



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ &

ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

## **ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Διατροφική αξία αλεύρων από φύτρο χαρουπιού, μελέτη της χημικής  
σύστασης τριών ποικιλιών της Κύπρου**

Αλεξιάδου Αριάδνη

Αλεξιάδου Ελένη

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013

**Διατροφική αξία αλεύρων από φύτρο χαρουπιού, μελέτη της χημικής  
σύστασης τριών ποικιλιών της Κύπρου**

Αλεξιάδου Αριάδνη

Αλεξιάδου Ελένη

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ΑΤΕΙ),

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

Ημερομηνία: 25/09/2013

Εισηγήτρια: Παπαγεωργίου Μαρία

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Ευχαριστούμε την Κα Μαρία Παπαγεωργίου για τη γενικότερη καθοδήγηση και συμβολή της κατά τη σύνταξη της πτυχιακής μας εργασίας. 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 κ. Αθανάσιο Κόκκαλη.

Ευχαριστίες εκφράζονται και στον κ. Στέλιο Γιαννόπουλο, χημικό του Γενικού Χημείου της Κύπρου για τη διεξαγωγή του προσδιορισμού των αμινοξέων καθώς και τον ΕΛΓΟ Δήμητρα όπου έγιναν οι μετρήσεις ICP-OES.

# **Διατροφική αξία αλεύρων από φύτρο χαρουπιού, μελέτη της χημικής σύστασης τριών ποικιλιών της Κύπρου**

Αλεξιάδου Αριάδνη - Αλεξιάδου Ελένη

Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης (ATEI),

Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, 57400 Θεσσαλονίκης ΤΘ 141

## **Περίληψη**

Η παρούσα εργασία έγινε προκειμένου να μελετηθεί η χημική σύσταση του φύτρου του χαρουπιού σε τρεις ποικιλίες. Η απομόνωση του φύτρου έγινε με όξινη θερμική επεξεργασία των σπόρων του χαρουπιού με την χρήση διαλύματος θειικού οξέος ( $H_2SO_4$  23N) σε θερμοκρασία 80 °C για 7 λεπτά, έπειτα οι σπόροι του φύτρου που απομονώθηκαν, ξηράθηκαν και αλέστηκαν σε άλευρο. Το άλευρο αυτό χρησιμοποιήθηκε για να γίνουν οι παρακάτω προσδιορισμοί: προσδιορισμός υγρασίας %, τέφρας %, ανόργανης σύστασης σε συσκευή ICP-OES (Thermo Jarrel Ath IRIS Advantage), λίπους % , πρωτεΐνης, αμινοξέων με υγρή χρωματογραφία HPLC και ολικών διαιτητικών ινών. Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν για την υγρασία, τέφρα, πρωτεΐνη και ολικές διαιτητικές ίνες μεταξύ των ποικιλιών ενώ δε παρατηρήθηκαν διαφορές στο ποσοστό λίπους.

Η ποικιλία Κουντούρκα με 676 mg/100g φύτρου έχει τη μεγαλύτερη θρεπτική αξία σε ασβέστιο. Εκατό g αλεύρου φύτρου των ποικιλιών Κουντούρκα και Κουμποτά είναι σε θέση να καλύψουν της ανάγκες της ημερήσιας πρόσληψης σε μαγνήσιο. Οι τρεις ποικιλίες θεωρούνται καλές πηγές φωσφόρου και μαγγανίου. Η ποικιλία Τυλλιλία με 16,9 mg/100g φύτρου έχει μεγαλύτερη θρεπτική αξία σε σίδηρο από τις άλλες δύο ποικιλίες.

Τα αμινοξέα γλουταμινικό οξύ, αργινίνη και ασπαραγινικό οξύ παρουσίασαν την μεγαλύτερη περιεκτικότητα, ενώ την μικρότερη τα αμινοξέα μεθειονίνη, κυστεΐνη και τυροσίνη. Η μεγαλύτερη συνολική (αθροιστική) περιεκτικότητα των αμινοξέων ανήκει στα αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα και στις τρεις ποικιλίες σε σύγκριση με τα θετικά φορτισμένα.

## **Περιεχόμενα**

<b>Κεφάλαιο 1.</b> Εισαγωγή	11
<b>Κεφάλαιο 2.</b> Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	13
2.1. Χαρουπιά	13
2.2. Σύσταση του λοβού και του σπόρου	15
Χημική σύσταση του λοβού	16
Χημική σύσταση του ενδοσπερμίου	17
Χημική σύσταση του φύτρου	20
2.3. Απομόνωση του φύτρου	26
2.4. Χρήσεις του φύτρου	26
<b>Κεφάλαιο 3.</b> Σκοπός της άσκησης	28
<b>Κεφάλαιο 4.</b> Πειραματικό μέρος	29
4.1. Υλικά και μέθοδοι	29
4.1.1. Χαρούπια	29
4.1.2. Αντιδραστήρια	30
4.1.3. Μορφολογικά χαρακτηριστικά των ποικιλιών	30
4.1.4. Μέθοδος διαχωρισμού του φύτρου	30
4.2. Μέθοδοι αναλύσεις	31
4.2.1. Προσδιορισμός της υγρασίας του αλεύρου	31
Υλικά- Όργανα	31
Τεχνική	31
4.2.2. Προσδιορισμός της τέφρας του αλεύρου	31
Υλικά- Όργανα	31
Τεχνική	32
4.2.3. Προσδιορισμός της ανόργανης σύστασης με φασματομετρία οπτικής εκπομπής (ICP-OES)	32

Υλικά	32
Τεχνική	33
4.2.4. Προσδιορισμός λίπους με την μέθοδο <i>Soxhlet</i>	34
Υλικά- Όργανα	34
Τεχνική	34
4.2.5. Προσδιορισμός πρωτεϊνών κατά <i>Kjeldahl</i>	36
Υλικά – όργανα	36
Τεχνική	36
4.2.6. Προσδιορισμός των αμινοξέων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης	39
Υλικά	39
Συσκευές	40
Τεχνική	40
Οξείδωση	41
Υδρόλυση	41
Χρωματογραφία	41
Υπολογισμός των συγκεντρώσεων των γραφημάτων	42
4.2.7. Προσδιορισμός διαιτητικών ινών	42
Υλικά	42
Τεχνική	43
<b>Κεφάλαιο 5. Αποτελέσματα και Συζήτηση</b>	46
5.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά	46
5.2 Απόδοση των σπόρων κάθε ποικιλίας σε άλευρο φύτρου	47
5.3 Υγρασία των αλεύρων	48
5.4. Προσδιορισμός τέφρας	49
5.5.Προσδιορισμός ανόργανης σύστασης με φασματομετρία οπτικής εκπομπής (ICP-OES)	51
5.6. Προσδιορισμός λίπους με την μέθοδο <i>Soxhlet</i>	54

5.7. Προσδιορισμός πρωτεϊνών κατά Kjeldahl	56
5.8. Προσδιορισμός των αμινοξέων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης	57
Κουμποτά	57
Κουντούρκα	59
Τυλλιρία	60
Σύγκριση αποτελεσμάτων των αμινοξέων των τριών ποικιλιών	61
5.8 Προσδιορισμός ολικών διαιτητικών ινών	63
<b>Κεφάλαιο 6. Συμπεράσματα</b>	65
<b>Κεφάλαιο 7. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα</b>	67
<b>Βιβλιογραφία</b>	68

## **Σχήματα και πίνακες που περιέχονται μέσα στην πτυχιακή εργασία.**

### ***Σχήματα:***

<u>Σχήμα 1</u> Δέντρο χαρουπιάς (Batlle and Tous, 1997)	14
<u>Σχήμα 2</u> Σχηματική απεικόνιση του λοβού και του σπόρου του χαρουπιού. (Batlle and Tous, 1997)	14
<u>Σχήμα 3</u> Παγκόσμια παραγωγή της χαρουπιάς. (Batlle and Tous, 1997)	15
<u>Σχήμα 4</u> Αναλογία της σύστασης του χαρουπιού σε μόρια γαλακτόζης, μαννόζης (Smith, 1948)	18
<u>Σχήμα 5</u> Ποικιλίες χαρουπιών που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος (a) Τυλλιρίας (b) Κουντούρκα (c) Κουμποτά	29
<u>Σχήμα 6.</u> Διάγραμμα ροής πειραματικής διαδικασίας διαχωρισμού του φύτρου από σπόρους χαρουπιού	30
<u>Σχήμα 7</u> Διάταξη της συσκευής απόσταξης Soxhlet	35
<u>Σχήμα 8</u> Συσκευή απόσταξης Kjeldahl	38
<u>Σχήμα 9</u> Αναλυτική απεικόνιση του προσδιορισμού των ολικών διαιτητικών ινών	35
<u>Σχήμα 10.</u> Σύγκριση των μέσων όρων της υγρασίας (%) με τον έλεγχο Tukey.	49
<u>Σχήμα 11</u> Σύγκριση των μέσων όρων της τέφρας (%) με τον έλεγχο Tukey	51
<u>Σχήμα 12</u> Σύγκριση των μέσων όρων της πρωτεΐνης (%) με τον έλεγχο Tukey	57
<u>Σχήμα 13</u> Σύγκριση των μέσων όρων των ολικών διαιτητικών ινών (%) με τον έλεγχο Tukey	64



## Πίνακες:

<u>Πίνακας 1</u> Μέση σύνθεση λοβού της χαρουπιάς ( Batlle and Tous, 1997)	16
<u>Πίνακας 2</u> Μέση σύνθεση του ενδοσπερμίου (Dakia et al, 2008)	17
<u>Πίνακας 3</u> Λειτουργικές ιδιότητες της γαλακτομαννάνης και οι εφαρμογές της. ( Batlle and Tous, 1997)	18
<u>Πίνακας 4</u> Μέση σύνθεση των φύτρων της χαρουπιάς (Bethy et. al., 1989)	21
<u>Πίνακας 5</u> Η περιεκτικότητα των αμινοξέων στο φύτρο του χαρουπιού (Bengoechea et. al., 2008; Bethy et. al., 1989)	23
<u>Πίνακας 6</u> Η σύσταση των λιπαρών οξέων του λίπους του φύτρου (Maza et. al., 1989)	24
<u>Πίνακας 7</u> Η σύσταση των τριγλυκεριδίων του λίπους του φύτρου (Maza et. al., 1989)	25
<u>Πίνακας 8</u> Μορφολογικά χαρακτηριστικά των τριών ποικιλιών (Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα)	46
<u>Πίνακας 9</u> Απόδοση (%) σε ξηρό άλευρο φύτρου της κάθε ποικιλίας (Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα)	47
<u>Πίνακας 10</u> Υγρασία (%) για κάθε ποικιλία (Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα)	48
<u>Πίνακας 11</u> Τέφρα (%) για κάθε ποικιλία (Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα)	50
<u>Πίνακας 12</u> Ανόργανα στοιχεία της κάθε ποικιλίας σε mg/100g δείγματος (Κουμποτά, Κουντούρκα, Τυλλιλία)	52
<u>Πίνακας 13</u> Λίπους % επί ξηρού και ως έχει αλεύρου για κάθε ποικιλία (Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα) της μεθόδου Soxhlet	55
<u>Πίνακας 14</u> Πρωτεΐνη (%) για κάθε ποικιλία (Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα) με τη μέθοδο Kjeldahl.	56

<u>Πίνακας 15</u> Αποτελέσματα του προσδιορισμού των αμινοξέων σε g/100g της ποικιλίας των Κουμποτά .	58
<u>Πίνακας 16</u> Αποτελέσματα του προσδιορισμού των αμινοξέων σε g/100g της ποικιλίας Κουντούρκα.	59
<u>Πίνακας 17</u> Αποτελέσματα του προσδιορισμού των αμινοξέων σε g/100g της ποικιλίας Τυλλιλία.	60
<u>Πίνακας 18</u> Ολικές διαιτητικές ίνες (%) στις τρεις ποικιλίες Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα.	63

## Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

Η χαρουπιά είναι ένα από τα πιο χρήσιμα δέντρα της λεκάνης της Μεσογείου με εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων ως πηγή κόμεος. Χρησιμοποιείται για την παραγωγή αλεύρων από φύτρο χαρουπιού με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και ιδιαίτερα ακόρεστα λιπαρά, και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαιτητικό τρόφιμο. Η χαρουπιά περιέχει καρουβίνη, μια πρωτεΐνη με ιδιότητες παρόμοιες με της γλουτένης, η οποία προσδίδει στο αλεύρι του χαρουπιού την ικανότητα αντικατάστασης της γλουτένης σε τρόφιμα που προέρχονται από σιτηρά για τους πάσχοντες από κοιλιοκάκη. (Custódio et al., 2011)

Η χαρουπιά είναι αειθαλές δέντρο που φυτρώνει σε όλη την περιοχή της Μεσογείου, κυρίως στην Ισπανία, την Ιταλία, την Πορτογαλία και το Μαρόκο. Η παγκόσμια παραγωγή των εμπορικών σπόρων χαρουπιάς είναι περίπου 32000 τόνοι / έτος (Dakia et al., 2007)

Οι καλύτερες ποικιλίες είναι εκείνες που καλλιεργούνται στη Συρία και την Παλαιστίνη. Στην Ιορδανία, οι χαρουπιές υπολογίζονται σε περίπου 200.000 και βρίσκονται ευρέως αυτοφυής σε πολλές περιοχές, κυρίως στα βόρεια. Μια ραγδαία ανάπτυξη της χαρουπιάς έχει αναφερθεί τα τελευταία χρόνια. (Yousif & Alghzawi, 2000)

Η εμπορική αξία της χαρουπιάς οφείλεται κατά κύριο λόγο στους σπόρους, οι οποίοι έχουν πολλές εφαρμογές στις βιομηχανίες τροφίμων και καλλυντικών. Οι λοβοί χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε υδατάνθρακες, φυτικές ίνες και της χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρές ουσίες (Dakia et al., 2007). Για τους ανθρώπους, οι λοβοί της χαρουπιάς έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως ως υποκατάστατο του κακάο σε ορισμένες χώρες, λόγω της χαμηλής τιμής του και της απουσίας της καφεΐνης (Kumazawa et al., 2002). Επιπλέον, έχει αποδοθεί στο λοβό χαρουπιάς αντιοξειδωτική ικανότητα λόγω της παρουσίας των πολυφαινολών, που είναι κυρίως συμπυκνωμένες ταννίνες. Το αλεύρι του χαρουπιού έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες. Λόγω της αυξανόμενης ζήτησης για υγιεινά προϊόντα διατροφής, έχει χρησιμοποιηθεί αλεύρι χαρουπιάς για τον εμπλουτισμό λειτουργικών προϊόντων, όπως τα μπισκότα. (Dakia et al., 2007).

Σήμερα, το χαρούπι αξιοποιείται κατά κύριο λόγο για το βιομηχανικό μετασχηματισμό των σπόρων, για την απόκτηση του αλεύρου του ενδοσπερμίου από το οποίο παραλαμβάνεται το κόμμι χαρουπιού που χρησιμοποιείται ως πυκνωτικό μέσο σε παρασκευάσματα τροφίμων λόγω της ικανότητάς του να σχηματίζει διαλύματα με υψηλό ιξώδες και για τη σταθεροποίηση των προϊόντων. (Rizzo et al., 2004)

Το άλευρο από φύτρο 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).

Το φύτρο έχει μια σημαντική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη η οποία είναι ικανή να αξιοποιηθεί ως λειτουργική πρωτεΐνη. Η καρουβίνη είναι ουσιαστικά μια μη υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη που έχει αναφερθεί ότι διαθέτει παρόμοιες ρεολογικές ιδιότητες με αυτές της γλουτένης. (Bengoechea et al., 2008)

Το αλεύρι του χαρουπιού θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένα φυσικό συστατικό στην δημιουργία νέων λειτουργικών τροφίμων, που θα έχουν βάση την υψηλή περιεκτικότητά σε φυτικές ίνες και τα χαμηλά επίπεδα λίπους, καθώς και τη χαμηλή περιεκτικότητά σε αλκαλοειδή. (Ortega et al., 2009)

Για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης, έγινε η απομόνωση του φύτρου του χαρουπιού από τρεις ποικιλίες. Έπειτα πραγματοποιήθηκε ξήρανση και άλεση των φύτρων έως ότου αυτό που θα αποκτήσουμε θα είναι υπό μορφή αλεύρου. Για το κάθε άλευρο θα πραγματοποιηθούν ορισμένες μελέτες για την αξιολόγηση της χημικής σύστασης της κάθε ποικιλίας.

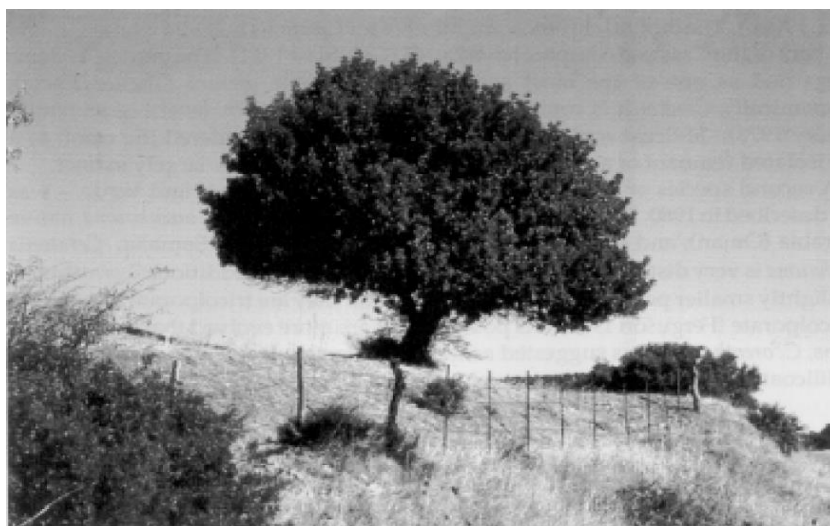
## Κεφάλαιο 2. Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

### 2.1. Χαρουπιά

Η επιστημονική ονομασία του χαρουπιού προέρχεται από την ελληνική λέξη Κεράς, κέρατο, και τη Λατινική *siliqua*, υποδηλώνοντας την σκληρότητα και το σχήμα του λοβού. Η κοινή ονομασία του προέρχεται από την εβραϊκή *kharuv*, από την οποία προέρχεται μεταγενέστερα στα ελληνικά ως *charaoupi*. Στα κοσμηματοπωλεία χρησιμοποιείται η έννοια του σπόρου ως μονάδα βάρους (200 mg), του καρατιού.

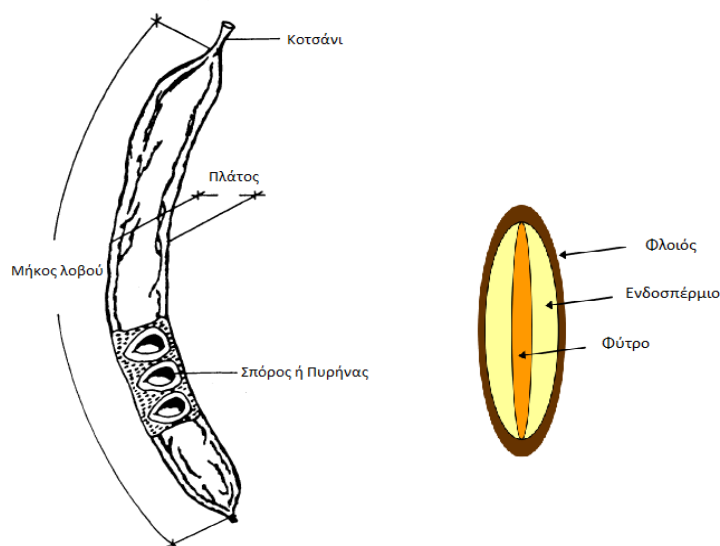
Η χαρουπιά είναι ένα όσπριο της οικογένειας *Leguminose* και του γένους *Rosales*. Είναι το μόνο μεσογειακό δέντρο με κύρια περίοδο ανθοφορίας το φθινόπωρο (Σεπτέμβριος-Νοέμβριος), παρόμοιο με πολλά γνήσια τροπικά φυτά. Ο χρόνος και η διάρκεια της περιόδου άνθησης εξαρτάται από τις τοπικές κλιματικές 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 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 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).



**Σχήμα 1.** Δέντρο χαρουπιάς (Batlle and Tous, 1997)

Ο καρπός είναι ένας επιμήκης λοβός, συμπιεσμένος, 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 χαρούπια 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 συμπιεσμένοι 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; Kawamura, 2008).



**Σχήμα 2.** Σχηματική απεικόνιση του λοβού και του σπόρου του χαρουπιού (Batlle and Tous, 1997)

Η χαρουπιά αναπτύσσεται συχνά σε χαμηλά υψόμετρα κατά μήκος των ισπανικών ακτών της Μεσογείου, νοτιοδυτικά της Ισπανίας, στα νότια της Πορτογαλίας, στις Βαlearίδες Νήσους, στην νοτιοανατολική Γαλλία, στις ακτές της νότιας Ιταλίας όπως της Σικελία, στην Αδριατική ακτή της Κροατίας, στην περιοχή του Αιγαίου στην Ελλάδα και στην Τουρκία, κατά μήκος των βορείων και νοτίων περιοχών της Κύπρου, της Μάλτας, στη θαλάσσια ζώνη του Λιβάνου και του Ισραήλ, στα βόρεια και νότια του Μαρόκου και στην ακτογραμμή της Τυνησίας. (Σχήμα 3) (Batlle & Tous, 1997)



**Σχήμα 3.** Παγκόσμια καλλιέργιας της χαρουπιάς (Batlle and Tous, 1997)

Η παγκόσμια παραγωγή της χαρουπιάς είναι περίπου 315.000 τόνους ετησίως και οι κυριότεροι παραγωγοί και εξαγωγείς είναι η Ισπανία (42%), η Ιταλία (16%), η Πορτογαλία (10%), το Μαρόκο (8%), η Ελλάδα (6,5%) και η Τουρκία (4,8%) (Cabecinha et al., 2010)

Η παγκόσμια ζήτηση για κόμμι ισοδυναμεί με περίπου 30.000 τόνους σπόρων χαρουπιού. Ο σπόρος μεταποιείται στην Πορτογαλία και τα προϊόντα που παράγονται εξάγονται προς την Ιαπωνία, την Ολλανδία, τη Δανία και τις ΗΠΑ. Η τιμή των σπόρων χαρουπιού, το 2009 ανήλθε σε 2.000 € / τόνο. (Manso et al., 2010)

## **2.2. Σύσταση του λοβού και του σπόρου**

Ο καρπός του χαρουπιού αποτελείται από περίπου 90% πούλπα του λοβού, πλούσια σε σακχαρόζη, γλυκόζη, κυτταρίνη, και τανίνες, και 10% από σπόρους. (Rizzo et al., 2004)

## Χημική σύσταση του λοβού

Οι λοβοί έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε διαλυτά σάκχαρα (περίπου 40-50% επί ξηράς ουσίας), αλλά χαμηλή πρωτεΐνη (3-4%) και χαμηλό περιεχόμενο λιπιδίων (0,4-0,8%). Οι λοβοί περιέχουν επίσης πολλές πολυφαινόλες, που ανήκουν στην τάξη των συμπυκνωμένων ταννίνων (Πίνακας 1). Οι κατεχίνες και οι προανθοκυανιδίνες είναι από τα βασικά είδη των πολυφαινολών στο χαρούπι. (Kumazawa et al., 2002)

Η περιεκτικότητάς των λοβών σε υδατάνθρακες και σε φυτικές ίνες είναι υψηλή ανάλογα με την ποικιλία και την ωριμότητα του καρπού. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες έχουν αποδώσει αντιοξειδωτική ικανότητα στο λοβό της χαρουπιάς λόγω της παρουσίας των πολυφαινολών σε αυτή. (Ortega et al., 2009; Baumgartner et al., 1986) Οι λοβοί της χαρουπιάς περιέχουν ένα φυσικό γλυκαντικό με άρωμα και εμφάνιση παρόμοια με της σοκολάτας ως εκ τούτου χρησιμοποιούνται συχνά ως υποκατάστατο του κακάο. (Bengoechea et al., 2008; Ortega et al., 2009)

Η ανόργανη σύσταση (σε mg / 100 g πούλπας λοβού) είναι: K = 1.100, Ca = 307 Mg = 42, Na = 13, Cu = 0,23, Fe = 104, Mn = 0,4, Zn = 0,59. Ο πολτός περιέχει μόνο το 1-2% εύπεπτες πρωτεΐνες και είναι σχετικά χαμηλά σε μεταβολιστέας ενέργειας. Η πρωτεΐνη έχει χαμηλή πεπτικότητα επειδή δεσμεύεται από τις τανίνες και φυτικές ίνες. (Batlle and Tous, 1997)

**Πίνακας 1.** Μέση σύνθεση λοβού της χαρουπιάς ( Batlle and Tous, 1997)

Σύνθεση	%
Ολικά σάκχαρα	48-56
Σακχαρόζη	32-38
Γλυκόζη	5-6
Φρουκτόζη	5-7
Συμπυκνωμένες τανίνες	18-20
Μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες	18
Τέφρα	2-3
Λιπίδια	0.2-0.6



## Χημική σύσταση του ενδοσπερμίου

Οι σπόροι αποτελούνται από φλοιό (30-33%), ενδοσπέρμιο (42-46%) και έμβρυο ή φύτρο (23-25%). Το ενδοσπέρμιο των σπόρων αποτελείται από μονάδες σακχάρων, μαννόζης και γαλακτόζης και από πολυσακχαρίτες (Manso et al, 2010). Οι σπόροι αποφλοιώνονται με κατεργασία των σπόρων με αραιό θειικό οξύ ή με θερμική μηχανική επεξεργασία, ακολουθείται η άλεση και γίνεται ο διαχωρισμός του φύτρου με απομάκρυνση ενδοσπερμίου (Kawamura, 2008).

**Πίνακας 2.** Μέση σύνθεση του ενδοσπερμίου (Dakia et al., 2008)

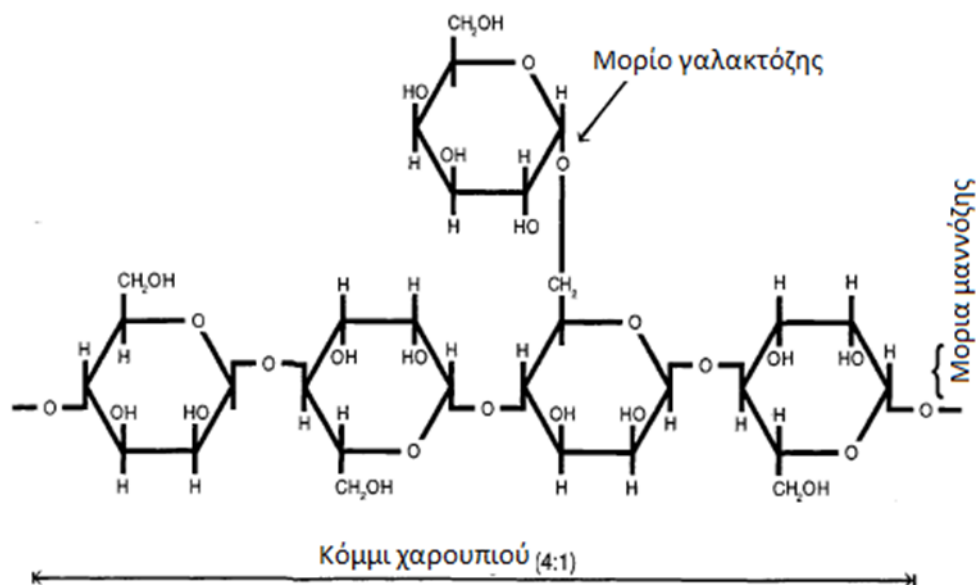
Σύνθεση	Επεξεργασία με οξύ	Θερμική επεξεργασία %
Υγρασία	5,9± 0,1	6,5±0,6
Τέφρα	0,7±0,2	1,5±0,1
Ολική πρωτεΐνη	5,2±0,4	7,4±0,7
Λιπίδια(ουδέτερα και πολικά)	1,3±0,1	1,5±0,1
Υδατάνθρακες	92,8	89,6

Οι πολυσακχαρίτες είναι εντοπισμένοι στο ενδοσπέρμιο ως διατροφική πηγή για την βλάστηση των σπόρων, που υδρολύονται από α-D γαλακτοσιδάση ένζυμα.

Το ενδοσπέρμιο των σπόρων αποτελείται κατά κύριο λόγο από γαλακτομαννάνη. Ο πολυσακχαρίτης αυτός του κόμεος έχει πηκτωματικές ιδιότητες και είναι σε θέση να δώσει συνεργιστική δράση όταν χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με άλλους φορτισμένους πολυσακχαρίτες. Αποτελείται από υψηλού μοριακού βάρους (περίπου 50.000 - 3.000.000) πολυσακχαρίτες. (Rizzo et al., 2004)

Το κόμμι του χαρουπιού αποτελείται από υψηλού μοριακού βάρους πολυσακχαρίτες που αποτελούνται από γαλακτομαννάνες, οι οποίες αποτελούνται από μια γραμμική αλυσίδα συνδεδεμένων, με 1→4 δεσμούς, β- D-μαννοπυρανοζυλικών μονάδων, με α-D-γαλακτοπυρανοζυλικά μόρια, συνδεδεμένων με 1→6 δεσμούς ως πλευρικές

αλυσίδες. Το μοριακό βάρος της είναι περίπου 310.000 kDa. Η αναλογία μαννόζης/γαλακτόζης είναι ¼ (Σχήμα 4). Το περιεχόμενο της γαλακτόζης και μαννόζης έχει αναφερθεί 27-14% και 73-86% αντίστοιχα (Belitz et al., 2006).



**Σχήμα 4.** Αναλογία της σύστασης του χαρουπιού σε μόρια γαλακτόζης, μαννόζης (Smith, 1948)

Οι φυσικές ιδιότητες του χαρουπιού σχηματίζει ιδιαίτερος ιξώδη διαλύματα, και το ιξώδες των οποίων εξαρτάται από την ταχύτητα διάτμησης ( Smith, 1948). Οι λειτουργικές ιδιότητες της γαλακτομαννάνης δίνονται στον Πίνακα 3.

**Πίνακας 3.** Λειτουργικές ιδιότητες της γαλακτομαννάνης και οι εφαρμογές της( Batlle and Tous, 1997)

Λειτουργικές ιδιότητες	Παράδειγμα
Πρόσφυση	Χυμοί
Αναστολέας κρυστάλλωσης	Παγωτό, κατεψυγμένα τρόφιμα, ψωμί
Παράγοντας θόλωσης	Δημητριακά, ψωμί
Σταθεροποιητής αφρού	Παγωτό
Πηκτωματοποιητής	Πουτίγκα, γλυκά, είδη ζαχαροπλαστικής
Παράγοντας αποστείρωσης	Σάλτσες για σαλάτες, παγωτά
Διογκωτικός παράγοντας	Μεταποιημένα προϊόντα κρέατος
Συnergieστική δράση	Μαλακά τυριά, κατεψυγμένα τρόφιμα
Πυκνωτικό μέσο	Μαρμελάδες, σάλτσες, παιδικές τροφές

Η κύρια ιδιότητα της παρουσίας του πολυσακχαρίτη είναι το υψηλό ιξώδες του διαλύματος στο νερό, σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασίας και pH. Το ιξώδες των υδατικών διαλυμάτων του κόμμεος του χαρουπιού χαρακτηρίζεται για την ψευδοπλαστική του συμπεριφορά. (McCleary et al., 1981)

Δεδομένου ότι η διαλυτότητα του χαρουπιού στο νερό είναι σχετικά χαμηλή, τουλάχιστον σε χαμηλές θερμοκρασίες, έχουν παραχθεί μερικά παράγωγα για την αύξηση της διαλυτότητας αυτών, π.χ. με καρβοξυλίωση, με υδροξυαλκυλίωση, με εστεροποίηση και δημιουργώντας φωσφορικά παράγωγα (Garcia-Ochoa and Casas, 1992).

Οι σπόροι χρησιμοποιούνται για την παρασκευή κόμμεως χαρουπιών, το οποίο χρησιμοποιείται κυρίως στη βιομηχανία τροφίμων ως ένας γαλακτωματοποιητής / σταθεροποιητής (E410) (McLeod and Forcen, 1992).

Μία τυπική σύνθεση των εμπορικών γαλακτομαννάνων του χαρουπιού, που λαμβάνεται με άλεση του ενδοσπερμίου μετά την απομάκρυνση του φλοιού και του φύτρου, είναι η ακόλουθη: πολυσακχαρίτης 80-91% (επί ξηρή ουσίας), πρωτεΐνη 5-6%, κυτταρίνη 1-4%, τέφρα 1 %.

Μια συνηθισμένη μέθοδος που χρησιμοποιείται για την απόκτηση αυτών των πολυσακχαριτών είναι: Το σύνολο των σπόρων αλέθονται και υποβάλλονται σε υδατική εκχύλιση σε 4 ή 25°C. Ακολουθεί φυγοκέντρηση και καταβύθιση του υπερκείμενου με 75% (v: v) αιθανόλης. Τα προϊόντα που περιέχουν 3 έως 15% πρωτεΐνη, υποβάλλονται σε επεξεργασία με οργανικό διαλύτη ώστε να γίνει απομάκρυνση των ελεύθερων πρωτεϊνών (μη ομοιοπολικά συνδεδεμένες). Η επεξεργασία αυτή οδηγεί σε μια μείωση της τάξεως του 40% της αρχικής πρωτεΐνης στα δείγματα της γαλακτομαννάνης. Το ίδιο αποτέλεσμα λήφθηκε όταν 50% αιθανόλη (v: v) χρησιμοποιήθηκε για την καθίζηση του πολυσακχαρίτη.

Οι ελεύθερες πρωτεΐνες είναι πιθανόν ένα υλικό απόθεμα του εμβρύου, που συγκαθιζάνει κατά την απομόνωση της γαλακτομαννάνης. (Bresolin et al., 1999)

Η υδρόλυση του πολυσακχαρίτη του κόμμεος του χαρουπιού πραγματοποιείται με 0,2 N θειϊκού οξέος, αυτή η υδρόλυση δίνει προϊόντα D-γαλακτόζης και ένα μίγμα ποικίλου μοριακού μεγέθους ολιγοσακχαριτών. (Smith, 1948)

Τα κύρια σάκχαρα είναι η μαλτόζη, η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η σακχαρόζη. Βρέθηκαν ίσες ποσότητες κορεσμένων και ακόρεστων οξέων στο λίπος καθώς επίσης 0,2% υδρογονάνθρακες, κυρίως C 16-32. (Calixto and Canellas, 1982)

Οι ταννίνες είναι σύνθετες πολυφαινολικές ενώσεις που υπάρχουν σε μια ευρεία ποικιλία τροφίμων φυτικής προέλευσης. Οι ταννίνες μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ομάδες: υδρολύσιμες ταννίνες και συμπυκνωμένες ταννίνες (ή προανθοκυανιδίνες). Υδρολύσιμες ταννίνες είναι πολυμερή του ελλαγικού οξέως εστεροποιημένα σε ένα μόριο, συνήθως γλυκόζη ή μια πολυφαινόλη όπως κατεχίνη. Συμπυκνωμένες ταννίνες είναι φλαβονοειδή πολυμερή. Οι ταννίνες συνεισφέρουν στην πικρή και στη στυφή γεύση των φρούτων και μπορούν να επηρεάσουν τη διαδικασία της πέψης είτε αντιδρώντας με ορισμένες πρωτεΐνες είτε αδρανοποιώντας τα πεπτικά πρωτεολυτικά ένζυμα. (Avallone et al., 1997)

Η χαρούπια περιέχει σημαντικές ποσότητες σε ταννίνες, οι περισσότερες από αυτές είναι συμπυκνωμένες πολυφαινόλες. Το κύριο συστατικό που λαμβάνεται από ώριμα χαρούπια είναι ελλαγικό οξύ χαμηλού μοριακού βάρους. (Calixto and Canellas, 1982)

### **Χημική σύσταση του φύτρου**

Η σύνθεση του φύτρου του χαρουπιού έδειξε ότι η θρεπτική αξία του είναι υψηλή, λόγω της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη (> 50%). Το έλαιο του φύτρου (περίπου 5-8%) περιέχει ακόρεστα λιπαρά οξέα, οπότε δεν γίνεται εύκολα η τάγγιση του, λόγω της παρουσίας φυσικών αντιοξειδωτικών. Η σημαντική συγκέντρωση των βιταμινών, καθώς και η σύνθεση του πολυσακχαρίτη, καθιστά το αλεύρι του φύτρου ένα πολύτιμο πρόσθετο για πολλά τρόφιμα (Maza et al., 1989).

Το φύτρο αντιπροσωπεύει το 23 έως 25% του βάρους των σπόρων. Αποτελείται κατά κύριο λόγο από πρωτεΐνες, υδατανθράκες, λιπίδια, υγρασία, τέφρα, και πολυφαινόλες Πίνακας 4. Οι πρωτεΐνες σχηματίζουν συσσωματώματα που τα οποία έχουν μοριακά βάρη μεταξύ ~ 13 kDa και ~ 95 kDa. Αυτές οι πρωτεΐνες έχουν μια καλά ισορροπημένη περιεκτικότητα σε αμινοξέα λόγω της ύπαρξης και των δέκα βασικών αμινοξέων.

**Πίνακας 4.** Μέση σύνθεση των φύτρων της χαρουπιάς (*Re-Jimenez and Amado, 1989*)

Σύνθεση	%
Υγρασία	6,83
Λιπίδια	7,98
Τέφρα	5,78
Ακατέργαστη πρωτεΐνη (N x 6,25)	52,49
Υδατάνθρακες	26,42
Πολυφαινόλες	0,5

Πάνω από το 50% του συνόλου της πρωτεΐνης είναι υδατοδιαλυτή, με υψηλή περιεκτικότητα σε λυσίνη και αργινίνη. Επίσης το φύτρο της χαρουπιάς περιέχει αλβουμίνες, σφαιρίνες, προλαμίνες και γλουτελίνες. Σχεδόν το 50% του βάρους του φύτρου είναι μια πρωτεΐνη, γνωστή ως καρουβίνη. Η καρουβίνη είναι ένα μίγμα πολλών πρωτεϊνών που έχουν διαφορετικό μέγεθος και βαθμό πολυμερισμού. Το 78% της πρωτεΐνης έχει μία περιοχή μοριακού βάρους από 65.000 <MB (Da) <1000000. Αντίστοιχα, η γλουτένη έχει το 54% του περιεχομένου της στην περιοχή μοριακού βάρους 20000 <MW (Da) <65000. Η σύνθεση των αμινοξέων της καρουβίνης διαφέρει από εκείνη της γλουτένης σίτου, στο ότι περιέχει περισσότερη αργινίνη, κυστεΐνη, λυσίνη και ασπαρτικό οξύ και λιγότερη, φαινυλαλανίνη, προλίνη (Wang et al., 2001; Feillet and Roulland, 1998).

Η πρωτεΐνη καρουβίνη είναι αδιάλυτη στο νερό, απομονώνεται από το φύτρο των χαρουπιών. Πρόκειται για ένα μίγμα που αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών διαφορετικού μεγέθους. Αυτό το μίγμα πρωτεΐνης έχει αναφερθεί ότι κατέχει παρόμοιες ρεολογικές ιδιότητες ανάλογες της γλουτένης, αν και η καρουβίνη όταν ενυδατώνεται έχει μια πιο διατεταγμένη δομή, με μικρές αλλαγές στη δευτεροταγή δομή. (Bengoechea et al., 2008) .

Η κλασματοποίηση της πρωτεΐνης με κατά Osborne εκχύλιση των αλεύρων του φύτρου του χαρουπιού έδωσε, ότι οι πρωτεΐνες αποτελούνται από 14,5% αλβουμίνη, 50% σφαιρίνη, 3,4% προλαμίνη, και 32,1% γλουτελίνη. Παρά το γεγονός ότι πρωτεΐνες του φύτρου έχουν παρόμοιες ιδιότητες με του σιταριού, αυτοί οι αριθμοί δείχνουν ότι οι πρωτεΐνες είναι αρκετά διαφορετικές. Η γλουτένη σιταριού έχει

συνήθως 5% αλβουμίνη, σφαιρίνη 10%, 69% προλαμίνη, και 16% υπόλειμμα γλουτελίνης. (Smith et al., 2010)

Οι ρεολογικές μελέτες της καρουβίνης έδειξαν ότι έχει ιξωδοελαστικές ιδιότητες, λόγω των χαμηλών επιπέδων κυστεΐνης, ο μηχανισμός αυτής της ιξωδοελαστικής συμπεριφορά μπορεί να είναι διαφορετικό από εκείνη της γλουτένης σίτου.

Η καρουβίνη βρέθηκε να είναι περισσότερο υδρόφιλη από τη γλουτένη, ενώ όταν εκτίθεται σε νερό, εμφανίζει λιγότερες αλλαγές στη δομή των πρωτεϊνών από την γλουτένη.

Οι πρωτεΐνες του χαρουπιού αποτελούνται από συσσωματώματα που σχηματίζονται τόσο με δισουλφιδικούς δεσμούς και μέσω μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων. (Smith et al., 2010)

Η σύνθεση των αμινοξέων στο φύτρο του χαρουπιού περιλαμβάνει λιγότερα αμινοξέα κυστεΐνης, γλουταμικού οξέος και φαινυλαλανίνης, αλλά περισσότερα φορτισμένα αμινοξέα, αργινίνης, ασπαργανικού οξέος, και λυσίνης (Πίνακας 5). (Smith et al., 2010; Bengoechea et al., 2008).

Επιπλέον, η μεγάλη περιεκτικότητα των αμινοξέων της καρουβίνης σε αργινίνη και γλουταμινικό οξύ, την καθιστά αρκετά ελκυστική για κατανάλωση από άτομα με αυξημένες διατροφικές ανάγκες, όπως οι αθλητές (Maza et al., 1989)

**Πίνακας 5.** Η περιεκτικότητα των αμινοξέων στο φύτρο του χαρουπιού (*Bengoechea et. al., 2008; Re-Jimenez and Amado, 1989*)

Αμινοξέα	g/100g(Bengoechea et. al., 2008)	g/100g (Re-Jimenez and Amado, 1989)
Αλανίνη	4,1±0,00	2,18
Αργινίνη	13,7±0,28	6,37
Ασπαρτικό οξύ	8,55±0,07	4,01
Κυστεΐνη	0,55±0,07	0,30
Φαινυλαλανίνη	3±0,00	1,60
Γλυκίνη	4,9±0,1	2,49
Γλουταμινικό οξύ	30,3±0,57	13,34
Ιστιδίνη	2,4±0,2	1,38
Ισολευκίνη	2,15±0,07	1,55
Λευκίνη	6,35±0,071	3,19
Λυσίνη	4,9±0,00	2,96
Μεθειονίνη	0,05±0,07	0,72
Προλίνη	5,1±0,3	2,03
Σερίνη	5,0±0,3	2,66
Τυροσίνη	1,95±0,07	1,40
Θρεονίνη	3,3±0,2	1,91
Βαλίνη	2,5±0,3	1,96

Τα πτητικά συστατικά του αρώματος του φύτρου του χαρουπιού διαχωρίστηκαν και εντοπίστηκαν οι πλέον σημαντικοί παράγοντες που είναι το μεθυλ-προπανοϊκό, ενώ η γεύση του χαρουπιού οφείλεται στην ύπαρξη του εξανοϊκού οξέος. Επίσης στο φύτρο περιέχει οξικό οξύ, προπανοϊκό οξύ, βουτανοϊκό οξύ, οκτανοϊκό οξύ και 2-μεθυλοβουτανοϊκό οξύ. (Rizzo et al., 2004; McLeod and Forcen, 1992)

Η σύσταση του λίπους του φύτρου είναι πλούσια σε ακόρεστα λιπαρά οξέα. Το περισσότερο από το 78% του συνόλου των λιπαρών οξέων αποτελείται από το ελαϊκό, και λινελαϊκό οξύ. Η μελέτη του Maza et al. έδειξε ότι το 38,5% αποτελούνταν από το ελαϊκό οξύ ενώ το 43,6% από το λινελαϊκό οξύ Πίνακας 6 και προσδιόρισαν την σύσταση των τρυγλικεριδίων Πίνακας 7 (Dakia et al., 2007).

**Πίνακας 6.** Η σύσταση των λιπαρών οξέων του λίπους του φύτρου (Maza et al., 1989)

Λιπαρά οξέα	% Σύσταση
Μυριστικό	0,1
Παλμιτικό	14,3
Στεατικό	3,0
Ελαϊκό	38,5
Λινελαϊκό	43,6
Λινολενικό	0,5



**Πίνακας 7.** Η σύσταση των τριγλυκεριδίων του λίπους του φύτρου (Maza et al., 1989)

POP	1,0	LLO	15,8	LOO	15,9
OOS	1,1	SOP	0,4	OPO	0,5
LPL	0,6	OLP	5,1	OLO	7,0
LLS	1,2	LOS	1,2	LOL	9,0
PLP	0,9	LLL	9,0	OOP	5,2
OOO	7,0	SLP	0,4	LPO	1,0
LOP	5,9	OLS	1,1	LLP	5,8

P: παλμιτικό οξύ, L: λινολεϊκό οξύ, S: στεατικό οξύ, O: ελαϊκό οξύ. Δεν αναφέρονται τα τριγλυκερίδια που είχαν μικρότερο ποσοστό από 0,4 %.

Το αλεύρι του φύτρου περιέχει πολυφαινόλες, προανθοκυανιδίνες, και ταννίνες. Οι ενώσεις αυτές προστατεύουν τον οργανισμό από υπερβολική παραγωγή ελεύθερων ριζών και τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS), οι οποίες εμπλέκονται στην ανάπτυξη πολλών ασθενειών όπως η νόσος Αλτσχάιμερ και ο καρκίνος. Επιπλέον, υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι ορισμένα συνθετικά αντιοξειδωτικά όπως η βουτυλική υδροξυτολουόλη ή E321 (BHT) έχει σοβαρές παρενέργειες, όπως η καρκινογένεση, και ως εκ τούτου, οι μελέτες σχετικά με τα φυσικά αντιοξειδωτικά έχουν αποκτήσει όλο και μεγαλύτερη σημασία, όπως για τα συμπληρώματα διατροφής και τα υγιεινά τρόφιμα. (Custódio et al., 2011)

Η προσθήκη των αντιοξειδωτικών στην τροφή είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος για την πρόληψη της ανάπτυξης των διαφόρων οσμών και των ανεπιθύμητων ενώσεων που προκύπτουν από την οξείδωση των λιπιδίων. (Chen and Ho, 1995)

Η χημική σύνθεση σε ανόργανα στοιχεία του φύτρου της χαρουπιάς περιέχει μαγνήσιο, κάλιο, νάτριο, ασβέστιο, σίδηρο, ψευδάργυρο, χαλκό, φώσφορο και μαγγάνιο. (Petit and Pinilla, 1995)

### **2.3. Απομόνωση του φύτρου**

.....

Η απομόνωση του φύτρου από 100 g σπόρων χαρουπιού, γίνεται με δύο θερμικές επεξεργασίες. Στην πρώτη στήλη ο διαχωρισμός έγινε με όξινη επεξεργασία, ενώ στη δεύτερη στήλη έγινε με θερμική υδατική επεξεργασία.

A) Με όξινη θερμική επεξεργασία των σπόρων με χρήση διαλύματος θειϊκού οξέος ( $H_2SO_4$ , 23N), σε θερμοκρασία 80°C για επτά λεπτά. Οι σπόροι εμβαπτίζονται σε νερό βρύσης και παραμένουν εκεί με ήπια ανάδευση και θέρμανση (στους 50°C για δύο ώρες) . Μετά την στράγγιση του νερού, απομακρύνονται χειρωνακτικά τα τμήματα του φλοιού, καθώς και του ενδοσπερμίου, προκειμένου να απομονωθεί και να παραληφθεί το φύτρο των σπόρων.

B) Με θερμική υδατική επεξεργασία των σπόρων με νερό σε θερμοκρασία 100 °C για μια ώρα. Οι σπόροι βυθίζονται στο θερμό νερό, τα τμήματα των σπόρων (ο φλοιός, το ενδοσπέρμιο, και το φύτρο) διογκώνονται και στην συνέχεια διαχωρίζονται, προκειμένου να απομονωθεί το φύτρο των σπόρων.

Η ποσότητα φύτρων που συλλέγεται, ξεραινεται υπό ροή αέρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25°C), ακολουθεί άλεση σε μύλο άλεσης, προκειμένου να παραληφθεί το άλευρο των φύτρων του χαρουπιού (Dakia et al., 2007).

### **2.4. Χρήσεις του φύτρου**

Το άλευρο του φύτρου του χαρουπιού έχει παραδοσιακά χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο πρωτεϊνών στις ζωοτροφές και στα τρόφιμα που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, λόγω της καλά ισορροπημένης περιεκτικότητας σε αμινοξύ. (Smith et al., 2010). Το άλευρο του φύτρου μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διαιτητικά τρόφιμα, αφού περιέχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και χαμηλό ποσοστό ακόρεστων ελαίων (Custódio et al., 2011). Επίσης έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε φυτικές ίνες (Ortega et al., 2009). Το φύτρο του χαρουπιού περιέχει καρουβίνη, μια πρωτεΐνη με ιδιότητες παρόμοιες με της γλουτένης, η οποία μπορεί να αντικαταστήσει την γλουτένη για τους πάσχοντες από κοιλιοκάκη (Custódio et al., 2011).

Επιπλέον το αλεύρι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για παρασκευή προϊόντων ελεύθερων γλουτένης.

Τα προϊόντα ελεύθερα γλουτένης θεωρούνται χαμηλής διατροφικής αξίας καθώς φτιάχνονται από «εξευγενισμένα άλευρα» (λευκού τύπου, χωρίς πιτυρούχα κλάσματα) και άμυλα και στερούνται σημαντικών θρεπτικών συστατικών, οι οποίες είναι απαραίτητες για την σωστή λειτουργία του πεπτικού συστήματος. Επιπλέον τα προϊόντα ελεύθερα γλουτένης είναι λιγότερο γευστικά από τα παραδοσιακά προϊόντα σίτου, ενώ χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερο ρυθμό μπαγιατέματος (Custódio et al., 2011)

Οι παράγοντες που επιβάλλουν την ανάπτυξη προϊόντων ελεύθερων γλουτένης συνοψίζονται στους εξής:

- Η κατανάλωση προϊόντων ελεύθερων γλουτένης από τους πάσχοντες από κοιλιοκάκη προκαλεί έλλειψη διαιτητικών ινών με συνέπεια προβλήματα υγείας όπως απώλεια βάρους, αναιμία οστεοπόρωση ή διαβήτη, καθώς δεν καλύπτονται οι διατροφικές τους ανάγκες από τα μέχρι στιγμής διαθέσιμα προϊόντα ελεύθερα γλουτένης.
- Το αγοραστικό κοινό προϊόντων ελεύθερων γλουτένης δεν περιορίζεται μόνο σε πάσχοντες από κοιλιοκάκη, αλλά και σε άτομα που ακολουθούν ισορροπημένο διαιτολόγιο και αποφεύγουν την κατανάλωση αλλεργικών συστατικών όπως το σιτάρι
- Οι καταναλωτές απαιτούν μεγάλη ποικιλία προϊόντων με διαφορετικές–μη συνηθισμένες γεύσεις, για την ανάπτυξη και άλλων προϊόντων που απευθύνονται σε άλλες καταναλωτικές ομάδες.

### **Κεφάλαιο 3. Σκοπός της άσκησης**

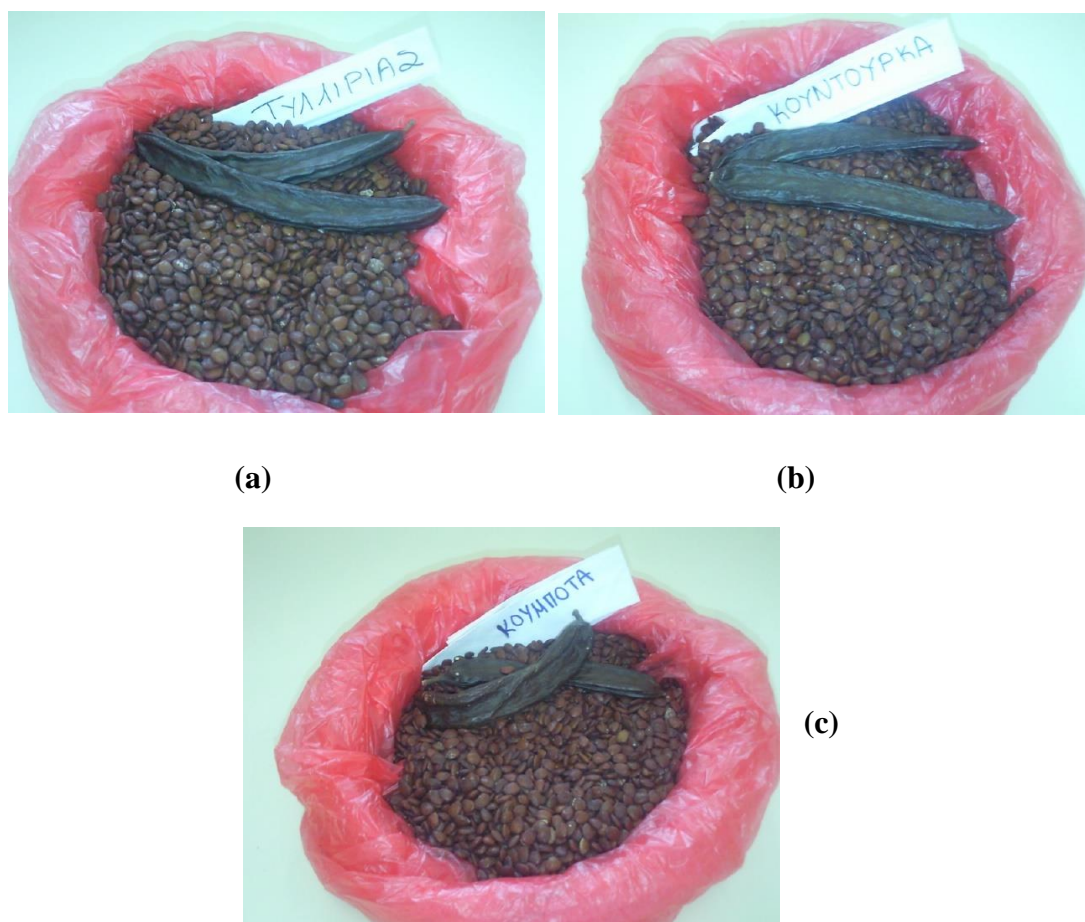
Ο στόχος της μελέτης αυτής, είναι να γίνει αξιολόγηση της διατροφικής αξίας των αλεύρων από φύτρο χαρουπιού, και η μελέτη της χημικής σύστασης τριών ποικιλιών χαρουπιάς της Κύπρου.

## Κεφάλαιο 4. Πειραματικό μέρος

### 4.1. Υλικά και μέθοδοι

#### 4.1.1. Χαρούπια

Για το πειραματικό μέρος έχουν χρησιμοποιηθεί τρεις ποικιλίες χαρουπιού, αυτές είναι η Τυλλιρίας, η Κουντούρκα και τα Κουμποτά. (Σχήμα 5) Αναφέρεται πως και οι τρεις ποικιλίες εισάχθηκαν από την Κύπρο, περιοχή που ευδοκιμούν πολλές ποικιλίες χαρουπιού, χάρη στην ποιότητα του εδάφους της περιοχής. Οι τρεις ποικιλίες προέρχονται από εδάφη με διαφορετική σύσταση χώματος, συνεπώς και διαφορετικό περιεχόμενο χημικής σύστασης. Η χαρουπιά αναπτύσσεται σε χαμηλά υψόμετρα και σε συγκεκριμένα κλίματα, αναφέρονται το Μεσογειακό, το κλίμα Ερήμου και το Ηπειρωτικό.



**Σχήμα 5.** Ποικιλίες χαρουπιών που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος (a) Τυλλιρίας (b) Κουντούρκα (c) Κουμποτά

### 4.1.2. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη εργασία ήταν αναλυτικής καθαρότητας

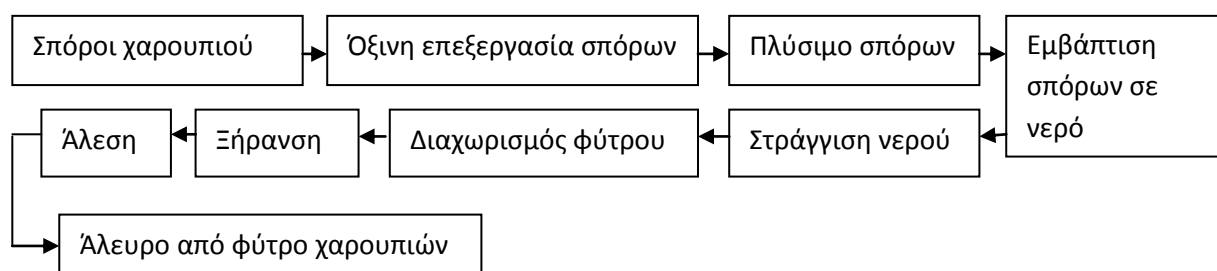
### 4.1.3. Μορφολογικά χαρακτηριστικά των ποικιλιών

Οι διαστάσεις των λοβών και των σπόρων καθώς και το βάρος 100 σπόρων δίνονται σε πίνακα.

### 4.1.4. Μέθοδος διαχωρισμού του φύτρου

Η μέθοδος διαχωρισμού πραγματοποιήθηκε με όξινη θερμική επεξεργασία των σπόρων.

Αρχικά ζυγίστηκαν 100 g σπόρων χαρουπιού, τα οποία επεξεργάστηκαν με 267 ml διαλύματος  $H_2SO_4$  23 N στους  $80^\circ C$  για επτά min υπό συνεχή ανάδευση. Μετά το πέρασμα των 7 min διαχωρίστηκαν προσεκτικά οι σπόροι από το διάλυμα του οξέος και ξεπλύθηκαν με νερό βρύσης. Στη συνέχεια οι σπόροι χαρουπιού εμβαπτίστηκαν σε νερό θερμοκρασίας  $50^\circ C$  υπό ανάδευση και παρέμειναν για 2 ώρες. Ακολούθησε χειρωνακτικός διαχωρισμός του φύτρου από το ενδοσπέρμιο. Ακολούθησε ξήρανση αυτών σε ξηραντήριο με δίσκους με κυκλοφορία αέρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε 10 φορές και συνολικά επεξεργάστηκαν 1000 g σπόρων για κάθε ποικιλία. Οι αποδόσεις σε φύτρο των επεξεργασμένων σπόρων δίνονται σε πίνακα. Στη συνέχεια το φύτρο αλέστηκε σε μύλο άλεσης ώστε να γίνουν πιο εύκολα οι μέθοδοι αναλύσεις.



**Σχήμα 6.** Διάγραμμα ροής πειραματικής διαδικασίας διαχωρισμού του φύτρου από σπόρους χαρουπιού

## 4.2. Μέθοδοι αναλύσεις

### 4.2.1. Προσδιορισμός της υγρασίας του αλεύρου

#### Υλικά- Όργανα

- Άλευρο φύτρου 1,5g (από την κάθε ποικιλία)
- Τρυβλίο
- Κλίβανος σε θερμοκρασία 131°C
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας 0,0001g

#### Τεχνική

Το αλεύρι κάθε ποικιλίας ξηραίνεται σε θερμοκρασία 130 έως 133°C υπό ατμοσφαιρική πίεση. Ζυγίζονται εντός του τρυβλίου, του οποίου έχει ληφθεί το απόβαρο, με ακρίβεια  $\pm 1\text{mg}$ , 1,5g αλεύρι από κάθε ποικιλία. Τοποθετείται το τρυβλίο εντός του κλιβάνου που λειτουργεί στους 131°C, αφήνεται για 2h. Έπειτα από το πέρασμα του χρόνου απομακρύνεται το τρυβλίο και τοποθετείται στον ξηραντήρα μέχρι να ψυχθεί, ώστε να μην γίνει απορρόφηση υγρασίας από το περιβάλλον. Το τρυβλίο παραλαμβάνεται από τον ξηραντήρα και γίνεται η ζύγιση του, έτσι ώστε να υπολογιστεί η υγρασία % με τον σχετικό τύπο:

$$\text{Υγρασία \%} = 100 * \frac{(\beta - \gamma)}{(\beta - \alpha)}$$

Όπου α: βάρος τρυβλίου (σε g), β: βάρος τρυβλίου και δείγματος πριν τον κλίβανο, γ: βάρος τρυβλίου και δείγματος μετά τον κλίβανο.

### 4.2.2. Προσδιορισμός της τέφρας του αλεύρου

#### Υλικά- Όργανα

- Άλευρο φύτρου 2g (από την κάθε ποικιλία)
- Κάψα πορσελάνης
- Ηλεκτρικό μάτι θέρμανσης
- Πυριαντήριο λειτουργίας στους 900 °C
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας 0,0001g

## Τεχνική

Ο προσδιορισμός της τέφρας πραγματοποιήθηκε σε πυριαντήριο που λειτουργεί στους 900°C. Αρχικά ζυγίστηκε η κάψα πορσελάνης, στην οποία τοποθετήθηκαν τα 2 g του αλεύρου των φύτρων με ακρίβεια 0,0001g. Η κάψα με το άλευρο στην αρχή τοποθετείται σε ηλεκτρικό μάτι με ήπια θέρμανση μέχρι να απανθρακωθεί και στην συνέχεια τοποθετείται στο πυριαντήριο στους 900°C για 2h. Έπειτα μετά το πέρασμα των 2 ωρών απομακρύνονται από το πυριαντήριο και τοποθετούνται σε ξηραντήρα μέχρις ότου η θερμοκρασία του φτάσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθεί η ζύγιση τους με ακρίβεια 0,0001g. Ο υπολογισμός της τέφρας % γίνεται με τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{Τέφρα \%} = 100 * \frac{(b-a)}{M} * \frac{100}{(100-F)}$$

Όπου a: βάρος κάψας (σε g), b: βάρος κάψας και αλεύρου (σε g), M: βάρος αλεύρου (σε g), F: υγρασία του δείγματος.

Η περιεκτικότητα σε τέφρα είναι ένα μέτρο του συνολικού ποσού των ανόργανων αλάτων που υπάρχουν σε ένα τρόφιμο. Ο προσδιορισμός της τέφρας είναι σημαντικός ως έκφραση της περιεκτικότητας των τροφίμων σε ανόργανα άλατα, επειδή αυτή η περιεκτικότητα έχει επιπτώσεις στις φυσικοχημικές ιδιότητες των τροφίμων κατά την επεξεργασία τους. Η συγκέντρωση των ανόργανων αλάτων επηρεάζει επίσης την ποιότητα των τροφίμων ως προς την υφή, την γεύση, την εμφάνιση αλλά και τη μικροβιολογική τους σταθερότητα έναντι ορισμένων μικροοργανισμών.

### **4.2.3. Προσδιορισμός της ανόργανων στοιχείων με φασματομετρία οπτικής εκπομπής επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-OES)**

#### Υλικά

- Ογκομετρικές φιάλες
- Διάλυμα οξέος, HNO<sub>3</sub> w= 65%
- Διάλυμα H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w= 30%



- ICP-OES: Thermo Jarrell Ash IRIS Advantage φασματομετρία εκπομπής επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος.
- Δοκιμαστικούς σωλήνες για την ICP-OES για την δειγματοληψία
- Πυκνό νιτρικό οξύ w= 68-71%
- Σειρά βασικών προτύπων
- Πολυστοιχεικό τυποποιημένο πρότυπο
- Πρότυπα διαλύματα των στοιχείων
- Διάλυμα 3-5% (v / v) νιτρικού οξέος
- Αραίωση προτύπων διαλυμάτων με 3-5% νιτρικό οξύ
- Αραίωση του πολυστοιχειακού τυποποιημένου προτύπου με 3-5% νιτρικό οξύ

### Τεχνική

Προετοιμασία του δείγματος : Το άλευρο χωνεύτηκε με τη μέθοδο της πέψης. Για την μέθοδο αυτή απαιτούνται διάλυμα οξέος HNO<sub>3</sub> 65 % και διάλυμα H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 %. Η διαδικασία διαρκεί περίπου 20 min και θα πρέπει να ολοκληρωθεί με την παρουσία υπερχλωρικού οξέος στον απαγωγό. Πριν από την πέψη, τα δείγματα των αλεύρων ξηράθηκαν για μία νύχτα στους 110°C, και 0,5 g του κάθε δείγματος ζυγίζεται μετά την διαδικασία αυτή .Η αναλογία του αρχικού μείγματος είναι 7 ml HNO<sub>3</sub> και 1 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Τα μείγματα των δειγμάτων θερμάνθηκαν στους 220°C μέχρις ότου το διάλυμα ξηραθεί εντελώς. Εάν δεν έχουν απομείνει στερεά, τα δείγματα τοποθετούνται σε ογκομετρικές φιάλες των 50 ml και σε κάθε μία από αυτές προστίθεται νερό όσος ο όγκος της φιάλης.

Το δείγμα τοποθετείται στην συσκευή ICP-OES( Thermo Jarrell Ash IRIS Advantage), μέσω μια περιστροφικής αντλίας μεταφέρεται στον εκνεφωτή. Στον εκνεφωτή εισάγεται φέρον αέριο (αργό) με ροή 0,5 L/ml και πίεση 20 psi, με αποτέλεσμα να μετατρέπεται το υδατικό δείγμα σε αεροζόλ . Τα αερολύματα μεταφέρονται στο θάλαμο ψεκασμού, προκειμένου να μειωθεί σταδιακά το μέγεθος των σταγονιδίων ώστε να φτάσουν στο πλάσμα με μέγεθος μικρότερο από 5 μm. Τα σταγονίδια μεταφέρονται στο επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, το οποίο είναι μια

ζώνη υψηλής θερμοκρασίας (4.000 - 6.800°C) συνδεδεμένο με μια γεννήτρια ραδιοσυχνότητας (ισχύς 0,5 KW και συχνότητας 40,68 MHz). Οι αναλυτές θερμαίνονται (διεγείρονται) σε διαφορετική κατάσταση (ατομική ή ιοντική) και παράγουν χαρακτηριστικές οπτικές εκπομπές. Οι εκπομπές αυτές διαχωρίζονται με βάση τα αντίστοιχα μήκη κύματος τους και μετρώνται οι εντάσεις τους (φασματομετρία). Οι εντάσεις είναι ανάλογες προς τις συγκεντρώσεις των αναλυόμενων στοιχείων στο υδατικό δείγμα. Η ποσοτικοποίηση είναι μια εξωτερική τυποποίηση συγκρίνοντας την ένταση της εκπομπής του δείγματος με εκείνη ενός πρότυπου δείγματος.

#### **4.2.4. Προσδιορισμός λίπους με την μέθοδο *Soxhlet***

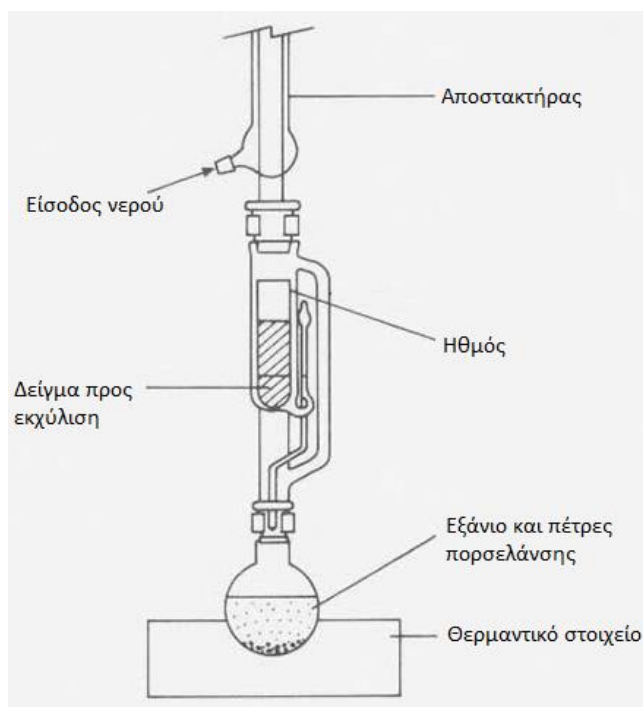
##### Υλικά- Όργανα

- Άλευρο φύτρου 6g (από κάθε ποικιλία)
- Διαλύτης εξάνιο 200ml
- Ηθμούς
- Βαμβάκι
- Φιάλες απόσταξης
- Πέτρες πορσελάνης
- Συσκευή *Soxhlet*
- Κλίβανος θερμοκρασίας 131°C
- Αναλυτικός ζυγός ακριβείας 0,0001g

##### Τεχνική

Ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με άμεση εκχύλιση με οργανικό διαλύτη με την μέθοδο *Soxhlet*. Αρχικά ζυγίζουμε τον ηθμό και 6g από το άλευρο των φύτρων με ακρίβεια 0,0001g. Στον ηθμό τοποθετούμε τα 6 g του αλεύρου και πάνω από το υλικό τοποθετούμε βαμβάκι, αφού πρώτα έχει ζυγιστεί. Αφήνονται να ξηραθούν σε κλίβανο ο ηθμός και οι φιάλες που περιέχουν δύο πέτρες πορσελάνης για 2h στους 131°C. Στο τέλος του πρώτου σταδίου καταγράφονται τα βάρη.

Στην συσκευή *Soxhlet* τοποθετήθηκαν ο ηθμός, οι φιάλες (με τις πέτρες πορσελάνης), στις οποίες προστέθηκε 200ml οργανικός διαλύτης εξανίου, και γίνεται η σύνδεση του αποστακτήρα. (Σχήμα 7) Γίνεται έναρξη της συσκευής και ακολουθούν 20 σιφωνισμοί.



**Σχήμα 7.** Διάταξη της συσκευής απόσταξης *Soxhlet*

Στη συνέχεια απομακρύνονται τα απόβλητα του διαλύτη και οι φιάλες τοποθετούνται σε κλίβανο θερμοκρασίας 131 °C για λίγα λεπτά, ώστε να εξατμιστεί ο τυχόν διαλύτης που παρέμεινε στην φιάλη. Στο τέλος της διαδικασίας ζυγίζονται οι φιάλες και υπολογίζεται το λίπος % με τον σχετικό τύπο:

$$\text{λίπος \%} = 100 * \frac{W_2 - W_1}{W_3}$$

Όπου  $W_1$ : βάρος της κενής φιάλης (σε g),  $W_2$ : βάρος φιάλης και βάρος λίπους (σε g),  $W_3$ : βάρος αλεύρου (σε g).

#### **4.2.5. Προσδιορισμός πρωτεϊνών κατά *Kjeldahl***

##### Υλικά – όργανα

- Πυκνό  $H_2SO_4$  97%
- Καταλύτες *kjeltabs*, 3,5g  $K_2SO_4$ , 0,2g  $Cu_2SO_4 \cdot 5H_2O$
- Διάλυμα NaOH 40% w/w
- Διάλυμα  $H_3BO_4$  20% w/w
- Διάλυμα HCl 0,1% w/w
- Δείκτης ερυθρού του μεθυλίου – κυανού του μεθυλενίου
- Διάταξη καύσης *Kjeldahl*
- Συσκευή απόσταξης *Kjeldahl*
- Φιάλες BÜCHI 500 ml
- Κωνικές φιάλες 250 ml
- Σιφόνια πλήρωσης των 10, 20 και 50 ml
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 50 ml
- Προχοΐδα, διαβαθμίσεων 0,05 ml
- Υποδοχείς δειγμάτων, ελεύθεροι αζώτου

##### Τεχνική

Ζυγίζεται σε αναλυτικό ζυγό 1 g αλεύρου μέσα σε ειδικό χάρτινο υποδοχέα, ο οποίος είναι ελεύθερος αζώτου. Ο υποδοχέας με το δείγμα τοποθετείται με προσοχή στον πάτο της ειδικής φιάλης 500 ml. Συνολικά, χρησιμοποιούνται έξι φιάλες, όπου στη συνέχεια προστίθενται από δύο ταμπλέτες καταλύτη και με σιφόνιο 20 ml πυκνό  $H_2SO_4$ . Οι φιάλες τοποθετούνται σε ειδικό στατό της συσκευής καύσης, η οποία βρίσκεται μέσα στον απαγωγό. Το στατό σφραγίζει με ειδικό καπάκι, το οποίο

αποτελεί μια διάταξη απαγωγής των καυσαερίων. Αφού σφραγιστεί το καπάκι, δημιουργείται κενό αέρος μέσω ψυκτήρα νερού (το καπάκι της συσκευής καύσης συνδέεται με αντλία κενού και λειτουργεί με τρεχούμενο νερό).

Γίνεται εκκίνηση της συσκευής καύσης, πρώτα 40% για 40 min, 50% για 15min, 60% για 60 min, 70% για 20 min, 80% για 20min, 90% για 10 min και 100% για 15min. Η καύση διαρκεί 3 ώρες, στο τέλος της οποίας το διάλυμα πρέπει να είναι πλέον διαυγές.

Διακόπτεται η λειτουργία της συσκευής, ενώ το καπάκι της διάταξης απαγωγής ανοίγεται μόνο όταν κρυώσει το διάλυμα και δεν διακρίνονται ατμοί, ενώ ταυτόχρονα παύει η λειτουργία του ψυκτήρα.

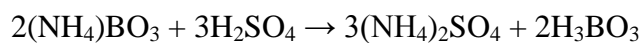
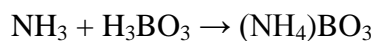
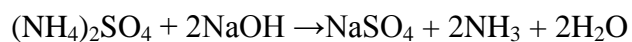
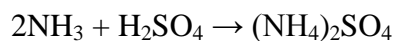
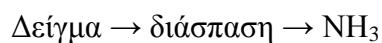
Σε κάθε φιάλη προστίθενται, με ογκομετρικό κύλινδρο, 50 ml απεσταγμένο νερό. Μετά την προθέρμανση της συσκευής απόσταξης, έχοντας στη θέση του προς απόσταξη διαλύματος απεσταγμένο νερό, η πρώτη απόσταξη γίνεται με φιάλη χωρίς δείγμα στην οποία έχουν προστεθεί 60ml νερού (δηλαδή όσο όγκο υγρών έχουν και οι φιάλες με το δείγμα). Η υπό ανάλυση φιάλη τοποθετείται στην ειδική θέση στη συσκευή απόσταξης και προστίθενται 60 ml NaOH, μέχρι η στάθμη του υγρού να αυξηθεί κατά 60 ml. Η απόσταξη αρχίζει και το απόσταγμα συλλέγεται σε κωνική φιάλη που περιέχει 60 ml βορικό οξύ. Το σωληνάκι από το οποίο λαμβάνεται το απόσταγμα πρέπει να είναι βυθισμένο μέσα στο βορικό οξύ για να μην ξεφύγει η αμμωνία (αέριο) στο χώρο. Η αμμωνία σε αυτό το σημείο δεσμεύεται ποσοτικά ως βορικό αμμώνιο. Στο Σχήμα 8, παρουσιάζεται η εργαστηριακή συσκευή απόσταξης που χρησιμοποιήθηκε.



**Σχήμα 8.** Συσκευή απόσταξης Kjeldahl

Στο βορικό αμμώνιο που σχηματίζεται γίνεται προσθήκη 2–3 σταγόνων δείκτη και ακολουθεί ογκομέτρηση με διάλυμα HCl 0,1N. Ο δείκτης από μωβ χρώμα που έχει αρχικά, αλλάζει σε πράσινο (σκούρο) στο κρίσιμο σημείο και στο ισοδύναμο σημείο το χρώμα του γίνεται γαλάζιο, οπότε σταματά η ογκομέτρηση.

**Οι χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι:**



Ο υπολογισμός της πρωτεΐνης% έγινε με τον σχετικό τύπο:

$$\text{Πρωτεΐνης \%} = \frac{V \cdot N \cdot 1,4 \cdot \text{Συντελεστής Kjeldahl}}{\text{Βάρος δείγματος (g)}}$$

Όπου V: τα καταναλωθέντα ml θεικού οξέος κατά την ογκομέτρηση, N: η κανονικότητα του διαλύματος θεικού οξέος, Ο συντελεστής *Kjeldahl* για τα προϊόντα ισούται με 6,25

#### 4.2.6. Προσδιορισμός των αμινοξέων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

##### Υλικά

- Νερό, διπλά αποσταγμένο νερό
- Υπεροξειδίο του υδρογόνου w = 30%
- Μυρμηκικό οξύ w = 98% έως 100%
- Υδροχλωρικό οξύ πυκνότητας περίπου 1,19 g / ml
- 2,2 θειοδιαιθανόλη
- Πετρελαϊκός αιθέρας βρασμού 40°C Αέριο άζωτο
- Αμινοξέα
- Πρότυπες ουσίες
- Κυστεϊκό οξύ
- Μεθειονίνη σουλφόνη
- Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου
- Μείγμα υδρόλυσης, c=6 mol / l HCl που περιέχει 1 g φαινόλης ανά λίτρο
- Μείγμα εκχύλισης, c = 0,1 mol / l HCl που περιέχει 2% θειοδιγλυκόλη.
- 5-σουλφοσαλικυλικό οξύ
- Μείγματος οξειδωσης που περιέχει 0,5 ml υπεροξειδίου του υδρογόνου με 4,5 ml μυρμηκικού οξέος
- Κιτρικό ρυθμιστικό διάλυμα c = 0,2 mol / l Na<sup>+</sup>, pH 2,20
- Ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης
- Αντιδραστήριο νινυδρίνης
- Πρότυπα διαλύματα αμινοξέων

- Μητρικό πρότυπο διάλυμα αμινοξέων  $c = 0,25 \mu\text{mol} / \text{ml}$  καθενός σε υδροχλωρικό
- Μητρικό πρότυπο διάλυμα κυστεϊνικού οξέως και σουλφόνης μεθειονίνης,  $c = 1,25 \mu\text{mol} / \text{ml}$
- Μητρικό πρότυπο διάλυμα του εσωτερικού προτύπου  $c = 20 \mu\text{mol} / \text{ml}$

### Συσκευές

- Σφαιρική φιάλη των 100 ml και 250 ml
- Πυριτικό γυάλινο μπουκάλι
- Φούρνος
- Πεχάμετρο
- Μεμβράνη φίλτρο 0,2  $\mu\text{m}$
- Φυγοκέντρωση
- Περιστροφικό εξατμιστήρα κενού
- Μηχανικής ανακίνησης ή μαγνητικός αναδευτήρας
- Εξοπλισμός HPLC με ιοντοανταλλακτική στήλη, συσκευή για παράγωγα της νινυδρίνης μετά τη στήλη και φωτομετρικό ανιχνευτή
- Στήλη με θειούχες ρητίνες πολυστυρολίου ικανή να διαχωρίζει τα αμινοξέα το ένα από το άλλο

### Τεχνική

Προετοιμασία του δείγματος :Το άλευρο του φύτρου αλέθεται και πρέπει να περνά από κόσκινο 0,5 mm. Ζυγίζονται 1 g έως 5g, με ακρίβεια 0,2 mg, του δείγματος του αλεύρου σε μια κωνική φιάλη και προστίθενται 100 ml μείγματος εκχύλισης. Ανακινούμε το μείγμα για 60 min χρησιμοποιώντας μαγνητικό αναδευτήρα. Λαμβάνεται με σιφόνιο 10 ml του υπερκείμενου διαλύματος και μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσεως των 100 ml. Προστίθενται 5 ml διαλύματος σουλφοσαλικυλικού οξέος και συνεχίζεται η ανάδευση με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα για 5 λεπτά. Πραγματοποιείται διήθηση ή φυγοκέντρωση του υπερκείμενου μείγματος, ώστε να απομακρυνθεί τυχόν ίζημα. Μεταφέρονται 10 ml του διαλύματος που έχει προκύψει σε ποτήρι ζέσεως των 100 ml και ρυθμίζεται το pH στο 2,20 χρησιμοποιώντας διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου. Μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη κατάλληλου όγκου προσθέτοντας διάλυμα κιτρικού οξέος και συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με



το ρυθμιστικό διάλυμα. Για τα πρότυπα διαλύματα χρησιμοποιείται εσωτερικό πρότυπο, στο οποίο προστίθεται 1,00 ml εσωτερικού προτύπου για κάθε 100 ml του τελικού διαλύματος και συμπληρώνονται μέχρι τη χαραγή με το ρυθμιστικό διάλυμα.

### Οξείδωση

Ζυγίζονται 0,1 g έως 1 g, με ακρίβεια 0,2 mg, από του δείγματος του αλεύρου σε μια φιάλη 100 ml, εφοδιασμένη με βιδωτό καπάκι για κλειστή υδρόλυση. Τοποθετείται η φιάλη σε λουτρό και ψύχεται στους 0°C. Προστίθενται 5 ml μείγματος οξείδωσης και ανακατεύεται με μια σπάτουλα. Σφραγίζεται η φιάλη αεροστεγώς με μια ταινία, τοποθετείται στο λουτρό παγωμένου νερού και εξουδετερώνεται η περίσσεια του οξειδωτικού αντιδραστηρίου με την προσθήκη 0,84 g θειώδους νατρίου.

### Υδρόλυση

Στη συνέχεια προστίθενται 25 ml μείγματος υδρόλυσης. Ακολουθεί κλειστή υδρόλυση, όπου η φιάλη τοποθετείται σε ένα φούρνο ρυθμισμένο στους 110°C. Κατά τη διάρκεια της πρώτης ώρας, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση της πίεσης, το βιδωτό πώμα τοποθετείται πάνω από την κορυφή του δοχείου. Μετά από 1 ώρα, κλείνεται το δοχείο με το καπάκι και το αφήνεται στο φούρνο για 23 ώρες. Με την ολοκλήρωση της υδρόλυσης απομακρύνεται η φιάλη από το φούρνο, το καπάκι της φιάλης ανοίγεται προσεκτικά και τοποθετείται η φιάλη σε λουτρό παγωμένου νερού. Έπειτα γίνεται ρύθμιση του pH με τη χρήση κιτρικού ρυθμιστικού διαλύματος.

### Χρωματογραφία

Πριν από τη διεξαγωγή της χρωματογραφίας, το εκχύλισμα ή υδρόλυμα πρέπει να βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου. Το μείγμα ανακινείται καλά και διηθείται κατάλληλη ποσότητα σε φίλτρο μεμβράνης 0,2 μm. Το προκύπτον διαυγές διάλυμα τοποθετείται σε χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων, με τη χρήση ενός αναλυτή αμινοξέων ή εξοπλισμός HPLC. Η έγχυση μπορεί να πραγματοποιείται χειροκίνητα ή αυτόματα. Είναι σημαντικό το γεγονός να προστίθενται στη στήλη για την ανάλυση η ίδια ποσότητα διαλύματος των προτύπων και των δειγμάτων. Η βαθμονόμηση εξαρτάται από τη σταθερότητα του αντιδραστηρίου της νινυδρίνης και του αναλυτικού συστήματος. Πρέπει να γίνει αραίωση με διάλυμα κιτρικού οξέος του προτύπου ή του δείγματος προκειμένου να έχουμε παρόμοιες περιοχές- κορυφές

συγκέντρωσης των αμινοξέων. Το δείγμα εισάγεται στον χρωματογράφο και καταγράφονται οι κορυφές συγκέντρωσης των αμινοξέων. Τα χρωματογραφήματα των αμινοξέων θα ποικίλουν ελαφρώς ανάλογα με τον τύπο του χρησιμοποιούμενου αναλυτή. Το επιλεγόμενο σύστημα πρέπει να είναι σε θέση να διαχωρίζει τα αμινοξέα το ένα από το άλλο και από το αντιδραστήριο της νινυδρίνης. Το εύρος της λειτουργίας του χρωματογραφικού συστήματος πρέπει να παρέχει τον απαραίτητο χρόνο απόκρισης ανάμεσα στις μεταβολές των αμινοξέων που προστίθενται στη στήλη. Κατά το στάδιο της χρωματογραφίας, το ύψος της κορυφής αναλύεται με ένα ισομοριακό διάλυμα. Αυτό το ισομοριακό διάλυμα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 30% του μέγιστου φορτίου του κάθε αμινοξέος που μπορεί να μετρηθεί με ακρίβεια με το σύστημα του αναλυτή των αμινοξέων.

#### Υπολογισμός των συγκεντρώσεων των γραφημάτων

Η περιοχή του δείγματος και του προτύπου κορυφών μετρήθηκε για κάθε επιμέρους αμινοξύ και το ποσό,  $W$ , σε γραμμάρια του αμινοξέος ανά kg δείγματος, υπολογίζεται:

$$w = \frac{A_e * c * M * V_e}{A_c * m * 1000}$$

Όπου  $A_e$  : η μέγιστη κορυφή του υδρολύματος ή εκχυλίσματος,  $A_c$  : η μέγιστη κορυφή του διαλύματος προτύπου βαθμονόμησης,  $V_e$  : ο όγκος της συνολικής υδρόλυσης, σε ml, η συνολική υπολογιζόμενη αραίωσης του εκχυλίσματος, σε ml,  $M$  : η μοριακή μάζα του αμινοξέος,  $m$  : η μάζα του δείγματος, σε γραμμάρια,  $c$  : η συγκέντρωση του προτύπου, σε  $\mu\text{mol/ml}$ .

#### **4.2.7. Προσδιορισμός ολικών διαιτητικών ινών**

##### Υλικά

- Αιθανόλη, 95% v / v
- Αιθανόλη, 78%
- Ακετόνη
- Ένζυμα για TDF δοκιμασία (α-αμυλάση, πρωτεάση, αμυλογλυκοσιδάση)

- Απιονισμένο νερό
- Κελίτη, με έκπλυση με οξύ, προ-αποτεφρωμένα
- Διάλυμα καθαρισμού Micro, συγκέντρωση του διαλύματος 2% με απιονισμένο νερό
- Ρυθμιστικό διάλυμα MES , Tris, 0,05 M το καθένα ( αιθανοσουλφονικό οξύ (MES), τρις (υδροξυμεθυλο) αμινομεθανίου (TRIS))
- Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος, 0,561 N
- Πρότυπα pH. Ρυθμιστικά διαλύματα με pH 4,0, 7,0 και 10,0

### Τεχνική

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.

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 ελέγχθηκε το pH. Εφόσον το pH δεν ήταν ίσο με  $6,0 \pm 0,1$ , ρυθμίστηκε ανάλογα. Έπειτα προστέθηκαν 50  $\mu$ L θερμοανθεκτικού διαλύματος α-αμυλάσης, το ποτήρι ζέσεως καλύφθηκε 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  $\mu\text{L}$  διαλύματος πρωτεάσης. Τα ποτήρια ζέσεως καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο και επώαστηκαν στους  $60^\circ\text{C}$  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  $\mu\text{L}$  αμυλογλυκοσιδάσης, καλύφθηκαν τα ποτήρια ζέσεως με αλουμινόχαρτο και επώαστηκαν για 30 λεπτά στους  $60^\circ\text{C}$  με συνεχή ανάδευση. Στη συνέχεια προστέθηκαν 280 ml 95% διάλυμα αιθανόλης, το οποίο είχε προθερμανθεί στους  $60^\circ\text{C}$  (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 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 έκπλυση 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  $105^\circ\text{C}$  σε φούρνο αέρα. Ψύχθηκε σε ξηραντήρα και ζυγίστηκε το βάρος του με ακρίβεια 0,1 mg. Το χωνευτήριο αφαιρέθηκε και ο Κελίτης ζυγίστηκε για τον προσδιορισμό του βάρους του υπολείμματος.

Σε ένα από τα δυο δείγματα έγινε ανάλυση του υπολείμματος για πρωτεΐνη, με τη χρήση N x 6,25 ως συντελεστή μετατροπής. Στο δεύτερο δείγμα έγινε αποτέφρωση του υπολείμματος για 5 ώρες στους  $525^\circ\text{C}$ . Έπειτα ψύχθηκε σε ξηραντήρα και ζυγίστηκε το βάρος του με ακρίβεια 0,1 mg. Το χωνευτήριο αφαιρέθηκε και ο Κελίτης ζυγίστηκε για τον προσδιορισμό της τέφρας. Στο Σχήμα 9 περιγράφεται αναλυτικά η διαδικασία προσδιορισμού των ολικών διαιτητικών ινών.



## Κεφάλαιο 5. Αποτελέσματα και Συζήτηση

### 5.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Οι τρεις ποικιλίες διαφέρουν μορφολογικά η μια από την άλλη, ως προς τις διαστάσεις των λοβών, των σπόρων και του βάρους χιλίων σπόρων. Αυτά τα μετρήσιμα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.

**Πίνακας 8.** Μορφολογικά χαρακτηριστικά των τριών ποικιλιών (Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα)

Ποικιλία	Βάρος 1000 σπόρων (g)		Μήκος λοβού (cm)		Πλάτος λοβού (cm)		Πάχος λοβού (cm)	
Τυλλιλία	183,672	<b>M.O.</b>	19,4	<b>M.O.</b>	2,21	<b>M.O.</b>	0,9	<b>M.O.</b>
	182,939	<b>183,267</b>	19,8	<b>19,6</b>	2,17	<b>2,19</b>	0,9	<b>0,9</b>
	183,190							
Κουμποτά	182,726	<b>M.O.</b>	18,2	<b>M.O.</b>	2,33	<b>M.O.</b>	1	<b>M.O.</b>
	181,591	<b>181,758</b>	17,2	<b>17,7</b>	2,17	<b>2,25</b>	1	<b>1</b>
	180,957							
Κουντούρκα	184,680	<b>M.O.</b>	18,3	<b>M.O.</b>	2,47	<b>M.O.</b>	1	<b>M.O.</b>
	189,070	<b>186,841</b>	18,5	<b>18,4</b>	1,9	<b>2,19</b>	0,9	<b>0,95</b>
	186,774							

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των τριών ποικιλιών παρουσιάζουν μικρές διαφορές μεταξύ τους. Πιο συγκεκριμένα στο βάρος των χιλίων σπόρων τον μεγαλύτερο μέσο όρο των μετρήσεων εμφάνισε η ποικιλία Κουντούρκα ακολούθησε η Τυλλιλία και τον μικρότερο μέσο όρο είχε η ποικιλία Κουμποτά με τιμές 186,841, 183,267 και 181,758 αντίστοιχα. Κατά συνέπεια το μεγαλύτερο βάρος σπόρου είχε η ποικιλία Κουντούρκα.

Ο καρπός της χαρουπιάς είναι ο λοβός ο οποίος διαφέρει ανάλογα με την ποικιλία της χαρουπιάς. Για αυτό έγιναν μετρήσεις των διαστάσεων των λοβών (μήκος- πλάτος- πάχος). Από τις μετρήσεις που έγιναν παρατηρήθηκε το μεγαλύτερο μέσο όρο μήκους να έχει η ποικιλία Τυλλιρία με μήκος λοβού 19,6 εκατοστά ενώ το μικρότερο μέσο όρο να έχει η ποικιλία Κουμποτά. Στις μετρήσεις που έγιναν στο πλάτος των λοβών, το μεγαλύτερο μέσο όρο του πλάτους είχε η ποικιλία Κουμποτά (2,25 εκατοστά) ενώ οι ποικιλίες Τυλλιρία και Κουντούρκα είχαν των ίδιο μέσο όρο πλάτους των λοβών τους (2,19 εκατοστά). Το πάχος του λοβού των τριών ποικιλιών από τις μετρήσεις που έγιναν βρέθηκε να είναι παρόμοιο και για τις τρεις ποικιλίες με μέσο όρο πάχους περίπου ένα εκατοστό.

## 5.2 Απόδοση των σπόρων κάθε ποικιλίας σε άλευρο φύτρου

Μετά από την διαδικασία διαχωρισμού σύμφωνα με την μέθοδο που αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 4.1.4. , αποκτάμε μια εικόνα της κάθε ποικιλίας για την απόδοση των σπόρων της σε άλευρο φύτρου. Οι διαφορές στις αποδόσεις των ποικιλιών οφείλονται στο διαφορετικό ποσοστό κάθε ποικιλίας των σπόρων σε φλοιό, ενδοσπέρμιο, και φύτρο. Η απόδοση κάθε ποικιλίας παρουσιάζεται στον Πίνακα 9.

**Πίνακας 9.** Απόδοση (%) σε ξηρό άλευρο φύτρου της κάθε ποικιλίας (Τυλλιρία, Κουμποτά, Κουντούρκα)

Ποικιλία	Απόδοση % ξηρού φύτρου
Τυλλιρία	19,6
Κουμποτά	18,5
Κουντούρκα	20,4

Τα αποτελέσματα της μέτρησης αυτής είναι χρήσιμα για βρούμε την απόδοση ενός κιλού σπόρων σε πόσα γραμμάρια ξηρού φύτρου αντιστοιχεί για την κάθε ποικιλία. Τα αποτελέσματα του πίνακα έδειξαν ότι την μεγαλύτερη απόδοση ξηρού φύτρου την εμφάνισε η ποικιλία Κουντούρκα με 20,4 %, ακολούθησε η Τυλλιρία με 19,6 %, ενώ την μικρότερη η ποικιλία Κουμποτά με 18,5 %.

### 5.3 Υγρασία των αλεύρων

Η μελέτη του προσδιορισμού της υγρασίας είναι πολύ σημαντικός παράγοντας για την ασφαλή αποθήκευση του αλεύρου, και πρέπει να μην ξεπερνά ορισμένες τιμές για κάθε περιοχή θερμοκρασιών, για να μην συμβούν ανεπιθύμητες αλλοιώσεις και ανάπτυξη μυκήτων και μικροοργανισμών. Άλλοι λόγοι που ενισχύουν την σημασία της υγρασίας είναι οικονομικοί, όπως μεταφορά και χώρος αποθήκευσης.

Οι τρεις ποικιλίες των αλεύρων που μελετήθηκαν εμφάνισαν τα παρακάτω ποσοστά υγρασίας % και παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

**Πίνακας 10.** Υγρασία (%) για κάθε ποικιλία (Τυλλιλία, Κουμποτά, Κουντούρκα)

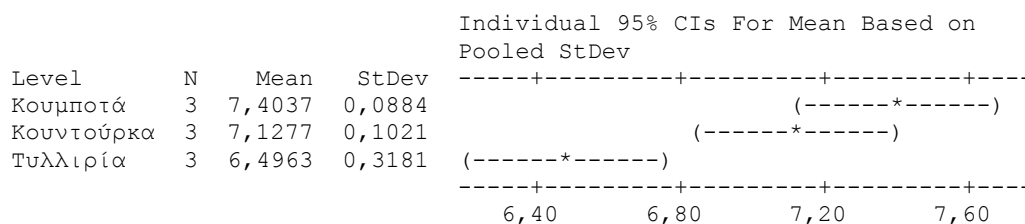
Ποικιλία	Υγρασία %	Μέσος Όρος υγρασίας %
Τυλλιλία	6,224	6,496 ± 0,32
	6,419	
	6,846	
Κουμποτά	7,504	7,404 ± 0,09
	7,337	
	7,370	
Κουντούρκα	7,140	7,128 ± 0,10
	7,223	
	7,020	

Ο προσδιορισμός της υγρασίας % είναι μια σημαντική παράμετρος για κάθε ποικιλία για τους λόγους που προαναφέρθηκαν. Τα αποτελέσματα του πίνακα έδειξαν το μεγαλύτερο μέσο όρο της υγρασίας % στις τρεις επαναλήψεις που έγιναν, να εμφανίζει η ποικιλία των Κουμποτά με ποσοστό 7,404%, να ακολουθεί η ποικιλία Κουντούρκα με 7,128% και τέλος το μικρότερο ποσοστό να εμφανίζει η ποικιλία Τυλλιλία με 6,496%.

Η σύγκριση των μέσων όρων των δειγμάτων έγινε με ANOVA για να ελεγχθεί αν υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών δειγμάτων.



Από τον έλεγχο της ANOVA παρατηρούμε ότι η τιμή P (P= 0,004) είναι μικρότερη του 0,05 και άρα ισχύει η εναλλακτική υπόθεση δηλαδή ότι ένας τουλάχιστον μέσος όρος διαφέρει από τους άλλους κατ' επέκταση υπάρχουν στατιστικές διαφορές στην σύσταση της υγρασίας (%). Επομένως κάνουμε έλεγχο Tukey για να διαπιστώσουμε ποιος από τους μέσους όρους στατιστικά διαφέρει. Τα αποτελέσματα του ελέγχου Tukey παρουσιάζονται στο σχήμα 10.



**Σχήμα 10.** Σύγκριση των μέσων όρων της υγρασίας (%) με τον έλεγχο Tukey

$$\bar{X}_{\text{κουμποτά}} = \bar{X}_{\text{κουντούρκα}} > \bar{X}_{\text{τυλλιρία}}$$

Από το σχήμα 10 παρατηρούμε ότι η ποικιλία Τυλλιρία διαφέρει ο μέσος όρος της από τις άλλες δυο ποικιλίες. Η ποικιλία Τυλλιρία έχει τον μικρότερο μέσο όρο οπότε η σύσταση της σε υγρασίας (%) είναι μικρότερη. Ενώ οι ποικιλίες Κουμποτά και Κουντούρκα δεν έχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων τους αφού τα όρια τους αλληλεπικαλύπτονται.

Μελέτες των Re-Jimenez and Amado (1989) και Bengoechea et al. (2008) προσδιόρισαν το ποσοστό υγρασίας του φύτρου του χαρουπιού να είναι 6,83% και 5,76 αντίστοιχα. Οι μελετούμενες ποικιλίες εμφάνισαν τιμές γενικά μεγαλύτερες από τις παραπάνω μελέτες.

#### 5.4. Προσδιορισμός τέφρας

Τέφρα είναι τα ανόργανα στοιχεία που απομένουν μετά την καύση της οργανικής ύλης. Με τον όρο ανόργανα στοιχεία εννοούνται τα στοιχεία που βρίσκονται στον οργανισμό με τη μορφή ανόργανων αλάτων ή τα στοιχεία που λαμβάνονται με τη μορφή αυτή κατά την αποτέφρωση του εξεταζόμενου δείγματος αλεύρου.

Θα πρέπει να επισημανθεί ότι το περιεχόμενο σε τέφρα που υπολογίζεται με την καύση της οργανικής ουσίας του δείγματος στους 900°C, δεν αντιπροσωπεύει ποσοτικά τα ανόργανα συστατικά του αλεύρου γιατί μπορούν να συμβούν απώλειες

πτητικών υλικών υπό μορφή Na, Cl, K, P, S, Se και I. Επίσης, η τέφρα μπορεί να περιέχει και υλικά οργανικής προέλευσης, όπως το θείο (S) και ο φωσφόρος (P) των πρωτεϊνών.

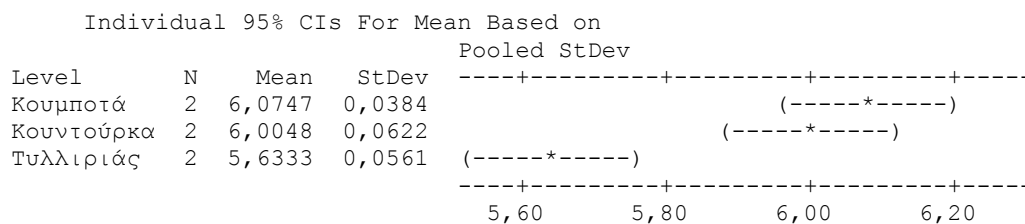
Στην περίπτωση που δεν προστεθούν στο αλεύρο ανόργανα άλατα, η τέφρα αποτελεί δείκτη και μέτρο για τον τύπο του αλεύρου, για την αποτελεσματικότητα του συστήματος αλέσεως που εφαρμόζεται και για τον έλεγχο της φωτεινότητας του χρώματος του αλεύρου. Οι τρεις ποικιλίες των αλεύρων που μελετήθηκαν εμφάνισαν τα παρακάτω ποσοστά τέφρας % και παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

**Πίνακας 11.** Τέφρα (%) για κάθε ποικιλία (Τυλλιλιά, Κουμποτά, Κουντούρκα)

Ποικιλία	Τέφρα %	Μέσος Όρος Τέφρας %
Τυλλιλιάς	5,5936	5,633 ± 0,06
	5,6730	
Κουμποτά	6,0476	6,075 ± 0,04
	6,1019	
Κουντούρκα	6,0488	6,005 ± 0,06
	5,9608	

Η σύγκριση των μέσων όρων των δειγμάτων έγινε με ANOVA για να ελεγχθεί αν υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών δειγμάτων.

Από τον έλεγχο της ANOVA παρατηρούμε ότι η τιμή P (P= 0,007) είναι μικρότερη του 0,05 και άρα ισχύει η εναλλακτική υπόθεση δηλαδή ότι ένας τουλάχιστον μέσος όρος διαφέρει από τους άλλους κατ' επέκταση υπάρχουν στατιστικές διαφορές στην σύσταση της τέφρας (%). Επομένως κάνουμε έλεγχο Tukey για να διαπιστώσουμε ποιος από τους μέσους όρου στατιστικά διαφέρει. Τα αποτελέσματα του ελέγχου Tukey παρουσιάζονται στο σχήμα 11.



**Σχήμα 11.** Σύγκριση των μέσων όρων της τέφρας (%) με τον έλεγχο Tukey.

$\bar{X}_{\text{Κουμποτά}} = \bar{X}_{\text{Κουντούρκα}} > \bar{X}_{\text{Τυλλιριάς}}$

Από το σχήμα 11 παρατηρούμε ότι η ποικιλία Τυλλιρία διαφέρει ο μέσος όρος της από τις άλλες δυο ποικιλίες. Η ποικιλία Τυλλιρία έχει τον μικρότερο μέσο όρο οπότε η σύσταση της σε τέφρα (%) είναι μικρότερη. Ενώ οι ποικιλίες Κουμποτά και Κουντούρκα δεν έχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων τους αφού τα όρια τους αλληλεπικαλύπτονται.

Μελέτες των Re-Jimenez and Amado (1989) και Bengoechea et al. (2008) προσδιόρισαν το ποσοστό τέφρας του φύτρου του χαρουπιού να είναι 5,78 % και 6,34 % αντίστοιχα. Το ποσοστό της τέφρας των μελετούμενων ποικιλιών είναι συγκρίσιμη με αυτή των αναφερόμενων στην παραπάνω βιβλιογραφία

### 5.5. Προσδιορισμός ανόργανων στοιχείων με φασματομετρία οπτικής εκπομπής επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-OES)

Ορισμένα συστατικά των τροφίμων όπως είναι οι πρωτεΐνες, τα πεπτίδια, τα αμινοξέα, οι πολυσακχαρίτες, τα ζάχαρα και τα οργανικά οξέα δεσμεύουν τα ανόργανα συστατικά και ενισχύουν ή περιορίζουν την απορρόφηση τους. Η σημασία των ανόργανων στοιχείων ως συστατικά των τροφίμων είναι ότι συνεισφέρουν και στη γεύση και στην υφή των τροφίμων. Στον Πίνακα 12 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάλυσης των ανόργανων στοιχείων κάθε ποικιλίας.

**Πίνακας 12.** Ανόργανα στοιχεία της κάθε ποικιλίας σε mg/100g δείγματος (Κουμποτά, Κουντούρκα, Τυλλιρία)

	Μονάδες	Κουμποτά	Κουντούρκα	Τυλλιρία	Ημερήσια πρόσληψη (mg) <a href="http://www.bestrong.org.gr">http://www.bestrong.org.gr</a>
Ca	mg/100g	650	676	601	800-1.200
K	mg/100g	1484	1467	1184	2.000-2.500
Na	mg/100g	21,0	21,7	29,6	1.100-3.300
Mg	mg/100g	352	358	292	350-400
P	mg/100g	1339	1369	1299	800-1.200
Cu	mg/100g	3,5	3,5	3,2	2,5-5
Fe	mg/100g	11,3	10,0	16,9	10-18
Mn	mg/100g	7,1	7,0	5,9	2,5-5
Zn	mg/100g	6,9	7,6	6,9	8-11

Το ασβέστιο αποτελεί έναν από τα πιο σημαντικά ανόργανα συστατικά, λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης του στο ανθρώπινο οργανισμό. Η πρόσληψή του είναι απαραίτητη για τις λειτουργικές ανάγκες του μυϊκού συστήματος. Η ποικιλία Κουντούρκα με 676 mg/100g έχει μεγαλύτερη θρεπτική αξία σε ασβέστιο από τις άλλες δυο ποικιλίες. Και οι τρεις ποικιλίες δεν είναι σε θέση να καλύψουν τις ανάγκες της ημερήσιας πρόσληψης. Οι δύο άλλες ποικιλίες Κουμποτά και Τυλλιρία εμφάνισαν τιμές 650 και 601 mg/100g αντίστοιχα, για το λόγο αυτό θεωρούνται χαμηλότερης θρεπτικής αξίας σε ασβέστιο από αυτή της ποικιλίας Κουντούρκα.

Το κάλιο αποτελεί το πιο κοινό κατιόν του ενδοκυτταρικού υγρού. Η ημερήσια πρόσληψη του πρέπει να είναι περίπου 2.000-2.500 mg. Η λειτουργία του στον ανθρώπινο οργανισμό είναι να ρυθμίζει την ωσμωτική πίεση μέσα στα κύτταρα, συμμετέχει στην μεταφορά μέσω της κυτταρικής μεμβράνης και επίσης ενεργοποιεί έναν αριθμό ενζύμων. Οι ποικιλίες Κουμποτά και Κουντούρκα εμφανίζουν τιμές

1484 και 1467 mg/100g αντίστοιχα, ενώ η ποικιλία Τυλλιλία 1184 mg/100g. Και οι τρεις ποικιλίες δεν είναι σε θέση να καλύψουν τις ανάγκες της ημερήσιας πρόσληψης.

Το νάτριο βρίσκεται κυρίως ως εξωκυτταρικό συστατικό και διατηρεί την ωσμωτική πίεση του εξωκυτταρικού υγρού. Επιπλέον, ενεργοποιεί κάποια ένζυμα, όπως την αμυλάση. Οι ποικιλίες Τυλλιλία, Κουμποτά και Κουντούρκα εμφανίζουν τιμές 29,6, 21,0 και 21,7 mg/100g αντίστοιχα, οπότε δεν είναι σε θέση να καλύψουν τις ανάγκες της ημερήσιας πρόσληψης. Οι ποικιλίες χαρουπιού δεν θεωρούνται πηγές νατρίου.

Το μαγνήσιο αποτελεί κύριο συστατικό και λειτουργεί ως ενεργοποιητής πολλών ενζύμων, και ως σταθεροποιητής των μεμβρανών του πλάσματος, των ενδοκυτταρικών μεμβρανών και των νουκλεϊνικών οξέων. Οι ποικιλίες Κουμποτά και Κουντούρκα εμφανίζουν τιμές 352 και 358 mg/100g αντίστοιχα, ενώ η ποικιλία Τυλλιλία εμφάνισε τιμή 292 mg/100g. Τα Κουμποτά και η Κουντούρκα εμφάνισαν τιμές μέσα στα όρια της ημερήσιας πρόσληψης, ενώ η ποικιλία Τυλλιλία χαμηλότερη τιμή από τις ανάγκες της ημερήσιας πρόσληψης.

Ο φώσφορος υπό τη μορφή άλατος, ελεύθερος ή δεσμευμένος ως εστέρας ή παρών ως ανυδρίτης, παίζει σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό και ως εκ τούτου είναι βασικό συστατικό. Οι ποικιλίες Κουντούρκα, Κουμποτά και Τυλλιλία εμφανίζουν τιμές 1369, 1339 και 1299 mg/100g αντίστοιχα. Οι ποικιλίες θεωρούνται με βάση την ημερήσια πρόσληψη (800-1.200 mg) καλές πηγές φώσφορου.

Χαλκός βρίσκεται στο πλάσμα του αίματος. Συμμετέχει στην απορρόφηση του σιδήρου, στο μεταβολισμό και στο σχηματισμό των ελαστικών και συνδετικών ιστών. Οι δύο ποικιλίες Κουμποτά και Κουντούρκα εμφάνισαν την ίδια τιμή 3,5 mg/100g, ενώ η ποικιλία Τυλλιλία 3,2mg/100g. Οι τιμές των ποικιλιών βρίσκονται μέσα στα όρια της ημερήσιας πρόσληψης (2,5-5mg).

Ο σίδηρος βρίσκεται σε μεγάλη ποσότητα στο ανθρώπινο οργανισμό για αυτό το λόγο είναι απαραίτητη η πρόσληψη του σε ημερήσια βάση. Βρίσκεται κατά βάση στην αιμοσφαιρίνη και στις χρωστικές μυογλοβίνης. Επίσης, βρίσκεται σε ένα μεγάλο αριθμό ενζύμων. Την μεγαλύτερη τιμή εμφάνισε η ποικιλία Τυλλιλία με 16,9 mg/100g, ενώ τα Κουμποτά 11,3mg/100g, και η Κουντούρκα 10,0mg/100g. Και οι

τρεις ποικιλίες βρίσκονται μέσα στα όρια της ημερήσια κάλυψης. Η ποικιλία Τυλλιλία έχει μεγαλύτερη θρεπτική αξία σε σίδηρο από τις άλλες δυο ποικιλίες.

Το μαγγάνιο είναι ενεργοποιητής πολλών ενζύμων, βοηθά στην αύξηση των οστών και των τενόντων. Οι ποικιλίες Κουμποτά, Κουντούρκα και Τυλλιλία εμφάνισαν τιμές 7,1 7,0 και 5,9 mg/100g αντίστοιχα. Όλες οι ποικιλίες βρίσκονται πάνω από τα όρια της ημερήσιας πρόσληψης (2,5-5 mg), για αυτό το λόγο θεωρούνται καλές πηγές σε μαγγάνιο.

Ο ψευδάργυρος αποτελεί συστατικό πολλών ενζύμων αλλά έχει την ικανότητα να ενεργοποιεί και άλλα ένζυμα λόγω των δισθενών μεταλλικών ιόντων του. Η ποικιλία Κουντούρκα εμφάνισε τιμή 7,6 mg/100g, ενώ οι άλλες δύο ποικιλίες παρουσίασαν την ίδια τιμή 6,9 mg/100g. Με βάση την ημερήσια πρόσληψη οι ποικιλίες βρίσκονται κάτω από αυτά τα όρια (8-11 mg). Η ποικιλία Κουντούρκα θεωρείται καλύτερη πηγή σε ψευδάργυρο σε σχέση με τις άλλες δύο ποικιλίες.

## **5.6. Προσδιορισμός λίπους με την μέθοδο Soxhlet**

Το κλάσμα λιπών και ελαίων που παραλαμβάνεται από την μέθοδο *Soxhlet* λέγεται αιθέριο εκχύλισμα διότι εκτός των ανωτέρων ουσιών, εκχυλίζονται με το εξάνιο και άλλες ουσίες όπως κηροί, οργανικά οξέα, αλκοόλες, βιταμίνες καθώς και χρωστικές.

Πιο συγκεκριμένα με την μέθοδο αυτή προσδιορίζουμε το ποσοστό του λίπους % για κάθε μία από τις τρεις ποικιλίες. Ο Πίνακας 13 περιέχει τις τιμές με βάση την μέθοδο *Soxhlet* για το λίπος % επί ξηρού αλεύρου και για το λίπος % άλευρο ως έχει για κάθε μία από τις τρεις ποικιλίες.

**Πίνακας 13.** Λίπους % επί ξηρού και ως έχει αλεύρου για κάθε ποικιλία (Τυλλιλιά, Κουμποτά, Κουντούρκα) της μεθόδου Soxhlet

Ποικιλία	Λίπος % επί ξηρού	Μέσος όρος ± T.A.	Λίπος % ως έχει	Μέσος όρος ± T.A.
Τυλλιλιάς	5,8884	6,7166 ± 0,46	5,0312	5,7164 ± 0,26
	7,5448		6,4015	
Κουμποτά	5,8644	5,8050 ± 0,08	4,9722	4,9101 ± 0,09
	5,7455		4,8479	
Κουντούρκα	5,6439	5,4782 ± 0,23	4,8269	4,6641 ± 0,23
	5,3124		4,5013	

Η σύγκριση των μέσων όρων των δειγμάτων έγινε με ANOVA για να ελεγχθεί αν υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών δειγμάτων. Οι τιμές P του ελέγχου της ANOVA είναι 0,195 και 0,162 για επί ξηρού και επί υγρού αλεύρου αντίστοιχα. Οι τιμές P είναι μεγαλύτερες του 0,05 και άρα ισχύει η μηδενική υπόθεση δηλαδή ότι όλοι μέσοι όροι δεν διαφέρουν μεταξύ τους και στις δύο περιπτώσεις κατ' επέκταση δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές στην σύσταση του λίπους (%) των τριών ποικιλιών.

$$\bar{X}_{\text{Τυλλιλιάς}} = \bar{X}_{\text{Κουμποτά}} = \bar{X}_{\text{Κουντούρκα}}$$

Μελέτες των Re-Jimenez and Amado (1989) και Bengoechea et al. (2008) προσδιόρισαν το ποσοστό λίπους (επί ξηρού) του φύτρου του χαρουπιού να είναι 7,98 % και 2,26 % αντίστοιχα. Και οι τρεις ποικιλίες εμφάνισαν τιμές που είναι συγκρίσιμες με την πρώτη μελέτη.

## 5.7. Προσδιορισμός πρωτεϊνών κατά *Kjeldahl*

Η διαδικασία προσδιορισμού της πρωτεΐνης πραγματοποιείται μετά το πέρασμα των τριών σταδίων καύση, απόσταξη και ογκομέτρηση, οι αντιδράσεις των σταδίων έχουν αναφερθεί πιο πάνω. Η μέθοδος αυτή προσδιορίζει το % ολικό άζωτο, όπου με τον συντελεστή *Kjeldahl* υπολογίζεται η πρωτεΐνη στο δείγμα. Στα δείγματα που μελετούνται προβλέπονται μεγάλες τιμές πρωτεΐνης (%), η οποία αναφέρεται στην κύρια πρωτεΐνη των χαρουπιών την καρουβίνη. Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται οι τιμές % πρωτεΐνης από τις τρεις ποικιλίες χαρουπιών που μελετήθηκαν.

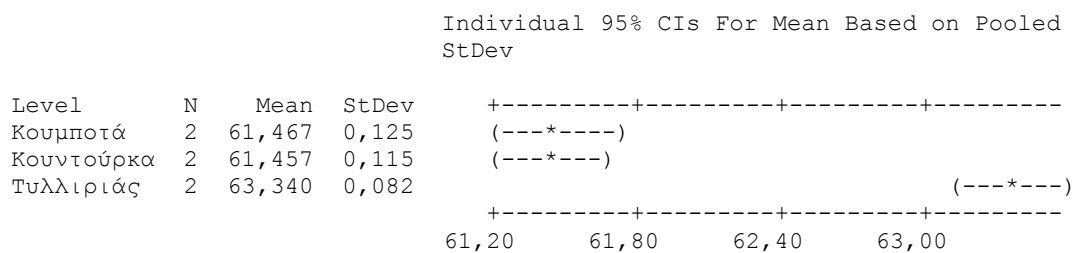
**Πίνακας 14.** Πρωτεΐνη (%) για κάθε ποικιλία (Τυλλιρία, Κουμποτά, Κουντούρκα) με τη μέθοδο *Kjeldahl*.

Ποικιλία	% Πρωτεΐνη	Μέσος όρος $\pm$ T.A.
Τυλλιρία	63,3982	63,3403 $\pm$ 0,08
	63,2823	
Κουμποτά	61,5556	61,4670 $\pm$ 0,13
	61,3790	
Κουντούρκα	61,5384	61,4572 $\pm$ 0,12
	61,3759	

Η σύγκριση των μέσων όρων των δειγμάτων έγινε με ANOVA για να ελεγχθεί αν υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών δειγμάτων.

Από τον έλεγχο της ANOVA παρατηρούμε ότι η τιμή P ( $P= 0,001$ ) είναι μικρότερη του 0,05 και άρα ισχύει η εναλλακτική υπόθεση δηλαδή ότι ένας τουλάχιστον μέσος όρος διαφέρει από τους άλλους κατ' επέκταση υπάρχουν στατιστικές διαφορές στην σύσταση της πρωτεΐνης (%). Επομένως κάνουμε έλεγχο Tukey για να διαπιστώσουμε ποιος από τους μέσους όρους στατιστικά διαφέρει. Τα αποτελέσματα του ελέγχου Tukey παρουσιάζονται στο σχήμα 12.





**Σχήμα 12.** Σύγκριση των μέσων όρων της πρωτεΐνης (%) με τον έλεγχο Tukey

$$\bar{X} \text{ τυλλιριάς} > \bar{X} \text{ κουμποτά} = \bar{X} \text{ κουντούρκα}$$

Από το σχήμα 12 παρατηρούμε ότι η ποικιλία Τυλλιρία διαφέρει ο μέσος όρος της από τις άλλες δυο ποικιλίες. Η ποικιλία Τυλλιρία έχει τον μεγαλύτερο μέσο όρο οπότε η σύσταση της σε πρωτεΐνη (%) είναι μεγαλύτερη, για αυτό τον λόγο θεωρείται υψηλής θρεπτικής αξίας. Ενώ οι ποικιλίες Κουμποτά και Κουντούρκα δεν έχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων τους αφού τα όρια τους αλληλεπικαλύπτονται.

Μελέτες των Re-Jimenez and Amado (1989) και Bengoechea et al. (2008) προσδιόρισαν το ποσοστό πρωτεΐνης του φύτρου του χαρουπιού να είναι 52,49 % και 48,2 % αντίστοιχα. Και οι τρεις ποικιλίες εμφάνισαν μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεΐνης από τις τιμές των βιβλιογραφικών μελετών.

## 5.8. Προσδιορισμός των αμινοξέων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

### ΚΟΥΜΠΟΤΑ

Στον Πίνακα 15 παρουσιάζονται οι τιμές της συγκέντρωσης των αμινοξέων που ανιχνεύθηκαν στην ποικιλία Κουμποτά.

**Πίνακας 15.** Αποτελέσματα του προσδιορισμού των αμινοξέων σε g/100g της ποικιλίας Κουμποτά.

Αμινοξέα	Περιεκτικότητα	Μονάδες
Αλανίνη	2,91 ± 0,30	g/100g
Αργινίνη	7,89 ± 0,79	g/100g
Ασπαραγινικό οξύ	5,11 ± 0,51	g/100g
Κυστεΐνη	1,10 ± 0,17	g/100g
Φαινυλαλανίνη	2,34 ± 0,30	g/100g
Γλυκίνη	2,89 ± 0,30	g/100g
Γλουταμινικό οξύ	14,48 ± 1,00	g/100g
Ιστιδίνη	2,69 ± 0,30	g/100g
Ισολευκίνη	2,27 ± 0,30	g/100g
Λευκίνη	4,29 ± 0,43	g/100g
Λυσίνη	3,96 ± 0,40	g/100g
Μεθειονίνη	0,78 ± 0,11	g/100g
Προλίνη	1,88	g/100g
Μεθειονίνη + Κυστεΐνη	2,31 ± 0,30	g/100g
Σερίνη	2,66 ± 0,30	g/100g
Τυροσίνη	1,64 ± 0,25	g/100g
Θρεονίνη	2,03 ± 0,30	g/100g
Βαλίνη	3,05 ± 0,31	g/100g

Τα αμινοξέα με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα στα εκατό γραμμάρια του δείγματος ήταν το γλουταμινικό οξύ, αργινίνη, ασπαραγινικό οξύ με 14,48±1,00, 7,89±0,79 και 5,11±0,51 g αντίστοιχα. Ενώ την μικρότερη περιεκτικότητα την εμφάνισαν τα αμινοξέα μεθειονίνη, κυστεΐνη, τυροσίνη με 0,78 ± 0,11, 1,10 ± 0,17 και 1,64 ± 0,25 g/100 g αντίστοιχα.

Η περιεκτικότητα των απαραίτητων αμινοξέων βρέθηκε να είναι για τη λευκίνη 4,29 ± 0,43, τη ισολευκίνη 2,27 ± 0,30, τη λυσίνη 3,96 ± 0,40, τη θρεονίνη 2,03 ± 0,30, τη φαινυλαλανίνη 2,34 ± 0,30, τη βαλίνη 3,05 ± 0,31 και τη ιστοιδίνη 2,69 ± 0,30 g/100g φύτρου.

## ΚΟΥΝΤΟΥΡΚΑ

Στον Πίνακα 16 παρουσιάζονται οι τιμές της συγκέντρωσης των αμινοξέων που ανιχνεύθηκαν στην ποικιλία Κουντούρκα.

**Πίνακας 16.** Αποτελέσματα του προσδιορισμού των αμινοξέων σε g/100g της ποικιλίας Κουντούρκα.

Αμινοξέα	Περιεκτικότητα	Μονάδες
Αλανίνη	2,87 ± 0,30	g/100g
Αργινίνη	8,91 ± 0,89	g/100g
Ασπαραγινικό οξύ	4,97 ± 0,50	g/100g
Κυστεΐνη	1,16 ± 0,17	g/100g
Φαινυλαλανίνη	2,11 ± 0,30	g/100g
Γλυκίνη	3,02 ± 0,30	g/100g
Γλουταμινικό οξύ	14,58 ± 1,00	g/100g
Ιστιδίνη	2,47 ± 0,30	g/100g
Ισολευκίνη	2,27 ± 0,30	g/100g
Λευκίνη	4,19 ± 0,42	g/100g
Λυσίνη	3,96 ± 0,39	g/100g
Μεθειονίνη	0,84 ± 0,13	g/100g
Προλίνη	2	g/100g
Μεθειονίνη + Κυστεΐνη	2,44 ± 0,30	g/100g
Σερίνη	2,62 ± 0,30	g/100g
Τυροσίνη	1,56 ± 0,23	g/100g
Θρεονίνη	2,07 ± 0,30	g/100g
Βαλίνη	2,97 ± 0,30	g/100g

Τα αμινοξέα με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα στα εκατό γραμμάρια του δείγματος ήταν το γλουταμινικό οξύ, αργινίνη, ασπαραγινικό οξύ με 14,58 ± 1,00, 8,91 ± 0,89 και 4,97 ± 0,50 g αντίστοιχα. Ενώ την μικρότερη περιεκτικότητα την εμφάνισαν τα αμινοξέα μεθειονίνη, κυστεΐνη, τυροσίνη με 0,84 ± 0,13, 1,16 ± 0,17 και 1,56 ± 0,23 g/100g φύτρου αντίστοιχα.

Η περιεκτικότητα των απαραίτητων αμινοξέων βρέθηκε να είναι για τη λευκίνη  $4,19 \pm 0,42$ , τη ισολευκίνη  $2,27 \pm 0,30$ , τη λυσίνη  $3,96 \pm 0,39$ , τη θρεονίνη  $2,07 \pm 0,30$ , τη φαινυλαλανίνη  $2,11 \pm 0,30$ , τη βαλίνη  $2,97 \pm 0,30$  και τη ιστιδίνη  $2,47 \pm 0,30$  g/100g φύτρου.

## ΤΥΛΛΙΡΙΑ

Στον Πίνακα 17 παρουσιάζονται οι τιμές της συγκέντρωσης των αμινοξέων που ανιχνεύτηκαν στην ποικιλία Τυλλίρια.

**Πίνακας 17.** Αποτελέσματα του προσδιορισμού των αμινοξέων σε g/100g της ποικιλίας Τυλλίρια.

Αμινοξέα	Ευρεθείσα Τιμή	Μονάδες
Αλανίνη	$3,03 \pm 0,30$	g/100g
Αργινίνη	$8,96 \pm 0,90$	g/100g
Ασπαραγινικό οξύ	$5,19 \pm 0,52$	g/100g
Κυστεΐνη	$1,21 \pm 0,18$	g/100g
Φαινυλαλανίνη	$2,33 \pm 0,30$	g/100g
Γλυκίνη	$3,01 \pm 0,30$	g/100g
Γλουταμινικό οξύ	$14,95 \pm 1,00$	g/100g
Ιστιδίνη	$2,58 \pm 0,30$	g/100g
Ισολευκίνη	$2,49 \pm 0,30$	g/100g
Λευκίνη	$4,45 \pm 0,45$	g/100g
Λυσίνη	$4,02 \pm 0,40$	g/100g
Μεθειονίνη	$0,84 \pm 0,13$	g/100g
Προλίνη	2,05	g/100g
Μεθειονίνη + Κυστεΐνη	$2,28 \pm 0,30$	g/100g
Σερίνη	$2,69 \pm 0,30$	g/100g
Τυροσίνη	$1,68 \pm 0,25$	g/100g
Θρεονίνη	$2,05 \pm 0,30$	g/100g
Βαλίνη	$3,06 \pm 0,31$	g/100g

Τα αμινοξέα με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα στα εκατό γραμμάρια του δείγματος ήταν το γλουταμινικό οξύ, αργινίνη, ασπαραγινικό οξύ με  $14,95 \pm 1,00$ ,  $8,96 \pm 0,90$  και  $5,19 \pm 0,52$  g αντίστοιχα. Ενώ την μικρότερη περιεκτικότητα την εμφάνισαν τα αμινοξέα μεθειονίνη, η κυστεΐνη, η τυροσίνη με  $0,84 \pm 0,13$ ,  $1,21 \pm 0,18$  και  $1,68 \pm 0,25$  g/100g φύτρου αντίστοιχα.

Η περιεκτικότητα των απαραίτητων αμινοξέων βρέθηκε να είναι για τη λευκίνη  $4,45 \pm 0,45$ , τη ισολευκίνη  $2,49 \pm 0,30$ , τη λυσίνη  $4,02 \pm 0,40$ , τη θρεονίνη  $2,05 \pm 0,30$ , τη φαινυλαλανίνη  $2,33 \pm 0,30$ , τη βαλίνη  $3,06 \pm 0,31$  και τη ιστιδίνη  $2,58 \pm 0,30$  g/100g φύτρου.

### **Σύγκριση αποτελεσμάτων των αμινοξέων των τριών ποικιλιών**

Η λυσίνη είναι ένα απαραίτητο αμινοξύ για τον οργανισμό, υπεύθυνο για την σωστή ανάπτυξη και τη διατήρηση σωστών επιπέδων στο σώμα. Με τον όρο απαραίτητα αμινοξέα εννοούμε αυτά τα οποία ο οργανισμός δεν μπορεί να τα συνθέσει μόνος του και πρέπει να τα λάβει καθημερινά μέσω της διατροφής του. Η λυσίνη αυξάνει την απορρόφηση του ασβεστίου και μειώνει την αποβολή του. Δρα επίσης συνεργατικά με άλλα αμινοξέα ώστε να γίνει σωστή ανάπτυξη του οργανισμού και σωστή διατήρηση βάρους στον οργανισμό. Η ποικιλία Τυλλιλία εμφανίζει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα  $4,02$  g/100g σε σχέση με τις άλλες ποικιλίες.

Η αργινίνη είναι ένα αμινοξύ το οποίο συμμετέχει σε πολλές διεργασίες του οργανισμού, όπως επούλωση πληγών, αποβολή της περίσσειας αμμωνίας, ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και έκκριση ορμονών όπως γλυκογόνο και η ινσουλίνη. Η ποικιλία Τυλλιλία εμφανίζει την μεγαλύτερη περιεκτικότητα  $8,96$  g/100g σε σχέση με τις άλλες ποικιλίες.

Δεδομένου ότι τα αμινοξέα κατατάσσονται σε κατηγορίες:

- Μη πολικά αμινοξέα: αλανίνη, φαινυλαλανίνη, ισολευκίνη, λευκίνη, μεθειονίνη, προλίνη και βαλίνη.
- Πολικά αμινοξέα: κυστεΐνη, γλυκίνη, σερίνη, τυροσίνη και θρεονίνη.

- Θετικά φορτισμένα αμινοξέα: αργινίνη, ιστιδίνη και λυσίνη.
- Αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα: ασπαραγινικό οξύ και γλουταμινικό οξύ.

Με βάση αυτή την κατηγοριοποίηση των αμινοξέων παρατηρούμε ότι και στις τρεις ποικιλίες τα αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα έχουν την μεγαλύτερη περιεκτικότητα ανά 100g αλεύρου από φύτρο. Τα περισσότερα αμινοξέα που ανιχνεύτηκαν ανήκουν στην κατηγορία των μη πολικών αμινοξέων αλλά η συνολική (αθροιστική) περιεκτικότητα τους δεν είναι μεγαλύτερη από την συνολική (αθροιστική) περιεκτικότητα των αρνητικά φορτισμένων αμινοξέων. Έτσι, θα μπορούσαμε να χαρακτηρίσουμε τα αμινοξέα των τριών ποικιλιών ότι έχουν χαρακτήρα αρνητικά φορτισμένο λόγω της μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα στα δείγματα.

Στη σύγκριση της συνολικής (αθροιστικής) περιεκτικότητας των πολικών και μη πολικών αμινοξέων παρατηρούμε ότι υπερισχύει η περιεκτικότητα των μη πολικών αμινοξέων και στις τρεις ποικιλίες. Τα πολικά αμινοξέα έχουν συνολική (αθροιστική) περιεκτικότητα περίπου 10g/100g και στις ποικιλίες.

Στη σύγκριση της συνολικής (αθροιστικής) περιεκτικότητας των θετικά φορτισμένων και αρνητικά φορτισμένων αμινοξέων παρατηρούμε ότι υπερισχύει η περιεκτικότητα των αρνητικά φορτισμένων αμινοξέων και στις τρεις ποικιλίες. Τα αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα έχουν συνολική (αθροιστική) περιεκτικότητα περίπου 19,5g/100g και στις ποικιλίες.

Οι μελέτες των Re-Jimenez and Amado (1989) και των Bengoechea et al. (2008) προσδιόρισαν τα g αμινοξέων ανά 100g φύτρου.

Οι τιμές που ανέφεραν οι Re-Jimenez and Amado (1989) για τα αμινοξέα μεθειονίνη (0,72 g/100g), σερίνη (2,66 g/100g), τυροσίνη (1,40 g/100g) και θρεονίνη (1,91 g/100g), είναι παρόμοιες με αυτές που εμφάνισαν οι ποικιλίες Τυλλιρία, Κουμποτά και Κουντούρκα, ενώ η κυστεΐνη (0,30 g/100g) έχει πολύ μικρότερη τιμή στη μελέτη των Re-Jimenez and Amado.

Από την άλλη πλευρά, από τη μελέτη των Bengoechea et al. (2008) προκύπτει ότι οι τιμές των αμινοξέων, της κυστεΐνης (0,55 g/100g) και της βαλίνης (2,5 g/100g) που βρέθηκαν στις ποικιλίες Τυλλιλρία, Κουμποτά και Κουντούρκα, είναι μεγαλύτερες από εκείνες τις τιμές της συγκεκριμένης μελέτης ενώ παρόμοιες τιμές εμφάνισαν τα αμινοξέα ιστιδίνη (2,4 g/100g) και ισολευκίνη (2,15 g/100g).

## 5.8 Προσδιορισμός ολικών διαιτητικών ινών

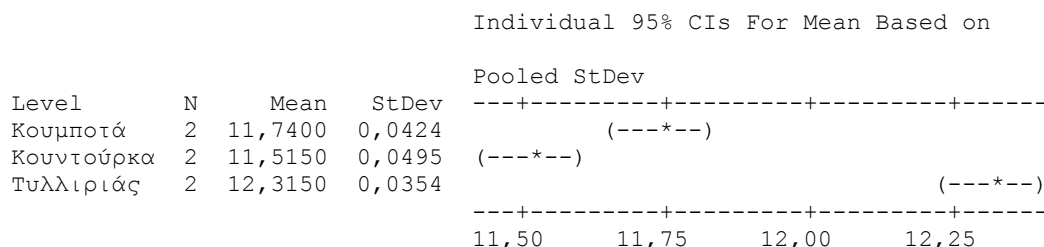
Ο προσδιορισμός των διαιτητικών ινών πραγματοποιήθηκε για τις τρεις ποικιλίες των χαρουπιών και τα αποτελέσματα του παρουσιάζονται στον Πίνακα 18.

**Πίνακας 18.** Ολικές διαιτητικές ίνες (%) στις τρεις ποικιλίες Τυλλιλρία, Κουμποτά, Κουντούρκα.

Ποικιλίες	Ολικές διαιτητικές ίνες (%)	Μέσος όρος ± Τ.Α.
Κουμποτά	11,77	11,74 ± 0,04
	11,71	
Κουντούρκα	11,55	11,52 ± 0,05
	11,48	
Τυλλιλρία	12,34	12,35 ± 0,04
	12,29	

Η σύγκριση των μέσων όρων των δειγμάτων έγινε με ANOVA για να ελεγχτεί αν υπάρχει στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών δειγμάτων. Από τον έλεγχο της ANOVA παρατηρούμε ότι η τιμή P (P= 0,001) είναι μικρότερη του 0,05 και άρα ισχύει η εναλλακτική υπόθεση δηλαδή ότι ένας τουλάχιστον μέσος όρος διαφέρει από τους άλλους, κατ' επέκταση υπάρχουν στατιστικές διαφορές στην σύσταση των ολικών διαιτητικών ινών (%). Επομένως κάνουμε έλεγχο Tukey για να

διαπιστώσουμε ποιος από τους μέσους όρου στατιστικά διαφέρει. Τα αποτελέσματα του ελέγχου Tukey παρουσιάζονται στο σχήμα 13.



**Σχήμα 13.** Σύγκριση των μέσων όρων των ολικών διαιτητικών ινών (%) με τον έλεγχο Tukey.

Χτυλλιριάς > Χκουμποτά > Χκουντούρκα

Από το σχήμα 13 παρατηρούμε ότι όλες οι ποικιλίες διαφέρουν μεταξύ τους αφού δεν έχουμε αλληλεπικαλύψεις των ορίων των μέσων όρων των τριών ποικιλιών. Η ποικιλία Τυλλιρία έχει τον μεγαλύτερο μέσο όρο οπότε θεωρείται μεγαλύτερης θρεπτικής αξίας σε διαιτητικές ίνες από τις άλλες δύο ποικιλίες, ακολουθεί η ποικιλία Κουμποτά και τέλος το μικρότερο μέσο όρο το έχει η ποικιλία Κουντούρκα.

Οι μελέτες των Re-Jimenez and Amado (1989) και Bengoechea et al. (2008), αναφέρουν για τις διαιτητικές ίνες ποσοστό 24,3%. Οι ποικιλίες Τυλλιρία, Κουμποτά και Κουντούρκα εμφανίζουν σημαντικά μικρότερο ποσοστό ολικών διαιτητικών ινών.



## Κεφάλαιο 6. Συμπεράσματα

- Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ποικιλιών διαφέρουν ελάχιστα στις τρεις ποικιλίες. Το μεγαλύτερο βάρος των χιλιών σπόρων εμφάνισε η ποικιλία Κουντούρκα.
- Η απόδοση κάθε ποικιλίας σε καθαρό ξηρό φύτρο είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την βιομηχανική επεξεργασία των σπόρων της χαρουπιάς. Η μεγαλύτερη απόδοση σε ξηρό φύτρο την είχε η ποικιλία Κουντούρκα (20,4%).
- Ο προσδιορισμός της υγρασίας (%) έδειξε στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών ποικιλιών. Η ποικιλία Τυλλιρία διέφερε στατιστικά από τις άλλες δυο ποικιλίες, έχοντας το μικρότερο ποσοστό υγρασίας 6,4963 %.
- Ο προσδιορισμός της τέφρας (%) έδειξε στατιστική διαφορά μεταξύ των τριών ποικιλιών. Η ποικιλία Τυλλιρία διέφερε στατιστικά από τις άλλες δυο ποικιλίες. Το μεγαλύτερο ποσοστό το κατείχε η ποικιλία Κουμποτά (6,0747 %) η οποία δεν διέφερε στατιστικά από την ποικιλία Κουντούρκα (6,0048 %).
- Στον προσδιορισμό των ανόργανων στοιχείων:
  - (a) η ποικιλία Κουντούρκα με 676 mg/100g φύτρου έχει μεγαλύτερη θρεπτική αξία σε ασβέστιο από τις άλλες δύο ποικιλίες.
  - (b) 100 g αλεύρου φύτρου των ποικιλιών Κουντούρκα και Κουμποτά είναι σε θέση να καλύψουν της ανάγκες της ημερήσιας πρόσληψης σε μαγνήσιο.
  - (c) η ποικιλία Τυλλιρία με 16,9 mg/100g φύτρου έχει μεγαλύτερη θρεπτική αξία σε σίδηρο από τις άλλες δύο ποικιλίες.
  - (d) και οι τρεις ποικιλίες θεωρούνται καλές πηγές φωσφόρου και μαγγανίου.
- Ο προσδιορισμός του λίπους επί ξηρής (%) δεν έδειξε στατιστικές διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες
- Ο προσδιορισμός της πρωτεΐνης (%) έδειξε στατιστική διαφορά με μεγαλύτερο ποσοστό πρωτεΐνης να κατέχει η ποικιλία Τυλλιρία (63,3403 %) από τις άλλες δύο ποικιλίες, οι οποίες δεν διαφέρουν μεταξύ του.

- Στην ανάλυση των αμινοξέων, παρατηρήθηκε ότι το κάθε προσδιοριζόμενο αμινοξύ έχει παρόμοια περιεκτικότητα και στις τρεις ποικιλίες. Τα αμινοξέα γλουταμινικό οξύ, αργινίνη και ασπαραγινικό οξύ παρουσίασαν την μεγαλύτερη περιεκτικότητα, ενώ την μικρότερη τα αμινοξέα μεθειονίνη, κυστεΐνη, τυροσίνη και στις τρεις ποικιλίες. Η μεγαλύτερη συνολική (αθροιστική) περιεκτικότητα των αμινοξέων ανήκει στα αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα και στις τρεις ποικιλίες. Η ποικιλία Τυλλιλία εμφάνισε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε απαραίτητα αμινοξέα λυσίνη (4,02 g/100g φύτρου) και αργινίνη (8,96 g/100g φύτρου) σε σύγκριση με τις άλλες δύο ποικιλίες.
- Στον προσδιορισμό των ολικών διαιτητικών ινών παρατηρείται στατιστική διαφορά σε όλους τους μέσους όρους των ποικιλιών. Το μεγαλύτερο ποσοστό σε ολικές διαιτητικές ίνες εμφάνισε η ποικιλία Τυλλιλία με 12,315 %.

## **Κεφάλαιο 7. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα**

- Αξιοποίηση του απομονωθέντος υλικού για πειραματική αρτοποιία σε προϊόντα ελεύθερα γλουτένης.
- Ποιοτικός έλεγχος και αξιολόγηση της αρεστότητας των αρτοσκευασμάτων που παράγονται από άλευρα ελεύθερα γλουτένης.
- Ρεολογικός χαρακτηρισμός του πρωτεϊνικού συμπυκνώματος.
- Μελέτη των λειτουργικών ιδιοτήτων του πρωτεϊνικού συμπυκνώματος.

## Βιβλιογραφία

- Avallone R., Plessi M., Baraldi M. and Monzani A. (1997). Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 166-172.
- Batlle I. and Tous J. (1997). Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. IPGCP Rome, Italy.
- Baumgartner S., Genner-Ritzmann R., Haas J., Amado R. and Neukom H., (1986). Isolation and Identification of Cyclitols in Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Science of Food and Agriculture*, 34, 827-829.
- Belitz H. D., Grosch W. and Schieberle P. (2006). Χημεία Τροφίμων. Εκδόσεις Τζιόλα, σελ. 523-524.
- Bengoechea C., Romero A., Villanueva A., Moreno G., Alaiz M., Millan F., Guerrero A., and Puppo M. C. (2008). Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins. *Food Chemistry*, 107, 675-683.
- Bresolin T. M. B., Milas M., Rinaudo M., Reicher F., and Ganter J. L. M. S., (1999). Role of galactomannan composition on the binary gel formation with xanthan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 26, 225-231.
- Cabecinha A., Guerrero C., Beltrao J., and Brito J. (2010). Carob residues as a substrate and a soil organic amendment. *Wseas Transactions*, 6, 317-326.
- Calixto F. S. and Canellas J. (1982). Components of Nutritional Interest in Carob Pods (*Ceratonia siliqua*). *Journal of Science of Food and Agriculture*, 33, 1319-1323.
- Chen C. W. and Ho C. T. (1995). Antioxidant Properties Of Polyphenols Extracted From Green And Black Teas. *Journal of Food Lipids* 2, 35-46.
- Custódio L., Escapa A.L., Fernandes E., Fajardo A., Aligué R., Alberício F., Neng N., Nogueira J. M. F. and Romano A. (2011). Phytochemical Profile, Antioxidant and Cytotoxic Activities of the Carob Tree (*Ceratonia siliqua* L.) Germ Flour Extracts. *Plant Foods Hum Nutr*, 66, 78-84.
- 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.

- Feillet P. and Roulland T. M. (1998). Caroubin: A Gluten-like Protein Isolate from Carob Bean Germ. *Cereal Chemistry*, 75 (4), 488-492.
- Garcia-Ochoa F. and Casas J. A. (1992). Viscosity of Locust Bean (Ceratoniasiliqua) Gum Solutions. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 59, 97-100.
- Kawamura Y. (2008). June .Carob bean gum, Chemical and Technical Assessment (CTA). [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/69/Carob\\_bean\\_gum.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/69/Carob_bean_gum.pdf). Accessed February 2, 2013.
- Kumazawa S., Taniguchi M., Suzuki Y., Shimura M., Kwon M .S., and Nakayama T. (2002). Antioxidant Activity of Polyphenols in Carob Pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 373-377.
- Manso T., Nunes C., Raposo S., and Lima-Costa M. E. (2010). Carob pulp as raw material for production of the biocontrol agent *P. agglomerans* PBC-1. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 37, 1145-1155.
- Maza M., Zamora R., Alaiz M., Hidalgo F. J., Millan F. and Vioque E. (1989). Carob Bean Germ Seed (Ceratonia siliqua): Study of the Oil and Proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 46, 494-502.
- McCleary B. V., Amado R., Waibel R. and Neukom H. (1981). Effect Of Galactose Content On The Solution And Interaction Properties Of Guar And Carob Galactomannans. *Department of Food Science, Swiss Federal of Techology*, 92, 269-285.
- McLeod G. and ForcenM. (1992). Analysis of Volatile Components Derived from the Carob Bean Ceratonia Siliqua. *Journal Phytochemistry*, 31, 3113-3119.
- Ortega N., Macia A., Romero M. P., Trullols E., MorelloJ. R. N., Angles N., and Motilva M. J. (2009). Rapid Determination of Phenolic Compounds and Alkaloids of Carob Flour by Improved Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 7239-7244.
- Petit M. D. and PinillaJ. M. (1995). Production and Purification of a Sugar Syrup from Carob Pods. *Lebensmittel –Wissenschaft & Technologie*, 28, 145-152.

- Rizzo V., Tomaselli F., Gentintile A., Malfa S. L., and Maccarone E. (2004). Rheological Properties and Sugar Composition of Locust Bean Gum from Different Carob Varieties (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Science of Food and Agriculture*, 52, 7925-7930.
- Re-Jimenez B. L. D., and Amado R. (1989). Comparative study of the chemical composition of germ meals from carob, guar and tara seeds. *Food Hydrocolloids*, 3, 149-156.
- 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.
- Smith F. (1948). The Constitution of Carob Gum. *C.D.C.E.U.M*, 70, 3249-3253.
- 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.
- Yousif A. K. and Alghzawi H. M. (2000). Processing and characterization of carob powder. *Food Chemistry*, 69, 283-287.