

## **Raportare științifică proiect PN-III-P1-1.1-TE-2019-0583 cu titlul Metode nedistructive pentru autentificarea mierii și depistarea falsificărilor – etapa a II-a**

**Etapa a II-a - Denumire Etapă:** Dezvoltarea de metode nedistructive pentru autentificarea mierii și depistarea falsificării acesteia utilizând spectroscopia FT-IR, reologia dinamică în domeniul negativ și spectroscopia de fluorescență

### **Rezumat**

În cadrul acestei etape au fost utilizate trei tehnici nedistructive cu scopul de a studia utilitatea acestora pentru autentificarea mierii de albine în funcție de originea botanică și respectiv pentru depistarea falsificărilor cu siropuri concentrate de glucide (sirop de zahăr invertit, sirop de orez, sirop de porumb, sirop de agave și sirop de arțar). Cele trei metode nedistructive sunt: spectroscopia FT-IR, reologia în domeniul negativ și spectroscopia de fluorescență. Dintre cele trei metode propuse cea mai viabilă și simplă metodă din punct de vedere al analizării o reprezintă metoda FT-IR deoarece timpul de analiză este foarte scurt (aprox. 1 min), iar cantitatea de probă necesară pentru o determinare este de 1 g. Reologia în domeniul negativ nu a mai fost utilizată până în prezent pentru autentificarea mierii de albine, respectiv pentru depistarea falsificării acesteia, însă utilizând această tehnică de analiză se pot observa diferențe semnificative ale temperaturii de tranziție sticloasă între probe în funcție de originea botanică, presum și în funcție de agentul de falsificare. Spectroscopia de fluorescență este o metodă promițătoare pentru autentificarea mierii de albine și pentru depistarea falsificărilor deoarece fiecare sortiment de miere are anumiți fluorofori specifici. În cadrul acestei etape rezultatele au fost diseminate în 6 articole ISI/Clarivate Analytics (4 în jurnale Q1), 1 articol BDI și 6 prezentări la conferințe internaționale/naționale.

### **Descrierea științifică și tehnică**

#### **1. Act. 2.1. Dezvoltarea de metode nedistructive utilizând spectroscopia FT-IR pentru autentificarea mierii de albine și depistarea falsificărilor**

Probele de miere (salcâm, tei, floarea-soarelui, rapiță, mentă, cimbru și zmeură) vor fi analizate folosind metoda FTIR-ATR cu accent pe baza de  $1500 - 750 \text{ cm}^{-1}$ , care reprezintă regiunea de absorbție sensibilă – zahărul din miere și acizii organici sunt cuantificați în special în această bandă. Probele de miere falsificate cu siropuri de zahăr vor fi analizate și se vor constata diferențe în spectre la  $1500 - 750 \text{ cm}^{-1}$ , bandă caracteristică zaharurilor. Datele vor fi supuse analizei chemometrice (PCA, LDA, cluster) pentru stabilirea utilității metodei propuse.

Activitatea 2.1. a fost axată pe două studii comprehensive: primul studiu a vizat doar autentificarea a 7 sortimente de miere de albine utilizând spectroscopia FT-IR cu ATR, iar al doilea studiu a vizat atât autentificarea sortimentelor de miere de albine, cât și discriminarea acestora de probele falsificate cu siropurile concentrate utilizând spectroscopia FT-IR cu ATR. Din punct de vedere al analizei chemometrice s-au utilizat analiza componentei principale (PCA), analiza linear discriminantă (LDA), analiza cluster și mașini cu vector suport (SVM). Analiza cluster nu a oferit informații satisfăcătoare în privința discriminării probelor în funcție de originea botanică sau discriminarea probelor autentice de cele falsificate.

### 1.1. Autentificarea mierii de albine

În cadrul studiului au fost analizate 212 probe de miere din România. Probele au provenit din producția din 2017 (miere de cimbrisor și mentă), 2018 (miere de zmeură) și 2020 (miere de salcâm, tei, floarea-soarelui și rapiță). Tipurile de miere selectate pentru analiză au fost: 11 probe de miere de zmeură (*Rubus idaeus*), 18 probe de miere de mentă (*Mentha piperita*), 18 probe de miere de rapiță (*Brassica napus*), 30 de probe de miere de floarea-soarelui (*Helianthus annuus*), 15 probe de miere de cimbrisor (*Thymus serpyllum*), 74 de probe de miere de salcâm (*Robinia pseudoacacia L.*) și 46 de probe de miere de tei (*Tilia europaea*).

#### Metode de analiză

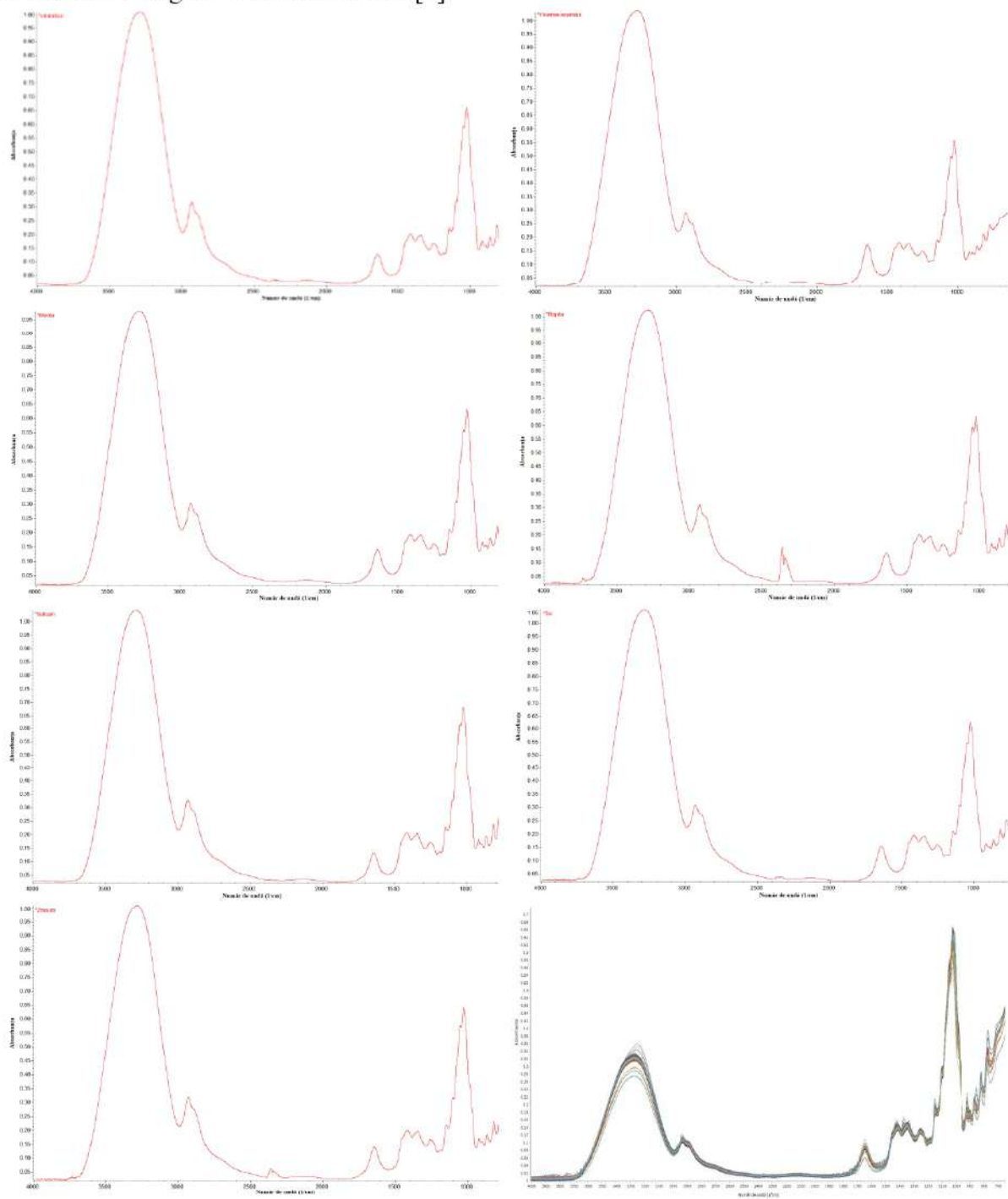
Spectrele pentru probele de miere sunt înregistrate în regiunea infraroșu mediu 4000-650  $\text{cm}^{-1}$ , cu o rezoluție de 4  $\text{cm}^{-1}$ , folosind un spectrometru Nicolet iS-20 (Thermo Scientific, Karlsruhe, Dieselstraße, Germania). Fiecare probă este plasată pe suprafața ATR și colectarea spectrelor se face la 25 °C în duplicat folosind software-ul OMNIC (versiunea 32, Thermo Scientific).

#### Rezultate și discuții

În spectroscopia în infraroșu mediu, regiunea spectrală cuprinsă între 4000  $\text{cm}^{-1}$  și 650  $\text{cm}^{-1}$  conține informații privind vibrațiile moleculare ale probei analizate și este sensibilă la proprietățile chimice și fizice ale acesteia. Pe baza acestei regiuni spectrale se poate realiza identificarea unor probe cu compoziție și concentrație diferite. Această metodă de analiză este una nedistructivă. Spectrele FT-IR ale probelor de miere analizate în acest studiu sunt prezentate de la figura 1. În regiunea 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$  toate spectrele au prezentat benzi caracteristice la 3297  $\text{cm}^{-1}$ , care au fost determinate de prezența apei în compoziția probelor de miere. Prezența acestor benzi în spectrul FT-IR al mierii a fost observată anterior în studiile lui Gok et al. [1]. O caracteristică comună pentru toate probele au fost, de asemenea, benzile de la 2932  $\text{cm}^{-1}$ , care au fost atribuite unor vibrații de întindere ale legăturii C-H a acizilor carboxilici și a  $\text{NH}_3$  din aminoacizii liberi, fiind observate anterior în spectrele probelor de miere analizate în literatura de specialitate [2,3]. Cea mai bună diferențiere între probe a fost făcută în regiunea spectrală 1800-750  $\text{cm}^{-1}$  deoarece acesta include benzile caracteristice dintre 950 și 750  $\text{cm}^{-1}$ , care sunt preferate pentru analiza glucidelor în spectroscopie IR. Benzile de la 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$  au fost atribuite unor vibrații de întindere/îndoire ale grupărilor O-H ale apei, vibrații ale grupărilor C=O determinate în principal de prezența glucidelor în compoziția probei și vibrații de îndoire ale N-H din amida I [1]. Benzile de la 1175 la 940  $\text{cm}^{-1}$  au fost atribuite unor vibrații de întindere ale C-H în carbohidrați, după cum urmează: 1148  $\text{cm}^{-1}$  a fost specifică zaharozei, 1087 și 1043  $\text{cm}^{-1}$  au fost corelate cu prezența glucozei și fructozei și 983  $\text{cm}^{-1}$  și 965  $\text{cm}^{-1}$  au fost specifice fructozei din compoziția mierii [4].

Regiunea anomică a glucidelor (940-700  $\text{cm}^{-1}$ ) oferă un spectru unic pentru fiecare compus în care poziția și intensitatea benzilor sunt specifice fiecărui zahar [5]. În această regiune spectrală, benzile au fost atribuite vibrațiilor de îndoire ale grupării C-H și vibrațiilor inelului în structura carbohidraților [1,6]. Prin urmare, regiunea spectrală 1800-750  $\text{cm}^{-1}$  a fost selectată pentru diferențierea cu succes a sortimentelor de miere. Trebuie remarcat faptul că spectroscopia FT-IR este foarte sensibilă la compoziția chimică generală a probei, mai ales

atunci când este asociată cu analize statistice multivariate, oferind rezultate fiabile în determinarea originii botanice a mierii [7].



**Figura 1.** Spectru FT-IR pentru mierea de albine: 1 – cimbrisor, 2 – floarea soarelui, 3 – mentă, 4 – rapiță, 5 – salcâm, 6 – tei, 7 – zmeură, 8 – spectre suprapuse

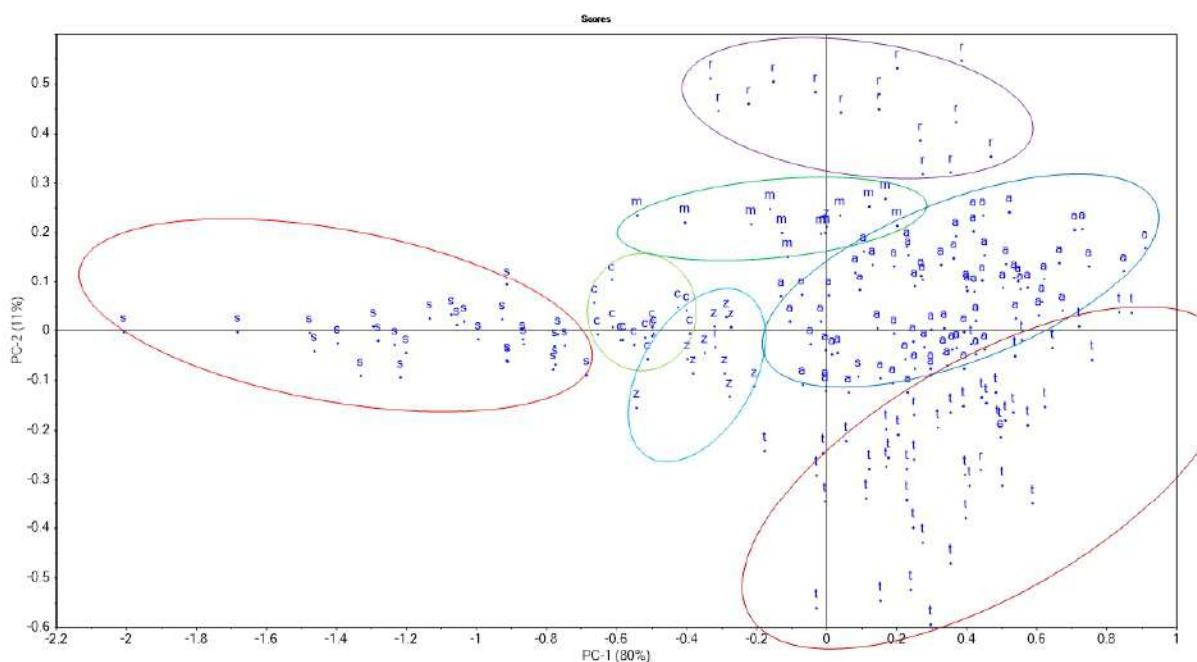
### **Analiza componentelor principale**

În acest studiu, PCA a fost aplicată pentru a analiza și identifica probe de miere care au caracteristici similare dintr-un total de 212 probe de diferite tipuri de miere din diferite regiuni ale României. Prima componentă principală (PC-1) a reprezentat 80% din variație, în timp ce a doua componentă principală (PC-2) a reprezentat 11% din variație; împreună, primele două componente principale au reprezentat 91% din variabilitatea inițială. Separarea probelor de



miere în funcție de originea botanică este prezentată în figura 2. În cele două dimensiuni se poate observa o separare clară pentru 5 grupe de miere și anume mierea de mentă, rapiță, salcâm, tei și floarea-soarelui, în timp ce probele de miere de cimbrișor și zmeură nu au fost clar separate.

Figura 2 prezintă încărcările PC-1 și PC-2 și se poate observa că PC-1 este puternic influențat de absorbția la  $1000\text{ cm}^{-1}$ , în timp ce PC-2 este puternic influențat de absorbția la  $1050\text{ cm}^{-1}$ ; aceste două numere de undă corespundea întinderii C–O în carbohidrați [4] și putem concluziona că proiecția a fost influențată în cea mai mare parte de compoziția glucidică a mierii.



**Figura 2.** Analiza componentelor principale – scorurile analizei bazate pe spectrele FT-IR corectate cu MSC: a – salcâm, t – tei, s – floarea soarelui, c – cimbrișor, z – zmeură, m – mentă, r – rapiță

### Concluzii

Din spectrele FT-IR ale probelor de miere, o mare importanță a prezentat regiunea anomeră a carbohidraților ( $940\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ ), care servește la diferențierea probelor de miere. Această regiune și alte benzi caracteristice carbohidraților, împreună cu parametrii fizico-chimici, au fost utilizați pentru a supune informațiile spectrale analizei statistice. PCA a prezentat o separare clară pentru 5 grupuri de miere și anume miere de mentă, rapiță, salcâm, tei și floarea-soarelui, în timp ce mierea de cimbrișor și de zmeură nu au fost separate în mod clar.

### 1.2. Depistarea falsificării

În cadrul acestui studiu au fost analizate probe autentice de miere de albine (145 de probe) care au fost falsificate cu agenții de falsificare: sirop de porumb, sirop de orez, sirop de agave, sirop de arțar și sirop de zahăr invertit în concentrații de până la 50%. Metodele statistice utilizate au fost PCA, LDA, analiza de tip cluster, PLS-DA și SVM; dintre aceste metode doar PLS-DA și SVM au oferit cele mai bune informații.

## **Materiale**

Probe de miere de diferite sortimente (67 de salcâm, 44 de tei și 34 de floarea-soarelui) achiziționate de la apicultori din România din anul 2020 au fost falsificate prin adaos de sirop de porumb (Daesang Europe BV Companie Importatoare, Korea), orez (Panaisia de Hadels GMBH Companie importatoare, Korea), agave (Clarks, Mexic), arțar (BioLogistic & Distribution Partener, Canada) și zahăr invertit.

## **Metode statistice**

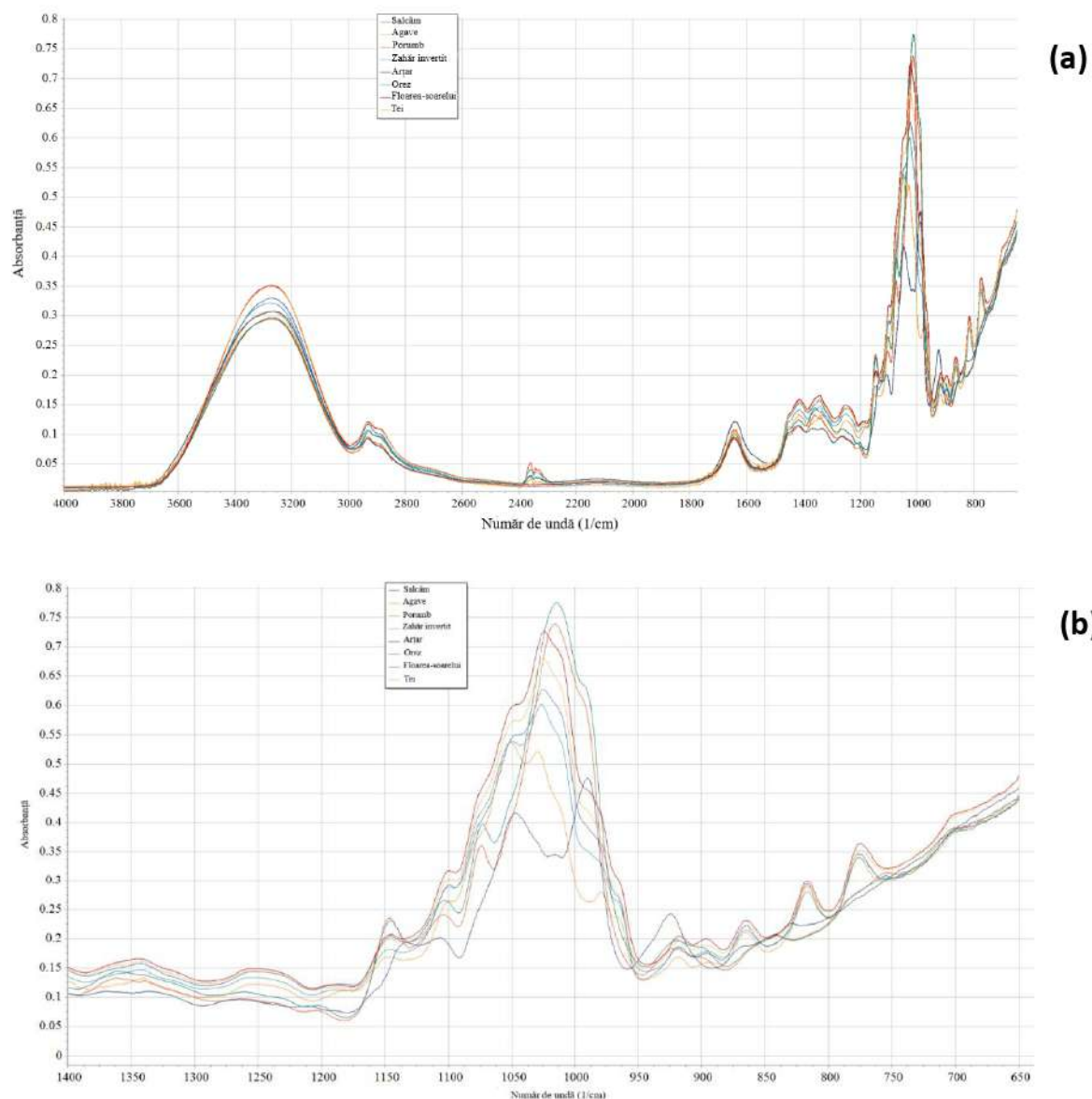
Evaluarea performanței modelelor statistice se realizează prin calculul parametrilor statistici acuratețe, sensibilitate (proporția eșantioanelor adevărat pozitive care sunt corect identificate) și specificitate (proporția eșantioanelor adevărat negative care sunt corect identificate) astfel:

$$\begin{aligned} \text{Acuratețe} &= \frac{\text{Adevărat pozitive} + \text{Adevărat negative}}{\text{Adevărat pozitive} + \text{Adevărat negative} + \text{Fals pozitive} + \text{Fals negative}} \\ \text{Sensibilitate} &= \frac{\text{Adevărat pozitive}}{\text{Adevărat pozitive} + \text{Fals negative}} \\ \text{Specificitate} &= \frac{\text{Adevărat negative}}{\text{Adevărat negative} + \text{Fals pozitive}} \end{aligned}$$

Datele se supun analizei PLS-DA și SVM pentru a realiza modelul adecvat pentru deosebirea probelor de miere autentică de cele falsificate. Regiunea spectrală situată între 1300-650  $\text{cm}^{-1}$  este aleasă pentru dezvoltarea modelului deoarece prezintă o influență ridicată asupra grupării probelor și este specifică probelor de miere și siropurilor utilizate pentru falsificare. Înainte de analiza PLS-DA/SVM, spectrele sunt pretratate pentru a îmbunătăți parametrii statistici ai clasificării, astfel: fără tratament, SNV, MSC, linia de bază, prima derivată, a doua derivată, „netezirea” (smoothing) de ordin I polinomial și „netezirea” (smoothing) de ordin II polinomial. Datele sunt împărțite ulterior în două categorii: set de calibrare (66,6% din probe – 307 probe) și set de validare (33,3% din probe – 152 probe), probele fiind alese aleatoriu de software.

## **Rezultate și discuții**

Spectrele FT-IR ale mierii autentice (salcâm, floarea-soarelui și tei) și ale agenților de falsificare (agave, arțar, zahăr invertit, orez și sirop de porumb) analizate sunt prezentate în figura 3. Regiunea de analiză acoperită este cuprinsă între 4000 și 650  $\text{cm}^{-1}$  și conține informații despre vibrațiile moleculare specifice compoziției chimice. Așa cum se observă în figura 3, atât probele de miere cât și agenții de falsificare au prezentat absorbție în jurul valorii de 3300 și 1642  $\text{cm}^{-1}$ , care a fost asociată cu vibrațiile de întindere a legăturii O–H și conform studiilor din literatura de specialitate [1,8] este caracteristică prezenței apei. Benzile din regiunea 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$  au fost atribuite vibrațiilor de întindere a legăturilor C=O din compoziția glucidelor și vibrațiilor de îndoire a legăturii N–H ale amidei I a proteinelor [1,9]. Acest lucru arată că în regiunea cuprinsă între 3400 și 1300  $\text{cm}^{-1}$  diferențele în benzile de absorbție sunt determinate de variația conținutului de proteine, a conținutului de apă și a interacțiunilor apă-glucide.



**Figura 3.** Spectrele FT-IR ale mierii autentice (salcâm, floarea-soarelui și tei) și ale agenților de falsificare (sirop de agave, porumb, zahăr invertit, arțar și orez) în regiunea cuprinsă între (a) 4000-650  $\text{cm}^{-1}$  și (b) 1400-650  $\text{cm}^{-1}$

Regiunea spectrală cea mai importantă pentru diferențierea probelor de miere și a agenților de falsificare este 1300-650  $\text{cm}^{-1}$ , deoarece include aria de la 950 la 750  $\text{cm}^{-1}$ , care este caracteristică pentru analiza spectrală a glucidelor în spectroscopia IR. Benzile caracteristice de la 1175 la 950  $\text{cm}^{-1}$  au fost atribuite vibrațiilor de întindere din compoziția glucidelor, după cum urmează: 1148  $\text{cm}^{-1}$  a fost specifică întinderii C–O din legătura C–O–C a zaharozei, în timp ce 1080 și 1022  $\text{cm}^{-1}$  a corespuns cu întinderea C–O din gruparea C–OH din structura chimică a glucozei și fructozei [4,10]. În plus, zona de vibrații cuprinsă între 950 și 750  $\text{cm}^{-1}$ , recunoscută ca regiunea anomeră a glucidelor, a furnizat informații suplimentare cu privire la compoziția probelor [5,11]. Cele patru benzi caracteristice (920  $\text{cm}^{-1}$ , 870  $\text{cm}^{-1}$ , 820  $\text{cm}^{-1}$  și 775  $\text{cm}^{-1}$ ) din această regiune spectrală au fost atribuite vibrațiilor de deformare a legăturilor C–H și C–C din structura glucidelor [1,6].



Probele de miere falsificate cu sirop de porumb au prezentat variații majore ale spectrelor între 1180 și 950  $\text{cm}^{-1}$  (vibrații de întindere ale legăturilor C-O și C-C), în timp ce pentru mierea falsificată cu sirop de orez diferențele nu au fost notabile în aceeași regiune spectrală [9,12]. După cum se poate observa în figura 3, atât probele de miere autentică cât și agenții de falsificare prezintă benzi identice și suprapuneri spectrale puternice iar singura diferență este intensitatea benzilor specifice și prin urmare, este foarte dificil să se deosebească cu ochiul liber mierea autentică de mierea falsificată [13].

### **Clasificarea mierii prin utilizarea analizei statistice**

#### **Analiza discriminantă parțială a celor mai mici pătrate (PLS-DA)**

Modelele PLS-DA au fost utilizate pentru a deosebi probele autentice de cele falsificate (miere falsificată cu sirop de zahăr invertit, sirop de agave, sirop de porumb, sirop de orez și sirop de arțar); modelul descompune spectrele supuse analizei statistice și tipul eșantionului în același timp pentru extragerea informațiilor eficiente care pot fi utilizate pentru clasificare. Precizia, sensibilitatea și specificitatea modelelor generate de utilizarea datelor spectrale cu PLS-DA sunt prezentate în tabelul 1. Primele două componente ale PLS-DA au prezentat mai puțin de 50% din varianța spectrală cu o variație de la 25,14% la 47,74% atunci când datelor spectrale li s-au aplicat diferite pretratamente (fără pretratere, SNV, linia de bază, prima derivată, „netezirea”-smoothing de ordin I polinomial și respectiv, „netezirea”-smoothing de ordin II polinomial). Doar atunci când s-a aplicat derivata a doua primele două componente au prezentat mai mult de 50% din varianța spectrală (58,73%). Pentru modelul PLS-DA, precizia calibrării a variat de la 78,18% („netezirea”-smoothing spectrelor de ordinul II polinomial) la 92,18% (a doua derivată spectrală). Sensibilitatea PLS-DA a variat în etapa de calibrare de la 39,58% („netezirea”-smoothing spectrelor de ordinul II polinomial) la 79,38% (a doua derivată spectrală). Specificitatea calibrării a variat de la 92,14% (prima derivată) la 98,10% (a doua derivată). În cazul validării, precizia a variat de la 74,34% (fără pretratere) la 84,87% (a doua derivată), sensibilitatea a variat de la 38,78% („netezirea”-smoothing spectrelor de ordin II polinomial) la 66,67% (a doua derivată spectrală), în timp ce specificitatea a variat de la 90,38% (fără pretratere) până la 99,00% (spectru de bază). Având în vedere parametrii statistici studiați, a doua derivată a oferit cele mai bune rezultate de distingere a mierii autentice față de mierea falsificată, astfel: în etapa de calibrare din 97 de probe de miere autentică 77 au fost clasificate corect, în timp ce din 210 probe de miere falsificată doar 4 au fost clasificate ca fiind autentice; în etapa de validare din cele 48 de probe de miere autentică 32 au fost clasificate corect, în timp ce din 104 probe de miere falsificată 7 au fost clasificate ca autentice.

**Tabel 1.** Parametrii statistici ai discriminării PLS-DA și SVM a probelor de miere autentică și falsificată prin utilizarea diferitelor pretratamente aplicate spectrelor FT-IR

		Acuratețe (%)	Sensibilitate (%)	Specificitate (%)
Fără tratament				
PLS-DA	Calibrare	79,5	42,3	96,7
	Validare	74,3	39,6	90,4
SVM	Calibrare	95,4	86,6	99,5
	Validare	89,5	77,1	95,2
SNV				
PLS-DA	Calibrare	83,4	47,6	96,9

	Validare	75,0	39,3	98,9
SVM	Calibrare	99,0	96,8	100,0
	Validare	90,8	84,0	94,1
MSC				
PLS-DA	Calibrare	79,8	47,9	94,7
	Validare	82,9	53,2	96,2
SVM	Calibrare	98,7	96,9	99,5
	Validare	87,5	73,5	94,2
Linie de bază				
PLS-DA	Calibrare	80,8	43,0	97,2
	Validare	80,9	46,2	99,0
SVM	Calibrare	96,4	90,6	99,1
	Validare	89,5	77,6	95,2
Prima derivată				
PLS-DA	Calibrare	87,9	68,0	97,1
	Validare	82,9	54,2	96,2
SVM	Calibrare	100,0	100,0	100,0
	Validare	90,1	81,3	94,2
A doua derivată				
PLS-DA	Calibrare	92,2	79,4	98,1
	Validare	84,9	66,7	93,3
SVM	Calibrare	100,0	100,0	100,0
	Validare	81,6	69,4	87,4
„Netezirea” (smoothing) de ordin I polinomial				
PLS-DA	Calibrare	80,1	42,1	97,2
	Validare	76,3	38,0	95,1
SVM	Calibrare	95,4	86,7	99,1
	Validation	92,1	80,0	98,9
„Netezirea” (smoothing) de ordin II polinomial				
PLS-DA	Calibrare	78,2	39,6	95,7
	Validare	78,9	38,8	98,1
SVM	Calibrare	96,7	89,8	100,0
	Validare	90,8	78,7	96,2

### Mașini cu vectori suport (SVM)

Parametrii statistici ai modelului SVM bazat pe spectrele FT-IR cu pretratare diferită se regăsesc în tabelul 2. Pentru modelul SMV, precizia calibrării a variat de la 95,44% („netezirea”-smoothing spectrelor de ordinul I polinomial și fără pretratare) la 100% (prima și a doua derivată). Sensibilitatea SMV a variat în etapa de calibrare de la 86,60% (fără pretratare) la 100% (prima și a doua derivată). Specificitatea calibrării a variat de la 99,05% (spectrele de bază) la 100% (SNV, prima și a doua derivată spectrală). În cazul validării, precizia a variat de la 81,58% (a doua derivată spectrală) la 92,11% („netezirea”-smoothing spectrelor de ordinul I polinomial), sensibilitatea a variat de la 69,39% (derivata a doua) la 84,00% (spectrele SNV), în timp ce specificitatea a variat de la 87,38% (derivata a doua) la 98,97% („netezirea”-smoothing spectrelor de ordin I polinomial). Conform parametrilor statistici studiați, prima derivată a oferit cea mai bună diferențiere a probelor de miere autentică față de cele falsificate,



după cum urmează: în etapa de calibrare din 97 de probe de miere autentică 97 au fost clasificate corect, în timp ce din 210 probe de miere falsificată toate au fost clasificate ca fiind falsificate; în etapa de validare din cele 48 de probe de miere autentică, 39 au fost clasificate corect, în timp ce din 104 de probe de miere falsificată, 6 au fost clasificate ca autentice.

### **Concluzii**

Pentru o separare exactă a mierii autentice de cea falsificată, spectrele brute au fost supuse unor pretratamente diferite (fără tratament, SNV, MSC, linia de bază, prima derivată, a doua derivată, „netezirea”-smoothing de ordin I polinomial și „netezirea”-smoothing de ordin II polinomial) și apoi supuse analizei statistice cu ajutorul metodelor: mașini cu vectori suport (SVM) și analiza discriminantă parțială a celor mai mici pătrate (PLS-DA). Dintre cele două modele, SVM prin aplicarea primei derivate spectrale a oferit cel mai bun model de diferențiere a probelor, întrucât toate acestea (97 probe de miere autentică și 210 probe de miere falsificată) au fost corect clasificate în etapa de calibrare, în timp ce în etapa de validare 39 de probe de miere dintr-un total din 48 de probe autentice au fost clasificate corect și 6 probe dintr-un total de 104 probe falsificate au fost clasificate ca fiind autentice. Considerând toate aceste aspecte, se poate afirma că spectrele FTIR-ATR combinate cu modelul SVM pot fi un instrument util pentru a analiza calitatea mierii deoarece pot detecta mierea falsificată indiferent de originea sa botanică, precum și de agenții de falsificare utilizați.

## **2. Act. 2.2. Dezvoltarea de metode nedistructive utilizând reologia în domeniul negativ pentru autentificarea mierii de albine și depistarea falsificărilor**

Autentificarea mierii folosind reologia dinamică la temperaturi negative, determinarea parametrilor reologici (modulul elastic –  $G'$ , modulul de pierdere  $G''$  și vâscozitatea complexă) a probelor autentice de la 0 °C la -40 °C și determinarea temperaturii în care comportamentul vâscoelastic se schimbă de la  $G'' > G'$  la  $G' > G''$  (transformarea este influențată de compoziția chimică a mierii).

Detecția falsificării mierii folosind reologia dinamică la temperaturi negative. Determinarea parametrilor reologici (modulul elastic –  $G'$ , modulul de pierdere –  $G''$  și vâscozitatea complexă) a mierii falsificate de la 0 °C la -40 °C și determinarea temperaturii în care comportamentul vâscoelastic se schimbă de la  $G'' > G'$  la  $G' > G''$  (transformarea este influențată de compoziția chimică a probelor).

Rezultatele vor fi supuse analizei chemometrice (PCA, LDA, cluster) pentru stabilirea utilității metodei propuse.

### **2.1. Autentificarea mierii de albine**

În cadrul acestui studiu au fost analizate probe autentice de miere de albine de diferite origini botanice (salcâm, tei, floarea-soarelui, rapiță, mentă, cimbru și zmeură) utilizând reologia dinamică în domeniu negativ (de la 0 °C la -40 °C). În această regiune are loc o transformare reologică din înalt vâscoasă în înalt elastică datorită tranziției sticloasă a materialului analizat. Punctul de intersecție a celor două componente (vâscoasă și elastică) este influențat de compoziția chimică a probelor, purtând numele de temperatură de tranziție sticloasă.

**Materiale** – probe de miere de albine de diferite origini botanice (salcâm, tei, floarea-soarelui, rapiță, mentă, cimbru și zmeură), care au fost lichefiate în prealabil la temperatura de 50 °C.

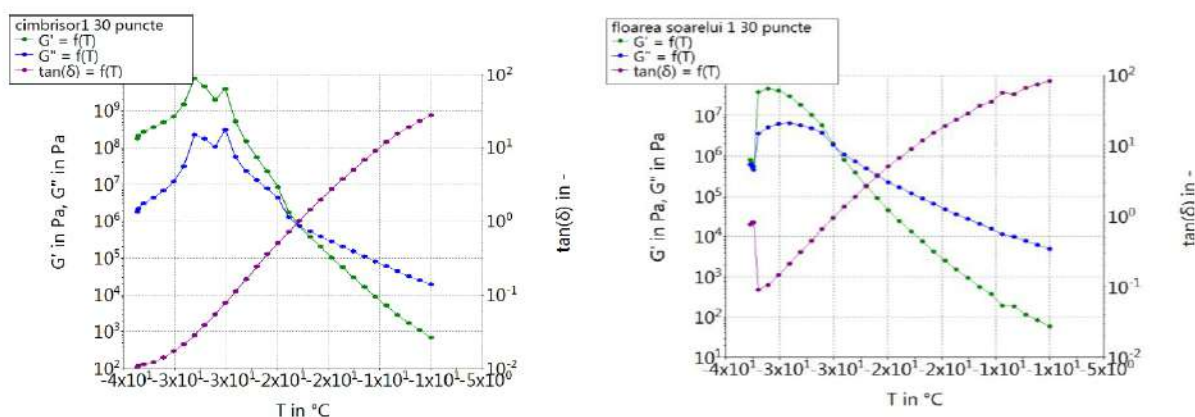
### Metode

Proba analizată se menține în repaus timp de 5 minute pentru a ajunge la temperatura de 0 °C, apoi temperatura se setează la -15 °C. Măsurătorile se efectuează de la -15 °C la -40 °C și se urmărește intersecția celor două module ( $G'$  și  $G''$ ). Reometrul se conectează la un sistem (baie) de răcire (Huber - Pilot ONE, Germania) pentru a realiza o răcire rapidă. Soluția de recirculare utilizată este etanolul (96%). Măsurătorile se efectuează în aceleași condiții pentru fiecare probă.

### Rezultate și discuții

Modulul vâscos și cel elastic s-au intersectat la diferite temperaturi în funcție de umiditatea probelor analizate, dar și în funcție de originea botanică. În urma intersecției celor două module a fost identificat un comportament elastic dominant, starea sticloasă fiind caracterizată printr-o reducere a reacțiilor fizico-chimice [14] deoarece mișcările moleculare sunt limitate la rotații și vibrații, rezultând caracteristicile solide ale materialului. S-a observat că în starea de tranziție sticloasă s-au identificat modificări în ceea ce privește modulul elastic și cel vâscos, volumul, dilatarea termică, dar și proprietățile dielectrice. Nyguen et al. au studiat proprietățile vâscoelastice ale mierii la temperaturi din domeniul negativ și au identificat o creștere a parametrilor  $G'$  (modul elastic) și  $G''$  (modul vâscos), iar temperatura la care componenta vâscoasă domină componenta elastică se numește temperatură de tranziție sticloasă [14]. Tranziția sticloasă este o stare reversibilă și se produce într-un interval de temperatură.

După cum se poate observa din figura 4, temperatura de tranziție sticloasă a variat în funcție de originea botanică a probei de miere analizată, dar și în funcție de conținutul de umiditate. Astfel, pentru mierea de salcâm temperatura de tranziție sticloasă a fost de -19,8 °C, pentru mierea de tei -23,2 °C, pentru mierea de rapiță -22,82 °C, pentru mierea de cimbrisor -22,89 °C, pentru mierea de zmeură -22,16 °C, pentru mierea de mentă -24,5 °C, iar pentru cea de floarea soarelui -31,38 °C. De asemenea, se poate observa că, odată cu scăderea temperaturii aplicate are loc o creștere a modulelor de la  $10^3$  până la  $10^9$  Pa.



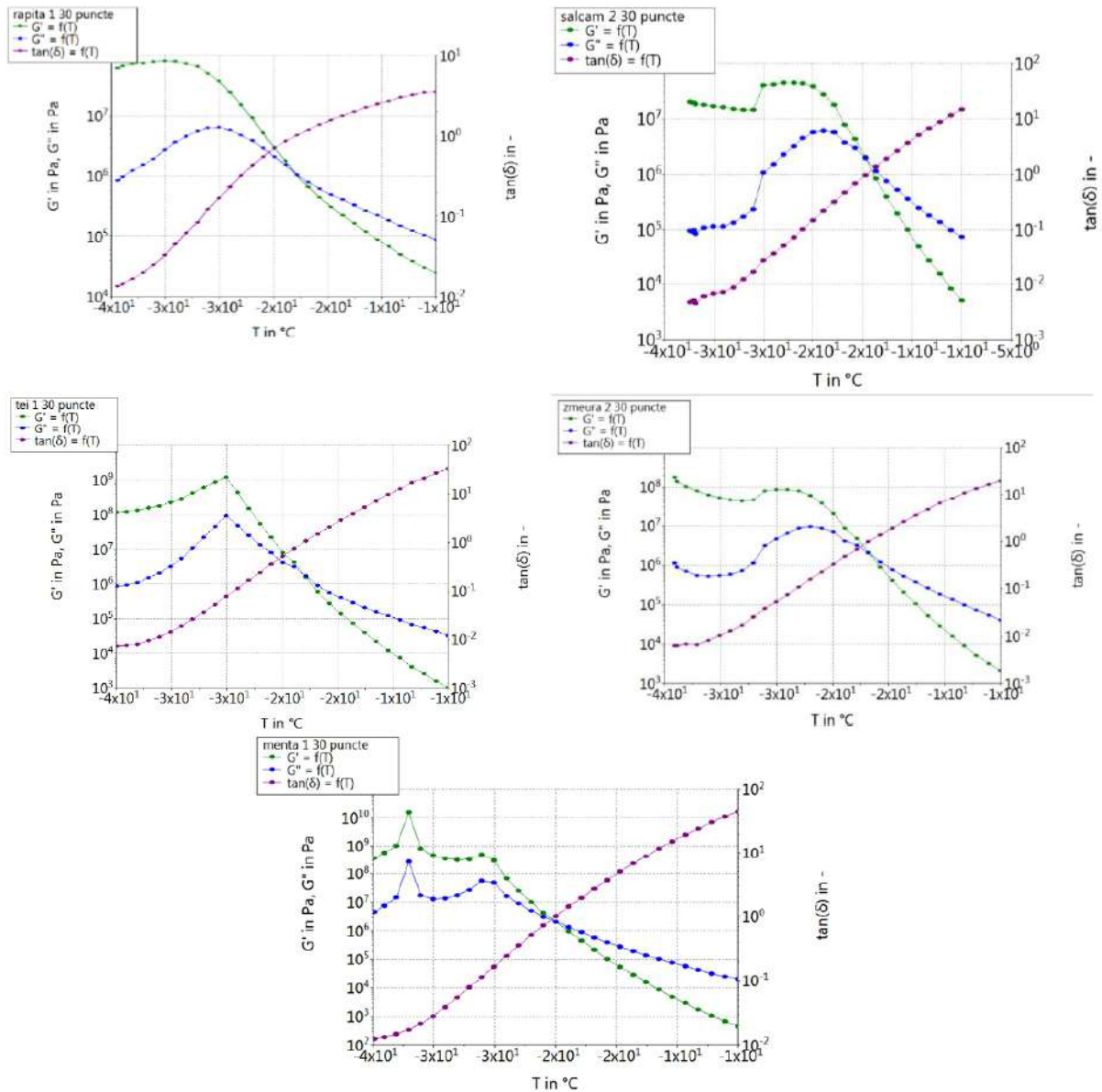


Figura 4. Comportamentul reologic în domeniul negativ

## Concluzii

Temperatura de tranziție sticloasă poate fi corelată cu originea botanică, care influențează compoziția chimică a mierii de albine. Totuși, trebuie avut în vedere conținutul de apă care are un efect plastifiant ridicat și influențează semnificativ comportarea reologică a materialelor.

## 2.2. Depistarea falsificării

În cadrul acestui studiu s-a urmărit comportarea reologică în domeniul negativ al mierii de salcâm falsificată cu siropuri concentrate de glucide (agave, arțar, orez, porumb și zahăr invertit) în proporții diferite (5%, 10%, 20% și 50%).

## Materiale

Mierea autentică de salcâm a fost achiziționată de la un apicultor local din România (județul Suceava). Siropurile utilizate pentru falsificarea mierii au fost achiziționate de pe piața



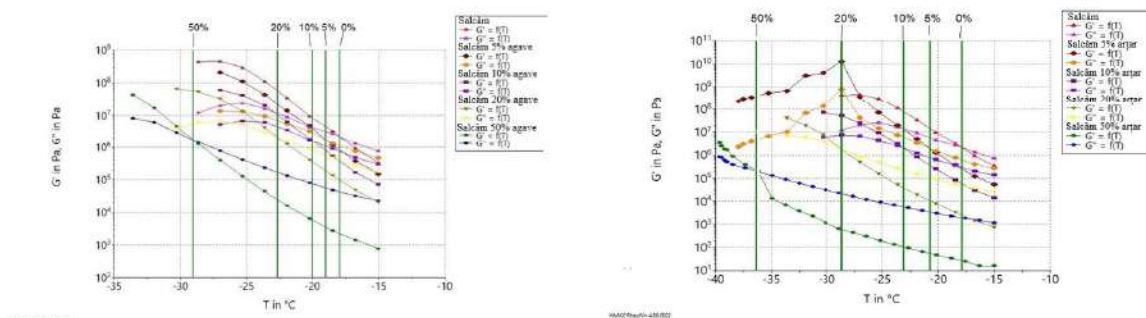
comercială: agave (Clarks, Mexic), arșar (BioLogistic & Distribution Partener, Canada), orez (Panaisia de Hadels GMBH Companie importatoare, Coreea) și porumb (Daesang Europe BV Companie importatoare, Coreea). Siropul de zahăr invertit s-a obținut prin hidroliza zaharozei cu adaos de acid citric. Falsificarea mierii s-a realizat prin adăugarea de sirop în procente de 5%, 10%, 20% și 50%.

### Metode - Reologia în domeniul negativ de temperatură

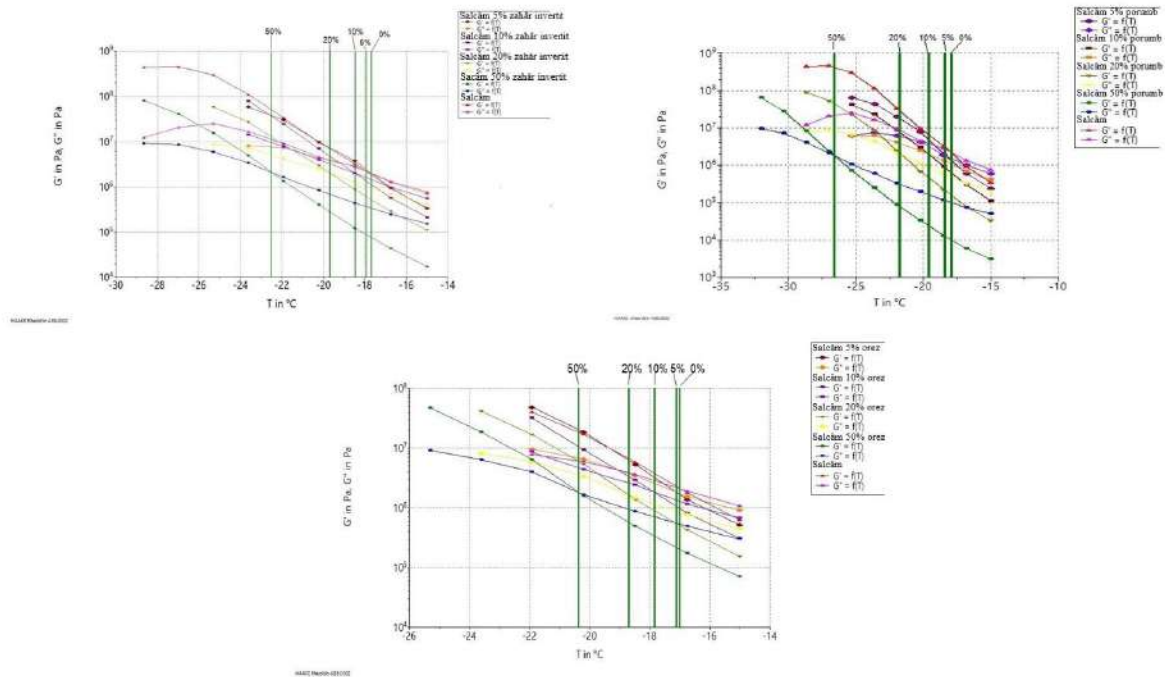
Proba analizată se menține în repaus timp de 5 minute pentru a ajunge la temperatura de 0 °C, apoi temperatura se setează la -15 °C. Măsurătorile se efectuează de la -15 °C la -40 °C și se urmărește intersecția celor două module ( $G'$  și  $G''$ ). Reometrul se conectează la un sistem (baie) de răcire (Huber - Pilot ONE, Germania) pentru a realiza o răcire rapidă. Soluția de recirculare utilizată este etanolul (96%). Măsurătorile se efectuează în aceleași condiții pentru fiecare probă.

### Reologia mierii la temperaturi negative

Pentru a evalua comportamentul reologic al probelor la temperaturi negative, măsurătorile au fost efectuate la temperaturi începând cu -15 °C până la -40 °C (figura 5). Se poate observa că există o creștere pronunțată a modulelor de la  $10^3$  la  $10^9$  Pa odată cu scăderea temperaturii aplicate. Regiunea din domeniul negativ este cunoscută sub denumirea de regiune de tranziție sticloasă, regiune în care componenta elastică prezintă o creștere superioară componentei vâscoase ( $G' > G''$ ); aceasta se mai numește și stare sticloasă, o stare în care reacțiile fizico-chimice sunt limitate datorită mișcărilor moleculare pe termen lung [14]. Punctul în care cele două componente au aceeași magnitudine este cunoscut sub numele de punct de tranziție sticloasă, care corespunde unei temperaturi de tranziție sticloasă. După cum se poate observa în figura 5, temperatura de tranziție sticloasă ( $T_g$ ) a mierii de salcâm a fost de -17,12 °C și a scăzut odată cu creșterea procentului de falsificare până la -36,14 °C (miere falsificată cu 50% sirop de arșar) (figura 5). În figura 5 se poate observa evoluția  $T_g$  pentru fiecare tip de agent de falsificare. În cazul adaosului de sirop de zahăr invertit și orez în mierea autentică nu s-a observat o scădere ridicată a temperaturii de tranziție sticloasă, în timp ce în cazul mierii falsificate cu concentrații ridicate de sirop de arșar, porumb sau agave, diferența este notabilă. Conform corelației Pearson, s-a observat o corelație puternic negativă între  $T_g$  și conținutul de umiditate ( $r = -0.961^*$ ) și zaharoză ( $r = -0.782^*$ ) și o corelație puternic pozitivă între  $T_g$  și fructoză ( $r = 0.436^*$ ), glucoză ( $r = 0.743^*$ ), maltoză ( $r = 0.694^*$ ), trehaloză ( $r = 0.687^*$ ), rafinoză ( $r = 0.711^*$ ).



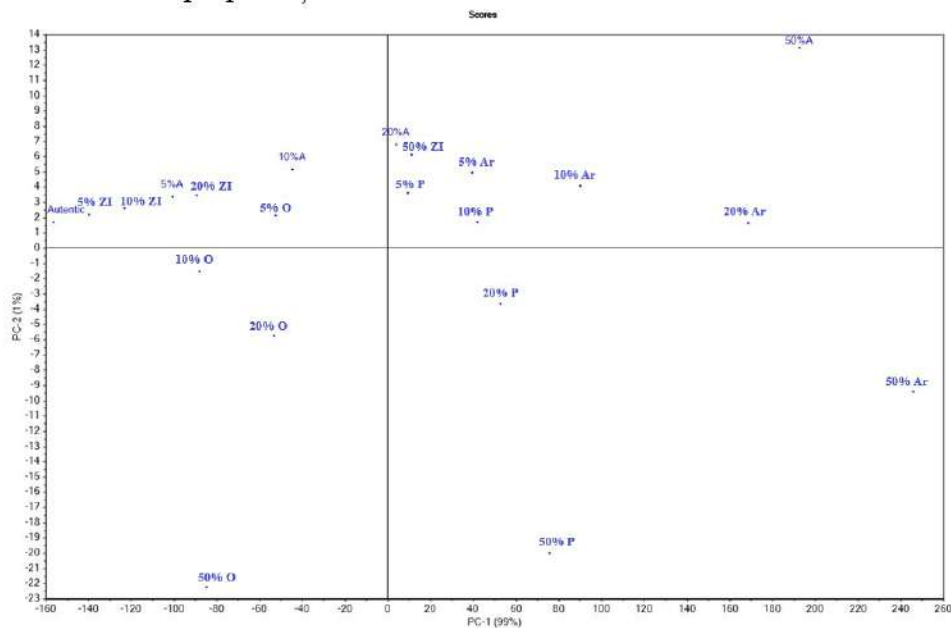




**Figura 5.** Comportamentul reologic al mierii falsificate cu diferite siropuri în domeniul negativ de temperatură. Linia verde - intersecția modului vâscos cu cel elastic

### Analiza componentelor principale (PCA)

Figura 6 conține reprezentarea probelor în cazul PCA. Prima componentă (PC-1) a reprezentat 99% din varianță și a doua componentă (PC-2) 1%, iar împreună au cumulat un procent de 100% din variabilitatea inițială. După cum se poate observa, proba autentică precum și cele falsificate cu 5%, 10% și 20% sirop de zahăr invertit, 5% și 10% sirop de agave și 5% sirop de orez sunt plasate în același cadran, ceea ce înseamnă că probele falsificate cu acești agenți imită foarte bine proprietățile mierii autentice.



**Figura 6.** Analiza componentelor principale (PCA) – reprezentarea probelor: A – sirop de agave, Ar – sirop de arțar, P – sirop de porumb, ZI – sirop de zahăr invertit, O – sirop de orez și 5%, 10%, 20% și 50% – gradul de falsificare

Probele falsificate cu sirop de porumb și arțar sunt în cadrane diferite datorită compoziției lor diferite. Totodată, a existat o similaritate între probele falsificate cu 50% sirop de zahăr invertit, 20% și 50% sirop de agave, 5% și 10% sirop de porumb și 5%, 10% și 20% sirop de arțar. Conform încărcărilor PCA, probele de miere au fost în mare parte influențate de următorii parametri: conținutul de fructoză, glucoză, melezitoză, raportul F/G, conținutul de umiditate, dar și de vâscozitate ( $\eta$ -eta), modulul vâscos ( $G''$ ) și temperatura tranziției sticloase ( $T_g$ ). În plus, suprapunerea parametrilor reologici vâscozitate-modul vâscos indică o corelație puternică.

### **Concluzii**

Comportamentul reologic al mierii la temperaturi pozitive indică valori mult mai mari ale modulului vâscos comparativ cu cel elastic. La temperaturi negative, sub  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a existat o creștere a valorilor modulului elastic cu o dominație asupra modulului vâscos, urmată apoi de o încrucișare (intersecție) a celor două module, cunoscută sub numele de punct de tranziție sticloasă. Astfel, temperatura de tranziție sticloasă a mierii de salcâm a fost de  $-17,12\text{ }^{\circ}\text{C}$  și a scăzut odată cu creșterea procentului de falsificare până la  $-36,14\text{ }^{\circ}\text{C}$  în mierea falsificată cu 50% cu sirop de arțar. Cele mai notabile diferențe au fost în cazul probelor de miere falsificate cu concentrații mari de sirop de arțar, porumb și agave.

### **Act. 2.3. Dezvoltarea de metode nedistructive utilizând spectroscopia de fluorescență pentru autentificarea mierii de albine și depistarea falsificărilor**

Autentificarea mierii folosind spectroscopia de fluorescență. Probele de miere vor fi excitate la lungimea de undă de  $260\text{-}290\text{ nm}$ , iar fluorescența de emisie va fi înregistrată la  $330\text{-}360\text{ nm}$ . Fiecare tip de miere de prezintă fluorofori diferiți în funcție de originea botanică.

Depistarea falsificării mierii folosind spectroscopia de fluorescență. Eșantioanele vor fi excitate la  $260\text{-}290\text{ nm}$ , iar fluorescența de emisie va fi înregistrată la  $330\text{-}360\text{ nm}$ . Emisia va fi diferită din cauza scăderii concentrațiilor de fluorofori.

Rezultatele vor fi supuse analizei chemometrice (PCA, LDA, cluster) pentru stabilirea utilității metodei propuse.

### **Autentificarea și depistarea falsificărilor**

În cadrul acestui studiu au fost analizate 80 probe autentice (miere de salcâm, mentă, tei, floarea soarelui, rapiță, mentă, cimbru și zmeură) și 90 probe falsificate cu diferiți agenți de falsificare (agave, arțar, orez, porumb și zahăr invertit). Probele au fost analizate utilizând un spectrometru de fluorescență. Spre deosebire de planul din proiect, zona de scanare a fost modificată (s-a optat pentru un domeniu mai mare) deoarece zona propusă nu conținea elemente suficiente pentru studiile propuse.

### **Materiale**

80 probe autentice (miere de salcâm, mentă, tei, floarea soarelui, rapiță, mentă, cimbru și zmeură), 5 siropuri și 90 probe falsificate cu diferiți agenți de falsificate (agave, arțar, orez, porumb și zahăr invertit). Probele au fost lichefiate înainte de a fi analizate.

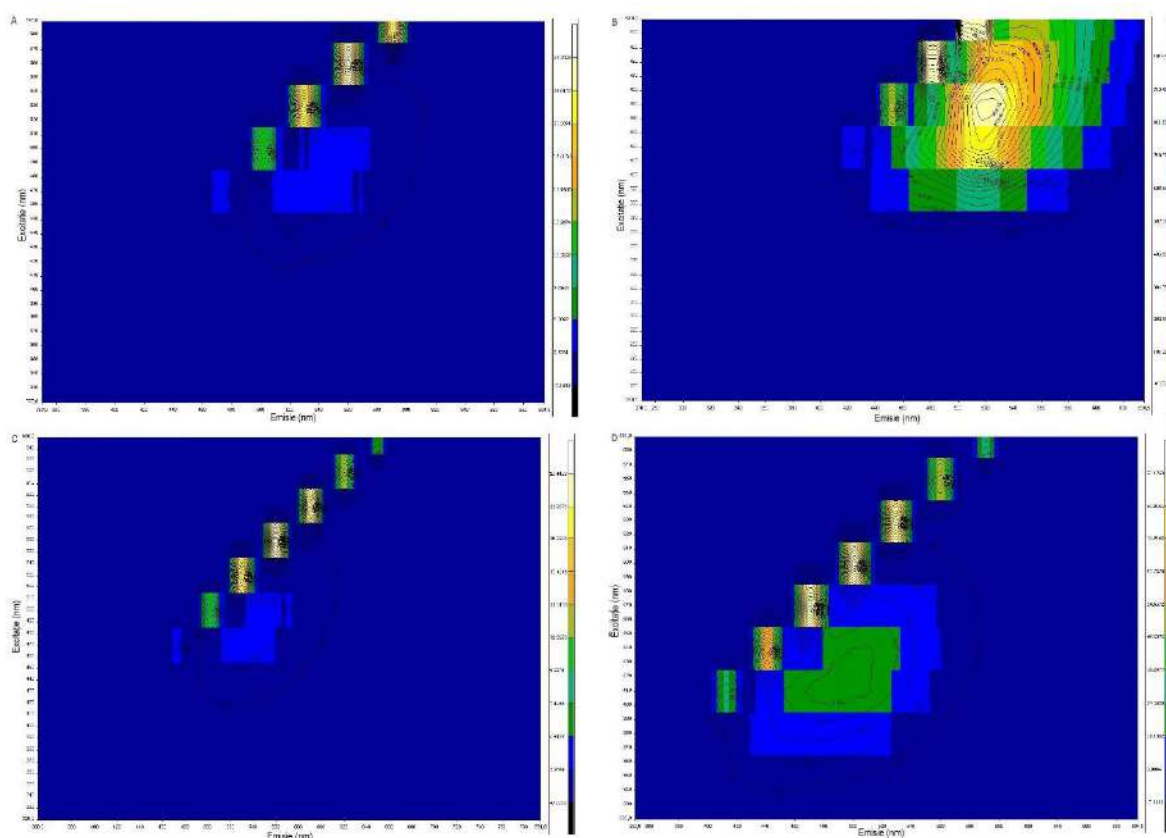
### **Metode**

Probele au fost analizate utilizând spectrofluorimetrul Perkin Elmer FL 55. Probele au fost introduse în cuve care nu prezintă absorbție pentru radiația de fluorescență. A fost setat un filtru de emisie cu atenuator de 1%T astfel încât probele să poată fi analizate fără diluare.

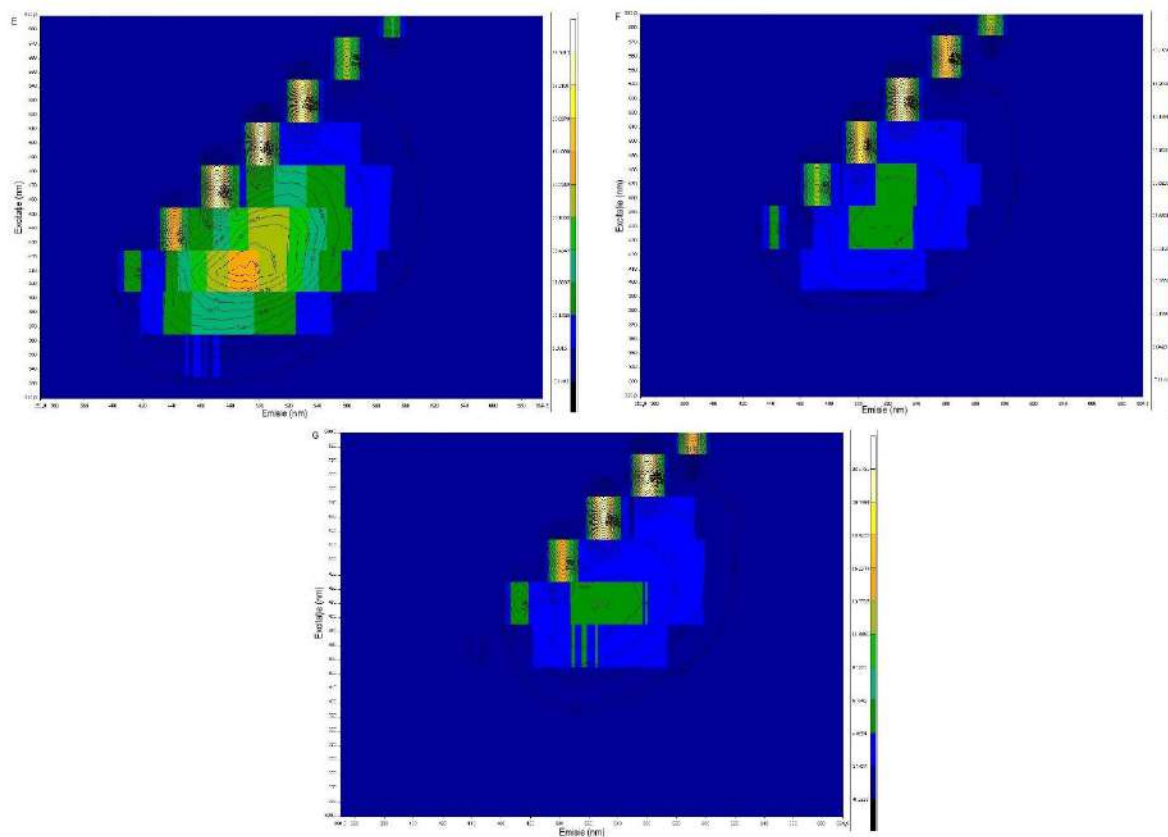
Emisia a fost setată între 350 nm și 700 nm, iar excitația între 320 nm și 650 nm, cu o viteză de scanare de 500 nm/min.

### Rezultate și discuții

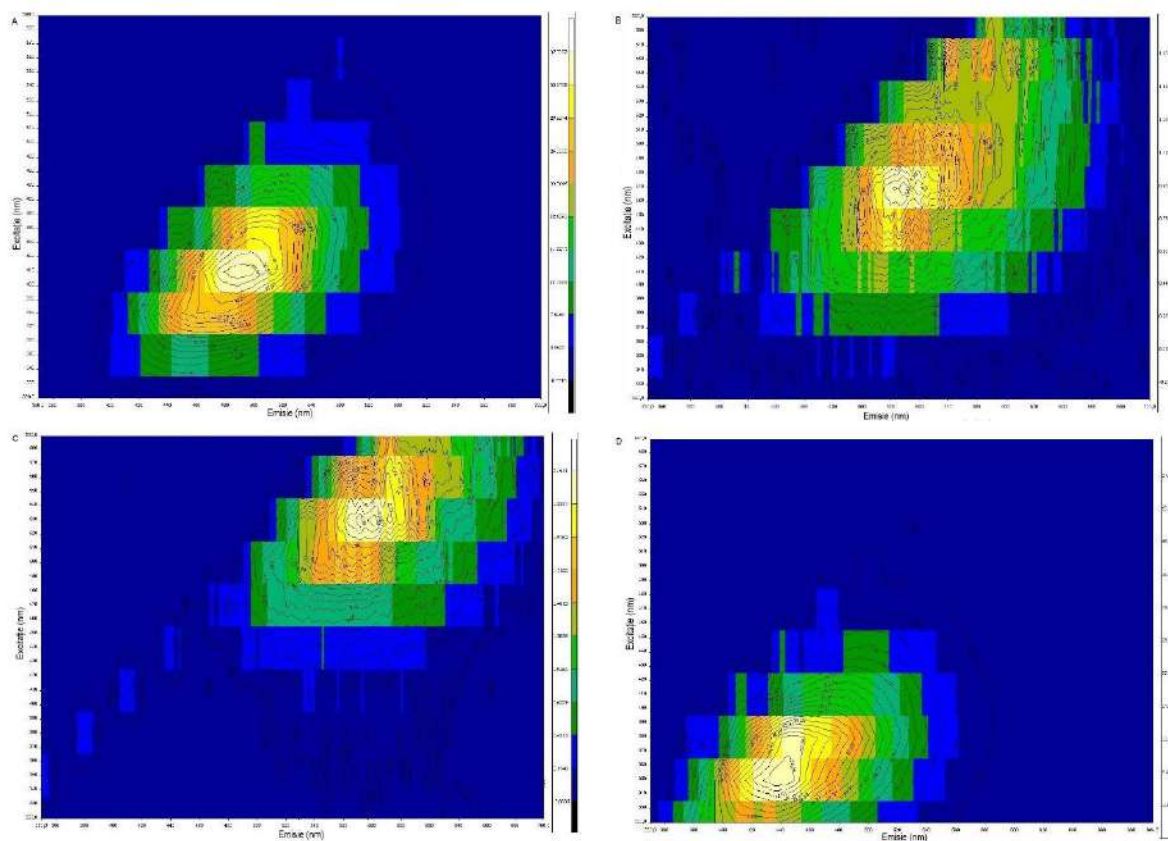
În figurile 7 și 8 sunt prezentate spectrele de fluorescență pentru probele autentice și pentru cei 5 agenți de falsificare folosiți. Spectroscopia de fluorescență prezintă o selectivitate ridicată prin oferirea de informații despre prezența unor molecule fluorescente, în plus spectroscopia de fluorescență poate fi folosită în modul multidimensional prin măsurarea bi dimensională atât a emisiei, cât și a excitației. Intensitățile cele mai mari pentru probele autentice (figura 7) s-au observat în cazul probelor de floarea soarelui > rapiță > salcâm > tei > cimbrisor > mentă > zmeură (între probele de cimbrisor, mentă și zmeură diferențele sunt foarte mici). Fluorescența din zonele prezentate în figura 7 este specifică aminoacizilor aromatici și este utilă pentru determinarea originii botanice a mierii de albine [15]. În cazul agenților de falsificare, siropurile de arțar și orez prezintă intensități foarte mici, în timp ce siropurile de agave, porumb și zahăr invertit prezintă valori apropiate de mierea autentică.



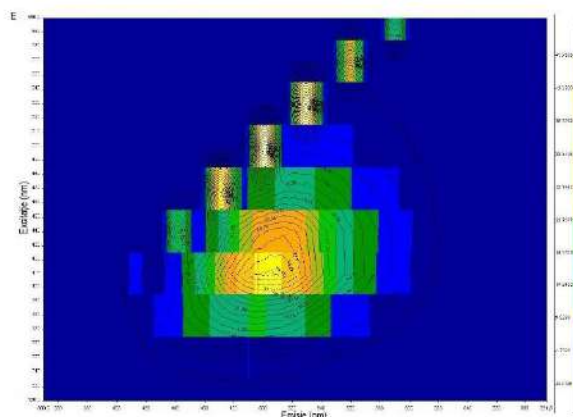




**Figura 7.** Spectre de fluorescență pentru mierea autentică: A – cimbrisor , B – floarea soarelui, C – mentă, D – rapiță, E – salcâm, F – tei, G – zmeură







**Figura 8.** Spectre de fluorescență pentru agenții de falsificare: A – sirop de agave, B – sirop de arțar, C – sirop de orez, D – sirop de porumb, E – sirop de zahăr invertit

În tabelul 2 sunt prezentate benzile de maxim de excitație/emisie observate pentru probele autentice și cele falsificate. Coroborând informațiile din figurile 7 și 8, respectiv tabelul 2 se poate observa faptul există peak-uri care unicizează fiecare sortiment de miere, respectiv de agent de falsificare. Siropurile de agave, arțar, orez și porumb prezintă un singur peak, în timp ce zahărul invertit prezintă 5 peakuri. Majoritatea sortimentelor de miere prezintă 5 peakuri, cu excepția sortimentelor de cimbrisor și floarea soarelui.

**Tabel 2.** Lungimea de undă maximă cu excitație/emisie maximă pentru probele analizate

Proba	Poziția peakului (nm)				
	I	II	III	IV	V
Cimbrisor	560/560	530/530	590/590	470/480	
Floarea soarelui	450/520	480/480	510/510	450/460	
Mentă	560/560	530/530	590/600	620/620	500/510
Rapiță	470/470	500/500	530/530	440/450	560/570
Salcâm	510/510	470/480	530/530	440/440	410/490
Tei	530/540	500/500	560/560	470/480	440/450
Zmeură	560/560	530/530	500/500	590/590	470/470
Agave	410/490				
Arțar	470/520				
Orez	530/570				
Porumb	350/440				
Zahăr invertit	530/540	500/510	470/470	410/510	560/560

Analiza statistică aplicată a utilizat modelul PARAFAC, cuplat cu analiza linear discriminată, care este cel mai utilizat model pentru analiza de fluorescență tridimensională. Modelul a reușit o clasificare pentru toate probele mai mare de 90%.

### Concluzii

Spectroscopia de fluorescență reprezintă o tehnică nedistructivă pentru autentificare/depistarea falsificării care se bazează pe spectrele de emisie/excitație ale probelor

care prezintă fluorofori (fiecare sortiment de miere prezintă fluorofori specifici). Metoda este una relativ rapidă, însă presupune metode statistice destul de greu de utilizat.

### Referințe bibliografice

- [1] S. Gok, M. Severcan, E. Goormaghtigh, I. Kandemir, F. Severcan, Differentiation of Anatolian honey samples from different botanical origins by ATR-FTIR spectroscopy using multivariate analysis, *Food Chem.* 170 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.040>.
- [2] J. Irudayaraj, F. Xu, J. Tewari, Rapid determination of invert cane sugar adulteration in honey using FTIR spectroscopy and multivariate analysis, *J. Food Sci.* 68 (2003). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb07015.x>.
- [3] O. Anjos, M.G. Campos, P.C. Ruiz, P. Antunes, Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey, *Food Chem.* 169 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.138>.
- [4] J. Horvatinec, L. Svečnjak, Infrared (FTIR) spectral features of honey bee (*apis mellifera* L.) hemolymph, *J. Cent. Eur. Agric.* 21 (2020) 37–41. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/21.1.2741>.
- [5] E. Li-Chan, J. Chalmers, P. Griffiths, Applications of Vibrational Spectroscopy in Food Science, (2011) 872.
- [6] N. Subari, J. Mohamad Saleh, A. Md Shakaff, A. Zakaria, A Hybrid Sensing Approach for Pure and Adulterated Honey Classification, *Sensors.* 12 (2012) 14022–14040. <https://doi.org/10.3390/s121014022>.
- [7] I. Kasprzyk, J. Depciuch, D. Grabek-Lejko, M. Parlinska-Wojtan, FTIR-ATR spectroscopy of pollen and honey as a tool for unifloral honey authentication. The case study of rape honey, *Food Control.* 84 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.07.015>.
- [8] S. Cai, B.R. Singh, A Distinct Utility of the Amide III Infrared Band for Secondary Structure Estimation of Aqueous Protein Solutions Using Partial Least Squares Methods, *Biochemistry.* 43 (2004) 2541–2549. <https://doi.org/10.1021/bi030149y>.
- [9] Y.T. Wang, B. Li, X.J. Xu, H. Bin Ren, J.Y. Yin, H. Zhu, Y.H. Zhang, FTIR spectroscopy coupled with machine learning approaches as a rapid tool for identification and quantification of artificial sweeteners, *Food Chem.* 303 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125404>.
- [10] F. Huang, H. Song, L. Guo, P. Guang, X. Yang, L. Li, H. Zhao, M. Yang, Detection of adulteration in Chinese honey using NIR and ATR-FTIR spectral data fusion, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 235 (2020) 118297. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118297>.
- [11] K. Kozłowicz, R. Różyło, B. Gładyszewska, A. Matwijczuk, G. Gładyszewski, D. Chocyk, K. Samborska, J. Piekut, M. Smolewska, Identification of sugars and phenolic compounds in honey powders with the use of GC–MS, FTIR spectroscopy, and X-ray diffraction, *Sci. Rep.* 10 (2020) 16269. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73306-7>.
- [12] L.C.M. Pataca, W.B. Neto, M.C. Marcucci, R.J. Poppi, Determination of apparent reducing sugars, moisture and acidity in honey by attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectrometry, *Talanta.* 71 (2007). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.08.028>.
- [13] T. Liu, K. Ming, W. Wang, N. Qiao, S. Qiu, S. Yi, X. Huang, L. Luo, Discrimination of honey and syrup-based adulteration by mineral element chemometrics profiling, *Food Chem.* 343 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128455>.
- [14] H.T.L. Nguyen, N. Panyoyai, V.D. Paramita, N. Mantri, S. Kasapis, Physicochemical



- and viscoelastic properties of honey from medicinal plants, *Food Chem.* 241 (2018).  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.070>.
- [15] R. Karoui, E. Dufour, J.O. Bosset, J. De Baerdemaeker, The use of front face fluorescence spectroscopy to classify the botanical origin of honey samples produced in Switzerland, *Food Chem.* 101 (2007).  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.039>.

**Act. 2.4. Managementul proiectului, achiziția de materiale necesare proiectului și diseminarea rezultatelor proiectului.** Vor fi realizate achizițiile pentru desfășurarea proiectului. Vor fi diseminate rezultatele proiectului în 2 articole ISI și conferințe.

Siteul proiectului va fi funcțional din luna a 6-a de implementare.

Au fost achiziționate materiale consumabile (cuve de plastic, electrod de Au, sistem de polishare, papetărie), calorimetru cu scanare diferențială și microscop optic.

Diseminarea rezultatelor cercetării s-a materializat în 6 articole ISI (4 în jurnale situate în zona Q1), 1 articol BDI și 6 prezentări la conferințe, astfel:

#### **Articole**

##### **A.1. Articole ISI**

1. Ciursă, P., Pauliuc, D., Dranca, F., Ropciuc, S., & Oroian, M. (2021). Detection of honey adulterated with agave, corn, inverted sugar, maple and rice syrups using FTIR analysis. *Food Control*, 108266. – **Q1 journal**  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713521004047>
2. Ciursa, P., & Oroian, M. (2021). Voltammetric e-tongue for honey adulteration detection. *Sensors*, 21(15), 5059. – **Q1 journal**  
<https://www.mdpi.com/1424-8220/21/15/5059>
3. Pauliuc, D., Ciursă, P., Ropciuc, S., Dranca, F., & Oroian, M. (2021). Physicochemical parameters prediction and authentication of different monofloral honeys based on FTIR spectra. *Journal of Food Composition and Analysis*, 102, 104021. – **Q1 journal**  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157521002210>
4. Pauliuc, D., Oroian, M., & Ciursă, P. (2021). Organic acids content, sugars content and physicochemical parameters of Romanian acacia honey. *Ukrainian Food Journal*, 10(1), 158-170.  
<http://ufj.ho.ua/Archiv/UKRAINIAN%20FOOD%20JOURNAL%202021%20V.10%20Is.1.pdf#page=158>
5. Ciursa, P., Oroian, M., Pauliuc, D., 2021, Detection of raspberry honey adulterated with agave, maple, rice, corn and inverted sugar syrups using instrumental techniques. *Ukrainian Food Journal*, 10(3), 479-491  
<http://ufj.ho.ua/Archiv/UKRAINIAN%20FOOD%20JOURNAL%202021%20V.10%20Is.3.pdf>
6. Ciursa, P., Oroian, M., 2021, Rheological behaviour of honey adulterated with agave, maple, corn, rice and inverted sugar syrups, *Scientific Reports*, 11, 23408 – DOI 10.1038/s41598-021-02951-3, [www.nature.com/articles/s41598-021-02951-3](http://www.nature.com/articles/s41598-021-02951-3) , **Q1 journal**

##### **A.2. Articole BDI**

1. Pauliuc, D., Ciursă, P., Dranca, F., Ropciuc, S., Oroian, M., 2020, Tilia honey's fructose, glucose and sucrose content prediction using ft-ir spectra with partial least squares regression, *Food and Environment Safety*, 19(4), 260-266

<http://fens.usv.ro/index.php/FENS/article/view/748>

## **B. Conferințe**

1. Pauliuc, D., Oroian, M., Ciursă, P., 2021, Organic acids content, sugars content and physicochemical parameters of Romanian acacia honey, 87 International scientific conference of young scientist and students "Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution", April 15–16, 2021. Book of Abstract. NUFT, Kyiv

<http://conferencenuft.ho.ua/Books%20of%20abstracts/2021/Book%20of%20Abstracts%2021.pdf>

2. Ciursa, P., Oroian, M., 2021, Detection of raspberry honey adulterated with agave, maple, rice, corn and inverted sugar syrups using instrumental techniques, 87 International scientific conference of young scientist and students "Youth scientific achievements to the 21st century nutrition problem solution", April 15–16, 2021. Book of Abstract. NUFT, Kyiv

<http://conferencenuft.ho.ua/Books%20of%20abstracts/2021/Book%20of%20Abstracts%2021.pdf>

3. Dranca, F., Ropciuc, S., Ciursa, P., Pauliuc, D., 2021, Honey authentication and adulteration detection by FTIR, The International Conference “Biotechnologies, Present and Perspectives” 8th Edition, November, 5th, 2021, Suceava, Romania,

[https://fiajournal.usv.ro/conference2021/doc/CONFERENCE%20Program\\_5%20noiembrie%202021.pdf](https://fiajournal.usv.ro/conference2021/doc/CONFERENCE%20Program_5%20noiembrie%202021.pdf)

4. Oroian, M., Dranca, F., Ropciuc, S., Ciursa, P., Pauliuc, D., 2021, Honey adulteration detection using instrumental techniques, The International Conference “Biotechnologies, Present and Perspectives” 8th Edition, November, 5th, 2021, Suceava, Romania,

[https://fiajournal.usv.ro/conference2021/doc/CONFERENCE%20Program\\_5%20noiembrie%202021.pdf](https://fiajournal.usv.ro/conference2021/doc/CONFERENCE%20Program_5%20noiembrie%202021.pdf)

5. Pauliuc, D., Dranca, F., Ropciuc, S., Ciursa, P., Oroian, M., 2021, Physicochemical parameters, sugars content and rheological behaviour of authentic honey, The International Conference “Biotechnologies, Present and Perspectives” 8th Edition, November, 5th, 2021, Suceava, Romania,

[https://fiajournal.usv.ro/conference2021/doc/CONFERENCE%20Program\\_5%20noiembrie%202021.pdf](https://fiajournal.usv.ro/conference2021/doc/CONFERENCE%20Program_5%20noiembrie%202021.pdf)

6. Oroian M., 2021, Dezvoltarea și implementarea de metode instrumentale, pentru autentificarea mierii de albine și depistarea falsificărilor, INOVALIMENT 2021, București, România, 22-26 noiembrie <https://inovaliment.ro/conferintele-stiintifice-inovaliment-2021-program/>

**Siteul proiectului este disponibil la adresa: <https://fia.usv.ro/cercetare/honaad/>**

**Toate activitățile asumate în cadrul etapei a II-a a proiectului au fost realizate.**

**Director de proiect,  
Prof. univ. dr. ing. Mircea-Adrian OROIAN**

