



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00930**

(22) Data de depozit: **03.12.2012**

(41) Data publicării cererii:
30.10.2013 BOPI nr. **10/2013**

(71) Solicitant:
• **AMIA INTERNATIONAL IMPORT EXPORT SRL**, STR. GORUNULUI NR. 9, OTOPENI, IF, RO

(72) Inventatori:
• **VELEA SANDA**, STR. ZAMBILELOR NR. 6, BL. 60, ET. 2, AP. 5, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;

• **PAIRAULT ADRIANA LILIANA**, STR. PETRU RAREȘ NR. 14, VOLUNTARI PIPERA, IF, RO;
• **OANCEA FLORIN**, STR. PAȘCANI NR. 5, BL. D 7, SC. E, ET. 2, AP. 45, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• **STEPAN EMIL**, BD. TIMIȘOARA NR. 49, BL. Cc6, SC. A, ET. 3, AP. 12, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• **ȘTILPEANU DANIELA LELIEANA**, BD. IULIU MANIU NR. 53, BL. 22A, SC. A, AP. 24, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(54) **COMPOZIȚIE INSECTICIDĂ PE BAZĂ DE PIRETRINE ȘI ULEIURI ESENȚIALE ȘI PROCEDEU DE OBȚINERE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o compoziție insecticidă și la un procedeu pentru obținerea acesteia. Compoziția conform invenției este constituită din concentrat de piretru 50%, uleiuri esențiale din semințe de mărar, *Anethum graveolens*, și/sau din semințe de pătrunjel, *Petroselinum crispum*, și/sau frunze de leuștean, *Levisticum officinale*, agenți tensioactivi neionici de origine vegetală, cocosulfat de sodiu, lecitină de soia, glucozidă de cocos și solvent. Procedeu conform invenției constă din prepararea solventului printr-o

reacție de transesterificare a uleiurilor vegetale de floarea-soarelui și/sau rapiță și/sau soia, în exces de alcool etilic și în prezență de hidroxid de potasiu, extracția uleiurilor esențiale din materialul vegetal prin macerare timp de 14 zile la o temperatură de 20...25°C în solvent, filtrarea maceratului, cu obținerea solventului utilizat la realizarea compozițiilor insecticide cu piretrine.

Revendicări: 3



COMPOZIȚIE INSECTICIDĂ PE BAZĂ DE PIRETRINE ȘI ULEIURI ESENȚIALE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE

Prezenta invenție se referă la o compoziție pe bază de piretrine naturale și uleiuri esențiale destinată pentru: combaterea insectelor generatoare de disconfort în locuințe, limitarea populațiilor de insecte dăunătoare din exploatațiile agricole ecologice de creștere a animalelor, protecția plantelor ornamentale sau a celor din culturi ecologice, și la un procedeu de obținere a acestei compoziții insecticide.

Sunt cunoscute compoziții pe bază de piretrine naturale; extractele de piretru, *Chrysanthemum (Tanacetum) cinerariaefolium* conțin 6 tipuri de compuși chimici, piretrină I, piretrină II, cinerină I, cinerină II, jasmolină I, jasmolină II, denumiți generic piretrine, cu activitate insecticidă. Piretrinele au un efect imediat (*knock-down*) și, în cazul unei utilizări corecte, sunt foarte sigure pentru om și organisme ne-țintă cu sânge cald. Compozițiile dezvoltate până în prezent au urmărit sinergizarea acțiunii insecticide imediate, prin blocarea metabolizării piretrinelor, și reducerea ratei de degradare. Brevetul DE3717467 descrie o compoziție apoasă, tamponată la un pH cuprins între 3.0 și 5.0, în care acțiunea sinergizantă a piperonil-butoxidului este amplificată de uleiurile de terebentină, de lavandă și de lămâiță. Amestecul de uleiuri esențiale este prezentat și ca având un efect benefic asupra stabilității în timp a compoziției.

Intrucât piperonil-butoxidul prezintă potențial cancerigen (demonstrat de ex. de Muguruma *et al.*, 2009, Arch. Toxicol. 83:183-193), brevetul SUA 7534447 (B2), prezintă o compoziție în care sinergizarea acțiunii piretrinelor față de insecte este realizată de uleiuri esențiale, cuprinzând timol, ulei de cimbru, eugenol, etc. Compoziția este inclusă în diverși agenți purtători, solizi sau lichizi, cunoscuți ca fiind utilizați în formularea pesticidelor.

Pentru a menține activitatea insecticidă a piretrinelor și asupra populațiilor de insecte care au dezvoltat rezistență la insecticide cererea de brevet WO2008015413 (A2) prezintă o compoziție insecticidă care include cimen și o piretrină / un piretroid de sinteză sau un regulator de creștere. Cimenul folosit este fie de sinteză chimică, fie provine din uleiurile esențiale ale unor plante precum cimbrul (*Thymus vulgaris* L; *Thymus* ssp), *Monarda punctata* L., cimbrul de grădină (*Satureja hortensis*), chimion (*Cuminum cyminum*), etc. În această

compoziție sinergizanții folosiți sunt piperonil-butoxidul sau uleiul de mărar. Ca solvenți nepolari pentru formulările de tip concentrat emulsionabil sunt utilizate hidrocarburi alifatice sau aromatice sau esteri ai uleiurilor vegetale, iar surfactanții sunt alchil poliglucozide, dodecilbenzen sulfonate de calciu, alchil fenoli polioxietilenați, sorbitan sau esteri polioxietilenați ai sorbitanului sau săruri de sodiu ale alcanilor sulfonați. Pentru protecție la degradarea UV a piretrinelor se folosesc agenți de ecranare UV, ca de ex. carotenii, preferabil astaxantina.

Compozițiile în care solventul de bază este reprezentat de apă sau de esteri ai uleiurilor vegetale, cum sunt cele descrise de brevetul DE3717467, sau respectiv de brevetul GB2440664, au o stabilitate redusă la îngheț. Brevetul GB2440664 menționează necesitatea utilizării unor compuși cu proprietăți de antigel, cum sunt polioli alifatici cu masă moleculară mică, etilen-glicol, propilen-glicol, dietilen-glicol, glicerină, sau uree, hexandiol sau sorbitol, mai ales în compozițiile condiționate ca si concentrate emulsionabile.

O altă soluție pentru creșterea stabilității față de îngheț este folosirea ca solvent nepolar a unor amestecuri de esteri ai uleiurilor vegetale stabilizate la rece, așa cum sunt cele descrise de cererea de brevet SUA US2011275599 A1, publicată și ca WO2011140005 (A2) WO2011140005 (A3).

Un dezavantaj al compozițiilor descrise de brevetele GB2440664 sau SUA 75344447 este datorat prezenței, alături de compușii naturali proveniți din resurse regenerabile, a unor aditivi chimici, care reduc gradul de acceptanță din partea utilizatorilor ne-profesioniști și care nu permit utilizarea unor astfel de compoziții în sistemele de agricultură biologică.

Un alt dezavantaj al acestor compoziții, în care se solventul de bază este apa sau esterii uleiurilor vegetale, este cel al riscurilor de degradare microbiană în timp. Adăugarea de conservanți chimici accentuează dezavantajele asociate acceptanței reduse de către consumatorii neprofesioniști și limitează sever posibilitatea certificării unor astfel de compoziții în sistemele de agricultură ecologică / organică.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este legată de înlăturarea acestor dezavantaje prezentate în stadiul tehnicii prin realizarea unor compoziții care prezintă stabilitate ridicată la păstrare, fiind protejate împotriva degradărilor apărute ca urmare a stocării la temperaturi scăzute și cu risc scăzut de dezvoltare a microorganismelor spoliatoare, și în care toate ingredientele sunt obținute din

resurse naturale agricole, cu prelucrări minime și cu posibilitatea trasabilității, permițând certificarea ulterioară în sistemele agricultura ecologică / organică, în care principiul holistic impune ca toate ingredientele de natură agricolă folosite să provină din aceleași sisteme de agricultură.

Pentru obținerea unor astfel de compoziții este necesară și dezvoltarea unor procedee care să implice prelucrări minime, cu consumuri energetice scăzute.

Obiectul acestei invenții este de a furniza o compoziție insecticidă pe bază de piretrine naturale, realizată în exclusivitate cu ingrediente din resurse agricole, care să ofere trasabilitatea necesară pentru certificarea ca produs permis a fi utilizat în sistemele de agricultură ecologică și care să genereze o acceptanță ridicată din partea consumatorilor ne-profesioniști. Este un alt obiect al acestei invenții dezvoltarea unui procedeu de obținere a acestei compoziții, care să implice prelucrări minime ale materiilor prime vegetale, la temperaturi scăzute.

Invenția rezolvă problema tehnică pentru că utilizează ca solvent pentru concentratul de piretru, cu un conținut de 50% piretrine, și uleiurile esențiale, masa bruta de reacție, obținută prin transesterificarea cu exces de alcool etilic în prezența hidroxidului de potasiu a uleiului de floarea-soarelui și/sau a uleiului de rapiță și/sau soia. Autorii au constatat că această masă brută, care conține esteri etilici ai acizilor grași, glicerină, săruri de potasiu ale acizilor grași, trigliceride și alcool etilic, este un foarte bun solvent pentru piretrine și uleiuri esențiale, cu stabilitate crescută la depozitarea la rece și care conferă ulterior excelente proprietăți pentru formulare și aplicare. Compoziția insecticidă se formulează pentru aplicare ulterioară în două forme preferate ca aspecte de exemplificare a invenției, concentrat emulsionabil și lichid pentru spray-ere.

Compoziția insecticidă conform invenției, condiționată sub forma de concentrat emulsionabil, este constituită din 1...3 părți concentrat de piretru 50%, 1,5...3 părți uleiuri esențiale din semințe de mărar, *Anethum graveolens*, și/sau din semințe de pătrunjel *Petroselinum crispum* și/sau frunze de leuștean, *Levisticum officinale*, 7,5...10 părți cuplu de agenți tensioactivi anionic/neionic de origine vegetală, cocosulfat de sodiu, lecitină de soia, 84...90 părți solvent (S).

Compoziția insecticidă conform invenției, condiționată sub formă de lichid pentru sprayere, este alcătuită din: 0,01...0,02 părți concentrat de piretru 50%; 0,01...0,02 părți uleiuri esențiale din semințe de mărar, *Anethum graveolens*,

și/sau semințe de pătrunjel, *Petroselinum crispum*, și/sau frunze de leuștean, *Levisticum officinale*, 1...1,5 părți lecitină de soia, 1...1,5 părți glucozida de cocos ca agent tensioactiv neionic, 0,001- 0,002 g tocoferol ca agent antioxidant, 97....98 părți solvent (S).

Solventul conform invenției (S) este alcătuit din 68...70 părți esteri etilici ai acizilor grași provenind din uleiuri vegetale de: floarea soarelui caracterizat prin indice de saponificare:186-192 mg KOH/g, indice de iod:130mg iod /100g, structura acizilor grași: palmitic(C16) 5-6%, stearic (C18) 4-5%, oleic (C18-1) 30-40%, linoleic(C18-2) 53-68%, rapiță caracterizat prin indice de saponificare : 189 - 205 mg KOH/g, indice de iod 110-116 mg iod /100g, structura acizilor grași : palmitic(C16) 5-6%%, stearic (C18) 2-3%%, oleic (C18-1) 60-65%, linoleic(C18-2) 20-30% sau soia caracterizat prin: indice de saponificare:185-190 mg KOH/g, indice de iod: 125-136 mg iod /100g, structura acizilor grași: stearic (C18)4-5%, oleic (C18-1) 20-30%, linoleic(C18-2)50-60%, linolenic (C18-3) 8-10%, 6..8 părți săruri de potasiu ale acizilor grași, 6...8 părți glicerină, 4...5 părți trigliceride, 10...12 părți alcool etilic și 1 parte lecitină.

Prin extracția la rece a semințelor de mărar și/sau a semințelor de pătrunjel și/sau a frunzelor de leuștean în această masă de reacție brută se obține, după filtrare, un solvent cu continut de uleiuri esențiale care prezintă concomitent proprietăți de synergizare a acțiunii insecticide a piretrinelor, de menținere a activității insecticide după aplicare datorită protecției față de acțiunea fotooxidantă a radiației UV și de inhibare a dezvoltării microorganismelor spoliatoare.

Procedeul de obținere al compozițiilor insecticide pe bază de piretrine și uleiuri esențiale, conform invenției, este alcătuit din următoarele etape:

(a) Obținerea solventului S prin reacția de transesterificare a uleiurilor vegetale de floarea-soarelui și/sau rapiță și/sau soia, în prezență de alcool etilic în raportul ulei/alcool 1 parte la 0,28..0,32 părți și hidroxid de potasiu în raport ulei/hidroxid de potasiu 1parte la 0,019..0,021 părți, la temperaturi de 40-70°C, timp de 3-5 ore.

(b) Extracția uleiurilor esențiale din semințele de mărar și/sau din semințele de pătrunjel și/sau din frunzele de leuștean prin macerare timp de 14 zile la temperatura de 20-25°C în solventul S obținut în etapa (a) în raport plantă/solvent de 1 parte la 2... 2,5 părți.

(c) Filtrarea maceratului cu obținerea solventului S cu conținut de uleiuri esențiale, utilizat la realizarea compozițiilor insecticide cu piretrine.

(d) Condiționarea compoziției insecticide sub formă de concentrat emulsionabil sau sub formă de soluție insecticidă sprayabilă, prin adăugarea de concentrat de piretru cu 50 % piretrine naturale și emulgatori naturali în solventul S cu conținut de uleiuri esențiale.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- Utilizarea ca solvent a masei brute de reacție obținută prin trans-esterificarea uleiurilor vegetale cu alcool etilic în exces, în prezența hidroxidului de potasiu, care conferă stabilitate ridicată la îngheț, datorită conținutului de glicerină și a alcoolului în exces;
- Stabilitate ridicată la păstrare datorită acțiunii anti-microbiene a uleiurilor esențiale din mărar, pătrunjel și leuștean, ca și a excesului de alcool etilic care reduce activitatea apei;
- Sinergizarea acțiunii insecticide a piretrinelor de către uleiurile esențiale din mărar, pătrunjel și leuștean și de sărurile de potasiu ale acizilor grași cu acțiune insecticidă și tensioactivă;
- Protejarea piretrinelor după aplicare față de acțiunea distructivă a radiației UV din spectrul luminii solare de către carotenul provenit din materialul vegetal utilizat;
- Posibilitatea certificării pentru utilizare în agricultură biologică și un grad ridicat de acceptanță pentru consumatorii neprofesioniști pentru că toate ingredientele sunt din materii prime agricole, recunoscute pentru utilizarea lor sigură, și cărora li se poate asigura originea din sisteme de agricultură biologică.
- Consumurile energetice sunt mici, procedeul de obținere desfășurându-se în condiții blânde;
- Produsele secundare, respectiv materialul vegetal extras, pot fi utilizate ca furaj sau ca substrat de compostare și nu reprezintă o problemă de mediu.

În continuare se prezintă exemple de realizare care ilustrează invenția fără a o limita.

Exemplul 1. Într-un balon cu 4 găuri prevăzut cu agitator acționat de un motor electric, condensator, pâlnie de picurare, termometru și încălzire cu baie electrică termostată, se introduc 100 g ulei de floarea soarelui brut, având indicele de saponificare 188,45 mg KOH/g, indicele de aciditate 1,24 mg KOH/g,

conținut de apă 0,06% se adaugă sub agitare o soluție obținută prin dizolvarea a 1,6 g KOH p.a. în 29,6 g etanol absolut (99,8%). Se continuă agitarea menținându-se temperatura la 50-60°C, timp de 3-4 ore. Rezultă 132 g lichid omogen (solvent S1) format din: 68,80% esteri etilici ai acizilor grași, 7,39% glicerina, 11,90% etanol, 5,79% saruri de potasiu ale acizilor grași, 4,91% trigliceride ale acizilor grași, 1,21% lecitina.

În solventul S1, 132 g, se adaugă 53 g semințe de mărar măcinate și se macerează la temperatura camerei 14 zile. Se filtrează printr-un filtru presă și se obțin peste 100 g solvent cu 1,5 % principii active extrase din semințele de mărar (S1 + UEM). Conținutul de principii active, constituit în principal din carvonă și limonen, se determină prin gaz-cromatografie (GC), cuplată cu spectrometrie de masă, folosind un GC/MS Triple Quad Agilent (Agilent, Santa Clara, CA, SUA); coloana cromatografică: DB-WAX, 30 m x 0,25 mm, grosime film 0,25 μm; parametrii de lucru: temperatura injector 250°C; temperatură detector: 250°C; temperatură coloană: 70 °C pentru 2 minute, creștere cu 10 °C/min la 230 °C și staționare timp de 10 minute; timp de lucru total: 82 minute.

Compoziția insecticidă CE1, condiționată ca și concentrat emulsionabil se prepară după următorul mod de lucru: 8,83 g agenți tensioactivi anionici / neionici de origine vegetală, cocosulfat de sodiu (Mackol® CAS-100N, Rhodia, Cranbury, NJ, SUA), HLB = 38 și lecitină modificată de soia cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8 (Thermolec® WFC, Archer Daniels Midland, Decatur, IL, SUA) în raport 4 părți : 6 părți, se dizolvă în 70-75 mL solvent (S1+UEM) prin agitare și încălzire la 40-45°C. Peste soluția rezultată, răcită la temperatura camerei, se adaugă 2,65 g extract concentrat de piretru 50%, și 0,2g tocoferol, agent antioxidant, se omogenizează, se adaugă restul de solvent până la 100 g, rezultând CE1. CE1, concentrat emulsionabil, are următoare compoziție: 1,3% piretrine 1,3% uleiuri esențiale din semințe de mărar, 8,83% agenți tensioactivi anionic/neionic de origine vegetală, cocosulfat de sodiu, lecitină de soia, în raport 4:6, 0,18% tocoferol.

Exemplul 2. În solventul S1 preparat ca în Exemplul 1, se adaugă 53g semințe de pătrunjel măcinate și se macerează la temperatura camerei 14 zile. Se filtrează printr-un filtru presă și se obțin 100g solvent brut cu 2,5 % principii active (S1 + UEP) constituite în principal din apiol și miristicină, determinate prin gaz-cromatografie (GC), cuplată cu spectrometrie de masă. Prin adăugarea de piretru

și emulgatori se prepară un concentrat emulsionabil CE2 cu un conținut de 4,26 % amestec 1:1 extract de piretru și ulei volatil din semințe de pătrunjel astfel: 10,24 g agenți tensioactivi de suprafață anionici/neionici de origine vegetală: cocosulfat de sodiu (Mackol® CAS-100N, Rhodia), HLB = 38 și lecitină modificată de soia cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8 (Thermolec® WFC, Archer Daniels Midland) în raport 4 părți : 6 părți, se dizolvă în 70-75 mL solvent (S1+UEP) prin agitare și încălzire la 40-45°C. Peste soluția de agenți tensioactivi, răcită la temperatura camerei, se adaugă 4,27 g extract concentrat de piretru 50%, și 0,17g tocoferol se omogenizează, se adaugă restul de solvent până la 100g concentrat emulsionabil. Se obțin 100 g concentrat emulsionabil CE2 cu următoare compoziție: 2,13% piretrine 2,13% uleiuri esențiale din semințe de pătrunjel, 10,24% agenți tensioactivi anionic/neionic de origine vegetală, cocosulfat de sodiu, lecitină de soia, în raport 4:6, 0,17% tocoferol.

Exemplul 3. Solventul cu uleiuri esențiale (S1 + UEM), obținut conform exemplului 1 se condiționează ca soluție pentru îmbuteliere în tuburi spray și aplicare prin presiune de gaz propellant, la concentrația de 0,02% extract de piretru + ulei volatile din semințe de măr în raport 1:1 după următorul mod de lucru: în 70 g solvent S1+ UEM, se adaugă pe rând și sub agitare 0,02 g extract de piretru 50%, 1 g lecitina de soia (Thermolec® WFC, Archer Daniels Midland) și 1 g glucozida de cocos (Plantacare 818, Basf, Ludwigshafen, Germania), ca agenți tensioactivi neionici, ambii având un HLB mai mare de 8, și 0,002 g tocoferol ca agent antioxidant, și se menține sub agitare până la obținerea unei soluții omogene. Se completează cu solvent S1 până la 100 g. Se obține compoziția insecticidă condiționată sub formă de lichid pentru sprayere, LS1, este alcătuită din: 0,02% concentrat de piretru 50%; 0,02 % uleiuri esențiale, 1% lecitină de soia, 1% glucozida de cocos ca agent tensioactiv neionic, 0,02% g tocoferol ca agent antioxidant, 97,94% solvent S.

Exemplul 4. Solventul cu uleiuri esențiale (S1 + UEM), obținut conform exemplului 1 se condiționează sub formă de concentrat emulsionabil cu un conținut de 2,74 % principii active, extract de piretru și ulei volatil din semințe de măr, în raport 1 : 2, astfel: 7,29 g agenți tensioactivi de suprafață anionici/neionici de origine vegetală: cocosulfat de sodiu, lecitină de soia, se dizolvă în 70-75 mL solvent, (S1+UEM) prin agitare și încălzire la 40-45°C. Peste soluția de agenți tensioactivi, răcită la temperatura camerei, se adaugă 1,37g

extract de piretru 50%, si 0,18g tocoferol se omogenizează, se adaugă restul de solvent pâna la 100 g concentrat emulsionabil.

Exemplul 5. Se lucrează ca în exemplul 1, dar se utilizează ulei de rapiță. Diferența față de exemplul 1 este dată de o compoziție diferită a solventului rezultat, S2 în acest caz, în acizii grași din esterii etilici și din sărurile de potasiu ale acestora.

Exemplul 6. Se lucrează ca în exemplul 1, dar se utilizează ulei de soia. Diferența față de exemplul 1 este dată de compoziție diferită a solventului rezultat, S3 în acest caz, în acizii grași din esterii etilici și din sărurile de potasiu ale acestora.

Exemplu 7. Solventul cu uleiuri esențiale din mărar (S1 + UEM) obținut ca în exemplul 1, este folosit pentru a extrage la rece frunze uscate de leuștean. În solventul (S1+UEM), 132 g, se adaugă 53 g frunze uscate de leuștean măcinate și se macerează la temperatura camerei 14 zile. Se filtrează printr-un filtru presă și se obțin peste 100 g solvent cu 1,5 % principii active extrase din semințele de mărar și 0,25% uleiuri esențiale de leuștean (S1 + UEM + UEL). Uleiurile esențiale din leuștean, *Levisticum officinale*, determinate prin gaz-cromatografie (GC), cuplată cu spectrometrie de masă ca în ex. 1, sunt reprezentate preponderent de β-felandren și 1-p-mentil-8-il acetat. Solventul (S1 +UEM +UEL) se folosește pentru a obține un concentrat emulsionabil conform exemplului 1, rezultând CE3.

Exemplul 8. Solventul cu uleiuri esențiale de pătrunjel (S1 + UEP) obținut ca în exemplul 2, este folosit pentru a extrage la rece frunze uscate de leuștean. În solventul S1 +UEP, 132 g, se adaugă 53 g frunze uscate de leuștean măcinate și se macerează la temperatura camerei 14 zile. Se filtrează printr-un filtru presă și se obțin peste 100 g solvent cu 2,5 % principii active extrase din semințele de pătrunjel și 0,25% uleiuri esențiale de leuștean (S1 + UEP + UEL). Uleiurile esențiale din leuștean, *Levisticum officinale*, determinate prin gaz-cromatografie (GC), cuplată cu spectrometrie de masă ca în ex. 1, sunt reprezentate preponderent de β-felandren și 1-p-mentil-8-il acetat. Solventul (S1 +UEP +UEL) se folosește pentru a obține un concentrat emulsionabil conform exemplului 1, rezultând CE4.

Exemplul 9. Solventul cu uleiuri esențiale din mărar (S1 + UEM) obținut ca în exemplul 1 se combină în raport de 1:1 cu solventul cu uleiuri esențiale de pătrunjel (S1 + UEP) obținut ca în exemplul 2. Amestecul rezultat, (S1 + UEM +

UEP), conține 0,75% principii active din ulei esențial de mărar și 1,25% principii active din ulei esențial de pătrunjel, și se folosește pentru obținerea unei compoziții insecticide pe bază de piretrine, ca în exemplu 1, rezultând concentratul emulsionabil CE5.

Exemplul 10. Solventul cu uleiuri esențiale din mărar (S1 + UEM) obținut ca în exemplul 1 se combină în raport de 1:1 cu solventul cu uleiuri esențiale de pătrunjel (S1 + UEP) obținut ca în exemplul 2. Amestecul rezultat, (S1 + UEM + UEP) este folosit pentru a extrage la rece frunze uscate de leuștean. În solventul S1 +UEP, 132 g, se adaugă 53 g frunze uscate de leuștean măcinate și se macerează la temperatura camerei 14 zile. Se filtrează printr-un filtru presă și se obțin peste 100 g solvent conține 0,75% principii active din ulei esențial de mărar, 1,25% principii active din ulei esențial de pătrunjel și 0,25% uleiuri esențiale de leuștean (S1 + UEM + UEP + UEL). Acest amestec (S1 + UEM + UEP + UEL) se folosește pentru obținerea unei compoziții insecticide pe bază de piretrine, ca în exemplu 1, rezultând concentratul emulsionabil CE6.

Exemplul 11. S-a realizat un biotest în care s-a testat eficiența concentratelor emulsionabile CE1-CE6 realizate conform exemplelor de mai sus. Biotestul a fost realizat pe muște, *Musca domestica* L., tulpina sensibilă WHO. Muștele au fost crescute conform protocolului descris de Basden, 1946, *Bull Entomol Res* 37:381 – 387. Ponta muștelor s-a colectat pe o fașă de tifon îmbinată cu lapte UHT 1,5% grăsime. După 3 zile fâșiile cu tifon cu ouă s-au transferat în găleți de plastic de 5 litri, care conțineau mediu de creștere larve de muște, alcătuit din 300 g tărațe de grâu, 7 g drojdie de bere, 15 g melasă, amestecate cu 500 ml apă caldă. Muștele adulte au fost menținute în cuști de creștere insecte (BugDorm-4090; Megaview, Taichung, Taiwan) și hrănite cu un amestec de lapte praf și zahăr, 1:1, și cu apă la discreție. Muștele folosite pentru biotest aveau 9...11 zile de la ieșirea din pupe. Biotestul s-a realizat prin metoda topică descrisă de Kristensen *et al.*, 2001, *Pest Manag Sci* 57:82–89. Muștele adulte, masculi și femele, au fost anesteziate cu CO₂ înainte de a li se aplica 1 μ l dintr-o soluție 3% din concentratele emulsionabile CE1, CE3, CE4, CE5 și CE6, și 1,85% din CE2. Această concentrație a concentratelor emulsionabile determină formarea unor soluții de 0,039 g/l piretrine, foarte aproape de valoarea LC₁₀ a tulpinii sensibile de muște WHO la piretrine, care este de 0,04 g/l. S-a ales o valoare apropiată de cea a LC₁₀ pentru a putea evidenția efectul sinergizant al uleiurilor esențiale și al

celorlalte componente utilizate la condiționare, inclusiv cele din solventul/ții (S). S-a lucrat față de doi martori de referință, și față de un martor tratat topic cu apă. Apă folosită a fost apă dură standard (metoda WHO/M/29), duritatea apei fiind verificată conform metodei CIPAC MT73 (CIPAC Handbook F, p201) și corectată dacă era nevoie. Primul martor de referință a fost o formulare de piretrine fără sinergizant, R_P , realizată după următorul mod de lucru: 8,83 g agenți tensioactivi anionici / neionici de origine vegetală, cocosulfat de sodiu (Mackol® CAS-100N, Rhodia, Cranbury, NJ, SUA), HLB = 38 și lecitină modificată de soia cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8 (Thermolec® WFC, Archer Daniels Midland, Decatur, IL, SUA) în raport 4 părți : 6 părți, s-au dizolvat în 70-75 ml amestec de esteri metilici ai acizilor grași de rapiță (biodiesel) prin agitare și încălzire la 40-45°C. Peste soluția rezultată, răcită la temperatura camerei, s-au adăugat 2,65 g extract concentrat de piretru 50%, și 0,2g tocoferol, agent antioxidant, s-a omogenizat, s-a adăugat restul de solvent până la 100 g, rezultând R_P , care are o concentrație de piretrine de 1,3%, și din care concentrația de 3% în apă dură standard reprezintă o soluție de 0,039 g/l piretrine, foarte aproape de valoarea LC10 a tulpinii sensibile de muște WHO la piretrine. Al doilea martor de referință, R_{PBO} a inclus piperonil butoxid, 2-(2-Butoxi)etil (6-propilpiperonil) eter, (Aldrich, Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, SUA) și fost preparat după cum urmează: 8,83 g agenți tensioactivi anionici / neionici de origine vegetală, cocosulfat de sodiu (Mackol® CAS-100N, Rhodia, Cranbury, NJ, SUA), HLB = 38 și lecitină modificată de soia cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8 (Thermolec® WFC, Archer Daniels Midland, Decatur, IL, SUA) în raport 4 părți : 6 părți, s-au dizolvat în 70-75 ml amestec de esteri metilici ai acizilor grași de rapiță (biodiesel) prin agitare și încălzire la 40-45°C. În acest amestec s-au adăugat 2,5g de piperonil butoxid, s-a omogenizat pentru dizolvare completă și apoi a fost răcit la temperatura camerei. Peste soluția rezultată, răcită la temperatura camerei, s-au adăugat 2,65 g extract concentrat de piretru 50%, și 0,2g tocoferol, agent antioxidant, s-a omogenizat, s-a adăugat restul de solvent până la 100 g, rezultând R_{PBO} , care are o concentrație de piretrine de 1,3% și de piperonil butoxid de 2,5%. O soluție 3% R_{PBO} în apă dură standard reprezintă o soluție de 0,039 g/l piretrine și 0,075g/l piperonil butoxid.

Fiecare dintre produsele testate a inclus 120 muște, distribuite în triplicat în grupe de câte 40. După tratament muștele au fost menținute în cuști separate

timp de 24 ore, după care s-au numărat muștele moarte. Muștele muribunde au fost considerate moarte. Mortalitățile au fost corectate conform formulei lui Abott (Abbott, 1925, J. Econ. Entomol. 18:265–267) cu mortalitățile de la martor. Datele au fost analizat prin aplicarea modelului liniar general pentru a se determina valorile medii și diferențele semnificative la un nivel de probabilitate de 5% față de compoziția de referință R_P (Statistica 10, StatSoft, Tulsa, OK, SUA). Rezultatele sunt prezentate în tabelul 1 de mai jos.

Tab.1. Mortalitatea muștelor tratate topic cu soluții din concentratele emulsionabile realizate conform invenției, comparativ cu produse martor.

Varianta experimentală	Mortalitatea corectată medie (%)	Semnificație* față de produsul de referință R_P
R_P , 0,039 g/l piretrine	32,6±9,3	-
R_{PBO} , 0,039 g/l piretrine, 0,075 g/l PBO	78,3±8,6	**
CE1, 0,039 g/l piretrine, 0,039 g/l UEM	49,6±7,3	*
CE2, 0,039 g/l piretrine, 0,039 g/l UEP	56,4±9,6	*
CE3, 0,039 g/l piretrine, 0,039 g/l UEM, 0,007 g/l UEL	66,9±11,3	**
CE4, 0,039 g/l piretrine, 0,065 g/l UEP, 0,007 g/l UEL	72,3±9,3	**
CE5, 0,039 g/l piretrine, 0,018 g/l UEM, 0,032 g UEP	74,6±7,6	**
CE6, 0,039 g/l piretrine, 0,018 g/l UEM, 0,032 g UEL, 0,007 g/l UEL	94,6±5,3	***

*pentru $P>0,05$. PBO – piperonilbutoxid, UEM – uleiuri esențiale mărar, UEP – uleiuri esențiale pătrunjel, UEL – uleiuri esențiale leuștean

Uleiurile esențiale de mărar și pătrunjel, extrase la rece în solventul S1 preparat cf. ex.1, în concentrație de 0,039 g/l, au sinergizat acțiunea insecticidă a piretrinelor față de muște, dar efectul a fost sub cel al piperonilbutoxidului în concentrație de 0,75 g/l. Uleiurile esențiale de mărar și/sau pătrunjel și/sau

leuștean, extrase la rece în solventul S1 preparat cf. ex.1 și formulate împreună cu acesta, piretrine și agenți de condiționare, în CE3, CE4 și CE5, cf. ex. 7, 8, 9, au prezentat o acțiune similară din punct de vedere statistic cu piperonilbutoxidul în synergizarea activității insecticide a piretrinelor. Combinația de uleiuri esențiale de mărar și pătrunjel și leuștean, extrase la rece în solventul S1 preparat cf. ex.1 și formulate conform împreună cu acesta, piretrine și agenți de condiționare, în CE6 cf. ex.10 a avut un efect synergizant superior piperonilbutoxidului în condițiile experimentale date.

Combinațiile CE1-CE6, realizate conform invenție, manifestă o acțiune insecticidică synergică datorită componentelor lor. Formularea sub formă sprayabilă diferă numai ca mod de aplicare, deci manifestă o activitate similară.

Compozițiile rezultate conform ex.1 – 10, formulate în solvenți S, sunt stabile la păstrare peste 1 an, fără să separe componente.

REVENDICĂRI

1. Compoziție insecticidă conform invenției, condiționată sub forma de concentrat emulsionabil, caracterizată prin aceea că este constituită din 1...3 părți concentrat de piretru 50%, 1,5...3 părți uleiuri esențiale din semințe de mărar, *Anethum graveolens*, și/sau din semințe de pătrunjel *Petroselinum crispum* și/sau frunze de leuștean, *Levisticum officinale*, 7,5...10 părți cuplu de agenți tensioactivi anionic/neionic de origine vegetală, cocosulfat de sodiu, lecitină de soia, 84...90 părți solvent S, alcătuit din 68...70 părți esteri etilici ai acizilor grași din uleiuri vegetale de: floarea soarelui caracterizat prin indice de saponificare:186-192 mg KOH/g, indice de iod:130mg iod /100g, structura acizilor grași: palmitic(C16) 5-6%, stearic (C18) 4-5%, oleic (C18-1) 30-40%, linoleic(C18-2) 53-68%, rapiță caracterizat prin indice de saponificare : 189 -205 mg KOH/g, indice de iod 110-116 mg iod /100g, structura acizilor grasi : palmitic(C16) 5-6%%, stearic (C18) 2-3%%, oleic (C18-1) 60-65%, linoleic(C18-2) 20-30% sau soia caracterizat prin: indice de saponificare:185-190 mg KOH/g, indice de iod: 125-136 mg iod /100g, structura acizilor grasi: stearic (C18)4-5%, oleic (C18-1) 20-30%, linoleic(C18-2)50-60%, linolenic (C18-3) 8-10%, 6..8 părți săruri de potasiu ale acizilor grași, 6...8 părți glicerină, 4...5 părți trigliceride, 10...12 părți alcool etilic și 1 parte lecitină.

2. Compoziția insecticidă conform invenției, condiționată sub formă de lichid pentru sprayere, caracterizată prin aceea că este constituită din: 0,01...0,02 părți concentrat de piretru 50%; 0,01...0,02 părți uleiuri esențiale din semințe de mărar, *Anethum graveolens*, și/sau semințe de pătrunjel, *Petroselinum crispum*, și/sau frunze de leuștean, *Levisticum officinale*, 1...1,5 părți lecitină de soia, 1...1,5 părți glucozida de cocos ca agent tensioactiv neionic, 0,001- 0,002 g tocoferol ca agent antioxidant, 97....98 părți solvent S, alcătuit din 68...70 părți esteri etilici ai acizilor grași din uleiuri vegetale de: floarea soarelui caracterizat prin indice de saponificare:186-192 mg KOH/g, indice de iod:130mg iod /100g, structura acizilor grași: palmitic(C16) 5-6%, stearic (C18) 4-5%, oleic (C18-1) 30-40%, linoleic(C18-2) 53-68%, rapiță caracterizat prin indice de saponificare : 189 -205 mg KOH/g, indice de iod 110-116 mg iod /100g, structura acizilor grasi : palmitic(C16) 5-6%%, stearic (C18) 2-3%%, oleic (C18-1) 60-65%, linoleic(C18-2) 20-30% sau soia caracterizat prin: indice de saponificare:185-190 mg KOH/g,

indice de iod: 125-136 mg iod /100g, structura acizilor grași: stearic (C18)4-5%, oleic (C18-1) 20-30%, linoleic(C18-2)50-60%, linolenic (C18-3) 8-10%, 6..8 părți săruri de potasiu ale acizilor grași, 6...8 părți glicerină, 4...5 părți trigliceride, 10...12 părți alcool etilic și 1 parte lecitină.

3. Procedeu de obținere a compoziției insecticide pe bază de piretrine și uleiuri esențiale alcătuit din următoarele etape: obținerea solventului S prin reacția de trans-esterificare a uleiurilor vegetale de floarea-soarelui și/sau rapiță și/sau soia, în exces de alcool etilic, în raport ulei/alcool 1 parte la 0,28..0.,32 părți și hidroxid de potasiu în raport ulei/hidroxid de potasiu 1 parte la 0,019..0,021 părți, la temperaturi de 40-70°C, timp de 3-5 ore; extracția uleiurilor esențiale din semințele de mărar și/sau din semințele de pătrunjel și/sau din frunzele de leuștean prin macerare timp de 14 zile la temperatura de 20-25°C în solventul S obținut în etapa inițială în raport plantă/solvent de 1 parte la 2... 2,5 părți; filtrarea maceratului cu obținerea solventului S cu conținut de uleiuri esențiale, utilizat la realizarea compozițiilor insecticide cu piretrine; condiționarea compoziției insecticide sub formă de concentrat emulsionabil sau sub formă de soluție insecticidă sprayabilă, prin adăugarea de concentrat de piretru cu 50 % piretrine naturale și emulgatori naturali în solventul S cu conținut de uleiuri esențiale.