

UNIVERSITATEA “ȘTEFAN CEL MARE” DIN SUCEAVA
FACULTATEA DE INGINERIE ALIMENTARĂ
Domeniul Ingineria Produselor Alimentare

TEZĂ DE DOCTORAT

Coordonator științific,
Prof.univ.dr.ing. Mircea-Adrian OROIAN

Doctorand,
Ing. Daniela-Oana PAULIUC

Suceava
2021

UNIVERSITATEA "ȘTEFAN CEL MARE" DIN SUCEAVA
FACULTATEA DE INGINERIE ALIMENTARĂ
Domeniul Ingineria Produselor Alimentare

CERCETĂRI ȘI CONTRIBUȚII PRIVIND
AUTENTIFICAREA MIERII DE ALBINE
UTILIZÂND TEHNICI INSTRUMENTALE

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Coordonator științific,
Prof.univ.dr.ing. Mircea-Adrian OROIAN

Doctorand,
Ing. Daniela-Oana PAULIUC

Suceava
2021

Mulțumiri

Finalizarea studiilor de doctorat și a acestei teze a fost posibilă datorită îndrumării și ajutorului primit din partea domnului prof. univ. dr. ing. Mircea Oroian, care mi-a fost alături în calitate de coordonator științific pe tot parcursul acestei perioade de studii. Îi mulțumesc domnului profesor pentru contribuția însemnată pe care o are la formarea mea ca cercetător, pentru cunoștințele valoroase pe care mi le-a transmis și pentru sprijinul permanent pe care mi l-a oferit.

Doresc să adresez cuvinte de mulțumire membrilor comisiei de îndrumare, doamnei prof. univ. dr. ing. Sonia Amariei, domnului prof. univ. dr. ing. Gheorghe Gutt și doamnei prof. univ. dr. ing. Silvia Mironeasa pentru sugestiile și sfaturile acordate, care au fost constructive și utile în finalizarea cercetării doctorale. Mulțumiri îndrept, de asemenea, către întregul colectiv al Facultății de Inginerie Alimentară și colegii de doctorat.

Daniela-Oana Pauliuc

CUPRINS

Listă de abrevieri.....	10
Scopul și obiectivele tezei de doctorat	11
Capitolul I. Stadiul actual al cercetărilor în domeniul autentificării mierii de albine	12
1.1. Definiția mierii de albine	12
1.2. Clasificarea mierii	12
1.3. Caracteristicile organoleptice ale mierii	13
1.3.1. Culoarea	13
1.3.2. Aspectul mierii	14
1.3.3. Gustul mierii.....	15
1.3.4. Aroma mierii	15
1.3.5. Consistența	16
1.4. Aspecte economice	17
1.5. Originea botanică și geografică a mierii	18
1.5.1. Analiza polinică.....	20
1.5.2. METODE FIZICE ȘI CHIMICE.....	23
1.5.2.1. Conductivitatea electrică	23
1.5.2.2. Culoarea mierii.....	23
1.5.2.3. Umiditatea.....	25
1.5.2.4. pH-ul	26
1.5.2.5. Aciditatea liberă	26
1.5.2.6. Acizii organici.....	27
1.5.2.7. Glucidele	28
1.5.2.8. Determinarea substanțelor minerale totale și a elementelor	30
1.5.2.9. Aminoacizii.....	32
1.5.2.10. Proteinele	33
1.5.2.11. Vitaminele.....	34
1.5.2.12. Polifenolii.....	34
1.5.2.13. Compuși volatili.....	38
1.5.2.14. Markerii ADN	40
1.6. Metode alternative pentru autentificarea mierii de albine	41
1.6.1. Tehnici spectroscopice	41
1.6.1.1. Spectroscopia de fluorescență în fază frontală	41
1.6.1.2. Spectroscopia în infraroșu apropiat	42
1.6.1.3. Spectroscopia în infraroșu mediu	43
1.6.1.4. Spectroscopia Raman	46
1.6.2. Reologia	47

1.6.3. Metode potențiometrice.....	49
1.7. Concluzii	50

Capitolul II. Studiu experimental privind analiza melisopalinologică și determinarea parametrilor fizico-chimici

2.1. Introducere.....	51
2.2. Probe de miere de albine	52
2.3. Metode de analiză.....	52
2.3.1. Analiza melisopalinologică	52
2.3.2. Parametrii fizico-chimici	52
2.3.2.1. Conținutul de umiditate.....	52
2.3.2.2. Măsurarea pH-ului	53
2.3.2.3. Aciditatea liberă	53
2.3.2.4. Conținutul de hidroximetilfurfural (HMF)	53
2.3.2.6. Conductivitatea electrică	55
2.3.2.7. Determinarea conținutului total de polifenoli.....	55
2.3.2.8. Determinarea conținutului de flavonoide	56
2.3.2.9. DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)	56
2.3.2.10. Determinarea conținutului de zaharuri	56
2.3.2.11. Determinarea conținutului de polifenoli.....	57
2.3.2.12. Determinarea conținutului de acizi organici.....	58
2.4. Analize statistice.....	58
2.5. Rezultate și discuții.....	58
2.5.1. Analiza polenului	58
2.5.2. Conținutul de umiditate	59
2.5.3. pH.....	60
2.5.4. Aciditatea liberă	61
2.5.5. Conținutul de hidroximetilfurfural (HMF)	63
2.5.6. Culoarea	63
2.5.7. Conductivitatea electrică	64
2.5.8. Conținut total de polifenoli.....	65
2.5.9. Conținutul de flavonoide	66
2.5.10. DPPH	66
2.5.11. Conținutul de zaharuri	67
2.5.12. Conținutul de polifenoli.....	71
2.5.13. Conținutul de acizi organici.....	75
2.6. Analiza componentelor principale (PCA).....	78
2.7. Concluzii	80

Capitolul III. Studiu experimental privind autentificarea mierii după originea botanică utilizând metode potențiometrice.....

3.1. Introducere.....	81
3.2. Materiale și metode	82

3.2.1. Materiale.....	82
3.2.2. Metode	82
3.2.2.1 Analiza melisopalinologică	82
3.2.2.2. Măsurarea electrochimică	82
3.3. Analiza statistică.....	84
3.4. Rezultate și discuții.....	84
3.4.1. Analiza melisopalinologică	84
3.4.2. Limba electronică voltametrică	85
3.4.3. Analiza statistică	85
3.4.3.1. Analiza componentelor principale (PCA)	88
3.4.3.2 Rezultatele clasificării celor cinci tipuri de miere analizate cu LDA.....	90
3.5. Concluzii	92

Capitolul IV. Studiu experimental privind autentificarea mierii utilizând spectroscopia în infraroșu cu transformată fourier (FT-IR) ATR..... 93

4.1. Introducere.....	93
4.2. Materiale și metode	94
4.2.1. Probe	94
4.2.2. Analiza melisopalinologică	94
4.2.3. Analize fizico-chimice	95
4.2.3.1. Prelucrare preliminară a probei	95
4.2.3.2. Conținutul de umiditate.....	95
4.2.3.3. Măsurarea pH-ului	95
4.2.3.4 Aciditatea liberă	95
4.2.3.5. Conținutul de 5-hidroximetilfurfural (HMF).....	95
4.2.3.6. Culoarea	96
4.2.3.7. Conductivitatea electrică	96
4.2.3.8. Determinarea compoziției zaharurilor	96
4.2.3.9. Determinarea compoziției acizilor organici	96
4.2.4. Analiza FT-IR	97
4.2.5. Analize statistice	97
4.3. Rezultate și discuții.....	98
4.3.1. Analiza melisopalinologică	98
4.3.2. Proprietăți fizico-chimice	98
4.3.2.1. Conținutul de umiditate.....	98
4.3.2.2. pH-ul	99
4.3.2.3. Aciditatea liberă	99
4.3.2.4. Culoarea	99
4.3.2.5. Conductivitatea electrică	101
4.3.2.6. Conținutul de HMF	101
4.3.2.7. Conținut de zaharuri.....	101
4.3.3. Spectre FT-IR ale mierii românești	103

4.4. Analiza chemometrică	109
4.5. Corelația de regresie parțială a celor mai mici pătrate a spectrelor FT-IR cu parametrii fizico-chimici	112
4.5.1. Selectarea domeniului spectral	112
4.5.2. Evaluarea performanței modelelor	114
4.6. Concluzii	120
Capitolul V	121
Diseminarea rezultatelor.....	123
Bibliografie.....	125

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE TEZEI DE DOCTORAT

Scopul tezei de doctorat constă în studierea unor sortimente de miere de albine (zmeură, mentă, rapiță, cimbrisor, floarea soarelui, salcâm și tei) de pe teritoriul României prin metode convenționale și inovative, distructive și nedistructive în vederea autentificării originii botanice.

Cercetările efectuate în vederea atingerii scopului propus au vizat următoarele obiective:

- Realizarea unui studiu al literaturii de specialitate cu privire la stadiul actual al cercetărilor în vederea autentificării mierii de albine după originea botanică.
- Stabilirea autenticității probelor de miere utilizând metodele analitice clasice.
- Studierea proprietăților fizico-chimice (analiza melisopalinologică, umiditatea, pH-ul, aciditatea liberă, conductivitatea electrică, culoarea, conținutul de HMF, conținutul total de polifenoli, conținutul de flavonoide, DPPH) și identificarea compușilor predominanți din miere (spectrul glucidic, polifenoli și acizi organici).
- Utilizarea metodelor electrochimice de tipul “limbă electronică” în vederea analizării și clasificării probelor de miere în funcție de originea botanică.
- Utilizarea spectroscopiei în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR-ATR) pentru autentificarea originii botanice.

Cuvinte cheie: miere, autentificare, origine botanică, parametri fizico-chimici, limba electronică, FT-IR ATR

Teza de doctorat intitulată ”CERCETĂRI ȘI CONTRIBUȚII PRIVIND AUTENTIFICAREA MIERII DE ALBINE UTILIZÂND TEHNICI INSTRUMENTALE” cuprinde un număr de 5 capitole, în care sunt incluse și concluziile generale, listă de abrevieri, referințe

bibliografice și o listă de lucrări publicate sau susținute la manifestări științifice din țară și din străinătate.

Capitolul 1, Stadiul actual al cercetărilor în domeniul autentificării mierii de albine, prezintă nivelul actual de cunoaștere în ceea ce privește rolul mierii de albine pe piața, aspectele economice legate de producerea ei precum și importanța autentificării în funcție de originea botanică.

Creșterea comerțului mondial cu miere și utilizările sale în medicină determină un interes ridicat pentru autenticitatea mierii. Autenticitatea mierii prezintă două aspecte majore: originea și modul de producție al acesteia. Originea mierii include originea geografică și originea botanică, în timp ce producția este legată de recoltarea mierii din stupi și prelucrarea ei (Siddiqui et al., 2017). Obiectivul acestui capitol este de a face un studiu critic privind metode utilizate pentru autentificarea mierii de albine în funcție de originea sa botanică.

Prima parte a stadiului actual al cercetărilor a cuprins informații privind caracteristicile organoleptice, clasificarea mierii precum și metodele tradiționale de autentificare.

Analiza polenului este tehnica clasică de determinare a originii botanice a mierii de albine, care constă în identificarea granulelor de polen prin analiză microscopică, pentru a putea determina plantele vizitate de albine în timpul producției de miere iar o probă de miere, pentru a putea fi clasificată ca monofloră, trebuie să conțină minim 45% din forma de polen corespunzătoare (Comisia Internațională pentru botanica albinelor (ICBB), 1970; Louveaux et al., 1978).

Rezultatele obținute prin această tehnică trebuie însă completate cu determinarea parametrilor fizico-chimici. Mierea are o compoziție chimică complexă și determinarea acizilor organici, a zaharurilor, a substanțelor minerale totale (cenușa), a aminoacizilor, proteinelor, vitaminelor, polifenolilor, markerilor ADN, compușilor volatili, precum și a parametrilor fizico-chimici (conductivitatea electrică, culoarea mierii, umiditatea, pH-ul, aciditatea liberă) oferă o caracterizare esențială a acesteia și contribuie la autentificarea ei.

În ultima parte a acestui capitol, prezentarea metodelor alternative pentru autentificarea mierii de albine precum tehnicile spectroscopice (spectroscopia de fluorescență în fază frontală, spectroscopia în infraroșu apropiat, spectroscopia în infraroșu mediu,

spectroscopia Raman), reologia și limba electronică oferă o perspectivă completă asupra tuturor metodelor prezentate în această lucrare.

Capitolul 2, Studiu experimental privind analiza melisopalinologică și determinarea parametrilor fizico-chimici, prezintă în prima parte metodele de analiză care au fost utilizate pentru a identifica originea botanică a 45 de probe de miere. Probele de miere de zmeură, rapiță, mentă, cimbrisor și floarea-soarelui au fost achiziționate de la producători din diferite regiuni din România și provin din producția din anul 2017 și 2018.

După identificarea profilului melisopalinologic, probele au fost analizate din punct de vedere fizico-chimic (umiditate, pH, aciditate liberă, culoare, conductivitate electrică, conținut de HMF, polifenoli totali, flavonoide, DPPH) și ulterior a fost determinat și conținutul de zaharuri, polifenoli și acizi organici. Pentru determinarea parametrilor fizico-chimici s-au folosit pe lângă alte aparate de lucru, un colorimetru portabil CR-400 (Konica Minolta, Japonia) și fotometru color Pfund HI 96785 (Hanna Instruments, SUA), un spectrofotometru UV-VIS-NIR SCHIMADZU UV-3600 (Schimadzu Corporation, Japonia) și un cromatograful HPLC (Schimadzu, Kyoto, Japonia).

Prin cercetările realizate s-a urmărit stabilirea originii botanice a probelor de miere și examinarea utilității determinării parametrilor fizico-chimici în clasificarea mierii în funcție de originea botanică. Rezultatele analizei melisopalinologice au arătat că toate cele cinci tipuri de probe de miere au un procent de granule de polen peste minimul de 45%, care era necesar pentru a clasifica probele ca miere monofloră. Pe baza analizei polenului, probele de miere au fost clasificate în funcție de originea botanică în: zmeură (6 probe), rapiță (10 probe), floarea-soarelui (9 probe), cimbrisor (4 probe), mentă (10 probe) și miere polifloră (6 probe). Dintre probele de miere monofloră, procentul cel mai mare de granule de polen a fost identificat în cazul probelor de miere de rapiță și de floarea soarelui.

Tabelul 2.1. Tipuri de polen identificate în probele de miere

Tip de miere	Probe	Tipul principal de polen (min.-max.%)	Alte tipuri de polen
Zmeură	6	<i>Rubus idaeus</i> (49-82,2%)	<i>Prunus</i> , <i>Brassica napus</i> , <i>Trifolium</i>
Rapiță	10	<i>Brassica spp.</i> (50,12-71%)	<i>Helianthus annuus</i>
Floarea soarelui	9	<i>Helianthus spp.</i> (48,93-92%)	<i>Tilia</i> , <i>Brassica napus</i>
Mentă	10	<i>Mentha spp.</i> (46,5-65,02%)	<i>Prunus</i>
Cimbrisor	4	<i>Thymus spp.</i> (22-45%)	<i>Tilia</i> , <i>Helianthus annuus</i>
Polifloră	6	-	<i>Helianthus annuus</i> , <i>Brassica napus</i> , <i>Tilia</i> ,

În ceea ce privește parametrii fizico-chimici, rezultatele au indicat că probele de miere au fost proaspete și valorile obținute s-au încadrat în mare parte în limitele impuse de legislație.

Conținutul de umiditate al eșantioanelor analizate a variat de la o valoare medie de 17,36% în probele de cimbrisor la o valoare medie maximă de 19,60% în probele de miere polifloră. Originea botanică a mierii nu a influențat variația conținutului de umiditate ($p>0,05$), în timp ce anul producției de miere a avut o influență ($p<0,05$) asupra acestui parametru. Nici unul dintre eșantioanele analizate nu a depășit conținutul de umiditate de 20%, stabilit prin legislație. Valorile medii ale pH-ului pentru eșantioanele analizate în acest studiu au variat de la 3,91 în cazul mierii de cimbrisor și maximum 4,22 în cazul mierii de rapiță. Diferențele în cazul acestui parametru au fost determinate de originea botanică a mierii ($p<0,05$) și nu de anul producției mierii ($p>0,05$). 50 de miliechivalenți de acid la 1000 de grame este limita maximă permisă de legislație pentru aciditatea liberă (Council Directive, 2001) iar în studiul nostru, cea mai mare aciditate a fost identificată la mierea de floarea-soarelui (31,63 meq./kg) și cea mai mică (16,01 meq./kg) la mierea

de rapiță. Conținutul de HMF al probelor de miere analizate în acest studiu a variat între un minim de 8,26 mg/kg (mierea de floarea soarelui) și maximum 50,8 mg/kg (mierea de cimbrișor). Unele dintre probele de mentă (2 probe) și mierea de cimbrișor (1 probă) care au fost analizate au avut valori ale HMF-ului mai mari decât limita maximă de 40 mg/kg permisă de standardele europene (Directiva Consiliului, 2002). În cazul probelor de miere analizate în acest studiu, este posibil să fi existat o supraîncălzire. Culoarea probelor de miere analizate a variat între alb (mierea de rapiță), chihlimbar extra light (mierea de floarea soarelui, cimbrișor și polifloră) și chihlimbar light (mierea de mentă și zmeură).

Probele de miere analizate au o conductivitate electrică mai mică de 500 $\mu\text{S/cm}$, deci pot fi clasificate ca fiind miere florală pură. Mierea de mentă are cea mai mare conductivitate electrică (474,05 $\mu\text{S/cm}$) urmată de mierea de zmeură (446,16 $\mu\text{S/cm}$). Mierea polifloră și cea de floarea soarelui au o valoare apropiată a conductivității electrice (354,09 $\mu\text{S/cm}$ și 362,27 $\mu\text{S/cm}$), iar mierea de rapiță și cimbrișor au fost caracterizate prin cele mai mici valori ale conductivității electrice (162,5 $\mu\text{S/cm}$ la mierea de rapiță și 244,28 $\mu\text{S/cm}$ în mierea de cimbrișor). Originea botanică a avut o influență semnificativă ($p < 0,001$) asupra variației acestui parametru. De obicei, mierea de culoare deschisă are o conductivitate electrică mai scăzută față de cea de culoare închisă, ceea ce indică faptul că acest tip de miere are un conținut mineral mai mic.

Efectele antioxidante ale mierii au fost atribuite prezenței acizilor fenolici, flavonoidelor, acidului ascorbic, carotenoizilor, catalazei, peroxidazelor, precum și produselor de reacție Maillard din compoziția mierii. Conținutul fenolic total (TPC) pentru probele de zmeură, mentă, cimbrișor, rapiță, floarea soarelui și mierea polifloră. TPC a variat între 18,91 mg GAE/100 g (mierea de cimbrișor) și 23,71 mg GAE/100 g (mierea de mentă) și nici o diferență semnificativă nu a fost determinată în funcție de originea botanică sau de an. Flavonoidele au o greutate moleculară scăzută și sunt componente vitale pentru aroma mierii și proprietățile sale antioxidante. Ca și în cazul polifenolilor, în acest studiu, probele de miere de cimbrișor au avut cel mai mic conținut de flavonoide (17,45 mg QE/100 g). Cel mai mare conținut de flavonoide a fost identificat în mierea de zmeură (33,58 mg QE/100 g), urmată de mierea de mentă (25,73 mg QE/100 g), mierea polifloră (24,14 mg QE/100 g),

mierea de floarea- soarelui (22,86 mg QE/100 g) și mierea de rapiță (20,25 mg QE/100 g).

În acest studiu, cea mai mare activitate de epurare a radicalilor DPPH a fost identificată pentru mierea de zmeură (79,05%) și mierea de mentă (74,03%) și cea mai mică pentru cimbrisor (63,77%) și mierea de rapiță (55,49%).

În eșantioanele de miere analizate, cel mai mare conținut de fructoză a fost identificat în mierea de cimbrisor (36,77%) și cel mai mic în mierea polifloră (35,15%). Mierea de rapiță a avut cel mai mare conținut de glucoză (31,78%), iar mierea polifloră a avut cel mai mic conținut (24,95%) din această monozaharidă. Conținutul de glucoză a fost singurul parametru care a variat semnificativ ($p < 0,01$) în funcție de originea botanică a probelor analizate. Maltoza (valoare maximă de 1,79% în miere polifloră), trehaloza (valoare maximă de 2,35% în mierea de rapiță) și melezitosa (valoare maximă de 1,34% în mierea de cimbrisor) au fost zaharuri care împreună cu fructoza și glucoza s-au găsit în concentrații semnificative în probele de miere analizate.

Sucroza și rafinoza au avut valori între 0,07% (mierea de zmeură) și 0,73% (mierea polifloră), respectiv 0,21% (mierea de rapiță) și 0,42% (mierea polifloră). În afară de zaharurile individuale, pentru toate cele 45 de probe de miere, a fost calculat și raportul fructoză/glucoză. Atunci când conținutul de fructoză este mai mare decât cel de glucoză mierea este fluidă, astfel, acest raport poate fi utilizat pentru a identifica starea de cristalizare a mierii (Ouchemoukh et al., 2010, Venir et al., 2010). Alvarez-Suarez et al., (2010) au raportat că raportul fructoză/glucoză ar putea afecta și aroma mierii, deoarece fructoza este mai dulce decât glucoza. Toate probele de miere examinate au fost fluide, deoarece raportul fructoză/glucoză a fost mai mare decât 1.

Analiza polifenolilor din miere poate fi utilizată ca metodă de autentificare a originii botanice și chiar geografice (Ciulu et al., 2016). În eșantioanele studiate au fost analizați 12 polifenoli, care s-au găsit în cea mai mare parte la toate probele în diferite concentrații. Acidul galic a fost găsit în concentrație mare (1,55 mg/100 g) în mierea de mentă, în timp ce, cea mai mică valoare a fost identificată în mierea de cimbrisor (0,57 mg/100 g). Acizii protocatecuic și 4-hidroxibenzoic au fost identificați în concentrații mai mari în mierea de mentă (2,04 mg acid protocatecuic/ 100 g și 1,20 mg acid 4-

hidroxibenzoic/100 g) și mierea de zmeură (2,5,5 mg acid protocatecuic/100 g și 2,33 mg acid 4-hidroxibenzoic/100 g). Față de alte tipuri de miere, menta a avut și un conținut ridicat de acid vanilic (3,03 mg/100g) și acid clorogenic (1,48 mg/ 100 g). Acești doi acizi fenolici s-au găsit, de asemenea, în mierea de floarea soarelui și în cea de cimbrisor în cantități mari. Acidul cafeic a predominat în mierea polifloră (1,20 mg/100g) și nu a depășit nivelul de 0,38 mg/100 g în alte probe de miere. Mierea de cimbrisor a avut cel mai mare conținut de acid p-cumaric, în timp ce miricetina a predominat în mierea de rapiță, deși s-a găsit în toate tipurile de miere.

Acidul rozmarinic a fost găsit numai în mierea de zmeură în concentrație foarte mică (0,03 mg/100 g), în timp ce kaempferolul a fost determinat numai în mierea polifloră în concentrație de 0,38 mg/100 g. Quercitina a fost cuantificată doar în 3 tipuri de miere: mentă, polifloră și floarea soarelui și luteolina nu a fost determinată în nici un eșantion.

Acizii organici reprezintă un procent mic din totalul componentelor mierii (<0,5%), dar definesc aroma, culoarea, pH-ul și aciditatea și joacă, de asemenea, un rol important în activitățile antimicrobiene și antioxidante ale mierii (Da Silva et al., 2016). Determinarea compoziției acizilor organici poate fi un parametru important utilizat pentru a identifica originea botanică a mierii (Daniele et al., 2012).

Acidul predominant în toate probele de miere analizate a fost acidul gluconic. Conținutul maxim de acid gluconic a fost determinat în mierea de zmeură (4,83 g/kg) și cea mai mică valoare în mierea de rapiță (3,59 g/kg). Rezultatele obținute în acest studiu au fost similare cu cele raportate de Suto et al., (2020) când au studiat mierea de salcâm și au raportat un conținut de 1,575 g/kg acid gluconic. Mierea de salcâm are un conținut mai scăzut de acid gluconic. Într-un studiu anterior, o cantitate mai mare de acid gluconic (5,62 g/kg) a fost identificată pe mierea de floarea-soarelui (Pauliuc & Oroian, 2020) și la fel s-a observat și pentru mierea de castane (8,90 g/ kg) (Sahin & Erim, 2011).

Acidul gluconic este predominant atât în mierea de mană cât și în mierea florală, iar concentrația sa poate fi influențată de sursa botanică, de polenul și de nectarul florilor pe care le-au colectat albinele. În studiul nostru, concentrația acidului gluconic nu a fost influențată de originea botanică sau de anul de producție ($p > 0,05$).

Probele de miere românească de mentă și cimbrisor au fost bogate în acid propionic (2,67 g/kg și 2,36 g/kg) și se observă, de asemenea un conținut semnificativ de acid succinic, care variază de la o valoare minimă de 0,05 g/kg (mierea de zmeură) la o valoare maximă de 0,13 mg/kg (mierea de mentă). Suto et al., (2020) au raportat că acidul succinic a fost detectat în 16 din 25 de probe analizate în studiul lor (concentrația medie de acid succinic a fost de 0,028 g/kg) în timp ce, Suarez-Luque et al., (2002), care au analizat 50 de probe de miere din Galicia (Spania), au identificat un conținut de acid succinic mult mai mare.

Acidul formic, acetic, lactic și butiric au fost determinați în concentrații mici în toate probele de miere. Conținutul de acizi propionici și acetici al probelor de miere a fost puternic influențat ($p < 0,001$) de origine botanică.

Analiza componentelor principale (PCA) a fost aplicată pentru a analiza și identifica probele de miere care au caracteristici similare dintr-un număr total de 45 de probe de diferite tipuri de miere, din diferite regiuni din România. Prima componentă principală (PC-1) a reprezentat 82% din variație, în timp ce a doua componentă principală (PC-2) a reprezentat 9% din variație; împreună, primele două componente principale au reprezentat 91% din variabilitatea inițială.

Separarea probelor de miere în funcție de originea botanică este prezentată în figura 2.1., unde tipurile de miere sunt marcate ca: RA - rapiță, T - cimbrisor, P - polifloră, S - floarea soarelui, M - mentă și R - miere de zmeură. După cum se vede în această figură, există trei elipse care reprezintă mierea de rapiță, floarea soarelui și cimbrisor, elipse care nu se suprapun cu alte probe de miere, cu excepția mierii poliflore. În ceea ce privește mierea de mentă și zmeură, se poate observa că elipsa de miere de zmeură este plasată în elipsa de miere de mentă, deci nu se poate observa o separare clară în acest eșantion. Mierea polifloră nu a fost perfect grupată datorită faptului că acest tip de miere are o mare varietate a tipurilor de granule de polen.

După cum se poate observa în figura 2.2, parametrii care se află în elipsa exterioară au o contribuție mai mare la variabilitate decât parametrii situați în elipsa interioară. Probele de miere de rapiță au fost corelate cu valorile L^* , pH, $c^* ab$, $h^* ab$, cu conținutul de turanoză, manoză și cu cel de HMF. Probele de miere de

cimbrisor au fost corelate cu conținutul de trehaloză și mierea de mentă cu acidul cafeic, p-cumaric, vanilic, rozmarinic și conținutul de acid clorogenic. În ceea ce privește parametrii fizico-chimici, se pare că umiditatea este în opoziție cu restul parametrilor.

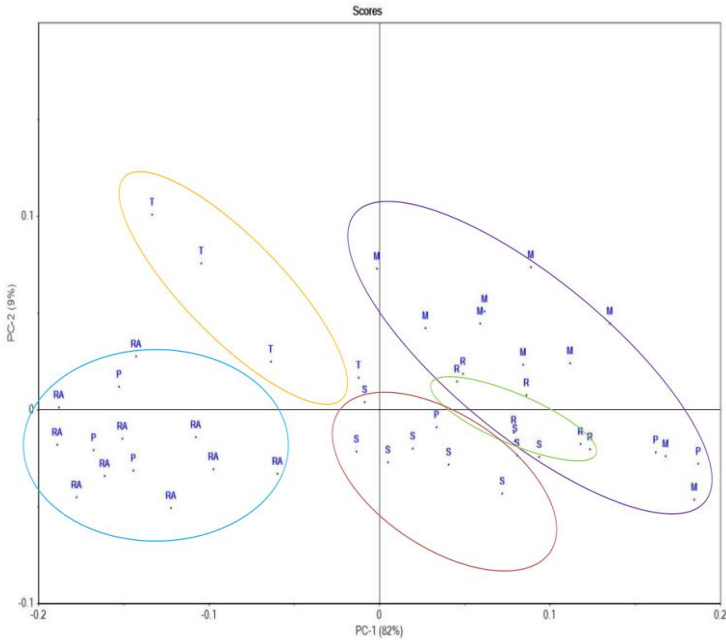


Figura 2.1. Analiza componentelor principale - scoruri: RA - rapiță, T - cimbrisor, P - polifloră, S - floarea soarelui, M - mentă și R - miere de zmeură. Elipsa albastră - grup de miere de rapiță, elipsa galbenă - grup de miere de cimbrisor, elipsa roșie - grup de miere de floarea-soarelui, elipsa verde - grup de miere de zmeură și elipsa violet - grup de miere de mentă

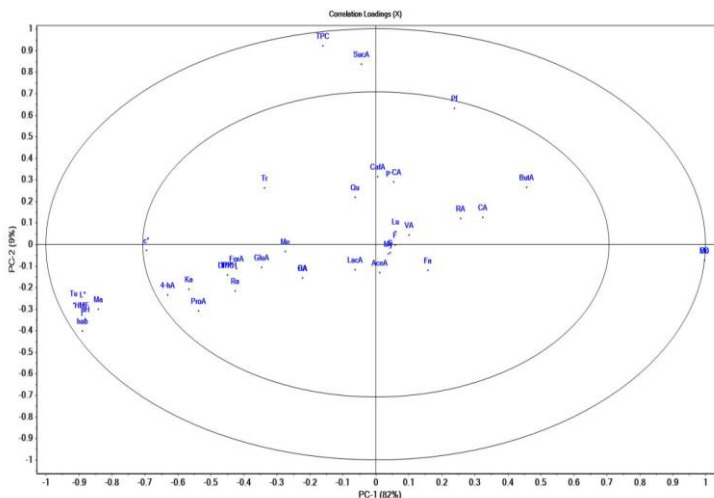


Figura 2.2. Analiza componentelor principale - influența parametrilor: L^* , h^*_{ab} , c^*_{ab} , Pf-culoare Pfund, pH, Fa-aciditate liberă, EC-conductivitate electrică, Mo-umiditate, HMF, TPC-conținutul total de polifenoli, TFC-conținutul total de falvonoide, DPPH, GA-acid galic, PA-acid protocatecuic, 4-hA-4- acid hidroxibenzoic, VA-acid vanilic, CA-acid clorogenic, CafA-acid cafeic, p-CA-acid para-cumarinic, RA-acid rozmarinic, My-miricitină, Qu-quercetină, Lu-Luteolină, Ka-Kampferol, F-conținut de fructoză, G-glucoză, S-sucroză, Tu-turanoză, Ma-manoză, Tr-trehaloză, Me-melezitoză, Ra-rafinoză, GluA-acid gluconic, ForA-acid formic, AcetA-acid acetic, ProA-acid propionic, LacA - acid lactic , ButA - acid butiric, SucA - acid succinic

A existat o diferențiere clară între variabila umiditate (Mo) și grupul variabilei Tu, L^* , Ma, HMF, pH și h^*_{ab} (direcția PC-1) și grupul TPC variabil și SucA (direcția PC-2). Între variabilele de grup din direcția PC-1 (Tu, L^* , Ma, HMF, pH, h^*_{ab} și Ma) nu a existat nici o corelație cu variabilele TPC și SucA. Între Tu, L^* , HMF, pH și h^*_{ab} și variabila umiditate (Mo), a existat o corelație negativă, iar cea mai mare fracție a variației explicate între aceste variabile a fost de 82%. Mai mult, distanța mică dintre Tu, L^* , HMF, Ma și h^*_{ab} a arătat o corelație puternică între variabile.

Analiza PCA a avut rezultate în cazul probelor de miere de rapiță, floarea-soarelui și cimbrisor, în timp ce mierea de mentă și cea de zmeură nu au fost clar separate, dar pentru o mai bună clasificare a mierii necunoscute este necesară creșterea numărului de probe analizate. Aceste rezultate demonstrează că, analiza polinică completată cu determinarea parametrilor fizico-chimici sunt instrumente utile, cu ajutorul cărora se poate identifica originea botanică a mierii de albine.

Capitolul 3, Studiu experimental privind autentificarea mierii după originea botanică utilizând metode potențimetrice, prezintă autentificarea mierii de albine după originea botanică, prin utilizarea unei metode potențimetrice de tipul unei "limbi electronice". Probele au fost autentificate cu ajutorul analizei polinice. Rezultatele analizei melisopalinologice au fost completate de datele obținute cu sistemul electronic de limbă voltametrică.

Un total de 41 de probe de miere monofloră românească de origine botanică diferită (10 probe de mentă, 9 probe de zmeură, 4 probe de cimbrisor, 8 probe de floarea-soarelui și 10 probe de miere de rapiță) au fost utilizate pentru analiză. Probele au fost din producția de miere din anii 2017 și 2018.

După confirmarea originii botanice, realizată prin analiza melisopalinologică, s-a utilizat pentru măsurarea electrochimică un sistem electronic de limbă voltametrică (Metrohm, Filderstadt, Germania) format din electrozi de tip tijă, și anume, un electrod de referință (Ag/AgCl), un electrod auxiliar (grafit) și electrozi de lucru (un electrod de sticlă, Au, Ag, Pt, ZnO și TiO₂) (Metrohm, Filderstadt, Germania). Electrocul de argint (6.1204.130 Ag, Methrom, Filderstadt, Germania), electrocul de platină (6.1204.120 Pt Methrom, Filderstadt, Germania), electrocul de aur (6.1204.140 Au, Methrom, Filderstadt, Germania) și cel de sticlă (6.1204.600 GC, Methrom, Filderstadt, Germania) au diametrul de 2 mm și electrozii de oxid de zinc și dioxid de titan au diametrul de 5 mm (figura 3.1). Electrozii de lucru de Ag, Pt și Au sunt achiziționați și folosiți ca atare în timp ce, cei de ZnO și TiO₂ sunt construiți manual în laborator folosind metoda propusă de Tiwari et al., (2018).

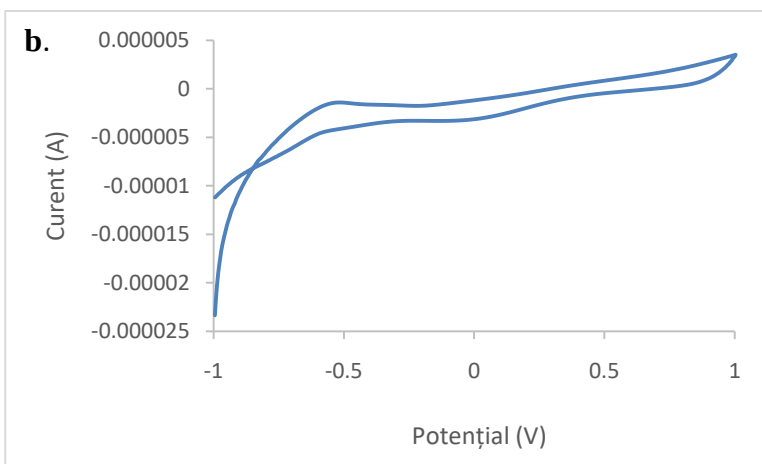
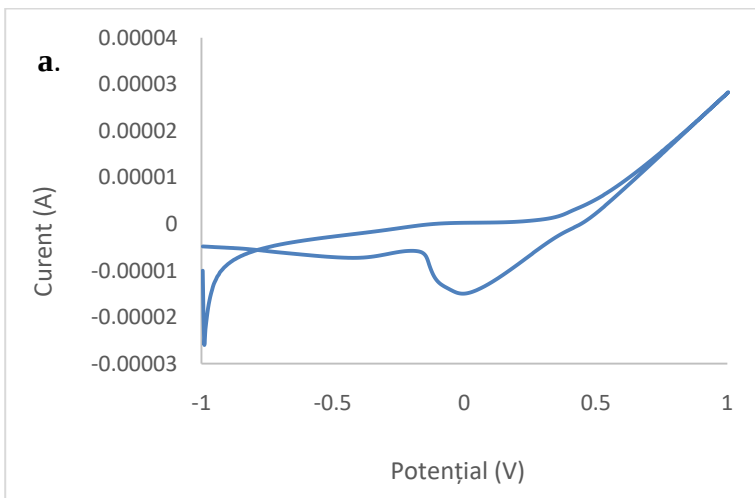


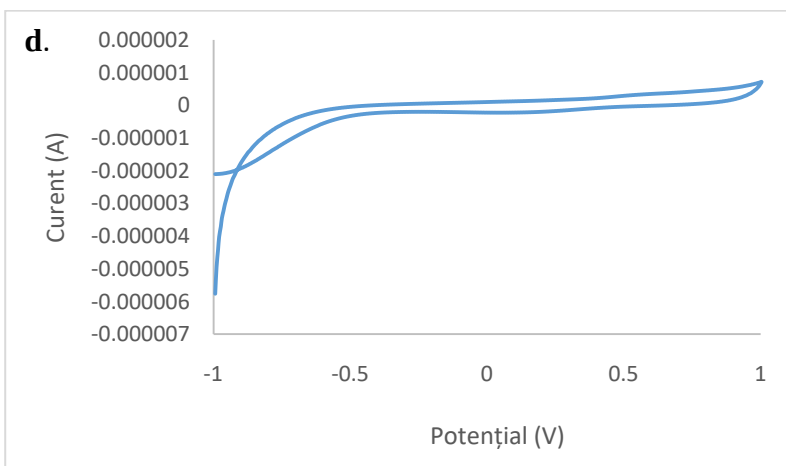
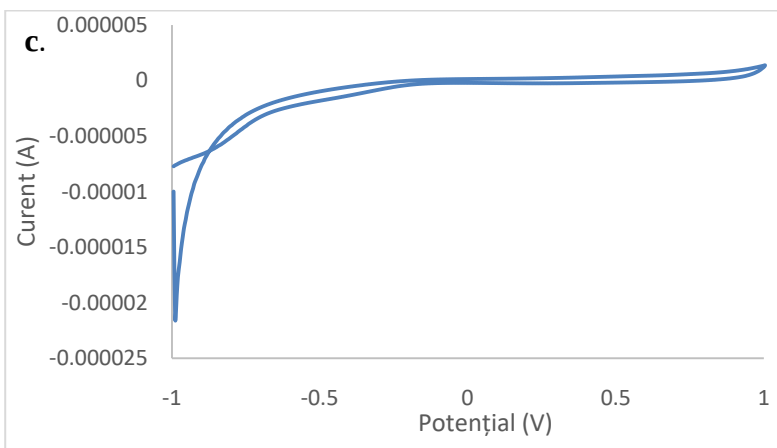
Figura 3.1. Electrozii utilizați pentru măsurare: electrodul de Ag, Pt, Au, sticlă, ZnO și TiO₂

Voltamogramele ciclice pentru mierea de rapiță sunt prezentate în figura 3.2. și au fost obținute cu electrozii de lucru (Au, Ag, Pt, ZnO, TiO₂) și cu un electrod de sticlă. După cum se poate observa din cele șase voltamograme ciclice, intensitatea maximă a fost măsurată folosind dioxidul de titan ca electrod de lucru. Cu toate acestea, curentul a variat foarte mult în funcție de tipul electrozilor de lucru, iar cea mai mică intensitate a fost observată în cazul electrodului de sticlă.

Pot fi observate valori diferite ale intensității curentului în funcție de electrodul de lucru utilizat; cele mai mari valori ale intensității curentului au fost observate în mierea de mentă în cazul electrodului cu dioxid de titan (0,195 mA). Mai mult, în cazul mierii de mentă au fost de asemenea, observate valori mai mari ale intensității curentului pentru electrodul de oxid de zinc (0,136 mA) și electrodul de argint (0,109 mA). Din cele 41 de probe de miere analizate în acest studiu, în 2 probe de miere de rapiță și în 2 probe de miere de zmeură, au fost înregistrate valori mai mari ale intensității curentului cu electrodul de oxid de zinc. În celelalte 37 de probe de miere, valoarea maximă a fost înregistrată pentru electrodul cu dioxid de titan.

În ceea ce privește valoarea intensității curentului, electrodul cu dioxid de titan a fost urmat de oxidul de zinc și electrodul de argint. Cele mai mici valori au fost înregistrate pentru electrodul de sticlă pentru toate probele analizate.





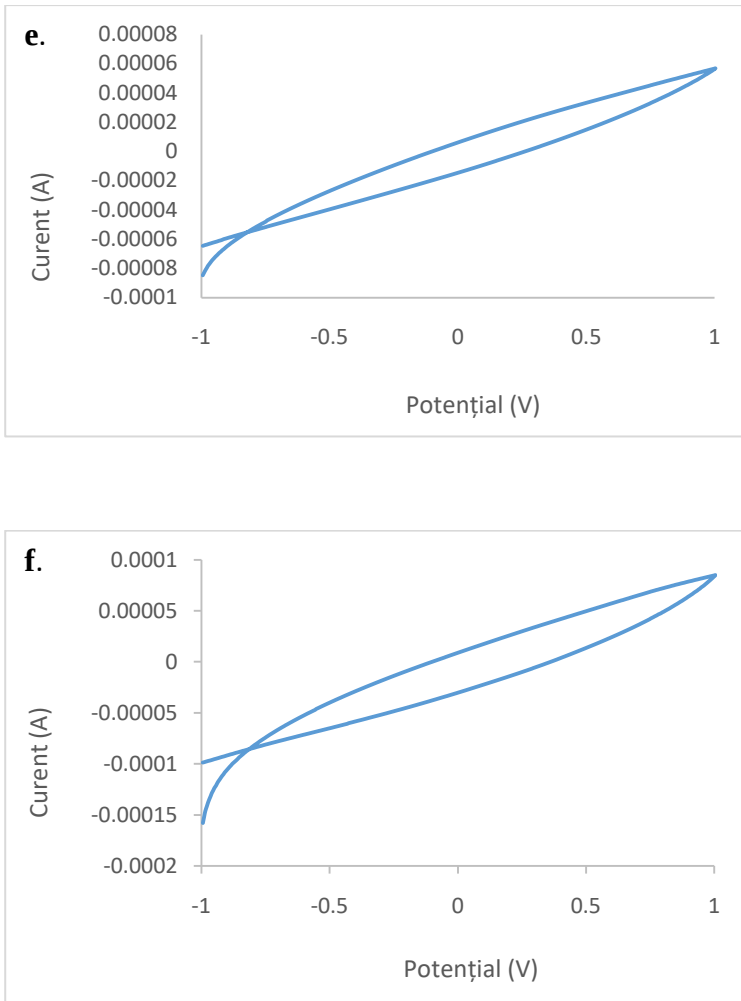


Figura 3.2. Voltamogramele ciclice ale soluțiilor de miere de rapiță folosind diferiți electrozi: a. - electrod de argint, b. - electrod de platină, c. - electrod de aur, d. - electrod de sticlă, e. -electrod de oxid de zinc, f. - electrod de dioxid de titan

Din analiza PCA putem observa că 85% din variație a reprezentat prima componentă principală (PC-1), în timp ce a doua componentă principală (PC-2) a reprezentat 9% din variație; împreună, rezultând un total de 94% din variabilitatea inițială.

În figura 3.3., tipurile de miere sunt marcate ca: RA-zmeură, T-cimbrisor, S-floarea-soarelui, M-mentă și R- miere de rapiță și separarea probelor de miere în grupuri în funcție de originea botanică poate fi ușor observată. Aceste cinci sortimente de miere de origine botanică diferită (mentă, rapiță, floarea-soarelui, cimbrisor și zmeură) sunt foarte bine separate. Un eșantion de miere de zmeură s-ar putea suprapune cu elipsa de miere de floarea soarelui.

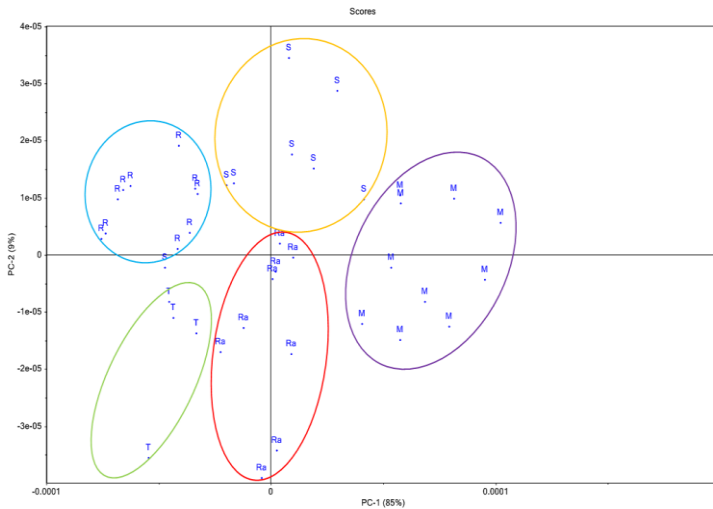


Figura 3.3. Proiecția și reprezentarea probelor: RA-zmeură, T-cimbrisor, S- floarea-soarelui, M-mentă și R-miere de rapiță. Elipsa albastră-grupul de miere de zmeură, elipsa galbenă-grupul de miere de floarea soarelui, elipsa roșie-grupul de miere de rapiță, elipsa verde-grupul de miere de cimbrisor și elipsa mov-grupa de miere de mentă.

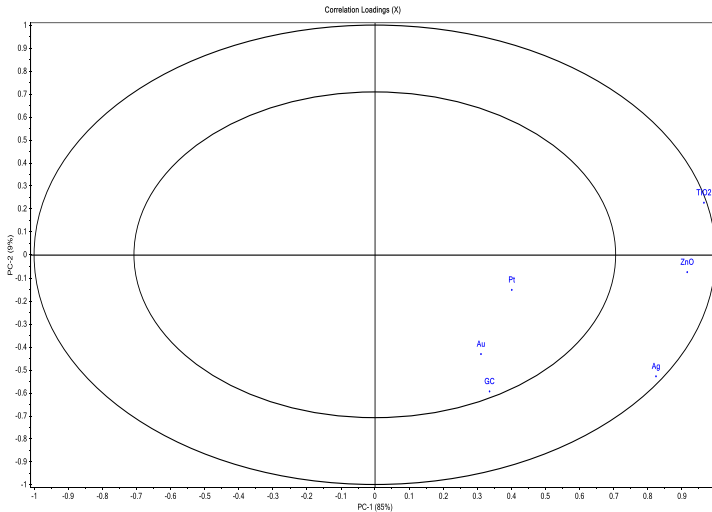


Figura 3.4. Analiza componentelor principale - încărcări: Ag - electrodul de argint, Pt - electrodul de platină, Au - electrodul de aur, GC - electrodul de sticlă, ZnO - electrod de oxid de zinc, TiO₂ - electrod de dioxid de titan

În figura 3.4. parametrii folosiți pentru proiecție sunt prescurtați astfel: Ag -electrodul de argint, Pt - electrodul de platină, Au - electrodul de aur, GC - electrodul de sticlă, ZnO - electrodul de oxid de zinc, TiO₂ - electrodul de dioxid de titan. În această figură se poate observa că parametrii care sunt în elipsa exterioară contribuie mai mult decât parametrii care sunt în elipsa interioară. Distanța mică între TiO₂ și ZnO arată o corelație puternică între aceste două variabile.

Într-un sistem de „limbă electronică” pe bază de voltametrie pentru o identificare mai eficientă, cu o grupare mai bună, a originii botanice pot fi folosiți cu succes electrozii de lucru de argint și de oxid de metal. În cazul electrozilor de platină, aur și sticlă nu s-au observat variații considerabile în funcție de originea botanică a mierii.

Clasificarea mierii în funcție de originea lor botanică a fost supusă analizei LDA pe baza potențialului maxim al fiecărui electrod de lucru utilizat. Folosind această metodă, a fost posibilă evaluarea

capacității unei „limbi electronice” de a prezice corect originea fiecărui tip de miere.

Rezultatele LDA indică că 92,7% din cazurile din probele originale au fost clasificate corect și 85,4% din probele care au fost supuse validării încrucișate u fost clasificate corect. Probele de miere de rapiță și mentă au fost 100% clasificate corect în cazurile originale și de asemenea, în cazul validării încrucișate. Cele mai scăzute cazuri validări au fost observate în cazul probelor de miere de zmeură (66,7%). Separarea grupelor de miere în funcție de originea botanică obținută cu ajutorul LDA este prezentată în figura 3.5.

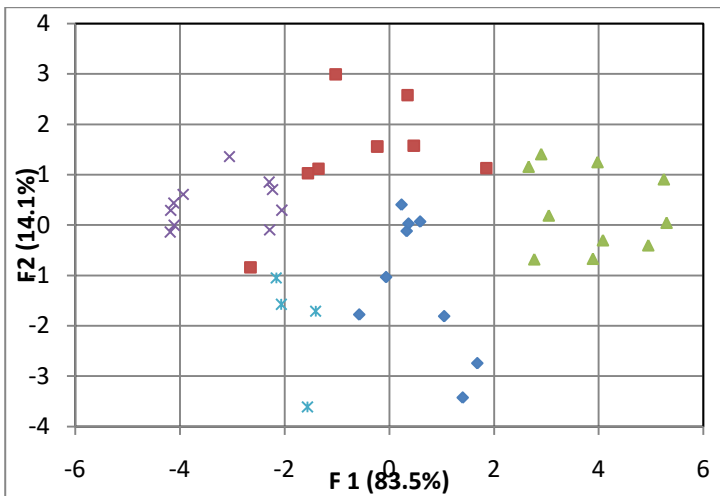


Figura 3.5. Proiecția și reprezentarea probelor în analiza linear discriminantă: romb albastru - zmeură, pătrat roșu - floarea soarelui, triunghi verde - mentă, cruce violet - rapiță, semn de înmulțire albastru - cimbrisor

S-a putut observa că electrozii oxizilor metalici, construiți printr-o metodă simplă dau cele mai bune rezultate, demonstrând o bună diferențiere a probelor de miere în funcție de originea florală. Comparând electrozii oxizilor metalici cu electrozii Au, Pt și sticlă s-a constatat o diferențiere mai bună între cele cinci tipuri florale de

miere în cazul utilizării electrozilor de ZnO și TiO₂. Rezultatele obținute în acest studiu demonstrează utilitatea limbii voltametrice ciclice pentru autentificarea mierii.

Capitolul 4, Studiu experimental privind autentificarea mierii utilizând spectroscopia în infraroșu cu transformată fourier (FT-IR) ATR, demonstrează utilitatea spectroscopia în infraroșu cu transformată fourier (FT-IR) ATR în autentificarea mierii de albine după originea botanică, fiind o tehnică de analiză nedistructivă. 206 probe de miere au fost achiziționate din România și au provenit din producția din 2017 (cimbrisor și mentă), 2018 (zmeură) și 2020 (salcâm, tei, floarea-soarelui și rapiță). Tipurile de miere selectate au fost analizate cu ajutorul metodelor tradiționale distructive (analiza polenului și determinarea parametrilor fizico-chimici ai mierii: conținut de umiditate, pH, aciditate liberă, culoare, conductivitate electrică, conținut de HMF, zaharuri și acizi organici) și prin metoda nedistructivă (FT-IR ATR). Analiza FT-IR a fost utilizată pentru prezicerea parametrilor fizico-chimici studiați utilizând metode statistice și a fost efectuată cu ajutorul unui spectrometru Nicolet iS-20 (Thermo Scientific, Karlsruhe, Dieselstraße, Germania). Analiza melisopalino logică a confirmat că toate tipurile de probe de miere au fost miere monofloră autentică. Pentru a corela informațiile spectrale FT-IR cu parametri fizico-chimici și, prin urmare, a evalua utilitatea FT-IR în analiza calității și autenticității mierii, informațiile spectrale au fost cuplate cu analiza discriminantă liniară, analiza componentelor principale (PCA) și regresia parțială a celor mai mici pătrate (PLS-R).

Pentru probele de miere din acest studiu, umiditatea a variat între o valoare minimă de 17,23% (probele de miere de cimbrisor) și o valoare maximă de 18,82% (probele de miere de floarea-soarelui). Diferența dintre probele de miere în ceea ce privește conținutul de umiditate a fost semnificativă ($p < 0,05$) și am considerat că diferențele în ceea ce privește conținutul de umiditate au fost legate mai mult de perioada de timp în care albinele colectează nectarul, mai degrabă decât de originea sa botanică. pH-ul probelor de miere a variat între 3,92 și 4,83, mierea de cimbrisor fiind cea mai acidă și mierea de tei având cea mai mare valoare a pH-ului. Diferențele de pH ale probelor de miere, determinate de originea botanică, au fost semnificative ($p < 0,001$) și au fost puternic influențate de originea

botanică a nectarului (Sajid et al., 2020). Valorile acidității libere au variat semnificativ în funcție de originea botanică a mierii ($p < 0,001$), cu toate acestea, acest parametru poate fi modificat dacă mierea este păstrată în condiții inadecvate sau procesul de lichefiere este agresiv. În ceea ce privește diferențele observate în valorile de nuanță (h^*_{ab}) și cromă (C^*_{ab}), toate probele de miere au nuanțe galbene, probele de miere de rapiță și salcâm tinzând mai mult spre verde, în timp ce celelalte probe au fost caracterizate de mai multă roșeață.

Conductivitatea electrică a probelor de miere analizate în acest studiu a fost sub $500 \mu\text{S/cm}$ (Bogdanov et al., 1999), astfel încât acestea pot fi clasificate ca miere florală pură, cu excepția mierii de tei. Mierea de tei a avut cea mai mare conductivitate electrică ($511,76 \mu\text{S/cm}$), urmată de mierea de mentă ($466,12 \mu\text{S/cm}$) și mierea de zmeură ($439,25 \mu\text{S/cm}$). Pentru probele de miere analizate în acest studiu, conținutul de HMF a fost sub limită maximă impusă de legislație și a variat semnificativ ($p < 0,001$) între $4,08 \text{ mg/kg}$ (miere de salcâm) și $32,52 \text{ mg/kg}$ (miere de cimbrișor).

În probele analizate în acest studiu cel mai mare conținut de fructoză a fost identificat la mierea de salcâm ($37,05\%$), urmată de mierea de cimbrișor ($36,42\%$), iar cel mai mic procent a fost găsit la mierea de rapiță ($33,97\%$). În cazul glucozei, mierea de rapiță a avut cel mai mare conținut ($31,67\%$), deoarece acest zahar este specific acestui tip de miere. Zaharoza a fost prezentă în cantități mici, cel mai mare procent fiind determinat în mierea de cimbrișor ($0,53\%$).

Dintre acizii organici determinați în miere, cel predominant este acidul gluconic, care provine din glucoz-oxidaza furnizată de albine în timpul procesului de maturare (Da Silva et al., 2016). În probele de miere monofloră cu diferite origini botanice, analizate în acest studiu, acidul organic predominant a fost acidul gluconic, care a fost determinat în cea mai mare concentrație în mierea de zmeură ($4,82 \text{ g/kg}$) și în cea mai mică concentrație în mierea de salcâm ($2,20 \text{ g/kg}$). În comparație cu concentrația de acid gluconic, ceilalți acizi organici determinați în studiul nostru au avut concentrații mult mai mici; cu excepția acidului propionic, care a fost găsit în mierea de mentă și cimbrișor în concentrații de $2,67 \text{ g/kg}$ și respectiv $2,36 \text{ g/kg}$, toți ceilalți acizi organici (acid formic, acetic, lactic, butiric și succinic) au fost determinați în concentrații sub 1 g/kg . Acizii organici au variat semnificativ ($p < 0,01$) între tipurile de miere.

În spectroscopia în infraroșu mediu, regiunea spectrală cuprinsă între 4000 cm^{-1} și 650 cm^{-1} conține informații privind vibrațiile moleculare ale probei analizate și este sensibilă la proprietățile chimice și fizice ale acesteia. Regiunea anomică a glucidelor ($940\text{--}700\text{ cm}^{-1}$) oferă un spectru unic pentru fiecare compus în care poziția și intensitatea benzilor sunt specifice fiecărui zahar (Li-Chan et al., 2011). În această regiune spectrală, benzile au fost atribuite vibrațiilor de îndoire ale grupării C-H și vibrațiilor inelului în structura carbohidraților (Gok et al., 2015; Subari et al., 2012). Prin urmare, regiunea spectrală $1800\text{--}750\text{ cm}^{-1}$ a fost selectată pentru diferențierea cu succes a sortimentelor de miere. Trebuie remarcat faptul că spectroscopia FT-IR este foarte sensibilă la compoziția chimică generală a probei, mai ales atunci când este asociată cu analize statistice multivariate, oferind rezultate fiabile în determinarea originii botanice a mierii (Kasprzyk et al., 2018).

Benzile de la 1175 la 940 cm^{-1} au fost atribuite unor vibrații de întindere ale C–H în carbohidrați, după cum urmează: 1148 cm^{-1} a fost specifică zaharozei, 1087 și 1043 cm^{-1} au fost corelate cu prezența glucozei și fructozei și 983 cm^{-1} și 965 cm^{-1} au fost specifice fructozei din compoziția mierii (Horvatinec & Svečnjak, 2020).

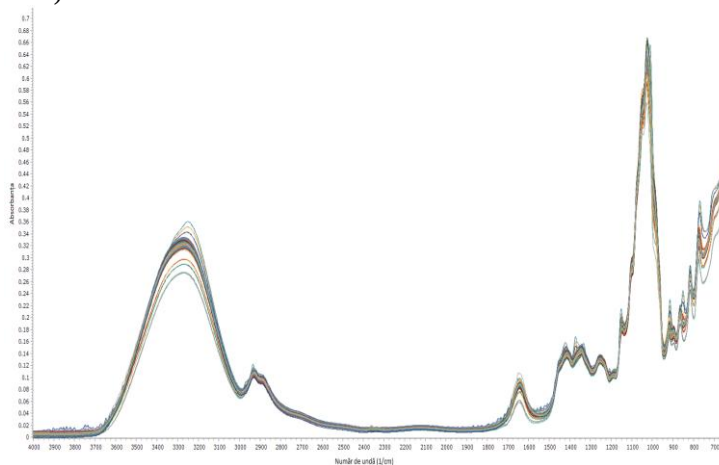


Figura 4.1. Spectrele FT-IR ale probelor de miere de diferite origini botanice: zmeură, mentă, rapiță, floarea-soarelui, cimbrisor, salcâm și miere de tei

În acest studiu, PCA a fost aplicat pentru a analiza și identifica probe de miere care au caracteristici similare dintr-un total de 206 probe de diferite tipuri de miere din diferite regiuni ale României.

Prima componentă majoră (PC-1) a reprezentat 80% din variație, în timp ce a doua componentă majoră (PC-2) a reprezentat 11% din variație; împreună, primele două componente principale au reprezentat 91% din variabilitatea inițială. Separarea probelor de miere în funcție de originea botanică este prezentată în Figura 4.2. În cele două dimensiuni se poate observa o separare clară pentru 5 grupe de miere, și anume miera de mentă, rapiță, salcâm, tei și floarea soarelui, în timp ce probele de miere de cimbrișor și zmeură nu au fost clar separate.

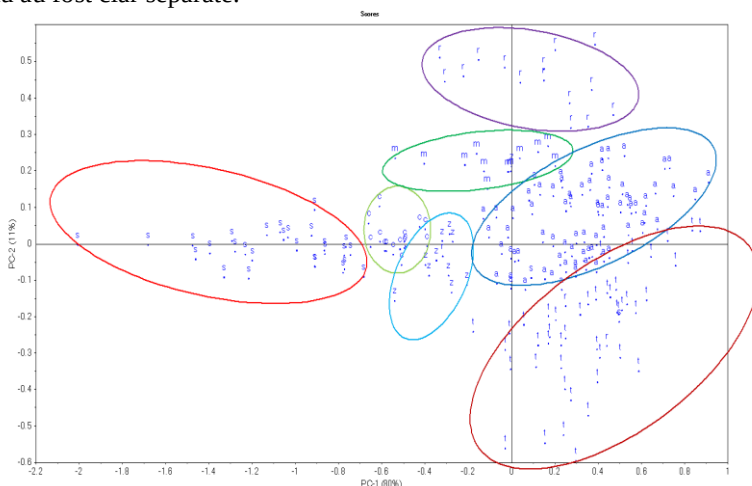


Figura 4.2. Scorurile principale ale analizei componentelor pe baza spectrelor FT-IR corectate cu MSC: a - salcâm, t-tei, s - floarea-soarelui, c - cimbrișor, z - zmeură, m - mentă, r - rapiță

În acest studiu, LDA a fost aplicat pentru a analiza și identifica probe de miere care au caracteristici similare dintr-un total de 206 probe de diferite tipuri de miere. În figura 4.12 este prezentată proiecția analizei discriminare liniare a probelor pe baza metodei covarianței. F1 și F2 au explicat 70,57% din totalul varianței. După cum se poate observa în figura 4.12, există 7 grupuri

separate, fiecare pentru un tip de miere. LDA a obținut 100% precizie, sensibilitate și specificitate în identificarea simultană a mierilor în funcție de originea lor botanică.

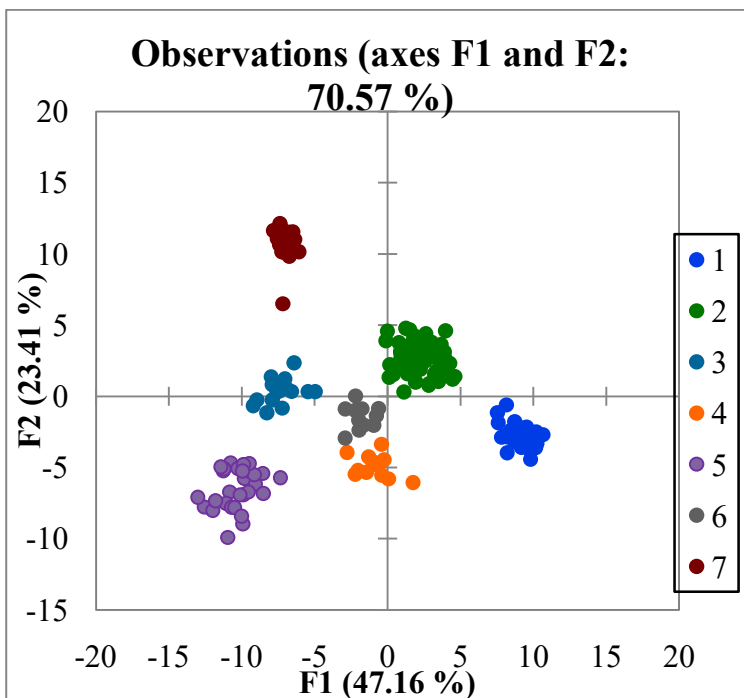


Figura 4.3 Analiza discriminantă a probelor de miere utilizând spectrele FT-IR corectate cu MSC: 1 - tilia, 2 - salcâm, 3 - cimbrișor, 4 - mentă, 5- floarea-soarelui, 6 - zmeură, 7 - rapiță

În cadrul acestui studiu s-au utilizat diferite combinații de intervale spectrale pentru realizarea predicției adecvate a parametrilor studiați (conținut de umiditate, pH, conductivitate electrică, 5-HMF, fructoză, glucoză și zaharoză), după cum urmează: pentru conținut de umiditate $3650\text{-}2840\text{ cm}^{-1}$ și $3650\text{-}2840 + 1810\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ (Shi & Yu, 2017), pentru pH $3700\text{-}2600 + 1900\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ (Węglińska et al., 2020), pentru conductivitate electrică $3700\text{-}600$,

3700-2400 + 1800-700 și 1800-700 cm^{-1} (Svečnjak et al., 2015), pentru aciditate liberă 1710-1010 cm^{-1} (Bureau et al., 2012), pentru 5-HMF 2900-2750 + 1750 -1050 cm^{-1} (Stöbener et al., 2019) și pentru zaharuri (glucoză, fructoză și zaharoză) 3000-2800, 1700-1600, 1540-700, 3000-2800 + 1700-1600 cm^{-1} , 3000-2800 + 1540-700 cm^{-1} , 1700-1600 + 1540-700 cm^{-1} și respectiv 3000-2800 + 1700-1600 + 1540-700 cm^{-1} (Anjos et al., 2015; Gok et al., 2015).

Regresia parțială a celor mai mici pătrate (PLS-R) este o metodă de analiză statistică care poate prezice variabile independente (de exemplu, parametri fizico-chimici) din variabilele dependente (de exemplu, spectrele FT-IR) pe baza dimensionalității setului de date (Wold et al., 2001). Modelul PLS-R poate prezice parametri fizico-chimici utilizând spectrele FT-IR prin reducerea influenței unor numere de undă care pot interfera în performanța modelului. Coeficientul de regresie (R^2) este un număr care indică performanța unui model. După cum se poate observa, tratamentul FT-IR nu este același pentru parametri fizico-chimici studiați. Pentru parametri precum pH-ul, conductivitatea electrică, aciditatea liberă și fructoza, glucoza și zaharoza, cel mai bun tratament a fost SNV combinat cu prima derivată, pentru conținutul de umiditate cel mai bun tratament a fost prima derivată, în timp ce pentru 5-HMF cel mai bun tratament a fost linia de bază.

După cum se poate observa din datele obținute, coeficienții de regresie ai parametrilor fizico-chimici au fost mai mari de 0,889 pentru etapa de calibrare, în timp ce pentru etapa de validare valorile acestui parametru statistic au fost mai mari de 0,801, cu o singură excepție pentru zaharoză unde coeficienții regresiei au fost 0,616 pentru calibrare și 0,617 pentru validare.

Modelul PLS-R a reușit să prezică cu succes parametri fizico-chimici pe baza spectrelor FT-IR, deoarece metodele matematice de pre-procesare aplicate pot reduce influența anumitor zone spectrale care interferează în performanța modelului.

Rezultatele obținute în acest studiu demonstrează că FT-IR este o metodă utilă pentru autentificarea mierii și evaluarea calității și este preferată în analiza mierii datorită avantajelor majore de a fi rapidă și nedistructivă.

Capitolul 5 prezintă *Concluzii generale* ale cercetărilor realizate în această teză de doctorat.

În teza de doctorat intitulată "CERCETĂRI ȘI CONTRIBUȚII PRIVIND AUTENTIFICAREA MIERII DE ALBINE UTILIZÂND TEHNICI INSTRUMENTALE" s-a urmărit ca studiile teoretice și cele experimentale efectuate să contribuie la nivelul actual de dezvoltare și de cunoaștere în domeniul autentificării mierii de albine. Această teză de doctorat subliniază importanța autentificării mierii atât pentru consumatori cât și pentru producători. Din concluziile deja prezentate la finalul fiecărui capitol și din rezultatele obținute prin cercetările efectuate rezultă următoarele concluzii generale:

- Având în vedere proprietățile benefice ale mierii de albine care, pe lângă principala utilizare ca aliment prezintă și efecte antimicrobiene, antiinflamatorii și antioxidante, s-a observat o creștere a studiilor privind autenticitatea sa. Determinarea originii florale a mierii reprezintă un mare interes din punct de vedere economic, întrucât mierea monofloră deține o valoare comercială mai mare decât cea polifloră.
- În vederea stabilirii autenticității mierii s-au utilizat atât tehnici analitice clasice cât și instrumentale.
- Echipamentele din dotarea laboratoarelor Facultății de Inginerie Alimentară au permis realizarea analizelor pentru identificarea sursei florale a probelor de miere.
- Pentru sortimentele de miere studiate (miere de zmeură, mentă, cimbrisor, rapiță, floarea-soarelui, salcâm și tei) sursa botanică a fost confirmată prin analiza polenului. În toate probele de miere monofloră a fost identificat un procent > 45% de granule de polen caracteristic fiecărei surse florale, în funcție de proveniența mierii. În mierea polifloră nu a fost identificată prezența unui tip de polen predominant.
- Mierea monofloră prezintă proprietăți senzoriale, fizico-chimice și melisopalinologice caracteristice sursei botanice de proveniență. Parametrii fizico-chimici (umiditatea, pH-ul, aciditatea liberă, conductivitatea electrică, conținutul de HMF, culoarea, DPPH, conținutul total de polifenoli, conținutul de flavonoide, conținutul de zaharuri, conținutul de polifenoli și conținutul de acizi organici) împreună cu

analiza polenului au indicat autenticitatea probelor de miere de albine studiate.

- Toate probele de miere analizate respectă standardele de calitate, impuse prin legislație, în ceea ce privește conținutul de umiditate, pH, aciditate liberă și conductivitate electrică. În cazul conținutului de HMF, unele probe au depășit limita maximă de 40 mg/kg, permisă de standardele europene (Directiva Consiliului, 2002) și o posibilă cauză ar fi o supraîncălzire a probelor. Conținutul de umiditate este singurul parametru asupra căruia anul producției de miere a avut o influență semnificativă.
- Pe baza rezultatelor obținute prin analizarea parametrilor fizico-chimici și prin utilizarea metodei PCA s-a observat o clasificare exactă în cazul probelor de miere de rapiță, floarea soarelui și cimbrișor, în timp ce mierea de mentă și cea de zmeură nu au fost clar separate, dar pentru o mai bună clasificare a mierii necunoscute este necesară creșterea numărului de probe analizate.
- Cercetările realizate utilizând un sistem de „limbă electronică” voltametrică au arătat că această metodă instrumentală poate fi aplicată într-un mod simplu pentru a autentifica probele de miere în funcție de originea botanică. În ceea ce privește sensibilitatea și precizia de măsurare a electrozilor, electrozii de ZnO și TiO₂, confecționați manual au prezentat cele mai bune rezultate, confirmând utilitatea acestei metode de autentificare. Analiza PCA demonstrează utilitatea sistemului de ”limbă electronică” prin faptul că cele cinci sortimente de miere de origine botanică diferită (mentă, rapiță, floarea-soarelui, cimbrișor și zmeură) au fost foarte bine separate. Pe baza analizei LDA s-a ajuns la concluzia că toate probele de miere de rapiță și mentă au fost clasificate corect (100%), în timp ce probele de miere de zmeură au fost clasificate corect într-un procent de 66,7%.
- Compararea rezultatelor tehnicii de limbă voltametrică electronică cu cele obținute prin analiza melisopalinologică arată că tehnica a reușit să clasifice cu precizie 92,7% din cazurile grupate inițial. Astfel, similitudinea rezultatelor confirmă capacitatea tehnicii de limbă voltametrică

electronică de a efectua o caracterizare rapidă a probelor de miere, ceea ce completează avantajele sale de a fi o metodă de analiză ușor de utilizat și ieftină

- Analiza nedistructivă FT-IR ATR în combinație cu parametrii fizico-chimici au fost, de asemenea instrumente importante în confirmarea autenticității și calității mierii. Din spectrele FT-IR ale probelor de miere, a avut o mare importanță regiunea anomeră a carbohidraților ($940 - 700 \text{ cm}^{-1}$) care servește la diferențierea probelor de miere.
- Benzile caracteristice carbohidraților și parametrii fizico-chimici au fost utilizate pentru a supune informațiile spectrale analizei statistice (PCA și PLS-R). PCA a prezentat o separare clară pentru 5 grupuri de miere, și anume mierea de mentă, rapiță, salcâm, tei și floarea soarelui, în timp ce mierea de cimbrișor și zmeură nu a fost separată în mod clar.
- Modelul PLS-R a reușit să prezică cu succes parametrii fizico-chimici pe baza spectrelor FT-IR. Pentru parametrii precum pH-ul, conductivitatea electrică, aciditatea liberă și zaharuri (fructoza, glucoza și zaharoza), cel mai bun tratament a fost SNV combinat cu prima derivată, pentru conținutul de umiditate cel mai bun tratament a fost prima derivată, în timp ce pentru 5-HMF cel mai bun tratament a fost linia de bază.
- Rezultatele obținute au demonstrat că FT-IR este o metodă utilă pentru autentificarea mierii și evaluarea calității și este preferată în analiza mierii datorită avantajelor majore de a fi rapidă și nedistructivă.

Contribuția originală a tezei la stadiul actual al cercetărilor în domeniul autentificării mierii de albine după originea botanică este reprezentată de analiza unor sortimente de miere considerate rare în România (mentă, zmeură și cimbrișor) și de faptul că această lucrare este primul studiu complex care vizează autentificarea mierii românești utilizând un sistem de „limbă electronică” voltametrică și spectroscopia FT-IR.

Diseminarea rezultatelor cercetărilor

Rezultatele cercetărilor experimentale efectuate în cadrul obiectivelor stabilite pentru teza de doctorat au fost valorificate prin publicarea a 4 articole științifice în reviste de specialitate internaționale și a 5 articole în reviste în domeniul tezei din țară, recunoscute CNC SIS.

A. Articole publicate în reviste indexate ISI Web of Knowledge

1. **Pauliuc, D.**, Dranca F., Oroian M., 2020. Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, Individual Phenolics and Physicochemical Parameters Suitability for Romanian Honey Authentication. *Foods*, 9(3), 306; DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9030306> (factor de impact 4.092), <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/3/306> - **articol Q1**
2. **Pauliuc D.**, Dranca F., Oroian M., 2020. Raspberry, Rape, Thyme, Sunflower and Mint Honeys Authentication Using Voltammetric Tongue. *Sensors*, 20(9), 2565; DOI: <https://doi.org/10.3390/s20092565> (factor de impact 3.275), <https://www.mdpi.com/1424-8220/20/9/2565> - **articol Q1**
3. **Pauliuc, D.**, Oroian, M., Ciursă, P., 2021. Organic acids content, sugars content and physicochemical parameters of Romanian acacia honey. *Ukrainian Food Journal*, 158, DOI: 10.24263/2304-974X-2021-10-1-14; <http://ufj.ho.ua/Archiv/UKRAINIAN%20FOOD%20JOURNAL%202021%20V.10%20Is.1.pdf#page=158>
4. **Pauliuc, D.**, Ciursă, P., Ropciuc, S., Dranca, F., Oroian, M., 2021. Physicochemical parameters prediction and authentication of different monofloral honeys based on FTIR spectra. *Journal of Food Composition and Analysis*. (factor de impact 3.721), <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104021>, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S089157521002210>, **articol Q1**

5. Ciursă, P., **Pauliuc, D.**, Ropciuc, S., Dranca, F., Oroian, M., 2021. Detection of honey adulterated with agave, corn, inverted sugar, maple and rice syrups using FTIR analysis. Food Control DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108266> (factor de impact 4.258). - **articol Q1** <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713521004047>

B. Articole publicate în reviste indexate în Baze de Date Internaționale (BDI)

1. **Pauliuc, D.**, Oroian M., 2019. Physico-chemical parameters of romanian raspberry honey. *Food and Environment Safety Journal*, 18(4), <http://fia-old.usv.ro/fiajournal/index.php/FENS/article/view/688>
2. Oroian M., Paduret S., Ciursa P., **Pauliuc D.**, 2019. Influence of different adulteration agents (glucose, fructose, inverted sugar, hydrolysed syrup and malt wort syrups) on honey textural properties. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM*, 19(6.3), 111-118. DOI:10.5593/sgem2019V/6.3/S08.015, <https://www.proquest.com/openview/bc96c07b80aa198789a365c23ed84d09/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1536338>
3. **Pauliuc D.**, Oroian M., 2020. [Organic acids and physico-chemical parameters of romanian sunflower honey](http://fia-old.usv.ro/fiajournal/index.php/FENS/article/view/720). *Food and Environment Safety Journal*, 19(2), <http://fia-old.usv.ro/fiajournal/index.php/FENS/article/view/720>
4. **Pauliuc D.**, Oroian M., 2020. Sugars content and physicochemical parameters of romanian rape honey. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, Vol. XXIV,

No. 2, 2020ISSN 2285-1364,
http://biotechnologyjournal.usamv.ro/pdf/2020/issue_2/Art9.pdf

5. **Pauliuc, D.**, Ciursa, P., Dranca, F., Ropciuc, S., & Oroian, M., 2021. Tilia honey's fructose, glucose and sucrose content prediction using FT-IR spectra with partial least squares regression. *Food and Environment Safety Journal*, 19(4), <http://fia-old.usv.ro/fiajournal/index.php/FENS/article/view/748/0>

C. Lucrări comunicate la manifestări științifice internaționale

1. **Pauliuc, D.**, Oroian, M., 2020. Sugars content and physicochemical parameters of romanian rape honey, Conferința „Agriculture for life, life for agriculture”, București, iunie 2020.
2. **Pauliuc, D.**, Oroian, M., 2020. Physico-chemical properties of acacia honey, Conferința internațională „Student in Bucovina”, Suceava, 18 decembrie 2020.
3. **Pauliuc, D.**, Ciursă, P., Oroian, M., 2021. 87 International scientific conference of young scientists and students "Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution", April 15-16, 2021, Ukraine, Kyiv National University of Food Technologies.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Alqarni, A. S., Owayss, A. A., & Mahmoud, A. A. (2016). Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(1), 114-120.
- Anjos, O., Santos, A. J., Dias, T., & Estevinho, L. M. (2017). Application of FT-IR-ATR spectroscopy on the bee pollen characterization. *Journal of Apicultural Research*, 56(3), 210-218.
- Badjah-Hadj-Ahmed, A.Y., Wabaidur, S.M., Siddiqui, M.R., Alothman, Z.A., Obeid, M.S., Khan, M.R., and Al-Tamrah, S.A. (2016) Simultaneous determination of twenty-five polyphenols in multifloral and cactus honeys using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. *Eur. Food Res. Technol.*, 242: 943–952.
- Ballabio, D., Robotti, E., Grisoni, F., Quasso, F., Bobba, M., Vercelli, S., Gosetti, F., Calabrese, G., Sangiorgi, E., Orlandi, M., Marengo, E., 2018. Chemical profiling and multivariate data fusion methods for the identification of the botanical origin of honey. *Food Chem.* 266, 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.084>
- Bogdanov, S., & Martin, P. (2002). Honey authenticity. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 93(3), 232-254.
- Bogdanov, S., Haldimann, M., Luginbühl, W., & Gallmann, P. (2007). Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Journal of Apicultural Research*, 46(4), 269-275.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), 677-689.
- Bogdanov, S., Lullmann, C., Mossel, B. L., D'arcy, B. R., Russmann, H., Vorwohl, G., & Flamini, C. (1999). Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: review of the work of the International Honey Commission. *Mitt. Lebensm. Hyg.*, 90, 108-125.
- Bogdanov, S., Martin, P., & Lullmann, C. (2002). Harmonised

- methods of the international honey commission. *Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld*.
- Bogdanov, Stefan, Lüllmann, C., Martin, P., von der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., Oddo, L.P., Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L., Piro, R., Flamini, C., Morlot, M., Lhéritier, J., Borneck, R., Marioleas, P., Tsigouri, A., Kerkvliet, J., Ortiz, A., Ivanov, T., D'Arcy, B., Mossel, B., Vit, P., 1999. Honey quality and international regulatory standards: Review by the international honey commission. *Bee World* 80, 61–69. <https://doi.org/10.1080/0005772x.1999.11099428>
- Bonvehi, J. S., Coll, F. V., & Bermejo, J. O. (2019). Characterization of avocado honey (*Persea americana* Mill.) produced in Southern Spain. *Food chemistry*, 287, 214-221.
- Boussaid, A., Chouaibi, M., Rezig, L., Hellal, R., Donsi, F., Ferrari, G., & Hamdi, S. (2018). Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(2), 265-274.
- Brugnerotto, P., Della Betta, F., Gonzaga, L. V., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2019). A capillary electrophoresis method to determine aliphatic organic acids in bracinga honeydew honey and floral honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103243.
- Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T., Afrin, S., Gasparri, M., Reboredo-Rodríguez, P., Manna, P., Zhang, J., Bravo Lamas, L., Martínez Flórez, S., Agudo Toyos, P., Quiles, J., Giampieri, F., Battino, M., 2018. Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. *Molecules* 23, 2322. <https://doi.org/10.3390/molecules23092322>
- Codex Alimentarius Commission. (2001). *Codex alimentarius: fats, oils and related products* (Vol. 8). FAO.
- Codex Alimentarius, 2001. *Codex Alimentarius standard for honey 12-1981. Revised Codex standard for honey. Standards and standard methods* (Vol. 11).
- COUNCIL, E. U., Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey, *Official Journal of the European Communities L*, 10, 47-52, (2002)
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and

- authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.
- Dinkov, D., Stratev, D., Balkanska, R., & Sergelidis, D. (2016). Antibacterial activity of royal jelly and rape honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Food and Health*, 2(2), 67-73.
- do Nascimento, K. S., Sattler, J. A. G., Macedo, L. F. L., González, C. V. S., de Melo, I. L. P., da Silva Araújo, E., ... & de Almeida-Muradian, L. B. (2018). Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. *LWT*, 91, 85-94.
- Đogo Mračević, S., Krstić, M., Lolić, A., Ražić, S., 2020. Comparative study of the chemical composition and biological potential of honey from different regions of Serbia. *Microchem. J.* 152, 104420. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104420>
- El Hassani, N. E. A., Tahri, K., Llobet, E., Bouchikhi, B., Errachid, A., Zine, N., & El Bari, N. (2018). Emerging approach for analytical characterization and geographical classification of Moroccan and French honeys by means of a voltammetric electronic tongue. *Food chemistry*, 243, 36-42.
- Elamine, Y., Inácio, P. M., Lyoussi, B., Anjos, O., Estevinho, L. M., da Graça Miguel, M., & Gomes, H. L. (2019). Insight into the sensing mechanism of an impedance based electronic tongue for honey botanic origin discrimination. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 285, 24-33.
- El-Sofany, A., Naggar, Y. A., Naiem, E., Giesy, J. P., & Seif, A. (2020). Authentication of the botanical and geographic origin of Egyptian honey using pollen analysis methods. *Journal of Apicultural Research*, 1-10.
- Escriche, I., Sobrino-Gregorio, L., Conchado, A., & Juan-Borrás, M. (2017). Volatile profile in the accurate labelling of monofloral honey. The case of lavender and thyme honey. *Food chemistry*, 226, 61-68.
- EU Council, n.d. Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey.
- FAO, F. (2014). Agriculture Organization of the United Nations. FAO Statistics Division. *FAO Statistical yearbook*.
- Fechner, D.C., Moresi, A.L., Ruiz Díaz, J.D., Pellerano, R.G., Vazquez, F.A., 2016. Multivariate classification of honeys

- from Corrientes (Argentina) according to geographical origin based on physicochemical properties. *Food Biosci.* 15, 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.05.002>
- Gašić, U. M., Milojković-Opsenica, D. M., & Tešić, Ž. L. (2017). Polyphenols as possible markers of botanical origin of honey. *Journal of AOAC International*, 100(4), 852-861.
- Geana, E.I., Ciucure, C.T., 2020. Establishing authenticity of honey via comprehensive Romanian honey analysis. *Food Chem.*, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125595>
- Gül, A., & Pehlivan, T. (2018). Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey. *Saudi journal of biological sciences*, 25(6), 1056-1065.
- Horvatinec, J., Svečnjak, L., 2020. Infrared (FT-IR) spectral features of honey bee (*apis mellifera* L.) hemolymph. *J. Cent. Eur. Agric.* 21, 37–41. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/21.1.2741>
- Horvatinec, J., Svečnjak, L., 2020. Infrared (FT-IR) spectral features of honey bee (*apis mellifera* L.) hemolymph. *J. Cent. Eur. Agric.* 21, 37 41. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/21.1.2741>
- Huang, F., Song, H., Guo, L., Guang, P., Yang, X., Li, L., Zhao, H., Yang, M., 2020. Detection of adulteration in Chinese honey using NIR and ATR-FT-IR spectral data fusion. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 235, 118297. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118297>
- Ibrahimi, H., & Hajdari, A. (2020). Phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Kosovo. *Journal of Apicultural Research*, 59(4), 452-457.
- Isopescu, R. D., Josceanu, A. M., Colta, T., & Spulber, R. (2017). Romanian Honey: Characterization and Classification. *Honey Analysis*, 27.
- Kamboj, R., Nayik, G. A., Bera, M. B., & Nanda, V. (2020). Sugar profile and rheological behaviour of four different Indian honey varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 1-9.
- Kasprzyk, I., Depciuch, J., Grabek-Lejko, D., & Parlinska-Wojtan, M. (2018). FT-IR-ATR spectroscopy of pollen and honey as a tool for unifloral honey authentication. The case study of rape honey. *Food Control*, 84, 33-40.
- Kavanagh, S., Gunnoo, J., Passos, T. M., Stout, J. C., & White, B. (2019). Physicochemical properties and phenolic content of

- honey from different floral origins and from rural versus urban landscapes. *Food chemistry*, 272, 66-75.
- Kędzierska-Matyssek, M., Florek, M., Wolanciuk, A., Skąlecki, P., & Litwińczuk, A. (2016). Characterisation of viscosity, colour, 5-hydroxymethylfurfural content and diastase activity in raw rape honey (*Brassica napus*) at different temperatures. *Journal of food science and technology*, 53(4), 2092-2098.
- Kilic, O., Kutlu, M. A., & Ozdemir, F. A. (2016). Pollen analysis of honey from the Hizan District of Bitlis Province, eastern region of Turkey. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 6, 324-331.
- Kıvrak, Ş. (2017). Analysis of amino acid and phenolic content in honey by UPLC-ESI-MS/MS. In *Honey Analysis*. IntechOpen.
- Kozłowicz, K., Różyło, R., Gładyszewska, B., Matwijczuk, A., Gładyszewski, G., Chocyk, D., Samborska, K., Piekut, J., Smolewska, M., 2020. Identification of sugars and phenolic compounds in honey powders with the use of GC-MS, FT-IR spectroscopy, and X-ray diffraction. *Sci. Rep.* 10, 16269. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73306-7>
- Li, Q., Zeng, J., Lin, L., Zhang, J., Zhu, J., Yao, L., Wang, S., Yao, Z., Wu, Z., 2020. Low risk of category misdiagnosis of rice syrup adulteration in three botanical origin honey by ATR-FT-IR and general model. *Food Chem.* 332, 127356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127356>
- Makhlouf-Gafsi, I., Baklouti, S., Mokni, A., Danthine, S., Attia, H., Blecker, C., ... & Masmoudi, M. (2016). Effect of ultrafiltration process on physico-chemical, rheological, microstructure and thermal properties of syrups from male and female date palm saps. *Food chemistry*, 203, 175-182.
- Manzanares, A. B., García, Z. H., Galdón, B. R., Rodríguez-Rodríguez, E. M., & Romero, C. D. (2017). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of monofloral honeys from Tenerife, Spain. *Food Chemistry*, 228, 441-446.
- Marcucci, M. C., Toledo, D. B., Christine, A., Sawaya, H. F., López, B. G. C., Gonçalves, I. D., ... & Gonçalves, C. P. (2019). Quality control parameters, antioxidant activity and chemometrics of Brazilian honey. *Electronic Journal of*

- Biology*, 15(1), 010-19.
- Matović, K., Ćirić, J., Kaljević, V., Nedić, N., Jevtić, G., Vasković, N., & Baltić, M. Ž. (2018). Physicochemical parameters and microbiological status of honey produced in an urban environment in Serbia. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(14), 14148-14157.
- Mădaş, N.M., Mărghitaş, L.A., Dezmirean, D.S., Bonta, V., Bobiş, O., Fauconnier, M. L., Francis, F., Haubruge, E., Nguyen, K.B., 2019. Volatile Profile and Physico Chemical Analysis of Acacia Honey for Geographical Origin and Nutritional Value Determination. *Foods* 8, 445. <https://doi.org/10.3390/foods8100445>
- Meo, S.A., Al-Asiri, S.A., Mahesar, A.L., Ansari, M.J., 2017. Role of honey in modern medicine. *Saudi J. Biol. Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>
- Mesele, T.L., 2020. Review on physico-chemical properties of honey in Eastern Africa. *J. Apic. Res.* <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1754566>
- Minaei, S., Shafiee, S., Polder, G., Moghadam-Charkari, N., van Ruth, S., Barzegar, M., & Kuś, P. M. (2017). VIS/NIR imaging application for honey floral origin determination. *Infrared Physics & Technology*, 86, 218-225.
- Moujanni, A., Partida, L., Essamadi, A. K., Hernanz, D., Heredia, F. J., & Terrab, A. (2018). Physicochemical characterization of unique unifloral honey: *Euphorbia resinifera*. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 27-35.
- Mračević, S. Đ., Krstić, M., Lolić, A., & Ražić, S. (2020). Comparative study of the chemical composition and biological potential of honey from different regions of Serbia. *Microchemical Journal*, 152, 104420.
- Nascimento, K.S. do, Gasparotto Sattler, J.A., Lauer Macedo, L.F., Serna González, C.V., Pereira de Melo, I.L., da Silva Araújo, E., Granato, D., Sattler, A., de Almeida Muradian, L.B., 2018. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. *LWT - Food Sci. Technol.* 91, 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.016>
- Nešović, M., Gašić, U., Tosti, T., Trifković, J., Baošić, R., Blagojević, S., Ignjatović, L., Tešić, Ž., 2020.

- Physicochemical analysis and phenolic profile of polyfloral and honeydew honey from Montenegro. *RSC Adv.* 10, 2462–2471. <https://doi.org/10.1039/c9ra08783d>
- Nguyen, H. T. L., Panyoyai, N., Paramita, V. D., Mantri, N., & Kasapis, S. (2018). Physicochemical and viscoelastic properties of honey from medicinal plants. *Food chemistry*, 241, 143-149.
- Önür, İ., Misra, N. N., Barba, F. J., Putnik, P., Lorenzo, J. M., Gökmen, V., & Alpas, H. (2018). Effects of ultrasound and high pressure on physicochemical properties and HMF formation in Turkish honey types. *Journal of Food Engineering*, 219, 129-136.
- Oroian, M., & Ropciuc, S. (2017). Honey authentication based on physicochemical parameters and phenolic compounds. *Computers and Electronics in Agriculture*, 138, 148-156.
- Oroian, M., & Ropciuc, S. (2019). Romanian honey authentication using voltammetric electronic tongue. Correlation of voltammetric data with physico-chemical parameters and phenolic compounds. *Computers and electronics in agriculture*, 157, 371-379.
- Oroian, M., Amariei, S., Escriche, I., & Gutt, G. (2013). A viscoelastic model for honeys using the time–temperature Superposition Principle (TTSP). *Food and bioprocess technology*, 6(9), 2251-2260.
- Oroian, M., Amariei, S., Escriche, I., & Gutt, G. (2013). Rheological aspects of Spanish honeys. *Food and bioprocess technology*, 6(1), 228-241.
- Oroian, M., Amariei, S., Escriche, I., Leahu, A., Damian, C., & Gutt, G. (2014). Chemical composition and temperature influence on the rheological behaviour of honeys. *International journal of food properties*, 17(10), 2228-2240.
- Oroian, M., Amariei, S., Rosu, A., & Gutt, G. (2015) Classification of unifloral honeys using multivariate analysis. *Journal of Essential Oil Research*, 27(6), 533-544.
- Oroian, M., Prisacaru, A., Hretcanu, E. C., Stroe, S. G., Leahu, A., & Buculei, A. (2016). Heavy metals profile in honey as a potential indicator of botanical and geographical origin. *International journal of food properties*, 19(8), 1825-1836.

- Oroian, M., Ropciuc, S., 2017. Honey authentication based on physicochemical parameters and phenolic compounds. *Comput. Electron. Agric.* 138, 148–156. <https://doi.org/10.1016/J.COMPAG.2017.04.020>
- Oroian, M., Ropciuc, S., Buculei, A., 2017a. Romanian honey authentication based on physico-chemical parameters and chemometrics. *J. Food Meas. Charact.* 11, 719–725. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9441-x>
- Oroian, M., Ropciuc, S., Paduret, S., Sanduleac, E.T., 2017b. Authentication of Romanian honeys based on physicochemical properties, texture and chemometric. *J. Food Sci. Technol.* 54, 4240–4250. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2893-0>
- Oroian, M., & Ropciuc, S. (2018)a. Botanical authentication of honeys based on Raman spectra. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1), 545-554.
- Oroian, M., Ropciuc, S., & Paduret, S. (2018)b. Honey adulteration detection using Raman spectroscopy. *Food analytical methods*, 11(4), 959-968.
- Ouradi, H., Hanine, H., Fauconnier, M. L., Kenne, T., Rizki, H., Ennahli, S., & Hssaini, L. (2021). Determination of physico-biochemical proprieties and composition in volatile constituents by solid phase micro-extraction of honey samples from different botanical and geographical origins in Morocco. *Journal of Apicultural Research*, 60(1), 84-98.
- Özcelik, S., Kuley, E., & Özogul, F. (2016). Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria. *LWT*, 73, 536-542.
- Pascual-Maté, A., Osés, S. M., Fernández-Muiño, M. A., & Sancho, M. T. (2018). Analysis of polyphenols in honey: Extraction, separation and quantification procedures. *Separation & Purification Reviews*, 47(2), 142-158.
- Pasupuleti, V. R., & Arigela, C. S. (2020). Polyphenols and Flavonoids from Honey: A Special Focus on Diabetes. In *Natural Materials and Products from Insects: Chemistry and Applications* (pp. 1-20). Springer, Cham.
- Pauliuc, D., Dranca F., Oroian M., 2020. Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, Individual Phenolics and Physicochemical Parameters Suitability for Romanian Honey Authentication.

- Foods*, 9(3), 306; DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9030306>, <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/3/306>
- Pauliuc D., Dranca F., Oroian M., 2020. Raspberry, Rape, Thyme, Sunflower and Mint Honeys Authentication Using Voltammetric Tongue. *Sensors*, 20(9), 2565; DOI: <https://doi.org/10.3390/s20092565>, <https://www.mdpi.com/1424-8220/20/9/2565>
- Pauliuc, D., Oroian, M., Ciursă, P., 2021. Organic acids content, sugars content and physicochemical parameters of Romanian acacia honey. *Ukrainian Food Journal*, 158, DOI: 10.24263/2304
- Pauliuc, D., Ciursă, P., Ropciuc, S., Dranca, F., Oroian, M., 2021. Physicochemical parameters prediction and authentication of different monofloral honeys based on FTIR spectra. *Journal of Food Composition and Analysis*
- Pauliuc, D., Oroian M., 2019. Physico-chemical parameters of romanian raspberry honey. *Food and Environment Safety Journal*, 18(4), <http://fia-old.usv.ro/fiajournal/index.php/FENS/article/view/688>
- Pauliuc D., Oroian M., 2020. [Organic acids and physico-chemical parameters of romanian sunflower honey](http://fia-old.usv.ro/fiajournal/index.php/FENS/article/view/720). *Food and Environment Safety Journal*, 19(2), <http://fia-old.usv.ro/fiajournal/index.php/FENS/article/view/720>
- Pauliuc D., Oroian M., 2020. Sugars content and physicochemical parameters of romanian rape honey. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, Vol. XXIV, No. 2, 2020ISSN 2285-1364, http://biotechnologyjournal.usamv.ro/pdf/2020/issue_2/Art9.pdf
- Rajs, B.B., Flanjak, I., Mutić, J., Vukojević, V., Đurđić, S., Primorac, L., 2017. Characterization of Croatian Rape (*Brassica* sp.) Honey by Pollen Spectrum, Physicochemical Characteristics, and Multielement analysis by ICP-OES. *J. AOAC Int.* 100, 881–888. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0147>
- Rodríguez, I., Cámara-Martos, F., Flores, J. M., & Serrano, S. (2019). Spanish avocado (*Persea americana* Mill.) honey: Authentication based on its composition criteria, mineral content and sensory attributes. *LWT*, 111, 561-572
- Sajid, M., Yamin, M., Asad, F., Yaqub, S., Ahmad, S., Mubarik,

- M.A.M.S., Ahmad, B., Ahmad, W., Qamer, S., 2020. Comparative study of physio-chemical analysis of fresh and branded honeys from Pakistan. *Saudi J. Biol. Sci.* 27, 173–176. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.014>
- Sakač, M. B., Jovanov, P. T., Marić, A. Z., Pezo, L. L., Kevrešan, Ž. S., Novaković, A. R., & Nedeljković, N. M. (2019). Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia). *Food chemistry*, 276, 15-21.
- Salonen, A., Virjamo, V., Tammela, P., Fauch, L., & Julkunen-Tiitto, R. (2017). Screening bioactivity and bioactive constituents of Nordic unifloral honeys. *Food chemistry*, 237, 214-224.
- Scholz, M.B. dos S., Quinhone Júnior, A., Delamuta, B.H., Nakamura, J.M., Baudraz, M.C., Reis, M.O., Kato, T., Pedrão, M.R., Dias, L.F., dos Santos, D.T.R., Kitzberger, C.S.G., Bianchini, F.P., 2020. Indication of the geographical origin of honey using its physicochemical characteristics and multivariate analysis. *J. Food Sci. Technol.* 57, 1896–1903. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04225-3>
- Se, K.W., Ghoshal, S.K., Wahab, R.A., Ibrahim, R.K.R., Lani, M.N., 2018a. A simple approach for rapid detection and quantification of adulterants in stingless bees (*Heterotrigona itama*) honey. *Food Res. Int.* 105, 453–460. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.012>
- Se, K.W., Ibrahim, R.K.R., Wahab, R.A., Ghoshal, S.K., 2018b. Accurate evaluation of sugar contents in stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey using a swift scheme. *J. Food Compos. Anal.* 66, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.002>
- Seraglio, S.K.T., Bergamo, G., Brugnerotto, P., Gonzaga, L.V., Fett, R., Costa, A.C.O., 2020. Aliphatic organic acids as promising authenticity markers of bracatinga honeydew honey. *Food Chem.* 128449. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128449>
- Shapla, U.M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M.I., Gan, S.H., 2018. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chem. Cent. J.* <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0408-3>

- She, S., Chen, L., Song, H., Lin, G., Li, Y., Zhou, J., & Liu, C. (2019). Discrimination of geographical origins of Chinese acacia honey using complex $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, oligosaccharides and polyphenols. *Food chemistry*, 272, 580-585.
- Shi, H., Yu, P., 2017. Comparison of grating-based near-infrared (NIR) and Fourier transform mid-infrared (ATR-FT/MIR) spectroscopy based on spectral preprocessing and wavelength selection for the determination of crude protein and moisture content in wheat. *Food Control* 82, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.06.015>
- Siddiqui, A. J., Musharraf, S. G., & Choudhary, M. I. (2017). Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. *Food chemistry*, 217, 687-698.
- Soares, S., Amaral, J. S., Oliveira, M. B. P., & Mafra, I. (2017). A comprehensive review on the main honey authentication issues: Production and origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 1072-1100.
- Soares, S., Grazina, L., Mafra, I., Costa, J., Pinto, M. A., Oliveira, M. B. P., & Amaral, J. S. (2019). Towards honey authentication: Differentiation of *Apis mellifera* subspecies in European honeys based on mitochondrial DNA markers. *Food chemistry*, 283, 294-301.
- Sobrinho-Gregorio, L., Bataller, R., Soto, J., & Escriche, I. (2018). Monitoring honey adulteration with sugar syrups using an automatic pulse voltammetric electronic tongue. *Food Control*, 91, 254-260.
- Stöbener, A., Naefken, U., Kleber, J., Liese, A., 2019. Determination of trace amounts with ATR FT-IR spectroscopy and chemometrics: 5-(hydroxymethyl)furfural in honey. *Talanta* 204, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.092>
- Suto, M., Kawashima, H., & Nakamura, Y. (2020). Determination of Organic Acids in Honey by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 13(12), 2249-2257.
- Szabó, R. T., Mézes, M., Szalai, T., Zajác, E., & Kovács-Weber, M. (2016). Colour identification of honey and methodical development of its instrumental measuring. *COLUMELLA: JOURNAL OF AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCES*, 3(1), 29-36.

- Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Zhihua, L., Jiyong, S., Zhai, X., Wang, S., Mariod, A.A., 2017. Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Food Chem.* 226, 202–211.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.024>
- Tanleque-Alberto, F., Juan-Borrás, M., & Escriche, I. (2019). Quality parameters, pollen and volatile profiles of honey from North and Central Mozambique. *Food chemistry*, 277, 543–553.
- Tiwari, K., Tudu, B., Bandyopadhyay, R., Chatterjee, A., & Pramanik, P. (2018). Voltammetric sensor for electrochemical determination of the floral origin of honey based on a zinc oxide nanoparticle modified carbon paste electrode. *Journal of Sensors and Sensor Systems*, 7(1), 319–329.
- Tomczyk, M., Tarapatsky, M., & Dżugan, M. (2019). The influence of geographical origin on honey composition studied by Polish and Slovak honeys. *Czech Journal of Food Sciences*, 37(4), 232–238.
- Valdés-Silverio, L.A., Iturralde, G., García-Tenesaca, M., Paredes-Moreta, J., Narváez Narváez, D.A., Rojas-Carrillo, M., Tejera, E., Beltrán-Ayala, P., Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J.M., 2018. Physicochemical parameters, chemical composition, antioxidant capacity, microbial contamination and antimicrobial activity of Eucalyptus honey from the Andean region of Ecuador. *J. Apic. Res.* 57, 382–394.
<https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1426349>
- Veloso, A. C., Sousa, M. E., Estevinho, L., Dias, L. G., & Peres, A. M. (2018). Honey evaluation using electronic tongues: An overview. *Chemosensors*, 6(3), 28.
- Węglińska, M., Szostak, R., Kita, A., Nemš, A., Mazurek, S., 2020. Determination of nutritional parameters of bee pollen by Raman and infrared spectroscopy. *Talanta* 212, 20790.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120790>
- Zheng, X., Zhao, Y., Wu, H., Dong, J., & Feng, J. (2016). Origin identification and quantitative analysis of honeys by nuclear magnetic resonance and chemometric techniques. *Food analytical methods*, 9(6), 1470–1479.