



Universitatea Națională de Știință și Tehnologie
POLITEHNICA București
Școala Doctorală Inginerie Chimică și
Biotehnologii
Domeniul: Inginerie Chimică



REZUMAT TEZĂ

**METODE CHEMOMETRICE UTILIZATE PENTRU
EVALUAREA CALITĂȚII PRODUSELOR ALIMENTARE
ȘI EFICIENȚEI EXTRAȚIEI COMPUȘILOR
BIOACTIVI DIN PLANTE**

Autorul tezei: Ing. Andreea Cristina DONISE (NICULESCU)

Conducătorul tezei de doctorat: Prof. dr. ing. Oana Cristina PÂRVULESCU

2025

CUPRINS

MULȚUMIRI.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
REZUMAT	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
ABSTRACT.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
LISTĂ TABELE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
LISTĂ FIGURI.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
SCOPUL ȘI STRUCTURA TEZEI.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1. STUDIUL CRITIC AL DATELOR DE LITERATURĂ.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1. METODE CHEMOMETRICE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.1.1. Metode nesupervizate.....	Error! Bookmark not defined.
1.1.1.1. PCA.....	Error! Bookmark not defined.
1.1.1.2. CA.....	Error! Bookmark not defined.
1.1.2. Metode supervizate.....	Error! Bookmark not defined.
1.1.2.1. LDA	Error! Bookmark not defined.
1.1.2.2. PLS.....	Error! Bookmark not defined.
1.1.2.3. MLR.....	Error! Bookmark not defined.
1.2. EVALUAREA CALITĂȚII MIERII DE ALBINE...	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.2.1. Proprietăți fizico-chimice ale mierii	Error! Bookmark not defined.
1.2.2. Beneficiile mierii	Error! Bookmark not defined.
1.3. EXTRACȚIA COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN PLANTELE COMESTIBILE	
.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
1.3.2. Compuși bioactivi în plantele comestibile.....	Error! Bookmark not defined.
1.3.3. Factori și variabile de răspuns în procesul de extracție	Error! Bookmark not defined.
1.3.4. Plante comestibile utilizate ca materie primă în procesele de extracție efectuate în	
capitolul 2 (CONTRIBUȚII ORIGINALE)	Error! Bookmark not defined.
1.3.4.1. Albăstrele (<i>Centaurea cyanus</i> L.)	Error! Bookmark not defined.
1.3.4.2. Busuioc (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	Error! Bookmark not defined.
1.3.4.3. Cicoare (<i>Cichorium intybus</i> L.)	Error! Bookmark not defined.
1.3.4.4. Gălbenele (<i>Calendula officinalis</i> L.).....	Error! Bookmark not defined.
1.3.4.5. Hibiscus (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.).....	Error! Bookmark not defined.
1.3.4.6. Mușetel (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)	Error! Bookmark not defined.
1.3.4.7. Salvie (<i>Salvia officinalis</i> L.)	Error! Bookmark not defined.
2. CONTRIBUȚII ORIGINALE.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

2.1. CARACTERIZAREA ȘI CLASIFICAREA MIERII DE SALCÂM ROMÂNEȘTI PE BAZA PARAMETRILOR FIZICO-CHIMICI ȘI A CHEMOMETRIEI.....	ERROR!
BOOKMARK NOT DEFINED.	
2.1.1. Materiale și metode	6
2.1.1.1. Probele de miere	6
2.1.1.2. Analiza fizico-chimică	7
2.1.1.3. Analiza statistică	8
2.1.2. Rezultate și discuții.....	8
2.1.2.1. Rezultate experimentale.....	8
2.1.2.2. Analiza statistică	11
2.1.3. Concluzii.....	17
2.2. EFECTUL SOLVENTULUI DE EXTRAȚIE ASUPRA COMPOZIȚIEI ȘI ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE A EXTRACTELOR DE PLANTE COMESTIBILE.	19
2.2.1. Efectul solventului de extracție asupra compoziției și activității antioxidante a extractelor de busuioc (<i>O. basilicum</i>), cicoare (<i>C. intybus</i>) și salvie (<i>S. officinalis</i>).....	19
2.2.1.1. Materiale și metode.....	19
2.2.1.1.1. Material vegetal.....	19
2.2.1.1.2. Reactivi.....	19
2.2.1.1.3. Procedura de extracție	19
2.2.1.1.4. Determinarea conținutului total de fenoli (TPC) al extractelor.....	19
2.2.1.1.5. Determinarea conținutului total de flavonoide (TFC) al extractelor.....	20
2.2.1.1.6. Evaluarea activității antioxidante a extractelor	20
2.2.1.1.7. Prelucrarea datelor.....	20
2.2.1.2. Rezultate și discuții	20
2.2.1.3. Concluzii	25
2.2.2. Efectul solventului de extracție asupra compoziției extractelor de albăstrele (<i>C. cyanus</i>), gălbenele (<i>C. officinalis</i>), hibiscus (<i>H. sabdariffa</i>) și mușetel (<i>M. chamomilla</i>)	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.1. Materiale și metode.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.1.1. Material vegetal.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.1.2. Reactivi.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.1.3. Procedura de extracție	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.1.4. Determinarea conținutului total de fenoli (TPC) al extractelor.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.1.5. Determinarea conținutului total de flavonoide (TFC) al extractelor.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.1.6. Prelucrarea datelor.....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.2. Rezultate și discuții	Error! Bookmark not defined.
2.2.2.3. Concluzii	Error! Bookmark not defined.
3. CONCLUZII GENERALE ȘI PERSPECTIVE DE CERCETARE.....	26
LISTA DE LUCRĂRI.....	29
BIBLIOGRAFIE.....	30

ANEXĂ ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

REZUMAT

În conformitate cu titlul, teza de doctorat a avut ca scop evaluarea calității produselor alimentare și eficienței extracției compușilor bioactivi din plante utilizând metode chemometrice.

Teza este structurată în 2 părți principale, *i.e.*, **1. STUDIU CRITIC AL DATELOR DE LITERATURĂ**, conține informații relevante din literatură referitoare la metodele chemometrice, evaluarea calității mierii de albine și extracția compușilor bioactivi din plantele comestibile, și **2. CONTRIBUȚII ORIGINALE**, în care sunt prezentate rezultatele obținute în cercetările proprii.

În capitolul **2.1. Caracterizarea și clasificarea mierii de salcâm românești pe baza parametrilor fizico-chimici și a chemometriei** sunt prezentate rezultatele analizei fizico-chimice pentru probele de miere de salcâm pură (P), miere falsificată indirect (I), obținută prin hrănirea albinelor cu 3 siropuri industriale diferite, și miere falsificată direct (D), preparată prin amestecarea mierii P cu aceleași siropuri. Studiul a avut ca scop măsurarea parametrilor fizico-chimici relevanți ai probelor de miere și discriminarea mierii pure de cea falsificată pe baza acestor parametri, utilizând PCA (Principal Component Analysis) și LDA (Linear Discriminant Analysis) ca instrumente chemometrice. Conținuturile de umiditate, cenușă, 5-hidroximetilfurfural (HMF), zaharuri reducătoare și zaharoză, aciditatea liberă, activitatea diastazei și $\Delta\delta^{13}C = \delta^{13}C_H - \delta^{13}C_P$ au fost parametrii fizico-chimici luați în considerare în analiza multivariată.

Capitolul **2.2. Efectul solventului de extracție asupra compoziției și activității antioxidante a extractelor de flori comestibile** este structurat în 2 subcapitole, unul referitor la extractele obținute din părțile aeriene ale plantelor de cicoare (*C. intybus*), busuioc (*O. basilicum*) și salvie (*S. officinalis*), celălalt la extractele obținute din florile de albăstrele (*C. cyanus*), gălbenele (*C. officinalis*), hibiscus (*H. sabdariffa*) și mușețel (*M. chamomilla*). Extractele au fost obținute prin macerare cu agitare, utilizând ca solvenți de extracție etanol, metanol și două amestecuri de etanol și metanol (conținând 40% și 60% etanol). Conținutul total de polifenoli (TPC), conținutul total de flavonoide (TFC) și procentul de inhibare (PI) al extractelor au fost variabilele selectate ca răspunsuri ale procesului de extracție. Datele experimentale au fost prelucrate utilizând PCA și ANOVA cu un singur factor.

În capitolul **3** sunt prezentate concluziile generale ale tezei și câteva perspective de cercetare.

SCOPUL ȘI STRUCTURA TEZEI

În conformitate cu titlul, teza de doctorat a avut ca scop evaluarea calității produselor alimentare și eficienței extracției compușilor bioactivi din plante utilizând metode chemometrice.

Teza este structurată în 2 părți principale, *i.e.*, **1. STUDIU CRITIC AL DATELOR DE LITERATURĂ** și **2. CONTRIBUȚII ORIGINALE**, la care se adaugă concluziile generale și perspectivele de cercetare, lista de lucrări și bibliografia.

Prima parte a tezei conține informații relevante din literatura de specialitate referitoare la metodele chemometrice, *i.e.*, PCA (Principal Component Analysis), CA (Cluster Analysis), LDA (Linear Discriminant Analysis), PLS (Partial Least Squares) și MLR (Multiple Linear Regression), evaluarea calității mierii de albine și extracția compușilor bioactivi din plantele comestibile.

Partea de **CONTRIBUȚII ORIGINALE**, în care sunt prezentate rezultatele obținute în cercetările proprii, este structurată în 2 capitole, unul referitor la caracterizarea și clasificarea mierii de albine pe baza parametrilor fizico-chimici și a chemometriei, celălalt referitor la efectul solventului de extracție asupra compoziției și activității antioxidante a extractelor de plante comestibile.

În capitolul **2.1. Caracterizarea și clasificarea mierii de salcâm românești pe baza parametrilor fizico-chimici și a chemometriei** sunt prezentate rezultatele analizei fizico-chimice pentru probele de miere de salcâm pură (P), miere falsificată indirect (I), obținută prin hrănirea albinelor cu 3 siropuri industriale diferite, și miere falsificată direct (D), preparată prin amestecarea mierii P cu aceleași siropuri. Studiul a avut ca scop măsurarea parametrilor fizico-chimici relevanți ai probelor de miere și discriminarea mierii pure de cea falsificată pe baza acestor parametri, utilizând PCA și LDA ca instrumente chemometrice. Au fost analizate 23 de probe de miere (P, I și D) și s-au determinat următoarele variabile: conținuturile de umiditate, cenușă, 5-hidroximetilfurfural (HMF), zaharuri reducătoare (RS) și zaharoză, aciditatea liberă (FA), activitatea diastazei (DA) și $\Delta\delta^{13}C = \delta^{13}C_H - \delta^{13}C_P$ au fost parametrii fizico-chimici luați în considerare în analiza multivariată.

Capitolul **2.2. Efectul solventului de extracție asupra compoziției și activității antioxidante a extractelor de flori comestibile** este structurat în 2 subcapitole, unul referitor la extractele obținute din părțile aeriene ale plantelor de cicoare (*C. intybus*), busuioc (*O. basilicum*) și salvie (*S. officinalis*), celălalt la extractele obținute din florile de albăstrele (*C. cyanus*), gălbenele (*C. officinalis*), hibiscus (*H. sabdariffa*) și mușetel (*M. chamomilla*). Extractele au fost obținute prin macerare cu agitare, utilizând ca solvenți de extracție etanol, metanol și două amestecuri de etanol și metanol (conținând 40% și 60% etanol). Conținutul total de polifenoli (TPC), conținutul total de flavonoide (TFC) și procentul de inhibare (PI) al extractelor au fost variabilele selectate ca răspunsuri ale procesului de extracție. Datele experimentale au fost prelucrate utilizând PCA și ANOVA cu un singur factor.

În capitolul **3** sunt prezentate concluziile generale ale tezei și câteva perspective de cercetare referitoare la evaluarea calității produselor alimentare și extracția compușilor bioactivi din plantele comestibile.

2.1. CARACTERIZAREA ȘI CLASIFICAREA MIERII DE SALCÂM ROMÂNEȘTI PE BAZA PARAMETRIILOR FIZICO-CHIMICI ȘI A CHEMOMETRIEI

2.1.1. Materiale și metode

2.1.1.1. Probele de miere

Cercetarea a fost dezvoltată în colaborare cu un apicultor din județul Vâlcea, care a acceptat să participe la studiu cu 12 stupi (H1–H12), fiecare din ei populat cu 3 colonii de albine (*Apis mellifera carpatica*). Trei tipuri de miere de salcâm au fost preparate și analizate, *i.e.*, miere autentică sau pură (P), miere falsificată indirect (I) prin hrănirea albinelor cu siropuri de zahăr și miere falsificată direct (D) prin amestecarea mierii pure (P) cu aceleași siropuri. Pentru falsificare au fost utilizate 3 tipuri de siropuri industriale (S1–S3 în tabelul 2.1), care sunt utilizate în mod obișnuit pentru hrănirea albinelor. Datele privind experimentele efectuate pentru a obține mierea pură și falsificată sunt specificate în tabelul 2.2.

Tabelul 2.1. Compoziția siropului industrial.

Sirop	Concentrația fazei solide (%)	Compoziția fazei solide (%)				
		Fructoză	Glucoză	Zaharoză	Maltoză	Altele
S1	73	39	31	30	0	0
S2	75	50	32	0	15	3
S3	82	14	43	43	0	0

Tabelul 2.2. Teste experimentale

Exp.	Tip de miere	Cod	Descriere	Stupi	Probe de miere
1	Pură (P)	P	Fără hrănirea albinelor, fără amestecare cu siropuri	3(H1-H3)	5
2	Falsificată direct (D)	D1	Miere P amestecată cu S1		3
3		D2	Miere P amestecată cu S2		3
4		D3	Miere P amestecată cu S3		3
5	Falsificată indirect (I)	I1	Albine hrănite cu S1	3(4H-H6)	3
6		I2	Albine hrănite cu S2	3(H7-H9)	3
7		I3	Albine hrănite cu S3	3(H10-H12)	3

Mierea pură (P) a fost produsă în 3 stupi (H1–H3), fără hrănirea albinelor cu siropuri de zahăr, iar mierea falsificată indirect (I) a fost produsă în 9 stupi (H4–H12), i.e., albinele din stupii H4–H6 au fost hrănite cu siropul S1, albinele din stupii H7–H9 au fost hrănite cu siropul S2, iar albinele din stupii H10–H12 au fost hrănite cu siropul S3. Un litru de sirop de zahăr a fost utilizat în fiecare stup (H3–H12) o dată la trei zile, între 1 aprilie și 5 mai 2017. Mierea a fost colectată din fiecare stup, conform SR 784-1 (2009) și în urma unui protocol prezentat în literatura de specialitate (Cordella et al., 2005). Mierea falsificată direct (D) a fost preparată prin amestecarea mierii pure cu siropurile S1–S3 (raport de masă 1:1). Conform datelor prezentate în tabelul 2.2, 23 de probe de miere au fost analizate fizico-chimic. Înainte de analiză, toate probele au fost omogenizate timp de 10 min folosind un mixer.

2.1.1.2. Analiza fizico-chimică

Parametrii fizico-chimici determinați pe baza standardului român SR 784-3 (2009) au fost: conținutul de umiditate, conținutul de cenușă, aciditatea liberă (FA), conținutul de zaharuri reducătoare (RS), conținutul de zaharoză, activitatea diastazică (DA) și conținutul de 5-hidroximetilfurfural (HMF). Acest standard a fost armonizat cu metodele oficiale de analiză ale AOAC (AOAC, 1990) și a metodelor armonizate ale Comisiei Europene de Miere (Bogdanov & Lüllmann, 1997).

Conținutul de umiditate a fost măsurat la 20 °C cu un refractometru digital ATAGO RX-5000I (ATAGO, SUA).

Conținutul de cenușă a fost evaluat după cum urmează: un eșantion de miere (5 g) a fost deshidratat într-un vas de platină, păstrat într-un termostat la 80 °C timp de 4 ore și apoi calcinat la 550 °C într-un cuptor de laborator (Nabertherm, Germania).

Aciditatea liberă (FA) a fost determinată prin metoda titrimetrică, i.e.: o cantitate de 10 g de probă de miere a fost dizolvată în 75 mL de apă fără CO₂ într-un pahar de 250 mL. Soluția a fost agitată magnetic și titrată la pH 8,3 prin adăugarea soluției de NaOH 0,05 N. pH-ul a fost măsurat folosind un pH metru Mettler Toledo SevenMulti S40 (Mettler Toledo, Canada).

Conținutul de zaharuri reducătoare (RS) a fost evaluat prin reducerea soluției Fehling modificată prin titrare la punctul de fierbere față de o soluție de zaharuri reducătoare, folosind albastru de metilen ca indicator. Diferența dintre concentrațiile de zahăr invertit înainte și după hidroliză a fost înmulțită cu 0,95 pentru a obține conținutul aparent de zaharoză.

Activitatea diastazică (DA) a fost evaluată folosind o soluție tampon de miere și amidon solubil incubată la 40 °C. Volume de 1 mL din această soluție au fost luate la intervale regulate (5 min), iar absorbanta lor a fost măsurată la 660 nm cu un spectrofotometru de luminescență Perkin Elmer LS-50B (Perkin Elmer, Marea Britanie).

Pentru determinarea conținutului de HMF, o cantitate de 5 g de probă de miere a fost amestecată cu 25 mL apă distilată. După limpezirea cu reactivii Carrez (I și II), soluția a fost diluată la 100 mL cu apă distilată. Absorbanta acestei soluții limpezite a fost măsurată la 284 și 336 nm cu un spectrofotometru de luminiscentă Perkin Elmer LS-50B (Perkin Elmer, Marea Britanie), folosind ca referință aceeași soluție care a conținut 0,2% (m/v) bisulfat de sodiu.

Analiza raportului izotopilor stabili ¹³C/¹²C pentru miere și fracția proteică extrasă din miere a fost realizată conform metodelor oficiale de analiză 998.12 (AOAC, 2005). Valorile raportului ¹³C/¹²C au fost determinate folosind un analizator elementar (EA) Thermo Scientific FlashEA 1112

HT cuplat cu un spectrometru de masă cu raport izotopic în flux continuu (CF-IRMS) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SUA) și exprimate în funcție de standardul intern VPDB ca $\delta^{13}C_H$ și $\delta^{13}C_P$. Extragerea proteinelor a constat din amestecarea a 10–12 g de probă de miere cu 4 mL de apă distilată într-un tub de centrifugă de 50 mL. După adăugarea a 2 mL de acid sulfuric 2/3 N și 2 mL de soluție de tungstat de sodiu 10%, tubul a fost încălzit la 80 °C până la precipitarea proteinei. Supernatantul a fost îndepărtat după centrifugare și clătire cu 50 mL de apă distilată. După uscare într-un cuptor (75 °C) timp de 6 h, proba de proteine (200 µg) a fost plasată într-o capsulă de staniu pentru analiză.

Toți reactivii folosiți pentru analizele fizico-chimice au fost de calitate analitică și au fost achiziționați de la Merck (Darmstadt, Germania).

2.1.1.3. Analiza statistică

Analiza statistică univariată (ANOVA cu un singur factor) și analiza statistică multivariată (PCA și LDA) ale parametrilor fizico-chimici au fost efectuate folosind Statistica 12 (Statsoft, Inc).

2.1.2. Rezultate și discuții

2.1.2.1. Rezultate experimentale

Tabelul 2.3 conține valorile medii, abaterea standard și intervalul de variație al parametrilor fizico-chimici caracteristici pentru mierea pură și falsificată (23 probe). Valorile caracteristice ale conținutului de umiditate, conținutului de cenușă, conținutului de zaharuri reducătoare (RS), conținutului de zaharoză, conținutului de 5-hidroximetilfurfural (HMF), acidității libere (FA) și a activității diastazice (DA) au fost comparate cu limitele specificate în standardul național SR 784-3 (2009), iar valorile pentru $\delta^{13}C_H$, $\delta^{13}C_P$ și $\Delta\delta^{13}C = \delta^{13}C_H - \delta^{13}C_P$ au fost comparate cu cele raportate în literatură.

Tabelul 2.3. Media, abaterea standard și intervalul (min–max) pentru parametrii fizico-chimici caracteristici probelor de miere.

Parametru (u.m) (limită)	Probe						
	P	I1	I2	I3	D1	D2	D3
Conținut de umiditate (%) (max. 20%)	16,8±0,36 16,3–17,2	22,2±0,35 21,9–22,6	18,1±0,17 18,0–18,3	16,1±0,33 15,9–16,5	20,8±0,28 20,6–21,1	19,7±0,30 19,5–20,1	17,1±0,13 17,0–17,2
Conținut de cenușă (% × 10 ³) (max. 0,5%)	8,1±0,13 8,0–8,3	10±0,10 10,0–10,2	20±0,15 20,1–20,4	4±0,03 4,00–4,05	2±0,02 2,01–2,05	4±0,03 4,01–4,07	8±0,02 7,98–8,02
Aciditate liberă (FA) (meq/kg) (max. 40 meq/kg)	0,75±0,02 0,72–0,77	6,50±0,10 6,4–6,6	4,03±0,12 3,9–4,1	6,03±0,21 5,8–6,2	5,00±0,20 4,8–5,2	5,03±0,06 5,0–5,1	5,03±0,12 4,9–5,1
Conținut de zaharuri reducătoare (RS) (%) (min. 70%)	70,5±1,48 68,7–72,5	66,5±0,81 65,7–67,3	65,3±0,58 64,8–66,0	58,1±0,48 57,5–58,5	66,0±1,05 65,0–67,1	66,5±0,68 65,8–67,2	65,3±0,61 64,8–66,0
Conținut de zaharoză (%) (max. 5%)	3,79±0,04 3,75–3,85	14,7±0,22 14,5–15,0	6,81±0,05 6,76–6,85	7,60±0,08 7,51–7,67	6,17±0,09 6,08–6,25	6,65±0,08 6,59–6,74	6,33±0,06 6,28–6,39
Activitate diastazică (DA) (unități Gothe/g) (min. 6.5 unități Gothe/g)	13,9±0,25 13,6–14,2	5,01±0,01 5,00–5,02	5,04±0,03 5,01–5,07	5,02±0,09 4,94–5,11	6,41±0,11 6,30–6,51	6,44±0,08 6,38–6,53	6,43±0,10 6,30–6,50
Conținut de HMF (mg/kg) (max. 15 mg/kg)	1,21±0,03 1,18–1,25	23,0±0,13 22,9–23,2	40,9±0,38 40,6–41,3	25,7±0,31 25,4–26,0	18,5±0,18 18,3–18,7	24,9±0,29 24,6–25,2	20,2±0,20 20,0–20,4
$ \delta^{13}C_H $ (‰)	23,7±0,59 23,0–24,4	26,3±0,20 26,1–26,5	12,4±0,12 12,3–12,5	14,9±0,15 14,7–15,0	24,5±0,50 24,0–25,0	18,6±0,55 18,0–19,1	17,2±0,25 17,0–17,5
$ \delta^{13}C_P $ (‰)	24,1±0,52 23,5–24,8	29,7±0,25 29,5–30,0	23,5±0,45 23,0–23,9	20,3±0,70 19,6–21,0	27,6±0,65 27,0–28,3	25,2±0,75 24,5–26,0	25,2±0,80 24,4–26,0
$\Delta\delta^{13}C$ (‰) (0–1‰)	0,46±0,09 0,4–0,6	3,43±0,06 3,4–3,5	11,1±0,46 10,7–11,6	5,43±0,55 4,9–6,0	3,13±0,15 3,0–3,3	6,67±0,21 6,5–6,9	7,97±0,55 7,4–8,5

Conținutul de umiditate este un parametru relevant, deoarece afectează viscozitatea, densitatea, gustul, aroma, culoarea, cristalizarea și fermentarea mierii (Al-Farsi et al., 2018; Cengiz et al., 2018; da Silva et al., 2016; Gomes et al., 2010). Un conținut ridicat de apă poate accelera cristalizarea, dar poate produce fermentația în timpul depozitării (Al-Farsi et al., 2018; Cengiz et al., 2018; Gomes et al., 2010; Mărghitaș et al., 2009; Saxena et al., 2010). Limita maximă impusă pentru conținutul de apă în SR 784-3 (2009) este de 20%. Se observă că doar probele I1 și D1 conțin mai multă umiditate decât limita reglementată. Valorile medii ale conținutului de umiditate pentru probele I (18,8%) și D (19,2%) sunt similare și mai mari (cu *cca.* 10%) decât valoarea medie a probelor P (16,8%).

Conținutul de cenușă sau minerale este un indicator care influențează culoarea și aroma mierii. De obicei, cu cât conținutul de cenușă este mai mare, cu atât mierea este mai închisă la culoare, iar aroma este mai puternică (da Silva et al., 2016). Valorile medii ale conținutului de cenușă pentru probele P (0,0081%), I (0,0113%) și D (0,0047%) sunt mult mai mici decât limita impusă (max. 0,5%), valorile medii ale probelor I sunt mai mari (cu 42%), iar cele ale probelor D

sunt mai mici (cu 71%) decât cele ale probelor P. Nu s-au observat diferențe de culoare și aromă între probe.

Aciditatea liberă (FA), care se datorează în principal prezenței acizilor organici în echilibru cu lactonele sau esterii interni și a ionilor anorganici, *e.g.*, clorură, sulfat, fosfat, poate influența puternic gustul mierii (Al-Farsi et al., 2018; da Silva et al., 2016; Gomes et al., 2010; Naila et al., 2018; Özcan et al., 2006). O creștere a FA poate apărea în timp ca efect al formării acizilor (*e.g.*, acidul gluconic din glucoză, acizii formic și levulinic din HMF), precum și în cazul fermentației (prin producerea acidului acetic din alcoolul etilic rezultat în procesul de fermentație în prezența drojdiilor din miere) (da Silva et al., 2016; Saxena et al., 2010). Toate probele au avut valori ale FA mult mai mici decât limita reglementată (max. 40 meq/kg). Valorile medii ale FA pentru probele I (5,5 meq/kg) și pentru probele D (5,0 meq/kg) sunt similare și mai mari (cu *cca.* 7%) decât valoarea medie a probelor P (0,75 meq/kg).

Toate probele falsificate au avut valori ale conținutului de zaharoză mai mari decât limita reglementată (max. 5%). Valoarea medie a conținutului de zaharoză pentru probele I (9,71%) este de 1,5 ori mai mare decât cea a probelor D (6,38%) și de 2,6 ori mai mari decât cea a probelor P (3,79%). Pe de altă parte, toate probele falsificate au avut valori ale conținutului de zaharuri reducătoare (fructoză și glucoză) mai mici decât limita impusă (min. 70%). Valoarea medie a conținutului de zaharuri reducătoare (RS) pentru probele I (63,3%) este cu 4% mai mică decât cea a probelor D (65,9%) și cu 11% mai mică decât cea a probelor P (70,5%). În consecință, probele de miere falsificate prin hrănirea albinelor au conținut mai multă zaharoză care nu a fost transformată în fructoză și glucoză.

Activitatea diastazică (DA) și conținutul de 5-hidroximetilfurfural (HMF) sunt indicatori ai prospețimii mierii. O miere de calitate superioară se caracterizează prin valori ridicate ale DA și un nivel scăzut al conținutului de HMF. În cazul încălzirii sau depozitării pentru o lungă perioadă de timp, valoarea DA scade și conținutul de HMF crește (HMF poate fi produs prin descompunerea fructozei și a glucozei) (Cengiz et al., 2018; da Silva et al., 2016; Kukurová et al., 2008; Saxena et al., 2010). De asemenea, un conținut ridicat de HMF poate indica o falsificare cu sirop de zahăr invertit, deoarece HMF poate fi format prin încălzirea soluțiilor de zaharoză pentru a obține sirop invertit, în timp ce un nivel scăzut al DA poate fi un efect al falsificării indirecte (da Silva et al., 2016). Toate probele falsificate au avut valori ale conținutului de HMF mai mari și valori ale DA mai mici decât limitele reglementate (max. 15 mg/kg și min. 6.5 unități Gothe/g). Valoarea medie a conținutului de HMF pentru probele I (29,9 mg/kg) este de 1,41 ori mai mare decât cea a probelor D (21,2 mg/kg) și de aproximativ 25 de ori mai mare decât cea a probelor P (1,21 mg/kg). Valoarea medie a DA pentru probele I (5 unități Gothe/g) este de 1,3 ori mai mică decât cea ale probelor D (6,5 unități Gothe/g) și de 2,8 ori mai mică decât cea a probelor P (13,9 unități Gothe/g).

Valorile variabilelor $\delta^{13}C_H$ și $\delta^{13}C_P$ (de la -24,1‰ la -23,2‰, respectiv de la -23,8‰ la -24,5‰ pentru probele P, de la -26,5‰ la -12,3‰, respectiv de la -30,0‰ la -19,6‰ pentru probele I și de la -25,0‰ la -17,0‰, respectiv de la -28,3‰ la -24,4‰ pentru probele D) se încadrează în intervalele raportate de alți cercetători (Cengiz et al., 2018; Çinar et al., 2014; Guler et al., 2007, 2014; Kukurová et al., 2008; Padovan et al., 2003; Simsek et al., 2012; Tosun, 2013; Wu et al., 2017). Nivelurile $\Delta\delta^{13}C = \delta^{13}C_H - \delta^{13}C_P$ pentru probele I și D (3,4–11,6‰ și 3,0–8,5‰) sunt de peste 5 ori mai mari decât cele pentru probele P (0,4–0,6‰). Aceste rezultate indică faptul că miera P este pură (valorile $\Delta\delta^{13}C$ se situează în intervalul [-1‰, 1‰]), în timp ce probele I și D sunt falsificate.

Datele sintetizate în Tabelul 2.3 evidențiază faptul că unii parametri fizico-chimici ai mierii falsificate se încadrează în nivelurile limită specificate în standardul național. Prin urmare, simpla verificare a acestor parametri nu este suficientă pentru a detecta falsificarea. Metodele de analiză fizico-chimică, împreună cu chemometria, ar putea fi o alternativă eficientă pentru a face diferența între mierea pură și cea falsificată.

2.1.2.2. Analiza statistică

ANOVA cu un singur factor a fost utilizată pentru a determina efectul tipului de miere, *i.e.*, miere pură (P), falsificată direct (D1–D3) și indirect (I1–I3), asupra parametrilor fizico-chimici analizați în cadrul cercetării experimentale. Valorile statisticilor prezentate în tabelul 2.4 ($F_{cr} = 2,741$, $F \geq 52,5$ și $p \leq 1,2 \times 10^{-9}$) indică faptul că influența tipului de miere asupra tuturor parametrilor fizico-chimici este statistic semnificativă.

Tabelul 2.4. Rezultate ANOVA cu un singur factor pentru probele de miere pură și falsificată.

Variabile	F_{cr}	F	p
Conținut de umiditate (%)	2,741	189,57	6,0E-14
Conținut de cenușă (%)		12386	2,1E-28
Aciditate liberă (meq/kg)		983,36	1,3E-19
Conținut de zaharuri reducătoare (%)		52,541	1,2E-09
Conținut de zaharoză (%)		3804,2	2,6E-24
Activitate diastazică (DA) (unități Gothe/g)		2245,9	1,8E-22
Conținut de HMF (mg/kg)		10455	8,0E-28
$ \delta^{13}C_H $ (‰)		509,87	2,4E-17
$ \delta^{13}C_P $ (‰)		75,246	8,0E-11
$\Delta\delta^{13}C = \delta^{13}C_H - \delta^{13}C_P$ (‰)		395,56	1,8E-16

PCA și LDA au fost aplicate pentru a evalua diferențele între probele de miere pură și cele falsificate pe baza parametrilor fizico-chimici (variabile independente). În analiza multivariată au fost luate în considerare 8 variabile independente, *i.e.*, conținutul de umiditate, conținutul de cenușă, conținutul de zaharuri reducătoare (RS), conținutul de zaharoză, conținutul de HMF, aciditatea liberă (FA), activitatea diastazică (DA) și $\Delta\delta^{13}C$.

Rezultatele PCA referitoare la valorile proprii și la varianța componentelor principale (PC) sunt prezentate în tabelul 2.5. Datele specificate în tabelul 2.5 evidențiază faptul că valorile proprii corespunzătoare componentelor principale PC1 (4,320), PC2 (1,782) și PC3 (1,322) sunt mai mari

decât 1, iar PC1, PC2 și PC3 explică 92,80% din varianța totală (54,00% + 22,28% + 16,52%). PC1 și PC2, care explică 76,28% din varianța totală (54,00% + 22,28%), au fost considerate cele mai relevante componente principale și au fost utilizate în continuare în analiza multivariată.

Tabelul 2.5. Valorile proprii și valorile varianței în PCA.

Component principal	Valoare proprie		% Varianță totală	
	PC	Cumulativ	PC	Cumulativ
PC1	4,320	4,320	54,00	54,00
PC2	1,782	6,102	22,28	76,28
PC3	1,322	7,424	16,52	92,80
PC4	0,428	7,852	5,354	98,15
PC5	0,115	7,967	1,432	99,59
PC6	0,018	7,985	0,230	99,82
PC7	0,014	7,999	0,169	99,99
PC8	0,001	8,000	0,015	100,0

Proiecțiile variabilelor pe planul PC1–PC2 sunt prezentate în figura 2.1. În funcție de coordonatele variabilelor pe cele 2 axe (l_v), cele mai importante variabile sunt: activitatea diastazică (DA) ($l_v = 0,989$), conținutul de HMF ($l_v = -0,911$), aciditatea liberă (FA) ($l_v = -0,914$), $\Delta\delta^{13}C$ ($l_v = -0,729$), conținutul de zaharuri reducătoare (RS) ($l_v = 0,689$) și conținutul de zaharoză ($l_v = -0,676$) pentru PC1, precum și conținutul de umiditate ($l_v = 0,706$), $\Delta\delta^{13}C$ ($l_v = -0,616$), conținutul de zaharoză ($l_v = 0,522$) și conținutul de cenușă ($l_v = -0,625$) pentru PC2. Pe de o parte, va exista o discriminare pe axa PC1 între probele de miere cu valori ridicate ale DA și conținutului de RS, respectiv valori scăzute ale FA, $\Delta\delta^{13}C$ și conținuturilor de HMF și zaharoză, și celelalte probe. Pe de altă parte, va exista o discriminare pe axa PC2 între probele cu valori ridicate ale conținuturilor de umiditate și zaharoză, respectiv valori scăzute ale conținutului de cenușă și $\Delta\delta^{13}C$, și celelalte probe.

Proiecțiile cazurilor (probelor de miere) pe planul PC1–PC2, care sunt prezentate în figura 2.1, evidențiază o discriminare pe axa PC1 între grupurile de miere pură (P), falsificată direct (D) și indirect (I), precum și o discriminare pe axa PC2 între probele falsificate (direct și indirect) cu siropul S1 și cele falsificate cu siropurile S2 și S3.

Coordonatele pe axa PC1 ale probelor P (3,5–3,9) corespund unor valori mai mari ale DA (13,6–14,2 unități Gothe/g) și conținutului de RS (68,7–72,5%), respectiv unor niveluri mai scăzute ale variabilelor FA (0,75–0,77 meq/kg) și $\Delta\delta^{13}C$ (0,4–0,6‰), precum și ale conținuturilor de HMF (1,18–1,25 mg/kg) și zaharoză (3,75–3,85%). Coordonatele pe axa PC1 ale probelor D1–D3 (de la -0,6 la 0) și I1–I3 (de la -1,9 la -1,4) corespund unor valori mai mici ale DA (6,30–6,53 și 4,94–5,11 unități Gothe/g) și conținutului de RS (64,8–67,2 și 57,5–67,3%), precum și unor niveluri mai ridicate ale variabilelor FA (4,8–5,2 și 3,9–6,6 meq/kg) și $\Delta\delta^{13}C$ (3–8,5 și 3,4–11,6‰),

precum și ale conținuturilor de HMF (18,3–25,2 și 22,9–41,3 mg/kg) și zaharoză (6,08–6,74 și 6,76–15%).

De asemenea, există o discriminare pe axa PC2 între probele falsificate cu siropul S1 (cu coordonate pe axa PC2 în intervalul 1,2–2,3), având valori ridicate ale conținutului de umiditate (20,6–22,6%) și cele falsificate cu siropurile S2 și S3 (cu coordonate pe axa PC2 de la -2,5 la 0,5), care au avut niveluri mai scăzute ale conținutului de umiditate (15,9–20,1%).

Rezultatele prezentate în Fig. 1 și valorile coeficientului de corelație Pearson (r) reliefează următoarele aspecte:

- corelații pozitive semnificative între FA și conținuturile de umiditate și zaharoză ($0,49 \leq r \leq 0,73$); corelații pozitive semnificative între FA și conținutul de HMF ($r = 0,68$), FA și $\Delta\delta^{13}C$ ($r = 0,47$) și conținuturile de zaharoză și HMF ($r = 0,42$);
- corelații pozitive semnificative între $\Delta\delta^{13}C$ și conținuturile de HMF și cenușă ($0,46 \leq r \leq 0,89$), corelația dintre $\Delta\delta^{13}C$ și conținutul de HMF fiind foarte puternică ($r = 0,89$);
- corelație pozitivă semnificativă între DA și conținutul de RS (fructoză și glucoză) ($r = 0,72$); corelații negative semnificative între DA și fiecare din variabilele FA, $\Delta\delta^{13}C$ și conținuturile de umiditate, zaharoză și HMF ($-0,94 \leq r \leq -0,41$), corelațiile dintre DA și FA ($r = -0,94$) și DA și conținutul de HMF ($r = -0,88$) fiind foarte puternice; corelații negative semnificative între RS și fiecare din variabilele FA, $\Delta\delta^{13}C$ și conținutul de HMF ($-0,69 \leq r \leq -0,46$).

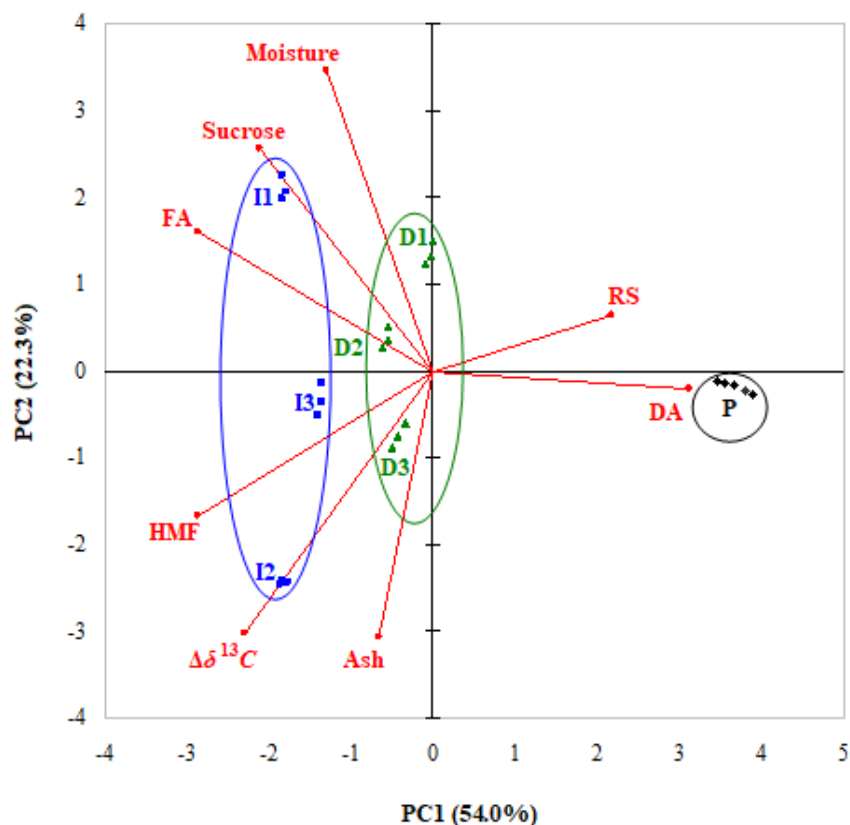


Figura 2.1. Proiecțiile variabilelor și probelor (P, D1-D3, I1-I3) pe planul PC1-PC2.

Pentru a identifica variabilele cu cea mai mare putere de discriminare și funcțiile de discriminare și clasificare corespunzătoare, s-a aplicat LDA folosind metoda în trepte (FS) (8 pași, toleranță = 0,01, F pentru adăugare = 1, F pentru eliminare = 0), considerând predefinite grupurile de miere (P, D și I). Variabilele cu cea mai mare putere de discriminare au fost activitatea diastazică (DA), conținutul de 5-hidroximetilfurfural (HMF), conținutul de zaharoză și conținutul de zaharuri reducătoare (RS). Doar aceste patru variabile au fost utilizate pentru a determina funcțiile de discriminare și clasificare. Prima funcție liniară de discriminare (LD1) reprezintă 98,7% din puterea de discriminare, iar a doua funcție (LD2) reprezintă 1,3%, valorile proprii corespunzătoare funcțiilor LD1 și LD2 fiind 785,23 și 10,04. În consecință, LD1 poate fi considerată cea mai relevantă funcție. Valorile coeficienților standardizați ai variabilelor din funcțiile LD1 și LD2, care sunt specificate în tabelul 2.6, evidențiază următoarele:

- conținutul de RS are un efect negativ asupra funcției LD1 iar celelalte trei variabile un efect pozitiv, DA având cel mai semnificativ efect;
- conținutul de RS are un efect pozitiv asupra funcției LD2 iar celelalte trei variabile un efect negativ, DA având un efect nesemnificativ.

Tabelul 2.6. Valorile coeficienților standardizați ai variabilelor din funcțiile LD1 și LD2.

No.	Variabilă	Coeficienți standardizați	
		LD1	LD2
1	Conținutul de zaharuri reducătoare (RS)	-0,947	2,410
2	Conținutul de zaharoză	0,810	-2,989
3	Activitatea diastazică (DA)	1,215	-0,428
4	Conținutul de HMF	0,558	-2,598

Proiecțiile probelor de miere din setul de date de antrenament (training) pe planul LD1–LD2, care sunt prezentate în figura 2.2, evidențiază o discriminare semnificativă între probele de miere pură (P) (cu coordonatele probelor pe axa LD1 în intervalul 41,58–45,12) și cele falsificate direct (D) și indirect (I) (cu coordonatele probelor pe axa LD1 de la -11.44 la -9.49 pentru probele D și de la -19.03 la -17.22 pentru probele I). În consecință, funcția LD1 discriminează în principal între miera pură și cea falsificată, variabila cu cea mai mare putere de discriminare fiind DA (13.6–14.2, 6.30–6.53 și 4.94–5.11 unități Gothe/g pentru clasele de miere P, D și I). De asemenea, funcția LD2 discriminează între tipurile de miere D și I (cu coordonatele probelor pe axa LD2 în intervalele 1,67–5,54 pentru probele D și de la -3,63 la -2,56 pentru probele I), variabila cu cea mai mare putere de discriminare fiind conținutul de zaharoză (6,08–6,74% pentru D și 6,76–15% pentru I).

Valorile medii ale coordonatelor probelor pentru fiecare grup (centroizi) și elipsele de încredere 95% pentru setul de date de antrenament (training), precum și proiecțiile probelor de miere din setul de date de validare (validation) pe planul LD1-LD2 sunt, de asemenea, prezentate în figura 2.2. Se observă că toate proiecțiile probelor pentru setul de date de validare sunt incluse în elipsele corespunzătoare grupului (clasei) lor.

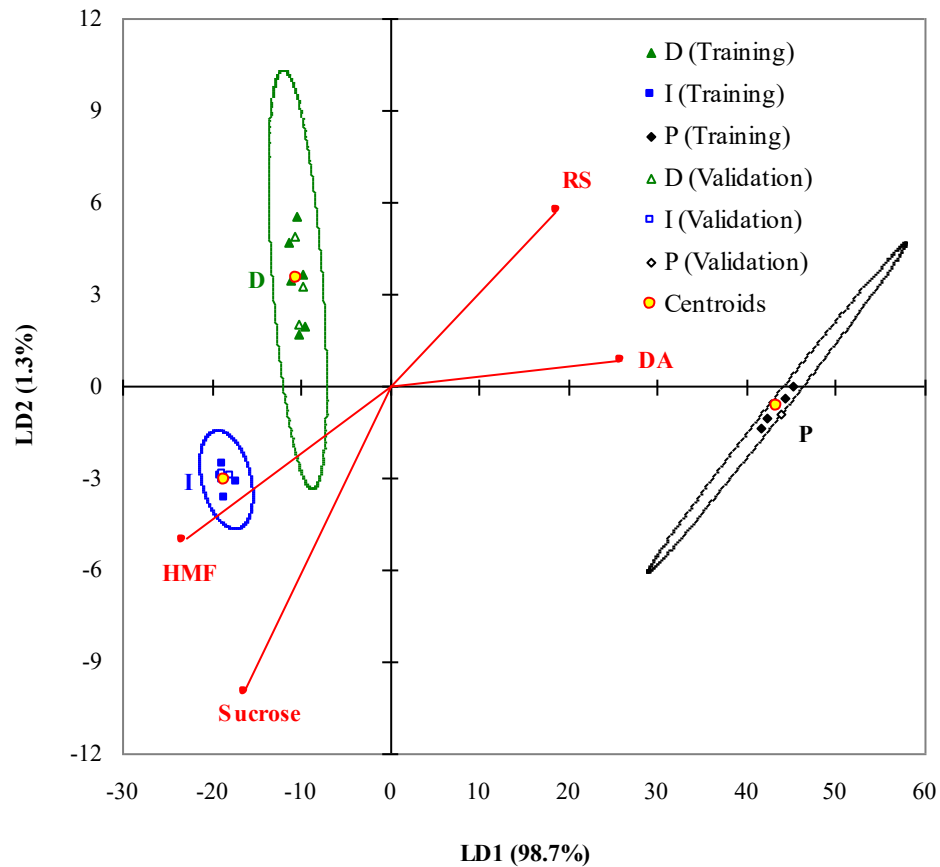


Figura 2.2. Proiecțiile variabilelor și probelor de miere pe planul LD1–LD2.

Probele (cazurile) de miere au fost clasificate în grupul de care erau mai apropiate. Au fost calculate distanțele Mahalanobis dintre fiecare caz și centrozii grupului. Conform regulii Bayes, probabilitatea ca un caz să aparțină unui grup, *i.e.*, probabilitatea de clasificare posterioară (PP), a fost determinată în funcție de pătratul distanței Mahalanobis (SMD) și de probabilitatea de clasificare *a priori* (APP). Valorile APP au fost considerate a fi proporționale cu numărul de probe din fiecare grup ($APP_P = 0,25$, $APP_D = 0,375$ și $APP_I = 0,375$). Un caz poate fi clasificat pe baza celei mai mari valori a probabilității PP . Clasificarea *a priori* și posterioară, precum și nivelurile SMD și PP pentru seturile de date de antrenament (T) și validare (V) sunt specificate în Tabelul 2.7.

Tabelul 2.7. Rezultate LDA pentru probele de miere P, D și I din seturile de date de antrenament (T) și validare (V).

No.	Set de date	Clasificare		Pătratul distanței Mahalanobis			Probabilitate posterioară			Scorul funcției de clasificare		
		<i>a priori</i>	posterior	SMD_P	SMD_I	SMD_D	PP_P	PP_I	PP_D	CFS_P	CFS_I	CFS_D
1	T	P	P	4,01	3698,8	2804,6	1	0	0	3938,8	2091,3	2538,9
2		P	P	6,60	3608,8	2730,8	1	0	0	3864,7	2063,6	2503,0
3		P	P	6,73	4052,8	3100,2	1	0	0	4214,3	2191,1	2667,9
4		P	P	3,94	3951,2	3016,1	1	0	0	4134,7	2161,0	2629,0
5		I	I	3843,5	5,96	122,10	0	1	0	-1304,8	613,8	556,2
6		I	I	3868,6	7,00	117,68	0	1	0	-1301,3	629,4	574,5
7		I	I	3900,5	5,84	120,54	0	1	0	-1328,6	618,6	561,8
8		I	I	3876,5	6,78	113,77	0	1	0	-1298,5	636,3	583,3
9		I	I	3816,3	6,34	111,19	0	1	0	-1332,4	572,6	520,5
10		I	I	3678,4	6,67	95,38	0	1	0	-1231,9	603,8	559,9
11		D	D	3031,9	111,21	4,69	0	0	1	-573,1	887,1	940,8
12		D	D	2930,7	140,26	6,24	0	0	1	-457,6	937,5	1004,9
13		D	D	2885,9	90,68	5,42	0	0	1	-515,1	882,4	925,5
14		D	D	2800,9	108,02	5,62	0	0	1	-430,7	915,6	967,3
15		D	D	2977,1	98,89	2,53	0	0	1	-560,4	878,6	927,2
16		D	D	2855,7	119,79	2,27	0	0	1	-450,8	917,1	976,3
17	V	P	P	3,06	3883,8	2964,1	1	0	0	4074,6	2134,1	2594,4
18		I	I	3864,8	6,25	117,69	0	1	0	-1305,1	624,1	568,8
19		I	I	3880,9	5,91	117,44	0	1	0	-1311,9	625,5	570,2
20		I	I	3758,3	5,84	101,98	0	1	0	-1286,7	589,5	541,8
21		D	D	2950,3	125,56	4,08	0	0	1	-498,3	914,0	975,2
22		D	D	2890,0	93,57	4,47	0	0	1	-507,1	891,0	936,0
23		D	D	2849,3	115,78	2,39	0	0	1	-458,6	908,1	965,2

De asemenea, pentru fiecare grup de miere (P, D și I) au fost determinate funcții liniare de clasificare. Tabelul 2.8 conține coeficienții funcțiilor de clasificare, c_{ij} și c_j , în care i și j reprezintă variabila independentă, respectiv grupul. Aceste funcții de clasificare pot fi utilizate direct pentru a clasifica cazurile, *i.e.*, un caz este atribuit grupului pentru care are cea mai mare valoare a scorului funcției de clasificare (CFS). Valorile CFS determinate pentru ambele seturi de date (de antrenament și validare) sunt specificate în tabelul 2.7. Matricile de clasificare prezentate în tabelul 2.9 demonstrează că toate probele de miere au fost corect atribuite grupului lor original pentru ambele seturi de date.

Tabelul 2.8. Coeficienții funcțiilor liniare de clasificare.

$i \backslash j$	P	D	I
Conținutul de zaharuri reducătoare (RS)	-8,08	13,71	10,79
Conținutul de zaharoză	8,60	-14,40	-9,05
Activitatea diastazei (DA)	620,55	189,98	145,39
Conținutul de HMF	1,71	-5,49	-3,29
c_j	-4041,17	-958,86	-614,72

Tabelul 2.9. Matrici de clasificare pentru seturile de date de antrenament (T) și validare (V).

Set	Grup	P	D	I	Total	% Corect	Set	Grup	P	D	I	Total	% Corect
T	P	4	0	0	4	100	V	P	1	0	0	1	100
	D	0	6	0	6	100		D	0	3	0	3	100
	I	0	0	6	6	100		I	0	0	3	3	100
	Total	4	6	6	16	100		Total	1	3	3	7	100

2.1.3. Concluzii

Studiul a avut ca scop măsurarea parametrilor fizico-chimici relevanți ai probelor de miere și discriminarea mierii pure de cea falsificată pe baza acestor parametri, utilizând PCA și LDA ca instrumente chemometrice. Mierea de salcâm pură (P) și mierea falsificată indirect (I), obținută prin hrănirea albinelor cu 3 siropuri industriale diferite, au fost produse într-o mică stupină din județul Vâlcea, iar mierea falsificată direct (D) a fost preparată prin amestecarea mierii P cu aceleași siropuri. 23 de probe de miere au fost analizate pentru determinarea conținuturilor de umiditate, cenușă, 5-hidroximetilfurfural (HMF), zaharuri reducătoare (RS) și zaharoză, precum și a acidității libere (FA), activității diastazei (DA), $\delta^{13}C_H$ și $\delta^{13}C_P$.

Falsificarea a determinat creșterea valorilor medii ale conținutului de apă (cu aproximativ 10%), acidității libere (FA) (de aproximativ 7 ori), conținutului de zaharoză (de 2,6 ori, respectiv 1,7 ori pentru probele I, respectiv D), conținutului de HMF (de aproximativ 25 ori, respectiv 18 ori pentru probele I, respectiv D) și $\Delta\delta^{13}C = \delta^{13}C_H - \delta^{13}C_P$ (de aproximativ 17, respectiv 15 ori pentru probele I, respectiv D), precum și o scădere a valorilor medii ale conținutului de zahăr (cu aproximativ 10%) și activității diastazice (DA) (de 2,8, respectiv 2,1 ori pentru probele I, respectiv D) comparativ cu valorile medii ale variabilelor pentru probele P. Valorile obținute pentru DA și conținuturile de HMF, RS și zaharoză pentru probele de miere D și I nu s-au încadrat în intervalele impuse de standardul național. De asemenea, falsificarea indirectă a avut efecte similare cu cele produse de falsificarea directă.

Cei opt parametri fizico-chimici luați în considerare în analiza multivariată au fost: conținuturile de umiditate, cenușă, RS, zaharoză și HMF, FA, DA și $\Delta\delta^{13}C$. Conform PCA, spațiul caracteristic cu opt dimensiuni a fost redus la unul bidimensional, în care direcțiile noilor axe au fost definite de către vectorii proprii PC1 și PC2. PC1, care a explicat 54,0% din variația totală, a fost dominat de DA, conținutul de HMF, FA, $\Delta\delta^{13}C$ și conținuturile de RS și zaharoză, iar PC2, reprezentând 22,3% din varianța totală, a fost dominat de conținutul de umiditate, $\Delta\delta^{13}C$ și conținuturile de zaharoză și cenușă. Trei grupuri de miere bine separate (P, D și I) pe direcția PC1 au fost obținute prin proiectarea probelor de miere pe planul factorial PC1-PC2.

Pornind de la aceste grupuri predefinite, LDA în trepte a relevat faptul că cei mai importanți parametri fizico-chimici discriminatori au fost DA și conținuturile de HMF, RS și zaharoză. Funcțiile liniare de discriminare și clasificare au fost construite pe baza unui set de date de antrenament (T), iar apoi aceste modele au fost validate folosind un set de date de validare (V). Cazurile au fost clasificate pe baza celor mai mari valori ale probabilității de clasificare posterioară și scorului funcției de clasificare. Matricile de clasificare pentru seturile de date de antrenament (T) și validare (V) au indicat că 100% din probele de miere au fost atribuite corect grupului lor original. În consecință, evaluarea parametrilor fizico-chimici folosind PCA și LDA a fost foarte eficientă pentru a discrimina între tipurile de miere P, D și I. Pe baza parametrilor fizico-chimici, *i.e.*, DA și conținuturile de HMF, zaharoză și RS, orice probă de miere de salcâm ar putea fi clasificată simplu și rapid ca pură (P) sau falsificată (D sau I) utilizând funcțiile de clasificare obținute prin aplicarea LDA.

2.2. EFECTUL SOLVENTULUI DE EXTRAȚIE ASUPRA COMPOZIȚIEI ȘI ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE A EXTRACTELOR DE PLANTE COMESTIBILE

2.2.1. Efectul solventului de extracție asupra compoziției și activității antioxidante a extractelor de busuioc (*O. basilicum*), cicoare (*C. intybus*) și salvie (*S. officinalis*)

2.2.1.1. Materiale și metode

2.2.1.1.1. Material vegetal

Părțile aeriene uscate de *O. basilicum*, *C. intybus* și *S. officinalis* au fost furnizate de Fares (Orăștie, Hunedoara), Stef Mar (Râmnicu Vâlcea, Vâlcea), și Dacia Plant (Bod, Brașov). Materialul vegetal uscat a fost măcinat cu ajutorul unei râșnițe.

2.2.1.1.2. Reactivi

Etanolul, metanolul, reactivul Folin-Ciocalteu (FCR), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), acidul galic, clorura de aluminiu hexahidrat ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) și quercetina au fost achiziționate de la Merck (Darmstadt, Germania). Carbonatul de sodiu (Na_2CO_3), nitritul de sodiu (NaNO_2), hidroxidul de sodiu (NaOH) și acidul ascorbic au fost achiziționate de la VWR International (Viena, Austria). Apa distilată (DW) a fost obținută folosind Milli-Q (Millipore, Merck, Italia), un sistem de purificare a apei (Millipore, Merck). Toate substanțele chimice au fost de calitate analitică.

2.2.1.1.3. Procedura de extracție

Extractele de flori comestibile au fost preparate prin macerare cu agitare a materialului vegetal uscat și măcinat, folosind etanol, metanol și două amestecuri de etanol și metanol ca solvenți de extracție. Procesul de extracție a fost efectuat timp de 24 h la patru niveluri ale concentrației de etanol în solventul de extracție (0%, 40%, 60% și 100%) și un singur nivel al raportului solid/lichid (1/10 g/mL), temperaturii procesului (30 °C) și vitezei de agitare (250 rpm). Fiecare extract a fost filtrat folosind hârtie de filtru.

2.2.1.1.4. Determinarea conținutului total de fenoli (TPC) al extractelor

TPC al extractelor de plante a fost determinat prin metoda Folin-Ciocalteu cu unele modificări (Agbo et al., 2015). Un volum de 1 mL de extract a fost amestecat cu 9 mL de DW într-un balon de 25 mL, apoi s-a adăugat un volum de 2,5 mL FCR diluat (1/10 mL FCR/mL DW). Amestecul a fost agitat timp de 5 min, apoi s-a adăugat un volum de 10 mL de soluție 7,5% Na_2CO_3 și s-a adus la semn cu DW. Acest amestec a fost păstrat la întuneric timp de 90 min la temperatura ambiantă. Valorile absorbanței eșantionului au fost citite la o lungime de undă de 760 nm cu un spectrofotometru UV/VIS (Specord 250 Plus, Analytik Jena, Germania). TPC al fiecărui eșantion a fost determinat din curba de calibrare și exprimat ca mg GAE (echivalenți de acid galic)/g DM (materie uscată). Determinările au fost efectuate în cinci exemplare.

2.2.1.1.5. Determinarea conținutului total de flavonoide (TFC) al extractelor

TFC al extractelor de plante a fost determinat prin metoda colorimetrică cu soluție de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Agbo et al., 2015). Un volum de 1 mL de extract a fost amestecat cu 4 mL de DW într-un balon de 10 mL, apoi s-a adăugat un volum de 0,30 mL de soluție 5% NaNO_2 . Amestecul a fost agitat timp de 5 min, apoi s-a adăugat un volum de 0,30 mL de soluție 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ și, după alte 5 min de agitare, s-a adăugat un volum de 2 mL soluție de NaOH 1 M la amestec și s-a adus la semn cu DW. Valorile absorbantei eșantionului au fost citite la o lungime de undă de 510 nm cu spectrofotometrul UV/VIS Specord 250 Plus. *TFC* al fiecărui eșantion a fost determinat din curba de calibrare și exprimat ca mg QE (echivalenți de quercetină)/g DM. Determinările au fost efectuate în cinci exemplare.

2.2.1.1.6. Evaluarea activității antioxidante a extractelor

Evaluarea activității antioxidante a extractelor de plante a fost efectuată în conformitate cu metodologie publicată în literatură (Singh et al., 2015). Un volum de 1 mL de extract a fost amestecat cu 1 mL soluție metanolică de DPPH 0,1 mM într-un balon. Amestecul a fost menținut la întuneric timp de 30 min la temperatura ambiantă, iar apoi valorile absorbantei eșantionului au fost citite la o lungime de undă de 517 nm cu spectrofotometrul Specord 250 Plus. Rezultatele au fost exprimate ca procent de inhibare (*PI*) conform ecuației (2), în care A_0 este absorbanta soluției de DPPH fără proba de extract și A_1 este absorbanta soluției de DPPH cu proba de extract.

$$\text{a. } PI = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

2.2.1.1.7. Prelucrarea datelor

Valorile variabilelor de răspuns (*TPC*, *TFC* și *PI*) obținute la diferite niveluri ale concentrației de etanol în solventul de extracție (0–100%) au fost procesate aplicând analiza componentelor principale (PCA). ANOVA cu un singur factor a fost utilizată pentru a evalua dacă valorile medii ale variabilelor de răspuns au fost semnificativ diferite ($p < 0,05$) sau nu. Puterea corelațiilor liniare dintre diferite variabile de răspuns a fost evaluată pe baza coeficientului de corelație Pearson (r). Analiza statistică a fost realizată folosind XLSTAT 2019.1.

2.2.1.2. Rezultate și discuții

O matrice de date cu 15 rânduri (5 replici pentru fiecare tip de floare) și 12 coloane (numărul de variabile, *i.e.*, *TPC0*, *TPC40*, *TPC60*, *TPC100*, *TFC0*, *TFC40*, *TFC60*, *TFC100*, *PI0*, *PI40*, *PI60* și *PI100*) a fost utilizată în PCA. Doar primele două componente principale (PC) au avut valori proprii > 1 (10,20 pentru PC1 și 1,79 pentru PC2). PC1 și PC2 au explicat 99,9% (85,0% + 14,9%) din varianța totală și doar aceste două componente principale au fost luate în considerare în analiza multivariată. Rezultatele prezentate în tabelul 2.10, figura 2.3 și figura 2.4 indică următoarele:

- în funcție de valorile semnificative ale coordonatelor variabilelor pe axele PC1 și PC2 (evidențiate cu caractere aldine în tabelul 2.10), cele mai importante variabile sunt *TPC0*, *TPC40*, *TPC60*, *TPC100*, *TFC0*, *TFC40*, *TFC60*, *PI0*, *PI40*, *PI60* și *PI100* pentru PC1, precum și *TFC100* pentru PC2;

- extractele obținute din salvie (*S. officinalis*) au avut valori mai mari ale variabilelor *TPC0*–100, *TFC0*–60 și *PI0*–100 decât cele preparate din cicoare (*C. intybus*) și busuioc (*O. basilicum*)

(discriminare pe axa PC1 între probele de extracte de *S. officinalis* și celelalte probe din figura 2.3); cu o singură excepție, datele prezentate în figura 2.4 confirmă această constatare, *i.e.*, valorile medii ale variabilelor *TPC0–100*, *TFC0–60* și *PI0–100* pentru probele de extracte de *S. officinalis* (*SO*) (*TPC0–100_{m,SO}* = 46,31–61,77 mg GAE/mg DM, *TFC0–60_{m,SO}* = 24,44 –33,92 mg QE/mg DM și *PI0–100_{m,SO}* = 80,45–89,35%) au fost în general semnificativ mai mari ($p < 0,05$) decât cele pentru probele de extracte de *C. intybus* (*CI*) (*TPC0–100_{m,CI}* = 24,98–31,41 mg GAE/mg DM, *TFC0–60_{m,CI}* = 9,32–12,51 mg QE/mg DM și *PI0–100_{m,CI}* = 70,28–72,81%) și *O. basilicum* (*OB*) (*TPC0–100_{m,OB}* = 31,70–35,76 mg GAE/mg DM, *TFC0–60_{m,OB}* = 19,16–26,02 mg QE/mg DM și *PI0–100_{m,OB}* = 80,45–89,35%); doar *TFC60_{m,SO}* (24,44 mg QE/mg DM) a fost semnificativ mai mic decât *TFC60_{m,OB}* (26,02 mg QE/mg DM);

- extractele obținute din *O. basilicum* au avut valori mai mici ale variabilei *TFC100* decât cele preparate din celelalte plante (discriminare pe axa PC2 între probele de extract de *O. basilicum* și celelalte probe din figura 2.3); datele prezentate în figura 11 confirmă această constatare, *i.e.*, valoarea medie a variabilei *TFC100* pentru probele de extracte de *O. basilicum* (*TFC100_{m,OB}* = 0,97 mg QE/mg DM) a fost semnificativ mai mică decât *TFC100_{m,SO}* = 24,40 mg QE/mg DM și *TFC100_{m,CI}* = 14,85 mg QE/mg DM.

Tabelul 2.10. Coordonatele variabilelor pe axele PC1 și PC2 (*C. intybus*, *O. basilicum* și *S. officinalis*).

No.	Variabilă	Simbol	PC1	PC2
1	Conținutul total de fenoli pentru extracția cu 100% metanol (0%Et)	<i>TPC0</i>	0,989	0,144
2	Conținutul total de fenoli pentru extracția cu 60% metanol + 40% etanol (40%Et)	<i>TPC40</i>	0,944	0,325
3	Conținutul total de fenoli pentru extracția cu 40% metanol + 60% etanol (60%Et)	<i>TPC60</i>	0,944	0,327
4	Conținutul total de fenoli pentru extracția cu 100% etanol (100%Et)	<i>TPC100</i>	0,998	0,050
5	Conținutul total de flavonoide pentru extracția cu 100% metanol (0%Et)	<i>TFC0</i>	1,000	0,013
6	Conținutul total de flavonoide pentru extracția cu 60% metanol + 40% etanol (40%Et)	<i>TFC40</i>	0,997	-0,077
7	Conținutul total de flavonoide pentru extracția cu 40% metanol + 60% etanol (60%Et)	<i>TFC60</i>	0,744	-0,668
8	Conținutul total de flavonoide pentru extracția cu 100% etanol (100%Et)	<i>TFC100</i>	0,513	0,858
9	Activitatea antioxidantă pentru extracția cu 100% metanol (0%Et)	<i>PI0</i>	0,906	-0,422
10	Activitatea antioxidantă pentru extracția cu 60% metanol + 40% etanol (40%Et)	<i>PI40</i>	0,977	0,210
11	Activitatea antioxidantă pentru extracția cu 40% metanol + 60% etanol (60%Et)	<i>PI60</i>	0,967	-0,252
12	Activitatea antioxidantă pentru extracția cu 100% etanol (100%Et)	<i>PI100</i>	0,960	-0,278

Valorile semnificative sunt evidențiate cu caractere aldine.

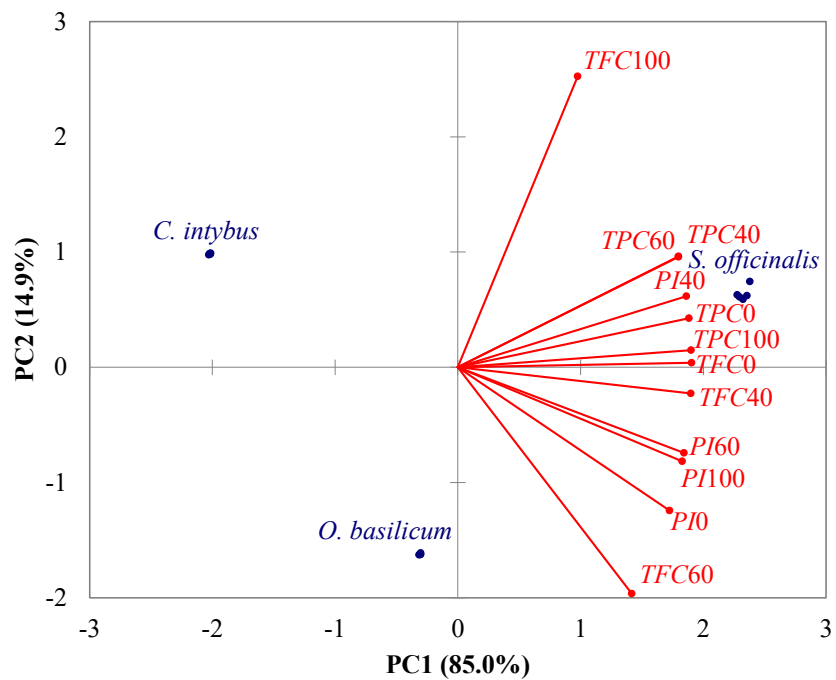
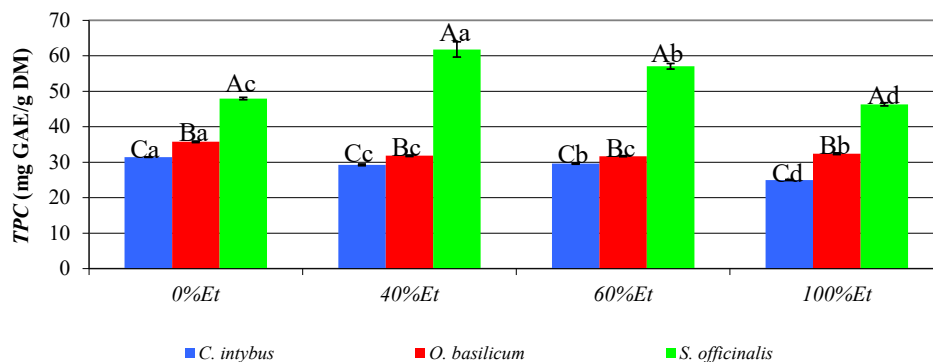
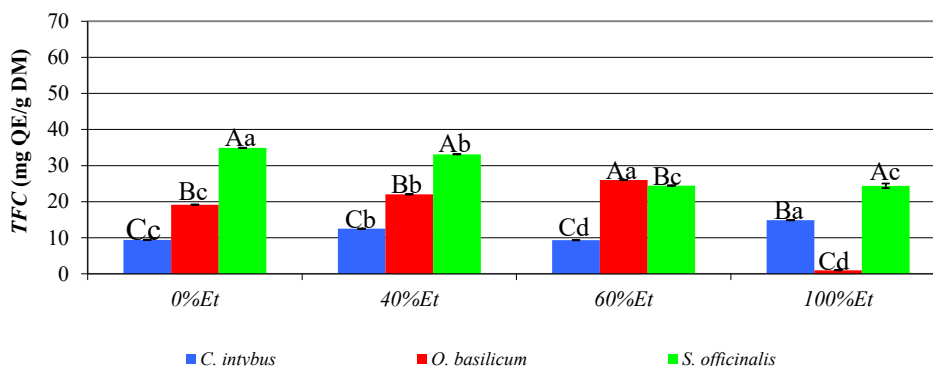


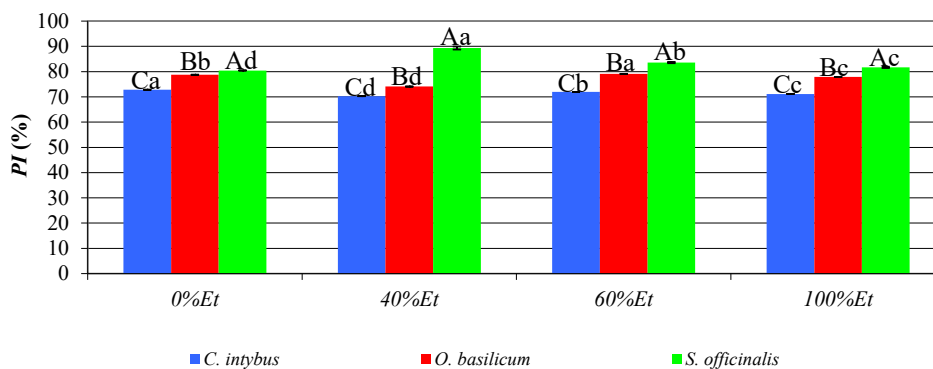
Figura 2.3. Proiecțiile variabilelor (*TPC0–100*, *TFC0–100* și *PI0–100*) și probelor (*C. intybus*, *O. basilicum* și *S. officinalis*) pe planul PC1–PC2.



(a)



(b)



(c)

Figura 2.4. Valorile medii $\pm$ SD ale conținutului total de polifenoli (TPC) (a), conținutului total de flavonoide (TFC) (b) și a procentului de inhibare (PI) (c) pentru extractele de flori comestibile obținute la diferite niveluri ale concentrației de etanol într-o soluție constând din etanol și metanol (0%, 40%, 60% și 100%); literele mari indică diferențe semnificative ($p < 0,05$) între tipul de floare pentru fiecare tratament; literele mici indică diferențe semnificative între tratamente pentru fiecare tip de floare.

Cu excepția corelațiilor nesemnificative dintre variabilele TFC_{60} și TPC_{40} , TFC_{60} și TPC_{60} , TFC_{100} și TFC_{40} , TFC_{100} și TFC_{60} , TFC_{100} și PI_{10} , TFC_{100} și PI_{60} și TFC_{100} și PI_{100} ($-0,191 \leq r \leq 0,486$), celelalte corelații dintre variabile au fost semnificative ($0,525 \leq r \leq 0,999$) (tabelul 2.11).

Tabelul 2.11. Matrice de corelație (*C. intybus*, *O. basilicum* și *S. officinalis*).

Variab.	TPC	TPC4	TPC6	TPC10	TFC	TFC4	TFC6	TFC10	PI0	PI40	PI60	PI100
TPC0	1											
TPC40	0,98	1										
TPC60	0,98	0,997	1									
TPC100	0,99	0,956	0,959	1								
TFC0	0,99	0,947	0,949	0,999	1							
TFC40	0,97	0,915	0,916	0,991	0,99	1						
TFC60	0,64	0,486	0,484	0,709	0,73	0,793	1					
TFC100	0,63	0,763	0,764	0,556	0,52	0,446	-0,191	1				
PI0	0,83	0,718	0,718	0,883	0,90	0,936	0,957	0,103	1			
PI40	0,99	0,992	0,991	0,985	0,98	0,958	0,588	0,681	0,79	1		
PI60	0,92	0,831	0,831	0,953	0,96	0,984	0,888	0,280	0,98	0,89	1	
PI100	0,91	0,815	0,816	0,944	0,95	0,979	0,900	0,255	0,98	0,88	0,99	1

Valorile coeficientului de corelație (r) evidențiate cu caractere aldine sunt diferite de 0 ($\alpha = 0,05$).

De asemenea, datele prezentate în figura 2.4 evidențiază următoarele aspecte:

- pentru probele de extracte de *S. officinalis*, valorile mai mari ale variabilelor *TPC* și *PI* au fost obținute la concentrații de etanol (c_{et}) de 40% ($61,67 \pm 2,14$ mg GAE/mg DM și $89,35 \pm 0,63\%$) și 60% ($57,04 \pm 0,78$ mg GAE/mg DM și $83,56 \pm 0,26\%$) comparativ cu $c_{et} = 0\%$ ($47,93 \pm 0,34$ mg GAE/mg DM și $80,45 \pm 0,04\%$) și $c_{et} = 100\%$ ($46,31 \pm 0,47$ mg GAE/mg DM și $81,73 \pm 0,26\%$); valori mai mari ale *TFC* au fost obținute la $c_{et} = 0\%$ ($34,92 \pm 0,07$ mg QE/mg DM) și $c_{et} = 40\%$ ($33,13 \pm 0,05$ mg QE/mg DM) comparativ cu $c_{et} = 60\%$ ($24,44 \pm 0,03$ mg QE/mg DM) și $c_{et} = 100\%$ ($24,40 \pm 0,61$ mg QE/mg DM); în consecință, operarea la $c_{et} = 40\%$ este mai avantajoasă;

- pentru probele de extracte de *O. basilicum*, cea mai mare valoare a *TPC* a fost obținută la $c_{et} = 0\%$ ($35,76 \pm 0,20$ mg GAE/mg DM) și valorile cele mai mari ale *TFC* și *PI* au fost obținute la $c_{et} = 60\%$ ($26,02 \pm 0,05$ mg QE/mg DM și $79,12 \pm 0,02\%$);

- pentru probele de extracte de *C. intybus*, valori mai mari ale *TPC* au fost obținute la $c_{et} = 0\%$ ($31,41 \pm 0,06$ mg GAE/mg DM), $c_{et} = 40\%$ ($29,28 \pm 0,24$ mg GAE/mg DM) și $c_{et} = 60\%$ ($29,62 \pm 0,16$ mg GAE/mg DM) comparativ cu $c_{et} = 100\%$ ($24,98 \pm 0,16$ mg GAE/mg DM); valori mai mari ale *TFC* au fost obținute la $c_{et} = 100\%$ ($14,85 \pm 0,05$ mg QE/mg DM) și $c_{et} = 40\%$ ($12,51 \pm 0,03$ mg QE/mg DM) comparativ cu $c_{et} = 0\%$ ($9,41 \pm 0,03$ mg QE/mg DM) și $c_{et} = 60\%$ ($9,32 \pm 0,07$ mg QE/mg DM); valori mai mari ale *PI* au fost obținute la $c_{et} = 0\%$ ($72,81 \pm 0,01\%$) și $c_{et} = 60\%$ ($71,99 \pm 0,01\%$) comparativ cu $c_{et} = 40\%$ ($70,28 \pm 0,02\%$) și $c_{et} = 100\%$ ($71,15 \pm 0,01\%$);

- extractele obținute din *S. officinalis* au avut, în general, valori medii semnificativ mai mari ale *TPC* ($46,31$ – $61,77$ mg GAE/mg DM), *TFC* ($24,40$ – $34,92$ mg QE/mg DM) și *PI* ($80,45$ – $89,35\%$) în comparație cu cele obținute din *O. basilicum* și *C. intybus* (doar $TFC_{60m,SO} = 24,4$ mg QE/mg DM < $TFC_{60m,OB} = 26,02$ mg QE/mg DM); aceste valori sunt în concordanță cu datele raportate în literatura de specialitate (Moshari-Nasirkandi et al., 2024; Pop et al., 2015).

Metanolul și soluțiile de metanol extrag în general o cantitate mai mare de compuși bioactivi. Solventul poate fi eliminat apoi din extract, rezultând o pulbere, care, ulterior, poate fi dizolvată într-un solvent ecologic, e.g., etanol.

2.2.1.3. Concluzii

Extrakte de salvie (*S. officinalis*), cicoare (*C. intybus*) și busuioc (*O. basilicum*) au fost obținute prin macerare, folosind etanol, metanol și două amestecuri de etanol și metanol (conținând 40% și 60% etanol) ca solvenți de extracție. Conținutul total de polifenoli (*TPC*), conținutul total de flavonoide (*TFC*) și procentul de inhibare (*PI*) ale extractelor de flori comestibile au fost determinate experimental. Datele experimentale, care au fost procesate folosind PCA și ANOVA cu un singur factor, au indicat următoarele aspecte relevante:

- în general, extractele obținute din *S. officinalis* au avut valori medii semnificativ mai mari ale *TPC*0–100 (46,31–61,77 mg GAE/mg DM), *TFC*0–60 (24,44–34,92 mg QE/mg DM) și *PI*0–100 (80,45–89,35%) comparativ cu cele preparate din *C. intybus* (24,98–31,41 mg GAE/mg DM, 9,32–12,51 mg QE/mg DM și 70,28–72,81%) și *O. basilicum* (31,70–35,76 mg GAE/mg DM, 19,16–26,02 mg QE/mg DM și 80,45–89,35%);

- extractele obținute din *O. basilicum* au avut valori medii semnificativ mai mici ale *TFC*100 (0,97 mg QE/mg DM) decât cele preparate din *S. officinalis* (24,40 mg QE/mg DM) și *C. intybus* (14,85 mg QE/mg DM);

- corelațiile dintre *TPC*, *TFC* și *PI* au fost în general semnificative ($0,525 \leq r \leq 0,999$).

3. CONCLUZII GENERALE ȘI PERSPECTIVE DE CERCETARE

Teza de doctorat intitulată **METODE CHEMOMETRICE UTILIZATE PENTRU EVALUAREA CALITĂȚII PRODUSELOR ALIMENTARE ȘI EFICIENȚEI EXTRAȚIEI COMPUȘILOR BIOACTIVI DIN PLANTE** este structurată în 2 părți principale, *i.e.*, un **STUDIU CRITIC AL DATELOR DE LITERATURĂ**, care conține aspecte relevante despre metodele chemometrice, evaluarea calității mierii de albine și extracția compușilor bioactivi din plantele comestibile, și o parte de **CONTRIBUȚII ORIGINALE**, în care sunt prezentate rezultatele obținute în cercetările proprii. Această parte este structurată în 2 capitole, un capitol referitor la caracterizarea și clasificarea mierii de albine pe baza parametrilor fizico-chimici și a chemometriei, celălalt referitor la efectul solventului de extracție asupra compoziției și activității antioxidante a extractelor de plante comestibile.

În capitolul **2.1. Caracterizarea și clasificarea mierii de salcâm românești pe baza parametrilor fizico-chimici și a chemometriei** sunt prezentate rezultatele analizei fizico-chimice pentru probele de miere de salcâm pură (P), miere falsificată indirect (I), obținută prin hrănirea albinelor cu 3 siropuri industriale diferite, și miere falsificată direct (D), preparată prin amestecarea mierii P cu aceleași siropuri. Studiul a avut ca scop măsurarea parametrilor fizico-chimici relevanți ai probelor de miere și discriminarea mierii pure de cea falsificată pe baza acestor parametri, utilizând PCA și LDA ca instrumente chemometrice.

Au fost analizate 23 de probe de miere (P, I și D) și s-au determinat următoarele variabile: conținuturile de umiditate, cenușă, 5-hidroximetilfurfural (HMF), zaharuri reducătoare (RS) și zaharoză, aciditatea liberă (FA), activitatea diastazei (DA), $\delta^{13}C_H$ și $\delta^{13}C_P$.

Falsificarea probelor de miere a determinat creșterea valorilor medii ale conținutului de apă (cu aproximativ 10%), acidității libere (FA) (de aproximativ 7 ori), conținutului de zaharoză (de 2,6 ori, respectiv 1,7 ori pentru probele I, respectiv D), conținutului de HMF (de aproximativ 25 ori, respectiv 18 ori pentru probele I, respectiv D) și $\Delta\delta^{13}C = \delta^{13}C_H - \delta^{13}C_P$ (de aproximativ 17, respectiv 15 ori pentru probele I, respectiv D), precum și o scădere a valorilor medii ale conținutului de zahăr (cu aproximativ 10%) și activității diastazice (de 2,8, respectiv 2,1 ori pentru probele I, respectiv D) comparativ cu valorile medii ale variabilelor pentru probele P. Valorile obținute pentru activitatea diastazei (DA) și conținuturile de HMF, RS și zaharoză pentru probele de miere D și I nu s-au încadrat în intervalele impuse de standardul național.

Pentru tipurile și dozele de siropuri de zahăr utilizate în acest studiu, falsificarea indirectă a avut efecte similare cu cele produse de falsificarea directă.

Parametrii fizico-chimici luați în considerare în analiza multivariată au fost: conținuturile de umiditate, cenușă, RS, zaharoză și HMF, FA, DA și $\Delta\delta^{13}C$. Conform PCA, spațiul caracteristic cu opt dimensiuni a fost redus la unul bidimensional, în care direcțiile noilor axe au fost definite de către vectorii proprii PC1 și PC2.

PC1 și PC2 au explicat 76,3% (54,0% + 22,3%) din variația totală. Variabilele relevante pe axa PC1 au fost DA, conținutul de HMF, FA, $\Delta\delta^{13}C$ și conținuturile de RS și zaharoză, iar cele importante pe axa PC2 au fost conținutul de umiditate, $\Delta\delta^{13}C$ și conținuturile de zaharoză și cenușă. Trei grupuri de miere bine separate (P, D și I) pe direcția PC1 au fost obținute prin proiectarea probelor de miere pe planul factorial PC1-PC2.

Pornind de la aceste grupuri predefinite, LDA în trepte a indicat faptul că cei mai importanți parametri fizico-chimici discriminatori au fost DA și conținuturile de HMF, RS și zaharoză. Funcțiile liniare de discriminare și clasificare au fost construite pe baza unui set de date de antrenament, iar apoi aceste modele au fost validate folosind un set de date de validare. Cazurile au fost clasificate pe baza celor mai mari valori ale probabilității de clasificare posterioară și scorului funcției de clasificare. Matricile de clasificare pentru seturile de date de antrenament și validare au indicat că 100% din probele de miere au fost atribuite corect grupului lor original.

În consecință, evaluarea parametrilor fizico-chimici folosind PCA și LDA a fost foarte eficientă pentru a discrimina între mierea pură (P) și cea falsificată direct (D) și indirect (I). Pe baza parametrilor fizico-chimici, *i.e.*, DA și conținuturile de HMF, zaharoză și RS, orice probă de miere de salcâm ar putea fi clasificată simplu și rapid ca pură sau falsificată (direct sau indirect) utilizând funcțiile de clasificare obținute prin aplicarea LDA.

Totuși, studiul are unele limitări, *e.g.*, un număr mic de mostre de miere de salcâm, o similaritate relativă a acestora (toate provenind de la același producător și fiind produse în aceeași perioadă). Analiza ar putea fi extinsă folosind mai multe mostre de diferite tipuri de miere colectate de la mai mulți producători într-o perioadă mai lungă.

Capitolul 2.2. Efectul solventului de extracție asupra compoziției și activității antioxidante a extractelor de flori comestibile este structurat în 2 subcapitole, unul referitor la extractele obținute din părțile aeriene ale plantelor de cicoare (*C. intybus*), busuioc (*O. basilicum*) și salvie (*S. officinalis*), celălalt la extractele obținute din florile de albăstrele (*C. cyanus*), gălbenele (*C. officinalis*), hibiscus (*H. sabdariffa*) și mușețel (*M. chamomilla*). Extractele au fost obținute prin macerare cu agitare, utilizând ca solvenți de extracție etanol, metanol și două amestecuri de etanol și metanol (conținând 40% și 60% etanol). Conținutul total de polifenoli (TPC), conținutul total de flavonoide (TFC) și procentul de inhibare (PI) al extractelor au fost variabilele selectate ca răspunsuri ale procesului de extracție. Datele experimentale au fost prelucrate utilizând PCA și ANOVA cu un singur factor.

Rezultatele prezentate în subcapitolul **2.2.1. Efectul solventului de extracție asupra compoziției și activității antioxidante a extractelor de busuioc (*O. basilicum*), cicoare (*C. intybus*) și salvie (*S. officinalis*)** au reliefat următoarele aspecte relevante:

- în general, extractele obținute din salvie au avut valori medii semnificativ mai mari ale TPC0–100 (46,31–61,77 mg GAE/mg DM), TFC0–60 (24,44–34,92 mg QE/mg DM) și PI0–100 (80,45–89,35%) comparativ cu cele preparate din cicoare (24,98–31,41 mg GAE/mg DM, 9,32–12,51 mg QE/mg DM și 70,28–72,81%) și busuioc (31,70–35,76 mg GAE/mg DM, 19,16–26,02 mg QE/mg DM și 80,45–89,35%);

- extractele obținute din busuioc au avut valori medii semnificativ mai mici ale TFC100 (0,97 mg QE/mg DM) decât cele preparate din salvie (24,40 mg QE/mg DM) și cicoare (14,85 mg QE/mg DM);

- corelațiile dintre TPC, TFC și PI au fost în general semnificative ($0,525 \leq r \leq 0,999$).

Metanolul și soluțiile de metanol extrag în general o cantitate mai mare de compuși bioactivi. Solventul poate fi eliminat apoi din extract, rezultând o pulbere, care, ulterior, poate fi dizolvată într-un solvent ecologic, *e.g.*, etanol.

Rezultatele prezentate în subcapitolul 2.2.2. **Efectul solventului de extracție asupra compoziției extractelor de albăstrele (*C. cyanus*), gălbenele (*C. officinalis*), hibiscus (*H. sabdariffa*) și mușețel (*M. chamomilla*)** au indicat următoarele aspecte:

- extractele obținute din gălbenele au avut valori medii semnificativ mai mari ale variabilelor *TPC*0–100 (49,13–62,36 mg GAE/mg DM), *TFC*0, *TFC*40 și *TFC*100 (32,46–34,72 mg QE/mg DM) decât cele preparate din albăstrele (27,26–35,38 mg GAE/mg DM, respectiv 6,46–9,58 mg QE/mg DM), mușețel (30,62–33,84 mg GAE/mg DM, respectiv 7,64–9,98 mg QE/mg DM) și hibiscus (33,16–35,03 mg GAE/mg DM, respectiv 12,00–13,64 mg QE/mg DM);

- valoarea medie a variabilei *TFC*60 pentru extractul de hibiscus (26,76 mg QE/mg DM) a fost semnificativ mai mare decât valorile medii ale variabilei *TFC*60 pentru extractele de gălbenele (18,22 mg QE/mg DM), albăstrele (5,93 mg QE/mg DM) și mușețel (5,87 mg QE/mg DM);

- *TPC*0, *TPC*40, *TPC*60, *TPC*100, *TFC*0, *TFC*40 și *TFC*100 au fost corelate direct foarte puternic ($0,966 \leq r \leq 0,999$); exceptând corelația semnificativă dintre *TFC*60 și *TFC*0 ($r = 0,480$), corelațiile dintre *TFC*60 și celelalte variabile au fost nesemnificative ($0,262 \leq r \leq 0,405$);

- pentru extractele de gălbenele, valoarea medie a *TPC* obținută la extracția cu etanol (62,36 mg GAE/mg DM) a fost semnificativ mai mare decât valorile medii obținute la extracțiile cu ceilalți solvenți (49,13–52,69 mg GAE/mg DM); valoarea medie a *TFC* obținută la extracția cu etanol (2,46 mg QE/mg DM) a fost mai mică cu până la 7% decât cele mai mari valori medii ale *TFC* obținute la extracțiile cu metanol (34,51 mg QE/mg DM), respectiv solvent conținând 40% etanol (34,72 mg QE/mg DM); astfel, etanolul este un solvent eficient pentru extracția compușilor fenolici din florile de gălbenele;

- pentru extractele de mușețel, valoarea medie a *TFC* obținută la extracția cu etanol (9,98 mg QE/mg DM) a fost semnificativ mai mare decât valorile medii obținute la extracțiile cu ceilalți solvenți (5,87–8,57 mg QE/mg DM); astfel, etanolul este un solvent eficient pentru extracția flavonoidelor din florile de mușețel.

Cercetările întreprinse până acum pot fi continuate/aprofundate în viitoare studii. **Principalele obiective/direcții de cercetare pe care le vizez în continuare** se referă la:

- evaluarea calității altor produse alimentare (uleiuri, vinuri) pe baza analizelor specifice și a chemometriei;
- extracția compușilor bioactivi, *e.g.*, compuși fenolici (acizi fenolici, flavonoide, cumarine, lignani, taninuri), alcaloizi, glicozide, terpenoizi (monoterpenoizi, sescviterpenoizi, diterpenoizi, triterpenoizi, tetraterpenoizi), din alte plante comestibile utilizând diferite tehnici convenționale/neconvenționale și programare a experimentelor;
- evaluarea activității antioxidante și/sau antimicrobiene a extractelor obținute și integrarea acestora în formulări cosmetice și/sau produse alimentare.

LISTA DE LUCRĂRI

Lucrări publicate în reviste indexate/cotate ISI:

1. **Donise, A.C.**, Pârvulescu, O.C., Crăciun, M.E., Popescu, G.E., Drăghici-Popa, A.M, Tudor, C.A. Effect of extraction solvent on the composition and antioxidant activity of edible flower extracts. *U.P.B. Sci. Bull. Series B* **2025**, 87(4) (acceptat spre publicare). **FI (2024): 0,3**.
2. Crăciun, M.E., Pârvulescu, O.C., **Donise, A.C.**, Dobre, T., Stanciu, D.R. Characterization and classification of Romanian acacia honey based on its physicochemical parameters and chemometrics. *Scientific Reports* **2020**, 10(1), 20690. **FI (2020): 4,379**. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77685-9>

Prezentări orale (O)/postere (P) la conferințe/simpozioane internaționale:

1. **Donise, A.C.**, Crăciun, M.E., Cristea, C. *Microbial incidence in food products of animal origin*. 23rd Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE 23), 4-7 septembrie 2024, Constanța - Mamaia, România (P).
2. **Donise, A.C.**, Mirică, O., Crăciun, M.E., Pârvulescu O.C. *Statistical approach on sensory quality of croissants stored in improper conditions*. 16th International Conference of Constructive Design and Technological Optimization in Machine Building Field (OPROTEH), 25-27 mai 2021, Bacău, România (P).
3. Popescu, G.E., **Donise, A.C.**, Păun, A., Crăciun, M.E. *Quality control of Metaxa cognac*. The Virtual Eurachem Workshop 2020 - "Quality Assurance for Analytical Laboratories in the University", 14-15 iulie 2020 (O).
4. **Donise, A.C.**, Popescu, G.E., Păun, A., Crăciun, M.E. *Determination of chemical and nutritional characteristics of edible flowers*. The Virtual Eurachem Workshop 2020 - "Quality Assurance for Analytical Laboratories in the University", 14-15 iulie 2020 (P).
5. Crăciun, M.E., Pârvulescu, O.C., **Donise, A.C.** *Detection of adulterated honey based on Romanian standardized methods*. 11th International Conference of Applied Sciences (CISA 2019), 22-24 mai 2019, Bacău, România (P).
6. Marinică, A.D., Savu, A.V., **Donise, A.C.**, Crăciun, M.E. *Enzymatic dosing on honey*. IașiCHEM 2018, 26 octombrie 2018, Iași, România (P).

BIBLIOGRAFIE

1. Achoribo, E. S., Achel, D., Gibrilla, A., Adaboro, M., & Palm, L. (2012). Evaluation of total flavonoid, and total phenolic contents of dried calyx preparations of Bissap (*Hibiscus sabdariffa*). *Elixir Pharmacy*, 45, 7660-7663.
2. Agbo, M. O., Uzor, P. F., Nneji, U. N. A., Odurukwe, C. U. E., Ogbatue, U. B., Mbaaji, E. C. (2015). Antioxidant, total phenolic and flavonoid content of selected nigerian medicinal plants. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 14 (1), 35-41.
3. Ahmad, S., Ahmed, W., Mihoub, A., Jamal, A., Farhan Saeed, M., Masood, N., ... & Nicola, S. (2023). Developmental, phytochemical and enzymatic changes in pot marigold (*Calendula officinalis* L.) cvs. hybrid and french with salicylic acid (SA) and polyamine spermidine (SP) foliar spray. *Agronomy*, 13(1), 191.
4. Ak, G., Zengin, G., Ceylan, R., Fawzi Mahomoodally, M., Jugreet, S., Mollica, A., & Stefanucci, A. (2021). Chemical composition and biological activities of essential oils from *Calendula officinalis* L. flowers and leaves. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(5), 554-563.
5. Akbari, E., Baigbabaei, A., & Shahidi, M. (2020). Determination of the floral origin of honey based on its phenolic profile and physicochemical properties coupled with chemometrics. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 506-519.
6. Al-Dabbagh, B., Elhaty, I. A., Elhaw, M., Murali, C., Al Mansoori, A., Awad, B., & Amin, A. (2019). Antioxidant and anticancer activities of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *BMC research notes*, 12(1), 3.
7. Al-Farsi, M., Al-Belushi, S., Al-Amri, A., Al-Hadhrami, A., Al-Rusheidi, M., & Al-Alawi, A. (2018). Quality evaluation of Omani honey. *Food Chemistry*, 262, 162–167.
8. Almasaudi, S. (2021). The antibacterial activities of honey. *Saudi journal of biological sciences*. 28(4), 2188-2196.
9. Al-Snafi, A. E., & Hasham, L. F. (2023). Bioactive constituents and pharmacological importance of *Matricaria chamomilla*: A recent review. *GSC Biol. Pharm. Sci*, 22, 079-098.
10. AOAC (1990). *Official methods of analysis*. In K. Helrich (Ed.) (15th ed.). Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists, Inc.
11. AOAC official method 998.12 (2005). *C-4 plant sugars in honey. Internal standard stable carbon isotope ratio method*. 44.4.18A.
12. Balakrishnama, S., & Ganapathiraju, A. (1998). Linear discriminant analysis-a brief tutorial. *Institute for Signal and information Processing*. 18, 1-8.
13. Ball, D. W. (2007). The chemical composition of honey. *Journal of chemical education*, 84(10), 1643.
14. Barani, Y. H., Zhang, M., Mujumdar, A. S., & Chang, L. (2022). Preservation of color and nutrients in anthocyanin-rich edible flowers: Progress of new extraction and processing techniques. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(9), e16474.
15. Barros, R. G. C., Andrade, J. K. S., Pereira, U. C., de Oliveira, C. S., Rezende, Y. R. R. S., Silva, T. O. M., Nogueira, J.P., Gualberto, N.C., Araujo, H.C.S., Narain, N. (2020). Phytochemicals screening, antioxidant capacity and chemometric characterization of four edible flowers from Brazil. *Food Research International*, 130, 108899.
16. Benković-Lačić, T., Orehovec, I., Miroslavljević, K., Benković, R., Čavar Zeljković, S., Štefelová, N., Tarkowski, T., Salopek-Sondi, B. (2023). Effect of drying methods on chemical profile of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) flowers. *Sustainability*, 15(21), 15373.
17. Benvenuti, S., Bortolotti, E., & Maggini, R. (2016). Antioxidant power, anthocyanin content and organoleptic performance of edible flowers. *Scientia Horticulturae*, 199, 170-177.
18. Bhattacharjee S. (1994). Chemometrics in analytical chemistry, *Chemical Engineering*, 1–13.
19. Birsa, M. L. & Sarbu, L. (2023). G. Health benefits of key constituents in *Cichorium intybus* L. *Nutrients*, 15(6), 1322.

20. Bljajić, K., Brajković, A., Čačić, A., Vujić, L., Jablan, J., Saraiva de Carvalho, I., & Zovko Končić, M. (2021). Chemical composition, antioxidant, and α -glucosidase-inhibiting activity of aqueous and hydroethanolic extracts of traditional antidiabetics from Croatian ethnomedicine. *Horticulturae*, 7(2), 15.
21. Bogdanov, S., Martin, P., & Lüllmann, C. (1997). Harmonised methods of the European honey commission. *Apidologie, extra issue*, 1-59.
22. Braguto Escher, G., Cardoso Borges, L. D. C., Sousa Santos, J., Mendanha Cruz, T., Boscacci Marques, M., Araújo Vieira do Carmo, M., ... & Granato, D. (2019). From the field to the pot: Phytochemical and functional analyses of *Calendula officinalis* L. flower for incorporation in an organic yogurt. *Antioxidants*, 8(11), 559.
23. Brereton, R. G. (2003). *Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant*. John Wiley & Sons.
24. Butnariu, M., & Coradini, C. Z. (2012). Evaluation of biologically active compounds from *Calendula officinalis* flowers using spectrophotometry. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 35.
25. Cacique, A. P., Barbosa, É. S., Pinho, G. P. D., & Silvério, F. O. (2020). Maceration extraction conditions for determining the phenolic compounds and the antioxidant activity of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Ciência e Agrotecnologia*, 44, e017420.
26. Castronuovo, D., Russo, D., Libonati, R., Faraone, I., Candido, V., Picuno, P., Andrade, P., Valentao, P., Milella, L. (2019)/ Influence of shading treatment on yield, morphological traits and phenolic profile of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Scientia Horticulturae*, 254, 91-98.
27. Catani, M. V., Rinaldi, F., Tullio, V., Gasperi, V., & Savini, I. (2021). Comparative analysis of phenolic composition of six commercially available chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) extracts: Potential biological implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10601.
28. Cengiz, M. M., Tosun, M., & Topal, M. (2018). Determination of the physicochemical properties and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratios of some honeys from the northeast Anatolia region of Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 69, 39-44.
29. Chen, G. L., Chen, S. G., Xie, Y. Q., Chen, F., Zhao, Y. Y., Luo, C. X., & Gao, Y. Q. (2015). Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to in vitro digestion. *Journal of Functional Foods*, 17, 243-259.
30. Chitrakar, B., Zhang, M., & Bhandari, B. (2019). Edible flowers with the common name “marigold”: Their therapeutic values and processing. *Trends in Food Science & Technology*, 89, 76-87.
31. Çınar, S. B., Ekşi, A., & Coşkun, İ. (2014). Carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of pine honey and detection of HFCS adulteration. *Food Chemistry*, 157, 10-13.
32. Codex Alimentarius Commission. *Codex Standard for honey* (2001). CODEX STAN 12-1981. Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World health Organization. Rome, Italy.
33. Cordella, C., Militão, J. S. L. T., Clément, M. C., Drajnudel, P., & Cabrol-Bass, D. (2005). Detection and quantification of honey adulteration via direct incorporation of sugar syrups or bee-feeding: Preliminary study using high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 531, 239-248.
34. Crane, E., & Visscher, P. K. (2009). Honey. In *Encyclopedia of insects* (pp. 459-461). Academic Press.
35. Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, 309-323.
36. Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji S., Ju, Y. H. (2024) Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 2014, 296-302.

37. Dorozko, J., Kunkulberga, D., Sivicka, I., & Kruma, Z. (2019). The influence of various drying methods on the quality of edible flower petals. In *Conference Proceedings. Foodbalt* (Vol. 13, pp. 182-187).
38. Drăghici-Popa, A. M., Pârvulescu, O. C., Stan, R., Brezoiu, A. M. (2025). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Romanian blackthorn (*Prunus spinosa* L.) fruits. *Antioxidants*, 14(6), 680.
39. Duletić-Laušević, S., Alimpić-Aradski, A., Živković, J., Gligorijević, N., Šavikin, K., Radulović, S., Čoćić, D., Marin, P. D. (2019). Evaluation of bioactivities and phenolic composition of extracts of *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) collected in Montenegro. *Botanica Serbica*, 43(1), 47-58.
40. Egri, D., Pârvulescu, O. C., Ion, V. A., Răducanu, C. E., Calcan, S. I., Bădulescu, L., Madjar, R., Orbeci, C., Dobre, T., Moț, A. et al. (2023). Vine pruning-derived biochar for agronomic benefits. *Agronomy*, 12(11), 2730.
41. Elmastas, M., Çinkiliç, S., & Aboul-Enein, H. Y. (2015). Antioxidant capacity and determination of total phenolic compounds in daisy (*Matricaria chamomilla*, Fam. Asteraceae). *World Journal of Analytical Chemistry*, 3(2), 9-14.
42. Epure, A., Pârvu, A. E., Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Gheldiu, A. M., Toma, V. Al., Oniga, I. (2021). Phytochemical profile, antioxidant, cardioprotective and nephroprotective activity of romanian chicory extract. *Plants*, 10(1), 64.
43. Eray, N., Kartal, D. İ., Çelik, İ. (2020). Antioxidant properties of *Cichorium intybus* L. (chicory) extracts and their cytotoxic effects on HepG2 cells. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences*, 30(3), 444-453.
44. Escobar-Ortiz, A., Castaño-Tostado, E., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., & Reynoso-Camacho, R. (2021). Anthocyanins extraction from *Hibiscus sabdariffa* and identification of phenolic compounds associated with their stability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1), 110-119.
45. Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Ramalhosa, E. (2017). Edible flowers: A review of the nutritional, antioxidant, antimicrobial properties and effects on human health. *Journal of Food Composition and Analysis*, 60, 38-50.
46. Fernandes, L., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., Ramalhosa, E., & Casal, S. (2019). Phytochemical characterization of *Borago officinalis* L. and *Centaurea cyanus* L. during flower development. *Food Research International*, 123, 771-778.
47. Fernandes, L., Ramalhosa, E., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Casal, S. (2020). Borage, camellia, centaurea and pansies: Nutritional, fatty acids, free sugars, vitamin E, carotenoids and organic acids characterization. *Food Research International*, 132, 109070.
48. Fernandes, L., Ramalhosa, E., Pereira, J. A., Saraiva, J. A., & Casal, S. (2018). The unexplored potential of edible flowers lipids. *Agriculture*, 8(10), 146.
49. Fernández, J. A. (2006). Anticancer properties of saffron, *Crocus sativus* Linn. *Advances in phytomedicine*, 2, 313-330.
50. Ferreira, S. L. C. (2019). Chemometrics and statistics experimental design. *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*, 420-424.
51. Ferreira-González, M., Espada-Bellido, E., Guillén-Cueto, L., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2018). Rapid quantification of honey adulteration by visible-near infrared spectroscopy combined with chemometrics. *Talanta*, 188, 288-292.
52. Floares, D., Cocan, I., Alexa, E., Poiana, M. A., Berbecea, A., Boldea, M. V., Negrea, M., Obistioiu, D., & Radulov, I. (2023). Influence of extraction methods on the phytochemical profile of *Sambucus nigra* L. *Agronomy*, 13(12), 3061.
53. Frent, O. D., Marian, E., Morgovan, C. M., Vicas, L. G., Antal, D., Jurca, T., Pallag, A., Mureșan, M., Dejeu, I. L. (2023). Determination of the total content of metals, polyphenols, flavonoids and the antioxidant capacity of methanolic and chloroformic extracts from *Cichorium intybus*. *Romanian Journal of Pharmaceutical Practice*, 16(3-4).

54. García-Pérez, P., Becchi, P. P., Zhang, L., Rocchetti, G., & Lucini, L. (2024). Metabolomics and chemometrics: The next-generation analytical toolkit for the evaluation of food quality and authenticity. *Trends in Food Science & Technology*, 147, 104481.
55. Gavrilă, A. I., Chisega-Negrilă, C. G., Maholea, L., Gavrilă, M. L., Pârvulescu, O. C., Popa, I. (2023). Enhancing the extraction process efficiency of thyme essential oil by combined ultrasound and microwave techniques. *Agronomy*, 13(9), 2331.
56. Gemperline, P. J. (2006). Principal component analysis. *Practical guide to chemometrics*, 2, 69-104.
57. Gird, C. E., Costea, T., Nencu, I., Dutu, L. E., Popescu, L., & Balaci, T. D. (2015). Comparative pharmacognostic analysis of romanian *Ocimum Basilicum* L. and *O. Basilicum* Var. *Purpurascens* Benth. aerial parts. *Farmacina*, 63(6), 840-844.
58. Gomes, S., Dias, L. G., Moreira, L.L., Rodrigues, P., & Estevinho, L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 544-548.
59. González-Barrio, R., Periago, M. J., Luna-Recio, C., Garcia-Alonso, F. J., & Navarro-González, I. (2018). Chemical composition of the edible flowers, pansy (*Viola wittrockiana*) and snapdragon (*Antirrhinum majus*) as new sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 252, 373-380.
60. Gostin, A. I., & Waisundara, V. Y. (2019). Edible flowers as functional food: A review on artichoke (*Cynara cardunculus* L.). *Trends in Food Science & Technology*, 86, 381-391.
61. Guler, A., Bakan, A., Nisbet, C., & Yavuz, O. (2007). Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (*Saccharum officinarum* L.) syrup. *Food Chemistry*, 105, 1119-1125.
62. Guler, A., Kocaokutgen, H., Garipoglu, A. V., Onder, H., Ekinici, D., & Biyik, S. (2014). Detection of adulterated honey produced by honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies fed with different levels of commercial industrial sugar (C₃ and C₄ plants) syrups by the carbon isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, 155, 155-160.
63. Hanganu, A., Todașcă, M. C., Chira, N. A., Maganu, M., & Roșca, S. (2012). The compositional characterisation of Romanian grape seed oils using spectroscopic methods. *Food Chemistry*, 134, 2453-2458.
64. Hanrahan, G., Zhu, J., Gibani, S., Patil, D. G. (2005). Chemometrics and statistics| experimental design, *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*, 8-13.
65. Hao, S., Li, J., Liu, X., Yuan, J., Yuan, W., Tian, Y., & Xuan, H. (2021). Authentication of acacia honey using fluorescence spectroscopy. *Food Control*, 130, 108327.
66. Haratym, W., Weryszko-Chmielewska, E., & Konarska, A. (2020). Microstructural and histochemical analysis of aboveground organs of *Centaurea cyanus* used in herbal medicine. *Protoplasma*, 257(1), 285-298.
67. Héberger, K. (2008). Chemoinformatics—multivariate mathematical—statistical methods for data evaluation. *Medical applications of mass spectrometry*, 141-169.
68. Hemat, N., Meftahizadeh, H., Ghorbanpour, M., Dehestani-Ardakani, M., & Gholamnezhad, J. (2024). Unveiling the potential role of gibberellic acid, melatonin and indole acetic acid on parthenocarpy, physiological traits and phytochemical responses in *Hibiscus sabdariffa* L. *Scientific Reports*, 14(1), 23807.
69. Hidayat, R., & Wulandari, P. (2021). Methods of extraction: Maceration, percolation and decoction. *Eureka Herba Indonesia*, 2(1), 68-74.
70. Horozić, E., Kolarević, L., Bajić, M., Alić, L., Babić, S., & Ahmetašević, E. (2023). Comparative study of antioxidant capacity, polyphenol and flavonoid content of water, ethanol and water-ethanol Hibiscus extracts. *European Journal of Advanced Chemistry Research*, 4(2), 13-16.

71. Isopescu, R. D., Josceanu, A. M., Colta, T., & Spulber, R. (2017). *Romanian Honey: Characterization and Classification*, Honey Analysis Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, IntechOpen.
72. Isopescu, R. D., Josceanu, A. M., Minca, I., Colta, T., Postelnicescu, P., & Mateescu, C. (2014). Characterization of Romanian honey based on physico-chemical properties. *Revista de Chimie*, 65(4), 381-385.
73. Jakovljević, M., Jokić, S., Molnar, M., Jašić, M., Babić, J., Jukić, H., Banjari, I. (2019). Bioactive profile of various *Salvia officinalis* L. preparations. *Plants*, 8(3), 55.
74. Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Petecka, M., Buslovych, O., Shlyapnikov, V. A., Wieczorek, P. P. (2018). Antioxidant phenolic compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. *Ecological Chemistry and Engineering*, 25(1), 133.
75. Juan-Borrás, M., Domenech, E., Hellebrandova, M., & Escriche, I. (2014). Effect of country origin on physicochemical, sugar and volatile composition of acacia, sunflower and tilia honeys. *Food Research International*, 60, 86-94.
76. Kaisoon, O., Siriamornpun, S., Weerapreeyakul, N., & Meeso, N. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. *Journal of Functional Foods*, 3(2), 88-99.
77. Kaurinovic, B., Popovic, M., Vlaisavljevic, S., Trivic, S. (2011). Antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. extracts. *Molecules*, 16(9), 7401-7414.
78. Khammar, A., & Djeddi, S. (2012). Pharmacological and biological properties of some *Centaurea* species. *Eur. J. Sci. Res.*, 84(3), 398-416.
79. Kherif, F., & Latypova, A. (2020). Principal component analysis. In *Machine learning* (pp. 209-225). Academic Press.
80. Kilic, S. & Bolukbasi, M. (2020). Phytochemical accumulation with photomorphogenesis and physiology of *Salvia officinalis* L. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 19(5), 101-113.
81. Koike, A., Barreira, J. C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Villavicencio, A. L., & Ferreira, I. C. (2015). Edible flowers of *Viola tricolor* L. as a new functional food: Antioxidant activity, individual phenolics and effects of gamma and electron-beam irradiation. *Food Chemistry*, 179, 6-14.
82. Kukurová, K., Karovičová, J., Kohajdová, Z., & Bíliková, K. (2008). Authentication of honey by multivariate analysis of its physico-chemical parameters. *Journal of Food and Nutrition Research*, 47(4), 170-180.
83. Kwee, E. M., Niemeyer, E. D. (2011). Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 128(4), 1044-1050.
84. Li, A. N., Li, S., Li, H. B., Xu, D. P., Xu, X. R., & Chen, F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. *Journal of Functional Foods*, 6, 319-330.
85. Li, S., Shan, Y., Zhu, X., Zhang, X., & Ling, G. (2012). Detection of honey adulteration by high fructose corn syrup and maltose syrup using Raman spectroscopy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 28, 69-74.
86. Lim, T. K. (2014). *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants: Volume 7, Flowers*. Dordrecht: Springer Netherlands.
87. Loizzo, M. R., Pugliese, A., Bonesi, M., Tenuta, M. C., Menichini, F., Xiao, J., & Tundis, R. (2016). Edible flowers: a rich source of phytochemicals with antioxidant and hypoglycemic properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(12), 2467-2474.
88. Lu, B., Li, M., & Yin, R. (2016). Phytochemical content, health benefits, and toxicology of common edible flowers: A review (2000–2015). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(sup1), S130-S148.
89. Maciel, L. G., do Carmo, M. A. V., Azevedo, L., Daguer, H., Molognoni, L., de Almeida, M. M., Granato, D., Rosso, N. D. (2018). *Hibiscus sabdariffa* anthocyanins-rich extract: Chemical

- stability, in vitro antioxidant and antiproliferative activities. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 187-197.
90. Marghitas, L. A., Dezmirean, D. S., Pocol, C. B., Ilea, M., Bobis, O., & Gergen, I. (2010). The development of a biochemical profile of acacia honey by identifying biochemical determinants of its quality. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(2), 84-90.
 91. Marill, K. A. (2004). Advanced statistics: Linear regression, part II: Multiple linear regression. *Academic Emergency Medicine*, 11(1), 94-102.
 92. Marțiș, G. S., Mureșan, V., Marc, R. M., Mureșan, C. C., Pop, C. R., Buzgău, G., Muste, S. (2021). The physicochemical and antioxidant properties of *Sambucus nigra* L. and *Sambucus nigra* Haschberg during growth phases: From buds to ripening. *Antioxidants*, 10(7), 1093.
 93. Matyjaszczyk, E., & Śmiechowska, M. (2019). Edible flowers. Benefits and risks pertaining to their consumption. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 670-674.
 94. Mădaș, N. M., Mărghitaș, L. A., Dezmirean, D. S., Bonta, V., Bobiș, O., Fauconnier, M. L., Francis, F., Haubruge, E., Nguyen, K. B. (2019). Volatile profile and physico-chemical analysis of acacia honey for geographical origin and nutritional value determination. *Foods*, 8(10), 445.
 95. Mărghitaș, L. A., Dezmirean, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., & Bogdanov, S. (2009). Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chemistry*, 112, 863–867.
 96. Miguel, M., Barros, L., Pereira, C., Calhelha, R. C., Garcia, P. A., Castro, M. Á., Santos-Buelga, C., Ferreira, I. C. (2016). Chemical characterization and bioactive properties of two aromatic plants: *Calendula officinalis* L. (flowers) and *Mentha cervina* L. (leaves). *Food & Function*, 7(5), 2223-2232.
 97. Milena, V., Tatjana, M., Gökhan, Z., Ivana, B., Aleksandra, C., Mohammad, M. F., & Marija, R. (2019). Advantages of contemporary extraction techniques for the extraction of bioactive constituents from black elderberry (*Sambucus nigra* L.) flowers. *Industrial Crops and Products*, 136, 93-101.
 98. Mlcek, J., & Rop, O. (2011). Fresh edible flowers of ornamental plants—A new source of nutraceutical foods. *Trends in Food Science & Technology*, 22(10), 561-569.
 99. Moshari-Nasirkandi, A., Iaccarino, N., Romano, F., Graziani, G., Alirezalu, A., Alipour, H., Amato, J. (2024). Chemometrics-based analysis of the phytochemical profile and antioxidant activity of *Salvia* species from Iran. *Scientific Reports*, 14(1), 17317.
 100. Moț, A., Pârvolescu, O. C., Ion, V. A., Moloșag, A., Dobrin, A., Bădulescu, L., Orbeci, C., Egri, D., Dobre, T., Løes, A. K., et al. (2024). Preparation, characterization, and testing of compost tea derived from seaweed and fish residues. *Agronomy*, 14(9), 1919.
 101. Mračević, S. Đ., Krstić, M., Lolić, A., & Ražić, S. (2020). Comparative study of the chemical composition and biological potential of honey from different regions of Serbia. *Microchemical Journal*, 152, 104420.
 102. Mubashar Sabir, S., Khan, M. F., Rocha, J. B. T., Boligon, A. A., & Athayde, M. L. (2015). Phenolic profile, antioxidant activities and genotoxic evaluations of *Calendula officinalis*. *Journal of Food Biochemistry*, 39(3), 316-324.
 103. Nadeem, H. R., Akhtar, S., Sestili, P., Ismail, T., Neugart, S., Qamar, M., & Esatbeyoglu, T. (2022). Toxicity, antioxidant activity, and phytochemicals of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves cultivated in Southern Punjab, Pakistan. *Foods*, 11(9), 1239.
 104. Naila, A., Flint, S. H., Sulaiman, A. Z., Ajit, A., & Weeds, Z. (2018). Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants. *Food Control*, 90, 152-165.
 105. Nayik, G. A. & Nanda, V. (2015). Physico-chemical, enzymatic, mineral and colour characterization of three different varieties of honeys from Kashmir valley of India with a multivariate approach. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, 65(2), 101-108.
 106. Nayik, G. A., Suhag, Y., Majid, I., & Nanda, V. (2018). Discrimination of high altitude Indian honey by chemometric approach according to their antioxidant properties and macro minerals. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17, 200-207.

107. Obeidat, S. M., Hammoudeh, A. Y., & Alomary, A. A. (2018). Application of FTIR spectroscopy for assessment of green coffee beans according to their origin. *Journal of Applied Spectroscopy*, 84(6), 1051-1055.
108. Obouayeba, A. P., Diarrassouba, M., Soumahin, E. F., & Kouakou, T. H. (2015). Phytochemical analysis, purification and identification of *Hibiscus* anthocyanins. *J. Pharm. Chem. Biol. Sci.*, 3(2), 156-168.
109. Ochoa-Velasco, C. E., & Ruiz-López, I. I. (2019). Mass transfer modeling of the antioxidant extraction of roselle flower (*Hibiscus sabdariffa*). *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 1008-1015.
110. Onofrei, V., Teliban, G. C., Burducea, M., Lobiuc, A., Sandu, C. B., Tocai, M., & Robu, T. (2017). Organic foliar fertilization increases polyphenol content of *Calendula officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 109, 509-513.
111. Oroian, M., Ropciuc, S., Paduret, S., & Todosi, E. (2018). Rheological analysis of honeydew honey adulterated with glucose, fructose, inverted sugar, hydrolysed inulin syrup and malt wort. *LWT–Food Science and Technology*, 95, 1-8.
112. Ossipov, V., Khazieva, F., Baleev, D., Salminen, J. P., & Sidelnikov, N. (2024). Comparative metabolomics of ligulate and tubular flowers of two cultivars of *Calendula officinalis* L. *Metabolites*, 14(3), 140.
113. Özcan, M., Arslan, D., & Ceylan, D. A. (2006). Effect of inverted saccharose on some properties of honey. *Food Chemistry*, 99, 24-29.
114. Padovan, G. J., De Jong, D., Rodrigues, L. P., & Marchini, J. S. (2003). Detection of adulteration of commercial honey samples by the ¹³C/¹²C isotopic ratio. *Food Chemistry*, 82, 633-636.
115. Pereira, O. R., Catarino, M. D., Afonso, A. F., Silva, A. M. S., Cardoso, S. M. (2018). *Salvia elegans*, *Salvia greggii* and *Salvia officinalis* decoctions: Antioxidant activities and inhibition of carbohydrate and lipid metabolic enzymes. *Molecules*, 23 (12), 3169.
116. Perović, J., Šaponjac, V. T., Kojić, J., Krulj, J., Moreno, D. A., García-Viguera, C., Bodroža-Solarov, M., Ilić, N. (2021). Chicory (*Cichorium intybus* L.) as a food ingredient – Nutritional composition, bioactivity, safety, and health claims: A review. *Food Chemistry*, 336, 127676.
117. Pierna, J. A. F., Abbas, O., Dardenne, P., & Baeten, V. (2011). Discrimination of Corsican honey by FT-Raman spectroscopy and chemometrics. *Base*.
118. Pietkova, I., Unhurian, L., & Horiacha, L. (2022). Identification and quantitative content of chlorogenic and rosmarinic acids in *Centaurea cyanus* L. and *Centaurea montana* L. herbs. *Annals of Mechnikov's Institute*, (1), 10-14.
119. Pimentel-Moral, S., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., Arráez-Román, D., Martínez-Férez, A., & Segura-Carretero, A. (2018). Microwave-assisted extraction for *Hibiscus sabdariffa* bioactive compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 156, 313-322.
120. Pinke, G., Kapesándi, V., & Czúcz, B. (2022). Iconic arable weeds: The significance of corn poppy (*Papaver rhoeas*), cornflower (*Centaurea cyanus*), and field larkspur (*Delphinium consolida*) in Hungarian ethnobotanical and cultural heritage. *Plants*, 12(1), 84.
121. Pires Jr, E. D. O., Di Gioia, F., Roupahel, Y., Ferreira, I. C., Caleja, C., Barros, L., & Petropoulos, S. A. (2021). The compositional aspects of edible flowers as an emerging horticultural product. *Molecules*, 26(22), 6940.
122. Pires, T. C., Barros, L., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2019). Edible flowers: Emerging components in the diet. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 244-258.
123. Pirvu, L., Dragomir, C., Schiopu, S., & Mihul, S. C. (2012). Vegetal extracts with gastroprotective activity. Part. I. Extracts obtained from *Centaurea cyanus* L. raw material. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(2), 7169-7176.

124. Pop , A. V., Tofană, M., Socaci, S. A., Vârban, D., Nagy, M., Borş, M. D., Sfechiş, S. (2015). Evaluation of antioxidant activity and phenolic content in different *Salvia officinalis* L. extracts, *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 72 (2), 210-214.
125. Preethi, K. C., Kuttan, G., & Kuttan, R. (2006). Antioxidant potential of an extract of *Calendula officinalis* flowers in vitro and in vivo. *Pharmaceutical Biology*, 44(9), 691-697.
126. Rasul, M. G. (2018). Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages. *Int. J. Basic Sci. Appl. Comput*, 2(6), 10-14.
127. Rios, F., Sanchez, A. C., Lobo, M., Lupo, L., Coelho, I., Castanheira, I., Samman, N. (2014). A chemometric approach: Characterization of quality and authenticity of artisanal honeys from Argentina. *Journal of Chemometrics*, 28, 834-843.
128. Sahan, Y., Gurbuz, O., Guldaz, M., Degirmencioglu, N., Begenirbas, A. (2017). Phenolics, antioxidant capacity and bioaccessibility of chicory varieties (*Cichorium* spp.) grown in Turkey. *Food Chemistry*, 217, 483-489.
129. Sahingil, D. (2019). GC/MS-olfactometric characterization of the volatile compounds, determination antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from flowers of calendula (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(6), 1571-1580.
130. Saxena, S., Gautam, S., & Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118, 391-397.
131. Sellami, I. H., Rebey, I. B., Sriti, J., Rahali, F. Z., Limam, F., & Marzouk, B. (2012). Drying sage (*Salvia officinalis* L.) plants and its effects on content, chemical composition, and radical scavenging activity of the essential oil. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 2978-2989.
132. Sharonova, N., Nikitin, E., Terenzhev, D., Lyubina, A., Amerhanova, S., Bushmeleva, K., Rakhmaeva, A., Fitsev, I., Sinyashin, K. (2021). Comparative assessment of the phytochemical composition and biological activity of extracts of flowering plants of *Centaurea cyanus* L., *Centaurea jacea* L. and *Centaurea scabiosa* L. *Plants*, 10(7), 1279.
133. Siddiqui, A. J., Musharraf, S. G., Choudhary, M. I., & Rahman, A. U. (2017). Application of analytical methods in authentication and adulteration of honey. *Food Chemistry*, 217, 687-698.
134. Simsek, A., Bilsel, M., & Goren, A. C. (2012). ¹³C/¹²C pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS. *Food Chemistry*, 130, 1115-1121.
135. Singh, C. B., Devi, M. C., Thokchom, D. S., Singh, A. K. (2015). Phytochemical screening, estimation of total phenols, total flavonoids and determination of antioxidant activity in the methanol extract of *Dendrobium denudans* D. Don stems. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(4), 6.
136. Singh, M., Thrimawithana, T., Shukla, R., & Adhikari, B. (2021). Extraction and characterization of polyphenolic compounds and potassium hydroxycitrate from *Hibiscus sabdariffa*. *Future Foods*, 4, 100087.
137. Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., & Srivastava, M. K. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Pharmacognosy reviews*, 5(9), 82.
138. Skrajda, M. N. (2017). Phenolic compounds and antioxidant activity of edible flowers. *Journal of Education, Health and Sport*, 7(8), 946-956.
139. Sobati-Nasab, Z., Alirezalu, A., & Noruzi, P. (2021). Effect of foliar application of nickel on physiological and phytochemical characteristics of pot marigold (*Calendula officinalis*). *Journal of Agriculture and Food Research*, 3, 100108.
140. Sobrino-Gregorio, L., Bataller, R., Soto, J., & Escriche, I. (2018). Monitoring honey adulteration with sugar syrups using an automatic pulse voltammetric electronic tongue. *Food Control*, 91, 254-260.
141. Socha, R., Kałwik, J., & Juszcak, L. (2021). Phenolic profile and antioxidant activity of the selected edible flowers grown in Poland. *Acta Universitatis Cinbinesis, Series E: Food Technology*, 25(2).

142. Sotiropoulou, N. S., Megremi, S. F., & Tarantilis, P. (2020). Evaluation of antioxidant activity, toxicity, and phenolic profile of aqueous extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) prepared at different temperatures. *Applied Sciences*, 10(7), 2270.
143. SR 784-1 (2009) Honey. Requirements for producers.
144. SR 784-3 (2009) Honey. Analysis methods.
145. Srinivasulu, C., Ramgopal, M., Ramanjaneyulu, G., Anuradha, C. M., & Kumar, C. S. (2018). Syringic acid (SA)—a review of its occurrence, biosynthesis, pharmacological and industrial importance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 547-557.
146. Stoica-Guzun, A., Dobre, L. M., Stroescu, M., & Dobre, T. (2015). Rheology of some selected Romanian honey. *Bulletin of Romanian Chemical Engineering Society*, 2(1), 36-44.
147. Sulborska-Różycka, A., Weryszko-Chmielewska, E., Polak, B., Stefańczyk, B., Matysik-Woźniak, A., & Rejdak, R. (2022). Secretory products in petals of *Centaurea cyanus* L. flowers: A histochemistry, ultrastructure, and phytochemical study of volatile compounds. *Molecules*, 27(4), 1371.
148. Suram, S. Chapter 5 Edible Flowers: The Supplementary Source for Human Nutrition. in *Food Technology and Nutrition*, 99, 99.
149. Swami, H. S., Singh, K. S. P., Gennaro, L., & Dutt, R. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *Trieste: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology*, 200, 266.
150. Takahashi, J. A., Rezende, F. A. G. G., Moura, M. A. F., Domingute, L. C. B., & Sande, D. (2020). Edible flowers: Bioactive profile and its potential to be used in food development. *Food Research International*, 129, 108868.
151. Tambun, R., Alexander, V., & Ginting, Y. (2021, March). Performance comparison of maceration method, soxhletation method, and microwave-assisted extraction in extracting active compounds from soursop leaves (*Annona muricata*): A review. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 1122, No. 1, p. 012095). IOP Publishing.
152. Tharwat, A. (2016). Principal component analysis - a tutorial. *International Journal of Applied Pattern Recognition*, 3(3), 197-240.
153. Tharwat, A., Gaber, T., Ibrahim, A., & Hassanien, A. E. (2017). Linear discriminant analysis: A detailed tutorial. *AI Communications*, 30(2), 169-190.
154. Tociu, M., Todașcă, M. C., Bratu, A., Mihalache, M., & Manolache, F. (2018). Fast approach for fatty acid profiling of dairy products fats using ¹H-NMR spectroscopy. *International Dairy Journal*, 83, 52-57.
155. Tosun, M. (2013). Detection of adulteration in honey samples added various sugar syrups with ¹³C/¹²C isotope ratio analysis method. *Food Chemistry*, 138, 1629-1632.
156. Trinh, L. T. P., Choi, Y. S., & Bae, H. J. (2018). Production of phenolic compounds and biosugars from flower resources via several extraction processes. *Industrial Crops and Products*, 125, 261-268.
157. Uršulin-Trstenjak, N., Puntarić, D., Levanić, D., Gvozdić, V., Pavlek, Ž., Puntarić, A., ... & Vidosavljević, M. (2017). Pollen, physicochemical, and mineral analysis of Croatian acacia honey samples: Applicability for identification of botanical and geographical origin. *Journal of Food Quality*, 2017(1), 8538693.
158. Vasić, V., Đurđić, S., Tosti, T., Radoičić, A., Lušić, D., Milojković-Opsenica, D., Tešić, Z., Trifković, J. (2020). Two aspects of honeydew honey authenticity: Application of advance analytical methods and chemometrics. *Food Chemistry*, 305, 125457.
159. Vergine, M., Nicolì, F., Negro, C., Luvisi, A., Nutricati, E., Accogli, R. A., Sabella E. Miceli, A. (2019). Phytochemical profiles and antioxidant activity of *Salvia* species from southern Italy. *Records of Natural Products*, 13(3), 215.
160. Vončina, D. B. (2009). Chemometrics in analytical chemistry. *Applied Natural Sciences*, 211.

161. Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Junior, M. R. M. (2019). Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In *Bioactive compounds* (pp. 33-50). Woodhead Publishing.
162. Wang, J., Xue, X., Du, X., Cheng, N., Chen, L., Zhao, J., Zheng, J., & Cao, W. (2014). Identification of acacia honey adulteration with rape honey using liquid chromatography–electrochemical detection and chemometrics. *Food Analytical Methods*, 7, 2003-2012.
163. Wang, S., Guo, Q., Wang, L., Lin, L., Shi, H., Cao, H., & Cao, B. (2015). Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 172, 669-674.
164. Wu, L., Du, B., Vander Heyden, Y., Chen, L., Zhao, L., Wang, M., & Xue, X. (2017). Recent advancements in detecting sugar-based adulterants in honey—A challenge. *Trends in Analytical Chemistry*, 86, 25-38.
165. Ye, J., Janardan, R., & Li, Q. (2004). Two-dimensional linear discriminant analysis. *Advances in neural information processing systems*, 17.
166. Yilmaz, M. T., Tatlisu, N. B., Toker, O. S., Karaman, S., Dertli, E., Sagdic, O., & Arici, M. (2014). Steady, dynamic and creep rheological analysis as a novel approach to detect honey adulteration by fructose and saccharose syrups: Correlations with HPLC-RID results. *Food Research International*, 64, 634-646.
167. Yusoff, N. I., & Leo, C. P. (2017). Microwave assisted extraction of defatted roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed at subcritical conditions with statistical analysis. *Journal of Food Quality*, 2017(1), 5232458.
168. Żbik, K., Onopiuk, A., Szpicer, A., & Kurek, M. (2023). Comparison of the effects of extraction method and solvents on biological activities of phytochemicals from selected violet and blue pigmented flowers. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(6), 6600-6608.
169. Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*, 13(1), 20.
170. Zhang, Z., Li, Y., Zhao, S., Qie, M., Bai, L., Gao, Z., ... & Zhao, Y. (2024). Rapid analysis technologies with chemometrics for food authenticity field: A review. *Current Research in Food Science*, 8, 100676.
171. Zhao, L., Fan, H., Zhang, M., Chitrakar, B., Bhandari, B., & Wang, B. (2019). Edible flowers: Review of flower processing and extraction of bioactive compounds by novel technologies. *Food Research International*, 126, 108660.
172. Zhao, L., Fan, H., Zhang, M., Chitrakar, B., Bhandari, B., & Wang, B. (2019). Edible flowers: Review of flower processing and extraction of bioactive compounds by novel technologies. *Food Research International*, 126, 108660.
173. Zhen, J., Villani, T. S., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M. H., Ho, C. T., Simon, J. E., Wu, Q. (2016). Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves. *Food Chemistry*, 190(673), e80.
174. Zheng, J., Lu, B., & Xu, B. (2021). An update on the health benefits promoted by edible flowers and involved mechanisms. *Food Chemistry*, 340, 127940.
175. Zheng, J., Meenu, M., & Xu, B. (2019). A systematic investigation on free phenolic acids and flavonoids profiles of commonly consumed edible flowers in China. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 172, 268-277.
176. Zhu, C., Bai, C., Sanahuja, G., Yuan, D., Farré, G., Naqvi, S., ... & Christou, P. (2010). The regulation of carotenoid pigmentation in flowers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 504(1), 132-141.
177. Złotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M., & Świeca, M. (2016). The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(5), 628-633.