

II 38.442  
Universitatea Dunărea de Jos Galați  
Facultatea Știința și Ingineria Alimentelor

## VALORIFICAREA BIOTEHNOLOGICĂ A MIERII DE ALBINE

### **TEZĂ DE DOCTORAT**

Îndrumător:  
prof. dr. ing. Mircea BULANCEA

Doctorand:  
ing. Gabriela LENCO

2008

U 38.442



ROMÂNIA  
MINISTERUL EDUCAȚIEI, CERCETĂRII ȘI TINERETULUI  
UNIVERSITATEA "DUNĂREA DE JOS" DIN GALAȚI

STR. DOMN EASCĂ NR. 47  
800008 - GALAȚI, ROMÂNIA  
E-mail : rectorat@ugal.ro

Tel: (+40) 236 - 414.112; 413.602 ; 460.328  
Fax: (+40) 23 6 - 461.353  
ww w.ugal.ro

31999/12-112008

Către

Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați vă face cunoscut că în data de \_\_\_\_\_,  
ora \_\_\_\_\_, în \_\_\_\_\_,  
va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată : "Valorificarea biotehnologică a mierii de albine", elaborată de domnul/doamna ing. LENCO GABRIELA, în vederea conferirii titlului științific de doctor în Domeniul de doctorat - Inginerie industrială.

Comisia de doctorat are următoarea componență :

**1. Președinte:**

Prof.dr.ing. Petru Alexe  
Decan – Facultatea de Știința și Ingineria Alimentelor  
Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați

**2. Conducător de doctorat:**

Prof.dr.ing. Mircea Bulancea  
Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați

**3. Referent oficial:**

Prof.dr.chim. Gheorghe Câmpeanu  
Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară - București

**4. Referent oficial:**

Cercet.șt.pr.gr.I dr.ing. Nastasia Belc  
Institutul de Bioresurse Alimentare - București

**5. Referent oficial:**

Conf.dr.ing. Gabriela Râpeanu  
Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați

Cu această ocazie vă transmitem rezumatul tezei de doctorat și vă invităm să participați la susținerea publică. În cazul în care doriți să faceți eventuale aprecieri sau observații asupra conținutului lucrării, vă rugăm să le transmiteți în scris pe adresa Universității, str. Domnească nr. 47, 800008 - Galați, Fax - 0236 / 461353.

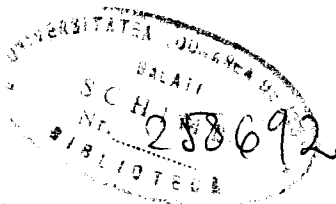


Prof.dr.ing. *[Signature]*

SECRETAR DOCTORAT,

Ing. Luiza AXINTE

*[Signature]*



## **Mulțumiri**

Doresc să-mi exprim întreaga admirație și recunoștință conducătorului de doctorat, domnul prof. dr. ing. Mircea Bulancea pentru efortul, răbdarea și sprijinul competent acordat pe întreaga perioadă de elaborare a tezei de doctorat.

Un mare sprijin în munca mea l-am primit din partea domnului inginer chimist Ștefan Manea director general Hofigal, doamnei dr. farmacist Gabriela Vlăsceanu manager Cercetare-Dezvoltare & Terapii Noi Hofigal, doamnei chimist Alina Dune manager Controlul Calității Hofigal; domnului Nicolae Varga director ICDVV Valea Călugărească, doamnei Valentina Bărbulescu chimist șef Laboratorul Central pentru Controlul Calității și Igienei Vinului Valea Calugarească; domnului profesor Victor Mateș manager general S.C. Apis Prod Blaj și domnișoarei Alexandra Șarlea chimist Laboratorul pentru Controlul Calității Mierii S.C. Apis Prod Blaj.

Mulțumesc profesorilor care au contribuit la formarea mea și colegilor care mi-au oferit sprijinul și prietenia lor.

Cuvintele sunt puține pentru a exprima sentimentele și mulțumirea mea pentru toți cei care au fost alături de mine în cea mai dificilă perioadă din viața mea, dar sufletul meu nu îi va uita niciodată.

*Gabriela*

# CUPRINS

<b>A. OBIECTIVE ȘTIINȚIFICE.....</b>	<b>1</b>
<b>B. PARTEA DOCUMENTARĂ.....</b>	<b>4</b>
<b>1. Noțiuni generale.....</b>	<b>4</b>
1.1. Definiția mierii de albine.....	4
1.2. Principalele sortimente de miere.....	4
1.3. Caracteristicile pieții mierii.....	5
1.4. Beneficii nutriționale, dietetice și terapeutice ale mierii de albine.....	8
<b>2. Caracteristicile de calitate ale mierii de albine.....</b>	<b>10</b>
2.1. Compoziția chimică a mierii.....	10
2.2. Diferențierea între mierea de mană și cea de nectar.....	12
2.3. Proprietățile mierii de albine.....	13
2.3.1. Proprietăți funcționale în alimente.....	13
2.3.2. Proprietăți antioxidante.....	15
2.3.3. Proprietăți antimicrobiene.....	16
2.3.4. Proprietăți prebiotice.....	17
2.4. Caracteristici fizice și senzoriale care afectează calitatea mierii de albine.....	18
2.5. Efectul tratamentelor termice asupra caracteristicilor de calitate a mierii de albine.....	20
2.6. Contaminanții mierii de albine.....	22
2.6.1. Metalele grele.....	23
2.6.2. Radioactivitatea.....	24
2.6.3. Pesticidele.....	24
2.6.4. Polen modificat genetic.....	25
2.6.5. Bacterii patogene.....	26
2.6.6. Antibioticele.....	27
<b>3. Biotehnologia de obținere a hidromelului.....</b>	<b>28</b>
3.1. Generalități.....	28
3.2. Particularitățile preparării hidromelului.....	29
3.3. Fermentația alcoolică.....	30
3.3.1. Definiție.....	30
3.3.2. Biochimismul formării produșilor principali și secundari în fermentația alcoolică propriu-zisă.....	30
3.3.3. Factorii care influențează fermentația hidromelului.....	33
3.4. Metode de obținere a hidromelului.....	36
3.4.1. Obținerea hidromelului cu drojii libere.....	37
3.4.1.1. Metoda sterilizării prin fierbere.....	37
3.4.1.2. Metoda ultrafiltrării.....	38
3.4.2. Obținerea hidromelului cu drojii imobilizate.....	38

<b>C. PARTEA EXPERIMENTALĂ.....</b>	<b>40</b>
<b>4. Materiale și metode analitice.....</b>	<b>40</b>
4.1. Sortimente de miere utilizate în experimente.....	40
4.2. Tulpini de drojdii folosite în experimente.....	42
4.3. Medii de cultură folosite în experimente.....	42
4.4. Metode utilizate pentru analiza mierii de albine.....	43
4.4.1. Analiza senzorială a mierii de albine prin metoda punctajului cu număr mic de puncte.....	43
4.4.2. Determinarea numărului total de microorganisme din miere prin metoda indirectă de numărare Koch.....	44
4.4.3. Analiza fizico-chimică a mierii de albine.....	44
4.4.3.1. Determinarea umidității prin metoda refractometrică.....	44
4.4.3.2. Determinarea substanțelor minerale totale prin calcinare.....	44
4.4.3.3. Determinarea acidității prin titrare cu NaOH 0,1 N.....	45
4.4.3.4. Determinarea zahărului reducător prin metoda iodometrică Elser.....	45
4.4.3.5. Determinarea zahărului ușor hidrolizabil prin metoda iodometrică Elser.....	45
4.4.3.6. Determinarea indicelui amilazic prin metoda Gothe.....	45
4.4.3.7. Determinarea conținutului de granule de polen specific la mierea monoflorală.....	46
4.4.3.8. Determinarea hidroximetilfurfuralului prin metoda Winkler.....	46
4.4.3.9. Determinarea conținutului de substanțe insolubile în apă prin filtrare.....	46
4.4.3.10. Decelarea falsificărilor prin metode calitative..	46
4.4.3.11. Decelarea reziduurilor de antibiotice din miere cu testul Charm II.....	47
4.4.3.12. Decelarea reziduurilor de metale grele și microelemente din miere prin spectrofotometrie cu absorbție atomică.....	48
4.4.3.13. Studiul activității antioxidante totale prin metoda DPPH' (1,1-difenil-2 picrilhidrazil).....	48
4.5. Metode utilizate pentru studiul fermentației alcoolice.....	49
4.5.1. Teste de screening calitativ și cantitativ pentru selecționarea tulpinilor de drojdii din mierea de albine.....	49
4.5.2. Metode de evaluare a creșterii drojdiilor starter și a stării fiziologice a celulelor utilizate în procesele fermentative.....	49
4.5.3. Studiul dinamicii de fermentare prin determinarea masică a cantității de CO <sub>2</sub> degajat.....	50
4.5.4. Determinarea globală a concentrației de glucide prin metoda refractometrică.....	50
4.5.5. Determinarea conținutului în glucide reducătoare prin metoda Schoorl.....	50

4.5.6. Determinarea concentrației alcoolice prin distilare simplă.....	51
4.5.7. Determinarea acidității totale prin titrare în prezența roșului de fenol ca indicator.....	51
4.5.8. Determinarea concentrației de SO <sub>2</sub> .....	51
4.5.9. Determinarea extractului sec total prin metoda refractometrică.....	51
4.6. Metode utilizate pentru caracterizarea hidromelului ecologic.....	52
4.6.1. Analiza senzorială a hidromelului ecologic.....	52
4.6.2. Studiul stabilității microbiologice a hidromelului ecologic.....	52
4.6.3. Determinarea activității antioxidante totale prin metoda DPPH' (1,1-difenil-2 picrilhidrazil).....	53
4.6.4. Determinarea microelementelor prin spectrofotometrie cu absorbție atomică.....	53
4.6.5. Prelucrarea statistică a datelor prin metoda ANOVA unifactorială.....	53
<b>5. Cercetări privind controlul calității mierii de albine din zona apicolă Moldova.....</b>	<b>54</b>
5.1. Cercetări privind aprecierea calităților senzoriale a mierii de albine.....	54
5.2. Studiul microscopic direct al mierii de albine.....	57
5.2.1. Evaluarea conținutului de polen în mierea de albine monofloră.....	57
5.2.2. Cercetări privind încărcătura microbiană a mierii.....	62
5.3. Cercetări privind însușirile fizico-chimice ale mierii de albine.....	68
5.3.1. Analiza fizico-chimică a mierii de albine.....	68
5.3.1.1. Analiza conținutului de apă.....	71
5.3.1.2. Analiza conținutului de cenușă.....	73
5.3.1.3. Analiza acidității.....	74
5.3.1.4. Analiza conținutului de zahăr reducător.....	75
5.3.1.5. Analiza conținutului de zahăr ușor hidrolizabil.....	77
5.3.1.6. Analiza conținutului de hidroximetilfurfural.....	78
5.3.1.7. Analiza indicelui amilazic.....	80
5.3.1.8. Analiza conținutului de impurități.....	81
5.3.1.9. Decelarea calitativă a falsificărilor.....	82
5.3.2. Cercetări privind decelarea reziduurilor de antibiotice.....	83
5.3.3. Cercetări privind decelarea reziduurilor de metale grele ..	86
5.3.4. Cercetări privind conținutul în microelemente a probelor de miere.....	89
5.3.5. Cercetări privind determinarea activității antioxidante totale a probelor de miere.....	91
5.4. Concluzii.....	91
<b>6. Cercetări privind obținerea hidromelului ecologic .....</b>	<b>95</b>
6.1. Cercetări privind izolarea și selecționarea unor tulpini de drojdii cu proprietăți fermentative din miere.....	95
6.1.1. Surse de izolare.....	95
6.1.2. Menținerea purității și viabilității culturilor.....	95

6.1.3. Screening calitativ și cantitativ pentru selecția tulpinilor de drojdii cu proprietăți biotehnologice utile din miere.....	95
6.2. Studiul potențialului fermentativ al drojdiilor selecționate în must de miere steril de diverse origini botanice .....	98
6.3. Cercetări privind selecționarea tulpinii de drojdie.....	102
6.4. Cercetări privind optimizarea compoziției mediului de fermentare.....	103
6.5. Cercetări privind stabilirea tehnologiei de obținere a hidromelului ecologic.....	106
6.6. Concluzii.....	110
<b>7. Controlul calității hidromelului ecologic</b>	<b>111</b>
7.1. Controlul calității senzoriale.....	111
7.2. Studiul stabilității microbiologice.....	118
7.3. Controlul calității fizico-chimice .....	118
7.4. Concluzii.....	120
<b>8. Cercetări privind proprietățile funcționale ale hidromelului ecologic</b>	<b>121</b>
8.1. Cercetări privind conținutul de microelemente în hidromelul ecologic.....	121
8.2. Cercetări privind capacitatea antioxidantă a hidromelului ecologic.....	125
8.3. Concluzii.....	130
<b>9. Concluzii finale.....</b>	<b>131</b>
<b>10. Contribuții personale.....</b>	<b>133</b>
<b>11. Bibliografie.....</b>	<b>134</b>
<b>12. Anexe.....</b>	<b>148</b>

### **Structura tezei de doctorat**

*Teza de doctorat cuprinde 155 pagini, din care partea de documentare 39 pagini (1 figură și 4 tabele), partea experimentală 109 de pagini (43 figuri și 62 tabele) și 7 anexe.*

*Bibliografia conține 250 de titluri, din care 202 după 2000.*

## A. OBIECTIVE ȘTIINȚIFICE

Prelucrarea prin procedee fermentative a mierii de albine este o activitate dezvoltată pe plan european și mondial ce are în vedere producerea hidromelului (prin fermentarea alcoolică a glucidelor din mierea de albine) și a oțetului din miere de albine (prin fermentația acetică a hidromelului). Pe drept cuvânt, am putea spune că una din cele mai largi întrebări a avut-o mierea în prepararea acestor băuturi fermentate.

Hidromelul, băutură cu un grad de alcoolizare mai mare sau mai mic, după ingredientele și rețeta folosită este întâlnit din cele mai vechi timpuri, el existând dinaintea vinului și berii. Printre civilizațiile care au produs hidromel se numără slavii, grecii, galii, celții și egiptenii. În Grecia antică, hidromelul era oferit tinerilor căsătoriți și de aici expresia *lună de miere*, apoi acestei băuturi i s-au acordat proprietăți afrodisiace. În bazinul mediteranean hidromelul nu a putut concura prea mult timp cu vinul, regiunile din Nordul Europei fiind singurele în care s-a consumat continuu de-a lungul istoriei.

Conștientizarea consumatorilor privind metodele de producție a alimentelor ecologice și efectele benefice ale acestora asupra sănătății, precum și preocupările privind mediul, au contribuit la dezvoltarea rapidă a agriculturii ecologice și în consecință a alimentelor ecologice (organice).

Luând în considerare toate aspectele menționate anterior, teza de doctorat a abordat următoarele **obiective științifice**:

- ✓ evaluarea parametrilor de calitate senzorială, microbiologică și fizico-chimică a 5 sortimente de miere de albine din bazinul melifer Moldova (miere de salcâm, miere de tei, miere de floarea-soarelui, miere polifloră și miere de mană);
- ✓ studiul gradului de contaminare a mierii de albine cu antibiotice și metale grele cu eliminarea produselor necorespunzătoare din punct de vedere calitativ în vederea utilizării mierii ecologice în procesul fermentativ;
- ✓ studiul conținutului de microelemente și a capacității antioxidante totale ca potențiali indicatori intrinseci ce pot fi utilizați ca markeri în identificarea și trasabilitatea mierii ecologice;
- ✓ selecționarea unei tulpini de drojdie cu proprietăți fermentative superioare capabilă să inițieze rapid fermentarea și să desfășoare procesul fermentativ la temperatură scăzută, pentru a menține aroma naturală a mierii;
- ✓ optimizarea compoziției mediului de fermentare utilizând un număr minim de nutrienți organici;
- ✓ stabilirea schemei tehnologice de obținere a hidromelului ecologic;
- ✓ evaluarea calității senzoriale, microbiologice și fizico-chimice a hidromelului ecologic;
- ✓ cercetarea proprietăților funcționale ale hidromelului ecologic care pot juca un rol important de protecție împotriva stresului oxidativ și permit stabilirea markerilor ce pot fi utilizați în identificarea și trasabilitatea hidromelului ecologic.



## C. PARTEA EXPERIMENTALĂ

### 4. MATERIALE ȘI METODE ANALITICE

#### 4.1. Sortimentele de miere utilizate în experimente

În perioada 2003 - 2005 am recoltat direct de la apicultori un număr de 40 probe de miere din bazinul melifer al Moldovei. Toate probele au fost extrase prin scurgere și nu au avut mai mult de o lună din momentul extracției. Codul probelor de miere utilizate în experimente este redat în tabelul 4.1.

Tabelul 4.1. Codul probelor de miere utilizate în experimente

Nr. crt.	Origine botanică	Origine geografică	Anul recoltării	Codul mierii
1	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Hanu Conachi (jud. Galați)	2003	S <sub>1</sub>
2	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Barcea (jud. Galați)	2003	S <sub>2</sub>
3	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Liești (jud. Galați)	2003	S <sub>3</sub>
4	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Delea (jud. Vaslui)	2003	S <sub>4</sub>
5	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Hanu Conachi (jud. Galați)	2004	S <sub>5</sub>
6	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Târgu Bujor (jud. Galați)	2004	S <sub>6</sub>
7	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Barcea (jud. Galați)	2004	S <sub>7</sub>
8	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Paui (jud. Vaslui)	2004	S <sub>8</sub>
9	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Hanu Conachi (jud. Galați)	2005	S <sub>9</sub>
10	Salcâm ( <i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	Bârlad (jud. Vaslui)	2005	S <sub>10</sub>
11	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Buciumeni (jud. Galați)	2003	T <sub>1</sub>
12	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Bârlad (jud. Vaslui)	2003	T <sub>2</sub>
13	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Comănești (jud. Bacău)	2003	T <sub>3</sub>
14	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Moinești (jud. Bacău)	2003	T <sub>4</sub>
15	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Buciumeni (jud. Galați)	2004	T <sub>5</sub>
16	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Grajduri (jud. Iași)	2004	T <sub>6</sub>
17	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Ciurea (jud. Iași)	2004	T <sub>7</sub>
18	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Dărmănești (jud. Bacău)	2004	T <sub>8</sub>
19	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Buciumeni (jud. Galați)	2005	T <sub>9</sub>
20	Tei ( <i>Tilia</i> sp.)	Bârlad (jud. Vaslui)	2005	T <sub>10</sub>
21	Floarea-soarelui ( <i>Helianthus annuus</i> )	Fălticeni (jud. Suceava)	2003	FS <sub>1</sub>
22	Floarea-soarelui ( <i>Helianthus annuus</i> )	Bălăbănești (jud. Galați)	2003	FS <sub>2</sub>
23	Floarea-soarelui ( <i>Helianthus annuus</i> )	Ungheni (jud. Iași)	2004	FS <sub>3</sub>
24	Floarea-soarelui ( <i>Helianthus annuus</i> )	Huși (jud. Vaslui)	2004	FS <sub>4</sub>
25	Floarea-soarelui ( <i>Helianthus annuus</i> )	Odoboești (jud. Vrancea)	2005	FS <sub>5</sub>
26	Polifloră	Piatra Neamț (jud. Neamț)	2003	P <sub>1</sub>
27	Polifloră	Slănic Moldova (jud. Bacău)	2003	P <sub>2</sub>
28	Polifloră	Barcea (jud. Galați)	2003	P <sub>3</sub>
29	Polifloră	Pașcani (jud. Iași)	2004	P <sub>4</sub>
30	Polifloră	Târgu Frumos (jud. Iași)	2004	P <sub>5</sub>
31	Polifloră	Rădăuți (jud. Botoșani)	2004	P <sub>6</sub>
32	Polifloră	Vatra Dornei (jud. Suceava)	2004	P <sub>7</sub>
33	Polifloră	Târgu Bujor (jud. Galați)	2005	P <sub>8</sub>
34	Polifloră	Odoboești (jud. Vrancea)	2005	P <sub>9</sub>
35	Polifloră	Huși (jud. Vaslui)	2005	P <sub>10</sub>
36	Mană	Vatra Dornei (jud. Suceava)	2003	M <sub>1</sub>
37	Mană	Slănic Moldova (jud. Bacău)	2004	M <sub>2</sub>
38	Mană	Vicovu de Sus (jud. Suceava)	2004	M <sub>3</sub>
39	Mană	Soveja (jud. Vrancea)	2004	M <sub>4</sub>
40	Mană	Slănic Moldova (jud. Bacău)	2005	M <sub>5</sub>

## 4.2. Tulpini de drojdii folosite în experimente

Tabelul 4.2. Codul tulpinilor de *Saccharomyces* utilizate în experimente

Cod tulpină	Genul / Indicativ tulpină	Proveniență
D-1	<i>Saccharomyces</i>	Miere de salcâm (izolată din proba S <sub>1</sub> )
D-2	<i>Saccharomyces ellipsoideus</i> MIUG 3-11	Colecția Laboratorului de Microbiologie din Universitatea Galați
D-3	<i>Saccharomyces ellipsoideus</i> ICA-LPTF-1 <sup>ST</sup>	Colecția S.C. Compania de Cercetări Aplicative și Investiții S.A. București
D-4	<i>Saccharomyces ellipsoideus</i> 176	Colecția Institutului de Cercetare Dezvoltare a Viei și Vinului Valea Călugărească
D-5	<i>Saccharomyces</i> cu denumirea comercială Fermactive B	S.C. Sodinal București

## 4.3. Medii de cultură folosite în experimente

Tabelul 4.3. Medii de cultură folosite în experimentări

Cod mediu	Compoziție	Cantitate, g/100cm <sup>3</sup>	pH	Utilizare
M-0-S	Miere de salcâm S <sub>1</sub>	20	4,5	Selecție tulpini de drojdie Studiul fermentației alcoolice Probă martor
M-0-T	Miere de tei T <sub>1</sub>	20	4,5	Selecție tulpini de drojdie Studiul fermentației alcoolice
M-0-FS	Miere de floarea-soarelui FS <sub>1</sub>	20	4,5	Selecție tulpini de drojdie Studiul fermentației alcoolice
M-0-P	Miere polifloră P <sub>1</sub>	20	4,5	Selecție tulpini de drojdie Studiul fermentației alcoolice
M-0-M	Miere de mană M <sub>1</sub>	20	4,5	Selecție tulpini de drojdie Studiul fermentației alcoolice
M-1	Miere de salcâm S <sub>1</sub>	20	4,5	Optimizare mediu Obținere hidromel ecologic
	Polen	1		
M-2	Miere de salcâm S <sub>1</sub>	20	4,5	Optimizare mediu Obținere hidromel preparat din miere ecologică
	Fermopius (drojdii inactivate, pereți celulari de drojdii autolizate, vitamina B <sub>1</sub> , diamoniu fosfat, diamoniu sulfat, celuloză)	1		
M-3	Miere de salcâm S <sub>1</sub>	20	4,5	Optimizare mediu Obținere hidromel ecologic
	Autolizat de drojdie	0,1		
M-4	Miere de salcâm S <sub>1</sub>	20	4,5	Optimizare mediu Obținere hidromel ecologic
	Autolizat de drojdie	0,2		
M-5	Miere de salcâm S <sub>1</sub>	20	4,5	Optimizare mediu Obținere hidromel ecologic
	Autolizat de drojdie	0,3		
M-6	Miere de salcâm S <sub>1</sub>	20	4,5	Selecție mediu Obținere hidromel ecologic
	Must de maț	2		

## **5. CERCETĂRI PRIVIND CONTROLUL CALITĂȚII MIERII DE ALBINE DIN ZONA APICOLĂ MOLDOVA**

### **5.1. Aprecierea calității senzoriale a probelor de miere de albine**

Atributele apreciate la mierea de albine și probele de referință utilizate sunt redată în tabelul 5.1.

Tabelul 5.1. Atributele apreciate la mierea de albine analizată

<b>Atribut</b>		<b>Definiție</b>	<b>Proba de referință</b>
Aspectul		Culoarea și gradul de transparență în lumină naturală	Scară de culoare (bicromat de potasiu 0,1 - 10%)
Gustul	Dulce	Gustul fundamental al zaharozei	Soluție zaharoasă 20%
	Acru	Gust fundamental de acid citric	Soluție acid citric 5%
	Astringent	Senzația asociată cu cea de contracție și pișcăături pe limbă	Taninuri, suc de struguri, banane proaspete
Aroma	Florală	Aromă asociată florilor	Fenil etil alcool, flori de salcâm, flori de tei
	Fructoasă	Aromă asociată cu fructe ca citrice și mere	Portocale și mere
	Ceroasă	Aromă asociată cu ceară	Ceară de lumânare
	Acidă	Aromă asociată cu componente acide	Oțet
	Caramelizată	Aroma asociată cu zahărul ars	Zahăr caramelizat
	Chimică	Aroma asociată cu componente chimice	Fenil acetilenă
	Fermentată	Aroma asociată laptelui acidifiat sau descompunerii fructelor	Lapte acru
Mouthfeel		Vâscozitatea percepută în gură	Soluții de zahăr cu concentrații cuprinse între 2 - 64%

În urma analizei senzoriale a probelor de miere luate în analiză se remarcă următoarele aspecte:

- ✓ Toate probele analizate au fost omogene, transparente, limpezi, fără spumă, fără particule străine și fără semne de cristalizare;
- ✓ culoarea a variat de la o probă la alta dar a fost caracteristică sortimentului respectiv. Culoarea cea mai deschisă a avut-o mierea de salcâm, iar cea mai închisă mierea de mană;
- ✓ aroma a variat de la o probă la alta însă a fost caracteristică sortimentului respectiv. Aroma cea mai puternică a avut-o mierea de tei, iar cea mai subtilă mierea de salcâm. Mierea de floarea-soarelui a avut o aromă caracteristică plantei. Mierea de mană a fost singura la care am sesizat o slabă impresie ceroasă;
- ✓ gustul de dulce a avut intensitate diferită de la o probă la alta dar a fost caracteristic sortimentului respectiv. Singura miere cu gust astringent a fost cea de mană;
- ✓ mouthfeel-ul a evidențiat grade diferite de vâscozitate specifice sortimentelor analizate. Nu s-a detectat prezența cristalelor, forma sau dimensiunea acestora.

## 5.2. Studiul microscopic direct al mierii de albine

Prin examen microscopic direct am evaluat următorii indicatori: numărul granulelor de polen și numărul total de microorganisme din probele de miere de albine.

### 5.2.1. Evaluarea conținutului de polen în mierea de albine monofloră

Variația procentuală a granulelor de polen în mierea monofloră este reprezentată grafic în figura 5.4.

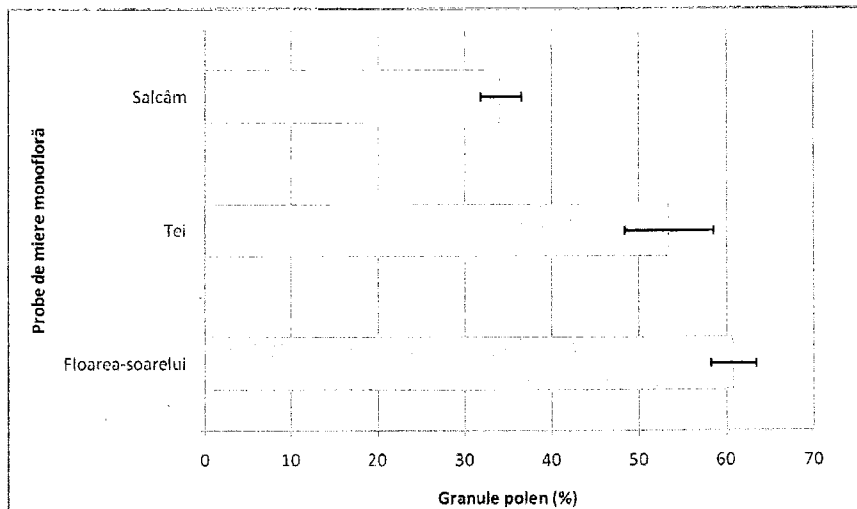


Figura 5.4. Variația procentuală a conținutului mediu de granule de polen în probele de miere monofloră

Rezultatele obținute pentru acest parametru diferă de la o probă la alta înregistrând valoarea minimă de 34,20% granule de polen din specia dominantă la mierea de salcâm și valoarea maximă de 60,81% granule de polen din specia dominantă la mierea de floarea-soarelui. Pentru același bazin melifer **Antonescu (2003)** a găsit 37,15% granule de polen în mierea salcâm, iar în bazinul melifer Transilvania, **Mihuț (2005)** a găsit în 7 probe de miere de salcâm un conținut de granule de polen cuprins între 26,13 - 34,05%.

La mierea de tei am înregistrat un conținut de granule de polen din specia dominantă de 53,49%. Rezultatul obținut de **Antonescu, (2003)** a fost de 53,55% granule de polen în mierea de tei din Moldova.

Din analiza globală a rezultatelor obținute se poate afirma faptul că toate probele de miere analizate se încadrează în limitele impuse de standardul SR 784/1-89 pentru mierea preluată de la producători.

### 5.2.2. Cercetări privind încărcătura microbiană a mierii

Conform datelor din literatura de specialitate mierea de albine nu reprezintă un substrat favorabil supraviețuirii și multiplicării microorganismelor, ea posedând capacitatea de a le inhiba sau de a le distruge. Capacitatea mierii de a inhiba sau de a distruge microorganismele se datorează următorilor factori:

- ✓ conținutul ridicat de zahăr și foarte redus în apă liberă, ceea ce determină deshidratarea, zbârcirea și moartea celulelor microbiene;
- ✓ aciditatea ridicată ( $\text{pH} \leq 4,5$ );
- ✓ sistemul de oxidare a glucozei din miere care determină formarea peroxidului de hidrogen, produs toxic pentru microorganisme;
- ✓ conținutul foarte redus de proteine și raportul C/N mare al mierii;
- ✓ lipsa de oxigen din miere, oxigenul atmosferic neputând pătrunde în miere datorită vâscozității sale;
- ✓ prezența în miere a unor substanțe chimice și enzime nefavorabile dezvoltării microorganismelor: pinocembrina, acizii fenolici, terpenele, benzil-alcoolii, diferite substanțe volatile;
- ✓ sarcina electrică nefavorabilă creată de zaharurile reducătoare din miere care descurajează multiplicarea mucegaiurilor și a bacteriilor aerobe.

Din acest motiv examenul microbiologic al mierii nu a constituit o preocupare pentru specialiștii în domeniu (**Bârzo și Apostu, 2002**).

Datele din literatură referitoare la tipurile și numărul de microorganisme care se pot găsi în miere sunt puține. În condiții naturale mierea are o varietate limitată și o cantitate redusă de microorganisme. În mod obișnuit, în miere microorganismele se găsesc sub formă de spori, iar cele nesporogene pot fi prezente numai în mierea proaspătă (**Snowdon, 2000**).

Drojdiile dominante găsite în miere sunt specii din genul *Saccharomyces*. Nu există limite *naturale* privind concentrația drojdiilor în miere. Mucegaiurile întâlnite mai des în miere aparțin genurilor *Aspergillus* și *Penicillium*. Fungii epifiti osmofili sunt prezenți mai ales în mierile de mană (**Snowdon, 2000**).

În majoritatea controalelor de rutină se studiază doar microbiota aerobă mezofilă și cea fungică. Microbiota totală (microbiota aerobă mezofilă care include unele drojdii și mucegaiuri) a fost numărată pe mediul MMA. Bacteriile aerobe mezofile au fost numărat pe mediul BCA. După perioada optimă de cultivare (3 - 5 zile pentru drojdii și mucegaiuri la 25 - 27°C și 2 zile pentru bacterii la 37°C) în plăci nu s-au dezvoltat colonii.

Pornind de la ideea că microorganismele din miere sunt osmofile am suplimentat mediul BCA cu 20% glucoză și mediul MMA cu 20% glucoză pentru ca apoi în funcție de pH-ul mediului să pot selecționa diferite tipuri de microbiote (la pH = 3,5 microbiota fungică, la pH = 4,5 microbiota totală). În urma cultivării în plăci nu s-au dezvoltat colonii de bacterii aerobe mezofile și mucegaiuri ci numai câte o colonie de drojdie în probele de miere din recolta anilor 2003 (S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>4</sub> P<sub>2</sub>, și FS<sub>1</sub>), 2004 (FS<sub>3</sub>, FS<sub>4</sub>, P<sub>4</sub>, P<sub>5</sub>, M<sub>3</sub>) și 2005 (S<sub>9</sub> și M<sub>5</sub>) (figurile 5.5. - 5.9).

Deci datorită numărului foarte mic de celule de drojdii osmofile nu există posibilitatea de a se produce fermentarea mierii, în condițiile depozitării corespunzătoare a acesteia. În plus lipsa sporilor nu va genera apariția îmbolnăvirilor în rândul consumatorilor.

### 5.3. Cercetări privind însușirile fizico-chimice ale mierii de albine

#### 5.3.1. Analiza fizico-chimică a mierii de albine

Analiza fizico-chimică a mierii de albine preluată direct de la producători a urmărit determinarea calității în conformitate cu standardul român în vigoare SR 784/1-89 (Anexa 5), și anume, conținutul de: apă, cenușă, zahăr reducător, zahăr ușor hidrolizabil, hidroximetilfurfural, substanțe insolubile în apă și indicele diastazic.

Modificarea calității mierii este cauzată și de contaminarea cu micropoluanți cu efecte toxice asupra consumatorilor. Cercetările efectuate au vizat decelarea reziduurilor de substanțe cu potențial nociv (antibiotice și metale grele) și determinarea activității antioxidante totale și a conținutului de microelemente din probele de miere.

Proprietățile fizico-chimice a diferitelor sortimente de miere au fost raportate de mulți cercetători (Singh, 1988; Gupta, 1992; Rodriguez-Otero, 1994; Persano Oddo, 1995; Mateo și Bosch-Reig, 1998; Conti, 2000; Faucon, 2002; Terrab, 2002; Antonescu, 2003; Karabournioti, 2004; Ștef, 2004; Lenco și Bulancea, 2005<sup>b</sup>; Mihuț, 2005).

Tabelele 5.6 - 5.10 arată valorile minime (min.), maxime (max.), media ( $\bar{x}$ ) și abaterea pătratică medie (s) a caracteristicilor fizico-chimice per eșantionul de miere din același sortiment.

Din analiza globală a rezultatelor obținute se observă că acestea diferă de la o probă la alta și implicit de la un an la altul. Acest lucru se poate explica în primul rând datorită faptului că probele au fost prelevate de la stupine diferite, iar în al doilea rând datorită factorilor care au concurat la variabilitatea compoziției chimice a probelor de miere supuse cercetărilor (specifci mediului înconjurător, plantelor melifere și familiei de albine).

Caracteristicile fizico-chimice ale mierii de salcâm sunt redate în tabelul 5.6. Rezultatele obținute diferă de la o probă la alta dar se încadrează în limitele impuse de standardul român în vigoare.

Tabelul 5.6. Caracteristicile fizico-chimice ale mierii de salcâm

Cod miere	Apa (%)	Cenușă (%)	Aciditate (ml NaOH 1N/100g)	Zahăr reducător (zahăr invertit, %)	Zahăr ușor hidrolizabil, (zaharoză, %)	HMF (mg/100 g)	Indice amilazic	Substanțe insolubile în apă, (%)
S <sub>1</sub>	18,0	0,10	1,4	77,0	4,7	0,19	13,9	0,028
S <sub>2</sub>	17,8	0,11	1,6	73,5	4,2	0,13	10,9	0,023
S <sub>3</sub>	18,2	0,10	1,6	75,5	3,3	0,11	10,9	0,022
S <sub>4</sub>	17,4	0,13	1,8	70,5	4,2	0,17	10,9	0,027
S <sub>5</sub>	17,8	0,15	1,8	73,5	4,7	0,14	10,9	0,029
S <sub>6</sub>	18,0	0,14	1,4	74,5	2,3	0,19	8,3	0,026
S <sub>7</sub>	18,4	0,10	1,4	72,0	1,9	0,13	10,9	0,029
S <sub>8</sub>	17,8	0,16	1,8	70,5	4,7	0,19	10,9	0,021
S <sub>9</sub>	18,0	0,11	1,4	72,5	2,3	0,14	10,9	0,025
S <sub>10</sub>	17,8	0,12	1,8	70,0	4,2	0,19	10,9	0,022
min.	17,4	0,10	1,4	70,5	1,9	0,11	8,3	0,021
max.	18,4	0,16	1,8	77,0	4,7	0,19	13,9	0,029
$\bar{x}$	17,92	0,12	1,6	72,95	3,65	0,15	10,94	0,025
s	0,26	0,02	0,18	2,30	1,10	0,03	1,32	0,003

Caracteristicile fizico-chimice ale mierii de tei sunt redată în tabelul 5.7. Cu toate că rezultatele obținute diferă de la o probă la alta, nicio specificație din standardul în vigoare nu este depășită.

Tabelul 5.7. Caracteristicile fizico-chimice ale mierii de tei

Cod miere	Apa (%)	Cenușă (%)	Aciditate (ml NaOH 1N/100g)	Zahăr reducător (zahăr invertit, %)	Zahăr ușor hidrolizabil, (zaharoză, %)	HMF (mg/100 g)	Indice amilazic	Substanțe insolubile în apă, (%)
T <sub>1</sub>	17,8	0,18	2,2	74,0	4,2	0,14	23,8	0,037
T <sub>2</sub>	17,6	0,16	1,8	75,0	2,3	0,12	17,9	0,031
T <sub>3</sub>	17,0	0,14	2,0	78,0	1,9	0,16	17,9	0,035
T <sub>4</sub>	17,2	0,16	2,2	77,0	2,3	0,12	13,9	0,034
T <sub>5</sub>	17,0	0,16	2,0	76,5	1,4	0,14	17,9	0,033
T <sub>6</sub>	17,4	0,14	2,0	79,5	3,3	0,18	17,9	0,032
T <sub>7</sub>	17,0	0,16	2,4	75,0	1,4	0,12	13,9	0,038
T <sub>8</sub>	17,8	0,18	2,0	80,0	4,2	0,12	17,9	0,036
T <sub>9</sub>	17,8	0,18	1,8	78,0	1,9	0,14	17,9	0,039
T <sub>10</sub>	17,6	0,14	2,0	77,0	4,7	0,18	17,9	0,030
min.	17,0	0,14	1,8	74,0	1,4	0,12	13,9	0,030
max.	17,8	0,18	2,4	80,0	4,7	0,18	23,8	0,039
$\bar{x}$	17,42	0,16	2,04	77,0	2,76	0,14	17,69	0,034
s	0,34	0,01	0,18	1,95	1,23	0,02	2,71	0,003

Caracteristicile fizico-chimice ale mierii de floarea-soarelui sunt redată în tabelul 5.8. După cum se observă rezultatele obținute diferă de la o probă la alta, dar respectă specificațiile standardului SR 784/1-89.

Tabelul 5.8. Caracteristicile fizico-chimice ale mierii de floarea-soarelui

Cod miere	Apa (%)	Cenușă (%)	Aciditate (ml NaOH 1N/100g)	Zahăr reducător (zahăr invertit, %)	Zahăr ușor hidrolizabil, (zaharoză, %)	HMF (mg/100 g)	Indice amilazic	Substanțe insolubile în apă, (%)
FS <sub>1</sub>	17,0	0,13	2,8	76,0	2,3	0,16	17,9	0,028
FS <sub>2</sub>	17,2	0,18	2,4	80,0	1,4	0,18	17,9	0,026
FS <sub>3</sub>	17,8	0,12	2,6	73,5	3,3	0,18	17,9	0,029
FS <sub>4</sub>	17,2	0,14	2,8	74,0	1,9	0,16	13,9	0,033
FS <sub>5</sub>	17,2	0,17	2,0	75,0	2,3	0,11	17,9	0,030
min.	17,0	0,12	2,0	73,5	1,4	0,11	13,9	0,026
max.	17,8	0,18	2,8	80,0	3,3	0,18	17,9	0,033
$\bar{x}$	17,28	0,14	2,52	75,7	2,24	0,15	17,10	0,029
s	0,30	0,02	0,33	2,58	0,69	0,02	1,70	0,002

Caracteristicile fizico-chimice ale mierii poliflore sunt redată în tabelul 5.9. Din analiza rezultatelor se observă că ele diferă de la o probă la alta, însă respectă limitele impuse de standardul român în vigoare.

Tabelul 5.9. Caracteristicile fizico-chimice ale mierii poliflore

Cod miere	Apa (%)	Cenușă (%)	Aciditate (ml NaOH 1N/100g)	Zahăr reducător (zahăr invertit, %)	Zahăr ușor hidrolizabil, (zaharoză, %)	HMF (mg/100 g)	Indice amilazic	Substanțe insolubile în apă, (%)
P <sub>1</sub>	17,0	0,36	2,2	75,0	4,7	0,11	13,9	0,038
P <sub>2</sub>	17,4	0,32	2,4	78,0	4,7	0,17	17,9	0,043
P <sub>3</sub>	17,2	0,40	2,4	80,5	3,3	0,13	13,9	0,042
P <sub>4</sub>	17,0	0,30	2,4	79,0	4,2	0,15	13,9	0,037
P <sub>5</sub>	17,0	0,32	2,2	78,5	4,7	0,19	17,9	0,040
P <sub>6</sub>	17,4	0,34	2,2	82,0	2,3	0,11	23,8	0,046
P <sub>7</sub>	17,2	0,28	2,0	81,5	2,8	0,18	23,8	0,049
P <sub>8</sub>	17,2	0,22	2,0	77,0	4,7	0,17	17,9	0,041
P <sub>9</sub>	17,0	0,34	2,4	81,0	2,8	0,15	17,9	0,039
P <sub>10</sub>	17,6	0,28	2,0	77,5	4,7	0,13	17,9	0,040
min.	17,0	0,22	2,0	75,0	2,3	0,18	13,9	0,037
max.	17,6	0,40	2,4	82,0	4,7	0,17	23,8	0,046
$\bar{x}$	17,21	0,31	2,22	79,0	3,89	0,14	17,88	0,041
s	0,21	0,04	0,17	2,23	0,97	0,02	3,61	0,003

Caracteristicile fizico-chimice ale mierii de mană sunt redade în tabelul 5.10. După cum se observă rezultatele obținute diferă de la o probă la alta dar respectă specificațiile standardului SR 784/1-89.

Tabelul 5.10. Caracteristicile fizico-chimice ale mierii de mană

Cod miere	Apa (%)	Cenușă (%)	Aciditate (ml NaOH 1N/100g)	Zahăr reducător (zahăr invertit, %)	Zahăr ușor hidrolizabil, (zaharoză, %)	HMF (mg/100 g)	Indice amilazic	Substanțe insolubile în apă, (%)
M <sub>1</sub>	17,2	0,66	2,8	68,0	5,7	0,16	23,8	0,096
M <sub>2</sub>	17,0	0,60	2,6	71,5	7,2	0,14	29,4	0,091
M <sub>3</sub>	17,0	0,68	2,6	68,5	6,1	0,20	23,8	0,098
M <sub>4</sub>	17,2	0,61	2,6	69,0	6,4	0,16	17,9	0,089
M <sub>5</sub>	17,0	0,59	2,8	70,0	7,1	0,16	23,8	0,097
min.	17,0	0,59	2,6	68,0	5,7	0,14	17,9	0,089
max.	17,2	0,68	2,8	71,5	7,2	0,20	29,4	0,098
$\bar{x}$	17,08	0,62	2,68	69,4	6,50	0,16	23,74	0,094
s	0,10	0,03	0,10	1,38	0,64	0,02	4,06	0,003

Pentru a stabili dacă între caracteristicile fizico-chimice analizate la cele 5 sortimente de miere de albine există diferențe semnificative am utilizat metoda statistică ANOVA unifactorială. Rezultatele obținute au fost analizate comparativ cu rezultatele existente în literatură, pentru mierea produsă în alte zone melifere din țară și din lume. Rezultatele lui **Antonescu (2003)** reprezintă media a 20 probe analizate în anul 2000 pentru bazinele melifere Moldova (miere de salcâm și miere de tei), Muntenia și Oltenia (miere de floarea-soarelui). Rezultatele lui **Mihuț (2005)** reprezintă media tuturor probelor de miere de albine din zona Transilvaniei studiate pe parcursul anilor apicolii 2003 - 2005 (7 probe de miere de salcâm, 1 probă miere de floarea-soarelui, 5 probe de miere polifloră și 5 probe de miere de mană).



### 5.3.2. Cercetări privind decelarea reziduurilor de antibiotice

S-a urmărit evaluarea performanței procedurilor Charm pentru decelarea reziduurilor de antibiotice în miere respectând criteriile UE pentru metodele calitative de screening.

Am evidențiat prezența reziduurilor de streptomicină în proporție de 25% din probele analizate (Lenco și Bulancea, 2007). Această valoare este în general mai redusă în comparație cu cele semnalate în literatură. Astfel la analiza a 50 de probe de miere polifloră din producția anului 2000 s-a evidențiat prezența streptomicinei în proporție de 70% (Bucată, 2000), iar la analiza a 124 de probe de miere din producția anilor 1999 - 2000 în proporție de 80% (Antonescu și Mateescu, 2001).

Rezultatele obținute denotă folosirea streptomicinei de către apicultori după norme personale, fără recomandare medicală, primând criteriile economice (streptomicina este mai ieftină).

Repartizarea reziduurilor de streptomicină pe sortimentele de miere analizate este redată grafic în figura 5.18. Se observă că reziduurile de streptomicină sunt cel mai frecvent întâlnite în mierea de floarea-soarelui și cel mai puțin întâlnite în mierea de salcâm. În mierea de tei, de mană și polifloră reziduurile de streptomicină se întâlnesc cu o frecvență egală.

Din analiza rezultatelor obținute se observă că frecvența reziduurilor agenților antiinfecțioși în mierea provenind de la apicultorii din Moldova este scăzută.

Deoarece multe din antibiotice se regăsesc în lanțul alimentar în cantități relativ mici, cu efect acut sau cronic prin acumulare în timp (ceea ce devine un important risc de îmbolnăvire a consumatorilor) am decis ca cele 10 probe pozitive să fie eliminate din lucru.

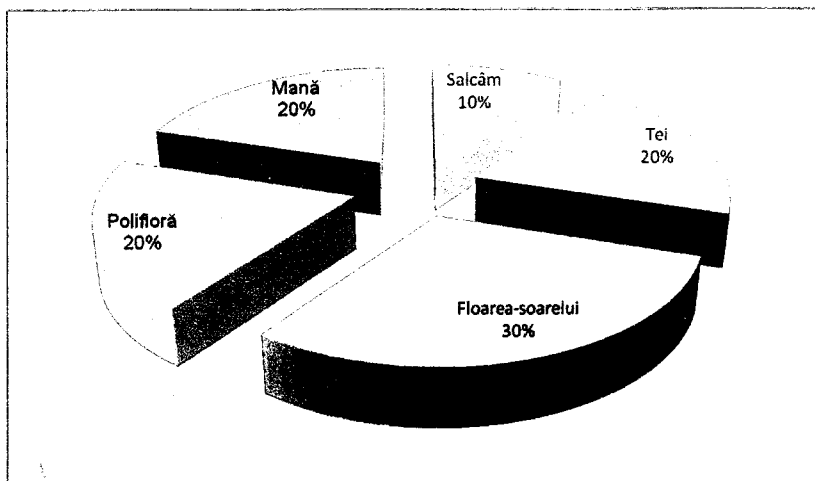


Figura 5.18. Distribuția reziduurilor de streptomicină pe sortimentele de miere analizate

### 5.3.3. Cercetări privind decelarea reziduurilor de metale grele

Mierea trebuie să fie lipsită de substanțe contaminante, cum ar fi metalele grele. Obiectivul central al acestor cercetări a fost acela de a aduce unele contribuții privind contaminarea mierii de albine din zona meliferă Moldova cu metale grele și stabilirea modului de repartizare a acestora pe sortimentele analizate.

Albinele vin în contact cu mediul înconjurător, adeseori expus poluării cu diferite emisii ale activităților industriale. Poluarea atmosferică mai provine din urbanizare și trafic. Ea poate afecta nectarul florilor sau mana, prin depunerea pe acestea a metalelor grele sau a unor diverse particule și substanțe poluante, astfel încât mierea poate constitui un indicator de poluare a mediului.

Rezultatele determinării metalelor grele în mierea analizată sunt redată în tabelul 5.20.

Tabelul 5.20. Studiul prezenței metalelor grele în probele de miere analizate

Nr. crt.	Elementul chimic studiat	Număr probe analizate	Număr probe pozitive	Limite de variație, mg/kg	Media probelor, mg/kg	Concentrația maximă admisă, mg/kg
1	Pb	30	4	0,0001 - 0,1800	0,0762	0,20
2	Cu	30	6	0,0001 - 0,2000	0,1057	5,00
3	Cd	30	0	-	0	0,02
4	Zn	30	5	0,010 - 2,2000	1,0420	3,00
5	Fe	30	10	0,0001 - 3,000	1,7568	10,00

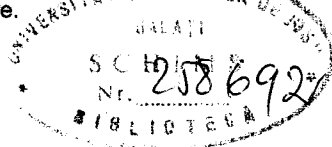
Din analiza datelor din tabelul 5.20. se observă că nu s-au găsit reziduuri de cadmiu în nicio probă. Deși staționarele în care au fost localizați stupii se află la distanțe apreciabile față de sursa de poluare, în toate sortimentele cercetate a fost identificată prezența plumbului, cuprului, zincului și fierului.

Plumbul a fost decelat în 13,33% din probe, cuprul în 20% din probe, zincul în 16,66% din probe, iar fierul în 33,33% din probe. Aceste rezultate vin să confirme fenomenul de dispersie a poluanților la distanță față de sursă și implicațiile acestora asupra sistemelor biologice.

Chiar dacă conținutul de metale grele se încadrează în limitele admise, prezența acestor micropoluante în mierea analizată relevă faptul că norul de poluare produs de diverse emisii se face resimțit și la distanțe mai mari.

Concentrațiile obținute pentru metalele grele cercetate se încadrează între limitele impuse de ultimele reglementări prevăzute de normativele comisiilor internaționale specializate. Rezultatele obținute mă îndreptătesc să afirm că este posibil ca aceste concentrații ale metalelor grele să se datoreze utilizării unor recipiente de colectare improprii confecționate din aliaje metalice ce conțin aceste elemente chimice, datorită transferului de ioni metalici către miere.

Există puține cercetări cu privire la conținutul de metale grele în mierea de albine din țara noastră. Un rezultat asemănător a fost pus în evidență de **Antonescu și Mateescu, (2001)**. Astfel la analiza a 265 de probe din producția anilor 1995 - 2000 s-a constatat că probele nu conțin cadmiu. Plumbul a fost decelat în 22,48% din probe, cuprul în 27,92% din probe, zincul în 18,11% din probe, iar fierul în 36,98% din probe. **Bratu și Georgescu, (2005<sup>a</sup>)** au analizat probe de miere de salcâm și miere polifloră provinind din 5 staționare de la apicultori din Sibiu și localitățile învecinate (8 - 25 km). Conținutul de metale grele a depășit limitele acceptate în mierea de salcâm și polifloră în două staționare.



### 5.3.4. Cercetări privind conținutul în microelemente a probelor de miere

Variația conținutului de microelemente în probele de miere de albine analizate este redată în tabelul 5.21.

Tabelul 5.21. Variația conținutului de microelemente în probele de miere de albine

Codul mării	Microelement, mg/kg				
	Na	K	Ca	Mg	P
S <sub>1</sub>	128	206	110	86	66
S <sub>3</sub>	137	212	117	89	61
S <sub>4</sub>	134	216	112	82	59
S <sub>5</sub>	129	224	109	88	60
S <sub>6</sub>	140	203	110	80	57
S <sub>7</sub>	146	222	111	81	64
S <sub>8</sub>	142	229	115	81	55
S <sub>9</sub>	139	217	113	86	58
S <sub>10</sub>	132	204	111	85	50
$\bar{x}$	136,33	214,77	112,00	84,22	58,88
s	6,06	9,25	2,59	3,30	4,75
T <sub>1</sub>	157	229	114	88	59
T <sub>3</sub>	169	234	119	89	66
T <sub>5</sub>	153	208	121	94	61
T <sub>6</sub>	155	228	113	84	62
T <sub>7</sub>	159	231	111	88	61
T <sub>8</sub>	160	207	117	82	58
T <sub>9</sub>	172	213	114	86	66
T <sub>10</sub>	166	220	119	89	64
$\bar{x}$	161,37	221,25	116,00	87,5	62,12
s	6,86	10,76	3,50	3,62	2,99
FS <sub>2</sub>	167	240	110	90	62
FS <sub>5</sub>	178	248	120	94	64
$\bar{x}$	172,50	244,00	115,00	92,00	63,00
s	7,78	5,65	7,07	2,82	1,41
P <sub>1</sub>	166	242	120	98	72
P <sub>2</sub>	169	249	118	99	77
P <sub>3</sub>	156	251	124	91	74
P <sub>6</sub>	169	258	128	89	71
P <sub>7</sub>	173	248	122	97	79
P <sub>8</sub>	175	259	121	92	75
P <sub>9</sub>	172	260	120	96	78
P <sub>10</sub>	180	246	129	94	69
$\bar{x}$	168,75	251,62	122,75	94,50	74,37
s	8,10	6,65	3,95	3,58	3,54
M <sub>1</sub>	199	266	133	115	80
M <sub>2</sub>	197	279	140	112	79
M <sub>4</sub>	191	275	138	109	85
$\bar{x}$	195,66	273,33	137,00	112,00	81,33
s	4,16	6,65	3,60	3,00	3,21
$\bar{x}$	166,92	240,99	120,55	94,04	67,94
s	21,37	23,69	10,00	10,79	9,49

Analizând media mediilor ( $\bar{x}$ ) redată în tabelul 5.21. se observă că în toate probele potasiu a fost cel mai abundent element, iar fosforul cel mai puțin abundent element. Aceste rezultate sunt în conformitate cu rezultatele raportate de alți autori (Rodriguez-Otero, 1994; Nanda, 2003; Terrab, 2003<sup>c</sup>; Terrab, 2004).

Cea mai mică cantitate de potasiu a fost decelată la proba S<sub>10</sub> (204 mg/kg), iar cea mai mare la proba M<sub>2</sub> (279 mg/kg). Cea mai mică cantitate de fosfor a fost decelată la proba S<sub>10</sub> (50 mg/kg), iar cea mai mare la proba M<sub>4</sub> (85 mg/kg).

În toate probele de miere conținutul de sodiu a fost mai scăzut decât cel de potasiu. Cea mai mică cantitate de sodiu a fost decelată la proba S<sub>1</sub> (128 mg/kg), iar cea mai mare la proba M<sub>1</sub> (199 mg/kg).

În toate probele de miere conținutul de calciu a fost mai scăzut decât cel de sodiu. Cea mai mică cantitate de calciu a fost decelată la probele S<sub>1</sub> și S<sub>8</sub> (110 mg/kg), iar cea mai mare la proba M<sub>2</sub> (140 mg/kg).

În toate probele de miere conținutul de magneziu a fost mai scăzut decât cel de calciu. Cea mai mică cantitate de magneziu a fost decelată la proba S<sub>8</sub> (80 mg/kg), iar cea mai mare la proba M<sub>4</sub> (109 mg/kg).

### 5.3.5. Cercetări privind determinarea activității antioxidante totale a probelor de miere

Din datele experimentale obținute și redată în tabelul 5.22. se observă că activitatea antiradical exprimată ca și procentaj al descreșterii radicalului DPPH' variază pentru cele cinci sortimente de miere de albine.

Astfel mierea de salcâm prezintă cea mai redusă activitate antiradical (53,77% inhibiție DPPH'), urmată de mierea de floarea-soarelui și tei care prezintă valori foarte apropiate (60,00% inhibiție DPPH', respectiv 60,62% inhibiție DPPH').

Mierea polifloră prezintă o activitate antiradical mai ridicată decât mierile monoflorale (66,62% inhibiție DPPH'), iar mierea de mană prezintă cea mai ridicată activitate antiradical (82,66% inhibiție DPPH').

Tabelul 5.22. Variația activității antiradical în probele de miere de albine

Codul mierii	Inhibiția DPPH' (%)	Codul mierii	Inhibiția DPPH' (%)	Codul mierii	Inhibiția DPPH' (%)	Codul mierii	Inhibiția DPPH' (%)	Codul mierii	Inhibiția DPPH' (%)
S <sub>1</sub>	52	T <sub>1</sub>	58	FS <sub>2</sub>	58	P <sub>1</sub>	66	M <sub>1</sub>	81
S <sub>3</sub>	56	T <sub>3</sub>	57	FS <sub>5</sub>	62	P <sub>2</sub>	64	M <sub>2</sub>	83
S <sub>4</sub>	54	T <sub>5</sub>	59			P <sub>3</sub>	68	M <sub>4</sub>	84
S <sub>5</sub>	57	T <sub>6</sub>	57			P <sub>6</sub>	66		
S <sub>6</sub>	56	T <sub>7</sub>	63			P <sub>7</sub>	69		
S <sub>7</sub>	52	T <sub>8</sub>	65			P <sub>8</sub>	65		
S <sub>8</sub>	51	T <sub>9</sub>	64			P <sub>9</sub>	67		
S <sub>9</sub>	54	T <sub>10</sub>	62			P <sub>10</sub>	68		
S <sub>10</sub>	52								
$\bar{x}$	53,77	$\bar{x}$	60,62	$\bar{x}$	60,00	$\bar{x}$	66,62	$\bar{x}$	82,66
s	2,16	s	3,24	s	2,82	s	1,68	s	1,52

#### 5.4. Concluzii

În urma analizei senzoriale a probelor de miere luate în analiză se poate concluziona că:

- ✓ toate probele analizate au fost curate, omogene, transparente și limpezi;
- ✓ nicio probă nu a prezentat spumă, particule de ceară de la faguri, albine moarte, larve moarte sau fragmente din acestea;
- ✓ nicio probă nu a prezentat semne de cristalizare;
- ✓ culoarea, aroma și gustul au variat de la o probă la alta dar au fost caracteristice sortimentului respectiv;
- ✓ din punct de vedere senzorial toate probele analizate pot fi incluse în calitatea I-a.

Rezultatele obținute în urma examenului microscopic direct au permis formularea următoarelor concluzii:

- ✓ diversitatea speciilor de polen identificate este determinată de specificitatea botanică a zonei apicole Moldova din care provin probele de miere și de sezonul de cules;
- ✓ prezența polenului însoțitor poate fi explicată prin prezența în raza de zbor a albinelor a plantelor cu înflorire eșalonată, la care se adaugă fagurii în care a fost depozitată mierea și bidoanele sau borcanele în care a fost recoltată mierea de către apiculorul ce nu a fost interesat în obținerea unei mieri monoflore pure;
- ✓ prin cercetarea conținutului de polen în mierea de albine monofloră s-au înregistrat variații de la 34,20% la 60,81% granule de polen;
- ✓ în toate probele analizate în urma analizei microbiologice în plăcile Petri nu s-au observat bacterii aerobe mezofile, mucegaiuri și/sau spori ci numai drojdii osmofile;
- ✓ datorită numărului foarte mic de celule de drojdii osmofile nu există posibilitatea de a se produce fermentarea mierii, în condițiile depozitării corespunzătoare a acesteia.

În urma analizei fizico-chimice a probelor de miere luate în analiză se pot remarca următoarele concluzii:

- ✓ cu ajutorul metodei ANOVA unifactorială s-a confirmat statistic faptul că între toți parametrii fizico-chimici, cu excepția conținutului de HMF, există diferențe semnificative;
- ✓ conținutul de apă al mierii a oscilat de la o probă la alta și de la un sortiment la altul, astfel: de la 17,0% (la probele T<sub>3</sub>, T<sub>5</sub>, T<sub>7</sub>, FS<sub>1</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>4</sub>, P<sub>5</sub>, P<sub>9</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> și M<sub>5</sub>) la 18,0% (la probele S<sub>1</sub> și S<sub>9</sub>).
- ✓ cantitatea de cenușă a variat de la o probă la alta și de la un sortiment la altul, astfel: de la 0,10% (la probele S<sub>1</sub>, S<sub>3</sub> și S<sub>7</sub>) la 0,68% (la proba M<sub>3</sub>), toate rezultatele fiind sub limitele impuse de standardul SR 783/1-89
- ✓ aciditatea este diferită între probe și sortimente fiind cuprinsă între 1,4 ml NaOH 1 N/100 g (la probele S<sub>1</sub>, S<sub>6</sub>, S<sub>7</sub> și S<sub>9</sub>) și 2,8 ml NaOH 1 N/100 g (la probele FS<sub>1</sub>, FS<sub>4</sub>, M<sub>1</sub> și M<sub>5</sub>). Valorile obținute pentru acest parametru sunt în limite normale, caracterizând o miere de albine proaspătă cu reacție puternic acidă;
- ✓ conținutul de zahăr reducător a variat de la o probă la alta și de la un sortiment la altul, astfel: de la 68% (la proba M<sub>1</sub>) la 82% (la proba P<sub>6</sub>) rezultatele obținute respectând reglementările în vigoare, caracterizând o miere de albine a cărei compoziție chimică este influențată de gradul de atractivitate a albinelor față de diferite surse de nectar sau mană respectiv;

- ✓ cantitatea de zahăr ușor hidrolizabil a fost diferită în probele de miere analizate, aceasta având domeniul de variabilitate între 1,4% zaharoză (la probele T<sub>5</sub>, T<sub>7</sub>, și F<sub>S2</sub>) și 7,2% zaharoză (la proba M<sub>2</sub>) în conformitate cu reglementările în vigoare;
- ✓ conținutul de HMF al mierii a oscilat de la o probă la alta și de la un sortiment la altul, astfel: de la 0,11 mg/100g (la probele S<sub>3</sub> și F<sub>S5</sub>) la 0,20 mg/100g (la proba M<sub>3</sub>). Rezultatele obținute respectă reglementările în vigoare;
- ✓ indicele amilazic parametru ce caracterizează încărcătura enzimatică a mierii variază de la 8,3 (la proba S<sub>6</sub>) la 29,4 (la proba M<sub>2</sub>). Valorile obținute sunt normale pentru toate sortimentele cercetate;
- ✓ cantitatea de substanțe insolubile în apă a variat de la o probă la alta și de la un sortiment la altul, astfel: de la 0,021% (la proba S<sub>8</sub>) la 0,98% (la proba M<sub>3</sub>). Deoarece la toate probele rezultatele sunt sub limitele impuse de standardul SR 783/1-89, acest parametru caracterizează o miere extrasă, purificată și păstrată corect de către apicultori;
- ✓ nicio probă nu a fost falsificată cu zahăr invertit artificial, glucoză industrială sau alt hidrolizat de amidon, gelatină, clei, făină de cereale sau alte produse amidonoase și culori de anilină.

Rezultatele experimentale obținute prin intermediul testului Charm II au permis formularea următoarelor concluzii:

- ✓ nu s-au decelat reziduuri de tetraciclină și cloramfenicol în nicio probă;
- ✓ reziduurile de streptomycină au fost prezente în 25% probele analizate;
- ✓ ținând cont de riscurile pe care le pot produce asupra consumatorilor probele pozitive: S<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>, SF<sub>1</sub>, FS<sub>3</sub>, FS<sub>4</sub>, P<sub>4</sub>, P<sub>4</sub>, M<sub>3</sub>, M<sub>5</sub> au fost eliminate din lucru.

Referitor la prezența metalelor grele în miere rezultatele experimentale obținute permit formularea următoarelor concluzii:

- ✓ probele nu conțin reziduuri de cadmiu;
- ✓ probele conțin reziduuri de plumb, cuprul, zinc și fier în limitele impuse de legislația în vigoare;
- ✓ concentrațiile relativ scăzute de plumb, cuprul, zinc și fier sunt datorate transferului de ioni metalici către miere, ca urmare a utilizării unor recipiente de colectare improprie confecționate din aliaje metalice ce conțin aceste elemente chimice.

Studiul activității antioxidante totale a probelor de miere permite sublinierea următoarelor concluzii:

- ✓ activitatea antiradical exprimată ca și procentaj al descreșterii radicalului DPPH' variază pentru cele cinci sortimente de miere de albine de la 51% (la proba S<sub>8</sub>) la 84% (la proba M<sub>4</sub>);
- ✓ mierea de salcâm prezintă cea mai redusă activitate antiradical cu o medie de 53,77% inhibiție DPPH';
- ✓ mierea de mană prezintă cea mai ridicată activitate antiradical cu o medie de 82,66%) inhibiție DPPH'.

Studiul conținutului de microelemente permite sublinierea următoarelor concluzii:

- ✓ potasiul a fost cel mai abundent element și fosforul cel mai puțin abundent element în toate probele analizate;
- ✓ în toate probele de miere conținutul de sodiu a fost mai scăzut decât cel de potasiu, conținutul de calciu a fost mai scăzut decât cel de sodiu și conținutul de magneziu a fost mai scăzut decât cel de calciu.

## **6. CERCETĂRI PRIVIND OBTINEREA HIDROMELULUI ECOLOGIC**

### **6.1. Cercetări privind izolarea și selecționarea unor tulpini de drojdii cu proprietăți fermentative din miere**

#### **6.1.1. Surse de izolare**

Am utilizat drept surse de izolare 14 probe de miere de albine provenite din recolta anului 2003. Din microbiota naturală a mierii de albine am izolat pe mediul honey agar 6 tulpini de drojdii. După inocularea și termostatarea plăcilor la 25°C/72 ore am efectuat verificarea pe cale macro- și microscopică a celulelor și am constatat că au formă oval-sferică, sunt dispuse în perechi sau lanțuri scurte și formează colonii ce au 2 - 4 mm diametru, cu contur circular, cu consistență cremoasă, aspect neted, lucios, de culoare albă. În must de malț lichid au produs tulburare și spumă fină, iar după 72 ore au format un sediment granular. Deci, drojdiile aparțin genului *Saccharomyces*. Ele au fost izolate în culturi pure pe mediul honey agar.

#### **6.1.2. Menținerea purității și viabilității culturilor**

Eprubetele cu culturi pure au fost numerotate arbitrar cu numere de la 1 la 6 și au fost întreținute prin repicare periodică pe mediul honey agar în eprubete paralele. Ele au fost păstrate în condiții de refrigerare, cu controlul purității și eliminarea eprubetelor contaminate.

#### **6.1.3. Screening calitativ și cantitativ pentru selecția tulpinilor de drojdii cu proprietăți biotehnologice utile din miere**

Din punct de vedere biotehnologic s-a considerat că este importantă selecționarea unei tulpini performante în scopul satisfacerii următoarelor cerințe: să demareze rapid fermentația; să prezinte caractere de osmotoleranță, frigofilie și alcoolrezistență; să păstreze și/sau să îmbunătățească calitățile senzoriale ale musturilor și hidromelurilor obținute; să nu producă substanțe de metabolism nedorite.

În scopul selecționării de tulpini cu proprietăți biotehnologice superioare cele 6 tulpini izolate au fost supuse testelor de screening etapizat descrise în continuare, pentru eliminarea din competiție a tulpinilor neperformante.

##### **✓ Studiul vitezei de fermentare a zaharozei**

În această etapă de screening calitativ s-a urmărit evidențierea proprietăților fermentative a drojdiilor izolate în mediul Wickerham cu 20% zaharoză.

Din culturile pure izolate pe mediu înclinat, în vârstă de 5 zile, s-a inoculat câte o ansă în eprubete cu mediul Wickerham cu 20% zaharoză și tub Durham, iar după termostatare 24 ore la 25°C s-a apreciat vizual capacitatea fermentativă prin controlul acumulării de CO<sub>2</sub> în tubul Durham, formării de spumă, tulburării mediului și formării de sediment. Acest test insuficient selectiv a confirmat faptul că tulpinile selecționate

aparțin genului *Saccharomyces* și produc fermentația zaharozei. În aceste condiții s-a renunțat la tulpina 5 care prezenta cantitate redusă de  $\text{CO}_2$  în plutitorul Durham și s-au reținut tulpinile indicativul 1, 2, 3, 4 și 6. Aprecierile sunt relative ținând cont că prin inocularea aplicată cantitatea de celule a fost variabilă.

#### ✓ Studiul vitezei de fermentare a mustului de miere sulfitat

În această etapă de screening cantitativ cele 5 tulpini de drojdii selecționate au fost supuse unui screening mai restrictiv, când s-a urmărit viteza de fermentare în must de miere de salcâm (M-0-S) cu 20<sup>0</sup>Bx steril sulfitat cu 200 mg  $\text{SO}_2$  total·dm<sup>-3</sup>.

Celulele active de drojdii active prelevate din screeningul anterior au fost inoculate cu ansa în eprubete cu plutitori Durham și s-au termostatat la 25<sup>0</sup>C timp de 24 ore. S-a verificat astfel posibilitatea de a produce fermentația în mediu natural (must de miere), la temperatura optimă de multiplicare a drojdiilor (25<sup>0</sup>C) și în prezența unor doze de  $\text{SO}_2$  maxime uzuale în vinificație (200 mg·dm<sup>-3</sup>). În aceste condiții au fost reținute tulpinile 1, 2, 4 și 6 care au prezentat spumare intensă și acumulare maximă de  $\text{CO}_2$  în tub Durham (umplerea tubului cu gaz  $\geq \frac{1}{2}$  înălțime).

#### ✓ Studiul alcoolorezistenței

În scopul evidențierii alcoolorezistenței în această etapă de screening cantitativ s-a testat capacitatea celor 4 tulpini selecționate în etapa anterioară de a produce fermentarea mustului de miere de salcâm steril (M-0-S) cu 20<sup>0</sup>Bx cu adaos de 5% (v/v) alcool etilic 96% (adăugat după sterilizare) prin termostatare la 25<sup>0</sup>C cu urmărirea fermentației la intervale de 24 - 48 ore. În aceste condiții a fost eliminată din competiție tulpina cu indicativul 4.

#### ✓ Studiul frigofiliei

Pentru evidențierea frigofiliei cele 3 tulpini selecționate în etapa anterioară au fost supuse unei noi etape de screening cantitativ când s-au cultivat în must de miere sulfitat cu 200 mg  $\text{SO}_2$  total·dm<sup>-3</sup> cu adaos de 5% (v/v) alcool etilic 96% (adăugat după sterilizare) cu termostatare la 4<sup>0</sup>C timp de 24 ore. În aceste condiții au fost eliminate din competiție tulpinile cu indicativul 2 și 6 care nu au spumat și nu au acumulat  $\text{CO}_2$  în tubul Durham.

Întrucât singura tulpină la care demararea fermentației a fost vizibilă după 24 ore a fost tulpina 1 am decis utilizarea ei în experimentele ulterioare cu codul D-1.

### 6.2. Studiul potențialului fermentativ al drojdiilor selecționate în must de miere steril de diverse origini botanice

Fermentația a fost condusă în vase cu ventil de fermentare, prin inocularea suspensiilor de celule aparținând culturilor pure, astfel încât numărul activ de celule de drojdii să fie de ordinul 10<sup>6</sup> ufc·cm<sup>-3</sup> în mustul inoculat. Rezultatele obținute pentru cele 5 tulpini au fost comparate prin evaluarea proceselor fermentative caracteristice fiecărei tulpini când s-a determinat dinamica de degajare a  $\text{CO}_2$ , conținutul de glucide reziduale și procentul de alcool rezultat prin fermentație.



Dinamica de degajare a  $\text{CO}_2$  la  $18^\circ\text{C}$  în mediul de bază M-0-S este redată în figura 6.6.

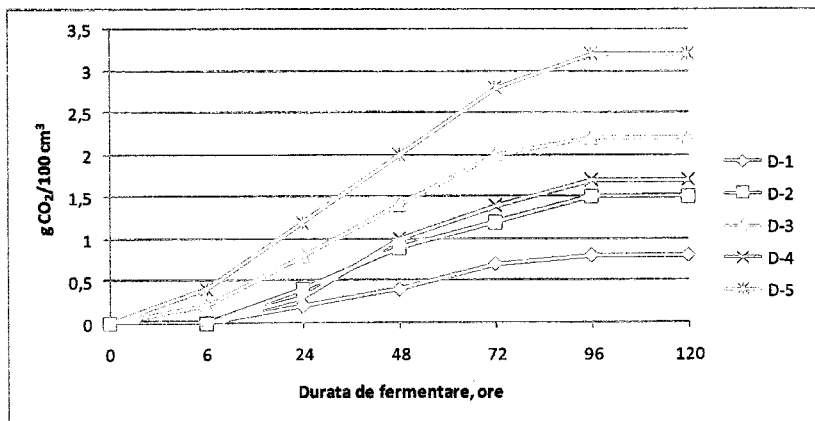


Figura 6.6. Dinamica de degajare a  $\text{CO}_2$  la  $18^\circ\text{C}$  în mediul de bază M-0-S

Din analiza curbelor de fermentație din figura 6.6. se observă că tulpinile D-3 și D-5 demarează procesul fermentativ încă din primele 6 de ore de cultivare. Tulpina D-5 desfășoară în ansamblu un proces fermentativ activ în intervalul studiat, eliberând cantitatea maximă de  $\text{CO}_2$ . Tulpina D-1 se adaptează mai greu la mediu, demarează procesul fermentativ mai lent și eliberează cantitatea minimă de  $\text{CO}_2$ . Tulpinile D-2 și D-4 au un comportament asemănător și eliberează o cantitate de  $\text{CO}_2$  intermediară între cea eliberată de tulpinile D-3 și D-5.

Dinamica de degajare a  $\text{CO}_2$  la  $18^\circ\text{C}$  în mediul de bază M-0-T este reprezentată grafic în figura 6.7.

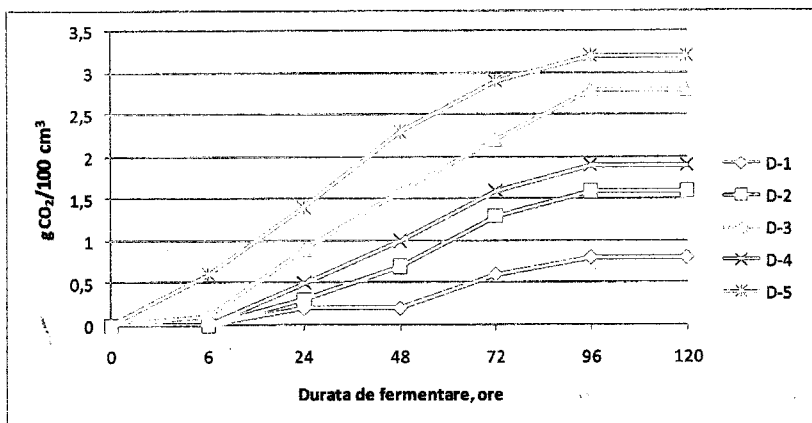


Figura 6.7. Dinamica de degajare a  $\text{CO}_2$  la  $18^\circ\text{C}$  în mediul de bază M-0-T

Analizând curbele din figura 6.7. se observă că tulpina D-5 se adaptează ușor, demarează procesul fermentativ încă din primele 6 de ore de cultivare și eliberează cantitatea maximă de CO<sub>2</sub>. Conținutul de CO<sub>2</sub> degajat de tulpina D-3 crește aproape liniar în timp în intervalul 6 - 96 ore. Alura curbelor este asemănătoare pentru tulpinile D-2 și D-4 care degajează cantitatea maximă de CO<sub>2</sub> în intervalul 72 - 96 ore. Tulpina D-1 se adaptează cel mai greu la mediu. Cu toate că demarează fermentația în intervalul 6 - 24 ore, are o perioadă de stagnare în intervalul 24 - 48 ore, cu o revenire a accelerării fermentației în următorul interval, dar eliberând cantitatea minimă de CO<sub>2</sub>.

Din figura 6.8. în care este redată dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 18°C în mediul de bază M-0-FS se observă că în intervalul 24 - 96 ore conținutul de CO<sub>2</sub> degajat de tulpinile D-2, D-3 și D-4 crește aproape liniar în timp. Se remarcă tulpina D-5 ca fiind cea mai activă și tulpina D-1 ca fiind cea care se adaptează cel mai greu la mediu. Cu toate că după 24 ore de fermentație tulpina D-3 eliberează o cantitate mai mare de CO<sub>2</sub> comparativ cu tulpina D-5 ea nu mai reușește în intervalul 48 - 96 ore să atingă valoarea maximă de CO<sub>2</sub> eliberată de tulpina D-5. Un comportament similar îl are și tulpina D-4 față de tulpina D-2.

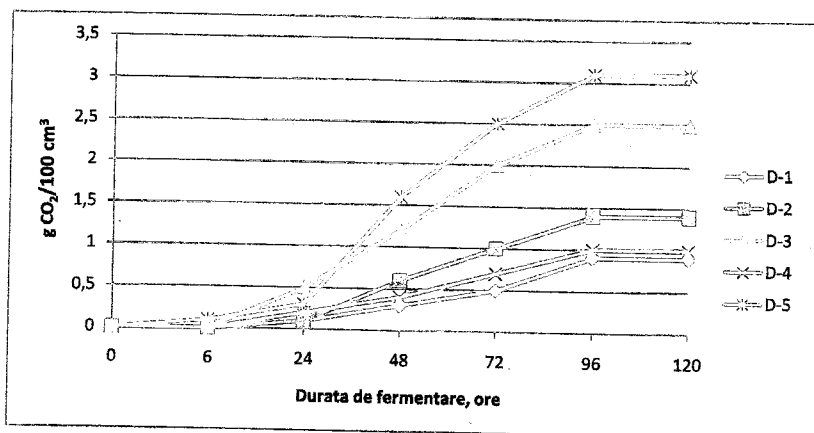


Figura 6.8. Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 18°C în mediul de bază M-0-FS

Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 18°C în mediul de bază M-0-P este redată în figura 6.9. Din analiza curbelor de fermentație se observă că tulpina D-1 se adaptează mai greu la mediu. Tulpina D-4 se adaptează mai ușor decât tulpina D-2 în intervalul 24 - 72 ore însă nu reușește să depășească cantitatea de CO<sub>2</sub> degajat în intervalul următor de tulpina D-2. Tulpina D-5 este cea mai activă. Conținutul de CO<sub>2</sub> degajat de tulpinile D-3 și D-5 crește aproape liniar în timp în intervalul 6 - 48 ore.

Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 18°C în mediul de bază M-0-M este redată în figura 6.10. Alura curbelor de fermentație este asemănătoare pentru toate tulpinile remarcându-se faptul că toate se adaptează relativ ușor la mediu încă din primele 24 ore de cultivare. Conținutul de CO<sub>2</sub> degajat de toate tulpinile crește aproape liniar în timp în intervalul 6 - 72 ore. Cea mai activă este tulpina D-5, iar cea mai puțin activă este tulpina D-1.

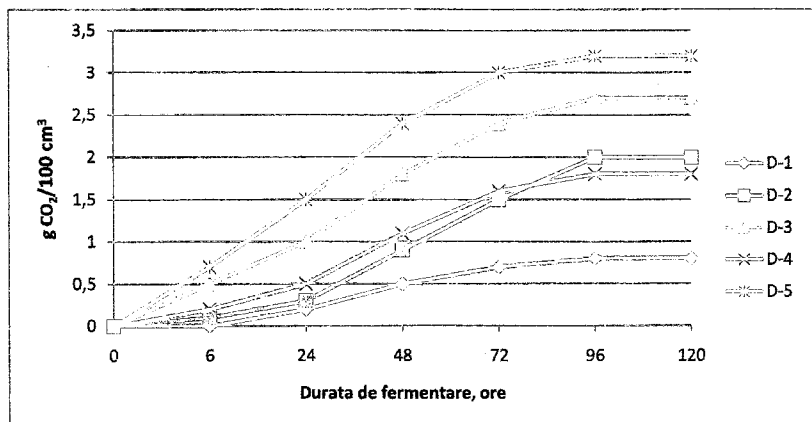


Figura 6.9. Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 18°C în mediul de bază M-0-P

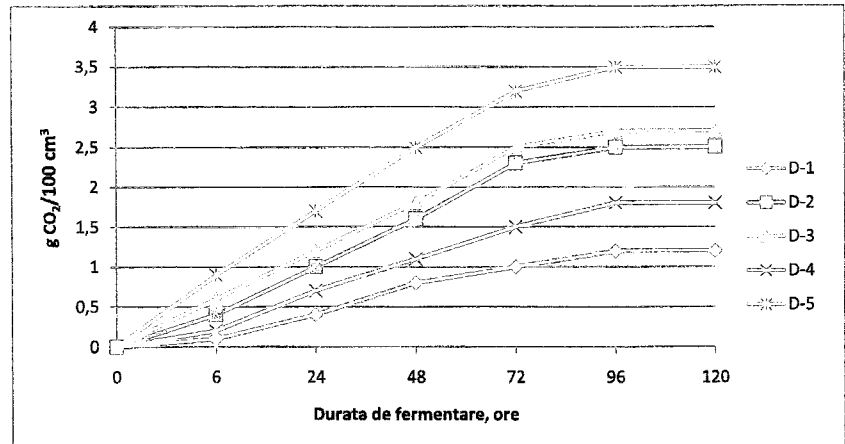


Figura 6.10. Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 18°C în mediul de bază M-0-M

Din analiza curbelor de fermentare din figurile 6.6 - 6.10. se observă că drojdiile selecționate pot produce declanșarea procesului fermentativ în toate mediile pe bază de miere de albine, deci originea botanică a mierii nu influențează procesul fermentativ. Cel mai intens metabolism fermentativ îl prezintă tulpina D-5, iar cel mai redus tulpina D-1. Deoarece sortimentul de miere nu influențează procesul fermentativ următoarele experimente se vor efectua în mediul pe bază de miere de salcâm.

### 6.3. Cercetări privind selecționarea tulpinii de drojdie

În vederea obținerii hidromelului ecologic s-a urmărit selectarea unei tulpini de *Saccharomyces* capabilă să inițieze rapid fermentarea și să desfășoare procesul fermentativ la temperatură scăzută, pentru a menține aroma naturală a mierii. Am considerat că nu este necesar să se impună drojdiei proprietăți suplimentare ca putere alcooligenă ridicată, capacitate de floculare. Agentul fermentativ a fost selecționat din 5 tulpini de *Saccharomyces*, după ce a fost stabilită dinamica proceselor fermentative pe care acestea le realizează într-un mediu pe bază de miere de salcâm (M-0-S) la temperatura de 4 și 25°C. Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 25°C în mediul de bază M-0-S este reprezentată grafic în figura 6.11.

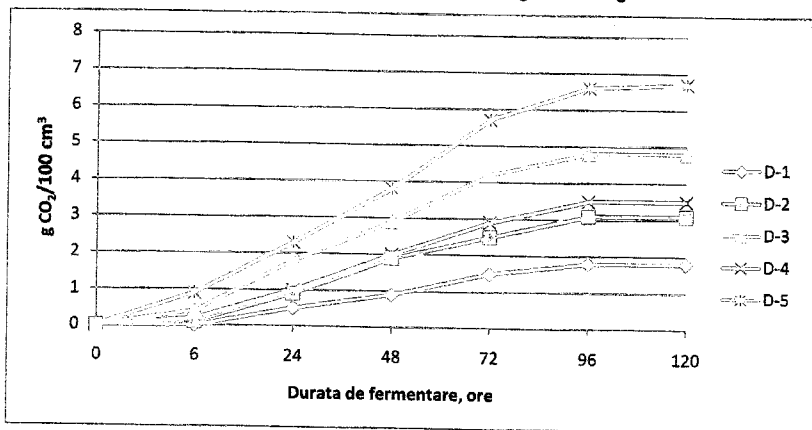


Figura 6.11. Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 25°C în mediul de bază M-0-S

Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 4°C în mediul de bază M-0-S este reprezentată grafic în figura 6.12.

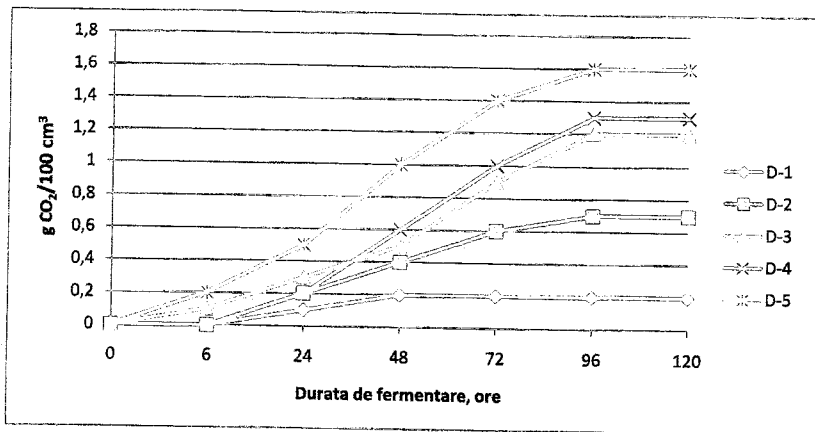


Figura 6.12. Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 4°C în mediul de bază M-0-S

Din analiza curbelor de fermentație la 25°C reprezentate grafic în figura 6.11. se observă că tulpina D-1 se adaptează cel mai greu la mediu, demarează procesul fermentativ mai lent, prezintă o capacitate de fermentare redusă și eliberează cantitatea minimă de CO<sub>2</sub>. Alura curbelor de fermentație pentru tulpinile D-2, D-3 și D-4 este asemănătoare cu cea a tulpinei D-5. Tulpina D-5 demarează fermentația încă din primele 24 de ore de cultivare și desfășoară un proces fermentativ mai activ a cărui fază exponențială se derulează în intervalul 72 - 120 de ore.

Din analiza curbelor de fermentație la 4°C reprezentate în figura 6.12. se observă că tulpina D-1 nu se adaptează și nu demarează procesul fermentativ nici după 72 ore. Tulpinile D-2 și D-4 se adaptează după 24 ore de cultivare, însă tulpina D-4 desfășoară un proces fermentativ mai activ decât tulpina D-2. Tulpinile D-3 și D-5 demarează procesul fermentativ încă din primele 24 de ore de cultivare însă tulpina D-5 desfășoară un proces fermentativ mai activ decât tulpina D-3 și eliberează cantitatea maximă de CO<sub>2</sub>.

Pentru rapiditatea cu care desfășoară procesul fermentativ la cele două temperaturi analizate și pentru capacitatea de fermentare mult superioară celorlalte tulpini studiate, am ales drept agent fermentativ pentru obținerea hidromelului ecologic tulpina D-5. Tulpina care poartă în experimentări codul D-5, este o tulpină disponibilă comercial, furnizată pe piață sub formă de drojdie selecționată uscată activă ce conține 20 - 30 · 10<sup>9</sup> celule/g, comercializată de către firma Sodinal.

#### 6.4. Cercetări privind optimizarea compoziției mediului de fermentare

Modul în care tulpina de *Saccharomyces* având codul D-5 a desfășurat procesul fermentativ la un inocul constant (concentrație egală de celule de ordinul 1,2 · 10<sup>6</sup> celule · cm<sup>-3</sup>) și temperatura de 18°C pe cele 6 medii de cultură ecologice și pe medii martor (M-0-S) este prezentat în figura 6.13.

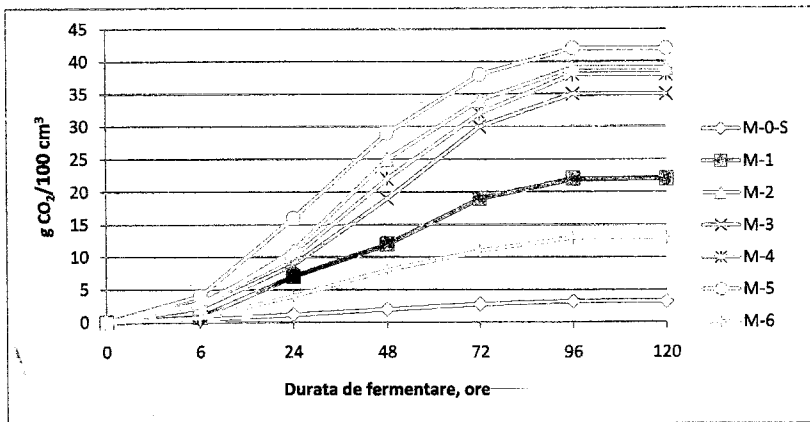


Figura 6.13. Dinamica de degajare a CO<sub>2</sub> la 18°C realizată de tulpina D-5 în timpul procesului fermentativ de obținere a hidromelului ecologic

Speciile genului *Saccharomyces* se dezvoltă pe medii ce conțin glucide fermentescibile ca surse de carbon, săruri de amoniu ca donatoare de azot, săruri minerale, factori de creștere. Tipul substanțelor folosite în compoziția mediilor de cultură pentru a reprezenta cele patru categorii de surse nutritive influențează comportamentul drojdiilor, fie în sensul ameliorării procesul fermentativ, fie în sensul inhibării lui.

Din figura 6.13. se observă că pe mediul martor M-0-S, procesul fermentativ nu amorsează nici după 96 de ore, iar capacitatea fermentativă a drojdiei înregistrează valoarea cea mai scăzută.

Pe mediul M-6, performanțele drojdiei sub aspectul vitezei de fermentare se situează la valori intermediare celor manifestate pe mediul M-1 și M-0-S, cu toate că mediul conține numeroși aminoacizi și factori de creștere din mustul de malț. În plus utilizarea adaosului de must de malț presupune cumpărarea lui de la fabricile de bere, variantă în care crește prețul produsului.

Pe mediul M-1, procesul fermentativ se desfășoară cu viteză mai mare decât pe mediul M-6 datorită prezenței în mediu a polenului. Polenul conține 35% proteine și 21 aminoacizi liberi alături de 8 flavonoizi, 11 carotenoizi, majoritatea vitaminelor, principalele macroelemente (K, Na, P, Ca, Mg, S), microelemente (Al, B, Cl, Cu, I, Fe, Mn, Ni, S, Ti, Zn). Prin analiza proteinelor din polenul de albine acestea pot fi încadrate calitativ între proteinele animale cu valoare biologică mare (carne, lapte, ouă) și cele vegetale valoare biologică medie (cereale, leguminoase, fructe) (Ianchici, 2004).

Pe mediile M-3, M-4 și M-5 ce conțin cantități variabile de autolizat de drojdie și pe mediul M-2 ce conține preparatul comercial Fermoplus ce are în compoziție drojdie inactive, pereți celulari de drojdie autolizate, vitamina B<sub>1</sub>, diamoniu fosfat, diamoniu sulfat și celuloză procesul fermentativ se amorsează în primele 24 de ore de cultivare, însă capacitatea fermentativă a drojdiei înregistrează valoarea cea mai ridicată doar în mediul M-5. Procesul fermentativ se desfășoară cu viteza cea mai mare în acest mediu datorită prezenței cantității celei mai mari de autolizat de drojdie.

Autolizatele de drojdie conțin o fracțiune bogată în pereți celulari de drojdie care adăugată în must previne oprirea nedorită a fermentației, acționând ca un factor de supraviețuire a drojdiilor. Adaosul este util atunci când mustul are un conținut inițial de glucide ridicat sau conține substanțe chimice reziduale. În plus utilizarea lor exercită un efect benefic de debarasare a substanțelor inhibitoare fixate la nivelul pereților celulari ai drojdiilor vii, separându-se ușor prin sedimentare (Lafon-Lafourcade și Ribereau-Gayon, 2005).

Pentru a evidenția viteza de fermentație și capacitatea fermentativă a tulpinii de drojdie în cele 6 medii testate în figura 6.14. se dau valorile procentuale ale CO<sub>2</sub> degajat după 72 ore și 96 ore de fermentație în raport cu CO<sub>2</sub> total. Se remarcă faptul că pe mediul M-5 se degajă cantitatea maximă de CO<sub>2</sub>, respectiv după 72 ore de fermentare se degajă 50% CO<sub>2</sub>, iar după 96 ore de fermentare se degajă 75% CO<sub>2</sub>.

Pe mediul M-1 se degajă cantitatea minimă de CO<sub>2</sub>, respectiv după 72 ore de fermentare se degajă 24% CO<sub>2</sub>, iar după 96 ore de fermentare se degajă 50% CO<sub>2</sub>, cantități semnificativ mai mari decât cele degajate pe mediul martor M-0-S.

Proba martor degajă doar 0,50% CO<sub>2</sub> după 72 ore de fermentare și 0,75% CO<sub>2</sub> după 96 ore de fermentare.

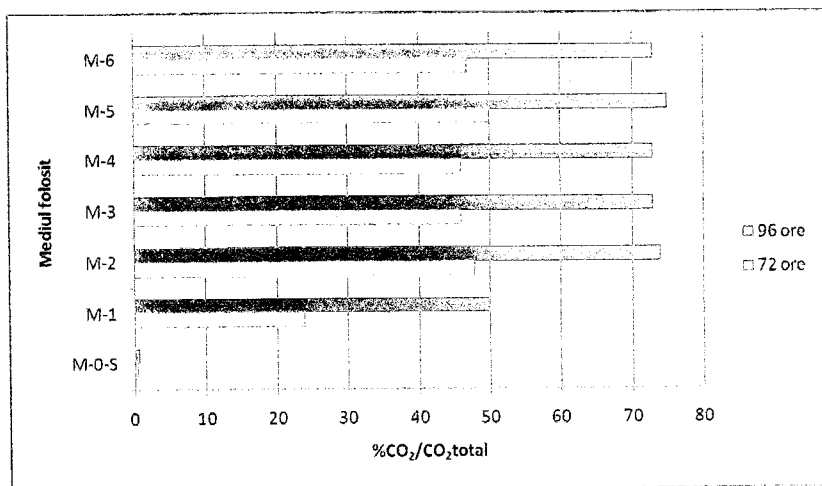


Figura 6.14. Viteza de fermentație în mustul de miere ecologic

Aprecierea activității fermentative a drojdiei selecționată s-a efectuat și în funcție de cantitatea de alcool etilic formată la anumite intervale de timp. În figura 6.15. este reprezentată cantitatea de alcool etilic formată în mustul de miere ecologic comparativ cu mărtoarul (M-0-S) la temperatura 18°C după 72 și 96 ore de fermentație.

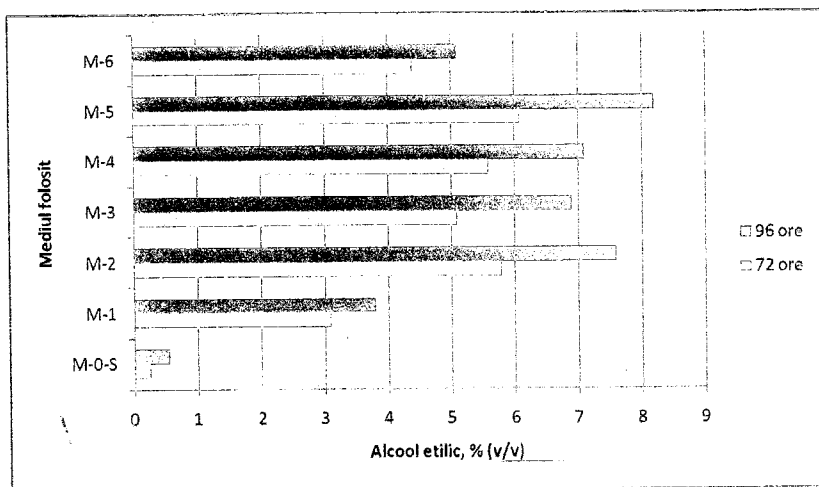


Figura 6.15. Variația conținutului de alcool etilic în mustul de miere ecologic

Analizând figura 6.15. se observă că după 72 și 96 ore de fermentație în mustul ecologic M-5 se acumulează cea mai mare cantitate de alcool etilic (6,1% vol. alc. și respectiv 8,2% vol. alc.), iar în în mustul ecologic M-1 se acumulează cea mai mică cantitate de alcool etilic (3,1% vol. alc. și respectiv 3,8% vol. alc.). În toate mediile ecologice cantitatea de alcool etilic acumulată este mai mare decât cea a matorului (0,25% vol. alc. și respectiv 0,55% vol. alc.).

Din punct de vedere al valorilor atinse de parametrii procesului fermentativ (viteza de fermentare, capacitate de fermentare, cantitatea de alcool etilic acumulată) recomand folosirea mediului M-5 cu autolizat de drojdie 0,3% pentru obținerea hidromelului ecologic.

### 6.5. Cercetări privind stabilirea tehnologiei de obținere a hidromelului ecologic

Am realizat un experiment la nivel de laborator pentru obținerea unor probe de hidromel. Pornind de la cele 5 sortimente de miere am preparat 5 musturi nesterile prin simpla dizolvare a mierii în apă fiartă și răcită la 40°C. Musturile au conținut înainte de inoculare 250 g·dm<sup>-3</sup> glucide reducătoare.

Codul musturilor ecologice este prezentat în tabelul 6.2.

Tabelul 6.2. Codul musturilor ecologice

Codul mustului ecologic	Compoziție
MS	Miere de salcâm, 0,3% autolizat de drojdie
MT	Miere de tei, 0,3% autolizat de drojdie
MFS	Miere de floare-soarelui, 0,3% autolizat de drojdie
MP	Miere polifloră, 0,3% autolizat de drojdie
MM	Miere de mană, 0,3% autolizat de drojdie
M	Miere de salcâm

În prima etapă am adăugat 0,3% autolizat de drojdie (cu excepția probei mator M), apoi am reglat pH-ul la 4,5 cu suc de lămâie, am repartizat musturile în 5 vase de sticlă (damigene de 5 dm<sup>3</sup>) și le-am inoculat.

Inocularea s-a făcut cu volume astfel calculate încât să se introducă în fiecare vas un număr de celule aproximativ egal cu 1,2·10<sup>6</sup> celule·cm<sup>-3</sup> numărate prin metode directe, în prezența albastrului de metilen, pentru a nu lua în calcul celulele autolizate. Inoculul a fost preparat în laborator, pornind de la o cultură pură, multiplicată progresiv pe must steril, până la obținerea unui volum de inocul de circa 1 dm<sup>3</sup>.

Pentru a evidenția avantajele fermentației cu cultura de drojdie selecționată s-a studiat în paralel cu fermentațiile dirijate și o fermentație spontană, sub influența microbiotei naturale a mustului de miere (probă mator care conținea 10 celule·cm<sup>-3</sup>).

Toate probele de must au fost păstrate într-o încăpere din laborator la temperatura de 15°C. Vasele de fermentare au fost prevăzute cu ventile de fermentare. Procesul de fermentare a fost urmărit pe tot parcursul său luând probe la interval de 24 ore când am determinat următorii parametri:

- numărul total de celule de drojdie;
- concentrația în glucide.

Pe parcursul procesului de fermentare am urmărit temperatura în vasul de fermentare, precum și alte aspecte ale fermentației (spumarea și creșterea volumului



mustului). La sfârșitul fermentației alcoolice am determinat concentrația alcoolică a hidromelului ecologic.

Pe baza rezultatelor obținute am trasat curbele din figurile 6.16. și 6.17.

Am numărat unitățile formatoare de colonii (UFC/cm<sup>3</sup>) și am determinat populația microbiană cu ajutorul ecuației Gompertz reparametrizată propusă de **Zwieterling (1990)** prin utilizarea modelului:

$$y = a \cdot \exp \{-\exp[\frac{(\mu_{\max} \cdot e)}{A} \cdot (\lambda + t)] + 1\} \quad (15)$$

unde:

$$y = \ln(N / N_0) \quad (16)$$

în care:

- $N_0$  - numărul inițial de drojdii pe unitatea de volum de mediu;
- $N$  - numărul de drojdii la timpul  $t$  pe unitatea de volum de mediu;
- $A$  - numărul maxim de drojdii multiplicat cu  $N_{\infty}$  ca maxim asimptotic;
- $\mu_{\max}$  - viteza specifică maximă de creștere;
- $\lambda$  - durata fazei de lag.

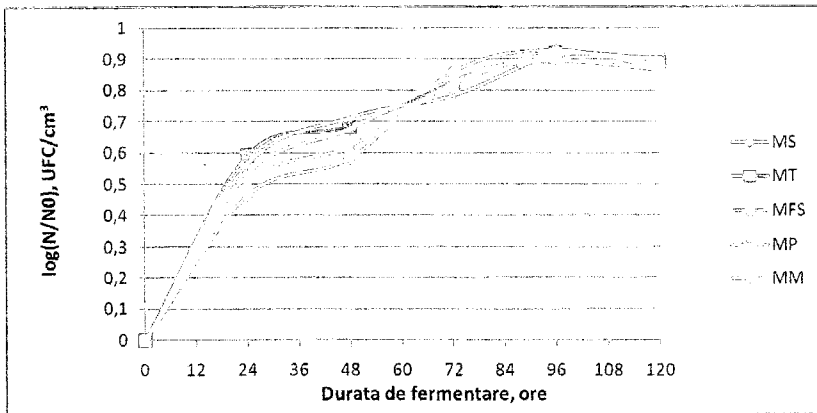


Figura 6.16. Liniarizarea ecuației Gompertz în primele 5 zile de fermentație

Din profilul curbelor de multiplicare a drozdiilor reprezentat grafic în figura 6.16. se poate aprecia că după primele 4 zile numărul acestora a atins deja maximum. În proba mator numărul de celule de drojdie ajunge la ordinul 10<sup>6</sup> ufc·cm<sup>-3</sup> după 12 zile de fermentație.

Din studiul curbelor prezentate în figura 6.17. se observă că în toate variantele fermentația a demarat după primele 24 de ore, când s-a înregistrat o scădere a conținutului de glucide reducătoare între 7 - 10 g·cm<sup>-3</sup>, iar în intervalele următoare are loc o reducere aproximativ constantă a conținutului de glucide. În proba mator conținutul de glucide reducătoare începe să scadă după 7 zile de fermentație.

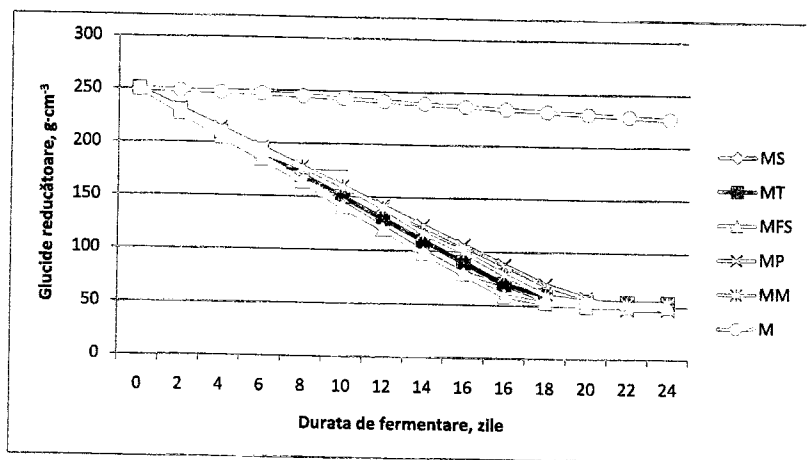


Figura 6.17. Variația conținutului de glucide reducătoare în must

Se poate aprecia că fermentația tuturor musturilor a demarat în primele 24 ore, când apar primele semne ale fermentației respectiv mici cantități de spumă și  $\text{CO}_2$  în pâlnia de fermentare

Din ziua a 5-a de fermentare în vase se instalează fermentația tumultuoasă, cu formare intensă de spumă și o creștere a temperaturii în interiorul mediului până la maximum de  $20^\circ\text{C}$ . În intervalul 5 - 8 zile se înregistrează și maximum de creștere a volumului de lichid din vas cu 10% față de volumul inițial. Din acest moment și fermentația se desfășoară rapid, cu spumare moderată și degajare energetică de  $\text{CO}_2$ .

Fermentația se încheie în ziua a 21-a când conținutul de glucide a atins valori cuprinse între  $48 - 54 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , concentrația alcoolică a fost cuprinsă între 10 - 10,5 % vol. alc., iar în pâlnia de fermentare zgomotul  $\text{CO}_2$  s-a diminuat.

Proba maritor demarează fermentația după 72 de ore. Fermentația tumultuoasă se instalează în ziua a 10-a de fermentare și se încheie în ziua a 60-a când conținutul de glucide a atins valori de  $80 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  și concentrația alcoolică a fost de 4,8 % vol. alc.

Hidromelurile ecologice obținute au fost trase de pe drojdie. Hidromelurile ecologice astfel priticite au fost menținute în vase perfect pline. Am observat că toate probele fermentate cu tulpina selecționată s-au limpezit, proba maritor fermentată cu drojdii din microbiota spontană prezenta încă o opalescență. Hidromelul ecologic a fost apoi ultrafiltrat (diametrul porilor =  $0,45 \mu$ ), s-a îmbuteliat în sticle de  $750 \text{ cm}^3$  și s-a păstrat la temperatura de  $15^\circ\text{C}$ .

Este important de menționat că după fermentare, nu au mai suferit nici un alt tratament chimic (sulfitare, cleire), deoarece am urmărit determinarea evoluției parametrilor fizico-chimici ai hidromelului în condițiile obținerii lor printr-o tehnologie corectă, în timp de 1 an.

Ținând seama de rezultatele obținute recomand ca obținerea hidromelului ecologic să se facă în conformitate cu schema tehnologică redată în figura 6.18.

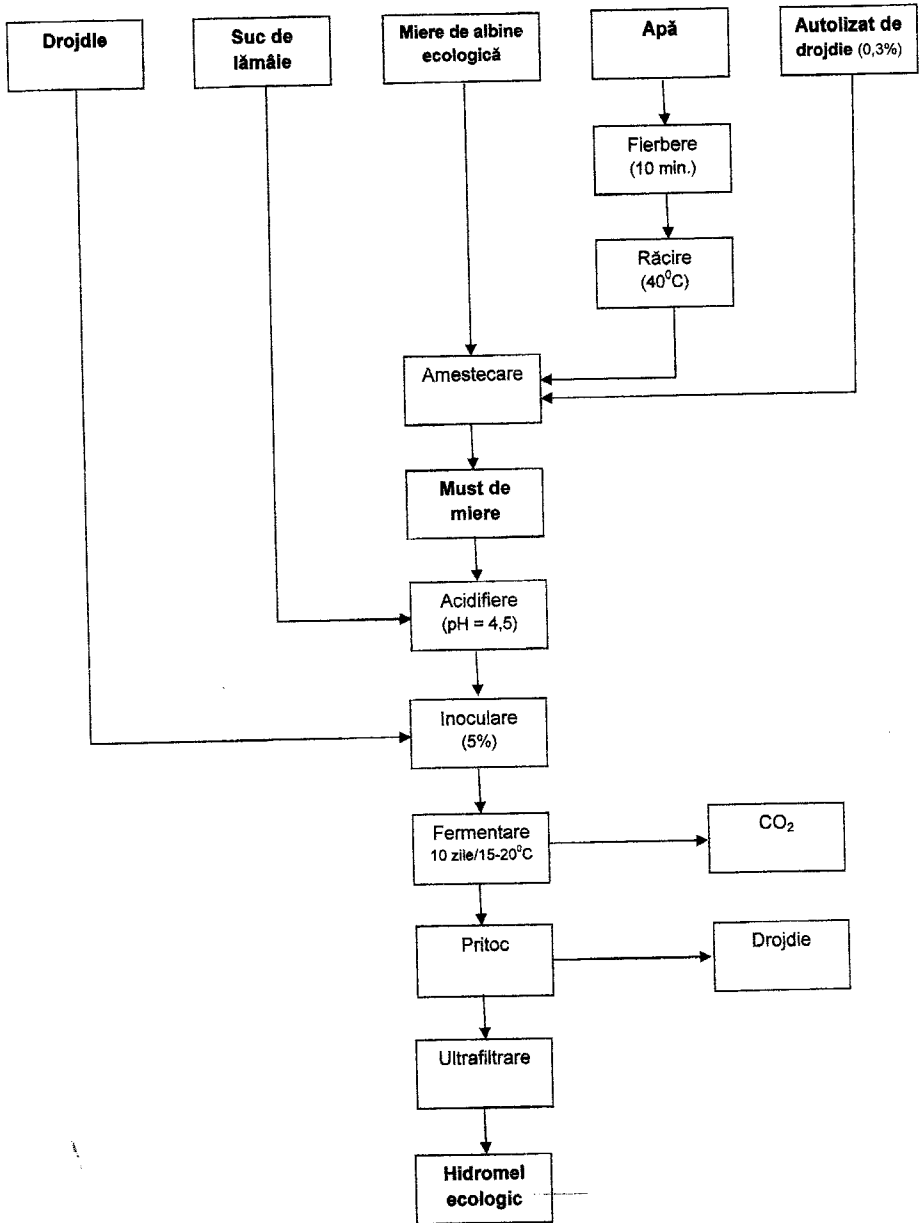


Figura 6.18. Schema tehnologică de preparare a hidromelului ecologic

*Codex Alimentarius* a elaborat Linile directoare pentru producerea, procesarea, marketingul și etichetarea alimentelor ecologice sub forma ghidului GL-32-1999 revizuit în 2003, 2004 și 2007. În UE se aplică reglementările EC 834/2007 privind producția ecologică și etichetarea produselor ecologice care a înlocuit EEC 2092/1991. Conform acestora, deoarece *integritatea* alimentelor ecologice și calitățile sale esențiale trebuie să fie menținute pe tot parcursul lanțului alimentar, prelucrarea produselor ecologice poate să difere considerabil de metodele de producție convenționale. Standardele europene limitează drastic ingredientele care pot fi utilizate în prelucrarea produselor ecologice. Definițiile propuse pentru prelucrarea alimentelor ecologice rămân cu toate acestea destul de *abstracte*, lipsind până în acest moment trăsăturile concrete care să definească caracterul specific al fabricației produselor ecologice. În România legislația în domeniu cuprinde Ord. 688/09.08.2007, Ord. 219/21.03.07, Legea nr. 513/29.12.07, OUG 62/6.09.06 și Ord. 317/190 din 11.03.2006 (**Borda, 2008**).

Regulamentul (CE) Nr. 834/2007 care va intra în vigoare la 1 ianuarie 2009 recomandă că produsele prelucrate ecologic trebuie obținute prin folosirea metodelor care mențin integritatea ecologică și calitățile esențiale ale produsului. Limitarea utilizării aditivilor alimentari, a ingredientelor neecologice cu funcții principale tehnologice și organoleptice și a micronutrienților și auxiliarelor tehnologici astfel încât aceștia să fie utilizați în cea mai mică măsură și doar în cazul unor nevoi tehnologice esențiale sau în scopuri nutriționale specifice (**Georgescu, 2008**)

Trebuie menționat faptul că, în cazul persoanelor la care este necesară limitarea glucidelor sau care au o hipersensibilitate față de miere, consumul acestui produs trebuie făcut însă cu recomandarea medicului.

## 6.6. Concluzii

Rezultatele obținute au permis formularea următoarelor concluzii:

- ✓ prin aplicarea unei etape de screening calitativ și a trei etape de screening cantitativ s-a reușit selecționarea unei tulpini de drojdie din microbiota naturală a mierii de albine care prezintă caractere de osmotoleranță, frigofilie și aloolorezistență;
- ✓ originea botanică a mierii nu influențează procesul fermentativ deoarece toate tulpinile de drojdie folosite în experimentări pot produce declanșarea procesului fermentativ în toate mediile folosite;
- ✓ pornind de la 5 tulpini de drojdie din genul *Saccharomyces cerevisiae* fost selecționată o tulpină de drojdie capabilă să inițieze rapid fermentația alcoolică și să desfășoare procesul fermentativ la temperatură scăzută. Tulpina care poartă în experimentări codul D-5, este o tulpină disponibilă comercial, furnizată pe piață sub formă de drojdie selecționată uscată activă (DSUA) ce conține  $20 - 30 \cdot 10^9$  celule/g, comercializată de către firma Sodinal;
- ✓ tulpina D-5, iar cel mai intens metabolism fermentativ și permite acumularea în mediu a cantității maxime de alcool etilic;
- ✓ au fost stabilite rețetele de obținere a șase medii fermentative pe bază de miere, care să permită obținerea hidromelului ecologic;
- ✓ a fost stabilită schema tehnologică de obținere a hidromelului ecologic.

## 7. CONTROLUL CALITĂȚII HIDROMELULUI ECOLOGIC

### 7.1. Controlul calității senzoriale a hidromelului ecologic

Pentru a aprecia din punct de vedere senzorial hidromelurile ecologice, acestea au fost supuse unei comisii de degustare alcătuită din 40 paneliști neprofesioniști (20 bărbați și 20 femei) cu vârste cuprinse între 20 - 60 ani. Paneliștii au fost chestionați în legătură cu starea de sănătate și obiceiurile alimentare. Rezultatele chestionarului au indicat că toți subiecții sunt sănătoși, sunt nefumători și majoritatea consumă vin de 2 - 4 ori pe lună datorită efectului său benefic asupra sănătății. Cel mai important factor în alegerea vinului a fost prețul sau brand-ul. Paneliștii au fost antrenați astfel încât să fie capabili să descrie exact și precis impresiile cu ajutorul unui vocabular adecvat (Lenco și Bulancea, 2005<sup>a</sup>). Atributele apreciate la hidromelul ecologic și probele de referință utilizate sunt redate în tabelul 7.1.

Tabelul 7.2. Atributele apreciate la hidromelul ecologic

Atribut		Definiție	Proba de referință
Aspectul		Culoarea și gradul de limpiditate în lumină naturală	Scara de culoare (bicromat de potasiu 0,1-10%)
Gustul	Dulce	Gustul fundamental al zaharozei	Soluție zaharoză 10%
	Acru	Gustul fundamental al acidului citric	Soluție acid citric 5%
	Chimică	Gustul asociat cu componente chimice	Fenii acetilenă
	Fermentată	Gustul asociat laptelui acidifiat sau descompunerii fructelor	Lapte acru
	Ceros	Gustul asociat cu ceară	Fagure de miere
Aroma	Florală	Aromă asociată florilor	Petale de trandafir, flori de salcâm, flori de tei
	Fructoasă	Aromă asociată cu fructe ca citrice și mere	Felii de portocale și mere
	Vanilie	Aromă asociată cu vanilia	Zahăr vanilinat dizolvat în vin
	Acidă	Aromă asociată cu componente acide	Oțet
Mouthfeel		Vâscozitatea percepută în cavitatea bucală	Apă (vâscozitate mică), sos de roșii (vâscozitate mare)
		Astringent (senzația asociată cu cea de contracție și pișcătură pe limbă)	Taninuri, suc de struguri, banane proaspete
Aftertaste		Senzația care rămâne în cavitatea bucală după 30 secunde până la un minut (asociată cu fructe)	Măr, grapefruit, banană, ananas

Rezultatele obținute în urma analizei senzoriale sunt reprezentate grafic în figurile 7.1. - 7.6. Pentru a stabili dacă între atributele senzoriale analizate și între paneliști există diferențe semnificative am utilizat metoda statistică ANOVA unifactorială.

Aprecierea gustului hidromelului ecologic este reprezentată grafic în figura 7.1. Se observă că nu este apreciat gustul dulce al variantelor HT eco (3,05) și HS eco (3,22) și nici gustul acru al variantei HM eco (3,05). Varianta HM eco obține punctajul maxim (4,95).

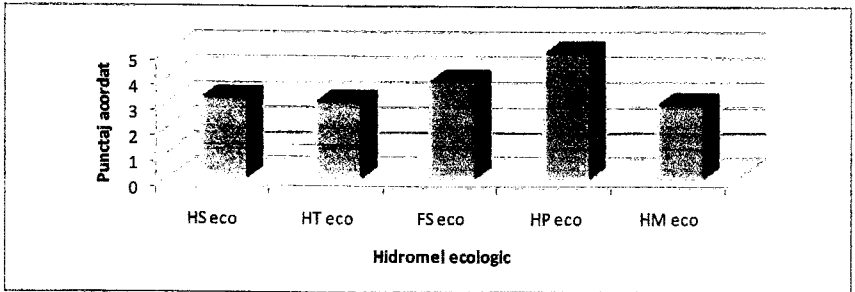


Figura 7.1. Aprecierea gustului hidromelului ecologic

Aprecierea aromei hidromelului ecologic este reprezentată grafic în figura 7.2. Se observă că nu este apreciată aroma ceroasă a variantei HM eco (2,70) și nici cea florală a variantelor HT eco (3,07) și HS eco (3,17). Cea mai apreciată a fost aroma fructuoasă a variantei HP eco (4,95).

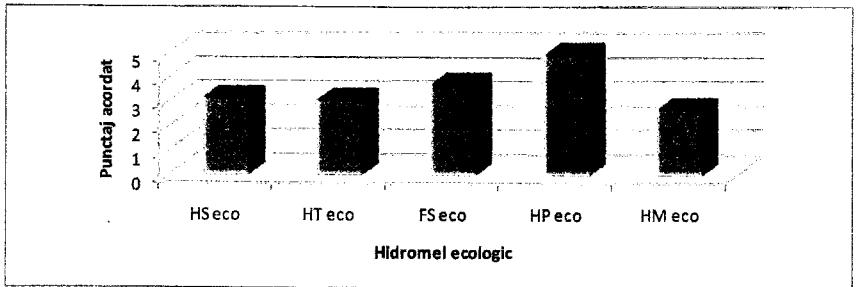


Figura 7.2. Aprecierea aromei hidromelului ecologic

Aprecierea aftertaste-ului hidromelului ecologic este reprezentată grafic în figura 7.3.

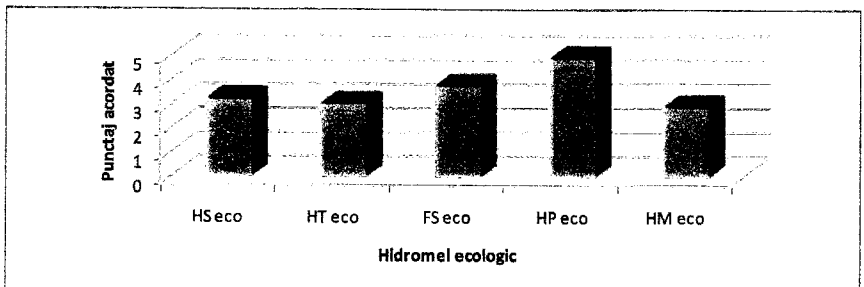


Figura 7.3. Aprecierea aftertaste-ului hidromelului ecologic

Analizând figura 7.3. se observă că există diferențe în ce privește aftertaste-ul. Astfel varianta HP eco obține punctajul maxim (4,95) în timp ce varianta HM eco obține punctajul minim (2,92) deoarece nu este apreciată senzația prea puternică de grapefruit.

Aprecierea mouthfeel-ului hidromelului ecologic este reprezentată grafic în figura 7.4. Se observă că nu este apreciat mouthfeel-ul astringent al variantei HM eco (2,77) dar este apreciat cel al variantei HP eco (4,95).

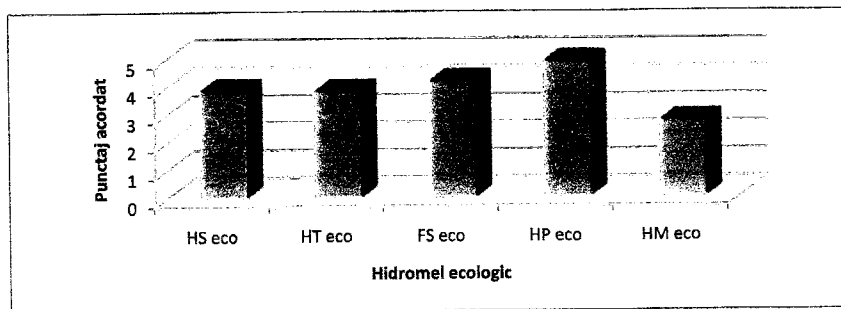


Figura 7.4. Aprecierea mouthfeel-ului hidromelului ecologic

Aprecierea limpidității hidromelului ecologic este reprezentată grafic în figura 7.5. Din analiza acestei figuri se observă că este apreciată limpiditatea tuturor probelor, varianta HP eco obținând punctajul maxim (4,95) și varianta HM eco obținând punctajul minim (4,25).

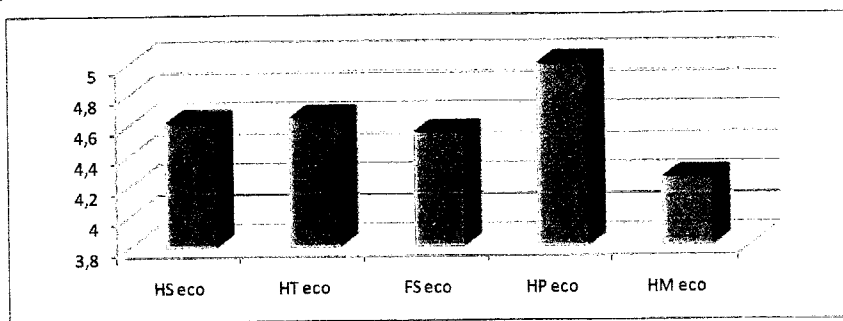


Figura 7.5. Aprecierea limpidității hidromelului ecologic

Aprecierea culorii hidromelului ecologic este reprezentată grafic în figura 7.6. Se remarcă faptul că nu este apreciată culoarea foarte închisă a variantei HM eco (2,20) și culoarea foarte deschisă a variantei HS eco (2,72) comparativ cu varianta HP eco care a reușit să acumuleze cel mai mare punctaj (4,97).

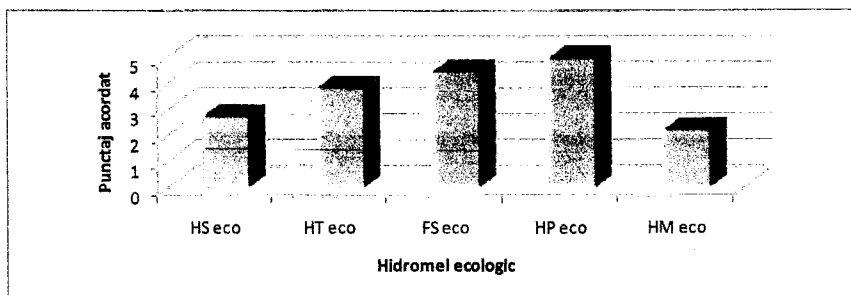


Figura 7.6. Aprecierea culorii hidromelului ecologic

Conform datelor redade în tabelul 7.15. se poate observa că între paneliști există diferențe semnificative. Utilizarea acestei metode a permis acceptarea ipotezei statistice alternative  $H_1$ , deoarece raportul Fisher calculat  $F(10,236341) > F_{crit}(2,620654)$ .

Tabelul 7.15. Stabilirea diferențelor între paneliști la analiza comparativă a tuturor sortimentelor de hidromel ecologic

ANOVA						
Sursă de variație	Variația	df	Varianță	F	P-value	$F_{crit}$
Intergrupe	4,294354	5	0,858871	10,236341	0,323143	2,620654
Intragrupa	16,6725	24	0,694688			
Total	20,96685	29				

## 7.2. Studiul stabilității microbiologice

Controlul microbiologic al vinurilor este rar practicat (Tofan, 2002).

Stabilitatea hidromelului ecologic a fost estimată prin teste de păstrare în aer și la termostat efectuate la intervale de o lună. După 14 luni de depozitare s-a înregistrat organoleptic oțetirea probelor de hidromel ecologic și apariția tulburărilor fapt ce indică o multiplicare a microorganismelor.

În urma analizei chimice a probelor s-a înregistrat o creștere de 5 - 7 ori a conținutului de acid acetic. Astfel valoarea acidității volatile reprezintă un indiciu al stării de sănătate a hidromelului.

Pe baza rezultatelor obținute recomand ca păstrarea hidromelului ecologic să se facă la temperatura de 15 - 20°C, iar perioada maximă acceptată pentru consum să fie de 12 luni de la fabricare.

## 7.3. Controlul calității fizico-chimice a hidromelului ecologic

Hidromelurile ecologice obținute au fost analizate fizico-chimic la Laboratorul central pentru controlul calității și igienei vinului Valea Calugarească. Metodele de analiză utilizate au fost metodele standardizate, recomandate de legislația calității din România, armonizate cu recomandările OIV. Aprecierea caracteristicilor fizico-chimice a probelor este prezentată în tabelul 7.9.



Tabelul 7.9. Proprietăți fizico-chimice ale hidromelurilor ecoogice analizate

Caracteristica	Proba <sup>a</sup>					
	HS eco	HT eco	HFS eco	HP eco	HM eco	M <sup>b</sup>
Concentrața alcoolică la 20°C, % vol	10,62	10,50	10,73	10,92	10,66	13,00
Zaharuri reducătoare, g/l	62,01	65,02	59,01	45,12	50,12	85,16
Aciditate totală, g/l acid tartric	4,33	4,56	4,41	4,79	4,82	5,61
Aciditate volatilă, g/l acid acetic	0,66	0,58	0,74	0,51	0,79	0,84
Extract sec total, g/l	24,54	24,67	24,21	25,06	24,82	26
Dioxid de sulf total, mg/l	56,22	55,36	53,39	51,83	54,55	178
Dioxid de sulf liber, mg/l	16,18	17,12	16,02	15,99	16,22	44,56
Acid acetic, g/l	0,24	0,32	0,27	0,19	0,30	0,67
Acid malic, g/l	0,12	0,22	0,17	0,19	0,20	3,61
Acid lactic, g/l	0,51	0,56	0,52	0,59	0,50	1,22
Acid tartric, g/l	0,08	0,02	0,06	0,05	0,10	4,69
Acid citric, g/l	0,46	0,48	0,50	0,44	0,49	0,40
Acid succinic, g/l	0,18	0,20	0,16	0,22	0,26	0,45
Glicerol, g/l	0,09	0,08	0,07	0,11	0,02	0,18

<sup>a</sup> - media a 2 probe la 12 luni de la preparare;

M<sup>b</sup> - martor (hidromelul comercial *Královská Medovina Staroslovenska* din Slovenia)

#### 7.4. Concluzii

Având în vedere importanța însușirilor senzoriale în acceptarea unei băuturi în urma analizei senzoriale a probelor de hidromel ecologic se poate concluziona că:

- ✓ cel mai apreciat sortiment a fost hidromelul ecologic din miere polifloră;
- ✓ cel mai puțin apreciat sortiment a fost hidromelul ecologic din miere de mană.

Prin intermediul testelor de păstrare în aer și la termostat se pot remarca următoarele concluzii:

- ✓ hidromelul ecologic poate fi considerat stabil din punct de vedere microbiologic timp de 12 luni de la fabricare.

Rezultatele obținute în urma analizei fizico-chimice a hidromelului ecologic au permis formularea următoarelor concluzii:

- ✓ pentru toate probele de hidromel ecologic principalele caracteristici fizico-chimice (concentrața alcoolică, zaharuri reducătoare, aciditate totală, aciditate volatilă, extract sec total, dioxid de sulf total, dioxid de sulf liber) sunt similare cu cele ale hidromelului comercial și sunt în conformitate cu cerințele standardelor române pentru vin.

## **8. CERCETĂRI PRIVIND PROPRIETĂȚILE FUNCȚIONALE ALE HIDROMELULUI ECOLOGIC**

### **8.1. Cercetări privind conținutul de microelemente în hidromelul ecologic**

Comparația dintre conținutul de microelemente în mierea ecologică și hidromelul ecologic obținut din ea este reprezentată grafic în figurile 8.1. – 8.5.

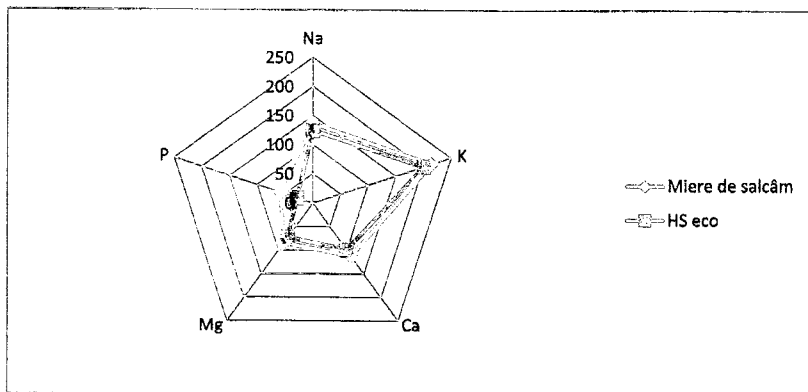


Figura. 8.1. Comparația conținutului de microelemente între mierea de salcâm ecologică și hidromelul ecologic HS eco

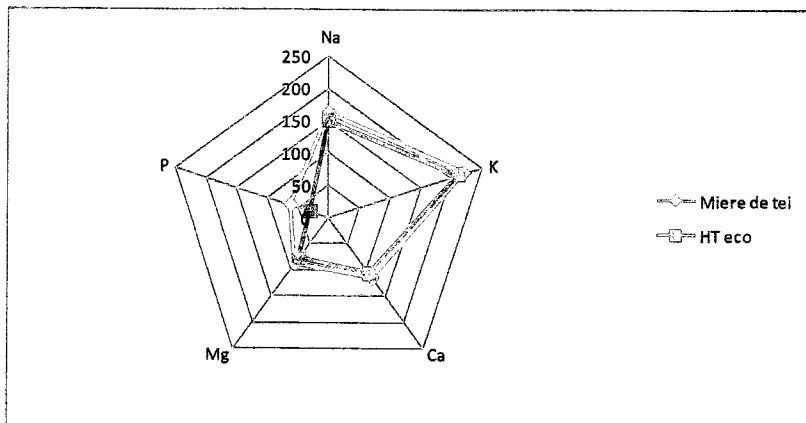


Figura. 8.2. Comparația conținutului de microelemente între mierea de tei ecologică și hidromelul ecologic HT eco

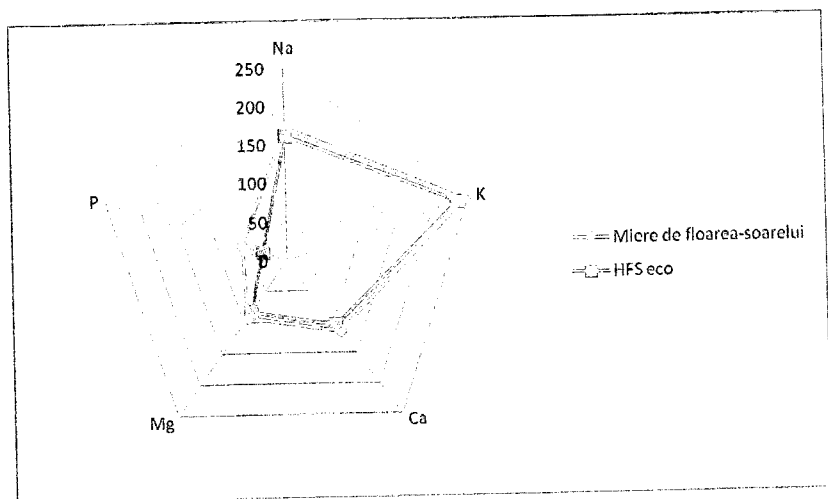


Figura. 8.3. Comparația conținutului de microelemente în mierea de floarea-soarelui ecologică și hidromelul ecologic HFS eco

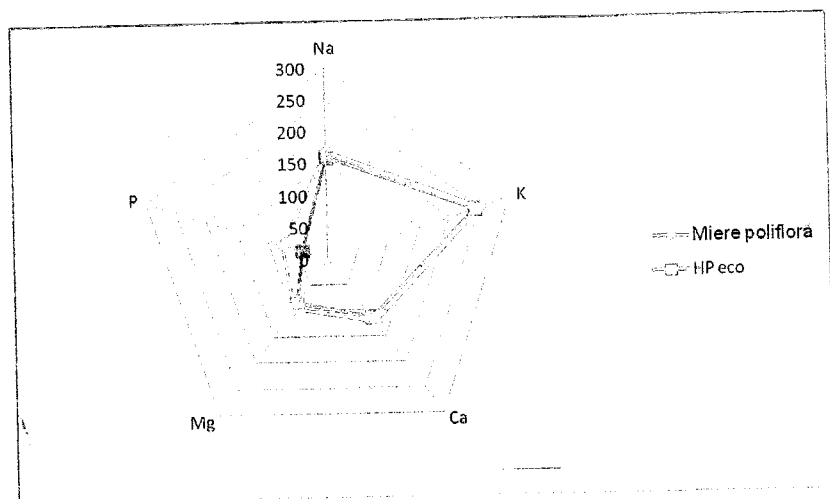


Figura. 8.4. Comparația conținutului de microelemente în mierea polifloră ecologică și hidromelul ecologic HP eco

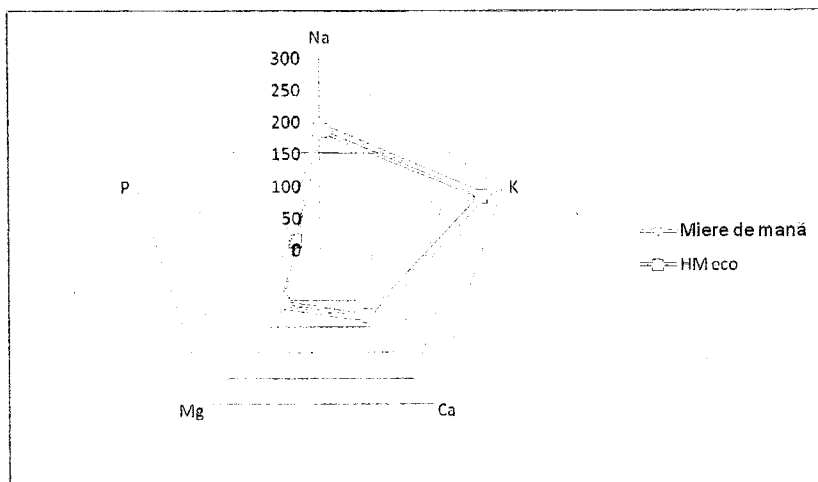


Figura. 8.5. Comparația conținutului de microelemente în mierea de mană ecologică și hidromelul ecologic HM eco

Din analiza comparativă a figurilor 8.1. - 8.5. rezultă că în toate probele de hidromel ecologic potasiu a fost cel mai abundent element. El se găsește în cantitate mai mică decât în mierea din care provine. Fosforul s-a găsit în cantitatea cea mai mică în toate probele de hidromel ecologic. Conținutul redus de fosfor în produsele finite este datorat consumului acestui microelement de către drojzii în timpul fermentației alcoolice. În toate probele de hidromel ecologic conținutul de sodiu a fost mai scăzut decât cel de potasiu, conținutul de calciu a fost mai scăzut decât cel de sodiu și conținutul de magneziu a fost mai scăzut decât cel de calciu. Conținutul de Na, Ca și Mg în toate probele de hidromel ecologic a fost mai mic decât în mierea din care provine (**Lenco și Bulancea, 2006<sup>a</sup>**).

Conținutul de microelemente reprezintă amprenta ce asigură calitatea și proprietățile hidromelului ecologic. Conținutul crescut în potasiu, sodiu, calciu și magneziu face ca hidromelul ecologic să prezinte un potențial terapeutic deosebit în diverse tulburări cauzate de stresul oxidativ (reacții inflamatorii, ateroscleroză, complicații ale diabetului zaharat, îmbătrânire precoce). Rezultatele privind conținutul în microelemente din hidromelul ecologic obținut nu au putut fi comparate deoarece nu au fost găsite date similare în literatură. Rezultatele obținute contribuie la fundamentarea științifică modernă a indicațiilor terapeutice a produselor cercetate.

Este necesară îmbunătățirea informațiilor analitice prin studierea a numeroase loturi de hidromel din diferite regiuni pentru a demonstra influența compoziției solului asupra calității hidromelului ecologic.

## 8.2. Cercetări privind capacitatea antioxidantă a hidromelului ecologic

În figurile 8.6. - 8.10 este redată activitatea antioxidantă exprimată ca și procentaj al descreșterii DPPH' în probele de miere, probele de hidromel ecologic corespunzătoare și în probele martor de vin alb (*Galbenă de Odobești*, 2005) și vin roșu (*Cabernet Sauvignon*, 2005). În cazul probei martor de hidromel comercial *Královská Medovina Staroslovenska* activitatea antioxidantă exprimată ca și procentaj al descreșterii DPPH' a fost nulă, deci produsul nu este ecologic ci a fost obținut prin metoda fierberii.

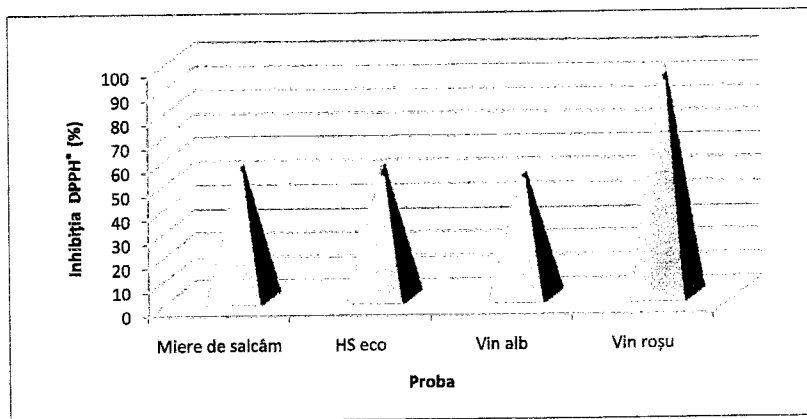


Figura. 8.6. Variația activității antiradical în mierea de salcâm ecologică și hidromelul ecologic

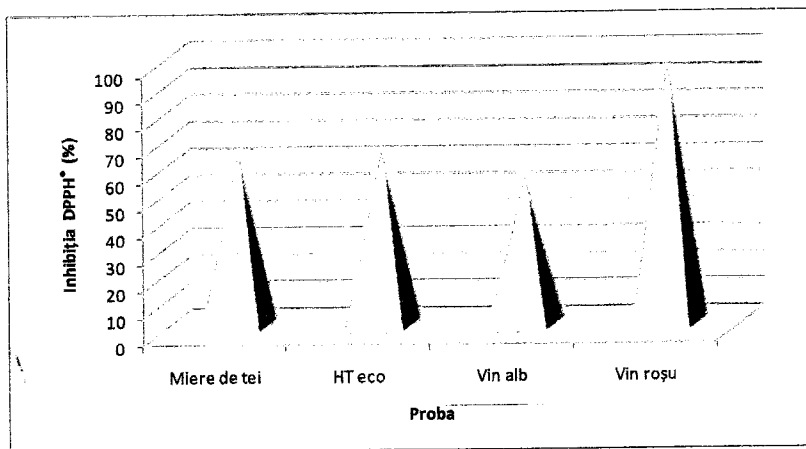


Figura. 8.7. Variația activității antiradical în mierea de tei ecologică și hidromelul ecologic

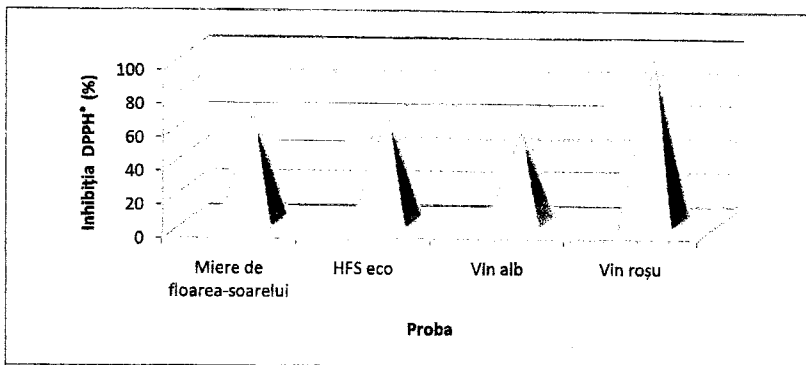


Figura. 8.8. Variația activității antiradical în mierea de floarea-soarelui ecologică și hidromelul ecologic

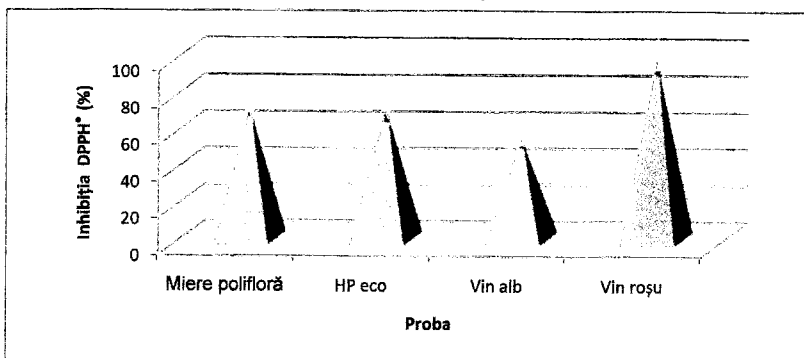


Figura. 8.9. Variația activității antiradical în mierea polifloră ecologică și hidromelul ecologic

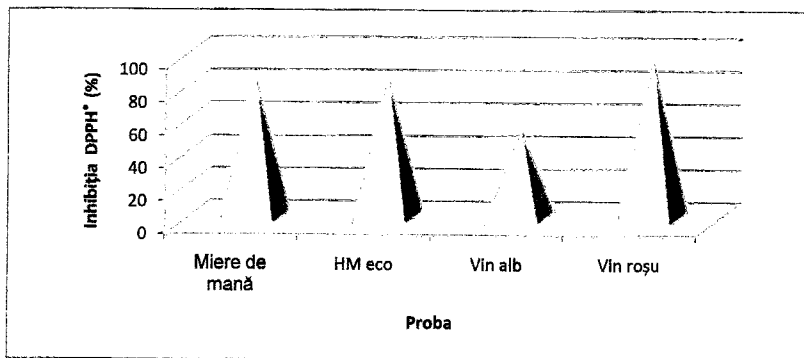


Figura. 8.10. Variația activității antiradical în mierea de mană ecologică și hidromelul ecologic

Toate probele de hidromel ecologic au activitatea antiradical foarte apropiată de sortimentul de miere ecologică din care provin și mai ridicată decât proba martor de vin alb.

În timp ce proba martor de vin roșu posedă o inhibiție aproape completă proba HS eco prezintă procentul de inhibiție cel mai scăzut, iar proba HM eco prezintă procentul de inhibiție cel mai ridicat comparativ cu celelalte sortimente de hidromel ecologic. Proba HM eco a fost obținută din miere închisă la culoare. Concentrația în acizi, proteine, minerale și enzime este relativ mai mare în mierea închisă la culoare cum este mierea de mană, fapt ce explică parțial proprietățile ei antioxidante.

În urma determinărilor nu s-a putut stabili nicio corelație între activitatea antioxidantă și variabilele analizei fizico-chimice a hidromelurilor (concentrația alcoolică, aciditate totală, concentrația de SO<sub>2</sub> etc).

Activitatea antioxidantă a produselor alimentare poate fi influențată de factori multipli, această activitate putând fi intensificată sau mascată. Aceste efecte au loc datorită interacțiunilor care pot să apară între compușii produsului sau între aceștia și alte substanțe (Costin și Segal, 1999).

În urma acestor experimente hidromelul poate fi inclus în categoria alimentelor sănătoase deoarece poate diminua frecvența de apariție a anumitor boli legate de agresiunea oxidantă. Alimentele sănătoase sunt definite ca „toate produsele și băuturile alimentare care sunt considerate de consumatori ca fiind benefice sau avantajoase pentru sănătate” (Banu, 2005).

Rezultatele privind activitatea antioxidantă totală a hidromelului ecologic obținut nu au putut fi comparate deoarece nu au fost găsite date similare în literatură.

Deoarece capacitatea antioxidantă a mierii scade în timpul procesării și depozitării îndelungate (Wang, 2004), recomand ca la prepararea hidromelului ecologic să se utilizeze numai miere ecologică proaspătă (Lenco și Bulancea, 2006<sup>b</sup>).

### 8.3. Concluzii

Rezultatele prezentate în acest capitol au permis formularea următoarelor concluzii:

- ✓ aceste cercetări permit caracterizarea specifică inițială a impactului fermentației în timpul procesării mierii în hidromel, în care componenții chimici specifici din miere pot avea o mare influență asupra calității hidromelului ecologic;
- ✓ hidromelul ecologic poate juca un rol important de protecție împotriva stresului oxidativ;
- ✓ s-a demonstrat că activitatea antioxidantă a mierii poate fi extinsă prin intermediul fermentației în hidromel, rezultând un produs a cărui capacitatea antioxidantă este comparabilă cu cea a vinului alb și mierii ecologice din care s-a preparat;
- ✓ conținutul de microelemente și capacitatea antioxidantă totală pot fi utilizați ca markeri în identificarea și trasabilitatea hidromelului ecologic.

## **9. CONCLUZII FINALE**

Rezultatele experimentale obținute au permis formularea următoarelor concluzii finale:

- ✓ Mierea de albine utilizată ca materie primă la obținerea hidromelului ecologic a fost ecologică deoarece prin evaluarea parametrilor de calitate organoleptică, microbiologică și fizico-chimică nu au fost depășite limitele impuse de legislația în vigoare. În plus cele 10 probe de miere care conțineau reziduuri de streptomycină au fost eliminate din lucru, iar reziduurile de cadmiu, plumb, cupru, zinc și fier identificate au fost sub limita maximă admisă în miere.
- ✓ Frecvența reziduurilor de antibiotice și metale grele în mierea provenind de la apicultorii din Moldova este scăzută. Apicultorii trebuie să ia măsuri de prevenire a contaminării produselor stupului și în bazinul melifer Moldova trebuie dezvoltat și aplicat un sistem HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Points*) pentru controlul surselor de contaminare.
- ✓ Cu ajutorul metodei ANOVA unifactorială s-a confirmat statistic că între toți parametrii fizico-chimici cu excepția conținutului de HMF există diferențe semnificative;
- ✓ Faptul că pentru exprimarea rezultatelor tuturor parametrilor fizico-chimici s-au folosit limite de variație, explică variabilitatea compoziției chimice a mierii, determinată la rândul ei de o multitudine de factori. În privința caracteristicilor fizico-chimice ale probelor de miere investigate, analiza lor comparativă a relevat diferențele existente între acestea, de la o localitate la alta, de la un an la altul în cadrul probelor ce aparțineau aceluiași sortiment, dar și între cele cinci sortimente de miere luate în analiză, datorită faptului că probele au fost prelevate de la stupine diferite și datorită factorilor care au concurat la variabilitatea compoziției chimice a probelor de miere supuse cercetărilor (specfici mediului înconjurător, plantelor melifere și familiei de albine).
- ✓ Din punct de vedere senzorial mierea analizată poate fi inclusă în calitatea I-a.
- ✓ Din punct de vedere microbiologic mierea analizată conține un număr foarte mic de drojdii osmofile.
- ✓ S-a reușit selecționarea unei tulpini de drojdie din microbiota naturală a mierii de albine care prezintă caractere de osmotoleranță, frigofilie și aaloolorezistență prin aplicarea unei etape de screening cantitativ și a trei etape de screening calitativ;
- ✓ Pornind de la 5 tulpini de drojdie din genul *Saccharomyces cerevisiae* fost selecționată tulpina de drojdie cu codul D-5 care este capabilă să inițieze rapid fermentația alcoolică și să desfășoare procesul fermentativ la temperatura scăzută. Ea are cel mai intens metabolism fermentativ și permite acumularea în mediu a cantității maxime de alcool etilic. Aceasta tulpină este comercializată de către firma Sodinal sub formă de drojdie selecționată uscată activă .



- ✓ În urma cercetărilor de optimizare a compoziției mediilor fermentative pe bază de miere se recomandă adaosul de autolizat de drojdie în proporție de 0,3% drept sursă de azot organic.
- ✓ A fost stabilită schema tehnologică de obținere a hidromelului ecologic. Pentru prevenirea contaminării hidromelului ecologic se recomandă ultrafiltrarea sa înainte de fermentare.
- ✓ Prin aplicarea metodei statistice ANOVA unifactorială s-a confirmat faptul că între atributele senzoriale analizate (culoare, limpiditate, gust, aromă, mouthfeel și aftertaste) dar și între paneliști există diferențe semnificative.
- ✓ Principalele caracteristici fizico-chimice (concentrația alcoolică, zaharuri reducătoare, aciditate totală, aciditate volatilă, extract sec total, dioxid de sulf total, dioxid de sulf liber) ale hidromelului ecologic sunt similare cu cele ale hidromelului comercial comercializat în Slovenia și sunt în conformitate cu cerințele standardelor române pentru vin.
- ✓ Conținutul de microelemente reprezintă amprenta ce asigură calitatea și proprietățile hidromelului ecologic. Conținutul crescut în potasiu, sodiu, calciu și magneziu face ca hidromelul ecologic să prezinte un potențial terapeutic deosebit în diverse tulburări cauzate de stresul oxidativ (reacții inflamatorii, ateroscleroză, complicații ale diabetului zaharat, îmbătrânire precoce). Este necesară îmbunătățirea informațiilor analitice prin studierea a numeroase loturi de hidromel din diferite regiuni pentru a demonstra influența compoziției solului asupra calității hidromelului ecologic.
- ✓ S-a demonstrat că activitatea antioxidantă a mierii poate fi extinsă prin intermediul fermentației în hidromel ecologic, rezultând un produs a cărui capacitatea antioxidantă este comparabilă cu cea a vinului alb și a mierii ecologice din care este fabricat. Nu s-a putut stabili nicio corelație între activitatea antioxidantă și variabilele analizei fizico-chimice. S-au înregistrat diferențe semnificative ale activității antioxidante exprimată ca și procentaj al descreșterii DPPH' a hidromelului ecologic datorită tipului de miere.
- ✓ Datorită capacității antioxidante mari și conținutului ridicat de microelemente hidromelul poate fi inclus în categoria alimentelor sănătoase și poate fi utilizat ca ingredient de bază într-o serie de vinuri și oțeturi medicinale.
- ✓ Datorită virtuților sale terapeutice, șansa de a se transforma dintr-un remediu empiric într-un medicament, depinde foarte mult de supunerea sa la toate celelalte etape de cercetare și control: toxicologic, preclinic și clinic. Pentru determinarea semnificației clinice a celor raportate sunt necesare studii viitoare.
- ✓ Hidromelul ecologic poate fi considerat stabil din punct de vedere microbiologic timp de 12 luni de la fabricare.
- ✓ În cazul persoanelor la care este necesară limitarea glucidelor sau care au o hipersensibilitate față de miere sau polen, consumul acestui produs trebuie făcut cu recomandarea medicului.

## **10. CONTRIBUȚII PERSONALE**

Cercetările efectuate, în concordanță cu obiectivele științifice ale tezei de doctorat, se caracterizează printr-o serie de elemente originale, și anume:

- ✓ Prin analiza mierii de albine rezultatele obținute contribuie la o mai bună cunoaștere a bazinului melifer Moldova și a caracteristicilor organoleptice, microbiologice și fizico-chimice ale mierii de albine ecologice recoltată din această parte a țării. În același timp, parametrii determinați constituie criterii concrete pentru verificarea autenticității mierii și permit eliminarea posibilităților de depreciere a calității acestui produs apicol prin tratament termic neadecvat sau prin adaosul unor substanțe pentru corectarea acidității, consistenței, aspectului, gustului etc sau aplicarea unor tratamente fără aviz medical și/sau poluarea cu metale grele.
- ✓ Cercetările efectuate permit caracterizarea specifică a impactului fermentației alcoolice în timpul procesării mierii în hidromel, în care componenții chimici specifici din mierea ecologică și procesarea nontermică a acesteia au o mare influență asupra calității hidromelului ecologic.
- ✓ Pentru prima dată la noi în țară:
  - s-a elaborat o tehnologie nontermică de obținere a hidromelului ecologic utilizând un număr minim de nutrienți organici;
  - s-a evaluat calitatea organoleptică, microbiologică și fizico-chimică a hidromelului ecologic;
  - s-a efectuat studiul conținutului de microelemente și a capacității antioxidante totale ca potențiali indicatori intrinseci ce pot fi utilizați ca markeri în identificarea și trasabilitatea hidromelului ecologic;
  - s-a realizat studiul conținutului de microelemente ce reprezintă amprenta mierii de albine ecologice produsă în zona bioapicolă Moldova și s-a efectuat un studiu comparativ a conținutului de microelemente din mierea ecologică și hidromelul ecologic;
  - s-a realizat studiul activității antioxidante totale din mierea ecologică produsă în zona bioapicolă Moldova și s-a efectuat un studiu comparativ a activității antioxidante totale din mierea ecologică și hidromelul ecologic prin metoda DPPH'.
- ✓ S-a demonstrat că activitatea antioxidantă a mierii poate fi extinsă prin intermediul fermentației în hidromel ecologic, rezultând un produs a cărui capacitatea antioxidantă este comparabilă cu cea a vinului alb și a mierii ecologice din care s-a preparat atunci când în timpul procesării mierea de albine nu este supusă niciunui tratament termic.
- ✓ S-a demonstrat că hidromelul ecologic poate avea efecte benefice asupra sănătății și poate fi inclus în categoria alimentelor sănătoase.

### Lista lucrărilor publicate

1. Lenco, G., 2003. Caracteristicile de calitate ale mierii de albine utilizată în procese de valorificare biotehnologică. *Știința și ingineria alimentelor. Buletinul AGIR*, VIII, (3), p. 56 - 59, ISSN 1224-7928.
2. Lenco, G. și Bulancea, M., 2004. Influența indicelui amilazic în aprecierea calității mierii de albine. *Lucrările conferinței științifice naționale cu participare internațională Cercetarea științifică în condițiile integrării europene*, Editura AGIR, București, ISBN 973-8466-50-4, (CD).
3. Lenco, G. și Bulancea, M., 2004. Studiului efectului antimicrobian al mierii de salcam. *Lucrările conferinței științifice naționale cu participare internațională Cercetarea științifică în condițiile integrării europene*, Editura AGIR, București, ISBN 973-8466-50-4, (CD).
4. Lenco, G. and Bulancea, M., 2005. Sensory profiling of mead by descriptive analysis. *Papers of the International Symposium Euro-aliment*, Editura Academica, p. 20 - 22, ISBN 973-8316-87-1.
5. Lenco, G. and Bulancea, M., 2005. Biotechnological use of honey. Jubilee scientific conference *State-of-the-art and problems of agricultural science and education of the Agricultural University - Plovdiv*, October 19-20, Bulgaria, vol. 50, p. 397 - 402.
6. Lenco, G. and Bulancea, M., 2006. Characterisation of meads by their physico-chemical properties and mineral contents. National Conference on Applied Physics, june 9 - 10, 2006. Editura Fundației Universitare *Dunărea de Jos*, Galați, p. 27 (abstract) , ISSN 1221-4531.
7. Lenco, G. and Bulancea, M., 2006<sup>b</sup>. Effect of heat treatment on antioxidant capacity of mead. National Conference on Applied Physics, june 9 - 10, 2006. Editura Fundației Universitare *Dunărea de Jos*, Galați, p. 27 (abstract) , ISSN 1221-4531.
8. Lenco, G. and Bulancea, M., 2007. *Detection of Antibiotics in Honey with Charm II Test. Papers of the International Symposium Euro-aliment*, Galati University Press, p. 173 - 177, ISBN 1843-5114.

