

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



Πτυχιακή εργασία

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ
ΣΕ ΧΑΡΟΥΠΟΜΕΛΟ ΜΕ ΤΗΝ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ
ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ ΥΓΡΟΥ-
ΥΓΡΟΥ ΚΑΙ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Χαρίκλεια Καλογήρου

Λεμεσός 2016

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή εργασία

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ
ΣΕ ΧΑΡΟΥΠΟΜΕΛΟ ΜΕ ΤΗΝ ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ
ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ ΥΓΡΟΥ-
ΥΓΡΟΥ ΚΑΙ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Χαρίκλεια Καλογήρου

Σύμβουλος καθηγητής
Δρ. κος Βλάσης Γούλας

Λεμεσός 2016

Με το πέρας αυτής της Διπλωματικής Εργασίας, θα ήθελα πρώτα απ' όλους να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου Δρ. Βλάση Γούλα για την ανάθεση του θέματος, την επιστημονική του καθοδήγηση κατά τη διεκπεραίωση της διπλωματικής εργασίας, για τις πολύτιμες συμβουλές του σε κάθε στάδιο της, καθώς και για το αμείωτο ενδιαφέρον του. Τέλος, δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω το κοντινό μου περιβάλλον και ιδιαίτερα τους γονείς μου, Ηλία και Παναγιώτα, για την ανυπολόγιστη στήριξη τους καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα χαρούπια είναι ο καρπός του δένδρου *Ceratonia siliqua* και χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη για την παραγωγή πλήθους τροφίμων, εκ των οποίων πιο διαδεδομένο είναι το χαρουπόμελο. Το χαρουπόμελο σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες παρουσιάζει πλήθος ευεργετικών ιδιοτήτων, που συσχετίζονται με τα φαινολικά συστατικά του. Για την μελέτη των φαινολικών συστατικών στα σιρόπια όπως αυτό του χαρουπόμελου απαιτείται η απομάκρυνση των σακχάρων, που είναι το βασικό τους συστατικό και η αύξηση της προσυγκέντρωσης των προσδιοριζόμενων συστατικών. Για την εκχύλιση των συστατικών αυτών συνήθως επιλέγεται η εκχύλιση υγρού-υγρού ή εκχύλιση στερεής φάσης (SPE), που είναι ιδιαίτερα χρονοβόρες και με υψηλό κόστος ανάλυσης. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η ανάπτυξη μιας γρήγορης και χαμηλού κόστους εκχύλισης τύπου μικροεκχύλισης διασποράς υγρού-υγρού (DLLME) για τον προσδιορισμό των φαινολικών συστατικών στο χαρουπόμελο.

Για την ανάπτυξη της μεθοδολογίας DLLME χρησιμοποιήθηκε τεχνητό σιρόπι, που προσομοιάζει την σύσταση του χαρουπόμελου εμπλουτισμένο με τέσσερα φαινολικά οξέα και τρία φλαβονοειδή. Για την ανάπτυξη της μεθοδολογίας αξιολογήθηκαν το χλωροφόρμιο, το διχλωρομεθάνιο και το βρωμοβενζόλιο ως διαλύτες εκχύλισης καθώς επίσης και η μεθανόλη, η ακετόνη και το ακετονιτρίλιο ως διαλύτες διασποράς. Εν συνεχεία, διερευνήθηκαν και οι βέλτιστοι όγκοι τους για την επίτευξη της μέγιστης ανάκτησης των προσδιοριζόμενων συστατικών.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η βέλτιστη ανάκτηση των φαινολικών συστατικών επιτεύχθηκε με την χρήση 450 μL χλωροφορμίου ως διαλύτη εκχύλισης και 800 μL μεθανόλης ως διαλύτη διασποράς. Τέλος, η βελτιστοποιημένη μεθοδολογία χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη της φαινολικής σύστασης Κυπριακών χαρουπόμελων. Η ανάλυση τους έδειξε ότι τα Κυπριακά χαρουπόμελα είναι πλούσια πηγή γαλλικού οξέος (237-285 mg/100 g), ενώ περιέχουν σημαντικές ποσότητες κατεχίνης, επιγαλλοκατεχίνης, γαλλικού εστέρα της επιγαλλοκατεχίνης, συριγκικού και καφεϊκού οξέος. Συμπερασματικά, η παρούσα μεθοδολογία DLLME σε συνδυασμό με την υγρή χρωματογραφία υψηλής αποδόσεως (HPLC) αποτελούν ένα χρήσιμο εργαλείο για την ποσοτικοποίηση των πολυφαινολών στο χαρουπόμελο.

Λέξεις κλειδιά: χαρουπόμελο, πολυφαινόλες, φαινολικά οξέα, флаβονοειδή, Μικροεκχύλιση Διασποράς Υγρού Υγρού, Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Αποδόσεως

ABSTRACT

The carob tree, *Ceratonia siliqua*, is considered an important component of the vegetation in Mediterranean basin for economic and environmental reasons. Carob pods are used to product many snacks and desserts of which the most widespread is the carob syrup. Many studies demonstrated the health-promoting properties of carob syrup and they are correlated with its phenolic composition. Generally, the analysis of phenolic compounds in syrups involves the elimination of matrix components, mainly sugars, and the preconcentration of analytes before the determination, which is carried out most often by HPLC. Liquid–liquid extraction with organic solvents and solid phase extraction (SPE) are frequently used to extract and concentrate the phenolic com-pounds from syrups, but these methods are time-consuming and expensive. The aim of this study was to develop a fast and inexpensive DLLME method suitable to the determination of phenolic com-pounds in carob syrup.

An artificial syrup reflecting the main components of carob syrup, was prepared in order to develop DLLME method. This solution was spiked with four phenolic acids and three flavonoids at 1 $\mu\text{g g}^{-1}$. Initially, chloroform, dichloromethane and bromobenzene was evaluated as extractant solvent; whereas the efficacy of methanol, acetone and acetonitrile as disperser solvent was also determined. Furthermore, the volumes of extractant and disperser solvents were optimized to increase further the recoveries of phenolic com-pounds.

Results showed the exhaustive extraction for investigated analytes (recoveries >80%) was achieved using 450 μL chloroform as extractant solvent and 800 μL methanol as disperser solvent. In a next step, the phenolic composition of carob syrup produced in Cyprus was studied using the proposed DLLME method. Chromatographic analysis showed that the studied carob syrups were a rich source of gallic acid (237-285 mg/100 g), while they contain catechin, epigallocatechin, epigallocatechin gallate, syringic acid and caffeic acid at significant amounts. Overall, the proposed DLLME method in combination with HPLC is a useful analytical tool for the determination of phenolic compounds in carob syrup.

Keywords: carob syrup, polyphenols, phenolic acids, flavonoids, dispersive liquid liquid microextraction, HPLC