

TEZĂ DE DOCTORAT

Rezumat

*Obținerea de materiale pe bază de cromofori naturali și biopolimeri cu
proprietăți optoelectronice*

*Obtaining of materials based on natural chromophores and biopolymers with
optoelectronic properties*

Autor: Chim. Adina Mirela ANASTASIU (ANTON)

Conducător de doctorat: Prof. Habil. Dr. Ing. Ileana RĂU

COMISIA DE DOCTORAT

Președinte	Prof. Dr. Ing. Adelina IANCULESCU	de la	Universitatea POLITEHNICA din București
Conducător de doctorat	Prof. Habil. Dr. Ing. Ileana RĂU	de la	Universitatea POLITEHNICA din București
Referent	Prof. Dr. Ing. Cristian SIMION	de la	Universitatea POLITEHNICA din București
Referent	Conf. Dr. Ion IOSUB	de la	Universitatea din Pitești
Referent	C.S.I Habil. Dr. Ing. Nicoleta RADU	de la	USAMV București

Soțului și fiicei mele,

Cu toată dragostea.

MULȚUMIRI

O dată cu finalizarea tezei de doctorat se închie un capitol important din viața mea, cel al formării profesionale.

În primul rând aș dori să-i mulțumesc doamnei **Prof. Habil. Dr. Ing. Ileana Rău**, pentru permanenta coordonare, înțelegere și sprijinire în activitatea de cercetare în elaborarea tezei și a articolelor științifice.

Totodată, aș dori să-i mulțumesc domnului **Prof. Francois Kajzar** pentru introducerea în domeniul fotonicii, pentru ajutorul și sfaturile primite în domeniul opticii neliniare. Fără ajutorul și îndrumarea dumnealui, rezultatele obținute privind proprietățile optice neliniare ale materialelor sintetizate nu ar fi fost posibile.

În aceiași măsură, aș dori să le mulțumesc domnului **Prof. Dr. Ing. Cristian Simion** și doamnei **Conf. Dr. Ing. Alina Simion** atât pentru sprijinul în obținerea extractelor colorate, cât și pentru susținerea acordată de – a lungul anilor de studiu.

Mulțumesc domnului **Prof. Habil. Dr. Ing. Cristian Pîrvu** pentru inițierea și ajutorul primit în realizarea determinărilor referitoare la microscopia electronică de baleaj și domnului **Dr. Claudiu Manole** pentru sprijinul în prelucrarea datelor de culoare.

Doresc să mulțumesc, în mod special, doamnelor **Dr. Chantal Andraud** și **Dr. Laure Guy** de la ENS Lyon Franța pentru ajutorul în analizele UPLC – HRMS pentru extractele colorate, determinări ce au fost realizate pe baza colaborării științifice între Universitatea POLITEHNICA București și Școala Normală Superioară de la Lyon (ENS Lyon).

Adresez calde mulțumiri doamnei **Conf. Dr. Maria Mihaly** pentru înțelegerea, susținerea și ajutorul oferite pe perioada activității mele de cercetare, precum și colegelor mele de la centrul Centrul de Cercetări pentru Protecția Mediului și Tehnologii Ecologice (CPMTE).

Mulțumesc doamnei **Prof. Emerit Dr. Aurelia Meghea**, director al Centrului de Cercetare CPMTE, pentru minunata coordonare a Centrului, ce iese în evidență prin performanțe științifice, dar și prin oameni cu suflet ce formează o adevărată familie.

Doresc să – mi exprim gratitudinea față de membrii comisiei de evaluare a tezei de doctorat, doamnei președinte de comisie **Prof. Dr. Ing Adelina Ianculescu**, precum și

membrilor domnilor **Prof. Dr. Ing. Cristian Simion** și **Conf. Dr. Ion Iosub** și doamnei **C.S. I Habil. Dr. Ing. Nicoleta Radu**.

Nu în ultimul rând, aş dori să le mulţumesc, persoanelor apropiate care m – au susţinut cu dragostea şi căldura lor pe parcursul elaborării tezei, sprijinindu – mă şi încurajându – mă mereu.

ACKNOWLEDGMENTS:

Rezultatele prezentate în această lucrare de doctorat au fost obţinute cu sprijinul financiar al Proiectului: "Materiale "verzi" avansate pentru fonică (BIOMATS)", cod proiect PN-III-P4-ID-PCE-2016-0674, contract de finanţare 100/2017, - Director Prof. Habil. Dr. Ing. Ileana Rău, finanţat de Ministerul Cercetării şi al Inovaţiei, CNCS – UEFISCDI.

De asemenea, mulţumesc pentru sprijinul financiar Proiectului: "Eco-nanotehnologii de depoluarea apelor şi valorificarea deşeurilor", ID: P_40_253; SMIS: 105558", contract de finanţare 130/23.09.2016, - Director Conf. Dr. Maria Mihaly.

CUPRINS

MULȚUMIRI.....	5
CUPRINS	7
INTRODUCERE.....	11
I. STUDIUL DOCUMENTAR	13
CAPITOLUL 1.....	15
BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE NATURALE COLORATE.....	15
1.1. ADN	18
1.2. CURCUMA.....	22
1.3. PIPERUL NEGRU	23
1.4. FRUNZELE DE CURRY	26
1.5. ARDEIUL ROȘU (BOIA DULCE)	29
CAPITOLUL 2.....	33
EXTRACTE COLORATE	33
2.1.METODE DE EXTRAȚIE ALE COLORANȚILOR NATURALI	33
2.1.1. Macerarea	33
2.1.2. Tehnica Soxhlet	34
2.1.3. Extracția asistată de microunde	36
2.1.4. Extracția cu fluid supercritic.....	37
2.1.5. Extracția cu lichide ionice	37
2.1.6. Extracția enzimatică.....	37
2.1.METODE DE EXTRAȚIE ALE CROMOFORILOR NATURALI	39
2.2.1. Extract colorat de curcumă.....	39

2.2.2. Extract colorat de boia dulce	40
2.2.3. Extract colorat de frunze de curry.....	41
2.2.4. Extract colorat de piper negru.....	42
CAPITOLUL 3.....	45
PROPRIETĂȚI OPTICE NELINIARE ALE UNOR MATERIALE PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI FUNCȚIONALIZAȚI CU COLORANȚI NATURALI.....	45
3.1. GENERAREA ARMONICII A DOUA (SHG)	49
3.2. GENERAREA ARMONICII A TREIA (THG).....	50
3.3. PRAGUL DE DETERIORARE OPTICĂ.....	52
II. CONTRIBUȚII ORIGINALE.....	55
OBIECTIVELE CERCETĂRII	57
CAPITOLUL 4.....	59
MATERIALE ȘI METODE EXPERIMENTALE	59
4.1. MATERIALE, REACTIVI ȘI ECHIPAMENTE UTILIZATE	59
4.2. METODE DE EXTRACȚIE ALE COLORANȚILOR NATURALI.....	64
4.2.1. Macerarea	65
4.2.1. Tehnica Soxhlet	65
4.3. TEHNICI DE CARACTERIZARE A EXTRACTELOR COLORATE ȘI A MATERIALELOR NOI OBȚINUTE	66
4.3.1. Spectrometria de absorbție vibrațională (FT – IR)	66
4.3.2. Spectrometria de absorbție electronică (UV – Vis).....	66
4.3.3. Spectrometria de fluorescență.....	70
4.3.4. Cromatografia de lichide ultra performantă cuplată cu spectrometria de masă de înaltă rezoluție (UPLC – HRMS).....	72
4.3.5. Depunerea filmelor subțiri.....	72
4.3.6. Determinarea grosimii filmelor	73
4.3.7. Determinarea balanței hidrofil-hidrofobe	73
4.3.8. Microscopie electronică de baleaj (SEM).....	74
4.3.9. Determinarea stabilității.....	75
4.3.10. Generarea armonicii a treia (THG).....	75
CAPITOLUL 5.....	77
CARACTERIZAREA PUDRELOR DE CONDIMENTE ȘI OBȚINEREA EXTRACTELOR COLORATE	77
5.1. CARACTERIZAREA PUDRELOR DE CONDIMENTE	77
5.1.1. Spectrometria de absorbție vibrațională (FT-IR) a pudrelor de condimente	77
5.1.2. Caracterizarea cromatică a pudrelor de condimente	84
5.2. OBȚINEREA EXTRACTELOR.....	85

5.1.1. Extracția prin macerare.....	85
5.1.1. Extracția prin tehnica Soxhlet.....	86
CAPITOLUL 6.....	89
CARACTERIZAREA EXTRACTELOR COLORATE	89
6.1. EXTRACTUL DE CURCUMĂ.....	89
6.1.1. Caracterizarea spectrală UV – Vis și fluorescență.....	89
6.1.2. Caracterizarea cromatografică	93
6.2. EXTRACTUL DE BOIA DULCE	101
6.2.1. Caracterizarea spectrală UV – Vis și fluorescență.....	101
6.2.2. Caracterizarea cromatografică	104
6.3. EXTRACTUL DE FRUNZE DE CURRY	108
6.3.1. Caracterizare UV – Vis și fluorescență.....	108
6.3.2. Caracterizare cromatografică.....	111
6.4. EXTRACTUL DE PIPER NEGRU	119
6.4.1. Caracterizare spectrală UV și fluorescență.....	119
6.4.2. Caracterizare cromatografică.....	121
CAPITOLUL 7.....	127
OBȚINEREA ȘI CARACTEREIZAREA SOLUȚIILOR	127
PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE COLORATE	127
7.1. OBȚINEREA SOLUȚIILOR PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE COLORATE.....	127
7.1.1. Prepararea complexului ADN – CTMA	127
7.1.2. Metoda A – Soluție de ADN – CTMA în n – butanol (10g/L) și extracte colorate în 2 – propanol și n – butanol	129
7.1.3. Metoda B – ADN – CTMA (solid) și extracte colorate în n – butanol.....	130
7.1.3. Metoda C – Soluție ADN în apă 6g/L și extracte colorate în 2 – propanol și n – butanol	131
7.2. CARACTERIZAREA SOLUȚIILOR PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI NATURALI ȘI EXTRACTE COLORATE.....	133
7.2.1. Caracterizarea spectrală UV – Vis.....	133
7.2.2. Caracterizarea spectrofluorimetrică.....	137
CAPITOLUL 8.....	151
OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA FILMELOR ȘI MEMBRANELOR PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE NATURALE.....	151
8.1. FILME SUBȚIRI.....	151
8.1.1. Obținerea de filme subțiri	151
8.1.2. Caracterizarea spectrală a filmelor subțiri	152

8.1.3. Grosimea filmelor subțiri.....	164
8.1.4. Balanța hidrofil - hidrofobă	168
8.1.5. Stabilitatea foto, termică și chimică a soluțiilor și filmelor subțiri.....	173
8.1.6. Determinarea unor parametri optici ai materialelor studiate	176
8.2. MEMBRANE PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE COLORATE	192
8.2.1. Obținerea de membrane pe bază de biopolimeri și extracte colorate	192
8.2.2. Stabilitatea membranelor	193
8.2.3. Morfologia membranelor.....	196
CONCLUZII	199
C.1. CONCLUZII GENERALE.....	199
C.3. PERSPECTIVE DE DEZVOLTARE ULTERIOARĂ	201
LISTĂ DE LUCRĂRI PUBLICATE.....	203
PARTICIPĂRI LA CONFERINȚE	205
BIBLIOGRAFIE	207

INTRODUCERE

În ultimii ani au fost depuse eforturi susținute de a dezvolta dispozitive fotonice bazate pe materiale organice. Cercetările sunt inspirate de bogăția materialelor organice în special a biomaterialelor ce constituie o clasă aparte, deoarece reprezintă o sursă regenerabilă și sunt biodegradabile. Probabil că cel mai cunoscut și mai important biomaterial este acidul dezoxiribonucleic (ADN – ul), molecula polimerică ce poartă codul genetic în toate organismele vii. Interesul comunităților științifice este îndreptat din ce în ce mai mult în a construi dispozitive fotonice din „molecula vieții” datorită proprietăților sale interesante, unice și speciale ce rezultă din structura sa dublu helicoidală.

Totodată în ultima perioadă a crescut interesul pentru sursele naturale de coloranți din cauza creșterii conștientizării impactului poluării mediului înconjurător asupra sănătății oamenilor și a tututor viețuitoarelor. Condimentele, alături de capacitatea lor de a conferi aromă și savoare mâncărilor prezintă importante proprietăți nutraceutice printre care cele mai cunoscute sunt capacitatea de a "vâna" radicalii liberi responsabili de multe daune în organismul uman și proprietăți: anti – obezitate, anti – cancerigene, anti – inflamatorii, etc. Grupările cromofore grefate pe structurile compușilor existenți în condimente prezintă și capacități tinctoriale ce pot forma împreună cu diferiți biopolimeri materiale noi cu proprietăți fotonice / optoelectronice. Pornind de la aceste premise teza de doctorat s – a axat pe elaborarea de materiale pe bază de ADN și extracte colorate obținute din patru condimente: curcumă, piper negru, boia dulce și frunze de curry.

Lucrarea este structurată în două părți și alcătuită din opt capitole. Prima parte cuprinde 3 capitole și sunt dedicate studiului documentar, iar cea de – a doua parte cuprinde 5 capitole prezentând contribuțiile originale.

În **capitolul 1** sunt expuse la început posibile surse de coloranți naturali și clasificarea acestora după mai multe criterii. În continuare este realizat un scurt istoric al condimentelor precum și o prezentare succintă a ADN – ului. Studiul de literatură efectuat a evidențiat posibilele grupări cromoforice existente în cele patru condimente studiate precum și efectele benefice pe care acestea le pot aduce sănătății consumatorilor.

Capitolul 2 prezintă câteva metode de extracție ale coloranților existenți în condimente cum ar fi: macerarea, tehnica Soxhlet, extracția cu microunde, extracția cu fluide supercritice, extracția cu lichide ionice și extracția enzimatică, iar în **capitolul 3** sunt descrise principiile opticii neliniare cu prezentarea tehnicilor de generare a armonicilor și de determinare a pragului de deteriorare optică.

În **capitolul 4** sunt descrise reactivii, aparatura și metodele utilizate pentru obținerea și caracterizarea atât a extractelor colorate pe bază de condimente, cât și a materialelor noi obținute.

Capitolul 5 este dedicat caracterizării pudrelor de condimente și prezentării metodelor dezvoltate și utilizate la obținerea extractelor colorate (macerarea și extracția Soxhlet).

Capitolul 6 prezintă caracterizarea extractelor obținute (prin cele două metode) prin analiza spectrală UV – Vis, spectrofluorimetrie, dar și prin cromatografia de lichide ultra performantă cuplată cu spectrometria de masă de înaltă rezoluție.

Funcționalizarea ADN-ului cu cromofori naturali extrași din condimente s-a realizat prin trei metode prezentate în **capitolul 7**. Materialele astfel obținute au fost caracterizate spectral (UV – Vis și fluorescență).

Capitolul 8 este structurat în două subcapitole, primul fiind dedicat obținerii de filme subțiri, iar cel de – al doilea obținerii de membrane colorate. Filmelor subțiri le – au fost studiate atât proprietățile spectrale cât și proprietățile optice neliniare, iar membranele au fost analizate din punct de vedere al stabilității termice și al morfologiei structurale.

Teza se încheie cu prezentarea concluziilor generale, a contribuțiilor originale și a perspectivelor ulterioare de dezvoltare, a listei de lucrări publicate și a conferințelor, precum și a referințelor bibliografice.

Teza cuprinde 174 figuri, 52 tabele și 194 referințe bibliografice.

Rezultatele acestei lucrări au fost valorificate prin 4 publicații din care 1 articol în Buletinul UPB și 3 articole în jurnale cotate ISI. De asemenea rezultatele au fost prezentate la 8 conferințe internaționale.

În continuare sunt prezentate pe scurt principalele rezultate obținute în cadrul tezei. În acest rezumat sunt păstrate numerotările capitolelor, subcapitolelor, figurilor, tabelelor și referințelor bibliografice.

I. STUDIU DOCUMENTAR

CAPITOLUL 1. BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE NATURALE COLORATE

Biopolimerii sunt recunoscuți ca fiind materiale cu proprietăți fizice, chimice și mecanice remarcabile, cu numeroase aplicații în medicină [1], în industriile biomedicală, biotehnologică [2], alimentară sau farmaceutică, fiind folosiți la microîncapsularea, imobilizarea și eliberarea controlată a numeroși compuși activi [3].

Biopolimerii sunt polimeri produși în organismele vii, existând 3 surse regenerabile de polimeri naturali: plante (proteinele din soia, celuloza), animale (acid deoxiribonucleic – ADN, chitosan, keratina, mătase) și produși ai bacteriilor (polihidroxibutirat – PHB și polihidroxialcanoat – PHA) în condiții de limitare a nutrienților și / sau în exces de carbon [1].

Coloranții, derivați din surse naturale au apărut ca o alternativă a coloranților sintetici. Având în vedere dezavantajele coloranților sintetici astăzi există un interes crescut la nivel mondial în producția și utilizarea de coloranți din două surse naturale (plante și microorganisme).

În urma studiului de literatură se poate aprecia că extractele naturale ale condimentelor studiate, prin complexitatea lor pot fi folosite în gastronomie, pentru promovarea sănătății dar pot reprezenta și surse naturale de cromofori.

CAPITOLUL 2. EXTRACTE COLORATE

2.1. Metode de extracție ale coloranților naturali

În ultimii 50 de ani s-au înregistrat progrese semnificative în extracția pigmentilor naturali din materiale vegetale. Metodele convenționale de extracție precum macerarea, tehnica Soxhlet și hidrodistilarea au fost completate cu metode noi neconvenționale [65] cum sunt: extracția asistată cu microunde [66], extracția cu fluide supercritice [67 - 72], extracția accelerată cu solvent [66, 73], extracția hidrotropică, digestia enzimatică [74], extracția în câmp electric pulsant [75], extracția cu ultrasunete [76, 77].

Tabel 2.1. Evidențierea avantajelor și dezavantajelor metodelor de extracție ale coloranților naturali

Tehnica	Avantaje	Dezavantaje
Macerare	-volum de solvent mic -extract concentrat	-timp de extracție mare (câteva zile) -neselectivă -necesitatea filtrării extractului

Tehnica	Avantaje	Dezavantaje
Tehnica Soxhlet	-timp de extracție mic (câteva ore), -nu necesită filtrare după finalizarea extracției	-volum de solvent mare, -obținerea de extract diluat, necesitatea concentrării extractului cu un alt aparat, -expunerea extractului la temperatura de fierbere a solventului și degradarea compușilor labili la temperaturi crescute, -supraveghere continuă a instalației
Extracția asistată de microunde	-selectivitate, -timp redus de extracție – rapiditate, -randament bun, -volum de solvent scăzut	-instalație/aparatură specială
Extracția cu fluid supercritic	-rapiditate -selectivitate -extracte pure, fără urme de solvenți -fluidele supercritice au puterea de solvatare asemănătoare cu cea a solventilor organici, dar cu putere de difuzie mai mare, -solvenți non – toxici -temperatura de lucru fiind joasă se evită denaturarea produșilor sensibili termic	-instalație costisitoare pentru a obține solvenții în stare supercritică, -fluidele supercritice au vîscozitate și tensiune superficială mai mică față de solvenții organici
Extracția cu lichide ionice	-toxicitate scăzută -non-volatilitate și neinflamabilitate -selectivitate	-cost ridicat
Extracția enzimatică	-solvenți ecologici -non-volatilitate -neinflamabilitate	-cost ridicat dat de enzime

Având în vedere avantajele și dezavantajele metodelor de extracție (tabel 2.1) s – au ales ca metode de obținere a extractelor colorate: macerarea și tehnica Soxhlet, iar rezultatele sunt prezentate în capitolele din partea de contribuții originale.

CAPITOLUL 3. PROPRIETĂȚI OPTICE NELINIARE ALE UNOR MATERIALE PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI FUNCȚIONALIZAȚI CU COLORANȚI NATURALI

Extracțele naturale primesc din ce în ce mai multă atenție datorită vitezei de degradare rapidă și a toxicității scăzute. Manea și colab. au studiat proprietățile optice neliniare ale unor extracțe naturale pe bază de afine și ADN funcționalizat. Măsurătorile THG pentru filme au arătat că se obține o susceptibilitate de ordinul trei de 25 – 34 de ori mai mare decât susceptibilitatea silicei de referință. Pentru un material cu proprietăți optice neliniare total "bio" este o valoare remarcabilă [129].

Pe baza datelor de literatură se poate afirma că biopolimerii pot forma cu cromofori naturali, materiale cu proprietăți optice neliniare comparabile cu cele pe bază de coloranți sintetici.

II. CONTRIBUȚII ORIGINALE

OBIECTIVELE CERCETĂRII

Obiectivul principal al tezei a fost obținerea de materiale noi în totalitate "bio" pe bază de coloranți naturali și biopolimeri, mai exact coloranți extrași din condimente și ADN obținut din deșeuri, precum și caracterizarea materialelor obținute. Acest obiectiv principal a fost realizat prin îndeplinirea următoarelor obiective specifice:

- caracterizarea a patru condimente (curcumă, piper negru, boia dulce și frunze de curry) sub formă de pudră prin:
 - spectrometrie de absorbție vibrațională (FT – IR),
 - spectrometrie de absorbție electronică (UV – Vis), realizându-se și analiza de culoare,
- obținerea de extracțe colorate în diferiți solvenți prin două metode:
 - macerare,
 - tehnica Soxhlet,
- caracterizarea extractelor colorate prin:
 - spectrometrie de absorbție electronică (UV – Vis),
 - spectrometrie de fluorescență,
 - cromatografie de lichide ultra performantă cuplată cu spectrometrie de masă de înaltă rezoluție (UPLC – HRMS),
- doparea ADN – ului cu extracțele colorate prin următoarele metode:
 - metoda A: ADN – CTMA soluție de concentrație 10 g / L și extracțe colorate în 2 – propanol și n – butanol,
 - metoda B: ADN – CTMA solid și extracțe colorate în n – butanol,
 - metoda C: Soluție de ADN în apă de concentrație 6 g / L și extracțe colorate în 2 – propanol și n – butanol
- caracterizarea materialelor total "bio" prin:
 - spectrometrie de absorbție electronică (UV – Vis),

- spectrometrie de fluorescență,
- analiza balanței hidrofil – hidrofobă,
- analiza stabilității foto, termică și chimică,
- obținerea de filme subțiri,
- caracterizarea filmelor subțiri prin:
 - spectrometrie de absorbție electronică (UV – Vis),
 - spectrometrie de fluorescență,
 - microscopie electronică de baleaj (SEM),
 - analiza balanței hidrofil – hidrofobă,
 - analiza stabilității foto, termică și chimică,
 - determinarea proprietăților optice neliniare:
 - determinarea pragului de deterioare optică,
 - generarea armoniciei a treia,
- obținerea de membrane pe bază de biopolimeri și extracte colorate
- caracterizarea membranelor total "bio":
 - analiza stabilității membranelor,
 - analiza morfologică prin microscopie electronică de baleaj (SEM).

CAPITOLUL 4. MATERIALE ȘI METODE EXPERIMENTALE

4.2.1. Macerarea

Macerarea este cea mai simplă tehnică de extracție solid – lichid. Extracția solid – lichid presupune punerea în contact a materialului solid cu solventul. Are la bază principiul asemănării, clasele de compuși de o anumită polaritate fiind extrase de solvenți de aceeași polaritate. Au fost folosiți o serie de solvenți de polaritate diferită pentru a obține un profil cât mai complet al claselor de compuși aflați în extractele de interes. Materialul vegetal (4 g) a fost pus în recipiente de sticlă (figura 4.14) și peste acesta a fost adăugat solventul (20 mL). Recipientele au fost acoperite cu folie de aluminiu și supuse agitării magnetice, la temperatura camerei. După 48 de ore au fost filtrate, prin filtrare simplă, iar extractele au fost păstrate la frigider pentru evitarea degradării compușilor de interes.

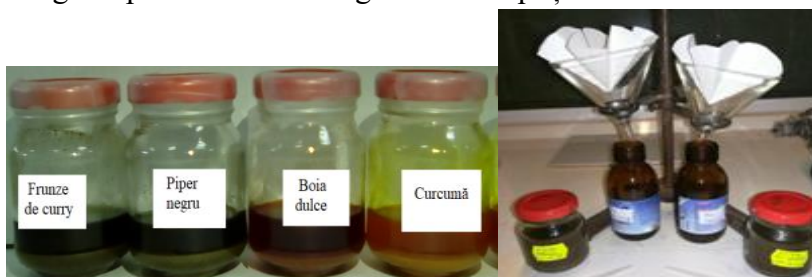


Fig. 4.14. Macerarea și filtrarea probelor de condiment

4.2.1. Tehnica Soxhlet

Materialul vegetal (4 g) a fost introdus într-un cartuș de hârtie, iar acesta în extractorul Soxhlet, figura 4.15. Probele au fost supuse extracției până când solventul (150

mL) din extractor a devenit incolor, în medie au fost necesare 10 sifonări. Extractele au fost păstrate la rece din aceleași considerente ca și în cazul macerării [142].



Fig. 4.15. Instalația utilizată pentru extracția Soxhlet

Extractele obținute atât prin tehnica Soxhlet cât și prin macerare au fost analizate spectral și utilizate la obținerea de materiale noi pe bază de ADN și extracte colorate.

CAPITOLUL 5. CARACTERIZAREA PUDRELOR DE CONDIMENTE ȘI OBTINEREA EXTRACTELOR COLORATE

5.1. CARACTERIZAREA PUDRELOR DE CONDIMENTE

5.1.1. Spectrometria de absorbție vibrațională (FT-IR) a pudrelor de condimente

În figurile 5.1 (b), 5.2, 5.3, și 5.4 sunt prezentate spectrele FT – IR ale pudrelor de condimente, iar în tabelele 5.1 – 5.4 sunt trecute atribuirile pentru benzile observate în spectre.

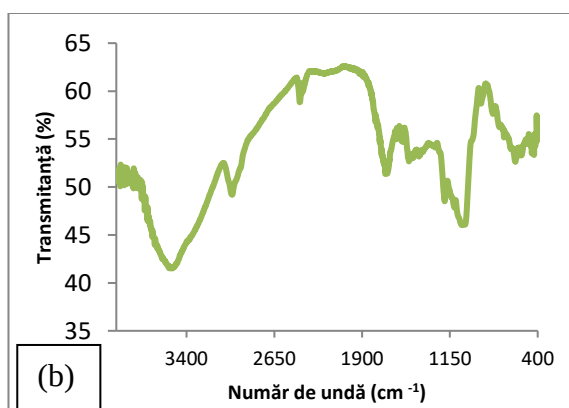


Fig. 5.1. (b) Spectrul FT-IR al pudrei de curcumă

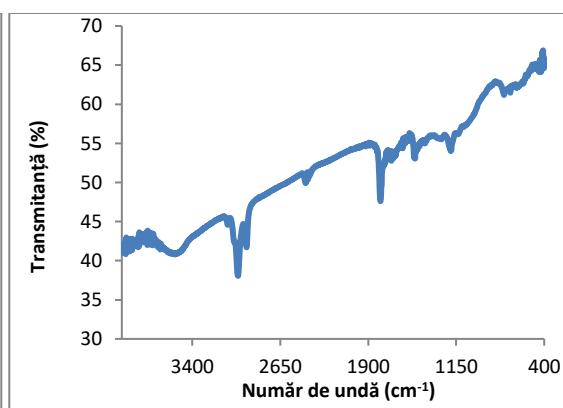


Fig. 5.2. Spectrul FT-IR al pudrei de boia dulce

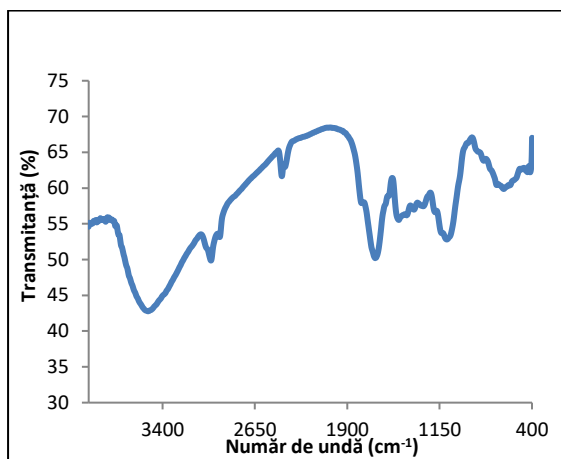


Fig.5.3. Spectrul FT-IR al pudrei de frunze de curry

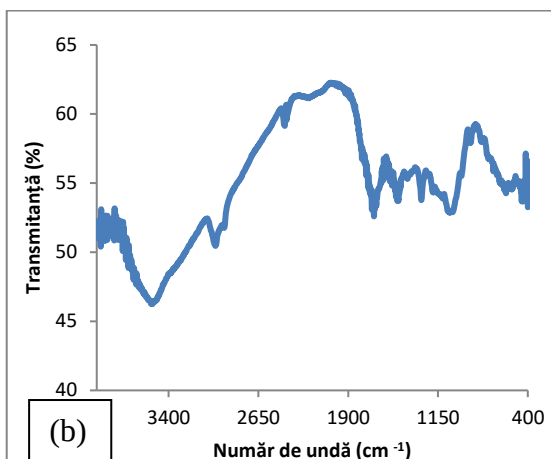


Fig.5.4.(b) Spectrul FT-IR al pudrei de piper negru

Tabel 5.1. Atribuirea spectrală pentru curcuma/curcumina standard/curcumina

Frecvența benzilor observate în spectrul curcuminei [162] (cm ⁻¹)	Frecvența benzilor observate în spectrul curcuminei standard (cm ⁻¹)	Frecvența benzilor observate în spectrul pudrei curcumă (cm ⁻¹)	Atribuirea tipului de vibrație al legăturilor din matricile studiate
3508	3603	3508	Vibrația de întindere a legăturii O – H (ν_{O-H})
3293	3058, 3018	-	Vibrația de întindere a legăturii C – H (ν_{C-H})
2972	-	2999	Vibrația de întindere asimetrică a legăturii C – H (ν_{C-H}) din gruparea CH ₃
2945	-	2937	Vibrația de întindere asimetrică a legăturii C – H (ν_{C-H}) din gruparea –O – CH ₃
1626	1676	1702	Vibrație de întindere a legăturilor (C=O) ($\nu_{C=O}$) și C _{in} el–C=C ($\nu_{C_{in}el-C=C}$)
1601	1645	1605	Vibrație de întindere a legăturii C=C a inelului aromatic ($\nu_{C=C}$)
1508	1552	1500	Vibrație de întindere a legăturii C=O ($\nu_{C=O}$), vibrația de deformare în plan a legăturilor C-C-C (γ_{C-C-C}), C-C=O ($\gamma_{C-C=O}$)
1272	1237	1194	Vibrație de întindere a legăturii C – O aromatice ($\nu_{C-Oaromatice}$), vibrația de deformare în plan a legăturii C – H (γ_{C-H}) din gruparea C=CH
959	986	1007	Vibrația de întindere a legăturii CO (ν_{CO}), deformare în plan a grupării C-C-H (δ_{C-C-H})
852	879	868	Vibrația de deformare în afara planului a legături C – H a inelului aromatic (γ_{C-H} a inelului aromatic)
713	734	688	Vibrația de deformare în plan a legături C – H a inelului aromatic (γ_{C-H} a inelului aromatic)

Tabel 5.2. Atribuirea spectrală pentru pudra de boia dulce

Frecvența benzilor observate în spectrul pudrei de boia dulce (cm^{-1})	Atribuirea tipurilor de vibrație al diferitelor legături prezente în compușii din pudra de boia dulce
3500	Vibrația de întindere a legăturii O – H ($\nu_{\text{O-H}}$)
3079	Vibrația de întindere asimetrică a legăturii C – H din grupare nesaturată ($\nu_{\text{C-H}}$)
3010	Vibrația de întindere simetrică a legăturii C – H din grupare nesaturată ($\nu_{\text{C-H}}$)
2937	Vibrație de întindere a legăturii C – H din grupare saturată ($\nu_{\text{C-H}}$)
1795	Vibrația de întindere a legăturii C = O ($\nu_{\text{C=O}}$)
1680, 1665	Vibrație de întindere a legăturii C=C, ce prezintă izomeri trans ($\nu_{\text{C=C}}$ ce prezintă izomeri trans)
1660, 1630	Vibrație de întindere a legăturii C=C, ce prezintă izomeri cis ($\nu_{\text{C=C}}$ ce prezintă izomeri cis)
743	Vibrație de deformare a legăturii C – H în plan ($\delta_{\text{C-H}}$)

Tabel 5.3. Atribuirea spectrală pentru frunze de curry

Frecvența benzilor observate în spectrul pudrei de boia dulce (cm^{-1})	Atribuirea tipului de vibrație al diferitelor legături prezente în compușii din pudra de frunze de curry
3494	Vibrație de întindere a legăturii O – H ($\nu_{\text{O-H}}$)
3023	Vibrație de întindere a legăturii C – H din grupare aromatică/ nesaturată ($\nu_{\text{C-H}}$ din gruparea nesaturată)
2994	Vibrația de întindere CH_2 asimetrică C-H alifatică ($\nu_{\text{C-H}}$ asimetrică)
2927	Vibrația de întindere CH_2 simetrică C-H alifatică ($\nu_{\text{C-H}}$ simetrică)
1764	Vibrație de întindere a legăturii C – O – C ($\nu_{\text{C-O-C}}$)
1667	Vibrație de întindere a legăturii C=O ($\nu_{\text{C=O}}$), vibrație de întindere a legăturii N – H primare ($\nu_{\text{N-H}}$)
1482, 1410	Vibrație de deformare a legăturii C – H în plan, din inelul aromatic ($\delta_{\text{C-H}}$ din inelul aromatic)
1062	Vibrație de deformare a legăturii C – H în afara planului, din inelul aromatic ($\gamma_{\text{C-H}}$ din inelul aromatic)

Tabel 5.4. Atribuirea spectrala pentru piper negru/piperina standard/piperină [43]

Frecvența benzilor înregistrate			Atribuirea tipului de vibrație pentru diferite legături
Piperina literatură [43] (cm ⁻¹)	Piperina standard (cm ⁻¹)	Pudra de piper (cm ⁻¹)	
-	3548	3535	Vibrația de întindere a legăturii O – H (ν_{O-H})
3000	3025	3008	Vibrația de întindere a legăturii C-H aromatic ($\nu_{C-H \text{ aromatic}}$)
2925	2928	2935	Vibrația de întindere asimetrică a legăturii C – H ($\nu_{C-H \text{ asimetrică}}$) din gruparea CH ₂ (alifatică)
1635	1656	1633 f mic	Vibrația de întindere simetrică a legăturii C =C (dienă) ($\nu_{C=C \text{ diene}}$)
1635	1656	1665	Vibrația de întindere a legăturii – CO – N (ν_{CO-N})
1608	1628	1605 f mic	Vibrația de întindere asimetrică a legăturii C=C (dienă) ($\nu_{C=C}$) diene
1608 1580 1495	1628 1553 1490	1605 f mic 1543 1485	Vibrația de întindere a legăturii C=C din inelul benzenic ($\nu_{C=C}$ din inelul benzenic)
1250 1190	1228 1165	1229 1191	Vibrația de întindere a legăturii = C – O – C – asimetrică ($\nu_{C-O-C \text{ asimetrică}}$)
1132	1135	1028	Vibrația de deformare a legăturii C – H fenil în plan (δ_{C-H})
1030	1025	1028	Vibrația de întindere a legăturii = C – O – C – simetrică ($\nu_{C-O-C \text{ simetrică}}$)
930	953	947	Vibrația de întindere C – O (ν_{C-O-C})
850 830 805	869 826 809	870 830 794	Vibrația de deformare a legăturii C – H în afara planului din gruparea 1,2,4 fenil trisubstituit (γ_{C-H} din gruparea 1,2,4 fenil trisubstituit)

5.1.2. Caracterizarea cromatică a pudrelor de condimente

În tabelul 5.5 sunt redate valorile parametrilor tricromatici pentru pudrele de condimente studiate.

Se constată că toate probele au o luminozitate scăzută, iar valorile parametrilor a^* și b^* sunt în concordanță cu culorile observate vizual (roșu – cărămiziu pentru boia dulce, galben – roșu pentru curcumă, galben – verzui pentru frunze de curry, galben pentru piper negru).

Tabel 5.5. Parametrii de culoare pentru spectrele UV-Vis pentru condimentele studiate

Condiment	L*	a*	b*	C*	h*	Grad de alb(%)
Boia dulce	36,26	11,26	7,8	13,7	34,53	34,8
Curcuma	54,35	13,05	46,7	44,2	72,55	33,4
Frunze de curry	48,5	-0,85	13,45	13,45	93,55	46,8
Piper negru	46,53	3,8	14,73	15,23	75,53	44,4

5.3. Concluzii parțiale

Spectrele FT – IR înregistrate pentru condimentele curcumă și piper negru au confirmat prezența legăturilor specifice grupărilor cromofore existente în curcumină și piperină.

În spectrul FT –IR înregistrat pentru pudra de boia dulce și în cel pentru frunze de curry s – au observat benzi specifice legăturilor de tipul C=C și C=O, ce prezintă electroni de tip π cunoscuți ca fiind grupări cromofore.

Pe baza analizei de culoare s – a constatat că toate probele au o luminozitate scăzută. Valorile parametrilor a^* și b^* au fost în concordanță cu culorile observate vizual pentru toate condimentele după cum urmează pentru boia dulce: roșu – cărămiziu, pentru curcumă: galben – roșu, pentru frunze de curry: galben – verzui, pentru piper negru: galben.

În metoda de extracție Soxhlet, proba este frecvent în contact cu solventul proaspăt care accelerează transferul de masă și extracția substanței dizolvate astfel că, deși echipamentul de bază al tehnicii de extracție Soxhlet este simplu, este necesară o cantitate considerabilă de solvent (aproximativ de 7,5 ori mai mare față de metoda prin macerare). Mai mult tehnica Soxhlet implică o instalația specială și supraveghere pe toată durata extracției. Avantajul metodei de extracție Soxhlet constă însă în faptul că nu necesită filtrarea probelor.

Având în vedere că macerarea este o tehnică mai simplă ce nu implică o instalație specială cu supraveghere pe durata extracției și întrucât se obțin extracte concentrate cu volum mic de solvent în continuare s – a optat pentru această metodă ca procedeu de obținere a extractelor.

CAPITOLUL 6. CARACTERIZAREA EXTRACTELOR COLORATE

Extractele naturale obținute pe bază de condimente prin cele două metode de extracție macerare și tehnica Soxhlet au fost caracterizate prin: spectrometrie UV – Vis, spectrometrie de fluorescență și cromatografie de lichide cuplată cu spectrometrie de masă, iar rezultatele obținute sunt prezentate în cele ce urmează.

6.1. Extractul de curcumă

6.1.1. Caracterizarea spectrală UV – Vis și de fluorescență

Curcumina este solubilă atât în solvenți polari cât și în solvenți nepolari, dar este insolubilă în apă la valori neutre și acide ale pH – ului. Este însă solubilă în soluții alcaline, datorită ionizării grupărilor fenolice [168]. Din acest motiv extractele de curcumă au fost obținute din pudră de curcumă în diferiți solvenți. Acestea au fost supuse diluării succesive deoarece au fost foarte concentrate, pentru a putea fi caracterizate. În tabelul 6.1. sunt prezentate sintetic culorile extractelor și lungimile de undă la care s – au înregistrat maximele de absorbție ale extractelor de curcuma în următorii solvenți: acetonitril, tetrahidrofuran, 2 – propanol, n – hexan și n – butanol, pentru extractele obținute atât prin macerare cât și prin tehnica Soxhlet.

În figura 6.1(a) și (b) sunt prezentate suprapunerea spectrelor extractelor de curcumă în următorii solvenți: acetonitril, tetrahidrofuran, hexan și 2 – propanol. Extractele au fost obținute prin (a) macerare și (b) tehnica Soxhlet. Suprapunerile au fost realizate pentru soluții cu același factor de diluție, pentru fiecare tehnică în parte. Din datele de literatură se cunoaște că extractul de curcumă în metanol prezintă 2 maxime unul la 240 nm și unul la 420 nm [169]. Aceste maxime suferă deplasări spre lungimi de undă mai mici sau mai mari în funcție de polaritatea solventului [170].

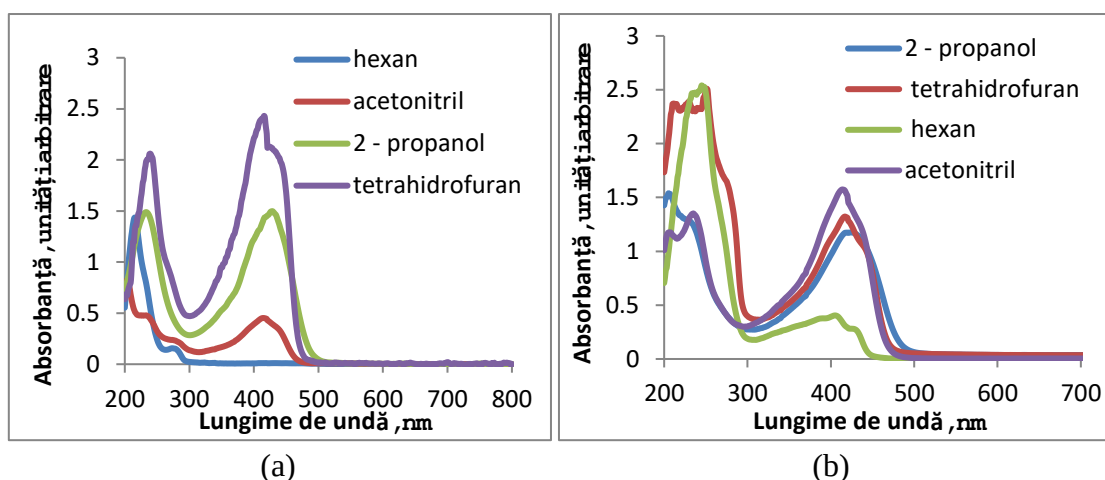


Fig. 6.1. Suprapunerea spectrelor UV – Vis ale extractelor de curcumă în diferiți solvenți, obținute prin (a) macerare (diluție 1:400) și (b) tehnica Soxhlet (diluție 1:100)

Tabel 6.1. Culoarea și lungimile de undă la care s-au înregistrat maxime de absorbție pentru extractele de curcumă

Nr. Crt.	Tehnica de extracție	Solvent	μ [Db]	Culoare	$\lambda_{\max}$ [nm]
1	macerare	hexan	0,08	galben pal	215, 413
2		2 – propanol	1,66 (30 °C)	portocaliu	231, 424
3		n – butanol	1,75	portocaliu	233, 425
4		tetrahidrofuran	1,75	portocaliu – roșu	238, 429
5		acetonitril	3,44 (20 °C)	portocaliu	235, 414
1	tehnica Soxhlet	hexan	0,08	galben – verde	243, 413
2		2 – propanol	1,66 (30 °C)	portocaliu	227, 421
3		n – butanol	1,75	portocaliu	232, 427
4		tetrahidrofuran	1,75	galben – roșu	250, 425
5		acetonitril	3,44 (20°C)	portocaliu	241, 415

În spectrul de emisie prezentat în figura 6.3.(b) se poate observa o creștere a intensității fluorescenței pe măsură ce crește concentrația probei până la proba C3 respectiv diluția 1: 600. Începând cu diluția 1:500 se poate observa ca are loc o stingere a fluorescenței datorată probabil formării de agregate de cromofor. Probele sunt diluate după cum urmează: C1 (1:200), C2 (1:500) C3 (1:600) și C4 (1:700).

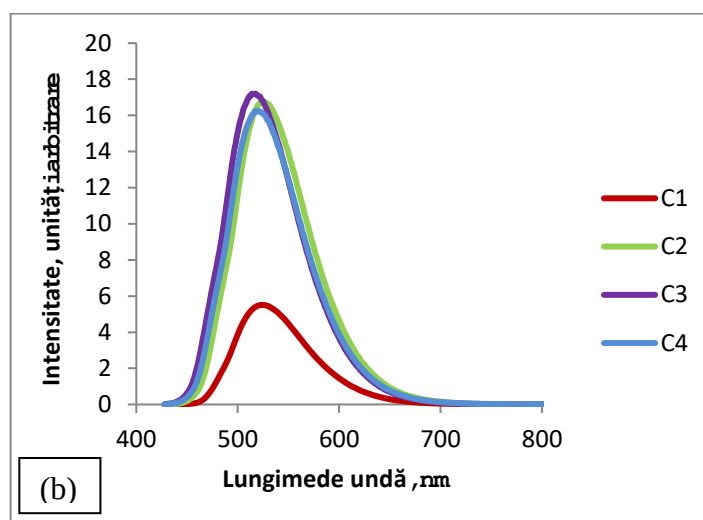


Fig. 6.3.(b) Spectrele de emisie ale extractului de curcumă în 2 – propanol ($\lambda_{ex} = 448\text{nm}$)

6.1.2. Caracterizarea cromatografică

În tabelul 6.6. este prezentată atribuirea compușilor identificați în extractul de curcumă în *n* – butanol. Au fost identificați ionii specifici următorilor compuși: curcumina, demetoxicurcumina și bisdemetoxicurcumina.

Tabel 6.6. Atribuirea compușilor extractului de curcumă în *n* – butanol

Compus	Timp de retenție [min]	m/z măsurat	Formula ionului	Formula totală	m/z	Adduct	z
Bisdemetoxi-curcumina	11,4	309,1123	$C_{19}H_{17}O_4$	$C_{19}H_{16}O_4$	309,1121	M+H	1+
Demetoxicur-cumina	11,5	339,1227	$C_{20}H_{19}O_5$	$C_{20}H_{18}O_5$	339,1227	M+H	1+
Curcumina	11,8	369,1331	$C_{21}H_{21}O_6$	$C_{21}H_{20}O_6$	369,1333	M+H	1+

Pe baza caracterizării spectrale și a rezultatelor obținute prin analiza UPLC – HRMS se poate afirma că extractele de curcumă conțin cromoforii de interes.

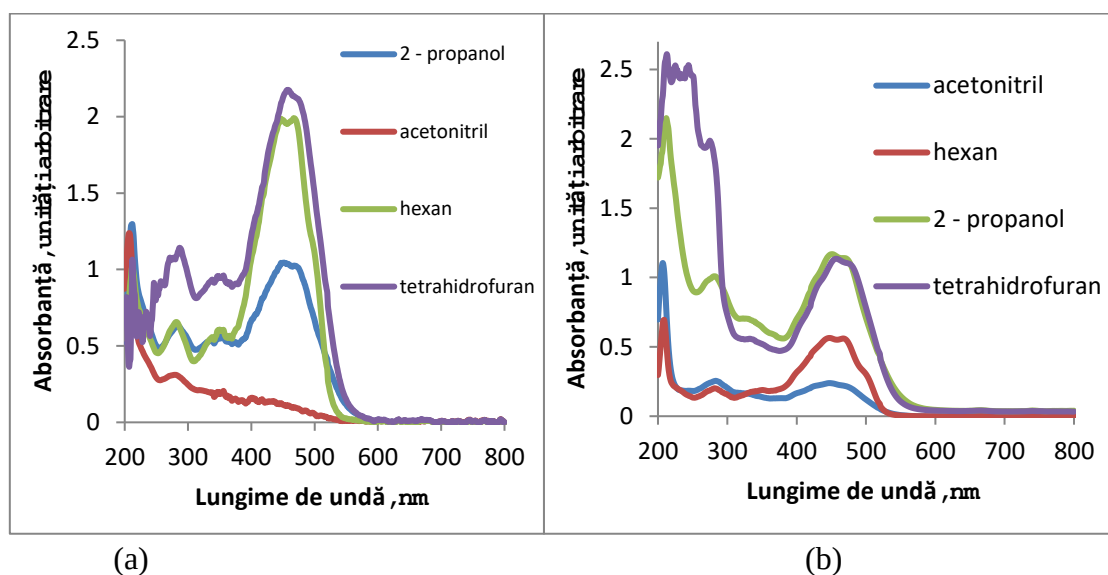
6.2. Extractul de Boia dulce

6.2.1. Caracterizarea spectrală UV – Vis și de fluorescență

În tabelul 6.7. sunt prezentate sintetic atât maximele de absorbție cât și culorile extractelor obținute prin cele două tehnici: macerare și tehnica Soxhlet.

Tabel 6.7. Culoarea și lungimile de undă la care s-au înregistrat maxime de absorbție pentru extractele de boia dulce

Tehnica de extracție	Solvent	μ [Db]	Culoare	$\lambda_{\max}$ [nm]
macerare	hexan	0,08	roșu – cărămiziu	210, 275, 351, 451, 470
	2 – propanol	1,66 (30 °C)	roșu – cărămiziu	209, 275, 351, 451, 470
	n – butanol	1,75	roșu – cărămiziu	210, 276, 350, 452, 474
	tetrahidrofuran	1,75	roșu – cărămiziu	213, 291, 351, 456, 481
	acetonitril	3,44 (20 °C)	portocaliu	204, 279
tehnica Soxhlet	hexan	0,08	cărămiziu	208, 278, 450
	2 – propanol	1,66 (30 °C)	roșu – portocaliu	210, 281, 451, 483
	n – butanol	1,75	roșu – portocaliu	211, 282, 453, 480
	tetrahidrofuran	1,75	galben – verde	209, 275, 452, 485
	acetonitril	3,44 (20 °C)	portocaliu	211, 279, 450

**Fig. 6.11.** Suprapunerea spectrelor extractelor de boia dulce
(a) macerare (diluție 1:50) și (b) tehnica Soxhlet (diluție 1:10)

Alura complexă a spectrelor pe domeniul de lungimi de undă UV – Vis se poate datora complexității extractului.

În figura 6.12. se regăsesc structurile chimice ale compușilor celor mai importante clase de flavonoide ce pot exista în extractele studiate pentru pudra de boia dulce.

Analizând figurile 6.11.(a). și (b) se poate constata că spectrele înregistrate pentru extractele obținute prin metoda macerării sunt asemănătoare cu spectrele înregistrate pentru extractele obținute prin metoda Soxhlet. Picurile observate în toate extractele la lungimile de undă de aproximativ 210 nm și 280 nm pot fi atribuite inelului A din flavone, iar umărul ce se observă la aproximativ 330 nm inelului B. Banda observată la 280 nm poate fi datorată și prezenței flavonolilor. Picul larg observat în domeniul 400 – 500 nm ascunde două picuri la aproximativ 450 și 470 nm datorate prezenței antocianilor [174] și carotenoidelor [175, 176].

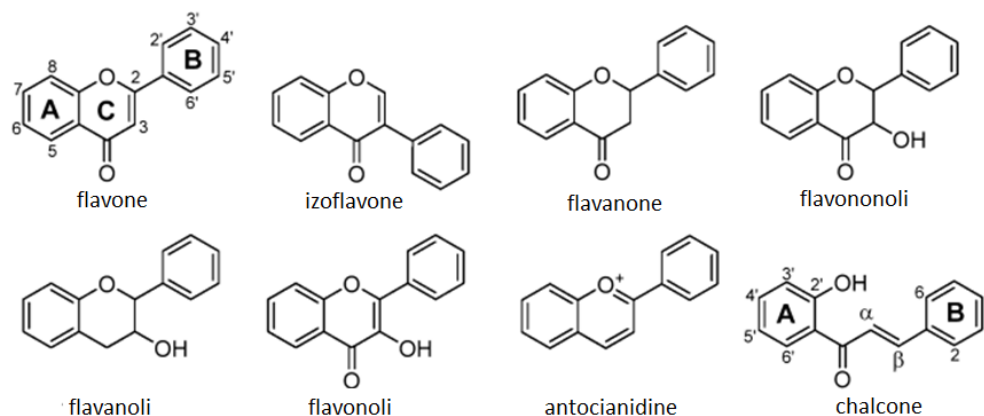


Fig. 6.12. Structurile compușilor celor mai importante clase de flavonoide

Se poate observa din fig. 6.31(b) că pe măsură ce concentrația compușilor fluorescenți scade are loc o creștere a intensității fluorescenței sugerând formarea de agregate odată cu creșterea numărului de molecule fluorescente. Probele au fost diluate și notate astfel B1 (1: 15), B2 (1: 30) și B3 (1: 50).

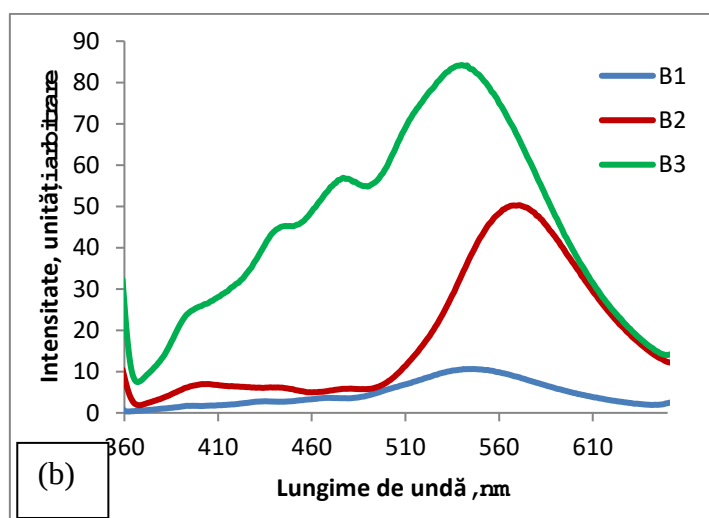


Fig. 6.13 (b) Suprapunerea spectrelor de emisie ($\lambda_{ex} = 340$ nm) ale extractului de boia dulce în 2 – propanol pentru mai multe diluții

6.2.2. Caracterizarea cromatografică

În urma analizei UPLC – HRMS compusul majoritar în extractul de boia dulce în n – butanol este capsantina, tabelul 6.10.

Tabel 6.10. Atribuirea compusului extractului de boia dulce în n – butanol

Compus	Timp de retenție [min]	m/z măsurat	Formula ionului	Formula totală	m/z	Adduct	z
Capsantina	20,6	585,4307	C ₄₀ H ₅₇ O ₃	C ₄₀ H ₅₆ O ₃	585,4302	M+H	1+

Analiza UPLC – HRMS coroborată cu caracterizarea spectrală prin prezența maximelor de absorbție în intervalul 400 – 500 nm specifice carotenoidelor confirmă prezența capsantinei în extractul studiat.

6.3. Extractul de frunze de curry

6.3.1. Caracterizare UV – Vis și fluorescență

În tabelul 6.11. se pot observa maximele de absorbție ale extractelor de frunze de curry obținute prin macerare și tehnica Soxhlet, precum și culorile acestora. Extractele au prezentat aceiași culoare cu nuanțe ușor diferite pentru toți solvenții utilizați.

Tabel 6.11. Culoarea și lungimile de undă la care s – au înregistrat maximele de absorbție pentru extractele de frunze de curry

Nr. Crt.	Tehnica de extracție	Solvent	μ [Db]	Culoare	$\lambda_{\max}$ [nm]
1	macerare	hexan	0,08	galben – maro	242, 292, 354, 408, 668
2		2 – propanol	1,66 (30 °C)	galben – maro	243, 290, 352, 417, 677
3		n – butanol	1,75	galben – maro	245, 289, 361, 415, 674
4		tetrahidrofuran	1,75	galben – maro	200 – 300, 415, 500, 672
5		acetonitril	3,44 (20 °C)	galben – maro	242, 269 – 277, 326, 352, 425, 660
1	tehnica Soxhlet	hexan	0,08	galben – maro	242, 289, 344, 362, 416, 677
2		2 – propanol	1,66 (30 °C)	galben – maro	200, 300, 361, 414, 678
3		n – butanol	1,75	galben – maro	243, 291, 363,

Nr. Crt.	Tehnica de extracție	Solvent	μ [Db]	Culoare	$\lambda_{\max}$ [nm]
					416, 676
4		tetrahidrofuran	1,75	galben – maro	225, 263, 302, 346, 416, 675
5		acetonitril	3,44 (20 °C)	galben – maro	242, 289, 344, 362, 417, 676

6.3.2. Caracterizare cromatografică

În tabelul 6.15. sunt prezentate atribuirile rezultate în urma analizei UPLC – HRMS. Au fost identificați ionii specifici următorilor compuși: miricetin – 3 – glucozida și quercetina. Acești doi compuși alături de campferol, fisetin, galagin fac parte din subclasa flavonolilor, clasa flavonoidelor care se regăsesc cuprinse în grupul mare al polifenolilor [178].

Pe baza spectrelor UV – Vis ale extractelor studiate, unde sunt evidente maximele de absorbție caracteristice quercetinei și miricetinei la 260nm și la 360nm conform datelor de literatură [179, 180] și a analizei UPLC – HRMS se poate concluziona că cei doi compuși au fost identificați cu succes în extractele obținute.

Tabelul 6.15. Atribuirea compușilor extractului de frunze de curry în n – butanol

Compus	Timp de retenție [min]	m/z măsurat	Formula ionului	Formula totală	m/z	Adduct	z
miricetin-3-glucozida	7,2	479,0829	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₃	C ₁₉ H ₂₀ O ₁₃	479,0831	M-H	1-
quercetina	10,4	301,0353	C ₁₅ H ₉ O ₇	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301,0354	M-H	1-

6.4. Extractul de piper negru

6.4.1. Caracterizare spectrală UV și de fluorescență

În tabelul 6.16. se pot observa maximele de absorbție ale extractelor de piper negru în diferiți solvenți, iar culorile acestora sunt de diferite nuanțe de galben.

Tabel 6.16. Culorile și lungimile de undă la care s-au înregistrat maxime de absorbție pentru extractele de piper negru

Nr. Crt.	Tehnica de extracție	Solvent	μ [Db]	Culoare	$\lambda_{\max}$ [nm]
1		acid acetic glacial	0,08	galben - verzui – închis	260, 349
2	macerare	2 – propanol	1,66 (30 °C)	galben – pal	207, 258, 344
3		n – butanol	1,75	galben – pal	207, 261, 305, 344

Nr. Crt.	Tehnica de extracție	Solvent	μ [Db]	Culoare	$\lambda_{\max}$ [nm]
4		etanol	1,75	galben – verzui – pal	220, 267, 345

În spectrul de emisie se poate observa un maxim la lungimea de undă de 426 nm, creșterea diluției determină creșterea și în intensitate a acestui pic sugerând că la concentrații mari în soluție apar agregate. Rapoartele diluțiilor realizate precum și notațiile corespunzătoare sunt următoarele: B41 (1:300), B42 (1:500), B43 (1:700), B44 (1:1000) și B45 (1:1500).

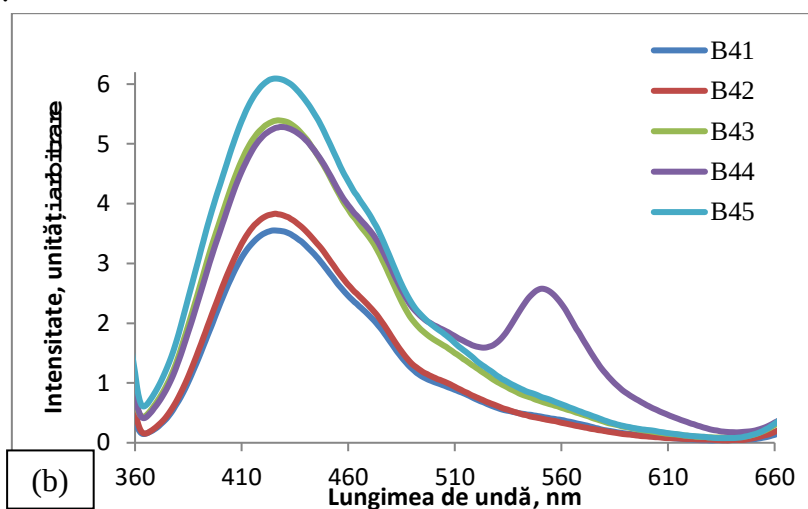


Fig. 6.29.(b) Suprapunerea spectrelor de emisie ($\lambda_{\text{ex}} = 342$ nm) ale extractului de piper negru în 2-propanol pentru mai multe diluții

6.4.2. Caracterizare cromatografică

În tabelul 6.19 este prezentată atribuirea rezultată în urma analizelor UPLC – HRMS pentru extractul de piper negru. Compusul identificat a fost piperilina.

În extractul de piper negru în *n* – butanol a fost identificat pe baza spectrului de masă piperilina sau tricotachina [42] cu structura chimică prezentată în figura 1.16. Acest compus prezintă structura asemănătoare piperinei [40].

Pe baza rezultatelor obținute prin metoda spectrometriei de masă precum și a caracterizării spectrale se poate afirma că extractul de piper negru conține piperilină.

Tabelul 6.19. Atribuirea compusului extractului de piper negru în *n* – butanol

Compus	Timp de retenție [min]	m/z măsurat	Formula ionului	Formula totală	m/z	Adduct	z
Piperilina	13,2	272,1283	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_3$	$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_3$	272,1281	M+H	1+

6.4.3. Determinarea calitativă a prezenței piperinei în extractul de piper negru

În figura 6.33 sunt prezentate probe de extract de piper negru testate conform procedurii descrise în capitolul 2. Se poate aprecia că extractele conțin piperină.

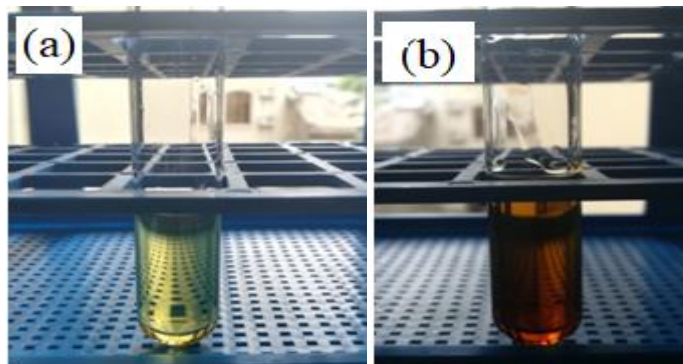


Fig.6.33. Reacția piperinei cu acidul sulfuric (a) extract de piper în acid acetic glacial, (b) extract de piper în acid acetic glacial după adăugarea câtorva picături de H_2SO_4 (98%).

6.5. Concluzii parțiale

În acest capitol au fost caracterizate spectral și cromatografic extractele pe bază de condimente în diferiți solvenți. S-a constatat că pentru fiecare condiment în parte s-au obținut extracte complexe ce conțin cromofori cu proprietăți fluorescente.

Astfel pentru curcumă alături de curcumină au fost identificați și izomerii săi bisdemetoxicurcumina și demetoxicurcumina.

În cazul extractului de boia dulce care se cunoaște a fi bogat în carotenoide a fost identificată capsantina, compus ce face parte din această clasă.

În urma analizei extractelor de frunze de curry au fost identificați compușii miricetin – 3 – glucozida și quercetina, iar în extractul de piper negru a fost identificată piperilina, compus ce face parte din aceeași clasă cu piperina.

Solvenții aleși pentru a continua experimentele au fost: 2 – propanolul și n – butanolul.

CAPITOLUL 7. OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA SOLUȚIILOR PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE COLORATE

În acest capitol vor fi prezentate metodele de obținere a soluțiilor pe bază de ADN și extracte colorate, precum și caracterizarea spectrală a acestora. Au fost alese doar extractele obținute prin macerare și utilizând solvenții de extracție: n – butanol și 2 – propanol. Au fost folosite mai multe metode având la bază ADN sau ADN – CTMA.

Pentru obținerea soluțiilor pe bază de ADN și extracte colorate s-au avut în vedere 3 metode:

- **metoda A:** soluție ADN – CTMA în n – butanol 10g/L și extracte colorate în 2 – propanol și n – butanol, prezentarea schematică este redată în figura 7.3,
- **metoda B:** ADN – CTMA (solid) și extracte colorate în n – butanol, prezentarea schematică este redată în figura 7.5,

- **metoda C:** soluție ADN în apă 6g/L și extracte colorate în 2 – propanol și n – butanol, prezentarea schematică este redată în figura 7.7.

În figura 7.4. sunt prezentate probele obținute prin metoda A, soluțiile de ADN – CTMA și extracte colorate au fost miscibile cu obținerea de soluții clare și de culori diferite în funcție de extractul colorat utilizat. Probele obținute prin metoda B (figura 7.6) de asemenea au fost clare, complexul ADN – CTMA dizolvându-se complet în extractele colorate, doar că au prezentat culori mult mai intense decât cele obținute prin metoda A.

Probele care au fost obținute prin metoda C s-au comportat diferit în funcție de solventul utilizat după cum se poate observa în figura 7.8. Probele realizate cu extracte în n – butanol au prezentat formarea a două straturi nemiscibile: unul inferior opac de culoare albă când s – a utilizat extract de boia dulce, galben când s – a utilizat extract de curcumă și verde când s – a utilizat extract de frunze de curry. Stratul superior a fost limpede cu culori intense specifice extractelor utilizate. Probele obținute din extractele în 2 – propanol au fost miscibile / omogene (din punct de vedere al fazei lichide) însă nu au fost limpezi semn că o parte din ADN s – a solidificat.

În tabelele 7.1 – 7.3 sunt prezentate materialele vegetale utilizate la obținerea soluțiilor pe bază de biopolimer și extracte colorate, precum și solventii utilizați și codificarea probelor obținute prin cele 3 metode: A, B și C.

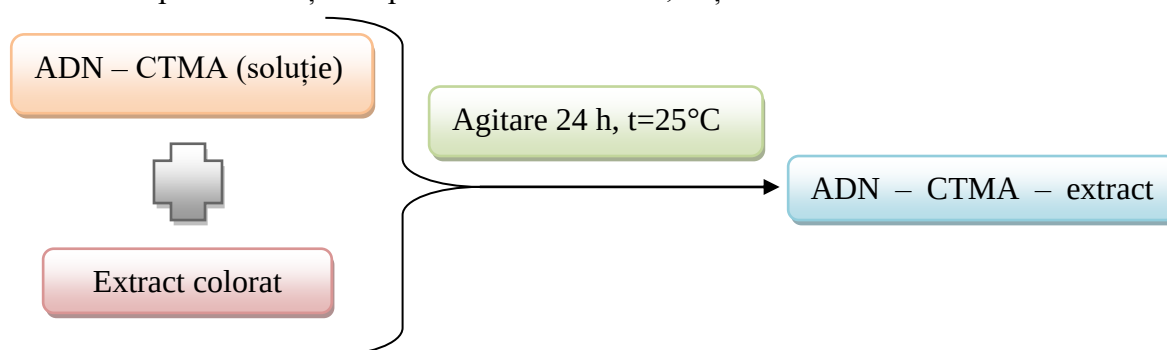


Fig. 7.3. Schema de obținere a soluției de ADN – CTMA - extracte colorate (metoda A)

Tabel 7.1. Soluțiile obținute din ADN – CTMA (soluție) și extracte colorate (metoda A)

Material vegetal	Solvent	Codificarea probei	Metoda de obținere a extractului
boia dulce	2 – propanol	ACA1	macerare
	n – butanol	ACA2	
curcumă	2 – propanol	ACA3	
	n – butanol	ACA4	
frunze de curry	2 – propanol	ACA5	
	n – butanol	ACA6	
piper negru	2 – propanol	AB3	Soxhlet
	n – butanol	AB4	
curcumă	n – butanol	ACA7	
	2 – propanol	ACA8	



Fig. 7.4. Soluții ADN – CTMA – extracte colorate, obținute prin metoda A,

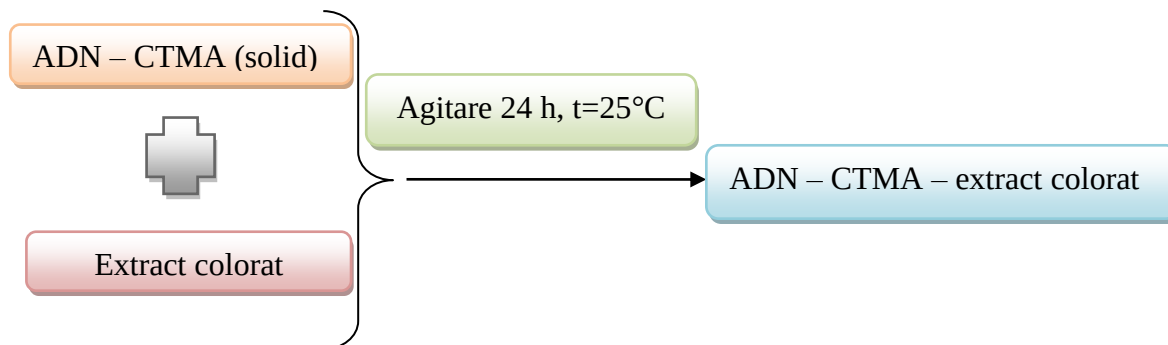


Fig. 7.5. Prezentarea schematică de obținere a soluțiilor de ADN – CTMA și extracte colorate (metoda B)

Tabel 7.2 . Soluțiile obținute din ADN – CTMA (solid) și extracte colorate (metoda B)

Material vegetal	Solvent	Codificarea probei	Metoda de obținere a extractului
Boia dulce	2 – propanol	A1AC	macerare
	n – butanol	A2AC	
curcumă	2 – propanol	A3AC	
	n – butanol	A4AC	
frunze de curry	2 – propanol	A5AC	
	n – butanol	A6AC	
curcumă	n – butanol	A7AC	Soxhlet
	2 – propanol	A8AC	

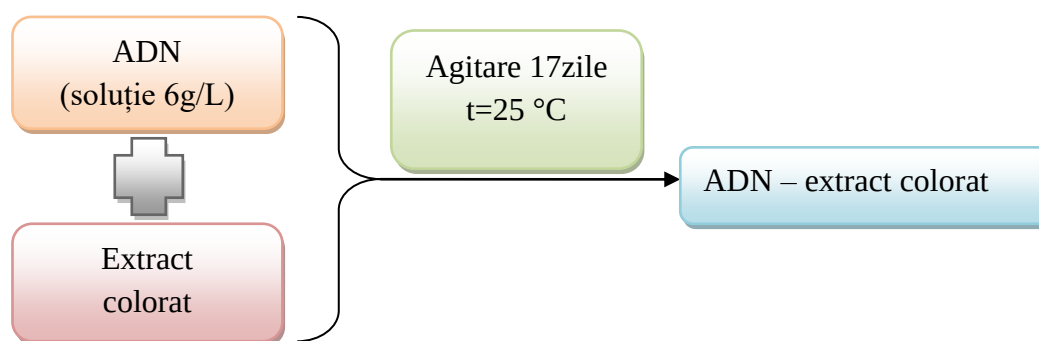
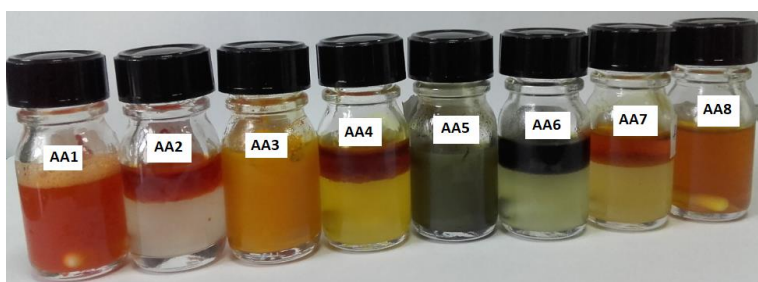


Fig. 7.7. Prezentarea schematică a obținerii soluției de ADN în apă și extracte colorate (metoda C)

Tabel 7.3. Soluțiile obținute din soluție de ADN în apă și extracte colorate (metoda C)

Material vegetal	Solvent	Codificarea probei	Metoda de obținere a extractului
Boia dulce	2 – propanol	AA1	macerare
	n – butanol	AA2	
Curcumă	2 – propanol	AA3	
	n – butanol	AA4	
Frunze de curry	2 – propanol	AA5	
	n – butanol	AA6	
Curcumă	n – butanol	AA7	Soxhlet
	2 – propanol	AA8	

**Fig. 7.8.** Probele AA1 – AA8, obținute prin metoda C,

7.2. CARACTERIZAREA SOLUȚIILOR PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI NATURALI ȘI EXTRACTE COLORATE

7.2.1. Caracterizarea spectrală UV – Vis

Similar cu spectrele înregistrate pentru soluțiile pe bază de soluție de ADN – CTMA și extracte au fost obținute și spectrele soluțiilor de ADN – CTMA solid dopat cu extracte colorate. Cum era de așteptat în toate spectrele se regăsesc maximele de absorbție specifice ADN – CTMA [124, 183] și maximele de absorbție specifice extractelor.

În toate cazurile se observă clar prezența atât a biopolimerului cât și a cromoforului.

7.3. Concluzii parțiale

Au fost utilizate 3 metode de obținere a materialelor noi pe bază de extracte colorate și biopolimeri (ADN și ADN – CTMA).

Soluțiile noi au fost caracterizate spectral și în urma spectrelor electronice s-a putut observa prezența atât a cromoforilor cât și a ADN – ului, ceea ce înseamnă ca acesta a fost dopat cu succes.

Spectrele de fluorescență au condus la ideea că atât metoda A adică amestecarea a două soluții cât și metoda B ce constă în dizolvarea ADN – CTMA în extract sunt optime pentru a obține materiale cu proprietăți optice de intensitate mai mare.

Aceste materiale au fost utilizate pentru obținerea de filme subțiri și membrane ce sunt prezentate și caracterizate în capitolul 8.

CAPITOLUL 8. OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA FILMELOR ȘI MEMBRANELOR PE BAZĂ DE BIOPOLIMERI ȘI EXTRACTE NATURALE

În acest capitol vor fi prezentate metodele de obținere ale filmelor subțiri și a membranelor pe bază de ADN și extracte colorate. Acestea au fost caracterizate atât spectral cât și printr – o serie de alte tehnici ce sunt prezentate detaliat pe parcursul capitolului.

8.1. Filme subțiri

8.1.1. Obținerea de filme subțiri

În figura 8.1 este prezentată schema de obținere a filmelor subțiri. Acestea au fost obținute pe lamele de sticlă prin procedura spin-coating utilizând soluțiile prezentate și caracterizate în capitolul 7. După depunerea pe lamelele de sticlă a soluțiilor, filmele subțiri au fost ținute la etuvă pentru a fi eliminate urmele de solvent.

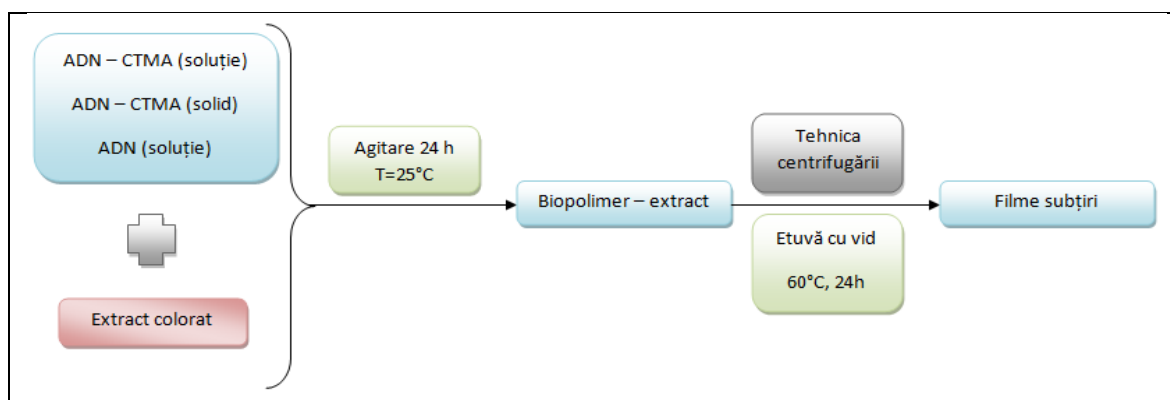


Fig. 8.1. Schema de obținere a filmelor subțiri

8.1.2. Caracterizarea spectrală a filmelor subțiri

Filmele subțiri au fost caracterizate spectral prin înregistrarea spectrelor UV – Vis. În toate cazurile se poate observa că filmele prezintă maximele de absorbție la lungimile de undă caracteristice atât ale ADN – ului cât și ale cromoforilor specifici fiecărui extract care a stat la baza soluțiilor. Alura spectrelor este asemănătoare indiferent de metoda utilizată pentru obținerea soluțiilor (A, B sau C).

S – au înregistrat spectre de absorbție pentru filmele subțiri obținute din soluțiile ce au fost realizate cu volume diferite de extracte colorate. Alura spectrelor este similară cu cea observată în cazul spectrelor soluțiilor. În general intensitatea absorbanțelor crește cu creșterea concentrației, însă s – au constatat și anomalii, datorate probabil grosimii diferite a filmelor.

8.1.3. Grosimea filmelor subțiri

În scopul analizării morfologiei suprafețelor mai multe filme pe bază de ADN dopate cu extracte colorate au fost analizate prin microscopie electronică de baleiaj. Filmele au fost obținute prin centrifugare pe suport de sticlă sau pe suport de cupru. În urma analizării imaginilor obținute se poate concluziona că atât tehnica de obținere a filmelor, suportul pe care filmele sunt depuse cât și extractul colorat folosit influențează morfologia acestora. Trebuie însă subliniat că aceste imagini s-au obținut în urma unui compromis între energie și imagine întrucât aceste filme sunt foarte sensibile arzându-se în timpul înregistrărilor.

În figurile 8.23 – 8.25 sunt prezentate câteva din imaginile SEM obținute pe filmele preparate. Din figurile 8.23 și 8.24 se poate observa atât o ordonare a lanțurilor de ADN cât și o aglomerare a moleculelor de cromofor. În cazul filmelor de ADN – CTMA dopat cu extract de piper depuse pe sticlă (figura 8.25) nu se observă o ordonare regulată.

În tabelul 8.3 sunt prezentate grosimile filmelor obținute în cazul filmelor pe bază de ADN și ADN – CTMA dopate cu diverse extracte colorate, funcție de metoda de obținere a soluțiilor mamă, a extractului și funcție de vitezele de centrifugare folosite la depunerea filmului.

Tabel 8.3. Variația grosimii filmelor cu metoda de preparare a filmelor, metoda de obținere a soluției mamă și metoda de obținere a extractului colorat. Programele de depunere sunt: A = 1500 rot / 40 sec, 2000 rot / min – 1 min; C = 1200 rot / 40 sec, 1800 rot / min – 1 min; E = 500 rot / min – 20 sec, 800 rot / min – 40 sec. Metodele A, B, C de obținere a soluțiilor sunt descrise în subcapitolul 7.1

Nr. Crt.	Film	Metoda de obținere / tehnica (M-macerare, S-Soxhlet)	Grosimea [nm]	Program depunere film
1.	ADN – CTMA – boia dulce în 2 – propanol	A/M	36±4	C
2.	ADN – CTMA – boia dulce în 2 – propanol	A/M	50±5	E
3.	ADN – CTMA – curcumă în n – butanol	A/S	20±3	E
4.	ADN – curcumă în n – butanol	C/S	NA	A
5.	ADN – CTMA – boia dulce în n – butanol	A/M	50±5	E
6.	ADN – CTMA – curcumă în n – butanol	A/M	32±4	E
7.	ADN – CTMA – curcumă în n – butanol	B/S	65±5	E
8.	ADN – CTMA – frunze de curry în n – butanol	A/M	25±3	E
9.	ADN – CTMA – curcumă în 2 – propanol	A/M	80±8	E
10.	ADN – CTMA – frunze de curry	A/M	19±2	E

Nr. Crt.	Film	Metoda de obținere / tehnica (M-macerare, S-Soxhlet)	Grosimea [nm]	Program depunere film
	în 2 – propanol			
11.	ADN – CTMA – curcumă în 2 – propanol	A/S	26±3	E
12.	ADN – CTMA – boia dulce în 2 – propanol	B/M	79±8	E
13.	ADN – CTMA – boia dulce în n – butanol	B/M	28±3	E
14.	ADN – CTMA – curcumă în 2 – propanol	B/M	78±8	E
15.	ADN – CTMA – curcumă în n – butanol	B/M	168±12	E
16.	ADN – CTMA – frunze de curry în n – butanol	B/M	35±4	E
17.	ADN – CTMA – curcumă în 2 – propanol	B/S	50±4	E
18.	ADN – boia dulce în 2 – propanol	C/M	30±4	A
19.	ADN – boia dulce în n – butanol	C/M	30±3	A
20.	ADN – curcumă în 2 – propanol	C/M	30±3	A
21.	ADN – curcumă în n – butanol	C/M	30±4	A
22.	ADN – frunze de curry în 2 – propanol	C/M	30±4	A
23.	ADN – frunze de curry în n – butanol	C/M	30±4	A
24.	ADN – curcumă în 2 – propanol	C/S	NA	A
25.	ADN – CTMA – piper negru în n – butanol	A/M	58±5	E
26.	ADN – CTMA – piper negru în 2 – propanol	A/M	48±4	E
27.	ADN – CTMA – piper negru în n – butanol	B/M	64±5	E
28.	ADN – CTMA – piper negru în 2 – propanol	B/M	56±5	E

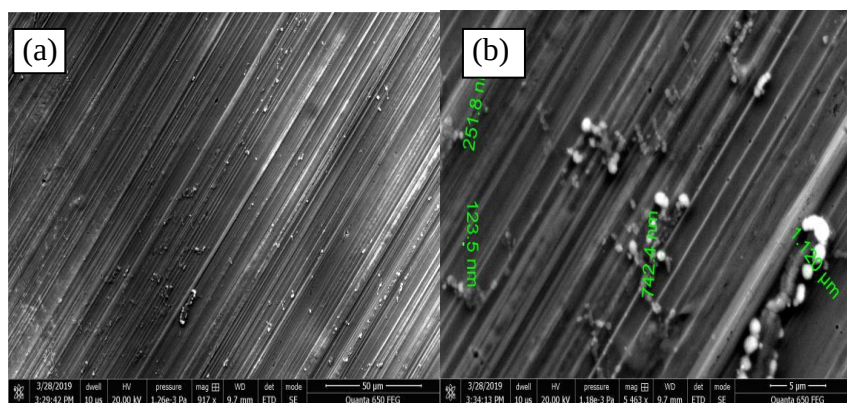


Fig. 8.23. Imagini SEM ale unui film ADN – CTMA curcumă depus pe cupru, la diferite puteri de mărire (a) 917 x și (b) 5463 x

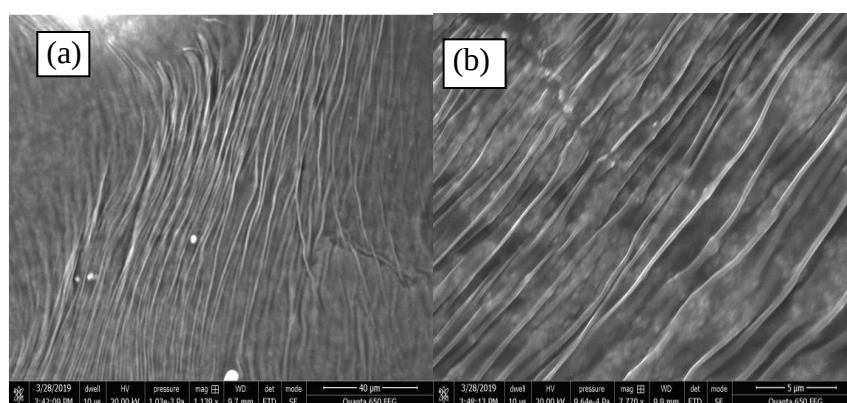


Fig. 8.24. Imagini SEM ale unui film ADN – CTMA curcumă depus pe sticlă, la diferite puteri de mărire (a) 1139 x și (b) 7770 x

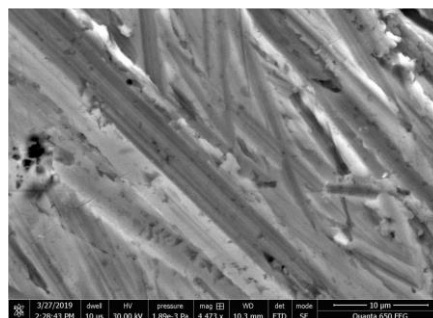


Fig. 8.25. Imagine SEM a unui film DNA – CTMA – piper negru depus pe sticlă la puterea de mărire de 4473 x

8.1.4. Balanța hidrofil - hidrofobă

În figura 8.26 sunt reprezentate grafic valorile unghiul de contact pentru fiecare probă lichidă (extract natural de piper, curcumă și boia) pe diferite materiale solide (oțel, teflon sau sticlă).

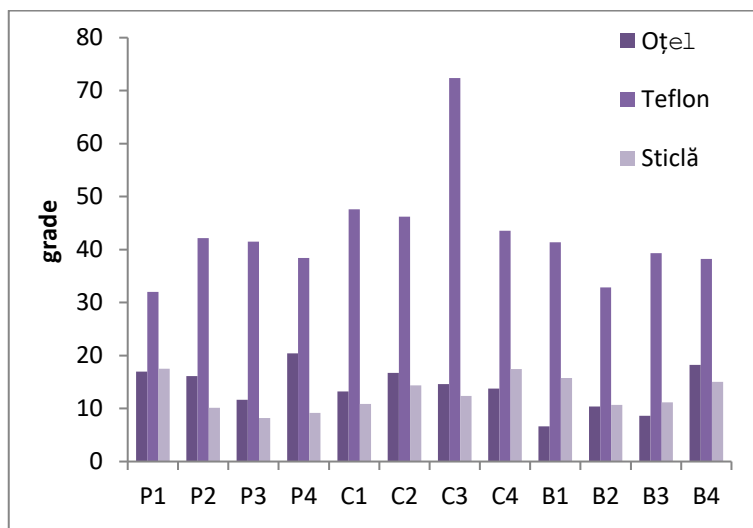


Fig. 8.26. Reprezentarea grafică a unghiul de contact pentru fiecare probă lichidă (extract colorat de piper negru, curcumă și boia dulce) pe diferite materiale solide (oțel, teflon sau sticlă), P1- P4 extract de piper negru de diferite concentrații (P1- cel mai diluat, P4 cel mai concentrat), C1- C4 extract de curcumă de diferite concentrații (C1- cel mai diluat, C4 cel mai concentrat), B1- B4 extract de boia dulce de diferite concentrații (B1- cel mai diluat, B4 cel mai concentrat)

Din rezultatele obținute se poate constata că valorile unghiurilor de contact măsurate pe teflon înregistrează valori mai mari (>30 grade) în comparație cu cele măsurate pe materiale precum oțel sau sticlă. Din datele obținute rezultă că extractele naturale sunt mai aderente la suprafața materialelor: oțel și sticlă.

Din figura 8.27 se poate observa că în cazul filmelor subțiri, cele mai mari valori ale unghiului de contact se înregistrează în cazul apei distilate (>30 grade), iar cele mai mici valori (<24,27 grade) în cazul toluenului, sugerând un caracter hidrofob al filmelor.

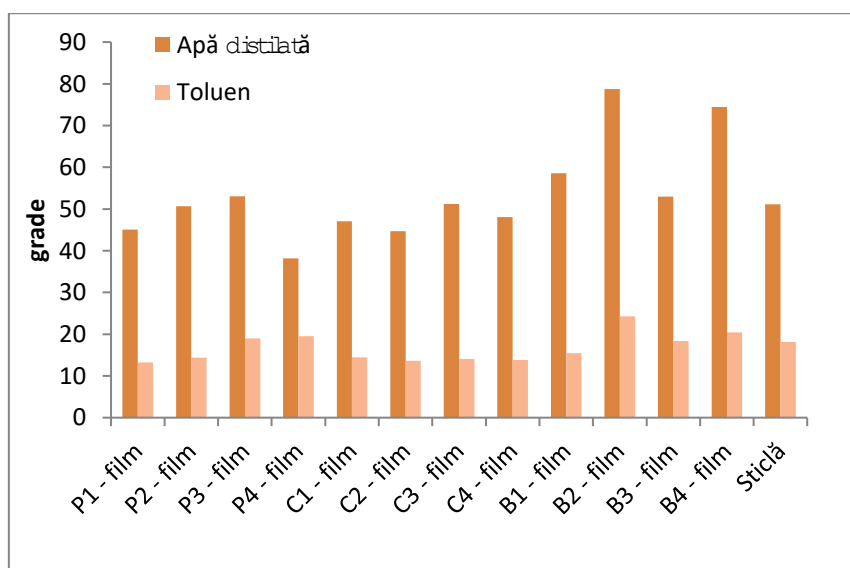


Fig. 8.27. Reprezentarea grafică a unghiului de contact al unei picături de apă distilată sau toluen pe suprafața filmelor subțiri pe bază de extracte naturale astfel : P1- P4 extract de piper negru de diferite concentrații (P1- cel mai diluat, P4 cel mai concentrat), C1- C4 extract de curcumă de diferite concentrații (C1- cel mai diluat, C4 cel mai

concentrat), B1- B4 extract de boia dulce de diferite concentrații (B1- cel mai diluat, B4 cel mai concentrat) 8.1.5. Stabilitatea foto, termică și chimică a soluțiilor și filmelor subțiri

Degradarea chimică a filmelor studiate s-a monitorizat prin variația temporală a spectrelor de absorbție (figura 8.28 – exemplu).

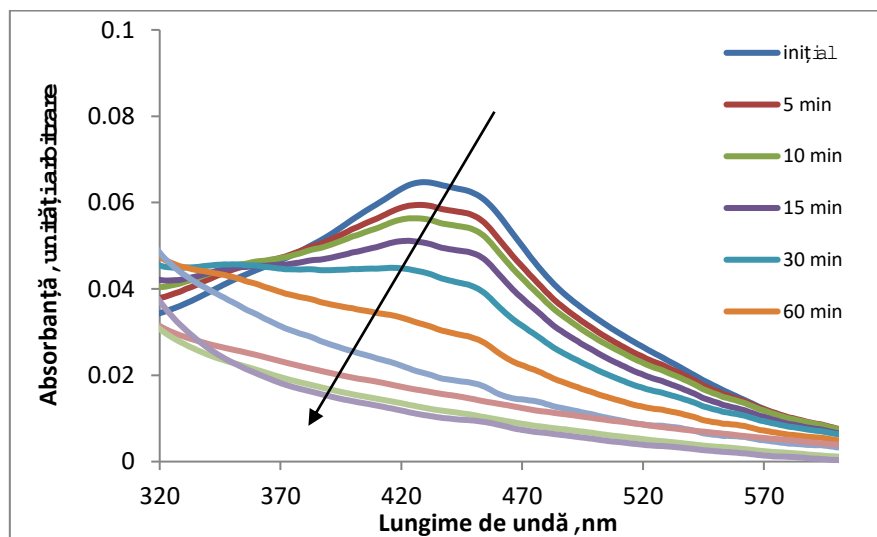


Fig. 8.28. Variația spectrului de absorbție pentru un film de ADN – CTMA și extract de curcuma supus degradării UVB

Tabelul 8.7 prezintă datele obținute pentru soluții și filme pe bază de ADN – CTMA și extracte colorate pentru degradări atât la temperatura camerei cât și la temperaturi ridicate.

Analizând datele din tabelul 8.7 se constată că spre deosebire de cromoforii sintetici degradarea extractelor colorate la temperaturi ridicate este mai puțin accentuată. Compoziția extractelor colorate joacă un rol important și în valoarea energiei de activare. Astfel se constată că pentru extractele de curcumă și boia dulce energia de activare este mai mare în cazul soluțiilor comparativ cu energia de activare a degradării extractelor sub formă de filme subțiri. În toate cazurile însă, valorile obținute pentru energia de activare arată că degradarea cromoforilor conținuți în extractele naturale nu este o reacție activată termic.

Tabel 8.7. Date cinetice privind degradarea chimică și termică a materialelor pe bază de ADN – CTMA și extracte colorate [185]

ADN – CTMA – Curcumă					
Soluție			Film subțire		
Temperatură, °C	k, min ⁻¹	Ea, J	Temperatură, °C	k, min ⁻¹	Ea, J
25	0,50 x 10 ⁻⁴	28292	25	1,22 x 10 ⁻⁴	13650
40	1,14 x 10 ⁻⁴		40	-	
60	3,86 x 10 ⁻⁴		60	1,95 x 10 ⁻⁴	
80	4,44 x 10 ⁻⁴		80	3,21 x 10 ⁻⁴	
100	4,61 x 10 ⁻⁴		100	3,46 x 10 ⁻⁴	

ADN – CTMA – Boia dulce					
Soluție			Film subțire		
Temperatură, °C	k, min ⁻¹	Ea, J	Temperatură, °C	k, min ⁻¹	Ea, J
25	neglijabilă	35877	25	1,16 x 10 ⁻⁴	19646
40	neglijabilă 0,794 x 10 ⁻⁴ (după 20h)		40	1,78 x 10 ⁻⁴	
60	-		60	5,70 x 10 ⁻⁴	
80	neglijabilă 0,779 x 10 ⁻⁴ (după 20h)		80	7,94 x 10 ⁻⁴	
100	6,02 x 10 ⁻⁴ 1,24 x 10 ⁻⁴		100	1,04 x 10 ⁻⁴	
ADN – CTMA – Piper negru					
Soluție			Film subțire		
Temperatură, °C	k, min ⁻¹	Ea, J	Temperatură, °C	k, min ⁻¹	Ea, J
25	4,12 x 10 ⁻⁴	5921	25	1,28 x 10 ⁻⁴	19630
40	5,17 x 10 ⁻⁴		40	2,51 x 10 ⁻⁴ 0,296 x 10 ⁻⁴	
60	4,18 x 10 ⁻⁴		60	-	
80	4,65 x 10 ⁻⁴		80	3,21 x 10 ⁻⁴	
100	5,26 x 10 ⁻⁴		100	8,74 x 10 ⁻⁴	
ADN – CTMA – DR1 10% ^a					
			Film subțire		
			Temperatură, °C	k, min ⁻¹	
			25	1,5 x 10 ⁻⁵	
			85	5,5 x 10 ⁻⁵	
ADN – CTMA – Rh 10% ^a					
			Film subțire		
			Temperatură, °C	k, min ⁻¹	
			25	2,7 x 10 ⁻⁶	
			85	4,0 x 10 ⁻⁵	
PC Rh 5% ^a					
			Film subțire		
			Temperatură, °C	k, min ⁻¹	
			25	3,1 x 10 ⁻⁶	
			85	1,1 x 10 ⁻²	

^a - [186]

Chiar dacă degradarea coloranților din extractele naturale este ușor mai rapidă comparativ cu cromoforii sintetici, rezultatele obținute sunt promițătoare și sugerează că extractele colorate se pot utiliza pentru înlocuirea pigmenților sintetici.

Tabel 8.8. Date cinetice privind degradarea materialelor pe bază de ADN – CTMA și extracte colorate iradiate UV

Material	Soluție		Filme subțiri	
	k, min ⁻¹		k, min ⁻¹	
	$\lambda_{iradiere} = 312\text{nm}$	$\lambda_{iradiere} = 365\text{nm}$	$\lambda_{iradiere} = 312\text{nm}$	$\lambda_{iradiere} = 365\text{nm}$
ADN – CTMA – Curcumă	$8,16 \times 10^{-3}$	$1,61 \times 10^{-2}$	$6,73 \times 10^{-3}$	$3,13 \times 10^{-2}$ după 30 min degradarea este neglijabilă
ADN – CTMA – Piper negru	$5,62 \times 10^{-4}$	$2,83 \times 10^{-3}$	$1,90 \times 10^{-2}$ $2,31 \times 10^{-2}$	$2,77 \times 10^{-2}$ după 30 min degradarea este neglijabilă
ADN – CTMA – Boia dulce	$1,41 \times 10^{-2}$	$5,91 \times 10^{-3}$	-	-
ADN – CTMA – DR 10% [186]	-	-	8×10^{-4}	$2,2 \times 10^{-4}$
ADN – CTMA – Rh 10% [186]	-	-	8×10^{-4}	$2,2 \times 10^{-4}$
PC Rh 5% [186]	-		$1,0 \times 10^{-3}$ $1,1 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-3}$ $2,0 \times 10^{-3}$

În tabelul 8.8 sunt prezentate comparativ rezultatele cinetice obținute atât pentru soluții cât și pentru filme subțiri pe bază de ADN – CTMA și extracte colorate de curcumă, boia dulce și piper negru supuse acțiunii razelor ultraviolete. În toate cazurile se observă o degradare mai accentuată sub acțiunea razelor UVA comparativ cu degradarea sub acțiunea razelor UVB. Această degradare, așa cum era de așteptat, este mai rapidă față de degradarea termică. O altă observație ce merită să fie subliniată în cazul filmelor subțiri pe bază de ADN – CTMA și extracte de curcumă și piper negru este că degradarea sub acțiunea razelor UVA are loc doar în primele 30 de minute.

8.1.6. Determinarea unor parametrii optici ai materialelor studiate

Studiul proprietăților neliniare ale extractelor colorate

Analizând datele din tabelul 8.14 se poate afirma că toate extractele prezintă proprietăți optice neliniare de ordinul 2. Cea mai mare valoare a primei hiperpolarizabilități, $\beta = 221 \times 10^{-30}$ esu, este observată pentru frunzele de curry. Este o valoare foarte mare, indicând faptul că extractele colorate pot prezenta proprietăți NLO foarte interesante și prin urmare pot găsi aplicații în fonică.

Tabel 8.14. Integrala (I) a spectrului de absorbție, momentul de tranziție, μ_{eg} , prima hiperpolarizabilitate β la 1064,2 nm, valoarea statică a primei hiperpolarizabilități β_0 pentru moleculele studiate

Extract colorat	Integrala I, (cm ⁻²)	$ \mu_{eg} $, Db	β , 10 ⁻³⁰ esu	β_0 , 10 ⁻³⁰ esu
Frunze de curry	18,8	10,2	221	143
Boia dulce	26,4	4,2	3,88	1,23
Curcuma	98	1,5	16,6	2,9
Piper negru	126,8	3,7	15,5	8,3

Pragul de deteriorare optică

Figura 8.35 compară rezultatele obținute pentru filmele obținute din soluții în care complexul ADN – CTMA a fost dizolvat mai întâi în n – butanol și apoi amestecat cu extractul colorat (metoda A) sau dizolvat direct în extractul colorat (metoda B). Figura 8.36 permite compararea rezultatelor complexului ADN – CTMA cu cele ale ADN – ului simplu, iar metoda A a fost aleasă pentru comparație, deoarece în metoda C, ADN – ul este mai întâi dizolvat în apă și apoi amestecat cu extractul colorat.

Figura 8.36 prezintă pragurile de distrugere optică măsurate comparativ cu cel al matricei. În toate cazurile acest prag este mai mare, cele mai bune rezultate fiind observate pentru filmele cu extract de curcumă. Îmbunătățirea pragului de distrugere optică poate fi rezultatul posibilelor interacțiuni (fizice sau chiar chimice) între principalele componente ale extractului și funcțiile polare ale ADN – ului. De exemplu, curcumina poate participa la o interacțiune fizico – chimică cu un fragment de enol acid, iar ADN – ul cu o funcție amino din baze. Interacțiunea fizică ar putea fi o atracție electrostatică între enolatul negativ $C = C - O^-$ și funcțiile pozitive de amoniu $-NH_3^+$, dar, în același timp ar putea merge până la formarea unui produs de reacție de condensare, o imină cu legătură dublă $C = N$.

În toate cazurile, pragurile de distrugere optică ale ADN – ului și ADN – CTMA dopate cu extracte naturale sunt mai mari decât cele ale matricei pure și semnificativ mai mari decât cele ale policarbonatului sintetic (PC) [141].

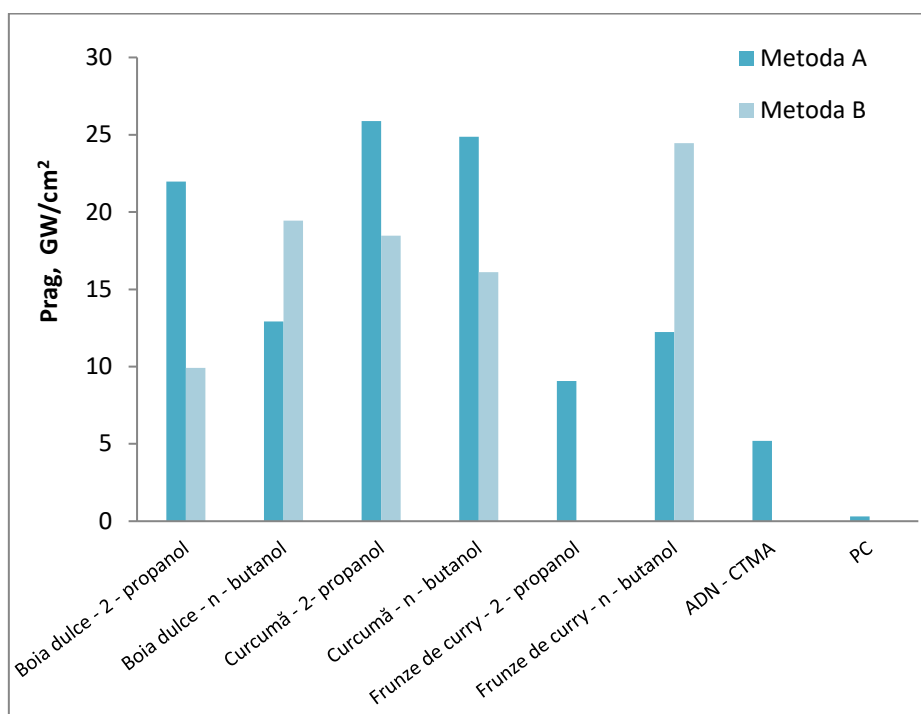


Fig. 8.35. Pragurile de distrugere optică pentru filme subțiri de ADN – CTMA extrase colorate obținute din soluții preparate prin două metode A și B, comparative cu cele ale ADN – CTMA și PC

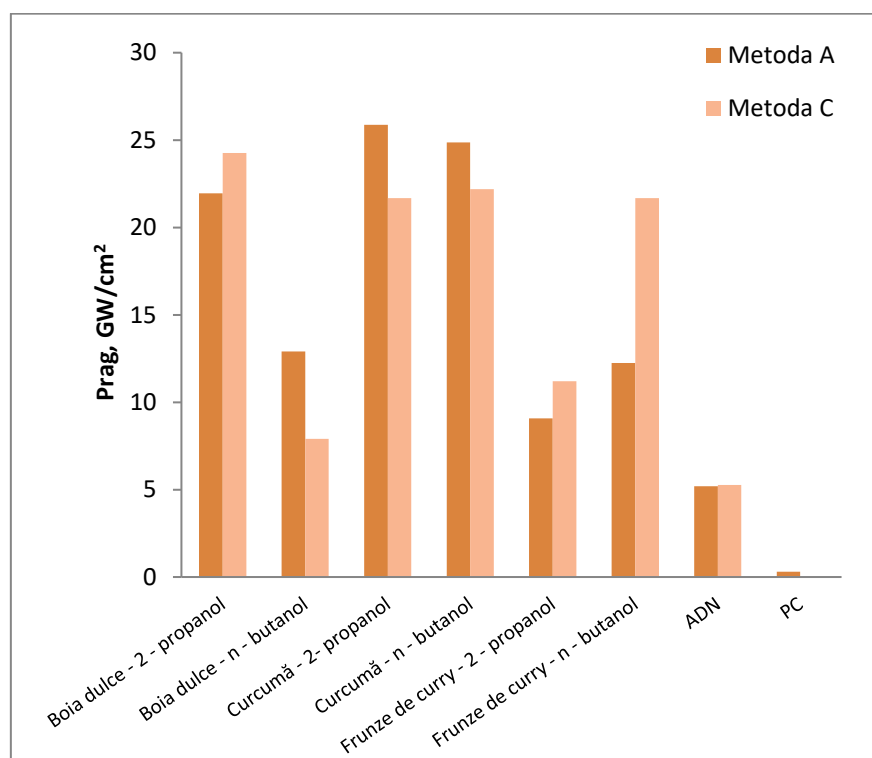


Fig. 8.36. Pragurile de distrugere optică pentru filme subțiri preparate din soluții de ADN și ADN – CTMA dopate cu extracte colorate comparate cu cele ale ADN – ului și PC

Generarea armonicii a treia

Tabel 8.16. Indicii de refracție la frecvențele fundamentale n_ω și armonice $n_{3\omega}$, raportul susceptibilităților cubice și susceptibilitățile optice THG $\chi^{(3)}$ ($-3\omega; \omega, \omega, \omega$) pentru filmele studiate [192].

Material	Indice de refracție n_ω	Indice de refracție $n_{3\omega}$	$\chi^{(3)}_{\text{material}}/\chi^{(3)}_{\text{sticlă}}$	$\chi^{(3)}_{\text{material}}(-3\omega; \omega, \omega, \omega) * 10^{-14}$ esu
ADN – CTMA – boia dulce	1,488	1,512	74,7±7	156,9 ± 16
ADN – boia dulce	1,488	1,512	94±9	197,4 ± 20
ADN – CTMA – curcumă	1,488	1,512	99,5±10	208,9 ± 21
ADN – curcumă	1,488	1,512	80±8	168,0 ± 17
ADN – CTMA – frunze de curry	1,488	1,512	189±19	396,9 ± 40
ADN – frunze de curry	1,488	1,512	90,7±9	190,5 ± 19
ADN – CTMA – DR1 (5%)	1,488	1,512	325,5±33	155 ± 16 ^a
ADN – CTMA – DR1 (10%)	1,488	1,512	144,9±15	69 ± 7
ADN – CTMA – DR1 (15%)	1,488	1,512	178,5±18	85 ± 9
ADN – CTMA	1,488 ^b	1,512	5,48 ± 0,5	11,5 ± 0,1 ^c
PMMA	1,4795	1,5009	1,52	3,2 ^d
Sticlă	1,50664	1,53820	1	2,1 ± 0,2 ^d
Silice	1,44967	1,4761	0,68	1,43 ± 0,14 ^e

^a-[193], ^b - [194], ^c-[137], ^d - [138], ^e - [139]

Valorile calculate pentru susceptibilitățile $\chi^{(3)}$ ($-3\omega; \omega, \omega, \omega$) ale materialelor studiate sunt prezentate în tabelul 8.16 și comparate cu valori din literatura [137 - 139, 193, 194], pentru filme subțiri de ADN – CTMA dopat cu cromoforul standard Disperse Red 1 și filme subțiri de polimetilmetacrilat (PMMA).

Din tabelul 8.16 se poate observa că pentru toate filmele subțiri studiate valorile $\chi^{(3)}$ ($-3\omega; \omega, \omega, \omega$) calculate sunt cu două ordine de mărime mai mari decât acelea obținute pentru silice [139] și cu mai mult de un ordin mai mari decât cele obținute pentru ADN – CTMA [137]. Cea mai mare valoare a fost înregistrată pentru ADN – CTMA și extract de frunze de curry: $\chi^{(3)}$ ($-3\omega; \omega, \omega, \omega$) = (396,9 ± 40) * 10⁻¹⁴ esu. Valorile corespunzătoare pentru celelalte două extracte sunt: (156,9 ± 16) * 10⁻¹⁴ esu și (208,9 ± 21) * 10⁻¹⁴ esu pentru ADN – CTMA și extract de boia dulce respectiv ADN – CTMA și extract de curcumă.

8.2. Membrane pe bază de biopolimeri și extracte colorate

8.2.1. Obținerea de membrane pe bază de biopolimeri și extracte colorate

Membranele au fost obținute din soluție de ADN în apă (10 g / L) și extracte colorate: frunze de curry, curcumă, boia dulce, piper negru în 2 – propanol. Soluțiile obținute au fost transparente și mult mai viscoase decât cele utilizate la obținerea filmelor. În figura 8.37 este prezentată schema de obținere a membranelor colorate, iar în figura 8.38 membranele obținute.

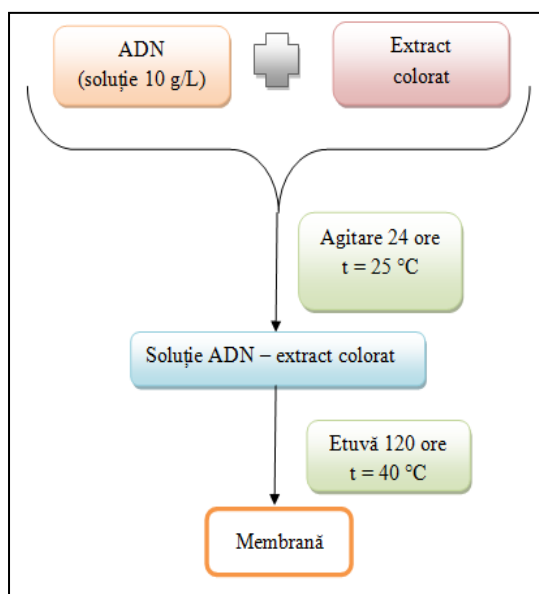


Fig. 8.37. Schema de obținere a membranelor pe bază de ADN și extracte colorate

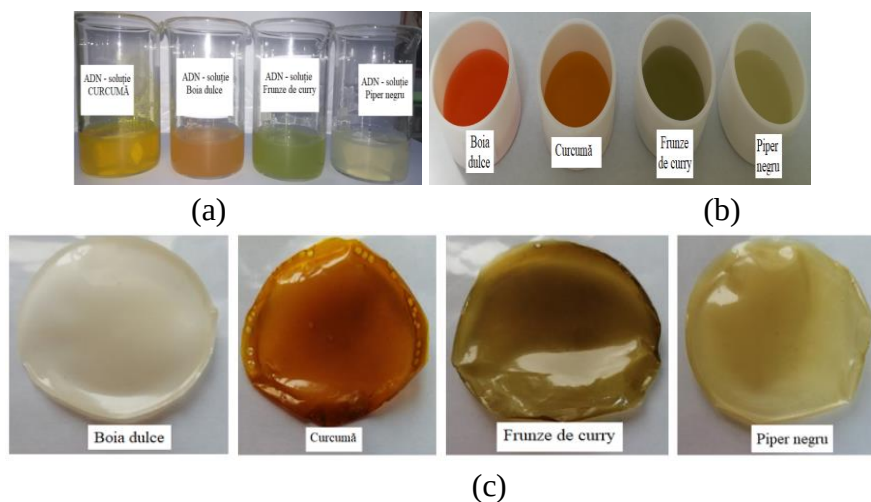


Fig. 8.38. a) Soluțiile pe bază de ADN – soluție (10 g / L) și extracte colorate, b) Soluțiile pe bază de ADN – soluție (10 g / L) și extracte colorate după ce au fost supuse agitării magnetice, c) membranele pe bază de soluții pe bază de ADN – soluție (10 g / L) și extracte colorate după ce au fost scoase de la etuvă

8.2.2. Stabilitatea membranelor

Înregistrarea spectrelor UV-Vis a arătat doar modificările pe care le suferă molecula de ADN. Modificările în domeniul vizibil, date de cromoforii conținuți de

extracte nu au putut fi puse în evidență datorită concentrației mari de cromofori și în consecință spectrele în domeniul vizibil au fost suprasaturate.

8.2.3. Morfologia membranelor

Ca și în cazul filmelor subțiri s – a utilizat microscopia electronică de baleiaj cu scopul analizării morfologiei suprafețelor membranelor pe bază de ADN dopate cu extracte colorate.

În urma analizării imaginilor obținute pentru membrane comparativ cu cele ale filmelor subțiri, unde se putea vizualiza atât o ordonare a lanțurilor de ADN cât și o aglomerare a moleculelor de cromofor, în cazul membranelor ordonarea lanțurilor nu se observă (figura 8.41), sugerând că aceasta are loc în urma centrifugării. Pe de altă parte se observă că în cazul membranelor aglomerările de cromofor sunt mai mari.

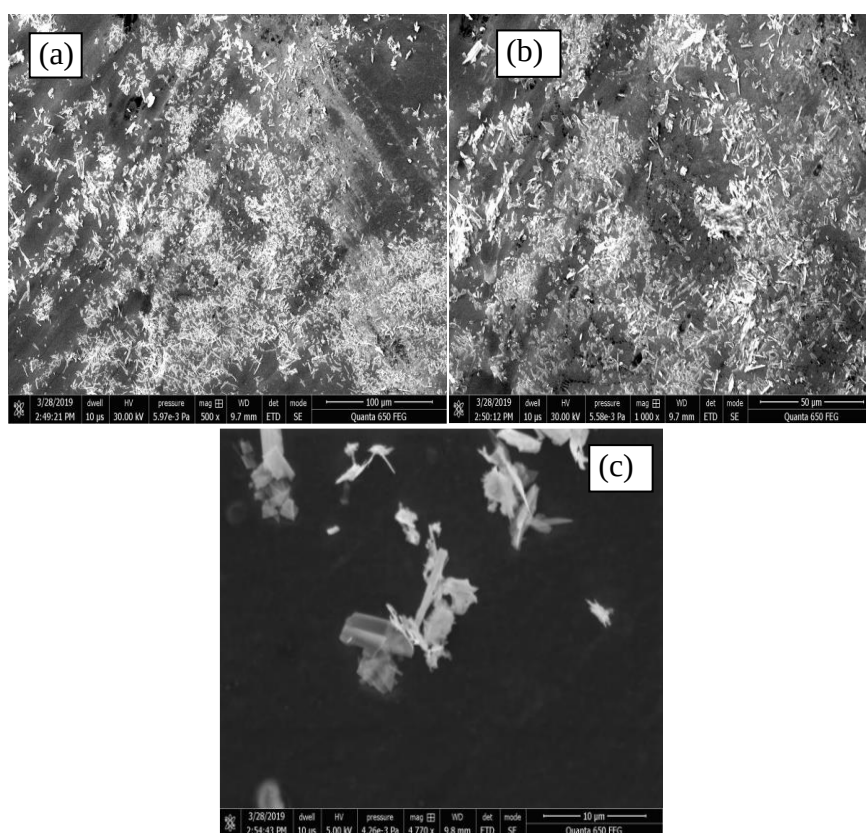


Fig. 8.41. Imagini SEM ale unei membrane ADN și curcumă, la diferite puteri de mărire
(a) 500 x, (b) 1000 x, (c) 4770 x

8.3. Concluzii parțiale

Filmele subțiri obținute pe baza soluțiilor de ADN / ADN – CTMA și extracte colorate au fost caracterizate prin spectrometrie UV – Vis cu obținerea de spectre în care au fost identificate cu succes prezența benzilor de absorbție atât a ADN – ului cât și a grupărilor cromofore. Pe baza spectrelor de fluorescență realizate pentru filmele subțiri s – a constatat că și acestea prezintă fluorescență la fel ca și soluțiile din care au fost obținute, dar de intensitate mai mică.

Filmele au avut grosimea cuprinsă în intervalul 13 – 100 nm și nu au fost deosebiri remarcabile din acest punct de vedere între cele trei metode de obținere a acestora.

Pe baza studiul balanței hidrofil – hidrofobă și a degradării filmelor subțiri se poate concluziona că acestea prezintă un caracter hidrofob și o stabilitate termică crescută față de degradarea sub acțiunea razelor UVA și UVB.

Prin studierea proprietăților optice neliniare ale filmelor subțiri se poate afirma că acestea prezintă un prag de deterioare superior biopolimerului simplu și policarbonatului sintetic, iar valorile obținute la generarea armonicii a treia au arătat că materialele noi sunt comparabile cu materialele ce conțin cromoforii sintetici.

În urma analizei morfologiei membranelor s – a putut vizualiza o aglomerarea a cromoforilor, iar pe baza studierii degradării sub influența razelor UVA și UVB se poate afirma că acestea au un comportament diferit în funcție de extractul colorat folosit la obținerea lor.

CONCLUZII

C.1. CONCLUZII GENERALE

În ultimii ani a crescut foarte mult interesul pentru mediul înconjurător și astfel s – a dezvoltat o nouă ramură a chimei și anume "chimia verde". Astăzi se efectuează din ce în ce mai multe studii care încearcă să înlocuiască materialele poluante cu compuși "prietenoși" cu mediul. Lucrarea de față pornind de la această idee a utilizat cel mai răspândit biopolimer și anume ADN – ul și patru condimente care se găsesc probabil în multe din bucătării, în dorința de a obține materiale total "bio". Condimentele utilizate au fost următoarele: curcumă, boia dulce, piper negru și frunze de curry. Astfel, în urma realizării studiului, pot fi concluzionate următoarele:

- ✓ Pe baza studiul de literatură cele patru condimente sunt surse naturale de cromofori.
- ✓ Analizele spectrale FT – IR au evidențiat prezența de grupări cromofore în pudrele de condimente, iar studiul parametrilor $L^*a^*b^*$ a confirmat culorile pe care acestea le – au prezentat, respectiv: curcumă – galben, boiaua dulce – roșie, frunzele de curry – galben verzui și piperul negru – galben.
- ✓ Analizele spectrale UV – Vis și de fluorescență ale extractelor naturale colorate în diferiți solvenți au evidențiat atât grupările cromofore cât și proprietățile lor fluorescente.
- ✓ Pe baza analizelor spectrale electronice și de fluorescență ale materialelor noi total "bio" se poate concluziona că ADN – ul a fost dopat cu succes cu compuși cromoforici prezenți în extractele colorate și au prezentat proprietăți fluorescente.
- ✓ Pentru doparea ADN – ului cu moleculele cromofore din extractele obținute s – au propus și utilizat trei metode:
 - metoda A: ADN – CTMA soluție de concentrație 10 g / L și extracte colorate în 2 – propanol și n – butanol,
 - metoda B: ADN – CTMA solid și extracte colorate în n – butanol,
 - metoda C: Soluție de ADN în apă de concentrație 6 g / L și extracte colorate în 2 – propanol și n – butanol

- ✓ Filmele subțiri realizate pe baza soluțiilor obținute prin cele trei metode A, B și C au fost analizate atât prin spectrometrie electronică cât și spectrofluorimetric și au avut comportamente similare soluțiilor care au stat la baza obținerii acestora.
- ✓ Balanța hidrofil – hidrofobă a filmelor subțiri a fost studiată prin înregistrarea unghiurilor de contact pentru o picătură de lichid (apă sau toluen) pe suprafața acestora și a rezultat că acestea prezintă un caracter hidrofob.
- ✓ Studiul balanței hidrofil – hidrofob al soluțiilor de ADN – CTMA – extract a arătat că acestea au fost mai aderente la suprafața materialelor: oțel și sticlă, studiul fiind realizat și pentru teflon.
- ✓ A fost investigată stabilitatea foto, termică și chimică a soluțiilor / filmelor subțiri pe bază de biopolimer și extracte colorate naturale comparativ cu stabilitatea filmelor ce conțin cromofori sintetici. Rezultatele au evidențiat faptul că la temperaturi ridicate degradarea cromoforilor naturali este mai puțin accentuată, iar valorile obținute pentru energia de activare arată că degradarea cromoforilor conținuți în extractele naturale nu este o reacție activată termic.
- ✓ Atât soluțiile cât și filmele pe bază de ADN și extracte colorate au fost supuse iradierii UVA și UVB, iar degradarea este mult mai accentuată sub acțiunea razelor UVA și mult mai rapidă față de degradarea termică.
- ✓ Au fost studiate proprietățile optice neliniare ale extractelor studiate prin realizarea spectrelor electronice și de fluorescență în mai mulți solvenți cu polarități diferite. Pe baza analizei spectrelor s – a observat efectul de solvatocromie ce conduce la ideea că extractele colorate prezintă proprietăți optice neliniare de ordinul doi. Efectul cel mai semnificativ a fost observat pentru frunzele de curry, iar cel mai mic pentru piperul negru.
- ✓ Testarea proprietăților neliniare a constatat în determinarea pragului de deteriorare optică pe de o parte, iar pe de alta parte determinarea paramerilor corespunzători generării armonicii a treia (THG). Valorile pragurilor de deteriorare optică ale filmelor subțiri (ADN /ADN – CTMA – extracte colorate) au fost comparate cu cele ale biopolimerului simplu sau biopolimer – cromofor sintetic cu obținerea de valori superioare în favoarea cromoforilor naturali. Cele mai bune rezultate au fost obținute pentru filmul ce conține extract de curcumă. De asemenea, valorile THG obținute pentru materialele studiate au fost comparate cu cele obținute pentru filme pe bază de cromofor sintetic DR1 și filme subțiri pe bază de polimetilmetacrilat – PMMA. S – au obținut rezultate superioare când s – au utilizat cromoforii naturali, iar filmele cu extract de frunze de curry au prezentat valoarea cea mai mare $(396, 9 \pm 40) \cdot 10^{-14}$ esu, urmate de filmele cu extract de curcumă $[(208, 9 \pm 21) \cdot 10^{-14}$ esu] și filmele cu extract de boia dulce $[(156, 9 \pm 16) \cdot 10^{-14}$ esu].
- ✓ Studiul morfologiei filmelor subțiri / membranelor a fost realizat cu ajutorul microscopiei electronice de baleaj și în urma analizării imaginilor obținute se poate concluziona că atât tehnica de obținere, suportul pe care au fost depuse cât și extractul colorat folosit influențează morfologia acestora. Imaginile SEM ale filmelor au arătat o ordonare a lanțurilor de ADN și o aglomerare a cromoforilor, excepție filmul cu extract de piper unde nu s – a observat o ordonare regulată. În

cazul membranelor acestea au prezentat o aglomerare a cromoforilor crescută față de filme, fără ordonarea lanțurilor de ADN.

- ✓ Studiul stabilității membranelor a evidențiat comportamente diferite. Astfel pentru membrana dopată cu extract de piper negru s – a observat că intensitățile culorilor primare cresc sub acțiunea razelor cu lungimea de undă de 365 nm și revin la valorile inițiale după expunerea la lumina solară, acest comportament indicând o reversibilitate a culorii acestei membrane. În cazul membranelor dopate cu extract de curcumă și boia dulce s – a constatat că după expunerea la raze UV cu lungimea de undă de 365 nm are loc o scădere a intensității culorilor primare până la o anumită valoare, după această valoare intensitățile culorilor primare nu mai sunt influențate de expunerea la iradiere UV sau lumină solară. Pentru membrana dopată cu extract de frunze de curry nu au fost înregistrate modificări însemnate la nici o expunere (UV sau lumină solară).

Având în vedere toate rezultatele obținute se poate concluziona că, deși pentru moment, materialele total – bio pe bază de ADN și extracte naturale din condimente sunt dificil de obținut și de reprodus, acestea prezintă proprietăți spectrale și optic neliniare ce le pot face utile pentru aplicații diverse, lăsând speranța că într – un viitor aceste materiale ar putea înlocui materialele sintetice.

C.2. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Această lucrare de doctorat aduce contribuții originale în obținerea de materiale total "bio" pe bază de ADN și cromoforii prezenți în patru condimente (curcumă, boia dulce, piper negru și frunze de curry) ce pot fi utilizate în dezvoltarea de dispozitive cu aplicații în optoelectronică. Elementele de originalitate care se disting în cadrul acestei teze sunt următoarele:

- doparea biopolimerului atât în stare simplă cât și în combinație complexă cu CTMA cu extracte naturale colorate,
- obținerea de materiale noi cu proprietăți optice neliniare de ordinul doi,
- obținerea de materiale total "bio" cu valori ale pragului de deteriorare optică mult mai mari decât al celor care utilizează cromofori sintetici,
- obținerea de materiale total "bio" cu valori ale susceptibilității cubice superioare valorilor înregistrate pentru materiale pe bază de DR1 și PMMA.

C.3. PERSPECTIVE DE DEZVOLTARE ULTERIOARĂ

Rezultatele obținute pe durata stagiului doctoral deschid direcții noi de cercetare în fonică și mai ales în biofonică, prin dărnicia naturii de a conferi surse inepuizabile de biopolimeri și cromofori cum ar fi: chitosanul, colagenul și numeroase clase de compuși cu grupări cromoforice: antociani, flavonoide, flavonoli ce se găsesc din abundență în fructele/ flori colorate, etc.

O altă perspectivă ar fi optimizarea raportului biopolimer: colorant pentru a obține materiale cu proprietăți optice neliniare importante.

LISTĂ DE LUCRĂRI PUBLICATE

1. **A.M. Anton**, I. Rau, F. Kajzar, A.-M. Simion, C. Pirvu, N. Radu, C. Simion, “Natural materials with enhanced optical damage threshold”, Optical Materials, 2018, 86, 1– 6. **FI (2018) = 2,779**
2. **.M. Anton**, I. Rau, F. Kajzar, A.-M. Simion, C. Simion, “Third order nonlinear optical properties of DNA-based biopolymers thin films doped with selected natural chromophores”, Optical Materials, 2019, 88, 181 – 186. **FI (2019) = 2,779**
3. **A.M. Anton**, C.-C Pădurețu, C. A. Marin, A.- M. Simion, C. Simion, F. Kajzar, I. Rău, “Photoresponsive Natural Materials”, Molecular Crystal Liquid Crystal, 2019, vol. 695, no. 1, pp. 37–44. **FI (2019) = 0,512.**
4. **A.M. Anton**, I. Rau, F. Kajzar, A.-M. Simion, C. Simion, “Stability Studies of Some DNA Based Materials Doped with Natural Extracts”, UPB Scientific Bulletin – series B Chemistry and Materials Science, 2019, vol. 81, no. 4, pp. 121 – 130.

FI cumulat = 6,07

PARTICIPĂRI LA CONFERINȚE

1. **A.M. Anton**, I. Rău, Rapid assessment of spice extracts composition using UV-Vis and fluorescence spectra (poster presentation), RICCCCE, Brașov , România, 2017.
2. I. Rău, F. Kajzar, **A.M. Anton**, A. Simion, C. Simion, Natural extracts – potential chromophores for optoelectronic application (International Workshop on Photonics Polymer for Innovation (IWPPI2018), Suwa, Japonia, octombrie 2018.
3. I. Rău, F. Kajzar, **A.M. Anton**, A. Simion, C. Simion, Natural extracts – potential chromophores for multiple applications, SPIE Photonics West, San Francisco, SUA, februarie 2019.
4. **A.M. Anton**, I. Rău, F. Kajzar, C. Simion, A. Simion, DNA based materials doped with natural extracts: obtaining, characterization and stability study (oral presentation), 6th International Workshop on Advanced, Nano- and Biomaterials and Their Device Applications (6th NABM), Cluj Napoca, Romania, mai 2019.
5. I. Rau, **A.M. Anton**, C. Paduretu, M. Apietroaei, F. Kajzar, Photoresponsive Natural Materials, Malaezia, 15 International Conference on Frontiers of Polymers and Advanced Materials, Penang, Malaiezia, iunie 2019
6. I. Rău, **A.M. Anton**, F. Kajzar, J. Mysliwicz, C. Pirvu, A. Simion, C. Simion, All Bio Materials with multiple applications, RICCCCE, Constanța, Romania, Septembrie, 2019.
7. **A.M. Anton**, I. Rău, A. Simion, C. Simion, On the Stability and Degradation of DNA Based Materials Doped with Natural Extracts (poster presentation), RICCCCE, Constanța, Romania, Septembrie, 2019.
8. I. Rau, **A.M. Anton**, F. Kajzar, C. Paduretu, M. Apetroaei, All-Bio materials with different Applications, 5th International Workshops on Nano and Bio-Photonics, St. Nectaire, Franta, septembrie, 2019.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- [1] J. R. C. van der Maarel, Introduction to biopolymer physics, World Scientific, ISBN – 13 978 – 981 – 277 – 603 – 7, 2008, cap 1, pp. 1 – 21.
- [5] F. Delgado-Vargas, O. Paredes-Lopez, Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses, CRC Press LLC, 2003, cap. 3.
- [6] D. B. Rodriguez-Amaya, Natural food pigments and colorants, Current Opinion in Food Science, 2016, 7, pp. 20 – 26.
- [10] A. Mishra, S. Daswal, Curcumin, a natural colorant as initiator for photopolymerization of styrene: kinetics and mechanism, *Colloid Polym Sci*, 2007, 285, pp. 1109–1117.
- [12] K. V. Peter, M. R. Shylaja, Introduction to herbs and spices: definitions, trade and applications, Handbook of herbs and spices, **vol. 1**, Second Edition-Woodhead Publishing, 2012, pp. 1 – 24.
- [13] M.E. Embuscado, Herbs and spices as antioxidants for food preservation, Handbook of Antioxidants for Food Preservation, 2015, pp. 251 – 283.
- [14] Watson, The Structures of DNA and RNA, 2012, 42636, 06, pp.1 – 33.
- [15] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, The Structure and Function of DNA, Molecular Biology of the Cell. 4th edition, 2007, ISBN 9780815341055.
- [17] B. Sasikumar, Turmeric, *Handbook of herbs and spices*, **vol. 1**, Second Edition-Woodhead Publishing, 2012, pp. 526 – 546.
- [26] T. J. Zachariah, N. K. Leela, A. Shamin, Methods of analysis of herbs and spices, Handbook of herbs and spices, Volume 2, Second Edition-Woodhead Publishing, 2012, pp. 89 – 117 .
- [27] L. K. Omosa, J. O. Midiwo, V. Kuete, Curcuma longa, Medicinal Spices and Vegetables from Africa, 2017, cap. 19, pp. 425 – 435 .
- [28] B. Chempakam, V. A. Parthasarathy, Turmeric, Chemistry of spices, 2008, pp. 97 – 123 .
- [29] P. N. Ravindran, Black Pepper, Medicinal and Aromatic Plants, Indian Institute of Spices Research, 2005, pp. 15 – 20 .
- [30] T. Thangaselval, C. Gailce Leo Justin, M. Leelamathi, Black pepper (Piper Nigrum L.) ‘the king of spices’ - a review, 2008, Agric. Rev., **vol. 29**, no. 2, pp. 89 – 98 .
- [31] B. Chempakam, V. A. Parthasarathy, Black pepper, cap 2, Chemistry of spices, 2008, pp. 21 – 40 .
- [43] P. N. Shingate, P. P. Dongre and D. M. Kannu, New method development for extraction and isolation of piperine from black pepper, IJPSR, 2013, **vol. 4**, no. 8, pp. 3165 – 3170 .
- [44] A. S. Hammad, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Different Piperine Analogs for Therapeutic Potential to Prevent ER Stress, College of Pharmacy, 2015, pp.17 – 19.
- [45] Y. Q. Pei, A review of pharmacology and clinical use of piperine and its derivatives, Epilepsia, 1983, **vol. 24**, no. 2, pp. 177 – 182 .
- [53] S. Nakamura, S. Nakashima, Y. Oda, N.Yokota, K. Fujimoto, T. Matsumoto, T. Ohta, K. Ogawa, S. Maeda, S. Nishida, H. Matsuda, M. Yoshikawa, Alkaloids from Sri Lankan curry-leaf (*Murraya koenigii*) display melanogenesis inhibitory activity: Structures of karapinchamines A and B, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, 21, pp. 1043 – 1049 .
- [57] A. P. Singh, T. Wilson, D. Luthria, M. R. Freeman, R. M. Scott, D. Bilenker, S. Shah, S. Somasundaram, N. Vorsa, LC-MS-MS characterisation of curry leaf flavonols and antioxidant activity, Food Chemistry, 2011, 127, pp. 80 – 85 .
- [59] L. J. M. Rao, K. Ramalakshmi, B. B. Borse, B. Raghavan, Antioxidant and radical-scavenging carbazole alkaloids from the oleoresin of curry leaf (*Murraya koenigii* Spreng.), Food Chemistry 2007, 100, pp. 742–747.
- [60] T. G. Berke, S. C. Shieh, Capsicum cultivars, Handbook of herbs and spices, , Second Edition-Woodhead Publishing, 2012, Volume 1, pp. 116 – 130 .

- [62] T. J. Zachariah, P. Gobinath, Paprika and chilli, Chemistry of spices, 2008, pp.260 – 286 .
- [80] V. David, A. Medvedovici, Metode de separare si analiza cromatografica, Editura Universității din București, 2008, cap. 5, pp. 83 – 86 .
- [103] L. Gorgani, M. Mohammadi, G. D. Najaipour, M. Nikzad, Piperine-The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations, Food Science and Food Safety, 2016.
- [104] G. Raman, V. G. Gaikar, Microwave-assisted extraction of piperine from Piper nigrum, Ind. Eng. Chem. Res., 2011, 41, pp. 2521–2528.
- [107] C. Stănescu, Optoelectronică și comunicații optice, Noțiuni teoretice fundamentale, Ed. Universității din Pitești, Fenomene optice neliniare, 2015 , pp. 66 – 75.
- [108] B. Gu, C. Zhao, A. Baev, Ken-Tye Yong, S. Wen, P. N. Prasad, Molecular nonlinear optics: recent advances and applications, / Advances in Optics and Photonics, June 2016, **vol. 8**, no. 2.
- [126] I. Rau, J. G. Grote, F. Kajzara, A. Pawlicka, DNA – novel nanomaterial for applications in photonics and in electronics, Comptes Rendus Physique, 2012, 13, pp. 853–864 .
- [127] A. M. Manea, I. Rau, F. Kajzar, A. Meghea, Fluorescence, spectroscopic and NLO properties of green tea extract in deoxyribonucleic acid, Optical Materials, 2014, 36, pp. 140–145.
- [128] K. Bouchouit, B. Derkowska, A. Migalska-Zalas, S. Abed, N. Benali-cherif, B. Sahraoui, Nonlinear optical properties of selected natural pigments extracted from spinach: Carotenoids, Dyes and Pigments, 2010, 86, pp. 161 – 165 .
- [155] S. Ahmad, A. Zeb, M. Ayaz, M. Murkovic, Characterization of phenolic compounds using UPLC–HRMS and HPLC–DAD and anti-cholinesterase and anti-oxidant activities of Trifolium repens L. leaves, European Food Research and Technology, 2020, 246, pp. 485–496, <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03416-8>.
- [156] P. Liu, H. Zhou¹, Q. Zheng, P. Lu, Yong-Jie Yu, P. Cao, W. Chen, Q. Chen, An automatic UPLC-HRMS data analysis platform for plant metabolomics, Plant Biotechnology Journal, 2019, 17, pp. 2038–2040.
- [161] W. Bi, N. Louvain, N. Mercier, J. Luc, I. Rau, F. Kajzar, and B. Sahraoui, A Switchable NLO Organic-Inorganic Compound Based on Conformationally Chiral Disulfide Molecules and Bi(III)I₅ Iodobismuthate Networks, Advance Materials, 2008, 20, pp. 1013 – 1017.
- [162] P. R. K. Mohan, G. Sreelakshmi, C. V. Muraleedharan, R. Joseph, Water soluble complexes of curcumin with cyclodextrins: Characterization by FT-Raman spectroscopy, Vibrational Spectroscopy, 2012, 62, pp. 77 – 84.
- [163] J. S. Pathak, J. Sarmah, Spectroscopic studies of chilli capsicum annum L. and its seeds turmeric curcuma longa L. and black pepper piper nigrum L., Gauhati University, 2012, cap 4, pp. 80 – 101 .
- [164] R. A. Hussein, Isolation And Characterization of Carotenoid pigment From Red Pepper Fruits (Capsicum annum L.) And Studying Its Antibacterial Activity, Al-Kufa University Journal for Biology, 2016, **vol.8**, no. 3, pp. 515 – 523 .
- [168] C. F. Chignell, P. Bilskj, K. J. Reszka, A. G. Motten, R. H. Sik, T. A. Dahl, spectral and photochemical properties of curcumin, Photochemistry and photobiology, 1994, **vol. 59**, no. 3, pp. 295 – 302 .
- [182] -R. A. Norwood, C. T. DeRosea, R. Himmelhuber, N. Peyghambarian, J. Wang, L. Li, F. Ouchen, J. E. Grote, Dielectric and electrical properties of sol-gel/DNA blends, Nanobiosystems: Processing, Characterization, and Applications II, edited by Norihisa Kobayashi, Fahima Ouchen, Ileana Rau, Proc. of SPIE **Vol. 7403**, 74030A · © 2009 SPIE · CCC code: 0277-786X/09/\$18, · doi: 10.1117/12.830978

- [184] **A.M. Anton**, C.-C. Pădurețu, C. A. Marin, A.-M. Simion, C. Simion, F. Kajzar, I. Rău, “Photoresponsive Natural Materials”, *Molecular Crystal Liquid Crystal*, 2019, vol. 695, no. 1, pp. 37–44.
- [185] **A.M. Anton**, I. Rau, F. Kajzar, A.-M. Simion, C. Simion, “Stability Studies of Some DNA Based Materials Doped with Natural Extracts”, *UPB Scientific Bulletin – series B Chemistry and Materials Science*, 2019, vol. 81, no. 4, pp. 121 – 130.
- [186] M. Moldoveanu, A. Meghea, R. Popescu, J.G. Grote, F. Kajzar, I. Rau, On the stability and degradation of DNA based thin films, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 523, 2010, 182 – 190.
- [187] J. L. Oudar, D. S. Chemla, Hyperpolarizabilities of the nitroanilines and their relations to the excited state dipole moment, *The Journal of Chemical Physics*, 1977, no 66, 2664, <https://doi.org/10.1063/1.434213>.
- [188] B. Carlotti, A. Cesaretti, O. Cannelli, T. Giovannini, C. Cappelli, C. Bonaccorso, C. G. Fortuna, F. Elisei, A. Spalletti, Evaluation of Hyperpolarizability from the Solvatochromic Method: Thiophene Containing Push – Pull Cationic Dyes as a Case Study, *The Journal of Physical Chemistry C*, 2018, 122, 2285 – 2296.
- [189] W. Liptay, Electrochromism and Solvatochromism, *Angew. Chem. Intern. Ed.*, 1969, **vol 8**, no 3, 177 - 188.
- [190] D. Gonin, C. Noel and F. Kajzar, EFISH and THG measurements on organic molecules in solution, *Nonl. Optics*, 1994, **vol 8**, pp. 37 – 45.
- [191] **A.M. Anton**, I. Rau, F. Kajzar, A.-M. Simion, C. Pirvu, N. Radu, C. Simion, “Natural materials with enhanced optical damage threshold”, *Optical Materials*, 2018, 86, 1– 6.
- [192] **A.M. Anton**, I. Rau, F. Kajzar, A.-M. Simion, C. Simion, “Third order nonlinear optical properties of DNA-based biopolymers thin films doped with selected natural chromophores”, *Optical Materials*, 2019, 88, 181 – 186.