicula este neuniformă, prezintă unele zone cu denivelări și încrețituri, iar ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform în unele părți peste peliculă, iar în altele pe dedesubtul ei											
T-EO 1:800	1										
	2										
În cazul T-EO 1:800 pelicula este neuniformă, prezintă unele zone cu denivelări, iar ciuperca PP a murit după inoculare											

Rezultatele testului ICWSE – cod **DH** (Sol. Pe mediu, art. Delenk et al.) - continuare

		PP – <i>Postia placenta</i>				
Produs: Ulei esențial T-EO		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
T-EO 1:1000	1					
	2					

În cazul T-EO 1:1000 pelicula este neuniformă, prezintă unele zone cu denivelări, iar ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform în unele părți peste peliculă, iar în altele pe dedesubtul ei

## FIȘĂ DE REZULTATE

### Validarea testelor screening

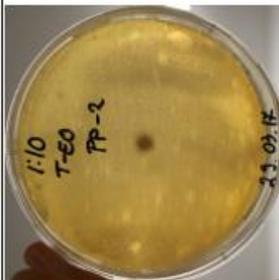
Teste: VM

Produse: Ulei esențial de Cimbru (*Satureja hortensis*) – T-EO

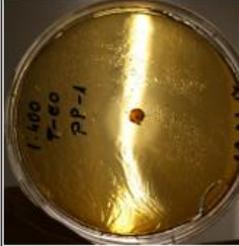
Specii fungi: *Postia placenta* – PP

*Trametes versicolor* - TV

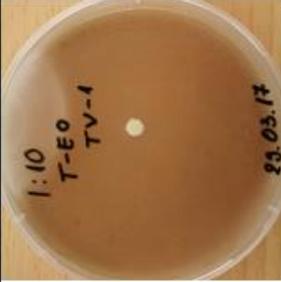
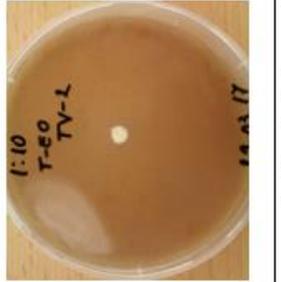
Rezultatele testului diluției în mediul de cultură – cod VM

PP – Postia placenta						
Produs: Ulei esențial T-EO / Control: Martor ciupercă						
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	
Martor	1					
	2					
Ciuperca PP s-a dezvoltat frumos și uniform						
T-EO 1:10	1					
	2					
La această concentrație uleiul esențial T-EO diluat direct în mediu a determinat opacizarea mediului de cultură și crearea unei atmosfere gen abur în incinta cutie Petri. Ciuperca PP a murit după inoculare.						

Rezultatele testului diluției în mediul de cultură – cod VM - continuare

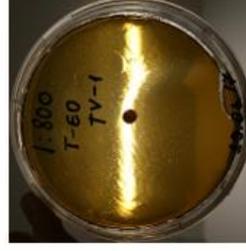
		PP – <i>Postia placenta</i>						
		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11		
T-EO 1:400	1							
	2							
Ciuperca PP a murit după inoculare.								
T-EO 1:800	1							
	2							
Ciuperca PP a murit după inoculare.								

Rezultatele testului diluției în mediul de cultură – cod VM - continuare

TV – <i>Trametes versicolor</i>						
Produs: Ulei esențial T-EO / Control: Martor ciupercă						
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	
Martor	1					
	2					
Ciuperca TV s-a dezvoltat frumos și uniform						
T-EO 1:10	1					
	2					

La această concentrație uleiul esențial T-EO diluat direct în mediu a determinat opacizarea mediului de cultură și crearea unei atmosfere gen abur în incinta cutie Petri. Ciuperca TV a murit după inoculare, iar inoculul a căpătat o culoare albă (brânzoasă).

Rezultatele testului diluției în mediul de cultură – cod VM - continuare

		TV – <i>Trametes versicolor</i>				
		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
T-EO 1:400	1					
	2					
Ciuperca TV a murit după inoculare						
T-EO 1:800	1					
	2					
Ciuperca TV a murit după inoculare						

BD-01/5

## FIȘĂ DE REZULTATE

### Validarea testelor screening

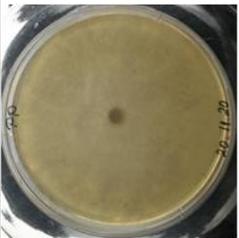
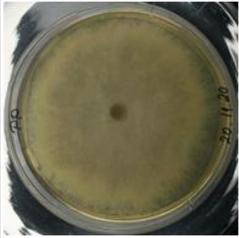
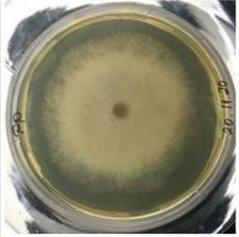
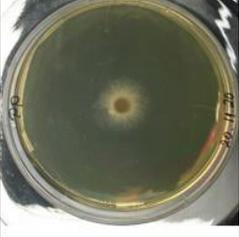
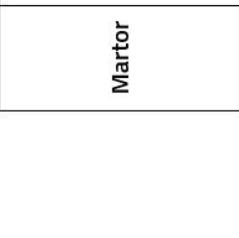
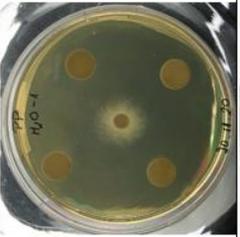
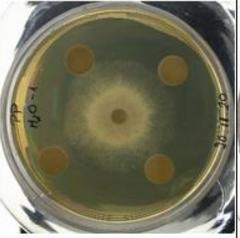
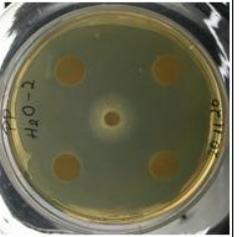
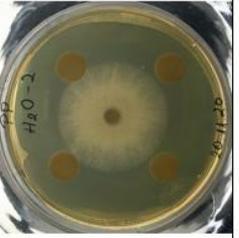
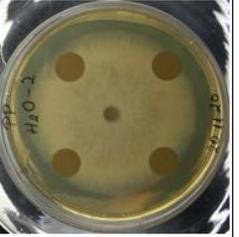
Test: RS

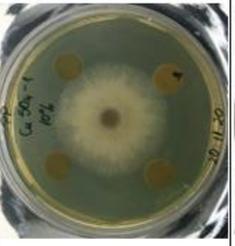
Biocide: Sulfat de cupru și Romalit N

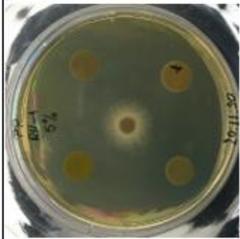
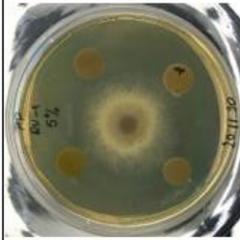
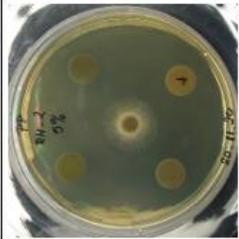
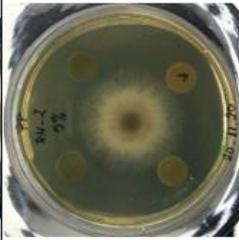
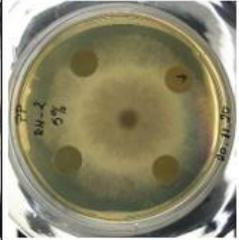
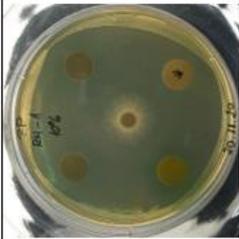
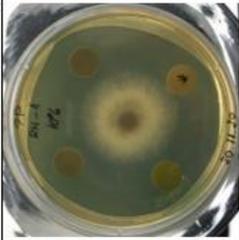
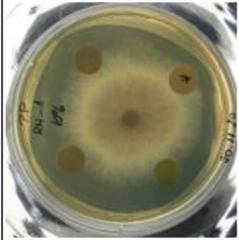
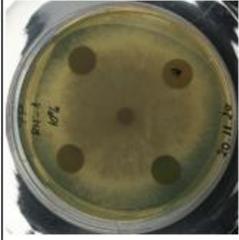
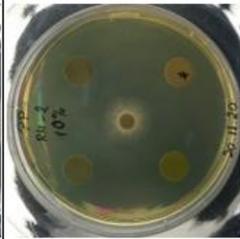
Control: Apă distilată

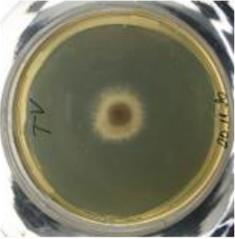
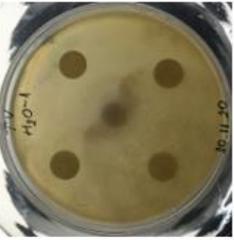
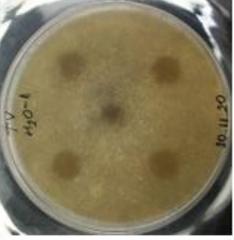
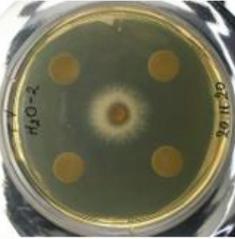
Specii fungi: *Postia placenta* – PP

*Trametes versicolor* - TV

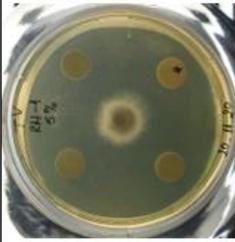
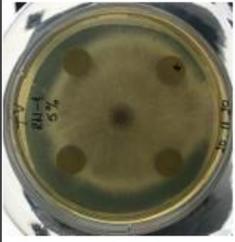
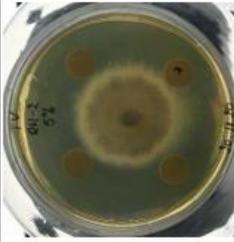
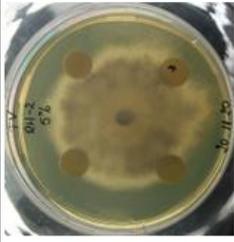
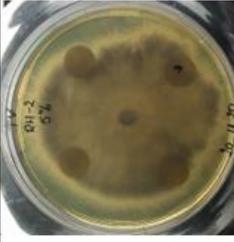
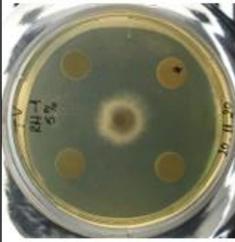
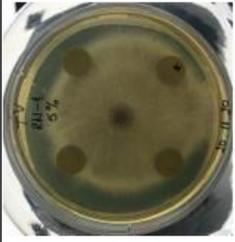
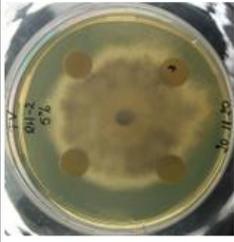
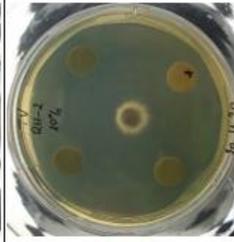
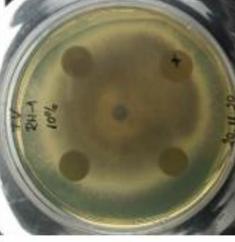
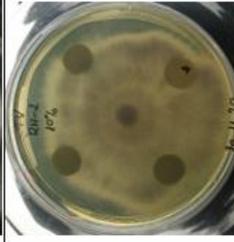
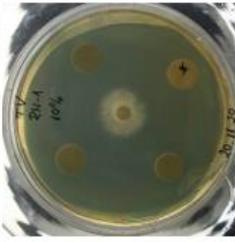
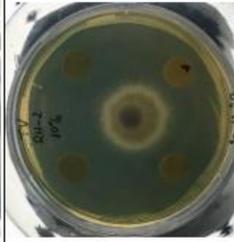
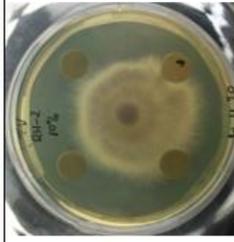
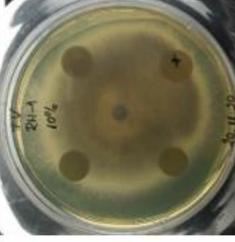
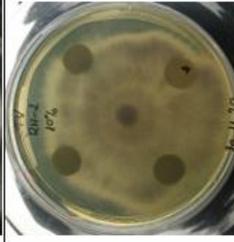
PP – <i>Postia placenta</i>							
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ) / Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)							
Martor	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11		
							
	Martorul de ciupercă s-a dezvoltat frumos și uniform						
	H <sub>2</sub> O	1					
		2					
În ambele cutii cu apă distilată ciuperca PP se dezvoltă frumos și uniform, până acoperă întreaga suprafață a cutiei.							

PP – <i>Postia placenta</i>					
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/ Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
Cu SO <sub>4</sub> 5%	 1 PP Cu SO <sub>4</sub> -1 5% 20.11.20	 2 PP Cu SO <sub>4</sub> -2 5% 20.11.20	 PP Cu SO <sub>4</sub> -1 5% 20.11.20	 PP Cu SO <sub>4</sub> -2 5% 20.11.20	 PP Cu SO <sub>4</sub> -1 5% 20.11.20
Sulfatul de cupru de concentrație 5% nu prezintă eficiență biocidă împotriva ciupercii PP, aceasta se dezvoltă frumos și uniform la fel ca și în cutiile care conțineau doar apă distilată					
Cu SO <sub>4</sub> 10%	 1 PP Cu SO <sub>4</sub> -1 10% 20.11.20	 PP Cu SO <sub>4</sub> -2 10% 20.11.20	 PP Cu SO <sub>4</sub> -1 10% 20.11.20	 PP Cu SO <sub>4</sub> -2 10% 20.11.20	 PP Cu SO <sub>4</sub> -1 10% 20.11.20
Concentrația de 10% a sulfatului de cupru, în prima cutie arată o mică inhibare a ciupercii, aceasta crescând mai încet, fără să indice un efect biocid efectiv împotriva ciupercii PP					

PP – <i>Postia placenta</i>						
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ) / Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)						
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11	
RN 5%	1 					
	2 					
În prima cutie cu romalit N 5%, pe hârtia control, cu apă distilată se dezvoltă din ziua 5 un organism strain care în final va ține la distanță ciuperca PP de el. Per ansamblu această concentrație de RN nu arată nici un fel de efect biocid asupra ciuperii PP						
RN 10%	1 					
	2 					
Romalitul N 10% pare să întârzie un pic dezvoltarea ciuperii PP, dar atât, fără a se vedea vreun efect biocid						

TV - <i>Trametes versicolor</i>					
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ) / Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)					
	Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
Martor					
Ciuperca TV martor s-a dezvoltat destul de frumos și de uniform					
H <sub>2</sub> O	1				
	2				
În prima cutie cu apă distilată apare o infestare a uneia dintre hârtii, în ciuda acesteia ciuperca TV se dezvoltă frumos și uniform în ambele cutii control					

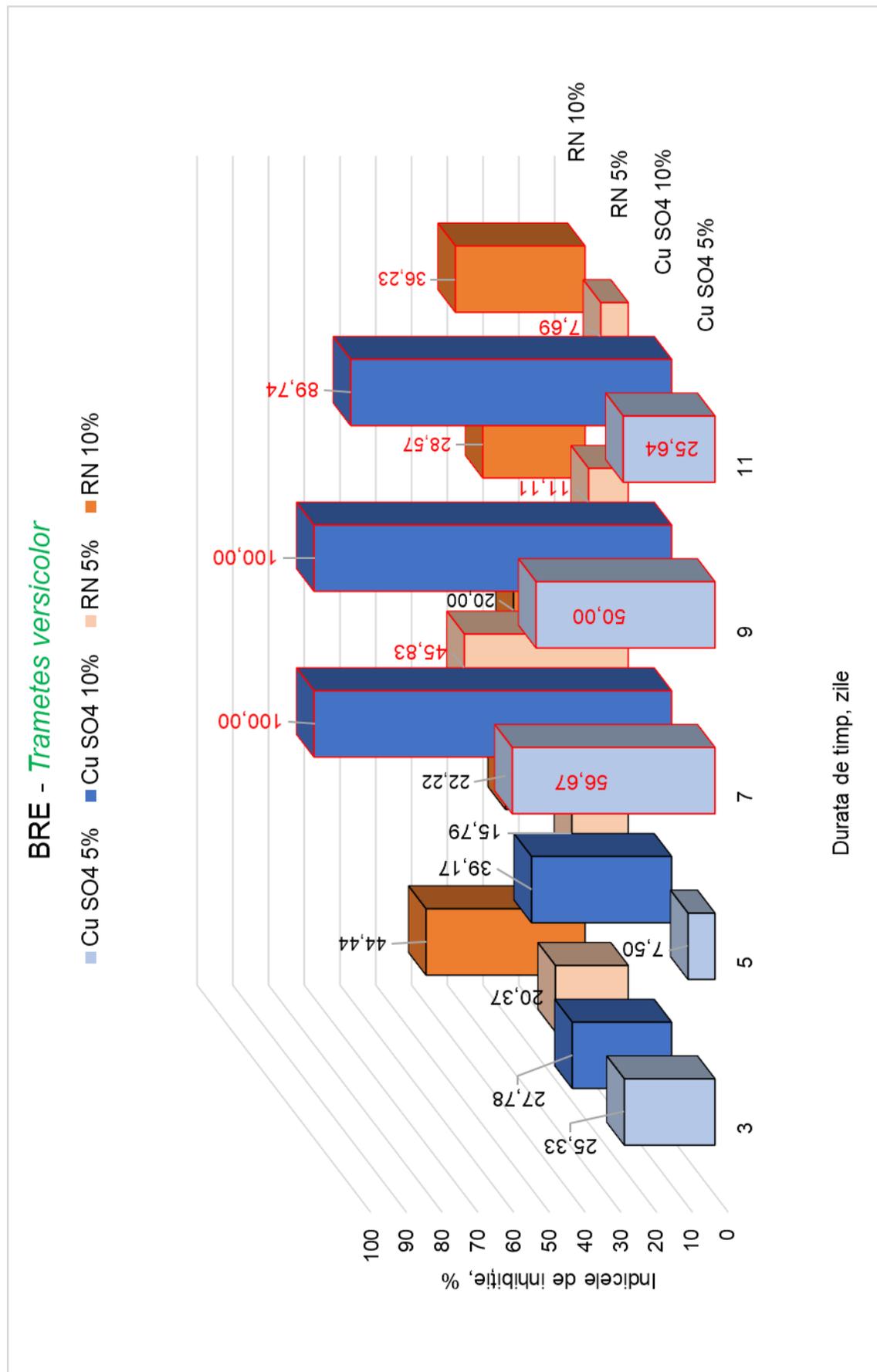
TV – <i>Trametes versicolor</i>						
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/ Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)						
		Ziua 3	Ziua 5	Ziua 7	Ziua 9	Ziua 11
Cu SO <sub>4</sub> 5%	1					
	2					
În prima cutie cu sulfat de cupru 5% hârtia control, cu apă distilată este infestată, dar cu toate acestea se observă preferința ciupercii TV de dezvoltare inițială înspre control. În cea de-a doua cutie această tendință este mult mai evidentă, chiar și la finalul testului, toate cele trei hârtii tratate cu sulfat de cupru erau doar parțial acoperite de miceliu, comparativ cu hârtia control, total acoperită.						
Cu SO <sub>4</sub> 10%	1					
	2					
În cutiile cu sulfat de cupru 10% efectul biocid este foarte frumos reprezentat. Se observă clar ceșterea ciupercii TV spre hârtia control						

TV – <i>Trametes versicolor</i>											
Biocid: Sulfat de Cupru (Cu SO <sub>4</sub> ) și Romalit N (55% Sulfat de Cupru Cu SO <sub>4</sub> + 45% Bicromat de potasiu K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )/ Control: Apă distilată (H <sub>2</sub> O)											
		Ziua 3		Ziua 5		Ziua 7		Ziua 9		Ziua 11	
RN 5%	1										
	2										
	1										
	2										
Romalitul N 5%, în a doua cutie prezintă o mica întârziere a ciuperii TV în dezvoltare, dar fără vreun evident efect biocid											
RN 10%											

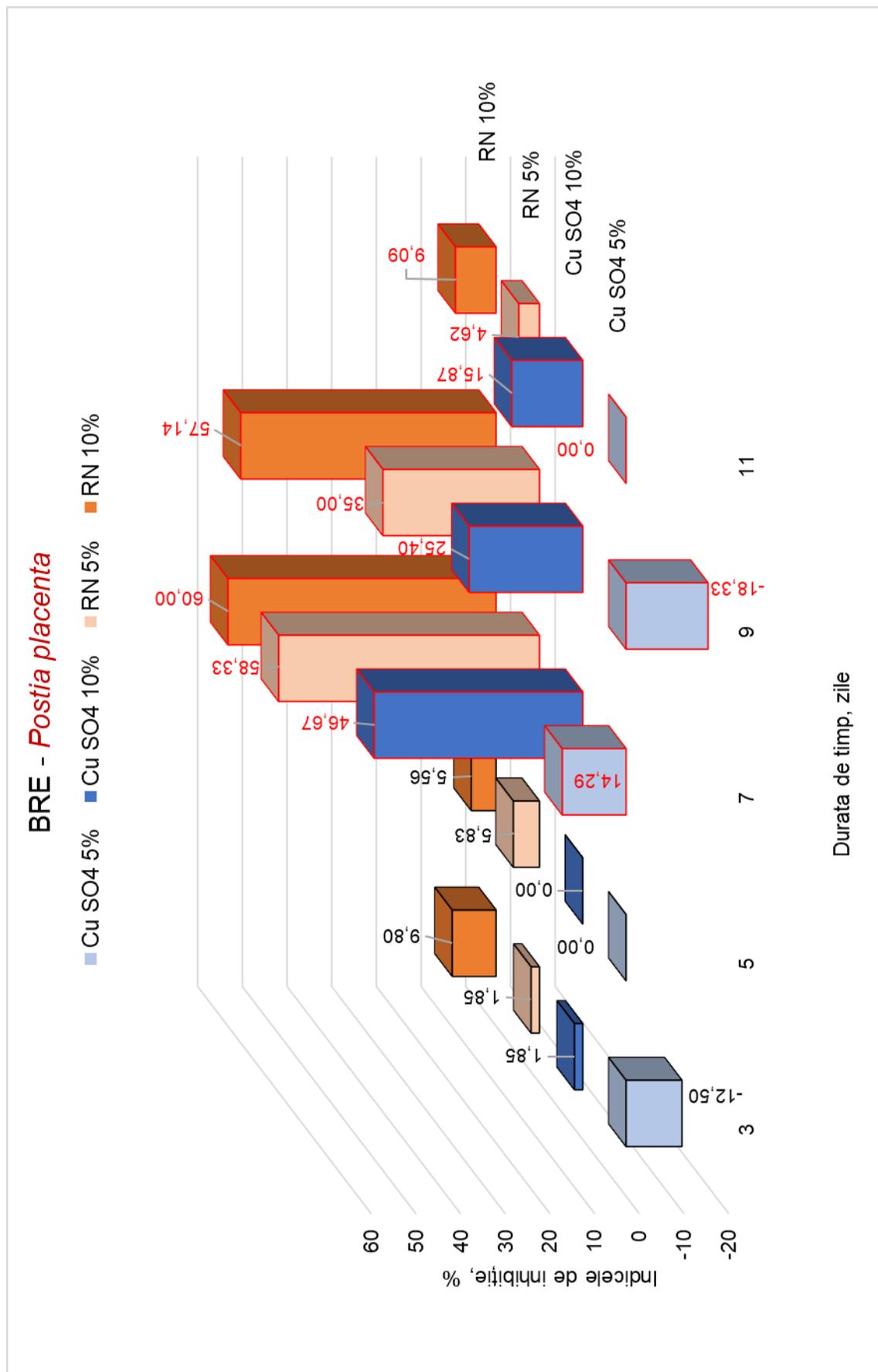
În cutiile cu romalit N 10 % se observă o încetinire a dezvoltării ciuperii TV și poate un pic de efeciență, prin prisma faptului că la finalul testului hârtiile nu sunt în totalitate acoperite cu miceliu, acesta preferând să se dezvolte în jurul lor

Valorile celor doi indici: de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru cele două substanțe biocide cu eficiență recunoscută (BRE) și ambele ciuperci (*Trametes versicolor* și *Postia placenta*)

	Biocid/Ziua	3	5	7	9	11
<i>Trametes versicolor</i>	Cu SO4 5%	25,33	7,50	56,67	50,00	25,64
	Cu SO4 10%	27,78	39,17	100,00	100,00	89,74
	RN 5%	20,37	15,79	45,83	11,11	7,69
	RN 10%	44,44	22,22	20,00	28,57	36,23
<i>Postia placenta</i>	Cu SO4 5%	-12,50	0,00	14,29	-18,33	0,00
	Cu SO4 10%	1,85	0,00	46,67	25,40	15,87
	RN 5%	1,85	5,83	58,33	35,00	4,62
	RN 10%	9,80	5,56	60,00	57,14	9,09
$I_{sol}$ - indicele de inhibiție pe mediu						
$I_{paper}$ - indicele de inhibiție pe hârtie						



Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii (pe mediu (I<sub>so</sub>) - chenar și scris negru și pe hârtie (I<sub>paper</sub>) - chenar și scris roșu) pe parcursul celor 11 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație BRE (sulfat de cupru și Romalit N) în apă distilată și putregaiul alb (*Trametes versicolor*)



Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii (pe mediu ( $I_{SO}$ ) - chenuar și scris negru și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) - chenuar și scris roșu) pe parcursul celor 11 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație BRE (sulfat de cupru și Romalit N) în apă distilată și putregaiul brun (*Postia placenta*)

### Interpretări, discuții și concluzii

În cazul putregaiului alb (*Trametes versicolor*), ambele BRE au arătat potențial biocid, care a crescut o dată cu concentrația soluțiilor. Sulfatul de cupru a demonstrat un mai bun potențial față de Romalit N, la ambele concentrații. Valorile indicilor de inhibiție la finalul testului pentru soluțiile 5% au fost:  $I_{\text{paper}}=25,64\%$  pentru  $\text{CuSO}_4$  față de  $I_{\text{paper}}=7,69\%$  pentru RN, iar pentru soluțiile 10%:  $I_{\text{paper}}=89,74\%$  pentru  $\text{CuSO}_4$  față de  $I_{\text{paper}}=36,23\%$  față de RN.

În cazul putregaiului brun (*Postia placenta*), potențialul antifungic arătat a fost mai scăzut decât în cazul putregaiului alb. Sulfatul de cupru la concentrația 5% nu a prezentat deloc potențial antifungic, iar pe parcursul testului s-a comportat ciudat, potențând chiar creșterea ciupercii. Romalitul N la 5% a arătat o ușoară inhibiție având  $I_{\text{paper}}=4,65\%$  la finalul testului. La concentrația de 10%, ambele BRE au arătat un mic potențial antifungic, mult mai redus comparativ cu putregaiul alb;  $I_{\text{paper}}=15,87\%$  pentru  $\text{CuSO}_4$  față de  $I_{\text{paper}}=9,09\%$  pentru RN

## Baza de date Capitolul 5 - BD-O2

BD - 02/1

## Fișă caracterizare

Ulei esențial de BUSUIOC (*Ocimum basilicum*) – Cod B-EO

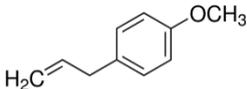
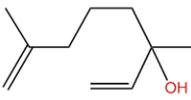
## I. Date de identificare / Producător /Distribuitor Ro

Denumire comercială:	ULEI ESENȚIAL DE BUSUIOC – produs pur <i>Ocimum basilicum</i>
EINECS number:	283-900-8 /
CAS number	8015-73-4
Ingrediente:	Ulei esențial de Busuioc ( <i>Ocimum basilicum</i> ) – 100%, obținut prin distilarea cu vapori de apă a inflorescențelor proaspete.
Utilizare:	Uz cosmetic, masaj, inhalații
Distribuitor în România:	Santo Raphael S.R.L/Produse Steaua divină ( <a href="https://www.steauadivina.ro">https://www.steauadivina.ro</a> );( <a href="https://www.steauadivina.ro/cumpara/steaua-divina-ulei-esential-de-busuioc-10ml-1450">https://www.steauadivina.ro/cumpara/steaua-divina-ulei-esential-de-busuioc-10ml-1450</a> )

## II. Proprietăți fizico-chimice

Aspect:	lichid omogen limpede
Culoare:	galben pal
Miros:	caracteristic
Punct de inflamabilitate:	> 110°C
Densitate la 25°C:	0.936 g/cm <sup>3</sup>
Indice de refracție la 25°C:	1.5042
Rotație optică:	- 6.1°
Solubilitate:	solubil în alcool și cloroform

## III. Compoziție chimică

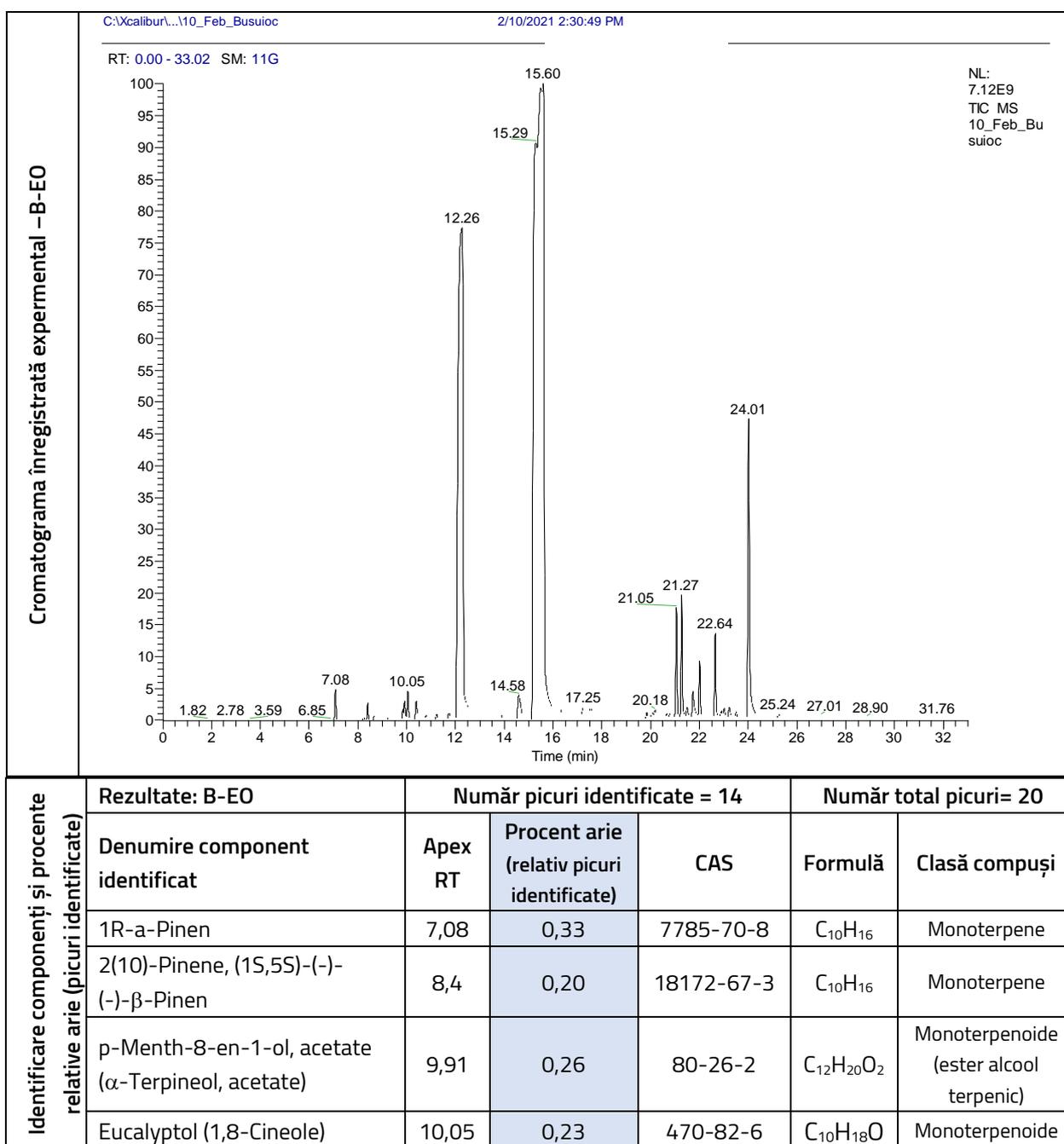
Component chimic	Conținut (%)	Identificare CAS*, EC**	Formulă moleculară	Formulă structurală
Metyl-Chavicol (Estragole, Taragon, p-allyl-anisol)	75.64	CAS: 140-67-0 EC: 205-427-8	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	
Alfa-Linalool	17.11	CAS: 598-07-2 EC: 209-915-1	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	
Total	92.75%			

Notă: \*CAS- Chemical Abstracts Service; Număr CAS - standard internațional de înregistrare și identificare pentru substanțele chimice descrise în literatura de specialitate; \*\*ECHA – European Chemical Agency, cod/număr CE- cod de identificare substanțe chimice cuprinse în inventarul substanțelor chimice al ECHA

## IV. Informații toxicologice și ecologice

Efect prin ingestie:	nu este dată
Efect prin contact cu pielea:	nu este dată
Eco info:	a se preveni contaminarea solului, apelor de suprafață și subterane. Bodegradabilitatea nu a fost determinată A se evita eliminarea prin deversare în sistemele de canalizare și în mediu.

## V. Compoziție chimică determinată experimental (analiză GC-MS)



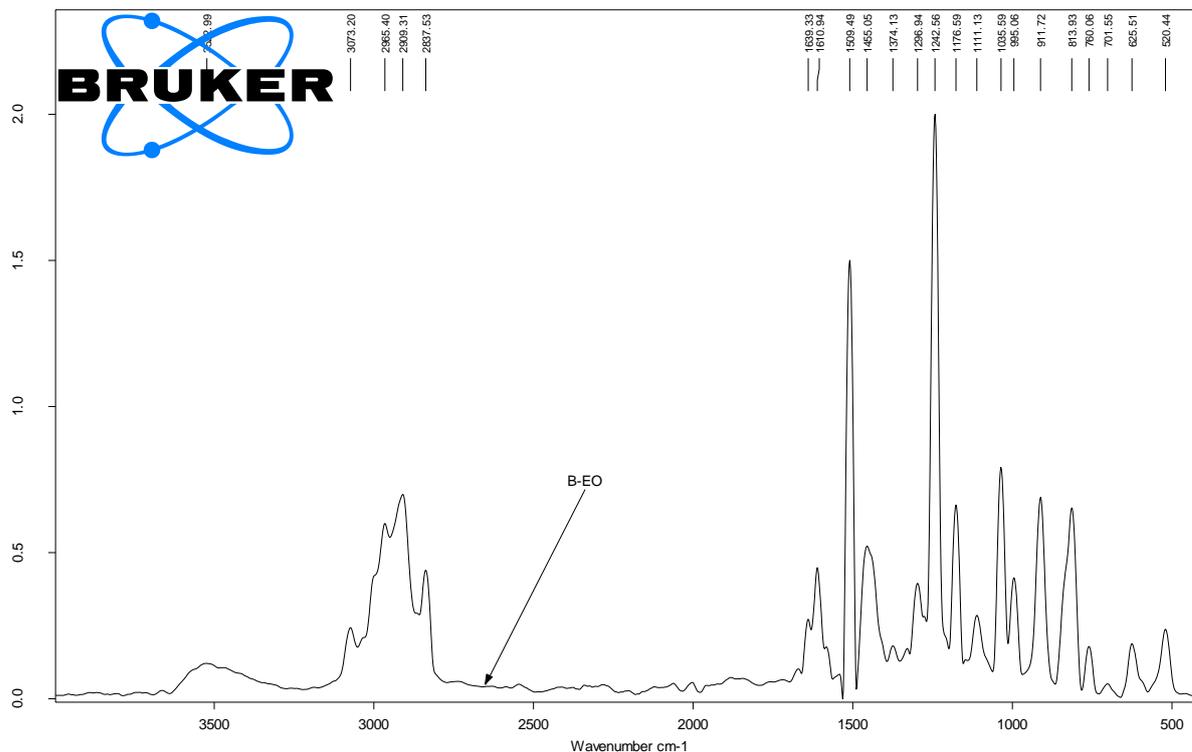
						(eter ciclic)
	$\alpha$ -cis-Ocimene	10,39	0,28	6874-44-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Linalool	12,26	<b>25,63</b>	598-07-2	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Monoterpenoide (alcool terpenic)
	Menthol, trans-1,3,cis-1,4- (5-methyl-2-propan-2- cylcyclohexan-1-ol)	14,58	0,79	490-99-3	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	Monoterpenoide (alcool terpenic)
	<b>Tarragon (Estragole, Methyl-Chavicol)</b>	15,29	<b>20,45</b>	140-67-0	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	Eter fenolic
	<b>Tarragon (Estragole)</b>	15,48	<b>40,10</b>	140-67-0	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	Eter fenolic
	$\beta$ -Caryophyllene	21,05	1,37	87-44-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
	<b>2-Norpinene</b>	21,27	<b>3,21</b>	4889-83-2	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Farnesene	21,73	0,45	502-61-4	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
	$\alpha$ -Caryophyllene	22	0,65	6753-98-6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
	Isocaryophyllene ( $\gamma$ -Caryophyllene)	22,64	1,11	118-65-0	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
	<b>Cycloundecatriene (?)</b>	24,01	<b>4,92</b>		<b>C<sub>11</sub>H<sub>16</sub></b>	HC / Ciclotriene ?
	<b>Total</b>		<b>100.00%</b>			

## VI. Date comparative literatură

Denumire component identificat	B-EO exp*	Conținut procentual %					
		Ref 1/ S1 (Ro-Cluj)	Ref 1/ S2 (Ro-Dolj)	Ref 2	Ref 3	Ref 4	Ref 5
1R- $\alpha$ -Pinen	0,33			0.39	-	0.08	
2(10)-Pinene, (1S,5S)-(-)- (-)- $\beta$ -Pinen	0,20			0.27	-	0.21	
p-Menth-8-en-1-ol, acetate ( $\alpha$ -Terpineol, acetate)	0,26				-		
Eucalyptol (1,8-Cineole)	0,23	1.20	-	10.56	7.03	3.29	1.5
$\alpha$ -cis-Ocimene / $\beta$ Ocimene	0,28	0.24	-			0.42	3.54
$\alpha$ -Linalool	25,63	46.95	0.43	5.57	39.58	22.52	65.38
Menthol, trans-1,3,cis-1,4- (5-methyl-2-propan-2- cylcyclohexan-1-ol)	0,79	-	-				
<b>Tarragon** (cumulat 2 picuri) (Estragole, Methyl-Chavicol)</b>	<b>60.55</b>	-	-	55.95			
$\beta$ -Caryophyllene	1,37	2.49	1.19	1.34		0.63	1.17
2-Norpinene	3,21						
$\alpha$ -Farnesene	0,45	6.86	11.04	4.45			
$\alpha$ -Caryophyllene	0,65	0.99	1.53				0.54
Isocaryophyllene ( $\gamma$ -Caryophyllene)	1,11						
Cycloundecatriene (?)	4,92						
Bornyl-acetate		0.76	0.11				0.74
Eugenol		0.43	1.53	0.37	16.28		5.26

Methyl-Eugenol		-	2.79	10.09			
$\alpha$ -Copaene		0.79	0.93				
$\beta$ -Elemene		7.84	6.43		7.05		0.82
Germacrene D		3.97	3.81		2.21		1.46
Allo-aromadendrene		0.28	0.65				
$\alpha$ -Selinene		-	0.52	1.47			
Zingiberene		-	0.61				
$\delta$ -Guaiene		5.26					2.27
$\gamma$ -Cadinene		3.36	5.88				1.10
Cis-Calamenene		0.68	1.51				
Epi-bicyclo-sequiphellandrene		5.92	18.58				
Spatulenol		-	2.00		0.77		
$\beta$ -Eudesmol		-	4.56				
Carvone				0.78			
$\alpha$ -Amorphene ( $\alpha$ -Cadinene)			0.29	0.50			
$\gamma$ -Muurolene				0.48	1.58		
$\beta$ -Caryophyllene -oxide				0.42			
Octadecane				3.45			
Limonene					0.33		
$\gamma$ -Terpinene					0.78	0.15	
Cis-2-Bergamotene					1.01		1.55
$\alpha$ -Guaiene					1.95		0.96
Terpinen-4-ol					8.60		
$\alpha$ -Terpineol						4.57	0.45
Camphor					1,42		2.13
Borneol					0.98		0.17
Epi- $\alpha$ -cadinol / $\tau$ -Cadinol					1.74		8.18+0.58
$\beta$ -Myrcene						0.77	
Neral						0.62	
Neryl-acetate						1.70	
Linalyl-acetate						53.89	
Terpinyl-acetate						2.95	
Geranyl-acetate						2.53	
Cyclohexyl-methanol						1.89	
<b>Total (%)</b>	<b>100.00</b>	<b>88.02</b>	<b>64.39</b>	<b>96.09</b>	<b>91.31</b>	<b>96.22</b>	<b>89.04</b>
<b>Referințe:</b>	1-Ref (Benedec et al., 2009); 2-Ref (Elsherbiny et al., 2016); 3-Ref (Toncer et al., 2017); 4- Ref (Dris et al., 2017); 5-Ref (Stefan et al., 2013);						

## VII Analiza FTIR


 Fig.1 Spectrul FTIR-ATR a uleiului esențial de Busuioc (*Ocimum basilicum*) –B-EO

 Tab.2. Valorile peak-urilor din spectrul uleiului esențial de Busuioc (*Ocimum basilicum*) și atribuirea lor pe baza datelor din literatură

Ulei esențial	Număr de undă Val exp.	Valoare referință literatură	Atribuire		Referințe
			Legături-grupări funcționale	Component chimic EO	
B-EO	3522.99	3200-3600	-OH (stretching) –H- bonded-alcooli, fenoli		
	3073.19	3078-3086		Estragole	(Morar et al., 2017)/NIST
	2965.40	2924 2942-2956	C-H (stretching)– metilen	Estragole	(Mohanad et al., 2016) (Morar et al., 2017)/NIST
	2909.30	2915		Estragole	(Morar et al., 2017)
	2837.53	2852 2850	C-H (stretching)- metilen	Estragole	(Mohanad et al., 2016)
	1639.33	1638 1638	C=C (stretching) alchene conjugate; C=O conjugat	Estragole	(Morar et al., 2017)/NIST (Salvi et al., 2022)

1610.94	1610 1613 1616	C=C (stretching) – cetone $\alpha$ - $\beta$ -nesaturate	Estragole	(Morar et al., 2017)/NIST (Salvi et al., 2022) (Mohanad et al., 2016)
1509.49	1510 1512	C=C (stretching) în inel aromatic	Estragole	(Morar et al., 2017)/NIST (Salvi et al., 2022)
1455.05	1451 1466	C-H (bending) –grupări metil C-H (bending)		(Salvi et al., 2022) (Morar et al., 2017)
1374.13	1375			(Morar et al., 2017)
1296.94	1300			(Morar et al., 2017)
1242.56	1238 1244-1246	C-O –alcooli, eteri, acizi, esteri	Estragole	(Mohanad et al., 2016) (Morar et al., 2017)/NIST
1176.59	1161 1174-1176	C-O (stretching)	Estragole	(Morar et al., 2017)/NIST
1111.13	1097 1102 1095	C-C (stretching) C-O –alcooli, eteri, acizi carboxilici, esteri	Estragole	(Morar et al., 2017) (Mohanad et al., 2016)
1035.59	1029 1028 1035 (1042)	C-O – alcooli, eteri C-F – compuși fluorurați	Estragole	(Salvi et al., 2022) (Mohanad et al., 2016) (Morar et al., 2017)
995.06	993-994		Estragole	(Morar et al., 2017)/NIST
911.72	912-914		Estragole	(Morar et al., 2017)/NIST
813.93	815		Phellandrene	(Morar et al., 2017)/NIST
760.06	765 760-763	=C-H - alchene?	Estragole	(Salvi et al., 2022) (Morar et al., 2017)/NIST

	701.54	702		Phellandrene	
	625.51				
	520.43				

[https://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct\\_frame\\_top.cgi](https://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi)

### Bibliografie

- Benedec, D., Oniga, I., & Oprean, R. (2009). Chemical composition of the essential oils of *Ocimum basilicum* L. cultivated in Romania. *Farmacía*, 57(5), 625–629.
- Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H., & Soltani, N. (2017). Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *South African Journal of Botany*, 113, 362–369. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.09.013>
- Elsherbiny, A., El-Khateeb, A., & Azzaz, N. (2016). Chemical composition and fungicidal effects of *Ocimum basilicum* essential oil on *Bipolaris* and *Cochliobolus* species. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18(4).
- Mohanad, J. K., Azhar, A. S., & Imad, H. H. (2016). Evaluation of anti-bacterial activity and bioactive chemical analysis of *Ocimum basilicum* using Fourier transform infrared (FT-IR) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) techniques. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 8(6), 127–146. <https://doi.org/10.5897/JPP2015.0366>
- Morar, M. I., Fetea, F., Rotar, A. M., Nagy, M., & Semeniuc, C. A. (2017). Characterization of essential oils extracted from different aromatic plants by FTIR spectroscopy. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, 74(1), 37. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:12634>
- Salvi, P., Kumar, G., Gandass, N., Kajal, Verma, A., Rajarammohan, S., Rai, N., & Gautam, V. (2022). Antimicrobial Potential of Essential Oils from Aromatic Plant *Ocimum* sp.; A Comparative Biochemical Profiling and In-Silico Analysis. *Agronomy*, 12(3), 627. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030627>
- Stefan, M., Zamfirache, M., Padurariu, C., Truta, E., & Gostin, I. (2013). The composition and antibacterial activity of essential oils in three *Ocimum* species growing in Romania. *Central European Journal of Biology*, 8(6), 600–608. <https://doi.org/10.2478/s11535-013-0171-8>
- Toncer, O., Karaman, S., Diraz, E., & Tansi, S. (2017). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. at different phenological stages in semi-arid environmental conditions. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(8), 5441–5446.

## Fișă caracterizare

### Ulei esențial de CUIȘOARE (*Eugenia caryophyllata*) – Cod C-EO

#### I. Date de identificare / Producător /Distribuitor Ro

Denumire comercială: CLOVE BUDS ESSENTIAL OIL 100% pure and natural INDONESIA  
*Eugenia caryophyllata* Thumb.

EINECS number: 284-638-7

Utilizare: Aromatic raw material for professional use

Distribuitor în România: Santo Raphael S.R.L / Produse Steaua divină  
(<https://www.steauadivina.ro/>);(<https://www.steauadivina.ro/cumpara/steaua-divina-ulei-esential-de-cuisoare-10ml-1456>)

#### II. Proprietăți fizico-chimice:

Aspect: lichid omogen , ușor vâscos

Culoare: galben, galben-brun

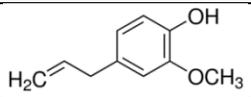
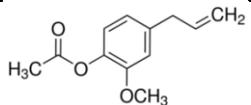
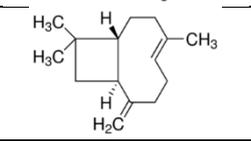
Miros: caracteristic

Punct de inflamabilitate: +100°C

Densitate la 20°C: 1.042-1.065 g/cm<sup>3</sup>

Indice de refracție la 20°C: 1.528-1.538

#### III. Compoziție chimică:

Component chimic	Conținut (%)	Identificare CAS*, EC**	Formulă moleculară	Formulă structurală
Eugenol	82.63	N CAS: 97-53-0 N CE: 202-589-1	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	
Eugenyl acetate	9.88	N CAS: 93-28-7 N CE: 202-235-6	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	
Beta-caryophyllene	5.46	N CAS: 87-44-5 N CE: 201-746-1	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	
<b>Total</b>	<b>97.97%</b>			

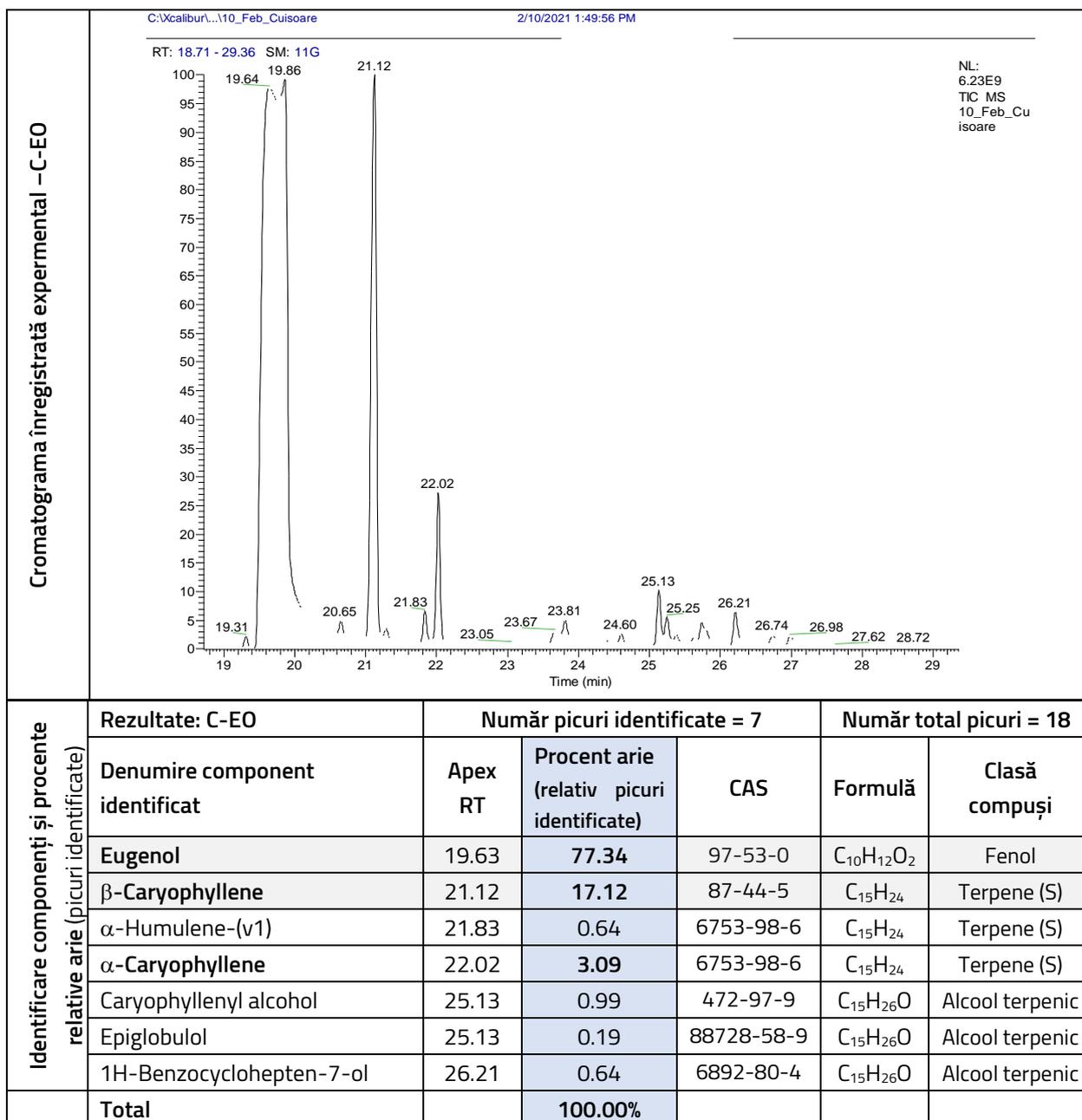
Notă: \*CAS- Chemical Abstracts Service; Număr CAS - standard internațional de înregistrare și identificare pentru substanțele chimice descrise în literatura de specialitate; \*\*ECHA – European Chemical Agency, cod/număr CE- cod de identificare substanțe chimice cuprinse în inventarul substanțelor chimice al ECHA

#### IV. Informații toxicologice și ecologice

Efect prin ingestie: LD50 (teste cobai) =2650 mg/kg corp - etichetare IFRA-IOFI

Efect prin contact cu pielea: LD50 (teste iepuri) = 5000 mg/kg corp  
 Eco info: A se preveni contaminarea solului, apelor de suprafață și subterane.  
 Bodegradabilitatea nu a fost determinată  
 A se evita eliminarea prin deversare în sistemele de canalizare și în mediu.

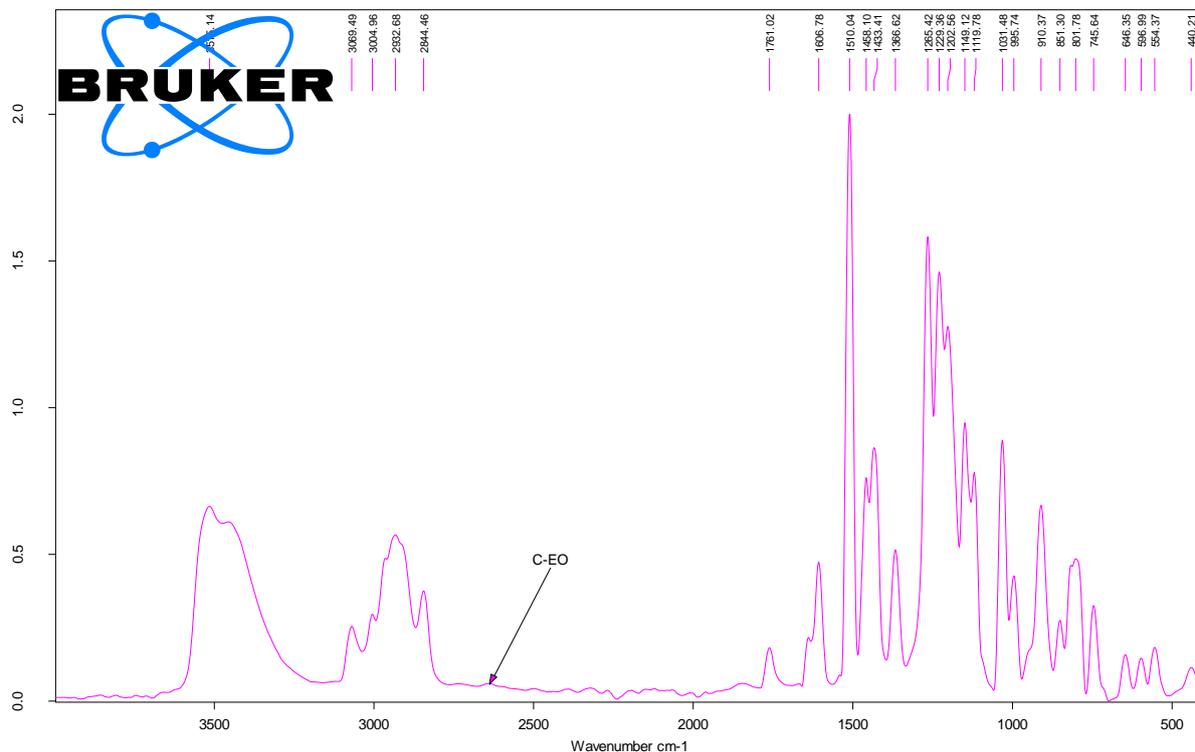
V. Compoziție chimică determinată experimental (analiză GC-MS)



## VI. Date comparative literatură

Denumire component identificat	C-EO exp*	Conținut procentual %					
		Ref 1	Ref 2	Ref 3	Ref 4	Ref 5	Ref 6
Eugenol	77.34	67.0	82.0	77.83	76.08	85.7	79.67
Eugenyl acetate		18.1			12.57	7.9	11.69
$\beta$ -Caryophyllene	17.12		16.5	15.80	9.98	• 4. 5	
Methyl-o-hidroxy-benzoate		9.0					
Anethol (p-propenyl -anisol):		5.9					
$\alpha$ -Caryophyllene / Humulene	3.73				0.86	0.9	0.57
Caryophyllenyl alcohol	0.99						
Epiglobulol	0.19						
1H-Benzocyclohepten-7-ol	0.64						
$\delta$ -Cadinene				1.35			
Copaene							7.59
$\beta$ -Elemene							0.16
Caryophyllene oxide						0.4	
<b>Total (%)</b>	<b>100,0 * relativ</b>	<b>100 %</b>	<b>98.5</b>	<b>94,99</b>	<b>99.49</b>	<b>92,29</b>	<b>99.68</b>
<b>Referințe:</b>	1-Ref (Borrego et al., 2012b); 2-Ref (Pánek et al., 2014d); 3-Ref ((Xie et al., 2017); 4-Ref (H.-F. Wang et al., 2017a); 5-Ref (Vasile et al., 2017b); 6-Ref (Popa, Socaci, et al., 2021a)						

## VII. Analiza FTIR


 Fig.1 Spectrul FTIR-ATR al uleiului esențial de Cuișoare (*Eugenia Caryophyllata*)

 Tab. 2 Lista benzilor de absorbție din spectrul uleiului esențial de Cuișoare (*Eugenia Caryophyllata*) și atribuirea lor pe baza datelor din literatură

Ulei esențial	Număr de undă Val exp.	Valoare referință literatură	Atribuire		Referințe
			Legături-grupări funcționale	Component chimic EO	
C-EO	3515.14	3500-3200	-OH (stretching) – alcooli, fenoli	Eugenol (E), alcooli	(Popa, Fetea, et al., 2021a)
	3069.50	3000-3100	=C-H (stretching) – alchene, inel aromatic	Eugenol (E), Eugenol acetate (EA)	
	3004.95	3029-2989	=C-H (trans, cis) (stretching)	E, EA	(Popa, Fetea, et al., 2021a)
	2932.68	2920	C-H stretching vibrations	Caryophyllene	(Tarhan et al., 2022)
	2844.46	3000-2840	C-H in grupe metilen, metil – compuși alifatici	Caryophyllene	
		2850		Caryophyllene	
1761.01	1742	C=O in esters	EA	(Tarhan et al., 2022) Differentiating band-(Popa,	

		1740	ester carbonyl stretching vibrations	Eugenol acetate	Fetea, et al., 2021a)
	1606.78	1610 1606	C=C (stretching) în inel aromatic	E, EA Eugenol, EA	(Tarhan et al., 2022) (Taraj et al., 2020)
	1510.03	1511 1513	C=C (stretching) în inel aromatic	E, EA Eugenol, EA	(Tarhan et al., 2022) (Taraj et al., 2020)
	1458.10	1458 1450	-CH <sub>2</sub> , di-metil (stretching, bending) C-H bending vibrations in the methylene groups	β-Caryophyllene	(Popa, Fetea, et al., 2021a) (Khalilzadeh et al., 2014)
	1433.41	1430-1431	=CH <sub>2</sub> (deformation) / E, EA		(Tarhan et al., 2022) (H.-F. Wang et al., 2017b)
	1366.62	1380 1370	-CH <sub>2</sub> , di-metil (stretching, bending) C-H bending vibrations in the methylene groups	β-Caryophyllene	(Popa, Fetea, et al., 2021a) (Khalilzadeh et al., 2014)
	1265.42	1264	C-O (stretching) in C-OH	E, EA	(Tarhan et al., 2022)
	1229.36	1233 1230	C-C (stretching) C-O (stretching vibration)	E, EA Eugenol	(Tarhan et al., 2022) (Khalilzadeh et al., 2014)
	1202.56	1200	C-O stretching vibrations	Chavibetol	(Khalilzadeh et al., 2014)
	1149.12	1188-1096	C-O, C-OH in eteri și alcoolii		(Tarhan et al., 2022)
	1119.78				
	1031.48	1027-1032	C-H (wagging)		(L.-H. Wang & Sung, 2011)
	995.74	994-996	=C-H (out of plane)	E, EA	(L.-H. Wang & Sung, 2011)
	910.3744	912	C-H (rocking); deformare inel aromatic	E, EA	(Tarhan et al., 2022)
	851.30	850-920	C=H <sub>2</sub> (out of plane deformation)	E, EA, isoeugenol, metil-eugenol	

	801.78	794; 804; 811	CH <sub>2</sub> , C-H (bonding), C-H aromatic ring –fct de poziție substituție		(Tarhan et al., 2022)
	745.64	747-750	C-H bending vibrations	E, EA	(L.-H. Wang & Sung, 2011) (Ahamad et al., 2023)

Valoarea 1514 cm<sup>-1</sup> este un pic caracteristic (eugenol)- amprentă unică pentru uleiul esențial pur de cuișoare. Dacă aceste lipsește înseamnă că uleiul este falsificat (Ahamad et al., 2023)

### Bibliografie

- Ahamad, J., Omer, A., Majid, D., Khidr, T., & Jameel, S. (2023). Essential Oil Characterization in Clove (*Syzygium aromaticum* Linn.) by GC-MS and Detection of Its Adulteration by ATR-FTIR Method. *Applied Biological Research*, 24(3), 309–316. <https://doi.org/10.48165/>
- Borrego, S., Valdés, O., Vivar, I., Lavin, P., Guiamet, P., Battistoni, P., Gómez De Saravia, S., & Borges, P. (2012). Essential Oils of Plants as Biocides against Microorganisms Isolated from Cuban and Argentine Documentary Heritage. *ISRN Microbiology*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.5402/2012/826786>
- Khalilzadeh, E., Hazrati, R., & Saiah, G. V. (2014). Evaluation of chemical composition, anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of *Eugenia caryophyllata* buds essential oil. *Journal of Herbal Drugs*, 5(2).
- Pánek, M., Reinprecht, L., & Hulla, M. (2014). Ten Essential Oils for Beech Wood Protection—Efficacy Against Wood-destroying Fungi and Moulds, and Effect on Wood Discoloration. *BioResources*, 9(3), 5588–5603. <https://doi.org/10.15376/biores.9.3.5588-5603>
- Popa, R. M., Fetea, F., & Socaciu, C. (2021). ATR-FTIR-MIR Spectrometry and Pattern Recognition of Bioactive Volatiles in Oily versus Microencapsulated Food Supplements: Authenticity, Quality, and Stability. *Molecules*, 26(16), 4837. <https://doi.org/10.3390/molecules26164837>
- Popa, R. M., Socaci, S., Fărcaș, A., & Socaciu, C. M. (2021). Comparative Authenticity Signatures of Six Essential Oils Used as Food Flavors: A Gas chromatography - Mass Spectrometry Approach. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, 78(1), 88–100. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:2021.0008>
- Taraj, K., Andoni, A., Ylli, F., Ylli, A., Hoxha, R., & Llupa, J. (2020). *Spectroscopic Investigation of Syzygium aromaticum L. Oil by Water Distillation Extraction*. 15.
- Tarhan, İ., Bakır, M. R., Kalkan, O., Yöntem, M., & Kara, H. (2022). Rapid determination of adulteration of clove essential oil with benzyl alcohol and ethyl acetate: Towards quality control analysis by FTIR with chemometrics. *Vibrational Spectroscopy*, 118, 103339. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2022.103339>
- Vasile, C., Sivertsvik, M., Mitelu, A., Brebu, M., Stoleru, E., Rosnes, J., Tănase, E., Khan, W., Pamfil, D., Cornea, C., Irimia, A., & Popa, M. (2017). Comparative Analysis of the Composition and Active Property Evaluation of Certain Essential Oils to Assess their Potential Applications in Active Food Packaging. *Materials*, 10(1), 45. <https://doi.org/10.3390/ma10010045>
- Wang, H.-F., Yih, K.-H., Yang, C.-H., & Huang, K.-F. (2017a). Anti-oxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(4), 881–889. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.05.007>
- Wang, H.-F., Yih, K.-H., Yang, C.-H., & Huang, K.-F. (2017b). Anti-oxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(4), 881–889. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.05.007>

- Wang, L.-H., & Sung, W.-C. (2011). Rapid evaluation and quantitative analysis of eugenol derivatives in essential oils and cosmetic formulations on human skin using attenuated total reflectance–infrared spectroscopy. *Spectroscopy*, *26*(1), 43–52. <https://doi.org/10.1155/2011/176163>
- Xie, Y., Wang, Z., Huang, Q., & Zhang, D. (2017). Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. *Industrial Crops and Products*, *108*, 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.041>

## Fișă caracterizare

### Ulei esențial de OREGANO (*Origanum vulgare*) – Cod O-EO

#### I. Date de identificare / Producător /Distribuitor Ro

Denumire comercială: OREGANO ESSENTIAL OIL 100% pure and natural BALKANS  
*Origanum vulgare* L.

EINECS number: 281-670-3

Utilizare: Aromatic raw material for professional use

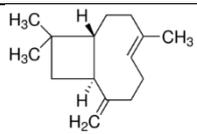
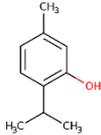
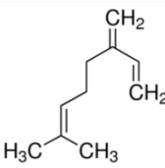
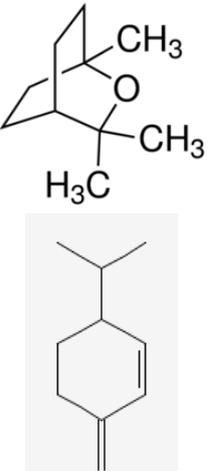
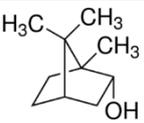
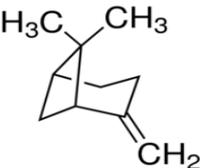
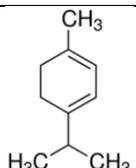
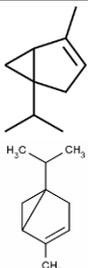
Distribuitor în România: Santo Raphael S.R.L / Produse Steaua divină  
(<https://www.steauadivina.ro/>);(<https://www.steauadivina.ro/cumpara/steaua-divina-ulei-esential-de-oregano-10ml-1465>)

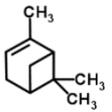
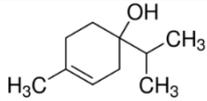
#### II. Proprietăți fizico-chimice:

Aspect: lichid la temperatura camerei  
Culoare: galben pal până la maro gălbui  
Miros: proaspăt, aromatic, cald  
Punct de inflamabilitate: +65°C  
Densitate la 20°C: 0.935-0.970 g/cm<sup>3</sup>  
Indice de refracție la 20°C: 1.500-1.528  
Rotație optică la 20°C: -3° - +3°  
Solubilitate: solubil în etanol și uleiuri fixe; insolubil în apă

#### III. Compoziție chimică – analize producător (GC-FID):

Component chimic	Conținut (%)	Identificare CAS*, EC**	Formulă moleculară	Formulă structurală
Carvacrol	68.64	N CAS: 499-75-2 N CE: 207-889-6	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	
para-Cymene	6.34	N CAS: 99-87-6 N CE: 202-796-7	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	
gamma-Terpinene	4.37	N CAS: 99-85-4 N CE: 202-794-6	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	
Linalool	2.80	N CAS: 78-70-6 N CE: 201-134-4	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	

beta-Caryophyllene	2.68	N CAS: 87-44-5 N CE: 201-746-1	$C_{15}H_{24}$	
Thymol	2.22	N CAS: 89-83-8 N CE: 201-944-8	$C_{10}H_{14}O$	
Myrcene	1.29	N CAS: 123-35-3 N CE: 204-622-5	$C_{10}H_{16}$	
Cineole-1.8 ( eucalyptol) and beta-Phellandrene	1.13	N CAS : 470-82-6 N CE: 207-431-5  N CAS : 555-10-2 N CE: 209-081-9	$C_{10}H_{18}O$  $C_{10}H_{16}$	
Borneol	1.10	N CAS: 507-70-0 N CE: 208-080-0	$C_{10}H_{18}O$	
beta-Pinene	1.04	N CAS: 18172-67-3 N CE: 242-060-2	$C_{10}H_{16}$	
alpha-Terpinene	0.97	N CAS: 99-86-5 N CE: 202-795-1	$C_{10}H_{16}$	
alpha-Thujene	0.81	N CAS: 2867-05-2 N CE: 220-687-7	$C_{10}H_{16}$	

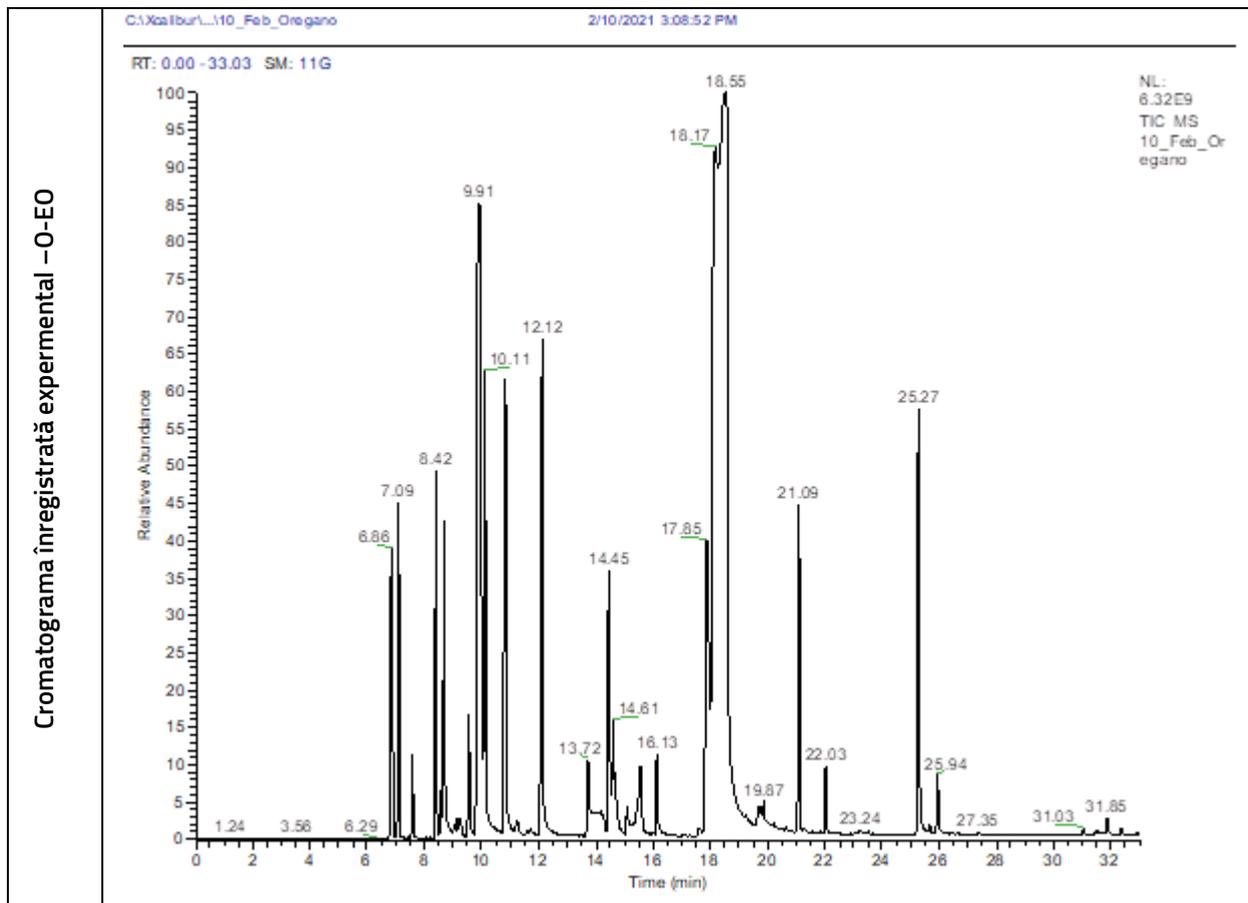
alpha-Pinene	0.75	N CAS: 80-56-8 N CE: 201-291-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	
4-Terpinene-1-ol	0.60	N CAS: 562-74-3 N CE: 209-235-5	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	
<b>TOTAL</b>	<b>94.74 %</b>			

Notă: \*CAS- Chemical Abstracts Service; Număr CAS - standard internațional de înregistrare și identificare pentru substanțele chimice descrise în literatura de specialitate; \*\*ECHA – European Chemical Agency, cod/număr CE- cod de identificare substanțe chimice cuprinse în inventarul substanțelor chimice al ECHA

#### IV. Informații toxicologice și ecologice

Efect prin ingestie:	fără date
Efect prin contact cu pielea:	fără date
Eco info:	a se preveni contaminarea solului, apelor de suprafață și subterane. Bodegradabilitatea nu a fost determinată A se evita eliminarea prin deversare în sistemele de canalizare și în mediu.

## V. Compoziție chimică determinată experimental (analiză GC-MS)



Identificare componente, calcul și procente relative (picuri)	Rezultate: O-EO		Număr picuri identificate =19		Număr total picuri=22	
	Denumire component identificat	Apex RT	Procent arie (relativ picuri identificate)	CAS	Formulă	Clasă compuși
	Bycyclo[3.1.0]hexane	6.86	1.86	285-58-5	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub>	Heterociclici
	<b>1R-<math>\alpha</math>-Pinene**</b>	7.09	<b>2.24*</b>	7785-70-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	Camphene	7.6	0.50	79-92-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	<b><math>\alpha</math>-Pinene**</b>	8.42	<b>2.59*</b>	80-56-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	<b><math>\alpha</math>-Pinene**</b>	8.68	<b>2.08*</b>	80-56-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	$\alpha$ -Terpinen	9.55	0.87	99-86-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	<b>p-Cymene</b>	9.91	<b>13.79</b>	99-87-6	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	Terpene
	<b>Cineole</b>	10.11	<b>3.36</b>	470-82-6	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Eteri oxizi terpenici
	$\gamma$ -Terpinen	10.82	<b>3.49</b>	99-85-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	<b><math>\alpha</math>-Linalool</b>	12.12	<b>5.11</b>	598-07-2	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcooli terpenici
	Camphor	13.72	0.45	464-49-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	Aldehyde
	Borneol	14.45	2.24	507-70-0	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcooli terpenici
	p-Menth-1-en-4-ol (4-Terpineol)	14.61	0.71	562-74-3	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcooli terpenici

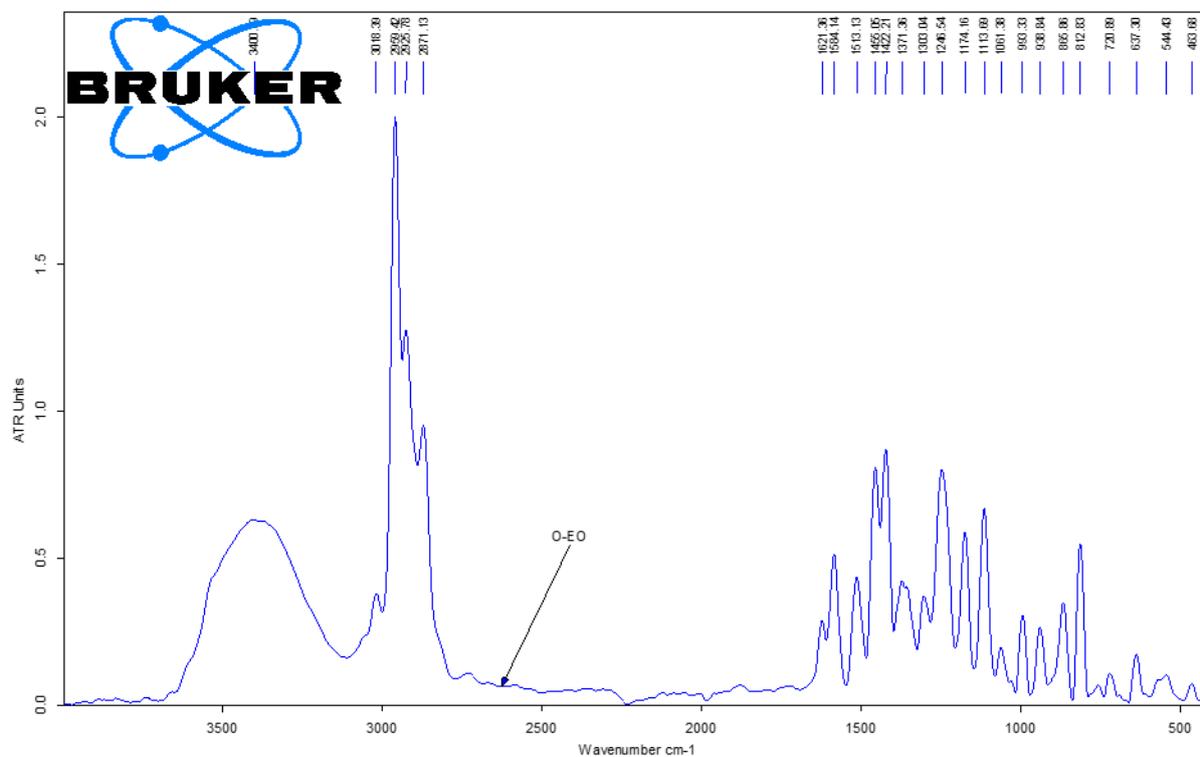
	p-Menth-1-en-8-ol ( $\alpha$ -Terpineol)	15.54	0.94	98-55-5	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcooli terpenici
	<b>Carvacrol***</b>	17.86	<b>5.70**</b>	499-75-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	Fenoli
	<b>Carvacrol***</b>	18.49	<b>47.46*8</b>	499-75-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	Fenoli
	$\beta$ - Caryophyllene	21.09	2.42	87-44-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
	$\alpha$ -Caryophyllene	22.03	0.47	6753-98-6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
	Caryophyllene oxide	25.27	3.72	1139-30-6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	Eteri oxizi terpenici
	<b>Total</b>		<b>100.00%</b>			

## VI. Date comparative literatură

Denumire component identificat	O-EO exp*	Conținut procentual %				
		Ref 1	Ref 2	Ref 3	Ref 4	Ref 5
Bycyclo[3.1.0]hexane	1.86					
Camphene	0.50			0.15	1.99	•
$\alpha$ -Pinene**(3 picuri cumulate)	6.91**	0.21		0.49	2.74	
$\alpha$ -Terpinene	0.87	0.51		1.12	1.25	1.1
p-Cymene	13.79	5.98		4.13	11.5	
Cineole	3.36					
$\gamma$ -Terpinene	3.49	4.27	6.36	4.08	7.09	7.5
$\alpha$ -Linalool	5.11				9.53	
Camphor	0.45	0.83		0.03	1.79	
Borneol	2.24	0.95		0.99	1.37	
p-Menth-1-en-4-ol (1-Terpinen-4-ol)	0.71	0.58	43.32	0.97	1.89	
p-Menth-1-en-8-ol ( $\alpha$ -Terpineol)	0.94	0.72	3.86	0.27	1.59	
Carvacrol*** (2 picuri cumulate)	53.16***	75.82		71.21	25.4	37.4
$\beta$ -Caryophyllene	2.42	2.33	1.65	1.36		
$\alpha$ -Caryophyllene	0.47	0.3		0.06		
Caryophyllene oxide	3.72			0.24	4.78	
$\beta$ -Myrcene		0.23	0.53	1.06	1.19	1.0
$\beta$ -Pinene		0.44		0.06	1.75	
$\beta$ -Linalool		2.53		6.46		
$\alpha$ -Thujene		0.23		0.11	1.45	0.4
Camphene		0.14				
D-Limonene		0.67		0.16		
Eucalyptol		1.52		0.19	2.98	
Thymol		1.59		1.7	7.51	45,0
$\beta$ -Terpinene			2.94			
2-Carene			2.29			
O-Cymene			2.21			4,4
Terpinolene			1.31	0.16	1.18	

$\beta$ -Terpineol			16.97			
Cyclohexanol			1.71			
Cyclohexanone			0.85			
Linalyl anthranilate			0.48			
1,5-Heptadiene			0.53			
9,17-Octadecadienal, (Z)			0.48			
3-Epimoretenol			11.84			
(8S,14) Cedran-dio			1.43			
Cycloeucalenyl acetate			1.22			
1-Octen-3-OL				0.11		
$\alpha$ -phellandrene				0.19	1.91	
$\beta$ -phellandrene				0.19		
Cis- $\beta$ -ocimene				0.05		
Benzene				0.05		
Thymol methyl eter				0.2	1.91	
Carvone				0.13		
Linalool acetate				0.04		
Carvenone				0.02		
Thymol acetate				0.15		
Methyleugenol				0.02		
$\delta$ -cadinene				0.07		
Cis-sabinene hydrate					1.49	
Carvacrol methyl ether					1.63	
Cuminaldehyde					1.22	
Aromandrene				0.17	1.39	
$\beta$ -bisabolene				2.32	1.74	
<b>Total</b>	<b>100,0*</b> <b>relativ</b>	<b>99,85</b>	<b>99,98</b>	<b>98,71</b>	<b>98,27</b>	<b>96,80</b>
<b>Referințe:</b>	1-Ref (Popa, Socaci, et al., 2021b); 2-Ref (Al Kamaly et al., 2023); 3-Ref (Bora et al., 2022); 4-Ref (Plata-Rueda et al., 2022); 5-Ref (Stanojević et al., 2016)					

## VII. Analiza FTIR


 Fig.1 Spectrul FTIR-ATR al uleiului esențial de **Oregano** (*Origanum vulgare*)

 Tab.2. Lista benzilor de absorbție din spectrul uleiului esențial de **Oregano** (*Origanum vulgare*) și atribuirea lor pe baza datelor din literatură

Ulei esențial	Număr de undă Val exp.	Valoare referință literatură	Atribuire		Referințe
			Legături-grupări funcționale	Component chimic EO	
O-EO	3400.99	3363.86	O-H	Fenoli	(Al Tameme et al., 2015)
	3018.39	3064.89	H-O	Grup H-X legat prin H	(Al Tameme et al., 2015)
	2959.42	2850-3000	C-H symmetric and asymmetric stretching	Carvacrol/p-Cymene/Thymol	(Valderrama & Rojas De, 2017)
		2960	antisymmetrical -CH <sub>3</sub> stretching vibration	Carvacrol	(Partheniadis et al., 2017)
2925.78	2850-3000	C-H symmetric and asymmetric stretching	Carvacrol/p-Cymene/Thymol	(Valderrama & Rojas De, 2017)	
	2918.30	C-H	Alcani	(Al Tameme et al., 2015)	

	2871.13	2850-3000 2848.86	C-H symmetric and asymmetric stretching	Carvacrol/ p-Cymene/ Thymol	(Valderrama & Rojas De, 2017) (Al Tameme et al., 2015)
	1621.36	1602.85			(Al Tameme et al., 2015)
	1584.14	1580	C=C stretching/ aromatic ring	Carvacrol/ Thymol	(Valderrama & Rojas De, 2017)
	1513.13	1513-1520	C-H (CH <sub>3</sub> ) wagging	Carvacrol/ p-Cymene/ Thymol	(Valderrama & Rojas De, 2017)
	1455.05				
	1422.21	1420	antisymmetric -CH <sub>3</sub> bending	Carvacrol	(Partheniadis et al., 2017)
	1371.36	1360-1380 1361.74	isopropyl group (-CH-CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> ) symmetric and asymmetric bending  NO <sub>2</sub>	Carvacrol/ p-Cymene/ Thymol  Compuși nitro	(Valderrama & Rojas De, 2017)  (Al Tameme et al., 2015)
	1303.04	1317.38	NO <sub>2</sub>	Compuși nitro	(Al Tameme et al., 2015)
	1246.54	1249 1242.16	C-O-C stretching  C-O	Carvacrol  Alcoli, esteri, acizi carbolixici, eteri	(Partheniadis et al., 2017)  (Al Tameme et al., 2015)
	1174.16				
	1113.69	1085-1125	ortho-substitution	Carvacrol	(Valderrama & Rojas De, 2017)
	1061.38	1026	C-F stretch	Compuși fluoro alifatici	(Al Tameme et al., 2015)
	993.33	990-995	1:2:4-Substituion	Carvacrol	(Valderrama & Rojas De, 2017)
	938.84	918	C-H	Alchene	(Al Tameme et al., 2015)
	865.86				
	812.83	811	C-H out-of-plane bending	Carvacrol	(Luo et al., 2019)

		811-812	CH-out-of-plane waging	p-Cymene	(Valderrama & Rojas De, 2017)
		813	C-H	Alchene	(Al Tameme et al., 2015)
	720.89	729.09	C-H	Alchene	(Al Tameme et al., 2015)
	637.30	665.44			(Al Tameme et al., 2015)
	544.43				
	463.68				

### Bibliografie

- Al Kamaly, O., Alanazi, A. S., Conte, R., & Imtara, H. (2023). Phytochemical Composition and Insight into Antibacterial Potential of *Origanum vulgare* Essential Oil from Saudi Arabia Using In Vitro and In Silico Approaches. *Processes*, 11(3), 650. <https://doi.org/10.3390/pr11030650>
- Al Tameme, H. J., Hameed, I. H., Idan, S. A., & Hadi, M. Y. (2015). Biochemical analysis of *Origanum vulgare* seeds by fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 7(9), 221–237. <https://doi.org/10.5897/JPP2015.0362>
- Bora, L., Burkard, T., Juan, M. H. S., Radeke, H. H., Muț, A. M., Vlaia, L. L., Magyari-Pavel, I. Z., Diaconeasa, Z., Socaci, S., Borcan, F., Kis, B., Muntean, D., Dehelean, C. A., & Danciu, C. (2022). Phytochemical Characterization and Biological Evaluation of *Origanum vulgare* L. Essential Oil Formulated as Polymeric Micelles Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics*, 14(11), 2413. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112413>
- Luo, X., Sedman, J., & Ismail, A. A. (2019). Microencapsulation of oregano (*Origanum vulgare* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) essential oils in  $\beta$ -lactoglobulin. *SDRP Journal of Food Science & Technology*, 4(9), 970–985. <https://doi.org/10.25177/JFST.4.9.RA.612>
- Partheniadis, I., Karakasidou, P., Vergkizi, S., & Nikolakakis, I. (2017). Spectroscopic examination and release of microencapsulated oregano essential oil. *ADMET and DMPK*, 5(4), 224–233. <https://doi.org/10.5599/admet.5.4.426>
- Plata-Rueda, A., Santos, M. H. D., Serrão, J. E., & Martínez, L. C. (2022). Chemical Composition and Insecticidal Properties of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) Essential Oil against the Stored Product Beetle, *Sitophilus granarius*. *Agronomy*, 12(9), 2204. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092204>
- Popa, R. M., Socaci, S., Fărcaș, A., & Socaciu, C. M. (2021). Comparative Authenticity Signatures of Six Essential Oils Used as Food Flavors: A Gas chromatography - Mass Spectrometry Approach. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*, 78(1), 88–100. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:2021.0008>
- Stanojević, L., Stanojević, J., Cvetković, D., & Ilić, D. (2016). *Antioxidant Activity Of Oregano Essential Oil (Origanum Vulgare L.)*. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.200410>
- Valderrama, A. C. S., & Rojas De, G. C. (2017). Traceability of Active Compounds of Essential Oils in Antimicrobial Food Packaging Using a Chemometric Method by ATR-FTIR. *American Journal of Analytical Chemistry*, 08(11), 726–741. <https://doi.org/10.4236/ajac.2017.811053>

## Fișă caracterizare

### Ulei esențial de SCORTIȘOARĂ

(*Cinnamomum zeylanicum* sin. *Cinnamomum verum*) – Cod S-EO

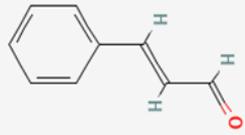
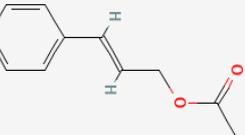
#### I. Date de identificare / Producător /Distribuitor Ro

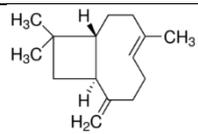
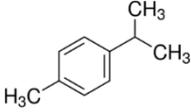
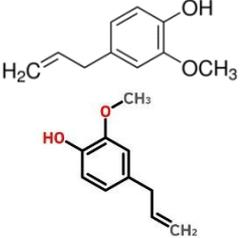
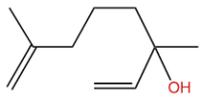
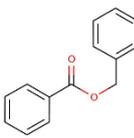
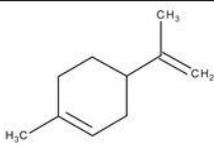
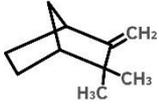
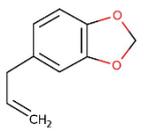
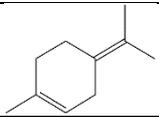
Denumire comercială:	ULEI ESENȚIAL DE SCORTIȘOARĂ – ulei esențial pur <i>Cinnamomum zeylanicum</i> sin. <i>Cinnamomum verum</i>
EINECS number:	283-479-0
CAS number	8015-91-6
Ingrediente	Ulei esențial de Scortişoară ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) – 100%, obținut prin distilare cu aburi din scoarța arborelui de Scortişoară.
Utilizare:	Uz cosmetic, masaj, inhalatii
Distribuitor în România:	Santo Raphael S.R.L/Produce Steaua divină ( <a href="https://www.steauadivina.ro/">https://www.steauadivina.ro/</a> );( <a href="https://www.steauadivina.ro/cumpara/steaua-divina-ulei-esential-de-scortisoara-10ml-1453">https://www.steauadivina.ro/cumpara/steaua-divina-ulei-esential-de-scortisoara-10ml-1453</a> )

#### II. Proprietăți fizico-chimice:

Aspect:	lichid omogen
Culoare:	lichid clar galben spre brun roșcat
Miros:	caracteristic: puternic, picant, cald
Punct de inflamabilitate:	+115°C
Densitate la 20°C:	0,990-1,050g/cm <sup>3</sup>
Indice de refracție la 20°C:	1,545-1,600
Rotație optică:	-3° - +2°
Solubilitate:	solubil în ulei și alcool, insolubil în apă

#### III. Compoziție chimică

Component chimic	Conținut (%)	Identificare CAS*, EC**	Formulă moleculară	Formulă structurală
Cinnamaldehyde	40%-70%	N CAS:104-55-2 N CE: 203-213-9	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	
Cinnamyl acetate	<10%	N CAS: 103-54-8 N CE: 203-121-9	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	

beta-Caryophyllene	<10%	N CAS: 87-44-5 N CE: 201-746-1	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	
para-Cymene	<5%	N CAS: 99-87-6 N CE: 202-796-7	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	
Eugenol	3%	N CAS: 97-53-0 N CE: 202-589-1	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	
Alfa-Linalool	3%	N CAS: 598-07-2 N CE: 209-915-1	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	
Benzyl benzoate	2%	N CAS: 120-51-4 N CE: 204-402-9	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	
Limonene	<2%	N CAS: 138-86-3 N CE: 205-341-0	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	
Camphene	<1%	N CAS: 79-92-5 N CE: 201-234-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	
Safrole	0.1% - 0.5%	N CAS : 94-59-7 N CE: 202-345-4	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	
Terpinolene	<0,5%	N CAS: 586-62-9 N CE: 209-578-0	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	

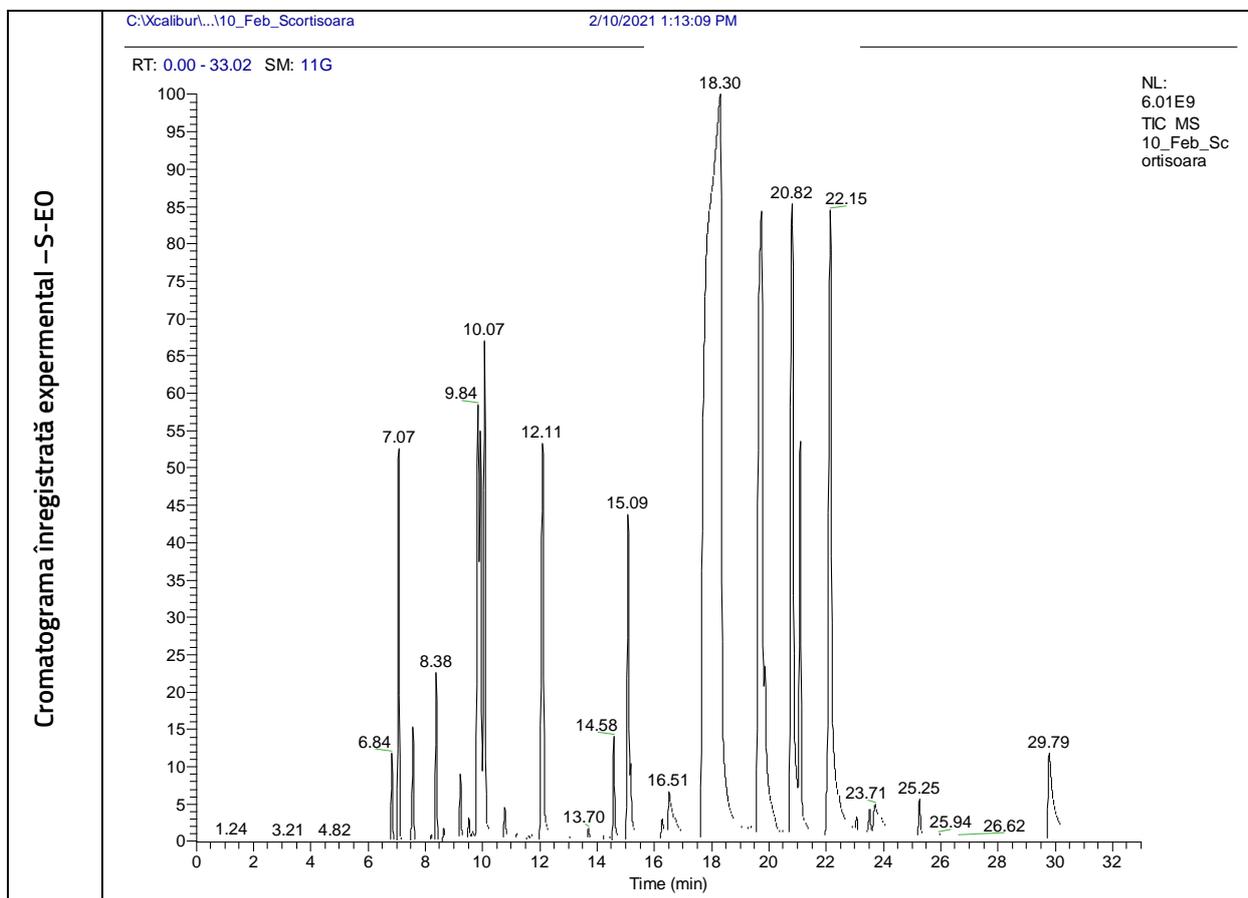
Notă: \*CAS- Chemical Abstracts Service; Număr CAS - standard internațional de înregistrare și identificare pentru substanțele chimice descrise în literatura de specialitate; \*\*ECHA – European Chemical Agency, cod/număr CE- cod de identificare substanțe chimice cuprinse în inventarul substanțelor chimice al ECHA

#### IV. Informații toxicologice și ecologice

Efect prin ingestie:	toxicitate acută, DL50 (mg/Kg) : 3,800
Efect prin contact cu pielea	toxicitate acută, DL50 (mg/Kg) : 700
Efect prin contact cu ochii	iritare, daune grave la nivelul ochiului
Efect prin inhalare	în condiții de utilizare normale nu prezintă riscuri
Eco info:	A se preveni contaminarea solului, apelor de suprafață și subterane.

Bodegradabilitatea nu a fost determinată  
 A se evita eliminarea prin deversare în sistemele de  
 canalizare și în mediu.

## V. Compoziție chimică determinată experimental (analiză GC-MS)



Identificare componenți, și procente relative arie (picuri)	Rezultate: S-EO		Număr picuri detectate = 18		Număr total picuri= 23	
	Denumire component identificat	Apex RT	Procent arie (relativ picuri identificate)	CAS	Formulă	Clasă compuși
	1-Isopropyl-4-methylbicyclo[3,1,0]hex-2-ene (β-Thuyene; 2-Thuyene)	6.84	0.44	36262-09-6	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	1R-α-Pinene**	7.07	2.31	7785-70-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	Camphene	7.57	0.66	79-92-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	α-Pinene**	8.38	0.95	7785-26-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	α-Phellandrene	9.23	0.35	99-83-2	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	<b>p-Cymene</b>	9.84	<b>3.59</b>	99-87-6	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	Terpene
	Limonene	9.93	2.47	138-86-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Terpene
	<b>Eucalyptol (1,8 Cyneole)</b>	10.08	<b>3.37</b>	470-82-6	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Eter terpenic ciclic

<b><math>\alpha</math>-Linalool</b>	12.11	<b>3.85</b>	598-07-2	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcooli terpenici
p-Menth-1-en-4-ol (4-Terpineole)	14.58	0.58	562-74-3	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcooli terpenici
p-Menth-1-en-8-ol ( $\alpha$ -Terpineole)	15.08	2.05	98-55-5	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcooli terpenici
trans-Geraniol	16.51	0.37	106-24-1	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcooli terpenici
<b>Cinnamaldehyde</b>	18.3	<b>47.03</b>	104-55-2	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	Aldehyde aromatice
2-methoxy-5-(2-propenyl) -phenol <b>Meta- Eugenol</b> (Chavibetol)	19.74	<b>12.87</b>	501-19-9	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Fenoli
Benzoic acid, 4-isopropyl, ethyl ester ( <b>Ethyl p-</b> <b>isopropylbenzoate</b> )	20.82	<b>7.75</b>	19024-50-1	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	Ester acid aromatic
$\beta$ -Caryophyllene	21.1	2.38	87-44-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesquiterpene
<b>Cinnamyl acetate</b>	22.14	<b>7.96</b>	103-54-8	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Ester alcool aromatic
Benzyl Benzoate	29.78	1.01	120-51-4	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	Ester aromatic
<b>Total</b>		<b>99.99%</b>			

## VI. Date comparative literatură

Denumire component identificat	S-EO exp*	Conținut procentual %					
		Ref 1	Ref 2	Ref 3	Ref 4	Ref 5	Ref 6
$\beta$ -Thuyene	0.44						
Camphene	0.66			2.12	0.09	• 0 · 0 8	•
$\alpha$ -Pinene**(cumulat picuri)	3.26**	1.3	1.47	1.48	0.11	• 0 · 5 0	• 5 · 7 6
$\alpha$ -Phellandrene	0.35					• 0 · 1 8	•
p-Cymene	3.59	1.9					
Limonene	2.47	1.2				0.19	
Eucalyptol	3.37	5.4					
$\alpha$ --Linalool	3.85	7.0				4.08	3.78
p-Menth-1-en-4-ol	0.58						

$\alpha$ -Terpineol (p-Menth-1-en-8-ol)	2.05		0.87	1.04			
trans-Geraniol	0.37						
Cinnamaldehyde	47.03	71.5	46.30	81.53	68.23	79.73	67.57
Meta-eugenol	12.87						
Benzoic acid, 4-isopropyl, ethyl ester	7.75						
$\beta$ -Caryophyllene	2.38	6.4	8.26			2.05	3.66
Cinnamyl alcohol, acetate	7.96	0.5	7.54		4.21 / 1.5	1.48	
Benzyl Benzoate	1.01	0.5	1.12			0.37	
Benzaldehyde		0.3	4.16		0.49	0.31	
$\gamma$ -Terpinene		0.4					
Isoborneol		0.8			0.20		
Eugenol		4.6		2.91		2.37	16.03
$\alpha$ -Humulene		1.7	2.16			0.19	
$\delta$ -Cadinene		1.4	1.42		5.53		
trans-Calamenene		0.7					
Caryophyllene oxide		0.5	2.80			0.35	
3-phenylpropionaldehyde			2.95				
Borneol			1.06				
3-Phenyl-1-propanol			1.46		0,77		
$\alpha$ -Copaene			16.35		4.25	0.21	
(-)-Spathulenol			2.09				
p-Cineole				2.91		1.02	
Hydrocinnamic aldehyde				1.22			
Cyclosativene					0.45		
Isosativene					0.25		
Aromadendrene					0.26		
(Z)- $\alpha$ -Bisabolene					0.23		
$\alpha$ -Muurolene					3.18		
$\beta$ -Oplophenone					0.28		
$\delta$ -Cadinol					0.64		
t-Cadinol					1.26		
t-Muurolol					0.36		
Cadalene					0.63		
Octadecane					0.16		
Dibutyl phthalate					0.18		
$\beta$ -Pinene						0.07	
$\beta$ -Myrcene						0.40	1.38
$\delta$ -3-Carene						0.37	

O-Cymene						1.31	
$\beta$ -Phellandrene						0.25	
Benzyl alcohol						0.14	
Phenylethyl alcohol						0.15	
Coumarin						0.47	
Cinnamaldehyde-p-methoxy						2.66	
<b>Total (%)</b>	<b>99.99</b>	<b>106,10</b>	<b>100,01</b>	<b>93,21</b>	<b>93,26</b>	<b>98,93</b>	<b>98,18</b>
<b>Referințe:</b>	1-Ref (Behbahani et al., 2020); 2-Ref (Teles et al., 2019); 3-Ref (Boughendjioua & Djeddi, 2018); 4-Ref (Saeedi et al., 2022); 5-Ref (Vazirian et al., 2015); 6-Ref (Liyange et al., 2017)						

## VII. Analiza FTIR

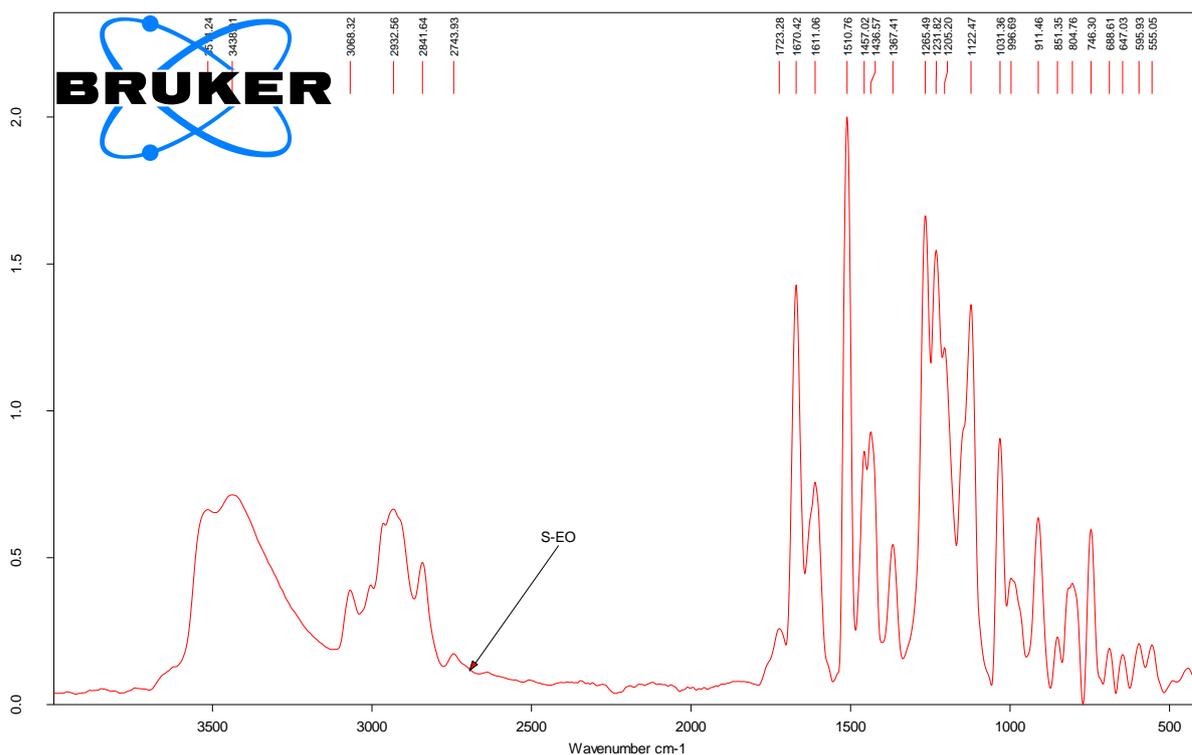


Fig.1 Spectrul FTIR-ATR a uleiului esențial de Scorțișoară (*Cinnamomum zeylanicum*)

Tab.2. Valorile peak-urilor din spectrul uleiului esențial de Scorțișoară (*Cinnamomum zeylanicum*) și atribuirea lor pe baza datelor din literatură

Ulei esențial	Număr de undă Val exp.	Valoare referință literatură	Atribuire		Referință
			Legături-grupări funcționale	Component chimic EO	
S-EO	3514.24	3750-3000	O-H Stretching	Linalool/ Cinnamaldehyde	(Lewa & Gugule, 2022)
	3438.01	3456.44	O-H Stretching	Linalool/ Cinnamaldehyde	(Lewa & Gugule, 2022)
	3068.32	3750-3000	O-H Stretching	Linalool/ Cinnamaldehyde	(Lewa & Gugule, 2022)
	2932.56	2924.09	C-H stretching	Methyl	(Lewa & Gugule, 2022)
		2922	N-H stretches	Amine Salt	(Nawaz et al., 2023)
	2841.64	2854.65	CH <sub>3</sub> bending	Methylen	(Lewa & Gugule, 2022)
	2743.93				
	1723.28	1727		Aldehida a unei grasimi saturate	(Li et al., 2013)
	1670.42	1679-1626	C=O	Carbonil	(Li et al., 2013)
		1674.21	C=O stretching	Aldehide	(Lewa & Gugule, 2022)
		1678	vibration stretching (C=O)	Cinnamaldehyde/ Aldehide	(Behbahani et al., 2020)
		1672	C-O carbonyl bond	cinnamic aldehyde	(Popa, Fetea, et al., 2021b)
	1611.06	1626	vibration stretching (C=O)	Cinnamaldehyde/ Aldehide	(Behbahani et al., 2020)
1510.76	1510	C=O	Cinnamaldehyde	(Munhuweyi et al., 2018)	
1457.02	1450	C-OH bond	alcohol	(Behbahani et al., 2020)	
1436.57					
1367.41					

1265.49					
1231.82	1237	C-O-C bond C-OH groups	aromatic acid ester phenolic compounds	(Behbahani et al., 2020)	
1205.2					
1122.47	1126.43 1124 1120	C=N stretching C-O and C-OH bonds)	Imine	(Lewa & Gugule, 2022) (Behbahani et al., 2020) (Popa, Fetea, et al., 2021b)	
1031.36	1010	CO-O-CO stretches	anhydride	(Nawaz et al., 2023)	
996.69	973 972	C-H bond		(Behbahani et al., 2020) (Popa, Fetea, et al., 2021b)	
911.46	900-675	aromatic C=C		(Adinew, 2014)	
851.35	900-675	aromatic C=C		(Adinew, 2014)	
804.76	900-675	aromatic C=C		(Adinew, 2014)	
746.30	748 746	benzene rings = CH)		(Behbahani et al., 2020) (Popa, Fetea, et al., 2021b)	
688.62	689 686	vibration absorption of alkanes vibration specific to alkenes	Alkanes Alkenes	(Behbahani et al., 2020) (Popa, Fetea, et al., 2021b)	
647.03					
595.93					
555.05					

**Bibliografie**

- Adinew, B. (2014). GC-MS and FT-IR analysis of constituents of essential oil from Cinnamon bark growing in South-west of Ethiopia. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(6), 22–31.
- Behbahani, B. A., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M., & Tabatabaee Yazdi, F. (2020). Chemical Composition and Antioxidant, Antimicrobial, and Antiproliferative Activities of *Cinnamomum zeylanicum* Bark Essential Oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/5190603>
- Boughendjioua, H., & Djeddi, S. (2018). *Study of The Organoleptic and Physicochemical Properties of Cinnamon Essential Oil (Cinnamomum zeylanicum)*.
- Lewa, S., & Gugule, S. (2022). Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) Bark Essential Oil as Raw Material for Skin Cream and Anti-Bacterial. *Acta Chimica Asiana*, 5(1), 158–165. <https://doi.org/10.29303/aca.v5i1.80>
- Li, Y., Kong, D., & Wu, H. (2013). Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products*, 41, 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.056>
- Liyanage, T., Madhujith, T., & Wijesinghe, K. G. G. (2017). Comparative study on major chemical constituents in volatile oil of true cinnamon (*Cinnamomum verum* Presl. Syn. *C. zeylanicum* Blum.) and five wild cinnamon species grown in Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research*, 28(3), 270. <https://doi.org/10.4038/tar.v28i3.8231>
- Munhuweyi, K., Caleb, O. J., Van Reenen, A. J., & Opara, U. L. (2018). Physical and antifungal properties of  $\beta$ -cyclodextrin microcapsules and nanofibre films containing cinnamon and oregano essential oils. *LWT*, 87, 413–422. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.012>
- Nawaz, A., Ali, T., Naeem, M., Hussain, F., Li, Z., & Nasir, A. (2023). Biochemical, structural characterization and in-vitro evaluation of antioxidant, antibacterial, cytotoxic, and antidiabetic activities of nanosuspensions of *Cinnamomum zeylanicum* bark extract. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1194389. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1194389>
- Popa, R. M., Fetea, F., & Socaciu, C. (2021). Attenuated Total Reflectance –Fourier Transform Infrared Spectroscopy applied for the evaluation of essential oils' pattern recognition and thermo-oxidative stability: A comparative study. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Chemia*, 66(4), 33–50. <https://doi.org/10.24193/subbchem.2021.4.03>
- Saeedi, M., Iraj, A., Vahedi-Mazdabadi, Y., Alizadeh, A., Edraki, N., Firuzi, O., Eftekhari, M., & Akbarzadeh, T. (2022). *Cinnamomum verum* J. Presl. Bark essential oil: In vitro investigation of anti-cholinesterase, anti-BACE1, and neuroprotective activity. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22(1), 303. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03767-y>
- Teles, A. M., Rosa, T. D. D. S., Mouchrek, A. N., Abreu-Silva, A. L., Calabrese, K. D. S., & Almeida-Souza, F. (2019). *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, and *Curcuma longa* Essential Oils: Chemical Composition, Antimicrobial and Antileishmanial Activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/2421695>
- Vazirian, M., Alehabib, S., Jamalifar, H., Fazeli, M. R., Toosi, A. N., & Khanavi, M. (2015). Antimicrobial effect of cinnamon (*Cinnamomum verum* J. Presl) bark essential oil in cream-filled cakes and pastries. *Research Journal of Pharmacognosy (RJP)*, 2(4), 11–16.

## Fișa caracterizare

### Ulei esențial de CIMBRU de grădină (*Satureja hortensis*) – Cod T-EO

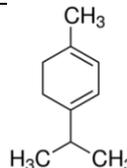
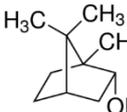
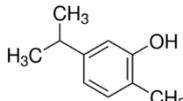
#### I. Date de identificare / Producător / Distribuitor Ro

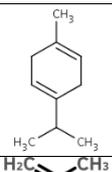
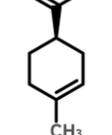
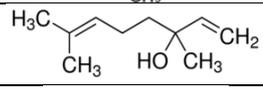
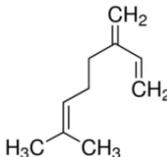
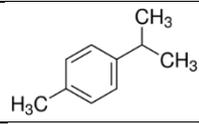
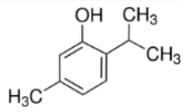
Denumire comercială:	ULEI ESENȚIAL DE CIMBRU – ulei esențial pur <i>Satureja hortensis</i>
EINECS number:	283-922-8
CAS number	84775-98-4
Ingrediente	Ulei esențial de Cimbru ( <i>Satureja hortensis</i> ) – 100%, obținut prin distilarea cu vapori de apă din părțile aeriene ale plantei.
Utilizare:	Uz cosmetic, masaj, inhalatii
Distribuitor în România:	Santo Raphael S.R.L./Produse Steaua divină <a href="https://www.steauadivina.ro/">(https://www.steauadivina.ro/);</a> <a href="https://www.steauadivina.ro/cumpara/steaua-divina-ulei-esential-de-cimbru-10ml-1448">https://www.steauadivina.ro/cumpara/steaua-divina-ulei-esential-de-cimbru-10ml-1448</a>

#### II. Proprietăți fizico-chimice

Aspect:	lichid omogen
Culoare:	galben spre brun gălbui
Miros:	caracteristic: fenolic
Punct de inflamabilitate:	+64°C
Densitate la 20°C:	0.875-0.954 g/cm <sup>3</sup>
Indice de refracție la 20°C:	1.486-1.505
Rotație optică:	-5° la +4°

#### III. Compoziție chimică

Component chimic	Concentrație(%)	Identificare CAS*, EC**	Formulă moleculară	Formulă structurală
$\alpha$ -Terpinene	<5%	N CAS: 99-86-5 N CE: 202-795-1	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	
Borneol	<1%	N CAS: 507-70-0 N CE: 208-080-0	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	
Carvacrol	30-50%	N CAS: 499-75-2 N CE: 207-889-6	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	

$\gamma$ -Terpinene	20-40%	N CAS: 99-85-4 N CE: 202-794-6	$C_{10}H_{16}$	
D-Limonene	<1%	N CAS: 5989-27-5 N CE: 227-813-5	$C_{10}H_{16}$	
Linalool	<1%	N CAS: 78-70-6 N CE: 201-134-4	$C_{10}H_{18}O$	
Myrcene	<5%	N CAS: 123-35-3 N CE: 204-622-5	$C_{10}H_{16}$	
p-Cymene	5-18%	N CAS: 99-87-6 N CE: 202-796-7	$C_{10}H_{14}$	
Tymol	<1%	N CAS: 89-83-8 N CE: 201-944-8	$C_{10}H_{14}O$	

Notă: \*CAS- Chemical Abstracts Service; Număr CAS - standard internațional de înregistrare și identificare pentru substanțele chimice descrise în literatura de specialitate; \*\*ECHA – European Chemical Agency, cod/număr CE- cod de identificare substanțe chimice cuprinse în inventarul substanțelor chimice al ECHA

#### IV. Informații toxicologice și ecologice

Component chimic	LD50 (ingestie)	LD50 (contact cu pielea)	LC50 (inhalatie)
$\alpha$ -Terpinene	1680 mg/kg (șobolan)	/	/
Borneol	4300 mg/kg (șobolan)	> 3000 mg/kg (iepure)	/
Carvacrol	810 mg/kg	/	/
$\gamma$ -Terpinene	3650 mg/kg (șobolan)	/	/
Limonene	4400 mg/kg (șobolan)	> 5000 mg/kg (iepure)	/
Linalool	2790 mg/kg (șobolan)	5610 mg/kg (iepure)	/
Myrcene	> 11390 mg/kg (șobolan)	> 5000 mg/kg (iepure)	/
p-Cymene	1400 mg/kg (șobolan)	> 5000 mg/kg	/
Tymol	980 mg/kg (șobolan)	> 2000 mg/kg (șobolan)	/

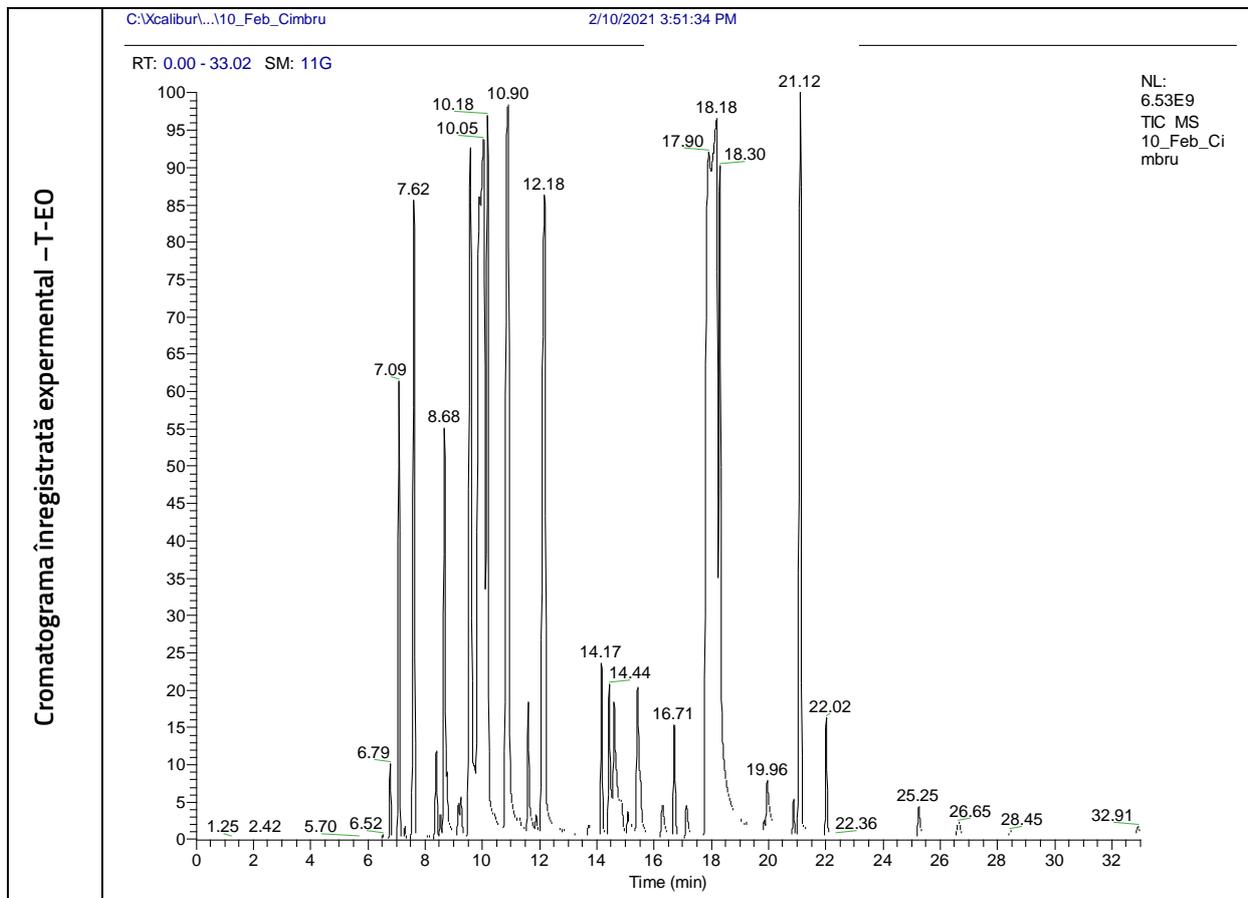
Eco info:

A se preveni contaminarea solului, apelor de suprafață și subterane.

Biodegradabilitatea nu a fost determinată

A se evita eliminarea prin deversare în sistemele de canalizare și în mediu.

## V. Compoziție chimică determinată experimental (analiză GC-MS)



Identificare componentă, calcul și procente relative (picuri identificate)	Rezultate: T-EO		Număr picuri detectate = 20		Număr total picuri=27	
	Denumire component identificat	Apex RT	Procent arie (relativ picuri identificate)	CAS	Formulă	Clasă compuși
	Tricyclene	6,79	0,44	508-32-7	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	<b>1R (+)-<math>\alpha</math>-Pinene**</b>	7,09	<b>3,05</b>	7785-70-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	Camphene	7,62	4,99	79-92-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Pinene**	8,4	<b>0,68</b>	80-56-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Pinene**	8,68	<b>3,50</b>	80-56-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Terpinen	9,89	<b>15,07</b>	99-86-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	<b>1,8-Cineole (Eucalyptol)</b>	10,19	<b>4,63</b>	470-82-6	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Eter ciclic monoterpenic
	$\gamma$ -Terpinen	10,9	<b>11,37</b>	99-85-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	p-Mentha-1,4(8)-diene (Carvone, Limonene)	11,61	1,04	D,L 138-86-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	Monoterpene
	$\alpha$ -Linalool -	12,17	<b>9,42</b>	598-07-2	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	Isoborneol	14,17	1,12	124-76-5	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	Borneol	14,44	0,85	507-70-0	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	4-Terpinenol (p-Menth-1-en-4-ol, 4-Carvo-menthenol)	14,61	0,92	562-74-3	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic

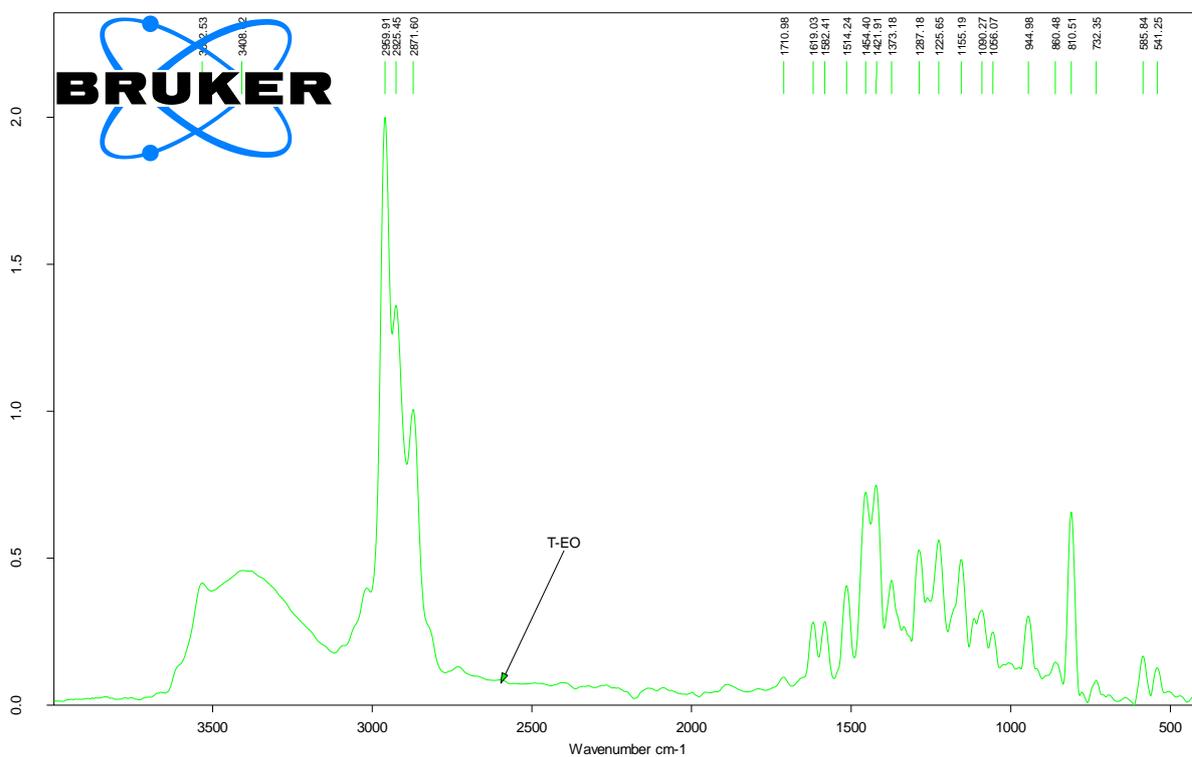
	$\alpha$ -Terpineol (p-Menth-1-en-8-ol)	15,43	1,78	10482-56-1	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	Alcool terpenic
	Anthranilic acid	16,71	0,87	118-92-3	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	Amino-acid aromatic
	Carvacrol***	17,9	16,00	499-75-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	Fenoli
	Carvacrol***	18,03	13,00	499-75-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	Fenoli
	Carvacrol***	18,3	3,22	499-75-2	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	Fenoli
	$\beta$ -Caryophyllene	21,12	7,28	87-44-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesqui-terpene
	$\alpha$ -Caryophyllene	22,02	0,78	6753-98-6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	Sesqui-terpene
	<b>Total</b>		<b>100.00%</b>			

## VI. Date comparative literatură

Denumire identificat	component	T-EO exp*	Conținut procentual %					
			Ref 1	Ref 2	Ref 3	Ref 4	Ref 5	Ref 6
Tricyclene		0,44						
Camphene		4,99			0.5			0.15
$\alpha$ -Pinene ** (cumulat 3 picuri)		7.23* *	2.15		5.1		1.03	2.91
$\alpha$ -Terpinen		15,07	5.0		10.2		4.25	2.93
p-Cymene (p-Cymol)			8.05	13.8	11.1		2.23	6.30
o-Cymene					15.11			
1,8-Cineole (Eucalyptol)		4,63						
Sylvestrene					3.0			
$\gamma$ -Terpinen		11,37	42.35	41.3	27.4	37.86	23.19	20.72
Limonene (Carvene, p-Mentha-1,4(8)-diene)		1,04	0.77			0.56	0.37	2.55
$\alpha$ -Linalool -		9,42						
Isoborneol		1,12						
Borneol		0,85						
4-Terpinenol (p-Menth-1-en-4-ol, 4-Carvo-menthenol)		0,92			1.0		0.21	0.17
$\alpha$ -Terpineol (p-Menth-1-en-8-ol)		1,78						
Anthranilic acid		0,87						

Carvacrol*** (cumulat picuri)	3	32.2 2	32.83	31.6	23.7	13.2 2	61.17	24.50
Thymol					0.6	13.4 9		23.12
$\beta$ -Caryophyllene		7,28	2.22		0.8	1.49	0.62	
$\alpha$ -Caryophyllene		0,78						
$\alpha$ -Thujene			1.93		3.9	3.69	1.78	1.24
Sabinene			0.66					
$\beta$ -Pynene			2.36		3.0	1.37	0.34	0.92
$\alpha$ -phellandrene			0.63		1.2		0.46	0,74
cis -Sabinene-hydrate			0.87					
$\beta$ -Bisabolene			0.79		1.1		0.74	2.20
Myrcene					5.1	3.93	1.86	1.98
$\delta$ -Carene						6.08		
$\alpha$ -Thujone						0.54		
Camphor						0.52		
Cyclopantene								0.21
L-Carvone								0.54
Carvacryl acetate								0.75
Aromanderene								0.34
Ledene								0.19
$\alpha$ -Bisabolene								0.19
Spathalenol								0.23
Caryophelene oxide								1.70
Benzenemethanol								0.19
<b>Total (%)</b>		<b>100,0*</b> <b>relativ</b>	<b>100,61</b>	<b>86,70</b>	<b>97,70</b>	<b>97,86</b>	<b>98,25</b>	<b>94,77</b>
<b>Referințe:</b>	1-Ref (Chambre et al., 2020); 2-Ref (Pănek et al., 2014b); 3-Ref (Mohammadhosseini & Beiranvand, 2013); 4-Ref. (Popovici et al., 2019); 5-Ref. (Skubij & Dzida, 2019); 6-Ref (Omidbeygi et al., 2007)							

## VII. Analiza FTIR


 Fig.1 Spectrul FTIR-ATR a uleiului esențial de Cimbru (*Satureja hortensis*)

 Tab.2. Valorile peak-urilor din spectrul uleiului esențial de Cimbru (*Satureja hortensis*) și atribuirea lor pe baza datelor din literatură

Ulei esențial	Număr de undă Val exp.	Valoare referință literatură	Atribuire		Referință
			Legături-grupări funcționale	Component chimic EO	
T-EO	3522.5	3200-3600	-OH stretching vibration	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)
	3408.6	3200-3600	-OH stretching vibration	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)
	2959.9		C-H stretching		
	2925.4		C-H stretching		
	2871.6	2818	C-H stretching	$\gamma$ -Terpinen	(Chambre et al., 2020)
	1710.98		C=O vibration		
	1619.03	1590-1659	C=C stretching vibration	Comun pentru constituenți majori ai	(Chambre et al., 2020)

				uleiului T-EO	
1582.40					
1514.24	1516	C-H și CH <sub>2</sub> waggins vibration	p-cymene	(Chambre et al., 2020)	
1454.40	1459	C-C stretching vibration din grupul fenil CH <sub>2</sub> bending vibration	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)	
1421.90	1422	C-C stretching vibration din grupul fenil CH <sub>2</sub> bending vibration	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)	
1373.18	1361, 1380	Symmetric and asymmetric bending of isopropyl groups	Comun pentru constituenți majori ai uleiului T-EO	(Chambre et al., 2020)	
1287.18	1253	C-O stretching vibrations	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)	
1225.65	1253	C-O stretching vibration	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)	
1155.19	1174	Ortho-substitution	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)	
1090.26	1079	Symmetric stretching vibration (C-O-C)	1,8-Cineole	(Farag et al., 2018)	
1056.07	1056	Para-substitution	p-cymene	(Chambre et al., 2020)	
944.97	946	C-C stretching	γ-Terpinen	(Chambre et al., 2020)	
860.48	867	C-H bending vibration	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)	
810.50	812	C-H waggins vibration	Carvacrol	(Chambre et al., 2020)	
	813	C-H și CH <sub>2</sub> wagging vibration	p-cymene	(Chambre et al., 2020)	
732.35					
585.84					

	541.25	541	C=C bending vibration out of plane	p-cymene	(Farag et al., 2018)
--	--------	-----	------------------------------------	----------	----------------------

### Bibliografie

- Chambre, D. R., Moisa, C., Lupitu, A., Copolovici, L., Pop, G., & Copolovici, D.-M. (2020). Chemical composition, antioxidant capacity, and thermal behavior of *Satureja hortensis* essential oil. *Scientific Reports*, *10*(1), 21322. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78263-9>
- Farag, N. F., El-Ahmady, S. H., Abdelrahman, E. H., Naumann, A., Schulz, H., Azzam, S. M., & El-Kashoury, E.-S. A. (2018). Characterization of essential oils from Myrtaceae species using ATR-IR vibrational spectroscopy coupled to chemometrics. *Industrial Crops and Products*, *124*, 870–877. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.066>
- Mohammadhosseini, M., & Beiranvand, M. (2013). Chemical Composition of the Essential Oil from the Aerial Parts of *Satureja hortensis* As a Potent Medical Plant Using Traditional Hydrodistillation. *Journal of Chemical Health Risks*, *3*(4), 43–54.
- Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., & Naghdibadi, H. (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, *18*(12), 1518–1523. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.12.003>
- Pánek, M., Reinprecht, L., & Hulla, M. (2014). Ten Essential Oils for Beech Wood Protection—Efficacy Against Wood-destroying Fungi and Moulds, and Effect on Wood Discoloration. *BioResources*, *9*(3), 5588–5603. <https://doi.org/10.15376/biores.9.3.5588-5603>
- Popovici, R., Vaduva, D., Pinzaru, I., Dehelean, C., Farcas, C., Coricovac, D., Danciu, C., Popescu, I., Alexa, E., Lazureanu, V., & Stanca, H. (2019). A comparative study on the biological activity of essential oil and total hydro-alcoholic extract of *Satureja hortensis* L. *Experimental and Therapeutic Medicine*. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7635>
- Skubij, N., & Dzida, K. (2019). Essential oil composition of summer savory (*Satureja hortensis* L.) cv. Saturn depending on nitrogen nutrition and plant development phases in raw material cultivated for industrial use. *Industrial Crops and Products*, *135*, 260–270. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.057>

Baza de date Capitolul 6 - BD-03

BD-03/1

Cod: R-03-1/B-EO/RS

## FIȘĂ DE REZULTATE

Evaluarea potențialului biocid antifungic pentru uleiul esențial de  
Busuioc (*Ocimum basilicum*) cod B-EO

Solvent:	Etanol
Concentrații:	100%, 10%, 1%, 0,25%
Specii fungi:	<i>Trametes versicolor</i> -TV, <i>Serpula lacrymans</i> - SL
Tip test screening:	RS (test realizat în Slovacia)

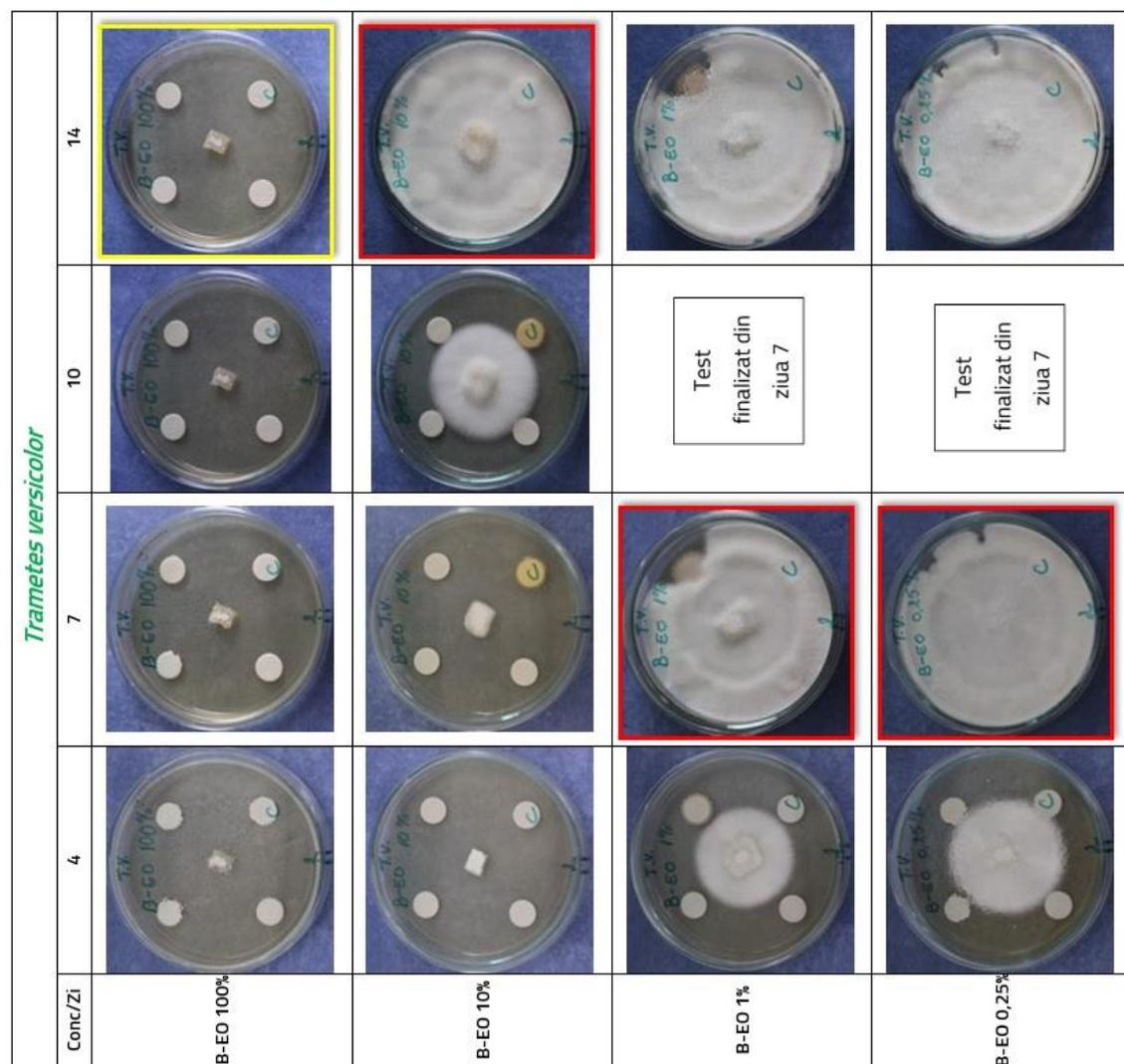


Fig.1 Evoluția ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor* TV pe durata testului (max 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Busuioc B-EO (*Ocimum basilicum*)

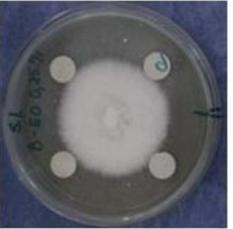
		<i>Serpula lacrymans</i>			
Conc/Zi	4	7	10	14	
B-EO 100%					
B-EO 10%					
B-EO 1%			Test finalizat din ziua 7		
B-EO 0,25%			Test finalizat din ziua 7		

Fig.2 Evoluția ciupercii de putregai brun *Serpula lacrymans* Sl pe durata testului (max. 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Busuioc B-EO (*Ocimum basilicum*)

Tab.1 Valorile celor doi indici: de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru uleiul esențial de Busuioc B-EO (*Ocimum basilicum*) și ambele ciuperci (*Trametes versicolor* și *Serpula lacrymans*)

Fungi	Ulei esențial Conc/Zile	B-EO			
		4	7	10	14
<i>Trametes versicolor</i>	0,25%	1,67	0,00	0,00	0,00
	1%	3,75	0,00	0,00	0,00
	10%	100,00	0,00	4,90	0,00
	100%	100,00	100,00	100,00	100,00
<i>Serpula lacrymans</i>	0,25%	0,00	0,00	0,00	0,00
	1%	0,00	0,00	0,00	0,00
	10%	100,00	25,00	4,17	0,00
	100%	100,00	100,00	100,00	100,00
$I_{sol}$ - indice inhibiție pe mediu					
$I_{paper}$ - indice inhibiție pe hârtie					

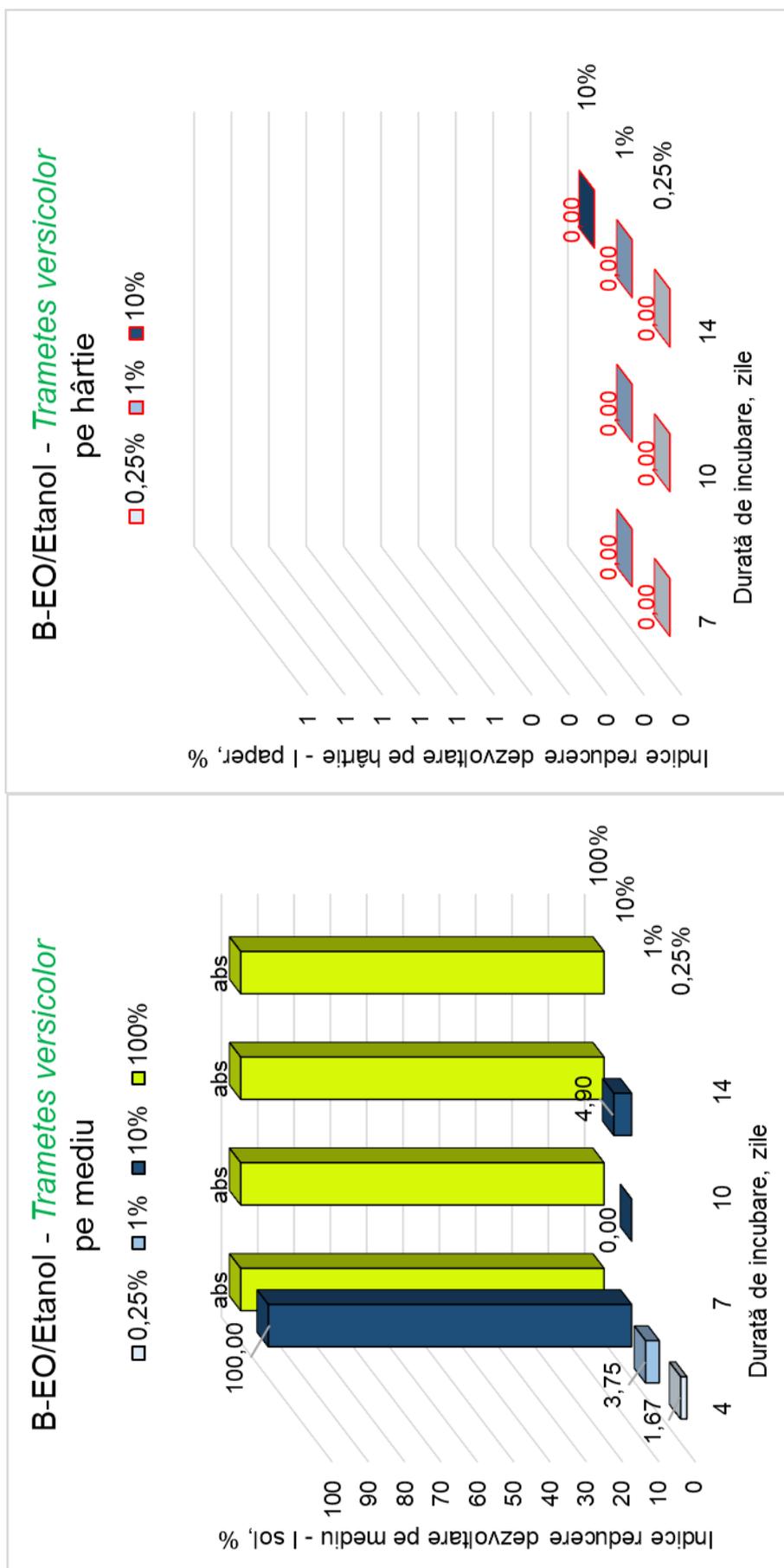


Fig.3 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) (stânga) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Busuioc B-EO (*Ocimum basilicum*) și putregaiul alb (*Trametes versicolor*)

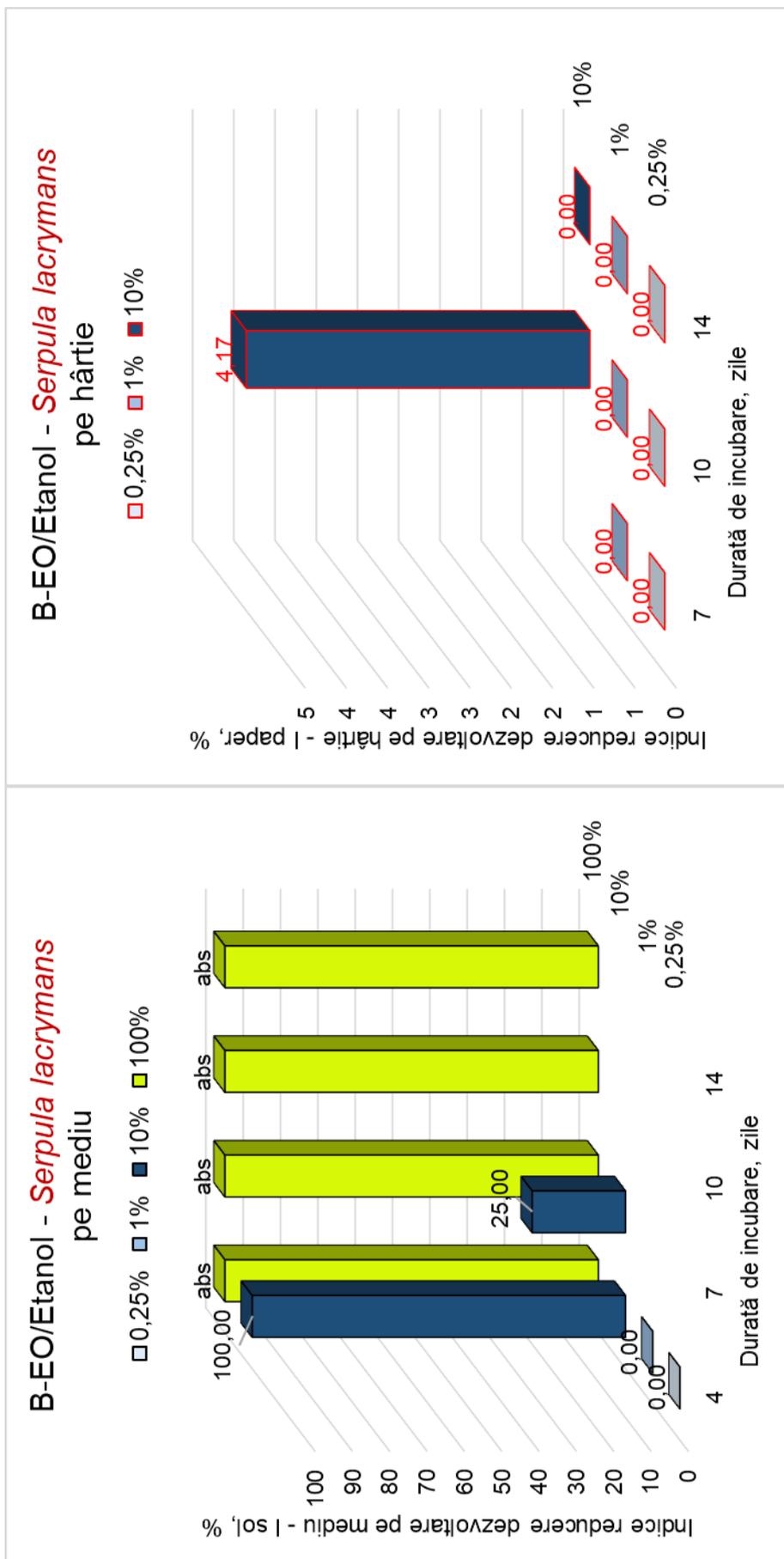


Fig.4 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) (stânga) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Busuioc B-EO (*Ocimum basilicum*) și putregaiul brun (*Serpula lacrymans*)

### Interpretări, discuții și concluzii

În Fig.1 și Fig. 2, la concentrațiile mai mici ale uleiului esențial de **Busuioc B-EO** în Etanol se poate observa faptul că după ziua 7 nu mai apar fotografiile. Chenarul roșu marchează finalul testului pentru fiecare concentrația. Acest lucru se datorează faptului că, conform metodologiei din Zvolen, s-a considerat testul gata în momentul în care miceliul a acoperit în totalitate hârtia control, doar în caz contrar testul continuând până în ziua 14.

La concentrația de 0,25% **B-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o dezvoltare uniformă a miceliului în ambele cazuri de putregai, confirmată și calitativ (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}$ )=0%, deci 0 inhibiție. Prin urmare această concentrație nu prezintă potențial fungicid.

La concentrația de 1% **B-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o dezvoltare uniformă a miceliului în ambele cazuri de putregai, confirmată și calitativ (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}$ )=0%, deci 0 inhibiție. Prin urmare nici această concentrație nu prezintă potențial fungicid.

La concentrația de 10% **B-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ nu se observă nici o creștere în cazul ambelor ciuperci (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). În ziua 7, ambele ciuperci sunt crescute doar pe mediu, uniform în cazul putregaiului alb *Trametes versicolor* și cu o tendință ușoară spre control în cazul putregaiului brun *Serpula lacrymans*. În ziua 10 ciuperca de putregai alb *Trametes versicolor* este încă tot pe mediu, fără inhibiție evidentă, iar ciuperca de putregai brun *Serpula lacrymans* a ajuns pe hârtii, fără inhibiție evidentă (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). La finalul testului (ziua 14), în cazul ambelor ciuperci de putregai, ciuperca a acoperit în totalitate toate hârtiile. Această concentrație prezintă doar o mică întârziere în dezvoltarea ambelor ciuperci, mai pronunțată în cazul putregaiului alb *Trametes versicolor*.

La concentrația de 100% **B-EO** în Etanol, ulei esențial pur, ambele ciuperci nu s-au dezvoltat deloc pe tot parcursul testului. Pare că uleiul esențial de **Busuioc** (*Ocimum basilicum*) s-a volatilizat și a sterilizat incinta cutiei Petri, omorând ciuperca. În acest caz uleiul de **Busuioc** prezintă inhibiție absolută.

BD-03/1

Cod: R-03-1/C-EO/RS

## FIȘĂ DE REZULTATE

Evaluarea potențialului biocid antifungic pentru uleiul esențial de  
Cuișoare (*Eugenia caryophyllata*) cod C-EO

Solvent:	Etanol
Concentrații:	100%, 10%, 1%, 0,25%
Specii fungi:	<i>Trametes versicolor</i> -TV, <i>Serpula lacrymans</i> - SL
Tip test screening:	RS (test realizat în Slovacia)

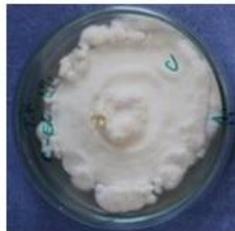
		<i>Trametes versicolor</i>			
		4	7	10	14
Conc/Zi					
C-EO 100%					
C-EO 10%					
C-EO 1%					
C-EO 0,25%			Test finalizat din ziua 7		

Fig.1 Evoluția ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor* TV pe durata testului (max 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*)

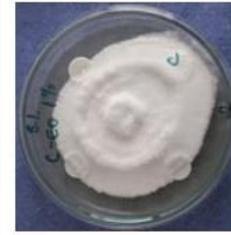
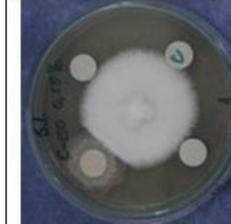
		<i>Serpula lacrymans</i>			
		4	7	10	14
Conc/Zi					
C-EO 100%					
C-EO 10%					
C-EO 1%					
C-EO 0,25%			Test finalizat din ziua 7		

Fig.2 Evoluția ciupercii de putregai brun *Serpula lacrymans* SL pe durata testului (max. 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*)

Tab.1 Valorile celor doi indici: de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru uleiul esențial de Cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) și ambele ciuperci (*Trametes versicolor* și *Serpula lacrymans*)

Fungi	Ulei esențial	C-EO			
		4	7	10	14
<i>Trametes versicolor</i>	Conc/Zile				
	0,25%	0,00	0,00	0,00	0,00
	1%	36,27	76,67	38,89	1,39
	10%	25,56	41,67	0,00	0,00
<i>Serpula lacrymans</i>	100%	25,00	100,00	100,00	0,00
	0,25%	4,76	0,00	0,00	0,00
	1%	20,95	70,83	59,72	30,56
	10%	31,48	43,06	0,00	0,00
$I_{sol}$ - indice inhibiție pe mediu		44,79	100,00	97,22	27,78
$I_{paper}$ - indice inhibiție pe hârtie					

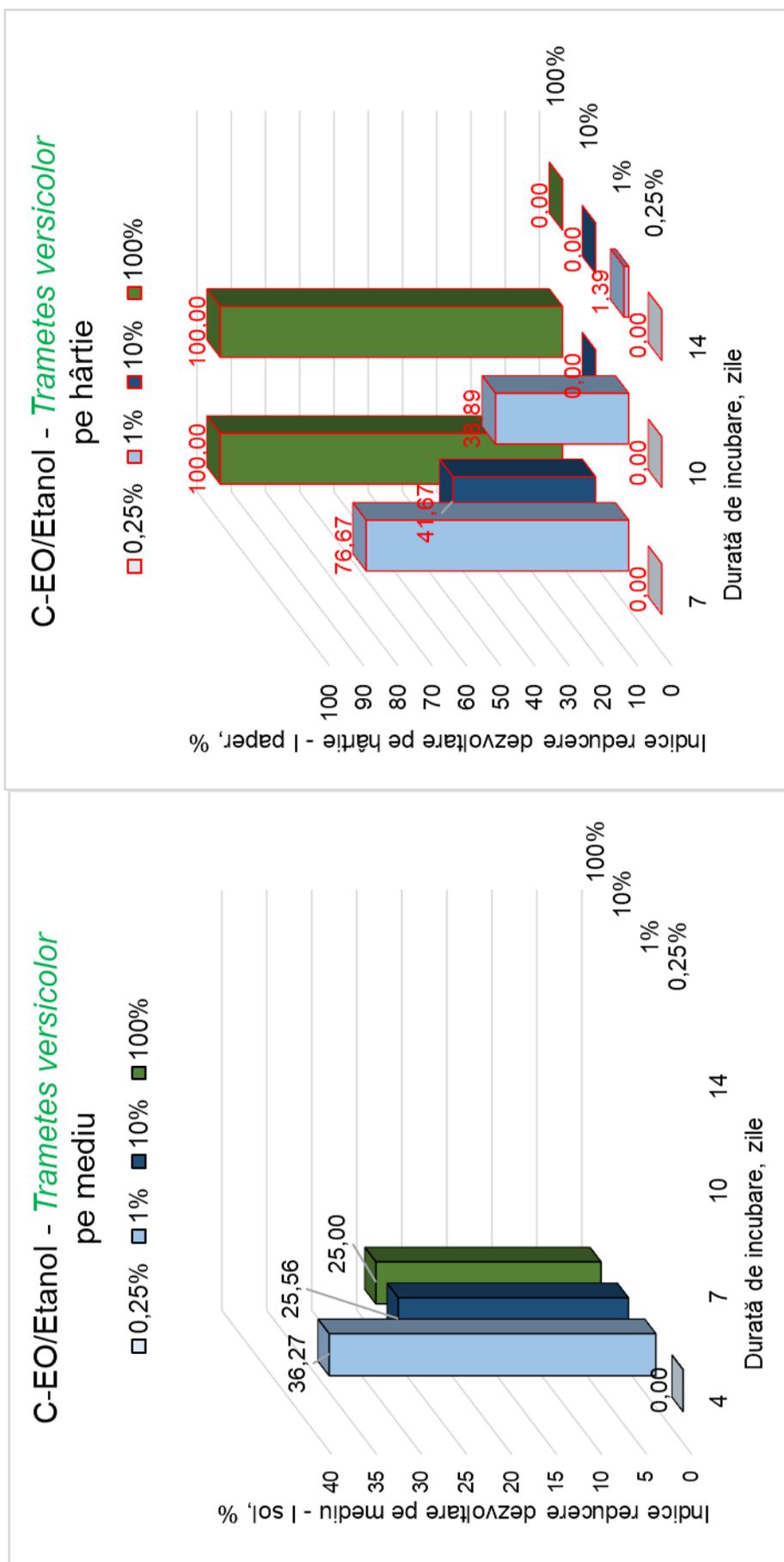


Fig.3 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) (stânga) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) și putregaiul alb (*Trametes versicolor*)

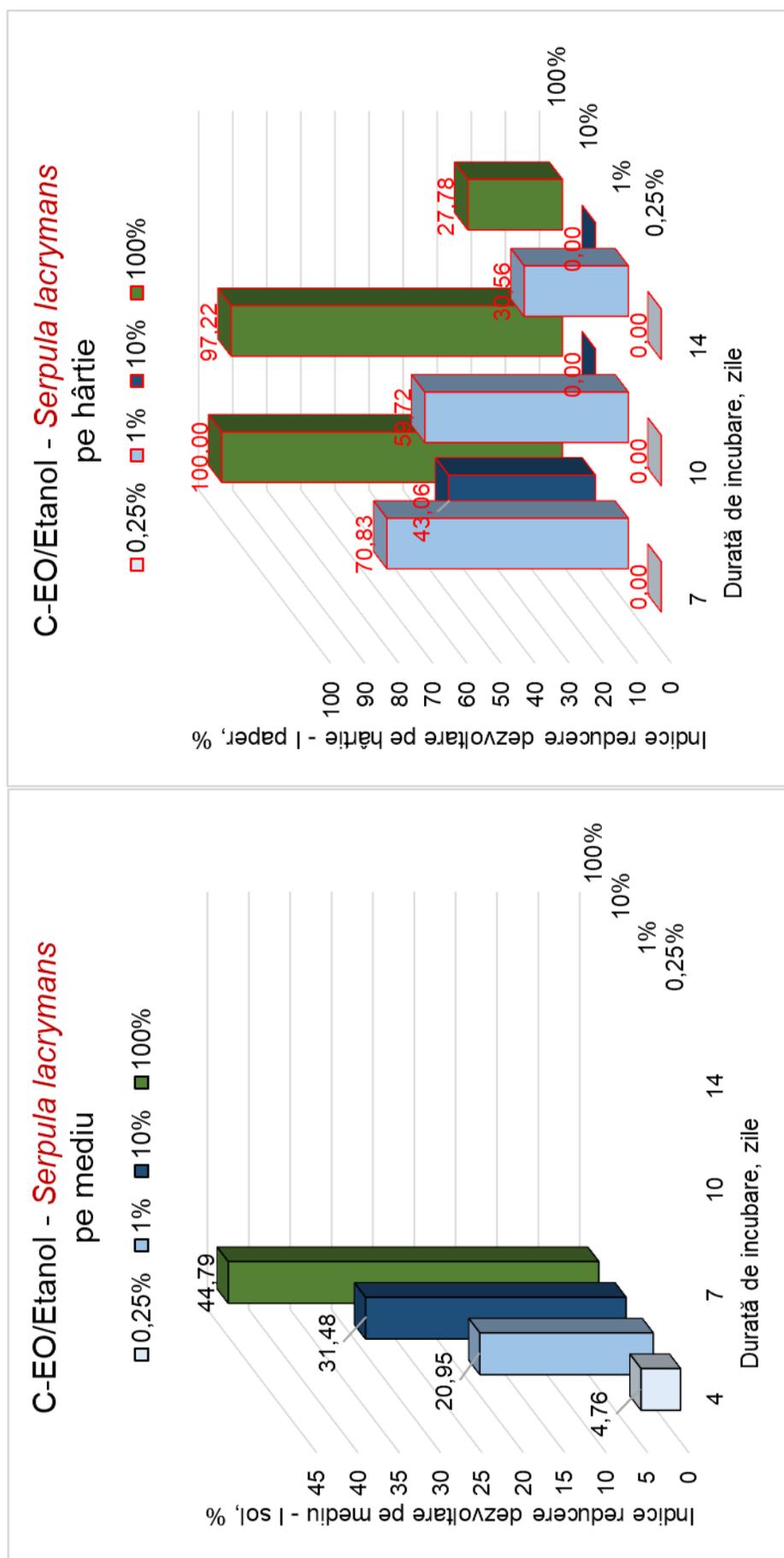


Fig.4 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) (stânga) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Cuișoare C-EO (*Eugenia caryophyllata*) și putregaiul brun (*Serpula lacrymans*)

## Interpretări, discuții și concluzii

În Fig.1 și Fig.2, la concentrația de 0,25% a uleiului esențial de **Cuișoare C-EO** în Etanol se poate observa faptul că în ziua 10 nu mai apar fotografiile. Chenarul roșu marchează finalul testului pentru fiecare concentrație. Acest lucru se datorează faptului că, conform metodologiei din Zvolen, s-a considerat testul gata în momentul în care miceliul a acoperit în totalitate hârtia control, doar în caz contrar testul continuând până în ziua 14.

La concentrația de 0,25% **C-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o dezvoltare uniformă a miceliului în ambele cazuri de putregai, confirmată și calitativ (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}=0\%$ , deci 0 inhibiție (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Prin urmare această concentrație nu prezintă potențial fungicid.

La concentrația de 1% **C-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o creștere a ciupercii înspre hârtia control, în cazul ambelor ciuperci (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1). În ziua 7 ciuperca a acoperit în totalitate hârtia control în cazul ciupercii de putregaiului brun *Serpula lacrymans* valoarea indicelui  $I_{paper}=70,83\%$  (final test) (Fig. 2, Tab.1, Fig.4). În cazul putregaiului alb *Trametes versicolor*, în ziua 7 ciuperca a ajuns pe hârtia control, valoarea indicelui  $I_{paper}=76,67\%$  (Fig.1, Tab.1, Fig.3). În ziua 10, ciuperca de putregai alb *Trametes versicolor* a acoperit în totalitate hârtia control (final test), iar valoarea indicelui  $I_{paper}=38,89\%$  (Fig.1, Tab.1, Fig.3). Inhibiția s-a păstrat până la ziua 14

La concentrația de 10% **C-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o creștere a ciupercii înspre hârtia control, în cazul ambelor ciuperci (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). În ziua 7 ciuperca a acoperit în totalitate hârtia control în cazul ambelor ciuperci (final test). Pentru *Trametes versicolor*  $I_{paper}=41,67\%$ , iar pentru *Serpula lacrymans*  $I_{paper}=43,06\%$ . Din păcate această inhibiție nu se menține până la ziua 14.

La concentrația de 100% **C-EO** în Etanol, ulei esențial pur, în ziua 4 se observă tendința clară de creștere a ciupercii înspre hârtia control, în cazul ambelor tipuri de fungi (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 ciuperca ajunge pe hârtie și prezintă inhibiție totală ( $I_{paper}=100\%$ ), în cazul ambelor tipuri de putregai. În ziua 10 hârtia control este total acoperită (final test) pentru ambele ciuperci. În cazul putregaiului alb *Trametes versicolor* valoarea indicelui  $I_{paper}=100\%$ , iar în cazul putregaiului brun *Serpula lacrymans* valoarea indicelui  $I_{paper}=97,22\%$  (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). În ziua 14 doar în cazul ciupercii de putregai brun *Serpula lacrymans* se mai observă o mică inhibiție.

BD-03/1

Cod: R-03-1/O-EO/RS

## FIȘĂ DE REZULTATE

Evaluarea potențialului biocid antifungic pentru uleiul esențial de  
Oregano (*Origanum vulgare*) cod O-EO

Solvent:	Etanol
Concentrații:	100%, 10%, 1%, 0,25%
Specii fungi:	<i>Trametes versicolor</i> -TV, <i>Serpula lacrymans</i> - SL
Tip test screening:	RS (test realizat în Slovacia)

		<i>Trametes versicolor</i>			
Conc/Zi	4	7	10	14	
O-EO 100%					
O-EO 10%					
O-EO 1%			Test finalizat din ziua 7		
O-EO 0,25%			Test finalizat din ziua 7		

Fig.1 Evoluția ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor* TV pe durata testului (max 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Oregano O-EO (*Origanum vulgare*)

		<i>Serpula lacrymans</i>			
Conc./Zi	4	7	10	14	
O-EO 100%					
O-EO 10%					
O-EO 1%			Test finalizat din ziua 7		
O-EO 0,25%			Test finalizat din ziua 7		

Fig.2 Evoluția ciupercii de putregai brun *Serpula lacrymans* SL pe durata testului (max. 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Oregano O-EO (*Origanum vulgare*)

Tab.1 Valorile celor doi indici: de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru uleiul esențial de Oregano O-EO (*Origanum vulgare*) și ambele ciuperci (*Trametes versicolor* și *Serpula lacrymans*)

Fungi	Ulei esențial Conc/Zile	O-EO			
		4	7	10	14
<i>Trametes versicolor</i>	0,25%	6,67	0,00	0,00	0,00
	1%	8,08	0,00	0,00	0,00
	10%	30,86	54,39	0,00	0,00
	100%	41,67	100,00	100,00	100,00
<i>Serpula lacrymans</i>	0,25%	-2,94	0,00	0,00	0,00
	1%	17,59	0,00	0,00	0,00
	10%	33,33	70,37	0,00	0,00
	100%	55,56	45,83	100,00	100,00
$I_{sol}$ - indice inhibiție pe mediu					
$I_{paper}$ - indice inhibiție pe hârtie					

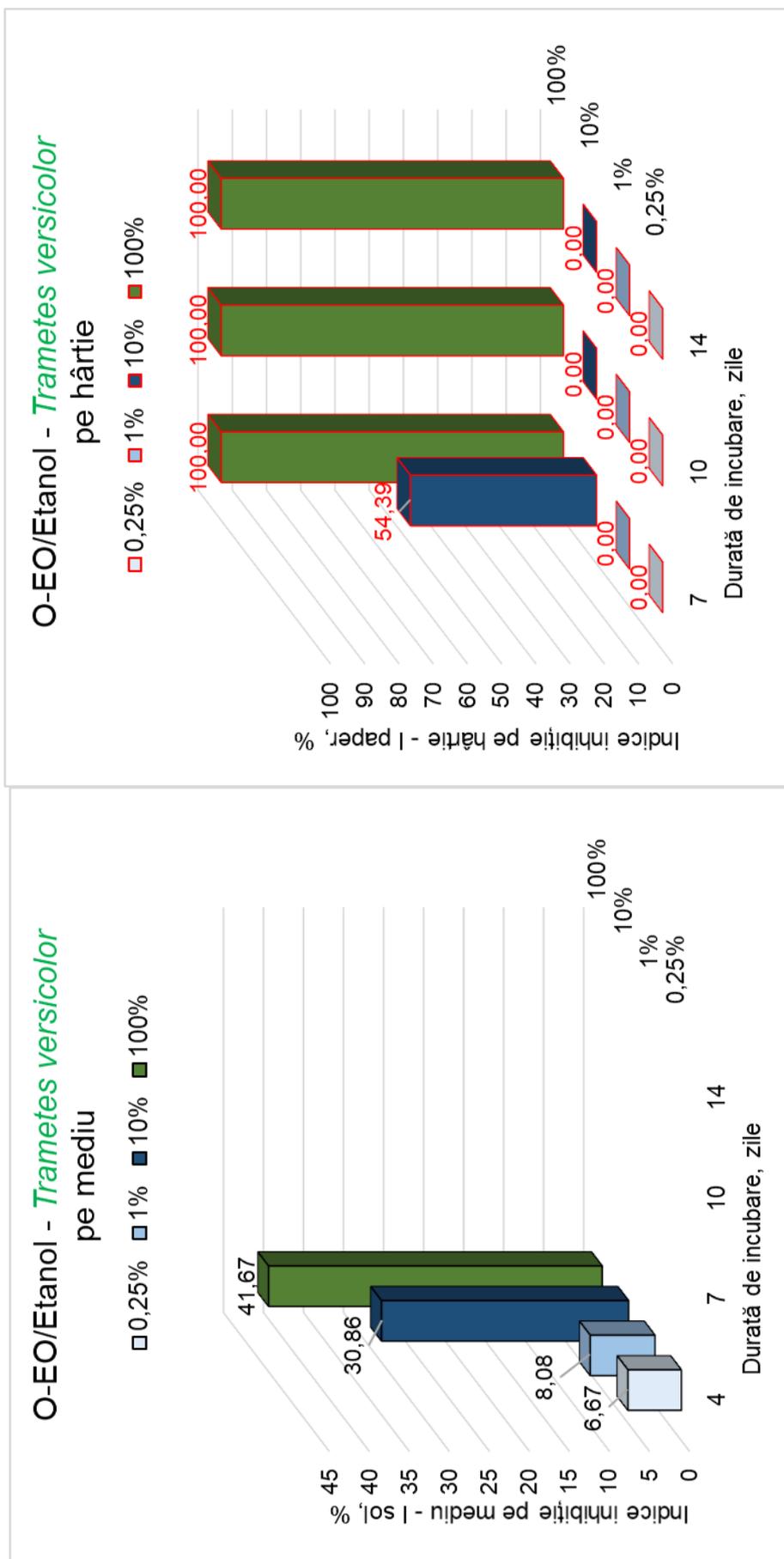


Fig.3 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) (stânga) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Oregano O-EO (*Origanum vulgare*) și putregaiul alb (*Trametes versicolor*)

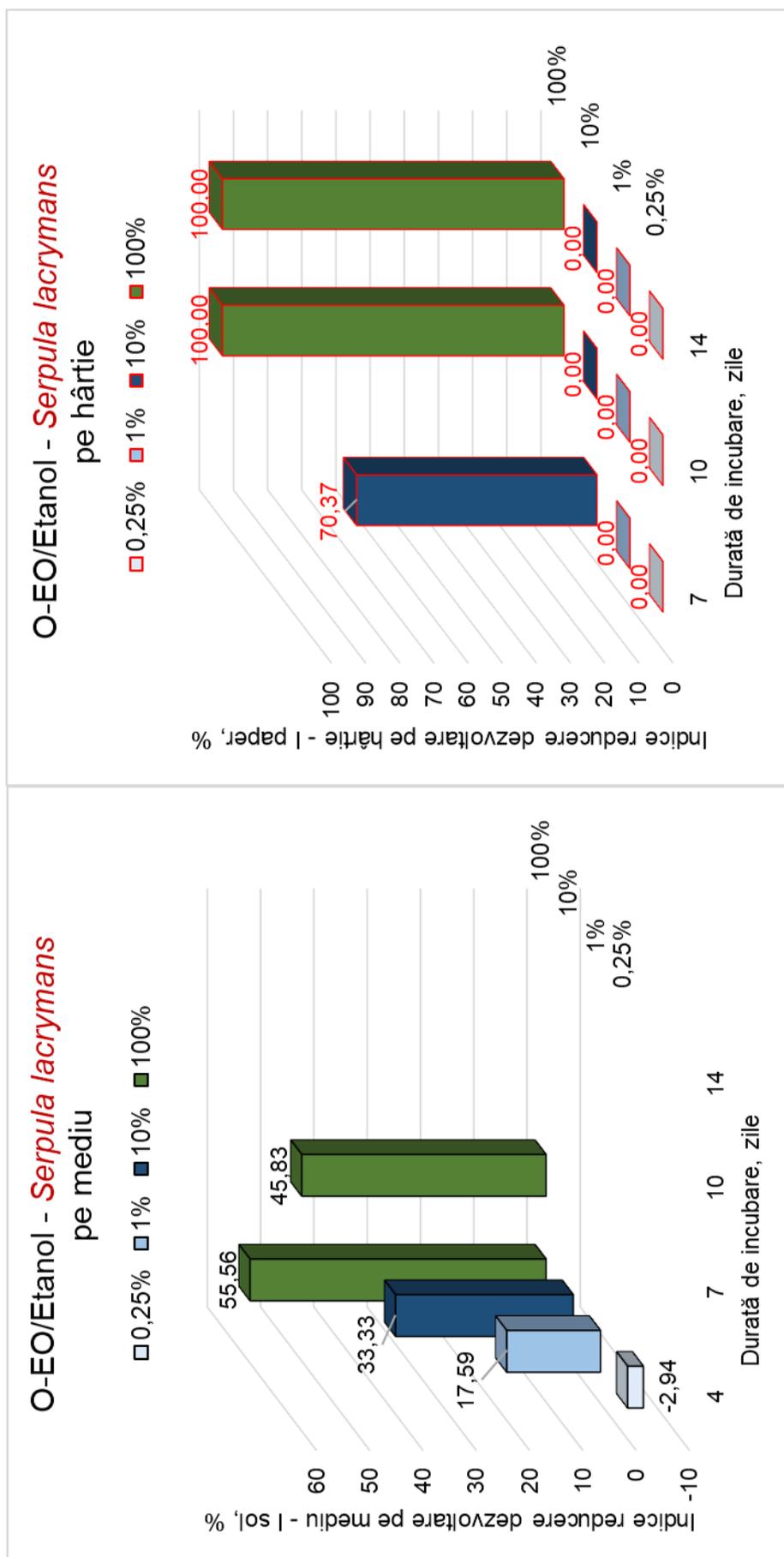


Fig.4 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) (stânga) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Oregano O-EO (*Origanum vulgare*) și putregaiul brun (*Serpula lacrymans*)

## Interpretări, discuții și concluzii

În Fig.1 și Fig.2 la concentrațiile mai mici ale uleiului esențial de **Oregano O-EO** în Etanol se poate observa faptul că după ziua 7 nu mai apar fotografiile. Chenarul roșu marchează finalul testului pentru fiecare concentrația. Acest lucru se datorează faptului că, conform metodologiei din Zvolen, s-a considerat testul gata în momentul în care miceliul a acoperit în totalitate hârtia control, doar în caz contrar testul continuând până în ziua 14.

La concentrația de 0,25% O-EO în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o dezvoltare uniformă a miceliului în ambele cazuri de utregai (Fig.1, Fig.2, Tab.1), totuși cantitativ apar niște deosebiri. În cazul *Trametes versicolor*, apare o mică inhibiție a creșterii pe mediu (Tab.1, Fig.3), iar în cazul *Serpula lacrymans* se observă o tendință de favorizare a creșterii miceliului (Tab.1, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}$ )=0%, deci 0 inhibiție. Prin urmare această concentrație nu prezintă potențial fungicid.

La concentrația de 1% O-EO în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o tendință de dezvoltare a miceliului înspre zona control pentru ambele ciuperci (Fig.1, Fig.2), tendință confirmată și cantitativ (Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}$ )=0%, deci 0 inhibiție. Prin urmare nici această concentrație nu prezintă potențial fungicid acceptabil.

La concentrația de 10% O-EO în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o tendință de dezvoltare a miceliului înspre zona control pentru ambele ciuperci (Fig.1, Fig.2), tendință confirmată și cantitativ (Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a început să crească pe hârtie, cu o ușoară preferință spre control, pentru ambele ciuperci (Fig.1, Fig.2), preferință evidențiată tare în evaluarea cantitativă (Tab.1, Fig.3, Fig.4); mai puternic pentru putregaiul brun *Serpula lacrymans* ( $I_{paper}$ =70,4%) față de putregaiul alb *Trametes versicolor* ( $I_{paper}$ =54,4%). Din ziua 10, se observă atât calitativ cât și cantitativ, că miceliul a acoperit în întregime hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Tab.1, Fig.1, Fig.2, Fig.3, Fig.4). Această concentrație a uleiului de **Oregano (*Origanum vulgare*)** prezintă un oarecare potențial biocid antifungic, în primele zile.

La concentrația de 100% O-EO în Etanol, ulei esențial pur, după 4 zile, calitativ se observă o tendință de dezvoltare a miceliului înspre zona control pentru ambele ciuperci (Fig.1, Fig.2), tendință confirmată și cantitativ (Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a început să crească pe hârtie (doar pe hârtia control) pentru putregaiul alb *Trametes versicolor* ( $I_{paper}$ =100%) (Tab.1, Fig.1, Fig.3), iar în cazul putregaiului brun *Serpula lacrymans*, miceliul a ajuns până la hârtia control ( $I_{sol}$ =45,8%) (Tab.1, Fig.2, Fig.4), prezentând un potențial biocid crescut. Pe parcursul următoarelor zile din test acest potențial a fost doar evidențiat și mai puternic, în cazul ambelor tipuri de putregai, menținându-se o inhibiție totală ( $I_{paper}$ =100) (Tab.1, Fig.1, Fig.2, Fig.3, Fig.4).

BD-03/1

Cod: R-03-1/S-EO/RS

## FIȘĂ DE REZULTATE

Evaluarea potențialului biocid antifungic pentru uleiul esențial de  
Scorțișoară (*Cinnamomum verum*) cod S-EO

Solvent:	Etanol
Concentrații:	100%, 10%, 1%, 0,25%
Specii fungi:	<i>Trametes versicolor</i> -TV, <i>Serpula lacrymans</i> - SL
Tip test screening:	RS (test realizat în Slovacia)

		<i>Trametes versicolor</i>			
		4	7	10	14
Conc./Ziua					
S-EO 100%					
S-EO 10%					
S-EO 1%			Test finalizat din ziua 7		
S-EO 0,25%			Test finalizat din ziua 7		

Fig.1 Evoluția ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor* TV pe durata testului (max 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Scorțișoară S-EO (*Cinnamomum verum*)

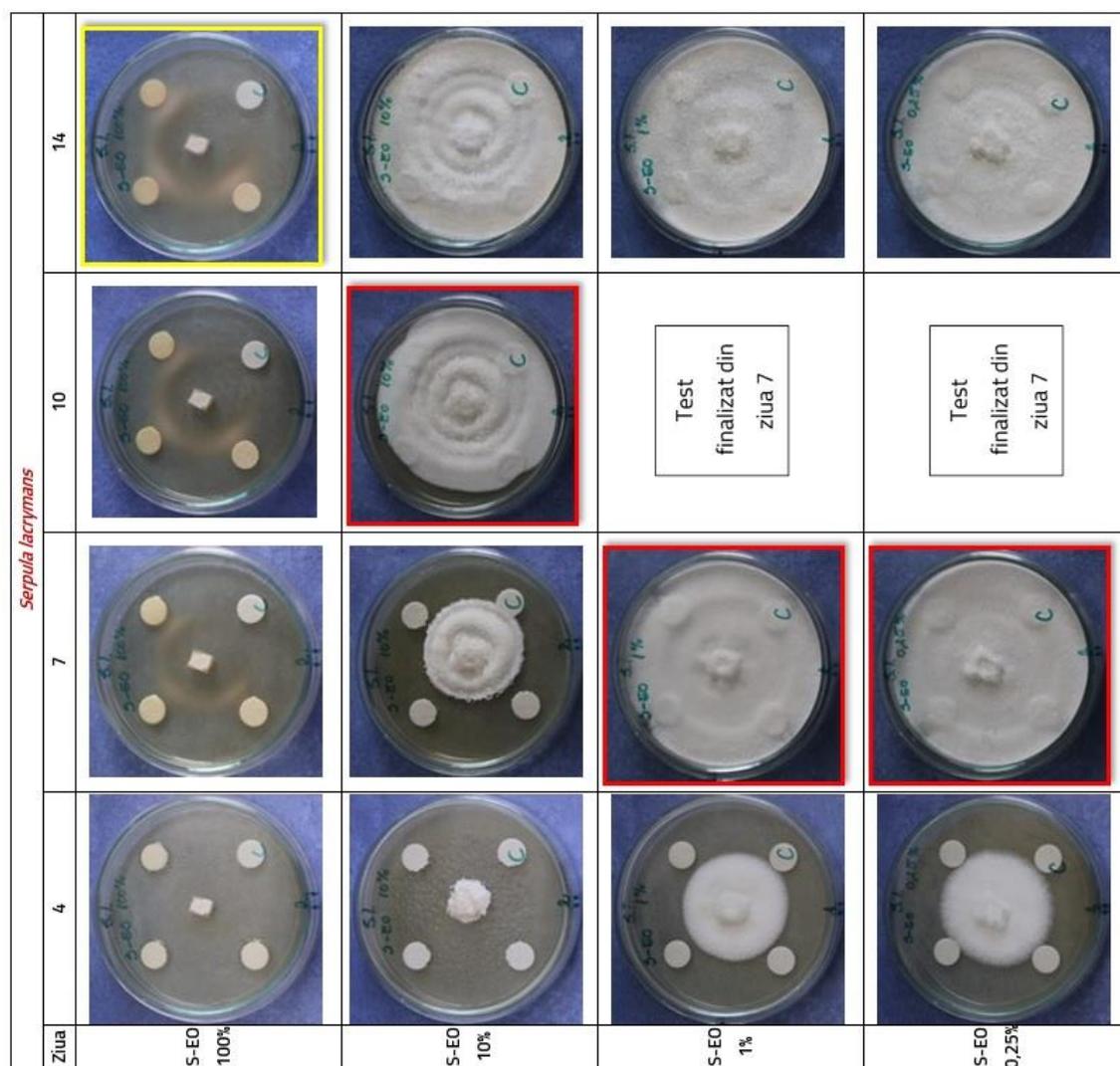


Fig.2 Evoluția ciupercii de putregai brun *Serpula lacrymans* SL pe durata testului (max. 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Scorțișoară S-EO (*Cinnamomum verum*)

Tab.1 Valorile celor doi indici: de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru uleiul esențial de Scorțișoară S-EO (*Cinnamomum verum*) și ambele ciuperci (*Trametes versicolor* și *Serpula lacrymans*)

Fungi	Ulei esențial Conc/Zile	S-EO			
		4	7	10	14
<i>Trametes versicolor</i>	0,25%	-3,16	0,00	0,00	0,00
	1%	15,38	0,00	0,00	0,00
	10%	95,83	50,98	46,67	0,00
	100%	100,00	100,00	100,00	100,00
<i>Serpula lacrymans</i>	0,25%	0,00	0,00	0,00	0,00
	1%	7,50	0,00	0,00	0,00
	10%	70,83	11,11	0,00	0,00
	100%	100,00	100,00	100,00	100,00
$I_{sol}$ - indice inhibiție pe mediu					
$I_{paper}$ - indice inhibiție pe hârtie					

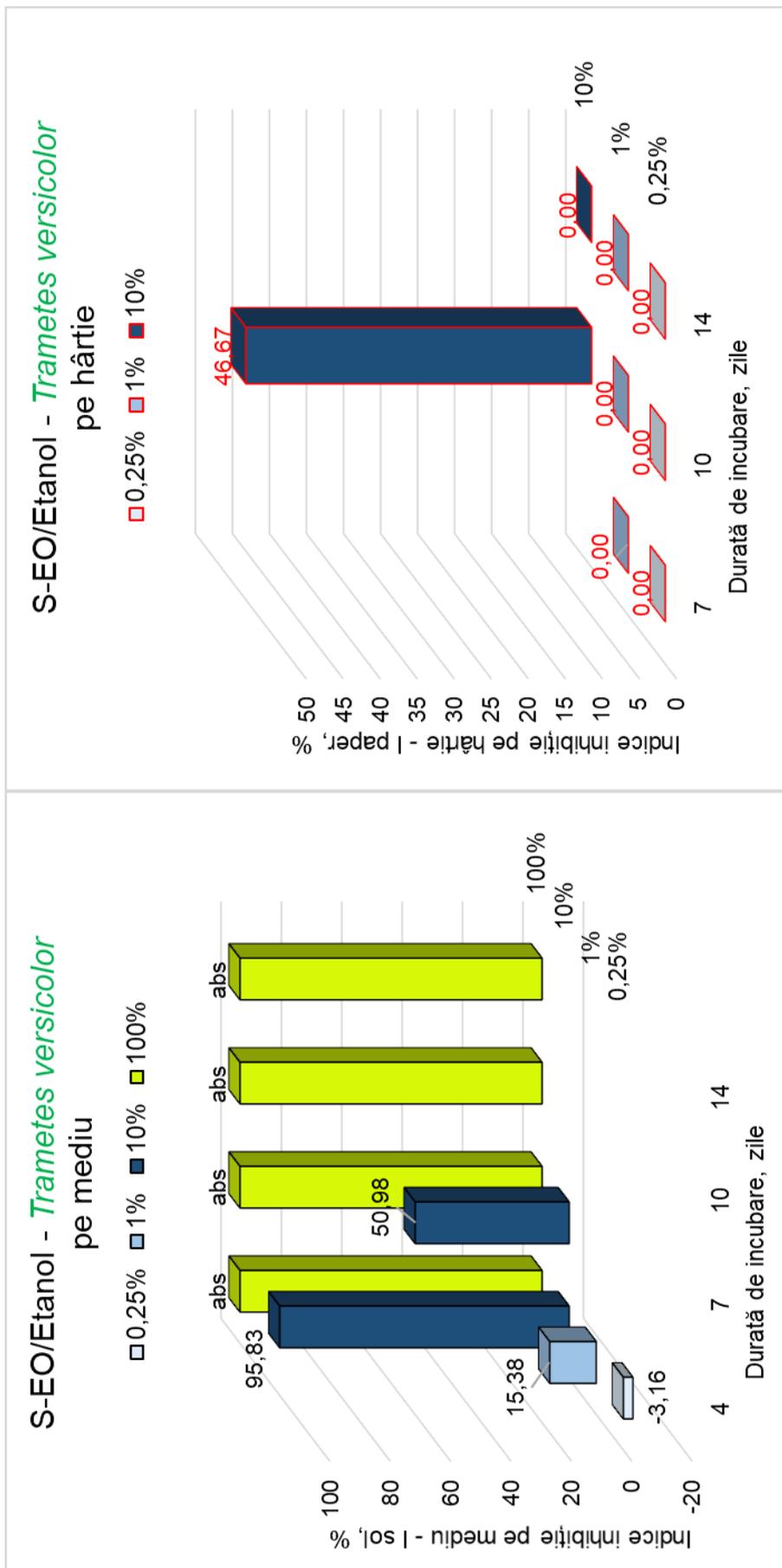


Fig.3 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) (stânga) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Scorțișoară S-EO (*Cinnamomum verum*) și putregaiul alb (*Trametes versicolor*)

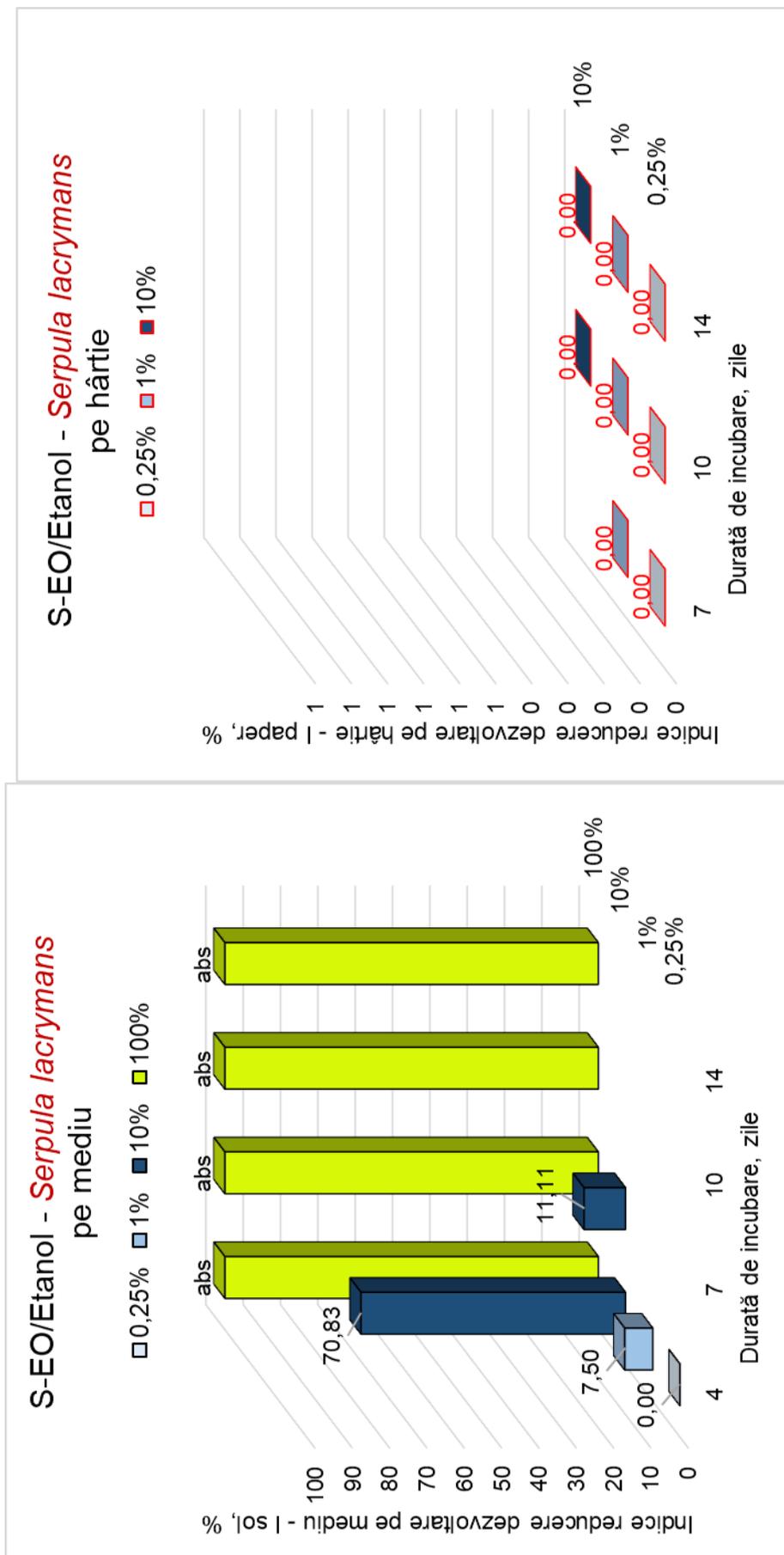


Fig.4 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) (stânga) și pe hârtie ( $I_{paper}$ ) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Scorțișoară S-EO (*Cinnamomum verum*) și putregaiul brun (*Serpula lacrymans*)

## Interpretări, discuții și concluzii

În Fig.1 și Fig.2, la concentrațiile mai mici ale uleiului esențial de **Scorțișoară S-EO** în Etanol se poate observa faptul că după ziua 7 nu mai apar fotografiile. Chenarul roșu marchează finalul testului pentru fiecare concentrația. Acest lucru se datorează faptului că, conform metodologiei din Zvolen, s-a considerat testul gata în momentul în care miceliul a acoperit în totalitate hârtia control, doar în caz contrar testul continuând până în ziua 14.

La concentrația de 0,25% **S-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o dezvoltare uniformă a miceliului în ambele cazuri de putregai, confirmată și calitativ (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}$ )=0%, deci 0 inhibiție. Prin urmare această concentrație nu prezintă potențial fungicid.

La concentrația de 1% **S-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o dezvoltare uniformă a miceliului în ambele cazuri de putregai, confirmată și calitativ (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}$ )=0%, deci 0 inhibiție. Prin urmare nici această concentrație nu prezintă potențial fungicid.

La concentrația de 10% **S-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o creștere a ciupercii înspre hârtia control, în cazul ambelor ciuperci (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). În ziua 7 ciuperca este încă tot pe mediu și tendința de dezvoltare înspre control se păstrează. În cazul putregaiului alb *Trametes versicolor*  $I_{sol}$ =50,98%, iar în cazul putregaiului brun *Serpula lacrymans* valoarea indicelui  $I_{sol}$ =11,11% este mai mică (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 10 ciuperca ajunge pe hârtii, în cazul putregaiului alb *Trametes versicolor* prezentând ceva potențial ( $I_{paper}$ =46,67%), în schimb 0 eficiență în cazul putregaiului brun *Serpula lacrymans*. (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). La această concentrație uleiul esențial de Scorțișoară, prezintă ceva potențial pe parcursul testului, dar care nu se menține până la final.

La concentrația de 100% **S-EO** în Etanol, ulei esențial pur, ambele ciuperci nu s-au dezvoltat deloc pe tot parcursul testului. Pare că uleiul esențial de **Scorțișoară (*Cinnamomum verum*)** s-a volatilizat și a sterilizat incinta cutiei Petri, omorând ciuperca (Fig. 1, Fig. 2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). În acest caz uleiul de **Scorțișoară** prezintă inhibiție absolută.

BD-03/1

Cod: R-03-1/T-EO/RS

## FIȘĂ DE REZULTATE

Evaluarea potențialului biocid antifungic pentru uleiul esențial de  
Cimbru (*Satureja hortensis*) cod T-EO

Solvent:	Etanol
Concentrații:	100%, 10%, 1%, 0,25%
Specii fungi:	<i>Trametes versicolor</i> -TV, <i>Serpula lacrymans</i> - SL
Tip test screening:	RS (test realizat în Slovacia)

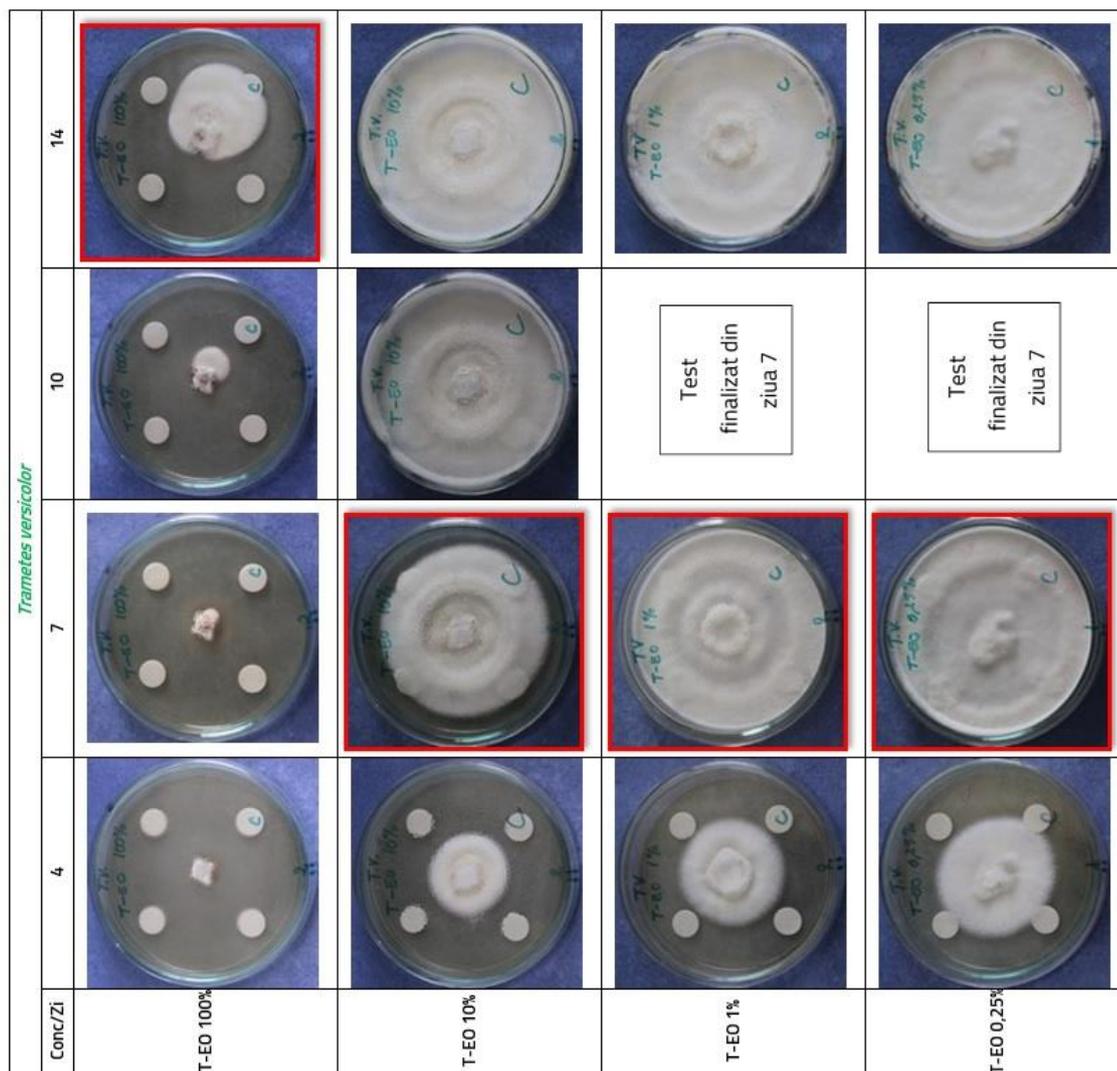


Fig.1 Evoluția ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor* TV pe durata testului (max 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Cimbru T-EO (*Satureja hortensis*)

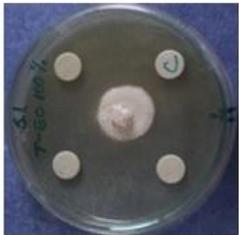
		<i>Serpula lacrymans</i>			
Conc/ZI	4	7	10	14	
T-EO 100%					
T-EO 10%					
T-EO 1%			Test finalizat din ziua 7	Test finalizat din ziua 7	
T-EO 0,25%			Test finalizat din ziua 7	Test finalizat din ziua 7	

Fig.2 Evoluția ciupercii de putregai brun *Serpula lacrymans* SL pe durata testului (max. 14 zile), pentru fiecare concentrație a uleiului esențial de Cimbru T-EO (*Satureja hortensis*)

Tab.1 Valorile celor doi indici: de inhibiție a creșterii pe mediu ( $I_{sol}$ ) și de inhibiție a creșterii pe hârtie ( $I_{paper}$ ) pentru uleiul esențial de Cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) și ambele ciuperci (*Trametes versicolor* și *Serpula lacrymans*)

Fungi	Ulei esențial Conc/Zile	T-EO			
		4	7	10	14
<i>Trametes versicolor</i>	0,25%	19,33	0,00	0,00	0,00
	1%	7,94	0,00	0,00	0,00
	10%	17,24	15,28	0,00	0,00
	100%	100,00	100,00	90,91	100,00
<i>Serpula lacrymans</i>	0,25%	4,76	0,00	0,00	0,00
	1%	11,67	0,00	0,00	0,00
	10%	18,06	53,33	0,00	0,00
	100%	100,00	39,39	100,00	100,00
$I_{sol}$ - indice inhibiție pe mediu					
$I_{paper}$ - indice inhibiție pe hârtie					

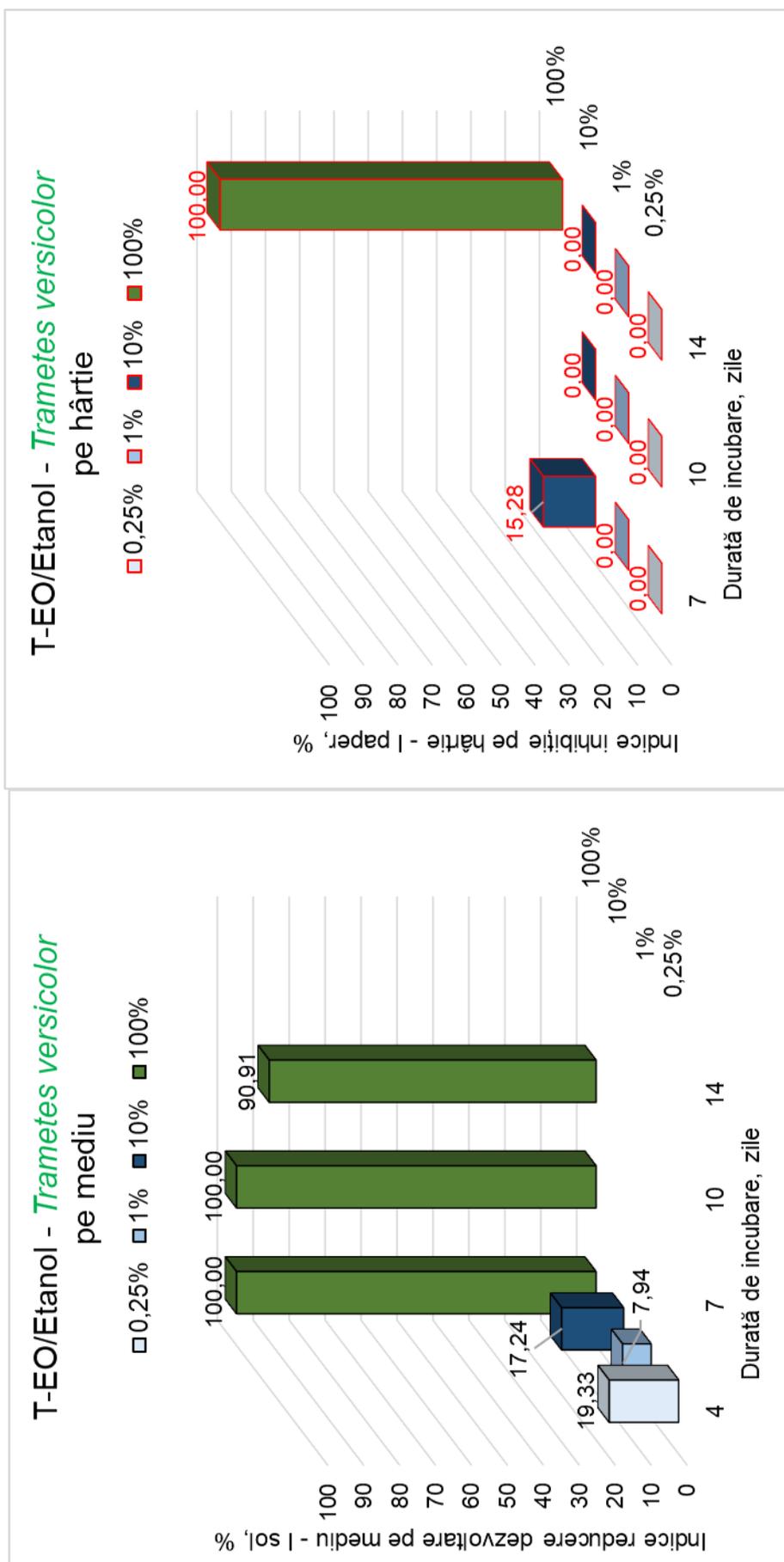


Fig.3 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu (I<sub>sol</sub>) (stânga) și pe hârtie (I<sub>paper</sub>) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) și putregaiul alb (*Trametes versicolor*)

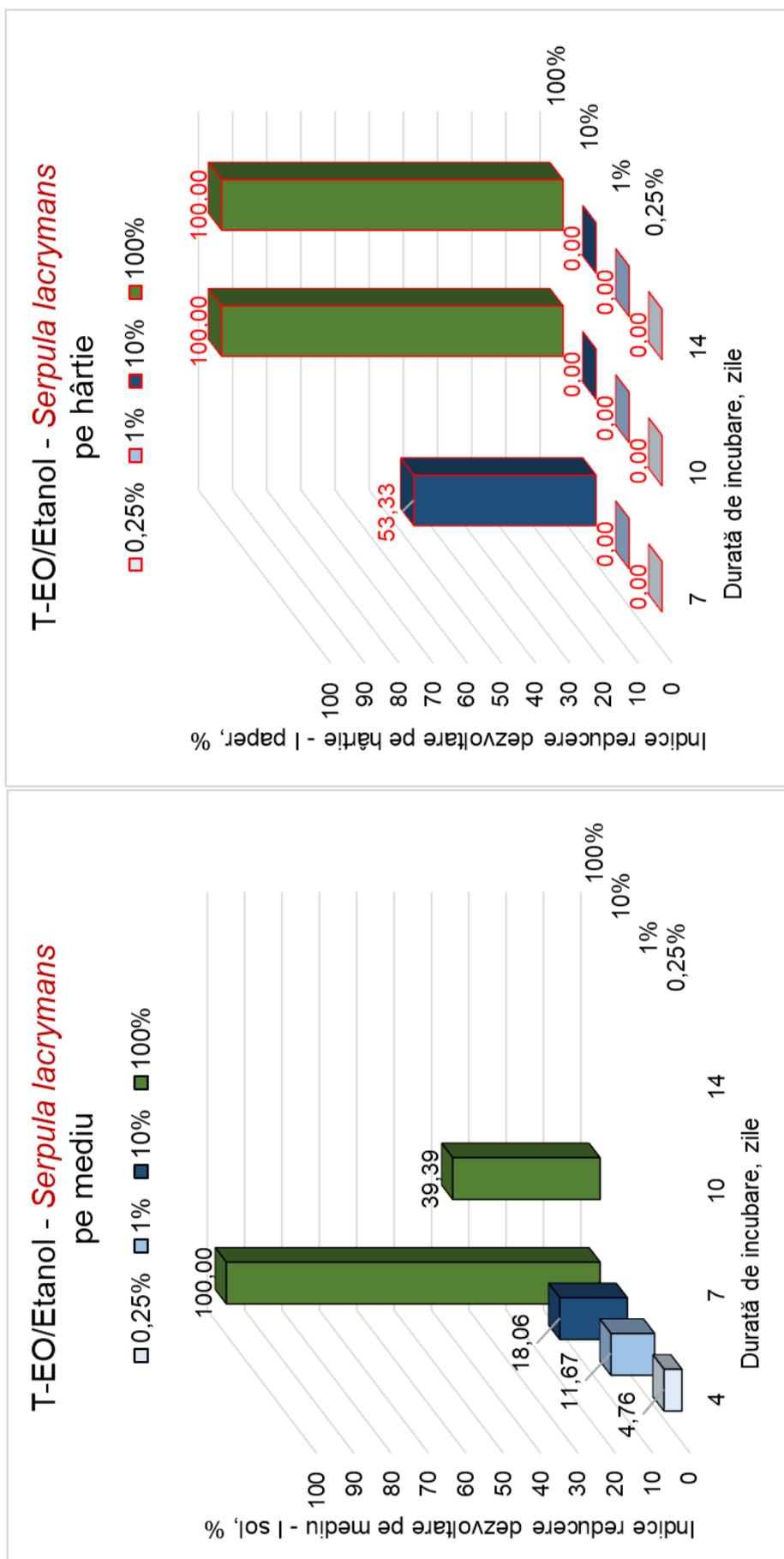


Fig.4 Evoluția indicilor de inhibiție a creșterii pe mediu (I<sub>sol</sub>) (stânga) și pe hârtie (I<sub>paper</sub>) (dreapta), pe parcursul celor 14 zile de monitorizare, pentru fiecare concentrație, a uleiului esențial de Cimbru T-EO (*Satureja hortensis*) și putregaiul brun (*Serpula lacrymans*)

## Interpretări, discuții și concluzii

În Fig.1 și Fig.2, la concentrațiile mai mici ale uleiului esențial de **Cimbru T-EO** în Etanol se poate observa faptul că după ziua 7 nu mai apar fotografii. Chenarul roșu marchează finalul testului pentru fiecare concentrația. Acest lucru se datorează faptului că, conform metodologiei din Zvolen, s-a considerat testul gata în momentul în care miceliul a acoperit în totalitate hârtia control, doar în caz contrar testul continuând până în ziua 14.

La concentrația de 0,25% **T-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o dezvoltare uniformă a miceliului în ambele cazuri de putregai (Fig.1, Fig.2, Tab.1, Fig.3, Fig.4), totuși cantitativ apar niște deosebiri. Atât în cazul *Trametes versicolor*, cât și în cazul *Serpula lacrymans* apare o mică inhibiție a creșterii pe mediu (Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}=0\%$ ), deci 0 inhibiție. Prin urmare această concentrație nu prezintă potențial fungicid.

La concentrația de 1% **T-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o dezvoltare uniformă a miceliului pentru ambele ciuperci (Fig.1, Fig.2), deși cantitativ rezultă o mică tendință de inhibiție pentru amândouă (Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a acoperit în totalitate toate hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) în cazul ambelor ciuperci (Fig.1, Fig.2), ceea ce se confirmă și cantitativ prin faptul că de la ziua 7 apare indicele de creștere pe hârtie ( $I_{paper}=0\%$ ), deci 0 inhibiție. Prin urmare nici această concentrație nu prezintă potențial fungicid acceptabil.

La concentrația de 10% **T-EO** în Etanol, după 4 zile, calitativ se observă o tendință de dezvoltare a miceliului înspre zona control pentru ambele ciuperci (Fig.1, Fig.2), tendință confirmată și cantitativ (Tab.1, Fig.3, Fig.4). Din ziua 7 miceliul a început să crească pe hârtie, cu o ușoară preferință spre control, pentru ambele ciuperci (Fig.1, Fig.2), preferință evidențiată tare în evaluarea cantitativă (Tab.1, Fig.3, Fig.4); mai puternic pentru putregaiul brun *Serpula lacrymans* ( $I_{paper}=53,33\%$ ) față de putregaiul alb *Trametes versicolor* ( $I_{paper}=15,28\%$ ), pentru care repreintă și finalul testului. Din ziua 10, se observă că miceliul a acoperit în întregime hârtiile (atât cele tratate cât și hârtia control) și în cazul ciupercii de putregai brun (Fig.1, Fig.2, Tab.1, Fig.3, Fig.4). Această concentrație a uleiului de Cimbru (*Satureja hortensis*) prezintă un oarecare potențial biocid antifungic, în primele zile.

La concentrația de 100% **T-EO** în Etanol, ulei esențial pur, după 4 zile, calitativ se observă că nu există creștere a miceliului pentru nici una dintre ciuperci (Fig.1, Fig.2), tendință confirmată și cantitativ ( $I_{sol}=100\%$ ) (Tab.1, Fig.3, Fig.4). În ziua 7 ciuperce este încă tot pe mediu, pentru putregaiul alb *Trametes versicolor* ( $I_{sol}=100\%$ ) (Fig.1, Tab.1, Fig.3), iar în cazul putregaiului brun *Serpula lacrymans*  $I_{sol}=39,39\%$  (Fig.2, Tab.1, Fig.4), prezentând un potențial biocid crescut. La ziua 10 pentru putregaiul alb *Trametes versicolor* ciuperca este încă tot pe mediu ( $I_{sol}=90,91\%$ ), în schimb în cazul putregaiului brun *Serpula lacrymans*, miceliul a ajuns pe hârtia control ( $I_{paper}=100\%$ ), prezentând inhibiție totală. La sfârșitul testului (ziua 14), în cazul putregaiului brun *Serpula lacrymans*, miceliul a rămas crescută doar pe hârtia control ( $I_{paper}=100\%$ ), fiind tot inhibiție totală. În cazul ciupercii de putregai alb *Trametes versicolor*