

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

**SCHMUTZER Gabriella Ramona**

**DETERMINĂRI DE COMPUȘI MOLECULARI DIN  
MATRICI COMPLEXE PRIN SISTEMUL CUPLAT  
GAZ CROMATOGRAF - SPECTROMETRU DE MASĂ**

**Rezumatul tezei de doctorat**

**Conducător științific:  
Prof. Univ. Dr. Leontin Ioan DAVID**

**Cluj-Napoca, 2014**





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



**SCHMUTZER Gabriella Ramona**

**DETERMINĂRI DE COMPUŞI MOLECULARI DIN  
MATRICI COMPLEXE PRIN SISTEMUL CUPLAT  
GAZ CROMATOGRAF - SPECTROMETRU DE MASĂ**

**Rezumatul tezei de doctorat**

**Conducător științific:**  
**Prof. Univ. Dr. Leontin Ioan DAVID**

**Cluj-Napoca, 2014**



## Cuprins

---

<b>Introducere.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Metode de determinare a compușilor moleculari din matrici complexe.....</b>	<b>4</b>
<b>2. Aspecte generale privind sucurile de fructe.....</b>	<b>5</b>
<b>3. Determinări de compuși moleculari din sucul de mere.....</b>	<b>6</b>
3.1. Compușii organici volatili din sucul de mere .....	6
3.2. Extracția compușilor organici volatili din sucurile de fructe prin SPME.....	6
3.3. Condiții de lucru pentru studiul compușilor responsabili pentru aromă din sucul de mere prin headspace SPME-GC/MS .....	7
3.4. Studiul comparativ al diferitelor sucuri de mere comerciale prin SPME-GC/MS	8
3.5. Studiul comparativ al sucurilor proaspăt stoarse obținute din diferite specii de mere prin SPME-GC/MS .....	12
<b>4. Determinări de compuși moleculari din sucul de portocale .....</b>	<b>15</b>
4.1. Compușii organici volatili din sucul de portocale .....	15
4.2. Optimizarea condițiilor de extracție SPME pentru compușii volatili responsabili pentru aromă din sucul de portocale.....	15
4.3. Validarea metodei de analiză headspace SPME-GC/MS pentru compușii volatili responsabili pentru aromă din sucul de portocale .....	17
4.4. Condiții de lucru pentru studiul compușilor responsabili pentru aromă din sucul de portocale prin headspace SPME-GC/MS .....	18
4.5. Studiul compușilor volatili responsabili pentru aromă din diferite tipuri sucuri de portocale prin metoda headspace SPME-GC/MS .....	18
4.6. Diferențierea sucurilor proaspăt stoarse în funcție de proveniența portocalelor	23
<b>Concluzii.....</b>	<b>25</b>
<b>Anexe .....</b>	<b>27</b>
Anexa 1: Lucrări științifice publicate în reviste de specialitate.....	27
Anexa 2: Participări la conferințe și congrese științifice.....	29
<b>Bibliografie.....</b>	<b>31</b>

**CUVINTE CHEIE:**

Compuși organici volatili responsabili pentru aromă

Headspace SPME-GC/MS

Suc de mere

Suc de portocale

---

## Introducere

---

Calitatea sucurilor de fructe reprezintă un aspect deosebit de important pentru consumatori și constituie factorul decisiv pentru comercializarea acestora. Preferințele consumatorilor se îndreaptă mai ales către sucuri ale căror caracteristici sunt identice cu cele ale fructelor proaspăt stoarse și către produse în care sunt păstrate cel mai bine proprietățile nutriționale ale fructelor. Una din cele mai importante caracteristici asociate cu calitatea fructelor, respectiv a produselor procesate este *aroma*. Prezența și compoziția compușilor volatili responsabili pentru aroma sucurilor de fructe are o influență deosebit de importantă asupra calității băuturilor răcoritoare.

Scopul acestei lucrări este determinarea compușilor organici volatili responsabili pentru aromă din sucurile de mere și de portocale prin metoda headspace SPME-GC/MS, în vederea realizării unui studiu comparativ al diferitelor tipuri de sucuri de fructe, respectiv stabilirea unor criterii pentru evaluarea calitativă a acestora.

În sucurile comerciale de mere și portocale, respectiv în sucurile proaspăt stoarse s-a determinat un număr mare de compuși organici volatili utilizând metoda analitică headspace SPME-GC/MS. Caracteristicile pentru diferențierea diferitelor tipuri de sucuri se bazează pe diferențele majore de concentrații relative ale claselor de compuși: esteri, alcooli, cetone, terpen, respectiv monoterpene și sesquiterpene totale. În vederea evaluării calitative a diferitelor tipuri de sucuri se impune introducerea unor indici de calitate, alături de caracteristicile distinctive ale concentrațiilor totale de esteri, alcooli, cetone, terpen, respectiv monoterpene și sesquiterpene. Pe baza concentrațiilor compușilor volatili responsabili pentru aromă caracteristici (*markeri*) ale sucurilor de portocale proaspăt stoarse s-au diferențiat fructele de portocale în funcție de țara de origine.

---

## 1. Metode de determinare a compușilor moleculari din matrici complexe

---

Progresele moderne în fizică, chimie și tehnologie au atras după sine o dezvoltare excepțională a metodelor și aparaturii analizelor structurale moderne prin metode fizico-chimice. Metodele de investigare a compușilor moleculari, de o rapiditate și finețe de neconceput cu câteva decenii în urmă, au sporit exponențial eficiența identificării componentelor active din diferite matrici complexe. Metodele spectroscopice de analiză a compușilor organici pot fi utilizate pentru identificarea unor aspecte structurale ale acestora, pe baza interpretării informației obținute în urma înregistrării unor spectre de absorbție a radiației electromagnetice capabile să transfere compușilor organici cantități cuantificate de energie [1]. Spectrometria de masă [2, 3, 4, 5], rezonanța magnetică nucleară, rezonanța electronică de spin [6, 7, 8, 9, 10], spectroscopia în infra-roșu, spectroscopia UV-Viz sunt metode spectrale care se pot folosi pentru determinarea unor compuși moleculari din matrici complexe.

Cuplajul gaz cromatograf – spectrometru de masă (GC/MS) este o tehnică modernă de analiză calitativă și cantitativă, sensibilă și cu selectivitate ridicată care oferă informații despre amestecuri naturale sau sintetice având astfel numeroase aplicații în fizică, chimie, protecția mediului, controlul alimentelor, biologie și medicină [11, 12]. Utilizând sistemul cuplat se pot determina compuși în concentrații de ordinul  $\mu\text{g/L}$  (trace analysis) și chiar mai mici dintr-o matrice complexă [13, 14].

Gaz cromatografia (GC) este astăzi cea mai importantă metodă analitică pentru separarea/determinarea compușilor moleculari organici din matrici complexe având numeroase aplicații [15]. Spectrometria de masă este o tehnică de analiză utilizată în scopul identificării și determinării cantitative a compușilor moleculari. Spectrul de masă al unui compus molecular este unic pentru compusul dat, reprezintă ”amprenta” compusului respectiv, cu câteva excepții, în special în cazul izomerilor. Astfel cu ajutorul sistemului GC/MS se poate realiza separarea, identificarea și determinarea cantitativă a compușilor moleculari din matrici complexe.



---

## 2. Aspecte generale privind sucurile de fructe

---

Sucurile de fructe și produsele derivate reprezintă un segment foarte important din industria procesării fructelor [16]. Industria sucurilor de fructe a devenit una dintre cele mai mari afaceri agricole din lume [17].

Cele mai populare sucuri de fructe sunt cele de portocale și de mere. Popularitatea și cererea foarte mare de sucuri de fructe este rezultatul proprietăților senzoriale și nutriționale benefice asupra sănătății – mai ales că unele produse sunt îmbogățite cu vitamine și minerale [18].

Sucurile de fructe sunt amestecuri complexe de zaharuri, acizi organici, compuși volatili responsabili pentru aromă, acizi grași, steroli, aminoacizi, flavonoide, pigmenți și altele în apă. Fiecare suc este caracterizat printr-o compoziție unică a acestor ingrediente. Într-o formulă de băutură răcoritoare din sucuri de fructe se adaugă apă, zahăr, acizi organici, arome, coloranți, conservanți sau alte sucuri [19].

Calitatea sucurilor de fructe depinde de foarte mulți factori, cum ar fi: calitatea fructelor (zona geografică, clima, practicile de cultivare), gradul de maturitate la recoltare (concentrația de zaharuri, aciditatea, culoarea, aroma), transportul, condițiile de depozitare (umiditate, temperatură), respectiv procesul de producție [20].

Din punctul de vedere al consumatorilor calitatea organoleptică a sucului de fructe poate fi decisivă în cumpărarea/consumul acestora. Dintre multele componente care contribuie la calitatea organoleptică a produselor alimentare, aroma ocupă un loc special [21]. Aroma este ansamblul complex de senzații gustative și olfactive percepute la degustarea unui produs alimentar și detectate de receptorii chimici din regiunea buco-naso-faringiană [22]. Prezența, conținutul și compoziția compușilor volatili responsabili pentru aroma sucurilor de fructe au o influență importantă asupra calității acestor produse [21].

---

### **3. Determinări de compuși moleculari din sucul de mere**

---

Cel mai important produs obținut din mere este sucul de mere, acesta fiind cel mai popular dintre sucurile de fructe, apreciat pentru proprietățile sale nutriționale și aroma specifică [23].

Calitatea sucului de mere este influențată de: materialul genetic al merelor, zona geografică, practicile și condițiile de cultivare, clima, maturitatea merelor la recoltare, condițiile de transport și stocare, respectiv de tehnologia de procesare a merelor [20, 23]. Calitatea concentratelor de suc de mere depinde și de gradul de recuperare a aromelor de mere în procesul de concentrare [24]. Din acest motiv identificarea și cuantificarea compușilor de aromă este o problemă esențială pentru determinarea calității fructelor, respectiv a sucurilor de fructe [25].

#### **3.1. Compușii organici volatili din sucul de mere**

Compușii organici volatili din mere, respectiv din sucul de mere procesat, care contribuie la aromă sunt esterii, alcoolii, terpenele, cetonele, aldehidele și alți compuși, care se găsesc în concentrații mici (nu depășesc niciodată nivelul mg/L) [26]. Tehnica analitică cea mai des utilizată pentru determinarea profilului de aromă a fructelor și a sucurilor de fructe este tehnica cromatografică, în special gaz cromatografia cuplată cu spectrometria de masă [27]. Datorită matricii complexe a probelor de analizat este nevoie de izolarea și preconcentrarea analiților înaintea introducerii în sistemul GC/MS [21].

#### **3.2. Extracția compușilor organici volatili din sucurile de fructe prin SPME**

Compușii volatili responsabili pentru aroma sucurilor de fructe sunt prezenți în cantități mici, ceea ce înseamnă că, pentru identificarea și cuantificarea acestora, este

necesară o metodă eficientă de extracție, compatibilă cu analiza GC/MS [28, 29, 30]. În vederea extracției și preconcentrării compușilor volatili responsabili pentru aromă din sucul de mere s-a ales microextracția pe fază solidă (Solid Phase Microextraction, SPME) [31, 32].

Extracția SPME s-a realizat din 10 ml de probă de suc de mere, la care s-a adăugat 54  $\mu\text{L}$  de soluție de 2,4-disec-butil-fenol ca standard intern de concentrație 0.925  $\mu\text{g/mL}$ , utilizând faza mixtă de polidimetil-siloxan/divinil-benzen (PDMS/DVB, fază semipolară) de 65  $\mu\text{m}$ . Cantitatea de standard intern detectată a fost o măsură a reproductibilității procesului de extracție. Extracția probelor s-a efectuat fără diluție și fără adăugare de NaCl. Probele au fost supuse extracției la 45°C în agitare continuă (1400 rpm) timp de 30 min, după echilibrare prealabilă. Fibra cu faza încărcată s-a transferat în injector pentru desorbția compușilor la 250°C, timp de 2 min. Toate probele s-au preparate în duplicat.

### **3.3. Condiții de lucru pentru studiul compușilor responsabili pentru aromă din sucul de mere prin headspace SPME-GC/MS**

Analiza probelor s-a realizat cu un sistem gaz cromatograf Trace GC Ultra cuplat cu un spectrometru de masă Polaris Q, de tip Thermo-Finnigan. Gaz cromatograful a fost echipat cu o coloană capilară HP-5MS (30m x 0.25mm x 0,25 $\mu\text{m}$ ). Programul de temperatură utilizat începe de la temperatura inițială de 40°C, menținută 2 minute, urmată de o creștere a temperaturii cu 10°C/min până la 300°C, care se menține timp de 10 minute. Condițiile MS dotat cu sursă de ionizare cu impact electronic (EI, 70 eV) au fost: domeniul de masă baleiat: 50-650 Dalton; temperatura sursei de ioni: 250°C.

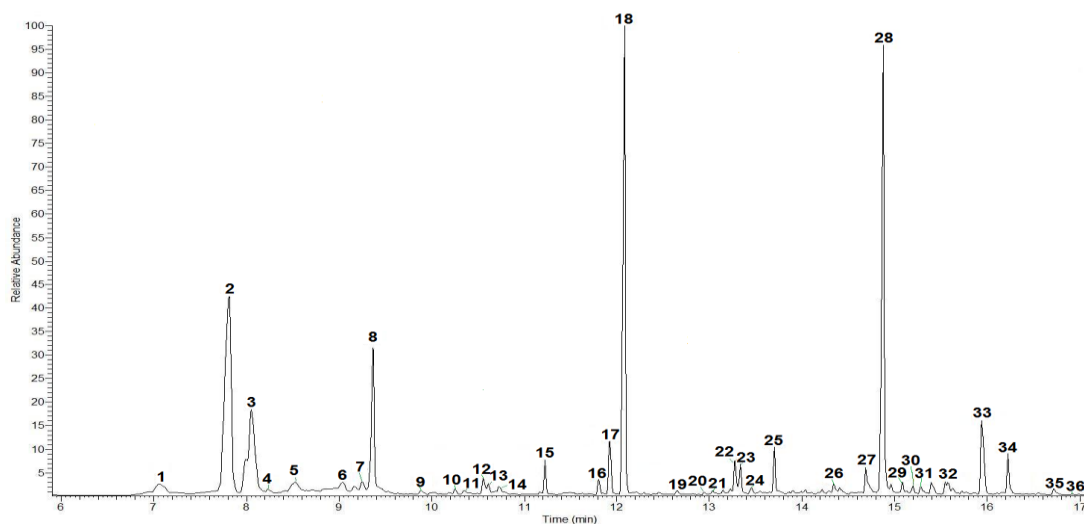
Metoda de cuantificare utilizată pentru studiul comparativ al diferitelor tipuri de sucuri de fructe a fost exprimarea cantității de compuși organici volatili detectați în concentrație relativă. Concentrația relativă s-a calculat utilizând raportul dintre aria compusului detectat măsurat pentru ionul de bază și aria totală a tuturor compușilor detectați. Pentru conveniență aceste raporturi s-au înmulțit cu o constantă arbitrară, în acest caz constanta fiind  $10^4$ .

Deviația standard relativă a compușilor detectați în toate probele analizate variază între 0.02% și 12.7%. Valoarea maximă pentru deviația standard s-a determinat pentru 3,5-bis-(tert-butil)-4-hidroxi-propiofenonă în proba de suc comercial presat direct.

### 3.4. Studiul comparativ al diferitelor sucuri de mere comerciale prin SPME-GC/MS

Sucurile de mere fabricate în România au fost achiziționate din magazine locale și analizate prin metoda analitică SPME-GC/MS:

- **Proba 1** și **Proba 2**: sucuri de mere 100% obținute din concentrat de mere, produse de companii diferite, conținut de fructe 100%;
- **Proba 3**: suc de mere nelimepizat natural 100%, procesat, amintit în continuare ca suc presat direct; fără conservanți și fără coloranți;
- **Proba 4**: băutură răcoritoare necarbogazoasă cu suc și piure de mere verzi, denumit în continuare ca suc de mere verzi cu pulpă (**Figura 1**);



**Figura 1:** Cromatograma de curent ionic total (TIC) obținut pentru compușii organici volatili din sucul de mere verzi cu pulpă (Proba 4). Structura compușilor este: 2-Pentanol propanoate (1); n-Hexyl acetate (2); Limonene (3); Propyl pivalate (4);  $\gamma$ -Terpinene (5); Diethylcyclooctane (6); Isopentyl-2-methylbutanoate (7); 4-Methylhexyl acetate (8); p-Propyl-benzaldehyde (9); Unknown alcohol 1 (10); Unknown alcohol 2 (11); Propyl hexanoate (12);  $\alpha$ -Terpineol (13); Estragole (14); Hexyl-2-methylbutanoate (15); Citronellol (16); Ionone (17); cis-p-Menthan-7-ol (18); Ethyl safranate (19); Eugenol (20);  $\alpha$ -Damascenone (21); Hexyl hexanoate (22);  $\beta$ -Damascenone (23); Propenyl guaiacol (24); Guaiene (25); Unknown terpene 7 (M=204) (26); trans- $\alpha$ -Bergamotene (27);  $\alpha$ -Farnesene (28); Unknown terpene 8 (M=204) (29); Methyl-ethyl-cyclohexanecarboxylate (30); Germacrene (31); Humulene (32); Unknown terpene 9 (M=204) (33);  $\alpha$ -Pachoulene (34); Aristolene (35); Methyl- $\beta$ -ionone (36).

#### Esteri

În sucurile de mere comerciale s-au determinat cantități mari de esteri totali. Pentru sucurile reconstituite din concentrate: Proba 1 concentrația relativă de ester total este de 3860.7 u.a. (unități arbitrare), respectiv 6195.8 u.a. pentru Proba 2, reprezentând cea mai mare cantitate totală de esteri determinată pentru probele analizate. Dacă se consideră recomandările lui Heil și colaboratorii [33] - care pentru evaluarea calității sucurilor de

mere reconstituite din concentrat propun determinarea cantității totale de esteri fără acetat de butil - se poate afirma că pentru cele două probe de suc, obținute din concentrat, gradul de recuperare a aromelor este unul ridicat și corespunzător pentru obținerea sucurilor de calitate. Trebuie remarcat faptul că, Proba 3, considerată ca suc de mere de calitate înaltă după etichetarea producătorului, nu atinge nici jumătate din cantitatea maximă de esteri detectați (6195.8 u.a. pentru Proba 2), totalul de esteri fiind de 2691.1 u.a.. În sucul de mere, care este reconstituit din concentrat, dar care conține și pulpă (Proba 4) cantitatea totală de esteri este mai mare, de 4441.3 u.a [34].

Rezultatele obținute pentru cantitatea totală de esteri din sucurile analizate nu sunt concludente, astfel că evaluarea calității sucurilor nu se poate realiza considerând concentrația de ester total. Evaluarea cantitativă a esterilor este prezentată în **Tabel 1**.

**Tabel 1:** Esteri identificați în probele comerciale de suc de mere după extracția SPME și separarea GC/MS

Nr	Denumire compus	t <sub>R</sub> (min)	Suc de mere	Suc de mere	Suc presat	Suc de mere
			obținut din concentrat 1 <b>Proba 1</b>	obținut din concentrat 2 <b>Proba 2</b>	direct <b>Proba 3</b>	verzi cu pulpă <b>Proba 4</b>
1	2/3-Methylbutyl-acetate <sup>a</sup>	5.48	1338.0±22.5	2093.4±76.9	845.4±1.8	799.2±51.8
2	Propyl-2-methylbutanoate <sup>a</sup>	6.62	10.2±0.4	-	27.9±1.1	-
3	2-Pentanol propanoate <sup>a</sup>	7.07	-	-	-	3140.9±5.3
4	Butyl-butanoate <sup>a</sup>	7.49	-	-	-	162.1±1.4
5	n-Hexyl acetate <sup>a</sup>	7.71	656.2±2.0	343.9±5.0	483.6±14.3	1556.8±91.4
6	Propyl pivalate <sup>a</sup>	8.17	32.0±0.3	-	88.3±4.8	12.3±0.4
7	Unknown ester 1	9.06	-	-	-	-
8	Isopentyl-2-methylbutanoate <sup>a</sup>	9.25	-	1781.7±58.1	-	72.8±6.8
9	4-Methylhexyl acetate <sup>a</sup>	9.44	-	-	-	1004.2±70.8
10	Butyl-2-methylbutanoate <sup>a</sup>	9.70	-	-	-	-
11	Ethyl benzoate <sup>a</sup>	10.23	-	26.8±2.0	45.9±3.4	-
12	Propyl hexanoate <sup>a</sup>	10.50	-	-	-	49.1±5.9
13	Methyl-3-methyl-benzoate <sup>a</sup>	10.89	-	-	-	0.4±0.03
14	Hexyl-2-methylbutanoate <sup>a</sup>	11.15	16.4±0.9	9.9±0.6	50.6±2.6	118.5±5.5
15	Pentyl hexanoate <sup>a</sup>	11.37	-	-	-	1.9±0.1
16	Butyl benzoate <sup>a</sup>	11.69	-	-	-	-
17	Unknown ester 2	12.46	-	-	-	-
18	Ethyl safranate <sup>a</sup>	12.69	8.7±0.5	-	8.0±0.4	0.9±0.1
19	Hexyl hexanoate <sup>a</sup>	13.27	-	-	-	70.6±5.5
20	5-Isopropyl-methylphenethyl acetate <sup>a</sup>	13.37	-	-	-	-
21	Methyl-ethyl-cyclohexanecarboxylate <sup>a</sup>	15.11	14.2±1.0	-	16.4±0.9	63.9±2.0
22	4-Terpeneol acetate <sup>a</sup>	15.20	2.8±0.1	-	8.4±0.4	28.1±0.2
23	Pentanoic acid 2,2,4-trimethyl-3-carboxyisopropyl isobutyl ester <sup>a</sup>	15.88	1782.2±123.2	1940.1±95.2	1116.8±58.3	185.5±15.9

<sup>a</sup> Compus identificat prin compararea spectrului de masă și timpul de eluție cu date publicate, spectrul din baza de date NIST, ± deviația standard; Concentrația relativă calculată utilizând raportul ariei compusului detectat măsurat pentru ionul de bază și aria totală a tuturor compuşilor detectați. Pentru conveniență aceste raporturi s-au înmulțit cu o constantă arbitrară, în acest caz constanta fiind 10<sup>3</sup>.

## Alcooli

Alcoolii se formează mai ales în procesele termice aplicate sucurilor de fructe, astfel că sucurile procesate prezintă cantități semnificative de alcooli [23]. Concentrația relativă totală de alcooli prezenți în sucurile comerciale de mere studiate este mare, mai ales pentru sucul reconstituit din concentrat (Proba 1, 2494.3 u.a.). Față de aceasta, Proba 2 conține o cantitate mai mică de alcool total, de numai 890.8 u.a. În mod surprinzător sucul presat direct conține 1613.6 u.a. de alcool total, deși tehnologia de procesare a acestor tipuri de sucuri este relativ de scurtă durată, față de sucurile concentrate. O cantitate foarte

mică de alcool total s-a stabilit în suc de mere verzi cu pulpă, de doar 81.0 u.a.. În sucurile comerciale de mere s-au detectat un număr de 9 alcooli, prezentați în **Tabel 2**.

**Tabel 2:** Alcooli identificați în probele comerciale de suc de mere după extracția SPME și separarea GC/MS

Nr	Denumire compus	t <sub>R</sub> (min)	Suc de mere	Suc de mere	Suc presat	Suc de mere
			obținut din concentrat 1 <b>Proba 1</b>	obținut din concentrat 2 <b>Proba 2</b>	direct <b>Proba 3</b>	verzi cu pulpă <b>Proba 4</b>
1	cis-3-Hexenol	4.24	59.5±0.7	31.1±3.1	17.4±0.2	4.2±0.4
2	1-Octanol <sup>a</sup>	8.68	104.5±7.7	-	120.1±6.4	-
3	cis-6-Nonenol <sup>a</sup>	9.18	76.0±2.3	-	111.8±10.6	5.6±0.5
4	Unknown alcohol 1	10.18	2075.9±191.4	737.4±14.5	1019.6±10.0	28.1±3.4
5	Unknown alcohol 2	10.34	-	11.5±1.0	-	29.7±3.1
6	cis-4-Decen-1-ol <sup>a</sup>	10.71	111.0±4.9	77.5±1.9	288.2±32.7	11.8±0.5
7	Unknown alcohol 3	10.82	50.5±2.1	28.1±2.4	32.4±0.6	1.7±0.1
8	2-Nonyloxy-ethanol <sup>a</sup>	11.43	10.6±0.2	-	8.3±0.7	-
9	2-Hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-3-cyclopenten-1-one <sup>a</sup>	12.23	6.3±0.1	5.2±0.1	15.7±1.0	-

<sup>a</sup> Compus identificat prin compararea spectrului de masă și timpul de eluție cu date publicate, spectrul din baza de date NIST.  
± deviația standard; Concentrația relativă calculată utilizând raportul ariei compusului detectat măsurat pentru ionul de bază și aria totală a tuturor compuşilor detectați. Pentru conveniență aceste rapoarturi s-au înmulțit cu o constantă arbitrară, în acest caz constanta fiind 10<sup>4</sup>.

## Cetone

Cetonele se eliberează datorită aplicării tratamentelor termice [35], astfel în sucurile comerciale de mere studiate cantitatea totală de cetone este ridicată. Sucul din concentrat, Proba 2 prezintă cea mai mare cantitate de cetone totale (1435.6 u.a.) la fel ca și sucul presat direct (1039.0 u.a.). Al doilea suc obținut din concentrat este caracterizat de o concentrație mult mai mică de cetone totale (697.0 u.a.), iar suc de mere verzi cu pulpă prezintă cea mai mică cantitate de cetone totale, de numai 200.0 u.a.. Dintre cetonele identificate (**Tabel 3**) β-damascenona s-a determinat în cele mai mari concentrații.

**Tabel 3:** Cetone/aldehide identificate în probele comerciale de suc de mere după extracția SPME și separarea GC/MS

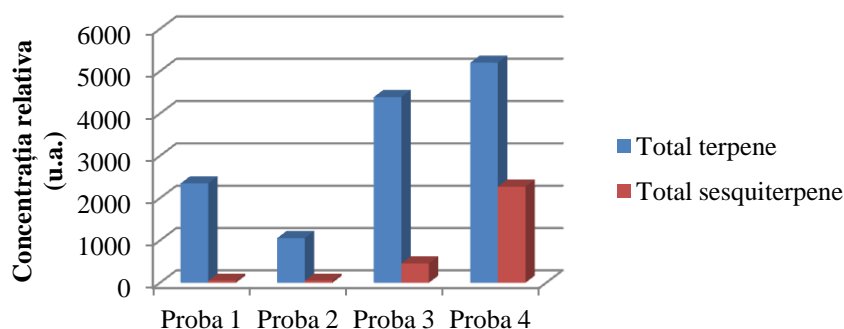
Nr	Denumire compus	t <sub>R</sub> (min)	Suc de mere	Suc de mere	Suc presat	Suc de mere
			obținut din concentrat 1 <b>Proba 1</b>	obținut din concentrat 2 <b>Proba 2</b>	direct <b>Proba 3</b>	verzi cu pulpă <b>Proba 4</b>
1	p-Propyl-benzaldehide <sup>a</sup>	9.92	-	-	-	8.4±0.7
2	Ionone <sup>a</sup>	11.85	280.4±21.0	45.5±5.7	321.1±32.3	97.6±9.0
3	α-Damascenone <sup>a</sup>	12.95	24.1±1.3	77.9±2.2	45.9±1.6	6.7±0.2
4	2-Butyl-2-octenal <sup>a</sup>	13.15	-	-	-	4.6±0.04
5	β-Damascenone <sup>a</sup>	13.33	363.9±2.9	1305.2±31.1	655.3±30.4	82.6±1.7
6	Methyl-β-ionone <sup>a</sup>	16.72	28.6±1.9	7.1±0.4	16.7±1.1	-

<sup>a</sup> Compus identificat prin compararea spectrului de masă și timpul de eluție cu date publicate, spectrul din baza de date NIST.  
± deviația standard; Concentrația relativă calculată utilizând raportul ariei compusului detectat măsurat pentru ionul de bază și aria totală a tuturor compuşilor detectați. Pentru conveniență aceste rapoarturi s-au înmulțit cu o constantă arbitrară, în acest caz constanta fiind 10<sup>4</sup>.

## Terpene

Terpenele constituie o clasă numeroasă de compuși organici naturali cu activitate de aromă, care sunt produse de o varietate de plante și insecte [36]. Cele mai mici concentrații de terpene totale s-au determinat pentru sucurile obținute din concentrat (2349.2 u.a. pentru Proba 1, respectiv 1056.1 u.a. pentru Proba 2). Concentrații mult peste aceste valori s-au determinat pentru suc de mere presat direct (4388.5 u.a.). Cea mai mare

cantitate de terpene totale dintre sucurile comerciale studiate s-au determinat în sucul de mere verzi cu pulpă, acesta fiind de 5202.1 u.a. (**Figura 2**).



**Figura 2:** Concentrația relativă de terpeni totale și sesquiterpeni totale în probele de suc de mere comerciale

Concentrația relativă de sesquiterpeni nu urmărește tendința sugerată de cantitatea totală de terpeni. Astfel Proba 1, fiind un suc obținut din concentrat conține o cantitate totală de sesquiterpeni de 47.8 u.a., reprezentând doar 2.0% din totalul de terpeni (**Figura 2**). Pentru Proba 2 cantitatea totală de sesquiterpeni reprezintă 4.6% din totalul de terpeni. În cazul sucului presat direct (Proba 3) raportul procentual sesquiterpeni totale/terpeni totale este 10.4 %. Dintre sucurile de mere comerciale analizate concentrația cea mai mare de sesquiterpeni totale s-a determinat pentru sucul de mere verzi cu pulpă (pentru Proba 4 2270.8 u.a.). Această cantitate totală de sesquiterpeni reprezintă 43.7% din totalul de terpeni. Foarte probabil raportul procentual mare de sesquiterpeni/terpeni se datorează prezenței pulpei de fructe în conținutul sucului analizat. Prin compararea rapoartelor procentuale sesquiterpeni/terpeni a probelor studiate se poate observa, că sucul de calitate superioară presat direct (Proba 3) și sucul cu pulpă (Proba 4) sunt caracterizate de valori mari a acestor rapoarte (>10%), față de cele obținute pentru sucurile din concentrat (<10%). Cantitățile de terpeni determinate sunt prezentate în **Tabel 4**.

**Tabel 4:** Terpene identificate în probele comerciale de suc de mere după extracția SPME și separarea GC/MS

Nr	Denumire compus	$t_r$ (min)	Suc de mere	Suc de mere	Suc presat	Suc de mere
			obținut din concentrat 1 Proba 1	obținut din concentrat 2 Proba 2	direct Proba 3	verzi cu pulpă Proba 4
1	$\alpha$ -Pinene <sup>b</sup>	6.40	-	-	-	1.0±0.01
2	Champhene <sup>b</sup>	7.40	1.9±0.03	62.6±7.3	58.2±0.6	14.7±1.2
3	Limonene <sup>b</sup>	7.99	431.1±32.6	309.1±28.7	1975.6±52.2	736.2±28.6
4	Unknown terpene 1	8.32	-	9.0±0.8	-	3.7±0.4
5	$\gamma$ -Terpinene <sup>b</sup>	8.47	996.0±49.0	332.0±10.1	297.9±26.1	156.1±3.1
6	Terpinolene <sup>b</sup>	8.84	11.9±1.1	33.4±3.7	54.6±6.8	39.9±1.3
7	Linalool <sup>b</sup>	9.12	218.8±11.3	117.0±13.1	68.2±6.6	23.5±1.6
8	cis-p-2-Menthenol <sup>a</sup>	9.14	-	-	-	37.0±1.7
9	Unknown terpene 2	9.37	-	-	-	-
10	cis-Pinen-3-ol <sup>a</sup>	9.40	32.3±1.1	-	315.6±16.7	4.9±0.2
11	Unknown terpene 3	9.46	-	-	1.4±0.1	2.3±0.05
12	cis- $\beta$ -Terpineol <sup>a</sup>	9.72	-	-	-	1.2±0.05
13	cis-Verbenol <sup>b</sup>	9.82	69.9±2.9	-	54.2±0.9	-
14	1-isopulegone <sup>b</sup>	9.86	-	-	-	-
15	p-Vinyl-anisole <sup>a</sup>	9.97	29.2±1.2	-	-	-



**Tabel 4:** Terpene identificate în probele comerciale de suc de mere după extracția SPME și separarea GC/MS - continuare

Nr	Denumire compus	t <sub>R</sub> (min)	Suc de mere	Suc de mere	Suc presat	Suc de mere
			obținut din concentrat 1 Proba 1	obținut din concentrat 2 Proba 2	direct Proba 3	verzi cu pulpă Proba 4
16	1-Borneolb	10.04	-	-	1.5±0.1	-
17	Unknown terpene 4	10.13	9.9±1.1	-	8.6±0.1	-
18	p-Menth-2-en-1-ola	10.42	-	5.0±0.3	-	3.5±0.1
19	α-Terpineolb	10.54	104.3±6.4	41.5±2.2	289.1±10.0	46.8±1.4
20	Estragolea	10.65	334.5±8.8	43.3±3.4	684.7±35.8	46.0±5.4
21	β-Cyclocitrala	10.99	30.9±1.0	15.9±0.03	16.1±0.7	3.1±0.4
22	2-Bornenea	11.10	30.7±0.6	38.3±1.7	56.8±5.6	1.8±0.1
23	Citronellolb	11.81	-	-	-	41.1±4.3
24	Anetholea	11.91	-	-	48.0±1.9	-
25	cis-p-Menthan-7-ola,c	12.09	-	-	-	1751.2±102.1
26	Unknown terpene 5 (M=204)	12.60	-	-	16.0±1.5	-
27	Unknown terpene 6 (M=204)	12.76	-	-	-	-
28	Eugenola	12.93	-	-	-	11.6±0.04
29	α-Cubebene (M=204)a	13.17	-	-	-	9.7±0.8
30	Dehydro-aromadendrene	13.35	-	-	-	1.4±0.03
31	Propenyl guaiacola	13.47	-	-	-	4.1±0.2
32	Guaiene (M=204)a	13.62	14.1±1.1	17.3±1.0	93.5±0.9	97.7±10.5
33	β-Caryophyllene (M=204)b	13.78	-	-	1.7±0.1	2.7±0.1
34	Aromadendrene (M=204)b	14.02	11.6±0.6	-	-	-
35	Unknown terpene 7 (M=204)	14.26	-	-	-	30.5±1.4
36	γ-Maaliene (M=204)a	14.46	-	-	4.4±0.5	3.2±0.3
37	trans-α-Bergamotene (M=204)a,c	14.60	-	-	-	96.3±9.6
38	Valencene (M=204)b	14.70	14.9±1.1	-	6.7±0.3	-
39	α-Farnesene (M=204)a	14.77	-	-	278.1±3.1	1447.9±99.3
40	Unknown terpene 8 (M=204)	15.00	-	-	-	41.6±1.1
41	Lilal (M=204)a	15.03	7.1±0.2	3.7±0.3	5.5±0.6	-
42	Germacrene (M=204)a,c	15.19	-	-	-	35.1±0.4
43	Humulene (M=204)a,c	15.53	-	-	-	21.4±2.3
44	Unknown terpene 9 (M=204)	15.85	-	-	-	287.9±13.3
45	α-Pachoulene (M=204)a,c	16.14	-	-	31.0±2.0	178.6±1.3
46	Unknown terpene 10 (M=204)	16.44	-	27.9±2.3	-	4.7±0.4
47	Aristolene (M=204)a	16.64	-	-	-	11.7±1.4
48	Cedrene (M=204)a	16.90	-	-	21.0±1.7	2.0±0.05

<sup>a</sup> Compus identificat prin compararea spectrului de masă și timpul de eluție cu date publicate, spectrul din baza de date NIST; <sup>b</sup> Compus identificat prin compararea spectrului de masă și timpul de eluție cu standard extern, respectiv cu spectrul din baza de date NIST; <sup>c</sup> Identificare orientativă; ± deviația standard; Concentrația relativă calculată utilizând raportul ariei compusului detectat măsurat pentru ionul de bază și aria totală a tuturor compușilor detectați. Pentru conveniență aceste raporturi s-au înmulțit cu o constantă arbitrară, în acest caz constanta fiind 10<sup>4</sup>.

### 3.5. Studiul comparativ al sucurilor proaspăt stoarse obținute din diferite specii de mere prin SPME-GC/MS

Fructele de mere (*Malus domestica*) Golden Delicios și Red Delicios au fost obținute dintr-o livadă renumită din zona Reghin (46°46'33"N 24°42'30"E), iar merele Jonathan din satul Gheorgheni (46°42'55"N 23°41'11"E). Sucurile proaspăt stoarse de mere - producția din anul 2011 - nefiltrate, au fost supuse imediat analizei:

- **Proba 5:** suc proaspăt stors obținut din mere Golden Delicios;
- **Proba 6:** suc proaspăt stors obținut din mere Red Delicios;
- **Proba 7:** suc proaspăt stors obținut din mere Jonathan.

#### Esteri

Sucurile proaspăt stoarse obținute din diferite soiuri de mere nu prezintă cantități mari de esteri totali. Sucul obținut din Golden Delicios (Proba 5) conține cantitatea cea mai mare de esteri totali (1958.8 u.a.), față de Red Delicios (1811.4 u.a. pentru Proba 6) și



Jonathan (829.1 u.a. pentru Proba 7). Comparativ cu sucurile comerciale analizate ( 2600 – 6200 u.a.) aceste cantități de esteri totali sunt foarte mici. Cantitățile mici de esteri totali din sucurile de mere proaspăt stoarse sunt în concordanță cu cercetările lui Wolter și colaboratorii, care susțin că anumite soiuri de mere nu conțin sau conțin cantități foarte mici de esteri totali [37] și subliniază faptul că indicele de aromă pentru cantitatea totală de esteri nu este potrivit pentru evaluarea calității sucurilor.

#### **Alcooli**

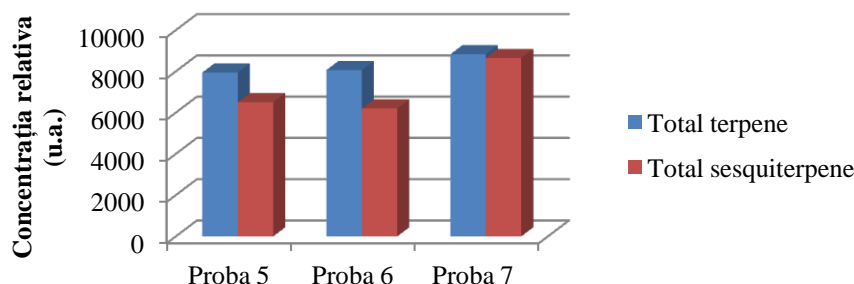
Cantitatea totală de alcooli din sucurile proaspăt stoarse este relativ mică, față de sucurile comerciale, cu excepția sucului de mere verzi cu pulpă. Astfel pentru sucul de mere Golden Delicios s-a determinat cea mai mică cantitate de alcooli totali, de numai de 78.5 u.a. Concentrația de alcooli totali pentru sucul de mere Red Delicios este de 115.7 u.a., respectiv 314.0 pentru sucul de mere de Jonathan. Trebuie menționat faptul că aceste măsurători s-au efectuat în mai 2012, din producția de anulul 2011. Conform datelor publicate de Wolter și colaboratorii conținutul de alcooli din mere crește semnificativ odată cu durata timpului de depozitare a fructelor [37]. Astfel că, depozitarea fructelor pe o perioadă lungă de timp (~8 luni) poate determina o creștere semnificativă a conținutului de alcooli totali determinat în sucurile de mere de diferite tipuri.

#### **Cetone**

În probele de sucuri naturale proaspăt stoarse concentrația de cetone totale este foarte mică, în comparație cu sucurile comerciale analizate (200 -1400 u.a.). Sucul de mere din Golden Delicios prezintă cea mai mare concentrație de cetone totale (10.8 u.a.) dintre sucurile proaspăt stoarse. Concentrația de cetone totale este sub 10 u.a. pentru sucul de Red Delicios (7.0 u.a.) și sucul de Jonathan (1.6 u.a.).

#### **Terpene**

Concentrația relativă de terpene totale este aproape dublă în sucurile proaspăt stoarse față de sucurile comerciale (1000-4400 u.a.). Cantitatea de terpene totale din sucul de mere Golden Delicios este de 7946.5 u.a., din sucul de mere Red Delicios este de 8063.0 u.a., iar concentrația cea mai mare de terpene totale s-a determinat din sucul de mere Jonathan (8834.1 u.a.) (**Figura 3**).



**Figura 3:** Concentrația relativă de terpeni totale și sesquiterpeni totale în probele de suc de mere proaspete

Cantitatea totală de sesquiterpene din sucurile de mere proaspăt stoarse este foarte mare în comparație cu sucurile comerciale (47-2200 u.a.). Concentrația relativă de sesquiterpene totale este de 6508.5 u.a. pentru sucul obținut din Golden Delicious (Proba 5), 6203.8 u.a. pentru Red Delicious (Proba 6), respectiv 8652.8 u.a. pentru sucul stors din mere Jonathan (Proba 7). Dacă se consideră raportul procentual de sesquiterpene totale/terpene totale pentru probele de suc de mere proaspăt stoarse, acesta are valoarea de peste 76%, mult mai mare față de rapoartele obținute pentru sucurile comerciale (2-43.7%). Conform rezultatelor obținute raportul procentual de sesquiterpene/terpene poate fi un indice potrivit pentru evaluarea calității sucurilor de mere.

## Concluzii

În sucurile comerciale de mere, respectiv în sucurile obținute din diverse soiuri de mere s-au detectat 90 de compuși organici volatili utilizând metoda analitică headspace SPME-GC/MS.

Caracteristicile pentru diferențierea diferitelor tipuri de sucuri propuse se bazează pe diferențele majore de concentrații relative a claselor de compuși: esteri -, alcooli -, cetone -, terpeni -, respectiv sesquiterpene total. Utilizând criteriile de diferențiere propuse, evaluarea calității sucurilor se poate realiza într-o manieră relativ simplă, stabilindu-se un indice nou pentru evaluarea calității sucurilor de mere: raportul procentual de sesquiterpene/terpene.

Datele prezentate pot fi utilizate în continuare pentru descrierea varietății și cantității compușilor organici volatili din sucurile de mere, obținute din fructe specifice zonelor geografice, fiind posibilă realizarea unei baze de date.

---

## **4. Determinări de compuși moleculari din suc de portocale**

---

Producția globală de suc de portocale pentru perioada de cultură 2012/2013 a fost 1.9 milioane tone [38]. Producția foarte mare reflectă necesitățile consumatorilor.

Standardul de calitate pentru sucurile de portocale pasteurizate și ambalate este aroma de suc de portocale proaspăt stors, nepasteurizat. Distrugerea compușilor responsabili pentru aromă are loc în reacții chimice din timpul procesului de încălzire, sau inițiate de temperaturile ridicate. În aceste condiții determinarea compușilor responsabili pentru aromă este foarte importantă în vederea asigurării calității sucurilor de portocale procesate, mai ales a sucurilor reconstituite din concentrat.

### **4.1. Compuși organici volatili din suc de portocale**

Calitatea senzorială a sucului de portocale nu se datorează numai componentelor de bază, cum ar fi zaharurile sau acizii organici, ci în mare parte și compușilor organici volatili, responsabili pentru aromă. Aroma, care dă gustul și mirosul sucurilor de portocale, este rezultatul unei combinații complexe de compuși volatili din clasa esterilor, alcoolilor, cetonelor, terpenelor, respectiv alți compuși în proporții specifice [39].

### **4.2. Optimizarea condițiilor de extracție SPME pentru compuși volatili responsabili pentru aromă din suc de portocale**

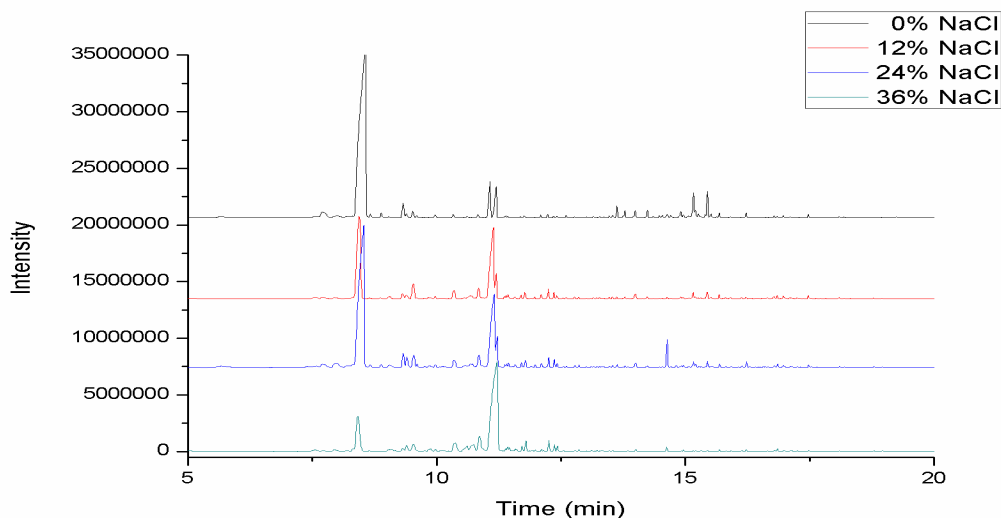
Optimizarea parametrilor headspace SPME s-a realizat pe un suc de portocale, utilizând o fază staționară mixtă PDMS/DVB. Extracția SPME s-a realizat după echilibrarea probelor timp de 60 minute supuse agitării continue (1300 rpm). După extracție fibra PDMS/DVB încărcată s-a introdus în injectorul GC pentru desorbția compușilor volatili la 250°C timp de 5 minute, evitând astfel efectul de transfer de analiți între probe. În scopul optimizării extracției s-au ales 5 compuși volatili și 5 compuși mai

puțin volatili. Cei 5 compuși selectați din grupul compușilor mai volatili sunt: limonen, terpinolen, linaool, 1-isopulegol,  $\alpha$ -terpineol, iar din grupul compușilor mai puțin volatili au fost selectați: pulegon,  $\alpha$ -cubeben, cariofilen, valencen și 2,4-disec-butyl-fenol. Deviația standard relativă (Relative Standard Deviation, RSD) a compușilor pentru optimizarea parametrilor de extracție variază în domeniul 0.08 – 10.55%.

Cantitatea de compuși volatili extrași pe fibra SPME din zona headspace a sucului de portocale depinde de *temperatura de extracție* [40]. Variația temperaturii de extracție a compușilor responsabili pentru aromă din sucul de portocale s-a testat în intervalul de 25-55°C. Temperatura optimă stabilită pentru extracția compușilor responsabili pentru aromă din sucul de portocale este de 45°C.

Cantitatea de analiți extrasă pe faza staționară este maximă, când se atinge echilibrul de partiție. Echilibrul de partiție a analiților se consideră atins atunci, când aria pentru picurile corespunzătoare compușilor volatili urmăriți crește foarte puțin sau deloc odată cu creșterea  *timpului de extracție*. Efectul modificării timpului de extracție s-a evaluat pentru extracții de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75 minute. Timpul de extracție optim stabilit pentru extracția atât a compușilor mai volatili, cât și a compușilor mai puțin volatili este 30 min.

În scopul *optimizării concentrației de NaCl* pentru extracția SPME s-a variat cantitatea de sare în intervalul 0-36%. Cromatogramele înregistrate pentru concentrații de 0%, 12%, 24%, respectiv 36% NaCl sunt prezentate în **Figura 4**. Pe baza rezultatelor obținute s-a stabilit că adăugarea de săruri minerale schimbă profilul compușilor volatili responsabili pentru aromă astfel că extracția SPME este optimă fără adăugarea de NaCl.



**Figura 4:** Cromatograma obținută pentru diferite concentrații de NaCl (probă echilibrată la 45°C, timp de 60 min. agitat continuu (1300 rpm); faza staționară PDMS/DVB; extras la 45°C, timp de 30 min.)

### 4.3. Validarea metodei de analiză headspace SPME-GC/MS pentru compușii volatili responsabili pentru aromă din sucul de portocale

Pentru evaluarea parametrilor de validare a metodei analitice headspace SPME-GC/MS s-a realizat un studiu în care au fost introduși 17 compuși standard:  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, etil hexanoat, d-limonen,  $\gamma$ -terpinen, terpinolen, fencon, II-linalool, 1-isopulegol, 1-borneol,  $\alpha$ -terpineol, citronelol, pulegon, geraniol, (-)-trans-cariofilen, (+)-aromadendren, (+)-valencen. Compuși standard selectați s-au adăugat unei soluții model de suc (apă HPLC, care conține: 49.4 g/L monohidrat de D(+)-glucoză, 50.6 g/L fructoză, 8.5 g/L acid citric, 2.1 g/L de L(-)-acid malic și 0.4 g/L de L-(+)-acid ascorbic), în scopul simulării condițiilor reale de aciditate și de concentrație de zaharuri din sucul de portocale. Parametrii de validare a metodei analitice headspace SPME-GC/MS utilizați pentru studiul compușilor volatili responsabili pentru aroma sucurilor de portocale sunt prezentați în **Tabel 5**.

**Tabel 5:** Parametrii de validare pentru metoda headspace SPME-GC/MS: domeniu de liniaritate, coeficientul de regresie (R), limita de liniaritate (LOL), limita de detecție (LOD), limita de determinare cantitativă (LOQ), deviația standard relativă (RSD)

Nr	Denumire standard	t <sub>r</sub> (min)	Ioni caracteristici m/z (intensitate relativă, %)	Domeniu liniaritate ( $\mu\text{g/L}$ )	RSD (%)	R	LOL (%)	LOD ( $\mu\text{g/L}$ )	LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )
1	$\alpha$ -Pinene	6.73	91(100)77(40)105(5)121(3)136(0.5)	20-100	5.71	0.98	94.29	0.05	0.16
2	$\beta$ -Pinene	7.07	91(100)93(74)67(25)121(22)107(14)	100-750	1.60	0.95	98.40	0.09	0.31
3	Ethyl hexanoate	7.81	55(100)61(46)99(13)145(11)115(6)	20-100	0.64	0.95	99.36	0.08	0.27
4	d-Limonene	8.35	67(100)91(94)107(17)121(12)136(6)	1000-1750	0.09	0.98	99.91	6.19	20.64
5	$\gamma$ -Terpinene	8.83	91(100)65(13)121(10)105(8)136(6)	20-100	0.21	0.99	99.80	0.50	1.66
6	Terpinolene	9.28	91(100)121(32)136(16)154(0.5)	20-100	0.12	0.99	99.88	0.20	0.68
7	Fenchone	9.36	81(100)69(6)109(2)152(1)	2.5-15	0.34	0.97	99.66	0.01	0.04
8	II-Linalool	9.48	91(100)93(52)121(14)139,154(0.5)	20-100	1.07	0.99	98.93	0.05	0.18
9	1-Isopulegole	10.30	67(100)91(72)107(15)139(12)154(0.5)	20-100	0.57	0.99	99.43	0.01	0.04
10	1-Borneol	10.68	95(100)67(49)121(6)136(2)139(1)	2.5-15	0.62	0.99	99.38	0.01	0.05
11	$\alpha$ -Terpineol	11.00	91(100)121(44)136(19)105(12)139(2)	20-100	2.52	0.99	97.48	0.19	0.63
12	Citronellol	11.39	67(100)81(55)95(28)123(6)138(2)	20-100	0.59	0.99	99.41	0.02	0.08
13	Pulegone	11.65	67(100)81(77)152(28)109(25)91(14)	20-100	0.26	0.99	99.74	0.05	0.17
14	Geraniol	11.85	91(100)119(82)77(37)105(25)152(23)	2.5-15	2.80	0.98	97.20	0.02	0.07
15	(-)-trans-Caryophyllene	14.21	91(100)105(58)119(23)189(8)204(1)	20-100	0.25	0.98	99.75	0.25	0.84
16	(+)-Aromadendrene	14.44	91(100)119(38)147,189(15)204(6)	2.5-15	0.81	0.95	99.19	0.06	0.20
17	(+)-Valencene	15.13	91(100)105(90)189(28)204(24)	100-750	7.13	0.95	92.87	0.88	2.93

t<sub>r</sub> - timp de retenție a compusului;

**Condițiile experimentale:** SPME:echilibrat la 45°C, timp de 60 min., agitat continuu (1300 rpm), extracție la 45°C, timp de 30 min, concentrație 0% de NaCl; GC/MS: desorbție 5 min în injector la 250°C, He 1.5 mL/min, programul de temperatură pentru BD-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ): 40°C (menținută 2 min), crescută la 300°C (5 min), cu 10°C/min, linia de transfer la 300°C, sursa de ionizare EI la 250°C.

Valorile mici obținute pentru limita de detecție (LOD) și limita de determinare cantitativă (LOQ) arată faptul că metoda headspace SPME-GC/MS este o metodă analitică sensibilă, potrivită pentru analiza cantitativă a compușilor volatili responsabili pentru aromă din sucul de portocale.

#### **4.4. Condiții de lucru pentru studiul compușilor responsabili pentru aromă din sucul de portocale prin headspace SPME-GC/MS**

Studiul compușilor volatili responsabili pentru aromă din sucurile de portocale s-a realizat utilizând sistemul GC/MS dotat cu coloană capilară BD-5MS (30m x 0,25mm x 0,25 $\mu$ m), programat astfel: temperatura inițială de 40°C (menținută 2 min), crescută la 300°C (5 min), cu o viteză de 10°C/min. Temperatura liniei de transfer setat la 300°C, sursa de ionizare EI (energia de ionizare 70 eV) la temperatura 250°C, analizor cu trapă ionică cuadrupolară pentru care domeniul de masă baleat a fost 50-650 Dalton.

Cantitățile relative ale compușilor s-au calculat pe baza ariilor cromatografice a ionilor de bază comparativ cu aria ionului de bază a standardului intern (m/z 67). Standardul intern utilizat pentru cuantificarea compușilor volatili din sucurile de portocale a fost pulegon, care s-a adăugat la fiecare probă în cantitate de 600 ng/probă. Deviația standard relativă a compușilor urmăriți variază în domeniul 0.01 – 10.46%.

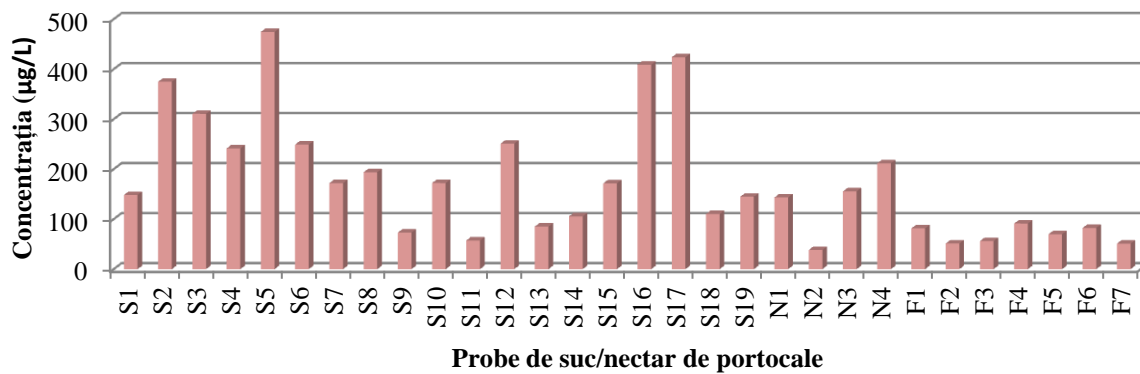
#### **4.5. Studiul compușilor volatili responsabili pentru aromă din diferite tipuri sucuri de portocale prin metoda headspace SPME-GC/MS**

*Scopul* acestui studiu a fost evaluarea profilului volatil responsabil pentru aromă a diferitelor sucuri și nectare de portocale obținute din concentrat, respectiv stabilirea unui nou indice de calitate pentru sucurile de portocale din concentrat. Acest studiu s-a realizat pe un număr de 19 sucuri de portocale (S1-S19), dintre care un suc comercial a fost obținut prin presare directă (S9), iar 18 au fost reconstituite din concentrat. Pe lângă sucurile de portocale s-au analizat 4 nectare de portocale (N1-N4), toate fiind reconstituite din concentrat și 7 sucuri de portocale proaspăt stoarse (F1-F7).

În sucurile și nectarele de portocale analizate s-au identificat 113 compuși volatili responsabili pentru aromă, care au fost incluși în patru clase: esteri, alcooli, cetone și terpene – împărțite la rândul lor în monoterpene și sesquiterpene [41, 42]. Dintre compușii volatili responsabili pentru aromă, identificați în sucurile comerciale analizate, s-au determinat un număr de 8 esteri, 5 alcooli, 7 cetone, 41 monoterpene, respectiv 52 sesquiterpene.

### Esteri

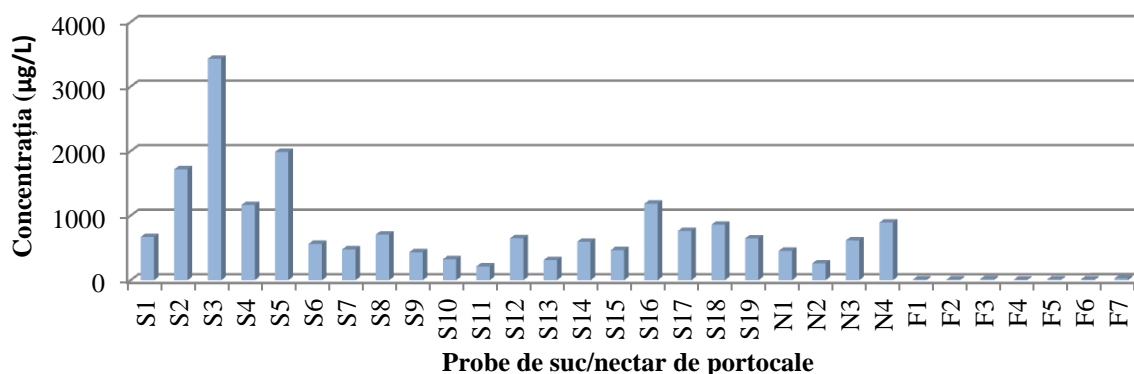
În probele analizate s-au identificat un număr de 8 esteri, caracterizați în general de note plăcute de fructat [43, 44]. Variația cantității de esteri totali pentru *sucurile și nectarele de portocale comerciale* se poate observa în **Figura 5**. Surprinzător este faptul că o concentrație relativ mică de esteri totali s-a obținut pentru sucul *de portocale direct presat* (S9), considerat un suc de calitate superioară. *Nectarele de portocale*, la fel ca și *sucurile de portocale proaspăt stoarse* sunt caracterizate de cantități relativ mici de esteri totali.



**Figura 5:** Concentrația de esteri totali în sucurile și nectarele de portocale

### Alcooli

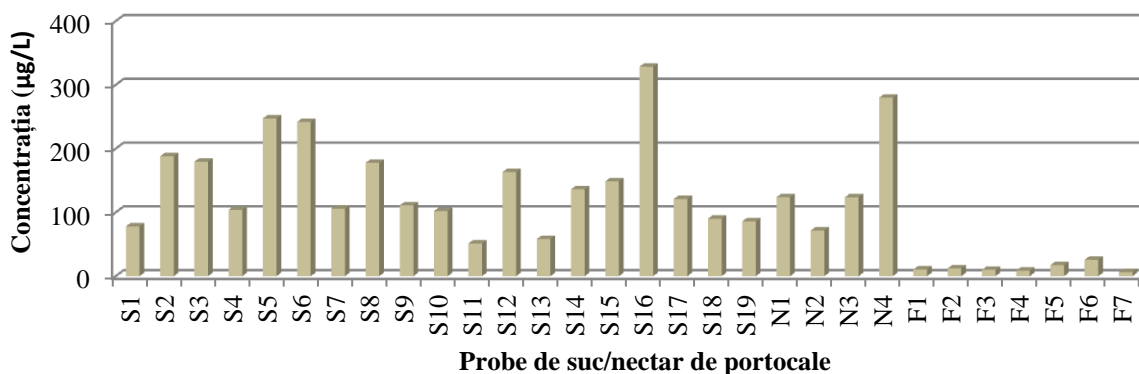
În probele de suc analizate s-a identificat un număr de 5 alcooli. În **Figura 6** este reprezentat conținutul de alcooli totali din *sucurile de portocale comerciale*, se poate observa că valorile sunt relativ mari, la fel ca și în *nectarele de portocale*. O caracteristică evidentă a *sucurilor de portocale proaspăt stoarse* este cantitatea mică de alcooli totali.



**Figura 6:** Concentrația de alcooli totali în sucurile și nectarele de portocale

## Cetone

S-au identificat un număr de 7 compuși volatili din clasa cetonei. Concentrația mare de cetone în sucurile comerciale este un indiciu a aplicării tratamentelor termice [45]. Domeniul de variație a cantității de cetone totale în *sucurile de portocale procesate* este mare, la fel și în *nectarele de portocale* (**Figura 7**). Conform așteptărilor în sucurile neprocesate, *direct presate*, concentrația de cetone totale este mică.



**Figura 7:** Concentrația de cetone totale în sucurile și nectarele de portocale

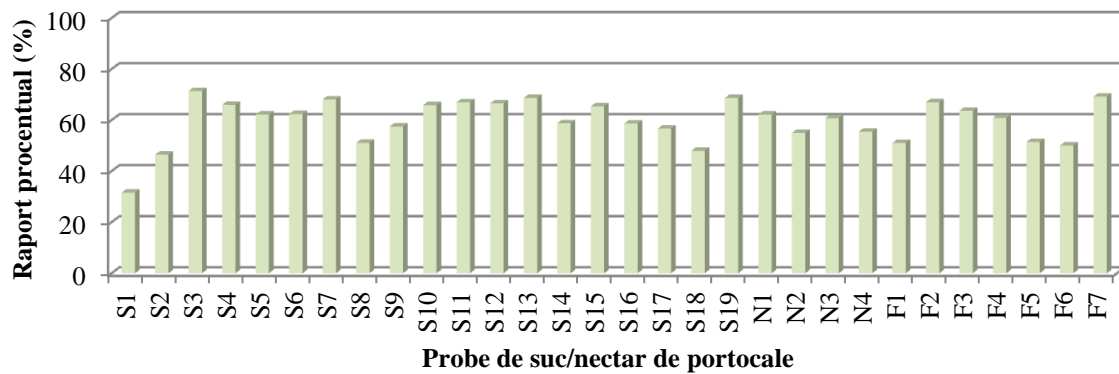
## Terpene

S-au determinat un număr de 93 de terpene din sucurile de portocale studiate, reprezentând clasa de compuși cea mai dominantă, nu numai din punct de vedere calitativ, dar și cantitativ. În cadrul terpenelor s-au deosebit două subclase: monoterpenele și sesquiterpenele.

### Monoterpene

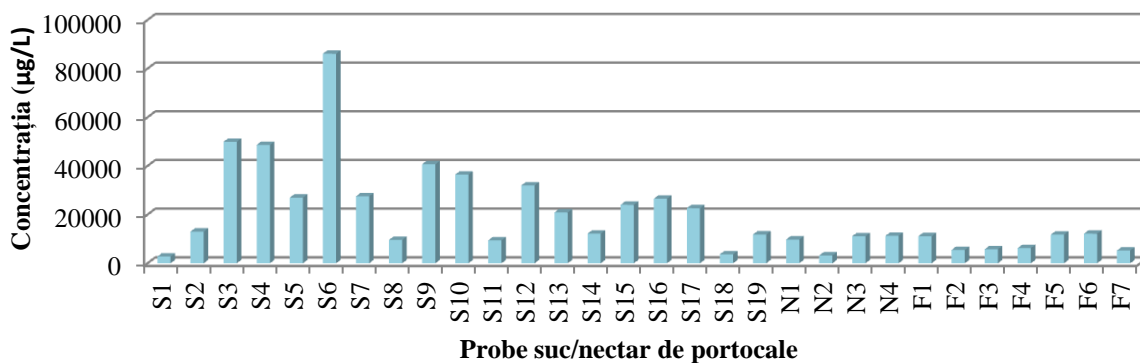
În sucurile de portocale analizate s-au identificat un număr de 41 de monoterpene, respectiv derivați de monoterpene. Dintre monoterpene limonenul este compusul volatil dominant cantitativ în toate sucurile de portocale analizate. Cantitatea procentuală, raportată la totalul de 113 compuși identificați variază în domeniul 50.0 – 71.4 pentru toate probele analizate (**Figura 8**). Considerând acest raport procentual limonen/compuși volatili totali nu este posibilă diferențierea tipului sucurilor de portocale sau a calității acestora.





**Figura 8:** Raport procentual limonen din totalul de compuși organici identificați în sucurile și nectarele de portocale analizate

Cantitatea de monoterpene totale determinate pentru sucurile de portocale analizate este reprezentată în **Figura 9**. Cantitatea de monoterpene totale variază în limite foarte largi în *sucurile de portocale comerciale*. Cantitatea de monoterpene totale este relativ mică pentru *nectarele de portocale* și pentru *sucurile de portocale proaspăt*

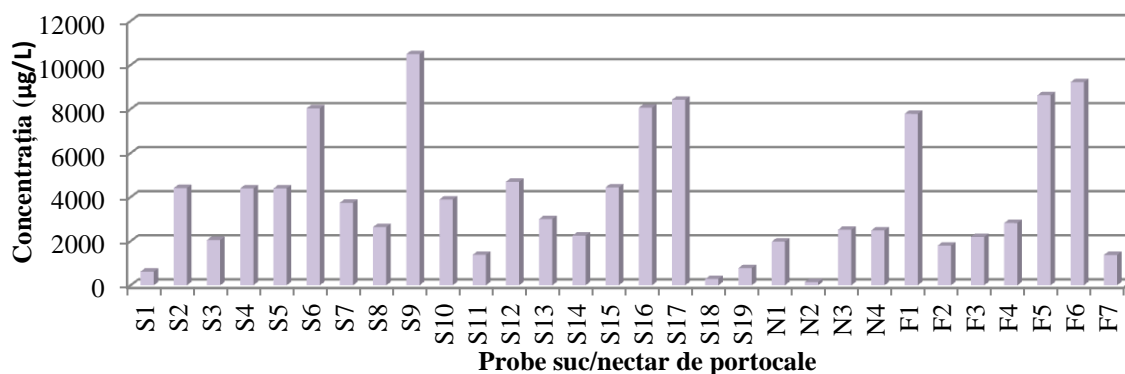


**Figura 9:** Concentrația de monoterpene totale în sucurile și nectarele de portocale *stoarse*.

### Sesquiterpene

În sucurile de portocale analizate s-au determinat un număr de 52 de sesquiterpene, însă numai 20 dintre acestea s-au identificat, datorită gradului mare de similitudine a spectrelor de masă. Pe de altă parte identificarea precisă a compușilor volatili individuali nu este scopul principal al acestui studiu.

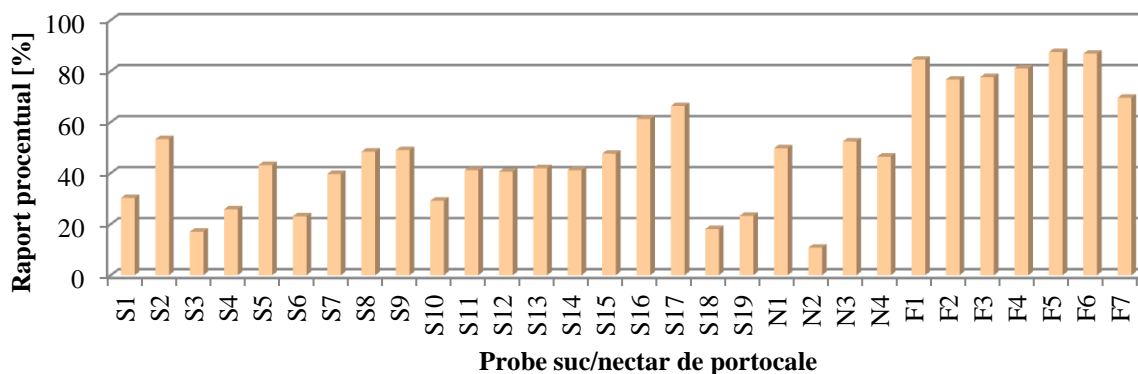
În **Figura 10** este reprezentat conținutul de sesquiterpene totale determinate pentru diferite sucuri analizate în cadrul acestui studiu. Se poate observa faptul că domeniul concentrației de sesquiterpene totale determinate în sucurile analizate nu prezintă un comportament specific, pe baza căruia s-ar putea face o diferențiere sau evaluare calitativă.



**Figura 10:** Concentrația de sesquiterpene totale în sucurile și nectarele de portocale

În scopul evaluării calitative a diferitelor tipuri de sucuri de portocale este necesară introducerea unui indice pentru evaluarea calității. Se consideră cantitatea de terpeni totale fără constituentul major de compus volatil, limonen și pe baza indicelui de calitate raportul procentual de sesquiterpene/terpeni stabilit pentru sucurile de mere, se introduce indicele de calitate pentru sucurile de portocale. Acest indice de calitate pentru sucurile de portocale se definește ca raport procentual de sesquiterpene totale/(terpeni totale fără limonen).

Se pot observa în **Figura 11** valori foarte mari a indicelui de calitate raport procentual de sesquiterpene/(terpeni fără limonen) obținute pentru *sucurile de portocale proaspăt stoarse*. Pe baza rezultatelor obținute se stabilește ca valoare de prag pentru sucurile procesate reconstituite din concentrat un indice de calitate de minim 40.0%. Peste această valoare a indicelui de calitate sucurile de portocale reconstituite din concentrat sunt încadrate în categoria de sucuri din concentrat de calitate superioară, iar sub valoarea de 40.0% a raportului procentual de sesquiterpene/(terpeni fără limonen) sucurile sunt de calitate inferioară.



**Figura 11:** Raportul procentual total sesquiterpene/(total terpeni fără limonen) pentru sucurile și nectarele de portocale

## Concluzii

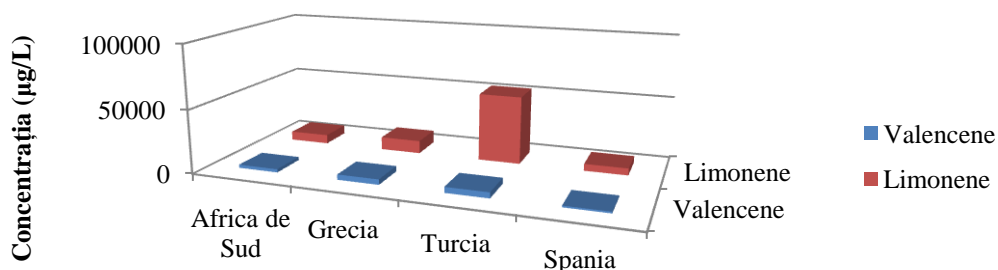
Analiza headspace SPME-GC/MS a făcut posibilă identificarea unui număr de 113 compuși organici volatili din sucurile de portocale analizate. Principalii compuși volatili identificați aparțin clasei monoterpenelor. Conținutul de limonen pentru toate probele analizate a fost mai mare de 46.5%, din totalul compușilor volatili identificați, limonenul fiind astfel constituentul major al sucurilor de portocale.

Evaluarea calitativă a sucurilor și nectarelor de portocale reconstituite din concentrat se poate realiza considerând valoarea de prag pentru concentrația de alcooli totali (<1000  $\mu\text{g/L}$ ) și cetone totale (<200  $\mu\text{g/L}$ ), respectiv valoarea de prag a raportului procentual de sesquiterpene / (terpene fără limonen) de minim 40.0%.

### 4.6. Diferențierea sucurilor proaspăt stoarse în funcție de proveniența portocalelor

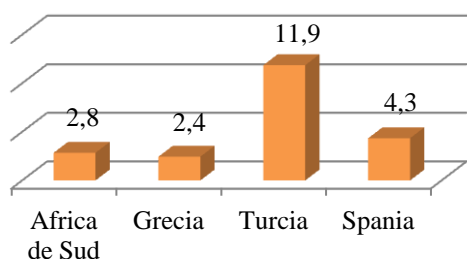
În scopul diferențierii portocalelor în funcție de țara de proveniență măsurătorile s-au realizat pe 8 probe din țările: Africa de Sud, Grecia, Turcia, Spania. Având în vedere numărul mare de compuși volatili responsabili pentru aromă prezenți în portocale a fost nevoie de o selecție a compușilor caracteristici pentru specia de suc, care pot reflecta proprietățile specifice ale probei, astfel s-au luat în considerare: limonen,  $\alpha$ -terpineol, valencen, terpinolen și  $\alpha$ -cubeben.

Limonenul este constituentul majoritar dintre compușii volatili responsabili pentru aromă. Valencen este o sesquiterpenă caracteristică sucurilor de portocale, fiind al doilea constituent major dintre compușii volatili ai portocalei (**Figura 12**).



**Figura 12:** Concentrațiile compușilor de aromă volatili limonen și valencen în funcție de țara de proveniență

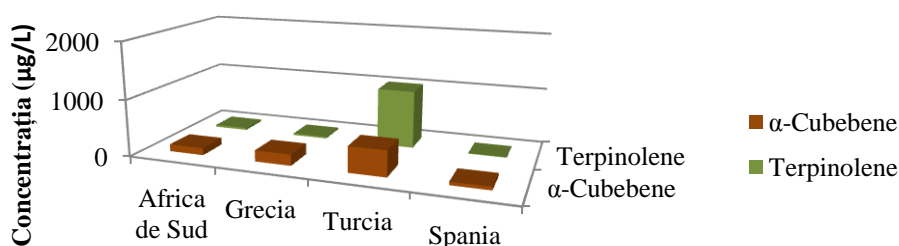
În scopul diferențierii portocalelor în funcție de țara de origine, s-a calculat raportul concentrațiilor de limonen și valencen. Rezultatele obținute pentru raportul terpenelor sugerează un comportament foarte specific în funcție de proveniența fructelor studiate (**Figura 13**). Se pot observa valori apropiate ale acestor rapoarte pentru Africa de



**Figura 13:** Reprezentarea rapoartelor concentrațiilor limonen și valencen în funcție de țara de origine a portocalelor

Sud și Grecia, totuși suficient de diferite pentru diferențierea portocalelor în funcție de origine. Portocalele provenite din Turcia prezintă un raport foarte mare, iar pentru cele din Spania s-a obținut o valoare specifică, care se poate utiliza pentru clasificarea fructelor.

Concentrațiile de  $\alpha$ -terpineol determinate din portocale sunt de 1.4  $\mu\text{g/L}$  pentru Africa de Sud, 2.9  $\mu\text{g/L}$  pentru Grecia, 3.3  $\mu\text{g/L}$  pentru Spania, respectiv o cantitate foarte mare s-a detectat pentru Turcia, de 48.8  $\mu\text{g/L}$ . Terpinolenul s-a determinat în diferite concentrații: 11.2  $\mu\text{g/L}$  pentru Spania, 29.2  $\mu\text{g/L}$  pentru Grecia, 36.5  $\mu\text{g/L}$  pentru Africa de Sud, însă portocalele de origine Turcia conțin o cantitate mult peste aceste valori, de 1025.5  $\mu\text{g/L}$ . Concentrațiile de  $\alpha$ -cubeben detectate pentru portocale sunt de 59.2  $\mu\text{g/L}$  pentru Spania, 124.7  $\mu\text{g/L}$  pentru Africa de Sud, 195.4  $\mu\text{g/L}$  pentru Grecia, respectiv 454.9  $\mu\text{g/L}$  pentru fructe provenite din Turcia (**Figura 14**).



**Figura 14:** Concentrațiile compușilor de aromă volatili terpinolen și  $\alpha$ -cubeben în funcție de țara de proveniență

Considerând cantitățile compușilor de aromă volatili caracteristici (*markeri*) ai sucului de portocale: limonen, valencen,  $\alpha$ -terpineol, terpinolen și  $\alpha$ -cubeben, respectiv raportul concentrațiilor limonen/valencen, se pot diferenția fructele de portocale în funcție de țara de origine pe baza valorilor specifice obținute pentru fiecare probă analizată, utilizând metoda HS-SPME și GC/MS.

---

## Concluzii

---

Una dintre cele mai importante caracteristici asociate calității fructelor și, de asemenea, parametrul de calitate cel mai semnificativ al alimentelor naturale și al produselor prelucrate este aroma. Determinarea calitativă și cantitativă a compușilor responsabili pentru aroma din sucurile/nectarele de mere și de portocale s-a realizat prin aplicarea metodei analitice headspace SPME-GC/MS.

În *sucurile comerciale de mere*, respectiv în sucurile *proaspăt stoarse* obținute din diverse soiuri de mere s-au determinat 90 de compuși organici volatili. Diferențe semnificative se pot observa între varietatea și cantitatea de compuși organici cu posibile efecte de aromă, detectate în cele două tipuri de sucuri: comerciale, respectiv proaspăt stoarse. Însă criteriul de diferențiere, respectiv evaluarea calitativă pe baza varietății și cantității de compuși organici volatili individuali este de lungă durată și s-a dovedit a nu fi suficient de utilă pentru stabilirea unui indice de calitate. Caracteristicile pentru diferențierea diferitelor tipuri de sucuri de mere propuse se bazează pe diferențele majore de concentrații relative a claselor de compuși: esteri, alcooli, cetone, terpeni, respectiv sesquiterpeni totale. Totodată s-a definit indicele pentru evaluarea calitativă a sucurilor de mere ca fiind *raportul procentual de sesquiterpeni totale/terpeni totale*. Utilizând criteriile de diferențiere propuse, evaluarea calității sucurilor de mere se poate realiza într-o manieră relativ simplă.

Caracteristicile distinctive ale *sucurilor comerciale de mere* sunt: concentrație mare de esteri, cetone și alcooli totali; concentrație mică de terpeni totale; raportul procentual de sesquiterpeni/terpeni sub 50%.

Caracteristicile distinctive ale *sucurilor proaspăt stoarse de mere*: concentrație mică de esteri, cetone și alcooli totali; concentrație mare de terpeni totale; raportul procentual de sesquiterpeni/terpeni peste 75%.

Aroma *sucurilor de portocale* este rezultatul combinației compușilor volatili organici din clasa esterilor, alcoolilor, cetonelor, terpenelor și altele. Analiza headspace SPME-GC/MS a făcut posibilă identificarea unui număr de 113 compuși organici volatili din sucurile de portocale analizate. Principalii compuși volatili identificați au fost din clasa monoterpene, iar limonen s-a detectat ca fiind constituentul major al sucurilor de portocale.

Rezultatele obținute evidențiază faptul că valoarea cantității de esteri totali nu se poate folosi pentru evaluarea calitativă a sucurilor de portocale, la fel cum nici în cazul sucurilor de mere aceasta nu oferă informații concrete asupra calității sucului. Considerând cantitatea de alcooli totali și cetone totale se poate realiza diferențierea diferitelor tipuri de sucuri de portocale, sucurile de portocale de calitate superioară fiind caracterizate de concentrații relativ mici de alcooli totali (<1000  $\mu\text{g/L}$ ) și cetone totale (<200  $\mu\text{g/L}$ ).

Cantitatea de monoterpene și sesquiterpene totale nu oferă informații concludente, care s-ar putea aplica pentru evaluarea calitativă a sucurilor de portocale. Pe baza rezultatelor obținute se impune introducerea unui indice de calitate pentru evaluarea calitativă a sucurilor de portocale definit ca *raport procentual de sesquiterpene totale/(terpene totale fără limonen)*. Se stabilește o valoare de prag al acestui raport pentru sucurile de calitate superioară procesate, reconstituite din concentrat, de minim 40.0%.

Evaluarea calitativă a sucurilor și nectarelor de portocale reconstituite din concentrat se poate realiza considerând valoarea concentrației de alcooli totali (<1000  $\mu\text{g/L}$ ) și cetone totale (<200  $\mu\text{g/L}$ ), respectiv valoarea de prag a raportului procentual de sesquiterpene/(terpene fără limonen) de 40.0%.

Pe baza concentrațiilor compușilor de aromă volatili caracteristici (*markeri*) ai sucului de portocale proaspăt stors este posibilă *diferențierea fructelor de portocale în funcție de țara de origine*. Diferențierea fructelor de portocale în funcție de țara de origine s-a realizat pe baza markerilor: limonen, valencen,  $\alpha$ -terpineol, terpinolen și  $\alpha$ -cubeben, respectiv raportul concentrațiilor limonen/valencen, considerând valorile specifice obținute pentru fiecare probă analizată prin metoda headspace SPME-GC/MS.

---

**Anexe**

---

**Anexa 1: Lucrări științifice publicate în reviste de specialitate**

1. **Gabriella R. Schmutzer**, Alina D. Magdas, Leontin I. David, Zaharie Moldovan, “Determination of the Volatile Components of Apple Juice using Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography – Mass Spectrometry”, accepted for publication in *Analytical Letters*; DOI:10.1080/00032719.2014.886694
2. **G. Schmutzer**, V. Avram, F. Covaciu, I. Feher, A. Magdas, L. David, Z. Moldovan, “Study of flavour compounds from orange juices by HS-SPME and GC-MS”, *AIP Conf. Proc.* 1565, 79, pp. 79-84 (2013); doi: 10.1063/1.4833701;
3. I. Feher, **G. Schmutzer**, C. Voica, Z. Moldovan, “Determination of formaldehyde in Romanian cosmetic products using coupled GC/MS system after SPME extraction”, *AIP Conf. Proc.* 1565, 294, pp. 294-297 (2013); doi: 10.1063/1.4833748;
4. **Gabriella Schmutzer**, Ioana Feher, Olivian Marincas, Veronica Avram, Melinda H. Kovacs, Leontin David, Virginia Danciu, Zaharie Moldovan, “Photodegradation study of some indoor air pollutants in the presence of UV-VIS irradiation and TiO<sub>2</sub> photocatalyst”, *STUDIA UBB, CHEMIA*, LVII, 3, pp. 15-21, (2012);
5. **G. Schmutzer**, V. Avram, V. Coman, L. David, Z. Moldovan, “Determination of phenolic compounds from wine samples by GC/MS system”, *Rev. Chim. (Bucharest)*, 63, 9, pp. 855- 858, (2012);
6. **G. Schmutzer**, V. Avram, I. Feher, L. David and Z. Moldovan, “Determination of some Volatile Compounds in Alcoholic Beverage by Headspace Solid-phase Microextraction Gas Chromatography – Mass Spectrometry”, *AIP Conf. Proc.* 1425, 43, pp. 43-46, (2012); doi: 10.1063/1.3681962;
7. F. D. Tusa, Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, D.A. Magdas, A. Dehelean, M. Vlassa, „Analysis Of Flavor Compounds By GC/MS After Liquid-Liquid Extraction From Fruit Juices”, *AIP Conf. Proc.* 1425, 53, pp. 53-57, (2012); doi: 10.1063/1.3681965;

8. **G. Schmutzer**, Z. Moldovan, A. Magdas, L. David, “Volatile aroma profile of apple juice determined by GC-MS”, *STUDIA UBB PHYSICA*, LVI, 2, pp.127-131, (2011);
9. Z. Moldovan, **Gabriella Schmutzer**, Florina Tusa, Roxana Calin and A. C. Alder, “Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Somes River Basin, Romania” *Geo-Eco-Marina 14*, pp. 49-57 (2008).
10. Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, F. Tusa, R. Calin, A.C. Alder, „An overview of pharmaceuticals and personal care products contamination along of the river Somes watershed, Romania”, *Journal of Environmental Monitoring*, 9, pp. 986-993, (2007);
11. D. Petrisor, G. Damian, **G. Schmutzer**, A. Hosu. V. Miclaus, S. Simon, “EPR investigation of antioxidant characteristics of some irradiated natural extracts”, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 9(3), pp. 656-659, (2007);
12. G. Damian, **G. Schmutzer**, D. Petrisor, „Investigation of light-induced free radicals in nifedipine”, *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 9(3), pp. 680-683, (2007);
13. Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, A. Alder, „Assurance of Quality Control in Analytical Procedures Using Mass Spectrometry“, *Proceedings of 2006 IEEE\_TTTC International Conference on Automation, Quality and Testing, Robotics*, pp. 205-207, (2006);
14. **Gabriella Schmutzer**, G. Damian, O. Cozar, V. Miclaus, Silvia Imre, Dina Petrisor, „EPR investigation of illuminated and UV irradiated nifedipine“, *Analele Universitatii de Vest Timisoara, Fizică*, 46/2005, pp 68-71; (2005);
15. V. Miclaus, G. Damian , **Gabriella Schmutzer**, Dina Petrisor, Claudia Cimpoi, “EPR Study of Antioxidant Characteristics of some Wines“, *Studia Universitatis Babes-Bolyai, Physica*, I, 4b, 2005, pp 595-598; (2005);
16. G. Damian, **Gabriella Schmutzer**, Dina Petrisor, V. Miclaus, S. Simon, “Electron Spin Resonance Studies of  $\gamma$ -Irradiated B<sub>3</sub> Vitamin”, *Romanian J. of Biophysics*, Vol. 15, Nos. 1-4, pp 23-28; (2005);



## Anexa 2: Participări la conferințe și congrese științifice

1. International Conference “Processes in Isotopes and Molecules” PIM2013, Cluj-Napoca, Romania, 25-27.09.2013., “Study of Flavour Compounds from Orange Juices by HS-SPME and GC/MS”, **G. Schmutzer**, I. Feher, O Marincas, V. Avram, M. H. Kovacs, A Magdas, F. Covaciu, L. David, Z. Moldovan;
2. International Conference “Processes in Isotopes and Molecules” PIM2013, Cluj-Napoca, Romania, 25-27.09.2013., “Determination of formaldehyde in Romanian cosmetic products using coupled GC/MS system after SPME extraction”, I. Feher, **G. Schmutzer**, C. Voica, Z. Moldovan
3. International Conference “Processes in Isotopes and Molecules” PIM2013, Cluj-Napoca, Romania, 25-27.09.2013., “Characterization of some Romanian white wines by volatile compounds composition”, V Avram, **G. Schmutzer**, O Marincas, A Hosu, C. Cimpoi, Z. Moldovan, C. Marutioiu
4. 9<sup>th</sup> GCxGC Symposium and 36<sup>th</sup> International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, Italy, 27.05-01.06.2012., „Analysis of aroma compounds from fruit juice by HS-SPME and GC-MS”, **G. Schmutzer**, A. Magdas, L. David, Z. Moldovan;
5. 9<sup>th</sup> GCxGC Symposium and 36<sup>th</sup> International Symposium on Capillary Chromatography, Riva del Garda, Italy, 27.05-01.06.2012., „Non-target pollutants detected in Prut river aqueous phase using GC/MS system”, , Z. Moldovan, C.V. Avram, O. Marincas, C. Voica, F. Tusa, IC. Feher, **G. Schmutzer**, M.H. Kovacs, A. Alder;
6. 17<sup>th</sup> International Symposium on Separation Sciences, Cluj-Napoca, Romania, 05-09.09.2011., “Characterization of fruit juice flavor compounds by SPME-GC/MS”, **G. Schmutzer**, A. Magdas, Z. Moldovan;
7. International Conference “Processes in Isotopes and Molecules” PIM2011, Cluj-Napoca, Romania, 29.09.-01.10.2011., “Determination of some Volatile Compounds in Alcoholic Beverage by Headspace Solid-phase Microextraction Gas Chromatography – Mass Spectrometry”, **G. Schmutzer**, V. Avram, I. Feher, L. David, Z. Moldovan;
8. International Conference “Processes in Isotopes and Molecules” PIM2011, Cluj-Napoca, Romania, 29.09.-01.10.2011., “Determination of anionic surfactants in water samples using GC/MS system”, Z. Moldovan, O. Marincas, V. Avram, **G. Schmutzer**
9. International Conference “Processes in Isotopes and Molecules” PIM2011, Cluj-Napoca, Romania, 29.09.-01.10.2011., “The use of Mass Spectrometry in the artwork studies”, Z. Moldovan, I. Bratu, V. Avram, **G. Schmutzer**, O. Marincas, I. Feher, C. Marutioiu
10. International Conference “Processes in Isotopes and Molecules” PIM2011, Cluj-Napoca, Romania, 29.09.-01.10.2011., “Analysis Of Flavor Compounds By GC/MS After Liquid-Liquid Extraction From Fruit Juices”, F. D. Tusa, Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, D.A. Magdas, A. Dehelean, M. Vlassa
11. International Conference “Processes in Isotopes and Molecules” PIM2011, Cluj-Napoca, Romania, 29.09.-01.10.2011., “Multi-element and stable isotope determinations in some Transylvanian fruit juices”, A. Dehelean, D.A. Magdas F. D. Tusa, **G. Schmutzer**
12. *4<sup>th</sup> International Workshop on Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for Screening and trace level Quantitation in Environmental and Food Samples, Barcelona, Spain, 7-8.02.2008.*, “The formation of the characteristic ions used for determination of the antibiotics in water samples by LC/MS methods”, Z. Moldovan and **Gabriella Schmutzer**

13. 4<sup>th</sup> NORMAN workshop: *Integrated chemical and bio-monitoring strategies for risk assessment of emerging substances*, Lyon, France, 17-18.03.2008., "Environmental Exposure of Pharmaceuticals in the Somes Valley Watershed in Romania", Z. Moldovan, **Gabriella Schmutzer**, A. C. Alder and R. Chira
14. 5<sup>th</sup> Conference on Isotopic and Molecular Processes, PIM - 2007, Cluj-Napoca, Romania, 20-22.09.2007., "Photodegradation of organic pollutants under UV irradiation in the presence of TiO<sub>2</sub>", **G. Schmutzer**, Z. Moldovan, V. Danciu, F. Vasiliu;
15. 5<sup>th</sup> Conference on Isotopic and Molecular Processes, PIM - 2007, Cluj-Napoca, Romania, 20-22.09.2007., "Determination of removal rate of the pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the wastewater treatment plant from Cluj-Napoca, by GC/MS after SPE enrichment" Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, R. Chira, A. Alder
16. 11<sup>th</sup> International Conference on Chemistry and the Environment, Torun, Poland, 09-12.09.2007., "Experimental Method for Determination of Some Antioxidants From Wines", **G. Schmutzer**, Z. Moldovan, N. Palibroda, V. Coman;
17. 25<sup>th</sup> Informal Meeting on Mass Spectrometry, Nyiregyhaza-Sosto, Hungary, 06-10.05.2007., "The Study of the Thermal Decomposition of Some Compounds by Mass Spectrometry ", Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, A. Bende, L. David;
18. *Water Status Monitoring under the WFD Conference*, Lille, France, 12-14.03.2007., "Study of occurrence and distribution of pharmaceutical and personal care products as micropollutants in surface water from Romania", Z. Moldovan, **Gabriella Schmutzer**, Florina Tusa, Roxana Calin and Alfredo C. Alder
19. Al XIII-lea Congres National de Farmacie, Cluj-Napoca, Romania, 28-30.09.2006., „Detection Of Traces Of Pharmaceuticals Products In Romanian Surface Waters By Gc/Ms System”, Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, N. Palibroda, A. Alder, R. Calin;
20. 2<sup>nd</sup> Advanced Spectroscopies on Biomedical and Nanostructured Systems, Cluj-Napoca, Romania, 03-06.09.2006, "Mass spectrometric study of Pharmaceuticals thermal decomposition", Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, A. Alder;
21. 1<sup>st</sup> European Chemistry Congress, Budapest, Hungary, 27-31.08.2006., "Characterization of Pharmaceutical and Personal Care Products as Micropollutants in Wasterwater Treatment Plant", Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, F. Tusa, N. Palibroda, A. Alder, L. Mic, R. Chira;
22. 17<sup>th</sup> International Conference on Mass Spectrometry, Praga, Czech Republic, 27.08-01.09.2006., "Determination of Pharmaceutical Compounds in Aquatic Environment by GC/ITMS", Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, A. Alder;
23. International Conference on Automation, Quality and Testing, Robotics, Cluj-Napoca, Romania, 25-28.05.2006., „Assurance of Quality Control in Analytical Procedures Using Mass Spectrometry”, Z. Moldovan, **G. Schmutzer**, A. Alder;
24. Conferința Științifică din Transilvania, Ediția a VIII-a, Cluj-Napoca, Romania, 10-11.12.2005., "Studiul ESR a radicalilor liberi prezenti in nifedipin", **G. Schmutzer**;
25. „Physics Conference TIM-05”, Timisoara, Romania, 25-27.11.2005., "EPR investigation of illuminated and UV irradiated nifedipine", **G. Schmutzer**, G. Damian, O. Cozar, V. Miclaus, S. Imre, D. Petrisor;
26. 4<sup>th</sup> Conference "Isotopic and Molecular Processes", Cluj-Napoca, Romania, 22-24.09.2005., "EPR study of antioxidant characteristics of some wines", V. Miclaus, G. Damian, D. Petrisor, **G. Schmutzer**, C. Cimpoi;
27. „8th Romanian Biophysics Conference”, Iași, Romania, 26-28.05.2005., "Electron Spin Resonance Studies of  $\gamma$ -Irradiated B<sub>3</sub> Vitamin", G. Damian, **G. Schmutzer**, D. Petrisor, V. Miclaus, S. Simon;
28. Conferința Științifică din Transilvania, Ediția a VII-a, Cluj-Napoca, Romania, 04-05.12.2004., „Utilizarea ultrasunetelor și a ecografului în diagnosticarea medicală”, **G. Schmutzer**;

---

**Bibliografie**

---

- [1] L. David, O. Cozar, C. Cristea and L. Găină, "Spectrometrie de masă," in *Identificarea structurii moleculare prin metode spectroscopice*, Cluj-Napoca, Presa Universitară Clujeană, 2004, pp. 121-201.
- [2] Z. Moldovan, G. Schmutzer, F. Tusa, R. Calin and A. Alder, "An overview of pharmaceuticals and personal care products contamination along the river Somes watershed, Romania," *Journal of Environmental Monitoring*, vol. 9, no. 9, pp. 986-993, 2007.
- [3] G. Schmutzer, V. Avram, V. Coman, L. David and Z. Moldovan, "Determination of phenolic compounds from wine samples by GC/MS system," *Rev. Chim (Bucharest)*, vol. 63, no. 9, pp. 855-858, 2012.
- [4] Z. Moldovan, G. Schmutzer and A. Alder, "Assurance of Quality Control in Analytical Procedures Using Mass Spectrometry," *Proceedings of 2006 IEEE-TTTC International Conference AQTR*, pp. 205-207, 2006.
- [5] G. Schmutzer, I. Feher, O. Marincas, V. Avram, M. Kovacs, L. David, V. Danciu and Z. Moldovan, "Photodegradation study of some indoor air pollutants in the presence of UV-VIS irradiation and TiO<sub>2</sub> photocatalyst," *Studia UBB, Chemia*, vol. LVII, no. 3, pp. 15-21, 2012.
- [6] G. Damian, G. Schmutzer and D. Petrișor, "Investigation of light-induced free radicals in nifedipine," *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, vol. 9, no. 3, pp. 680-683, 2007.
- [7] D. Petrișor, G. Damian, G. Schmutzer, A. Hosu, V. Miclăuș and S. Simon, "EPR investigation of antioxidant characteristics of some irradiated natural extracts," *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, vol. 9, no. 3, pp. 656-659, 2007.
- [8] V. Miclăuș, G. Damian, G. Schmutzer, D. Petrișor and C. Cimpoiu, "EPR study of antioxidant characteristics of some wines," *Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Physica*, vol. I, no. 4b, pp. 595-598, 2005.
- [9] G. Damian, G. Schmutzer, D. Petrișor, V. Miclăuș and S. Simon, "Electron Spin Resonance Studies of gamma-Irradiated B3 Vitamin," *Romanian Journal of Biophysics*, vol. 15, no. 1-4, pp. 23-28, 2005.
- [10] G. Schmutzer, G. Damian, O. Cozar, V. Miclăuș, S. Imra and D. Petrișor, "EPR investigation of illuminated and UV irradiated nifedipine," *Analele Universității de Vest Timișoara, Fizică*, vol. 46, pp. 68-71, 2005.
- [11] E. Grushka and N. Grinberg, *Advances in Chromatography*, Boca Raton: CRC Press, 2009.
- [12] I. Feher, G. Schmutzer, C. Voica and Z. Moldovan, "Determination of formaldehyde in Romanian cosmetic products using coupled GC/MS system after SPME extraction," *AIP Conf. Proc.*, vol. 1565, pp. 294-297, 2013.
- [13] R. Clement and V. Taguchi, "Techniques for the Gas Chromatography - Mass Spectrometry Identification of Organic Compounds in Effluents," Queen's Printer for Ontario, Ontario, 1989.
- [14] Z. Moldovan, G. Schmutzer, F. Tusa, R. Calin and A. Alder, "Pharmaceuticals and personal care products in the Somes river basin, Romania," *Geo-Eco-Marina*, vol. 14, pp. 49-57, 2008.

- [15] R. Davarnejad and M. Jafarkhani, *Applications of Gas Chromatography*, Rijeka: InTech, 2012.
- [16] M. McLellan and O. Padilla-Zakour, "Juice Processing," in *Processing Fruits: Science and Technology*, Boca Raton, CRC Press, 2005, pp. 73-96.
- [17] C. Jiang, S. Wei, X. Li, Y. Zhao, M. Shao, H. Zhang and A. Yu, "Ultrasonic nebulization headspace ionic liquid-based single drop microextraction of flavour compounds in fruit juices," *Talanta*, vol. 106, pp. 237-242, 2013.
- [18] S. Selli, T. Cabaroğlu and A. Canbas, "Volatile flavour components of orange juice obtained from the cv. Kozan of Turkey," *Journal of Food Composition and Analysis*, no. 17, pp. 789-796, 2004.
- [19] M. Culea, *Spectrometrie de masă - principii și aplicații*, Cluj-Napoca: Risoprint, 2008.
- [20] T. Eisele and S. Drake, "The partial compositional characteristics of apple juice from 175 apple varieties," *Journal of Food Composition and Analysis*, no. 18, pp. 213-221, 2005.
- [21] P. Abrodo, D. Llorente, S. Corujedo, E. de la Fuente, M. Álvarez and D. Gomis, "Characterisation of Asturian cider apples on the basis of their aromatic profile by high-speed gas chromatography and solid-phase microextraction," *Food Chemistry*, no. 121, pp. 1312-1318, 2010.
- [22] V. Eliu-Ceașescu, G. Rădoiaș and T. Cădariu, *Odorante și aromatizante - chimie, tehnologie, aplicații*, București: Editura Tehnică, 1988.
- [23] S. Elss, C. Preston, M. Appel, F. Heckel and P. Schreier, "Influence of technological processing on apple aroma analysed by high resolution gas-chromatography - mass spectrometry and on-line gas-chromatography - combustion/pyrolysis-isotope ratio mass spectrometry," *Food Chemistry*, no. 98, pp. 269-276, 2006.
- [24] A. Carelli, G. Crapiste and J. Lozano, "Activity coefficients of aroma compounds in model solutions simulating apple juice," *J. Agric. Food Chem.*, no. 39, pp. 1636-1640, 1991.
- [25] Y. Ban, N. Oyama-Okubo, C. Honda, M. Nakayama and T. Moriguchi, "Emitted and endogenous volatiles in 'Tsugaru' apple: The mechanism of ester and (E,E)-alpha-farnesene accumulation," *Food Chemistry*, no. 118, pp. 272-277, 2010.
- [26] D. Jaros, I. Thamke, H. Raddatz and H. Rohm, "Single-cultivar cloudy juice made from table apples: an attempt to identify the driving force for sensory preference," *Eur Food Res Technol*, no. 229, pp. 51-61, 2009.
- [27] G. Schmutzer, Z. Moldovan, A. Magdas and L. David, "Volatile aroma profile of apple juice determined by GC-MS," *Studia UBB Physica*, vol. 56, no. 2, pp. 127-131, 2011.
- [28] E. Sánchez-Palomo, M. Alanón, M. Díaz-Maroto, M. González-Vinas and M. Pérez-Coello, "Comparison of extraction methods for volatile compounds of Muscat grape juice," *Talanta*, vol. 79, pp. 871-876, 2009.
- [29] F. Tușa, Z. Moldovan, G. Schmutzer, D. Magdaș, A. Dehelean and M. Vlăsa, "Analysis of flavor compounds by GC/MS after liquid-liquid extraction from fruit juices," *AIP Conf. Proc.*, no. 1425, pp. 53-57, 2012.
- [30] G. Fan, X. Xu, Y. Qiao, Y. Xu, Y. Zhang, L. Li and S. Pan, "Volatiles of orange juice and orange wines using spontaneous and inoculated fermentation," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 228, pp. 849-856, 2009.
- [31] B. Zierler, B. Siegmund and W. Pfannhauser, "Determination of off-flavour compounds in apple juice caused by microorganisms using headspace solid phase microextraction - gas chromatography - mass spectrometry," *Analytica Chimica Acta*, no. 520, pp. 3-11, 2004.
- [32] G. Schmutzer, V. Avram, I. Feher, L. David and Z. Moldovan, "Determination of some volatile compounds in alcoholic beverage by headspace solid-phase microextraction gas chromatography - mass spectrometry," *AIP Conf. Proc.*, no. 1425, pp. 43-46, 2012.
- [33] M. Heil and V. Ara, "Fruchtsaftaromen II: Über die Zusammensetzung und Bewertung von Apfelsaftaroma," *Flüssiges Obst*, no. 09, pp. 444-452, 2007.

- [34] G. Schmutzer, D. Magdas, L. David and Z. Moldovan, "Determination of the volatile components of apple juice using solid phase microextraction and gas chromatography – mass spectrometry," *Accepted for publication in Analytical Letters*, 2014.
- [35] D. Roberts and T. Acree, "Developments in the isolation and characterization of beta-damascenone precursors from apples," in *Fruit-Flavors: Biogenesis, Characterization and Authentication*, Washington D.C., American Chemical Society, 1995, pp. 190-199.
- [36] "Wikipedia," 08 09 2013. [Online]. Available: <http://en.wikipedia.org/wiki/Terpene>. [Accessed 15 11 2013].
- [37] C. Wolter, A. Gessler and P. Winterhalter, "Aspects when evaluating apple-juice aroma," *Fruit Processing*, no. 2, pp. 64-80, 2008.
- [38] Anon, "US. Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service," 2013. [Online]. Available: <http://www.fas.usda.gov/>. [Accessed 11 09 2013].
- [39] P. Pérez-Cacho and R. Rouseff, "Processing and Storage Effects on Orange Juice Aroma: A Review," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 56, no. 21, pp. 9785-9796, 2008.
- [40] K. Mahattanatawee, K. Goodner and R. Rouseff, "Quantification of beta-damascenone in orange juice using headspace standard addition SPME with selected ion GC-MS," *Analytical Methods*, vol. 5, pp. 2630-2633, 2013.
- [41] M. Gonzáles-Mas, J. Rambla, M. Alamar, A. Gutiérrez and A. Granell, "Comparative Analysis of the Volatile Fraction of Fruit Juice from Different Citrus Species," *Plos One*, vol. 6, no. 7, pp. 1-11, 2011.
- [42] G. Schmutzer, V. Avram, F. Covaciu, I. Feher, A. Magdas, L. David and Z. Moldovan, "Study of flavour compounds from orange juices by HS-SPME and GC-MS," *AIP Conference Proceedings*, no. 1565, pp. 79-84, 2013.
- [43] A. Pena-Alvarez, S. Capella, R. Juárez and C. Labastida, "Determination of terpenes in tequila by solid phase microextraction - gas chromatography - mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, no. 1134, pp. 291-297, 2006.
- [44] B. Vallejo-Córdoba, A. González-Córdoba and M. Estrada-Montoya, "Tequila volatile characterization and ethyl ester determination by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry analysis," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, pp. 5567-5571, 2004.
- [45] M. Aeverbeck and P. Schieberle, "Characterization of the key aroma compounds in a freshly reconstituted orange juice from concentrate," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 229, pp. 611-622, 2009.

## *Mulțumiri*

Doresc să mulțumesc tuturor persoanelor care m-au sprijinit și susținut pe parcursul stagiului de doctorat.

În primul rând aduc sincere mulțumiri conducătorului științific, domnului Profesor Universitar Dr. Leontin Ioan David, pentru sprijinul și îndrumarea acordate, precum și pentru răbdarea și înțelegerea de care am beneficiat în această perioadă de timp din partea dumnealui.

Mulțumiri speciale adresez domnului Dr. Zaharie Moldovan pentru coordonarea și îndrumarea activității de cercetare în Institutul Național de Cercetare - Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare, Cluj-Napoca. Adresez, în egală măsură, mulțumiri doamnei Dr. Dana Alina Măgdaș pentru sprijinul acordat și, de asemenea, pentru oportunitatea dezvoltării cercetărilor mele din cadrul tematicii doctorale prin proiectul ”Autentificarea și trasabilitatea sucurilor de fructe cu ajutorul metodelor izotopice” (PN II RU TE, nr. 120/2010), precum și pentru încredere și răbdare.

Mulțumiri speciale adresez domnului Dr. Nicolae Palibroda pentru contribuția adusă la formarea mea profesională, răbdarea și generozitatea arătate, respectiv pentru sugestiile valoroase care au contribuit la conturarea tezei în forma sa actuală.

Multă recunoștință aduc colegilor din Departamentului de Spectrometrie de Masă, Cromatografie și Fizică Aplicată, care atât din punct de vedere profesional, cât și amical, m-au ajutat la realizarea acestei lucrări.

Mulțumesc doamnelor și domnilor Profesori referenți pentru răbdarea cu care au analizat lucrarea de față, precum și pentru sugestiile oferite.

Nu în ultimul rând mulțumesc fiicei mele Noémi, soțului meu István pentru răbdarea și înțelegerea dovedită în perioadele de izolare pe care le-am petrecut la finalizarea acestei teze de doctorat și mai ales pentru dragostea și încurajarea constantă. Mulțumesc, de asemenea părinților și întregii familii pentru suportul și ajutorul acordat pe parcursul stagiului de doctorat în care au fost alături de mine.