



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2014 00461**

(22) Data de depozit: **19/06/2014**

(41) Data publicării cererii:
30/12/2015 BOPI nr. **12/2015**

(71) Solicitant:
• **MELISPEC PRODUCTION S.R.L.**,
STR. MUNCII NR. 53, FUNDULEA, CL, RO

(72) Inventatori:
• **VLĂDULESCU CONSTANTIN MARIUS**,
STR.VORONEȚ NR.3, BL.D4, SC.1, ET.1,
AP.5, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;

• **TIBERIU CRISTEA, STR.PREDEAL NR.6,**
AP.4, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• **VLĂDULESCU LUCIAN CONSTANTIN,**
STR. SFÂNTUL ELEFTERIE NR. 31,
BUCUREȘTI, B, RO

(74) Mandatar:
APOSTOL SALOMIA P.F.A.,
STR.REGIMENT 11 SIRET NR.15, BL.E4,
AP.54, GALAȚI, JUDEȚUL GALAȚI

(54) **SUPLIMENTE NUTRIȚIONALE PENTRU ALBINE CU EFECT
PROFILACTIC ȘI PREPARAREA LOR**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un supliment nutrițional cu efect profilactic pentru albine. Suplimentul conform invenției conține sarea de Fe(II) a prolinei, ulei de citronela, acid

cumaric, minerale esențiale și vitamine, pe suport glucidic miere naturală.

Revendicări: 10



SUPLIMENTE NUTRIȚIONALE PENTRU ALBINE CU EFECT PROFILACTIC ȘI PREPARAREA LOR

Prezenta invenție se referă la formularea și a modului de obținere a unor suplimente nutriționale, cu efect profilactic pentru albine, bazat pe acțiunea conjugată a sărurilor de fier (II) obținute din aminoacizi similari cu cei prezenți în miere și polen, uleiurilor vegetale volatile, ulei de citronella singur sau în amestec și acid p-cumaric, sub formă de concentrate sau sub formă de siropuri sau turte pe suport glucidic, la care se pot adăuga pentru potențare: vitamine esențiale, minerale esențiale, proteine și grăsimi și care pot fi administrate permanent sau în anumite perioade.

Sensibilitatea albinelor la bolile cele mai frecvente: varrooza; nosemoză; loca europeană; loca americană și altele, depinde de mai mulți factori: hrană insuficientă, lipsa sau insuficiența din hrană a unor principii nutritive esențiale: proteinele, vitaminele esențiale, mineralele esențiale; acid p-cumaric, acțiunea pesticidelor și a factorilor externi extremi, precum căldură sau frig excesive. În general albinele își găsesc toate componentele unei nutriții complete în nectar, polen și respectiv în rezervele de miere / păstură provenite din acestea. Dar pot exista și situații când, flora locală, solul sau condițiile climatice determină carențe de componente esențiale, chiar în hrana naturală a albinelor. Dintre aceste boli varrooza este una dintre cele mai distructive. Există o serie de medicamente cum ar fi: AMITRAZ; MAVIROL; APISTAN; APITOL; BAYVAROL; PERIZIN; FOLBEX. Se pot utiliza și pulverizări cu acid formic, lactic și oxalic. Toate trebuie aplicate cu precauții, fiind toxice și pentru albine, impurifică mierea și nu elimină complet parazitul. Pentru celelalte maladii se pot folosi și antibiotice/bactericide precum: fumagilina; oxitetraciclina; teramicina; streptomycină; eritromicină și sulfatiazol. Antibioticele se pot folosi numai în caz de strictă necesitate, contaminarea mierii cu urme din acestea, scoțând-o din consumul uman. Tendința actuală este de eliminare cât mai avansată a produselor organice de sinteză, prin înlocuirea lor cu produse extrase din plante și în măsura posibilului, eliminarea cât mai avansată a oricăror produse, chiar naturale, care nu se găsesc în mod natural în nectar, miere sau polen. Un exemplu de produs natural este API-LIFE-VAR, constituit dintr-un amestec de cristale de timol, camfor, mentol extrase din plante și ulei volatil de eucalipt, fixate pe suport de vermiculit (CHEMICALS LAIF). Se pune la baza stupului, de unde, elimină prin sublimare substanțele active. Un alt produs, bazat pe uleiuri volatile, vitamine din grupul B și minerale esențiale, este PROTOFIL (ICDA), eficient în profilaxia nosemozei. Nici tratamentele cu aceste produse conținând uleiuri volatile, vitamine sau minerale esențiale nu eradică bolile albinelor.

O profilaxie eficientă și ecologică se bazează întărirea imunității albinelor la boli și pesticide. În primul rând trebuie asigurat un suport nutrițional suficient cantitativ și cât mai complet în nutrienți esențiali. Acesta este asigurat, în primul rând, prin hrana naturală: nectar, miere și polen, revenind cu observația că, nici chiar aceasta nu poate garanta întotdeauna cantitățile necesare de nutrienți esențiali: glucide, proteine, grăsimi, vitamine, minerale și compuși imuno-fortifianți. Suplimentele nutriționale, adăugate hranei naturale, trebuie să completeze necesarul de bază și să corecteze eventualele carențe. Formularea suplimentelor nutriționale trebuie să evite produse care pot uza albinele, fie datorită compoziției chimice, fie datorită unor concentrații exagerate.

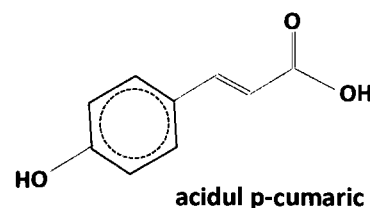
Componenta glucidică trebuie să evite, în cât mai mare măsură, zahărul, mai ales cel din sfeclă. Este admis că, pentru a obține aceeași cantitate de energie, albina consumă o cantitate de zahăr cu 25% mai mare față de aceea obținută din aceeași cantitate de glucoză sau fructoză. În plus zahărul din sfeclă conține între 0.5-2.5% rafinoză, toxică pentru albine. La utilizarea siropurilor cu conținut ridicat de fructoză, trebuie ținut cont că, anumite metale precum Mn, pot cataliza formarea de 5-hidroximetilfurfural (HMF), toxic pentru albine. De aceea, concentrația metalelor în siropurile cu conținut de fructoză, nu trebuie să depășească nivelul lor din miere.

Proteinele utilizate în formularea suplimentelor nutriționale, pentru a fi asimilate eficient, trebuie să conțină zece aminoacizi esențiali într-o proporție optimă sau cel puțin apropiată de aceasta (g/16g N): treonină, 3 valină 4; metionină 1.5; leucina 4.5; izoleucină 4.5; fenilalanină 2.5; lizină 3, histidină 1.5; arginină 3, triptofan 1 (DeGroot 1953). Aminoacidul major în miere (între 20 și 60% din total aminoacizi) este prolina [1; 2]. Identificarea prolinei se folosește și pentru atestarea veridicității mierii. Studii recente au reevaluat că, și prolina are un rol special în fiziologia albinelor; nici un alt aminoacid nu se poate metaboliza atât de rapid, generând imediat enzimele necesare eliberării rapide a unor cantități mari de energie prin „arderea glucozei”. Prolina este esențială pentru zborul albinelor și în special pentru „decolare” [3]. Proteinele, cu excepția prolinei, nu sunt absolut necesare albinelor adulte dar, sunt necesare pentru creșterea puietului și pentru pregătirea albinelor pentru iernat. Formarea „corpului gras” adică, acumularea unui conținut de până la 60% proteine în corp este o condiție necesară pentru supraviețuirea albinelor în timpul iernatului.

Sursa de proteine este de asemenea importantă. Făina de soia conține suficientă stahioză și rafinoză, ambele toxice pentru albine, pentru ca, folosită în cantitate prea mare, mai ales cu sirop de zahăr de sfeclă, conținând și el rafinoză, să poată provoca mortalitatea albinelor. Majoritatea adaosurilor proteice: derivați din soia, orz, drojdie de bere inactivată, etc au un conținut de potasiu, sodiu și clor foarte mare. Potasiul la concentrații peste 5000 ppm în hrană este repelent pentru albine. Clorura de sodiu, la concentrații peste 0.1% în hrană, scurtează drastic longevitatea albinelor. Proteinele, din praful de ouă integral sau din gălbenuș, conțin între 40 și 60% lipide și 1.5-2.5% colesterol. Colesterol, adăugat în hrana albinelor, crește longevitatea acestora însă un conținut de lipide de 2-4%, depinzând de compoziție, o reduce drastic.

Vitaminele nu sunt esențiale pentru albinele adulte, dar sunt importante în hrana larvelor și mătcii. Vitaminele esențiale din miere sunt cele din complexul B și vitamina C. În polen, majoritar este tot complexul de vitamine B dar, se găsesc și vitaminele A, D și E care au un rol favorabil în dieta albinelor.

Acidul p-coumaric a fost pus în evidență în polen și în miere (0.3 -7 ppm) [4;5], dar nu se găsește în nectar. S-a dovedit experimental că acidul p-coumaric este cel mai eficient imunoprotector dintre toți compușii asemănători care se găsesc în hrana albinelor. Spre deosebire de ceilalți acizi fenolici din miere sau polen, activitatea imunologică a acidului p-coumaric crește liniar cu creșterea concentrației sale în hrana, spre deosebire de alți acizi fenolici, a căror activitate crește până la un maxim, după care scade spre zero. Analiza secvențială a ARN a demonstrat că acidul p – coumaric reglementează o suită specială de gene care acționează ca, apărare împotriva pesticidelor și a agenților patogeni [6]. Deoarece nu se găsește în nectar, este posibil, ca în stup, să nu se acumuleze cantitatea suficientă pentru desfășurarea unei reacții imunologice complete.



Mineralele esențiale majore: Na; K; Mg; Ca; Cu; Zn; Mn, Fe; P; S; Cl, exprimate ca elemente, se găsesc în miere la un conținut total de 500 – 800 mg/kg , iar în polen pot atinge 10000 mg/kg. Un conținut de minerale, de peste 1-1.5% în hrană, are efecte de uzură pentru albine. Rolul metalelor tranziționale din minerale este legat de metalo-enzime; enzimele din sisteme oxidative conținând, fier, mangan, zinc și cupru, au un rol important în sistemul energetic și cel imunologic; enzimele cu conținut de mangan sau zinc (metaloproteaze) au rol de scindare a proteinelor. Tot metalo-



enzimele funcționează în procesele imunitare. Deși este de dorit ca metalele să fie în forme stabile și bio-asimilabile, utilizarea unor chelați prea puternici, precum EDTA, dezactivează metaloenzimele. Pentru multe enzime, fierul, manganul, zincul și cuprul sunt interschimbabile. Potasiul și sodiul participă la transmiterea impulsurilor neuronale. Fosforul și calciu participă la procesele de conversie energetică a glucidelor și la formarea granulelor de magnetită din corpul albinelor. Calciul are și un rol esențial asupra memoriei olfactive a albinelor. Sulfurul are rol în sinteza unor aminoacizi esențiali. Cuprul și zincul au în plus și efecte fungicide și bactericide.

Cercetări recente au relevat că, un exces de mangan în hrana albinelor, duce la intensificarea proceselor de reproducere, conducând la un dezechilibru între hrana disponibilă și numărul de albine din colonie, finalul fiind colapsul coloniei (CCD – Collapse Colony Disorder). De fapt manganul este o verigă care face legătura cu varrooza. T.J. Schuijt [7], în anul 2011, a formulat așa numitul „tick model” arătând că, la infestarea cu acarieni/căpușe, un rol important îl joacă bacteria *Borellia*. *Borellia* se găsește în organismul căpușelor de unde, este transferată în organismul parazitat de către acestea. Important este că, *Borellia*, folosește în metabolismul energetic Mn în locul Fe. *Borellia* înlocuiește fierul cu manganul și în organismul în care intră prin mijlocirea căpușei, perturbându-i metabolismul. În cazul albinelor, manganul nu stânjenește transferul de oxigen, albinele neavând pigment respirator în hemolimfă dar, perturbă metabolismul fierului. Cercetările lui Chin-Yuan Hsu și Chia-Wei Li [8;9] au arătat că, fierul se află în corpul albinelor sub formă de granule de magnetită, aleatoriu distribuite în trofocitele lucrătoarelor și ale trântorilor, în timp ce, în corpul mătcii sunt distribuite sub formă de clustere localizate periferic. Această diferențiere sugerează că granulele conținând fier au câteva funcții biologice esențiale, care nu sunt decât parțial descifrate. Se știe sigur că, granulele de magnetită sunt cele care asigură orientarea albinelor în câmpul magnetic terestru. Formarea granulelor cu conținut de fier, în corpul albinelor, se face prin intermediul cationilor Fe^{2+} , cu participarea compușilor calciului și fosforului. Perturbarea metabolismului fierului, la parazitarea cu *Varroa*, nu omoară direct albinele dar, le slăbește rezistența la boli, adăugând și efectul agravant de înmulțire excesivă. Alte efecte, puse în evidență în cazul fierului, sunt cele legate de stimularea albinelor și cele legate de încetinirea reproducerii acestora.

Uleiurile vegetale volatile/esențiale sunt utilizate în profilaxia bolilor albinelor, având proprietăți acaricide, fungicide și bactericide. Dintre uleiurile vegetale volatile, cele de cimbru, mentol, lămâie și citronella au acțiune toxică asupra parazitării cu *Varroa*, *Acarapis woodi* și *Paenibacillus larvae*. Dintre acestea, uleiurile de mentă și cimbru, deși sunt frecvent folosite, sunt foarte toxice și pentru albine. Uleiul de lămâie este mai puțin toxic dar, poate favoriza înmulțirea *Varroa*. Uleiul de citronella este practic netoxic pentru albine chiar și la concentrații relativ ridicate.

Există câteva patente privind utilizarea profilactică a sărurilor metalelor în suplimentele nutriționale pentru albine. Bounias și Dufour au pus în evidență efectul profilactic al sărurilor de cupru asupra *Varroa* [9]. Compusul preferat a fost gluconatul de cupru, administrat în sirop de zahăr. Prezența gluconatului de cupru în sirop, spre deosebire de alte săruri, care au efect repelent, sporește atractivitatea siropului pentru albine. S-a pus în evidență și un efect stimulant al gluconatului de cupru asupra albinelor. Cuprul trece din hemolimfa albinelor în cea a parazitului, afectându-i pigmentul respirator (hemocianina). Nu are însă efect în cazul infestării acute cu *Varroa*. În mod obișnuit, asigură o reducere cu 60-90% a populației de paraziți, acțiunea încetând la un nivel de echilibru. Folosirea excesivă poate contamina mierea. Principalul dezavantaj al utilizării sărurilor de cupru îl constituie folosirea unor concentrații de cupru mari în sirop (Cu 50 – 200 mg/L), limita maximă admisă în furaje fiind Cu 25mg/L, conform directivei (EC) No 1334/2003.

Un tratament profilactic cu săruri de fier (II): formiat, lactat, gluconat sau amestec al acestora, fundamentat pe baza „tick model” a fost elaborat de Maarten Van Hoorn și Rik Ter Horst [11]. Se preferă folosirea formiatului de fier (II) în amestec cu vinasse și diferite glucide, fie ca soluții, fie ca turte administrate albinelor. Se revendică și adăugarea de proteine, aminoacizi, uleiuri volatile și antioxidanți, fără însă a preciza care sunt aceștia și în ce concentrație. Vinasse este un produs care rezultă la fabricarea zahărului și la distilarea alcoolului din melasă sau cereale fermentate. Aceste rezidii de fabricație conțin acizi fulvici, zaharuri, proteine, vitamine și săruri minerale. Produsele de tip vinasse se folosesc în cantitate mică deoarece sunt toxice pentru albine. Rolul lor ar fi, după autorii procedurii, înlesnirea transferării biochimice a fierului în corpul albinelor. Gordon Wardell și Fabiana Ahumada-Segura folosesc în dieta albinelor un produs asemănător cu vinasse, denumit SOLULAC, ce se obține din măcinarea grăunțelor de cereale fermentate, rezultate după distilarea alcoolului [12]. Principalul dezavantaj ale formulărilor Maarten Van Hoorn și Rik Ter Horst sunt: folosirea unui component toxic (vinasse) și a formiatului de fier (II) care are efect repelent, precum și faptul că, nu se pot administra tot timpul anului.

Problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție o constituie formularea de suplimente nutriționale cu efecte profilactice pentru albine, sub formă de concentrate, sirop sau turte, conținând trei componente de bază, cu acțiune profilactică conjugată: săruri de fier(II) ale aminoacizilor prezenți în miere sau polen (conform „tick model”), acid p-cumaric și uleiuri esențiale având componente comune cu feromonii eliberați de albine. Acestea se administrează pe suport glucidic: miere, pentru orice perioadă a anului, alte glucide pentru perioadele cu activitate redusă a albinelor. Formulările sunt completate cu vitamine esențiale, minerale esențiale, aminoacizi și grăsimi. Formulările folosesc > 99.8% compuși organici bio și între 97 și 99.8% numai compuși care se găsesc în miere și polen. Suplimentele se obțin în forme omogene și stabile chimic și biologic, fără produse toxice pentru albine, fără conservanți de sinteză și fără efect repelent față de acestea.

Formulare compozițiilor suplimentelor nutriționale, cu efect profilactic pentru albine, în conformitate cu prezenta invenție, se bazează pe observația că există o corelație între efectul antivarroa care intervine la administrarea în hrana albinelor a metalelor (cupru sau fier) și feromonii eliberați de glanda Nasonov a albinelor lucrătoare, Apis Mellifera. Glanda Nasonov constă în câteva sute de celule localizate sub a șasea membrană intertergală, lângă suprafața dorsală a abdomenului. Când albina flexează segmentele terminale, această membrană se expune și eliberează secreții volatile, constând în principal din cis-geraniol și trans-geraniol (nerol), citral și produsele lor de oxidare [13]. Albinele eliberează acești feromoni întotdeauna când sunt stimulate: de exemplu când identifică apa sau nectarul. Feromonii glandei Nasonov au un puternic efect repelent asupra Varroa. De aceea, când albinele sunt stimulate, paraziții se desprind de pe acestea. Așadar, la stimularea în alimentație cu săruri de cupru sau fier, desprinderea paraziților nu se produce din cauza ingerării acestora, ci datorită stimulării glandei Nasonov. Sărurile de fier (II) nu omoară Varroa dar, acționează asupra Borellia. Borellia nu rezistă unei concentrații ridicate de fier și este distrusă la nivelul sistemului digestiv, întrerupând introducerea manganului în hemolimfa albinelor. În acest mod se restabilește participarea fierului în metabolismul albinelor, reducând sensibil efectele parazitării cu Varroa.

Uleiul volatil de citronella are o compoziție foarte asemănătoare cu a feromonilor eliberați de glanda Nasonov. Din aceste motive, în suplimentele nutriționale cu efect profilactic pentru albine, formulate în conformitate cu prezenta invenție, compușii Fe (II) sunt asociați cu uleiul volatil de citronella, urmărind întărirea efectului repelent asupra Varroa. Uleiul volatil de citronella omoară parazitul Varroa prin contact direct, dar acest fapt, atunci când acesta este introdus în

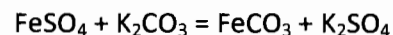
suplimentele nutritive, nu se produce decât întâmplător. Mai important este faptul că, funcție de concentrația în hrana albinelor, uleiul volatil de citronella trecând în organismul Varroa, împiedică reproducerea acestuia sau întârzie dezvoltarea ouălor care, sunt depuse în celulele cu larve. Prin întârzierea dezvoltării ouălor parazitului, larvele de albine își termină dezvoltarea înaintea maturizării ouălor Varroa și părăsesc neinfestate celule. Uleiul de citronella are suplimentar și efecte antifungice și bactericide, asigurând atât conservarea suplimentelor nutritive până la aplicare cât și o acțiune profilactică împotriva fungilor și bacteriilor, care parazitează colonia de albine. Efectul profilactic al compușilor de fier (II) și al uleiului volatil de citronella sau a amestecurilor de ulei de citronella cu alte uleiuri volatile, este consolidat prin adăugarea acidului p-cumaric, ca factor de creștere a imunității.

Spre deosebire de produsele brevetate de Maarten Van Hoorn și Rik Ter Horst, fierul (II) în suplimentele nutriționale cu efect profilactic, formulate în conformitate cu prezenta invenție, este administrat sub formă de săruri ale aminoacizilor prezenți în miere sau polen. Acestea sunt stabile chimic, solubile și ușor asimilabile, fără necesitatea adăugării unei substanțe care să înlesnească transferul lor biochimic. Pentru suplimentele care se administrează mai ales în perioada activă a albinelor, se preferă utilizarea sării de fier II a prolinei (H-Pro) iar pentru celelalte perioade, oricare alt aminoacid sau amestec de aminoacizi, de preferință glicină (H-Gly), alanină (H - Ala), lizină (H-Lys) și treonină (H-Thr). Spre deosebire de produsele brevetate de Maarten Van Hoorn și Rik Ter Horst, formularea suplimentelor conform prezentei invenții, este concepută pentru administrarea lor permanentă, în scopul menținerii conținutului de fier, la nivel suficient și necesar, în organismul albinelor, eliminând sau atenuând efectului negativ al manganului. Deoarece conținutul de fier din corpul albinelor variază funcție de perioada de activitate și în consecință, de disponibilitatea și compoziția resurselor naturale: nectar și polen, o aplicare riguroasă și eficientă se poate face monitorizând periodic conținutul de fier din corpul albinelor.

Prepararea sărurilor de fier (II) ale aminoacizilor se poate realiza prin reacția acestora cu: fier metalic în prezența acidului citric [13], carbonat feros în soluție apoasă dezaerată [14], sulfat feros în prezența sărurilor de calciu [15] sau bariu [16]; săruri de fier (II) în prezența glutamatului monosodic [17] sau a hidroxidului de potasiu [18].

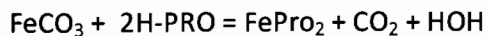
În prezenta invenție s-au folosit două metode de preparare a sărurilor de fier (II) ale aminoacizilor: prin reacția dintre carbonatul feros și aminoacizi și prin reacția dintre sulfatul feros și aminoacizi în prezența carbonatului de potasiu. Ca mediu de dizolvare a reactanților se poate folosi apa deionizată sau preferabil o soluție apoasă de glucoză 5-40% în apă deionizată, cu rol de prevenire a reacțiilor de oxidare. Sulfatul feros se dizolvă la o concentrație Fe 10-50g/L, carbonatul de potasiu la K 10 – 80 g/L iar aminoacizii la 50-250 g/L.

Conform primei metode, soluția de sulfat feros se toarnă sub agitare, la 30-40°C, în atmosferă de azot, peste soluția de carbonat de potasiu, dozată astfel încât în final să se obțină un pH = 7.2 -7.4, când precipită carbonatul feros:



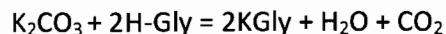
Pe lângă carbonatul feros se formează și cantități de hidroxid feros, dar acest fapt nu influențează procesul de obținerea a aminocarboxilaților fier(II). Suspensia obținută este ușor filtrabilă. Filtrarea se face sub atmosferă de azot, apoi precipitatul se spală cu apă deionizată sau de preferință cu o soluție apoasă de glucoză 5-40%, obținându-se precipitat cu 18-22% Fe și 0.04 – 0.06% K. Carbonatul feros se preia cantitativ de pe filtru și se adaugă, sub agitare și în atmosferă de azot, la

30-40°C, peste soluția de aminoacid. Cantitatea de aminoacid se calculează astfel încât să existe un exces 3-10% în raport cu cantitatea de Fe(II) prezentă în soluție. Se exemplifică cu reacția de formare a chelatului Fe (II) cu prolina:

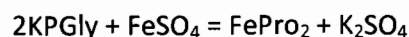


Aminocarboxilații Fe(II) au o bună solubilitate în soluții apoase.

După a doua metodă, soluția cu aminoacizi se neutralizează cu soluție de carbonat de potasiu, astfel încât 90-97 % din cantitatea de aminoacid să se transforme în sarea de potasiu:



În soluția de aminocarboxilat de potasiu, se adaugă, sub agitare și în atmosferă de azot, soluția de sulfat feros, dozată astfel încât raportul molar sulfat feros/aminocarboxilat de potasiu = 1:



Lucrând la concentrații prea mari de potasiu în soluție, este posibilă cristalizarea sulfatului de potasiu, dar aceste cristale sunt ușor filtrabile iar soluția de aminocarboxilat feros se folosește în continuare. Creșterea conținutului de potasiu în soluție, în cazul utilizării celei de a doua metode, în general nu deranjează, deoarece conținutul de K în mierea este în jur de 500 ppm iar în polen poate ajunge la mai mult de 5000 ppm.

Uleiul volatil de citronella sau amestecurile de ulei volatil de citronella cu alte uleiuri volatile, de preferință lavandă, melisa și măghiran, se introduc în suplimentele nutriționale, formulate în conformitate cu prezenta invenție, sub formă de emulsie în apă deionizată sau preferabil, în soluții apoase de glucoză. Amestecurile de uleiuri volatile se folosesc pentru creșterea efectului profilactic, precum și al atractivității suplimentelor pentru albine. Emulsionarea uleiurilor volatile se face adăugând în apă sau soluție de glucoză, 1-5% lecitină lichidă de soia, la 40-60°C, sub agitare energetică, după care se adaugă emulgator alimentar (alcooli superiori etoxilați, acizi grași etoxilați, monogliceride etoxilate) 8-30% raportat la soluția anterioară, sub agitare energetică iar apoi, tot sub agitare energetică, ulei de citronella sau ulei de citronella în amestec cu alte uleiuri volatile 5-40%, față de amestecul lecitină și emulgator. În continuare emulsia de uleiuri volatile se diluează, cu apă deionizată sau soluție de glucoză, până la o concentrație 10-80 mL/L ulei volatil.

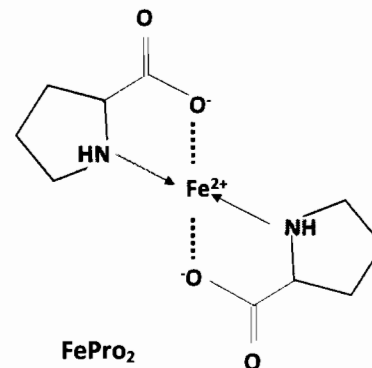
Acidul p-cumaric se introduce în suplimentele nutriționale, fie sub formă solidă, foarte fin măcinată, fie ca soluție de sare de potasiu sau amoniu, conținând acid cumaric 1g/L.

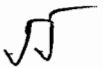
Suplimentele nutriționale cu efect profilactic pentru albine, obținute conform prezentei invenții pot fi formulate ca:

- Concentrate lichide conținând fier 5-25 g/L; ulei de citronella 1-10 g/L și acid p-cumaric 100-1000 mg/L la care se pot adăuga și vitamine esențiale. Suplimentar se introduc săruri de Cu și Zn, preferabil sulfați, pentru a realiza o concentrație Cu 10-50 mg/L și Zn 20-100 mg/L în concentratul lichid. Cu și Zn asigură suplimentar stabilitatea la degradarea biochimică.

Descriere

6





Concentratele sunt destinate preparării turtelor sau siropurilor administrate albinelor, dozajul fiind 1/50-1/200 în raport cu masa acestora. La aceste diluții, Cu și Zn, utilizate ca adaosuri de conservare, având o influență nesemnificativă asupra compoziției turtelor sau siropurilor.

- b. Suplimente lichide sau solide conțin Fe 20-300 mg/kg; ulei de citronella sau amestec de uleiuri volatile 10 μl/kg-1mL/kg, acid p-cumaric 1-5 mg/kg și preferabil vitamine esențiale, minerale esențiale, proteine și grăsimi pe un suport glucidic. Acestea se administrează direct albinelor.

Adaosul de vitamine are rolul de a întări efectul nutritiv și profilactic al suplimentelor. Proporția preferată a vitaminelor, stabilită în corelație cu proporțiile medii din miere și nectar, este ilustrată în tabelul 1.

Tabelul 1. Proporția dintre vitamine în suplimentele nutriționale formulate conform prezentei invenții

Denumire	%	Denumire	%	Denumire	%
B1 Tiamină	4-6	B6 Piridoxină	2 -5	C Ac. ascorbic	7-10
B2 Riboflavină	7 - 10	B7 Biotină	0.3 - 0.7	D Colecalciferol	2-5
B3 Niacinamidă	40 -50	B9 Acid folic	5-9	E Tocoferol	2-5
B5 Ac. pantotenic	7-10	A retinol	3 -6		

Inițial se prepară un concentrat de vitamine în apă deionizată sau preferabil în soluții apoase de glucoză, care apoi se dozează în formulările suplimentelor. Vitaminele B1, B3, B5, B6, B7 au o bună solubilitate în soluții apoase, în schimb celelalte au solubilitate mică sau neglijabilă și trebuie aduse sub formă de emulsie /suspensie stabilă. Pentru prepararea concentratului de vitamine se dizolvă, sub agitare energetică la 40-60°C, 1-6 % lecitină lichidă în apă deionizată sau preferabil în soluție apoasă de glucoză și apoi emulgator 10-25 %, raportat la soluția de lecitină. Se răcește la temperatura camerei și se adaugă sub agitare energetică vitamine 10-40%, raportat la soluția de lecitină și emulgator, vitaminele fiind în proporțiile prezentată în tabelul 1. Vitaminele solide, în prealabil, sunt fin măcinate/mojarate. Se adaugă apoi treptat, în porții, sub agitare energetică, apă deionizată sau soluție de glucoză, până la obținerea unei concentrații de vitamine 10-40 g/L.

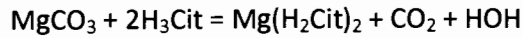
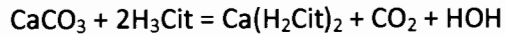
Mineralele esențiale, altele decât fierul, sunt un alt adaos util pentru susținerea efectelor nutriționale și profilactice ale suplimentelor. Ele se introduc în siropuri sau turte sub forma unui concentrat de minerale în soluție. Proporția preferată a mineralelor, stabilită în principal după proporțiile medii ale acestora din miere, este ilustrată în tabelul 2.

Tabelul 2. Proporția dintre mineralele (cu excepția fierului) din concentratul de minerale formulat conform prezentei invenții

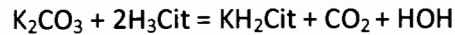
Na	K	Mg	Ca	Cu	Zn	Mn
4.5-6	60-70	2.5-3	7-8	0.1-1.3	0.2-4	0.1-0.2
Co	P	S	Cl			
0.002-0.003	4.5-5.5	2.5-3.5	9.0-10.5			

Pentru asigurarea stabilității cationilor metalelor în soluție și pentru o mai bună bio-absorbție, aceștia se complexează cu acid citric, gluconic sau cu aminoacizi. Prepararea concentratului de minerale, utilizând acidul citric (H₃Cit), se realizează în câteva etape. În prima etapă se prepară o soluție de acid citric în apă deionizată sau soluții apoase de glucoză, cantitatea de acid citric fiind calculată astfel încât să se formeze dihidrogen citrații de potasiu, magneziu și calciu în cantitățile

stabilite. Întâi se dizolvă sub agitare oxizii sau preferabil carbonații de magneziu și calciu în soluția de acid citric la 40-60°C:



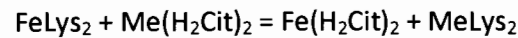
Apoi se adaugă soluție de carbonat de potasiu în apă deionizată sau soluții de glucoză, care reacționează cu acidul citric liber, rămas după reacția cu carbonații de magneziu și calciu:



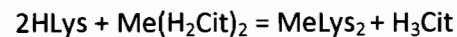
Soluția de citrați de potasiu, magneziu și calciu se diluează cu apă deionizată sau soluții de glucoză, la un conținut total de metale 15-25 g/L.

Metalele tranziționale: Cu, Zn, Mn, Co se dizolvă sub formă de sulfați în apă deionizată sau soluții de glucoză. Este preferabil ca, fiecare din soluțiile de sulfat să aibă o concentrația de metal astfel încât, volumul adăugat să fie 5-20 mL din fiecare dintre acestea, pentru preparare a 1L concentrat de minerale.

La amestecarea concentratului de minerale cu aminocarboxilaților de fier (II) este posibil ca acesta să interfere cu citrații metalelor tranziționale, o parte din fier (II) trecând sub formă de citrat, ca de exemplu:



Pentru eliminarea acestei reacții, se introduce, în soluția de concentrat de metale, cantitatea de aminoacid necesară reacției cu citrații metalelor tranziționale, ca de exemplu lisina:



Sulfur se introduce în concentratul de minerale prin intermediul sulfaților metalelor tranziționale iar fosforul ca soluție de acid fosforic alimentar în apă sau în soluții apoase de glucoză, la o concentrație P 50-150 g/L. Sodiul și clorul se adaugă sub formă de clorură de sodiu alimentară.

În final, întreg amestecul se diluează cu apă deionizată sau cu soluții apoase de glucoză, până la un conținut de minerale, exprimate ca elemente de 10-20 g/L. Se obține o soluție limpede și stabilă, cu pH 3-4.

În cazul utilizării acidului gluconic sau a aminoacizilor se procedează asemănător, cu observația că, în aceste situații se formează săruri neutre ale metalelor.

Efectul nutritiv și profilactic al suplimentelor se poate îmbunătăți și prin adăugarea de proteine în siropuri și turte. În siropuri, concentrația preferată de proteine este de cuprinsă între 0.1 și 0.3 %, corespunzând conținutului mediu de proteine în miere. În turte, concentrația de proteine este cuprinsă între 10 și 20 %, apropiată de concentrația proteinelor din polen. Pentru a nu introduce compuși toxici pentru albine, cum ar fi rafinoza, stahioza și pectina și pentru a nu mări exagerat cantitatea de minerale în turte, se preferă utilizarea izolatului proteic de soia și al prafului de ouă

19-06-2014

integral sau de gălbenuș. Acesta din urmă asigură și aportul de grăsimi și colesterol. Raportul dintre praful de ouă și izolatul proteic de soia este de preferință 1/10-1/15.

Suportul glucidic este important pentru suplimentele sub formă de sirop sau turte. Pentru siropurile care se administrează albinelor în perioada de cules, se folosește mierea naturală. Pentru siropurile sau turtele, care se administrează în afara acestei perioade, sunt preferate siropurile de glucoză și fructoză, ca de exemplu cel preparat cu AMIDEX™ 312 (TATE & LYLE), conținând (%): glucoză 59.5; fructoza 3.5; di si polizaharide 7 sau siropul ISOSUGAR 031™ (TATE & LYLE), conținând (%): fructoză 37.6; glucoză 31.4; di si polizaharide 6.0.

Avantajele prezentei invenții sunt:

- Suplimentele se pot formula atât pentru a putea fi utilizate în orice perioadă a anului, când au de preferință suport glucidic mierea, cât și pentru aplicații în perioadele de activitate redusă a albinelor, când au ca suport glucidic zaharuri de origine vegetală.
- Suplimentele se pot formula, atât sub formă de concentrate, care să poată fi aduse sub formă de turte sau siropuri de către apicultori, cât și sub formă de turte și siropuri, care să poată fi administrate albinelor ca atare.
- Administrează fierul (II) sub formă săruri ale aminoacizilor naturali, solubile, ușor asimilabile și fără efect repelent pentru albine.
- Sporesc imunitatea albinelor prin introducerea în compoziție a acidului p-cumaric în asociere cu aminocarboxilații de fier (II) și uleiurile vegetale esențiale / volatile, de preferință de citronella.
- Formulările sunt perfect compatibile cu adaosul vitamine, minerale esențiale, proteine și lipide, care îmbunătățesc efectele nutriționale și profilactice.
- Conservarea produselor împotriva degradării biochimice se realizează cu uleiurilor vegetale esențiale/volatile și cu săruri de cupru și zinc, concentrația de Cu și Zn în produsele administrate direct albinelor, fiind în concordanță cu concentrația din miere sau polen.
- Nu au efecte adverse asupra albinelor, deoarece au în compoziție > 99 % produse naturale netoxice.
- Folosite corect, suplimentele nu contaminatează mierea produsă de albine, deoarece conțin între 97 și 99.98%, numai componente care se găsesc în mod natural în miere și polen, la concentrații corelate cu compozițiile medii ale acestora.
- Formulările sunt compatibile cu alte produse profilactice sau medicamente administrate albinelor.

Se dau în continuare 9 exemple de formulări de suplimente nutriționale cu efecte profilactice pentru albine, în conformitate cu prezenta invenție:

Exemplul 1

Formularea A a suplimentului nutrițional concentrat, cu efect profilactic pentru albine se realizează în următoarele secvențe:

- a. Se prepară o soluție glucoză 25%, dizolvând sub agitare, la temperatura ambiantă, 420 g AMIDEX™ 312 în 580 g apă deionizată, pentru fiecare kilogram de soluție preparată, soluție denumită în continuare **soluție de glucoză**.

- b. 200g sulfat de fier heptahidrat (p.a SIGMA – ALDRICH) se dizolvă sub agitare, la temperatura ambiantă, sub atmosferă de azot, în 750 mL **soluție glucoză**, după care se aduce la volumul de 1L, cu aceeași soluție, rezultând o soluție Fe(II) 40 g/L, denumită în continuare, **sulfat feros Fe 40g/L în soluție de glucoză**.
- c. Se dizolvă sub agitare, la temperatura camerei, 84 g carbonat de potasiu 1.5 hidrat (p.a MERCK) în 800 mL **soluție glucoză**, după care se aduce la volumul de 1L, cu aceeași soluție. Rezultă o soluție K 40 g/L, denumită în continuare, **carbonat de potasiu K 40 g/L în soluție de glucoză**.
- d. 400 mL **sulfat feros Fe 40g/L în soluție de glucoză**, se picură încet, la temperatura de 40°C, sub atmosferă de azot și agitare, peste 565 mL **carbonat de potasiu K 40g/L în soluție de glucoză**. Se obține un precipitat de carbonat feros, de culoare crem, care se filtrează sub azot și apoi se spală pe filtru cu 300 mL **soluție glucoză**.
- e. 102 grame L-prolină (≥ 98.5% MERCK) se dizolvă sub agitare la temperatura ambiantă, în 800 mL **soluție glucoză** și se aduce la 1L cu aceeași soluție, rezultând o soluție cu concentrația L-prolină 100 g/L.
- f. Turta de carbonat feros, obținută conform pct. d din acest exemplu, este preluată cantitativ de pe filtru și adăugată, sub agitare în atmosferă de azot, în 690 mL soluție L-prolină 100g/L, obținută conform pct. e din acest exemplu, raportul molar L- prolină/ Fe(II) fiind 1.05. Rezultă o soluție a sării L-prolinei cu Fe(II).
- g. 1g lecitină alimentară lichidă de soia (GMO free, STERA CHEMICALS) se adaugă în 100 mL **soluție de glucoză** și se amestecă energic timp de 1 minut la 45°C, utilizând un agitator T-25 ULTRA - TURRAX®. Se adaugă peste soluția obținută 12g emulgator alimentar CETARETH 20 (STERA CHEMICALS). Emulsia astfel formată se aduce la 500 mL cu **soluție glucoză**, rezultând o emulsie stabilă, conținând ulei esențial de citronella 40 mL/L, denumită în continuare **emulsie ulei de citronella 40 mL/L în soluție de glucoză**.
- h. 5 g de sulfat de cupru pentahidrat (≥98.5% SIGMA ALDRICH) și 11g de sulfat de zinc heptahidrat (≥99% SIGMA ALDRICH) se dizolvă sub agitare la temperatura ambiantă, în **soluție de glucoză** și se aduce la 250 mL, obținând o soluție (g/L): Cu 5; Zn 10, denumită în continuare **soluție de glucoză Cu 5g/L; Zn 10 g/L**.
- i. Peste soluția sării L-prolinei cu Fe(II), obținută conform pct. f din acest exemplu, se introduc sub agitare, la temperatura ambiantă 100 mL **emulsie ulei de citronella 40 mL/L în soluție de glucoză**, 10 mL **soluție de glucoză Cu 5g/L; Zn 10 g/L** și 500 mg acid p-cumaric (98.34% NANJING ZELANG MEDICAL TECHNOLOGY), mojarat foarte fin. Se lasă o oră la omogenizare sub agitare, apoi se aduce la 1L cu **soluție de glucoză**, obținându-se **formularea A**, ca o soluție limpede și stabilă, cu compoziția:

Fe g/L	acid p- cumaric mg/L	ulei citronella mL/L	Cu mg/L	Zn mg/L	K mg/L	S mg/L	lecitină g/L	emulgator g/L
15.8	500	4	50	100	70	30	0.2	2.4
		glucoză g/L		fructoză g/L		Total glucide g/L		
		237		14		279		

Produsul păstrat în sticle brune la temperatura camerei timp de 6 luni nu prezintă semne de degradare chimică sau biochimică.

Produsul obținut conform **formulării A** este destinat în primul rând pentru prepararea siropurilor cu miere, administrate albinelor în perioada culesului dar, poate fi utilizat și la preparare de

Descriere

10

siropuri sau turte obținute cu siropuri de glucide de extracție vegetale. Dozele recomandate sunt 1/100-1/200, raportat la cantitatea totală de sirop sau turtă.

Exemplul 2

Formularea B a suplimentului nutrițional concentrat, cu efect profilactic pentru albine, se realizează astfel: 115 g de carbonat de potasiu 1.5 hidrat (p.a MERCK) se dizolvă sub agitare în 700 mL apă deionizată la 50°C. După dizolvare se adaugă 150g aminoacizi, sub agitare la 50°C, în cantitățile prezentate în tabelul 3, când se formează aminocarboxilații de potasiu.

Tabelul 3. Cantitățile de aminoacizi folosite în exemplul 2

aminoacid	producător	puritate %	m g
L-α-Alanina	MERCK	98	15
Glicina	MERCK	99	30
L-Prolina	SIGMA-ALDRICH	98	30
L-Treonina	SIGMA-ALDRICH	98	30
L-Lisina	SIGMA-ALDRICH	98	45

Se răcește la temperatura camerei soluția obținută și se aduce la 1L cu **soluție de glucoză**, rezultând o soluție de aminocarboxilați de potasiu, conținând K 54 g/L. Peste 445 mL din soluția astfel obținută, se adaugă treptat, sub agitare la 40°C, 400 mL **sulfat feros Fe 40g/L în soluție de glucoză**, raportul moli aminoacizi/moli Fe(II) fiind 1.07. În soluția de aminocarboxilați de fier (II) și sulfat de potasiu obținută se adaugă 100 mL **emulsie ulei de citronella 40 mL/L în soluție de glucoză**; 10 mL **soluție de glucoză Cu 5g/L; Zn 10 g/L**, 15 g acid citric monohidrat (99% SIGMA – ALDRICH) și 500 mg acid p-cumaric fin mojarat. Se lasă la agitare 40 minute pentru omogenizare, se răcește la temperatura camerei, și se aduce la 1L cu **soluție de glucoză**, obținându-se **formularea B**, care se prezintă ca o soluție limpede, cu compoziția:

Fe	acid p-cumaric	ulei citronella	Cu	Zn	K	S	lecitină	emulgator
g/L	mg/L	mL/L	mg/L	mg/L	g/L	g/L	g/L	g/L
15.9	500	4	50	100	22.5	9.2	0.2	2.4
Acid citric	glucoză	fructoză	total glucide					
g/L	g/L	g/L	g/L					
14	103	6	121					

Produsul păstrat în sticle brune la temperatura camerei timp de 6 luni nu prezintă semne de degradare chimică sau biochimică.

Produsul obținut conform **formulării B** este destinat în primul rând preparării siropurilor cu miere, administrate albinelor în perioada culesului dar, poate fi utilizat și la preparare de siropuri sau turte bazate pe glucide vegetale. Dozele recomandate sunt 1/100 -1/200, raportat la cantitatea totală de sirop sau turtă.

Exemplul 3

Descriere



S. Apostol

so

Formulara C a suplimentului nutrițional concentrat vitaminizat, cu efect profilactic pentru albine, se realizează în următoarele secvențe:

- a. În 100 mL soluție glucoză 25%, preparată ca în exemplul 1 pct. a se introduc 3 g lecitină sub agitare energetică cu un agitator T-25 ULTRA - TURRAX®, la 40°C, timp de 1 minut și apoi se adaugă 15 g emulgator, agitând încă 1 minut, la aceeași temperatură. Se răcește soluția astfel obținută la 25°C, apoi se adaugă cantitățile de vitamine prezentate în tabelul 4, cele solide fiind în prealabil fin măcinate.

Tabelul 4. Cantitățile de vitamine utilizate în exemplul 3

Vitamina	producător	Puritate %	g
Produse solide			
B1 Tiamină HCl	NUTRILO	99	1.2
B2 Riboflavină	NUTRILO	98.8	2
B3 Niacinamidă	NUTRILO	99.8	10
B5 D-Pantetonat de calciu	SUNORICHEM	99	2
B6 Piridoxină HCl	NUTRILO	99.2	0.8
B7 Biotină	NUTRILO	99.8	0.14
B9 Acid folic	HEBEI JIHENG (GROUP) PHARMACY	96.5	1.8
C Acid ascorbic	ALAND (JIANGSU) NUTRACEUTICAL	99.2	2
D Colecalciferol	VEGA GROUP	99	1
Produse lichide			
A acetat:	NUTRILO	325000 UI	1
E D,L- α Tocoferol	NUTRILO	97.4	1

Se agită energetic cu un agitator T-25 ULTRA-TURRAX®, timp de 5 minute, după care, se adaugă treptat 800 mL de **soluție de glucoză**, în porții de câte 100 mL, agitând energetic 1 minut, după fiecare porție. Se aduce apoi la 1L cu **soluție de glucoză**, obținând o emulsie/suspensie stabilă de vitamine, denumită în continuare **concentrat de vitamine**.

- b. 250 mL **concentrat de vitamine** se adaugă în fir subțire, sub agitare la temperatura ambiantă, peste 500 mL produs **formulara A**. Se adaugă apoi 5 mL **soluție de glucoză Cu 5g/L; Zn 10 g/L** și se lasă 30 de minute la omogenizare, după care se aduce la 1L cu **soluția de glucoză**, obținându-se **formulara C**, care se prezintă ca o soluție limpede, cu compoziția:

Fe	acid p-cumaric	ulei citronella	Cu	Zn	K	S	lecitină	emulgator
g/L	mg/L	mL/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	g/L	g/L
7.9	250	2	50	100	35	15	0.8	5
vit. B1	vit. B2	vit. B3	vit. B5	vit. B6	vit. B7	vit. B9	vit. C	vit. D
g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L
0.3	0.5	2.5	0.5	0.2	0.03	0.4	0.5	0.2
vit. E	vit. A	glucoză	fructoză	total glucide				
g/L	mii UI/L	g/L	g/L	g/L				

Produsul păstrat în sticle brune la temperatura camerei timp de 6 luni nu prezintă semne de degradare chimică sau biochimică.

Produsul obținut conform **formulării C** este indicat în primul rând pentru preparare de siropuri sau turte bazate pe glucide vegetale, care în compoziție nu conțin vitamine. Se poate folosi și la fabricarea siropurilor cu miere pentru suplimentarea dozelor de vitamine și acid p-cumaric existente deja în miere. Dozele recomandate sunt 1/50-1/100, raportat la cantitatea totală de sirop sau turtă.

Exemplul 4

Formulara D a suplimentului nutrițional cu efect profilactic pentru albine sub formă de sirop de miere, se realizează astfel: 100 mL produs obținut după **formulara A**, se adaugă treptat sub agitare, la 30-35°C, folosind un agitator pentru lichide vâscoase IKA EUROSTAR 200 în 1 kg de miere polifloră și se lasă să se omogenizeze timp de 1h. Se adaugă apoi treptat încă 8.9 kg de miere polifloră, obținând aproximativ 10 kg produs **formulara D** cu compoziția:

Fe	acid p-cumaric	ulei citronella	Cu*	Zn*	K*	S*	lecitină	emulgator
mg/kg	mg/kg	μL/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/L	mg/kg	mg/kg
155	5	40	0.5	1	0.7	0.3	2	24

*conținut suplimentar adăugat în miere de către **formulara D**

Creșterea conținutului de minerale, în primul rând Cu și Zn, în mierea folosită ca mediu de dispersie este nesemnificativă și nu afectează calitatea aceleia produsă de albinele alimentate cu această formulare.

Formulara D se poate administra albinelor în tot timpul anului, dar mai ales în timpul culesului, fără pericolul de contaminare a mierii. Rolul său este de a menține la nivelul necesar concentrația fierului din stup, de a completa deficitul de acid p-cumaric necesar creșterii imunității albinelor, de crearea unui mediu repelent pentru Varroa, datorat uleiului de citronella și de suplimentarea cantității de prolină necesară albinelor lucrătoare. Administrarea se face funcție de activitatea sezonieră a albinelor, cu doze pentru o lună de 20-100 mg Fe în sirop/kg de albine. Dozele recomandate pentru un stup, conținând în martie 2 kg albine pentru sezon climatic mediu, sunt prezentate în tabelul 5.

Tabelul 5. Dozele recomandate de supliment nutrițional cu efect profilactic pentru albine sub formă de sirop de miere; **formulara C**, funcție de activitatea albinelor

luna	martie	aprilie	mai	iunie	iulie	august	sept.
kg albine	2	2.4	2.7	3.5	4.3	2.8	2.5
doza: mg Fe/kg albine	80	40	30	30	30	30	80
mg Fe/stup	160	96	81	105	129	84	200
kg sirop	1.0	0.6	0.5	0.7	0.8	0.5	1.3

Dozele sunt mai mici din luna mai până în luna august deoarece, albinele își pot asigura, în acea perioadă, necesarul de Fe din polen. Administrarea siropului este recomandabil să se facă în 5-10 porții egale/lună.

Tratamentul profilactic se poate completa și prin aplicarea altor tratamente adiționale.



Exemplul 5

Formularea E a suplimentului nutrițional vitaminizat cu efect profilactic pentru albine – sirop de fructoză - glucoză se realizează astfel: 200 mL produs **formularea C**, preparat conform exemplului 3 din prezenta invenție, se adaugă treptat la 30-35°C în 1 kg sirop ISOSUGAR 031™, amestecând cu un agitator pentru lichide vâscoase IKA EUROSTAR 200, lăsându-se la agitare timp de 1 h, după care, se adaugă sub agitare, treptat 8.8 kg ISOSUGAR 031™, obținându-se 10 kg sirop reprezentând **formularea E** cu compoziția:

	acid p-cumaric	ulei citronella	Cu	Zn	K	S	lecitină	emulgator
Fe	mg/kg	μL/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
159	5	40	1	2	0.7	0.3	16	100
vit. B1	vit. B2	vit. B3	vit. B5	vit. B6	vit. B7	vit. B9	vit. C	vit. D
mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
6	10	50	10	4	0.6	8	10	4
vit. E	vit. A	glucoză	fructoză	Di și polizaharide				
mg/kg	UI/kg	%	%	%				
4	1600	31.8	36.8	5.9				

Formularea E se administrează albinelor, de preferință în afara perioadei de colectare a mierii, respectiv în lunile septembrie – noiembrie și martie – mai, funcție de condițiile climatice. Dozajul recomandat într-o lună este Fe 20-100 mg/kg albine; 60-80 mg/kg albine în septembrie – octombrie și în martie – mai, funcție de activitatea albinelor, determinată de condițiile climatice.

Exemplul 6

Formularea F a suplimentului nutrițional cu efect profilactic pentru albine, sub formă de sirop glucoză - fructoză, cu conținut de vitamine, minerale și aminoacizi se realizează după următoarele secvențe:

- 62 g acid citric monohidrat se solubilizează sub agitare, la 40°C, în 170 mL **soluție de glucoza**, după care se adaugă 6.4 g carbonat de calciu (≥99% SIGMA-ALDRICH) și 3.35 g carbonat de magneziu (≥ 99% SIGMA-ALDRICH). După trecerea completă a Ca și Mg în dihidrogen citrați, se adaugă sub agitare în fir subțire 250 mL **carbonat de potasiu K 40g/L în soluție de glucoză**.
- Se prepară câte 1 L de soluție pentru fiecare component, cu concentrațiile prezentate în tabelul 6.

Tabelul 6. Cantitățile de componente dizolvate în soluții de glucoză 25%, preparate conform pct. a din exemplul 1, necesare pentru a obține câte 1L din fiecare

compus	CuSO ₄ .5 H ₂ O	ZnSO ₄ .7H ₂ O	MnSO ₄ .7H ₂ O	CoSO ₄ .7H ₂ O	H ₃ PO ₄
producător	SIGMA-ALDRICH				MERCK
puritate	≥98.5	≥99	≥ 96	≥99	≥85
compus g /L	80	178	13	0.24	372
element g/L	Cu 40	Zn 100	Mn 2.5	Co 0.05	P 100

Apostol

Fiecare dintre acești componenți se dizolvă, sub agitare, la temperatura camerei, în soluție de glucoză, aducându-se apoi la 1L cu aceeași soluție. Se obținând 5 soluții având concentrațiile (g/L): Cu 40; Zn 100; Mn 2.5; Co 0.05; P 100.

- c. În soluția de Ca, Mg și K, preparată conform pct. al acestui exemplu, se adaugă, sub agitare la temperatura ambiantă, 400 mL soluție de glucoză, apoi se pipetează: 10 mL soluție Cu 10 g/L; 15 mL soluție Zn 15g/L; 8 mL soluție Mn 2.5g/L și 8 mL soluție Co 0.05%, soluții obținute conform pct. b al acestui exemplu. Se continuă agitarea și apoi se adaugă 2 g glicină, pentru chelarea Cu, Zn, Mn și Co ca aminocarboxilați. Se omogenizează 15 minute și apoi se adaugă 2.34 g clorură de sodiu alimentară și 8 mL soluție acid fosforic P 100 g/L, obținută conform pct. b al acestui exemplu. Se menține sub agitare 40 de minute pentru omogenizare iar apoi se aduce la 1L cu soluție de glucoză. Se obține o soluție limpede și stabilă, cu pH 3.7, având compoziția (mg/L): K 10000; Na 800; Mg 400; Ca 1200; Cu 200; Zn 600; Co 0.4; Mn 20; P 800; S 454; Cl 1540, denumit în continuare, **concentrat de minerale**,
- d. 50 mL **concentrat de minerale** se amestecă sub agitare, la temperatura ambiantă, în 335 g sirop ISOSUGAR 031™ timp de 20 minute, folosind un agitator IKA EUROSTAR 200, adăugând 5 mL produs **formularea A** și 5 mL **concentrat de vitamine**. Se adaugă în final sub agitare, în trei porții egale, câte 1 g izolat proteic de soia (compoziția în tabelul 7) și 200 g sirop ISOSUGAR 031™ agitând câte 15 minute după fiecare porție.

Tabelul 7. Compoziție izolatului proteic de soia; 91% proteine (REDIS NUTRIȚIE) utilizat în formulările prezentei invenții

Aminoacizi %									
L-Leucina	L-Treonina	L-Izoleucina	L-fenilalanina	Ac. L-glutamic	L-Prolina	L-Serina	L-Leucina		
7.2	3.3	4.3	4.6	16.7	4.5	4.6	7.2		
L-Arginina	L-Glicina	L-Lisina	L-Valina	L-Metionina	L-Triptofan	L-Ac. Aspartic	L-Arginina		
6.6	3.7	5.5	4.4	1.1	1.2	10.1	6.6		
L-Alanina	L-Tirosina	L-Cisteina	L-Histidina						
3.8	3.3	1.1	2.3						
Minerale mg/g									
Ca	Mg	Na	K	Zn	P	Mn	Fe	Cu	Cl
2	0.45	12	1	0.04	8	0.11	0.16	0.014	1.1

Se obține cca. 1 kg de produs lichid, limpede și omogen, reprezentând **formularea F**, cu compoziția:

Fe	K	Na	Mg	Ca	Cu	Zn	Mn	Co	P
mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
80	500	76	21	66	10.3	30.5	1.3	0.002	64
S	Cl	acid p-cumaric	ulei citronella	vit. B1	vit. B2	vit. B3	vit. B5	vit. B6	vit. B7
mg/kg	mg/kg	mg/kg	μL/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
23	80	2.5	20	6	10	50	10	4	0.6
vit. B9	vit. C	vit. D	vit. E	vit. A	lecitina	emulgator	proteine		
mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	UI/kg	mg/kg	mg/kg	%		
8	10	4	4	1600	16	87	0.27		

1 9 -06- 2014

glucoză	fructoză	total glucide
%	%	%
30	35.7	71.4

Formulara F se administrează albinelor similar cu **formulara E**.

Exemplul 7

Formulara G a supliment nutrițional cu efect profilactic pentru albine, sub formă de sirop fructoză-glucoză, cu conținut ridicat de uleiuri esențiale, se realizează în următoarele secvențe:

- 1g lecitină alimentară se adaugă în 100 mL **soluție glucoză**. Se amestecă energic timp de 1 minut, la 45°C, utilizând un agitator T-25 ULTRA - TURRAX®. Se adaugă peste soluția obținută 12g emulgator și 20 mL amestec de uleiuri esențiale (vol%): citronella 50; melisa 10; lavandă 20 (COZACPLANT) și maghiran 20 (COZACPLANT) și se amestecă energic încă 1 minut. Emulsia astfel formată se aduce la 500 mL cu **soluție glucoză**. Se obține o emulsie stabilă conținând 40 mL/L amestec de patru uleiuri esențiale, denumită în continuare în cuprinsul invenției: **emulsie amestec uleiuri esențiale 40 mL/L**.
- 25 mL **emulsie amestec uleiuri esențiale 40 mL/L** se amestecă sub agitare la temperatura ambiantă în 100 mL sirop **formulara E**. Se lasă la omogenizat 30 minute și apoi se adaugă treptat alți 875 mL sirop **formulara E**, obținându-se circa 1L de sirop cu Fe 154 mg/L și uleiuri esențiale 1 mL/L.

Formulara E îmbină efectul aminocarboxilaților de fier (II), al acidului p-cumaric și ale uleiurile esențiale în profilaxia Varroa și a altor maladii ale albinelor. Se recomandă folosirea limitată: 0.5 – 1kg /kg albine în perioadele: august – noiembrie, respectiv martie - mai, o singură dată, maxim de două ori într-o perioadă dată.

Exemplul 8

Formulara H a suplimentului nutrițional cu efect profilactic pentru albine, sub formă de turtă glucidică se realizează astfel: Se dizolvă 120 g zahăr alimentar în 210 g apă deionizată, sub agitare la 50°C, după care se adaugă 650g AMIDEX™ 312 până la dizolvare totală. Soluția astfel obținută se răcește la temperatura camerei și apoi se adaugă sub agitare 30 g glicerină (≥ 99.5 SIGMA ALDRICH) și 20 mL produs **formulara C**. Se agită încă 45 minute pentru omogenizare, după care se lasă la temperatura camerei. În 24 – 48 h, se produce solidificarea, obținându-se cca. 1 kg din **formulara H**, sub formă de pastă albă, cu compoziția:

	acid p-	ulei						
Fe	cumaric	citronella	Cu	Zn	K	S	lecitină	emulgator
mg/kg	mg/kg	μL/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
158	5	40	1	2	0.7	0.3	16	100
vit. B1	vit. B2	vit. B3	vit. B5	vit. B6	vit. B7	vit. B9	vit. C	vit. D
mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
6	10	50	10	4	0.6	8	10	4
vit. E	vit. A	glicerină	glucoză	fructoză	fructoză	total glucide		

mg/kg	UI/kg	%	%	%	%
4	1600	3	38.7	2.3	60

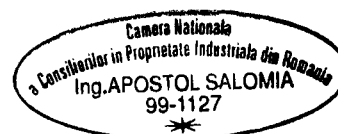
Produsul obținut conform **formulării H** se utilizează pentru hrănirea albinelor în perioada iernii, preferabil după efectuare primului zbor de curățire. Doza recomandată într-o lună este 0.5-1 kg/kg albine.

Exemplul 9

Formularea J a suplimentului nutrițional cu efect profilactic pentru albine sub formă de turtă cu conținut proteic se prepară astfel: 450 mL apă deionizată se adaugă treptat în 3850 g ISOSUGAR 031™ și se amestecă 20 de minute, ridicând temperatura la 40°C. Se oprește încălzirea și se adaugă în continuare 250 mL **concentrat minerale**, 25 mL produs **formularea B**, obținut conform exemplului 2; 25 mL **concentrat de vitamine** și 10 mL **emulsie amestec uleiuri esențiale 40 mL/L**. Se lasă la agitare 30 de minute și apoi se trece într-un malaxor UTG-0130 cu volumul de 10L, unde se adaugă 750 g izolat proteic de soia și 125 g praf de gălbenuș de ou (OVOPROT) având compoziția medie: organice (%): grăsimi 56; proteine 37; carbohidrați 2.2; colesterol 2.2; minerale (mg/g): Ca 2.3; P 9.2; K 2.4; Na 1.3. Se amestecă în malaxor timp de 40 minute la 35C, când se obțin cca. 5 kg de pastă reprezentând **formularea J**, cu compoziția:

Fe	K	Na	Mg	Ca	Cu	Zn	Mn	Co	P
mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
124	763	1840	68	360	12	36	17.5	0.002	1240
S	Cl	acid p-cumaric	uleiuri esențiale	vit. B1	vit. B2	vit. B3	vit. B5	vit. B6	vit. B7
mg/kg	mg/kg	mg/kg	μL/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
69	242	2.5	100	6	10	50	10	4	0.6
vit. B9	vit. C	vit. D	vit. E	vit. A	lecitina	emulgator	proteine	grăsimi	
mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	UI/kg	mg/kg	mg/kg	%	%	
8	10	4	4	1600	20	111	14.6	1.4	
colesterol			glucoză		fructoză		total glucide		
mg/kg			%		%		%		
55			22		26.3		52.7		

Formularea J se administrează albinelor similar cu **formularea H**



Apostol

Revendicări:

1. Formulare și procedeu de obținere de suplimente nutriționale cu efect profilactic pentru albine, **caracterizate prin aceea că**, au în compoziție săruri de fier(II) ale aminoacizilor similari celor prezenți în miere și polen, la concentrații de fier cuprinse între 10 mg/L-25 g/L
2. Suplimente nutriționale concentrate cu efect profilactic pentru albine, obținute în conformitate cu revendicarea 1, **caracterizate prin aceea că**, în acestea se adaugă ulei vegetal volatil, de preferință de citronella, la concentrații cuprinse între 10 μL/kg-50 mL/kg și acid *p-cumaric*, la concentrații cuprinse între 1 mg și 5 mg/kg
3. Suplimente nutriționale concentrate cu efect profilactic pentru albine, obținute în conformitate cu revendicările 1 și 2, **caracterizate prin aceea că**, au în compoziție: Fe ca aminocarboxilați 5-25 g/L, ulei volatil de citronella sau amestecuri de uleiuri volatile, de preferință citronella, lavandă, melisa și măghiran 1-10 mL/L, acid *p-cumaric* 50–1000 mg/L, Cu 10-50 mg/L și Zn 20-100 mg/L.
4. Suplimente nutriționale concentrate cu efect profilactic pentru albine, în conformitate cu revendicarea 3, **caracterizate prin aceea că**, se adaugă vitamine, de preferință vitaminele B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, A, C, D, E.
5. Supliment nutrițional cu efect profilactic pentru albine, sub formă de sirop, obținut în conformitate cu revendicările 1 și 2, **caracterizat prin aceea că**, are ca suport glucidic mierea naturală și conține: Fe 10-200 mg/kg sub formă de aminocarboxilați de fier (II), de preferință sarea de fier (II) a prolinei, ulei volatil de citronella sau amestecuri de uleiuri volatile 10-1000 μL/kg și acid *p-cumaric* 1-5 mg/kg.
6. Suplimente nutriționale cu efect profilactic pentru albine, sub formă de sirop sau turta, obținute în conformitate cu revendicările 1 și 2, **caracterizate prin aceea că**, au ca suport glucide de origine vegetală, de preferință siropuri de glucoză sau glucoză – fructoză și compoziția: Fe 10-200 mg/kg sub formă de aminocarboxilați de fier (II), de preferință sarea de fier (II) a prolinei, ulei de volatil de citronella sau amestecuri de uleiuri volatile 10-1000 μL/kg și acid *p-cumaric* 1-5 mg/kg.
7. Suplimente nutriționale cu efect profilactic pentru albine, sub formă de sirop sau turtă, obținute în conformitate cu revendicarea 6, **caracterizate prin aceea că**, în compoziție se adaugă vitamine, de preferință B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, A, C, D, E.
8. Suplimente nutriționale cu efect profilactic pentru albine, sub formă de sirop sau turtă, obținute în conformitate cu revendicarea 6, **caracterizate prin aceea că**, în compoziție se adaugă minerale esențiale, de preferință K, Mg, Ca, Cu, Zn, Mn, Co, P, S, Cl, metalele fiind complexate sub formă de citrați, gluconati sau aminocarboxilați.
9. Suplimente nutriționale cu efect profilactic pentru albine, sub formă de sirop, obținute în conformitate cu revendicarea 6, **caracterizate prin aceea că**, în compoziție se adaugă 0.1-0.3% proteine, de preferință izolat proteic de soia.
10. Suplimente nutriționale cu efect profilactic pentru albine, sub formă de turtă, obținute în conformitate cu revendicarea 6, **caracterizate prin aceea că**, în compoziție se adaugă proteine în concentrație de 10-20%, provenite de preferință din izolat proteic de soia și praf de gălbenuș de ouă, la un raport praf de gălbenuș de ouă/izolat proteic de soia 1/10-1/15.



Apostol