

**Raport de descriere a parametrilor de extracția uleiului din biomasa de busuioc
obținută în regim acvaponic și de caracterizarea chimică a acestuia în vederea
identificării compușilor bioactivi (realizare parțială)**

**Raport de evaluare in-vitro a efectului antimicrobian al compușilor biologic activi ai
extractului obținut din biomasa de busuioc crescută în regim acvaponic și de descriere a
antioxidanților enzimatici și nonenzimatici (realizare parțială)**

Caracterizarea biomasei vegetale obținută în cadrul raportului 2 din prezenta raportare de etapă

Determinarea concentrației de proteine din biomasa vegetală: Concentrația de proteine din biomasa vegetală s-a înregistrat în ecartul 1,80 – 3,20 mg/L în varianta B2(SH), iar în varianta B3(SA) în ecartul 1,82 – 2,58 mg/L. Așadar din fig.36 se observă faptul că busuiocul crescut pe substratul alternativ, (B3(SA)) a înregistrat o reducere a concentrației de proteine cu 12% față de busuiocul crescut pe un substrat format din hidroton (B2(SH)). *Determinarea stresului oxidativ la nivelul biomasei vegetale:* În ceea ce privește stresul oxidativ în cazul biomasei vegetale s-a observat o intensificare a activității enzimactice antioxidante (CAT, SOD, POD) și o reducere a peroxidării lipidice (MDA) în varianta în care substratul a fost constituit din hidroton (B2SH). În varianta B3(SA) față de varianta B2(SH) rezultatele au arătat o reducere a catalazei cu 5,51%, a superoxidismutazei cu 4,82%, a peroxidazei cu 27,59% și o creștere a indicelui de peroxidare lipidică cu 32,24% (fig. 37, 38, 39). Acest lucru denotă faptul că în cazul variantei în care busuiocul a fost crescut pe un substrat constituit din hidroton stresul oxidativ a fost redus la nivel celular, însă trebuie specificat totuși faptul că diferențele între cele două variante experimentale nu au fost unele semnificative din punct de vedere statistic ($p > 0,05$). Valorile catalazei s-au înregistrat în ecartul 7,63 – 21,20 U/mg proteină, ale superoxidismutazei în intervalul 8,11 – 15,10 U/mg proteină, iar în cazul peroxidazei valoarea minimă înregistrată a fost de 0,0012 U/mg proteină în timp ce valoarea maximă a fost de 0,0033 U/mg proteină. Referitor la indicele de peroxidare lipidică valoarea maximă înregistrată a fost de 272,20 U/mg proteină, iar valoarea minimă a fost de 131,54 U/mg proteină. Producția de specii reactive de oxigen (ROS) este inevitabilă chiar și în condiții optime de creștere. În condițiile mai multor factori stresori de mediu, intensificarea generării de ROS perturbă mediul redox normal al celulelor plantelor, deteriorând componentelor celulare (Tewari et al., 2007; Zhang L.-X. et al., 2007).

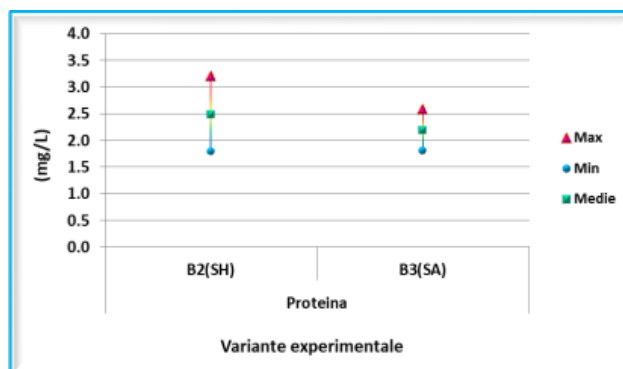


Fig. 36. Concentrația de proteine a biomasei vegetale crescute în condiții acvaponice

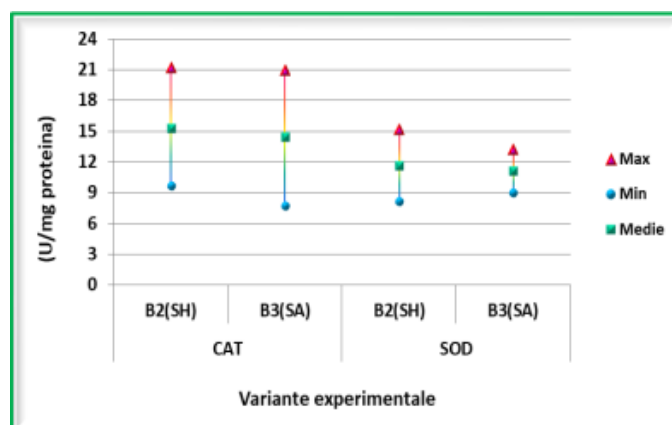


Fig. 37. Concentrația de CAT și SOD a biomasei vegetale crescute în condiții acvaponice

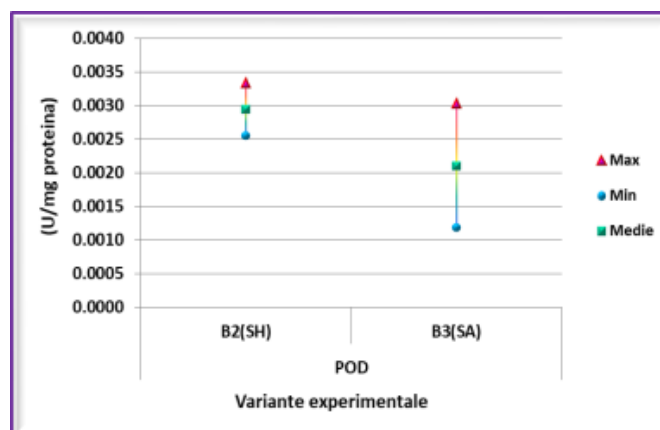


Fig. 38. Concentrația POD a biomasei vegetale crescute în condiții acvaponice

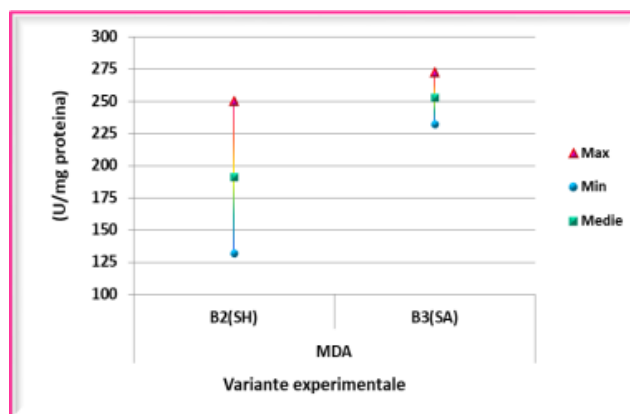


Fig. 39. Concentrația de MDA a biomasei vegetale crescute în condiții acvaponice

Caracterizarea biomasei vegetale din punct de vedere al polifenolilor, flavonoizilor și al activității antioxidante: Conținutul de polifenoli în biomasa de busuioc crescută în condiții acvaponice a înregistrat în cazul variantei B3 cele mai ridicate valori în rădăcina plantelor de busuioc (substrat de creștere alternativ). În cazul concentrației de flavonoide, în unitățile acvaponice cele mai ridicate valori s-au înregistrat în rădăcina plantelor din B3SA iar cele mai mici valori s-au înregistrat în cazul părților aeriene a plantelor de busuioc din B2SH, respectiv B3SA (tab. 3). Activitatea antioxidantă a înregistrat valorile cele mai ridicate în B3 la nivelul rădăcinei plantelor de busuioc.

Tab.3. Caracterizarea biomasei vegetale crescută în acvaponie

Variantă experimentală	Organ vegetal	Polifenoli (g%)	Flavonoide (g%)	Activitate antioxidantă (%)*
B2 - SH	rădăcină	0,115±0,0008	0,069±0,002	30,54±0,19
	parte aeriană	0,118±0,0010	0,003±0,0001	34,13±0,98
B3 - SA	rădăcină	0,195±0,003	0,104±0,0005	43,52±0,48
	parte aeriană	0,109±0,005	0,003±0,0001	42,45±1,03

* exprimată de 0,5 mL extract metanolic

Izolarea uleiului volatil din părțile aeriene de busuioc si analiza acestuia prin gaz-cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă: Busuiocul (*Ocimum basilicum L.*) este una dintre cele mai populare plante aromatice din familia *Lamiaceae* cultivată la nivel mondial. Este folosit și pentru preparate cosmetice și farmaceutice deoarece conține cantități mari de uleiuri esențiale (Sifola și Barbieri, 2006; Kiferle et al., 2013) și compuși polifenolici, antioxidanți cu proprietăți anticancerigene, antibacteriene, antifungice și antiinflamatorii (Nguyen și Niemeyer, 2008; Nurzynska-Wierdak et al., 2013). Au fost analizate 2 probe de părți aeriene înflorite de busuioc (B3A, respectiv B3B). Fiecare din cele 2 probe a fost supusă

antrenării cu vapori de apă prin metoda Neo Clevenger. Uleiurile volatile izolate au fost apoi analizate prin gaz-cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă (GC-MS). În acest scop, s-a utilizat un gaz-cromatograf HP 5890 Series II cuplat cu un spectrometru de masă HP 5971 și o coloană cromatografică capilară HP-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Regim de temperatură: inițial 35°C, apoi creștere cu 10°C/min. până la 260°C (3,5 min. constant). Pentru fiecare ulei volatil, volumul injectat a fost de 0,3 μL. Randamentul de obținere a uleiului volatile din busuiocul provenit din B2SH a fost 0,65 mL ulei volatil la 100 g produs vegetal uscat, în timp ce B2SA a înregistrat un randament de 0,55 mL ulei volatil la 100 g produs vegetal uscat. Componentele identificate în uleiurile volatile sunt prezentate în tab.4 și fig.41, 42.

Tab. 4. Componente identificate în uleiurile volatile

Timp retenție (min)	Component	B2SH Aria (%)	B3SA Aria (%)
6.74	□□ - pinen	0.06	0.08
7.01	camfen	0.04	0.20
7.50	β – pinen	0.15	0.23
7.70	β – mircen	0.83	0.68
8.36	limonen	-	-
8.44	1,8 – cineol (eucaliptol)	1.18	1.90
8.65	trans – ocimen	0.47	1.11
9.40	terpinolen	-	0.18
9.65	<i>linalool</i>	30.33	29.28
10.40	trans – epoxi - ocimen	0.68	0.74
10.62	camfor	1.06	1.67
10.90	borneol L	0.57	0.55
11.14	□□ - terpineol	-	-
11.34	<i>estragol</i>	2.92	4.38
11.68	nerol	-	-
11.91	Z – citral (neral)	0.17	-
12.19	<i>geraniol</i>	4.01	2.18
12.37	E – citral (geranial)	0.41	-

12.57	bornil – acetat	-	-
12.71	trans – anetol	2.70	2.01
13.57	□□- cubeben	-	0.22
13.60	geranil – acetat	-	-
13.85	eugenol	4.31	2.11
14.02	□□- copaen	-	0.67
14.36	□- elemen	7.33	7.89
14.55	□□- longipinen	0.27	-
14.65	trans - cariofilen	-	-
14.74	□□- bergamoten	-	-
14.78	calaren	-	2.96
14.97	□□- guaïen	4.42	4.19
15.10	amorfen	-	0.87
15.24	□□- humulen	1.40	1.59
15.35	□□- cubeben	-	0.83
15.62	germacren D	6.33	4.38
15.69	□□- bisabolen	-	-
15.92	□□- guaïen	-	6.46
16.08	□□- cadinen	3.04	3.01
16.14	cis - □□- bisabolen	-	-
16.26	□□- cadinen	0.36	0.36
16.37	farnesol	0.07	-
16.43	d – nerolidol	0.76	0.78
16.76	iunipen	-	0.75
16.84	spatulenol	0.82	1.12
16.89	cariofilen oxid	-	-
17.57	□□- cadinol	6.47	-
17.75	epi – biciclo – sescvifelandren	0.84	6.01
17.89	□□- eudesmol	1.52	1.67
18.62	aromadendren	0.82	0.14
19.68	2 - dodecanona	0.97	-
20.75	izofitol	0.12	-
20.94	acid hexadecanoic	0.45	-

22.46	fitol	0.37	0.23
22.89	acid octadecanoic	0.09	-
24.30	n-eicosan	0.08	-

Componentele majore identificate în cele două uleiuri volatile sunt linaloolul, estragolul, geraniolul, germacrenul D și β -elemenul. Din punct de vedere structural, majoritatea componentelor identificate sunt monoterpene și sescviterpene. Din punct de vedere al compoziției uleiurilor volatile pe grupe mari de componente, putem identifica 39,96% monoterpene, 34,45% sescviterpene, 9,93% compuși aromatici și 1.05% compuși alifatici în cazul B2SH, în timp ce pentru B3SA avem 37,8% monoterpene, 43,84% sescviterpene și 8,5% compuși aromatici.

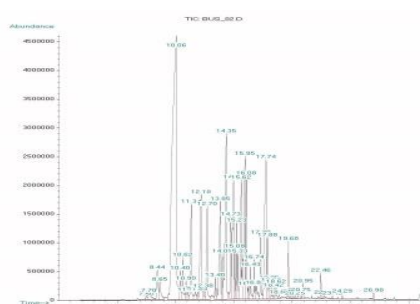


Fig. 41. Gaz-cromatograma uleiului volatil separat din proba B2SH

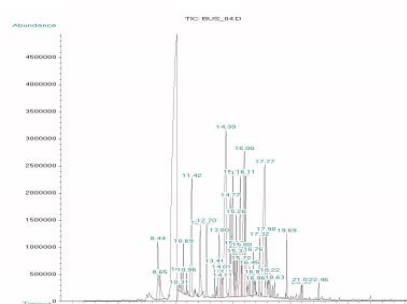


Fig. 42. Gaz-cromatograma uleiului volatil separat din proba B3SA

Pentru testarea activității antibacteriene s-au utilizat tulpini bacteriene de referință: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) și *Escherichia coli* (ATCC 25922). Suspensiile au fost obținute, plecând de la 5 - 6 colonii bacteriene care au fost transferate în eprubete cu 5 mL bulion Müeller- Hinton (MHB) și incubate timp de 4 - 6 ore la 37⁰C, până când acestea au ajuns în faza de creștere exponențială. Turbiditatea a fost ajustată la standardul 0.5 Mc Farland ($1/5 \times 10^8$ UFC/mL). Activitatea antibacteriană a fost determinată prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer. Discurile sterile din hârtie (6 mm) au fost îmbibate cu ulei (10 μ L) și plasate pe mediul de cultură (MHA) inoculat cu bacteriile testate. Diametrul zonelor de inhibiție a fost măsurat după 24 de ore de incubare a plăcilor Petri la temperatura de 37⁰C. S-au utilizat două probe control: C+: gentamicina și C-: DMSO 3 %. Concentrația minimă inhibitorie (C.M.I.) a fost determinată prin metoda diluțiilor seriate într-o placă de microtitrare cu 96 de godeuri, utilizând indicatorul rezazurina. Rezultatele acestui studiu, prezentate în Tab. 5 și fig.40, 41, 42, evidențiază activitatea antibacteriană a uleiului provenit de la B3SA. Diametrele zonelor de inhibiție nu se deosebesc foarte mult la cele două specii de bacterii (Gram-pozitivă - *Staphylococcus aureus* - cu diametrul zonei de inhibiție de 10 mm și Gram-negativă *Escherichia coli* - cu diametrul zonei de inhibiție de 8 mm). În cazul controlului

pozitiv (Gentamicina 10 µg/mL - antibiotic de referință - diametrul zonei de inhibiție înregistrat a fost 23 mm în cazul testării speciei *Staphylococcus aureus* (fig.43), respectiv de 20 mm în cazul testării speciei *Escherichia coli* (fig.44)). Testarea probei control (negativ), reprezentată de DMSO 3 %, a confirmat absența zonei de inhibiție în cazul acestei probe. Testarea calitativă a activității antibacteriene a fost completată cu testarea cantitativă, prin care a fost evaluată concentrația minimă inhibitorie (C.M.I.) a uleiului de *Ocimum* sp. pentru fiecare microorganism test. Aceasta a fost stabilită la valoarea de 100 µL/mL pentru specia *Escherichia coli* și 50 µL/mL pentru *Staphylococcus aureus* (fig.45). Drept concluzie, uleiul busuioc produs în condiții acvaponice, pe substrat de creștere inovativ prezintă activitate antibacteriană (față de *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli*). S-au stabilit concentrațiile minime inhibitorii (C.M.I.) ale uleiului testat, cu variații între 50 µL/mL (*Staphylococcus aureus*) și 100 µL/mL (*Escherichia coli*).

Tab. 5. Activitatea antibacteriană a uleiului testat

Proba	Evaluarea activității antibacteriene	Specia bacteriană	
		<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)
Ulei de busuioc obținut în condiții acvaponice, în cadrul B3SA	Zona de inhibiție (mm)	10	8
	C.M.I. (µL/mL)	50	100

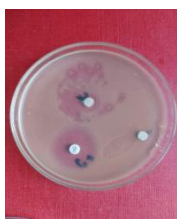


Figura 43. Testarea activității antibacteriene a uleiului de *Ocimum* sp. față de *Staphylococcus aureus* (U: ulei; C+: control pozitiv - gentamicină; C-: control negativ - DMSO 3 %)

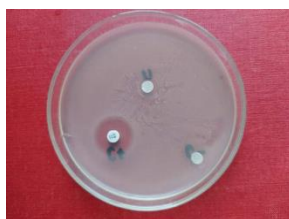


Figura 44. Testarea activității antibacteriene a uleiului de *Ocimum* sp. față de *Escherichia coli* (U: ulei; C+: control pozitiv - gentamicină; C-: control negativ -DMSO 3 %)

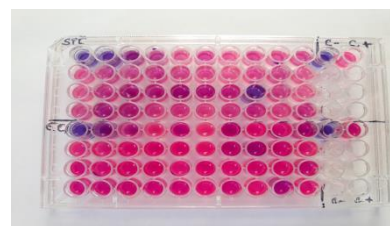


Figura 45. Stabilirea concentrației minime inhibitorii (C.M.I.) a uleiului de *Ocimum* sp. față de *Staphylococcus aureus* și *Escherichia coli*

De asemenea, materialul vegetal obținut în condiții hidroponice în cadrul raportului nr.3 al prezentei etape a fost analizat în vederea caracterizării acestuia, situație utilă în vederea realizării unei baze de date atribuită fiecărei deficiențe nutriționale a busuiocului, din cele deja testate (V1 – deficiență N, V2 – deficiență P, V3 – deficiență Fe, V4 – deficiență K). *Determinarea concentrației de proteine din biomasa vegetală:* Conținutul de proteine solubile a fost evaluat prin metoda lui Bradford (1976) folosind albumina serică bovină ca standard. Determinarea concentrației de proteine a scos în evidență obținerea unei concentrații mai mari în biomasa vegetală corespunzătoare variantei V3 (fără Fe; 2,32 mg/mL) cu 6,42% față de varianta V1, cu 55,71% față de varianta V2, respectiv cu 120,95% față de varianta V4 (fig. 46).

Determinarea stresului oxidativ la nivelul biomasei vegetale: Malondialdehida (MDA) ca indicator al produselor de peroxidare a lipidelor a fost cuantificată în țesutul vegetal și animal conform metodei descrise conform metodei descrisă de Hodges et al., 1999. Pentru a obține extractul enzimatic (vegetal și animal), 0,30 g de material biologic au fost omogenizate cu 3 mL soluție tampon de fosfat de sodiu 0,1 M (pH = 7,5). Omogenizatul a fost centrifugat la 15.000 rpm/min la 4°C timp de 15 min. Supernatantele care conțineau enzime brute au fost analizate pentru activitățile superoxid dismutazei (SOD), catalazei (CAT) și peroxidazei (POD). Activitatea SOD a fost evaluată prin monitorizarea capacității sale de a inhiba reducerea tetrazoliului nitro albastru (NBT) de către radicalii superoxid rezultați prin reoxidarea riboflavinei reduse fotochimic (Dhindsa et al., 1999). Activitatea POD a fost stabilită spectrofotometric prin măsurarea intensității culorii generate de oxidarea o-dianisidinei (3, 30-dimetoxibenzidinei) cu H₂O₂ în prezența peroxidazei la 460 nm, folosind metoda descrisă de Ranieri et al. 2000. Activitatea CAT a fost determinată folosind metoda descrisă de Sinha, 1972 cu ajustări minore. Activitatea tuturor enzimelor antioxidante (SOD, POD și CAT) a fost exprimată ca unități per mg proteine (U/mg proteină). Evaluarea stresului oxidativ la busuiocul crescut în hidroponie în condițiile lipsei principalilor nutrienți a evidențiat în cazul variantei V1 (fără N) o reducere a catalazei, a superoxid dismutazei, peroxidazei și a peroxidării lipidice (fig. 47). În cazul variantei V2 (fără P) o intensificare a activității MDA-ului, a POD-ului și o ușoară creștere a CAT și a SOD. În varianta V3 s-a înregistrat o diminuare a activității enzimatice a cat, SOD, PER și MDA, iar în varianta V4 o intensificare a activității CAT, SOD, POD și MDA.

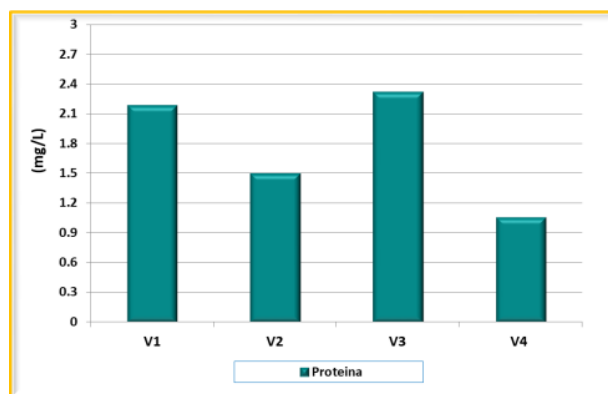


Fig. 46. Concentrația de proteine din busuiocul crescut în condiții hidroponice în cele 4 variante experimentale

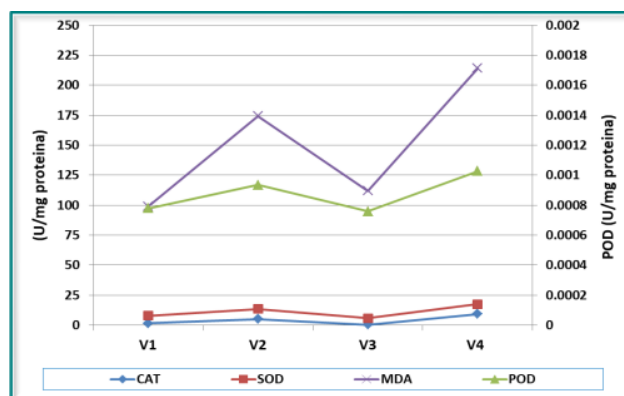


Fig. 47. Concentrația enzimelor CAT, SOD, POD și MDA din busuiocul crescut în hidroponie în cele 4 variante experimentale

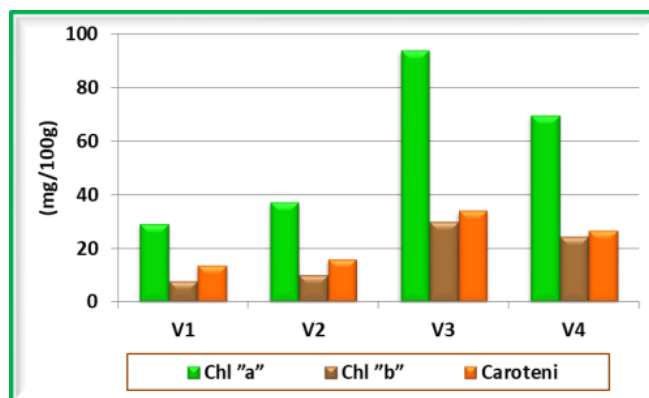


Fig. 48. Concentrația de Chl "a", Chl "b" și carotenoizi la busuiocul crescut în condiții hidroponice în cazul privării de azot (V1), fosfor (V2), fier (V3) și potasiu (V4).

Activitatea enzimatică a CAT, SOD și POD a înregistrat cele mai mari concentrații în varianta V4 (9,25 U/mg proteină; 17,39 U/mg proteină, respectiv 0,00103 U/ mg proteină), iar concentrațiile minime s-au înregistrat în varianta V3 (0,4 U/mg proteină; 5,82 U/mg proteină; respectiv 0,00076 U/mg proteină). În ceea ce privește peroxidarea lipidică (MDA) aceasta a

înregistrat concentrația cea mai mare în varianta V4 - 214,05 (U/mg proteină), iar cea mai mică concentrație s-a înregistrat în varianta V1 (99,09 U/mg proteină).

Determinarea pigmentilor din biomasa vegetală: Pigmenții fotosintetici (clorofila a, clorofila b și carotenoidele) din biomasa vegetală au fost extrași cu 80% acetonă și cuantificate conform metodei Lichtenthaler, 1987. Cantitatea de pigmenți a fost evaluată și exprimată în mg/100g folosind următoarele ecuații, în acord cu Lichtenthaler: Clorofila a (Chl a) = $(12.21 \times A_{663} - 2.81 \times A_{645})$; Clorofila b (Chl b) = $(20.13 \times A_{645} - 5.03 \times A_{663})$; Carotenoizi = $[(1000 \times A_{470} - 3.27 \times \text{Chl a} - 104 \times \text{Chl b})/227]$. Rezultatele obținute au arătat faptul că cea mai mare influență asupra reducerii concentrației de clorofilă "a", clorofilă "b" și caroteni o are lipsa azotului din apa tehnologică, urmată de lipsa fosforului, lipsa potasiului și lipsa fierului din apa tehnologică (fig.48). Chiar dacă s-au observat efecte vizibile ale deficienței de fier la nivelul plantelor (frunzelor) de busuioc crescute în hidroponie (V3), lipsa fierului nu a afectat concentrația de clorofilă și caroteni față de variantele V1, V2 și V3 unde concentrațiile acestor parametri au fost reduse semnificativ ($p < 0,5$). Prin urmare în cazul clorofilei "a" s-a constatat o creștere în varianta V3 cu 223,32% față de varianta V1, cu 152,52% față de varianta V2, respectiv cu 34,62% față de varianta V4. În cazul clorofilei "b" creșterea a fost de 289,60% față de varianta V1, de 195,76% față de varianta V2 și 23,60% față de varianta V4. În ceea ce privește carotenoizii, concentrația lor a crescut în varianta V3 cu 146,99% față de varianta V1, cu 112,83% față de varianta V2, respectiv cu 27,81% față de varianta V4.

Caracterizarea biomasei vegetale din punct de vedere al polifenolilor, flavonoizilor și al activității antioxidante: Probele au fost extrase cu metanol prin două metode diferite: extracție asistată de ultrasunete (30 min.) pentru probele B1-4 și extracție prin măcerare prelungită (3 zile) pentru probele V1-4. Pentru extractele astfel obținute, au fost determinate: conținutul în polifenoli totali, conținutul în flavonoide și capacitatea antioxidantă. Conținutul în polifenoli totali a fost determinat prin metoda Folin-Ciocalteu și ulterior exprimat în g acid galic la 100 g produs vegetal. Conținutul în flavonoide a fost determinat prin metoda cu clorură de aluminiu și ulterior exprimat în g rutozidă la 100 g produs vegetal. Capacitatea antioxidantă a fost evaluată prin determinarea capacității de scavenger față de radicalul liber DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Pentru determinarea cantitativă a polifenolilor totali, 0,2 mL extract s-au amestecat cu 3 mL apă distilată și 0,2 mL reactiv Folin-Ciocalteu (Fluka, Steinheim, Germania). Amestecul de reacție s-a agitat energic. După 5 min. s-au adăugat 0,6 mL soluție carbonat de sodiu 20%. Absorbanța amestecului de reacție a fost determinată la 765 nm (spectrofotometru Analytik Jena Specord 210 Plus) după 2 ore de incubare la întuneric. Ca

etalon, s-a folosit acidul galic (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germania). Pentru determinarea cantitativă a flavonoidelor, 0,5 mL extract s-au amestecat cu 1 mL apă distilată și 0,075 mL soluție 5% nitrit de sodiu. După 6 min. s-au adăugat 0,15 mL soluție 10% clorură de aluminiu, iar după alte 5 min., 0,5 mL soluție 1 M de hidroxid de sodiu. Absorbanța amestecului de reacție a fost determinată imediat la 510 nm (spectrofotometru Analytik Jena Specord 210 Plus). Ca etalon, s-a folosit rutozida (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germania). Determinarea activității antioxidante. Radicalul DPPH este un radical stabil, de culoare violet care, datorită electronului impar, absoarbe puternic la 517 nm. În prezența unor antioxidanți, radicalul DPPH este redus la difenilpicrilhidrazină (DPPH-H) de culoare galbenă, ceea ce determină scăderea absorbantei la 517 nm. Pentru determinarea capacității de scavenger față de radicalul DPPH, 0,5 mL extract s-au amestecat cu 1,5 mL soluție metanolică DPPH având o absorbantă de $1,00 \pm 0,05$ la 517 nm. Absorbanța amestecului de reacție a fost determinată după 5 min. la aceeași lungime de undă (spectrofotometru AnalytikJena Specord 210 Plus). Activitatea de scavenger față de radicalul DPPH (%) a fost calculată cu ajutorul formulei: $100 \times (A_{\text{inițial}} - A_{\text{final}}) / A_{\text{inițial}}$, unde $A_{\text{inițial}}$ reprezintă absorbanta înainte de adăugarea probei și A_{final} reprezintă valoarea absorbantei măsurată la 5 min. după adăugarea extractului. Conținutul de polifenoli în biomasa de busuioc crescută în condiții hidroponice a înregistrat cele mai ridicate valori în partea aeriană a busuiocului din V3 (varianta specifică deficiențelor de fier) și cele mai mici valori în rădăcina plantelor de busuioc din V4 (varianta specifică deficiențelor de potasiu) (tab.5). În ceea ce privește conținutul de flavonoide, cele mai ridicate valori s-au înregistrat în rădăcina plantelor, comparativ cu partea aeriană, iar valoarea maximă înregistrată a fost în rădăcina plantelor din V3. Cele mai mici valori ale conținutului de flavonoide s-au înregistrat în partea aeriană a plantelor, iar valoarea minimă s-a înregistrat în V1 (varianta specifică deficiențelor de azot) (tab.6). Activitatea antioxidantă a înregistrat valorile cele mai reduse în rădăcina plantelor de busuioc din V4, pe când valoarea cea mai ridicată s-a înregistrat în cazul rădăcinei plantelor de busuioc din V3.

Tab.6. Caracterizarea biomasei vegetale crescută în hidroponie

(* exprimată la 0,5 mL extract metanolic)

Variantă experimentală	Organ vegetal	Polifenoli (g%)	Flavonoide (g%)	Activitate antioxidantă (%)*
V1	rădăcină	0,172±0,001	0,111±0,001	74,20±0,98
	parte aeriană	0,207±0,012	0,012±0,001	72,78±0,30

V2	rădăcină	0,149±0,002	0,15±0,001	64,73±0,53
	parte aeriană	0,199±0,005	0,013±0,001	73,96±1,08
V3	rădăcină	0,348±0,003	0,169±0,002	89,15±0,92
	parte aeriană	0,512±0,006	0,019±0,001	66,73±1,24
V4	rădăcină	0,066±0,001	0,124±0,001	35,35±0,55
	parte aeriană	0,243±0,011	0,015±0,001	46,25±1,06