



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 01399**

(22) Data de depozit: **15/12/2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/10/2017** BOPI nr. **10/2017**

(41) Data publicării cererii:  
**30/08/2013** BOPI nr. **8/2013**

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:  
• **OANCEA FLORIN, STR.PAȘCANI NR.5,  
BL.D 7, SC.E, ET.2, AP.45, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **VELEA SANDA, STR.ZAMBILELOR NR.6,  
BL.60, ET.2, AP.5, SECTOR 2, BUCUREȘTI,  
B, RO;**

• **FRANGU OCTAVIAN, ȘOS. COLENTINA  
NR. 2, BL. 3, SC. B, ET. 4, AP. 55,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **STEPAN EMIL, BD.TIMIȘOARA NR.49,  
BL.Cc 6, SC.A, ET.3, AP.12, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;**  
• **ȘTÎLPEANU DANIELA LELIEANA,  
BD. IULIU MANIU NR.56, BL.22A, SC.A,  
ET.6, AP.24, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**US 2011/0021622 A1; US 2006/0111254 A1**

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNEI COMPOZIȚII  
PENTRU STIMULAREA POLENIZĂRII CULTURILOR  
AGRICOLE ȘI METODĂ DE APLICARE A ACESTEIA**



# RO 128687 B1

1 Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere, din materii prime naturale și  
2 de puritate tehnică, a unei compoziții care atrage insectele polenizatoare, în special albine  
3 melifere, către florile plantelor cultivate și, în același timp, stimulează colectarea de polen și  
4 activitatea de polenizare a florilor de către albinele melifere atrase, ca și la o metodă de  
5 aplicare a compoziției în culturile agricole.

6 Sunt cunoscute mai multe compoziții cu acțiune de stimulare a polenizării culturilor  
7 agricole. Brevetul **US 4075783** descrie o compoziție care este solubilă și dispersabilă în apă,  
8 care include zer, zahăr și agenți de umectare și de dispersare. Compoziția este aplicată prin  
9 stropire pe zonele agricole, în timpul înmuguritului culturilor agricole, iar în acest fel albinele  
10 sunt atrase și menținute în zonă suficient timp pentru a realiza numărul necesar de vizite  
11 pentru polenizare. Compoziția prezintă dezavantajul unei selectivități reduse, care generează  
12 o semnificativă variabilitate a rezultatelor după tratamentele aplicate culturilor agricole,  
13 inclusiv o lipsă de eficacitate pentru meri și peri (**American Bee Journal, 122:287-289,**  
14 **1982**).

15 O altă încercare de a atrage albinele la flori a fost realizată prin utilizarea compozițiilor  
16 sintetice care mimează acțiunea feromonului glandei Nasonov (**Entomologia**  
17 **Experimentalis et Applicata 30:199-201, 1981**), dar și această abordare s-a dovedit a fi  
18 ineficientă (**HortScience. 29:155-158, 1994**).

19 S-a propus și utilizarea stropirii în masă cu feromon mandibular al reginei albinelor  
20 melifere (QMP), direct pe pomii fructiferi înfloriți. Ideea din spatele acestei utilizări era aceea  
21 că albinele culegătoare se vor întoarce la stup purtând resturi de feromon mandibular de  
22 regină, și prin aceasta vor atrage mai multe albine prin dansul lor de semnalare. Testele de  
23 câmp, care au implicat tratamente cu QMP în livezi din Canada, au arătat o creștere a  
24 producțiilor la limita încrederii statistice și numai în condiții climatic nefavorabile și numai  
25 într-unul din cei doi ani în care au fost întreprinse. (**Journal of Economic Entomology**  
26 **85:1293-1299, 1992, Journal of Economic Entomology 85:1300-1306, 1992**).

27 Se pare că abordările prezentate mai sus nu au avut capacitatea de a atrage albinele  
28 melifere către florile plantelor de cultură, și de a stimula polenizarea, pentru că tratamentele  
29 s-au făcut fără a se lua în considerare secreția de nectar, determinând în final albinele să  
30 devină nereceptive la semnalul odorifer care nu este asociat unei recompense semnificative  
31 în nectar. Un dezavantaj suplimentar rezultă din faptul că tratamentele se aplică peste  
32 întreaga plantă, fapt care generează confuzii pentru albinele melifere, pentru că parfumul  
33 atractant nu este emanat numai de către flori.

34 O soluție potențială a conflictului dintre semnale ale unei resurse bogate în nectar și  
35 recompensa reală scăzută este de aplicare concomitentă a unui atractant pentru albinele  
36 melifere și feromon larvar esteric (BEP), care este alcătuit dintr-un amestec de 10 esteri  
37 metilici și etilici ai acizilor grași, ce reduce pragul de sensibilitate la sucroză la albinele  
38 lucrătoare (**Behavioral Ecology and Sociobiology 49:206-213, 2001**) și stimulează  
39 hrănirea cu polen (**Behavioral Ecology and Sociobiology 44: 193-198, 1998**).

40 Cererea de brevet **US 2011/0021622 A1** revendică folosirea BEP stabilizat (cu  
41 0,005...5% *terț*-butilhidrochinonă) în combinație cu feromon sintetic al glandei mandibulare  
42 a reginei (QMP) la albine, colonii de albine sau unități de polenizare, sau administrarea BEP  
43 stabilizat la albine, colonii de albine sau unități de polenizare, în combinație cu aplicarea  
44 QMP sintetic pe plantele înflorite la care se dorește stimularea polenizării. Stabilizarea BEP  
45 cu un aditiv chimic alimentar, perceput ca fiind nenatural, poate ridica preocupări referitoare  
46 la contaminarea mierii. Cererea de brevet **US 2011/0021622 A1** nu prezintă revendicări  
47 referitoare la folosirea BEP în combinație cu un atractant pentru polenizatori, inclusiv QMP

# RO 128687 B1

sintetic, pentru tratarea plantelor înflorite. Această cerere de brevet nu dezvăluie raportul dintre BEP și QMP în combinația revendicată, și nu prezintă doza la care BEP ar trebui aplicat culturilor agricole pentru a le stimula polenizarea.	1 3
Costurile de producție a feromonului larvar din acizi grași puri sunt ridicate. Brevetul <b>US 7727517</b> dezvăluie faptul că feromonul larvar, formulat prin folosirea produselor de puritate tehnică a căror compoziție variază față de cea a feromonului larvar, continuă să păstreze un efect biologic semnificativ. Autorii brevetului <b>US 7727517</b> au folosit acizi grași de puritate tehnică, pe care i-au amestecat apoi în proporțiile necesare pentru a realiza compoziții apropiate de cele naturale. Deși costurile de producție sunt semnificativ reduse prin folosirea compușilor de puritate tehnică, există posibilități suplimentare de reducere a costurilor de producție.	5 7 9 11
Maltolul și etil-maltolul sunt larg cunoscuți ca fiind stimulanți de aromă ( <b>Food Technology, 43: 78, 1989</b> ), dar nu au fost utilizați până în prezent ca atracțanți pentru polenizatori prin stimularea recepționării parfumului floral. Maltolul și etil-maltolul prezintă o activitate antioxidantă semnificativă, inhibând peroxidarea lipidelor/lanțurilor de acizi grași ( <b>Biomedical Research - Tokyo 22: 183-186, 2001</b> ), dar nu au fost utilizați ca antioxidanți ai lipidelor sau ai altor esteri ai acizilor grași.	13 15 17
Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este de a realiza o compoziție cu acțiune atractantă și stimulantă pentru polenizatori, în special albine melifere, ușor de aplicat ca tratament al culturilor agricole sau al stupilor de albine, care să prezinte o stabilitate ridicată în timp, fără a include aditivi care sunt percepuți ca fiind nenaturali.	19 21
Compoziția conform invenției este alcătuită din: 2,50...2,80 părți de palmitat de metil, 1,63...1,71 părți de palmitat de etil, 16,26...17,00 părți de stearat de metil, 7,50...7,68 părți de stearat de etil, 24,29...24,76 părți oleat de metil, 5,45...5,65 părți linoleat de metil, 3,25...3,40 părți linoleat de metil, 16,74...17,15 părți linolenat de metil, 12,38...12,89 părți linolenat de etil, 0,5 părți etil-maltol, părțile fiind exprimate în unități de masă.	23 25
Procedeul de obținere a compoziției conform invenției este alcătuit din următoarele etape:	27
- producerea de esteri metilici și etilici din ulei de măsline, ulei de in și acid stearic tehnic, prin procedee cunoscute;	29
- combinarea esterilor obținuți în următoarele proporții: esteri metilici din ulei de măsline 64 părți; esteri metilici din acid stearic tehnic 48 părți; esteri metilici din ulei de in 88 părți; esteri etilici din ulei de măsline 8,5 părți; esteri etilici din acid stearic tehnic 24,5 părți, esteri etilici din ulei de in 67 părți, părțile fiind exprimate în unități de masă.	31 33
- dizolvarea prin agitare viguroasă a 1,5 părți etil-maltol în amestecul de 300 părți esteri de mai sus, părțile fiind exprimate în unități de masă.	35
Metoda de aplicare a compoziției implică următoarele etape:	37
- prepararea a 500 ml soluție de 6 g/l alginat de sodiu, 4 g/l metilceluloză și 0,5 g polioxietilen (20) sorbitan monooleat în apă deionizată;	39
- adăugarea treptată, în cantități mici și sub agitare continuă, a 10 g amestec de esteri ai acizilor grași și etil-maltol, peste cei 500 ml dispersie de alginat de sodiu, metilceluloză și polioxietilen (20) sorbitan monooleat, și omogenizare într-un turbo-mixer;	41
- aducerea sub agitare, peste emulsia de esteri ai acizilor grași și etil-maltol în alginat de sodiu, a 500 ml soluție de clorură de calciu 0,67 g/l;	43
- menținerea amestecului timp de 30 min, pentru desăvârșirea formării microcapsulelor de alginat de calciu conținând amestecul de esteri și etil-maltol;	45
- diluarea suspensiei cu microcapsule de alginat de calciu până la 600 l cu apă, și aplicarea prin stropire cu echipamentele uzuale de pulverizat.	47

# RO 128687 B1

1 Compoziția conform invenției prezintă următoarele avantaje:  
2 - stabilitate ridicată la temperatura camerei, ca urmare a prezenței etil-maltolului, cu  
3 acțiune de prevenire a peroxidării legăturilor duble, datorită blocării ionilor de fier;  
4 - amplificarea acțiunii de atragere a polenizatorilor în zona florilor plantelor de cultură,  
5 datorită acțiunii etil-maltolului de potențare a aromelor florale cu rol atractant pentru  
6 polenizatori;  
7 - conține exclusiv agenți de condiționare biocompatibili, care nu sunt percepuți ca  
8 nenaturali.

9 Procedul de obținere prezintă avantajul realizării unei compoziții apropiate de cea  
10 a feromonului natural larvar, în pofida folosirii unor materii prime de tipul uleiului de măsline  
11 și a uleiului de in.

12 Metoda de aplicare prezintă următoarele avantaje:  
13 - realizarea unei compoziții în care produsul sintetic, amestec de esteri metilici și  
14 etilici și etil-maltol, este înglobat în microcapsule, de unde este eliberat controlat;  
15 - stabilizarea suspensiei de microcapsule de alginat de calciu prin adaosul de metil-  
16 celuloză.

17 Pentru a soluționa problema tehnică, invenția prezintă o compoziție pentru stimularea  
18 polenizării, include etil-maltol, un compus binecunoscut ca având acțiune de stimulator al  
19 aromelor, și un amestec sintetic de esteri etilici și metilici ai acizilor grași, care continuă să  
20 aibă o activitate similară cu feromonul larvar esteric. Acest amestec sintetic este produs prin  
21 amestecarea esterilor etilici și metilici rezultați din transesterificarea uleiului de măsline și a  
22 uleiului de in, și prin esterificarea acidului stearic de puritate tehnică. La această compoziție  
23 de esteri ai acizilor grași este adăugat etil maltol. Compoziția rezultată este amestecată cu  
24 o soluție de alginat de sodiu, metilceluloză și un emulsificator. Emulsia formată este gelifiată  
25 ionotropic cu o soluție de clorură de calciu, diluată cu apă și aplicată prin stropire pe plantele  
26 de cultură.

27 Se prezintă mai jos un exemplu de realizare a invenției.

28 Într-un balon cu 3 găuri, prevăzut cu agitator, condensator și termometru, s-a  
29 introdus ulei vegetal brut, de măsline sau de in, sau acid stearic tehnic (cu minimum 75%  
30 acid stearic). S-a dizolvat KOH p.a. (0,6% față de cantitatea de ulei/acid stearic) în metanol,  
31 respectiv, etanol (exces de 50% față de cantitatea stoichiometrică), iar soluția respectivă s-a  
32 introdus sub agitare peste uleiul/acidul stearic din vas. S-a continuat agitarea menținându-se  
33 la temperatura camerei timp de 60 min.

34 În cazul uleiurilor masa de reacție s-a transvazat într-o pâlnie de separare și, după  
35 3 h, s-a separat prin decantare glicerina brută I de esterii metilici, respectiv, etilici bruți I.  
36 Frația de esteri metilici, respectiv, etilici bruți ai acizilor grași din ulei de măsline sau din ulei  
37 de in s-au reintrodus în vas. S-a dizolvat KOH (0,3% față de cantitatea de ulei/grăsime) în  
38 metanol, respectiv, etanol (0,7% față de cantitatea de ulei/grăsime), iar soluția respectivă s-a  
39 introdus sub agitare în vas peste esterii metilici, respectiv, etilici bruți I. S-a continuat agitarea  
40 menținându-se temperatura la temperatura camerei timp de 60 min. Masa de reacție s-a  
41 transvazat în pâlnia de separare și, după 3 h, s-a separat prin decantare glicerina brută II de  
42 esterii metilici, respectiv, etilici bruți II. Esterii metilici, respectiv, etilici bruți II, ca și produșii  
43 reacției de esterificare ai acidului stearic, s-au introdus într-o instalație de separare volatilă,  
44 la vid, pentru desolventizare. Temperatura masei de reacție s-a menținut la 55...60°C, iar  
45 depresiunea la 20 torr și au rezultat, în instalația de separare volatilă, esteri purificați.

46 Esterii metilici, respectiv, etilici purificați (care pot fi obținuți și prin alte procedee de  
47 (trans)esterificare din uleiuri, de măsline sau in, sau din acid stearic tehnic) s-au combinat  
în următoarele proporții: esteri metilici din ulei de măsline 64 părți; esteri metilici din acid

# RO 128687 B1

stearic tehnic 48 părți; esteri metilici din ulei de in 88 părți; esteri etilici din ulei de măsline 8,5 părți; esteri etilici din acid stearic tehnic 24,5 părți; esteri etilici din ulei de in 67 părți, părțile fiind exprimate în unități de masă. 1  
3

S-au realizat, conform exemplului de mai sus, trei șarje de produs, folosind loturi diferite de uleiuri vegetale și acid stearic tehnic. Amestecul de esteri rezultat în cadrul celor trei șarje a fost analizat gaz-cromatografic, determinându-se compozițiile prezentate în tabelul 1. Aceste compoziții sunt foarte apropiate de compoziția de feromon larvar (**Journal of Economic Entomology 97:748-751, 2004**). 5  
7

În amestecul celor 300 de părți esteri de mai sus s-a dizolvat, prin agitare viguroasă, 1,5 părți etil-maltol. A rezultatul produsul atractant pentru polenizatori conform invenției, care a prezentat o stabilitate bună la temperatura camerei. 9  
11

Produsul rezultat prin amestecarea esterilor metilici și etilici cu etil-maltolul a fost aplicat ca tratament al plantelor de cultură. 13

Pentru aplicarea tratamentului s-au preparat 50 ml soluție 6 g/l alginat de sodiu și 4 g/l metilceluloză în apă deionizată, și 0,5 g Polysorbate 80 (polioxietilen - 20 - sorbitan monooleat). S-au adăugat 300 mg amestec de esteri ai acizilor grași și etil-maltol, treptat, în cantități mici și sub agitare continuă, peste cei 50 ml dispersie de alginat de sodiu, metilceluloză și Polysorbate 80. 15  
17

S-a omogenizat la turbomixer; peste emulsia de esteri ai acizilor grași și etil-maltol în alginat de sodiu, s-au adăugat 50 ml soluție de clorură de calciu 0,67 g/l. Amestecul a fost menținut timp de 30 min, pentru desăvârșirea formării microcapsulelor de alginat de calciu conținând amestecul de esteri și maltol. S-a prelevat 10% din amestec, care a fost diluat la 6 l și utilizat pentru tratarea a 100 m<sup>2</sup> (4 repetiții a 25 m<sup>2</sup>). 19  
21  
23

Tabelul 1 25

Compoziția determinată gaz cromatografic a amestecului realizat conform exemplului, din esteri etilici și metilici produși din diferite loturi de ulei de măsline, ulei de in și acid stearic tehnic 27

Ester	Șarja 1	Șarja 2	Șarja 3	Media
Palmitat de metil	2,51	2,72	2,81	2,68
Palmitat de etil	1,78	1,64	1,72	1,71
Stearat de metil	16,34	16,74	17,08	16,72
Stearat de etil	7,72	7,54	7,63	7,63
Oleat de metil	24,88	24,41	24,71	24,67
Oleat de etil	8,05	7,73	7,62	7,80
Linoleat de metil	5,68	5,82	5,48	5,66
Linoleat de etil	3,38	3,42	3,27	3,36
Linolenat de metil	16,82	17,03	17,24	17,03
Linolenat de etil	12,84	12,95	12,44	12,74

Testarea eficacității produsului realizat conform invenției, și a procedurii de aplicare în câmp a fost realizată față de un martor netratat și față de un produs standard, amestecul sintetic mimetic pentru feromonul glandei Nasonov (citril: geraniol: nerol 1:1:0,5). 41  
43

# RO 128687 B1

1 Experimentul a fost realizat pe un preluvosol roșcat, folosindu-se pe cultură comercială de  
3 ha măzăriche păroasă (*Vicia villosa*, ev. Welta). Experiența a fost organizată randomizat,  
în dreptunghi latin, în trei variante, fiecare cu câte patru repetiții, după cum urmează:

$V_1$  - martor netratat;

5  $V_2$  - martor tratat cu amestec citral:geraniol:nerol 1:1:0,5 (0,75 ml amestec per 25 m<sup>2</sup>,  
echivalent al unei doze de 300 ml/ha);

7  $V_3$  - tratament cu produs conform invenției, 7,5 mg/25 m<sup>2</sup>, echivalent al unei doze de  
3 g/ha.

9 Fiecare repetiție a fost reprezentată de o zonă experimentală de 25 m<sup>2</sup> (parcelă  
experimentală de 5 x 5 m), amplasate randomizat la distanțe de 60 m între fiecare parcelă.  
11 Tratamentele s-au efectuat inițial la 20% înflorire, și s-au repetat după un interval de 10 zile.

13 Activitatea de hrănire a albinelor a fost notată prin numărarea polenizatorilor care se  
hrănesc într-un interval de 15 min pe un număr de 10 plante, randomizat selectate din fiecare  
repetiție.

15

Tabelul 2

17

*Influența tratamentelor cu produsele testate asupra producției de sămânță  
la măzărichea păroasă (*Vicia villosa*, ev. Welta)*

19

Varianta experimentală	Număr mediu de albine per plantă la 15 min	Masa medie a 1000 de semințe	Număr de semințe per teacă	Producția realizată (kg/ha)
martor netratat	5,5 <sup>a</sup>	38,2 <sup>a</sup>	3,9 <sup>a</sup>	1177 <sup>a</sup>
citral:geraniol:nerol 1:1:0,5, echivalent 300 ml/ha	6,8 <sup>a</sup>	39,6 <sup>a</sup>	3,8 <sup>a</sup>	1237 <sup>a</sup>
Produs conform invenției, 3 g/ha	7,2 <sup>b</sup>	44,7 <sup>b</sup>	4,7 <sup>b</sup>	1454 <sup>b</sup>

29

DL 5%

1,4

3,4

0,6

206

31

Valorile urmate de aceeași literă nu diferă semnificativ pentru  $P > 0,05$ .

33

Rezultatele prezentate în tabelul 2 demonstrează eficacitatea produsului realizat  
conform invenției, și aplicat conform procedurii descris de invenție, în creșterea producției  
35 de sămânță la culturile agricole, ca urmare a stimulării polenizării acestora de către albinele  
melifere.

1. Procedeu de obținere a unei compoziții pentru stimularea polenizării culturilor agricole, **caracterizat prin aceea că** este alcătuit în următoarele etape: producerea de esteri metilici și etilici din ulei de măsline, ulei de in și acid stearic tehnic; combinarea esterilor obținuți în următoarele proporții: esteri metilici din ulei de măsline 64 părți; esteri metilici din acid stearic tehnic 48 părți; esteri metilici din ulei de in 88 părți; esteri etilici din ulei de măsline 8,5 părți; esteri etilici din acid stearic tehnic 24,5 părți; esteri etilici din ulei de in 67 părți, părțile fiind exprimate în unități de masă; dizolvarea prin agitare viguroasă a 1,5 părți etil-maltol în amestecul de 300 părți esteri de mai sus, părțile fiind exprimate în unități de masă. 11
2. Metodă de aplicare a compoziției conform revendicării 1, **caracterizată prin aceea că** este alcătuită din următoarele etape: prepararea a 500 ml soluție de 6 g/l alginat de sodiu, 4 g/l metilceluloză și 0,5 g polioxietilen (20) sorbitan monooleat în apă deionizată; adăugarea treptată, în cantități mici și sub agitare continuă, a 10 g amestec de esteri ai acizilor grași și etil-maltol, peste cei 500 ml dispersie de alginat de sodiu, metilceluloză și polioxietilen (20) sorbitan monooleat, și omogenizare într-un turbo-mixer; aducerea sub agitare, peste emulsia de esteri ai acizilor grași și etil-maltol în alginat de sodiu, a 500 ml soluție de clorură de calciu 0,67 g/l; menținerea amestecului timp de 30 min, pentru desăvârșirea formării microcapsulelor de alginat de calciu conținând amestecul de esteri și etil-maltol; diluarea suspensiei cu microcapsule de alginat de calciu până la 600 l cu apă, și aplicarea prin stropire cu echipamentele uzuale de pulverizat. 21

