

Rezumat

STUDII ȘI CERCETĂRI CU PRIVIRE LA PRODUSELE APICOLE, ÎN SCOPUL VALORIFICĂRII LOR SUPERIOARE

CORNELIA (DOȘTEȚAN) ABĂLARU

Universitatea “Lucian Blaga” Sibiu

Facultatea de Științe Agricole, Industrie Alimentară și Protecția Mediului

Domeniul fundamental de doctorat: Științe inginerești
Domeniul de doctorat: Inginerie industrială
Domeniul de documentare: Apicultura și produsele rezultate din această activitate

STUDII ȘI CERCETĂRI CU PRIVIRE LA PRODUSELE APICOLE, ÎN SCOPUL VALORIFICĂRII LOR SUPERIOARE

**Valorificare sub formă de cocktail-uri apicole, alimente funcționale și produse
cosmetice pe bază de venin de albine**

REZUMAT

Conducător științific:

Profesor univ. Dr. Ing. **Ioan DANCIU**

Doctorand

Ing. **Cornelia Carmen
ABĂLARU (DOȘTEȚAN)**

Sibiu
noiembrie 2014

CUPRINS

Introducere	pag 4
Scopul si obiectivele cercetării	pag 5

PARTEA I

STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRII.

STUDIUL BIBLIOGRAFIC AL PRODUSELOR APICOLE

Capitolul 1

Produsele apicole ca materii prime **pag. 7**

- 1.1. Generalități (definiție, clasificare, compoziție, producere)
 - 1.1.1. *Mierea*
 - 1.1.2. *Polenul*
 - 1.1.3. *Păstura*
 - 1.1.4. *Propolisul*
 - 1.1.5. *Lăptișorul de matcă*
 - 1.1.6. *Apilarnilul*
 - 1.1.7. *Veninul de albine*
- 1.2. Metode de recoltare, ambalare și depozitare ale produselor apicole

Capitolul 2

Produsele apicole si sănătatea **pag. 51**

- 2.1. Acțiuni și utilizări terapeutice
- 2.2. Necesitatea consumului de suplimente alimentare (cocktail apicol), alimente funcționale și folosirii produselor cosmetice pe bază de produse apicole

PARTEA A II-A

STUDII ȘI CERCETĂRI PERSONALE PRIVIND PRODUSELE APICOLE CU FINALITATE TERAPEUTICĂ:

COCKTAIL-URILE APICOLE, ALIMENTELE FUNCȚIONALE, COSMETICELE

Capitolul 3

Cercetari personale privind calitatea produselor apicole - materie primă **pag. 70**

- 3.1. Materiale și metode
- 3.2. Rezultate și discuții

Capitolul 4

Coktail-uri apicole (marcă înregistrată OSIM). **pag. 89**

- 4.1. Prelucrarea materiilor prime si obținerea cocktail-urilor apicole prin prisma ISO 22000:2005

Capitolul 5	
Alimente funcționale	pag. 106
5.1. Alimente funcționale “ <i>APILIFE</i> ”	
Capitolul 6	
Preparate cu venin de albine	pag. 121
6.1. Gel revigorant cu venin de albine, ardei iute, mentă și pin	
6.2. Gel de față nutritiv și regenerant cu venin de albine și lăptișor de matcă	
6.3. Soluție de venin de albine - spray	
Capitolul 7	
Concluzii și perspective	pag. 134
7.1. Concluzii generale	
7.2. Recomandări	
7.3. Contribuții proprii și tendințe viitoare de dezvoltare a cercetării	
Bibliografie	pag. 137
Anexe	pag. 142
Lista notațiilor și simbolurilor utilizate	pag. 172
Lista figurilor	pag. 173
Lista tabelor	pag. 175
Curriculum vitae	pag. 176
Lista lucrărilor publicate	pag. 178

STRUCTURA TEZEI

Teza de doctorat a fost elaborată pe baza cercetărilor efectuate de-a lungul anilor în stupina proprie, apoi în cadrul firmei Apilife Ro Sibiu și în colaborările ulterioare cu Societatea Română de Apiterapie, cu S.C. Hofigal Exort Imort S.A. București, cu Institutul Național de Cercetare – Dezvoltare pentru Tehnologii Criogenice și Izotopice Râmnicu Vâlcea, cu USAMV Cluj, etc.

Lucrarea este structurată pe 7 capitole, concluzii, bibliografie și anexe. Cuprinde 180 pagini din care partea documentară reprezintă 65 pagini. Lucrarea de doctorat conține 32 de figuri și 16 tabele, iar anexele sunt redactate în 28 pagini. Pentru elaborarea tezei s-au utilizat 100 referințe bibliografice. Diseminarea rezultatelor este reprezentată de lista lucrărilor susținute la Congrese și Conferințe de Apiterapie naționale și internaționale.

Teza de doctorat este structurată în două părți distincte:

- I) Studiul documentar
- II) Partea experimentală

În studiul documentar, structurat în două capitole (1 și 2), sunt prezentate date din literatura de specialitate: definiția, clasificarea, compoziția fizico-chimică, producerea, metodele de recoltare, ambalare și depozitare a produselor apicole studiate în această lucrare și anume: mierea, polenul crud, păstura, propolisul, lăptișorul de matcă, apilarnilul și veninul de albine.

În partea experimentală, structurată în patru capitole (3, 4, 5 și 6) se detaliază cercetările personale privind produsele apicole cu finalitate terapeutică: studii și analize privind produsele apicole ca materie primă (cap. 3), cocktail-urile apicole (cap. 4), alimentele funcționale cu produse ale stupului (cap. 5) și produsele cosmetice cu venin de albine (cap. 6).

Lucrarea se încheie cu Concluzii și perspective (cap. 7), bibliografie, anexe, lista notațiilor și simbolurilor utilizate, lista figurilor, lista tabelor, Curriculum vitae și lista lucrărilor publicate sau susținute.

Înainte de prezentarea propriu-zisă lucrării, se cuvine să adresez mulțumirile și recunoștința mea celor care m-au sprijinit la elaborarea și finalizarea tezei de doctorat.

În primul rând doresc să mulțumesc lui Dumnezeu pentru ce sunt...

Doresc să adresez mulțumirile mele domnului Prof. univ. dr. ing. Vasile Jâșcanu, conducător științific al tezei de doctorat, pentru îndrumarea și competența cu care a coordonat activitatea desfășurată pe parcursul elaborării tezei. De asemenea doresc să mulțumesc domnului Prof. univ. dr. ing. Ioan Danciu pentru timpul acordat și suportul oferit pentru finalizarea și susținerea tezei.

În mod special doresc să mulțumesc d-nei Farmacist Gabriela Vlăsceanu pentru înțelegere, sprijinul acordat și mai ales pentru suportul moral și logistic pus la dispoziție, d-lui Doctor Ștefan Stângaciu (Președintele Societății Române și Societății Germane de Apiterapie), d-nei dr Biolog Iuliana Crișan, Prof. Univ. Dr. Farm. Viorica ISTUDOR (UMF București), doamnelor Nelly și Tamina Pfeiffer (Apiestic), dr. ing. Roxana Elena Ionete, drd.ing. Irina Geană, dr.ing Radu Tamaian ICSI Rm. Vâlcea, ș.a.

Mulțumesc membrilor comisiei pentru evaluarea și susținerea Tezei de doctorat, pentru onoarea care mi-o fac prin analiza lucrării.

Nu în ultimul rând vreau și trebuie să mulțumesc familiei:

mamei că m-a susținut, tatălui că mă veghează mulțumiri adresez cu drag soțului și băiețelului nostru de 11 luni, prietenului meu drag Romeo, pentru susținerea oferită pe parcursul elaborării și finalizării tezei de doctorat, pentru sprijinul moral, pentru înțelegerea și ajutorul necondiționat acordat pe întreaga perioadă a cercetărilor.

Lor le dedic această reușită...

Scopul și obiectivele cercetării

Proiectul de față, cu tema „*Studii și cercetări cu privire la produsele apicole. Valorificare sub formă de cocktail-urile apicole, alimente funcționale și produse cosmetice pe bază de venin de albine*”, are ca scop documentarea, experimentarea și evaluarea unor variante tehnologice de obținere a unor produse alimentare și cosmetice complexe pe bază de produse ale stupului, în vederea optimizării:

- *compoziției chimice (prin asociere)*
- *modului de conservare*
- *efectului asupra stării de sănătate.*

Activitatea de cercetare din cadrul proiectului are în vedere obținerea practică a 3 categorii de produse api-fito terapeutice:

- *cocktail-urile apicole*
- *alimente funcționale*
- *produse cosmetice*

iar rezultatele obținute se preconizează a fi de interes, atât pe piața națională cât și internațională, în domeniul suplimentelor alimentare și produselor cosmetice pe bază de produse ale stupului.

Luând în considerare importanța compușilor chimici din produsele apicole pentru menținerea și îmbunătățirea stării de sănătate, precum și proprietățile curative ale fructelor și plantelor medicinale (reinvestigate și valorificate cu ajutorul tehnologiilor moderne), urmărim obținerea unor produse de tip “api-fito” eficiente terapeutic la nivelul organismului uman.

Astfel, studiul și-a propus următoarele **obiective**:

I. În prima etapă au fost studiate produsele stupului

- *Mierea*
- *Polenul*
- *Păstura*
- *Propolisul*
- *Lăptișorul de matcă*
- *Apilarnilul*
- *Veninul de albine*

d.p.d.v. al compoziției chimice, în anumiți compuși cu acțiune benefică asupra organismului.

II. Etapa a doua a avut obiectiv obținerea unor produse api-fitoterapeutice de tipul „cocktail apicol”; și s-a urmărit atât determinarea unor variante tehnologice de obținere cât și găsirea unor forme de conservare și dozare optime.

III. Într-o a treia etapă a fost studiată posibilitatea de obținere a unor alimente funcționale pe bază de produse apicole, în asociere cu fructe și plante medicinale, pentru menținerea și îmbunătățirea stării de sănătate.

IV. Etapa a patra a avut obiectiv formularea și testarea unei game de produse cosmetice pe bază de venin de albine, simplu sau în asociere cu plante medicinale.

Capitolul 1

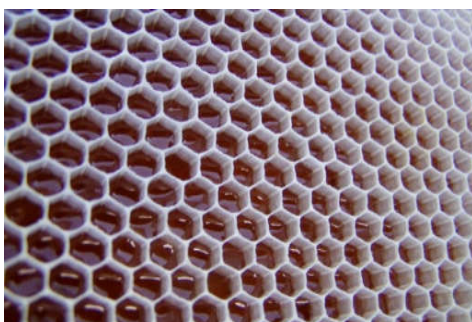
1.1. Produsele apicole, materii prime – noțiuni generale

1.1.1. MIEREA

Mierea este (conf DEX), o substanță semilichidă, cu gust dulce și cu aromă plăcută, bogată în zaharuri și vitamine, produsă de albine din nectarul florilor (conf DEX), dar și din secrețiile dulci ale pomilor și copacilor pe care aceștia le secretă și le scot în exterior în urma înțepăturilor ce le sunt făcute de către aphide.



Nectarul ce albinele îl sug din flori se transformă în miere printr-un fel de “sărut” între albinele (trofolaxie) care participă la procesul de maturare al mierii prin care se transferă mici picături de nectar de la o albină la alta, moment în care este îmbogățită cu enzimele ce o înnobilează, apoi se elimină surplusul de apă. Producerea mierii de către albine, începe cu recoltarea nectarului sau a manei și se încheie cu căpăcirea celulelor fagurelui în care a fost depozitată mierea.



Prelucrarea se realizează prin două procese: prelucrare enzimatică și prelucrare hidrică.

Prelucrarea enzimatică este realizată din necesitatea albinelor de a transforma zaharurile complexe (zaharoza, maltoza, melezitoza, etc) în zaharuri simple, asimilabile (glucoza și fructoza) pentru a le putea asimila în totalitate în perioada iernării.

Prelucrarea hidrică de realizează în două etape: diluarea nectarului sau a manei cu salivă (vectorul enzimelor zaharolitice) apoi concentrarea. Rolul concentrării este de a reduce conținutul de apă pentru blocarea proceselor enzimatice, pentru blocarea activității microorganismelor (presiunea osmotică) și diminuarea spațiului de depozitare

Apicultorii, în momentul maturării suficiente a mierii de către albine în stup („pe trei sferturi căpăcite”), scot ramele, le duc într-o încăpere curată, le descăpăcesc, le centrifughează și ambalează mierea în vase mari.



Mierea poate fi curățată de posibilele corpuri străine: aripiare, albine, larve, căpăcele ceară, etc, prin filtrare sau prin curățarea stratului ce se ridică deasupra după o scurtă perioadă de timp.

Aroma mierii e dată de planta-sursă a nectarului, de la discretă(salcâm), la aromă specifică de tei, zmeur, etc, până la amar (mierea de castan). **Gustul** mierii este foarte dulce. **Culoarea** mierii poate varia de la aproape incoloră (mierea de salcam), până la brun închis (mierea de mană). O miere bună (16-18% umiditate), este vâscoasă la temperatura normală (20⁰C). Dacă **umiditatea** este mai mare de 21% mierea curge ca apa ceea ce înseamnă că a fost obținută și/sau păstrată inadecvat, urmând a se degrada rapid, fiind o miere de calitate slabă. **Densitatea** mierii este puternic influențată de conținutul ei de apă. Mierea cu umiditatea 20% are densitatea de 1,4710. **Aciditatea** mierii este max 4 pentru mierea de flori și max 5 pentru cea de mană. Valorile normale ale pH-ului mierii se situează între 3.5-4.5, deci reacția chimică este una puternic acidă. **Conductivitatea electrică** este unul dintre parametrii cu ajutorul căruia se certifică autenticitatea mierii de mană. La mierea de flori conductivitatea electrică este mult diferită de la un sortiment la altul. **Spectrul polinic** constituie criteriul de bază pentru cunoșterea provenienței mierii și aprecierea corectă a sortului de miere, datorită faptului că morfologia granulelor de polen este absolut caracteristică pentru fiecare specie de plante în parte. Spectrul polinic al mierii constituie oglinda fidelă a provenienței ei. O miere păstrată inadecvat fără un capac bine închis absoarbe mirosurile din jur, iar dintr-un mediu umed absoarbe umiditatea. Mierea are în compoziția sa: apă, carbohidrați, polen, minerale, enzime, vitamine, pimenți, compuși aromatici și acizi. **Carbohidrații** (zaharurile sau glucidele): fructoză (38%), glucoză (31%), zaharoză (1%), maltoză și alte dizaharide (7%),melezitoză (caracteristică mierii de mană). **Apa** este între 16 – 23% și este una „biologică”, venită de la plante. **Substanțele azotoase** se exprimă în echivalent proteină și se găsesc în cantitate foarte mică, sub 1%. **Vitaminele** existente: tiamina (vit.B₁), riboflavina (vit.B₂), acid nicotinic (vit.B₃), vitamina K, acidul folic (vit.M), biotina (vit.H), piridoxina (vit.B₆). **Compușii aromatici**: terpene, aldehide, esteri. **Acizii**: gluconic, citric, malic, succinic, formic, acetic, butiric, lactic, piroglutamic, aminoacizi. **Pigmentii**: caroten, clorofilă și derivații de clorofilă, xantofile. **Polenul** (5%), este cel căruia i se datorează prezența în miere a unor cantități mici de: vitamine, aminoacizi, proteine. **Enzimele** din miere sunt: invertaza (convertește zaharoza în fructoză și glucoză), diastaza (convertește amidonul în dextrine), glucozo-oxidaza, catalaza, fosfataza. În mierea de flori au o dublă proveniență: vegetală (enzimele existente în nectar) și animală (enzimele din saliva albinuțelor). Enzimele din mierea de mană au o proveniență mult mai mare (enzimele din seva plantelor cu care se hrănesc insectele producătoare de mană, cele secretate de insecte în procesul de digestie, cele elaborate de ciupercile și algele care contaminatează stropii de mana de pe plante și cele adăugate prin saliva albinuțelor). Înșușirile mierii, compoziția chimică și calitatea mierii este dată în mare măsură de conținutul în enzime. Enzimele sunt substanțe labile, în special termolabile. Temperatura ridicată produce inactivarea ireversibilă a enzimelor. Dintre enzimele existente în miere amintesc: invertaza, amilaza, catalaza. Amilaza (diastaza) este enzima care catalizează reacțiile de transformare a amidonului în dextrine și mai departe și este indicator enzimatic al mierii fiind enzima cea mai rezistentă. Catalaza este o enzimă care catalizează reacțiile de descompunere a peroxidilor cu eliberare de oxigen. Cercetarea catalazei din miere ajută la

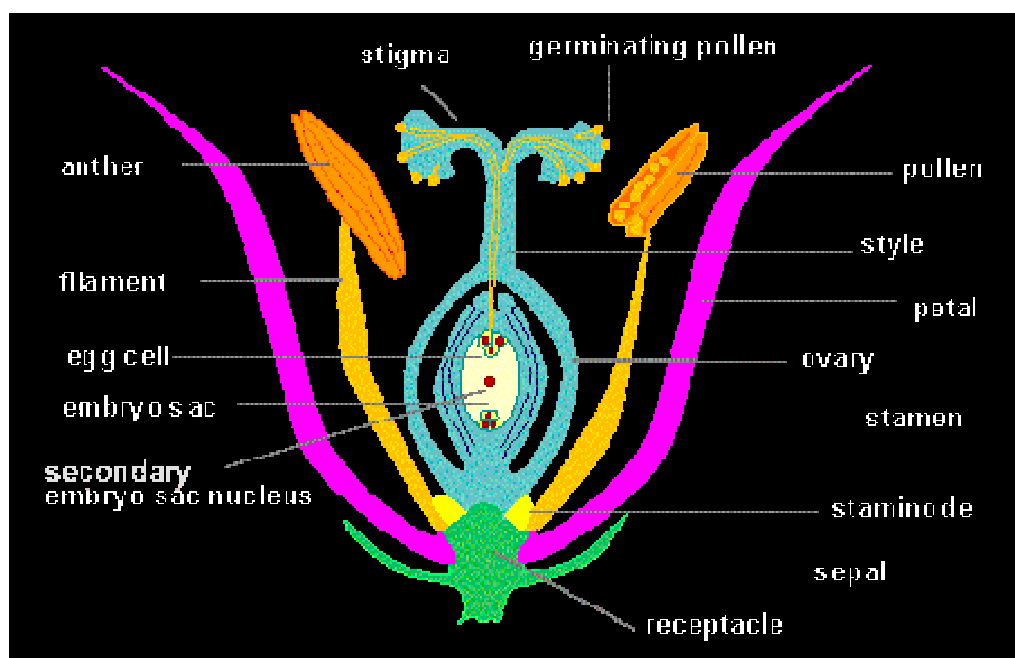
CORNELIA (DOȘTEȚAN) ABĂLARU

confirmarea sortului de miere de mană, confirmarea degradării termice, evidențierea pe cale chimică a instalării proceselor fermentative. **Mineralele** existente în miere sunt: potasiu, sodiu, calciu, magneziu, clor, sulfati, fosfați, siliciu. Substanțele minerale din miere sunt de un conținut redus în mierea de flori, dar ridicat în mierea de mană. Se pot întâlni situații când limitele maxime sunt depășite și asta datorită extracției și depozitarea mierii s-a făcut în condiții improprie (în praf), în cazul contactului prelungit al mierii cu suprafețe metalice nealimentare (ambalaje). Ceste substanțe sunt responsabile pentru extraordinarele calități ale mierii, atât de apreciate de noi toți. Compoziția și efectele terapeutice ale mierii sunt determinate de plantele vizitate de albine, respectiv de principiile active ale acestora.



1.1.2. POLENUL

Conform DEX, polenul este o pulbere provenită din staminele plantelor cu flori, care reprezintă celulele sexuale masculine. Pentru albine polenul este principala lor sursă de hrană, sursa unică de proteine, principala sursă de substanțe indispensabile vieții lor: lipide, elemente minerale, vitamine, enzime, etc. Pentru om, polenul este sursă de vitamine, lipide, proteine, enzime, minerale. Pentru a înțelege originea polenului și cum culeg albinele polenul sunt necesare câteva date și o imagine.



Funcția unei flori este de a produce semințe. Părțile femeiești esențiale ale unei flori tipice sunt: ovarul, stilul și stigmatul. Partea masculină este stamina. Aceasta produce polenul, care este celula sexuală masculină. Ovarul devine fruct. Stilul este o prelungire a ovarului în forma de coloană. În vârful stilului, se află stigmatul. La majoritatea plantelor stigmatul are suprafața lipicioasă la care aderă grăuncioarele de polen unde germinează. Pentru a lua naștere sămânța, polenul trebuie să ajungă de pe antere pe stigmat. Prin germinare polenul dă naștere unui tub care trece prin interiorul stigmatului și stilului ajungând în ovar realizându-se fecundația. În ovar fecundația are loc atunci când nucleii din celula germinală masculă din vârful tubului polinic se unesc cu nucleii din gelula germinală femelă. Unele plante produc un polen ușor, acesta este transportat de către vânt (*polen anemofil*), alte plante produc un polen mai greu, mai lipicios, iar acesta este transportat de insecte (*polenul entomofil*). 80% din polenizare se realizează de către albinele melifere. Ea se mărginește în zborul ei de cules la o singură specie de plante, evitând vizitele interspecifice (Ialomițeanu 1987).

Recoltarea polenului de către albine

Pe corpul albinelor există perișori. De perișori se prinde polenul atunci când albina vizitează florile. Albina se mișcă repede printre stamine iar polenul se prinde de perișori.



În recoltarea grăuncioarelor de polen albinele execută mai multe etape:

- celulele de polen de pe cap, apendice și primele segmente ale ale toracelui sunt „pieptănate” de către perișorii tari ai piciorușelor anterioare. Perișorii sunt umeziți cu nectar sau cu miere regurgitată pentru a ajuta la împachetarea polenului. Partea posterioară și ultimele segmente ale toracelui sunt curățate de perișorii de pe perechea medie de piciorușe. Abdomenul este curățat cu perișorii de pe piciorușele posterioare.
- în timpul zborului albinuța împachetează polenul și în îndeasă în coșulețele ce se află pe piciorușele posterioare.
- ajunsă în stup albinuța descarcă coșulețele cu ajutorul miciorușelor medii, într-o celulă goală sau parțial umplută.
- în urma ei vine o altă albinuță ce sfarmă și presează cu căpșorul polenul în fundul celulei



Polenul astfel depozitat este acoperit cu un strat de miere urmând să sufere continue schimbări biochimice transformându-se în păstură.

Recoltarea polenului de către apicultor

Recoltarea polenului de către apicultor se face la intrarea în stup, la urdiniș, printr-o serie de dispozitive numite „colectoare de polen” care au ca principiu o grilă prin care albinuțele nu pot trece decât după ce descarcă săculeții cu polen. Astfel polenul cade într-o cutie colectoare pe care apicultorul o golește de 2-3 ori pe zi în ambalaje și în congelator sau în uscătoarele de polen.



Caracteristicile organoleptice ale polenului Polenul la recoltare se prezintă sub formă de grăuncioare cu contur neregulat. **Culoarea** polenului variază de la alb până la negru, predominantă este culoarea galbenă. Culoarea variază mult în funcție de florile vizitate de albinuțe, de exemplu: galben deschis la alun, galben închis la gura leului, galben citrin la rapiță, verzui la arțar, albastru la facelie, gri deschis la ulm și aproape negru la mac. **Gustul** este plăcut dulceag, cu parfum puternic asemănător florilor de la care provine. **Umiditatea** polenului la recoltare este foarte mare, de aceea este un mediu foarte bun de dezvoltare al microorganismelor, de aceea trebuie foarte repede prelucrat (congelet sau uscat). **Mărimea și greutatea grăuncioarelor de polen** pot fi foarte diferite în funcție de specia plantei, durata culesului și distanța până la floarea sursă. Mărimea și greutatea grăuncioarelor de polen contează mult din punct de vedere comercial. Un polen sfărâmat nu este atrăgător pentru ochiul clientului. Din punct de vedere terapeutic mărimea grăuncioarelor nu contează, mai ales că se recomandă a se consuma în amestec.

Caracteristicile fizico-chimice ale polenului. În momentul recoltării, polenul are umiditatea de 15-20%, proteine 7-35%, zahăr invertit 1-48%, grăsimi 1-18%, substanțe minerale 1-7%.

1.1.3. PĂSTURA

CORNELIA (DOȘTEȚAN) ABĂLARU

Păstura sau “Pâinea Albinelor” este poate cel mai valoros produs al stupului. Albinele aduc polenul în stup, îl depozitează în celule, îl presează cu căpșorul îl amestecă cu puțină miere și enzime și alte substanțe nutritive din glandele salivare folosite ca liant pentru grăuncioarele de polen, apoi deasupra pun un strat protector de miere. Aici, sub influența substanțelor adăugate de albine, a microorganismelor, a temperaturii și umidității ridicate din stup, polenul trece printr-o serie de transformări biochimice și modificări structurale, transformându-se, după o perioadă de timp de fermentare naturală, în **Păstură**.

Datorită faptului că transformările suferite de polen sunt biochimice, produsul rezultat este diferit de polenul inițial. Transformarea polenului în pastură comportă mai multe etape:

- prima etapă constă în dezvoltarea bacteriei *pseudomonas*, aeroba, care va consuma întreaga cantitate de oxigen, ceea ce conduce în final la moartea acestor bacterii, prin autoasfixiere.
- a doua etapă se produce prin dezvoltarea unei bacterii anaerobe, *lactobacillus*, care folosește glucidele ca sursă de oxigen, producând în schimb acid lactic, concentrația acestuia ajungând la 3.2%; de asemenea crește concentrația de vitamine din grupa B.

Păstura are **culoare** cafenie închisă cu **gust** dulce-amar-acrișor datorită procesului de fermentare.

Compoziție chimică: Păstura este un aliment bogat în carbohidrați, proteine, vitamine, aminoacizi și acid lactic pentru hrana albinei. Este un produs natural mai valoros decât polenul datorită conținutului mai mare în zaharuri simple, vitamina K, enzime și aminoacizi, precum și a acidității sporite, ce o face ușor asimilabilă. Fata de polen valoarea nutritivă și antibiotică este de 3 ori mai mare. De asemenea, învelișul extern al polenului, exina, este distrus, determinând asimilarea mai ușoară de către organism. Compoziția chimică a pasturii este următoarea: carbohidrați (glucide 35%); lipide (1-6%); carotenoizi (provitamina A 200-875 mg/kg; vitamina E 1.7 g /kg; vitamina C 6-200 mg/100g produs. Păstura conține mai multă vitamină K și acid folic decât polenul de albine.

1.1.4. PROPOLIS



Propolisul este un material rășinos de consistența cerii recoltat de către albine din *mugurii* și *scoarța* copacilor. Proprietățile fizice și culoarea lui variază, și este folosit în interiorul stupului pentru scopuri diferite.

Propolisul se prezintă ca o masă lipicioasă de culoare variabilă între verde, maro și negru, având miros aromat de rășini și balsamuri. Este solubil în alcool și eter și greu solubil în apă. Greutatea specifică este de 1.112 -1.136 g/cm³. Punctul de topire este situat între 70 - 120 °C. La temperatura de 37 °C se înmoaie, iar la temperaturi scăzute este casant.

Dacă este *încălzit ușor în bain-marie* se scindează în două părți distincte:

- o parte vâscoasă ce se lasă la fund
- o parte lichidă (ceara de propolis) ce plutește la suprafața apei

Conținutul de ceară variază între 7,5 și 35 % (Ivanov, 1981). **Conținutul de impurități** variază între 18 și 34 % (Makashvili, 1972). **Culoarea.** Variază în funcție de zona geografică și de plantele de origine: galben deschis, gălbui-verzui, gălbui-marou, marou roșiatic, cărămiziu închis, marou verzui, marou închis, etc. Ca un exemplu, culoarea predominantă a propolisului Brazilian este roșie, verde sau marou clară.

CORNELIA (DOȘTEȚAN) ABĂLARU

Mirosul. Propolisul *european* prezintă în mod uzual un miros plăcut și dulceag de muguri de plop, ceară, miere și vanilie. Când este ars degajă un miros delicat datorită rășinilor aromatice care devin volatile. Mirosul propolisului *georgian* seamănă, în general, cu propolisul din alte zone și regiuni ale URSS (*Makashvili, 1972*). Propolisul *lituanian* are un miros foarte puternic de scorțișoară. **Gustul.** Acru și uneori amar. Propolisul *georgian* are un gust amar și înțepător (*Makashvili, 1972*). Cea mai mare parte a tipurilor de propolis *brazilian* sunt picante. Flavonoizii din propolis au un gust amar și astringent (*Jeanson și Marchenay, 1976*). **pH** Variază între 5.2 și 5.7 (*Bracho et al., 1998*).

Compoziție chimică Propolisul este compus din rășini vegetale, balsam de diferite compoziții, ceară, uleiuri eterice, fier, microelemente, la care se adaugă polen, flavonoide, secreții ale glandelor salivare ale albinelor. Reprezintă un amestec de substanțe, în special: derivații flavonici, acidul ferulic (activ contra germenilor Gram pozitiv și Gram negativ), ceruri, aminoacizi, balsamuri, fermenți, microelemente (siliciu, magneziu, cupru, molibden, arsen, staniu, aluminiu, vanadiu, wolfram, fier, aur, iridiu, calciu, cadmiu, cobalt, stronțiu), substanțe antibiotice, rășini, acizi aromatici, acizi. Compoziția propolisului variază în funcție de specia vegetală de pe care s-a cules, dar, în medie, acesta conține

- 55% rășini și balsamuri,
- 30% ceruri
- 10% uleiuri eterice, proporții care sunt asemănătoare pentru orice fel de propolis.

Producerea de către albine Albinele colectează o substanță aromată cu aspect de rășină de pe cel puțin 20 de specii de arbori, în special de pe mugurii de plop și de arin, de pe frunzele, mugurii și scoarța coniferelor și a plopilor, a salicaceelor (sălcii) și a prunilor. Materiile rășinoase astfel culese sunt prelucrate de albine specializate prin amestec cu secreții salivare și ceară.

Producerea propolisului se face în același timp cu cea a mierii și se realizează de către albinele specializate, în zilele călduroase, când temperatura este mai mare de 20°C, moment în care acesta devine plastic. De la un stup se poate recolta o cantitate de 100-400 g propolis, în funcție de regiune.

1.1.5. LĂPTIȘORUL DE MATCĂ



Lăptișorul de matcă este o substanță secretată de glandele hipofaringiene ale celor mai tinere albine, în zilele a șasea și a patrusprezecea de viață, substanță cu care va fi hrănită matca și puietul în primele trei stadii de dezvoltare larvară. Lăptișorul de matcă este o substanță cremoasă albă în aparență și vâscoasă. Gustul său este specific, puțin acru și astringent. Are o compoziție foarte stabilă în mod obișnuit, chiar și cel obținut de la rase de albine sau colonii de albine diferite. Stabilitatea sa probabil că stă la baza stabilității genetice a coloniei de albine.

Principalii constituenți ai lăptișorului de matcă sunt: apă, proteine, zaharuri, lipide și săruri minerale (*Rainer Krell, "Value added products from beekeeping, FAO, 1996*). **Apa.** Constituie aproximativ 2/3 din lăptișorul de matcă proaspăt, dar din partea uscată, proteinele și zaharurile sunt de departe fracțiunile cele mai mari. O substanță foarte importantă, prezentă în lăptișorul de matcă, este acidul 10 – hidroxil – decenoic. Concentrația acidului e un bun indicativ pentru verificarea calității lăptișorului de matcă. În producția organică de lăptișor de matcă, aceasta trebuie să fie > 1.8% din materia uscată.

1.1.6. APILARNILUL

Apilarnilul este ceea ce se găsește și se extrage din celula în care se dezvoltă un viitor trântor în a 7-a zi de stadiu larvar, un amestec de hrană larvară comună (polen, păstură, miere și apă), reprezentând 3% , corpul larvei de trântor în vârstă de 7 zile și învelișurile larvare, care apoi este triturate, omogenizat și filtrate.

Apilarnilul este un produs apicol 100% românesc. Api = albină, lar = larvă, n = Nicolae, il = Ilieșiu. Da! Descoperitorul acestui produs apicole este un mare apicultor roman, domnul Nicolae Ilieșiu. Se obține prin extragerea întregului conținut al celulei cu ajutorul unei pompe.



În stup sunt trei tipuri de indivizi ce compun colonia: matca(regina), albinele lucrătoare și trântorii. Singura femelă capabilă să depună ouă, în mod normal, este matca (regina). Prin ea se asigură perpetuarea speciei. Ea depune ouă fecundate din care se dezvoltă albine lucrătoare sau matcă, și ouă nefecundate din care se dezvoltă trântori. Diferențierea celor trei caste este determinată de: structura oului (fecundat sau nu), hrana diferențiată calitativ și cantitativ și condițiile de mediu (existența în natură a surselor de nectar și polen din abundență, puterea familiei de albine, sistemul de stup). Ouăle depuse de matcă sunt fecundate sau nu în funcție de dimensiunea celulei în care matca depune oul. Dacă celula în care matca depune ou este cea normală de fagure (4,6-5,1mm), la introducerea abdomenului se presează și se deschide și spermataca ieșind și un spermatozoid ce fecundază oul, dacă celula de fagure este mai mare (6,4-6,6mm) spermataca nu se deschide și cade în fundul celulei un ou nefecundat. Un ou fecundat – oul diploid - conține 32 de cromozomi (16 din ovulul matur, 16 din spermatozoid), oul nefecundat – oul haploid – conține 16 cromozomi care prin partenogeneză eclozionatează trântori. Metamorfoza la trântor durează 24 de zile: 3 zile stadiul de ou, 8 zile stadiul de larvă, 13 zile stadiul nimfal. Pentru obținerea apilarnilului apicultorul este interesat în mod special de perioada stadiului larvar la trântor, adică primele 10 zile de la depunerea oului, înainte ca albinele să căpăcească celula. Perioada optimă de recoltare a apilarnilului este în a 10-a zi de la depunerea oului. În această zi, larva atinge dezvoltarea maximă, greutatea este puțin sub greutatea maximă, iar albinele doici au depus o cantitate mare de hrană ce ajută larva să treacă de stadiul de nimfă în cea de adult, în celula căpăcită prin care mai trece doar aer și umiditate. Plecând de la greutatea oului 0,012g ajunge în a 11 zi în stadiul larvar la 380mg, iar la 24 de zile, adult la 240mg. Față de greutatea oului depus în prima zi, larva ajunge până la de 1500 de ori mai grea. Aceasta este dată de regimul de hrănire. Sunt descrise în literatură două metode de recoltare a apilarnilului. Prima și cea recomandată datorită calității net superioare este cea prin extracție a conținutului celulei cu ajutorul unei pompe cu vid. A doua metodă e prin stoarcerea fagurilor, dar aici rămân învelișurile larvare.

Caracteristicile organoleptice ale apilarnilului Aspectul este omogen, puțin vascos cu fine granulații. Apilarnilul are **culoarea** este alb-cenusie; **consistența**: lăptos, onctuos, ușor vascos; **miros**: caracteristic, ușor aromat (ușor a drojdie proaspătă); **gust**: cremos, ușor astringent; fără **impurități**, paraziți, fragmente de larve.

Caracteristicile fizico – chimice ale apilarnilului pH-ul 4,8-6,7; conținutul de apă 65 - 80%; conținut substanțe uscate 20 - 35%; proteine totale 10-20%; glucide totale 1 - 5,5%; lipide 5 - 6,3%; cenușă 1 - 1,5%; substanțe nedeterminate 4 - 6%; densitate 1,1 - 1,2%.

1.1.7. VENINUL DE ALBINE

“**Veninul de albine lichid** este incolor, cu gust picant-amar și cu un miros aromat asemănător bananelor coapte. Este ușor acid (pH 5.0-5.5); schimbă culoarea hârtiei albastre de turnesol în roșu indicând o reacție acidă. Greutatea specifică este de 1.313 g/cm³. Totuși, soluția apoasă din veninul uscat nu mai prezintă acest efect, sugerând că responsabili de reacția acidă sunt compușii volatili. Veninul se usucă la temperatura ambientală în mai puțin de 20 de minute, pierzând între 65-70 % din greutatea originală. După ce lichidul se evaporă se poate recolta 0.1 mg. de venin uscat pur (de la o singură albină).” (Michael Simics)

Veninul de albine este o combinație de peptide, enzime, lipide, aminoacizi, carbohidrați cu puternică acțiune farmacologică. Componenta ce se găsește în cantitatea cea mai mare 40-50% , cea în care se exprimă și calitatea veninului este melitina. Hialuronidaza este o enzima component de valoare ce scindează acidul hialuronic. *Apamina* împiedică dezvoltarea complementului C3 și blochează canalele dependente de potasiu. Alte substanțe precum, *hyaluronidaza*, *fosfolipaza A₂* și *histamina* sunt implicate în răspunsul inflamatoriu al veninului. Mai conține cantități de *dopamina*, *serotonina* și *noradrenalina*.

Veninul de albine este un produs de secreție al albinelor lucratoare, ce este stocat în pungă de venin și eliminat la exterior în momentul întepării, care în fapt reprezintă un act reflex de apărare. Secreția de venin este influențată de vârsta albinelor, de hrana și de sezon. S-a constatat că albinele recent eclozionate nu au venin, abia la vârsta de 6 zile reușesc să cumuleze până la 0.15mg iar la 15-20 de zile 0.30 mg. Albinele crescute fără polen, deci fără proteine, nu produc venin. Generațiile de albine crescute primăvara când resursele polenifere sunt bogate, produc mai mult venin decât cele crescute vara sau toamna. Odată folosită, rezerva de venin nu se mai refacă și albina moare.



Capitolul 2

Produsele apicole și sănătatea

2.1. Acțiuni și utilizări terapeutice

Originea, compoziția și caracteristicile principalelor produse apicole determină proprietățile curative ale acestora. Cunoașterea lor are un rol determinant în practica terapeutică. Raportul *substanță – proprietăți* este de mare interes pentru biochimisti, farmaciști, biologi și cercetători, raportul *proprietăți – acțiuni farmacologice – efect terapeutic* este foarte important pentru practicieni.

Mierea de albine reprezintă un aliment excelent cu mare valoare nutritivă, biologică și energetică, ușor asimilabil, cu reale proprietăți biostimulatoare datorită conținutului în substanțe antibiotice naturale, fermenți, vitamine și elemente minerale.

Ceara de albine servește la confecționarea făgurilor artificiali și ca materie primă în industriile electrotehnică, electronică, optică, cosmetică, farmaceutică, lacurilor și vopselelor etc.

Polenul, propolisul, lăptișorul de matcă, apilarnilul și veninul de albine sunt extrem de apreciate pentru proprietățile lor terapeutice și biostimulatoare.

În teză sunt prezentate proprietățile farmacologice ale produselor apicole în 10 pagini. Au fost enumerate și justificate 28 de proprietăți pentru miere, 53 de proprietăți pentru polen, 60 de proprietăți pentru propolis, 33 proprietăți pentru lăptișorul de matcă, 17 pentru apilarnil, 17 pentru propolis.

2.2. Necesitatea consumului de suplimente alimentare (cocktail apicol), alimente funcționale și folosirea produselor cosmetice pe bază de produse apicole

Proprietățile miraculoase ale amestecului de produse apicole au fost îndelung dezbătute în ultimul timp, numeroase afecțiuni putând fi tratate simplu și rapid. Nimic nu este mai benefic pentru organism ca produsele organice, biologice, care se găsesc în jurul nostru în natură, iar pentru a dovedi aceasta ipoteză, ne putem întoarce la origini: încă din Antichitate au fost consemnate proprietățile miraculoase ale produselor apicole.

Prin componentele lor cocktail-urile apicole sunt adevărate „izvoare de sănătate” având în vedere conținutul foarte bogat în vitamine, minerale și alte microelemente, toate acestea recomandându-l în combaterea multor afecțiuni. Fiind amestecuri din produse ale stupului în diverse formule, aceste formule aduc un mare ajutor organismului atât de solicitat de oboseală, stres, alimentație nesănătoasă, poluare.

Conceptul legat de nutriție s-a extins de la supraviețuire și satisfacerea foamei, la prevenirea unor efecte adverse cu accent de utilizarea acelor alimente benefice pentru îmbunătățirea *calității vieții* și prevenirea sau reducerea riscului de îmbolnăvire. Pentru adoptarea unui stil de viață sănătos, ne aflăm în pragul unei noi abordări în științele nutriționale: utilizarea așa numitelor „*alimente funcționale*”.

Cosmeticele bazate pe produse ale stupului oferă tinerețea fără de bătrânețe dată de lăptișorul de matcă, strălucirea și delicatetea mierii, nutrienții polenului, textura fină oferită de ceara de albine naturală, curățenia și protecția date de propolis - cea mai puternică substanță antimicrobiană naturală, reducerea ridurilor prin intensificarea circulației sanguine la nivelul pielii și datorită hialuronidazei din veninul de albine.

PARTEA A II-A

STUDII ȘI CERCETĂRI PERSONALE PRIVIND PRODUSELE APICOLE CU FINALITATE TERAPEUTICĂ:

COCKTAIL-URILE APICOLE, ALIMENTELE FUNCȚIONALE, COSMETICE CU VENIN DE ALBINE

Capitolul 3

Cercetări personale privind calitatea produselor apicole - materie primă

3.1. Materiale și metode

Analiza compoziției *fizico-chimice* (a) și *microbiologice* (b) a produselor apicole ce vor fi utilizate în apiterapie, ca alimente funcționale și în api-cosmetologie este de importanță extremă, deoarece este esențial să se știe dacă produsele:

- sunt autentice,
- au compoziția chimică adecvată tipului de produs apicol declarat
- nu au încărcătură microbiană patogenă, iar cea saprofită este în limitele de accesibilitate.

(a) Pentru produsele apicole care vor intra în formula produselor api-fito-terapeutice propuse, au fost determinați parametri fizico-chimici principali: conținut de apă, protein totale, lipide totale (**Tabel nr. 6**). Deoarece pentru miere sunt importante și alte caracteristici fizico-chimice, s-au determinat și indicele diastazic, conductivitatea electrică și conținutul de HMF (hidroxi metil furfural). (**Tabel nr. 7**). Tehnicile de lucru aplicate respectă monografiile din FR X și Farmacopeea europeană, ediția în vigoare.

(b) Studiul activității antimicrobiene a unor produse apicole constă în determinarea proprietăților antimicrobiene la mierea de albine, propolis, lăptișorul de matcă, precum și stabilirea eficienței acestor produse în funcție de calitățile antibacteriene în vederea utilizării lor în tratamente. Astfel, obiectivele studiului microbiologic vizează două etape:

- 1) *screening-ul activității antimicrobiene a produselor apicole față de diferite tulpini bacteriene și fungice.*
- 2) *determinarea cantitativă a concentrației minime inhibitoare a produselor apicole testate față de diferite tulpini microbiene.*

Materialul biologic. Studiul a fost realizat pe 16 tulpini microbiene izolate de la pacienți spitalizați. Identificarea tulpinilor a fost realizată cu sistemul automatizat VITEK 2, precum și cu ajutorul galeriilor microtest API 20. Tulpinile bacteriene standard utilizate în studiu sunt:

- a) Tulpini fungice: *Candida albicans* 103101, *Candida famata* 366, *Candida albicans* 601,
- b) Tulpini bacteriene Gram-pozitive: *Enterococcus faecalis* ATCC, *Staphylococcus aureus* MRSA 349, *SCN*, *Staphylococcus epidermidis*, MRSA 1840, *Staphylococcus aureus* ATCC,
- c) Tulpini bacteriene Gram-negative: *Escherichia coli* 634, *Escherichia coli* 8730, *Klebsiella* 136202, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Acinetobacterbaumanii* 7706, *Pseudomonas aeruginosa* 6633, *Pseudomonas aeruginosa* 719.

Produsele apicole testate au fost:

- Miere;
- Polen;
- Lăptișor de matcă;
- Apilarnil;
- Propolis;
- Tinctură de propolis;
- Extract moale de propolis

3.2. Rezultate și discuții

(a) Au fost determinați principalii parametri fizico-chimici ai materiilor prime apicole:

Tabel nr. 6 Parametrii fizico-chimici principali ai produselor apicole utilizate ca materie primă

Nr.	Produs	Conținut de apă (%)	Proteine totale (%)	Lipide totale (%)
1.	<i>Miere salcâm</i>	17.4	0.21	0.00
2.	<i>Miere mană</i>	16.4	0.68	0.01
3.	<i>Polen 2013</i>	19.7	18.8	5.1
4.	<i>Polen 2014</i>	19.2	18.6	5.8
5.	<i>Păstură</i>	15.7	16.6	4.4
6.	<i>Lăptișor de matcă</i>	63.7	13.4	2.2
7.	<i>Apilarnil</i>	61.4	7.6	3.2

Pentru miere s-au determinat și indicele diastazic, conductivitatea electrică și conținutul de HMF (hidroxi metil furfural).

Tabel nr. 7 Caracteristici fizico-chimice specifice mierii

Nr.	Produs apico	Conductivitatea electrică (mS/cm)	Indice diastazic (DN)	HMF (mg/kg)
1.	<i>Miere salcâm</i>	0.125	14.9	2.3
2.	<i>Miere mană</i>	0.962	36.9	4.9

După cum se poate observa din analizele efectuate, mierea de salcâm și mierea de mană sunt produse autentice, având indice diastazic ridicat (conținut de amilazimă provenită de albine) și conținut de HMF foarte scăzut. Conductivitatea electrică a mierii de mană este ridicată, peste limita minimă a standardului românesc și Codex Alimentarius pentru ca o miere să fie declarată de mană (0.8 mS/cm).

Pentru principalele materii prime apicole au fost subcontractate analize specifice către laboratoarele de Analize Fizico-Chimice și Microbiologie ale INCD IBA București (Institutul de Bioresurse Alimentare). Buletinele de analiză prezintă caracteristicile materiei prime (umiditate, aciditate, substanță uscată, cenușă totală) conform STAS-urilor în vigoare, dar și informații referitoare la proprietățile organoleptice ale materiilor prime apicole: aspect, consistență, culoare, gust și miros, conform monografiilor din Farmacopeea Română, ediția în vigoare (FR X).

b.1. Determinarea activității antimicrobiene a diferiților compuși apicoli asupra tulpinilor bacteriene analizate.

S-a utilizat o metodă adaptată după metoda difuzimetrică (Kirby-Bauer).

Tehnica de lucru: 1). Inocularea mediului s-a realizat prin însămânțarea în spot cu ajutorul tamponului de vată steril: s-a îmbibat tamponul în inocul, se îndepărtează excesul de inocul rotind și presând ușor tamponul pe pereții interiori ai tubului, după care se descarcă tamponul pe suprafața plăcii prin mișcări orizontale și apoi verticale, finalizate cu descrierea unui cerc marginal. În vederea uscării suprafeței mediului, plăcile se lasă cu capacul întredeschis 30 minute la temperatura camerei sau 15 minute la 37°C. 2). Însămânțarea în spot a produsului apicol testat, câte 5 μl de produs apicol pe fiecare placă. După însămânțarea în spot, plăcile se lasă în repaus la temperatura camerei 20-30 minute, pentru a asigura difuzarea uniformă a acestor produse apicole în mediu. 3). Incubarea plăcilor s-a realizat timp de 16-18h la 37°C, cu capacul în jos. 4). Citirea rezultatelor s-a realizat prin măsurarea diametrelor zonelor de inhibiție generate de diferite produse apicole, cu ajutorul unei rigle gradate.

Concluzii:

1. Activitatea antimicrobiană a produselor apicole apreciată prin metoda difuzimetrică a fost redusă, zone de inhibiție a creșterii fiind slab evidențiate, cu excepția tincturii de propolis.
2. S-a observat că în unele cazuri, activitatea antimicrobiană a produselor testate s-a accentuat prin continuarea timpului de incubare (de la 24 de ore la 72 de ore).

b.2. Determinarea valorii CMI (concentrația minimă inhibitorie) prin metoda microdiluțiilor în mediu lichid. Permite determinarea C.M.I. exprimată în U.I/mgr sau gram produs.

Mod de lucru: Tehnica s-a realizat în plăci cu 96 de godeuri. Se numerotează godeurile de la 1 la 12 de la stânga la dreapta. Se repartizează în cele 12 godeuri bulionul nutritiv (180μl în primul godeu, respectiv 100μl în restul). În primul tub se repartizează un volum de 20 μl din soluția stoc de produși apicoli folosiți rezultând o concentrație de 1/10 în primul godeu. Din acesta se prelevează 100 μl și se transferă în godeul următor, unde se realizează o concentrație de produși apicoli de 1/20, s.a.m.d., realizându-se o serie de diluții binare din acești produși apicoli. În godeul 12 nu se repartizează (tub martor de creștere). Se însămânțează toate tuburile cu un volum egal de inocul standardizat (20 μl), mai puțin godeul 11 care va fi martor de sterilitate. Se incubează tuburile la temperatura de 37°C timp de 18-24h. Rezultatele obținute s-au analizat prin observare macroscopică și prin citire la spectrofotometru: în primele godeuri, cu concentrații mari de produși apicoli, creșterea culturii nu este vizibilă, microorganismele fiind omorâte sau inhibate în prezența acestora. Concentrația de produși apicoli corespunzătoare ultimului godeu în care nu se mai observă dezvoltarea culturii reprezintă valoarea C.M.I. (mg/ml) pentru compusul apicol respectiv. În tuburile următoare, inclusiv tubul martor de creștere, mediul se tulbură ca urmare a creșterii microbiene. Tubul martor de sterilitate obligatoriu nu prezintă cultură dezvoltată.

Citirea rezultatelor la spectrofotometru. Rezultatele au fost analizate și prin citirea la spectrofotometru, spectrofotometrul fiind astfel un instrument capabil să măsoare cu precizie cantitatea de fotoni (intensitatea luminii) absorbită de trecerea lor printr-o probă (soluție). Astfel, se poate determina indirect și cantitatea de substanță (concentrația). Pentru tulpinile de *Candida albicans* toate produsele testate au activitate antimicrobiană, CMI are valori cuprinse între 1/10 și 1/80. Tulpina de *C. famata* s-a dovedit însă sensibilă doar la activitatea polenului, ceilalți compuși neavând efect (**Tabel nr. 7.1 și 7.2**).

Tabel nr. 7.1. Valorile CMI și CMEB ale produselor apicole testate față de tulpini de *Candida sp.*

Cod tulpină	Apilarnil		Lăptișor de matcă		Miere mană	
	CMI	CMEB	CMI	CMEB	CMI	CMEB
<i>Candida albicans</i> 103101	1/80	1/10	1/320	1/320	1/40	1/40
<i>Candida famata</i> 366	1/40	Fără efect	Fără efect	1/10	Fără efect	1/80
<i>Candida albicans</i> 601	1/80	Fără efect	1/20	1/20	1/80	1/20

Tabel nr. 7.2. Valorile CMI și CMEB ale produselor apicole testate față de tulpini de *Candida sp.*

Cod tulpină	Miere salcâm		Tinctura de propolis		Polen crud	
	CMI	CMEB	CMI	CMEB	CMI	CMEB
<i>Candida albicans</i> 103101	1/40	1/10	1/320	1/10	1/80	1/40
<i>Candida famata</i> 366	Fără efect	1/20	Fără efect	1/10	1/160	1/10
<i>Candida albicans</i> 601	1/10	1/10	1/40	1/10	1/160	1/10

Pentru tulpinile *Gram pozitive* analizate, apilarnil a prezentat activitate antimicrobiană față de toate tulpinile, cu o valoare CMI variind între 1/20 și 1/80μg/μl. Restul produselor testate au avut activitate doar față de anumite tulpini, cu concentrații variate, între 1/10 și 1/320 μg/μl (polen crud față de tulpinile de SCN) (**Tabel nr. 8.1 și 8.2.**), spectrul cel mai îngust de activitate fiind în cazul lăptișorului de matcă.

Tabel 8.1. Valorile CMI și CMEB ale produselor testate față de tulpini bacteriene Gram pozitive

Cod tulpină	Apilarnil		Lăptișor de matcă		Miere mană	
	CMI	CMEB	CMI	CMEB	CMI	CMEB
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC	1/40	1/10	1/40	1/10	1/10	1/10
<i>S. aureus</i> ATCC	1/20	1/10	Fara efect	1/20	1/10	1/10
<i>S. aureus</i> MRSA 349	1/40	1/10	Fara efect	1/20	Fara efect	Fără efect
SCN	1/80	1/10	Fara efect	1/20	Fara efect	Fără efect
<i>S. epidermidis</i>	1/40	Fără efect	Fara efect	1/20	Fara efect	Fără efect
<i>S. aureus</i> MRSA 1840	1/40	Fără efect	1/20	1/20	Fara efect	Fara efect

Tabel 8.2. Valorile CMI și CMEB ale produselor testate față de tulpini bacteriene Gram pozitive

Cod tulpină	Miere salcâm		Tinctura de propolis		Polen crud	
	CMI	CMEB	CMI	CMEB	CMI	CMEB
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC	Fără efe	Fără efect	1/20	1/10	Fără efect	1/10
<i>S. aureus</i> ATCC	1/40	1/10	1/80	1/20	1/160	1/10
<i>S. aureus</i> MRSA 349	Fără efe	1/10	1/40	1/10	Fără efect	Fără efect
SCN	1/10	1/10	Fără efect	Fără efect	1/320	Fără efect
<i>S. epidermidis</i>	Fără efe	Fără efect	1/160	Fără efect	1/320	Fără efect
<i>S. aureus</i> MRSA 1840	1/80	1/10	1/80	1/10	1/160	1/10

La tulpinile Gram-negative analizate se observă că apilarnil și tinctura de propolis au activitate antibacteriană față de toate speciile analizate, iar activitatea celorlalți compuși variază funcție de tulpina analizată. Valorile CMI sunt cuprinse între 1/10 și 1/320 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ (**Tabel nr. 9.1 și 9.2.**)

Tabel nr.9.1 Valorile CMI și CMEB la produsele testate față de tulpini bacteriene Gram negative

Cod tulpină	Apilarnil		Lăptișor de matcă		Miere mană	
	CMI	CMEB	CMI	CMEB	CMI	CMEB
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	1/80	1/10	1/40	1/10	1/10	1/10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 719	1/80	1/10	Fără efect	Fără efect	1/10	Fără efect
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 6633	1/10	Fără efect	1/640	1/10	1/40	1/10
<i>Acinetobacter baumannii</i> 7706	1/60	Fără efect	Fara efect	1/10	1/80	1/40
<i>E. coli</i> 8730	1/40	Fără efect	Fara efect	1/10	Fără efect	Fără efect
<i>E. coli</i> 634	1/40	1/10	1/40	1/40	Fără a efect	1/10
<i>Klebsiella sp.</i> 136202	1/80	Fără efect	1/10	Fără efect	1/10	Fără efect

Tabel nr. 9.2 Valorile CMI și CMEB la produsele testate față de tulpini bacteriene Gram negative

Cod tulpină	Miere salcâm		Tinctura propolis		Polen crud	
	CMI	CMEB	CMI	CMEB	CMI	CMEB
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	1/20	1/20	1/10	Fara efect	1/320	1/10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 719	Fara efect	Fara efect	1/10	Fara efect	Fara efect	Fara efect
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 6633	1/40	1/20	1/10	Fara efect	1/160	1/10
<i>Acinetobacter baumannii</i> 7706	Fara efect	Fara efect	1/10	Fara efect	1/20	Fara efect
<i>E. coli</i> 8730	Fara efect	Fără efect	1/10	Fara efect	1/320	Fără efect
<i>E. coli</i> 634	Fara efect	1/10	1/10	Fara efect	1/160	1/10
<i>Klebsiella sp.</i> 136202	1/10	Fara efect	1/160	1/10	Fara efect	Fara efect

Capitolul 4

Coktail-uri apicole (marcă înregistrată OSIM).

4.1. Analizarea materiilor prime și obținerea cocktail-urilor apicole prin prisma ISO 22000:2005

Analiza polifenolilor totali din produsele apicole utilizate ca materii prime pentru obținerea *formulei standard de Cocktail apicol* s-a realizat utilizând metoda Folin-Ciocalteu, Conținutul de flavonoide totale a fost determinat prin metode utilizate în literatura de specialitate, adaptate pentru analiza produselor apicole. Astfel s-a utilizat metoda Dowd, modificată de *Arvouet și col. (1994)* și adaptată de *Meda și col. (2005)*

Tabel nr.10 Principii bioactive generale ale produselor apicole și produsului api (cocktail apicol)

Nr.cr	Produs apicol	Polifenoli totali (mgGAE/100g)	Flavonoide (mgQE/100g)
1.	Miere salcâm	17.71	4.4
2.	Miere mană	108.00	1.8
3.	Polen 2013	563.2	255.1
4.	Polen 2014	612.4	285.8
5.	Păstură	918.1	435.2
6.	Lăptișor de matcă	24.52	14.2
7.	Apilarnil	43.51	3.4
8.	PRODUS API	1056.3	532.6

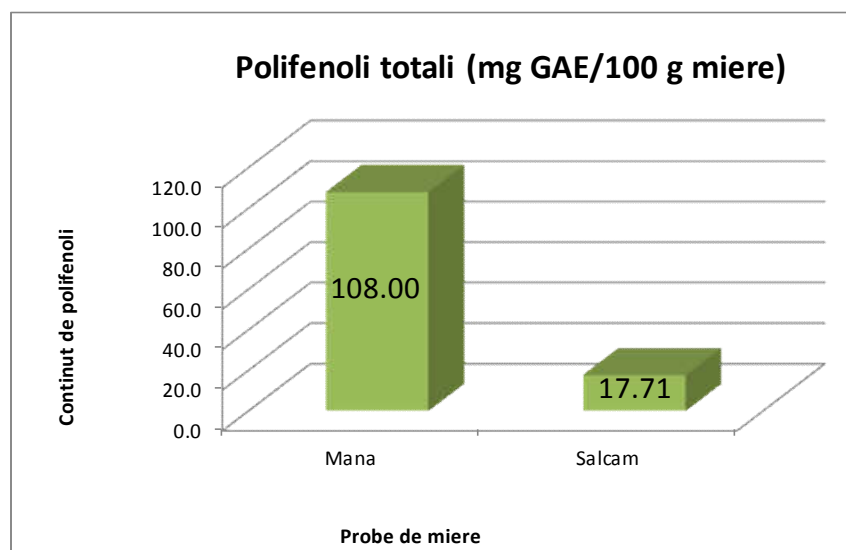


Figura nr. 7 Conținutul de polifenoli totali al tipurilor de miere analizate

După cum se poate observa în Figura 1, există o foarte mare diferență între conținutul de polifenoli totali al mierii de mană și al mierii de salcâm. Compoziția chimică mult mai complexă, culoarea chihlimbar închisă, conținutul mare de minerale, fac ca mierea de mană să fie un produs apicol extrem de valoros, iar determinarea conținutului de polifenoli vine să confirme acest lucru.

Diferența între conținutul de flavonoide totale la mierea de mană și mierea de salcâm nu este atât de mare, dar mierea de mană conține de app. 3 ori mai multe flavonoide decât mierea de salcâm.

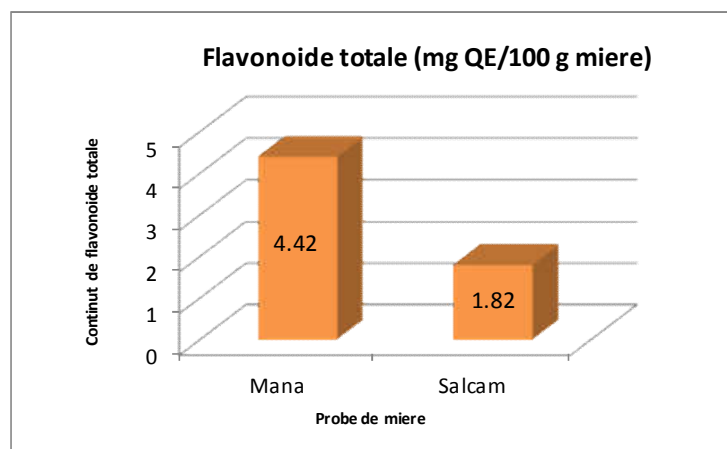


Figura nr. 8 Conținutul de flavonoide totale al tipurilor de miere analizate

Profilul polifenolic al propolisului precum și cuantificarea compușilor identificați s-a realizat cu ajutorul tehnicii cromatografice de înaltă performanță HPLC – PDA (**H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography – **P**hoto **D**iode **A**rray). Fiecare semnal din cromatogramă reprezintă unul sau mai mulți compuși polifenolici, aceștia putând fi recunoscuți după timpul de retenție, spectrul UV-Vis și maximele de adsorbție.

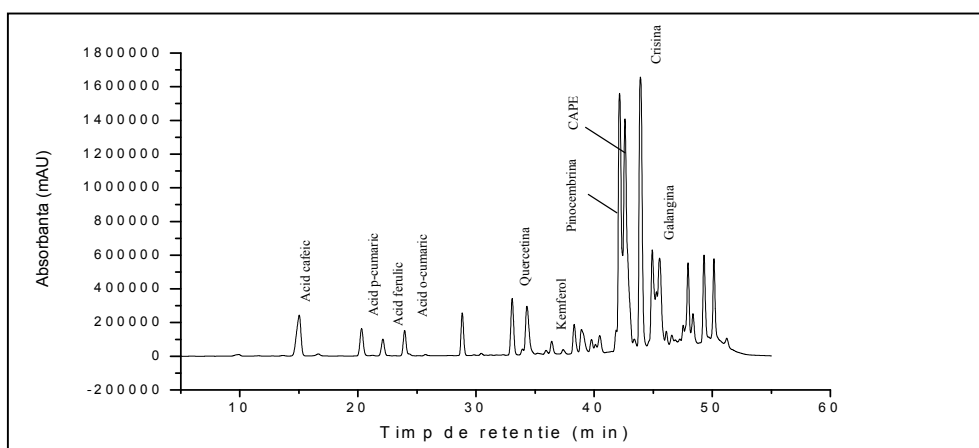


Figura nr. 9 Cromatograma HPLC-PDA a probei de propolis alcoolic

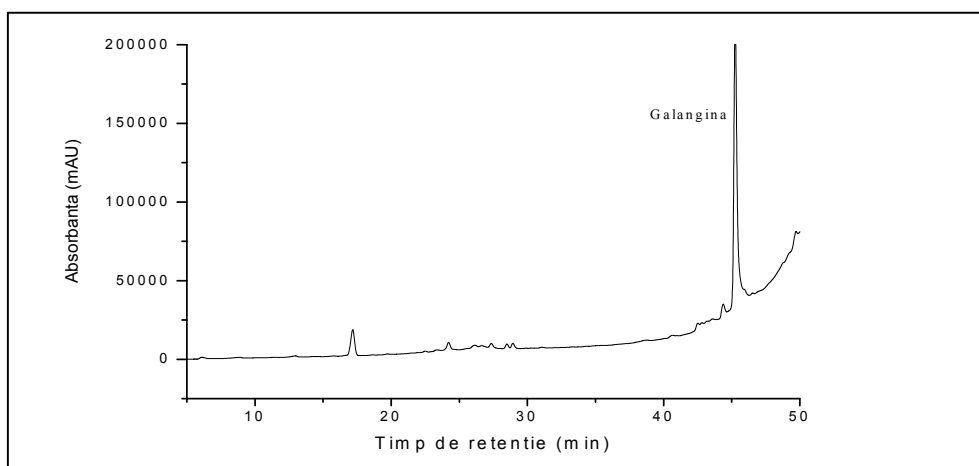


Figura nr. 10 Cromatograma HPLC-PDA a probei de propolis apos

Identificarea și cuantificarea zaharurilor reprezintă un pas important în vederea determinării autenticității probelor atât din punct de vedere cantitativ cât și calitativ.

Tabel nr.11 Concentrația glucidelor (%) în probele de produse apicole materie primă și produsul apiterapeutic realizat, determinate prin metoda HPLC

Proba	Glucoza	Fructoza	Zaharoza	Maltoza	Melezitoza	Total zaharuri
Miere salcâm	23.77	41.00	1.03	1.44	0.00	72.55
Miere de mană	26.25	35.14	0.14	1.77	1.78	69.29
Polen 2013	13.02	18.29	0.00	0.1	0.00	31.82
Polen 2014	15.20	16.27	0.00	0.10	0.00	31.91
Păstura	9.23	17.264	0.00	0.23	0.00	28.66
Lăptișor de matcă	6.67	6.16	0.51	0.15	0.00	13.87
Apilarnil	8.68	8.76	0.14	0.32	0.19	19.00
PRODUS API	19.49	27.08	0.01	0.95	0.47	50.21

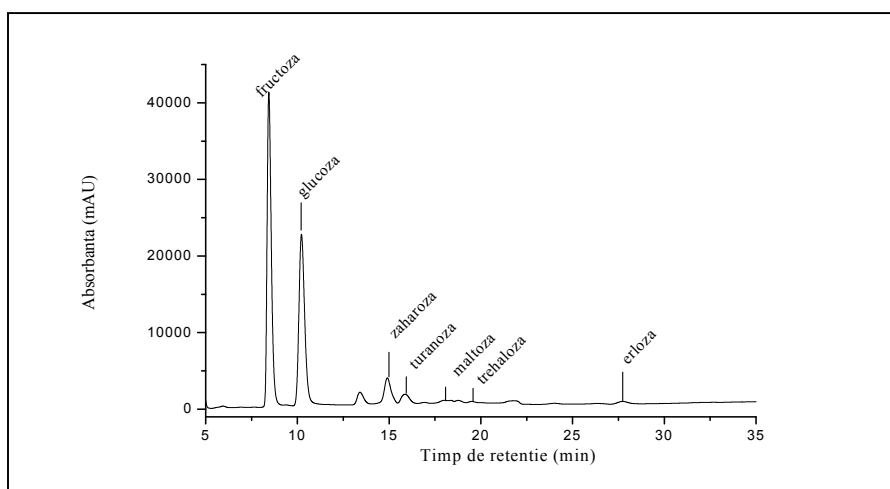


Figura nr. 12 Cromatograma HPLC – IR a probei de lăptișor de matcă

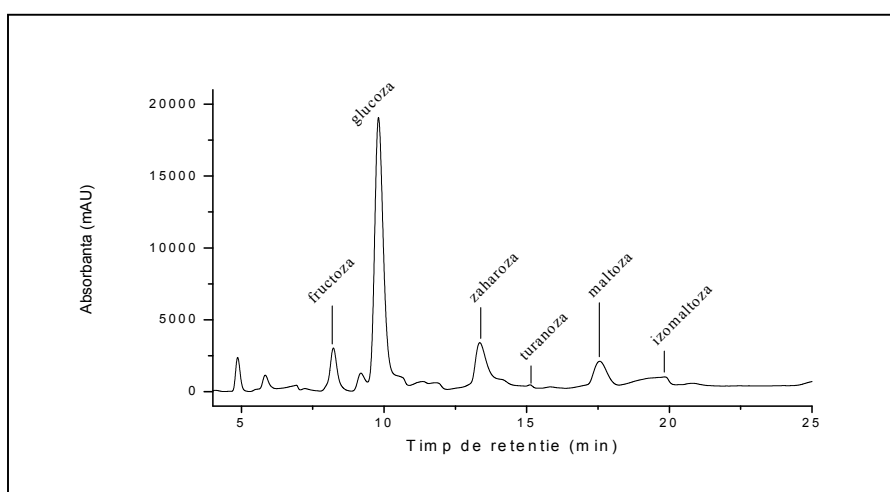


Figura nr. 13 Cromatograma HPLC – IR a probei de apilarnil

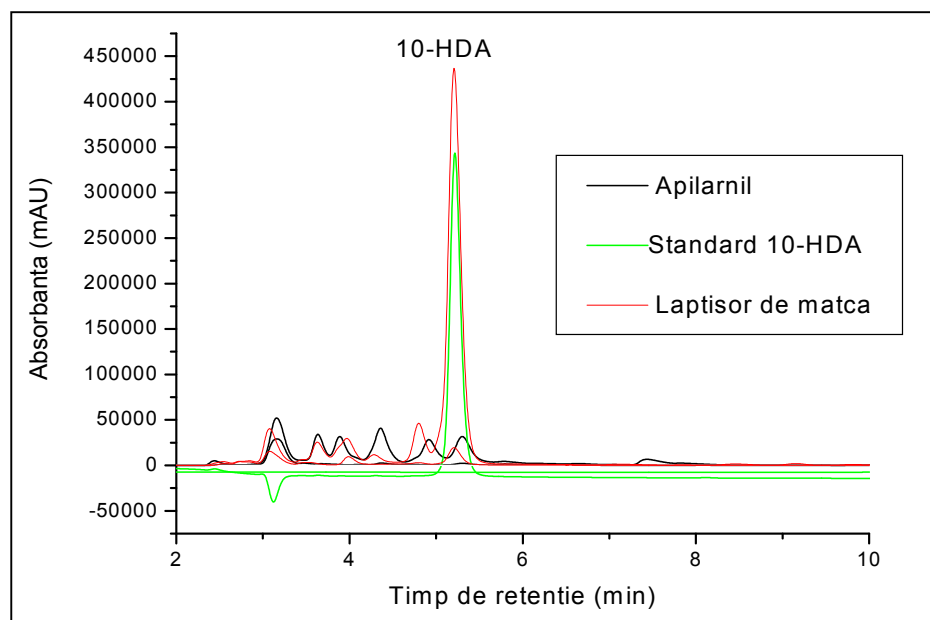


Figura nr. 14 Cromatograma suprapusă a standardului 10-HDA (40 mg/ml), a lăptișorului de matcă și a apilarnilului analizat.

În analiza compozițională a lăptișorului de matcă s-a căutat să se determine conținutul de acid 10-hidrodecenoic (10-HDA), ce este marker de autenticitate al lăptișorului de matcă.

Tabel nr. 14 Activitatea antioxidantă a produselor apicole determinată prin tehnica DPPH și FRAP

Nr.cr	Produs apicol	DPPH (mmol TROLOX/g)	FRAP (mmol TROLOX/g)
1.	<i>Miere salcâm</i>	0.10	0.25
2.	<i>Miere mană</i>	0.32	0.96
3.	<i>Polen 2013</i>	1.37	2.47
4.	<i>Polen 2014</i>	1.59	3.17
5.	<i>Păstură</i>	8.64	11.42
6.	<i>Lăptișor de matcă</i>	0.32	2.27
7.	<i>Apilarnil</i>	0.68	16.41
8.	PRODUS API	6.34	10.03

După cum se poate observa din tabelul de mai sus și potențianul antioxidant total (FRAP) și activitatea de captare a radicalilor liberi (DPPH) la produsele apicole este destul de ridicată (comparative cu alte matrici naturale), iar combinarea acestora în diferite formulări conduce la produse extrem de valoroase pentru utilizarea în tratamentul sau chiar prevenția diferitelor afecțiuni.

Explicarea activităților benefice ale produselor apicole, și recomandarea utilizării lor în apiterapie, sau medicină în general, este dată de elucidarea cât mai detaliată a compoziției chimice a fiecăruia dintre ele. Diversitatea compozițională este factorul determinant în acțiunile benefice pe care le au aceste produse, analiza chimică a compoziției lor fiind certificatul lor de: garanție, autenticitate, calitate. Pentru a respecta regulile GPM în vigoare și cerințele pentru siguranța și securitatea alimentelor se impune asigurarea trasabilității produsului de la stup până în depozitul de materie primă, ulterior până la condiționarea sa ca produs finit, ca atare sau în diferite formule complexe. Exemplificare: **trasabilitatea apilarnilului.**

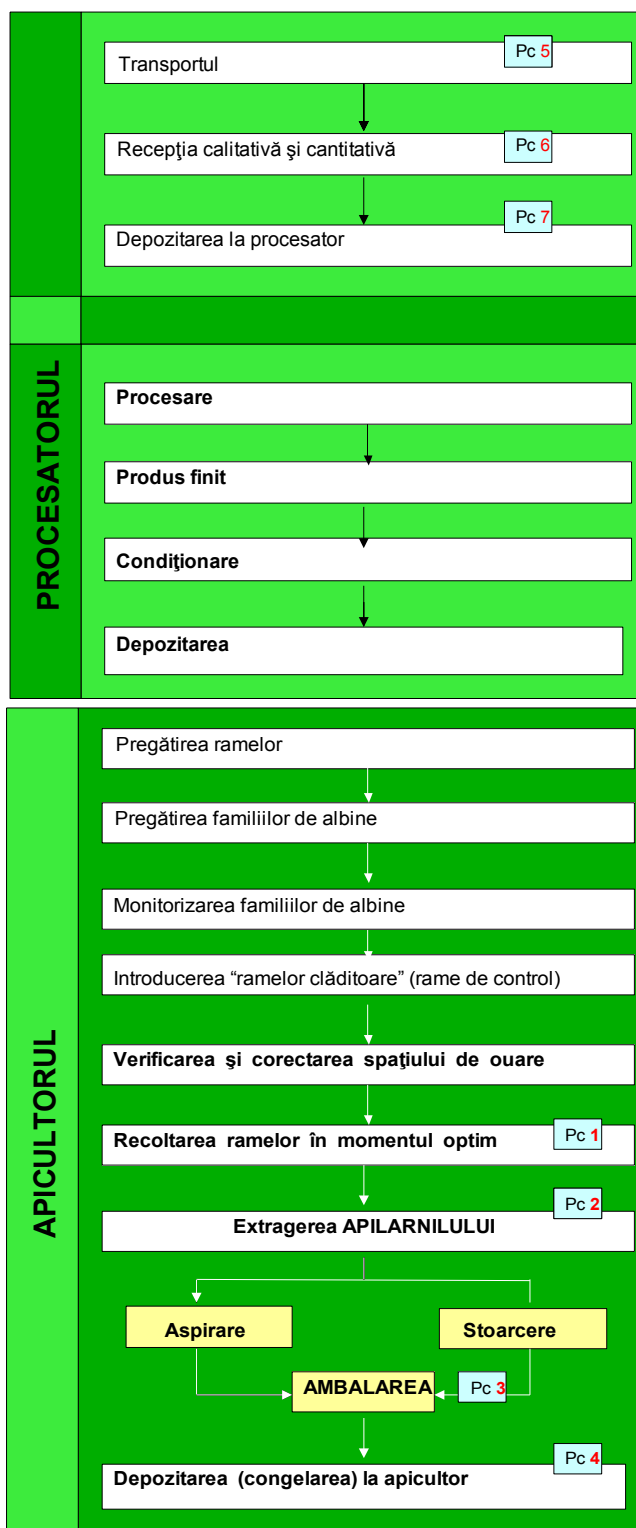


Figura nr. 11 - Trasabilitatea produsului Apilarnil de la stup până la depozitul de materie primă

Materiale și metode Calitatea apilarnilului s-a verificat prin determinarea: [1] acidității – pH (5,9-6,9), [2] umidității – apă (65-75 %), [3] densității relative (1,1-1,2), [4] a substanței uscate – reziduu (25-35 %), [5] cenușei (max. 2 %), [6] a zaharurilor reducătoare (max.10 g%), [7] a proteinelor totale (9-12 g %), [8] respectiv a lipidelor totale (5-8 g %).

Rezultate și discuții. În procesul de obținere a apilarnilului autorii au apreciat că există în total 7 Puncte de control, dintre care 4 Puncte de control la nivelul operațiilor executate de apicultor și alte 3 Puncte de control până apilarnilul, ca materie primă, intră la procesare.

Tabel nr. 13 - Rezultate analiză fizico-chimică Apilarnil (mostre - M vs. produs depozitat - P)

M	Proba	pH	Apa %	Densitate relativă	Reziduu %	Cenușa %
M	Apilarnil 1	6.40	72.2	1.056	27.60	0.83
P	Bihor	6.30	72.0	1.060	28.00	0.85
M	Apilarnil 2	5.98	68.4	1.080	36.60	0.83
P	Bihor	6.00	68.0	1.078	36.00	0.86
M	Apilarnil 3	6.40	78.1	1.055	21.96	0.82
P	Bihor	6.30	78.5	1.060	21.50	0.80
M	Apilarnil 4	5.30	73.00	1.025	27.00	0.50
P	Giurgiu	5.10	72.50	1.031	27.50	0.52
M	Apilarnil 5	6.30	70.9	1.084	29.10	0.80
P	Vaslui	6.28	65.8	1.081	34.20	0.90
M	Apilarnil 6	6.20	59.1	1.140	40.90	0.71
	Neamț	6.10	57.2	1.170	42.80	0.72

Astfel, de la o primă analiză, furnizorul produsului *Apilarnil 4* (Giurgiu) a fost eliminat datorită acidității prea mari a produsului (pH 5.3), iar produsul *Apilarnil 3* (Bihor) datorită umidității prea mari (78.1 %, raportat la limita de max. 75% apă indicată de literatura de specialitate). e asemenea, datorită conținutului mare de apă, nu s-au putut determina cantitativ lipidele totale nici în probele: *Apilarnil 2* (Bihor) și *Apilarnil 6* (Neamț). Furnizorii celor 2 produsele au fost eliminați și datorită cantității mari de reziduu determinate (36.6 % la *Apilarnil 2* și 40.9 % la *Apilarnil 6*, raportat la limita de max. 35% indicată de literatura de specialitate). Au fost selectate în final produsele *Apilarnil 1* (Bihor) și *Apilarnil 5* (Vaslui), la care rezultatele analizelor fizico-chimice s-au încadrat în limitele admise. Produsul *Apilarnil 5* s-a remarcat datorită unei densități relative puțin mai mari (1.084 față de 1.056) și a unui conținut mai mare de zaharuri reducătoare și lipide totale (2.5%, respectiv 4.9% față de 1.7%, respectiv 1.96%), iar produsul *Apilarnil 1*, din punct de vedere al conținutului în proteină totală.

Activitatea antioxidantă a produselor apicole

Tabel nr. 14 Activitatea antioxidantă a produselor apicole determinată prin tehnica DPPH și FRAP

Nr.cr	Produs apicol	DPPH (mmol TROLOX/g)	FRAP (mmol TROLOX/g)
1.	Miere salcâm	0.10	0.25
2.	Miere mană	0.32	0.96
3.	Polen 2013	1.37	2.47
4.	Polen 2014	1.59	3.17
5.	Păstură	8.64	11.42
6.	Lăptișor de matcă	0.32	2.27
7.	Apilarnil	0.68	16.41
8.	PRODUS API	6.34	10.03

După cum se poate observa din tabelul de mai sus și potențianul antioxidant total (FRAP) și activitatea de captare a radicalilor liberi (DPPH) la produsele apicole este destul de ridicată (comparative cu alte matrici naturale), iar combinarea acestora în diferite formulări conduce la produse extrem de valoroase pentru utilizarea în tratamentul sau chiar prevenția diferitelor afecțiuni. Pentru principalele materii prime apicole au fost subcontractate analize specifice către laboratoarele de Analize Fizico-Chimice și Microbiologie ale INCD IBA București (Institutul de Biresurse Alimentare). Buletinele de analiză prezintă caracteristicile materiei prime (umiditate, aciditate, substanță uscată, cenușă totală) conform STAS-urilor în vigoare, dar și informații referitoare la proprietățile organoleptice ale materiilor prime apicole: aspect, consistență, culoare, gust și miros, conform monografiilor din Farmacopeea Română, ediția în vigoare (FR X). A se vedea **Anexa nr. 1** Buletine de analiză ale principalelor materii prime apicole, **Anexa nr. 2** Analize HPLC pentru Cocktail apicol, **Anexa nr. 3** Analize fizico-chimice și microbiologice pentru Cocktail apicol

Capitolul 4

Cocktail-urile apicole

Tendința modernă este de a utiliza atât în profilaxie cât și ca adjuvante de tratament produsele naturale, în scopul de a mări arsenalul terapeutic și de a oferi organismului produse familiare, ușor asimilabile. În acest segment se regăsesc și produsele apicole: miere, polenul, propolisul, apilarnilul și lăptișorul de matcă, ce fac componența produsului **COCKTAIL APICOL**.

Amestecul de produse apicole – **COCKTAIL APICOL** se obține prin amestecul diferitelor produse apicole: miere, polen, propolis, laptisor de matca, apilarnil, păstură, în diferite cantități selectiv. A fost stabilit un regim de dozare pentru amestecul de produse apicole, au fost studiate diferite regimuri de dozare, cu observația că nu au fost remarcate alte reacții adverse cu excepția eventualelor alergii

În portofoliul Api Life Ro sunt listate 4 cocktail-uri apicole, anume:

- Cocktail Apicol de Imunitate pentru Femei
- Cocktail Apicol de Imunitate pentru Bărbați
- Cocktail Apicol de Imunitate pentru Copii
- Apicoctail Apilife



Capitolul 5

Alimente funcționale cu produsele stupului

În general, produsele stupului au constituit pentru om, din cele mai vechi timpuri, nu numai o sursă de *alimentație* ci și *remedii* deosebite împotriva diferitelor boli. Din antichitate, mierea de albine ca principal produs apicol era recomandată ca „o *substanță alimentară de prim ordin*” și era admisă în alimentație ca având proprietăți speciale, favorabile sănătății și prelungirii vieții.

Mierea de albine este un aliment care îmbină cel mai bine *calitățile nutritive* cu *însușirile terapeutice*. Se pune întrebarea: “*S-ar putea include mierea de albine în familia alimentelor funcționale?*” Răspunsul ar fi: “*Cu siguranță, pe baza rezultatelor de laborator și a medicinei integrative, bazată pe dovezi.*”. Argument suplimentar: “*În alte țări, ca și în țara noastră, mierea și celelalte produse ale stupului au intrat de mult în arsenalul medicinei tradiționale*”.

ARONI APILIFE - puternic antioxidant, întărește sistemul imunitar, împiedică procesul de îmbătrânire precoce. **Conține:** miere de albine cu fructe de Aronia (*Aronia melanocarpa*) deshidratate (**fig. 19**). Mierea de albine în combinație cu fructele de *Aronia melanocarpa* conferă produsului **ARONI APILIFE** caracteristicile de “*aliment cu utilizare specifică menținerii sănătății*” care:

- ajută la întărirea sistemului imunitar;
- are efect binefăcător asupra circulației sângelui, a funcționării inimii și pentru normalizarea tensiunii arteriale;
- reduce stresul oxidativ și favorizează încetinirea procesului de îmbătrânire precoce;
- este indicat femeilor însărcinate pentru conținutul bogat în acid folic;
- este benefic în diabetul de tip-2 datorită prezenței inulinei, poate scădea nivelul glucozei din sânge;
- contribuie la detoxifierea organismului;
- este un excelent tonic general



CĂTIN APILIFE - revigorează și tonifică organismul. **Conține:** miere de albine cu fructe de cătină (*Hippophaë rhamnoides*) deshidratate. (**fig. 20**). Mierea de albine în combinație cu fructele de cătină (*Hippophaë rhamnoides*) conferă produsului **CĂTIN APILIFE** caracteristicile unui “*aliment cu utilizare specifică menținerii sănătății*” care:

- contribuie la completarea deficiențelor nutriționale;
- este tonifiant general, vitaminizant, antianemic, protector coronarian, antiaterosclerotic;
- favorizează dezvoltarea normală și armonioasă a copiilor;
- ajută organismul în situații de stres, suprasolicitare nervoasă, de efort intelectual și fizic susținut, stări de oboseală.

CAIS APILIFE - asigură protecție cardiovasculară, fortifică sistemul osos, previne îmbătrânirea și diminuarea acuității vizuale, bun laxativ. **Conține:** miere de albine și caise (*Armeniaca vulgaris*) deshidratate. (fig. 21).

Mierea de albine în combinație cu caisele (*Armeniaca vulgaris*) conferă produsului **CAIS APILIFE** - caracteristicile unui "aliment cu utilizare specifică menținerii sănătății" care:

- normalizează tranzitul intestinal;
- susține sănătatea cardiovasculară;
- împiedică apariția cataractei;
- previne instalarea osteoporozei;
- are acțiuni tonică, înlătură astenia fizică și psihică.

Prepararea produsului **CAIS APILIFE** ca aliment funcțional, s-a bazat pe observațiile unor studii care arătau că: „deși uscate, fructele de cais își păstrează conținutul în minerale și vitamine și, iarna dobândesc valoare de medicament”.



COACĂZ APILIFE - reface organismul după efort fizic și intelectual susținut, stimulează funcția cortico-suprarenală. **Conține:** miere de albine cu fructe de coacăz negru (*Ribes nigrum*) deshidratate. (fig. 22)

Mierea de albine în combinație cu fructele de coacăz negru (*Ribes nigrum*) conferă produsului **COACĂZ APILIFE** - caracteristicile unui "aliment cu utilizare specifică menținerii sănătății" care:

- ajută în curele de detoxifiere prin eliminarea din organism a toxinelor, a acidului uric;
- efect tonic general în stări de astenie, oboseală, pentru revigorare după eforturi fizice și intelectuale intense;
- stimulează hematopoieza;
- este un produs natural cu acțiune similară hormonilor corticosteroizi (*cortizon-like*) prin stimularea funcției cortico-suprarenale și eliberarea unor substanțe cu marcată acțiune antiinflamatorie și antialergică;
- menține funcționarea normală a ficatului, a pancreasului, a splinei și a rinichilor; îmbunătățește acuitatea vizuală.

CORNELIA (DOȘTEȚAN) ABĂLARU

GOJI APILIFE - conferă energie și vitalitate, protejează organismul de stresul oxidativ, stimulează imunitatea, crește longevitatea. **Conține:** miere de albine și fructe Goji (*Lycium barbarum*) deshidratate. (fig. 23)

Mierea de albine în combinație cu fructele de Goji (*Lycium barbarum*) conferă produsului **GOJI APILIFE** - caracteristicile unui “aliment cu utilizare specifică menținerii sănătății” care:

- ameliorează tulburările de vedere, previne diminuarea acuității vizuale, protejează retina;
- este o sursă importantă de antioxidanți care încetinesc procesul de îmbătrânire;
- crește capacitatea de apărare naturală a organismului;
- reglează nivelul colesterolului și a ;
- are efect benefic în stările anemice prin conținutul ridicat de fier, alte minerale și vitamine;
- protejează sănătatea oaselor și ligamentelor, în special prin conținutul ridicat de calciu;
- este hepatoprotector și are proprietăți anti-îmbătrânire;
- ajută la echilibrarea balanței hormonale, îmbunătățește funcția sexuală;
- influență favorabilă în stări de anxietate, stres, oboseală și pentru îmbunătățirea memoriei;
- conferă energie și vitalitate, asigură o stare de bună dispoziție.



PRUNAPI LIFE - proprietăți nutritive, excelent stimulent digestiv, reglator al tranzitului intestinal, fortifiant natural. **Conține:** miere de albine și prune (*Prunus domestica*) deshidratate. (fig. 24)

Mierea de albine în combinație cu prunele (*Prunus domestica*) conferă produsului **PRUNAPI LIFE** - caracteristicile unui “aliment cu utilizare specifică menținerii sănătății” care:

- este un puternic laxativ și un excelent stimulent digestiv care reglează tranzitul intestinal și normalizează flora intestinală;
- contribuie la reglarea activității pancreasului și a greutății corporale;
- favorizează detoxifierea și curățarea colonului;
- ameliorează congestia hepatică;
- are proprietăți nutritive, este fortifiant natural și combate stările de oboseală.

CORNELIA (DOȘTEȚAN) ABĂLARU

ZMEUR APILIFE - îmbunătățește digestia, corector al tulburărilor endocrine feminine, menține silueta. **Conține:** miere de albine și fructe de zmeur (*Rubus idaeus*) deshidratate (**fig. 25**). Mierea de albine în combinație cu fructele de zmeur (*Rubus idaeus*) conferă produsului **ZMEUR APILIFE** - caracteristicile unui "aliment cu utilizare specifică menținerii sănătății" care:

- susține funcționarea normală a tractului gastro-intestinal și ameliorează simptomele neplăcute ale constipației;
- este mijloc de întreținere al sistemului cardio-vascular, previne hipertensiunea arterială, ateroscleroza;
- asigură reducerea poftei de mâncare, fiind util în prevenirea obezității;
- are influență pozitivă asupra organismului sensibil la răceli repetate, scade febra;
- ameliorează unele tulburări endocrine feminine, ciclul menstrual neregulat;
- are proprietăți hrănitoare, vitaminizante și tonifiante.



MENT APILIFE - puternic izvor de vitalitate, stimulează digestia, combate diareea, stările de greață și vomă. **Conține:** miere și frunze proaspete de mentă (*Mentha piperita*) mărunțite (**fig. 26**). Mierea în combinație cu frunzele de mentă mărunțite (*Mentha piperita*) conferă produsului **MENT APILIFE** - caracteristicile unui "aliment cu utilizare specifică menținerii sănătății" care:

- combate balonarea abdominală, favorizează eliminarea gazelor din stomac și intestine;
- împiedică procesele fermentative intestinale;
- calmează stările de vomă și senzația de greață;
- combate boala diareică și normalizează tranzitul intestinal.

Rezultate și discuții

Tabel nr. 15 Conținutul în principii active și contaminare microbiană pentru probele de miere cu pulberi de material vegetal (fructe și plante medicinale)

	Nr. total microorg. aerobe (TA) UFC/g	Nr. total com. de levuri și fungi filamentoși (TYMC) UFC/g	Entero bac. UFC/g	Microorganismele specifice			Conținut în pectine [%]	Conținut antociani, exprimat în clorura de cianin [mg/100g]	Conținut caroteni, exprimat în beta-caroten, [mg/100g]
				Staphylococcus aureus	Escherichia coli	Salmonella spp.			
Limita de admisibilitate	10⁴	10²	10²	absent	absent	absent			
Miere cu Aronia	7,5 x 10 ¹	2,0 x 10 ¹ (Asp. flavus)	absent	absent	absent	absent	3,35	8,1	-
Mieren cu caise	5,0 x 10 ¹	0,5 x 10 ¹	absent	absent	absent	absent	-	-	-
Miere cu Cătină	< 10	< 10	absent	absent	absent	absent	3,32	-	3,94

Miere cu Coacăz	< 10	< 10	absent	absent	absent	absent	3,92	17,6	-
Miere cu Goji	$7,0 \times 10^1$	$0,5 \times 10^1$ (Asp.niger)	absent	absent	absent	absent	2,91	-	0,65
Miere cu Prune	< 10	$3,0 \times 10^1$	absent	absent	absent	absent	6,66	Se identifica; nu s-a doza	0,008
Miere cu Zmeur	$1,1 \times 10^1$	$0,5 \times 10^1$	absent	absent	absent	absent	6,91	2,2	-
Miere cu Mentă	$2,5 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	absent	absent	absent	absent	1,35	5,1	-

Toate probele sunt corespunzătoare. S-au încadrat în limita de admisibilitate prevăzută de Farmacopeea Europeană (FE) în vigoare. Probele de miere cu fructe de Goji și Aronia se încadrează în limita de admisibilitate, dar sunt contaminate cu *Aspergillus niger (brasiliensis)*. Probele nu sunt contaminate cu microorganisme specific patogene

Capitolul 6

Preparate cu venin de albine

Veninul de albine, materie prima supusa analizelor:

Caracterizarea principalelor fracții proteice din veninul de albine românesc s-a realizat cu ajutorul cromatografiei lichide de înalta performanță și a spectometriei de masă. Această abordare a fost aleasă pentru a obține informații valoroase (calitative și cantitative) privind posibilele diferențe existente în compoziția probelor de venin de albine cu origine și an de colectare diferite

Aspectele importante urmărite prin caracterizarea proteică a veninului au fost:

- amprentarea
- confirmarea calității
- autenticitatea
- proveniența.

Materiale și metode

Probele de venin au avut ca țări de proveniență România și Ucraina, iar ca recoltare anul 2013. Păstrarea probelor până la momentul analizei s-a realizat la întuneric, la o temperatură de 5°C, iar datele de identificare a probelor au fost, pentru: **V**₁ –Gorj, România / **V**₂ –Bihor, România / **V**₃ –Sibiu, România / **V**₄ –Neamț, România / **V**₅ – Ucraina / **V**₇ – Ucraina.

Analiza probelor de venin prin cromatografie de lichide de înalta performanță, HPLC s-a realizat în laboratoarele Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Criogenice și Izotopice – ICSI Rm. Vâlcea.

S-a urmărit cuantificarea componentelor veninului (*melitina*, *apamina*, *fosfolipaza A₂*) prin metoda standardului extern folosind etaloane de referință de puritate analitică, Sigma-Aldrich. Probele de venin și etaloanele au fost preparate în apa acidulată cu TFA.

Condițiile cromatografice au fost îndeplinite prin utilizarea:

- HPLC Thermo Finnigan Surveyor echipat cu detector șir de diode (PDA)
- Separarea – coloana Aquasil C18 (250 x 4.6 mm, 5 μm)
- Detector PDA setat la lungimea de undă 220 nm
- Eluția în gradient a două faze mobile (apa și acetoneitrile, acidulate cu TFA - acid trifluoroactic)



Figura nr. 27 Cromatograf de lichide de înaltă performanță, HPLC Surveyor Plus

Analiza probelor de venin prin spectrometrie de masă MALDI-TOF avut ca scop determinarea profilului/amprentelor proteice prin spectrometrie de masă. Echipamentul de lucru a fost un spectrometru de masa Bruker Microflex LT de la Bruker Daltonics Inc. (Billerica, MA, USA), cu program suport de control Compass 1.3 for FLEX v3.3. După achiziția spectrelor de masa a urmat analiza statistică a acestora. Spectrele achiziționate au fost intercomparate cu spectrele din baza de date “Apitoxin Taxonomy” (Ionete et.al, 2013).

Rezultate și discuții

Metoda HPLC de determinare a conținutului proteic al probelor de venin a fost aplicată pe probe reale iar rezultatele cantitative și procentuale sunt redată în Tabel nr. 14

Tabel nr. 16 Compoziția cantitativă și procentuală a principiilor active din probele de venin

Compus	Proba (mg/g)					
	V1	V2	V3	V4	V5	V7
Apamina	66.24	61.56	55.01	60.06	54.61	52.92
Fosfolipaza A2	361.86	345.40	328.03	347.34	311.49	304.43
Melitina	830.78	762.55	746.45	809.07	790.81	760.07

Compus	Proba (%)					
	V1	V2	V3	V4	V5	V7
Apamina	4.5	4.7	4.1	4.5	4.0	4.1
Fosfolipaza A	21.7	23.4	21.8	23.1	20.1	20.6
Melitina	60.5	62.5	60.4	65.4	62.2	62.9

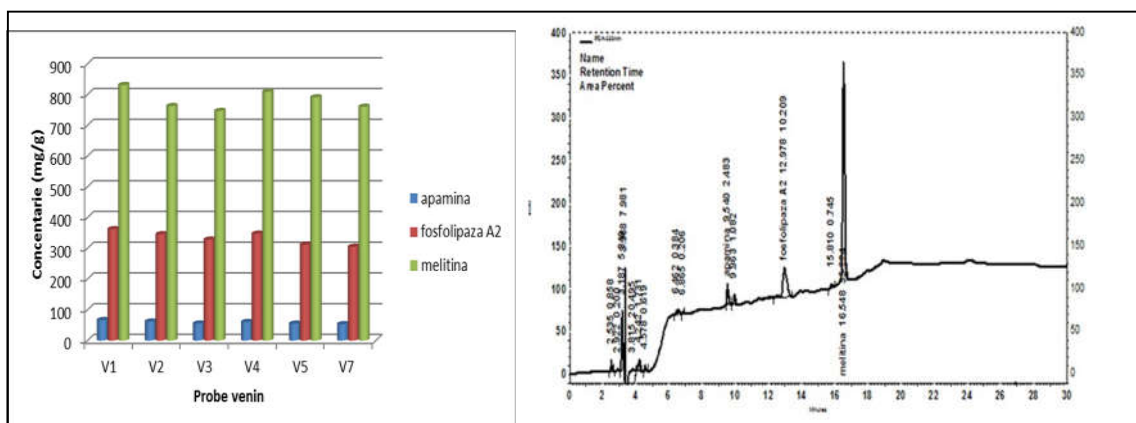


Figura nr. 28 Compoziția probelor de venin și cromatograma HPLC

Probele prezintă un conținut de apamină, fosfolipaza A₂ și melitină asemănător; se observă o separare evidentă a componentelor apitoxinei (*melitina*, *apamina*, *fosfolipaza A₂*) față de veninul integral (indiferent că este purificat sau în forma lui naturală, fără purificare – după cum este recoltat de către apicultori) și față de miere.

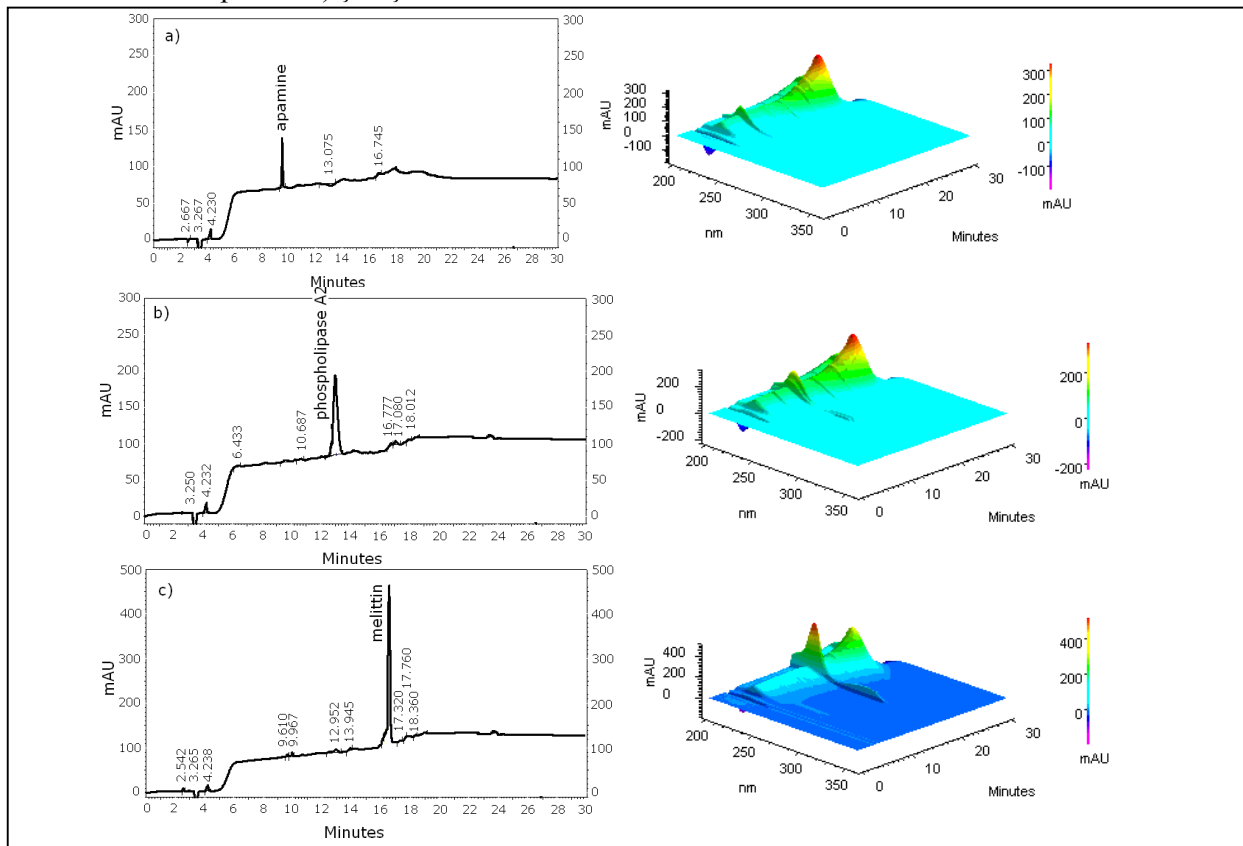


Figura nr. 29 Cromatogramele pentru a) apamină, b) fosfolipaza A₂ c) melitină

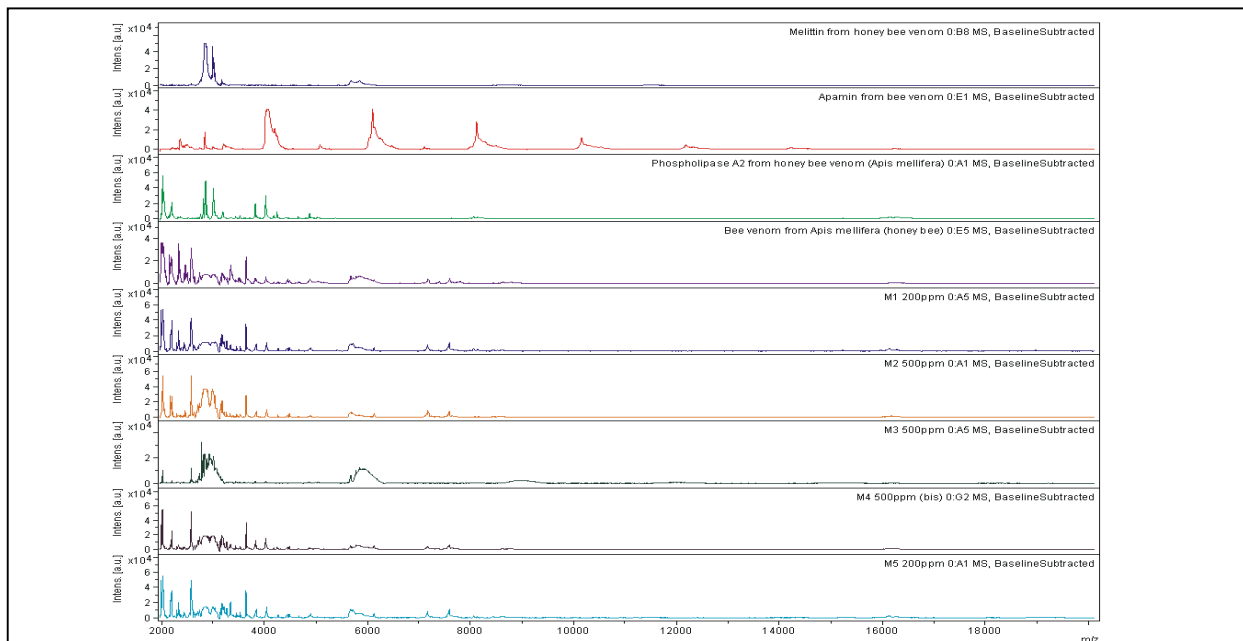


Figura nr. 30 Selecția celor mai reprezentative spectre din multitudinea de măsurători efectuate pentru fiecare probă analitică de standard și apitoxină

De asemenea, se observă o separare evidentă a venului purificat (*pudra liofilizată*) față de probele proaspete de venin de albine. Analiza probelor de venin prin spectrometrie de masă MALD a condus la obținerea de 0.6 mg/g pentru apamină, 11.4 mg/g pentru fosfolipază și 9.3 mg/g pentru melitină. În ceea ce privește dispersia probelor de venin de la apicultori se observă gruparea acestora în aceeași regiune a diagramei, fără a avea o

Rezultate practice

Prezentăm în continuare produsele cosmetice **API LIFE**

6.1. Gel revigorant cu venin de albine, ardei iute, mentă și pin



Ingredienți (INCI): *Aqua, Glycerin, Capsicum frutescens extract, Carbomer, Triethanolamine, Mentha piperita oil, Pinus sylvestris oil, Benzyl alcohol and methylchloroisothiazolinone and methylisothiazolinone, Bee venom*

Prezentare: Produs special, cu venin de albine, creat pentru îngrijirea și întreținerea pielii, predispusă procesului de îmbătrânire biologică și prematură a organismului. Rezultatele aplicării locale au condus la stimularea producției de collagen și elastină, ajutând la regenerarea pielii, reducând liniile fine și ridurile, la creșterea permeabilității vaselor capilare și a circulației sanguine, la diminuarea durerilor musculare, sciatică și la reducerea neuromialgiilor, durerilor reumatice și articulare. Produsul este realizat pe bază de compuși bioactivi naturali: flavone, acizi policarboxilici, vitamine, fitohormoni, enzime, proteine, aminoacizi, microelemente, etc din veninul de albine, extractele de ardei iute, uleiurile esențiale de mentă și pin cu proprietăți hidratante, antiinflamatorii, calmante, regenerante și emoliente, într-o bază de gel care formează un film foarte fin pe suprafața pielii împiedicând astfel pierderea de apă transepidermală. Efectele regenerante, de întinerire a pielii, analgezice, antiinflamatoare și calmante pentru țesuturile cutanate și articulațiile inflamate conferă pielii suplețe, fermitate și protecție la acțiunea agresivă a factorilor nocivi din mediu.

Acțiune. Datorită conținutului bogat de compuși chimici naturali din veninul de albine, extractele de ardei iute și din uleiurile esențiale de pin și mentă, produsul favorizează relaxarea musculaturii și articulațiilor, are efect antiinflamator, stimulează circulația sângelui, este benefic în durerile musculare reumatice sau datorate altor cauze, nevralgii, contuzii, entorse, fracturi. de menținere a elasticității și aspectului sănătos al pielii.

Mod de ambalare. Produsul este ambalat în borcane din material plastic cu capac, de capacitate 30 ml, 50 ml și etichetat cu denumirea produsului, ingredientii, acțiune, producător, însemne grafice, termen de valabilitate, etc. Ambalajele au un design modern și elegant, asigurând în același timp integritatea produsului pe toată perioada de minimă durabilitate.

Mod de utilizare: Aplicații locale ușoare de 1-3 ori pe zi, pe zona afectată, în strat subțire. Se absoarbe rapid și complet, lasă o senzație de prospețime, contribuind la atenuarea durerii.

CORNELIA (DOȘTEȚAN) ABĂLARU

Atenționări: A nu se lăsa la îndemâna și la vederea copiilor mici. Contraindicat persoanelor cu micoze (ciuperci) și iritații. A se evita veninul de albine de către persoanele asmatiche, cele alergice la înțepăturile de albine sau polen și de către gravide. Înainte de prima folosire, se aplică produsul pe o suprafață mică de piele (1-2cm²), se așteaptă 48 ore și dacă nu apare nici un efect advers se poate utiliza produsul conform instrucțiunilor.

Mod de păstrare: Aceste produse sunt destinate numai pentru uz extern și se păstrează la loc răcoros, ferit de lumină și căldură.

Acest produs este forma finală, îmbunătățită și notificată în Uniunea Europeană a gelului brevetat la OSIM cu cererea nr a 2012 00285 cu data de deposit 25.04.2012 și publicat în BOPI 12/2013, vezi Anexa nr.7.

6.2. Gel de față nutritiv și regenerant cu venin de albine și lăptișor de matcă



Ingredienți (INCI): Aqua, Glycerin, Carbomer, Royal jelly, Tiethanolamine, Parfum, Benzyl alcohol and methylchloroisothiazolinone and methylisothiazolinone, **Bee venom**

Prezentare. Produs special creat pentru îngrijirea pielii sensibile, predispusă procesului de formare a ridurilor. Din acest motiv, aceasta trebuie îngrijită în mod corect și eficient. Produsul este realizat pe bază de de substanțe apicole, venin de albine și lăptișor de matcă, bogate în vitamine, fitohormoni, complex de enzime, proteine, aminoacizi liberi, microelemente, etc cu proprietăți nutritive, hidratante și emoliente, într-o bază de gel care formează un film foarte fin pe suprafața pielii, împiedicând astfel pierderea de apă transepidermală, asigurând transportul nutrienților în straturile profunde ale epidermei, ceea ce conferă pielii suplețe, fermitate și protecție față de acțiunea agresivă a factorilor nocivi din mediul înconjurător.

Acțiune. Activează regenerarea celulară, hrănește și tonifică pielea, activează circulația sanguină la nivel periferic, menține echilibrul lipo-hidric și pH-ul pielii în limite normale, previne îmbătrânirea prematură și întârzie îmbătrânirea naturală a pielii, restabilește fermitatea și tonusul pielii. Efectul este de tonifiere, catifelare, relaxare și mărire a supleții și fermității pielii. Nu prezintă reacții nedorite asupra pielii.

Mod de ambalare. Produsul este ambalat în borcane din material plastic prevăzute cu capac operculat, de capacitate 15 ml, 30 ml, 50 ml, inscripționate corespunzător (denumirea produsului, denumirea producător, adresa, telefon, fax, conținut nominal (ml), semn de reciclare ambalaj, ingrediente, cod de bare individual, număr lot, mențiunea "A se folosi preferabil înainte de...", semne convenționale. Ambalajele au un design deosebir, modern, asigurând în același timp integritatea produsului pe toată perioada de valabilitate.

Mod de utilizare: Produsul este pentru uz extern, se aplică în strat subțire, dimineața și seara, prin masaj ușor cu vârful degetelor.

Mod de păstrare: Depozitarea produsului se face la temperaturi cuprinse între 10- 25⁰C, în ambalajul original, în spații curate, uscate, ferit de căldură, frig și umiditate.

6.3. Soluție de venin de albine – spray



Ingredienți (INCI): *Aqua, Capsicum frutescens extract, Mentha piperita oil, Pinus sylvestris oil, Benzyl alcohol and methylchloroisothiazolinone and methylisothiazolinone, Bee venom*

Prezentare. Produs special, cu venin de albine, creat pentru diminuarea durerilor musculare, sciatică și de reducere a neuromialgiilor, a durerilor reumatice și articulare. Produsul este realizat pe bază de compuși bioactivi naturali: flavone, acizi policarboxilici, vitamine, fitohormoni, enzime, proteine, aminoacizi, microelemente, etc din veninul de albine, extractele de ardei iute, uleiuri esențiale de menta și pin, cu proprietăți hidratante, antiinflamatorii, calmante, regenerante și emoliente, în apă, asigurând transportul fitocompușilor în straturile profunde ale epidermei.

Acțiune. Datorită conținutului bogat de compuși chimici naturali din veninul de albine, extractele de ardei iute, din uleiurile esențiale de pin și mentă, produsul favorizează relaxarea musculaturii și articulațiilor, are efect antiinflamator, stimulează circulația sângelui, este benefic în durerile musculare reumatice sau datorate altor cauze, nevralgii, contuzii, entorse, fracturi, menține elasticitatea și aspectul sănătos al pielii.

Mod de ambalare: Produsul este ambalat în recipiente din material plastic cu capacitate de 50 ml, cu pulverizator și este etichetat cu denumirea produsului, ingredientii, acțiune, producător, însemne grafice, termen de valabilitate, etc. Ambalajele sunt simple de utilizat și asigură integritatea produsului pe toată perioada de minimă durabilitate.

Mod de utilizare: Aplicații locale ușoare, de 1-3 ori pe zi, pe zona afectată, în strat subțire. Se absoarbe rapid și complet, lasă o senzație de prospețime, contribuind la atenuarea durerii.

Mod de păstrare: Depozitarea produsului se face la temperaturi cuprinse între 10-25°C, în ambalajul original, în spații curate, la loc răcoros, ferit de lumină și căldură.

Pentru toate cele trei produse cosmetice cu venin de albine a fost realizat un studiu asupra iritabilității pielii, la **Laboratorul autorizat DermoTest Păuna SRL**, Anexa 8.

Pentru toate cele trei produse cu venin de albine: **“Gel revigorant cu venin de albine, ardei iute, mentă și pin”, „Gel de față nutritiv și regenerant cu venin de albine și lăptișor de matcă” și „Soluție de venin de albine - spray”,** s-au realizat studii clinice de testare a toleranței cutanată din punct de vedere al reacțiilor iritative și alergice pe un lot de 20 de persoane, voluntari sănătoși, nealergici, femei și bărbați, raport final ce se găsește în Anexa nr.9.

Capitolul 7

Concluzii și perspective

7.1. Concluzii generale

Scopul teoretic al tezei a fost evaluarea valorii calitative (nutriționale și terapeutice) a produselor stupului iar în final, valorificarea practică a acestora sub formă de preparate:

- *cocktail-uri apicole,*
- *alimente funcționale*
- *produse cosmetice .*

Din punct de vedere al **siguranței alimentare** s-a demonstrat că produsele apicole, pentru a putea fi utilizate în apiterapie, trebuie să respecte strict condițiile de recoltare, condiționare și depozitare. Prin natura lor chimică (constituenții principali fiind glucide, proteine, vitamine, enzime) sunt mediu favorabil pentru dezvoltarea microorganismelor, deci prezintă risc de încărcare microbiană.

Pentru a respecta regulile GMP (*Good manufacturing Practice = Bune Practici de Fabricație*) în vigoare și cerințele pentru siguranța și securitatea alimentelor se impune a se asigura **trasabilitatea produsului apicol** de la stup până în depozitul de materie primă, ulterior până la condiționarea sa ca produs finit (ca atare sau în diferite formule complexe), prin implementarea unui **Sistem Integrat de Management** (*al Calității, Mediului, Siguranței și Securității alimentare*) în fermele apicole, în unitățile de producție și de procesare a produselor apicole, care să permită sesizarea și corectarea factorilor de risc prin analizarea Punctelor critice de control (Pcc).

Studiul cu tema „**Studii și cercetări cu privire la produsele apicole. Valorificare sub formă de cocktail-urile apicole, alimente funcționale și produse cosmetice pe bază de venin de albine**”, a avut ca scop documentarea, experimentarea și evaluarea unor variante tehnologice de obținere a unor produse alimentare și cosmetice complexe pe bază de produse ale stupului, în vederea optimizării:

- *compoziției chimice (prin asociere)*
- *modului de conservare*
- *efectului asupra stării de sănătate.*

A fost luată în considerare importanța compușilor chimici din produsele apicole pentru menținerea și îmbunătățirea stării de sănătate, precum și proprietățile curative ale fructelor și plantelor medicinale (reinvestigate și valorificate cu ajutorul tehnologiilor moderne), urmărindu-se obținerea unor produse de tip “api-fito” eficiente terapeutic la nivelul organismului uman.

Considerăm că obiectivele studiului au fost atinse, fiind parcurse toate etapele stabilite prin protocolul de lucru (documentare, cercetare, fabricare și testare). Astfel,

- 1) în prima etapă au fost studiate cele mai importante produse ale stupului din punct de vedere al compoziției chimice calitative, ulterior efectuându-se analiza cantitativă a compușilor cu acțiune benefică asupra organismului.
- 2) obiectivul etapei a doua a fost obținerea unor produse api-fitoterapeutice de tipul „cocktail apicol”; au fost determinate diverse variante tehnologice de preparare și s-au identificat forme de conservare și dozare optime.
- 3) a treia etapă a presupus studierea posibilității de obținere a unor alimente funcționale. Astfel a fost obținută gama de *alimente funcționale* “**APILIFE**” pe bază de produse apicole care, în asociere cu fructe și plante medicinale, asigură menținerea și îmbunătățirea stării de sănătate.
- 4) ultima etapă, a patra, s-a finalizat cu formularea și testarea unei game de produse cosmetice pe bază de venin de albine, simplu sau în asociere cu plante medicinale.

7.2. Recomandări

Ca apicultor, autoarea prezentei teze de doctorat a studiat timp de 10 ani (2004 – 2014) metodele de recoltare a veninului de albine, observând că stimularea agresivității albinelor determină creșterea cantității de venin recoltate. În baza experienței acumulate Drd. Ing. Cornelia Abălaru (Doștețan) este îndreptățită să facă următoarele observații:

- agresivitatea albinelor poate fi stimulată fără a prejudicia fiziologia albinei și activitatea stupului
- creșterea cantității de venin recoltate este direct proporțională cu:
 - *puterea familiei de albine*
 - *existența resurselor suficiente de hrană în natură*
 - *tehnologia de recoltare a veninului de albine folosită.*

recomandând perfecționarea aparatului de monitorizare și a dispozitivelor de recoltare a veninului de albine în sensul optimizării acestora.

7.3. Contribuții proprii și tendințe viitoare de dezvoltare a cercetării

Doctoranda:

- ❖ a pus la dispoziția laboratoarelor de analiză ale ICSI România, USAMV Cluj, ICD Apicultură, INCD Bioresurse alimentare București, SC Hofigal Export Import SA București, etc. mostre variate de produse ale stupului (din locuri diferite din țară și din străinătate, recoltate în ani diferiți), putând fi astfel analizate principalele componente.
- ❖ fiind preocupată de îmbunătățirea tehnologiilor de obținere a produselor apicole, în special de recoltarea veninului de albine și monitorizarea permanentă a parametrilor săi chimici (melitina, apamina și fosfolipaza A₂), a inițiat crearea unei baze de date și implementarea unei metode de lucru (validată de către ICSI România) de analiză a autenticității și calității veninului (etapă esențială în procesul de standardizare a veninului de albine, necesară tuturor apicultorilor și apiterapeuților. deoarece nu există Standard de produs pentru veninul de albine)
- ❖ recoltând veninul de albine din anul 2004 a reușit în cei 10 ani de experimentări și testări să perfecționeze aparatul și metoda de recoltare, ajungând la performanța anului 2014, de a recolta 2-3 g. / zi / 20 familii (comparativ cu primul an, când s-au recoltat numai 6 g. / întregul sezon apicol / 20 de familii).
- ❖ în calitate de reprezentant legal al agentului economic S.C. Apilife Ro SRL Sibiu a obținut înscrierea la OSIM ca Marcă Înregistrată produsul/denumirea „*Cocktail Apicol*”, în vederea asigurării unui mai bun control al pieții de desfacere a amestecurilor de produse apicole cu utilizări terapeutice.
- ❖ prin documentare și testare a reușit optimizarea modului de preparare a amestecurilor apicole de tip *cocktail* și *aliment funcțional*. Prin perfecționarea modului de condiționarea a materiilor prime (apicole / fructe / plante) și metodei de lucru a reușit obținerea unui produsul finit omogen, stabil, care nu mai separă pe faze.

- ❖ a realizat 3 produse cosmetice pe bază de venin de albine care sunt în curs de notificare prin procedura europeană armonizată pe portalul CPNP sub denumirile comerciale de:
 - *Gel revigorant cu venin de albine, ardei iute, mentă și pin*
 - *Gel de față nutritiv și regenerant cu venin de albine și lăptișor de matcă*
 - *Soluție de venin de albine - spray*
 iar testările dermatologice efectuate la un laborator acreditat au încadrat produsele în categoria Creme, emulsii, loțiuni, geluri și uleiuri pentru piele - mâini, față, picioare - cu clasificarea lor la categoria NEIRITANTE.

Activitatea de cercetare din cadrul proiectului a avut ca finalitate practică obținerea a 3 categorii de produse api-fito terapeutice:

- *cocktail-urile apicole*
- *alimente funcționale*
- *produse cosmetice*

Rezultatele obținute se preconizează a fi de interes, atât pe piața națională cât și internațională, în domeniul

- ❖ *produselor alimentare tradiționale,*
- ❖ *suplimentelor alimentare*
- ❖ *produselor cosmetice*

pe bază de produse ale stupului.

Apreciem că prin rezultatele pozitive obținute prin prezentul studiu documentar de cercetare fundamentală cu finalitate practică, din punct de vedere științific există premise încurajatoare ca într-un viitor apropiat să fie depuse la OSIM alte cereri de brevet, referitoare la:

- produse,
- procedee,
- metode
- dispozitive

din domeniul apiculturii, industriei alimentare și api-fito-terapiei, cu valoare la nivel național.

Din considerentele menționate doctoranda, după susținerea în ședință publică a tezei de doctorat și confirmarea acesteia ca fiind conformă cu condițiile actuale legate proprietatea intelectuală, va revizui studiul în sensul menționării în mod mai larg și explicit a numeroase aspecte originale de tip invenție.

Autoarea a decis de asemenea continuarea și aprofundarea studiilor privind obținerea produselor apicole și valorificarea lor în amestecuri complexe optimizate ca aport nutritiv și terapeutic.

Rezultatele obținute vor fi comunicate în cadrul unor manifestări științifice interne și internaționale, vor fi diseminate prin intermediul publicațiilor tiparite și în format electronic, cu scopul de a asigura o continuitate a direcției de cercetare, prin completarea și actualizarea cu multe alte idei novatoare, originale și prioritare, astfel încât publicul larg și avizat să aibă posibilitatea de a aplica direct și într-un mod cât mai pragmatic toate aceste noutăți științifice, teoretice și practice, care contribuie la progresul cunoașterii și la dezvoltarea durabilă bioeconomică și socială.

Bibliografie selectivă

1. BĂRNUȚIU TOMOȘ L., 2013, *Evaluarea proprietăților biologice ale markerilor de calitate din lăptișorul de matcă și apilarnil*, Teză de doctorat, USAMV Cluj-Napoca
2. GIANFRANCO DILETTI, 2006, *Chloramphenicol in royal jelly: analytical aspects and occurrence in Italian imports.*, *Apidologie* 37,6., 673-678
3. ILIESIU V.V., (1991), *Apilarnil o nouă sursă apicolă de substanțe biologice-active, în folosul sănătății omului*, Editura Apimondia 1991
4. KIM JOONYEONG ȘI JONGSEOK LEE, 2010, *Quantitative analysis of trans-10-hidroxy-2-decenoic acid in Royal Jelly products in USA by high performance liquid chromatography*, *Journal of Apicultural Science* 54(1), 77-85.
5. KOKOT Z.J., MATYSIAK J., (2009), *Simultaneous determination of major constituents of honeybee venom by LC-DAD*. *Chromatographia* 69:1401-1405.
6. KOKOT Z.J., MATYSIAK J., KŁOS J., KĘDZIA B., HÓLDERNA-KĘDZIA E., (2009), *Application of principal component analysis for evaluation of chemical and antimicrobial properties of honey bee (Apis mellifera) Venom*. *Journal of Apicultural Research* 48(3) 168-175. DOI: 10.3896/IBRA.1.48.3.04.
7. KOKOT Z.J., MATYSIAK J., URBANIAK B., (2011), *New CZE-DAD method for honeybee venom analysis and standardization of the product*, *Anal. Bioanal.Chem.* 399:2487-2494. DOI: 0.1007/s00216-010-4627-2.
8. LAZĂR ȘT., VORNICU C.O., (2007), *Apicultura*, Editura Alfa, 656 pag.94
9. SABATINI, A.G., MARCAZZAN, L.G., CABONI, M.F., BOGDANOV, S., ALMEIDA-MURADIAN, L.B., 2009, *Quality and Standardisation of Royal Jelly*. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 1(1):1-6.
10. STĂNGACIU S, 1999, *Apiterapy course notes*. Constanța Apiterapy Research Hospital, Bucuresti, p 286
11. YATES J.R., RUSE C.I, NAKORCHEVSKY A., (2009), *Proteomics by mass spectrometry: Approaches, advances, and applications*. *Annual Rev Biomed Eng* 11:49-79.
12. YUCEL, B., ACIKGOZ, Z., BAYRAKTAR, H., SEREMET, C., 2012, *The effects of Apilarnil (Drone bee larvae) administration on growth performance and secondary sex characteristics of male broilers*, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(17), 2263-2266.
13. ZHOU J., ZHAO J., ZHANG S., SHEN J., QI Y., XUE X., LI Y., WU L., ZHANG J., CHEN F., CHEN L., (2010), *Quantification of melittin and apamin in bee venom lyophilized powder from Apis mellifera by liquid chromatography-diode array detector-tandem mass spectrometry*, *Anal Biochem.* 404(2):171-178, doi: 10.1016/j.ab.2010.05.014
14. www.apitherapy.com
15. www.apiservices.com
16. www.aca.org.ro/content/media/pagini/Mierea_pentru_Nutritie_si_Sanatate
17. www.proapicultura.ro
18. www.yforverde.ro/2014/03/cocktail-apicol-remediul-tuturor-afectiunilor
19. www.mierenaturalabio.ro/cosmetice-apicole.asp