



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2012 00889

(22) Data de depozit: 27.11.2012

(41) Data publicării cererii:
28.06.2013 BOPI nr. 6/2013

(71) Solicitant:
• SUNSHINE BUSINESS SERV S.R.L.,
STR. CIMITIRULUI NR. 9, ANINOASA, DB,
RO

(72) Inventatori:
• OANCEA FLORIN, STR.PAȘCANI NR.5,
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ROȘU LAURENȚIU, STR. CIMITIRULUI
NR. 9, ANINOASA, DB, RO;
• ȘTEFĂNESCU BOGDAN MIHAIL,
STR. DRUMUL SĂRII NR. 63, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO

(54) PRODUS PENTRU TRATAREA FAMILIILOR DE ALBINE ȘI
PROCEDEU DE APLICARE A ACESTUIA

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs dozat pentru o singură aplicare pe o familie de albine, și la un procedeu de aplicare a acestuia. Produsul conform invenției este alcătuit dintr-un ambalaj cu volum cuprins între 10 și 40 cm³, format dintr-o folie hidrosolubilă, care conține fructooligizaharide, amidon de porumb, alcool polivinilic, lecitină, glicerină, stearat de magneziu, apă, în care sunt introduse 8...32 g de compoziție hidrofobă, alcătuită din ulei vegetal din floarea-soarelui, ulei de cimbru, sau ulei de mentă, ulei de lămâiță, și aditivi, maltol și lecitină. Procedeu conform invenției constă în efectuarea, în același timp, a unor stropiri pe corpul

stupului cu emulsie de produs, care acționează preponderent prin vaporizare, și pe ramele cu albine și pe albine, cu emulsie care stimulează albinele, diluată în raport de 1:1 cu sirop de albine, sau aplicarea concomitentă a unei stropituri pe corpul stupului, cu emulsie care acționează prin vaporizare, și a unei hrăniri de substituție cu hrană pentru albine, sub formă de sirop, în care s-a diluat în raport de 1:20 emulsia care stimulează albinele.

Revendicări: 7



PRODUS PENTRU TRATAREA FAMILIILOR DE ALBINE ȘI PROCEDEU DE APLICARE

Prezenta invenție se referă la un produs pe bază de uleiuri esențiale și fucto-oligozaharide prebiotice, dozat pentru o singură aplicare pe familie de albine, și la un procedeu de aplicare a acestui produs în apicultură, pentru protecția albinelor împotriva bolilor și dăunătorilor, prin activarea sistemelor de apărare ale albinelor și prin limitarea dezvoltării populațiilor de agenți patogeni și dăunători, și pentru stimularea activității de hrănire a albinelor.

Sunt cunoscute diferite produse, pe bază de uleiuri esențiale și alte produse naturale, pentru tratarea familiilor de albine. Aceste produse reprezintă o soluție optimă la problema compromisului între necesitatea protejării albinelor împotriva diferiților agenți patogeni și dăunători și obligativitatea menținerii calității mierii la un nivel corespunzător consumatorilor umani. Uleiurile esențiale, ca și produsele naturale care sunt folosite în combinații cu acestea, extrase din plante sau sintetizate pentru a fi identice cu cele existente în natură, sunt recunoscute ca fiind sigure pentru consumul uman, pentru că nu generează reziduuri periculoase, au efecte secundare limitate asupra albinelor și asupra organismelor ne-țintă, sunt biodegradabile și sigure pentru mediu și selectează foarte încet populații de agenți fitopatogeni și/sau dăunători rezistenți (Blenau *et al.*, 2012, *Apidologie*, 43:334-347).

Brevetul EP0869714 (B1) descrie o compoziție, cu eliberare controlată, în care uleiurile esențiale (și/sau acizii organici) sunt incluse într-un hidrogel obținut prin reticularea unor agenți de îngroșare care formează geluri, ca acidul poliacrilic, carboximetilceluloza, alcoolul polivinilic, polizaharide hidrofile, etc. Din această compoziție uleiurile volatile se evaporă treptat, menținând o concentrație constantă de vapori în stup, activă pentru agenți patogeni și dăunători și sigură pentru albine. Această compoziție cu eliberare controlată din hidrogel reticulat prezintă o serie de dezavantaje, legate de separarea parțială în timp a fazei apoase, și este limitată la aplicarea exclusiv prin volatilizare.

Cererea de brevet WO03055315 (A1) se referă la utilizarea uleiurilor esențiale microîncapsulate sub formă de coacervate. Microîncapsularea se realizează în soluții apoase, cu folosirea unor emulgatori, exemplificați prin polisorbitat 20 (Tween 20), obținut prin deshidratarea sorbitolului și tratarea

produșilor de deshidratare cu acid lauric și oxid de etilenă, iar stratul polimeric al coacervatelor, prezentate în exemplele de realizare a invenției, este format prin coagularea și reticularea proteinelor. Agarul este preferat în exemplificările de realizare a invenției ca agent de îngroșare. Compoziția conține între 10 și 30% ulei esențial, între 1 și 10% polimer coacervat și între 0,2 și 5% surfactant neionic. Produsul nu separă în timp faza apoasă, dar este limitat la aplicarea prin vaporizare, micro-capsulele coacervate nefiind potrivite pentru administrarea în hrana albinelor.

Cererea de brevet SUA 20070026765 A1 prezintă o compoziție pentru combaterea acarienilor paraziți ai albinelor melifere, în care uleiurile esențiale sunt incluse împreună cu un surfactant natural, de preferat lecitină, pentru a putea fi emulsionate într-o soluție apoasă de sirop (invertit) de zahăr, sirop glucoză-fructoză din porumb sau miere, folosită în mod obișnuit ca hrană pentru albine. Compoziția este aplicată atât ca supliment în hrana albinelor, cât și prin stropirea ramelor cu albine pentru a stimula activitate de îngrijire reciprocă a acestora (eng. „grooming”), dar nu sunt revendicate procedee de aplicare în care uleiurile esențiale să acționeze preponderent în fază de vapori, pentru a elimina de ex. acarienii care parazitează puietul căpăcit.

Cererea de brevet GB2482900, publicată și ca WO2012022931 (A2) WO2012022931 (A3), dezvăluie compoziții care sunt administrate familiilor de albine prin pudrare pentru combaterea acarienilor paraziți. Aceste compoziții conțin 91,5%-99% ceară de carnauba, până la 8% ingredient activ biologic, care este de preferință un ulei esențial, și în special timol / ulei de cimbru, și 0,5% agent de curgere, de preferat silice hidrofilă precipitată. Astfel de formulări ale uleiurilor esențiale prezintă o activitate foarte redusă a apei și un risc redus de degradare microbiană, pot fi pre-dozate pentru aplicarea pe un singur stup, acționează în principal prin stimularea comportamentului de deparazitare reciprocă a albinelor, dar nu pot fi aplicate și ca supliment nutritiv / în hrana albinelor și sunt dificil de compatibilizat cu ingrediente active hidrofiele, cu acțiune complementară uleiurilor esențiale.

Un exemplu de ingrediente active hidrofiele cu o acțiune complementară uleiurilor esențiale sunt fructo-oligozaharidele, care au acțiune prebiotică, stimulând dezvoltarea bacteriilor probiotice (Sangeetha *et al.*, 2005, Trends Food Sci. Tech., 16:442-457). Aceste bacterii probiotice sunt benefice pentru sănătatea

albinelor și a stupului (Vasque *et al.*, 2012, PLoS One, 7:e33188), prevenind infecția cu *Paenibacillus larvae*, bacteria care produce loca americană (Mudronova *et al.*, 2011, J. Api. Res., 50:323-324), și stimulând răspunsul imun al albinelor (Evans și Lopez, 2004, J. Econ. Entomol., 97:752-756). Fructo-oligozaharidele sunt prezentate în cererea de brevet KR20100125738 (A) ca prebiotic în combinație sinbiotică cu bacteriile prebiotice din grupul lactobacililor, dar până în prezent nu au fost asociate uleiurilor esențiale pentru a fi aplicate ca tratament al albinelor, deși în medicina umană a fost reliefat un sinergism al acțiunii bacteriilor probiotice și al uleiurilor esențiale împotriva microorganismelor dăunătoare (a se vedea de ex. trecerea în revistă Shipradeep *et al.*, 2012, Gastroent. Res. Pract., 2012: ID457150), iar fructo-oligozaharidele sunt un prebiotic larg recunoscut, care favorizează dezvoltarea bacteriilor probiotice.

Concentrația în care fructo-oligozaharidele se regăsesc în miere, și care susține dezvoltarea unor bacterii probiotice benefice este de max. 58 mg/kg (0,058 mg/g, Mei *et al.*, 2010, Int. Food Res. J., 17:557-561). O cantitate mai ridicată de fructo-oligozaharide, în special din cele cu 3 și mai mult resturi de fructoză, reprezintă un indicator de falsificare a mierii cu sirop de fructoză obținut din inulină (Ruiz-Matute *et al.*, 2010, J. Food Compos. Anal. 23: 273-276), astfel încât fructo-oligozaharidele trebuie dozate cu precizie pe stup, pentru a asigura dezvoltarea unor microbiocenoze benefice albinelor, cu antagonism față de microorganismele patogene pentru albine și cu acțiune de stimulare a imunității albinelor, fără a genera posibile probleme, legate de suspiciuni privind falsificarea mierii.

Problema tehnică pe care își propune să o rezolve invenția constă în obținerea unui produs pe bază de uleiuri esențiale și fructo-oligozaharide prebiotice, predozat pentru o singură aplicare pe stup, care să acționeze asupra agenților patogeni și a dăunătorilor albinelor, selectiv față de bacteriile probiotice și având concomitent o acțiune de stimulare a activității de hrănire a albinelor.

Soluția la problema tehnică constă dintr-un produs pentru tratarea familiilor de albine alcătuit dintr-un ambalaj, cu volum cuprins între 10 și 40 cm³, format prin termosudare din folie hidrosolubilă, care conține 37,2...39,6 părți de fructooligozaharide cu mai puțin de 10 resturi de hexoze în moleculă, 33,4 părți de amidon de porumb cu rezistență termică și capacitate de a forma filme, 14,5 părți de alcool polivinilic termoplastic, 3,1...3,3 părți de lecitină cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB de 4, 2,85 ... 3,15 părți de glicerină, 1,45 ... 1,55 părți de stearat de

magneziu, apă până la 100 părți, în care sunt introduse 8 ... 32 g de compoziție hidrofobă, alcătuită din 30 părți timol natural identic sau echivalent ulei de cimbru alb, *Thymus zygii*, cu cel puțin 45% timol, sau 15 părți ulei de lămâiță, *Cymbopogon flexuosus*, 15 părți ulei de mentă, *Mentha piperita*, 5 părți ulei de cimbru alb, *Thymus zygii*, cu cel puțin 45% timol, 2 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8, și 1 parte maltol, restul până la 100 părți fiind ulei vegetal din floarea soarelui.

Prin dizolvare în apă înaintea aplicării componentele ambalajului hidrosolubil și cele ale conținutului lichid hidrofob se omogenizează prin agitare și se comportă practic ca o compoziție unitară, formând emulsii stabile, inclusiv în cazul emulsionării ulterioare cu siropuri folosite uzual ca hrană pentru albine, administrate prin stropirea ramelor sau ca hrană pentru albine.

Este un obiect derivat al soluției tehnice de a furniza o compoziție de ambalaj hidrosolubil care să fie suficient de rezistentă pentru a fi manipulată cu ușurință, fiind în același timp solubilă rapid în apă. Autorii au constatat că adăugarea de fructo-oligozaharide la un amestec de amidon, alcool polivinilic, glicerol, lecitină și stearat de magneziu, determină formarea unui produs cu o bună comportare termoplastică, care prezintă proprietăți mecanice superioare, care nu se lipește de epiderma mâinilor și care se solubilizează rapid în apă rece.

Este un alt obiect derivat al soluției tehnice de a furniza o compoziție hidrofobă inclusă în ambalajul hidrosolubil, pe baza unor uleiuri esențiale, de preferat timol / ulei de cimbru sau ulei de mentă, ulei de lămâiță și ulei de cimbru, dizolvate în ulei vegetal, de preferat ulei de floarea-soarelui, în care se adaugă maltol, compus cu proprietăți antioxidante, care, în același timp, este și un potențator de aromă și are și o activitate de sinergizare a acțiunii antimicrobiene, și lecitină ca emulgator natural.

Este un alt obiect al acestei invenții de a descrie un procedeu prin care aceste produs pre-dozat este emulsionat în apă, după dizolvarea ambalajului hidrosolubil și omogenizarea sistemului dispers, emulsia rezultată fiind aplicată în funcție de acțiunea dorită, prin pulverizare, pe corpul stupului, pentru a se vaporiza ulterior în stup și/sau pe ramele de albine și pe albine, pentru a stimula comportamentul de deparazitare reciprocă în familiile de albine, și/sau prin includere ca supliment nutritiv în hrana administrată albinelor.

Procedeul de aplicare a produsului conform invenției este alcătuit din următoarele etape: emulsionarea produsului pre-dozat, ambalaj și conținut, în 100 ml apă, sub agitare pentru formarea unei emulsii stabile, urmată de diluarea cu sirop (invertit) de zahăr sau sirop de glucoză-fructoză din porumb, în raport de 1:1, în cazul emulsiei destinate utilizării pentru stropirea ramelor de albine și a albinelor, sau în raport de 1:20 a celei utilizate ca supliment în hrana albinelor, aplicarea în același timp, în cadrul tratamentelor de toamnă înaintea iernării, prin stropire pe corpul stupului, a emulsiei formate din produsul cu conținut ridicat de uleiuri esențiale care acționează preponderent prin vaporizare, și prin stropire pe ramele cu albine și pe albine, a emulsiei cu conținut de uleiuri esențiale care stimulează albinele, diluate în raport de 1:1 cu hrană pentru albine, pentru stimularea comportamentului de deparazitare reciprocă, sau aplicarea concomitentă, în perioadele de început de cules sau de lipsă de nectar, prin stropire pe corpul stupului a emulsiei formate din produsul cu conținut ridicat de uleiuri esențiale care acționează prin vaporizare, și ca supliment prebiotic și stimulatив în hrana albinelor, a emulsiei diluate în raport de 1:20 în hrană pentru albine.

Ca atare, într-un prim aspect preferat de realizare invenția implică:

- Obținerea unor folii din material hidrosolubil, care conține 37,2...39,6 părți de fructo-oligozaharide cu mai puțin de 10 resturi de hexoze în moleculă, 33,4 părți de amidon de porumb cu rezistență termică și capacitate de a forma filme, 14,5 părți de alcool polivinilic termoplastic, 3,1..3,3 părți de lecitină cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB de 4, 2,85 ... 3,15 părți de glicerină, 1,45 ... 1,55 părți de stearat de magneziu, apă până la 100 părți, cu grosimea de 0,25..0,8 mm, prin amestecarea componentelor, granulara lor și formarea prin extrudare a foliilor.

- Formarea prin termosudare din folia termosolubilă a unor ambalaje cu volum cuprins între 10 ... 40 cm³ și introducerea a 8 ... 32 g de compoziție hidrofobă, alcătuită din ulei vegetal din floarea soarelui, timol / ulei de cimbru, sau respectiv ulei de mentă, ulei de lămâiță, ulei de cimbru, și aditivi, maltol și lecitină.

Intr-un alt aspect al invenției produsul destinat acționării predominant prin vaporizare este alcătuit dintr-un ambalaj hidrosolubil de 40 cm³, format dintr-o folie hidrosolubilă cu grosimea de aproximativ 0,25 mm și care cântărește circa 0,85 g, care conține 32 g de soluție 30% timol, 2% lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8, și 1% maltol, în ulei de floarea-soarelui, iar cel

destinat aplicării prin stropire pe ramele cu albine sau ca supliment nutritiv pentru albine este alcătuit dintr-un ambalaj de 10 cm³, format dintr-o folie cu grosimea de aproximativ 0,8 mm și care cântărește circa 0,8 g, care conține 8 g de soluție 15% ulei de lămâiță, 15% ulei de mentă, 5% ulei de cimbru, 2% lecitină modificată, cu o balanță hidrofili - lipofilă HLB mai mare de 8, și 1% maltol, în ulei de floarea-soarelui.

Intr-un alt aspect al invenției procedeul de aplicare implică efectuarea în același timp a unei stropirii pe corpul stupului cu emulsie care acționează preponderent prin vaporizare, și a unei stropiri pe ramele cu albine și pe albine, cu emulsie care stimulează comportamentul de deparazitare reciprocă a albinelor, sau aplicarea concomitentă a unei stropiri pe corpul stupului, cu emulsie care acționează prin vaporizare, și a unei hrăniri de substituție cu hrană pentru albine sub formă de sirop în care s-a diluat în raport de 1:20 emulsia care stimulează albinele.

Emulsiile care acționează preponderent prin vaporizare, utilizate în procedeul de mai sus, se realizează prin dizolvarea produsului pre-dozat destinat acționării predominant prin vaporizare, ambalaj și conținut, în 100 ml apă, sub agitare pentru formarea unei emulsii stabile, iar aplicarea emulsiei se face cu o pompă de stropit de mână, de preferință pe partea inferioară a podișorului care acoperă ramele, pentru a favoriza acțiunea vaporilor și asupra ramelor cu puiet.

Emulsiile destinate stimulării comportamentului de deparazitare reciprocă a albinelor se realizează prin dizolvarea produsului pre-dozat destinat stimulării albinelor, ambalaj și conținut, în 100 ml apă, sub agitare pentru formarea unei emulsii stabile, și diluarea emulsiei, în raport de 1:1 cu sirop (invertit) de zahăr sau sirop de glucoză - fructoză folosit ca hrană pentru albine, iar aplicarea emulsiei se face cu o pompă de stropit de mână, de preferință după expunerea ramelor prin ridicarea de pe corpul de bază al stupului a corpului superior / corpurilor superioare.

Emulsiile de produs cu conținut de uleiuri esențiale care stimulează albinele, utilizate în procedeul de mai sus, se realizează prin dizolvarea produsului pre-dozat, ambalaj și conținut destinat stimulării albinelor, în 100 ml apă, sub agitare pentru formarea unei emulsii stabile, și diluare în raport de 1:20 cu hrană pentru albine sub formă de sirop, și hrănirea albinelor, de preferat prin depunerea siropului într-un hrănit de podișor, pentru a echilibra microflora din

sistemul digestiv al albinelor și pentru a activa sistemul imun al albinelor, sub acțiunea bacteriilor probiotice favorizate de fructo-oligozaharidele prebiotice, și pentru a stimula comportamentul de cules nectar și polen al albinelor.

Stropirea concomitentă, pe corpul stupului și pe ramele cu albine și pe albine, conform procedurii descris de invenție se realizează în cadrul tratamentelor de toamnă, pentru a asigura o deparazitare eficientă înaintea iernării, prin acțiunea complementară a emulsiei care acționează prin vaporizare cu a celei care stimulează comportamentul de deparazitare reciprocă.

Aplicarea în același timp, a unei stropiri pe corpul stupului cu emulsie care acționează prin vaporizare, și a unei hrăniri de substituție cu hrană pentru albine care include emulsie stimulative pentru albine, conform procedurii descris de invenție, se realizează în perioadele de început de cules sau de lipsă temporară de nectar, pentru a susține familiile de albine, pentru a le proteja împotriva unor boli și dăunători și pentru a stimula culesul.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- Stabilitate ridicată în timp datorită activității reduse a apei în produs, atât în ambalajul hidrosolubil, cât și în componenta hidrofobă;
- Stabilitatea emulsiei formate după dizolvarea în apă înaintea aplicării propriu-zise datorită acțiunii de emulsionare a surfactanților, și în special a lecitinei, și de stabilizare a emulsiilor de către alcoolul polivinilic și amidon;
- Rezistența mecanică și ușurință de manipulare a ambalajului hidrosolubil, datorită efectului pastifiant al oligozaharidelor, care permite o prelucrare termoplastică cu reducerea conținutului de apă sub 10% în ambalajul final;
- Solubilitatea ridicată în apă rece, favorizată de solubilitatea ridicată a fructo-oligozaharidelor și efectului de umectare al lecitinei;
- Posibilitatea aplicării după necesități, prin stropirea corpului stupului și/sau stropirea ramelor și a albinelor și/sau adăugare în hrana albinelor;
- Stimularea activității de hrănire a albinelor, datorită maltolului care este și un potențiator de aromă și a unor ingrediente din uleiurile de mentă și de lămâiță, geraniol, nerol, citral A și citral B, prezente și în feromonii glandei Nasonov cu care albinele marchează zonele de cules;
- Limitarea populației de acarieni paraziți pe puietul căpăcit după aplicarea prin vaporizare;

- Stimularea comportamentului de deparazitare prin îngrijire reciprocă, după aplicarea prin stropire pe albine;
- Favorizarea dezvoltării bacteriilor probiotice din stup și din sistemul digestiv al albinelor, cu echilibrarea microbiocenozelor și activarea de către aceste bacterii benefice a imunității albinelor;
- Inhibarea dezvoltării agenților patogeni, în special *Ascospaera apis*, sub acțiunea componentelor microbiostatice din uleiurile esențiale și antagonică a bacteriilor probiotice favorizate de fructo-oligozaharide;
- Omogenizarea componentei volatizate aplicate pe partea inferioară a podișorului, datorită acțiunii de ventilare realizate de albinele care zboară spre hrănitorul de pe podișor;
- Deparazitare eficientă înaintea iernării, prin acțiunea complementară a emulsiei care acționează prin vaporizare cu a celei care stimulează comportamentul de deparazitare reciprocă.

In continuare invenția va fi descrisă prin prezentarea unor exemple de realizare.

Exemplul 1. Intr-un vas de amestecare se amestecă în proporție geometrică 1,5 g sterat de magneziu (Pardeck[®] Lub MST, Merck, Darmstadt, Germania), 38,8 g fructo-oligozaharide cu mai puțin de 10 resturi de hexoze în moleculă (Orafti[®]P95, Orafti-Beneo, Tienen, Belgia), 33,4 amidon de porumb cu rezistență termică și capacitate de a forma filme (Clinton 444, Archer Daniels Midland, Decatur, IL, SUA), 14,5 g de alcool polivinilic termoplastic ([®]Mowieflex LP TC 251, Kurary Europe, Hattersheim am Main, Germania). După omogenizare completă se adaugă 35 g de suspensie apoasă în care s-au omogenizat 3,5 g de glicerină (85%, Merck, Darmstadt, Germania) și 3,2 g de lecitină cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB de 4 (Yelikin[®], Archer Daniels Midland, Decatur, IL, SUA). Se obține la început o masă semifluidă, care, prin amestecare în continuare, devine păstoasă și, în final, formează o pudră fin granulară, umedă, dar prezentând curgere liberă. Pulberea este granulată pe un Plasti-Corder Lab Station (Brabender, Duisburg, Germania) și apoi este extrudată pe un extruder cu două șnecuri (Brabender DSE 25), cu un raport al șnecului L / D = 28L, la o temperatură de plastifiere în trei zone, de 110°C, 115°C și 120°C, la o presiune de 14,5 - 15 bari și la o viteză de rotație a șnecului de 50 - 60 rpm. Folia pantalon obținută, de 0,25 mm grosime, se etirează prin suflare cu aer de 70°C prin interiorul filierei la dimensiuni de 100 mm,

din care se confecționează prin termosudare pungi cu volumul de 40 cm³. Materialul format are un conținut de apă reziduală, determinat prin analiză termogravimetrică, de sub 10%, compoziția lui fiind: 37,2...39,6 părți de fructo-oligozaharide cu mai puțin de 10 resturi de hexoze în moleculă, 33,4 părți de amidon de porumb cu rezistență termică și capacitate de a forma filme, 14,5 părți de alcool polivinilic termoplastice, 3,1..3,3 părți de lecitină cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB de 4, 2,85 ... 3,15 părți de glicerină, 1,45 ... 1,55 părți de stearat de magneziu, apă până la 100 părți.

În interiorul ambalajului hidrosolubil de 40 cm³ format prin termosudare se introduc 32 g de soluție uleioasă, care conține 30% timol, 2% lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8 (Thermolec[®] WFC, Archer Daniels Midland) și 1% maltol (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, SUA), dizolvate în ulei de floarea-soarelui. Timolul folosit poate fi natural identic sau echivalent ulei de cimbru cu cel puțin 45% timol (ulei de cimbru alb, *Thymus zygis*, conform ISO 14715 : 2010). Se închide ambalajul prin termosudare și se re-împachetează într-o pungă de polietilenă pentru a evita contactul accidental cu apa.

Produsul pre-dozat rezultat este destinat formării unei emulsii care se aplică prin stropire pe corpul stupului, de preferință pe partea inferioară a podișorului care acoperă ramele, pentru a favoriza acțiunea vaporilor și asupra ramelor cu puiet. Din picăturile aderente pe suprafața de lemn a podețului se evaporă lent timolul, care-și exercită acțiunea sa asupra agenților patogeni și a dăunătorilor albinelor, în special acarieni.

Exemplul 2. Se realizează o folie de material hidrosolubil la fel ca în exemplul 1, diferența fiind grosimea foliei pantalon, care este de 0,8 mm. Din această folie se confecționează prin termosudare un ambalaj de 10 cm³, și care cântărește circa 0,8 g. În acest ambalaj hidrosolubil se introduc 8 g de soluție 15% ulei de lămâiță, 15% ulei de mentă, 5% ulei de cimbru, 2% lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8 (Thermolec[®] WFC, Archer Daniels Midland) și 1% maltol (Sigma-Aldrich) în ulei de floarea-soarelui.

Uleiul de lămâiță (*Cymbopogon flexuosus*) folosit este ulei esențial conform ISO 4718:2004, uleiul de mentă (*Mentha piperita*) folosit este ulei esențial conform ISO 856:1981, iar uleiul de cimbru este un ulei esențial cu cel puțin 45% timol, (ulei de cimbru alb, *Thymus zygis*, conform ISO 14715 : 2010).

Produsul pre-dozat este destinat stimulării familiilor de albine. Pentru aplicare se introduce produsul pre-dozat în 100 de ml de apă și, după circa 1 min, se agită viguros pentru a se forma o emulsie. Emulsia rezultată se amestecă cu sirop (invertit) de zahăr sau cu sirop de glucoză-fructoză din porumb, în proporție de 1:1, dacă se aplică prin stropire pentru stimularea comportamentului de deparazitare reciprocă, sau în proporție de 1:20, dacă se aplică ca supliment de hrană pentru albine.

Exemplul 3. La începutul culesului sau în perioadele lipsite de cules se aplică o stropire pe partea inferioară a podișorului care acoperă ramele, cu o emulsie care acționează prin vaporizare, și o hrănire de substituție cu hrană pentru albine sub formă de sirop, în care s-a diluat în raport de 1:20 emulsia care stimulează albinele, aplicată în hrănitorul de podișor. Atragerea albinelor în zona de vaporizare a emulsiei aplicate pe partea inferioară a podișorului favorizează expunerea albinelor și a paraziților de pe albine la acțiunea vaporilor de ulei esențial și omogenizează vaporii în stup sub acțiunea curenților de aer asociați zborului albinelor.

Emulsia care acționează prin vaporizare se obține conform exemplului 1, prin introducerea ambalajului hidrosolubil de 40 cm³ care conține 32 g de soluție 30% timol, 2% lecitină modificată și 1% maltol în 100 ml apă. Suplimentarea hranei albinelor se realizează conform exemplului 2, prin introducerea produsului pre-dozat, care conține într-un ambalaj hidrosolubil de 10 cm³ 8 g de compoziție hidrofobă cu 15% ulei de lămâiță, 15% ulei de mentă, 5% ulei de cimbru, 2% lecitină modificată, și 1% maltol, dizolvate în ulei de floarea-soarelui, în 100 ml de apă, și diluarea în proporție de 1:20 cu siropul folosit ca hrană pentru albine.

Procedeele de aplicare a fost experimentat în primăvara anului 2012, într-o perioadă cu lipsă temporară de nectar, între sfârșitul culesului la salcâm și înainte de începerea culesului la floarea-soarelui, la sfârșitul lunii mai. Experimentul s-a realizat în cadrul unei singure stupine, aparținând unuia dintre autori, și a inclus următoarele variante experimentale: V₁ – martor netratat; V₂ – tratament cu un produs etalon pe bază de timol aplicat prin vaporizare (Apiguard[®], 2 tăvițe a 50 g gel, 12,5 g timol per tăviță, deasupra ramelor, sub podișor); V₃ – tratament cu un produs etalon pe bază de timol aplicat prin vaporizare (Apiguard[®], 2 tăvițe deasupra ramelor, sub podișor) și cu 2,180 kg de sirop de zahăr invertit (Apiinvert[®], Agrana, Viena, Austria) în care s-au omogenizat 109 g emulsie

conținând 1,2 g ulei de lămâiță, 1,2 g ulei de mentă, 0,4 g ulei de cimbru, 16 mg de lecitină și 8 mg maltol. V₄ - tratament conform ex. 3 de realizare a invenției, 133 g emulsie care acționează prin vaporizare pe partea inferioară a podișorului de lemn, 109 g de emulsie din produs pentru stimularea albinelor diluate în 2,180 kg de sirop invertit de zahăr (Apiinvert[®], Agrana). Fiecare variantă experimentală a inclus patru repetiții, fiecare repetiție incluzând câte 3 stupi, fiecare stup având 15.000 albine; randomizarea celor patru variante în patru repetiții a fost făcută în pătrat latin.

Înainte de aplicarea tratamentelor s-au prelevat câte 300 de albine din câte trei rame pe care s-a determinat gradul de infestare prin utilizare metodei propuse de De Jong *et al.*, 1982, *Apidologie* 13:297-303. Pentru diagnosticarea prezenței *Varroa* pe puiet au fost inspectate, prin deschidere, câte 100 celule de puiet de lucrătoare din fiecare stup. Pe baza rezultatelor coloniile au fost împărțite în trei categorii de infestare cu *Varroa*, scăzut, mediu, ridicat, iar fiecare repetiție a inclus câte o colonie din fiecare categorie de infestare. Monitorizarea în timp a efectului produsului asupra infestării cu acarieni a fost realizată prin folosirea unei foi de carton depusă pe fundul anti-*Varroa*, pe care s-au înregistrat acarienii morți. Monitorizarea evoluției ascosferozei s-a realizat prin numărarea zilnică a larvelor moarte (puiet văros, simptom infecție *Ascospaera apis*) scoase la urdiniș. La sfârșitul perioadei de experimentare de 4 săptămâni s-a procedat din nou la o estimare a infestării cu acarieni din stupii folosiți în experiment, prin prelevarea a câte 300 albine per colonie și a câte 100 de larve. Eficacitatea fiecărui tratament a fost estimată prin calcularea unui indice de reducere = (indicele inițial – indicele final) / indicele inițial x 100. După cele 4 săptămâni stupi au fost mutați la marginea unui lan de floarea-soarelui (cv. Pro 229, Procera seeds, Fundulea, România) unde au fost menținuți timp de trei săptămâni monitorizându-se săptămânal prin cântărire acumularea de miere și de biomasă de albine. Datele obținute în cadrul experimentului s-au prelucrat prin analiza varianței (Statistica 10, StatSoft, Tulsa, OK, SUA).

Rezultatele sunt prezentate în tab.1 prezentat mai jos. Aceste rezultate demonstrează o eficacitate bună a produsului realizat conform invenției, aplicat conform invenției, concomitent ca stropire a emulsiei care acționează prin vaporizare și ca supliment în hrana albinelor a emulsiei care stimulează albinele.

27-11-2012

Tab. 1. Eficacitatea produsului conform invenției, aplicat concomitent ca stropire a emulsiei care acționează prin vaporizare și ca supliment în hrana albinelor a emulsiei care stimulează albinele*.

Tratament	Eficacitate anti-Varroa (%)	Acarieni morți (nr. mediu pe săptămână)	Puiet văros (nr. mediu larve pe săptămână)	Producție miere, medie lunară**
V ₁ martor netratat	-	212d	752g	12,52k
V ₂ Apiguard [®] , 2 tăvițe a 50 g gel, 12,5 g timol per tăviță	63,5a	764e	268h	17,34l
V ₃ Apiguard [®] , 2 tăvițe a 50 g gel, 12,5 g timol per tăviță și 2,180 kg de sirop de zahăr invertit + 109 g emulsie conținând 1,2 g ulei de lămâiță, 1,2 grame ulei de mentă, 0,4 g ulei de cimbru, 12 mg de lecitină și 6 mg maltol	77,5b	882ef	185i	20,27m
V ₄ - tratament conform ex. 3 de realizare a invenției	87,4c	1038f	112j	23,06n

*valorile urmate de aceeași literă nu diferă semnificativ pentru $P > 0,05$

**media lunară per variantă a lunii de cules la floarea-soarelui, care a urmat la 28 zile de la aplicarea tratamentului

Prin aplicarea concomitentă conform procedurii invenției, a 141 g emulsie care acționează prin vaporizare pe partea inferioară a podișorului de lemn și 109 g de emulsie din produs pentru stimularea albinelor diluate în 2,180 kg de sirop invertit de zahăr, s-a realizat o reducere a gradului de infestare cu *Varroa* peste cel realizat de către produsul comercial aplicat numai prin volatilizare. Aplicarea concomitentă a produsului comercial gel destinat acțiunii prin volatilizare și a unei hrăniri de substituție în hrănitul aplicat pe podișor, suplimentată cu uleiuri esențiale a dus la o creștere a eficacității de combatere a acarienilor *Varroa destructor* și la o creștere semnificativă din punct de vedere statistic a eficacității de combatere a *Ascospaera apis*, care determină apariția puietului văros. Componentele ambalajului hidrosolubil, și în special fructo-oligozaharidele, au contribuit la o creștere semnificativă a acțiunii de protejare a albinelor față de atacul de *Ascospaera apis* și *Varroa destructor*.

Exemplul 4. În cadrul tratamentelor stupului din timpul toamnei, ca pregătire de iernare, se aplică o stropire pe partea inferioară a podișorului care acoperă ramele, cu o emulsie care acționează prin vaporizare, și o stropire în același timp, cu pe ramele cu albine și pe albine, cu emulsie care stimulează comportamentul

de deparazitare reciprocă a albinelor, diluată în raport 1:1 cu sirop glucoză – fructoză din porumb sau sirop de zahăr invertit.

Emulsia care acționează prin vaporizare se obține conform exemplului 1, prin introducerea ambalajului hidrosolubil de 40 cm³ care conține 32 g de soluție 30% timol, 2% lecitină modificată și 1% maltol în 100 ml apă. Emulsia care stimulează comportamentul de deparazitare reciprocă a albinelor se realizează conform exemplului 2, prin introducerea produsului pre-dozat, care conține într-un ambalaj hidrosolubil de 10 cm³ 8 g de compoziție hidrofobă cu 15% ulei de lămâiță, 15% ulei de mentă, 5% ulei de cimbru, 2% lecitină modificată, și 1% maltol, dizolvate în ulei de floarea-soarelui, în 100 ml de apă, și diluarea în proporție de 1:1 cu sirop glucoză – fructoză din porumb sau sirop de zahăr invertit.

Scopul tratamentului combinat este de a realiza a combinare a acțiunilor de protejare a stupului contra atacului de *Varroa destructor*, prin combinarea efectului cid specific al vaporilor de timol cu efectul de deparazitare prin curățire reciprocă a albinelor („grooming”), stimulat prin stropire cu sirop care reprezintă hrană pentru albine, amestecat cu uleiuri esențiale și fructo-oligozaharide. Comportamentul de îngrijire reciprocă stimulează ventilația stupului, favorizând evaporarea timolului și acțiunea vaporilor de timol.

Procedeul de aplicare a fost experimentat în toamna anului 2012, la sfârșitul lunii septembrie, într-o perioadă în care temperatura medie din timpul zilei a variat între 16,8 și 23,5°C, fiind peste cea de 15°C recomandată pentru tratamentele în care timolul se aplică pentru evaporare ulterioară. Experimentul a fost realizat în cadrul unei singure stupine, aparținând unuia dintre autori, și a inclus următoarele variante experimentale: V₁ – martor netratat; V₂ – tratament cu un produs etalon pe bază de timol aplicat prin vaporizare (Apiguard[®], 2 tăvițe a 50 g gel, 12,5 g timol per tăviță, deasupra ramelor, sub podișor); V₃ – tratament cu un produs etalon pe bază de timol aplicat prin vaporizare (Apiguard[®], 2 tăvițe deasupra ramelor, sub podișor) și cu 218 g de emulsie realizată din 109 g sirop de glucoză – fructoză din porumb (Isosugar[™], Tate and Lyle, Londra, Marea Britanie) în care s-au omogenizat 109 g emulsie conținând 1,2 g ulei de lămâiță, 1,2 grame ulei de mentă, 0,4 ulei de cimbru, 16 mg de lecitină și 8 mg maltol, aplicată prin stropirea ramelor de albine și a albinelor, cu ajutorul unei pompe de mână, pe ramele expuse prin ridicare parțială a corpului superior al

stupului; V₄ - tratament conform ex. 4 de realizare a invenției, 133 g emulsie care acționează prin vaporizare pe partea inferioară a podișorului de lemn, 109 g de emulsie din produs pentru stimularea albinelor diluate cu 109 g de sirop de glucoză – fructoză din porumb (Isosugar™, Tate and Lyle), aplicată prin stropirea ramelor de albine și a albinelor, cu ajutorul unei pompe de mână, pe ramele expuse prin ridicare parțială a corpului superior al stupului. Fiecare variantă experimentală a inclus patru repetiții, fiecare repetiție incluzând câte 3 stupi, fiecare stup având 15.000 albine; randomizarea celor patru variante în patru repetiții a fost făcută în pătrat latin.

Înainte de aplicarea tratamentelor s-au prelevat câte 300 de albine din câte trei rame pe care s-a determinat gradul de infestare prin utilizare metodei propuse de De Jong et al., 1982, *Apidologie* 13: 297-303. Pentru diagnosticarea prezenței *Varroa* pe puiet au fost inspectate, prin deschidere, câte 100 celule de puiet de lucrătoare din fiecare stup. Pe baza rezultatelor coloniile au fost împărțite în trei categorii de infestare cu *Varroa*, scăzut, mediu, ridicat, iar fiecare repetiție a inclus câte o colonie din fiecare categorie de infestare. Monitorizarea în timp a efectului produsului asupra infestării cu acarieni a fost realizată prin folosirea unei foi de carton depusă pe fundul anti-*Varroa*, pe care s-au înregistrat acarienii morți. La sfârșitul perioadei de experimentare de 4 săptămâni s-a procedat din nou la o estimare a infestării cu acarieni din stupii folosiți în experiment, prin prelevarea a câte 300 albine per colonie și a câte 100 de larve. Eficacitatea fiecărui tratament a fost estimată prin calcularea unui indice de reducere = (indicele inițial – indicele final) / indicele inițial x 100. Datele obținute în cadrul experimentului s-au prelucrat prin analiza varianței (Statistica 10, StatSoft, Tulsa, OK, SUA).

Rezultatele sunt prezentate în tab. 2 prezentat mai jos. Aceste rezultate demonstrează o eficacitate bună a produsului realizat conform invenției, aplicat conform invenției, prin stropiri efectuate în același timp, pe corpul stupului a emulsiei care acționează prin vaporizare, și pe ramele cu albine și pe albine, a emulsiei care acționează prin stimularea albinelor. Prin aplicarea concomitentă conform procedurii invenției, a 133 g emulsie care acționează prin vaporizare pe partea inferioară a podișorului de lemn, 109 g de emulsie din produs pentru stimularea albinelor diluate cu 109 g de sirop de glucoză – fructoză din porumb (Isosugar™, Tate and Lyle), aplicată prin stropirea ramelor de albine și a albinelor, cu ajutorul unei pompe de mână, pe ramele expuse prin ridicare parțială a

corpului superior al stupului, s-a realizat o reducere a gradului de infestare cu *Varroa* peste cel realizat de către produsul comercial aplicat numai prin volatilizare.

Tab. 2. Eficacitatea produsului conform invenției, stropiri efectuate în același timp, pe corpul stupului a emulsiei care acționează prin vaporizare, și pe ramele cu albine și pe albine, a emulsiei care acționează prin stimularea albinelor*

Tratament	Eficacitate anti- <i>Varroa</i> (%)	Acarieni morți (nr. mediu pe săptămână)
V ₁ martor netratat	-	187d
V ₂ Apiguard®, 2 tăvițe a 50 g gel, 12,5 g timol per tăviță	60,7a	537e
V ₃ Apiguard®, 2 tăvițe a 50 g gel, 12,5 g timol per tăviță și 109 g de sirop glucoză - fructoză + 109 g emulsie conținând 1,2 g ulei de lămâiță, 1,2 grame ulei de mentă, 0,4 g ulei de cimbru, 12 mg de lecitină și 6 mg maltol aplicate prin stropirea ramelor și a albinelor	72,4b	642f
V ₄ - tratament conform ex. 4 de realizare a invenției	82,4c	727g

*valorile urmate de aceeași literă nu diferă semnificativ pentru P>0,05

**media lunară per variantă a lunii de cules la floarea-soarelui, care a urmat la 28 zile de la aplicarea tratamentului

Aplicarea concomitentă a produsului comercial gel destinat acțiunii prin volatilizare și a unei stropiri a ramelor și albinelor cu o emulsie de uleiuri esențiale în sirop de glucoză- fructoză a dus la o creștere semnificativă a eficacității de combatere a acarienilor *Varroa destructor*. Componentele ambalajului hidrosolubil, și în special fructo-oligozaharidele au contribuit la o creștere semnificativă a acțiunii de protejare a albinelor față de atacul de *Varroa destructor*.

REVEDINCARI

1. Produs pentru tratarea familiilor de albine **caracterizat prin aceea că** este alcătuit dintr-un ambalaj, cu volum cuprins între 10 și 40 cm³, format prin termosudare din folie hidrosolubilă care conține 37,2...39,6 părți de fructooligozaharide cu mai puțin de 10 resturi de hexoze în moleculă, 33,4 părți de amidon de porumb cu rezistență termică și capacitate de a forma filme, 14,5 părți de alcool polivinilic termoplastic, 3,1..3,3 părți de lecitină cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB de 4, 2,85 ... 3,15 părți de glicerină, 1,45 ... 1,55 părți de stearat de magneziu, apă până la 100 părți, în care sunt introduse 8 ... 32 g de compoziție hidrofobă, alcătuită din 30 părți timol natural identic sau echivalent ulei de cimbru alb, *Thymus zygis*, cu cel puțin 45% timol, sau 15 părți ulei de lămâiță, *Cymbopogon flexuosus*, 15 părți ulei de mentă, *Mentha piperita*, 5 părți ulei de cimbru alb, *Thymus zygis*, cu cel puțin 45% timol, 2 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8, și 1 parte maltol, restul până la 100 părți fiind ulei vegetal din floarea soarelui.
2. Produs conform revendicării 1, destinat acțiunii asupra familiilor de albine preponderent prin vaporizare, **caracterizat prin aceea că** include, într-un ambalaj de 40 cm³, format din folie hidrosolubilă cu grosimea de aproximativ 0,25 mm și care cântărește circa 0,85 g, 32 g de compoziție hidrofobă, alcătuită din 30 părți timol natural identic sau echivalent ulei de cimbru alb, *Thymus zygis*, cu cel puțin 45% timol, 2 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8, și 1 parte maltol, restul până la 100 părți fiind ulei vegetal din floarea soarelui, și formează o emulsie stabilă cu apa, după dizolvarea în apă a foliei hidrosolubile, emulsionarea componentei hidrofobe și stabilizarea emulsiei, inclusiv sub acțiunea stabilizantă a unor componente ale ambalajului.
3. Produs conform revendicării 1, destinat în principal stimulării albinelor, **caracterizat prin aceea că** include, într-un ambalaj de 10 cm³, format dintr-o folie cu grosimea de aproximativ 0,8 mm și care cântărește circa 0,8 g, 8 g de compoziție hidrofobă 15 părți ulei de lămâiță, *Cymbopogon flexuosus*, 15 părți ulei de mentă, *Mentha piperita*, 5 părți ulei de cimbru alb, *Thymus zygis*, 2 părți lecitină modificată, cu o balanță hidrofil - lipofilă HLB mai mare de 8, și 1 parte maltol, restul până la 100 părți fiind ulei vegetal din floarea soarelui, și formează o emulsie stabilă cu apa și cu siropurile utilizate în hrana albinelor, după dizolvarea în apă a foliei hidrosolubile, emulsionarea componentei hidrofobe și stabilizarea

emulsiei, inclusiv sub acțiunea stabilizantă a unor componente ale ambalajului, și diluarea în siropuri utilizate în hrana albinelor.

4. Procedeu de aplicare a produsului conform revendicării 1, pentru tratarea familiilor de albine, **caracterizat prin aceea că** este alcătuit din următoarele etape: emulsionarea produsului pre-dozat, ambalaj și conținut, în 100 ml apă, sub agitare pentru formarea unei emulsii stabile, urmat de diluarea cu sirop (invertit) de zahăr sau sirop de glucoză-fructoză din porumb, în raport de 1:1 în cazul emulsiei destinate utilizării pentru stimularea comportamentului de deparazitare reciprocă după stropirea ramelor de albine și a albinelor, sau în raport de 1:20 a celei utilizate ca supliment în hrana albinelor, efectuarea în același timp a unei stropiri pe corpul stupului, cu emulsie care acționează preponderent prin vaporizare, și a unei stropiri pe ramele cu albine și pe albine, cu emulsie care stimulează comportamentul de deparazitare reciprocă a albinele, sau aplicarea în același timp, a unei stropiri pe corpul stupului a emulsiei care acționează prin vaporizare, și a unei hrăniri de substituție cu hrană pentru albine sub formă de sirop în care s-a diluat în raport de 1:20 emulsia care stimulează albinele.

5. Etapă de stropire pe corpul stupului cu emulsie care acționează preponderent prin vaporizare, conform procedurii din revendicarea 4, **caracterizată prin aceea că** se aplică cu o pompă de stropit de mână, de preferință pe partea inferioară a podișorului care acoperă ramele, pentru a favoriza acțiunea vaporilor și asupra ramelor cu puiet.

6. Etapă de stropire concomitentă, pe corpul stupului și pe ramele cu albine și pe albine, conform procedurii din revendicarea 4, **caracterizată prin aceea că** se realizează în cadrul tratamentelor de toamnă, pentru a asigura o deparazitare eficientă înaintea iernării, prin acțiunea complementară a emulsiei care acționează prin vaporizare cu a celui care stimulează comportamentul de deparazitare reciprocă.

7. Etapă de aplicarea în același timp, a unei stropiri pe corpul stupului cu emulsiei care acționează prin vaporizare, și a unei hrăniri de substituție cu hrană pentru albine care include emulsie stimulative pentru albine, conform procedurii din revendicarea 4, **caracterizată prin aceea că** se realizează în perioadele de început de cules sau de lipsă temporară de nectar, pentru a susține familiile de albine, pentru a le proteja împotriva unor boli și dăunători și pentru a stimula culesul.