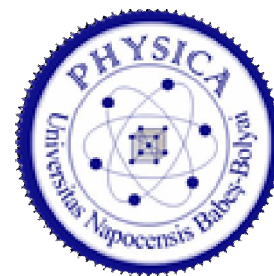




**UNIVERSITATEA BABEŞ-BOLYAI CLUJ-NAPOCA**  
**FACULTATEA DE FIZICĂ**



**Camelia Lehene**

**Studii vibraţionale asupra unor  
combinaţii moleculare complexe  
utilizate ca aditivi alimentari**

**Rezumatul tezei**

**Conducător ştiinţific: Prof. Dr. Onuc Cozar**

Cluj-Napoca

2011

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	3
<b>Capitolul II Caracterizarea fizico-chimică a moleculei benzoat de sodiu - E 211</b>	5
II.1 Metode experimentale și teoretice	5
II.2 Spectrele Raman ale benzoatului de sodiu în formă policristalină	6
II.3 Spectrele Raman ale benzoatului de sodiu în soluție apoasă	7
II.4 Spectrele Raman la diferite concentrații	8
II.5 Spectrele micro-Raman la diferite valori ale pH-ului	8
II.6 Spectrul SERS al moleculei benzoat de sodiu	10
II.7 Spectrele SERS la diferite concentrații	11
CONCLUZII	12
<b>Capitolul III. Caracterizarea fizico-chimică a moleculei glutamat de sodiu (MSG) - E 621</b>	13
III.1 Metode experimentale și teoretice	13
III.2 Optimizarea geometriei	14
III.3 Spectrul Raman al moleculei MSG solid policristalin	15
III.4 Spectrele Raman ale moleculei MSG în soluție	16
III.5 Spectrele Raman la diferite valori ale pH-ului	18
III.6 Spectrul SERS al moleculei MSG	20
III.7 Spectrele SERS la diferite concentrații	21
III.8. Spectrele SERS la valori bazice ale pH-ului	21
CONCLUZII	22
<b>Capitolul IV. Caracterizarea fizico-chimică a moleculelor bixină și norbixină (annatto) – E 160b</b>	23
IV.1 Metode experimentale și teoretice	24
IV.2 Optimizarea geometriei	24
IV.3 Spectrele Raman ale bixinei și norbixinei	24
IV.4 Spectrele SERS ale bixinei și norbixinei	25
IV.5 Identificarea aditivului alimentar annatto – E 160b (bixinei și norbixinei) în produse alimentare	28
CONCLUZII	30
<b>CONCLUZII GENERALE</b>	31
<b>BIBLIOGRAFIE</b>	33

## **CUVINTE CHEIE**

- IR, Raman, SERS, DFT
- Aditivi alimentari
- Benzoat de sodiu
- Glutamat de sodiu
- Annatto
- Bixină, norbixină

## INTRODUCERE

Spectroscopia Raman a luat un real avânt în zilele noastre în fața altor metode pentru monitorizarea on-line a reacțiilor chimice, analize alimentare, farmaceutice și chimice și de asemenea pentru diverse alte aplicații de zi cu zi. Spectroscopia Raman oferă informații detaliate asupra vibrațiilor moleculare [Ior08]. Întrucât aceste vibrații depind foarte strâns de tăria și tipul legăturilor chimice, spectroscopia Raman e utilă nu doar în identificarea moleculelor dar și în studiul interacțiunilor intra- și intermoleculare. Spectroscopia vibrațională servește la elucidarea structurilor și a proprietăților fizico-chimice a compușilor investigați.

Pentru o înțelegere corectă a spectrelor Raman și IR atât ale moleculei cât și ale complexilor în care aceasta intervine este esențială o atribuire corectă a spectrelor vibraționale. [Chi07]. În acest scop, metodele mecanicii cuantice moleculare, mergând de la cele semiempirice până la cele de tip "Density Functional Theory" (DFT) sunt foarte utile, fiecare metodă având propriile avantaje [Chi05]. Calculele semiempirice sunt rapide și în anumite circumstanțe pot furniza rezultate teoretice de bună calitate, având astfel avantajul de a putea trata sisteme moleculare cu un număr mare de atomi.

Aditivii alimentari reprezintă cea mai nouă provocare în materie de nutriție. Aditivul alimentar reprezintă orice substanță care nu este consumată ca aliment în sine și nu este folosită ca ingredient constituent al unui aliment, care are sau nu valoare nutritivă și care se adaugă intenționat, cu un scop tehnologic (incluzând modificări organoleptice) în timpul producerii, procesării, preparării, tratării, împachetării, ambalării, transportului și stocării unui aliment, devenind un component sau afectând într-un fel caracteristicile alimentelor la care se adaugă. Acest termen nu include substanțele contaminante sau pe cele adăugate pentru a îmbunătăți sau menține calitățile nutritive și nici clorura de sodiu (Codex Alimentarius FAO-WHO).

Teza este structurată pe patru capitole. În capitolul întâi sunt descrise pe scurt metodele experimentale (IR, Raman, SERS) folosite pentru determinarea structurilor investigate în partea experimentală a acestei teze.

Capitolele doi, trei și patru sunt dedicate caracterizării fizico-chimice a trei substanțe folosite ca aditivi alimentari.

Capitolul al doilea are ca temă caracterizarea fizico-chimică a moleculei benzoat de sodiu **E 211**. Benzoatul de sodiu este folosit ca și conservant în industria alimentară și farmaceutică. În industria alimentară benzoatul de sodiu se folosește la prepararea produselor din carne, lapte, produse de panificație, dulciuri, sucuri.

Capitolul al treilea conține rezultate originale obținute prin studiul moleculei glutamat de sodiu **E 621** (MSG, monosodium glutamate, monosodium L-glutamate). Acest studiu reprezintă

o îmbinare a rezultatelor experimentale obținute cu ajutorul metodelor spectroscopice vibraționale cu rezultatele teoretice bazate pe formalismul DFT. Glutamatul de sodiu este un potențator de aromă larg utilizat în industria alimentară datorită gustului irezistibil pe care îl oferă alimentelor: gustul „cărnos”, savuros, delicios, acel ceva care nu te lasă să te oprești. Glutamatul de sodiu a dat naștere celui de-al 5-lea gust „umami” [Wei84].

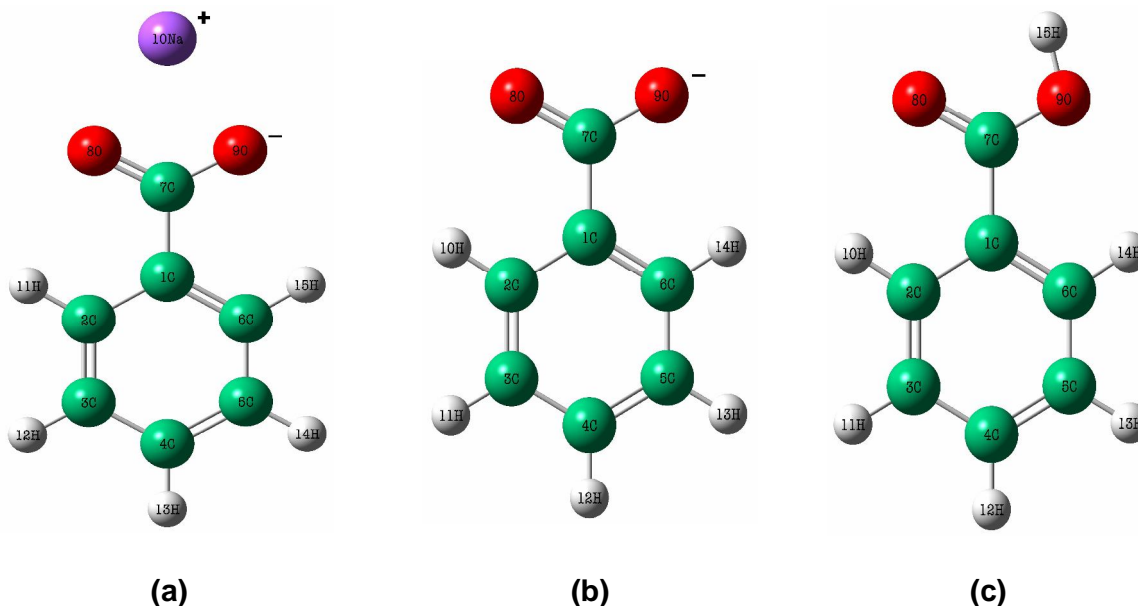
Capitolul al patrulea este dedicat studiului unui colorant important în industrie, annatto **E 160b** [Ram10]. Annatto este un colorant natural orange/galben din clasa carotenoidelor, extras din pericarpul fructului unei plante, *Bixa orellana* L [Bit05]. În semințele de annatto au fost detectate mai multe carotenoide, cele mai importante fiind bixina și norbixina. Un procent de 80-90% din totalul carotenoidelor îl reprezintă bixina [Dia11]. Datorită intensității culorii, stabilității ridicate și spectrului larg de tonalități de culoare (de la galben la roșu), extractul de annatto este larg utilizat în industria alimentară, farmaceutică și a cosmeticelor [Alv06]. Extractul de annatto este cunoscut ca E-160b, annatto, annatto extract, bixin/bixină, norbixin/norbixină, Natural Orange 4. În industria alimentară este folosit ca și colorant în industria cărnii și a peștelui, brânzeturilor, pastelor făinoase, dulciurilor, snacks-urilor, etc. [Sil08]. Coloranții, atât cei naturali cât și cei sintetici, sunt indispensabili în multe ramuri ale industriei, culoarea produselor fiind un factor “cheie” în industrie.

Deoarece se știe că există o tendință de optimizare a unei noi metode de analiză a produselor alimentare, farmaceutice și cosmetice, am considerat că o lucrare care aduce în prim-plan problema aditivilor alimentari nu poate fi decât binevenită [Bit05]. În plus, lucrarea este un argument la ceea ce în ultimii ani a devenit evident și anume faptul că numai o abordare interdisciplinară a cercetării asigură succes.

Scopul prezentului studiu a fost de a caracteriza vibrațional cele trei substanțe (patru molecule) prezentate mai sus și apoi de a investiga afinitatea de adsorbție pe suprafața nanoparticulelor metalice în vederea detecției la concentrații scăzute, utilizând tehnica SERS. În final, preconizăm implementarea tehnicii în vederea monitorizării acestor substanțe în produse alimentare.

## Capitolul II. Caracterizarea fizico-chimică a moleculei benzoat de sodiu - E 211

Structura moleculară a moleculei benzoat de sodiu este prezentată în Figura II.1. Molecula benzoat de sodiu poate exista sub mai multe forme în funcție de pH, valoarea pKa a moleculei fiind 4.2.



**Figura II.1.** (a) Structura moleculară a benzoatului de sodiu; (b) Forma anionică a benzoatului; (c) Structura moleculară a acidului benzoic (benzoat).

### II.1 Metode experimentale și teoretice

Pentru măsurătorile noastre am folosit benzoat de sodiu sub formă comercială și sub formă pură. Benzoatul de sodiu de puritate 99% a fost achiziționat de la SigmaAldrich. În ceea ce privește benzoatul de sodiu comercial, nu a fost accesibil nici un certificat de puritate analitică.

Soluțiile de benzoat de sodiu au fost preparate folosind apă distilată.

Ca substrat metallic pentru măsurătorile SERS, s-a folosit coloidul de argint preparat prin reducerea azotatului de argint cu citrat de sodiu, conform metodei Lee-Meisel [Lee82]. Probele SERS au fost obținute prin adăugarea a 0.1 ml soluție de benzoat de sodiu, de diferite concentrații, la 3.5 ml coloid de argint, concentrațiile probelor SERS finale fiind între  $2.8 \times 10^{-3}$  și

$2.8 \times 10^{-4}$  M. Valorile acide sau bazice ale pH-ului au fost ajustate prin adăugarea soluțiilor de HCl sau de NaOH ( $10^{-1}$  M).

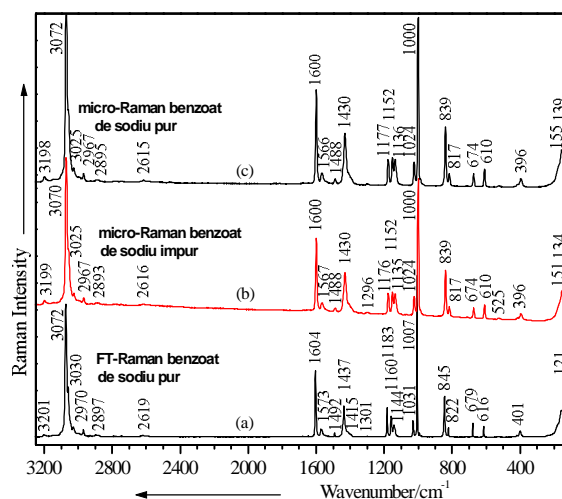
Pentru obținerea spectrului FT-Raman s-a utilizat un spectrometru Bruker IFS 120 HR, cu modul Raman FRA106 integrat și o rezoluție de  $1 \text{ cm}^{-1}$ . Ca și sursă de excitare s-a folosit un laser Nd-YAG care emite la  $1064 \text{ nm}$ . Sistemul de detecție utilizat a fost un detector cu Ge, care funcționează la temperatura azotului lichid, iar spectrul a rezultat prin medierea a 1000 de scanări.

Spectrul micro-Raman și spectrul SERS pe coloid de argint au fost înregistrate cu un spectrometru Dilor Labram. Acesta folosește ca și sursă de excitare un laser ion-argon comercializat de firma Spectra Physics și care emite la  $514.5 \text{ nm}$ . Spectrele au fost înregistrate cu o rezoluție de  $2 \text{ cm}^{-1}$ . Detecția semnalului Raman a fost obținut cu o cameră CCD (Model Photometric 9000), în timp ce puterea laserului a variat între  $100$  și  $250 \text{ mW}$ .

Optimizarea geometriilor moleculare (Figura II.1.) și calculul frecvențelor de vibrație s-au realizat folosind metode DFT la nivelul de teorie B3LYP/6-31G(d).

## II. 2 Spectrele Raman ale benzoatului de sodiu în formă policristalină

Comparând spectrul FT-Raman al benzoatului de sodiu pur (Figura II.2.a) cu spectrul micro-Raman (Figura II.2.b) al benzoatului de sodiu industrial și cu spectrul micro Raman al substanței pure (Figura II.2.c) se observă o bună concordanță în ceea ce privește poziția benzilor și intensitatea relativă a acestora.



**Figura II.2.** Spectrul (a) FT-Raman al benzoatului de sodiu pur; (b) micro-Raman al benzoatului de sodiu industrial (de puritate necunoscută); (c) micro-Raman al benzoatului de sodiu pur. Linia de excitare a laserului: (a)  $1064 \text{ nm}$ ,  $1 \text{ W}$ ; (b)  $514.5 \text{ nm}$ ,  $25 \text{ mW}$ ; (c)  $514.5 \text{ nm}$ ,  $100 \text{ mW}$

Spectrul micro-Raman al benzoatului de sodiu industrial prezintă o fluorescență slabă datorită impurităților prezente în probă (Figura II.2.b).

Spectrele Raman prezintă benzi atribuite vibrațiilor anionului carboxilat ( $\text{COO}^-$ ) și benzi caracteristice vibrațiilor inelului aromatic.

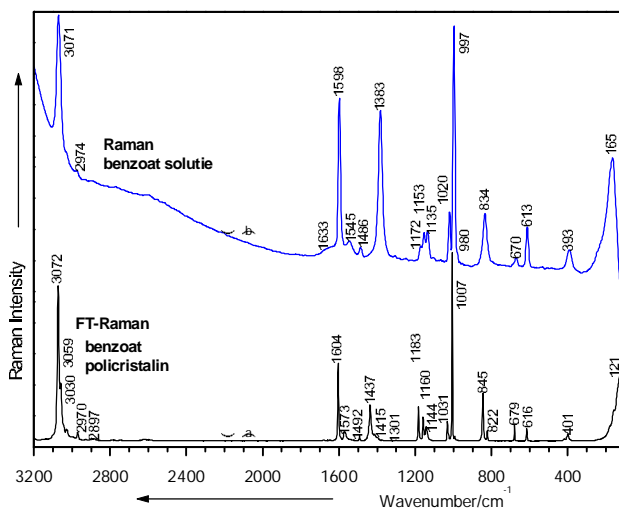
Peak-ul de intensitate medie de la  $1415\text{ cm}^{-1}$  este atribuit modului de alungire (stretch) simetrică al anionului carboxilat  $\nu_s(\text{COO}^-)$ .

Vibrațiile corespunzătoare inelului benzenic sunt reprezentate în spectre prin prezența unei benzi foarte intensă de la  $1007\text{ cm}^{-1}$  atribuită vibrației de respirație a inelului aromatic, o bandă de intensitate medie la  $1604\text{ cm}^{-1}$  atribuită vibrației de alungire (stretch) a inelului benzenic, o bandă de intensitate slabă la  $3201\text{ cm}^{-1}$  și o bandă intensă la  $3072\text{ cm}^{-1}$ , care au fost atribuite modurilor de alungire ale grupărilor C-H din inelul aromatic [Boe90, Baj97].

În concluzie, spectrele FT-Raman și/sau micro-Raman ale benzoatului de sodiu pur și impur pot fi folosite pentru identificarea benzilor marker ale moleculei.

### II.3 Spectrele Raman ale benzoatului de sodiu în soluție apoasă

Comparând spectrul FT-Raman al benzoatului de sodiu în stare solidă policristalină cu spectrul micro-Raman al soluției de benzoat de sodiu se observă modificări în poziția și intensitățile relative ale benzilor (Figura II.3.).



**Figura II.3.** (a) Spectrul FT-Raman al benzoatului de sodiu pur sub formă policristalină; (b) Spectrul Raman al soluției 1 M de benzoat de sodiu pur. Linia de excitare a laserului: (a) 1064 nm, 1 W; (b) 514.5 nm, 200 mW

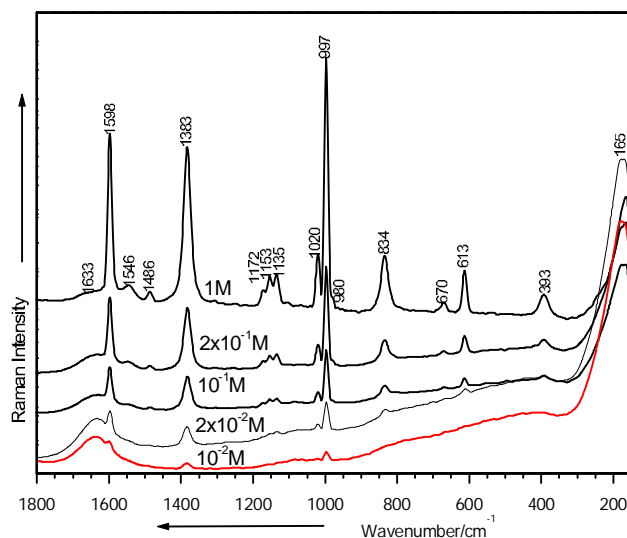


În spectrul Raman al soluției de benzoat de sodiu se observă o lărgire a benzilor și o deplasare spre roșu (energii mai mici) a poziției acestora, în comparație cu spectrul Raman al substanței în stare policristalină. Aceste modificări pot fi puse pe seama bine cunoscutelor efecte de solvent.

Umărul de la  $1415\text{ cm}^{-1}$  din spectrul FT-Raman al benzoatului de sodiu în stare solidă devine un peak intens la  $1383\text{ cm}^{-1}$  în spectrul Raman al soluției (Figura II.3.b) și este deplasat semnificativ spre roșu, cu  $32\text{ cm}^{-1}$ , sugerând schimbări în distribuția electronică a anionului carboxilat și o posibilă protonare a acestui grup.

#### II.4 Spectrele Raman la diferite concentrații

Spectrul Raman al soluției benzoatului de sodiu pur a fost înregistrat pentru diferite concentrații, de la  $1\text{ M}$  până la  $10^{-2}\text{ M}$ . Pe măsură ce concentrația scade se observă o scădere în intensitate a semnalului Raman, iar la  $10^{-2}\text{ M}$  semnalul devine foarte slab. Figura II.4. prezintă aceste spectre la concentrații diferite. Astfel, în condițiile experimentale date, limita de detecție Raman este de  $10^{-2}\text{ M}$  pentru substanța benzoat de sodiu.

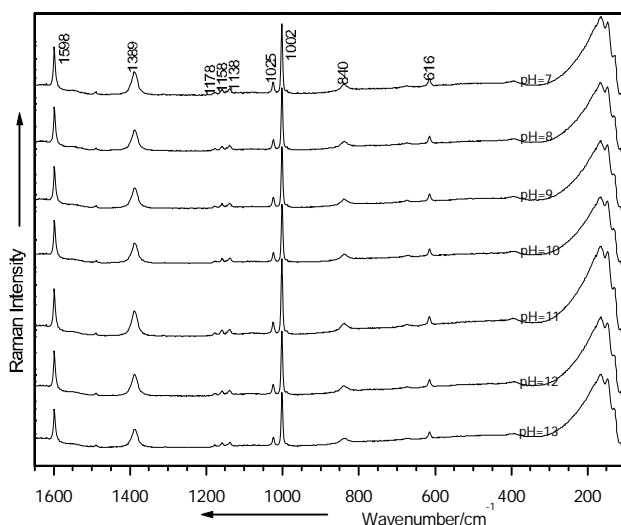


**Figura II.4.** Spectrele micro-Raman ale soluției de benzoat de sodiu pur la diferite concentrații. Linia de excitare a laserului:  $514.5\text{ nm}$ ,  $200\text{ mW}$

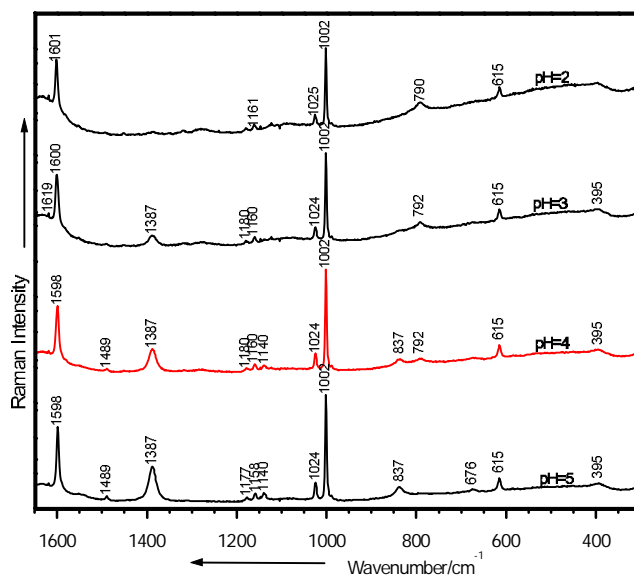
#### II.5 Spectrele micro-Raman la diferite valori ale pH-ului

Analizând spectrele micro-Raman (Figurile II.5. și II.6.) ale soluțiilor de benzoat de sodiu la diferite valori bazice și acide ale pH-ului, putem sublinia faptul că spectrele arată tranziția de

la forma moleculară anionică deprotonată la forma moleculară nedisociată (neutră) a moleculei de benzoat.



**Figura II.5.** Spectrele micro-Raman a soluției  $10^{-1}$  M de benzoat de sodiu la diferite pH-uri bazice. Linia de excitare a laserului: 514.5 nm, 100 mW



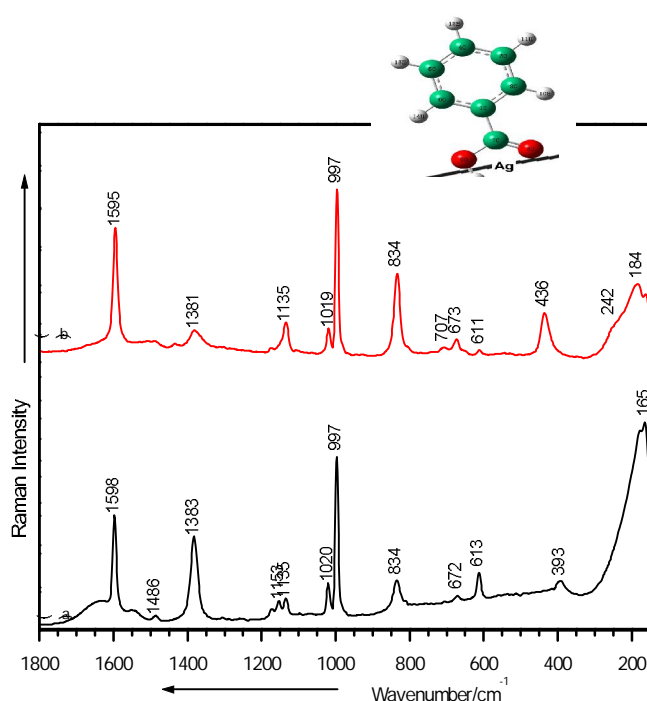
**Figura II.6.** Spectrele micro-Raman ale soluției  $10^{-1}$  M de benzoat de sodiu la diferite pH-uri acide. Linia de excitare a laserului: 514.5 nm, 100 mW

La valori bazice ale pH-ului (Figura II.5), mai exact între pH=7 și pH=13, nu se pot observa schimbări structurale majore, spectrele fiind atribuite formei moleculare anionice a benzoatului.

Schimbările majore în forma benzilor și în intensitățile relative ale acestora apar la valori sub 5 ale pH-ului. La trecerea de la valori neutre la valori acide ale pH-ului, intensitățile relative ale benzilor datorate vibrațiilor de întindere a anionului carboxilat scad și devin mai largi (1598, 1387  $\text{cm}^{-1}$ ). La pH= 4 (Figura II.6) apare o nouă bandă situată la 792  $\text{cm}^{-1}$  în spectrul Raman al soluției, care poate fi datorată vibrației de bending simetric în afara planului a anionului carboxilat (Figura II.6). Cel mai probabil la pH=4, formele moleculare anionice ale benzoatului coexistă în soluție cu formele moleculare neutre ( $\text{pK}_a=4.2$ ). Spectrul Raman la pH=3 este în principal atribuit formei moleculare nedisociate a benzoatului de sodiu (Figura II.1.c).

## II.6 Spectrul SERS al moleculei benzoat de sodiu

Spectrul SERS al benzoatului de sodiu este prezentat în Figura II.7.b., comparativ cu spectrul Raman la pH=7, Figura II.7.a., al soluției de benzoat.



**Figura II.7.** Spectrul (a) micro-Raman al soluției ( $2 \times 10^{-1}$  M) comparativ cu (b) Spectrul SERS al soluției ( $2.8 \times 10^{-3}$  M) benzoat de sodiu la pH 7. Linia de excitare a laserului: 514.5 nm, 200 mW

Comparând spectrul Raman al benzoatului în soluție cu spectrul SERS, se observă diferențe în pozițiile benzilor și în intensitățile relative ale acestora. Astfel, banda de la 834  $\text{cm}^{-1}$  este considerabil amplificată și corespunde deformării simetrice în plan a grupării carboxilat, foarte probabil adsorbit perpendicular pe suprafața metalică. Din punct de vedere teoretic,

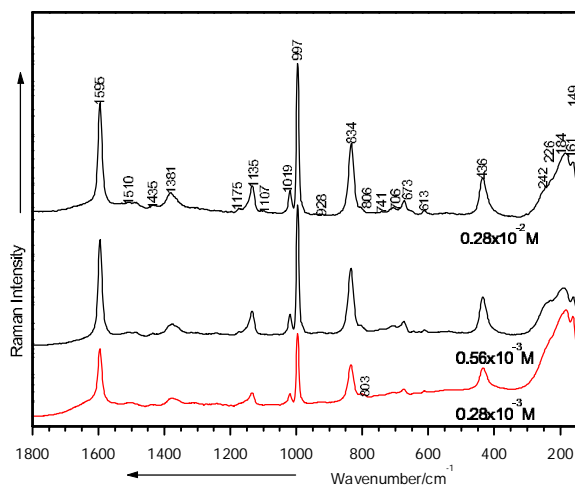
molecula de benzoat poate interacționa cu suprafața de argint prin grupul funcțional carboxilat, sau prin electronii  $\pi$  delocalizați ai inelului benzenic.

Deoarece vibrația de respirație a inelului benzenic are o intensitate relativă mare în spectrele SERS, o orientare plană pe suprafața de argint este exclusă, conform regulilor de selecție SERS. De asemenea, vibrația de alungire a grupării C-H a inelului benzenic este un argument puternic pentru determinarea orientării inelelor aromatice.

Pe de altă parte, posibilitatea de chemisorbție a benzoatului prin gruparea carboxilat este susținută de prezența perechilor de electroni liberi ai atomilor de oxigen (Figura II.1). În acest caz, în conformitate cu regulile de selecție SERS, vibrațiile ce au loc perpendicular pe direcția suprafeței metalice vor apărea amplificate. Această presupunere este susținută de benzile observate în spectrul SERS din Figura II. 7. Cea mai intensă bandă observată în spectrul SERS la  $997\text{ cm}^{-1}$  este datorată respirației inelului benzenic [Peic07]. Această vibrație total simetrică are loc în planul moleculei, astfel amplificarea acesteia este posibilă doar dacă molecula este orientată perpendicular pe suprafața metalică (Figura II. 7).

## II.7 Spectrele SERS la diferite concentrații

Prin scăderea concentrației benzile scad în intensitate în spectrul SERS, așa cum este prezentat în Figura II.8.



**Figura II. 8.** Spectrele SERS ale moleculei benzoat de sodiu la diferite concentrații. Linia de excitație a laserului: 514.5 nm, 200 mW

Se poate observa însă un spectru bine rezolvat și la concentrația de  $2.8 \times 10^{-4}\text{ M}$  fără modificări semnificative în forma spectrelor în domeniul de concentrații studiat:  $2.8 \times 10^{-3}\text{ M}$  -  $2.8 \times 10^{-4}\text{ M}$

## CONCLUZII

Spectrele FT-Raman și micro-Raman ale benzoatului de sodiu pur și de puritate necunoscută (industrial) în stare policristalină au fost înregistrate cu succes și au fost identificate benzile marker .

Spectrele Raman ale benzoatului de sodiu prezintă benzi atribuite vibrațiilor anionului carboxilat ( $\text{COO}^-$ ) și benzi caracteristice vibrațiilor inelului aromatic.

Spectrele Raman ale benzoatului de sodiu în soluție prezintă o lărgire a benzilor datorită efectului de solvent. În spectrul Raman al soluției de benzoat de sodiu apare o bandă nouă, intensă, la  $1383\text{ cm}^{-1}$ , datorită vibrației de deformare a grupării carboxilat  $\text{COO}^-$ .

Limita de detecție Raman pentru benzoatul de sodiu în soluție este  $10^{-2}\text{ M}$ .

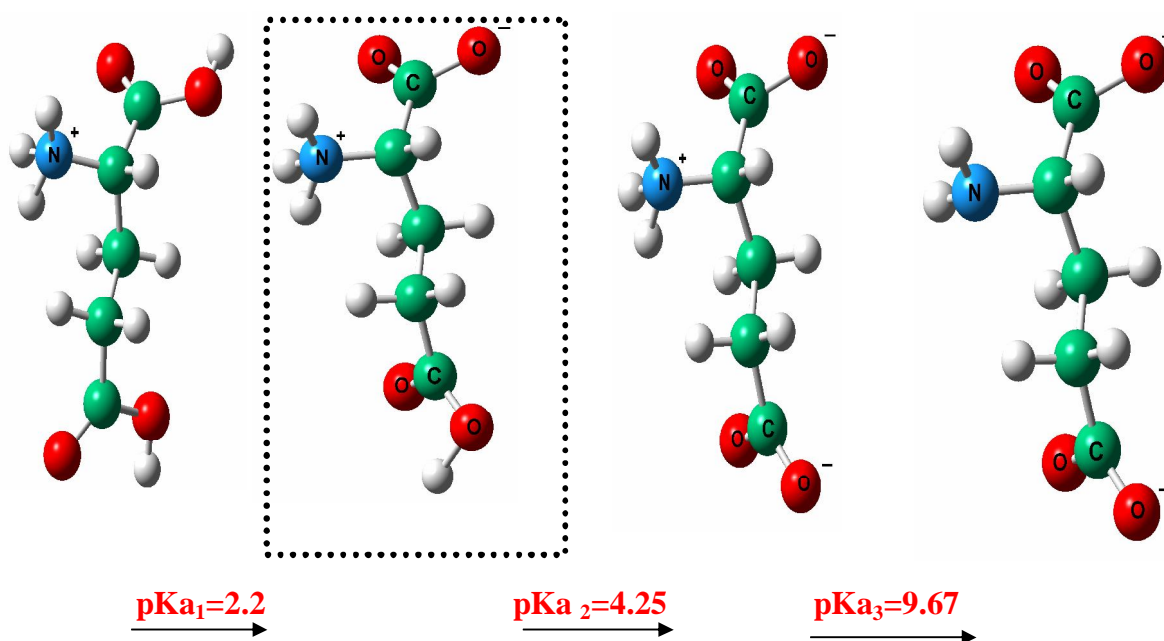
Analizând spectrul Raman al benzoatului de sodiu în soluție la valori bazice și acide ale pH-ului, s-a pus în evidență tranziția de la forma anionică la cea nedisociată a moleculei la valoarea  $\text{pH}=4$ .

Molecula benzoat de sodiu este chemisorbită pe suprafața metalică prin electronii neîmperecheați ai atomilor de oxigen, geometria de adsorbție a moleculei fiind perpendiculară pe suprafața metalică.

Spectrele Raman și SERS ale benzoatului de sodiu pot servi drept referință pentru aplicațiile spectroscopice Raman viitoare în cadrul analizelor asupra produselor alimentare.

### Capitolul III. Caracterizarea fizico-chimică a moleculei glutamat de sodiu (MSG) - E 621

Glutamatul de sodiu, sarea de sodiu a acidului glutamic, este probabil cel mai comun aditiv alimentar. Glutamatul de sodiu, celebrul E621, este larg utilizat în industria alimentară datorită gustului irezistibil pe care îl oferă alimentelor: gustul „cărnos”, savuros, delicios, acel „ceva” care nu te lasă să te oprești. Glutamatul de sodiu a dat naștere celui de-al 5-lea gust „umami” [Wei84]. Aditivul alimentar E 621 se găsește în aproape fiecare aliment de pe rafturile magazinelor, în special mezeluri, snack-uri, produse instant (supe, ciorbe instant, piure instant, etc.), dulciuri, condimente și sosuri (ketchup, dressing-uri, etc), băuturi răcoritoare, etc.. Glutamatul monosodic este sarea de sodiu a acidului glutamic, unul dintre cei 20 de aminoacizi naturali. Acidul glutamic este un aminoacid neesențial (conține grupările  $-NH_2$  și  $-COOH$ ) și alături de acidul aspartic este cel mai important neurotransmițător în sistemul nervos al mamiferelor. Sarcina electrică a moleculei MSG depinde drastic de pH (Figura III.1).



**Figura III.1.** Cele patru forme izoelectrice ale acidului glutamic: (a) forma izoelectrică (+1), (b) forma izoelectrică (0) sau forma de zwitterion; (c) forma izoelectrică (-1); (d) forma izoelectrică (-2); determinate de cele trei valori ale pKa-urilor.

#### III.1 Metode experimentale și teoretice

Pentru măsurători s-a folosit glutamat de sodiu (MSG) comercial folosit în industria alimentară. Soluția de MSG a fost preparată cu o concentrație între  $10^{-2}$  și 5 M. pH-ul soluției a

fost ajustat prin adăugare de HCl și NaOH de concentrație  $10^{-1}$  M. Coloidul de argint a fost preparat după rețeta existentă în literatură [Lee82]. Probele SERS au fost obținute adăugând câțiva microlitri de soluție de MSG de diferite concentrații pe 3 ml de coloid de argint. Concentrația finală a probelor SERS este între  $9.9 \times 10^{-4}$  M –  $6.6 \times 10^{-5}$  M.

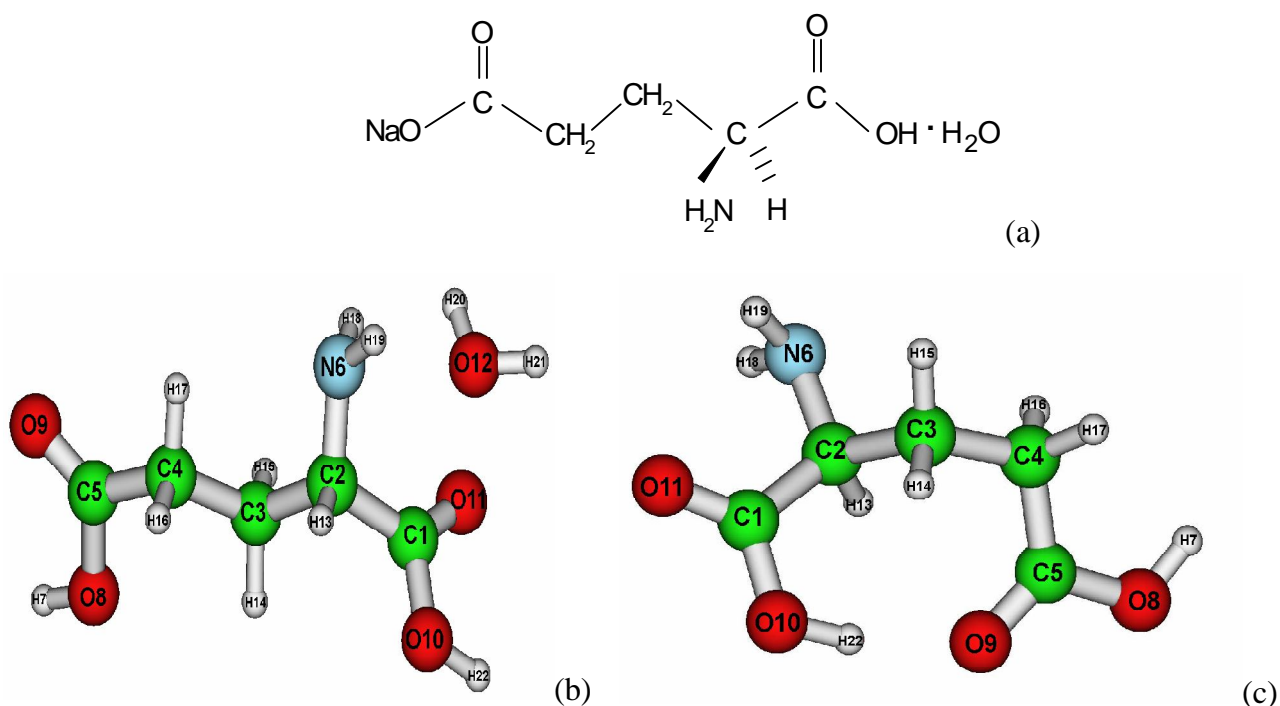
Pentru înregistrarea spectrelor de absorbție am folosit spectrofotometrul UV–VIS–NIR (Perkin–Elmer Lambda 19) cu o viteză de scanare  $240 \text{ nm min}^{-1}$ . Pentru obținerea spectrului FT-Raman s-a utilizat un spectrometru Bruker IFS 120 HR, cu un modul Raman FRA106 integrat și o rezoluție de  $1 \text{ cm}^{-1}$ . Ca și sursă de excitare s-a folosit un laser Nd-YAG care emite la 1064 nm. Sistemul de detecție utilizat a fost un detector cu Ge, care funcționează la temperatura azotului lichid, iar spectrul a rezultat prin medierea a 500 de scanări. Spectrul micro-Raman și spectrul SERS pe coloid de argint au fost înregistrate cu un spectrometru Horiba-Jobin-Yvon, model LabRam. Acesta folosește ca și sursă de excitare un laser ion-argon comercializat de firma Spectra Physics și care emite la 514.5 nm. Spectrele au fost înregistrate cu o rezoluție de  $5 \text{ cm}^{-1}$ . Detecția semnalului Raman s-a realizat cu o cameră CCD Peltier, în timp ce puterea laserului a variat între 200mW.

Optimizarea geometriilor moleculare și calculul frecvențelor de vibrație s-au realizat cu programul Gaussian 03 [Gau03]. În general au fost utilizate două metode bazate pe teoria funcționalei de densitate (DFT). Prima metodă utilizează combinația funcționalei de schimb propusă de Becke B [Bec92], cu funcționala de corelare propusă de Perdew și Wang [Per91, Per92] iar în cazul metodei a doua s-a utilizat funcționala hibridă B3LY, aceasta fiind compusă din funcționala de schimb a lui Becke cu trei parametri [B3] [Bec93] în combinație cu funcționala de corelare propusă de de Lee, Yang și Par (LYP) [Lee88].

### **III.2 Optimizarea geometriei.**

Structura moleculară a MSG este prezentată în Figura III.2.a. Optimizarea geometriilor moleculare (Figura III.2.) și calculul frecvențelor de vibrație s-au realizat folosind metode DFT. Calculele teoretice permit o atribuire completă a spectrelor Raman obținute experimental [Chi07].

Pentru a obține informații despre structura cristalină a MSG-ului atât în formă de monohidrat cât și în cea anhidră, structurile lor au fost optimizate folosind diferite metode teoretice (BPW91/6-311++G\*\*, B3PW91/LANL2DZ, B3LYP/6-311++G\*\*, B3LYP/LANL2DZ). Cele două forme ale MSG (monohidrat și anhidru) posedă geometrii diferite care pot fi explicate prin posibilități de protonare ale moleculei.



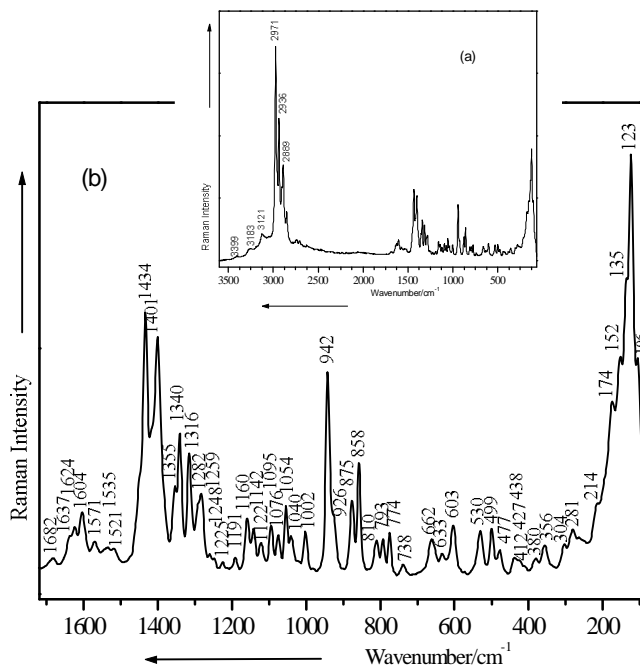
**Figura III.2.** Structura moleculară a moleculei MSG (a), structura moleculară a moleculei MSG (acid glutamic) forma de monohidrat optimizată prin metoda B3LYP/LANL2DZ (b) și (c) structura moleculară a MSG (acid glutamic) anhidru optimizată prin metoda B3LYP/LANL2DZ și schema de numerotare a atomilor (b) și (c).

### III.3 Spectrul Raman al moleculei MSG solid policristalin

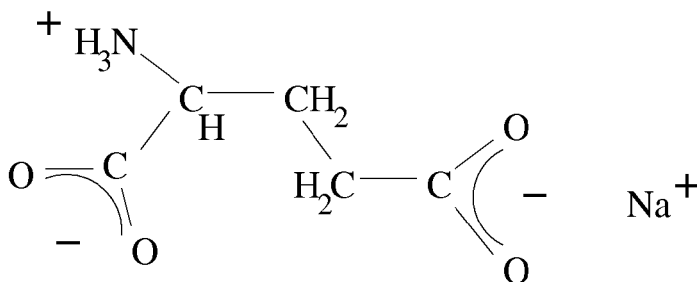
Figura III.3.b prezintă regiunea de „fingerprint” de la  $1700\text{ cm}^{-1}$  la  $150\text{ cm}^{-1}$ . Peak-ul foarte slab de la  $1682\text{ cm}^{-1}$  este datorat vibrației de alungire a legăturii C=O a grupărilor carboxil. Banda slabă de la  $1637\text{ cm}^{-1}$  este atribuită modului de deformare (bending) asimetrică a grupării  $\text{NH}_3^+$ , în timp ce peak-ul de intensitate slabă de la  $1624\text{ cm}^{-1}$  corespunde vibrației de alungire asimetrică a grupărilor  $\text{COO}^-$ . Peak-ul adiacent slab de la  $1604\text{ cm}^{-1}$  este atribuit modului de deformare  $\text{NH}_3^+$  iar cel de la  $1571\text{ cm}^{-1}$  este atribuit modului de alungire a legăturii necovalente  $\text{COO}^- \text{Na}^+$ . Modurile de alungire  $\nu(\text{C-C})$  sunt de asemenea observate la  $1002\text{ cm}^{-1}$  și  $942\text{ cm}^{-1}$  și sugerează forma complet ionizată a moleculei MSG [Do174].

Deoarece benzile caracteristice structurii de zwitterion (Figura III.4.) sunt prezente în spectrul Raman, este pusă în evidență prezența structurii zwitterionice a moleculei MSG în stare solidă.





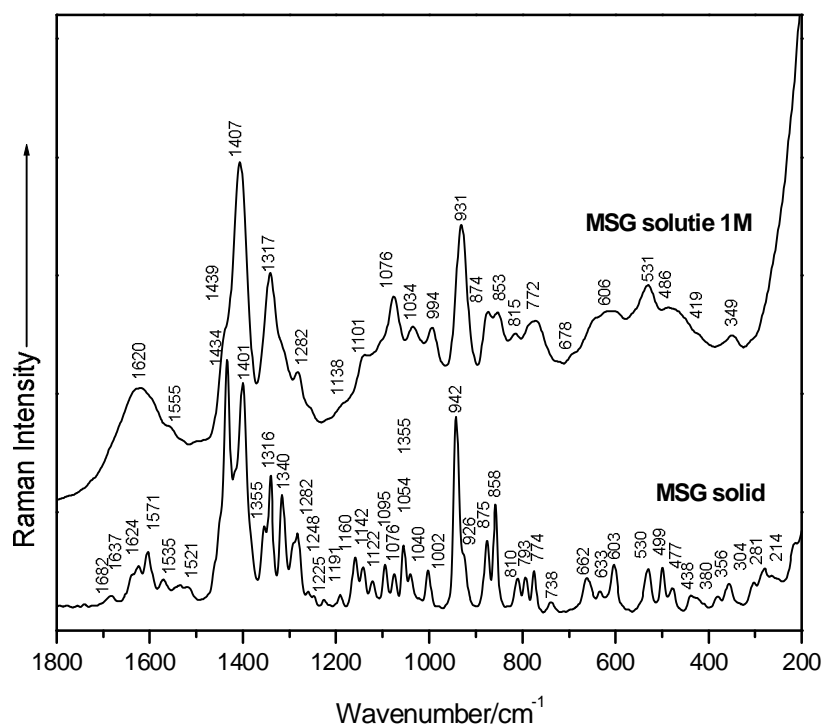
**Figura III.3.** Spectrul FT-Raman al moleculei MSG în regiunea spectrală (a) 3600-68  $\text{cm}^{-1}$  și (b) 1700-1000  $\text{cm}^{-1}$ . Linia de excitare laser: 1064 nm, 1000mW



**Figura III.4.** Forma de zwitterion a moleculei MSG

#### III.4. Spectrele Raman ale moleculei MSG în soluție

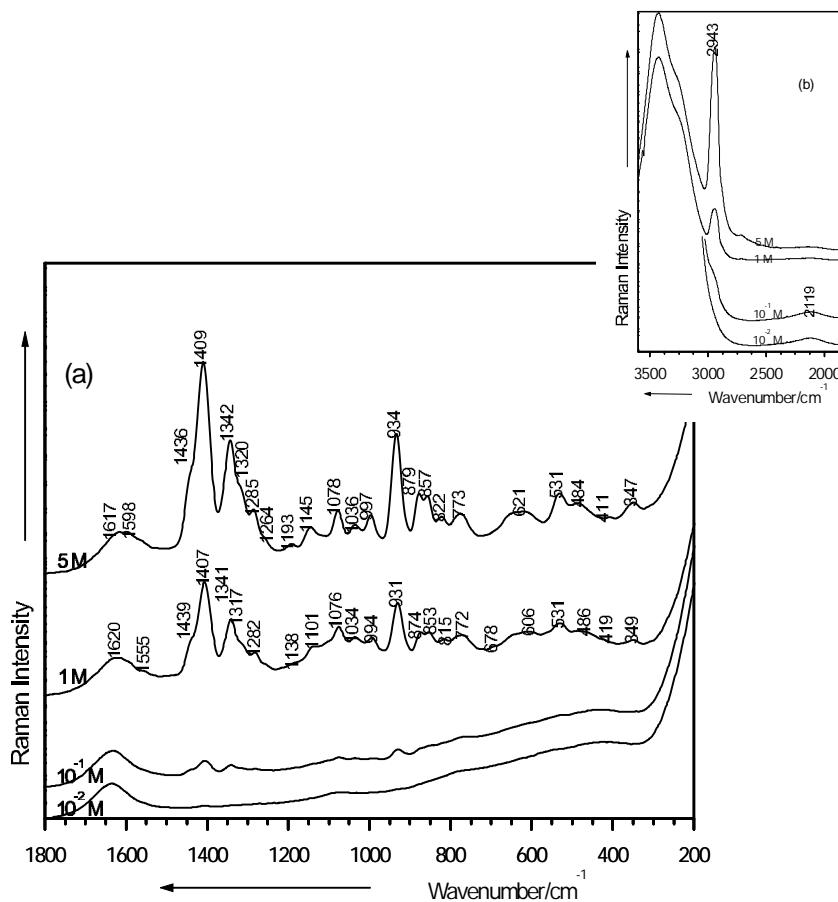
Comparând spectrul Raman al moleculei MSG în soluție apoasă (1M) (Figura III.5.) cu spectrul FT-Raman al moleculei MSG în stare solidă policristalină, se poate observa un background mai slab, cu intensitățile relative ale benzilor ușor schimbate.



**Figura III.5.** Spectrul Raman al moleculei MSG în stare policristalină (a) comparativ cu spectrul Raman al MSG în soluție apoasă de concentrație 1M (b). Linia de excitare laser: 1064 nm, 1000mW

Astfel, intensitatea benzii corespunzătoare alungirii simetrice a grupărilor  $\text{COO}^-$  (banda de la  $1407 \text{ cm}^{-1}$  în spectrul Raman al soluției, este ușor crescută iar banda corespunzătoare modurilor de deformare (bending) ale grupărilor  $\text{CH}_2$  (peak-ul de la  $1439 \text{ cm}^{-1}$  în spectrul Raman al soluției) este mai slabă. În spectrul Raman al soluției se observă deplasări mici spre albastru ale numerelor de undă și lărgirea benzilor datorită bine-cunoscutului efect de solvent. Modurile C-C de întindere observate la  $1002 \text{ cm}^{-1}$  și  $942 \text{ cm}^{-1}$  în spectrul FT-Raman al moleculei MSG în stare solidă, devin mai largi în soluție ( $931 \text{ cm}^{-1}$ , respectiv  $994 \text{ cm}^{-1}$ ) având aceeași atribuire [Eds37], sugerând prezența formei complet ionizate a moleculei [Dol74].

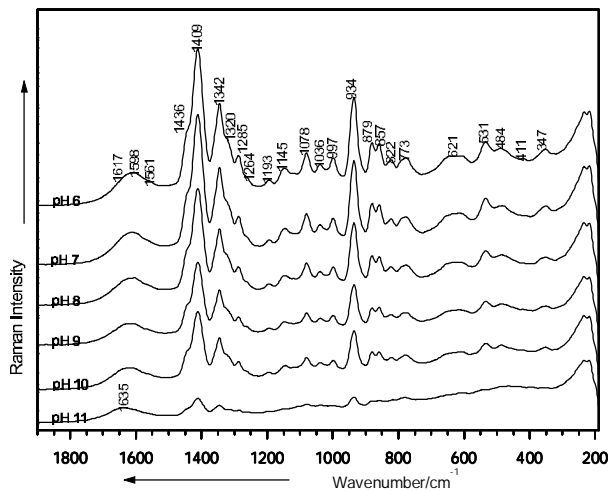
După cum se observă în Figura III.6., spectrele Raman dependente de concentrație demonstrează faptul că este posibilă înregistrarea spectrelor Raman de mare calitate a soluției apoase de MSG la nivele de concentrație relativ mari, până la  $10^{-2} \text{ M}$ .



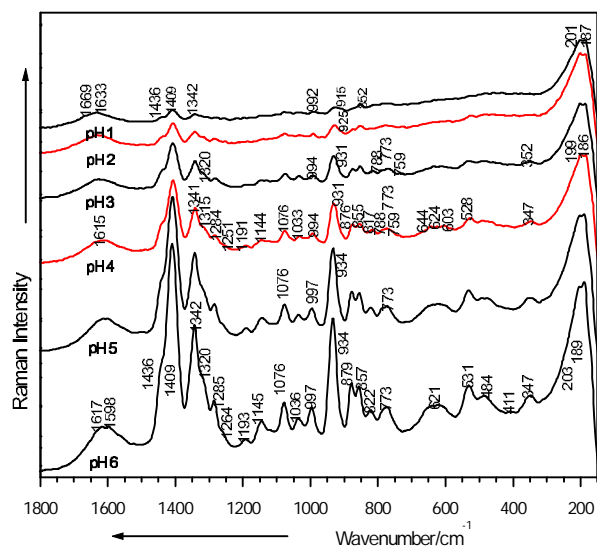
**Figura III.6.** Spectrul FT-Raman al moleculei MSG în soluție la diferite concentrații în regiunea spectrală (a)  $200\text{ cm}^{-1}$ - $1800\text{ cm}^{-1}$  și (b)  $1800\text{ cm}^{-1}$ - $3600\text{ cm}^{-1}$ . Linia de excitare laser:  $1064\text{ nm}$ ,  $1000\text{mW}$

### III.5 Spectrele Raman la diferite valori ale pH-ului

Analizând spectrul Raman la valori bazice ale pH-ului (Figura III.7) se observă că spectrul nu prezintă modificări pentru diferite valori ale pH-ului.



**Figura III. 7.** Spectrele Raman ale soluției de MSG de concentrație  $5 \text{ mol l}^{-1}$  la diferite valori bazice ale pH-ului. Linia de excitare laser:  $514.5 \text{ nm}$ ,  $200 \text{ mW}$ .



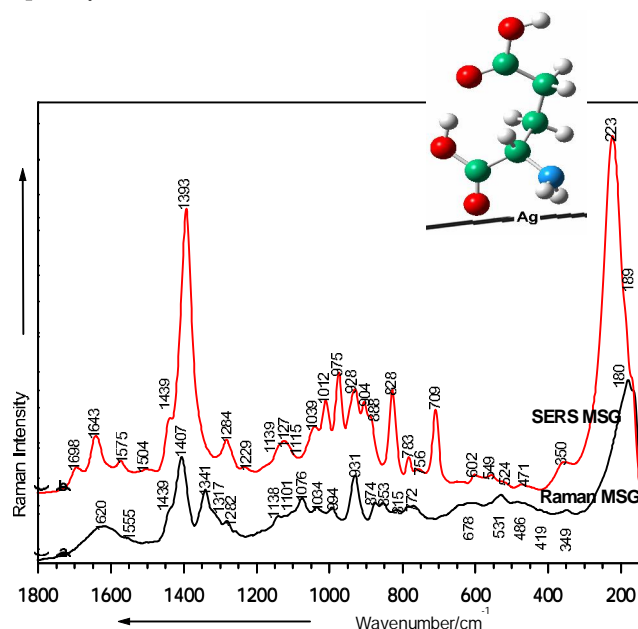
**Figura III.8.** Spectrele Raman ale soluției MSG de concentrație  $5 \text{ mol l}^{-1}$  la diferite valori acide ale pH-ului. Linia de excitare laser:  $514.5 \text{ nm}$ ,  $200 \text{ mW}$ .

La valori acide ale pH-ului în spectrul Raman (Figura III.8.) se observă că benzile care sunt datorate formei complet ionizate a moleculei MSG sunt deplasate spre numere de undă mai mici. Astfel banda de la  $934 \text{ cm}^{-1}$  corespunzătoare vibrației  $\nu(\text{C-C})$  este deplasată la pH=4 la valoarea  $931 \text{ cm}^{-1}$  iar la pH=2 este la  $915 \text{ cm}^{-1}$ . Banda de la  $997 \text{ cm}^{-1}$  la pH=6 este la  $994 \text{ cm}^{-1}$  la pH=4 și la  $992 \text{ cm}^{-1}$  la pH=2. Aceste modificări demonstrează protonarea moleculei prin protonarea celor două grupări carboxil din structura moleculei.

Forma protonată a moleculei MSG predomină la valori scăzute ale pH-ului.

### III.6 Spectrul SERS al moleculei MSG

Spectrul SERS al MSG-ului ( $9.9 \cdot 10^{-4}$  M) este prezentat în Figura III.9 în comparație cu spectrul Raman al soluției (1 M) la pH 6. Între cele două spectre se observă diferențe majore în ceea ce privește pozițiile și intensitățile benzilor, ceea ce demonstrează că moleculele sunt chemiadsorbite pe suprafața metalică.



**Figura III.9.** Spectrul Raman (a) al MSG comparativ cu spectrul SERS (b) al MSG la pH=6 și (c) orientarea propusă pentru molecula de MSG pe suprafața de argint. Parametrii: 514.5 nm, 200 mW.

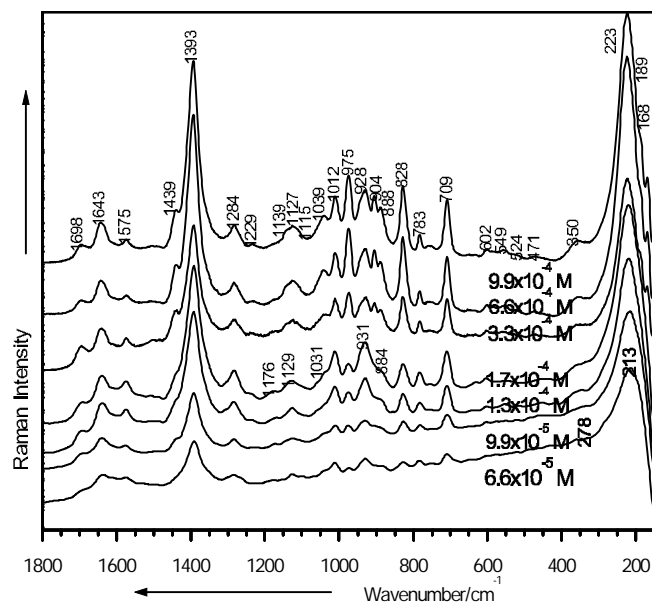
Banda de intensitate medie observată în spectrul SERS la  $1643 \text{ cm}^{-1}$  (inexistentă în spectrul Raman al soluției) datorată modului de deformare bending asimetric al grupării  $\text{NH}_3^+$  este în special datorată grupării  $\text{NH}_2$ , care foarte probabil este în apropiata vecinătate a particulelor de Ag, cu o orientare perpendiculară a scheletului moleculei MSG pe suprafață (Figura III.9.c) [Pei07].

O altă bandă puternică este de asemenea prezentă în spectrul SERS la  $1393 \text{ cm}^{-1}$  (deplasată spre roșu față de poziția de la  $1407 \text{ cm}^{-1}$  în spectrul Raman) atribuită modului de alungire  $\nu_s(\text{COO}^-)$ .

Deoarece benzile  $\nu(\text{C-C})$  de la  $1012, 975, 928 \text{ cm}^{-1}$  caracteristice formei complet ionizate a moleculei MSG sunt amplificate semnificativ, foarte probabil molecula este perpendicular adsorbită pe suprafața de argint, adsorbția realizându-se prin atomii de oxigen ai grupării carboxil și prin atomii de azot ai grupării amino.

### III.7 Spectrele SERS la diferite concentrații

Analizând spectrul SERS dependent de concentrație a MSG (Figura III.10), se observă că limita de detecție SERS în condițiile noastre experimentale este  $6.6 \times 10^{-5} \text{ M}$ .

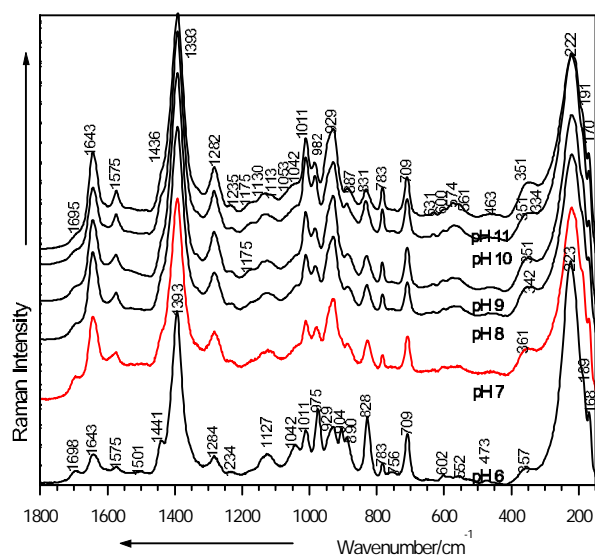


**Figura III.10.** Spectrul SERS al MSG la diferite concentrații. Parametrii: 514.5 nm, 200 mW

### III.8 Spectrele SERS la valori bazice ale pH-ului.

Figura III.11. prezintă spectrele SERS ale MSG la diferite valori bazice ale pH-ului.

În spectrul SERS al MSG la pH 7, formele și intensitățile benzilor de la 1011, 975 și 929  $\text{cm}^{-1}$  se modifică, sugerând deprotonarea moleculei (Figura III.11). Banda de intensitate medie, de la 1643  $\text{cm}^{-1}$ , datorată vibrației de deformare a grupării  $\text{NH}_3^+$ , crește în intensitate spre valori bazice ale pH-ului, ceea ce demonstrează deprotonarea grupării  $\text{NH}_3^+$ .



**Figura III.11.** Spectrele SERS ale MSG la diferite valori bazice ale pH-ului. Parametrii: 514.5 nm, 200mW

## Concluzii

Geometria moleculei MSG a fost evaluată și optimizată pentru prima dată cu metodele BPW91/6-311++G\*\*, BPW91/LANL2DZ, B3LYP/6-311++G\*\* și B3LYP/LANL2DZ. Cele două forme ale MSG (monohidrat și anhidru) posedă geometrii diferite care pot fi explicate prin posibilități de protonare ale moleculei.

Rezultatele furnizate de spectrul FT-Raman sunt în concordanță cu structura zwitterionică a MSG-ului în starea solidă.

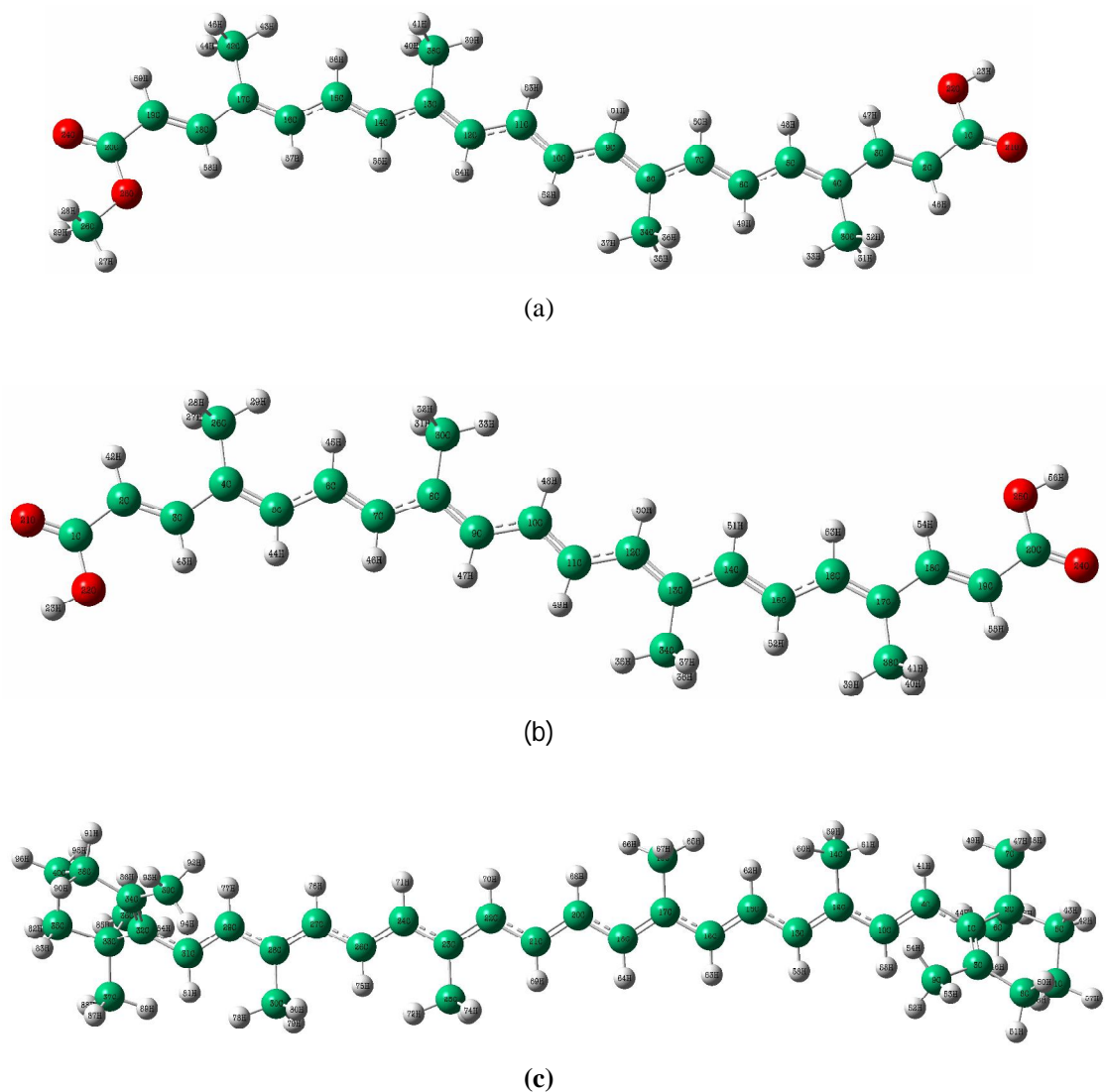
Analizând spectrele Raman și SERS ale moleculei MSG în soluție s-au putut evidenția trei modificări în structura moleculară, mergând de la valori ale pH-ului bazic spre cele acide. La valori joase ale pH-ului este dominantă forma protonată a MSG.

Spectrele SERS ale moleculei MSG au fost înregistrate la concentrații mici până la  $10^{-6}$  M. A fost observată o interacțiune chimică puternică a MSG-ului cu particulele coloidale, implicând o adsorbție prin perechea de electroni neparticipanți ai atomului de azot și ai atomilor de oxigen ai grupării carboxil.

Spectrele Raman și SERS ale moleculei glutamat de sodiu au fost înregistrate la diferite concentrații și pot servi drept referință pentru aplicațiile spectroscopice Raman viitoare în cadrul analizelor asupra produselor alimentare.

## Capitolul IV. Caracterizarea fizico-chimică a moleculelor bixină și norbixină (annatto)-E 160b

În semințele de annatto au fost detectate mai multe carotenoide cele mai importante fiind bixina și norbixina. Un procent de 80-90% din totalul carotenoidelor îl reprezintă bixina [Dia11], [Pre80], [Bal06], [Rib05], [Góm10]. Annatto și derivații săi, bixina și norbixină, sunt carotenoide cu poliene cu lanț lung conjugat. Structura centrală a acestor molecule este aceeași cu cea a  $\beta$  carotenului (Figura IV.1).



**Figura IV.1.** Structura moleculară optimizată a bixinei (a), norbixinei (b) și  $\beta$ -carotenului (c)



## IV.1 Metode experimentale și teoretice

Substanțe chimice folosite: coloid hidroxilamină [Leo03], etanol de puritate 99.6 %, apă distilată, bixină (de concentrație 4-4.40 %) și norbixină (de concentrație 2.48-2.81 %). Ajustarea în domeniul de pH bazic s-a realizat adăugând la proba SERS soluție de NaOH (de conc. 1%), iar ajustarea în domeniul de pH acid s-a realizat adăugând la proba SERS soluție de HCl (de conc. 1%).

Spectrele SERS au fost obținute cu un spectrometru Raman DeltaNu Advantage 532 (DeltaNu, Laramie, WY) echipat cu un laser cu dublă frecvență NdYAG, care emite la 532 nm. Puterea laserului este 14 mW și rezoluția spectrală de  $10 \text{ cm}^{-1}$ .

Optimizarea geometriilor moleculare și calculul frecvențelor de vibrație s-au realizat cu programul Gaussian 03 [Gau03] folosind metode DFT.

## IV.2 Optimizarea geometriei

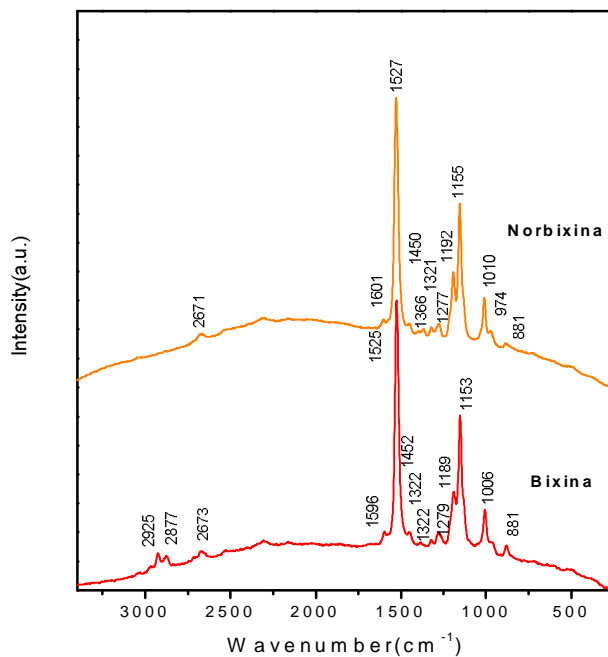
Folosind metodele DFT s-au realizat optimizarea geometriei (Figura IV.1.), calculul frecvențelor de vibrație și potențialele moleculare electrostatice (MEP) (Figura IV.6, IV.7.)

Potențialele moleculare electrostatice au fost folosite pentru interpretarea și prezicerea comportamentului reactiv pentru o varietate de sisteme chimice atât în reacții electrophilice cât și nucleofilice, pentru studierea proceselor de recunoaștere biologică și pentru studiul interacțiunii prin legături de hidrogen [Pol91]. Regiunile negative ale potențialului electrostatic molecular  $V(r)$  au fost asociate cu reactivitatea electrophilică și cele pozitive cu reactivitatea nucleofilică.

Pentru moleculele bixină și norbixină cea mai negativă valoare  $V(r)$  a fost asociată cu atomul O21 și O24 (vezi în Figura IV.1. a și b schema de numerotare a atomilor pentru cele două molecule), cu o valoare în jur de  $-0.11043$  u.a. respectiv  $-0.10369$  u.a., iar valoarea cea mai pozitivă a potențialului electrostatic molecular a fost asociată cu atomul H23, în jur de  $0.12922$  u.a. pentru bixină și cu atomii H23 și H56 în jur de  $0.12880$  u.a. pentru norbixină.

## IV.3 Spectrele Raman ale bixinei și norbixinei

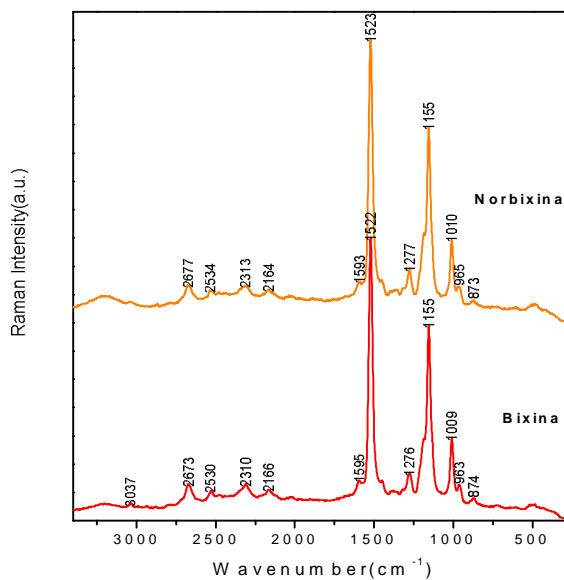
Analizând spectrele Raman se observă benzile marker: banda cea mai intensă de la  $1527 \text{ cm}^{-1}$  atribuită vibrației de alungire  $\nu(\text{C}=\text{C})$  și banda de la  $1155 \text{ cm}^{-1}$  atribuită vibrației  $\nu(\text{C}-\text{C})$  pentru norbixină, respectiv  $1525 \text{ cm}^{-1}$  și  $1153 \text{ cm}^{-1}$  atribuite tot vibrațiilor de alungire  $\nu(\text{C}=\text{C})$  și  $\nu(\text{C}-\text{C})$  și pentru bixină.



**Figura IV.2.** Spectrele Raman ale bixinei și norbixinei. Parametrii: 532 nm, 14mW, rezoluție 10 cm<sup>-1</sup>

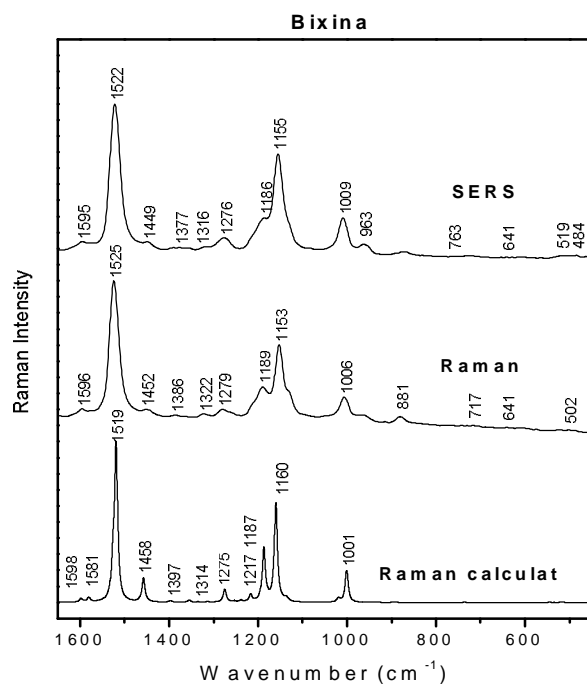
#### IV.4 Spectrele SERS ale bixinei și norbixinei

Figura IV.3. prezintă spectrele SERS ale bixinei și norbixinei care de asemenea prezintă profile spectrale asemănătoare.



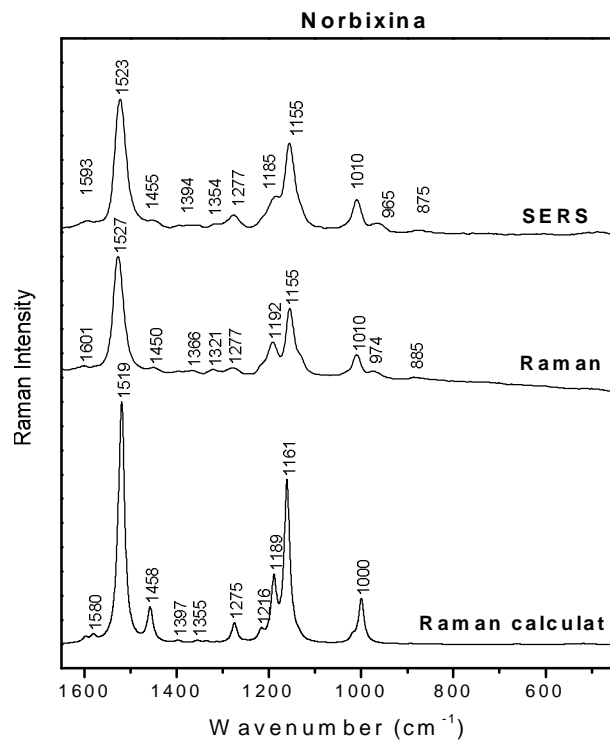
**Figura IV.3.** Spectrele SERS ale bixinei și norbixinei. Parametrii: 532 nm, 14mW, rezoluție 10 cm<sup>-1</sup>

Figura IV.4. prezintă comparativ spectrele SERS, Raman și Raman calculat pentru bixină. Se observă o bună corelare între spectrul Raman calculat și spectrul Raman experimental. Analizând comparativ spectrele Raman și SERS ale bixinei (Figura IV.4) se observă că spectrul SERS prezintă mici modificări în ceea ce privește poziția și intensitatea benzilor. Diferențele dintre spectrul Raman și SERS nu sunt semnificative, ceea ce arată că molecula este adsorbită astfel încât toți atomii moleculei sunt în imediata vecinătate a suprafeței, posibilitatea de adsorbție a moleculei bixină fiind prin atomii de oxigen dar de asemenea și prin electronii  $\pi$  din lanțul de carbon, ipoteză susținută și de harta MEP calculată (Figura IV.6).

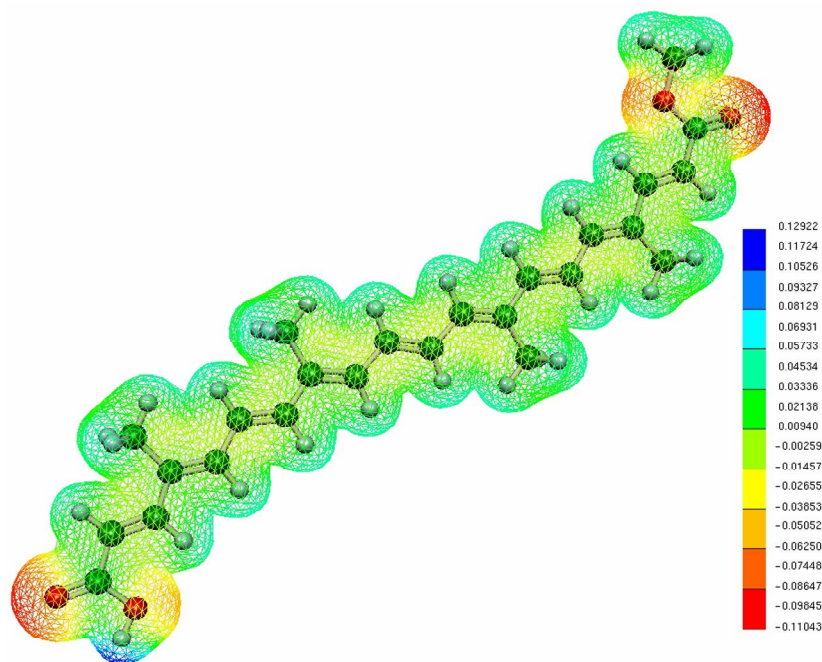


**Figura IV.4** Spectrele SERS, Raman și Raman calculat pentru bixină. Parametrii: 532 nm, 14mW, rezoluție  $10 \text{ cm}^{-1}$

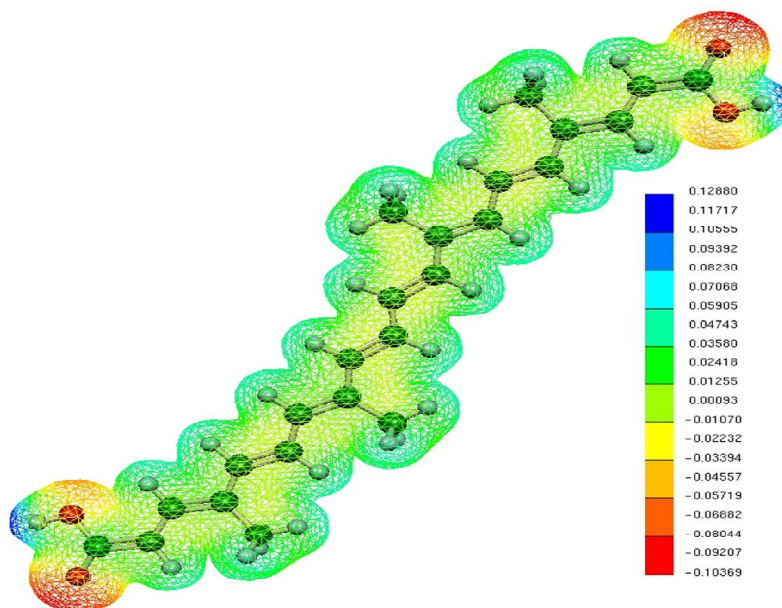
Figura IV.5. prezintă spectrele SERS, Raman și Raman calculat pentru norbixină. Se observă o bună corelare între spectrul Raman calculat și spectrul Raman experimental. De asemenea profilul Raman este asemănător cu profilul SERS astfel că și în cazul norbixinei presupunem că toți atomii sunt în imediata vecinătate a suprafeței metalice, ipoteză susținută și de harta MEP calculată (Figura IV.7)



**Figura IV.5.** Spectrele SERS, Raman și Raman calculat pentru norbixină. Parametrii: 532 nm, 14 mW, rezoluție 10 cm<sup>-1</sup>



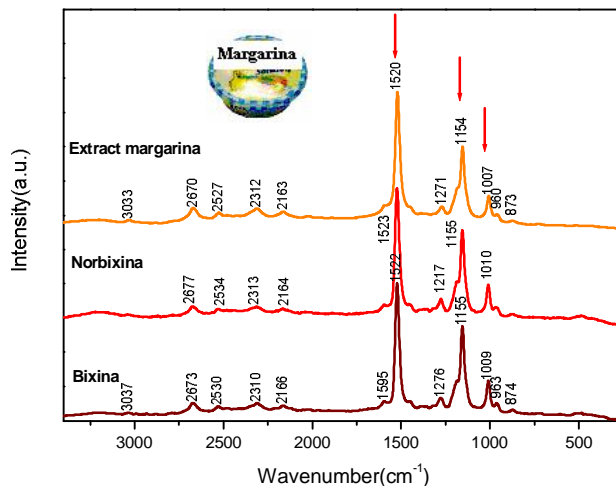
**Figura IV.6.** Potențialul electrostatic mapat pe suprafață 3D calculat pentru molecula de bixină



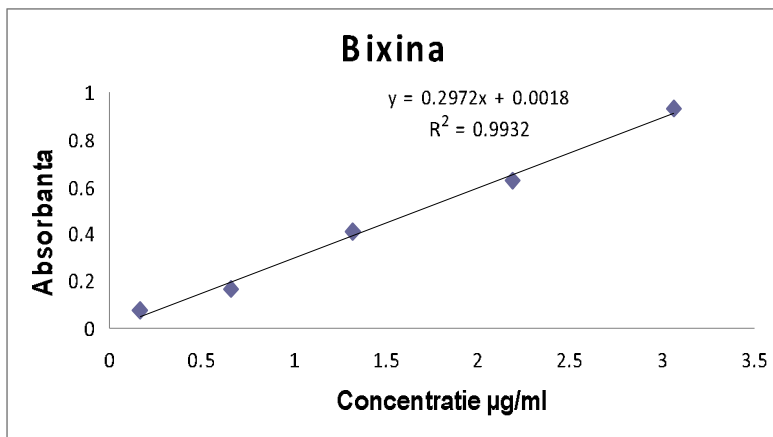
**Figura IV.7** Potențialul electrostatic mapat pe suprafață 3D calculat pentru molecula de norbixină

#### **IV.5 Identificarea aditivului alimentar annatto-E160b (bixină și norbixină) în produse alimentare.**

Comparând spectrul SERS al extractului de annatto (bixină și norbixină) cu spectrul SERS al margarinei (Figura IV.8.) se observă că spectrul corespunzător margarinei prezintă în mod evident prezența aditivului alimentar annatto (bixină și norbixină).



**Figura IV.8.** Spectrele SERS: (a) bixină, (b) norbixină și (c) margarină. Parametrii: 532 nm, 14 mW, rezoluție 10 cm<sup>-1</sup>



**Figura IV.9.** Curba de calibrare obținută prin spectroscopie UV/VIS pentru bixină.

Rezultatele de mai sus arată că spectroscopia SERS are un potențial foarte mare în evaluări calitative. Folosirea spectroscopiei SERS ca și metodă cantitativă este însă dificilă. Astfel, am apelat la metoda absorbției UV-VIS, o metodă excelentă pentru determinări cantitative, dar cu puține informații calitative.

Pe baza curbei de calibrare UV/VIS (Figura IV.9) s-a calculat concentrația de bixină dintr-o probă de 0.2 g de margarină. Valoare obținută pentru concentrația de margarină studiată a fost de 0.546mg/100g margarină.

## CONCLUZII

Spectrele Raman ale bixinei și norbixinei au profile asemănătoare datorită structurii moleculare foarte asemănătoare.

Spectrul Raman al bixinei și norbixinei prezintă benzile marker caracteristice caronoidelor: banda cea mai intensă de la  $1525\text{ cm}^{-1}$  atribuită vibrației de alungire  $\nu(\text{C}=\text{C})$  și banda de la  $1153\text{ cm}^{-1}$  atribuită vibrației  $\nu(\text{C}-\text{C})$  pentru bixină, respectiv benzile de la  $1527\text{ cm}^{-1}$  și  $1155\text{ cm}^{-1}$  atribuite tot vibrațiilor de alungire  $\nu(\text{C}=\text{C})$  și  $\nu(\text{C}-\text{C})$  și pentru norbixină.

Spectrele Raman teoretice și Raman experimental ale moleculelor de bixină și norbixină sunt într-o bună corelare.

Spectrele SERS ale bixinei și norbixinei nu prezintă diferențe semnificative comparativ cu spectrele Raman, moleculele fiind adsorbite pe suprafața metalică astfel încât toți atomii sunt în imediata vecinătate a suprafeței, posibilitatea de adsorbție fiind prin atomii de oxigen dar de asemenea și prin electronii  $\pi$  delocalizați ai lanțului de carbon.

Folosind în mod complementar spectroscopia SERS și spectroscopia UV-VIS, s-a evaluat concentrația de annatto dintr-o probă de margarină, valoarea determinată fiind  $0.546\text{ g annatto}/100\text{ g margarină}$ .

Spectrele Raman și SERS pot servi drept referință pentru aplicațiile spectroscopice Raman viitoare în cadrul analizelor asupra produselor alimentare.

## CONCLUZII GENERALE

- În această lucrare au fost studiate prin spectroscopie vibrațională trei substanțe de interes în industria alimentară: benzoat de sodiu (E 211), glutamat de sodiu (E 621), annatto (E 160b).
- Folosind metodele DFT s-a obținut optimizarea geometriei moleculare și calculul frecvențelor de vibrație pentru toate cele trei substanțe. S-a observat o bună concordanță între valorile teoretice și valorile obținute experimental.
- Geometria moleculei de glutamat de sodiu (MSG) a fost evaluată și optimizată pentru prima dată cu metodele BPW91/6-311++G\*\*, BPW91/LANL2DZ, B3LYP/6-311++G\*\* și B3LYP/LANL2DZ. Am demonstrat că cele două forme ale moleculei MSG (MSG monohidrat și MSG anhidru) posedă geometrii diferite care pot fi explicate prin posibilități de protonare ale moleculei.
- Comparând spectrul FT-Raman al benzoatului de sodiu pur, cu spectrul micro-Raman al benzoatului de sodiu industrial se observă o bună concordanță în ceea ce privește poziția benzilor și intensitatea relativă a acestora.
- Analizând spectrele Raman ale benzoatului de sodiu se observă că acestea prezintă benzi atribuite vibrațiilor anionului carboxilat ( $\text{COO}^-$ ) și benzi caracteristice vibrațiilor inelului aromatic.
- Spectrul Raman al bixinei și norbixinei prezintă benzile marker caracteristice caronoidelor: banda cea mai intensă de la  $1525 \text{ cm}^{-1}$  atribuită vibrației de alungire  $\nu(\text{C}=\text{C})$  și banda de la  $1153 \text{ cm}^{-1}$  atribuită vibrației  $\nu(\text{C}-\text{C})$  pentru bixină, respectiv benzile de la  $1527 \text{ cm}^{-1}$  și  $1155 \text{ cm}^{-1}$  atribuite tot vibrațiilor de alungire  $\nu(\text{C}=\text{C})$  și  $\nu(\text{C}-\text{C})$  și pentru norbixină.
- Au fost înregistrate spectrele Raman și SERS la diferite valori ale pH-ului și s-au pus în evidență formele protonate și deprotonate ale moleculelor.



- La pH=4, formele moleculare anionice ale benzoatului coexistă în soluție cu formele moleculare neutre (pKa=4.2) iar spectrul Raman la pH=3 este în principal atribuit formei moleculare nedisociate a benzoatului de sodiu.
- Analizând spectrele Raman și SERS ale moleculei MSG în soluție s-au putut evidenția trei modificări în structura moleculară a MSG, mergând de la valori ale pH-ului bazic spre cele acide. La valori joase ale pH-ului este dominantă forma complet protonată a MSG.
- Molecula de benzoat de sodiu este chemisorbită pe suprafața metalică, geometria de adsorbție a moleculei fiind perpendiculară pe suprafață. Adsorbția moleculei pe suprafața metalică se realizează prin electronii neîmperecheați ai atomilor de oxigen.
- A fost observată o interacțiune chimică puternică a moleculei MSG cu particulele coloidale la valori micromolare ale concentrației, implicând o adsorbție prin perechea de electroni neparticipanți ai atomului de azot și ai atomilor de oxigen ai grupării carboxil.
- Moleculele de bixină și norbixină sunt adsorbite pe suprafața metalică astfel încât toți atomii sunt în imediata vecinătate a suprafeței, posibilitatea de adsorbție fiind prin atomii de oxigen dar de asemenea și prin electronii  $\pi$  delocalizați ai lanțului de carbon.
- Folosind spectroscopia UV-VIS complementar cu spectroscopia SERS, s-a evaluat concentrația de annatto dintr-o probă de margarină, valoarea determinată fiind 0.546 g annatto/100 g margarină.
- Această lucrare este o abordare interdisciplinară care demonstrează posibilitatea caracterizării fizico-chimice prin metode spectroscopice vibraționale a moleculelor de tip aditiv alimentar precum și detecția acestora în produse alimentare.
- În acest studiu s-a realizat o colecție de 31 de spectre care constituie o valoroasă bază de date ce poate servi ca referință în studii spectroscopice viitoare în analiza produselor alimentare, farmaceutice și cosmetice.

## BIBLIOGRAFIE

- [Alv06] R. W Alves, A. A. Ulson de Souza, S. M. de Arruda, G. U de Souza P. Jauregi, *Separation and Purification in the Food Industry*, 48, 2, March, 208-213 (2006)
- [Baj97] K. Bajdor, P. Koczon, E. Wieckowska, W. Lewandowski, *Int. J. of Cuantum Chem.* 62, 385 (1997)
- [Bal06] K. Balaswamy, P.G. Prabhakara Rao, A. Satyanarayana, D.G. Rao, *LWT - Food Science and Technology* 39, 8, 952-956 (2006)
- [Bec92] A.D. Becke, *J. Chem. Phys.* 97, 9173 (1992)
- [Bec93] A.D. Becke, *J. Chem. Phys.* 98, 5648 (1993)
- [Bit05] C. Bittencourt, M. P. Felicissimo, J-J. Pireaux, Laurent Hossiau, *Spectroscopyeurope*, 17, 2, 16 (2005)
- [Boe90] F.J. Boerio, P.P. Hong, P.J. Clark, Y. Okamoto, *Langmuir*, 6, 721 (1990)
- [Chi05] V. Chiş, **C. Lehene**, M. Venter, O. Cozar, M. Vasilescu, N. Leopold, *Studia Univ. Babeş- Bolyai, ser. Physica*, PIM 3, 283-290 (2005).
- [Chi07] V. Chiş, M. M. Venter, **C. Lehene**, M. Vasilescu, N. Leopold, O. Cozar, *J. Opt. Adv. Mat.* 9, 788 - 794 (2007)
- [Dia11] V. Dias, V. Pilla, L. Alves, *J. Fluoresc* 21, 415-421 (2011)
- [Dol74] F.R. Dolish, W.G. Fateley, F.F. Bentley, *Characteristic Raman Frequencies of Organic Compounds*, John Wiley&Sons Inc., 1974
- [Dun76] T. H. Dunning Jr. P. J. Hay, in: P. J. Hay, in: H. F. Schaefer (Ed.), *Modern Theoretical Chemistry*, vol. 3, Plenum, New York, 1976
- [Eds37] J.T. Edsall, *J. Chem. Phys.* 5, 508-517 (1937)
- [Gau03] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery Jr., T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E.Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K.Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski, S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople, Gaussian 03 Inc., Pittsburgh PA, (revision B.04) (2003)
- [Góm10] N. M. Gómez-Ortíz, I. A. Vázquez-Maldonado, A R. Pérez-Espadas, G. J. Mena-Rejón, J. A. Azamar-Barrios, G. Oskam, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* 94, 40-44 (2010)

- [Ior08] A. Iordache, R. Minea, M. Culea, **C. Lehene**, *Chemicke Listy*, 102, 663 – 664 (2008)
- [Lee82] P. C. Lee, D. Meisel, *J. Phys. Chem.* 86, 3391-3395 (1982)
- [Lee88] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, 37, 785 (1988)
- [Leo03] N. Leopold, B. Lendl, *J. Phys. Chem. B*, 107, 5723-5727 (2003)
- [Leo04] N. Leopold, S. Cîntă -Pînzaru, M. Baia, **C. Lehene**, O. Cozar, W. Kiefer, *Studia Univ. Babeş-Bolyai, ser. Physica*, 49(1), 9-19 (2004)
- [Mor99] B. Morzyc-Ociepa, D. Michalska, *Spectrochim. Acta A* 55, 2671-2676 (1999)
- [Pei07] N. Peica, **C. Lehene**, N. Leopold, S. Schlücker, W. Kiefer, *Spectrochim. Acta A* 66, 604-615 (2007)
- [Peic07] N. Peica, **C. Lehene**, N. Leopold, O. Cozar, W. Kiefer, *J. Opt. Adv. Mat.* 9, 9, 2943-2948 (2007)
- [Per91] J. P. Perdew in : P. Ziesche, H. Eschrig (Eds.) *Electronic Structure of Solids*, Akademie Verlag, Berlin, 1991
- [Per92] J. P. Perdew, Y. Wang, R. G. Parr., *Phys. Rev. B* 45, 13244 (1992)
- [Pre80] H. D. Preston, M. D. Rickard, *Food Chem* 5, 47–56 (1980)
- [Pol91] P. Politzer, J. S. Murray, in: *Theoretical Biochemistry and Molecular Biophysics: A Comprehensive Survey*, Vol. 2, 13. Electrostatic Potential Analysis of Dibenzop-dioxins and Structurally Similar Systems in Relation to Their Biological Activities Protein. D. L. Beveridge, R. Lavery, Eds., Adenine Press, Schenectady, NY 1991
- [Ram10] S. Ramamoorthy, F. P. Doss, K. Kundu, V. S. V. Satyanarayana, V. Kumar, *Industrial Crops and Product*, 32, 1, 48-53 (2010)
- [Rib05] J. A. Ribeiro, D. T. Oliveira, M. L. Passos, M. A. S Barrozo, *J. Food Eng.* 66, 63–68 (2005)
- [Sil08] G. F. Silva, Felix M. Gamarra, A. L. Oliviera and F. A. Cabral, *Brazilian J. Chem. Eng.* 25, 2, 419-426, (2008)
- [Sho02] T. Shoeib, K.W.M. Siu, A.C. Hopkinson, *J. Phys. Chem. A* 106, 6121-6128 (2002)
- [Wei84] B. Weiss, *Food Additive Safety and Evaluation*, Plenum Publishing Corporation, 221-250 (1984)