



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2023 00406**

(22) Data de depozit: **27/07/2023**

(41) Data publicării cererii:
30/05/2024 BOPI nr. **5/2024**

(71) Solicitant:
• **INFINITY HONEY S.R.L.**,
STR.PRINCIPALĂ, NR.50, MOȘNIȚA NOUĂ,
TM, RO

(72) Inventatori:
• **RABA DIANA NICOLETA**,
STR.SIMFONIEI, NR.40, DUMBRĂVIȚA, TM,
RO;
• **DUMBRĂVĂ DELIA, INTRAREA ROMA**
NR. 1, SC. B, ET. 1, AP. 5, TIMIȘOARA, TM,
RO;
• **POIANA MARIANA ATENA**,
CALEA ȘAGULUI, NR.85, BL.11, SC.G,
AP.28, TIMIȘOARA, TM, RO;
• **ALEXA ERSILIA CĂLINA, STR. LETEA**
NR. 14, TIMIȘOARA, TM, RO;

• **COCAN ILEANA, CALEA HODONIULUI,**
NR.25, DUDEȘTII NOI, TM, RO;
• **OBIȘTIOIU DIANA MONICA, STR.HAGA,**
NR.38, TIMIȘOARA, TM, RO;
• **RADULOV ISIDORA, STR. BABA DOCHIA,**
BL.D2, SC.B, ET.4, AP.20, TIMIȘOARA, TM,
RO;
• **STOIA SORIN, STR.ION LUCA**
BĂNĂȚEANU, NR.16, SC.1, ET, 2, AP.5,
TIMIȘOARA, TM, RO;
• **IANCU TIBERIU, STR.SIMFONIEI, NR.14,**
DUMBRĂVIȚA, TM, RO;
• **MOLDOVAN CAMELIA, STR.PLOPILOR,**
NR.33, RECAȘ, TM, RO;
• **POPA VIORICA MIRELA, STR.ATENA,**
NR.3, DUMBRĂVIȚA, TM, RO

(54) **SUPLIMENTE ALIMENTARE PE BAZĂ DE PRODUSE
APICOLE ȘI ULEIURI ESSENȚIALE, CU SAU FĂRĂ ADAOSURI
DE PLANTE MEDICINALE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE
A ACESTORA**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o gamă de suplimente alimentare naturale cu un potențial sanogen ridicat și caracteristici nutriționale, antioxidante și senzoriale superioare precum și la procedeul de obținere a acestora. Procedeul, conform invenției, constă în etapele: amestecare a 91...92 părți în greutate (p.g.) miere cu 8...9 p.g. granule polen, omogenizare în mixer, menținerea amestecului timp de 10 zile la întuneric, în condiții de termostatare la o temperatură de 25°C, adăugarea în ordine la 84...94 p.g. din acest amestec a 2 p.g extract moale de propolis, 2...6 p.g. lăptișor de matcă crud, 0,05...1 p.g. diferite uleiuri esențiale de plante și 0...5,5 p.g. diferite pulberi de plante medicinale, conform fiecărei rețete, omogenizându-se bine amestecul după fiecare adaos. Pentru obținerea extractului moale de propolis se

amestecă 1 parte propolis fin mărunțit cu 2 părți alcool etilic 96°, se agită bine, se lasă la repaus 12 zile la 25°C, iar apoi se filtrează printr-o hârtie de filtru Whatman grad 1. Extractul astfel obținut se concentrază sub vid (rotavapor) la 35°C până la jumătate din volumul inițial. Plantele medicinale uscate se macină fin și apoi pulberile se trec printr-o sită cu orificii de 1,5 mm. Suplimentele alimentare obținute se remarcă printr-un conținut ridicat de compuși bioactivi cu o foarte bună activitate antioxidantă, prin valoare nutrițională ridicată, obținându-se scoruri foarte bune la analiza senzorială.

Revendicări: 4



**SUPLIMENTE ALIMENTARE PE BAZĂ DE PRODUSE APICOLE ȘI ULEIURI
ESEȚIALE, CU SAU FĂRĂ ADAOSURI DE PLANTE MEDICINALE ȘI
PROCEDEU DE OBTINERE A ACESTORA**

Domeniul tehnic în care poate fi folosită invenția

Invenția de față se referă la o gamă de suplimente alimentare naturale cu un potențial sanogen ridicat și caracteristici nutriționale, antioxidante și senzoriale superioare, obținute printr-o tehnologie inovativă, având la bază amestecuri optimizate de produse apicole și uleiuri esențiale, cu sau fără adaos de pulberi din diferite plante medicinale.

Descrierea stadiului actual

În ultimii ani, consumatorii (atât din România cât și din alte țări ale lumii) sunt din ce în ce mai informați și caută tot mai mult să utilizeze suplimente alimentare naturale, echilibrate, sigure și sănătoase. Alimentele de astăzi nu sunt destinate doar satisfacerii foamei și oferirii de nutrienți necesari oamenilor, ci și pentru prevenirea bolilor relaționate nutriției, îmbunătățirea statusului fizic și mental al consumatorilor. În loc să se bazeze numai pe medicamente pentru tratarea bolilor, consumatorii informați consideră că suplimentele alimentare naturale reprezintă un alt mod de a combate simptomele și bolile.

Din cele mai vechi timpuri, mierea a fost considerată nu doar un aliment sau un îndulcitor, dar a fost folosită și ca medicament pentru stimularea vindecării rănilor, regenerarea țesuturilor, atenuarea tulburărilor gastrointestinale, gingivitei și a multor altor patologii. În ultimele două decenii asistăm la o reînnoire a interesului de cercetare asupra mierii și a multiplelor sale beneficii pentru sănătate [8,13,33,36]. Mai multe studii științifice au dovedit faptul că mierea poate exercita efecte: gastroprotectoare [15], hepatoprotectoare [2], de îmbunătățire a sistemului reproductiv atât la bărbați, cât și la femei [26,37], hipoglicemiant [27], biostimulatoare, depurative, antioxidante [27], antihipertensive [1], antibacteriene [34], antifungice [22] și antiinflamatoare [19].

Datele experimentale sugerează că mierea, administrată singură sau în combinație cu terapia convențională, ar putea avea beneficii terapeutice în managementul bolilor cronice asociate în mod obișnuit cu stresul oxidativ [13]. Mierea conține aproximativ 180 de tipuri de compuși diferiți, inclusiv apă, zaharuri, aminoacizi liberi, proteine, enzime, minerale

esențiale, vitamine și diverse substanțe fitochimice [14]. Compoziția, gustul și culoarea diferitelor sortimente de miere depind de tipul de sursă de flori, de zona geografică, de climă și de diferitele specii de albine implicate în producția de miere, care este, de asemenea, condiționată de tehnicile de prelucrare și depozitare [30].

Polenul este recunoscut ca un supliment alimentar excelent pentru alimentația umană, motiv pentru care poate fi găsit pe piață sub diferite forme (granule, capsule, tablete, pelete și pulberi) [23]. Polenul colectat de albine este un „superaliment”, un nutraceutic cu ingrediente cu valoare biologică ridicată: aminoacizi esențiali, (pro)vitamine, acizi grași esențiali, minerale și polifenoli antioxidanți [11]. Datorită acestor fitonutrienți cu valoare biologică ridicată, s-a dovedit că polenul colectat de albine are efecte antimicrobiene, antimutagene, antioxidante și antiinflamatorii [28].

O multitudine de lucrări științifice, până în prezent, au studiat propolisul și beneficiile acestuia pentru sănătate [3,7,9,10,25,32]. Protecția exercitată asupra sistemului imunitar și proprietățile antioxidante ale propolisului se datorează constituenților săi bioactivi. În propolis au fost identificați mai mulți compuși ce diferă în funcție de locația producției. Compușii din propolis includ acizi fenolici, flavonoide, esteri, diterpene, sesquiterpene, lignani, aldehide aromatice, alcooli, aminoacizi, acizi grași, vitamine (în special vitaminele B1, B2, B6, C și E) și minerale (cum ar fi magneziu, calciu, potasiu, sodiu, cupru, zinc, mangan și fier) [4]. Compoziția exactă a unei probe de propolis variază în funcție de stupi, locație și anotimpuri [7].

Lăptișorul de matcă este utilizat pe scară largă ca supliment alimentar datorită efectului său antibacterian, antitumoral, antialergic, antiinflamator și imunomodulator [21,29,31,38]. Lăptișorul de matcă are o compoziție destul de unică în comparație cu mierea și propolisul. Lăptișorul de matcă este format din apă (50%–60%), proteine (18%), carbohidrați (15%), lipide (3%–6%), săruri minerale (1,5%) și vitamine [12,18,24].

Uleiurile esențiale sunt recunoscute, încă din antichitate, pentru valoarea lor terapeutică. Componentele principale ale acestor uleiuri sunt terpenoidele - sintetizate din izopren, iar acestea sunt urmate de diterpene și compuși aromatici. Dintre proprietățile dovedite ale uleiurilor esențiale se numără: activitatea antivirală fără a avea vreo toxicitate, agenți antibacterieni împotriva multor tulpini bacteriene patogene, activitate antioxidantă puternică, acțiune antidiabetică, anticancerigenă și altele [35]. Mierea și uleiurile esențiale, prin compoziția de care dispun în mod natural, se completează și se potențează reciproc.

Mierea permite, în primă instanță, diluarea uleiurilor esențiale care rareori se folosesc de sine statator deoarece sunt foarte puternice. Efectele uleiurilor esențiale sunt, pe de altă parte, întărite de calitățile și virtuțile terapeutice ale mierii. Investigația extinsă a activităților antimicrobiene ale mierii și uleiurilor esențiale împotriva unei categorii mari de patogeneze bacteriene și fungice este extinsă pentru a testa combinațiile ambelor produse naturale [6,17,20]. În toate aceste studii se constată că există interacțiuni pozitive. Amplificarea efectului antimicrobian al mierii folosind uleiuri esențiale pare a fi o modalitate promițătoare de a investiga noi căi în dezvoltarea de noi medicamente naturale antimicrobiene [17].

Pe piața din România au fost identificați doi producători care comercializează produse apicole în combinație cu uleiuri esențiale: HOFIGAL – produse pe bază de miere de albine în care se introduce un tip de ulei esențial (levănțică, cimbru, busuioc sau rozmarin) sub formă de blistere solubile în apă (<https://www.hofigal.eu/uleiuri-volatile-in-miere-de-albine-37>), VITAPLANT S.R.L. – comercializează produse obținute din miere cu diferite adaosuri: polen crud, păstură, apilarnil, propolis, pulberi de plante, uleiuri esențiale (lămâie sau grapefruit), fructe liofilizate. De asemenea, există firme care comercializează produse obținute din miere și aditivi naturali din plante și fructe: Synergy Plant sub brandul ApicolScience din Brașov - nu produce suplimente alimentare din miere și uleiuri esențiale ci din miere și diverși aditivi naturali (Catina (*Hippophae rhamnoides*), Lemn dulce (*Glycyrrhiza glabra*), Susan (*Sesamum indicum*), Scortisoara (*Cinnamomum cassia*), Maceșe (*Rosa canina*), Busuioc (*Ocimum basilicum*), Cimbrisor (*Thymus serpyllus*), Cimbru (*Thymus vulgaris*), miez de Nuca (*Juglans regia*), miere, polen (<https://www.planteea.ro/produse/?q=miere>); APIARIUM S.R.L. - comercializează suplimente alimentare pe bază de miere sub brandul TERA APIS <https://www.terraapis.ro/>. Suplimentele alimentare ale APIARIUM S.R.L. nu cuprind uleiuri esențiale ci adaosuri de plante, fructe, polen.

Există mai multe brevete de invenție care descriu diferite compoziții pe bază de produse apicole sub formă de suplimente alimentare sau produse de cofetărie, precum și diferite metode de preparare a acestora, cum ar fi: CN101933566A, CN103125799A, GR20180200032U, LT5811B, RO126992A2, RO132420A0, RO134670A2,

Brevetul CN101933566A prezintă un produs apicol activ, format din miere 65%, polen de albine 30%, laptisor de matcă 3%, propolis 1%, pulbere liofilizată de pupă de trântori 1% precum și o metodă de prelucrare a produselor apicole active care include

purificarea tuturor componentelor și presarea acestora, temperaturile utilizate în întregul proces fiind mai mici de 65°C.

Brevetul **CN103125799A** prezintă o metodă de preparare a unui produs de nutriție și de îngrijire a sănătății compus din miere de lemn dulce, polen de hrișcă, lăptișor de matcă și pudră de fructe de goji.

Brevetul **GR20180200032U** se referă la crearea de suplimente nutritive, sub formă de gel moale cu tehnologii existente sau capsule dure prin procedeul de încapsulare lichidă sau alte tehnologii. Invenția implică producerea unui amestec special de miere, cu plante medicinale și aromatice sub formă de extracte uscate sau lichide, minerale, oligoelemente, coenzima Q10, aminoacizi și vitamine și încorporarea ulterioară în amestec. capsule sau geluri moi pentru a crea suplimente nutritive specifice care vizează tratarea stărilor patologice ale omului modern.

Brevetul **LT5811B** prezintă un supliment nutrițional obținut din produse apicole (polen, păstură, ceară de albine, lăptișor de matcă liofilizat) și alge albastre-verzi destinat îmbunătățirii proceselor fiziologice care au loc în corpul uman, a funcționării sistemelor vitale și care să suplimenteze dieta cu vitamine naturale, acizi organici, minerale și alte substanțe biologice active.

Brevetul **RO126992A2** se referă la o compoziție 100% naturală pe bază de produse apicole sub formă de suplimente alimentare și produse de cofetărie pentru tratamente terapeutice și profilactice pentru diabetici, obținută printr-un procedeu în care ingredientele active valoroase nu sunt distruse de temperatură sau prin depozitare pentru o lungă perioadă de timp. Compoziția de produs apicol pentru suplimente alimentare și produse de cofetărie constă în: ceară de albine 5-70%, polen de albine 5-95% și cel puțin un produs din următoarele: tinctură de propolis (extract alcoolic sau apos 30-60% substanță uscată) 0,1-40%, miere de albine 5-40%, apilarnil 0-20%, păstură 0-95%, lăptisor de matcă 0-10%, venin de albine 0-1%, arome (naturale sau sintetice) 0-5%, îndulcitor natural sau sintetic 0-20%, fructe uscate 0-10%, pudră de plante medicinale 0-80%, semințe 0-80%.

Brevetul **RO132420A0** prezintă mai multe suplimente alimentare complexe, de înaltă calitate pe bază de miere, cu proprietăți curative deosebite (detoxifiante, regeneratoare, somnifere, antiparazitare și imunitare), care pot fi preparate atât în gospodărie, cât și la nivel industrial. Suplimentele alimentare pe bază de miere, din cadrul acestei invenții, conțin miere

de albine 74 - 97% și respectiv 3 - 26% pulberi sau tincturi din diferite plante medicinale, polen uscat și/ sau propolis Ponderile din amestecuri sunt calculate astfel încât suplimentele obținute să aibe eficiență maximă. Ca și plante medicinale utilizate sunt amintite: chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*), spirulina (*Arthrospira platensis*), lucerna (*Medicago sativa*), grâul verde (*Triticum vulgare*), orzul (*Hordeum vulgare*), uleiul esențial de eucalipt, ovăzul (*Avena sativa*), floarea pasiunii (*Passiflora incarnata*), hameiul (*Humulus lupulus*), rădăcina de valeriană (*Valeriana officinalis*), lavanda și uleiul esențial de lavandă (*Lavandula angustifolia*), roiniția (*Melissa officinalis*), verbina (*Verbena officinalis*), cuișoarele (*Eugenia caryophyllata*), pelinul (*Artemisia absinthium*), menta și uleiul esențial de mentă (*Mentha piperita*), oregano (*Origanum vulgare*), cimbrul (*Satureja hortensis*), cătina și turmericul. În cadrul procesului de obținere a acestor suplimente alimentare complexe, mierea de albine se încălzește la o temperatură de 40-42° Celsius, după care se adaugă pulberile din plantele uscate, în procentajul specific fiecărui supliment în parte și se omogenizează cu un mixer, turnându-se apoi în recipiente de sticlă. Aceste suplimente se pot consuma imediat după preparare, nu necesită macerare.

Brevetul **RO134670A2** se referă la un concentrat alimentar nutritiv obținut din produse apicole cu adaos de semințe de cânepă parțial degresate (20 părți) și fructe uscate de goji (15 părți) și coacăze roșii (15 părți). Produsul este destinat persoanelor cu deficiențe nutriționale, sportivilor, vegetarienilor, precum și celorlate categorii de consumatori.

Problema tehnică

Luând în considerare cererea crescândă a consumatorilor din întreaga lume pentru suplimente alimentare naturale cu cât mai multe beneficii pentru sănătate, cât mai atractive din punct de vedere organoleptic și care să se adreseze consumatorilor de toate vârstele, problema tehnică propusă spre rezolvare de către prezenta cerere de brevet de invenție constă în obținerea printr-o tehnologie inovativă a unei noi game de suplimente alimentare care să prezinte un potențial sanogen ridicat și caracteristici nutriționale, antioxidante și senzoriale superioare, combinând în mod optim beneficiile aduse de produsele apicole: miere de albine, polen, extract de propolis, lăptișor de matcă crud cu cele ale diferitelor uleiuri esențiale (simple sau în amestec), precum și sporirea acestor beneficii prin adaos de diferite pulberi obținute din plante medicinale.

Soluția tehnică

Soluția tehnică constă în obținerea unui amestec de miere (91-93 părți) și polen (7-9 părți), ponderea amestecului în produsul finit fiind de 85-94 părți, la care se adaugă extract moale de propolis (2-3 părți) și lăptișor de matcă crud (2-6 părți). La aceasta bază apicolă, în funcție de rețetă, se adaugă diferite uleiuri esențiale (0.05-2 părți), respectiv diferite pulberi din plante medicinale (0-5.55 părți). Părțile sunt exprimate în g la 100 g produs.

Pentru obținerea suplimentelor alimentare din cadrul invenției s-a utilizat o tehnologie inovativă în cadrul căreia amestecul de miere și polen este bine omogenizat cu ajutorul unui mixer și apoi lăsat la staționare timp de 10 zile, la întuneric în condiții de termostatare la o temperatură de 25°C. După această perioadă de timp se adaugă pe rând extractul moale de propolis, lăptișorul de matcă crud, plantele medicinale, apoi uleiurile esențiale conform fiecărei rețete, omogenizându-se bine amestecul după fiecare adaos. Pentru obținerea extractului moale de propolis se amestecă 1 parte propolis fin mărunțit cu 2 părți alcool etilic 96°, se agită bine, se lasă în repaus 12 zile la 25°C, iar apoi se filtrează printr-o hârtie de filtru Whatman grad 1. Extractul astfel obținut se concentrează sub vid (rotavapor) la temperatura de 35°C, pentru a proteja compușii bioactivi termolabili, până la jumătate din volumul inițial. Plantele medicinale uscate se macină fin și apoi pulberile se trec printr-o sită cu orificii de 1.5 mm. Uleiurile esențiale folosite sunt provenite doar de la producători autorizați care comercializează uleiuri esențiale pure (de grad terapeutic). Produsele finite obținute se ambalează în borcane de sticlă cu capac etanș.

Modul de preparare al amestecului de miere și polen după procedura descrisă în prezenta invenție, a fost rezultatul mai multor încercări de a obține un amestec cu proprietăți antioxidante superioare. Evaluarea activității antioxidante realizată prin două metode: analiza puterii antioxidante reducătoare ferice (Ferric Reducing Antioxidant Power – FRAP) [5], respectiv determinarea activității de captare a radicalilor liberi prin metoda cu 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) [16] a evidențiat creșteri importante ale calităților antioxidante. Astfel, pentru un raport masic de miere:polen de 93:7, creșterile au fost de la valori de 6,82 μM Fe^{2+}/g , respectiv 49,17% (diluție 1:100 în etanol 70%), pentru amestecul inițial, la valori de 9.38 μM Fe^{2+}/g (creștere cu 37.54%), respectiv 68,30 % (creștere cu 38.91%) în amestecul final.

Avantajele aplicării prezentei invenții

- Crearea unor suplimente alimentare noi cu un potențial sanogen ridicat și caracteristici nutriționale, antioxidante și senzoriale superioare, printr-o tehnologie nouă, având condiții de operare respectiv mod de preparare a extractului de propolis optimizate, care să asigure funcționalitatea și biodisponibilitatea principiilor active din ingredientele utilizate. Asigurarea unui termen lung de valabilitate a produsului (minim 1 an), fără a necesita procedee chimice sau fizice de conservare, ceea ce va avea un impact social și economic ridicat asupra producătorilor din industria alimentară cât și asupra consumatorilor.
- Transferul tehnologic al rezultatelor cercetării către compania INFINITY HONEY S.R.L., într-un context legislativ favorabil (Legea suplimentelor alimentare nr. 56/2021 adoptată și publicată în Monitorul Oficial nr. 332 din 1 aprilie 2021) introducându-se pe piață o nouă gamă de suplimente alimentare obținute din produse ale stupului și uleiuri esențiale, cu sau fără adaos de pulberi din plante medicinale. Suplimentele sunt destinate atât persoanelor care doresc să își îmbunătățească calitatea vieții, cât și acelor care se confruntă cu diferite carențe nutriționale.

Exemple de realizare

Exemplul 1

Supliment alimentar (SA1) obținut din:

- amestec miere de salcâm (92 părți): granule polen (8 părți) preparat după metodologia descrisă mai sus: 92.44 părți;
- extract de propolis obținut după procedura descrisă mai sus: 2 părți;
- lăptișor de matcă crud: 2.5 părți;
- pulbere ienupăr: 3 părți;
- ulei esențial ienupăr: 0.04 părți;
- ulei esențial tămâie: 0.02 părți.

Exemplul 2

Supliment alimentar (SA2) obținut din:

- amestec miere (91 părți) și polen (9 părți) preparat după metodologia descrisă mai sus: 92.42 părți;
- extract de propolis obținut după procedura descrisă mai sus: 2 părți;
- lăptișor de matcă crud: 5.5 părți;
- ulei esențial de mușcată: 0.02 părți;
- ulei esențial de grapefruit: 0.02 părți;
- ulei esențial de ghimbir: 0.02 părți;
- ulei esențial de cimbru: 0.02 părți.

Analiza *compoziției proximate, a principiilor active, proprietăților antioxidante, fizico-chimice și microbiologice ale suplimentelor alimentare SA1 și SA2*

Analiza compoziției proximate, a principiilor active, proprietăților fizico-chimice și microbiologice ale celor două produse din exemplele 1 și 2 s-a realizat în cadrul Platformei de Cercetare Interdisciplinare a Universității de Științele Vieții "Regele Mihai I" din Timișoara, rezultatele fiind cuprinse în tabelele 1-3

Tabelul 1

Compoziția proximată a produselor SA1 și SA2

Compoziția proximată (g/100g)/metoda de analiză	SA1	SA2
Umiditate/SR 784-3:2009 pct. 4.1	17.2	17.2
Proteine/ SR ISO 937:2007	3.5	3.2
Lipide totale/ SR ISO 1443:2008	0.7	0.6
Glucide totale / prin diferență: 100 – (umiditate + proteine + lipide totale + fibre alimentare + substanțe minerale)	76.9	78.3
Zaharoză/ SR 784-3:2009 pct. 4.5	0.8	1.4
Zahăr invertit/ SR 784-3:2009 pct. 4.4	67	69
Fibre alimentare/ ISO 13906: 2007	1.7	0.7
Substanțe minerale/ SR ISO 2171/2010	0.25	0.22
Valoarea energetică (kcal/100g)	328	331

Datele din Tabelul 1 evidențiază faptul că cele două produse exemplificate în prezenta invenție au o compoziție proximată foarte apropiată, conținutul de apă încadrându-se în limitele de admisibilitate prevăzute de standardele în vigoare pentru mierea de albine.

Tabelul 2.

Principii active, proprietăți fizico-chimice și microbiologice ale suplimentelor alimentare SA1 și SA2

Principii active/ metoda de analiză	SA1	SA2
Polifenoli totali/ metoda Folin-Ciocalteu ($\mu\text{M GAE/g}$)	23.28	23.50
Flavonoide/ metoda specrofotometrică (mg EQ/kg)	2524.71	2393.96
Proprietăți antioxidante/metoda de analiză		
Activitatea antioxidantă/ metoda FRAP ($\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$)	16.36	17.73
Activitatea antiradicalică (%) / metoda cu DPPH	83.86	85.93
Parametrul fizico-chimic/ metoda de analiză		
pH/ SR 784-3:2009	4.28	4.67
Aciditate (%) / SR 784-3:2009 pct. 4.	3.72	3.69
Substanțe insolubile (%) / SR 784-3:2009 pct. 4.4	0.30	0.10
Elemente minerale (ppm) / Spectrometrie de absorbție atomică		
K	2147.04	2146.03
Ca	878.95	876.85
Mg	523.33	524.30
Na	12.09	12.21
Fe	43.51	43.52
Zn	19.01	19.02
Mn	21.82	21.84
Cu	5.57	5.56
Ni	0.49	0.50
Pb	0.23	0.24
Cr	0.19	0.19
Cd	0.03	0.03

Rezultatele analizelor de laborator evidențiază faptul că produsele exemplificate în prezenta invenție prezintă un conținut ridicat de polifenoli totali și flavonoide, compuși biologic activi cunoscuți pentru multiplele lor beneficii pentru sănătate, cum ar fi: proprietăți antioxidante, anticancerigene, de detoxifiere, antidiabetice, antimutagene. Dacă conținutul în polifenoli totali este foarte apropiat pentru cele două produse din exemple, în suplimentul SA1 s-a înregistrat un conținut mai ridicat de flavonoide.

Suplimentele alimentare SA1 și SA2 se remarcă prin caracteristici antioxidante superioare față de amestecul de miere și polen, după 10 zile de repaus, astfel:

- pentru SA1:
 - activitatea antioxidantă (metoda FRAP): $16.36 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ (cu 74.41% mai mare față de amestecul simplu de miere și polen după 10 zile);

- activitatea antiradicalică (metoda cu DPPH, pentru proba diluată 1:100 în etanol 70%): 83.86 % (cu 22.78 % mai mare față de amestecul simplu de miere și polen după 10 zile);
- pentru SA2:
 - activitatea antioxidantă (metoda FRAP): 17.73 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ (cu 89.02% mai mare față de amestecul simplu de miere și polen după 10 zile);
 - activitatea antiradicalică (metoda cu DPPH, pentru proba diluată 1:100 în etanol 70%): 85.93 % (cu 25.81% mai mare față de amestecul simplu de miere și polen după 10 zile).

Tabelul 3.

Proprietățile microbiologice ale ale suplimentelor alimentare SA1 și SA2

Parametrul microbiologic/metoda de analiză	SA1	SA2
NTG UFC/g/ SR EN ISO 4833-1/2014	< 10	< 10
Enterobacteriaceae UFC/g/ SR ISO 21528-2:2007	< 10	< 10
Drojii și mucegaiuri UFC/g/ SR ISO 21527-2:2009	< 10	< 10

Din punct de vedere microbiologic rezultatele analizelor arată că produsele sunt sigure, valorile determinate fiind încadrate în limitele de acceptabilitate prevăzute de standarde.

Analiza senzorială

Analiza senzorială (preferințele consumatorului) a suplimentelor alimentare SA1 și SA2 din prezenta invenție, realizată prin metoda scalei hedonice cu 5 puncte de către un grup de 30 paneliști, bărbați și femei, nefumători, consumatori obișnuiți de miere, fără alergii alimentare, cu vârste cuprinse între 18 și 60 ani, a condus la scorurile medii prezentate în tabelul 3.

Din punct de vedere senzorial, ambele suplimente prezentate ca exemplu în invenția de față au obținut scoruri bune la toate caracteristicile senzoriale analizate, suplimentul SA2 fiind evaluat cu punctaje de la 4.50 (foarte acceptabil) în sus la toate caracteristicile, iar suplimentul SA1 a obținut scoruri sub 4.50 (acceptabil) pentru aspect, culoare și consistență. De remarcat faptul că ambele produse au obținut pentru gust, aromă, miros și acceptabilitate generală punctaje foarte ridicate, aproape de maxim.

Tabelul 3.

Scorurile medii ale evaluării senzoriale a suplimentelor SA1 și SA2 folosind metoda scalei hedonice în 5 puncte

Caracteristica \ Produsul	SA1	SA2
Aspect	4,30	4,50
Culoare	4,30	4,60
Consistență	4,40	4,65
Gust	4,70	4,70
Aromă	4,75	4,80
Miros	4,70	4,75
Acceptabilitate generală	4,65	4,70

Activitatea antimicrobiană

Suplimentele SA1 și SA2 din prezenta invenție au fost testate în ceea ce privește activitatea antimicrobiană, conform ISO 20776-1:2019, pe următoarele tulpini de referință: *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Shigella flexneri* (ATCC 12022), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Haemophilus influenzae* tip B (ATCC 10211), *Candida parapsilopsis* (ATCC 22019) și *Candida albicans* (ATCC 10231).

Tulpinile microbiene de referință (ATCC) utilizate au fost obținute din colecția de cultură a Laboratorului de Microbiologie al Platformei de Cercetare Interdisciplinară din cadrul Universității de Științe Vieții "Regele Mihai I" din Timișoara.

Cele două suplimente alimentare exemplificate în invenția de față au prezentat o activitate antimicrobiană bună și chiar foarte bună față de toate tulpinile de referință pe care au fost testate, cel mai puternic efect antimicrobian fiind semnalat în cazul suplimentului alimentar SA2 cu 4 tipuri de uleiuri esențiale în compoziție.

Testarea produselor în vederea stabilirii termenului de valabilitate

Produsele SA1 și SA2 realizate conform descrierii din invenția de față, au fost testate în ceea ce privește termenul de valabilitate pe o perioadă de 12 luni, fiind luate probe din 3 în 3 luni în vederea analizelor senzoriale (aspect/consistență, culoare, gust, aromă, miros), fizico-chimice (aciditate, zaharoză, zahăr invertit, substanțe insolubile în miere, umiditate, conținut de polifenoli totali, conținut de flavonoide, activitate antioxidantă, activitate antiradicalică) precum și microbiologice. Nu au fost semnalate modificări semnificative, de-a

lungul a 24 luni, pentru nici una dintre caracteristicile senzoriale, fizico-chimice sau microbiologice analizate, valorile obținute încadrându-se în limitele de admisibilitate prevăzute de standardele în vigoare.

Bibliografie

1. Al-Waili, N. (2003). Intrapulmonary administration of natural honey solution, hyperosmolar dextrose or hypoosmolar distill water to normal individuals and to patients with type-2 diabetes mellitus or hypertension: their effects on blood glucose level, plasma insulin and C-peptide, blood pressure and peaked expiratory flow rate. *European journal of medical research*, 8(7), 295-303.

2. Al-Waili, N. S., Saloom, K. Y., Al-Waili, T. N., Al-Waili, A. N., Akmal, M., Al-Waili, F. S., & Al-Waili, H. N. (2006). Influence of various diet regimens on deterioration of hepatic function and hematological parameters following carbon tetrachloride: a potential protective role of natural honey. *Natural Product Research*, 20(13), 1258-1264.

3. Araujo, M. A., Libério, S. A., Guerra, R. N., Ribeiro, M. N. S., & Nascimento, F. R. (2012). Mechanisms of action underlying the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of propolis: a brief review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22, 208-219.

4. Batista, L.L.V.; Campesatto, E.A.; Assis, M.L.B.d.; Barbosa, A.P.F.; Grillo, L.A.M.; Dornelas, C.B. (2012) Comparative study of topical green and red propolis in the repair of wounds induced in rats. *Rev. Col. Bras. Cir.* 39, 515–520.

5. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.

6. Boukraâ, L., Alzahrani, H. A., Abdellah, F., Bakhotmah, B., & Hammoudi, S. M. (2013). Synergistic effect of monofloral honeys and essential oils against *Pseudomonas aeruginosa*. *British Microbiology Research Journal*, 3(4), 564-573.

7. Braakhuis, A. (2019). Evidence on the health benefits of supplemental propolis. *Nutrients*, 11(11), 2705.

8. Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P. P., ... & Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), 2322.

9. Cornara, L., Biagi, M., Xiao, J., & Burlando, B. (2017). Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. *Frontiers in pharmacology*, 412.

10. Cuevas, A., Saavedra, N., Salazar, L. A., & Abdalla, D. S. (2013). Modulation of immune function by polyphenols: possible contribution of epigenetic factors. *Nutrients*, 5(7), 2314-2332.
11. Denisow, B., & Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303-4309.
12. Detienne G, De Haes W, Ernst UR, Schoofs L, Temmerman L. (2014) Royalactin extends lifespan of *Caenorhabditis elegans* through epidermal growth factor signaling. *Experimental Gerontology*, 60, 129-135.
13. Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., & Ab Wahab, M. S. (2012). Honey: a novel antioxidant. *Molecules*, 17(4), 4400-4423.
14. Escuredo, O., Míguez, M., Fernández-González, M., & Seijo, M. C. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food chemistry*, 138(2-3), 851-856.
15. Gharzouli, K., Amira, S., Gharzouli, A., & Khennouf, S. (2002). Gastroprotective effects of honey and glucose-fructose-sucrose-maltose mixture against ethanol-, indomethacin-, and acidified aspirin-induced lesions in the rat. *Experimental and toxicologic pathology*, 54(3), 217-221.
16. Hue, H. T., Tinh, H. T., Van Bao, N., & Dao, P. T. A. (2020). Screening for antioxidant activity of vegetable and fruit by-products and evaluating the ability of coffee sediment to preserve fish meal. *SN Applied Sciences* 2, 1-7.
17. Imtara, H., Elamine, Y., & Lyoussi, B. (2018). Honey antibacterial effect boosting using *Origanum vulgare* L. essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.
18. Kamakura M. Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature*. 2011;473(7348):478-483
19. Kassim, M., Achoui, M., Mustafa, M. R., Mohd, M. A., & Yusoff, K. M. (2010). Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate in vitro anti-inflammatory activity. *Nutrition research*, 30(9), 650-659.
20. Khay, E. O., Bouyahya, A., El Issaoui, K., Zinebi, S., & Abrini, J. (2016). Study of synergy between *Mentha pulegium* essential oil, honey and bacteriocin-like inhibitory substance E204 against *Listeria monocytogenes* CECT 4032 and *Escherichia coli* K12. *Int. J. Curr. Res. Biosci. Plant Biol*, 3, 29-35.

21. Khazaei, M., Ansarian, A., & Ghanbari, E. (2018). New findings on biological actions and clinical applications of royal jelly: a review. *Journal of dietary supplements*, 15(5), 757-775.
22. Koç, A. N., Silici, S., Kasap, F., Hörmet-Öz, H. T., Mavus-Buldu, H., & Ercal, B. D. (2011). Antifungal activity of the honeybee products against *Candida* spp. and *Trichosporon* spp. *Journal of medicinal food*, 14(1-2), 128-134.
23. Kostić, A. Ž., Milinčić, D. D., Barać, M. B., Ali Shariati, M., Tešić, Ž. L., & Pešić, M. B. (2020). The application of pollen as a functional food and feed ingredient—the present and perspectives. *Biomolecules*, 10(1), 84.
24. Kunugi H, Mohammed Ali A. Royal jelly and its components promote healthy aging and longevity: from animal models to humans. *International Journal of Molecular Sciences* 2019;20(19):4662
25. Lan, X., Wang, W., Li, Q., & Wang, J. (2016). The natural flavonoid pinocembrin: molecular targets and potential therapeutic applications. *Molecular neurobiology*, 53, 1794-1801.
26. Mohamed, M., Sulaiman, S. A., Jaafar, H., & Sirajudeen, K. N. S. (2012). Effect of different doses of Malaysian honey on reproductive parameters in adult male rats. *Andrologia*, 44, 182-186.
27. Omotayo, E. O., Gurtu, S., Sulaiman, S. A., Wahab, M. S. A., Sirajudeen, K. N. S., & Salleh, M. S. M. (2010). Hypoglycemic and antioxidant effects of honey supplementation in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 80(1), 74.
28. Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 233-239.
29. Pavel CI, Mărghitaş LA, Bobiş O, Dezmiorean DS, Şapcaliu A, Radoi I et al. Biological activities of royal jelly-review. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies* 2011;44(2):108-118
30. Puscas, A., Hosu, A., & Cimpoi, C. (2013). Application of a newly developed and validated high-performance thin-layer chromatographic method to control honey adulteration. *Journal of Chromatography A*, 1272, 132-135.
31. Ramadan, M. F., & Al-Ghamdi, A. (2012). Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of functional foods*, 4(1), 39-52.

32. Rasul, A., Millimouno, F. M., Ali Eltayb, W., Ali, M., Li, J., & Li, X. (2013). Pinocembrin: a novel natural compound with versatile pharmacological and biological activities. *BioMed research international* , 2013.
33. Scepankova, H., Saraiva, J. A., & Estevinho, L. M. (2017). Honey health benefits and uses in medicine. *Bee products-Chemical and biological properties* , 83-96.
34. Tan, H. T., Rahman, R. A., Gan, S. H., Halim, A. S., Hassan, S. A., Sulaiman, S. A., & Bs, K. K. (2009). The antibacterial properties of Malaysian tualang honey against wound and enteric microorganisms in comparison to manuka honey. *BMC complementary and alternative medicine* , 9(1), 1-8.
35. Tanu, B., & Harpreet, K. (2016). Benefits of essential oil. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* , 8(6), 143-149.
36. Terzo, S., Mulè, F., & Amato, A. (2020). Honey and obesity-related dysfunctions: A summary on health benefits. *The Journal of Nutritional Biochemistry* , 82, 108401.
37. Zaid, S. S., Sulaiman, S. A., Sirajudeen, K. N., & Othman, N. H. (2010). The effects of Tualang honey on female reproductive organs, tibia bone and hormonal profile in ovariectomised rats-animal model for menopause. *BMC complementary and alternative medicine* , 10(1), 1-7.
38. Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of food science* , 73(9), R117-R124.

REVENDICĂRI

1. Gamă de suplimente alimentare naturale caracterizate prin aceea că se obțin dintr-un amestec de miere (91-93 părți) și polen (7-9 părți), ponderea amestecului în produsul finit fiind de 85-94 părți, la care se adaugă extract moale de propolis (2-3 părți) și lăptișor de matcă crud (2-6 părți). La această bază apicolă, în funcție de rețetă, se adaugă diferite uleiuri esențiale (0.05-2 părți), respectiv diferite pulberi din plante medicinale (0-5.55 părți), părțile fiind exprimate în greutate.
2. Procedul de obținere a suplimentelor alimentare din revendicarea 1, caracterizată prin aceea că amestecul de miere și polen este bine omogenizat cu ajutorul unui mixer și apoi lăsat la staționare timp de 10 zile, la întuneric în condiții de termostatare la o temperatură de 25°C. După această perioadă de timp se adaugă pe rând extractul moale de propolis, lăptișorul de matcă crud, plantele medicinale, uleiurile esențiale, conform fiecărei rețete, omogenizându-se bine amestecul după fiecare adaos. Pentru obținerea extractului moale de propolis se amestecă 1 parte propolis fin mărunțit cu 2 părți alcool etilic 96°, se agită bine, se lasă în repaus 12 zile la 25°C, iar apoi se filtrează printr-o hârtie de filtru Whatman grad 1. Extractul astfel obținut se concentrează sub vid (rotavapor) la temperatura de 35°C, până la jumătate din volumul inițial. Plantele medicinale uscate se macină fin și apoi pulberile se trec printr-o sită cu orificii de 1.5 mm.
3. Supliment alimentar natural obținut conform procedurii din revendicarea 2, caracterizat prin aceea că se obține din: amestec de miere de salcâm (92 părți) și granule polen (8 părți): 92.44 părți, extract de propolis: 2 părți, lăptișor de matcă crud: 2.5 părți, pulbere ienupăr: 3 părți, ulei esențial ienupăr: 0.04 părți, ulei esențial tămâie: 0.02 părți, părțile fiind exprimate în greutate.
4. Supliment alimentar natural obținut conform procedurii din revendicarea 2, caracterizat prin aceea că se obține din: amestec de miere de salcâm (91 părți) și polen (9 părți): 92.42 părți, extract de propolis: 2 părți, lăptișor de matcă crud: 5.5 părți, ulei esențial de mușcată: 0.02 părți, ulei esențial de grapefruit: 0.02 părți, ulei esențial de ghimbir: 0.02 părți, ulei esențial de cimbru: 0.02 părți.