



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ &
ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Παραλαβή εμπλουτισμένου πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης από σπόρους
χαρουπιού**

Γιουβαλίδου Θεοδώρα
Φωτοπούλου Ηλιάνα

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013

**Παραλαβή εμπλουτισμένου πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης από σπόρους
χαρουπιού**

Γιουβαλίδου Θεοδώρα
Φωτοπούλου Ηλιάνα

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ATEI),
Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκη

Υποβολή Πτυχιακής Διατριβής που αποτελεί μέρος των απαιτήσεων για την απονομή του
Πτυχίου του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Θεσσαλονίκης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις θερμότερες ευχαριστίες μας στον Στέλιο Εξαρχόπουλο για την βοήθεια του κατά την διεξαγωγή του πειραματικού μέρους της πτυχιακής μας εργασίας, καθώς επίσης και τον Κο Αθανάσιο Κόκκαλη, βοηθό του εργαστηρίου Τεχνολογίας και Έλεγχου ποιότητας Σιτηρών. Επίσης ευχαριστούμε την Κα Μαρία Παπαγεωργίου για την γενικότερη καθοδήγηση και συμβολή της κατά τη σύνταξη της πτυχιακής μας εργασίας.

Παραλαβή εμπλουτισμένου πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης από σπόρους χαρουπιού

Γιουβαλίδου Θεοδώρα
Φωτοπούλου Ηλιάνα

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ΑΤΕΙ),
Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκη ΤΘ 141

Περίληψη

Η παρούσα εργασία έγινε προκειμένου να μελετηθούν οι τρόποι απομόνωσης του φύτρου των σπόρων χαρουπιάς (*Ceratonia siliqua L.*) και η παραλαβή αλεύρου από το φύτρο, ώστε να μελετηθεί η πλήρης χημική σύστασή του και παράλληλα να παραληφθεί ένα εμπλουτισμένο πρωτεϊνικό κλάσμα καρουβίνης του αλεύρου.

Κατά την πειραματική διαδικασία, η απομόνωση του φύτρου επιχειρήθηκε να γίνει μέσω υδατικής θερμικής επεξεργασίας των σπόρων χαρουπιού (στους 40°C για 48 ώρες), καθώς επίσης και μέσω κλασματικού διαχωρισμού με κοσκίνηση. Όμως, τα αποτελέσματα και των δύο αυτών δοκιμών κρίθηκαν μη αποδοτικά για το επιθυμητό αποτέλεσμα. Η απομόνωση του φύτρου από τους σπόρους χαρουπιού, έγινε τελικώς μέσω όξινης θερμικής επεξεργασίας των σπόρων με χρήση διαλύματος θειικού οξέος (H₂SO₄, 23N), σε θερμοκρασία 80°C για 10 λεπτά. Μετά την επεξεργασία, απομακρύνθηκε με πλύσιμο το οξύ από τους σπόρους μαζί με ένα μέρος του φλοιού. Σε επόμενη φάση, οι σπόροι εμβαπτίστηκαν σε νερό βρύσης και παρέμειναν εκεί με ήπια ανάδευση και θέρμανση (στους 50°C για 90 λεπτά). Μετά την στράγγιση του νερού, απομακρύνθηκαν χειρωνακτικά τα υπολείμματα φλοιού, καθώς και οι δύο κοτυληδόνες του ενδοσπερμίου, προκειμένου να απομονωθεί και να παραληφθεί το φύτρο των σπόρων. Η ποσότητα φύτρων που συλλέχθηκε, ξηράνθηκε υπό ροή αέρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25°C), λυοφιλοποιήθηκε ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια του νερού από τη μάζα των φύτρων και στην συνέχεια ακολούθησε άλεση σε σφυρόμυλο, προκειμένου να παραληφθεί το άλευρο των φύτρων χαρουπιών.

Το άλευρο που παράχθηκε με την προαναφερόμενη διαδικασία, χρησιμοποιήθηκε για την διεξαγωγή ποικίλων χημικών αναλύσεων, προκειμένου να βρεθεί η χημική σύσταση αυτού, καθώς και για την παραλαβή ενός εμπλουτισμένου πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης.

Τα αποτελέσματα των χημικών αναλύσεων στο άλευρο του φύτρου χαρουπιών, έδειξαν ότι η χημική σύστασή του είναι η ακόλουθη: υγρασία 8,03%, τέφρα 6,28%, ολικό λίπος 9,30%, διαιτητικές ίνες 12,32% και ολική πρωτεΐνη 64,07%.

Τέλος, μετά από απολίπανση του αλεύρου, παραλήφθηκε κλάσμα καρουβίνης, το οποίο αποτελούνταν κατά 69,15% από πρωτεΐνη. Το προφίλ διαλυτότητας του παραληφθέντος κλάσματος καρουβίνης, έδειξε ότι το ισοηλεκτρικό σημείο (IEP) των πρωτεϊνών βρίσκεται σε pH μεταξύ 4.0 – 6.0. Επομένως, οι πρωτεΐνες του αλεύρου είναι περισσότερο διαλυτές σε pH < 4 και pH > 6.

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή.....	2
2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση	3
2.1. Προέλευση και Ιστορία της χαρουπιάς.....	3
2.2. Παραγωγή χαρουπιάς.....	4
2.3. Περιγραφή χαρουπιών	5
2.4. Επεξεργασία και αξιοποίηση καρπών χαρουπιάς	6
2.5. Χημικά χαρακτηριστικά.....	9
2.5.1. Εμπλουτισμένα πρωτεϊνικά κλάσματα αλεύρων από άλλες φυτικές πηγές.....	15
3. Σκοπός της εργασίας	17
4 Πειραματικό μέρος.....	18
4.1 Υλικά και μέθοδοι.....	18
4.1.1 Χαρούπια	18
4.1.2 Αντιδραστήρια.....	18
4.1.3 Όργανα.....	18
4.1.4 Μέθοδος διαχωρισμού φύτρου από ολόκληρο σπόρο χαρουπιού	18
4.2 Μέθοδοι ανάλυσης.....	20
4.2.1 Προσδιορισμός υγρασίας.....	20
4.2.2 Προσδιορισμός τέφρας	21
4.2.3 Προσδιορισμός λίπους.....	21
4.2.4. Προσδιορισμός πρωτεϊνών	22
4.2.5 Προσδιορισμός των συνολικών διαιτητικών ινών	23
4.2.6 Εμπλουτισμός πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης	25
4.2.7 Προφίλ διαλυτότητας του εμπλουτισμένου πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης	25
5. Αποτελέσματα και συζήτηση	26
5.1 Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διαδικασίας απομόνωσης του φύτρου χαρουπιού και παραλαβής αλεύρου από αυτό	26
5.2 Ποσοτική απόδοση φύτρου και ενδοσπερμίου	27
5.3 Μέση σύσταση του φύτρου	27
5.4 Χημική σύσταση εμπλουτισμένου πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης.....	29
5.5 Προφίλ διαλυτότητας της καρουβίνης.....	29
6. Συμπεράσματα	31
7. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα	31
7. Βιβλιογραφία.....	32

XXIII, 2.

106. Leguminosae.



455. Ceratonia Siliqua L.

Johannisbrot.

1. Εισαγωγή

Η επιστημονική ονομασία της χαρουπιάς (*Ceratonia siliqua*) προέρχεται από την Ελληνική *keras*, δηλαδή κέρατο, και τη Λατινική *siliqua*, αναφερόμενα στη σκληρότητα και το σχήμα του καρπού. Το χαρούπι είναι ένα θαμνώδες μεσογειακό όσπριο. Καλλιεργείται σε όλο τον κόσμο στις περισσότερες εύκρατες ζώνες, στις οποίες επιτρέπουν θερμοκρασίες μεταξύ 4°C και 40°C και με μέση βροχόπτωση τουλάχιστον 25cm (Batlle and Tous, 1997). Κάθε σπόρος χαρουπιού έχει βάρος περίπου 200 mg και πιστεύεται ότι η μονάδα βάρους των πολύτιμων λίθων, το καράτι, προέρχεται από τους σπόρους χαρουπιών (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Οι σπόροι του χαρουπιού έχουν παραδοσιακά χρησιμοποιηθεί ως πυκνωτικά τροφίμων και ως γλυκαντικές ουσίες. Τα τελευταία χρόνια η κύρια χρήση του χαρουπιού είναι η παραγωγή κόμμεος από σπόρο χαρουπιάς και άλλων βιομηχανικών πρόσθετων και προσθέτων για τα τρόφιμα (Wang et al, 2001). Το άλευρο από φύτρο χαρουπιού προκύπτει ως υποπροϊόν από την παραγωγή κόμμεος χαρουπιού (Bengoechea et al, 2008). Το άλευρο αυτό χρησιμοποιείται κυρίως ως πρωτεϊνικό συμπλήρωμα σε ζωοτροφές και σε διαιτητικά συμπληρώματα για ανθρώπους. Ωστόσο, αυτές οι πρωτεΐνες έχει βρεθεί ότι έχουν ιξωδοελαστικές ιδιότητες παρόμοιες με αυτές της γλουτένης σίτου και ότι έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν σε αρτοσκευάσματα για βελτίωση των τελικών προϊόντων και της λειτουργικότητας της ζύμης (Dakia et al, 2007). Έχει σημασία να κατανοηθούν οι ιδιότητες του αλεύρου προκειμένου να αξιοποιηθεί ως ένας πολύτιμος καρπός και για περαιτέρω χρήση του ως λειτουργικό συστατικό τροφίμων με έμφαση στην αρτοποιία.

2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση

2.1. Προέλευση και Ιστορία της χαρουπιάς

Αν και η ακριβής προέλευση της χαρουπιάς είναι άγνωστη, η γένεση της άγριας χαρουπιάς έλαβε χώρα κάπου στη Μεσόγειο, στην Αραβική Χερσόνησο, ή στο Κέρασ της Αφρικής. Η αμφισβητήσιμη καταγωγή της οφείλεται στην εκτεταμένη καλλιέργεια της χαρουπιάς στα προϊστορικά χρόνια για χρήση ως τροφή, ζωοτροφή και σε στρωμένες ζώων. Μέσα από την παρατήρηση των άγριων ποικιλιών και των αρχαιολογικών στοιχείων, οι πρώτες καλλιέργειες των δέντρων χαρουπιάς πραγματοποιήθηκαν κατά πάσα πιθανότητα σε περιοχές της Τουρκίας, της Κύπρου, της Συρίας, του Λίβανου, του Ισραήλ, της Ιορδανίας, της Αίγυπτο, της Αραβίας, της Τυνησίας και της Λιβύης. Είναι γενικά αποδεκτό ότι οι Έλληνες είναι υπεύθυνοι για την καλλιέργεια του καρπού σε Ελλάδα και Ιταλία από σπόρους που ελήφθησαν από τη Μεσόγειο. Από εδώ η καλλιέργεια έφτασε τελικά σε περιοχές της νότιας Γαλλίας και της Πορτογαλίας, όπου επιτρεπόταν κλιματικά. Σε πιο πρόσφατες εποχές, χαρουπιές εισήχθησαν στις Ηνωμένες Πολιτείες από το γραφείο ευρεσιτεχνίας των ΗΠΑ το 1854, όπου καλλιεργήθηκε κυρίως στην Καλιφόρνια για διακοσμητική χρήση (Batlle and Tous, 1997).

Σε όλη την ιστορία, οι καρποί χαρουπιάς αποθηκεύονται και μεταφέρονται εύκολα και με μικρά προβλήματα από προσβολή παρασίτων και αλλοιώσεις. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή περιεκτικότητά τους σε τανίνες και στην χαμηλή ενεργότητα νερού που προκαλείται από την υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα και από τα χαμηλά επίπεδα υγρασίας. Η υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα και η πλούσια γεύση του λοβού κάνει αυτόν τον καρπό πολύτιμο για χρήση σε τρόφιμα, σάκχαρα, ηδύποτα και προϊόντα ζύμωσης. Τα σάκχαρα ιστορικά συλλέγονταν με σύνθλιψη των λοβών και διαλυτοποίηση των σακχάρων ώστε να απομακρυνθούν από τον λοβό. Οι τανίνες των λοβών εκχυλίζονταν με τη ζάχαρη ώστε να προκύψει μία σκούρα πλούσια αρωματική μελάσα, η οποία εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ως επικάλυψη σε επιδόρπια και ως γλυκαντικό τροφίμων. Κατά τη διαδικασία αυτή οι σπόροι αφαιρούνταν, και μετά την εκχύλιση οι λοβοί αποξηραίνονται στον ήλιο και χρησιμοποιούνται σε στρωμένες ζώων (Batlle and Tous, 1997).

2.2. Παραγωγή χαρουπιάς

Στις μέρες μας οι χαρουπιές καλλιεργούνται σε όλο τον κόσμο, όπου το επιτρέπει το κλίμα. Η παγκόσμια παραγωγή εμπορικών σπόρων χαρουπιών εκτιμάται σε 32.000 τόνους ανά χρόνο (Dakia et al, 2007).

Οι μεγαλύτερες περιοχές παραγωγής είναι σε μέρη της νοτιοανατολικής Ευρώπης και της Μεσογείου όπου η Ισπανία, η Ιταλία, η Πορτογαλία και η Ελλάδα αντιστοιχούν στο 70% της συνολικής παραγωγής. Μόνο το 7,5% της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής έχει πραγματοποιηθεί σε άλλες περιοχές όπως η Βόρεια και η Νότια Αμερική, η Αφρική και η Αυστραλία. Η πτώση στην παραγωγή μπορεί να εξηγηθεί από τις πολιτιστικές εξελίξεις σε αγροτικές κοινότητες όπου η κατανάλωση χαρουπιών είναι μεγάλη. Χωρίς έναν αποτελεσματικό τρόπο για τη συγκομιδή των καρπών, η οποία αντιπροσωπεύει την πλειοψηφία των γεωργικών δαπανών για το χαρούπι, η συγκομιδή μπορεί να γίνει πάρα πολύ δαπανηρή καθώς το κόστος της εργασίας αυξάνεται. Για οποιονδήποτε λόγο, η συνολική παραγωγή του χαρουπιού μειώθηκε κατά 340.000 τόνους σε 52 χρόνια (1945 - 1997) (Batlle and Tous, 1997).

Η *Ceratonia siliqua* αναπτύσσεται σε περιοχές μεταξύ 30° και 40° γεωγραφικό μήκος στο νότιο ημισφαίριο και μεταξύ 30° και 40° γεωγραφικό μήκος στο βόρειο ημισφαίριο. Μπορεί να αντέξει σε θερμοκρασίες 40°C για μεγάλες χρονικές περιόδους με μικρή βροχόπτωση. Ωστόσο, δεν αντέχει σε θερμοκρασίες κάτω από -7°C και παθαίνει σημαντικές βλάβες σε θερμοκρασίες κάτω από -4°C, με διαφορετικές ποικιλίες να είναι σε θέση να αντέξουν σε διαφορετικό εύρος θερμοκρασιών. Τα εδάφη που είναι κατάλληλα για ανάπτυξη έχουν πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο και μπορεί να περιέχουν μέχρι 3% άλας. Οι απαιτήσεις σε νερό ώστε να παραχθούν καρποί είναι μεταξύ 25 και 50 εκατοστά ετησίως με 50 έως 55 εκατοστά βροχοπτώσεων να απαιτούνται για την παραγωγή εμπορικής καλλιέργειας. Το επαρκές πότισμα παρουσιάζει σημαντική αύξηση στην απόδοση των καλλιεργειών, αλλά σε πολλές περιοχές οι χαρουπιές καλλιεργούνται σε έδαφος που δεν είναι κατάλληλο για άλλες καλλιέργειες και που συνήθως δεν είναι πρακτικά ή εύκολα αρδευόμενες (Batlle and Tous, 1997).

2.3. Περιγραφή χαρουπιών

Η χαρουπιά είναι ένα όσπριο της οικογένειας Leguminose και του γένους Rosales. Είναι το μόνο μεσογειακό δέντρο με κύρια περίοδο ανθοφορίας το φθινόπωρο (Σεπτέμβριος-Νοέμβριος), παρόμοιο με πολλά γνήσια τροπικά φυτά. Ωστόσο, ο χρόνος και η διάρκεια της περιόδου άνθησης εξαρτάται από τις τοπικές κλιματικές συνθήκες όπως στα περισσότερα δέντρα φρούτων και ξηρών καρπών. Σε αντίθεση με άλλα όσπρια, η *Ceratonia siliqua* δεν δεσμεύει άζωτο στις ρίζες της. Ωστόσο, έχει μια συμβιωτική σχέση με τον μύκητα *Arbuscular mycorrhizal*, που επιτρέπει την αυξημένη πρόσληψη αζώτου από το έδαφος με αποικισμό της ρίζας. Ο ακριβής μηχανισμός για αυτό είναι άγνωστος, αλλά πιστεύεται ότι αυτός ο μύκητας συμβάλλει στην ανάπτυξη δέντρων σε εδάφη όπου υπάρχει έλλειψη αζώτου (Batlle and Tous, 1997).

Οι χαρουπιές έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής και αναπτύσσονται ως αείφυλλοι θάμνοι ή δέντρα ύψους έως 10 m (Σχήμα 1), με μια ευρεία ημισφαιρική κόμη και ένα παχύ κορμό με τραχύ καφέ φλοιό και ανθεκτικά κλαδιά. Τα φύλλα είναι 10-20 cm σε μήκος, σκούρο πράσινο στην πλευρά της ράχης και ανοιχτό πράσινο στην κοιλιακή πλευρά. Έχουν μια παχιά κηρώδη επίστρωση που αποτρέπει την υπερβολική απώλεια υγρασίας σε ημι-ξηρά κλίματα. Η χαρουπιά δεν ρίχνει τα φύλλα της το φθινόπωρο, αλλά μόνο τον Ιούλιο κάθε



Σχήμα 1: Δέντρο χαρουπιάς
(www.fytopromitheyiki.gr)

δεύτερου έτους, και μόνο εν μέρει ανανεώνει τα φύλλα της την άνοιξη (Απρίλιο και Μάιο). Τα άνθη της είναι μικρά και πολυάριθμα, 6-12 mm σε μήκος, σπειροειδώς διατεταγμένα κατά μήκος του άξονα της ταξιανθίας, αναπτύσσονται σαν τσαμπιά σε παρακλάδια από παλιό ξύλο, ακόμη και στον κορμό. Τα λουλούδια έχουν πράσινο-κόκκινη απόχρωση. Μόνο λίγα άνθη αποδίδουν καρπούς και σπάνια δημιουργούνται περισσότεροι από δύο καρποί ανά άνθος (Batlle and Tous, 1997).

Ο καρπός είναι ένας επιμήκης λοβός, συμπίεσμένος, ευθύγραμμος ή με καμπύλη, παχύτερος στις ραφές, με διαστάσεις 10-30 cm μήκος και 1,5 έως 3,5 cm πλάτος (Σχήμα 2). Τα πιο ίσια χαρουπία θεωρούνται περισσότερο επιθυμητά λόγω της ευκολίας στη συγκομιδή. Οι λοβοί που αποτελούν το 90% του βάρους των χαρουπιών είναι γεμάτοι με πολλούς σπόρους διατεταγμένους με γραμμικό μη επικαλυπτόμενο τρόπο και διαχωρίζονται από το μεσοκάρπιο. Οι σπόροι είναι συμπίεσμένοι και ελαφρώς επιμηκισμένοι με διαστάσεις από 8 έως 10 mm μήκος, 7 έως 8 mm πλάτος και 3 έως 5 mm πάχος (Batlle and Tous, 1997).

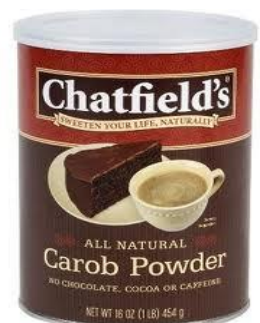


Σχήμα 2: Μια ομάδα από ευθείς λοβούς χαρουπιού (amazoneday.blogspot.gr)

2.4. Επεξεργασία και αξιοποίηση καρπών χαρουπιάς

Κατά την άφιξη σε μια εγκατάσταση επεξεργασίας χαρουπιού, οι καρποί έχουν συνήθως 10% με 20% υγρασία. Επειδή οι καρποί πρέπει να έχουν υγρασία 8% για να επεξεργαστούν, αποθηκεύονται σε περιβαλλοντικά ελεγχόμενους θαλάμους έως ότου να αποκτήσουν το επιθυμητό ποσοστό υγρασίας. Το πρώτο βήμα για την επεξεργασία είναι η σύνθλιψη των καρπών. Αυτό απελευθερώνει τους σπόρους από τον λοβό όπου μπορούν να διαχωριστούν και να πάνε για ξεχωριστή επεξεργασία.

Οι λοβοί χρησιμοποιούνται αλεσμένοι ως τρόφιμα και ζωτροφές. Οι ζωτροφές παράγονται σε διαφόρων μεγεθών τεμάχια ανάλογα με το ποιο είδος ζωτροφής είναι επιθυμητό. Οι λοβοί που επεξεργάζονται για ανθρώπινη κατανάλωση πρώτα ψήνονται και έπειτα αλέθονται σε λεπτή σκόνη με την εμπορική ονομασία “σκόνη χαρουπιών” (carob powder) (Σχήμα 3). Σάκχαρα επίσης εξάγονται με τη μορφή μελάσας (Batlle and Tous, 1997). Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για τη χρήση των χαρουπιών ως μια φθηνή πηγή διαφόρων προϊόντων. Μερικές έρευνες έχουν εξετάσει τους λοβούς χαρουπιών σαν ένα άμεσα διαθέσιμο και φθινό υλικό για την παραγωγή βιοαιθανόλης, και ως υπόστρωμα για την παραγωγή κιτρικού



Σχήμα 3: Εμπορικό σκεύασμα σκόνης χαρουπιών

οξέος (Makris and Kefalas, 2004). Επίσης έχει αποσαφηνισθεί η σύνθεση και η ποσοτικοποίηση των πολυφαινολών στο λοβό, καθώς και η αντιοξειδωτική τους δραστηριότητα. Πρόσφατα, έχει στραφεί η προσοχή στις επιδράσεις των λοβών που προάγουν τη υγεία, κυρίως λόγω της περιεκτικότητάς τους σε πολυφαινολικά και φυτικές ίνες (Bernardo-Gil et al, 2011).

Οι σπόροι συνήθως αποστέλλονται σε ξεχωριστή εγκατάσταση επεξεργασίας για την εξαγωγή των γαλακτομαννοζών του ενδοσπερμίου. Το πρώτο βήμα για την παραλαβή του κόμμεος είναι η αφαίρεση του μεγάλου πάχους φλοιού που περιβάλλει το ενδοσπέρμιο και το φύτρο. Αυτή είναι μια δύσκολη διαδικασία η οποία μπορεί να ολοκληρωθεί με δύο διαφορετικούς τρόπους. Σε αμφότερες τις μεθόδους ο τελικός στόχος είναι ένα πιο εύθρυπτο στρώμα φλοιού που να απομακρύνεται ευκολότερα. Η πρώτη από αυτές τις μεθόδους είναι η απανθράκωση του φλοιού μέσω εμποτισμού σε θειικό οξύ (όξινη προεργασία) και η δεύτερη είναι η διαβροχή των σπόρων με βραστό νερό (υδατική προεργασία) (Batlle and Tous, 1997). Κατά την όξινη προεργασία 100 g σπόρων τοποθετούνται σε 60 ml θειικό οξύ (H_2SO_4/H_2O 60/40 v/v) στους 60°C για ~60 min. Η μάζα που περιέχει τους αποφλοιωμένους σπόρους πλένεται εκτεταμένα με νερό και τρίβεται μέσω ενός κόσκινου για την εξάλειψη του απανθρακωμένου φλοιού. Οι αποφλοιωμένοι σπόροι ξηραίνονται στους 100°C για 30 min και τότε συνθλίβονται με έναν εργαστηριακό μύλο ώστε να διαχωριστούν τα δυο ενδοσπέρμια και να απελευθερωθεί το φύτρο. Κατά την υδατική προεργασία 100 g ολόκληρων σπόρων εμβαπτίζονται σε 800 ml νερού που βράζει για 60 min. Τα επιμέρους τμήματα (φλοιός, ενδοσπέρμιο, φύτρο) των διογκωμένων σπόρων, διαχωρίζονται τότε εύκολα με το χέρι (Dakia et al, 2007).

Οι Batlle and Tous (1997) αναφέρουν μια άλλη μέθοδο διαχωρισμού, γνωστή ως ξηρό ψήσιμο (οι σπόροι ψήνονται σε έναν περιστρεφόμενο κλίβανο ώστε να αποκολληθεί ο φλοιός). Προκειμένου να διαχωριστεί το φύτρο από το ενδοσπέρμιο, το υπόλοιπο του κόκκου εκτός από τον φλοιό αλέθεται έτσι ώστε το ενδοσπέρμιο να παραμένει σχεδόν ανέγγιχτο και το φύτρο να μετατραπεί σε μια λεπτή σκόνη. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί, λόγω των διαφορών στην ευθρυπτότητα των δύο κλασμάτων. Το φύτρο είναι πολύ πιο εύθραυστο και κονιοποιείται πιο εύκολα σε σύγκριση με το ενδοσπέρμιο. Μετά το διαχωρισμό το φύτρο χρησιμοποιείται ως πρωτεϊνικό συμπλήρωμα σε τρόφιμα και ζωοτροφές. Το ενδοσπέρμιο περνά μέσα από ένα άλλο στάδιο άλεσης για να παραχθεί μια λεπτή σκόνη που πωλείται υπό την εμπορική ονομασία κόμμι χαρουπιών.

Το κόμμι χαρουπιών έχει πολλές χρήσεις, τόσο στην βιομηχανία όσο και ως πρόσθετο τροφίμων λόγω της υφής του και των ιδιοτήτων ενυδάτωσης που έχει. Οι βιομηχανικές χρήσεις του κόμμεος χαρουπιών κυμαίνονται από χρήση σαν δυναμωτικό σε σκυροδέματα μέχρι στην ενίσχυση των δεσμών νερού σε εκρηκτικά και πολλά άλλα. Στα τροφικά συστήματα το κόμμι χαρουπιών αναγνωρίζεται ως πυκνωτικό τροφών, ως σταθεροποιητής και ως γαλακτωματοποιητής (Batlle and

Tous,1997). Είναι ένα πρόσθετο τροφίμων που μπορεί να χρησιμοποιηθεί στις ακόλουθες κατηγορίες τροφίμων (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Επίπεδα χρήσης κόμμεος χαρουπιού (Kawamura, 2008).

Κατηγορία τροφίμων	Μέγιστο όριο χρήσης (%)
Ψημένα αγαθά και μίγματα για ψήσιμο	0,15
Μη αλκοολούχα ποτά και βάσεις ποτών	0,25
Τυριά	0,8
Ζελατίνες, πουτίγκες & γεμίσματα	0,75
Μαρμελάδες και ζελέδες	0,75
Όλα τα υπόλοιπα τρόφιμα	0,50

Ο καρπός του χαρουπιού και ειδικά το ενδοσπέρμιο δεν έχει αξιολογηθεί ως λειτουργική πηγή πρωτεΐνης και έχει αμεληθεί για πολλά χρόνια από τη βιομηχανία τροφίμων. Οι σπόροι χαρουπιού είναι χρήσιμοι κυρίως για την απομόνωση κόμμεος χαρουπιού. Τα απομεινάρια του αλεσμένου καρπού θεωρούνται ως παραπροϊόν σε αυτή τη διαδικασία και δεν αξιοποιούνται από τη βιομηχανία τροφίμων. Ωστόσο το άλευρο από φυτό χαρουπιού μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν διαιτητική τροφή ή ως πιθανό συστατικό σε παράγωγα δημητριακών τροφών για ανθρώπους που πάσχουν από τη νόσο της κοιλιοκάκης (Feillet & Roulland, 1998).

Το άλευρο από φυτό χαρουπιού έχει παραδοσιακά χρησιμοποιηθεί ως πρωτεϊνικό συμπλήρωμα σε ζωοτροφές και σε τρόφιμα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, λόγω της καλά ισορροπημένης περιεκτικότητάς του σε αμινοξέα. Το άλευρο αυτό έχει ταυτοποιηθεί πως έχει όμοιες ιδιότητες με αυτές της γλουτένης (Wang et al, 2001). Όταν χρησιμοποιήθηκε σε ένα σύστημα ζύμης ψωμιού με προζύμι που περιέχει 30% αλεύρι φύτρων χαρουπιών και 70% αλεύρι ελεύθερο γλουτένης, παράχθηκε ψωμί με παρόμοιες ιδιότητες με ένα ευρωπαϊκό ψωμί σίκαλης. Μέχρι την ανακάλυψη της κοιλιοκάκης υπήρχαν πολύ περιορισμένα δημοσιευμένα δεδομένα για τις λειτουργικές ιδιότητες των πρωτεϊνών φύτρου χαρουπιού συγκριτικά με εκείνων του σιταριού. Μετά την ανακάλυψη της κοιλιοκάκης, μελετήθηκε η υψηλή σε πρωτεΐνες σύσταση του ανάμεικτου αλεύρου σιταριού και φύτρου χαρουπιών σε ψωμί για διαβητικούς. Αυτά τα ψωμιά ήταν χαμηλότερης ποιότητας από το καθαρό ψωμί σίτου, αλλά κρίθηκαν αποδεκτά (Plaut et al, 1953).

Τα προϊόντα χωρίς γλουτένη στερούνται πολλών σημαντικών θρεπτικών συστατικών όπως οι πρωτεΐνες, οι βιταμίνες, τα ιχνοστοιχεία και οι φυτικές ίνες. Τα προϊόντα αυτά χαρακτηρίζονται περισσότερο από φτωχές λειτουργικές ιδιότητες, όπως ρευστή ροή, εξαιτίας της απουσίας της γλουτένης (Lazaridou et al, 2007). Για την αύξηση της διατροφικής αξίας των προϊόντων χωρίς γλουτένη, προστίθενται πρωτεΐνες από διάφορες πηγές όπως σόγια, αλβουμίνη αυγού και γαλακτοκομικά προϊόντα (Marco & Rosell, 2008). Εναλλακτικές πηγές όπως το χαρούπι μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης σαν πηγή πρωτεΐνης, ενισχύοντας επίσης τη συνολική θρεπτική αξία των προϊόντων χωρίς γλουτένη, συμπεριλαμβανομένου του ποσοστού των διαιτητικών ινών (Feillet & Roulland, 1998).

Έχει αναφερθεί σε πολλά δημοσιεύματα ότι οι πρωτεΐνες του φύτρου χαρουπιού παρουσιάζουν σημαντικές δυνατότητες για χρήση σε τρόφιμα ελεύθερα γλουτένης, λόγω της φύσης των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων τους και της αποδοχής τους ως ασφαλείς για ασθενείς με κοιλιοκάκη.

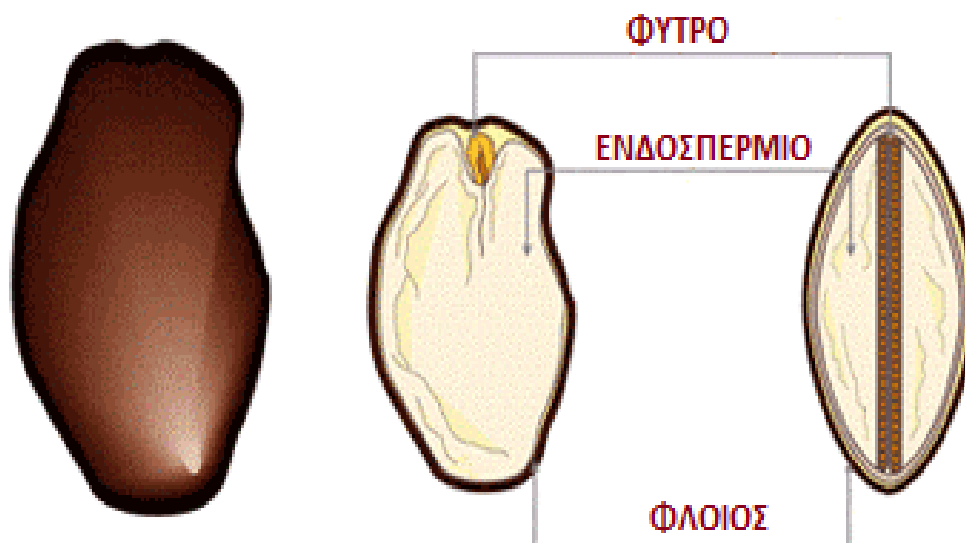
2.5. Χημικά χαρακτηριστικά

Τα δύο κύρια συστατικά του καρπού είναι (κατά βάρος): ο λοβός (90%) και οι σπόροι (10%). Η χημική σύνθεση του λοβού εξαρτάται από την ποικιλία, την προέλευση και το χρόνο συγκομιδής. Ο λοβός έχει υψηλή περιεκτικότητα (48-56%) σε ολικά σάκχαρα (κυρίως σακχαρόζη, γλυκόζη, φρουκτόζη και μαλτόζη) (Πίνακας 2). Επιπλέον περιέχει περίπου 18% κυτταρίνη και ημικυτταρίνη. Η σύνθεση σε ανόργανα συστατικά (σε mg / 100 g πούλπας λοβού) βρέθηκε από τους Puhan και Wielinga (1996) να είναι ίση με: K = 1.100, Ca = 307, Mg = 42, Na = 13, Cu = 0,23, Fe = 104, Mn = 04, Zn = 0,59. Έχει βρεθεί ότι η αναλογία κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών οξέων είναι περίπου ίση. Μελέτες σίτισης έδειξαν ότι ο λοβός περιέχει μόνο 1-2 % εύπεπτες πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν χαμηλή πεπτικότητα διότι δεσμεύονται από τις ταννίνες και τις φυτικές ίνες. Σχετικά, βρέθηκαν πέντε αμινοξέα σε εκχυλίσματα του λοβού (αλανίνη, γλυκίνη, λευκίνη, προλίνη και βαλίνη) ενώ έχει αναφερθεί και η ύπαρξη των αμινοξέων τυροσίνης και φαινυλαλανίνης (Batlle and Tous, 1997). Επίσης, οι ώριμα λοβοί περιέχουν μεγάλη ποσότητα από συμπυκνωμένες ταννίνες (16-20%) (Karababa & Coşkuner, 2013).

Πίνακας 2: Μέση σύσταση του λοβού χαρουπιού (Puhan & Wielinga, 1996).

	%
Ολικά σάκχαρα	48-56
Σακχαρόζη	32-38
Γλυκόζη	5-6
Φρουκτόζη	5-7
Πινιτόλη	5-7
Συμπυκνωμένες τανίνες	18-20
Μη-αμυλούχοι πολυσακχαρίτες	18
Τέφρα	2-3
Λίπος	0,2-0,6

Οι σπόροι αποτελούνται από φλοιό (30-33%), ενδοσπέρμιο (42-46%) και έμβρυο ή φυτό (23-25%) (Σχήμα 4). Το πρώτο στάδιο επεξεργασίας των σπόρων, είτε για τη απομόνωση του κόμμεος από το ενδοσπέρμιο είτε της καρουβίνης από το φυτό, περιλαμβάνει την αφαίρεση του φλοιού των σπόρων. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με θερμο-μηχανική είτε με χημική επεξεργασία. Έπειτα οι σπόροι διασπώνται κατά μήκος και το φυτό διαχωρίζεται από το ενδοσπέρμιο (Dakia et al, 2008).



Σχήμα 4: Σπόροι χαρουπιού με κύρια ανατομικά χαρακτηριστικά που περιγράφονται (www.cargillfoods.com)

Το ενδοσπέρμιο του χαρουπιού περιέχει 30- 40% κατά βάρος γαλακτομαννάνη (Carob Bean Gum, LBG), που είναι ένα μόριο πολυσακχαρίτη που αποτελείται από μόρια μαννόζης και γαλακτόζης. Τα σάκχαρα αυτά υπάρχουν σε μία αναλογία 3,9 : 1 αντίστοιχα, με την γαλακτόζη να εμφανίζεται σε κάθε τέταρτο περίπου μόριο της μαννόζης στην αλυσίδα (Karababa & Coşkuner, 2013).

Στον Πίνακα 3 δίνεται η σύσταση του αλεύρου από ενδοσπέρμιο, το οποίο έχει διαχωριστεί από τον υπόλοιπο σπόρο με δυο διαφορετικές διεργασίες. Έτσι στην πρώτη στήλη ο διαχωρισμός έγινε με υδατική προκατεργασία, ενώ στη δεύτερη στήλη έγινε με όξινη προκατεργασία. Κατά την υδατική προκατεργασία 100 g σπόρων χαρουπιού εμβαπτίστηκαν σε 800 mL ζέοντος νερού για 60 min, οπότε οι σπόροι ενυδατώθηκαν, χωρίς όμως να αποκολληθεί ο φλοιός. Οι σπόροι απομακρύνθηκαν από το νερό, εκπλύθηκαν και ο φλοιός απομακρύνθηκε χειρωνακτικά από το ενδοσπέρμιο. Έτσι το ενδοσπέρμιο παραλήφθηκε ύστερα από ξήρανση (100°C για 1-2 ώρες, μέχρι σταθερού βάρους) και άλεστηκε. Κατά την όξινη προκατεργασία 100 g σπόρων χαρουπιού εμβαπτίστηκαν σε 60 mL θειϊκού οξέος (H₂SO₄/H₂O 60/40 v/v) στους 60°C για 60 min. Αυτή η διαδικασία με το οξύ απανθρακώνει τον φλοιό, ο οποίος αφαιρείται με εκτεταμένο πλύσιμο και τρίψιμο κατά την έκπλυση και μέσω κοσκίνησης με μεταλλικό κόσκινο. Οι αποφλοιωμένοι σπόροι ξηράνθηκαν (100°C για 30 min) κι έπειτα διασπάστηκαν σε εργαστηριακό μύλο ώστε να διαχωριστούν τα δυο ενδοσπέρμια και να απελευθερωθεί το φύτρο, το οποίο ήταν απομονωμένο σε κομμάτια επειδή είναι πιο εύθρυπτο. Τα κλάσματα του φύτρου διαχωρίζονται από το αδιάσπαστο ενδοσπέρμιο με κοσκίνηση. (Dakia et al, 2008).

Πίνακας 3: Σύσταση (%) ενδοσπερμίου χαρουπιού (Dakia et al, 2008)

	Υδατική προκατεργασία	χημική προκατεργασία
Υγρασία	6,5±0,6	5,9±0,1
Τέφρα	1,5±0,1	0,7±0,2
Ολική πρωτεΐνη	7,4±0,7	5,2±0,4
Λιπίδια (ουδέτερα και πολικά)	1,5±0,1	1,3±0,1

Το φύτρο έχει μια σημαντική συγκέντρωση πρωτεΐνης η οποία είναι ικανή να αξιοποιηθεί ως λειτουργική πρωτεΐνη. Αυτό το σύστημα πρωτεϊνών από φύτρο χαρουπιού, το οποίο έχει ονομαστεί καρουβίνη, αποτελείται από ένα μίγμα διαφόρων πρωτεϊνών με μοριακό βάρος που κυμαίνεται από αρκετές χιλιάδες Da έως περισσότερα από ένα εκατομμύριο (Bengoechea et al, 2008). Η σύνθεση των πρωτεϊνών του φύτρου είναι 14,5% αλβουμίνη, 50,0% σφαιρίνες, 3,4% προλαμίνες, και 32,1% γλουτελίνες (Smith et al, 2010). Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν μια καλά ισορροπημένη περιεκτικότητα σε αμινοξέα με την παρουσία και των 10 απαραίτητων αμινοξέων στο μόριο τους (Dakia et al, 2007).

Η καρουβίνη είναι ουσιαστικά μια μη υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη που έχει αναφερθεί ότι διαθέτει παρόμοιες ρεολογικές ιδιότητες με αυτές της γλουτένης, αν και η καρουβίνη έχει μια πιο διατεταγμένη δομή, με μικρές αλλαγές στη δευτεροταγή δομή όταν ενυδατώνεται (Bengoechea et al, 2008). Συγκρίνοντας τη σύνθεση των αμινοξέων μεταξύ των πρωτεϊνών σίτου και χαρουπιού έχουν βρεθεί σημαντικές διαφορές, με αυτές από φύτρο χαρουπιού να έχουν λιγότερη κυστεΐνη, γλουταμικό οξύ, φαινυλαλανίνη αλλά περισσότερα από τα φορτισμένα αμινοξέα, αργινίνη, ασπαρτικό οξύ και λυσίνη (Smith et al, 2010). Το φύτρο αποτελείται επίσης από φυτικές ίνες, με χαμηλές έως μέτριες ποσότητες νερού, λιπιδίων, τέφρας, πολυφαινόλων και διαλυτών υδατανθράκων (Πίνακας 4) (Bengoechea et al, 2008).

Πίνακας 4: Χημική σύσταση απολιπασμένου φύτρου χαρουπιού (Bengoechea et al, 2008)

	Άλευρο φύτρου (%)
Πρωτεΐνη	48,2 ± 0,24
Λίπος	2,26 ± 0,13
Υγρασία	5,76 ± 0,32
Τέφρα	6,34 ± 0,15
Πολυφαινόλες	0,45 ± 0,01
Διαλυτοί υδατάνθρακες	2,92 ± 0,03
Φυτικές ίνες	24,3 ± 0,09

Οι Feillet και Roulland (1998) απομόνωσαν την καρουβίνη από άλευρο φύτρου χαρουπιών χρησιμοποιώντας 20 g αλεύρου φύτρου σε 200 mL απιονισμένο νερό για 3 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου με ήπια ανάδευση και στη συνέχεια φυγοκέντρωση για 15 λεπτά σε 5500 g. Το υπερκείμενο υγρό απορρίφθηκε και τα δύο αδιάλυτα στρώματα καρουβίνης A και B που σχηματίστηκαν διαχωρίστηκαν και η καρουβίνη απομονώθηκε τόσο από την άνω όσο και από την κάτω στιβάδα αντίστοιχα, με χειρωνακτική έκπλυση σε νερό βρύσης. Έπειτα ανέλυσαν με χρωματογραφία στήλης τα αμινοξέα των κλασμάτων καρουβίνης A και B και εξήγαγαν τα αποτελέσματα του Πίνακα 5 που αφορούν τις συγκεντρώσεις των αμινοξέων σε κάθε δείγμα. Οι συστάσεις της καρουβίνης A και B είναι πολύ κοντά, αν όχι πανομοιότυπες, δείχνοντας έτσι μεγάλη ομοιότητα μεταξύ αυτών των δυο υλικών.

Συγκριτικά με τη γλουτένη σίτου, η καρουβίνη έχει υψηλή περιεκτικότητα σε ασπαρτικό οξύ και σε βασικά αμινοξέα (αργινίνη και λυσίνη), ενώ είναι φτωχότερη σε προλίνη, κυστεΐνη και μεθιονίνη. Το περιεχόμενο σε γλουταμινικό οξύ (Glu + Gln), ενώ είναι χαμηλότερο από αυτό της γλουτένης σίτου, είναι παρόλα αυτά εξαιρετικά υψηλό (περίπου το 1/3 του ολικού περιεχομένου σε αμινοξέα). Η χαμηλή περιεκτικότητα κυστεΐνης και προλίνης στην καρουβίνη, θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στον προσδιορισμό της δομής και στη λειτουργικότητα των πρωτεϊνών της «οικογένειας της γλουτένης» (Feillet & Roulland, 1998).

Πίνακας 5: Συγκέντρωση αμινοξέων καρουβίνης Α και Β (g / 100 g πρωτεΐνης)
(Feillet & Roulland, 1998)

Αμινοξύ	Καρουβίνη Α	Καρουβίνη Β
Ασπαρτικό οξύ	7,8	7,9
Θρεονίνη	3,0	3,0
Σερίνη	4,5	4,4
Γλουταμίνη	31,8	32,1
Προλίνη	3,0	2,9
Γλυκίνη	4,1	4,0
Αλανίνη	3,6	3,4
Βαλίνη	3,2	3,3
Κυστεΐνη	0,7	0,8
Μεθιονίνη	0,4	0,3
Ισολευκίνη	2,6	2,6
Λευκίνη	6,5	6,6
Τυροσίνη	3,4	3,4
Φαινυλαλανίνη	3,3	3,4
Λυσίνη	5,0	4,8
Ιστιδίνη	2,6	2,6
Αργινίνη	14,4	14,6

2.5.1. Εμπλουτισμένα πρωτεϊνικά κλάσματα αλεύρων από άλλες φυτικές πηγές

Η σόγια θεωρείται η πιο σημαντική πηγή φυτικών πρωτεϊνών. Η αυξημένη αποδοχή των πρωτεϊνών σόγιας οφείλεται στις λειτουργικές τους ιδιότητες σε εφαρμογές τροφίμων, στην υψηλή διατροφική τους αξία, στην εύκολη διαθεσιμότητά τους και στο χαμηλό κόστος. Οι κύριες αποθηκευτικές πρωτεΐνες σόγιας αναφέρονται ως γλυκινίνη και β-κονγλυκινίνη και ανήκουν στις σφαιρίνες (Barac et al., 2004). Στον Πίνακα 6 δίνεται η χημική σύσταση του αλεύρου σόγιας.

Επίσης, το λευκό λούπινο αποτελεί μία σημαντική πηγή πρωτεϊνών για τον άνθρωπο, δεδομένου ότι οι σπόροι του έχουν από τα υψηλότερα ποσοστά πρωτεϊνικού περιεχομένου, με μία βιολογική αξία 91% σε αποθηκευτικές πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες του λευκού λούπινου, θεωρούνται καλές πηγές λυσίνης και γενικά φτωχές σε θειο-αμινοξέα, σε αντίθεση με τα δημητριακά. Οι σφαιρίνες είναι οι τυπικές αλατοδιαλυτές αποθηκευτικές πρωτεΐνες των σπόρων λούπινου, οι οποίες για το λευκό λούπινο χωρίζονται σε τέσσερα κύρια κλάσματα. Αυτά τα κλάσματα ονομάζονται α-, β-, γ- και δ- συγγλυτίνες, βάσει της ηλεκτροφορητικής τους κινητικότητας. (Duranti et al., 2008)

Παρόλο που τα αποτελέσματα αρκετών μελετών για την διατροφική ποιότητα του αλεύρου από λευκό λούπινο ή συμπυκνώματα πρωτεϊνών που απορρέουν από αυτό έχουν παρατεθεί, δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με μεμονωμένες οικογένειες πρωτεϊνών τους (Duranti et al, 2008). Στον πίνακα 7 δίνεται η χημική σύσταση του αλεύρου λευκού λούπινου.

Πίνακας 6: Χημική σύσταση αλεύρου σόγιας. (Edema et al, 2005)

	Μέση τιμή %
Υγρασία	6,11
Ολική πρωτεΐνη	36,0
Ολικές διαιτητικές ίνες	0,21
Λίπη	14,03
Τέφρα	2,95

Πίνακας 7: Χημική σύσταση αλεύρου λευκού λούπινου (*L. Albus*) (Erbaş et al, 2005)

	Μέση τιμή %
Υγρασία	8,32
Ολική πρωτεΐνη	32,2
Ολικές διαιτητικές ίνες	16,2
Λίπη	5,95
Τέφρα	0,13

Έχει βρεθεί ότι η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη του αλεύρου από φύτρο χαρουπιών είναι υψηλότερη σε σχέση με αυτές που παρατηρήθηκαν σε άλλα όσπρια, όπως η φάβα (*Vicia faba* L.), το μπιζέλι (*Pisum sativum* L.) και η σόγια (*Glycine max. Merr*). Κάποιοι ερευνητές βρήκαν τιμές 48,4% περιεχόμενης πρωτεΐνης σε απολιπασμένο άλευρο από φύτρο χαρουπιού, ενώ κάποιοι άλλοι προσδιόρισαν τιμές πρωτεΐνης 18,83% και 34,35% σε μπιζέλι και σόγια, αντίστοιχα (Bengoechea et al, 2008).

3. Σκοπός της εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν:

- Η επιλογή των καταλληλότερων συνθηκών διαχωρισμού του φύτρου από ολόκληρους σπόρους χαρουπιού.
- Ο πρωτεϊνικός εμπλουτισμός του κλάσματος καρουβίνης στο άλευρο φύτρου χαρουπιών.
- Η εύρεση του προφίλ διαλυτότητας της καρουβίνης.
- Η παραλαβή επαρκούς ποσότητας υλικού ώστε να χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο αρτοποιήσης προϊόντων ελεύθερων γλουτένης.

4 Πειραματικό μέρος

4.1 Υλικά και μέθοδοι

4.1.1 Χαρούπια

Η προμήθεια της πρώτης ύλης, σπόροι χαρουπιού ποικιλίας τυλλιρίας, με μέσο βάρος 0,200 g ανά σπόρο, έγινε από μύλο της Κύπρου.

4.1.2 Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη εργασία ήταν αναλυτικής καθαρότητας.

4.1.3 Όργανα

- φούρνος τύπου σταθερής θερμοκρασίας για τον προσδιορισμό της υγρασίας.
- πυριαντήριο για τον προσδιορισμό της τέφρας.
- συσκευή καύσης και απόσταξης Kjeldahl τύπου Gerhardt για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών.
- συσκευή απόσταξης και εκχύλισης Soxhlet για τον προσδιορισμό του λίπους.
- ξηραντήριο στερεών τροφίμων με δίσκους (tray drier) με σύστημα ελέγχου του ρυθμού ξήρανσης, της εταιρείας APEX, για την ξήρανση των σπόρων.
- σφυρόμυλος, της εταιρείας PERTEN, για την άλεση των σπόρων (0,8 mm mesh).
- πιλοτικός λυοφιλιωποιητής (Freeze drier), της εταιρείας CHRIST, για την απομάκρυνση της υγρασίας από το άλευρο.
- συσκευή εργαστηριακών κόσκινων, της εταιρείας PROLABO.
- εργαστηριακή φυγόκεντρος, της εταιρείας Gallenkamp.

4.1.4 Μέθοδος διαχωρισμού φύτρου από ολόκληρο σπόρο χαρουπιού

Οι σπόροι είναι πολύ σκληροί, όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, και ο φλοιός είναι τόσο σταθερά συνδεδεμένος με το ενδοσπέρμιο ώστε είναι αμφίβολο αν μπορεί να αφαιρεθεί απλώς με μηχανική κρούση. Κατά συνέπεια, είναι προφανές ότι πρέπει να χρησιμοποιηθούν είτε χημικά μέσα τα οποία μπορούν να προσβάλλουν το φλοιό αφήνοντας ανέπαφο το ενδοσπέρμιο, ή φυσικές επεξεργασίες δριμύτατες, όπως θέρμανση με ατμό ή ψήσιμο.

Το είδος της χημικής διεργασίας που μπορεί να εφαρμοστεί εξαρτάται από τη χημική σύσταση του φλοιού του σπόρου χαρουπιού που αποτελείται κυρίως από κυτταρίνη και ημικυτταρίνη. Είναι γνωστό πως η κυτταρίνη μπορεί να αποδομηθεί με όξινα ή αλκαλικά διαλύματα. Από τις φυσικές διεργασίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά το καβούρντισμα σε γυμνή φλόγα, η υπέρυθρη ακτινοβολία, ο ξηρός ατμός ή η επεξεργασία με βραστό νερό.

Κατά την προκαταρκτική έρευνα έγιναν αρκετές δοκιμές μέχρι να βρεθεί η καλύτερη μέθοδος διαχωρισμού.

Αρχικά δοκιμάστηκε μια υδατική θερμική επεξεργασία 1,5 g σπόρων χαρουπιού σε νερό 40°C με ανάδευση για 48 ώρες. Δεν επιλέχθηκαν μεγαλύτερες θερμοκρασίες για να αποφευχθεί η μετουσίωση των πρωτεϊνών. Η δοκιμή δεν έδωσε κανένα αποτέλεσμα αφού το φύτρο δεν διαχωρίστηκε από το ενδοσπέρμιο και το περίβλημα του σπόρου.

Στη συνέχεια δοκιμάστηκε κλασματικός διαχωρισμός με κοσκίνιση. Αλέστηκαν 5 g σπόρων χαρουπιού σε σφυρόμυλο. Το άλεσμα που προέκυψε κοσκινίστηκε σε σειρά εργαστηριακών κοσκίνων μεγάλης ακρίβειας, τα οποία δονούνται, με διαφορετικό άνοιγμα βρογχίδων από 0,8 έως 0,05 mm. Παρατηρήθηκε οπτικά ότι το κάθε κλάσμα που παραλήφθηκε από το κάθε κόσκινο αποτελούνταν από ένα μίγμα περιβλήματος (καφέ χρώμα), ενδοσπερμίου (λευκό χρώμα) και φύτρου (κίτρινο χρώμα) οπότε πάλι δεν επιτεύχθηκε διαχωρισμός.

Τέλος δοκιμάστηκε με επιτυχία όξινη θερμική επεξεργασία. Αρχικά ζυγίστηκαν 3 g σπόρων χαρουπιού, τα οποία επεξεργάστηκαν με 12,5 mL διαλύματος H₂SO₄ 23 N στους 80°C για 10 min υπό συνεχή ανάδευση. Μετά το πέρας των 10 min διαχωρίστηκαν προσεκτικά οι σπόροι από το διάλυμα του οξέος και ξεπλύθηκαν με 200 mL νερό βρύσης. Η διαδικασία του ξεπλύματος επαναλήφθηκε 2 φορές ακόμη μέχρι να απομακρυνθεί η περιρσίωση του οξέος, δηλαδή μέχρι το pH του νερού να ξεπεράσει το 6,5. Στη συνέχεια οι σπόροι χαρουπιού εμβαπτίστηκαν σε 200 mL νερού 50°C υπό ανάδευση και παρέμειναν για 1,5 ώρα. Ακολούθησε χειρωνακτικός διαχωρισμός του φύτρου από το ενδοσπέρμιο (Σχήμα 5) και ξήρανση αυτών σε ξηραντήριο με δίσκους με κυκλοφορία αέρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε 6 φορές και επεξεργάστηκαν συνολικά 1000 g σπόρων χαρουπιού. Οι αποδόσεις σε φύτρο και σε ενδοσπέρμιο των επεξεργασμένων σπόρων δίνονται σε πίνακα.

Στη συνέχεια το φύτρο αλέστηκε σε αλευρώδη μορφή σε σφυρόμυλο ώστε να γίνουν πιο εύκολα οι αναλύσεις που ακολουθούν.



A)



B)



Γ)

Σχήμα 5: A) ακατέργαστοι σπόροι χαρουπιών, B) διαχωρισμένα φύτρα σπόρων χαρουπιών, Γ) διαχωρισμένα ενδοσπέρμια σπόρων χαρουπιών

4.2 Μέθοδοι ανάλυσης

4.2.1 Προσδιορισμός υγρασίας

Περίπου 3 g άλευρου ζυγίστηκαν με ακρίβεια σε κάθε ένα από τρία διαφορετικά τρυβλία petri, τα οποία προηγουμένως είχαν ζυγιστεί. Τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε ξηραντήριο θερμοκρασίας 105°C μέχρι σταθερού βάρους για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών τα τρυβλία μεταφέρθηκαν σε αφυγραντήριο για να κρυσώσουν και ακολούθησε η ακριβής ζύγιση τους.

Η περιεκτικότητα σε υγρασία υπολογίστηκε ως εξής:

% Υγρασία =	$\frac{(\text{ΤΕΛΙΚΟ ΒΑΡΟΣ} - \text{ΑΡΧΙΚΟ ΒΑΡΟΣ}) \times 100}{\text{ΒΑΡΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}}$
-------------	---

4.2.2 Προσδιορισμός τέφρας

Τρεις κάψες πορσελάνης τοποθετήθηκαν σε πηριαντήριο στους 600°C για μια ώρα. Έπειτα αφέθηκαν να κρυώσουν ελαφρώς και μεταφέρθηκαν σε ξαραντήριο θερμοκρασίας 105°C για 10 min. Περίπου 3 g αλεύρου ζυγίστηκαν με ακρίβεια σε κάθε μια από τις τρεις κάψες, οι οποίες προηγουμένως είχαν ζυγιστεί. Ακολούθησε καψάλισμα σε μάτι κουζίνας μέχρι να σταματήσει να καπνίζει το άλευρο, όπου και τοποθετήθηκε σε πυριαντήριο στους 600°C για 12 ώρες. Ακολούθησε η ακριβής ζύγιση τους.

Η περιεκτικότητα σε τέφρα υπολογίστηκε ως εξής:

% Τέφρα =	$\frac{(\text{ΤΕΛΙΚΟ ΒΑΡΟΣ} - \text{ΑΡΧΙΚΟ ΒΑΡΟΣ}) \times 100}{\text{ΒΑΡΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}}$
-----------	---

4.2.3 Προσδιορισμός λίπους

Ο προσδιορισμός του ολικού λίπους έγινε με τη μέθοδο Soxhlet. Το περιεχόμενο λίπος μετρήθηκε 3 φορές.

Ζυγίστηκαν περίπου 5 g αλεύρου και τοποθετήθηκαν σε φύσιγγα. Σε προζυγισμένη σφαιρική φιάλη με πέτρες βρασμού τοποθετήθηκαν 250 mL διαλύτη πετρελαϊκού αιθέρα. Έπειτα τοποθετήθηκε η φύσιγγα και η σφαιρική φιάλη στον κατάλληλο υποδοχέα της συσκευής Soxhlet. Ακολούθησε βρασμός μέχρι να πραγματοποιηθούν 15 σιφωνισμοί. Στη συνέχεια απομακρύνθηκε η φύσιγγα από τη συσκευή και απομακρύνθηκε προσεκτικά και ο διαλύτης από τη σφαιρική φιάλη. Έγινε ξήρανση της σφαιρικής φιάλης μέχρι να απομακρυνθεί η περρίσεια του διαλύτη και ακολούθησε ακριβής ζύγιση.

Το ποσοστό του ολικού λίπους υπολογίστηκε από τη σχέση:

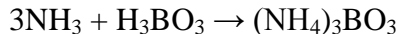
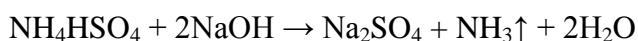
% Λίπος =	$\frac{(\text{ΤΕΛΙΚΟ ΒΑΡΟΣ} - \text{ΑΡΧΙΚΟ ΒΑΡΟΣ}) \times 100}{\text{ΒΑΡΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}}$
-----------	---

4.2.4. Προσδιορισμός πρωτεϊνών

Ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών έγινε με τη μέθοδο Kjeldahl, με τρεις επαναλήψεις για κάθε δείγμα.

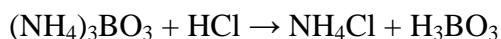
Περίπου 1 g αλεύρου ζυγίστηκε με ακρίβεια σε αναλυτικό ζυγό, μέσα σε άτεφρο ηθμό, το δείγμα τυλίχτηκε προσεκτικά με τον ηθμό και εισήλθε σε φιάλη Kjeldahl. Στη φιάλη προστέθηκαν δυο ταμπλέτες (kjeltabs) (3,5 g K_2SO_4 και 0,4 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) και 20 mL 98% πυκνό H_2SO_4 . Η φιάλη στη συνέχεια θερμάνθηκε στους 400-800°C σε ειδικό μπλοκ θέρμανσης, μέχρι το περιεχόμενο να γίνει πράσινο (λόγω σχηματισμού θειικού χαλκού) και διαυγές.

Μετά την καύση της οργανικής ύλης, που είχε ως αποτέλεσμα την μετατροπή της οργανικής ύλης σε αμμωνιακό άλας (NH_4HSO_4), ακολούθησε απόσταξη κατά την οποία, κάτω από έντονα αλκαλικό περιβάλλον (προσθήκη $NaOH$ 50%) και με σημαντική συμμετοχή της θέρμανσης απελευθερώθηκε αμμωνία (σε αέρια μορφή) η οποία διέφυγε από την άκρη της αποστακτικής συσκευής και δεσμεύτηκε από διάλυμα βορικού οξέος 4%. Το βορικό οξύ που βρισκόταν σε κωνική φιάλη τοποθετήθηκε στο τελευταίο άκρο της συσκευής απόσταξης, το οποίο ήταν εμβαπτισμένο μέσα σε οξύ έτσι ώστε να μην επιτρέπεται στην αμμωνία να διαφύγει στο περιβάλλον, αλλά να δεσμεύεται αμέσως από το βορικό οξύ.



Η δέσμευση της αμμωνίας διαπιστώθηκε με την αλλαγή του χρώματος του δείκτη που είχε προηγουμένα προστεθεί στην κωνική φιάλη μαζί με το βορικό οξύ.

Μετά την ολοκλήρωση της απόσταξης ακολούθησε ογκομέτρηση του παραπάνω ασταθούς συμπλόκου με διάλυμα 0,1 N HCl .



Το % άζωτο υπολογίστηκε από τη σχέση:

% Ολικό Άζωτο =	$\frac{\text{mL } 0,1N \text{ καταναλωθέντος οξέος}}{\text{ΒΑΡΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ}}$
-----------------	---

Για τον υπολογισμό της πρωτεΐνης το ολικό άζωτο πολλαπλασιάστηκε με τον συντελεστή Kjeldahl 6,25.

4.2.5 Προσδιορισμός των συνολικών διαιτητικών ινών

Προετοιμασία δείγματος:

Το σύνολο των διαιτητικών ινών πρέπει να προσδιορίζεται επί ξηρής βάσης, σε δείγμα χαμηλής περιεκτικότητας λιπαρών ή δείγμα χωρίς λιπαρά. Το δείγμα ομογενοποιείται και ξηραίνεται κατά τη διάρκεια της νύχτας σε θερμοκρασία 70°C σε κλίβανο κενού. Στη συνέχεια ψύχεται σε ξηραντήρα, ζυγίζεται εκ νέου, και καταγράφεται η απώλεια βάρους λόγω της ξήρανσης. Πρέπει να διορθώνεται ο τελικός % προσδιορισμός των διαιτητικών ινών τόσο για την αφαιρούμενη υγρασία όσο και για το λίπος.

Μέθοδος:

Κατά τη διάρκεια ολόκληρης της διαδικασίας, μαζί με τα δείγματα εκτελέστηκε και λευκός προσδιορισμός για τη μέτρηση οποιασδήποτε συνεισφοράς των αντιδραστηρίων στο υπόλειμμα.

Ζυγίστηκαν εις διπλούν 1 g δείγματος, με ακρίβεια 0,1 mg, σε ποτήρια ζέσεως των 400 mL. Τα βάρη των δειγμάτων πρέπει να διαφέρουν λιγότερο από 20 mg το ένα από το άλλο. Προστέθηκαν 50 ml φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος (pH=6) σε κάθε ποτήρι και ελέγχτηκε το pH. Εφόσον το pH δεν ήταν ίσο με $6,0 \pm 0,1$, ρυθμίστηκε ανάλογα. Έπειτα προστέθηκαν 50 μ L θερμοανθεκτικού διαλύματος α -αμυλάσης, το ποτήρι ζέσεως καλύφτηκε με αλουμινόχαρτο και τοποθετήθηκε σε ζέον υδατόλουτρο για 15 λεπτά. Σε διαστήματα 5 λεπτών γινόταν απαλή ανακίνηση.

Τα διαλύματα ψύχθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια ρυθμίστηκε το pH τους στο $7,5 \pm 0,1$ με την προσθήκη 10 mL διαλύματος 0,275 N NaOH και προστέθηκαν 100 μ L διαλύματος πρωτεάσης. Τα ποτήρια ζέσεως καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο και επωάστηκαν στους 60°C με συνεχή ανάδευση για 30 λεπτά. Αφού ψύχθηκαν τα διαλύματα, προστέθηκαν 10 mL διαλύματος 0,325 N HCl για να ρυθμιστεί το pH στο $4,5 \pm 0,2$. Έπειτα προστέθηκαν 200 μ L αμυλογλυκοσιδάσης, καλύφθηκαν τα ποτήρια ζέσεως με αλουμινόχαρτο και επωάστηκαν για 30 λεπτά στους 60°C με συνεχή ανάδευση.

Στη συνέχεια προστέθηκαν 280 mL 95% διάλυμα αιθανόλης, το οποίο είχε προθερμανθεί στους 60°C (ο όγκος μετρήθηκε πριν την θέρμανση), και αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 60 λεπτά ώστε να σχηματιστεί ίζημα.

Ζυγίστηκε ένα χωνευτήριο που περιείχε Κελίτη με ακρίβεια 0,1 mg, ύστερα διαβρέχτηκε και διανεμήθηκε ο Κελίτης στη βάση του χωνευτηρίου με τη χρήση ρεύματος 78% διάλυμα αιθανόλης από την φιάλη πλύσης. Έπειτα εφαρμόστηκε κενό για να αντληθεί ο Κελίτης στο πορώδες γυαλί. Διατηρήθηκε αναρρόφηση και ποσοτική μεταφορά ιζήματος από τη χώνευση του ενζύμου στο χωνευτήριο. Στη συνέχεια έγινε έκλυση του υπολείμματος διαδοχικά με τρεις δόσεις των 20 mL 78% διάλυμα αιθανόλης, δύο δόσεις των 10 mL 95% διάλυμα αιθανόλης και δύο δόσεις των 10 mL ακετόνης. Το περιεχόμενο ίζημα του χωνευτηρίου ξηράθηκε κατά τη διάρκεια της νύχτας στους

4.2.6 Εμπλουτισμός πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης

Στο άλευρο από φύτρο χαρουπιού έγινε απολίπανση με εξάνιο. Έτσι ζυγίστηκαν από δυο φορές περίπου 5 g αλεύρου, το οποίο τοποθετήθηκε σε διηθητικό χαρτί προσαρμοσμένο σε χωνί διηθητικής κωνικής φιάλης. Τα δείγματα διηθήθηκαν με 100 mL εξάνιο το καθένα. Με την ολοκλήρωση της διήθησης, η προζυγισμένη κωνική φιάλη που περιείχε το εξάνιο και το λίπος τοποθετήθηκε σε ξηραντήριο θερμοκρασίας 85°C μέχρι ολικής εξάτμισης του διαλύτη και στη συνέχεια ζυγίστηκε το βάρος της φιάλης και του λίπους. Στη συνέχεια το άλευρο λυοφιλοποιήθηκε για τρεις μέρες ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια εξανίου και υγρασίας από τη μάζα του. Το άλευρο φυλάχθηκε σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να χρησιμοποιηθεί.

Στο άλευρο που προέκυψε μετά την απολίπανση προσδιορίστηκε η ολική πρωτεΐνη με τη μέθοδο Kjeldahl, με τρεις επαναλήψεις για κάθε δείγμα. Η διαδικασία της μεθόδου περιγράφηκε αναλυτικά σε προηγούμενο κεφάλαιο.

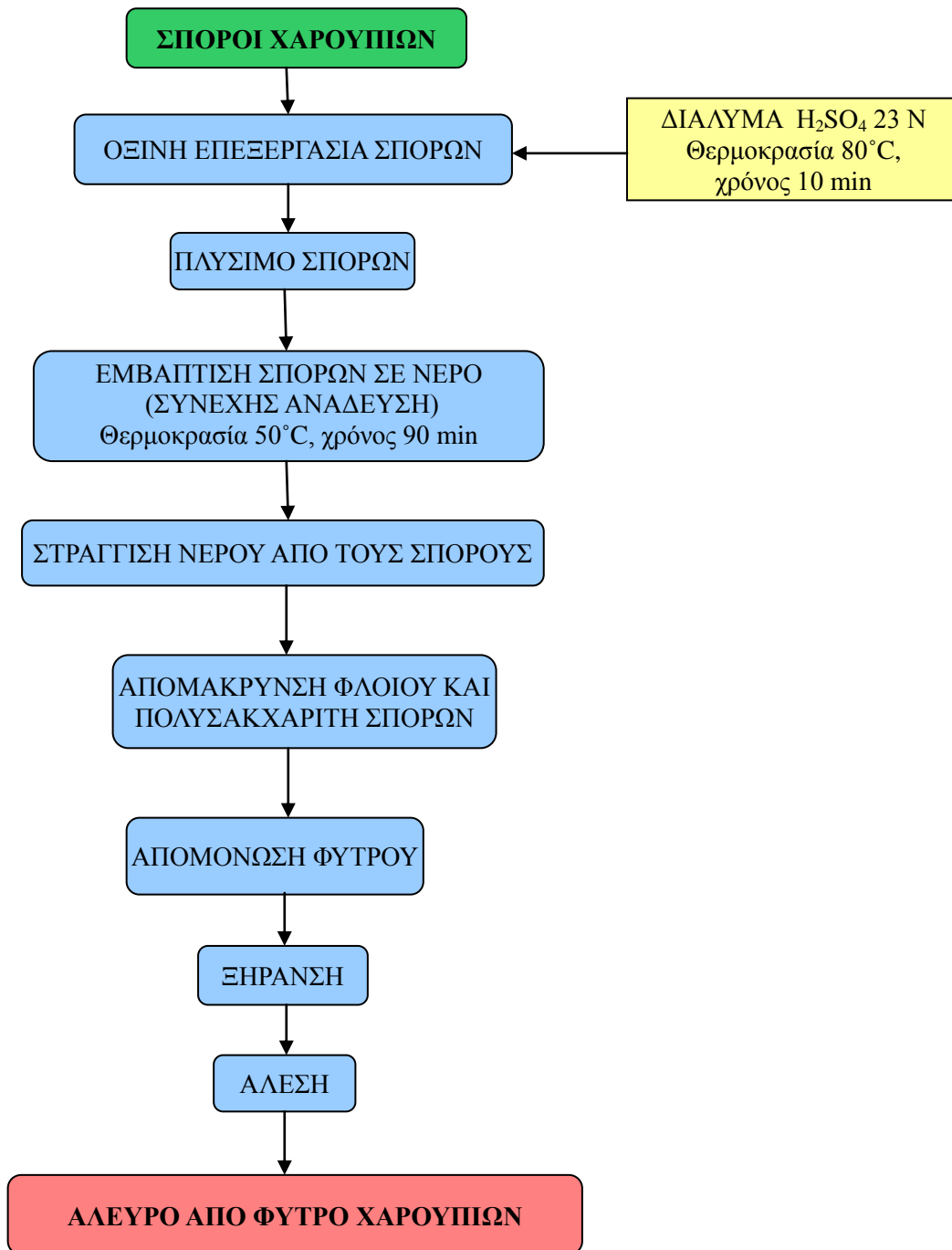
4.2.7 Προφίλ διαλυτότητας του εμπλουτισμένου πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης

Για τον προσδιορισμό του ισοηλεκτρικού σημείου των πρωτεϊνών του κλάσματος καρουβίνης, παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα διασποράς 1 g αλεύρου περίπου σε 40 mL απεσταγμένου νερού. Το pH των διαφορετικών διαλυμάτων ρυθμίστηκε με προσθήκη 6 N HCl ή 6 N NaOH, ώστε να δημιουργηθούν διαλύματα με pH 2, 4, 6, 8, 10 και 12. Τα διαλύματα φυγοκεντρήθηκαν και το υπερκείμενο υγρό αναλύθηκε. Τα ποσοστά της διαλυτής πρωτεΐνης στο υπερκείμενο υγρό σε σχέση με τη συνολική εκχυλισθείσα πρωτεΐνη παριστάνεται γραφικώς συναρτήσει της τιμής του pH. Θεωρούμε το ισοηλεκτρικό σημείο ως την ελάχιστη διαλυτότητα της πρωτεΐνης.

5. Αποτελέσματα και συζήτηση

5.1 Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διαδικασίας απομόνωσης του φύτρου χαρουπιού και παραλαβής αλεύρου από αυτό

Τα διαδοχικά στάδια που ακολουθήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία παρουσιάζονται στο Σχήμα 7.



Σχήμα 7: Διάγραμμα ροής πειραματικής διαδικασίας διαχωρισμού του φύτρου από σπόρους χαρουπιού

5.2 Ποσοτική απόδοση φύτρου και ενδοσπερμίου

Από τα 1000 g σπόρων που επεξεργάστηκαν συνολικά, προέκυψαν 196,5g καθαρό φύτρο και 511,6 g καθαρό ενδοσπέρμιο (Πίνακας 8). Η ποσότητα των 291,9 g (29,1%) που υπολείπεται, αντιστοιχεί στον φλοιό των σπόρων που υπέστη καύση από το θειικό οξύ. Όμως ένα μικρό μέρος της ποσότητας αυτής αντιστοιχεί σε απώλειες λόγω ανθρώπινων χειρισμών κατά τον χειρωνακτικό διαχωρισμό των επιμέρους τμημάτων του κάθε σπόρου χαρουπιού.

Πίνακας 8: Απόδοση σε g φύτρου και ενδοσπερμίου από σπόρους χαρουπιού

Παρτίδα	Ποσότητα Σπόρων	Φύτρο (g)	Ενδοσπέρμιο (g)
1 ^η	200g	40,1	103,1
2 ^η	200g	38,7	99,3
3 ^η	100g	19,9	53,0
4 ^η	100g	20,2	61,2
5 ^η	200g	38,4	96,8
6 ^η	200g	39,2	98,2
ΣΥΝΟΛΟ	1000g	196,5g	511,6g
Ποσοστό %	100%	19,7%	51,2%

5.3 Μέση σύσταση του φύτρου

Στον Πίνακα 9 παρουσιάζεται η χημική σύνθεση του φύτρου ύστερα από χημική προεργασία ολόκληρων σπόρων χαρουπιού.

Πίνακας 9: Χημική σύσταση (Μέσος Όρος 3 επαναλήψεων \pm τυπική απόκλιση) αλεύρου από φύτρο χαρουπιού (%)

	M.O. (%)
ΥΓΡΑΣΙΑ	8,03 \pm 0,05
ΤΕΦΡΑ	6,28 \pm 0,02
ΠΡΩΤΕΪΝΗ	64,07 \pm 1,25
ΛΙΠΟΣ	9,30 \pm 1,68
ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΙΝΕΣ	12,32

Η χημική σύσταση του αλεύρου από φύτρο χαρουπιών που παραλήφθηκε κατά την πειραματική διαδικασία, βρέθηκε ότι είναι η εξής: υγρασία 8,03%, τέφρα 6,28%, ολικό λίπος 9,30%, ολικές διαιτητικές ίνες 12,32% και ολική πρωτεΐνη 64,07%. Η αντίστοιχη σύσταση για το άλευρο σόγιας είναι: υγρασία 6,11 %, τέφρα 2,95%, ολικό λίπος 14,03%, ολικές διαιτητικές ίνες 0,21% και ολική πρωτεΐνη 36%. Επίσης, η σύσταση στο άλευρο από λευκό λούπινο είναι η εξής: υγρασία 8,32%, τέφρα 0,13%, ολικό λίπος 5,95%, ολικές διαιτητικές ίνες 16,2% και ολική πρωτεΐνη 32,2%. Όπως παρατηρούμε, το άλευρο του φύτρου χαρουπιού περιέχει το μεγαλύτερο ποσοστό ολικής πρωτεΐνης σε σύγκριση με το ποσοστό περιεχόμενης πρωτεΐνης των αλεύρων σόγιας και λούπινου. Συνεπώς, το άλευρο από φύτρο χαρουπιών αποτελεί μία πολύτιμη πηγή πρωτεϊνών, η οποία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως πρωτεϊνικό συμπλήρωμα σε προϊόντα ελεύθερα γλουτένης

5.4 Χημική σύσταση εμπλουτισμένου πρωτεϊνικού κλάσματος καρουβίνης

Κατά την απολίπανση απομακρύνθηκε 6,9% λίπος από το αλεύρο του φύτρου (Πίνακας 10). Μετά την απολίπανση το κλάσμα καρουβίνης αποτελούταν από 69,15% πρωτεΐνη (Πίνακας 11).

Πίνακας 10: Ποσοστό λίπους (Μέσος Όρος \pm τυπική απόκλιση) που απομακρύνθηκε κατά την απολίπανση

	Μ.Ο. Λίπους (%)
Δείγμα 1ο	6,9 \pm 0,30
Δείγμα 2ο	

Πίνακας 11: Ποσοστό πρωτεΐνης (Μέσος Όρος \pm τυπική απόκλιση) στο πρωτεϊνικά εμπλουτισμένο κλάσμα καρουβίνης

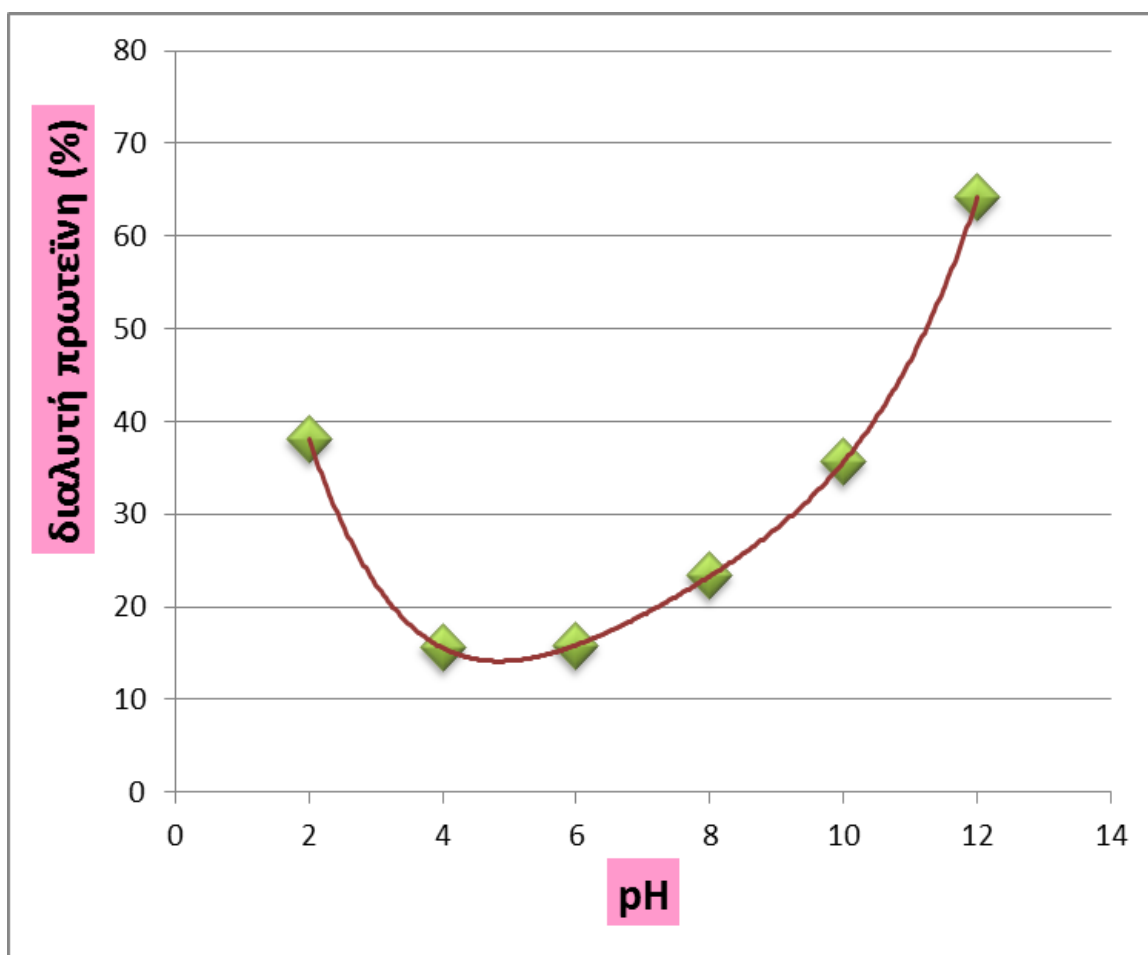
	Μ.Ο. Πρωτεΐνης (%)
Δείγμα 1 ^ο	69,15 \pm 0,48
Δείγμα 2 ^ο	
Δείγμα 3 ^ο	

5.5 Προφίλ διαλυτότητας της καρουβίνης

Το προφίλ διαλυτότητας του πρωτεϊνικά εμπλουτισμένου αλεύρου από φύτρο χαρουπιών ελήφθη προκειμένου να γίνει γνωστό το pH που αντιστοιχεί στο ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών χαρουπιού. Η γνώση της ελάχιστης διαλυτότητας της πρωτεΐνης είναι απαραίτητη για την εκτέλεση της διαδικασίας απομόνωσης. Το Σχήμα 8 δείχνει ότι το ισοηλεκτρικό σημείο (IEP) των πρωτεϊνών βρίσκεται κοντά σε pH 4.0 – 6.0. Αυτό σημαίνει ότι οι πρωτεΐνες είναι περισσότερο διαλυτές σε pH < 4 και pH > 6. Η διαλυτότητα είναι μια σημαντική ιδιότητα όταν εξετάζονται λειτουργικές ιδιότητες όπως δημιουργία πηκτής, γαλακτωματοποίηση ή αφρισμός.

Πίνακας 12: Ποσοστό (%) διαλυτής πρωτεΐνης σε διάφορες τιμές pH

pH	2	4	6	8	10	12
Δείγμα 1	38,05	15,57	15,82	23,35	35,63	64,13
Δείγμα 2	38,62	15,68	14,91	22,02	38,33	67,56
Δείγμα 3	37,91	16,20	15,16	22,58	36,11	65,67
M.O ± τυπική απόκλιση	38,19 ± 0,38	15,82 ± 0,34	15,30 ± 0,47	22,69 ± 0,94	36,69 ± 1,44	65,79 ± 1,72



Σχήμα 8: Προφίλ διαλυτότητας του πρωτεϊνικά εμπλουτισμένου αλεύρου από φυτό χαρουπιών
(Διαλυτότητα % vs pH)

6. Συμπεράσματα

Η κατάλληλη μέθοδος διαχωρισμού των σπόρων χαρουπιού στα επιμέρους τμήματά τους, δηλαδή στο φύτρο και στο ενδοσπέριο, είναι η όξινη θερμική κατεργασία με διάλυμα H_2SO_4 23 N στους $80^\circ C$ για 10 min, διότι ήταν η μοναδική που απέφερε το επιθυμητό αποτέλεσμα κατά την πειραματική μας διεργασία.

Το άλευρο από φύτρο χαρουπιών διαθέτει κατά πολύ υψηλότερο ποσοστό ολικής πρωτεΐνης σε σχέση με τα άλευρα σόγιας και λούπινου. Συνεπώς, το άλευρο από φύτρο χαρουπιών αποτελεί μία πολύτιμη πηγή πρωτεϊνών, η οποία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως πρωτεϊνικό συμπλήρωμα σε προϊόντα ελεύθερα γλουτένης. Επίσης, το αυξημένο ποσοστό ολικών διαιτητικών ινών, καθώς επίσης και ανόργανων συστατικών του συγκεκριμένου αλεύρου, συγκριτικά με τα αντίστοιχα ποσοστά τόσο στο άλευρο λευκού λούπινου, όσο και σε αυτό της σόγιας, καταδεικνύει γενικότερα την σπουδαιότητα του αλεύρου από φύτρο χαρουπιών ως προς την διαθρεπτική του αξία σε σχέση με άλλα άλευρα. Αξίζει να σημειωθεί και η σημαντικά χαμηλότερη περιεκτικότητα λίπους σε σχέση με το άλευρο σόγιας.

Το εμπλουτισμένο πρωτεϊνικό κλάσμα καρουβίνης που παραλήφθηκε αποτελούταν από 69,15% πρωτεΐνη, όπου οι πρωτεΐνες αυτές παρουσιάζουν μεγαλύτερη διαλυτότητα σε τιμές $pH < 4$ και $pH > 6$.

7. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

- Διερεύνηση και χαρακτηρισμός του αλεύρου από φύτρο χαρουπιών από άλλες κυπριακές ποικιλίες ώστε να μελετηθεί η επίδραση του γενετικού παράγοντα.
- Αξιοποίηση του απομονωθέντος υλικού για πειραματική αρτοποιία σε προϊόντα ελεύθερα γλουτένης.
- Ρεολογικός χαρακτηρισμός του πρωτεϊνικού συμπυκνώματος.
- Μελέτη των λειτουργικών ιδιοτήτων του πρωτεϊνικού συμπυκνώματος.

7. Βιβλιογραφία

- Barac M.B., Stanojević S.P., Jovanović S.T. and Pešić M.B. (2004). Soy protein modification – A review. *Acta periodica technologica, APTEFF*, 35, 3-16.
- Batlle I. and Tous J. (1997). Carob tree. *Ceratonia siliqua L.* IPGRI. Rome. Italy.
- Bengoechea C., Puppo M.C., Romero A., Cordobes F. and Guerrero A. (2008). Linear and non-linear viscoelasticity of emulsions containing carob protein as emulsifier. *Journal of Food Engineering*, 87, 124-135.
- Bengoechea C., Romero A., Villanueva A., Moreno G., Alaiz M., Millán F., Guerrero A. and Puppo M.C. (2008). Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua L.*) germ proteins. *Food Chemistry*, 107, 675-683.
- Bernardo-Gil M.G., Roque R., Roseiro L.B., Duarte L.C., Gírio F. and Esteves P. (2011). Supercritical extraction of carob kibbles (*Ceratonia siliqua L.*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 59, 36-42.
- Dakia P.A., Blecker C., Robert C., Wathelet B. and Paquot M. (2008). Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids*, 22, 807–818.
- Dakia P. A., Wathelet B. and Paquot M. (2007). Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua L.*) seed germ. *Food Chemistry*, 102, 1368-1374.
- Duranti M., Consonni A., Magni C., Sessa F. and Scarafiori A. (2008). The major proteins of lupin seed: Characterisation and molecular properties for use as functional and nutraceutical ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 624-633.
- Edema M.O., Sanni L.O. and Sanni A.I. (2005). Evaluation of maize-soybean flour blends for sour maize bread production in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 4 (9), 911-918.
- Erbaş M., Certel M. and Uslu M.K. (2005). Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus L.*). *Food Chemistry*, 89, 341-345.
- Feillet P. and Roulland T. M. (1998). Caroubin: A Gluten-like Protein Isolate from Carob Bean Germ. *Cereal Chemistry*, 75 (4), 488-492.
- Karababa E. and Coşkuner Y. (2013). Physical properties of carob bean (*Ceratonia siliqua L.*): An industrial gum yielding crop. *Industrial Crops and Products*, 42, 440-446.
- Kawamura Y. (2008). CAROB BEAN GUM, Chemical and Technical Assessment (CTA). http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/69/Carob_bean_gum.pdf. Accessed February 2, 2013.
- Kuiken K.A. and Lyman C.M. (1949). Essential amino acid composition of soy bean meals prepared from twenty strains of soy beans. *The Journal of Biological Chemistry*, 177, 29-36.
- Lazaridou A., Duta D., Papageorgiou M., Belc N., Biliaderis C.G. (2007). Effects of

- hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten – free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79, 1033–1047.
- Markis D.P. and Kefalas P. (2004). Carob Pod (*Ceratonia siliqua L.*) as a Source of Polyphenolic Antioxidants. *Food Technology and Biotechnology*, 42 (2), 105–108.
 - Marco C. and Rosell C.M. (2008). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227, 1205–1213.
 - Plaut M., Zelcbuch B. and Guggenheim K. (1953). Nutritive and baking properties of carob germ flour. *Bulletin of the Research Council of Isreal*, 3, 129-131.
 - Puhan Z. and Wielinga M.W. (1996). Products derived from carob pods with particular emphasis on carob bean gum (CBG). Report Technical Committee of INEC (unpublished).
 - Smith B.M., Bean S.R., Schober T.J., Tilley M., Herald T.J. and Aramouni F. (2010). Composition and Molecular Weight Distribution of Carob Germ Protein Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 7794–7800.
 - Wang Y., Belton P.S., Bridon H., Garanger E., Wellner N., Parker M. L., Grant A., Feillet P. and Noel T.R. (2001). Physicochemical Studies of Caroubin: A Gluten-like Protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3414-3419.
 - http://amazonsday.blogspot.gr/2012/01/blog-post_06.html. Accessed March 1, 2013.
 - <http://www.cargillfoods.com/emea/en/products/hydrocolloids/galactomannans/functionality/index.jsp>. Accessed March 3, 2013.
 - <http://www.fytopromitheyтики.gr /χαρουπιά--ξυλοκερατιά--p-1468.html>. Accessed March 16, 2013.
 - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686184/>. Accessed February 10, 2013.