



UNIVERSITATEA
ȘTEFAN CEL MARE
SUCEAVA

FACULTATEA
DE INGINERIE
ALIMENTARĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

DOMENIUL: INGINERIA PRODUSELOR ALIMENTARE

Cercetări privind procesul de cristalizare a mierii și metode inovative de prevenire a acestuia

REZUMAT

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
Prof. univ. dr. ing. Sonia AMARIEI

DOCTORAND:
Ing. Laura Agripina SCRIPCĂ
(căs. HOPINCĂ)

Suceava, 2021

www.usv.ro

UNIVERSITATEA “ȘTEFAN CEL MARE” DIN SUCEAVA
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE APLICATE ȘI INGINEREȘTI
Domeniul: Ingineria Produselor Alimentare

TEZĂ DE DOCTORAT

- REZUMAT -

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
Prof. univ. dr. ing. Sonia AMARIEI

DOCTORAND:
Ing. Laura Agripina SCRIPCĂ
(căs. HOPINCĂ)

UNIVERSITATEA “ȘTEFAN CEL MARE” DIN SUCEAVA
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE APLICATE ȘI INGINEREȘTI
Domeniul: Ingineria Produselor Alimentare

**CERCETĂRI PRIVIND
PROCESUL
DE CRISTALIZARE A MIERII
ȘI METODE INOVATIVE
DE PREVENIRE A ACESTUIA
- REZUMAT -**

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:
Prof. univ. dr. ing. Sonia AMARIEI

DOCTORAND:
Ing. Laura Agripina SCRIPCĂ
(căs. HOPINCĂ)

CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT

Listă de abrevieri

Scop și obiective

Capitolul 1. Stadiul actual al cercetărilor privind factorii de influență asupra procesului de cristalizare a mierii

1.1. Definiție și clasificare

1.2. Compoziția chimică a mierii

- 1.2.1. Glucidele
- 1.2.2. Conținutul de apă
- 1.2.3. Substanțele minerale
- 1.2.4. Compușii fenolici
- 1.2.5. Acizii organici
- 1.2.6. Vitaminele
- 1.2.7. Aminoacizii și proteinele
- 1.2.8. Enzimele și proteinele
- 1.2.9. Reziduuri de contaminanți

1.3. Descrierea sortimentelor de miere

- 1.3.1. Mierea de salcâm
- 1.3.2. Mierea de rapiță
- 1.3.3. Mierea de floarea-soarelui
- 1.3.4. Mierea de mentă
- 1.3.5. Mierea de tei
- 1.3.6. Mierea de hrișcă
- 1.3.7. Mierea de pădărie
- 1.3.8. Mierea de trifoi
- 1.3.9. Mierea polifloră
- 1.3.10. Mierea de castan
- 1.3.11. Mierea de stejar
- 1.3.12. Mierea de mană
- 1.3.13. Mierea de rozmarin
- 1.3.14. Alte tipuri de miere

1.4. Cristalizarea mierii datorită prezenței glucozei

1.5. Concluzii parțiale

Capitolul 2. Materiale și metode utilizate în cercetările experimentale

2.1. Materiale

2.2. Metode

- 2.2.1. Tratarea probelor de miere cu ultrasunete

- 2.2.2. Tratarea probelor de miere prin adaos de trehaloză
- 2.2.3. Determinarea parametrilor fizico-chimici
- 2.2.4. Determinarea parametrilor microbiologici
- 2.5. *Determinarea contaminanților*
 - 2.5.1. Determinarea reziduurilor de pesticide
 - 2.5.2. Determinarea reziduurilor de antibiotice
- 2.6. *Analiza calorimetrică diferențială (DSC)*
- 2.7. *Interpretarea statistică a rezultatelor obținute*
- 2.8. *Concluzii parțiale*

Capitolul 3. Studiu privind proprietățile fizico-chimice și microbiologice ale sortimentelor de miere analizate, identificarea și dozarea unor contaminanți chimici în compoziția acestora precum și influența lor asupra proprietăților reologice

- 3.1. *Evaluarea parametrilor fizico-chimici ai probelor experimentale*
 - 3.1.1. Conținutul de apă și variația activității apei pentru sortimentele de miere analizate
 - 3.1.2. Conductivitatea electrică
 - 3.1.3. Concentrația de hidroximetilfurfural (HMF) din probele analizate
 - 3.1.4. Activitatea diastazică a probelor de miere analizate
 - 3.1.5. Profilul glucidic al probelor de miere analizate
 - 3.1.6. Compuși fenolici ai probelor de miere analizate
 - 3.1.7. Culoarea probelor de miere analizate
 - 3.1.8. Concentrația de minerale din probele de miere analizate
 - 3.1.9. Parametrii de textură ai probelor de miere analizate
- 3.2. *Evaluarea gradului de contaminare a probelor experimentale cu reziduuri de antibiotice și pesticide*
- 3.3. *Evaluarea calității microbiologice*
- 3.4. ***Analiza statistică***
- 3.5. *Concluzii parțiale*

Capitolul 4. Cercetări experimentale în vederea determinării efectelor aplicării tratamentului cu ultrasunete asupra parametrilor fizico-chimici și reologici ai mierii

- 4.1. *Variația conținutului de apă și activității apei*
- 4.2. *Variația conținutului principalelor zaharuri*
- 4.3. *Variația acidității*
- 4.4. *Variația activității diastazice*
- 4.5. *Variația concentrației de hidroximetilfurfural*
- 4.6. *Variația culorii*
- 4.7. *Modificările parametrilor de textură produse de tratarea/netratarea cu ultrasunete*
- 4.8. *Analiza cristalelor din probele martor și cele tratate cu ultrasunete*

4.9. Analiza microbiologică și influența ultrasunetelor asupra microorganismelor

4.10. Analiza statistică

4.11. Concluzii parțiale

Capitolul 5. Cercetări experimentale privind utilizarea trehalozei pentru prevenirea cristalizării mierii

5.1. Parametrii fizico-chimici

5.2. Culoarea probelor

5.3. Analiza texturii

5.4. Analiza termică

5.5. Analiza statistică

5.6. Concluzii parțiale

Capitolul 6. Concluzii generale

Diseminarea rezultatelor cercetărilor

Bibliografie

Scop și obiective

Scopul lucrării de doctorat constă în evidentierea unor noi factori de influență asupra procesului de cristalizare a mierii și găsirea și testarea unor metode inovative de prevenire și/sau de încetinire a procesului de cristalizare a mierii care să permită menținerea caracteristicilor de calitate a mierii necristalizate, sau îmbunătățirea unor caracteristici ale acesteia.

Activitatea de cercetare realizată pe parcursul studiilor doctorale a urmărit următoarele **obiective științifice**:

- Prezentarea situației actuale privind cercetările și realizările referitoare la cristalizarea mierii și la efectele acestui proces asupra caracteristicilor de calitate ale mierii subliniind necesitatea existenței alternativelor de prevenire a instalării cristalizării.
- Studiul metodelor de analiză pentru determinarea parametrilor fizico-chimici, reologici și microbiologici ai mierii.
- Studiul efectelor ultrasunetelor asupra prevenirii și reducerii cristalizării pe durata depozitării mierii.
- Conceperea, testarea, caracterizarea și beneficiile utilizării unei noi metode de prevenire a cristalizării mierii prin adaos de trehaloză.
- Identificarea efectelor adaosului de trehaloză asupra proprietăților reologice pe durata depozitării mierii.
- Analiza statistică a rezultatelor obținute cu metodele aplicate pentru prevenirea cristalizării mierii comparativ cu rezultatele obținute prin metodele cunoscute.

Cuvinte cheie:

- miere de albine;
- cristalizare;
- trehaloză;
- ultrasunete;
- textură;
- analiză calorimetrică;
- neonicotinoide.

Prezenta teză de doctorat, intitulată „CERCETĂRI PRIVIND PROCESUL DE CRISTALIZARE A MIERII ȘI METODE INOVATIVE DE PREVENIRE A ACESTUIA” are 203 pagini, cuprinde 6 capitole cu concluzii proprii, un capitol de concluzii generale și contribuții originale, referințe bibliografice, lista de lucrări publicate sau prezentate la manifestări științifice din țară și din străinătate, reprezentative pentru tema studiată, 75 de figuri, 20 de tabele și 16 ecuații.

Primul capitol, Stadiul actual al cercetărilor privind factorii de influență asupra procesului de cristalizare a mierii, rezumă principalele aspecte teoretice care definesc procesul de cristalizare a mierii, împreună cu identificarea factorilor de importanță care condiționează instalarea acestui proces, metodele utilizate și testate de prevenire a cristalizării mierii, dar și o trecere în revistă a principalelor studii publicate în literatura științifică internațională pe tema compoziției chimice a diferitelor sortimente de miere și a parametrilor de calitate acestui produs care trebuie să corespundă exigențelor consumatorilor.

Conform Directivei 2001/110 CE, mierea este definită ca substanța naturală produsă de albinele *Apis mellifera* (Council Directive, 2001). Codex Alimentarius definește mierea ca fiind substanța naturală dulce produsă din nectarul plantelor sau din secreții ale părților vii ale plantelor sau excrețiile de pe părțile vii ale plantelor, ale insectelor care aspiră din plante, pe care albinele le colectează, le prelucreează prin combinarea cu substanțe specifice, proprii, și le depozitează în celulele fagurilor de miere pentru a se matura (Codex Alimentarius, 2001).

Mierea are o compoziție extrem de variată datorită componentelor provenite fie de la plantele de la care au colectat albinele polenul, fie direct de la albină – ca producătoare de miere. Mierea este un aliment extrem de complex care conține peste 180 de substanțe diferite (Haiza, H., 2013, Nguyen, H. T. L., 2019). Mierea conține aproximativ 80 % zaharuri (Hills, S. P., 2019, Rahardjo, M., 2020), astfel poate fi considerată din punct de vedere chimic, o soluție concentrată de zahăr. În afară de zaharuri, mierea conține aproximativ 20% apă (Taha, A. A., 2020), și alte componente active precum aminoacizi, vitamine, substanțe minerale, enzime, acizi organici, flavonoide și compuși fenolici, proteine (Nisbet, C., 2018, Waheed, M., 2018, Ghramh, H. A., 2020, Gül, A., 2018).

Substanța uscată a mierii este compusă în proporție de aproximativ 95% din glucide (Machado De-Melo, A. A., 2018), cele mai reprezentative fiind monozaharidele glucoza și fructoza (Pascual-Maté, A., 2018).

Concentrația de fructoză și glucoză precum și raportul dintre acestea sunt utile în clasificarea mierii uniflorale (Amri, A., 2013) și în aprecierea gradului de cristalizare a mierii. Raportul fructoză/glucoză mai mic de 1,0 indică instalarea cristalizării în miere mai repede, iar raportul mai mare de 1,0 indică instalarea cristalizării în miere, mai lent. Cristalizarea rapidă a mierii se datorează solubilității reduse a glucozei în apă și tendinței mai mare a acesteia de a cristaliza, raportat la fructoză care se caracterizează printr-o solubilitate în apă de circa 4,4 ori mai mare. Ideal, raportul fructoză/glucoză ar trebui să varieze între 0,9 și 1,35 (Draiaia, R., 2015, Aljohar, H. I., 2018). Raportul G/F depinde și de specia albinelor producătoare de miere (Alghamdi, B. A., 2020).

Conținutul de apă reprezintă un bun criteriu pentru evaluarea calității mierii și pentru stabilirea termenului de păstrare al mierii (Khalafi, R., 2016). Conținutul scăzut de apă inhibă creșterea microbiană din miere, astfel termenul de păstrare poate fi mai mare (Olalekan-Adeniran, M. A., 2018).

De asemenea, raportul glucoză/apă este un indicator important pentru miere în ceea ce privește instalarea procesului de cristalizare (Baloš, M. Ž., 2019). Cu cât raportul glucoză/apă este mai mare, cu atât mierea cristalizează mai repede. Cristalizarea este slabă sau inexistentă când raportul glucoză/apă este mai mic de 1,7 și complet sau rapid când raportul glucoză/apă este mai

mare de 2,0, moleculele de glucoză având tendință de grupare rapidă și formare de cristale (Ozkok, D., 2018, Vranic, D., 2019).

Cristalizarea mierii este un proces natural care are loc spontan în timpul depozitării și duce la modificări importante ale caracteristicilor structurale și reologice ale produsului. Acest proces este puțin înțeles de către publicul consumator, deoarece se presupune că mierea cristalizată ar fi falsificată, neconformă sau nu ar fi un produs natural. De fapt, majoritatea mierii pure sau netratată termic are o tendință naturală de a cristaliza în timp. Cristalizarea nu afectează mierea decât prin modificarea culorii (prin deschiderea la culoare) și textură (în special vâscozitatea mierii crește). Mierea cristalizată păstrează aroma și caracteristicile de calitate ale mierii lichide.

Cristalizarea reprezintă formarea cristalelor, expresia externă a structurii interne a atomilor, moleculelor și ionilor dintr-un sistem tridimensional repetat persistent într-o substanță. În acest caz, mierea cristalizată implică prezența de cristale de zahăr la matricea fluxului de miere (Belay, A., 2015).

Procesul de cristalizare implică doar glucoza, deoarece fructoza se caracterizează prin solubilitate mai mare și va rămâne fluidă pentru mai mult timp. Fructoza este de 4,4 ori mai solubilă în apă (4000g/ L la 25 ° C) și se găsește dizolvată în soluție (Laos, K., 2011, Amariei, S., 2020), comparativ cu glucoza care tinde să cristalizeze spontan datorită solubilității sale scăzute în apă (909g/ L la 25 ° C).

Cristalizarea are loc în două etape (Tappi, S., 2019, Khvorova, L., 2019):

- cristalizarea primară este etapa în care are loc formarea de nuclei noi de cristale. Această etapă se mai numește nucleație;
- cristalizarea secundară este etapa în care are creșterea mărimii cristalelor pre-formate sau formarea altor cristale prin unirea mai multor cristale preformate.

Apa legată de glucoză în soluție se eliberează în timpul procesului de cristalizare ceea ce conduce la creșterea activității apei. Unele sortimente de miere cristalizează uniform, altele cristalizează parțial și formează două straturi. Stratul cristalizat ocupă partea inferioară a recipientului, iar faza lichidă se află în partea superioară a masei de miere. Sortimentele de miere variază, de asemenea, în funcție de mărimea cristalelor formate, unele caracterizându-se prin cristale fine, iar altele prin cristale mari, grosiere. Cu cât mierea cristalizează mai rapid, cu atât textura va fi mai fină.

Capacitatea mierii de a cristaliza depinde de mulți factori, atât compoziționali (zaharuri, cât și conținutul de apă, prezența unor microcristale) cât și de mediu (temperatura de păstrare și istoricul tratamentelor termice) (Eshete, Y., 2019, Lopes, M., 2018, Vranic, D., 2019). De asemenea, sursa de nectar colectat de albine și metodele de prelucrare și manipulare a mierii reprezintă factori importanți, care influențează viteza de cristalizare a acesteia.

Deoarece mierea este mult mai apreciată în starea sa necristalizată de consumatori, cele mai comune metode de prevenire a cristalizării utilizate pe scară largă de către producători sunt: tratamentul termic la temperaturi ridicate sau foarte scăzute, ultrasunete, cuptor cu microunde, filtrare, ultrafiltrare și adăugarea de aditivi alimentari.

Împiedicarea cristalizării este importantă pentru păstrarea proprietăților de textură și culoare ale mierii, pentru recunoașterea facilă a sortimentelor de miere, dar și pentru eliminarea problemelor cu care se confruntă apicultorii în prelucrarea și manipularea mierii. Astfel, cristalizarea mierii reprezintă o preocupare globală importantă atât pentru consumatori, cât și

pentru producătorii comerciali. În concluzie, găsirea unei metode de prevenire a cristalizării mierii care nu afectează calitatea sa, reprezintă o preocupare de interes mondial.

În **capitolul 2** al tezei „Materiale și metode utilizate în cercetările experimentale” sunt prezentate metodele de analiză abordate pentru îndeplinirea obiectivelor propuse. Totodată, a fost descrisă aparatura utilizată în cadrul acestor metode. Au fost folosite aparate de laborator din dotarea Facultății de Inginerie Alimentară din cadrul Universității “Ștefan cel Mare” din Suceava.

Probele de miere au fost colectate și achiziționate de la apicultori locali autorizați, din mai multe zone ale României precum și de la compania *Apicola* din Suceava. Garanția autenticității probelor a fost asigurată de către furnizorii de miere amintiți anterior. În următoarea figură (figura 2.1), se pot observa locațiile din care au fost colectate probele de miere folosite în această cercetare.

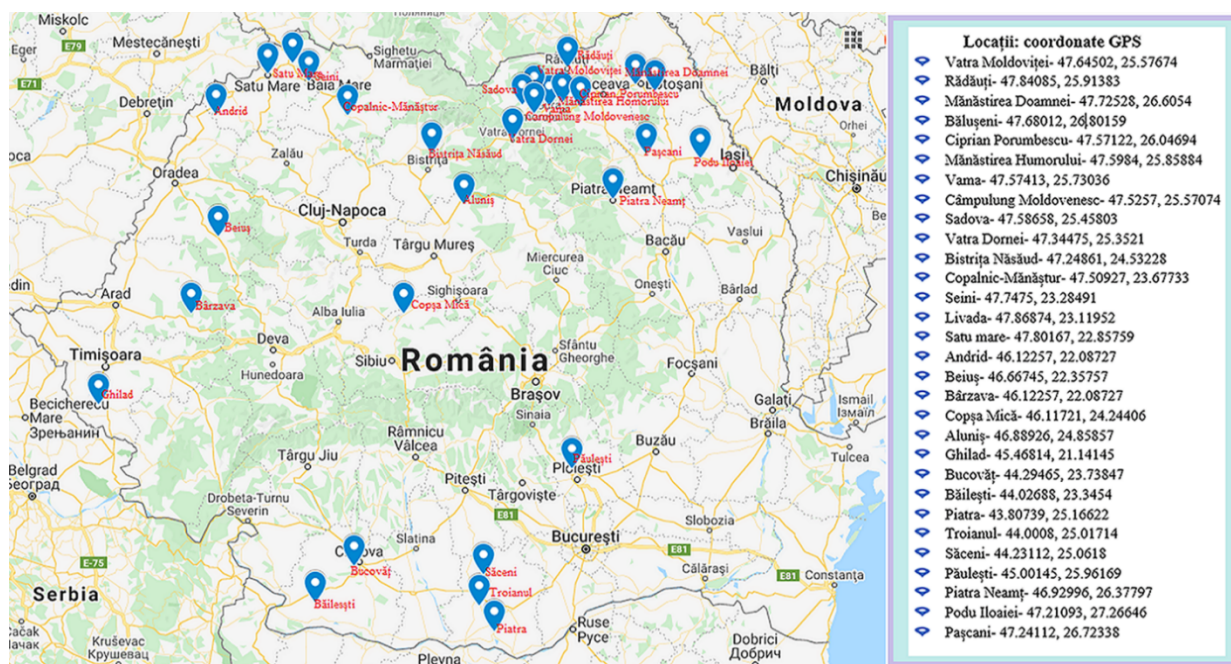


Fig. 2.1. Zonele de prelevare a probelor de miere

Reactivii folosiți au fost puri, din punct de vedere al calității analitice (figura 2.2). Pentru prepararea soluțiilor necesare efectuării determinărilor, s-a folosit apă dublu-deionizată (rezistivitate de 18 MΩ cm), produsă de un sistem de purificare a apei (Thermo Fischer, Germania).

Metodele abordate pentru analiza probelor rezultate au fost:

- Monitorizarea efectelor aplicării tratamentului cu ultrasunete și a tratării mierii prin adaos de trehaloză asupra parametrilor de calitate ai probelor de miere.
- Identificarea unor parametri calitativi, ca potențiali factori care influențează cristalizarea.
- Determinarea conținutului de apă– metoda refractometrică;
- Determinarea conținutului de zaharuri– metoda descrisă de *Bogdanov (2002)*, cu ajutorul HPLC cu detector RI;

- Determinarea conținutului de compuși fenolici– metoda descrisă de *Biesaga, M., (2013)*, - folosind cromatograful de lichide de înaltă performanță 10 ADVP-Shimadzu (FIA, USV, Suceava) – identificarea compușilor fenolici pe baza timpilor de retenție ai standardelor și cuantificarea lor prin raportarea ariilor peak-urilor obținute în cromatogramele probelor cu cele ale compușilor fenolici standard, la 280 nm pentru acid protocatecuic, acid 4-hidroxibenzoic, acid galic și acid vanilic; și la 320 nm pentru acid clorogenic, acid cafeic, acid p-cumaric, acid rosmarinic, miricetină, luteolină, quercitină și kaempferol.
- Determinarea culorii – colorimetrul Konica Minolta CR400 (FIA, USV, Suceava)-coordonatele de culoare corespunzătoare spațiului de culoare aproximativ uniform CIELAB au fost obținute direct din aparat, calibrat în prealabil față de o placă albă (illuminant standardizat D65), în triplicat.
- Determinarea texturii - texturometrul Texture Analyzer ESM 301, Mark-10, echipat cu o sondă cu disc de 50 mm, în triplicat. Parametrii de textură au fost calculați pe baza curbei TPA.
- Determinarea acidității – metoda descrisă în *(SR) 784-3/2009*;
- Determinarea conținutului de minerale – prin tratarea cu acid azotic concentrat și apă oxigenată a cenușii albe obținute prin calcinare. Determinarea s-a realizat folosindu-se ICP-MS din dotarea Facultății de Inginerie Alimentară.
- Determinarea activității apei– cu aparatul AquaLab 4TE V Duo;
- Determinarea conductivității electrice– după metoda descrisă de *Bogdanov (2002)*, cu pH/conductometrul Mettler Toledo MPC 227;
- Determinarea HMF– metoda Winkler;
- Determinarea activității diastazice– metoda Schade;
- Determinarea prezenței sau absenței cristalelor– cu stereomicroscopul Microscop Optika SZ A1 (*Scripcă L. A., 2021*);
- Determinarea calității microbiologice – *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella*, bacterii coliforme, drojdii și mușcăiuri, prin metodele descrise în standardele de calitate SR EN ISO 6887-1/2017, SR EN ISO 7932/2005, ISO 15213/2003, ISO 6579-1/2017, ISO 4832/2006 și SR ISO 21527-2/2008;
- Determinarea reziduurilor de pesticide – prin extracție prin metoda QuEChERS și analiza cromatografică folosind gaz cromatograful sau lichid cromatograful cuplat cu spectrometru de masă în tandem;
- Determinarea reziduurilor de antibiotice – prin extracție și analiză cromatografică (cromatografie de lichide), sau metoda testului imunoenzimatic (ELISA)
- Analiza calorimetrică – cu calorimetrul cu scanare diferențială -DSC 8500, PerkinElmer (*Amariei, S., 2020*).
- Analiza statistică a datelor experimentale – folosindu-se programe și soft-urile aferente: pachetul Microsoft Office, XLStat, SPSS, Origin PRO. Corelațiile Pearson realizate au avut ca scop stabilirea posibilelor legături dintre două variabile ale aceleiași probe, identificarea relațiilor dintre acestea, dar și intensitatea corelațiilor. Metoda analizei componentelor principale (PCA), limitează toate datele în două componente principale.

În **capitolul 3** al tezei de doctorat sunt prezentate rezultatele evaluării parametrilor de calitate ai probelor de miere. Au fost analizate atributele calitative funcționale și de siguranță alimentară cum sunt conținutul de apă, aciditatea, conținutul de zaharuri, conductivitatea electrică,

intensitatea culorii acestora, activitatea diastazică, concentrația de HMF, conținutul în polifenoli, textură, conținutul de minerale, concentrația de reziduuri de antibiotice și pesticide.

Conținutul de apă al mierii reprezintă un criteriu de calitate, fiind un parametru care influențează semnificativ procesul de cristalizare (Baloš, M., 2019). Mierea cu un conținut mai mic de apă este stabilă pentru o perioadă mai lungă de timp (Nayik, G.A., 2018). Conținutul de apă influențează, de asemenea, fluiditatea mierii și anumite proprietăți de textură precum adezivitatea. Activitatea apei, proprietățile microbiologice și creșterea microbiană sunt influențate de conținutul de apă al mierii (Berk, B., 2020). Conținutul de apă al probelor de miere a variat între o valoare minimă de $15,70 \pm 0,32$ % și $15,70 \pm 0,25$ %. Activitatea apei este un parametru folosit pentru a determina stabilitatea mierii. O valoare a activității apei sub 0,60 indică o bună stabilitate a mierii și nu permite creșterea microbiană (Płowa's-Korus, I., 2018). Valoarea activității apei mai mare de 0,60 poate favoriza creșterea mucegaiurilor xerofile și bacteriilor halofile (Kek, S.P., 2017). Activitatea apei a variat între o valoare minimă de $0,17 \pm 0,05$ pentru o probă de miere de salcâm și valoarea maximă de $0,62 \pm 0,18$ pentru o probă de miere de floarea-soarelui.

Conductivitatea electrică (CE) indică, capacitatea mierii de a conduce un curent electric. Acest parametru este influențat de starea de depozitare, temperatură, conținutul de apă, minerale și conținutul de ioni (Spirić, D., 2019). Este un parametru de calitate util pentru clasificarea mierii monoflorale (Laaroussi, H., 2020). Cel mai scăzut nivel de conductivitate electrică a fost găsit în mierea de rapiță ($0,11$ mS/cm), iar cel mai înalt nivel a fost de $0,73$ mS/cm în mierea de mană.

Conținutul de hidroximetilfurfural (HMF), este un indicator al prospețimii mierii (Pasias, I.N., 2017). Hidroximetilfurfuralul se găsește în mod natural, în cantități mici în miere, dar concentrația sa poate crește din cauza tratamentelor de încălzire aplicate mierii (Mouhoubi-Tafnine, Z., 2018). Hidroximetilfurfuralul are un efect citotoxic, genotoxic și organotoxic pentru oameni, de aceea acest parametru este controlat (Aypak, S.Ü., 2019). Prin urmare, Comisia Europeană a stabilit limita maximă pentru concentrația de HMF de 40 mg/kg (respectiv de 80 mg/kg pentru mierea tropicală). Cel mai scăzut nivel de HMF a fost găsit în mierea de mentă ($0,11 \pm 0,01$ mg/kg), iar cel mai înalt nivel a fost de $4,47 \pm 0,08$ mg/kg într-o probă de miere de rapiță. Aceste rezultate arată că probele experimentale nu au fost tratate termic.

Diastaza sau α -amilaza, este un indicator al prospețimii mierii și este termosensibilă (Tôrrres, W. D. L., 2021). Activitatea diastatică a mierii este corelată cu sursa de nectar și cu originea geografică a mierii (Soares, S., 2017, Matovic, K., 2018, Tomczyk, M., 2019). Toate probele analizate au avut valori ale activității diastazei mai mari de $8,0$ °Göthe, indicând calitatea probelor de miere analizate. Cea mai mare valoare a activității diastazei a probelor analizate a fost găsită în mierea de zmeură, cu $24,28 \pm 0,22$ °Göthe. Cea mai mică valoare a indicelui diastazic a fost determinată în mierea de rapiță, cu $10,60$ °Göthe.

Conținutul de glucoză și fructoză variază, în general, între 60 și 85% din substanța uscată a mierii (Suhag, Y., Nayik, G. A., 2016, Ruiz-Matute, A. I., 2010, De La Fuente, E., 2011). Restul de zaharuri de 5-10% sunt dizaharide, trizaharide și tetrazaharide, se găsesc în majoritatea sortimentelor de miere, dar într-o concentrație mult mai mică (Silva, S. P., 2018). Aceste oligozaharide se formează în principal din lanțuri scurte de unități monozaharidice sau reziduuri

ale acestora, legate prin legături glicozidice (Tedesco, R., 2020). Oligozaharidele sunt substanțe importante pentru determinarea ambelor origini, geografică și botanică a mierii (Nayik, G. A., 2018). Pe lângă zaharurile principale, în miere s-au găsit și alte zaharuri precum xiloza, zaharoza, ramnoza, trehaloza, nigerobioza, izomaltoza, maltoza, maltotetraoza, maltotrioza, maltuloza, melezitoza, melebioza, celobioza, palatinoza, rafinoza, erloza (Silva, P. M., 2016, Kamboj, R., 2020). Conținutul total de zaharuri din probele de miere a variat în intervalul $69,84 \text{ g/100 g} \div 80,70 \text{ g/100 g}$. Glucoza și fructoza au fost compușii predominanți în probele de miere analizate, dar au fost găsite în diferite rapoarte de la un sortiment la altul (figura 3.1).

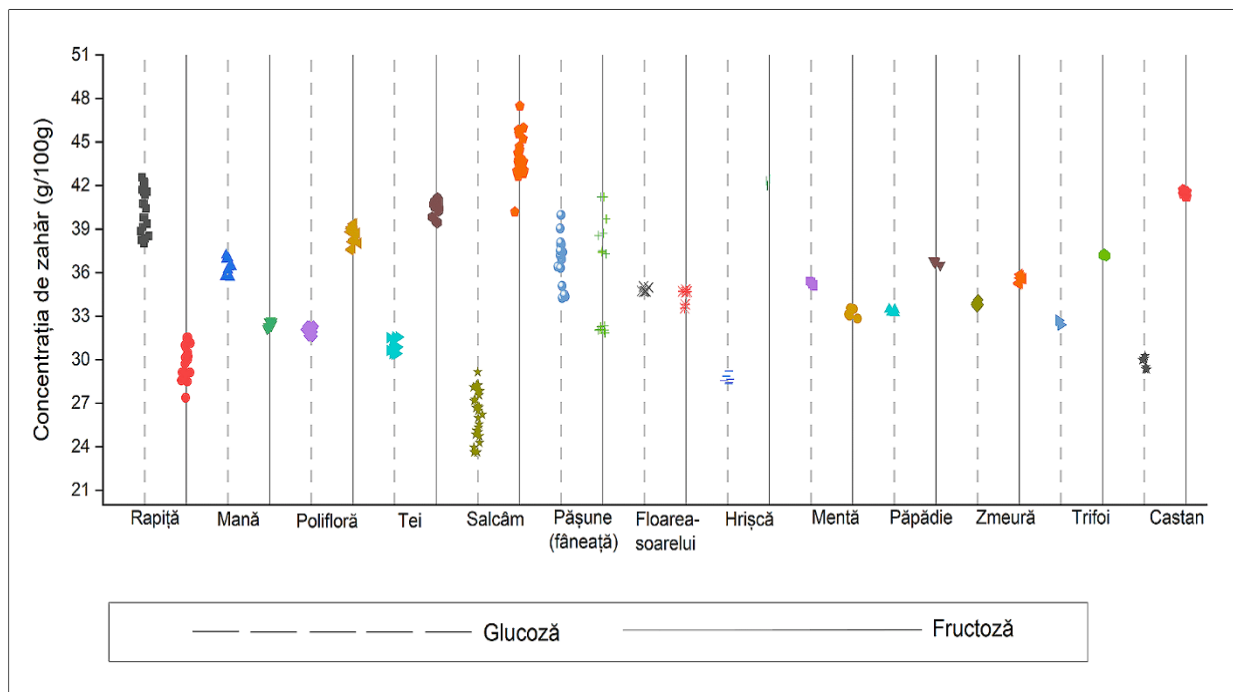


Fig. 3.1. Analiza descriptivă a concentrației de glucoză și fructoză pentru fiecare sortiment de miere analizat

La mierea de rapiță, mană, mentă și câteva probe de miere de pășune și floarea-soarelui zahărul predominant găsit a fost glucoza, iar în probele de miere de salcâm, polifloră, tei, pădăie, zmeură, castan și unele probe de miere de pășune și floarea-soarelui, concentrația mai mare de zahăr este reprezentată de fructoză.

Alte zaharuri identificate în probele de miere analizate, au fost zaharoza, trehaloza, maltoza, melezitoza, rafinoza, erloza și turanoza, care s-au găsit în concentrații mai mici decât glucoza și fructoza. Conținutul de zaharoză este un parametru important de autentificare a mierii. Conținutul de zaharoză și trehaloză din probe a variat în intervalele $0 \div 3,82 \text{ g/100 g}$, respectiv $0 \div 3,74 \text{ g/100 g}$. Valoarea maximă de trehaloză a fost determinată în cazul probei de miere de salcâm (figura 3.2). Concentrația de trehaloză a avut cele mai mari valori pentru mierea de salcâm, sortiment de miere care cristalizează lent. Concentrațiile cele mai scăzute ale trehalozei au fost determinate pentru

mierea de rapiță, sortiment de miere care are tendință mare de cristalizare, ceea ce poate sugera că trehaloza ar putea influența procesul de cristalizare al mierii.

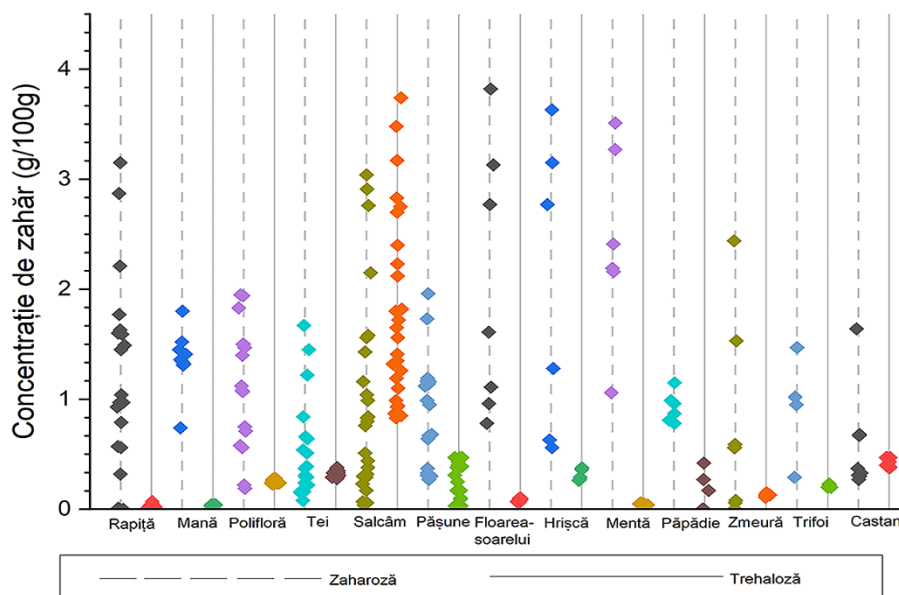


Fig. 3.2. Analiza descriptivă a conținutului de zaharoză și trehaloză pentru fiecare sortiment de miere analizat

Polifenolii acționează în general ca antioxidanți primari, oferind protecție prin eliminarea radicalilor liberi, încheind astfel reacțiile din lanțul oxidativ (*Kaskoniene, E., 2010*). Profilul fenolic al diferitelor sortimente de miere variază în funcție de originea geografică și sursa florală (*Estevinho, X.F., 2012, Campone, L., 2014*). Cantitățile totale de polifenoli (figura 3.3) au fost semnificative pentru mierea de pășune și mană și castan și mai puțin semnificativă pentru mierea de salcâm, rapiță, trifoi. Conținutul de compuși fenolici din probe a variat în intervalul 0,02 ÷ 80,38 mg/100 g, valoarea minimă fiind determinată în cazul unei probe de miere de salcâm, iar valoarea maximă în cazul unei probe de miere de mană.

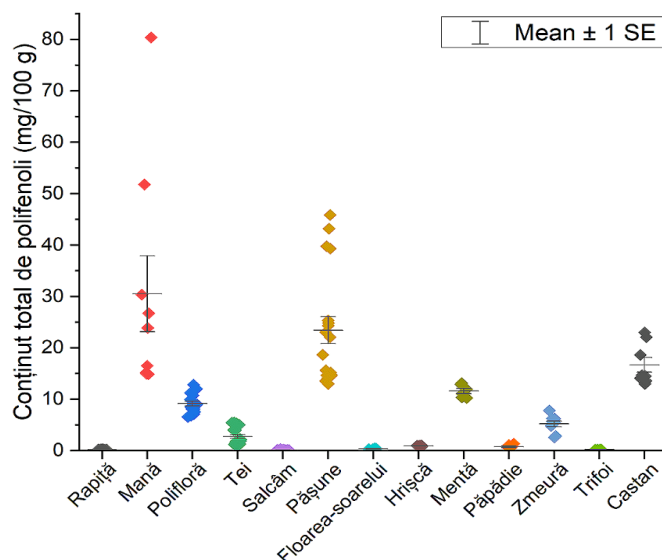


Fig. 3.3. Analiza descriptivă a conținutului total de compuși fenolici pentru fiecare sortiment de miere analizat

S-a efectuat analiza componentelor principale privind compușii fenolici ca variabile active și tipul de miere ca observații active și s-au determinat cele două componente principale care acoperă 79,37% din variabilitate (PC1- 62,65% și PC2- 16,72%).

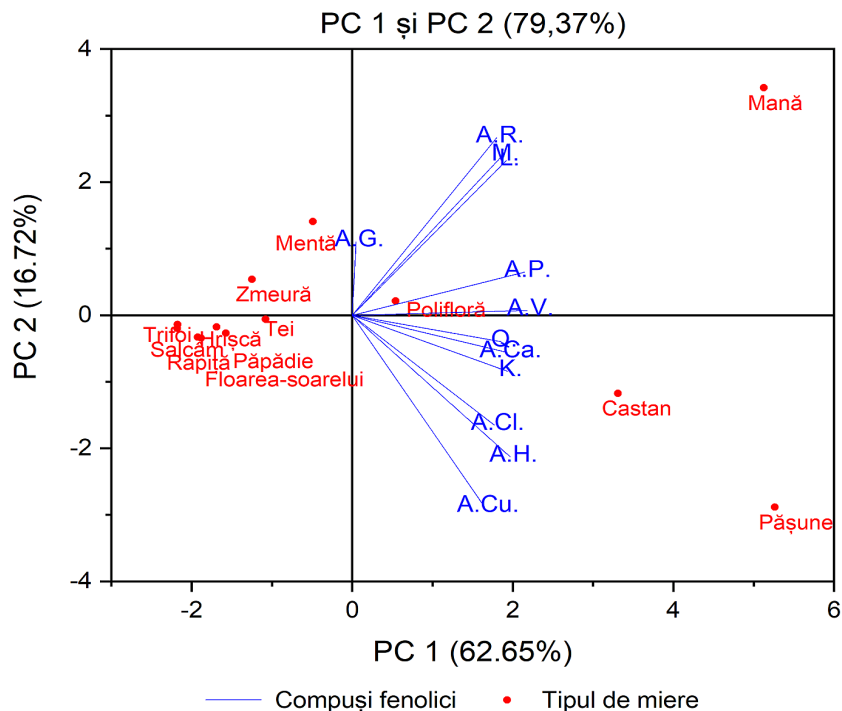


Fig. 3.4. Analiza componentelor principale a rezultatelor pentru compușii fenolici din cele 13 tipuri de miere analizate (A.G. – acid galic; A.P. - acid protocatecic; A.H. - acid 4- hidroxibenzoic; A.V. - acid vanilic; A.Cl. - acid clorogenic; A.Ca. - acid cafeic; A.Cu. - acid p-cumaric; A.R. - acid rosmarinic; M. – miricetină; L. – luteolină; Q. – quercitină; K. – kaempferol)

Din figura 3.4 se poate observa că a existat o diferență semnificativă între cele 13 sortimente de miere analizate. Mierea de mentă s-a caracterizat prin concentrații mari de acid galic. Mierea de mană a fost bogată în acid rosmarinic, miricetină, luteolină, acid protocatecic și acid vanilic. Mierea de pășune și mierea de castan s-au caracterizat prin acid cafeic, quercitină, kaempferol, acizi clorogenic, hidroxibenzoic și cumaric. Mierea polifloră s-a caracterizat prin acid vanilic și quercitină. În cadranul opus se observă că mierea de rapiță, salcâm, trifoi, zmeură, hrișcă, pădărie, floarea-soarelui au avut concentrații mult mai mici pentru toți compușii fenolici analizați.

Culoarea mierii este unul dintre cei mai importanți indicatori, influențează preferințele și alegerile consumatorilor. Mierea de culoare deschisă este preferată în defavoarea mierii de culoare închisă. Culoarea mierii depinde de factori precum originea florală și sursa de nectar. Măsurarea parametrilor de culoare a produselor alimentare a fost folosită ca metodă de evaluare indirectă a altor atribute de calitate, cum sunt aroma și conținutul în pigmenți, deoarece este o analiză mai simplă, mai rapidă și se corelează bine cu alte proprietăți fizico-chimice (Pathare, P., 2012). Culoarea mierii depinde de conținutul de minerale, compuși fenolici, flavonoizi și condițiile de depozitare (El-Haskoury, R., 2018). Culoarea mierii este influențată de procesul de cristalizare.

Odată cu instalarea procesului de cristalizare, culoarea mierii se deschide din cauza apariției în masa de miere a cristalelor albe de glucoză. Datele experimentale pentru luminozitatea (L^*) probelor au variat între o valoare minimă de $17,59 \pm 0,29$ pentru proba de miere de rapiță R_{19} și valoarea maximă de $52,89 \pm 0,4$ pentru proba de miere de trifoi Tr_1 . Proba cu valoarea maximă a parametrului a^* : $9,29 \pm 0,18$ a fost o probă de miere de mană Ma_1 , iar proba cu valoarea minimă pentru a^* : $-3,74 \pm 0,1$ a fost o probă de miere de trifoi Tr_1 . Pe baza acestor rezultate, mierea de mană analizată are nuanța cea mai roșiatică. Mierea de trifoi are culoarea verde cea mai pronunțată, datorită valorilor negative a parametrului a^* . Intervalul de variație determinat pentru parametrul b^* a fost $3,45 \pm 0,31$ (proba de miere de mentă Me_3) ÷ $18,61 \pm 0,1$ (miere de rapiță, proba R_{14}). Proba de miere de rapiță R_{14} având cea mai mare valoare a parametrului b^* , această probă este cea mai galbenă, datorită valorii maxime a parametrului b^* . Valorile minime și maxime pentru intensitatea culorii probelor (C^*) sunt corespondente acelorași probe ca și în cazul parametrului b^* , adică 4,91 pentru proba de miere de mentă Me_3 și, respectiv, 18,74 pentru proba de miere de rapiță R_{14} . Unghiul de nuanță (h^*) a variat în intervalul $-1,56 \div 1,55$, valoarea minimă fiind determinată în cazul probelor de miere de tei T_3 și T_{10} , iar valoarea maximă în cazul probelor de miere de hrișcă H_3 și H_4 . Datele experimentale pentru indicii de galben (YI^*) al probelor au variat între o valoare minimă de 24,03 pentru proba de miere de trifoi Tr_1 și valoarea maximă de 78,93 pentru proba de miere de rapiță R_{14} .

Mineralele sunt importante deoarece concentrația lor în miere depinde de substanțele nutritive și substanțele din sol care pot ajunge în miere prin nectarul din plante recoltat de albine (Alves, A., 2013, Alqarni, A.S., 2014). În același timp, compoziția mineralelor din miere depinde de condițiile climatice și originea geografică. Conținutul mineral al mierii reprezintă un parametru important în autentificarea și clasificarea mierii după originea botanică a nectarului (Camina, M., 2012). Concentrația totală de minerale a variat între o valoare minimă de 356,56 mg/kg și valoarea maximă de 3307,11 mg/kg. În figura 3.5 se observă diferențele dintre conținutul total de minerale analizate pentru cele 13 sortimente de miere.

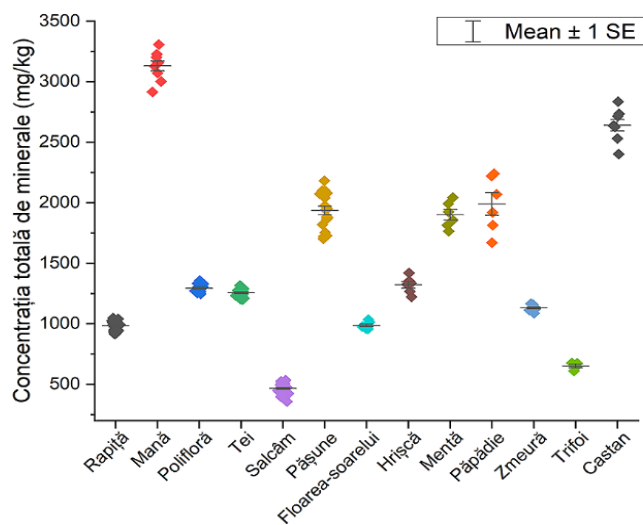


Fig. 3.5. Analiza descriptivă a concentrației elementelor minerale totale pentru fiecare sortiment de miere analizat

Concentrațiile medii de macroelemente și microelemente sunt prezentate în figura 3.6. Potasiul este elementul mineral dominant. Fierul este microelementul cu concentrația cea mai

variata, cu o valoare medie de 21,44 mg/kg.

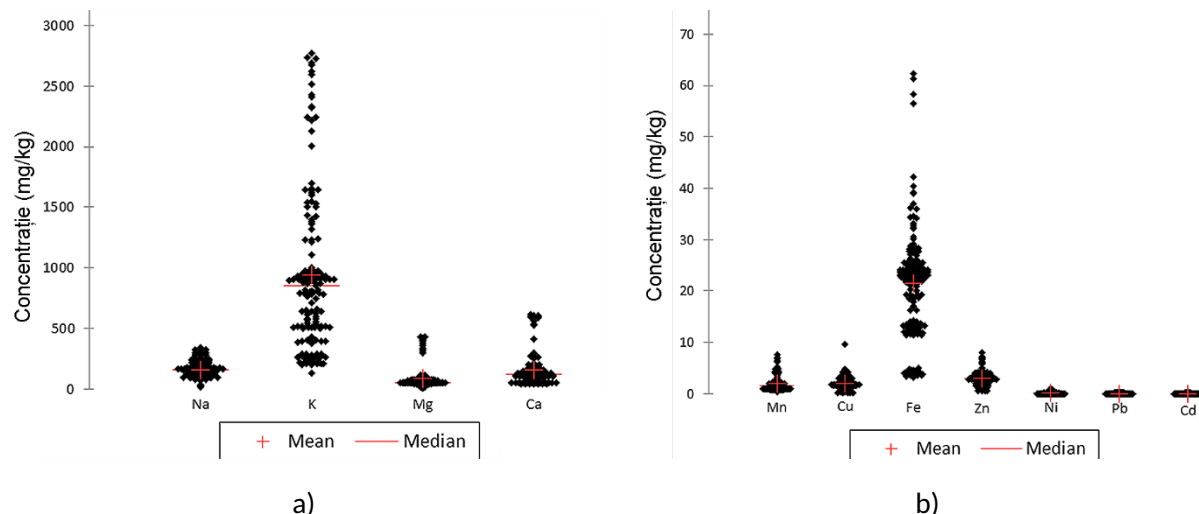


Fig. 3.6. Analiza descriptivă a concentrației elementelor minerale (a- macroelemente, b- microelemente)

Analiza parametrilor de textură a mierii este importantă, deoarece aceștia se modifică din cauza cristalizării. Mierea devine inacceptabilă pentru consumatori din cauza cristalelor de glucoză care măresc vâscozitatea. Intervalul de variație pentru vâscozitate a fost $0,42 \pm 0,06$ N ÷ $1,34 \pm 0,06$ N.

Determinarea reziduurilor de antibiotice și pesticide este importantă deoarece proprietățile nutritive ale mierii sunt diminuate dacă sunt contaminate cu astfel de reziduuri, din cauza toxicității pe care o au și modificărilor pe care le pot cauza sistemului endocrin, de reproducere și nervos (Agbohessi, P.T., 2015, Brander, S.M., 2016, Watermann, B.T., 2016, Febvey, O., 2016, Sturza, J., 2016, Darko, G., 2017, Jing, X., 2021). Prezența antibioticelor în miere este o problemă globală, deoarece pot produce reziduuri și prezintă riscuri pentru sănătatea umană. Folosirea antibioticelor în apicultură este nepermisă (CRL Guidance, 2007). Concentrațiile de reziduuri de pesticide, respectiv antibiotice au variat între cantități nedetectabile și 5,72 ng/g, respectiv 5,53 ng/g. Acetamipridul și imidaclopridul fac parte din clasa neonicotinoidelor și au fost detectați în cele mai multe probe de miere pozitive (figura 3.7).

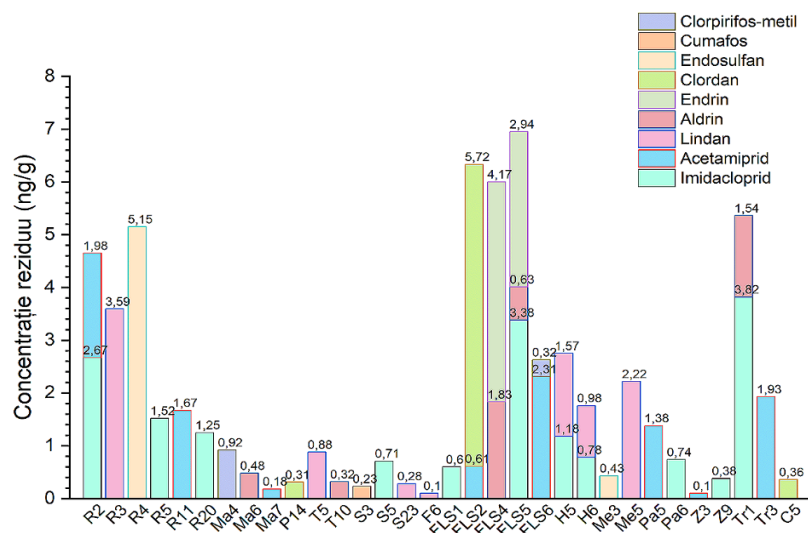


Fig. 3.7. Analiza descriptivă a reziduurilor de pesticide din probele experimentale

Reziduuri de antibiotice s-au detectat în 27 din probele de miere analizate (figura 3.8).

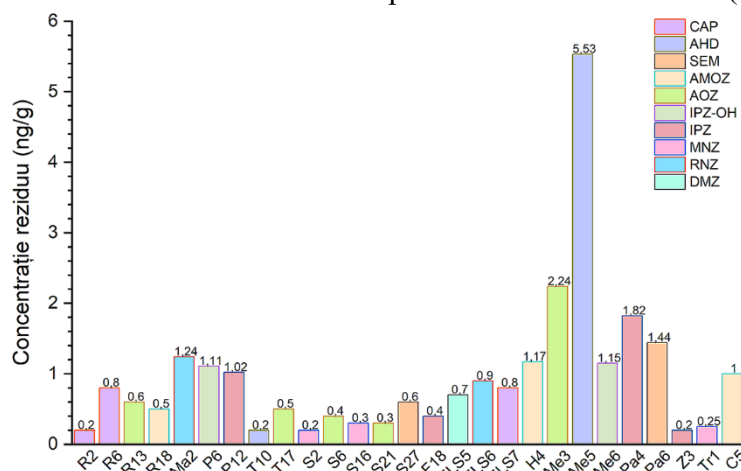


Fig. 3.8. Analiza descriptivă a reziduurilor de antibiotice din probele experimentale (CAP- cloramfenicol; AHD- nitrofurantoin; SEM- nitrofurazon; AMOZ- furaltadonă; AOZ- furazolidonă; IPZ OH- hidroxi- ipronidazol; IPZ- ipronidazol; MNZ- metronidazol; RNZ- ronidazol; DMZ- dimetridazol).

Deși mierea este un produs superior din punct de vedere nutrițional, cu conținut mare de zaharuri care inhibă dezvoltarea anumitor microorganisme, ea poate fi contaminată în procesele de prelucrare și manipulare, ceea ce o face să fie nesigură pentru consum. În urma analizelor efectuate, s-a constatat că toate cele 157 de probe de miere au fost sigure pentru consum, nefiind contaminate cu niciunul din microorganismele patogene. Astfel, pentru fiecare probă, rezultatul evaluării microbiologice a fost:

- drojdii și mucegaiuri: max. 20 cfu/g $\pm$ 0.00;
- Clostridium– absent;
- Bacillus cereus– absent;
- Salmonella– absent;
- bacterii coliforme– absent.

Cercetarea are meritul de a fi scos în evidență aspecte mai puțin studiate privind influența conținutului de elemente minerale, antibiotice și pesticide asupra culorii și texturii unor probe de miere.

Astfel, în privința conținutului de minerale, din analiza statistică s-au evidențiat corelații între conținutul de mangan și prezența reziduurilor de imidacloprid (0,999) pentru mierea de floarea soarelui și de rapiță, între fier, zinc, cadmiu și imidacloprid (pentru mierea de rapiță), între mangan și acidul clorogenic (mierea de mană și de zmeură), între magneziu, nichel și acidul hidroxi-benzoic, între mangan și kaemferol (-0,847), (pentru mierea polifloră). De asemenea, s-au găsit corelații între mangan și acidul galic (-0,967), între potasiu și acidul galic (0,993), între mangan și parametrii de textură (mierea de pășune), între conținutul de cadmiu și valorile coezivității (mierea de floarea-soarelui), mangan și acidul protocatecuic (mierea de castan și polifloră), între mangan și trehaloză (mierea de trifoi), între natriu și cupru și acidul vanilic și parametrul de culoare b*, între concentrațiile de mangan și raportul glucoză/fructoză, între cadmiu și rapoartele glucoză/fructoză și glucoză/apă (mierea de hrișcă), între valorile concentrațiilor de fier și coezivitate, adezivitate, între mangan și adezivitate (mierea de trifoi)

În privința conținutului de reziduuri de antibiotice, din analiza statistică s-au evidențiat corelații pentru toate sortimentele de miere analizate, între prezența reziduurilor de ipronidazol, furaltadonă și parametrul de culoare b*, între furaltadonă și luminozitatea probelor de miere. De asemenea, s-au găsit corelații atât pozitive cât și negative, între furazolidonă și parametrul de culoare a*.

În privința conținutului de reziduuri de pesticide, din analiza statistică s-au evidențiat corelații semnificative acetamiprid și parametrul de culoare a*, între prezența reziduurilor de imidacloprid și parametrii de textură precum coezivitatea (-0,943), adezivitatea (-0,986), masticabilitatea (-0,877), vâscozitatea (0,889) și gumozitatea (0,990).

S-au evidențiat corelații negative între conținutul de glucoză și trehaloză, fapt care sustine ipoteza că trehaloza ar putea influența pozitiv procesul de cristalizare al mierii. Conținutul de mangan ar putea influența parametrii de culoare și prezența reziduurilor de neonicotinoide în miere ar putea fi un factor care influențează parametrii de culoare. În cazul acestei cercetări, probele de miere cu concentrații mai mari de Mn au prezentat reziduuri de neonicotinoide și valori ale luminozității mai mari.

Influența efectelor tratamentului cu ultrasunete asupra parametrilor de calitate și a compoziției probelor de miere a fost descrisă în **capitolul 4** al cercetării doctorale.

Tratamentul cu ultrasunete a fost aplicat probelor de miere, folosind o baie cu ultrasunete BRANSON 3510, Danbury, CT, SUA (figura 2.3), prevăzută cu termostat pentru controlul temperaturii. Temperatura probelor a fost de 20 °C, timpul de tratament a fost de 1 h și frecvența a fost de 42 kHz. Probele tratate au fost depozitate la 18-20°C, la întuneric și au fost analizate și comparate cu probele martor, din punct de vedere fizico-chimic și microbiologic, după aplicarea tratamentului la trei luni, cinci luni, șapte și nouă luni.

Prevenirea cristalizării sau decristalizarea mierii se realizează, în general, prin prelucrare termică. Tratamentul termic poate crește nivelul hidroximetilfurfural, chiar și peste limita stabilită de legislația în vigoare (*Braghini, F., 2014*). Datorită tratamentelor termice, apar modificări ale

activității enzimactice (scădere) și crește conținutul de polifenoli. Se pot produce de asemenea modificări de culoare, respectiv, închiderea la culoare a mierii tratate. O altă metodă utilizată în scopul lichefierii mierii și pentru prevenirea instalării cristalizării este tratarea mierii cu ultrasunete (Majid, I., 2015).

În industria alimentară, tratamentul cu ultrasunete poate avea, printre altele, efectul de a îmbunătăți tendința de cristalizare și de a schimba textura produsului. Acest tratament are acțiune asupra drojdiilor, pe care le distruge, inhibă instalarea cristalizării în miere și îi îmbunătățește aspectul (Joseph, A.K., 2017).

Pentru evidențierea efectelor aplicării tratamentului cu ultrasunete s-au investigat parametrii fizico-chimici și microbiologici pentru șapte sortimente de miere (salcâm, zmeură, tei, polifloră, rapiță, pășune și mană). Figurile 4.1, 4.2 și 4.3 prezintă parametrii de calitate (aciditate, activitate diastazică, HMF), din sortimentele de miere analizate pe parcursul a nouă luni și modificările care apar în timpul studiului pentru probele tratate cu ultrasunete, comparativ cu proba martor (netratată).

Variația conținutului de apă pentru probele netratate a fost cuprinsă între 0,5 și 1,23%, cea mai mică variație fiind pentru mierea de salcâm, tei și polifloră, iar cea mai mare pentru mierea de mană. În cazul probelor tratate, conținutul de apă a fost constant pentru mierea de pășune și a variat cu 1,85% în mierea de zmeură și cu 0,5% în mierea de tei. Pentru proba martor de miere de salcâm, raportul G/A a fost de 1,54. Această valoare a fost valoarea minimă, iar valoarea maximă a acestui parametru a fost determinată pentru mierea de rapiță, de 2,84.

Valorile activității apei au variat în intervalul $0,52 \div 0,62$, valoarea minimă fiind determinată pentru mierea de tei, iar valoarea maximă pentru mierea de rapiță. Activitatea apei nu a fost influențată de tratamentul cu ultrasunete.

Supunerea probelor de miere la tratamentul cu ultrasunete nu influențează conținutul de zahăr al mierii. Cel mai scăzut conținut de glucoză s-a găsit în mierea de salcâm - 27,34 g/100g miere, iar cel mai ridicat în mierea de rapiță - 46,30 g/100g miere, ceea ce indică faptul că mierea de salcâm va cristaliza lent, iar mierea de rapiță va cristaliza rapid. În mierea de salcâm, cel mai mare conținut de fructoză este de 43,64 g/100g, iar în mierea de rapiță, cel mai scăzut conținut de fructoză este 23,60 g/100g. Cel mai ridicat nivel al concentrației de zaharoză a fost determinat în proba de miere de zmeură tratată cu ultrasunete, cu valoarea de 2,10 g/100g și cel mai scăzut nivel de zaharoză în miere de mană cu 0,87 g/100g. Raportul G/F a fost mai mic de 1,0 pentru probele de miere de salcâm, zmeură și pășune. Aceste probe au o tendință mai mică de cristalizare. Cea mai mică valoare de 0,62 a fost pentru mierea de salcâm. Probele de tei, polifloră, rapița și de mană au valoarea raportului $G/F > 1,0$ ceea ce înseamnă că vor cristaliza mai repede. Mierea de rapiță are cea mai mare valoare a acestui parametru, indicând o cristalizare rapidă și totală.

Tratamentul cu ultrasunete aplicat celor șapte sortimente de miere a influențat aciditatea probelor (figura 4.1). În cazul probelor martor, valorile acestui parametru au crescut din prima lună a studiului până la ultima lună a studiului, iar valorile acidității probelor tratate cu ultrasunete au scăzut în timpul studiului. Aciditatea probelor martor a avut cea mai mare variație pentru mierea de tei, crescând cu 13%, cea mai mică variație de 4% a fost determinată pentru mierea de rapiță, în timp ce pentru probele tratate aciditatea a scăzut. Cea mai semnificativă scădere fiind de 12% în

cazul mierii de rapiță, aciditatea mierii de pășune a rămas constantă, iar pentru celelalte sortimente de miere analizate, aciditatea a scăzut cu 1-2 procente. Aplicarea acestui tratament cu ultrasunete prezintă avantaj în inhibarea creșterii microbiene.

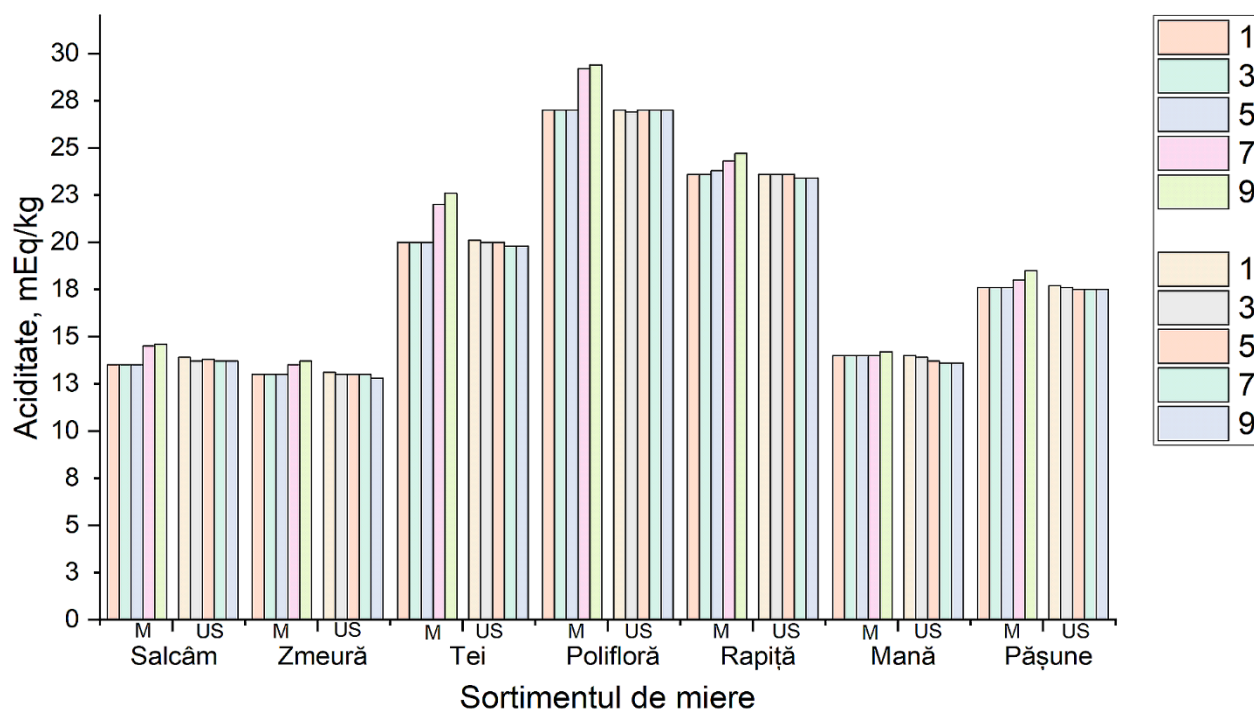


Fig. 4.1. Variația acidității probelor martor și a celor tratate cu ultrasunete pe parcursul cercetării (M- probă martor; US- probă tratată cu ultrasunete; 1; 3; 5; 7; 9 – lunile 1, a 3-a, a 5-a, a 7-a, a 9-a)

Rezultatele experimentale pentru activitatea diastazică au variat în intervalul 16,0 °Göthe ÷ 29,9 °Göthe valoarea minimă fiind determinată în cazul mierii de mană, iar valoarea maximă în cazul mierii de zmeură (figura 4.2). Probele martor din cele șapte tipuri de miere analizate au avut variații (scădere) nesemnificative în activitatea diastatică, iar pentru miera de pășune acest parametru a rămas constant - 29,7 ° Göthe pe parcursul celor 9 luni.

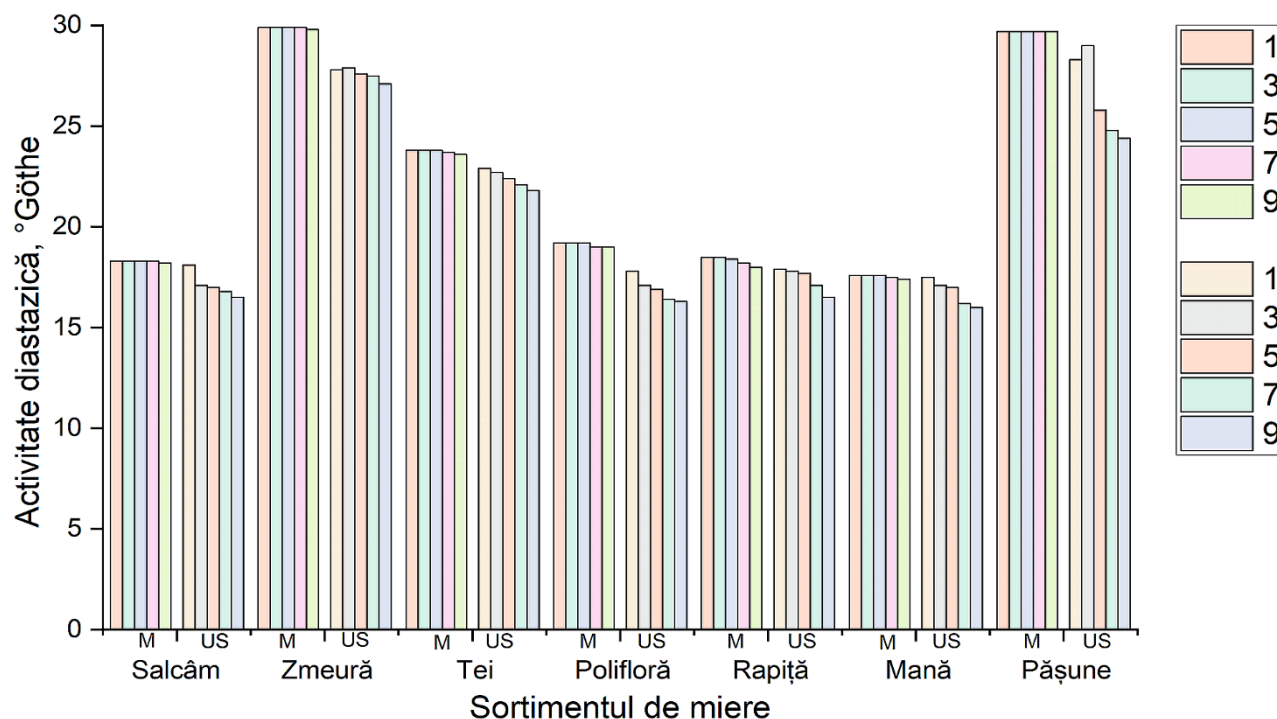


Fig. 4.2. Variația activității diastazice a probelor martor și a celor tratate cu ultrasunete pe parcursul cercetării (M- probă martor; US- probă tratată cu ultrasunete; 1; 3; 5; 7; 9 – lunile 1, a 3-a, a 5-a, a 7-a, a 9-a)

În cazul probelor tratate cu ultrasunete, variația acestui parametru a fost mai semnificativă decât în cele netratate (martor). Aplicarea unui tratament cu ultrasunete la o frecvență de 42 kHz are același efect pentru toate tipurile de miere analizate, acționează asupra diastazei, reducând valoarea activității sale în timp.

Conținutul de HMF al probelor tratate cu ultrasunete a crescut imediat după aplicarea tratamentului și pe parcursul celor 9 luni (figura 4.3). Creșterea conținutului de HMF al probelor martor a fost mult mai mică comparativ cu a celor tratate. Pentru probele martor, cea mai mică variație a concentrației de HMF a fost de 5% pentru mierea de zmeură, iar cea mai semnificativă variație a fost de 30% pentru mierea de mană. În cazul probelor tratate, cea mai mare variație a acestui parametru a fost pentru mierea de tei cu un procent de 127, iar cea mai mică variație de 26% a fost pentru mierea de rapiță.

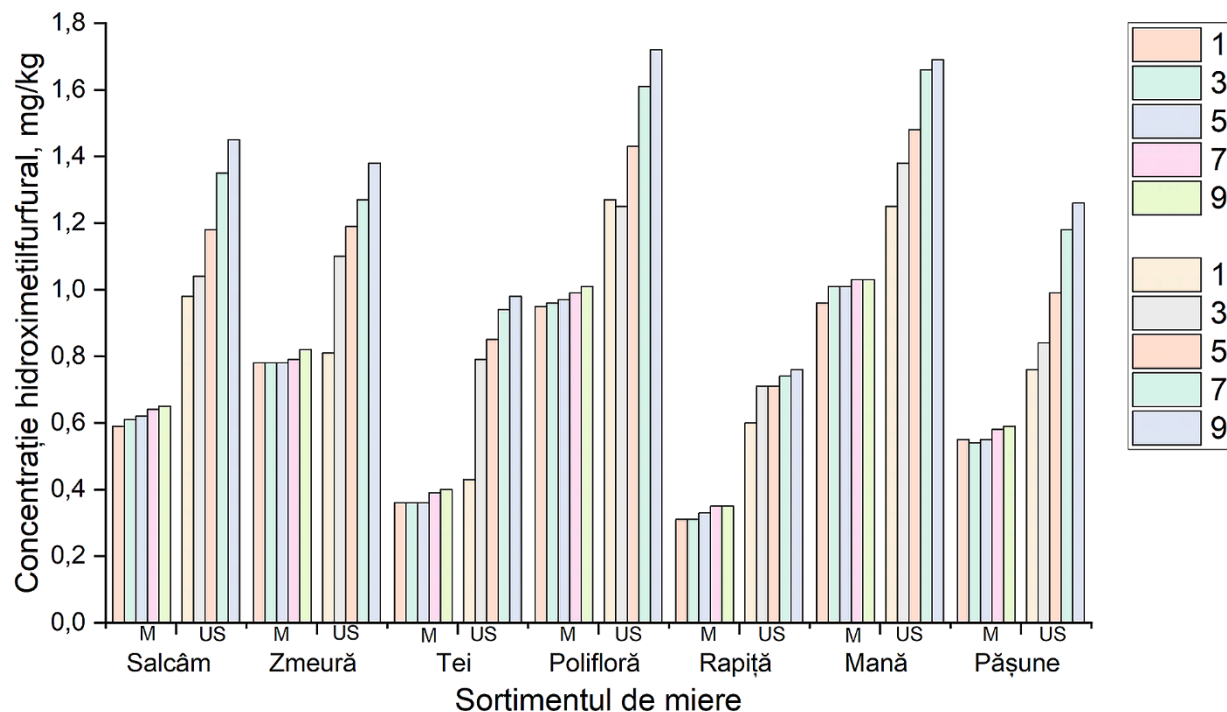


Fig. 4.3. Variația concentrației de hidroximetilfurfural a probelor martor și a celor tratate cu ultrasunete pe parcursul cercetării (M- probă martor; US- probă tratată cu ultrasunete; 1; 3; 5; 7; 9 – lunile 1, a 3-a, a 5-a, a 7-a, a 9-a)

Parametrii microbiologici au fost îmbunătățiți prin tratamentul cu ultrasunete aplicat. Valorile obținute pentru parametri microbiologici determinați pentru probele martor și probele tratate cu ultrasunete au fost în limite acceptabile, în conformitate cu standardele în vigoare. Nici o probă de miere analizată nu prezintă risc, iar microflora patogenă nu a fost detectabilă. *Bacillus cereus* și bacteriile coliforme au fost nedetectabile din orice probă de miere analizată.

În probele de miere de salcâm, miere de mană și miere de pășune, tratate cu ultrasunete, drojdiile și mucegaiurile nu au fost detectabile.

Drojdiile au fost nedetectabile pentru probele tratate cu ultrasunete de salcâm, tei, polifloră, rapiță, miere de pășune, iar pentru mierea de zmeură a fost $<10-10$ cfu/g, dar au fost prezente în probele martor, în limite admisibile, valorile variind astfel, $<10-10$ cfu/g pentru mierea de salcâm la 40 cfu/g pentru miere polifloră și de rapiță. La mierea de salcâm, atât în proba martor, cât și în cea tratată nu s-au detectat mucegaiuri. De asemenea, probele de miere de mană și pășune tratate nu au prezentat mucegaiuri. În celelalte probe martor valorile pentru mucegaiuri au fost cuprinse în intervalul $<10 \div 40$ cfu/g, iar în probele tratate cu ultrasunete, valoarea maximă pentru acest parametru a fost 10 cfu/g pentru mierea de tei și polifloră.

Reducerea și inactivarea microorganismelor din probele de miere analizate sunt rezultatul proceselor fizico-chimice care au loc în timpul tratamentului cu ultrasunete.

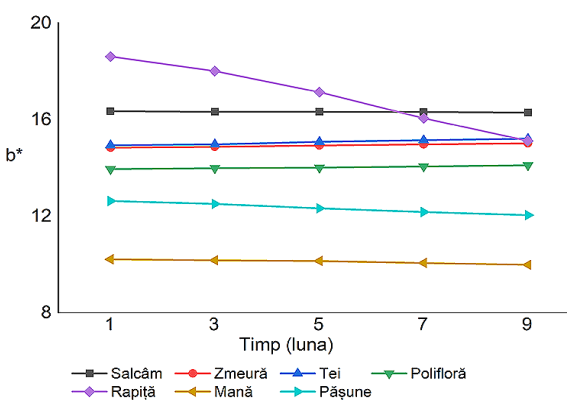
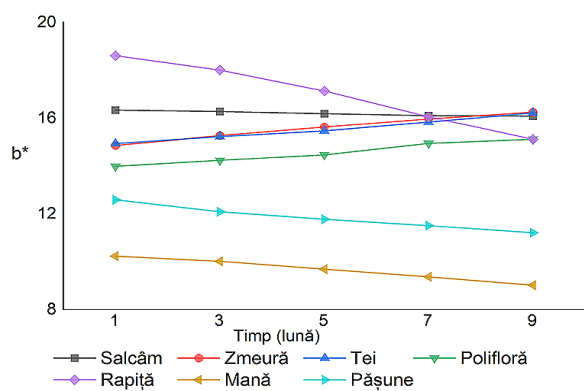
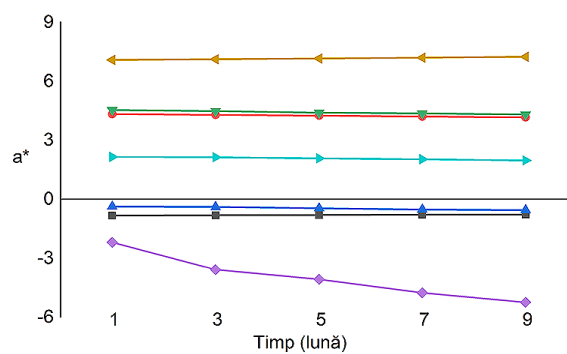
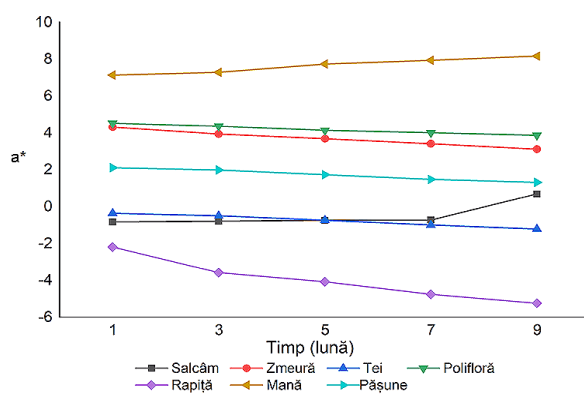
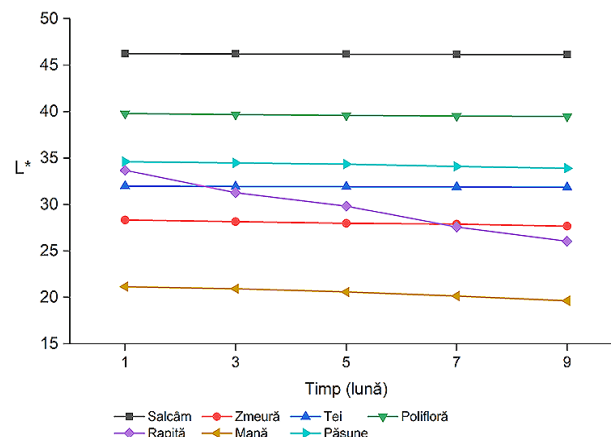
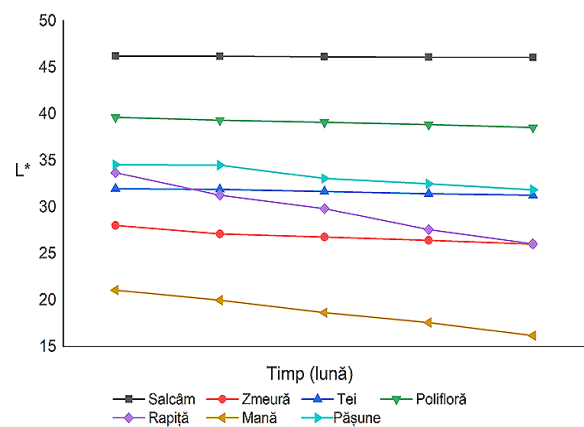
Analiza statistică a arătat corelații puternice ale rapoartelor G/F și G/A cu unii parametri de textură și culoare care caracterizează procesul de cristalizare.

Această cercetare evidențiază efectul aplicării tratamentului cu ultrasunete pe diferite tipuri de miere pentru parametri fizico-chimici, culoare (figura 4.4), parametri de textură, parametri microbiologici și apariția cristalelor în timp. Analizele efectuate au făcut posibil acest lucru pentru a evidenția importanța și utilitatea tratamentului pentru a preveni creșterea microbiană în cazul tuturor tipurilor de miere analizate. Mai mult, s-a analizat efectul tratamentului cu ultrasunete asupra parametrilor de calitate și efectul a fost diferit de la un sortiment de miere la altul. Influența pozitivă a aplicării ultrasunetelor asupra texturii mierii, prin menținerea acesteia pentru o perioadă mai lungă de timp (nouă luni) a fost evidențiată prin curbe de textură (figura 4.5) și imaginile microscopice (figura 4.6). Tratamentul aplicat nu a crescut concentrația de HMF peste limita maximă de 40 mg/kg, stabilită de legislația europeană. De asemenea, ultrasunetele au cauzat diminuarea considerabilă a activității enzimelor din miere.

În cazul mierii de salcâm, luminozitatea a variat cel mai puțin, cu 0,3% pentru proba martor și cu 0,2% pentru proba tratată. Luminozitatea celorlalte tipuri de miere a variat mai mult, în mierea de rapiță s-a determinat cea mai mare variație în proba martor, cu o variație de 22%, iar în proba tratată doar cu 13%. Cea mai mică luminozitate a fost determinată în mierea de mană (16,17), în proba martor și cea mai mare în miere de salcâm (46,26). Componenta verde (valori negative pentru a*) s-au determinat în toate probele de miere de salcâm, miere de tei și rapiță. Cea mai mare valoare a componentei verzi a fost în mierea de rapiță (-5,24) în proba martor în luna a 9-a a cercetării. Parametrul roșu (valorile pozitive pentru a*) a fost găsit în mierea de zmeură, mierea polifloră, mană și pășune. Cea mai mare valoare a parametrului roșu a fost determinat pentru proba martor a mierii de mană în luna a 9-a (8,17) și cea mai mică valoare pentru proba martor a mierii de pășune (1,32), în luna a 9-a.

Toate probele s-au deschis la culoare din cauza cristalizării glucozei, care se reflectă în valoarea a * și b *, în scăderea luminozității și a indicelui de galben.

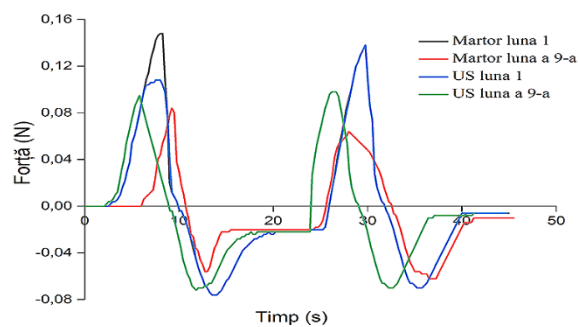
Rezultatele au arătat că, pe măsură ce faza cristalină a crescut datorită cristalizării glucozei în probele martor, s-a format o structură solidă în care cristalele au creat o matrice caracterizată printr-o coezivitate care a crescut în timp, schimbând textura probelor de miere. Odată cu instalarea procesului de cristalizare, vâscozitatea, masticabilitatea și coezivitatea au crescut datorită creșterii numărului de cristale și a mărimii acestora. Adezivitatea și elasticitatea au scăzut în toate probele, iar gumozitatea a variat diferit în funcție de originea botanică a mierii. Tratamentul cu ultrasunete de intensitate mică și medie, reprezintă o modalitate de schimbare a cursului cristalizării glucozei și a formării mierii cristalizate.



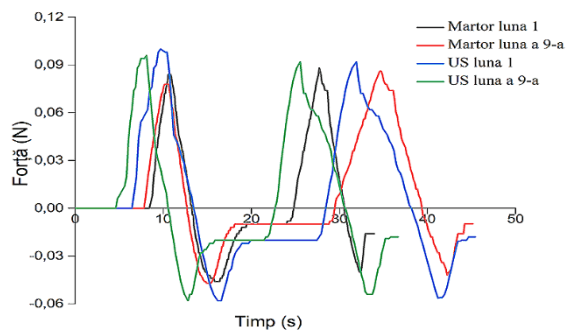
Martor

Tratate cu ultrasunete

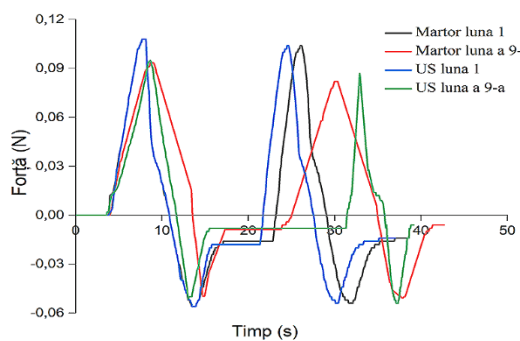
Fig. 4.4. Variația parametrilor de culoare din probele experimentale



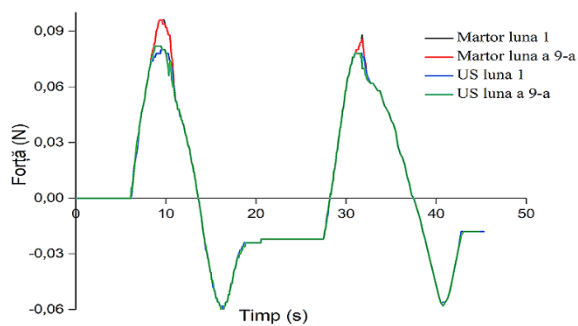
Mană



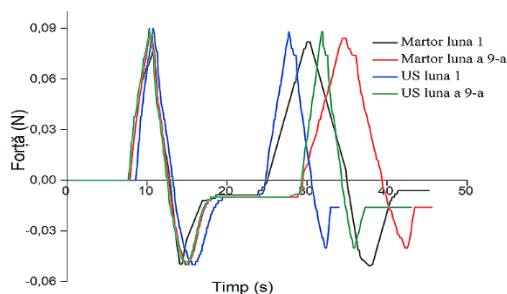
Polifloră



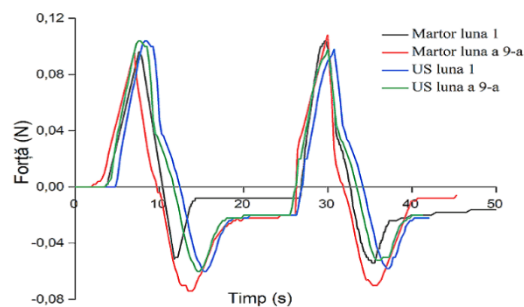
Rapiță



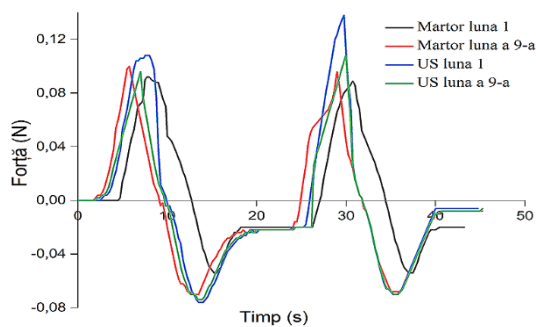
Salcâm



Tei



Zmeură



Pășune

Fig. 4.5. Variația parametrilor de textură din probele experimentale

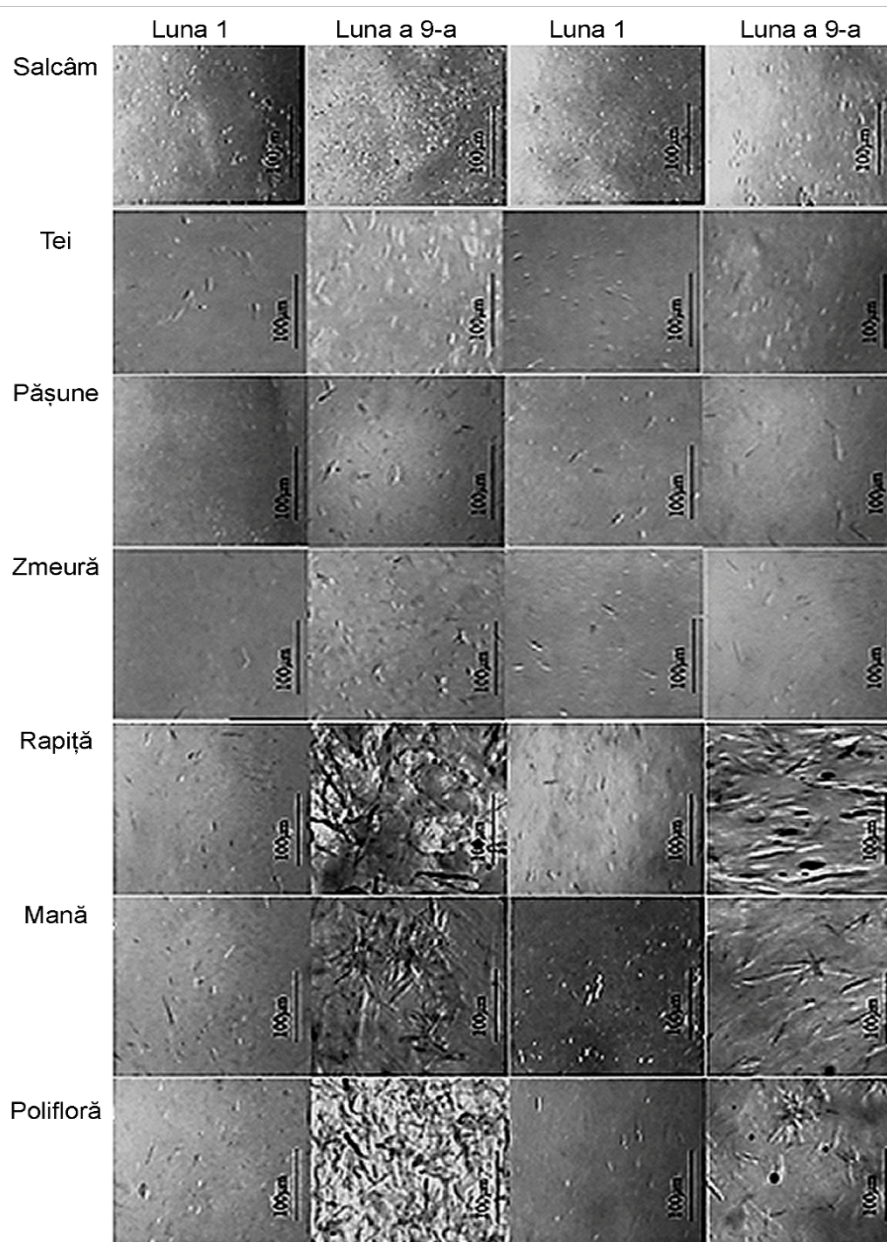


Fig. 4.6. Analiza cristalelor din probele de miere

Din imaginile prezentate, se observă în toate probele, atât tratate cât și netratate, în prima lună, numărul redus de cristale, fine, uniforme, de dimensiuni reduse. Imaginile microscopice din ultima lună arată diferențe semnificative atât între tipurile de miere analizate cât și între probele martor și cele tratate ale aceluiași sortiment de miere.

Aplicarea tratamentului cu ultrasunete reprezintă o alternativă pentru metodele convenționale de prevenire a cristalizării mierii prin încălzire, însă prezintă dificultăți în aplicare. Această metodă este dificil de aplicat deoarece presupune manoperă multă, aparatură, consum de energie și personal specializat la fiecare producător de miere. Toate acestea reprezintă, totodată, costuri suplimentare care ar contribui la creșterea prețului final al produsului.

Influența efectelor tratamentului cu trehaloză asupra parametrilor de textură și a compoziției probelor de miere a fost descrisă în **capitolul 5** al cercetării doctorale. În fiecare probă tratată, s-au adăugat 1,2-1,7 mililitri (ml), de soluție de trehaloză 2%, cu o ușoară și scurtă amestecare, astfel încât conținutul de apă să nu depășească 20% în orice probă de miere. Probele tratate au fost depozitate la 14-16°C, la întuneric și au fost analizate și comparate cu probele martor, din punct de vedere fizico-chimic și microbiologic, la o lună după tratare, la trei luni, șase luni, nouă și douăsprezece luni.

Gradul de cristalizare, aroma și culoarea reprezintă criterii de acceptabilitate pentru miere (Patrignani, M., 2017). După cristalizare, culoarea mierii se schimbă, produsul devine opac, cu aspect ceros (Nurul Zaizuliana, R. A., 2017) diferă puternic de proba inițială de miere a cărei culoare este dată de nectarul floral din care provine (Patrignani, M., 2017). Glucoza, având o solubilitate mai mică decât fructoza, se separă mai repede de cristalele albe. Schimbarea puternică a culorii nu mai permite identificarea unui anumit sortiment de miere conform culorii sale originale, dată de sursa de nectar.

Cristalizarea mierii favorizează schimbările de culoare, parametrii texturali și reologici, separarea fazelor, afectând acceptarea consumatorului și creând dificultăți în păstrarea și manipularea mierii de către producători, motiv pentru care există îngrijorări cu privire la prevenirea acestui proces.

Metodele cunoscute și utilizate până în prezent pentru a preveni cristalizarea mierii, precum tratamentul termic, ultrasunetele sau microundele, studiate pe larg și cu rezultate publicate în numeroase lucrări, au introdus energie externă în miere, dezechilibrând energetic produsul natural, determinând formarea de compuși toxici precum HMF sau reducând activitatea enzimelor din miere. Toate aceste proceduri sunt costisitoare, necesită cunoștințe specifice în utilizarea surselor cu ultrasunete sau microunde, multă muncă, iar rezultatele sunt păstrate pentru scurt timp în majoritatea cazurilor, mierea eliberând energia primită și cristalizând din nou.

Utilizarea trehalozei, în cantități mici de 0,07–0,08 mmol de trehaloză/100 g miere, a împiedicat cristalizarea mierii, fără a afecta compoziția chimică a acesteia sau proprietățile sale de culoare sau textură. Valorile parametrilor influențați de procesul de cristalizare, cum ar fi culoarea, textura, comportamentul de variație a temperaturii, au arătat diferențe semnificative între cele două loturi de probe, cu și fără adaos de trehaloză.

În probele martor de miere de rapiță, polifloră și floarea-soarelui, a existat o schimbare semnificativă a parametrilor de culoare chiar și din prima lună de monitorizare datorită cristalizării. În cazul eșantioanelor martor, indicii de galben scade puternic în mierea polifloră cu aproximativ 43% și mierea de floarea soarelui cu 48%, în celelalte sortimente variația fiind mult mai mică. La probele cu trehaloză adăugată, variația indicelui de galben este mai mică de 0,1%. Scăderea luminozității (figura 5.1), este mai pronunțată în timpul depozitării în probele martor, unde raportul G/F este mai mare (și cristalizarea mai rapidă), decât în cazul probelor de miere cu adaos de trehaloză.

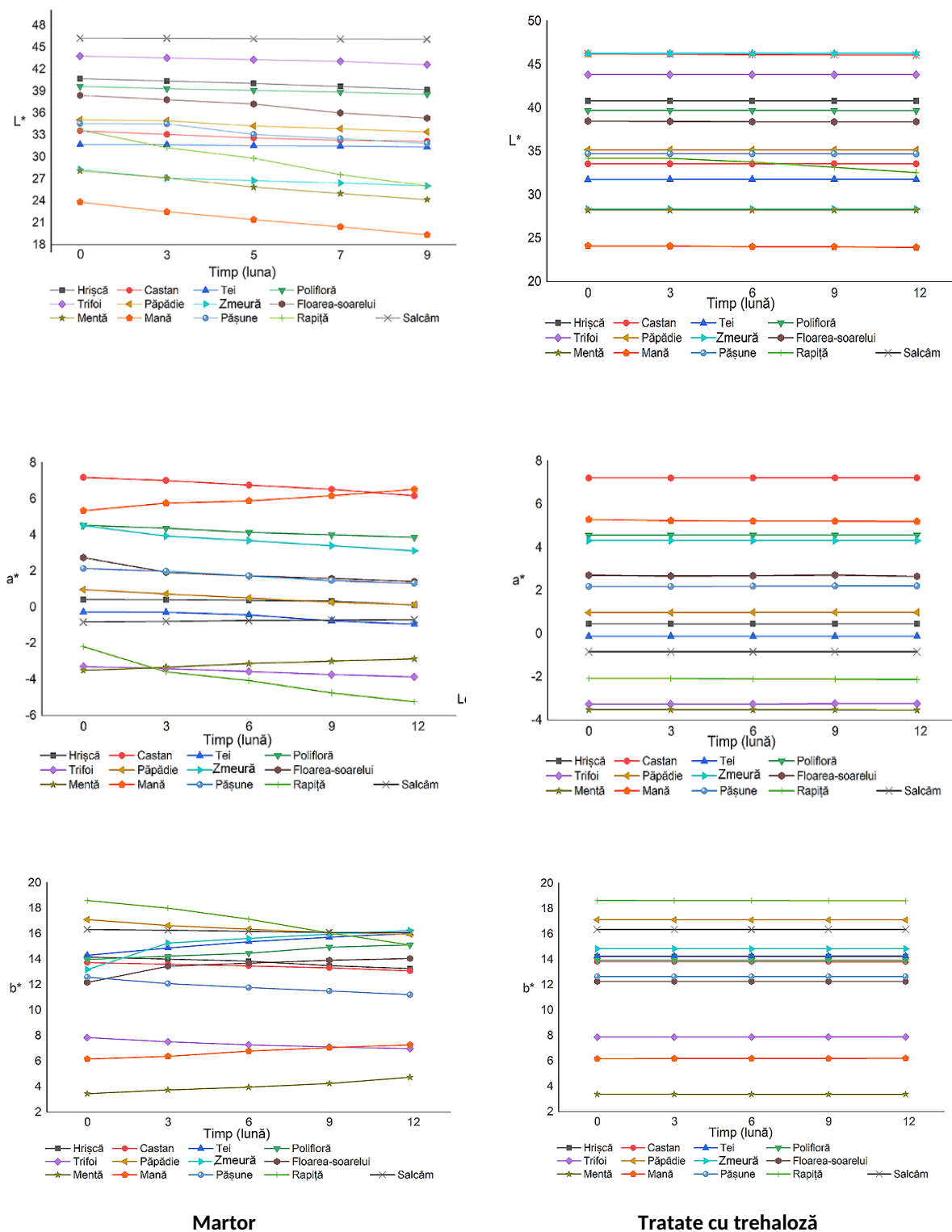


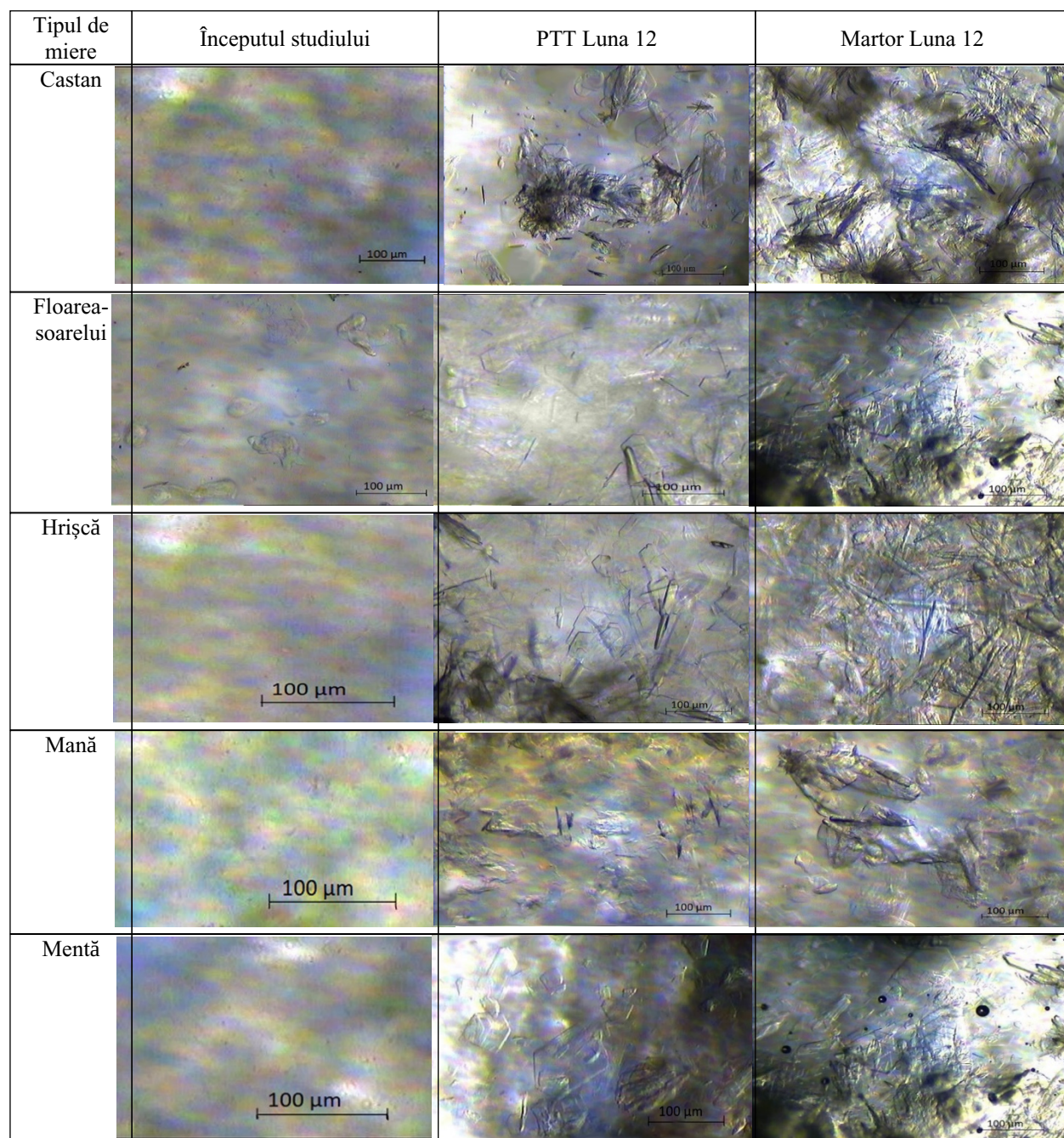
Fig. 5.1. Variația parametrilor de culoare din probele experimentale

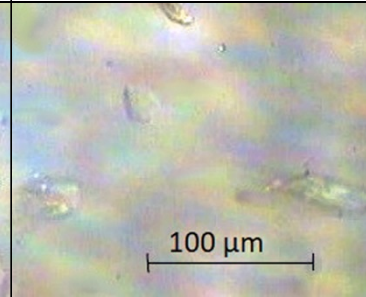
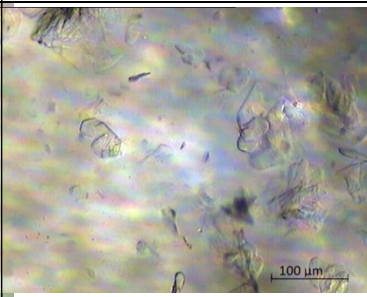
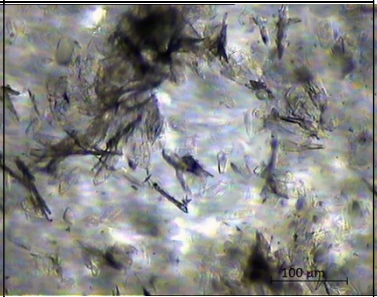
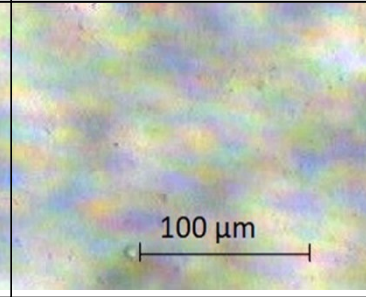
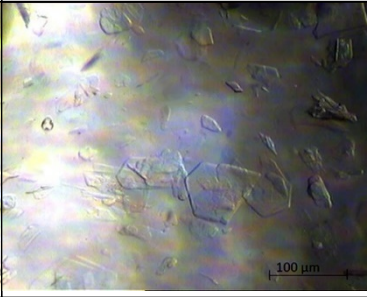
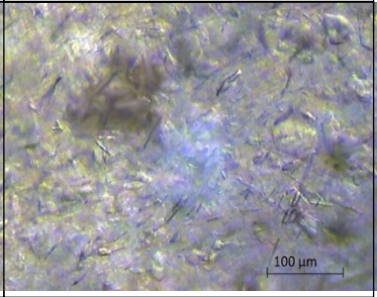
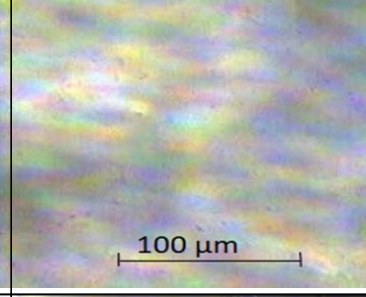
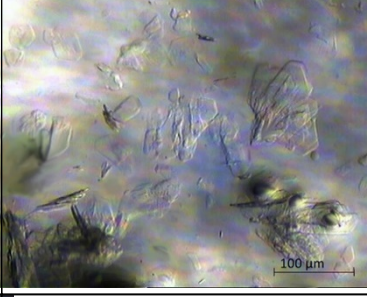
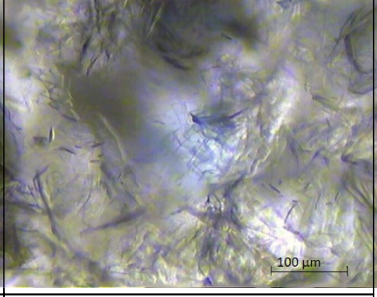
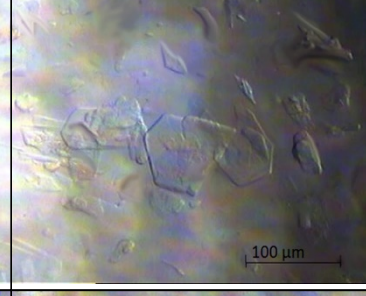
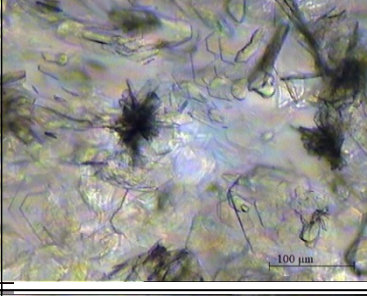
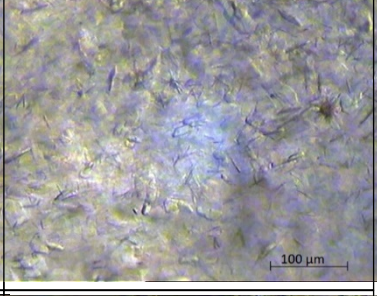
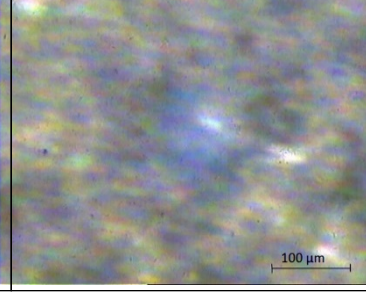
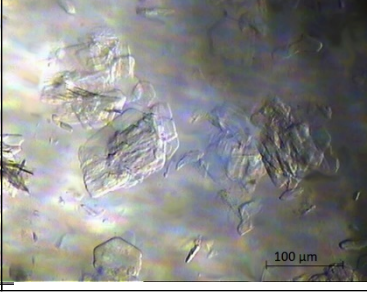
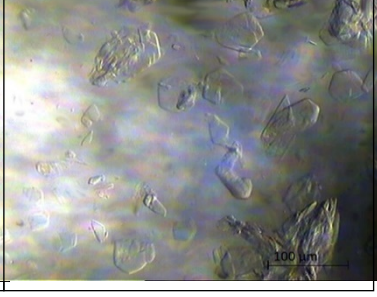
Activitatea apei (a_w) a rămas relativ constantă atât în probele martor cât și în cele cu adaos de trehaloză, fapt care demonstrează stabilitatea probelor. Aciditatea probelor martor a crescut pe

parcursul celor 12 luni de cercetare, iar aciditatea probelor cu adaos de trehaloză a rămas constantă în toate sortimentele de miere. Concentrația de HMF a crescut, atât în probele martor cât și în cele cu adaos de trehaloză. Probele tratate cu trehaloză s-au diferențiat de cele martor prin variația scăzută a conținutului de HMF.

Activitatea diastazei și conținutul de polifenoli a variat prin scăderea valorilor în cazul probelor martor. În probele tratate cu trehaloză, activitatea diastazică a fost îmbunătățită sau a rămas constantă, iar conținutul total de polifenoli a rămas relativ constant

Cristalizarea glucozei din soluția de miere suprasaturată determină modificarea parametrilor de culoare datorită capacității de reflexie a cristalelor de glucoză formate (figura 5.2).



Tipul de miere	Începutul studiului	PTT Luna 12	Martor Luna 12
Păpădie			
Pășune			
Polifloră			
Rapiță			
Salcâm			

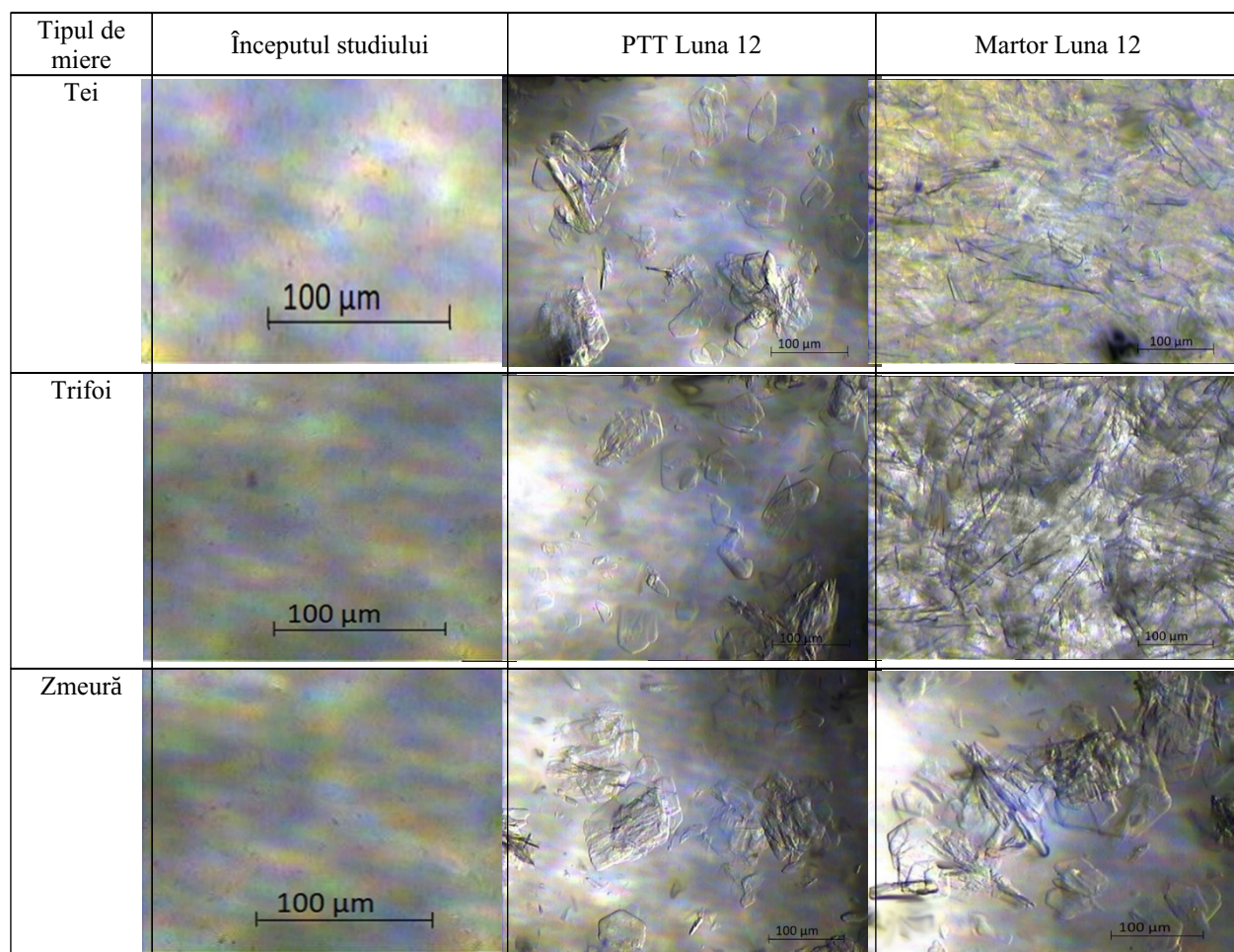
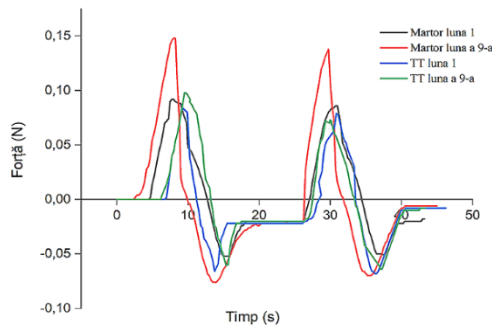
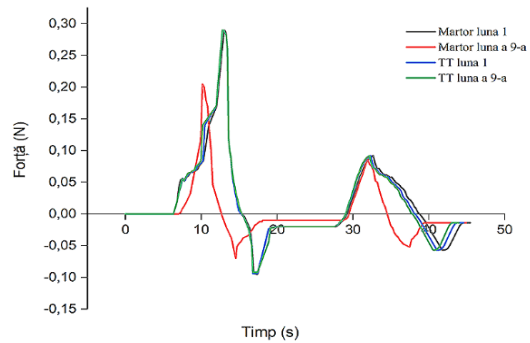


Fig. 5.2. Variația cristalelor din probele experimentale pe parcursul celor 12 luni (PTT- probă tratată cu trehaloză)

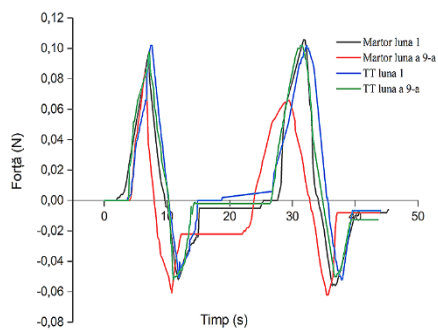
De asemenea, datorită cristalizării glucozei din soluția suprasaturată din miere, s-au constatat modificări ale coezivității, gumozității și adezivității (figura 5.3). Cea mai mare creștere a vâscozității a fost înregistrată de probele martor de miere de rapiță, urmată de miera de pădărie și cea mai mică din martorul mierii de salcâm.



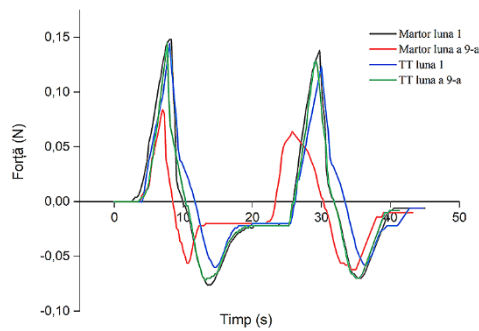
Castan



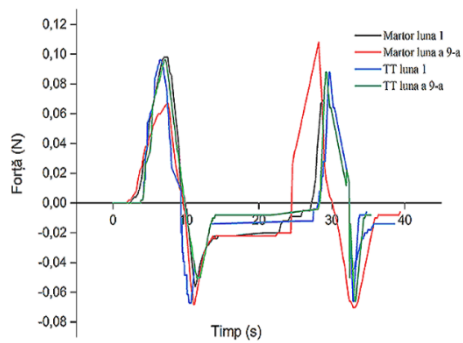
Floarea-soarelui



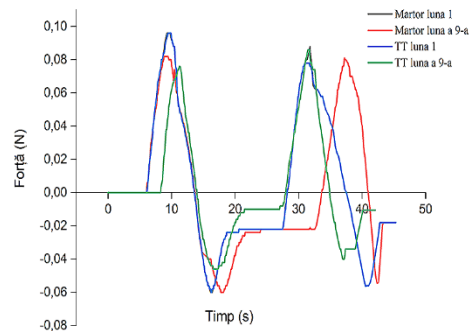
Hrișcă



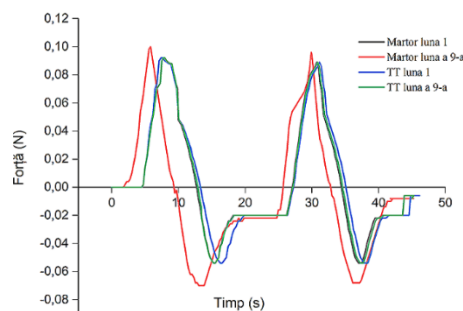
Mană



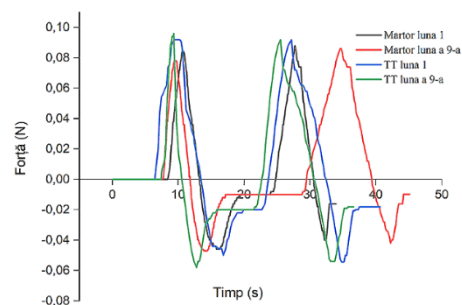
Mentă



Pădărie



Pășune



Polifloră

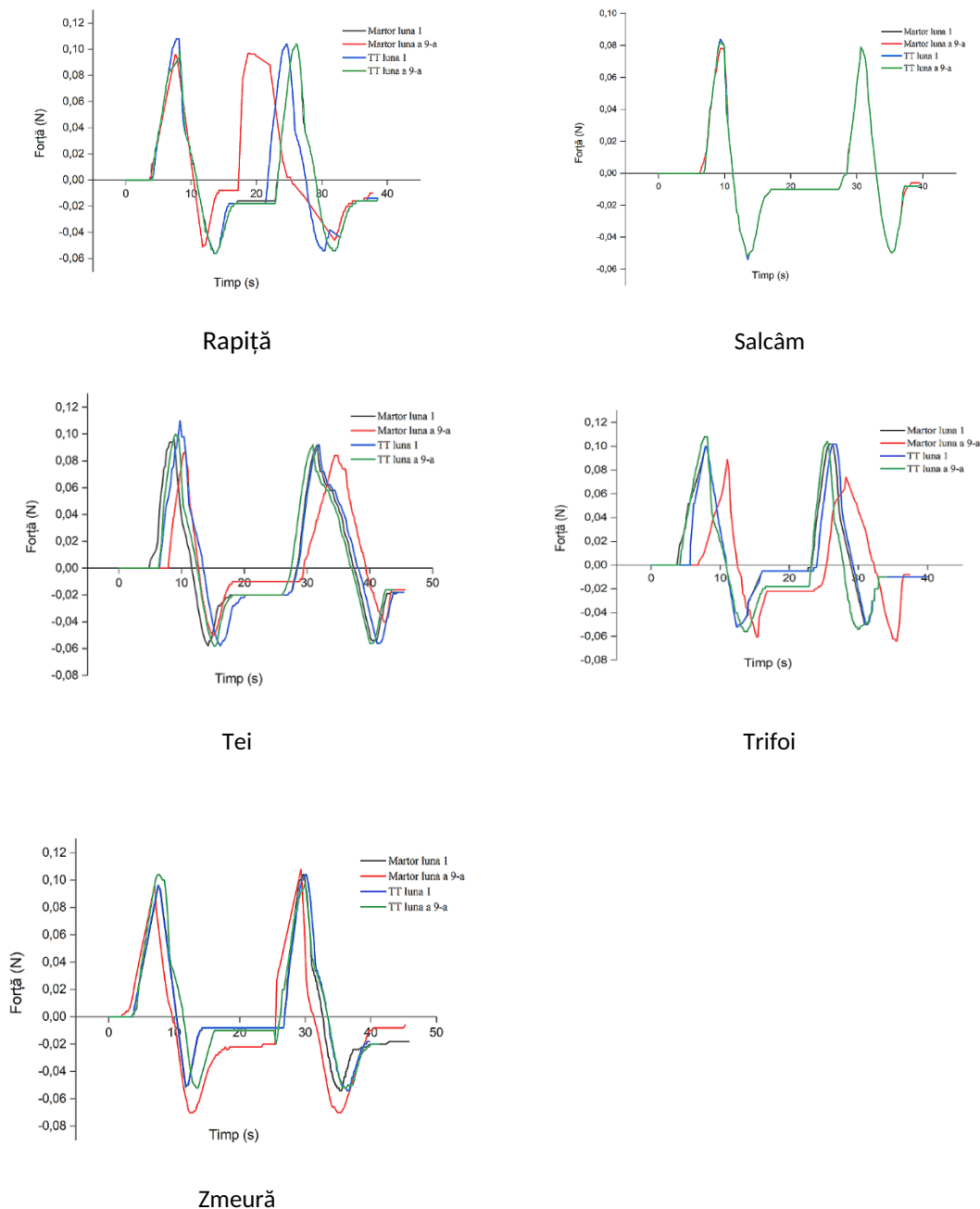


Fig. 5.3. Analiza texturii celor treisprezece tipuri de miere

Adaosul de trehaloză a îmbunătății sau a menținut activitatea diastazică a probelor de miere.

Peak-urile înregistrate pe termogramele obținute prin analiza calorimetrică evidențiază procese endoterme (topirea cristalelor) sau exoterme (cristalizarea mierii). În cazul probelor de miere, fără adaos de trehaloză, s-au evidențiat peak-uri la formarea fazei sticloase și topirea cristalelor printr-un proces endotermic,

Analiza statistică a arătat că există corelații puternice (cu un nivel de semnificație $\alpha = 0,05$ și $0,01$) între conținutul trehalozei și raportul G/F dar și cu unii parametri de textură și culoare care caracterizează procesul de cristalizare.

Această cercetare a demonstrat rolul trehalozei în protejarea structurii mierii împotriva eliminării apei din soluția de glucoză suprasaturată care apare în timpul cristalizării.

Adaosul de trehaloză reprezintă metodă inovativă de prevenire a cristalizării mierii, o alternativă pentru metodele convenționale cunoscute și utilizate până în prezent, care produc modificări semnificative în compoziția mierii. Această metodă inovativă este ușor de aplicat chiar pentru cantități industriale de miere, nu necesită aparatură și personal de specialitate.

Capitolul 6 al tezei cuprinde concluziile generale și contribuțiile originale la stadiul cunoașterii în domeniu realizate prin cercetarea doctorală efectuată. Datorită problemelor cu care se confruntă atât apicultorii (dificultăți în prelucrarea și manipularea mierii, dificultăți în aplicarea tratamentelor de prevenire a cristalizării deja cunoscute, alterarea calității mierii din cauza tratamentelor termice convenționale), cât și consumatorii (tendința de a considera mierea cristalizată ca fiind falsificată sau alterată, tendința de a refuza consumul de miere cristalizată din cauza cristalelor care ajung în bolta palatină, imposibilitatea recunoașterii sortimentelor de miere după culoare), este imperios necesară identificarea unei alternative pentru prevenirea procesului de cristalizare a mierii.

În urma elaborării stadiului actual, a parcurgerii documentației și cercetărilor realizate la zi, pe plan mondial, s-au identificat o serie de tratamente care pot fi aplicate în scopul prevenirii instalării procesului de cristalizare în miere, dar care prezintă totodată și o serie de dezavantaje.

Capacitatea mierii de a cristaliza depinde de mulți factori, atât compoziționali (zaharuri, cât și conținutul de apă, prezența unor microcristale) cât și de mediu (temperatura de păstrare și istoricul tratamentelor termice). De asemenea, sursa de nectar colectat de albine și metodele de prelucrare și manipulare a mierii reprezintă factori importanți, care influențează viteza de cristalizare a acesteia. Apariția cristalizării în miere este un proces nedorit, deoarece pentru consumatori acest proces este un motiv pentru a refuza consumul produsului.

Deoarece mierea este mult mai apreciată în starea sa necristalizată de consumatori, cele mai comune metode de prevenire a cristalizării utilizate pe scară largă de către producători sunt: tratamentul termic la temperaturi ridicate (încălzire pe baie de apă, încălzire cu radiații infraroșii, încălzire cu microunde, pasteurizare), sau foarte scăzute, ultrasonare, cuptor cu microunde, filtrare, ultrafiltrare și adăugarea de inhibitori de cristalizare.

S-a constatat că parametrii fizico-chimici și microbiologici ai probelor experimentale sunt influențați de sursa botanică și se încadrează în standardele cerute de legislația actuală.

Coeficientul de corelație Pearson a pus în evidență interdependențele dintre parametrii de calitate ai celor 157 de probe de miere și s-au obținut corelații atât pozitive cât și negative între parametrii de culoare și unii parametri de textură, unii compuși fenolici, dar și între unele elemente minerale și prezența sau absența reziduurilor de pesticide sau antibiotice.

În afară de conținutul de zaharuri dominante, respectiv rapoartele care indică tendința de cristalizare (G/F și G/A), s-a evidențiat trehaloza cu concentrațiile cele mai mari în mierea de salcâm (sortiment de miere care cristalizează lent) și cu cele mai mici concentrații în mierea de rapiță (sortiment de miere care cristalizează rapid). S-au găsit corelații negative între conținutul de trehaloză și conținutul de glucoză, respectiv raportul G/F și corelații pozitive între conținutul de trehaloză și fructoză. De asemenea s-au evidențiat corelații între parametrii de culoare și unele elemente minerale, între mangan și reziduurile de neonicotinoide.

Efectul aplicării tratamentului cu ultrasunete a fost evaluat prin studierea în timp a tendinței de cristalizare, a proprietăților reologice ale mierii și a proprietăților chimice și microbiologice. Parametrii analizați pentru cele două grupuri de probe (tratate și netratate cu ultrasunete), care nu au variat sau au avut mici variații în timpul cercetării au fost conținutul de apă, aciditatea, activitatea apei, glucoza, fructoza, zaharoza, raportul glucoză/apă și glucoză/ fructoză.

Procesul de cristalizare s-a instalat în probele martor din prima lună a studiului și mult mai târziu în probele tratate.

Culoarea probelor netratate a variat considerabil, iar culoarea celor tratate a rămas stabilă sau a variat ușor.

Pentru probele martor, cea mai mică variație a concentrației de hidroxitilfurfural (HMF) a fost în mierea de zmeură (5%), iar cea mai semnificativă variație a fost în mierea de mană (30%). Pentru probele tratate, cea mai mare variație a acestui parametru a fost găsită la mierea de tei (127%), iar cea mai mică variație a fost la mierea de rapiță (26%).

Calitatea microbiologică a fost mai ridicată pentru probele tratate. În probele tratate cu ultrasunete de miere de salcâm, miere de mană și miere de pășune, drojdiile și mucegaiurile au fost nedetectabile. Drojdiile și mucegaiurile au fost nedetectabile sau au avut o valoare cuprinsă între <10 și 10 cfu/g pentru celelalte tipuri de miere. Valorile pentru drojdii și mucegaiuri au variat în probele martor între <10 și 40 cfu/g, mai mari decât cele ale probelor tratate.

Aplicarea tratamentului cu ultrasunete poate reprezenta o modalitate de prevenire a cristalizării mierii, având în vedere că îmbunătățește proprietățile de textură ale mierii, însă acest procedeu necesită aparatură și personal specializat, implicit costuri. Este dificilă tratarea unor cantități mari de miere. Un dezavantaj al acestui procedeu îl reprezintă modificarea unor proprietăți chimice și biochimice, respectiv creșterea conținutului de hidroxitilfurfural și scăderea activității enzimatică.

Tendința de cristalizare a mierii este corelată cu rapoartele glucoză/fructoză și glucoză/apă (G/A). Modificarea raportului glucoză/fructoză prin intervenția asupra compoziției chimice ar însemna îndepărtarea produsului de originea lui, odată cu modificarea tuturor proprietăților fizico-chimice, microbiologice și senzoriale. Cercetarea a fost orientată către raportul glucoză/apă care poate fi influențat prin schimbarea dinamicii moleculelor de apă, astfel determinând împiedicarea cristalizării glucozei în soluție suprasaturată. Din analiza zaharurilor, în afară de glucoză, fructoză și zaharoza, s-au obținut rezultate importante în privința conținutului de trehaloză și melezitoză. Concentrațiile cele mai mari de trehaloză au fost determinate pentru probele de salcâm, sortiment de miere care cristalizează lent și cele mai mici în mierea de rapiță care cristalizează rapid.

Prevenirea cristalizării mierii prin utilizarea trehalozei, o dizaharidă găsită în toate tipurile de miere în proporții diferite, poate reprezenta o metodă eficientă și ușor de aplicat chiar pe scară largă, pentru cantități industriale de miere.

Toți parametrii fizico-chimici ai probelor de miere cu adaos de trehaloză au rămas constanți în timpul depozitării, în timp ce în cazul probelor martor unii parametri au avut variații mici (aciditate, HMF, activitate diastazică).

Probele cu adaos de trehaloză și-au menținut culoarea și și-au păstrat starea inițială de lichid, în timp ce probele martor au început să cristalizeze din prima lună.

Analizele de textură efectuate pe cele două loturi de probe au arătat că probele cu trehaloză mențin toate valorile parametrilor de pe curba de analiză a profilului texturii (TPA), în timp ce probele martor, fără adaos de trehaloză au suferit modificări, datorită cristalizării glucozei. Analiza de textură a demonstrat că probele cu adaos de trehaloză își mențin toate proprietățile constante în timp ce probele fără adaos au variații mari ale vâscozității, adezivității, coezivității, gumozității, pe

parcursul perioadei de depozitare, în absența luminii, și la temperatură constantă.

Analiza calorimetrică cu scanare diferențială (DSC) a relevat absența procesului de cristalizare în probele de miere cu adaos de trehaloză pe un interval larg de temperatură, care cuprinde inclusiv temperaturile normale de depozitare. Astfel, adăugarea de trehaloză a împiedicat procesul de cristalizare, mierea păstrându-și starea lichidă, textura și culoarea inițială.

Analiza microscopică a cristalelor a demonstrat că probele fără adaos au început să cristalizeze din prima lună, iar cele cu adaos de trehaloză și-au păstrat starea lichidă.

Împiedicarea cristalizării determină păstrarea proprietăților de textură ale mierii și menținerea comportării ei în cavitatea bucală, extrem de important atât pentru consumatorii adulți, cât și pentru copiii care nu agreează prezența cristalelor pe bolta palatină.

Împiedicarea cristalizării are ca efect menținerea culorii inițiale a mierii și posibilitatea de recunoaștere a tipului de miere după o perioadă de depozitare. Apariția cristalelor determină deschiderea puternică la culoare a mierii față de mierea inițială, a cărei culoare depinde de sursa florală a nectarului, fapt care produce imposibilitatea diferențierii sortimentelor de miere. Toate sortimentele de miere cristalizată tind să aibă culoare asemănătoare.

Adaosul de trehaloză chiar în cantități atât de mici, este benefic pentru sănătatea consumatorului, lucru dovedit de cercetările numeroase asupra efectelor utilizării trehalozei în medicină, industria medicamentelor, conservarea unor structuri biologice, producție alimentară, tehnologii noi de deshidratare, extracție și conservare.

Adaosul de trehaloză este permis de legislația europeană în vigoare, în conformitate cu Directiva 2001/110/CE din 20 decembrie 2001 privind mierea- Articolul 6. *Măsurile necesare pentru punerea în aplicare a prezentei directive referitoare la aspectele menționate mai jos se adoptă în conformitate cu procedura prevăzută la articolul 7 alineatul (2): - alinierea prezentei directive la legislația comunitară generală privind produsele alimentare; - adaptări la progresul tehnic.* Utilizarea trehalozei, prezentă în corpul albinelor, cărora le asigură energia necesară și care se găsește în miere în diferite proporții, în funcție de sursa botanică, reprezintă un progres tehnic recunoscut prin procesul de brevetare.

Rezultatele obținute au demonstrat ca adaosul de trehaloză previne instalarea procesului de cristalizare în miere, dă posibilitatea recunoașterii sortimentelor de miere după culoarea caracteristică fiecărui sortiment, nu produce modificări ale compoziției mierii, nu afectează parametrii de calitate ai mierii și reprezintă o metodă ușor de aplicat.

Contribuția originală a tezei la studiul actual al cercetărilor în domeniul cristalizării mierii de albine și a metodelor de prevenire a instalării acesteia este reprezentată de evidențierea rolului trehalozei în protejarea structurii mierii împotriva eliminării apei din soluția de glucoză suprasaturată care apare în timpul cristalizării și de faptul că această lucrare este primul studiu complex care vizează cristalizarea mierii românești și propunerea unei metode inovative de prevenire a acestui proces, susținută prin Brevetul de invenție A23L21/25, Derwent Primary Accession Number: 2021-293275.

Referințe bibliografice

1. Agbohessi, P. T., Toko, I. I., Atchou, V., Tonato, R., Mandiki, S. N. M., & Kestemont, P. (2015). Pesticides used in cotton production affect reproductive development, endocrine regulation, liver status and offspring fitness in African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 167, 157-172.
2. Aljohar, H. I., Maher, H. M., Albaqami, J., Al-Mehaizie, M., Orfali, R., Orfali, R., & Alrubia, S. (2018). Physical and chemical screening of honey samples available in the Saudi market: An important aspect in the authentication process and quality assessment. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(7), 932-942.
3. Alghamdi, B. A., Alshumrani, E. S., Saeed, M. S. B., Rawas, G. M., Alharthi, N. T., Baeshen, M. N., Helmi, N. M., Alam, M. Z., & Suhail, M. (2020). Analysis of sugar composition and pesticides using HPLC and GC-MS techniques in honey samples collected from Saudi Arabian markets. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3720-3726.
4. Alqarni, A. S., Owayss, A. A., Mahmoud, A. A., & Hannan, M. A. (2014). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(5), 618-625.
5. Alves, A., Ramos, A., Gonçalves, M. M., Bernardo, M., & Mendes, B. (2013). Antioxidant activity, quality parameters and mineral content of Portuguese monofloral honeys. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30(2), 130-138.
6. Amariei, S., Norocel, L., & Scripcă, L. A. (2020). An innovative method for preventing honey crystallization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 66, 102481.
7. Amri, A., & Ladjama, A. (2013). Physicochemical characterization of some multifloral honeys from honeybees *Apis mellifera* collected in the Algerian northeast. *African Journal of Food Science*, 7(7), 168-173.
8. Aypak, S. Ü., Aslıhan, İ. N. C. İ., BAKIRCI, S., Fidan, E. D., & Soysal, M. (2019). Comparision of the Antioxidant Activity and Hydroxymethylfurfural (HMF) Levels in Honey Taken from Hives and Markets. *Gıda*, 44(1), 86-92.
9. Baloš, M. Ž., Jakšić, S., Popov, N., Mihaljev, Ž., & Pelić, D. L. (2019). Comparative study of water content in honey produced in different years. *Archives of Veterinary Medicine*, 12(1), 43-53.
10. Belay, A., Solomon, W. K., Bultossa, G., Adgaba, N., & Melaku, S. (2015). Botanical origin, colour, granulation, and sensory properties of the Harennna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food chemistry*, 167, 213-219.
11. Berk, B. (2020). *Determination of honey crystallization and adulteration by using time domain NMR relaxometry* (Master's thesis, Middle East Technical University).
12. Biesaga, M., & Pyrzyńska, K. (2013). Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction methods. *Food chemistry*, 136(1), 46-54.

13. Bogdanov, S., Martin, P., & Lullmann, C. (2002). Harmonised methods of the international honey commission. *Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld*.
14. Braghini, F., Biluca, F. C., Gonzaga, L. V., Vitali, L., Costa, A. C., & Fett, R. (2020). Effect thermal processing in the honey of *Tetragonisca angustula*: profile physicochemical, individual phenolic compounds and antioxidant capacity. *Journal of Apicultural Research*, 1-7.
15. Brander, S. M., Gabler, M. K., Fowler, N. L., Connon, R. E., & Schlenk, D. (2016). Pyrethroid pesticides as endocrine disruptors: molecular mechanisms in vertebrates with a focus on fishes. *Environmental science & technology*, 50(17), 8977-8992.
16. Campone, L., Piccinelli, A. L., Pagano, I., Carabetta, S., Di Sanzo, R., Russo, M., & Rastrelli, L. (2014). Determination of phenolic compounds in honey using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1334, 9-15.
17. Camina, M. J., G Pellerano, R., & J Marchevsky, E. (2012). Geographical and botanical classification of honeys and apicultural products by chemometric methods. A review. *Current Analytical Chemistry*, 8(3), 408-425.
18. Codex Alimentarius Commission. *Draft Revised Standard for Honey (at Step 10 of the Codex Procedure)*; Codex Alimentarius Commission, FAO: Rome, Italy, 2001; Volume 25, pp. 19–26. [[Google Scholar](#)]
19. Darko, G., Addai Tabi, J., Adjaloo, M. K., & Borquaye, L. S. (2017). Pesticide residues in honey from the major honey producing forest belts in Ghana. *Journal of environmental and public health*, 2017.
20. De La Fuente, E., Ruiz-Matute, A. I., Valencia-Barrera, R. M., Sanz, J., & Castro, I. M. (2011). Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 129(4), 1483-1489
21. Draiaia, R., Dainese, N., Borin, A., Manzinello, C., Gallina, A., & Mutinelli, F. (2015). Physicochemical parameters and antibiotics residuals in Algerian honey. *African Journal of Biotechnology*, 14(14), 1242-1251.
22. El-Haskoury, R., Al-Waili, N., Kamoun, Z., Makni, M., Al-Waili, H., & Lyoussi, B. (2018). Antioxidant activity and protective effect of carob honey in CCl₄-induced kidney and liver injury. *Archives of medical research*, 49(5), 306-313.
23. Eshete, Y., & Eshete, T. (2019). A review on the effect of processing temperature and time duration on commercial honey quality. *Madridge J Food Technol*, 4(1), 159-163.
24. Estevinho, L. M., Feás, X., Seijas, J. A., & Vázquez-Tato, M. P. (2012). Organic honey from Trás-Os-Montes region (Portugal): Chemical, palynological, microbiological and bioactive compounds characterization. *Food and Chemical Toxicology*, 50(2), 258-264.
25. Febvey, O., Schüz, J., Bailey, H. D., Clavel, J., Lacour, B., Orsi, L., Lightfoot, T., Roman, E., Vermeulen, R., Kromhout, H., & Olsson, A. (2016). Risk of central nervous system tumors in children related to parental occupational pesticide exposures in three European case-control studies. *Journal of occupational and environmental medicine*, 58(10), 1046-1052.

26. Ghramh, H. A., Ibrahim, E. H., & Kilany, M. (2020). Study of anticancer, antimicrobial, immunomodulatory, and silver nanoparticles production by Sidr honey from three different sources. *Food science & nutrition*, 8(1), 445-455.
27. Gül, A., & Pehlivan, T. (2018). Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey. *Saudi journal of biological sciences*, 25(6), 1056-1065.
28. Haiza, H., Azizan, A., Mohidin, A. H., & Halin, D. S. C. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using local honey. In *Nano Hybrids* (Vol. 4, pp. 87-98). Trans Tech Publications Ltd.
29. Hills, S. P., Mitchell, P., Wells, C., & Russell, M. (2019). Honey supplementation and exercise: a systematic review. *Nutrients*, 11(7), 1586.
30. Jing, X., Zhang, W., Xie, J., Wang, W., Lu, T., Dong, Q., & Yang, H. (2021). Monitoring and risk assessment of pesticide residue in plant-soil-groundwater systxem about medlar planting in Golmud. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(21), 26413-26426.
31. Joseph, A. K. (2017). Antibacterial activity of honey against bacteria isolated from wound at the Tamale teaching Hospital. *A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of* (Doctoral dissertation, University For Development Studies, Tamale).
32. 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.
33. Kaškonienė, V., & Venskutonis, P. R. (2010). Floral markers in honey of various botanical and geographic origins: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(6), 620-634.
34. Kek, S. P., Chin, N. L., Yusof, Y. A., Tan, S. W., & Chua, L. S. (2017). Classification of entomological origin of honey based on its physicochemical and antioxidant properties. *International Journal of Food Properties*, 20(sup3), S2723-S2738.
35. Khalafi, R., Goli, S. A. H., Behjatian, M. (2016). Characterization and classification of several monofloral Iranian honeys based on physicochemical properties and antioxidant activity. *International journal of food properties*, 19(5), 1065-1079.
36. Khvorova, L., Andreev, N., Lukin, N. (2019). THE FORMATION OF CRYSTALL CENTERS IN A GLUCOSE SOLUTION. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM*, 19(6.1), 979-984.
37. Laaroussi, H., Bouddine, T., Bakour, M., Ousaaïd, D., & Lyoussi, B. (2020). Physicochemical properties, mineral content, antioxidant activities, and microbiological quality of Bupleurum spinosum Gouan honey from the middle atlas in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2020.
38. Laos, K., Kirs, E., Pall, R., & Martverk, K. (2011). The crystallization behaviour of Estonian honeys. *Agron. Res.*, 9, 427-432.
39. Lopes, M., Falcão, S. I., Dimou, M., Thrasyvoulou, A., Vilas-Boas, M. (2018). Impact of traditional and modern beekeeping technologies on the quality of honey of Guinea-Bissau. *Journal of Apicultural Research*, 57(3), 406-417.

40. Machado De-Melo, A. A., Almeida-Muradian, L. B. D., Sancho, M. T., Pascual-Maté, A. (2018). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1), 5-37.
41. Majid, I., Nayik, G. A., & Nanda, V. (2015). Ultrasonication and food technology: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1071022.
42. 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.
43. Mouhoubi-Tafnine, Z., Ouchemoukh, S., Louaileche, H., & Tamendjari, A. (2018). Effect of storage on hydroxymethylfurfural (HMF) and color of some Algerian honey. *International food research journal*, 25(3).
44. Nayik, G. A., & Nanda, V. (2016). A chemometric approach to evaluate the phenolic compounds, antioxidant activity and mineral content of different unifloral honey types from Kashmir, India. *LWT*, 74, 504-513.
45. Nayik, G. A., Suhag, Y., Majid, I., & Nanda, V. (2018). Discrimination of high altitude Indian honey by chemometric approach according to their antioxidant properties and macro minerals. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 200-207.
46. Nguyen, H. T. L., Panyoyai, N., Kasapis, S., Pang, E., Mantri, N. (2019). Honey and its role in relieving multiple facets of atherosclerosis. *Nutrients*, 11(1), 167.
47. Nisbet, C., Kazak, F., & Ardalı, Y. (2018). Determination of quality criteria that allow differentiation between honey adulterated with sugar and pure honey. *Biological trace element research*, 186(1), 288-293.
48. Nurul Zaizuliana, R. A., Anis Mastura, A. F., Abd Jamil, Z., Norshazila, S., Zarinah, Z. (December 2017). Effect of storage conditions on the crystallisation behaviour of selected Malaysian honeys. *International Food Research Journal*, 24(Suppl), S475–S480 (of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry*, 149, 84–90).
49. Olalekan-Adeniran, M. A., Ogunwolu, S. O. (2018). Comparative Quality Evaluation of Oven-Roasted and Honey-Coated Cashew (*Anacardium occidentale*, L.) Nut produced using Locally Fabricated Cashew Nut Processing Machine in Nigeria. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(5), 266194.
50. Ozkok, D., Silici, S. (2018). Effects of Crystallization on Antioxidant Property of Honey. *Journal of Apitherapy*, 3(2), 24-30.
51. Pascual-Maté, A., Osés, S. M., Marcazzan, G. L., Gardini, S., Muiño, M. A. F., Sancho, M. T. (2018). Sugar composition and sugar-related parameters of honeys from the northern Iberian Plateau. *Journal of Food Composition and Analysis*, 74, 34-43.
52. Pasiás, I. N., Kiriakou, I. K., Proestos, C. (2017). HMF and diastase activity in honeys: A fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chemistry*, 229, 425-431.
53. Pathare, P. B., Opara, U. L., Al-Said, F. A. J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food and bioprocess technology*, 6(1), 36-60.
54. Patrignani, M., Ciappini, M. C., Tananaki, C., Fagúndez, G. A., Thrasyvoulou, A., & Lupano, C. E. (2018). Correlations of sensory parameters with physicochemical

- characteristics of Argentinean honeys by multivariate statistical techniques. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(5), 1176-1184.
55. Płowaś-Korus, I., Masewicz, Ł., Szwengiel, A., Rachocki, A., Baranowska, H. M., & Medycki, W. (2018). A novel method of recognizing liquefied honey. *Food chemistry*, 245, 885-889.
 56. Ruiz-Matute, A. I., Brokl, M., Soria, A. C., Sanz, M. L., Martínez-Castro, I. (2010). Gas chromatographic-mass spectrometric characterisation of triand tetrasaccharides in honey. *Food Chem.* 2010;120:637–42.
 57. Scripcă, L. A., & Amariei, S. (2021). The Use of Ultrasound for Preventing Honey Crystallization. *Foods*, 10(4), 773.
 58. 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.
 59. Silva, S. P. (2018). Origin of honey oligosaccharides: from model solutions to hive conditions. Published by Universidade de Aveiro. Mestrado em Biotecnologia – Alimentar, 1-119.
 60. 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.
 61. Spirić, D., Ćirić, J., Đorđević, V., Nikolić, D., Janković, S., Nikolić, A., Petrović, Z., Katanić, N. & Teodorović, V. (2019). Toxic and essential element concentrations in different honey types. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 99 (5), 474-485.
 62. Sturza, J., Silver, M. K., Xu, L., Li, M., Mai, X., Xia, Y., Shao, J., Lozoff, B., & Meeker, J. (2016). Prenatal exposure to multiple pesticides is associated with auditory brainstem response at 9 months in a cohort study of Chinese infants. *Environment international*, 92, 478-485.
 63. Suhag, Y., Nanda, V. (2016). Optimization for spray drying process parameters of nutritionally rich honey powder using response surface methodology. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1176631.
 64. Taha, A. A., Balabel, N. M., & Elshishtawy, H. M. (2019). Physicochemical Characterization and Antimicrobial Activity of Sidr Honey Produced by Dwarf Honey Bees (*Apis florea* F.). *Journal of Plant Protection and Pathology*, 10(12), 621-628.
 65. Tappi, S., Laghi, L., Dettori, A., Piana, L., Ragni, L., & Rocculi, P. (2019). Investigation of water state during induced crystallization of honey. *Food chemistry*, 294, 260-266.
 66. Tedesco, R., Barbaro, E., Zangrando, R., Rizzoli, A., Malagnini, V., Gambaro, A., Fontana, P., & Capodaglio, G. (2020). Carbohydrate determination in honey samples by ion chromatography–mass spectrometry (HPAEC-MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412, 5217-5227.
 67. 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.

68. Tôrres, W. D. L., Vilvert, J. C., Carvalho, A. T., Leite, R. H. D. L., Santos, F. K. G. D., & Aroucha, E. M. M. (2020). Quality of *Apis mellifera* honey after being used in the feeding of jandaira stingless bees (*Melipona subnitida*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 43.
69. Vranic, D., Petronijevic, R., Koricanac, V., Stojanovic, J. D., Lilic, S., Borovic, B., Lukic, M. (2019, September). Evaluation of Serbian black locust honey quality parameters as a contribution to confirmation of its botanical origin. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 333, No. 1, p. 012113). IOP Publishing.
70. Waheed, M., Hussain, M. B., Javed, A., Mushtaq, Z., Hassan, S., Shariati, M. A., Khan, M. U., Majeed, M., Nigam, M., Mishra, A. P. & Heydari, M. (2019). Honey and cancer: A mechanistic review. *Clinical Nutrition*, 38(6), 2499-2503.
71. Watermann, B. T., Albanis, T. A., Galassi, S., Gnass, K., Kusk, K. O., Sakkas, V. A., & Wollenberger, L. (2016). Effects of anti-androgens cyproterone acetate, linuron, vinclozolin, and p, p'-DDE on the reproductive organs of the copepod *Acartia tonsa*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 51(13), 1111-1120.
72. CRL Guidance Paper (7dec2007).
73. SR 784:2009. Mierea de albina, <https://e-standard.eu/en/standard/174480>
74. SR EN ISO 6887-1/2017. Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions, <https://www.iso.org/obp/ui/es/#iso:std:iso:6887:-1:ed-2:v1:en>
75. SR EN ISO 7932/2005. Microbiologia alimentelor și nutrețurilor. Metodă orizontală pentru numărarea *Bacillus cereus* prezumtiv. Tehnica de numărare a coloniilor la 30 grade C, <https://magazin.asro.ro/ro/standard/107565>
76. ISO 15213/2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions, <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15213:ed-1:v1:en>
77. ISO 6579-1/2017 Microbiologia lanțului alimentar. Metodă orizontală pentru detectarea, numărarea și serotipizarea *Salmonella*. Partea 1: Detectarea *Salmonella* spp, <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6579:-1:ed-1:v1:en>
78. ISO 4832/2006 (revizuit în 2021) Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — Colony-count technique, <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:4832:ed-3:v1:en>
79. SR ISO 21527-2/2008. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95, <https://www.iso.org/standard/38276.html>
80. Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. Off. J. Eur. Commun. (2002), L.10, 47–52.

Diseminarea rezultatelor cercetărilor

Rezultatele cercetărilor experimentale efectuate în cadrul obiectivelor stabilite pentru teza de doctorat au fost valorificate printr-un brevet cu invenție, prin publicarea a patru articole științifice în reviste de specialitate internaționale și a unui articol în reviste în domeniul tezei, din țară, recunoscute CNCSIS.

A. Brevete de invenție

1. Amariei Sonia, Gutt Gheorghe, **Scripcă Laura Agripina**, Method and process for improving the texture of honey, Priorities: RO201800754A·2018-09-28, Application: RO201800754A·2018-09-28, Publication: RO133930A2·2020-03-30, Published as: RO133930A2,
<https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/070053953/publication/RO133930A2?q=scripca%20laura>, 2020. Assignee: UNIV SUCEAVA STEFAN CEL MARE, Derwent Primary Accession Number: 2020-27604A

B. Articole publicate în reviste indexate ISI Web of Knowledge

1. **Scripcă, L.A.**, Amariei, S., 2021. The Use of Ultrasound for Preventing Honey Crystallization. *Foods*, 10(4), 773; DOI: [10.3390/foods10040773](https://doi.org/10.3390/foods10040773), (factor de impact 4.092) Link: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/4/773> - **articol Q1**
2. **Scripcă, L.A.**, Amariei, S., 2021. The influence of chemical contaminants on the physicochemical properties of unifloral and multifloral honey, *Foods*, 10(5), 1039; *Foods Journal (MDPI) Special issue: Composition and biological properties of bee products*; DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10051039>, (factor de impact 4.092), Link: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/5/1039>, **articol Q1**
3. Amariei, S., Norocel, L., **Scripcă, L.A.**, 2020. An innovative method for preventing honey crystallization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 66, 102481; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102481> (factor de impact 4.477), Link: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856420304276>, **articol Q1**
4. **Scripcă, L.A.**, Norocel, L., Amariei, S., 2019. *Molecules Journal (MDPI)* 24(16), 2932; DOI: [10.3390/molecules24162932](https://doi.org/10.3390/molecules24162932), (factor de impact 3.309), Link: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/16/2932>, **articol Q2**
5. **Scripcă, L.**, Amariei, S., 2018. Research on honey crystallization, *Revista de Chimie București*, volume 69, 10/2018, DOI: <https://doi.org/10.37358/RC.18.10.6660>, Link: <https://www.revistadechimie.ro/RCRevChimie.asp>

C. Lucrări comunicate la manifestări științifice internaționale

1. **Scripcă, L.**, Amariei S., 2018. Research on honey crystallization, International Conference for students - Student in Bucovina, 10-11 November 2016, Suceava, România; Link: http://www.fia.usv.ro/www/pagini/stud_bucovina_2016/carte.pdf
2. **Scripcă, L.**, Amariei S., 2019. Conferința Internațională 85 International scientific conference of young scientists and students "Youth Scientific Achievements to the 21st Century Nutrition Problem Solution" Kiev, 11-12 aprilie, 2019, pagina 20, Link: <http://sw.nuft.edu.ua/ConferenceUKR/Books%20of%20abstracts/2019/Book%20of%20abstract%202019.pdf>
3. **Scripcă, L.**, Amariei S., 2019. Conferința Internațională 85 International scientific conference of young scientists and students "Youth Scientific Achievements to the 21st Century Nutrition Problem Solution", Kiev, 11-12 aprilie, 2019, pagina 22, Link: <http://sw.nuft.edu.ua/ConferenceUKR/Books%20of%20abstracts/2019/Book%20of%20abstract%202019.pdf>