



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη νοθείας κατσικίσιου γάλακτος με αγελαδινό γάλα με μοριακές
και φυσικοχημικές μεθόδους

Study of goat milk adulteration with cow's milk using molecular and
physicochemical methods



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ/NAME OF STUDENT

Θεώνη Γεωργαράκη (ΑΜ:19684013)

Theoni Georgaraki

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Δήμητρα Χούχουλα

Dimitra Chouchoula

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023

« Μελέτη νοθείας κατσικίσιου γάλακτος με αγελαδινό γάλα με μοριακές και φυσικοχημικές μεθόδους »

Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή

Η πτυχιακή/διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς και έγινε δεκτή από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

A/α	ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1.	Δήμητρα Χούγουλα	Καθηγήτρια/Επιβλέπουσα	
2.	Βασιλεία Σινάνογλου	Καθηγήτρια – Κοσμήτορας της Σχολής Επιστημών Τροφίμων/Μέλος	
3.	Ευσταθία Τσάκαλη	Επίκουρη Καθηγήτρια/Μέλος	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Θεώνη Γεωργαράκη του Νικολάου, με αριθμό μητρώου 19684013, φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, με πλήρη επίγνωση του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

« Η παρούσα πτυχιακή εργασία έχει συγγραφεί αποκλειστικά από εμένα και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται λεπτομερώς στην εργασία αυτή. Όποιες πηγές χρήσης δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των διαδικτυακών πηγών. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Θεώνη Γεωργαράκη



Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου, κα. Χούχουλα Δήμητρα, Διευθύντρια του Ερευνητικού Εργαστηρίου Ποιότητας & Ασφάλειας Τροφίμων και Ποτών του τμήματος, για τον σημαντικό ρόλο που είχε στην διεξαγωγή της παρούσας πειραματικής πτυχιακής. Την ευχαριστώ πολύ για τη συνεχή καθοδήγηση, το χρόνο, την πολύτιμη βοήθεια και τη στήριξη της σε όλη τη διάρκεια της ερευνητικής μελέτης. Μαζί με την επιβλέπουσα καθηγήτρια, θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τις δύο υποψήφιες διδάκτορες του τμήματος, Βουγιουκλάκη Δέσποινα και Τσάκνη Αλίκη για το χρόνο, τη βοήθεια και την ενθάρρυνση που μου παρείχαν συνεχώς, έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί το πειραματικό μέρος των μοριακών τεχνικών. Επιπροσθέτως, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην κα. Σινάνογλου Βασιλεία, Κοσμήτορα της Σχολής Επιστημών Τροφίμων, για το χρόνο και τον κόπο που διέθεσε για την καθοδήγηση και διεξαγωγή των φυσικοχημικών τεχνικών αλλά και για την επίλυση των αποριών μου. Ένα ακόμη ευχαριστώ στην κα. Τσάκαλη Ευσταθία, Επίκουρη καθηγήτρια του τμήματος, για τις συμβουλές και τη βοήθεια της κατά τη διάρκεια του πειραματικού μέρους.

Τέλος, θα ήθελα να πω ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ στην οικογένεια μου για τη συνεχή στήριξη και παρουσία τους όλα τα χρόνια των σπουδών μου δίνοντας μου τη δύναμη να ολοκληρώσω ένα μεγάλο κομμάτι της ζωής μου.

*Στην οικογένεια μου,
που με στηρίζει σε κάθε μου βήμα*

Περίληψη

Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε η ανίχνευση της νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος σε δείγματα που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο με ανάμειξη κατσικίσιου γάλακτος με αγελαδινό σε διαφορετικές συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 0, 5, 15, 25 έως και 35% v/v χρησιμοποιώντας μοριακές και φυσικοχημικές τεχνικές σε συνδυασμό με στατιστική ανάλυση. Για τον σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκε η μοριακή ανάλυση DNA με την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε συνδυασμό με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης, η φασματοσκοπία υπέρυθρου με εξασθενημένη ολική ανάκλαση μετασχηματισμού Fourier (ATR-FTIR) και ο προσδιορισμός του χρώματος, του ειδικού βάρους καθώς και του σημείου πήξης με τη βοήθεια κρυσκοπίου.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, έδειξαν ότι η μέθοδος μοριακής ανάλυσης DNA έδωσε ιδιαίτερα αξιόπιστα αποτελέσματα ως προς τη μελέτη της συγκεκριμένης περίπτωσης νοθείας, καθώς μπόρεσε να προσδιορίσει με υψηλή ευαισθησία τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά ακόμα και το πιο χαμηλό ποσοστό προσθήκης αγελαδινού γάλακτος. Σημαντικός δείκτης για την ανίχνευση αποδείχθηκε και η τεχνική φασματοσκοπίας υπέρυθρου με εξασθενημένη ολική ανάκλαση μετασχηματισμού Fourier (ATR-FTIR). Η τεχνική αυτή έδωσε διαφορές κυρίως σε τέσσερις βασικές αναλογίες 1638:1545, 1157:1030, 1157:1070 και 1070:1030 των δειγμάτων, οι οποίες διαφέρουν στα δύο είδη γάλακτος και οι τιμές τους εντεινόνταν με την αυξανόμενη προσθήκη του αγελαδινού γάλακτος. Από τις υπόλοιπες τρεις τεχνικές που εφαρμόστηκαν, ο προσδιορισμός του χρώματος και του σημείου πήξης έδωσαν επίσης ικανοποιητικά αποτελέσματα με τις μεγαλύτερες διαφορές να εμφανίζονται στις υψηλές συγκεντρώσεις 25 και 35% v/v ενώ ο προσδιορισμός του ειδικού βάρους μπόρεσε να ανιχνεύσει τη νοθεία του κατσικίσιου γάλακτος μόνο στις δύο υψηλότερες συγκεντρώσεις.

Λαμβάνοντας υπόψη την ανάλυση των παραπάνω αποτελεσμάτων, προέκυψε το συμπέρασμα πως η ανίχνευση της νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα και αξιόπιστα σε χαμηλά ποσοστά με τεχνικές υψηλής ευαισθησίας, αντίθετα με λιγότερο ευαίσθητες τεχνικές, όπως το ειδικό βάρος και η μελέτη του σημείου πήξης, που είναι αποτελεσματικές σε υψηλές συγκεντρώσεις.

Λέξεις κλειδιά: νοθεία γάλακτος, PCR, ATR-FTIR, ειδικό βάρος, σημείο πήξης, χρώμα

Abstract

In the present study, the detection of goat's milk adulteration in samples prepared in the laboratory by mixing goat's milk with cow's milk at different concentrations ranging from 0, 5, 15, 25, and 35% v/v was investigated using molecular and phytochemical techniques combined with statistical analysis. For this purpose, molecular DNA analysis using the polymerase chain reaction (PCR) technique in combination with agarose gel electrophoresis, attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and determination of colour, specific gravity, and freezing point using cryoscopy were used.

The results of this study showed that the DNA molecular analysis method gave high reliable results for the study of this particular adulteration, as it was able to identify satisfactorily and with high sensitivity both qualitatively and quantitatively even the lowest percentage of cow's milk addition. The attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) technique also proved to be an important indicator for the detection. This technique gave differences mainly in four basic ratios 1638:1545, 1157:1030, 1157:1070, and 1070:1030 of the samples, which differ between the two types of milk and their values intensified with increasing addition of cow's milk. Of the other three techniques applied, the determination of colour and freezing point also gave satisfactory results with the largest differences occurring at the high concentrations of 25 and 35% v/v while the determination of specific gravity was able to detect the adulteration of goat's milk only at the two highest concentrations.

Taking into account the analysis of the above results, it was concluded that the detection of goat milk adulteration can be easily and reliably carried out at low concentrations with high-sensitivity techniques, in contrast to less sensitive techniques, such as specific gravity and freezing point study, which are effective at high concentrations.

Key words: milk adulteration, PCR, ATR-FTIR, specific gravity, freezing point, colour

Συντομογραφίες – Αρκτικόλεξα

Συντομογραφίες Αρκτικόλεξα	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
α -La	Alpha - Lactalbumin	α – γαλακτοαλβουμίνη
AQSIQ	General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine	Γενική Διοίκηση Ποιότητας Εποπτείας, Επιθεώρησης και Καραντίνας
ATR-FTIR	Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared	Υπέρυθρο Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης με Μετασχηματισμό Fourier
β - Lg	β - lactoglobulin	β - λακτογλοβουλίνη
COWFORW	Forward Primer for Cow DNA	Πρόσθιος εκκινητής για αγελαδινό DNA
COWREV	Reverse Primer for Cow DNA	Αντίστροφος εκκινητής για αγελαδινό DNA
CVS	Computer Vision System	Σύστημα Υπολογιστικής Όρασης
DNA	Deoxyribonucleic acid	Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
Duplex PCR	Duplex Polymerase Chain Reaction	Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης Διπλής Όψης
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay	Ανοσοενζυμική μέθοδος
FAO	Food and Agriculture Organization	Διεθνής Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας
FDA	U.S. Food and Drug Administration	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ
FIR	Far Infrared	Άπω Υπέρυθρο
FTIR	Fourier Transform Infrared	Υπέρυθρο με Μετασχηματισμό Fourier
GC	Gas Chromatography	Αέρια Χρωματογραφία
GC/IDMS	Gas Chromatography Isotope Dilution Mass Spectrometric	Αέρια Χρωματογραφία σε συνδυασμό με Φασματομετρία Μάζας Ισοτοπικής Αραίωσης
GC-MS	Gas Chromatography - Mass Spectrometry	Αέρια Χρωματογραφία συνδυαστικά με Φασματομετρία Μάζας

GOATFORW	Forward Primer for Goat DNA	Πρόσθιος εκκινητής για κατασικίσιο DNA
GOATREV	Reverse Primer for Goat DNA	Αντίστροφος εκκινητής για κατασικίσιο DNA
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης
Igs	Immunoglobulins	Ανοσοσφαιρίνες
IR	Infrared	Υπέρυθρο
LC-MS/MS	Liquid Chromatography – Mass Spectrometry	Υγρή Χρωματογραφία σε συνδυασμό με Φασματομετρία Μάζας
Lf	Lactoferrin	Λακτοφερίνη
MIR	Mid Infrared	Μέσο Υπέρυθρο
mtDNA	Mitochondrial DNA	Μιτοχονδριακό DNA
Multiplex PCR	Multiplex Polymerase Chain Reaction	Πολυπλεκτική Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης
NIR	Near Infrared	Εγγύς Υπέρυθρο
OPA/NAC	O-Phthalaldehyde-N-Acetyl-L-cysteine Reaction	Αντίδραση Ο-Φθαλαλδεϋδης-N-Ακετυλ-L-κυστεΐνης
PCR	Polymerase Chain Reaction	Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης
pH	Potential of hydrogen	Δυναμικό υδρογόνου
Real-time PCR	Real-time Polymerase Chain Reaction	Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης σε Πραγματικό Χρόνο
SB – ATR – FTIR	Single Bounce Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy	Φασματοσκοπία Υπέρυθρου Εξασθενημένης Ολικής Ανάκλασης Μονής Αναπήδησης με Μετασχηματισμό Fourier
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate – PolyAcrylamide Gel Electrophoresis	Ηλεκτροφόρηση Πολυακρυλαμιδίου Δωδεκυλοθειϊκού Νατρίου
UHT	Ultra High Temperature	Υψηλή Θερμική Επεξεργασία
UV-Vis	Ultraviolet - Visible	Υπεριώδες – Ορατό

Περιεχόμενα

Περίληψη	5
Abstract.....	6
Συνοτομογραφίες – Αρκτικόλεξα	7
Κατάλογος εικόνων / σχημάτων.....	12
Κατάλογος Πινάκων.....	15
Εισαγωγή	16
1 Γενικά στοιχεία για το γάλα.....	18
1.1 Ορισμός γάλακτος	18
1.2 Ορισμός γαλακτοκομικών προϊόντων	19
1.3 Κατηγορίες γάλακτος	20
2 Παραγωγή Γάλακτος.....	22
2.1 Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος	22
2.2 Εγχώρια παραγωγή γάλακτος.....	27
2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή.....	29
3 Συστατικά Γάλακτος	32
3.1 3.1 Κύρια συστατικά γάλακτος	33
3.1.1 Νερό	33
3.1.2 Υδατάνθρακες	33
3.1.3 Πρωτεΐνες.....	35
3.1.3.1 Καζεΐνες.....	38
3.1.3.2 Πρωτεΐνες του ορού.....	40
3.1.4 Λίπος	44
3.1.5 Άλατα	46
3.2 Δευτερεύοντα Συστατικά	48
3.2.1 Βιταμίνες	48
3.2.2 Ένζυμα.....	51
3.2.2.1 Λακτοϋπεροξειδάση.....	52
3.2.2.2 Φωσφατάσες.....	53
3.2.2.3 Πρωτεϊνάσες.....	54
3.2.2.4 Καταλάση	56
3.2.2.5 Λιπάσες και αμυλάσες	56
3.2.2.6 Οξειδάση ή οξειδοορεδοουκτάση ξανθίνης	57
3.3 Σύγκριση μεταξύ κατσικίσιου και αγελαδινού γάλακτος.....	58
3.3.1 Σύνθεση Γάλακτος	58
3.3.2 Ευπεπτότητα.....	62

3.3.3	Διακριτή αλκαλικότητα και υψηλή ρυθμιστική ικανότητα.....	62
3.3.4	Επίδραση στην υγεία.....	63
3.3.4.1	Αλλεργία στις πρωτεΐνες του γάλακτος.....	63
3.3.4.2	Δυσανεξία στη λακτόζη.....	64
3.3.5	Διατροφικά οφέλη.....	65
4	Νοθεία Γάλακτος.....	66
4.1	Ορισμός Νοθείας.....	66
4.2	Κατηγορίες Νοθείας.....	67
4.3	Περιστατικά νοθείας γάλακτος παγκοσμίως.....	68
4.3.1	Νοθευμένο γάλα με διάφορες ουσίες σε περιοχές του Πακιστάν.....	68
4.3.2	Κινέζικο σκάνδαλο με μελαμίνη σε βρεφικό γάλα.....	72
4.3.3	Swill Milk.....	75
5	Μέθοδοι νοθείας γάλακτος και τεχνικές ανίχνευσης τους.....	76
5.1	Μέθοδοι νοθείας γάλακτος.....	76
5.1.1	Αφαίρεση ή αντικατάσταση ενός ή περισσότερων συστατικών.....	76
5.1.2	Ανάμιξη γάλακτος με γάλα άλλων ειδών.....	76
5.1.3	Προσθήκη συστατικών.....	77
5.1.3.1	Συχνότερα προστιθέμενες ουσίες.....	77
5.1.3.2	Άλλες προστιθέμενες ουσίες.....	79
5.2	Μέθοδοι ανίχνευσης νοθείας.....	81
5.2.1	Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση προστιθέμενων ουσιών στο γάλα.....	81
5.2.2	Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ανάμιξης γάλακτος από διαφορετικές πηγές.....	84
5.3	Συνέπειες νοθείας γάλακτος και γαλακτοκομικών.....	85
6	Μέθοδοι ανίχνευσης νοθείας γάλακτος μετά από βιβλιογραφική ανασκόπηση.....	86
6.1	Μοριακές Τεχνικές.....	86
6.2	Φυσικοχημικές τεχνικές.....	90
6.2.1	Φασματοσκοπία Υπέρυθρου Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης με Μετασχηματισμό Fourier (ATR-FTIR).....	90
6.2.2	Προσδιορισμός χρώματος.....	93
7	Θεωρητικό υπόβαθρο μοριακών και φυσικοχημικών τεχνικών.....	95
7.1	Μοριακές Τεχνικές.....	95
7.2	Φυσικοχημικές τεχνικές.....	100
7.2.1	Προσδιορισμός Ειδικού Βάρους.....	100
7.2.2	Προσδιορισμός Σημείου Πήξης.....	101
7.2.3	Φασματοσκοπία Υπέρυθρου Μετασχηματισμού Fourier με αποσβένουσα ολική ανάκλαση (ATR-FTIR).....	102

7.2.4	Προσδιορισμός χρώματος	105
8	Πειραματικό Μέρος.....	108
8.1	Προετοιμασία Δειγμάτων.....	108
8.2	Μοριακή ανάλυση DNA με μέθοδο multiplex PCR συνδυασμένη με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης.....	109
8.2.1	Υλικά και εξοπλισμός.....	109
8.2.2	Μεθοδολογία	114
8.2.2.1	Απομόνωση DNA.....	114
8.2.2.2	Μέτρηση συγκέντρωσης DNA απομόνωσης	116
8.2.2.3	Πολυπλεκτική Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)	117
8.2.2.4	Διαχωρισμός DNA με τη τεχνική της ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης 120	
8.3	Φυσικοχημικές Τεχνικές.....	122
8.3.1	Προσδιορισμός Ειδικού Βάρους	122
8.3.1.1	Υλικά και εξοπλισμός.....	122
8.3.1.2	Μεθοδολογία	123
8.3.2	Προσδιορισμός Σημείου Πήξης	124
8.3.2.1	Υλικά και εξοπλισμός.....	124
8.3.2.2	Μεθοδολογία	125
8.3.3	Φασματοσκοπία Υπέρυθρου Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης με Μετασχηματισμό Fourier (ATR-FTIR).....	126
8.3.3.1	Υλικά και εξοπλισμός.....	126
8.3.3.2	Μεθοδολογία	127
8.3.4	Μελέτη χρώματος.....	128
8.3.4.1	Υλικά και εξοπλισμός.....	128
8.3.4.2	Μεθοδολογία	128
9	Αποτελέσματα τεχνικών	129
9.1	Μοριακές τεχνικές.....	129
9.2	Φυσικοχημικές τεχνικές	133
9.2.1	Προσδιορισμός Ειδικού Βάρους	133
9.2.2	Προσδιορισμός Σημείου Πήξης	136
9.2.3	Φασματοσκοπία υπέρυθρου εξασθενημένης ολικής ανάκλασης με μετασχηματισμό Fourier (ATR-FTIR)	138
9.2.4	Προσδιορισμός χρώματος	143
10	Συμπεράσματα	145
11	Βιβλιογραφία.....	148

Κατάλογος εικόνων / σχημάτων

Εικόνα 1. 1 Ορισμός γάλακτος (“Κώδικας-Τροφίμων-και-Ποτών 2003.pdf,” n.d.).....	18
Εικόνα 1. 2 Χαρακτηριστικά γαλακτοφόρων ζώων για παροχή γάλακτος (“KANONISMOS (EK) αριθ. 1662-2006 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ.pdf,” n.d.)	19
Εικόνα 1. 3 Ορισμός γαλακτοκομικών προϊόντων (“κανονισμός 8532004.pdf,” n.d.)	19
Εικόνα 1. 4 Ορισμός νωπού γάλακτος (“Κώδικας-Τροφίμων-και-Ποτών 2003.pdf,” n.d.)...	20
Εικόνα 2.1 . Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος (%) και μερίδιο χωρών για το έτος 2016 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.)	22
Εικόνα 2.2 Στοιχεία παγκόσμιας παραγωγής γάλακτος σε σχέση με τις διάφορες πηγές για το έτος 2016 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.).....	23
Εικόνα 2.3. Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος (%) και μερίδιο χωρών για το έτος 2019 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.)	24
Εικόνα 2.4 Στοιχεία παγκόσμιας παραγωγής γάλακτος σε σχέση με τις διάφορες πηγές για το έτος 2019 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.).....	24
Εικόνα 2.5 Ποσοστά παγκόσμιας παραγωγής αγελαδινού γάλακτος για το έτος 2019 (“Dairy’s Global Impact - IDF - IDF is the leading source of scientific and technical expertise for all stakeholders of the dairy chain.pdf,” n.d.).....	25
Εικόνα 2.6 Σύγκριση παραγωγής αγελαδινού, βουβαλίσσιου και γάλακτος άλλων πηγών (“Dairy’s Global Impact - IDF - IDF is the leading source of scientific and technical expertise for all stakeholders of the dairy chain.pdf,” n.d.).....	26
Εικόνα 3.1 Αντίδραση υδρόλυσης λακτόζης (Leksmono et al., 2018).....	34
Εικόνα 3.2 Δομή μικκυλίου (Petrova et al., 2022)	36
Εικόνα 3.3 Τρισδιάστατη δομή α _s – καζεϊνών, β – καζεΐνης και κ – καζεΐνης (“Ultra-Heat Treatment on Milk Proteins.pdf,” n.d.)	39
Εικόνα 3.4 Τρισδιάστατη δομή α – γαλακτοαλβουμίνης και β – λακτογλοβουλίνης	41
Εικόνα 3.5 Τρισδιάστατη δομή αλβουμίνης ορού (“Potential Applications of Milk Fractions and (2015).pdf,” n.d.)	42
Εικόνα 3.6 Δομή των πέντε διαφορετικών μορφών της κατηγορίας των ανοσοσφαιρίνων (“Ultra-Heat Treatment on Milk Proteins.pdf,” n.d.)	42
Εικόνα 3.7 Τρισδιάστατη δομή λακτοφερίνης που αποτελείται από τέσσερις λοβούς (N1, N2, C1, C2) και δύο κόκκινες σφαίρες που απεικονίζουν τα ιόντα σιδήρου στις θέσεις πρόσδεσης (“Lactoferrin_A_Natural_Glycoprotein_Involved_in_Iro.pdf,” n.d.).....	43
Εικόνα 3.8 Δομή μεμβράνης λιποσφαιριδίων (Silva et al., 2021).....	45
Εικόνα 3.9 Λιποδιαλυτές βιταμίνες στο γάλα (Pradeepkiran, 2019).....	49
Εικόνα 3.10 Κατηγορίες ενδογενών ενζύμων και χαρακτηριστικές ιδιότητες τους στο γάλα Enzymes beyond traditional applications in dairy science and technology 2023 – selida google	51
Εικόνα 3.11 Απεικόνιση του μονομερούς της λακτοϋπεροξειδάσης (LPO) με την ομάδα της αίμης να διακρίνεται με πράσινο χρώμα (αριστερά) και της μοριακής δομής με τις α – έλικες (μωβ χρώμα) και τους β – κλώνους (μπλε βέλη) (δεξιά) (Sharma et al., n.d.).....	52

Εικόνα 3.12 Τρισδιάστατη δομή αλκαλικής φωσφατάσης αποτελούμενη από δύο μονομερή (Α και Β) με τα ανόργανα φωσφορικά και τα ιόντα μετάλλων (Balbaied and Moore, 2019).....	53
Εικόνα 3.13 Λειτουργία πλασμίνης στο γάλα (Ismail and Nielsen, 2010).....	54
Εικόνα 3.14 Κρυσταλλική δομή καθεψινάσης – D στην οποία απεικονίζεται αριστερά με μπλε χρώμα η N – τερματική περιοχή, δεξιά με χρυσό χρώμα η C – τερματική περιοχή και τα δύο σημαντικά ασπαρτικά οξέα και τα υπολείμματα των άκρων (“Molecular Dynamics Simulations of Ligand-Induced Flap Conformational Changes in Cathepsin-D-A Comparative Study.nbib,” n.d.).....	55
Εικόνα 3.15 Δομή και λειτουργία του ενζύμου καταλάση που αποτελείται από τέσσερεις υπομονάδες και την ομάδα αίμης στο κέντρο συνδεδεμένη με το ιόν σιδήρου (Mouri Ghosh, 2015).....	56
Εικόνα 3.16 Μοριακή δομή οξειδοορεδοκτάσης ξανθίνης χωρισμένη σε τρεις περιοχές που ενώνονται με δύο συνδετικούς βρόγχους κίτρινου και καφέ χρώματος αντίστοιχα (“Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase Structure-based mechanism of conversion.pdf,” n.d.).....	57
Εικόνα 3.17 Διαφορές σύνθεσης κατσικίσιο και αγελαδινού γάλακτος (Kumar et al., 2016)	58
Εικόνα 3.18 Σύσταση καζεϊνών σε διάφορες πηγές γάλακτος (Khan et al., 2019)	59
Εικόνα 3.19 Σύσταση πρωτεϊνών ορού σε διάφορες πηγές γάλακτος (Khan et al., 2019).....	59
Εικόνα 3.20 Ποσότητες τριγλυκεριδίων (g/100g) σε κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα (Kumar et al., 2016).....	60
Εικόνα 3.21 Ποσότητες βιταμινών σε κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα (Kumar et al., 2016)	60
Εικόνα 3.22 Ποσότητες μεταλλικών στοιχείων (g/100g) σε κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα (Kumar et al., 2016)	61
Εικόνα 3.23 Συμπτώματα οργανισμού στην αλλεργία στις πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (Altan et al., 2018).....	64
Εικόνα 3.24 Συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη pdf Manifestations of lactose intolerance (2018).....	65
Εικόνα 3.25 Διάγραμμα συσχέτισης μεταξύ της δυσανεξίας της λακτόζης και της αλλεργίας στις πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (Heine et al., 2017).....	65
Εικόνα 4.1 Ορισμός νοθευμένων τροφίμων (“Νόμος 4235/2014”, 2014)	66
Εικόνα 4.2 Κατανάλωση μολυσμένου γάλακτος από βρέφη και μικρά παιδιά https://www.csmonitor.com/World/Asia-Pacific/2008/0917/p01s03-woap.html	73
Εικόνα 4.3 Έλεγχος βρεφικής σκόνης γάλακτος διάφορων γαλακτοβιομηχανιών από την κινεζική κυβέρνηση https://www.csmonitor.com/World/Asia-Pacific/2008/0917/p01s03-woap.html (αριστερά) και εικόνα της αγοράς μετά από εντοπισμό γάλακτος μολυσμένου με μελαμίνη (δεξιά).....	74
Εικόνα 4.4 Φωτογραφίες από το Frank Leslie’s Illustrated Newspaper, 1858.....	75
Εικόνα 5.1 Παράδειγμα λειτουργίας φασματοσκοπίας Raman για τον ποσοτικό προσδιορισμό ουρίας σε δείγματα γάλακτος (Khan et al., 2015)	82
Εικόνα 5.2 Εικόνα ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης 5 δειγμάτων γάλακτος μετά από duplex – PCR.....	84

Εικόνα 7.1 Στάδια απομόνωσης DNA με τη χρήση εμπορικού κιτ (“Centrifugation-free extraction of circulating nucleic acids using immiscible liquid under vacuum pressure.pdf,” n.d.).....	96
Εικόνα 7.2 Απεικόνιση σταδίων αντίδρασης PCR.....	98
Εικόνα 7.3 Διαδικασία ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης	99
Εικόνα 7.4 Παράδειγμα ηλεκτροφόρησης gel αγαρόζης σε λάμπα UV (Gong and Li, 2014).....	99
Εικόνα 7.5 Ορισμός ειδικού βάρους γάλακτος (“Επίσημη εφημερίδα Ε.Ε. 14/11/92”).....	100
Εικόνα 7.6 Ανάλυση φασματομέτρου FTIR (“Real time in situ monitoring of surfaces during glow discharge processing NH ₃ and H ₂ plasma passivation of GaAs.pdf,” n.d.)	104
Εικόνα 7.7 Παράδειγμα φάσματος FTIR με χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (Xie et al., 2015).....	105
Εικόνα 7.8 Χρωματικός χώρος CIELAB με τις παραμέτρους L*, a*,b* (Ly et al., 2020) ..	107
Εικόνα 8.1 Δείγματα κατσικίσιου γάλακτος νοθευμένα με 0, 5, 15, 25, 35 και 100 % v/v αγελαδινού γάλακτος.....	108
Εικόνα 8.2 Φυγόκεντρος.....	111
Εικόνα 8.3 Θερμομπλόκ.....	111
Εικόνα 8.4 Συσκευή Vortex.....	111
Εικόνα 8.5 Φασματοφωτόμετρο.....	112
Εικόνα 8.6 Θερμοκυκλοποιητής.....	112
Εικόνα 8.7 Αναλυτικός ζυγός.....	112
Εικόνα 8.8 Μονάδα ηλεκτροφόρησης.....	113
Εικόνα 8.9 Τροφοδοτικό ηλεκτροφόρησης.....	113
Εικόνα 8.10 Συσκευή με λυχνία UV	113
Εικόνα 8.11 Στάδια αντίδρασης PCR κατά τη διάρκεια του πειράματος.....	120
Εικόνα 8.12 Εξοπλισμός για τον προσδιορισμό ειδικού βάρους.....	122
Εικόνα 8.13 Τρόπος μέτρησης ειδικού βάρους σε δείγμα γάλακτος (Tessema and Tibbo, n.d.)	123
Εικόνα 8.14 Κρυοσκόπιο.....	124
Εικόνα 8.15 Πρότυπο διάλυμα (-0,530°).....	124
Εικόνα 8.16 Αναλυτικός ζυγός.....	126
Εικόνα 8.17 Φούρνος κενού	126
Εικόνα 8.18 Φασματοφωτόμετρο υπέρυθρων μετασχηματισμού Fourier.....	127
Εικόνα 8.19 Φορητό χρωματόμετρο.....	128
Εικόνα 9.1 Αποτέλεσμα ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης 2% w/v με χρώση βρωμιούχου αιθιδίου και χρήση μάρτυρα (Ladder 100 bp).....	130
Εικόνα 9.2 Προσδιορισμός E.B δείγματος A	
Εικόνα 9.3 Προσδιορισμός E.B. για KA5% και KA15%.....	133
Εικόνα 9.4 Προσδιορισμός E.B. για KA25%.....	133
Εικόνα 9.5 Επικάλυψη φασμάτων ATR – FTIR γάλακτος στο εύρος 4000-500 cm ⁻¹	138

Σχήμα 3.1 Σύσταση γάλακτος	32
Σχήμα 3.2 Απεικόνιση των κλασμάτων που απαρτίζουν τις πρωτεΐνες στο γάλα	37
Σχήμα 4.1 Ποσοστά νοθευτών σε 100 δείγματα βουβαλίσσιου γάλακτος στην περιοχή Χαϊντεραμπάντ (2018) (Memon et al., 2018).....	69
Σχήμα 4.2 Ποσοστά νοθευτών σε 100 δείγματα μη επεξεργασμένου γάλακτος στην περιοχή Μπάντιν	70
Σχήμα 4.3 Ποσοστά νοθευτών σε 100 δείγματα μη επεξεργασμένου γάλακτος στην περιοχή Hyderabad, Sindh	71

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. 1 Κατηγορίες γάλακτος και ορισμοί τους (“Κώδικας-Τροφίμων-και-Ποτών 2003.pdf,” n.d.).....	21
Πίνακας 2.1 Αριθμός ζώων ανά είδος (2014-2019) (“ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2016(2014-2015).pdf,” n.d.; “ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2018.pdf,” n.d.).....	28
Πίνακας 2.2 Παραγωγή Γάλακτος ανά είδος ζώου (2014-2019) (“ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2016(2014-2015).pdf,” n.d.; “ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2018.pdf,” n.d.).....	28
Πίνακας 3.1 Ποσότητες μεταλλικών στοιχείων σε κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα (Zamberlin et al., 2012).....	47
Πίνακας 4.1 Καταγεγραμμένα περιστατικά νοθείας παγκοσμίως σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα	68
Πίνακας 6.1 Εφαρμογές PCR για τον έλεγχο της νοθείας γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων από άλλες πηγές γάλακτος.....	89
Πίνακας 8.1 Όγκοι αιθανόλης και Binding Buffer (C4) που προστίθενται σε κάθε δείγμα σύμφωνα με τον όγκο του καθαρού υπερκείμενου	115
Πίνακας 8.2 Σχεδιασμός της αντίδρασης PCR.....	118
Πίνακας 8.3 Συνθήκες που ρυθμίζονται για την μέθοδο PCR	119
Πίνακας 9.1 Συγκέντρωση και καθαρότητα DNA από δείγματα γάλακτος.....	129
Πίνακας 9.2 Σύγκριση δειγμάτων ηλεκτροφόρησης με ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό DNA ως προς την ευαισθησία	132
Πίνακας 9.3 Τιμές Ειδικού Βάρους αρχικά και μετά από διόρθωση	134
Πίνακας 9.4 Τιμές σημείου πήξης	136
Πίνακας 9.5 Αποτίμηση φασμάτων υπέρυθρου	140
Πίνακας 9.6 Σημαντικές απορροφήσεις που προκύπτουν από τα φάσματα IR.....	141
Πίνακας 9.7 Αναλογίες σημαντικότερων απορροφήσεων	142
Πίνακας 9.8 Αποτελέσματα προσδιορισμού χρώματος	143

Εισαγωγή

Το γάλα αποτελεί μια πλούσια τροφή, στην οποία περιέχεται μια πληθώρα θρεπτικών συστατικών για τον άνθρωπο, όπως πρωτεΐνες, λίπος, υδατάνθρακες, βιταμίνες και ανόργανα συστατικά. Το κατσικίσιο γάλα υπερισχύει έναντι του αγελαδινού με αισθητές διαφορές στη σύνθεση, άρα και στη διατροφική αξία και στην αξία του ως προϊόν (Stergiadis et al., 2019). Το γάλα, λοιπόν, που προέρχεται από κατσίκες θεωρείται υψηλής διατροφικής αξίας, αφού είναι πλούσιο σε βιταμίνες, μέταλλα και υδατάνθρακες, ενώ εμφανίζει υψηλότερο ποσοστό λίπους και πρωτεϊνών συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα έχοντας ως αποτέλεσμα την αύξηση των ολικών στερεών του (Stergiadis et al., 2019). Αναφορικά με την αξία του γάλακτος, φαίνεται πως το κατσικίσιο γάλα χαρακτηρίζεται από υψηλότερη τιμή εξαιτίας της σύνθεσης του σε σχέση με άλλα είδη γάλακτος. Το φαινόμενο της νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος είναι ιδιαίτερα συχνό τις τελευταίες δεκαετίες και εμφανίζεται κυρίως με τη μορφή αντικατάστασης. Κύριο αίτιο είναι η εξοικονόμηση κέρδους από την πλευρά των παραγωγών και της βιομηχανίας γάλακτος, οι οποίοι αντικαθιστούν συνήθως ένα μέρος ή σε σπάνιες περιπτώσεις και ολόκληρη την ποσότητα κατσικίσιου γάλακτος με άλλες φθηνότερες πηγές, όπως είναι το αγελαδινό γάλα. Η επιλογή του αγελαδινού γάλακτος ως μέθοδο νοθείας στηρίζεται στη χαμηλή τιμή αλλά και στη μεγάλη ποσότητα παραγωγής του (Pereira et al., 2020; Windarsih et al., 2020).

Για τον έλεγχο της νοθείας του γάλακτος, οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται ως επί των πλείστων είναι είτε μοριακές είτε φυσικοχημικές. Στις μοριακές τεχνικές που εφαρμόζονται συχνότερα, κατατάσσεται η μοριακή μέθοδος ανάλυσης DNA σε συνδυασμό με ηλεκτροφορητικές τεχνικές και οι ανοσολογικές δοκιμές, όπως είναι η μέθοδος ELISA ενώ στις φυσικοχημικές τεχνικές η Αέρια Χρωματογραφία (GC), η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC), η Φασματοσκοπία Εγγύς Υπέρυθρου (NIR), η Φασματοσκοπία δόνησης (FTIR) ή Φασματοσκοπία υπέρυθρου με εξασθενημένη ολική ανάκλαση μετασχηματισμού Fourier (ATR-FTIR), η μελέτη του χρώματος ή ακόμα και άλλες φυσικές μέθοδοι, όπως το ειδικό βάρος και ο προσδιορισμός του σημείου πήξης. Οι περισσότερες από τις προαναφερόμενες τεχνικές είναι εύκολες, πραγματοποιούνται σε μικρό χρόνο, χαρακτηρίζονται από χαμηλό κόστος υλικών, δεν χρειάζεται συνήθως προεπεξεργασία του δείγματος, είναι κυρίως μη καταστροφικές ενώ μπορούν να επεξεργαστούν πολλά δείγματα ταυτόχρονα. Ωστόσο, κάποιες από τις

τεχνικές που αναφέρονται, όπως η μοριακή μέθοδος ανάλυσης (PCR) σε συνδυασμό με ηλεκτροφόρηση, οι ανοσολογικές μέθοδοι και η χρωματογραφία είναι αρκετά χρονοβόρες τεχνικές, έχουν μεγάλο κόστος εξοπλισμού αλλά και υλικών και χρειάζονται πολλά στάδια για την επεξεργασία των δειγμάτων μέχρι να ληφθεί το τελικό αποτέλεσμα (Pereira et al., 2020). Συγκεκριμένα, οι μοριακές τεχνικές έχουν μεγάλη εφαρμογή στην ανίχνευση νοθείας σε πολλά διαφορετικά είδη τροφίμων, γεγονός που οφείλεται στην ποσότητα μορίων DNA που περιέχουν από τους οργανισμούς από τους οποίους προέρχονται, όπως για παράδειγμα στο γάλα από το εκάστοτε είδος ζώου μέσω των μαστών. Αυτό σημαίνει πως η μοναδική αλληλουχία βάσεων προσφέρει σε κάθε οργανισμό ένα είδος γενετικής ταυτότητας (Μπατρίνου, 2011). Έτσι, η ανίχνευση άλλων αλληλουχιών DNA από άλλους οργανισμούς μπορεί να θεωρηθεί και συνεπώς να εξεταστεί ως μια πιθανή προσπάθεια νοθείας του τρόφιμου. Ειδικότερα, η τεχνική της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) συμβάλλει ικανοποιητικά στην ανίχνευση και ταυτοποίηση γενετικού υλικού από διαφορετικούς οργανισμούς (Μπατρίνου, 2011). Από την πληθώρα των φυσικοχημικών τεχνικών ιδιαίτερα σημαντική για την ανίχνευση και τη μελέτη της νοθείας γάλακτος είναι η τεχνική ATR-FTIR. Η τεχνική αυτή στηρίζεται στο γεγονός ότι όταν το τρόφιμο εκτεθεί σε μια πηγή φωτός, κάποιες από τις χαρακτηριστικές ομάδες των βασικών συστατικών που περιέχονται σε αυτό και συνθέτουν το μοναδικό δακτυλικό αποτύπωμα του, απορροφούν ακτινοβολία σε συγκεκριμένα μήκη κύματος και δίνουν ένα φάσμα απορροφήσεων μοναδικό για το τρόφιμο (Coitinho et al., 2017). Η τεχνική αυτή έχει εφαρμοστεί για την ταυτοποίηση γάλακτος από διαφορετικά είδη ζώων και επίσης, μπορεί να δώσει διαφοροποιήσεις στις ταινίες απορρόφησης ανάλογα με τη φυλή του ζώου, τη διατροφή, την εποχή παραγωγής του γάλακτος και τη γαλακτική περίοδο λόγω των διαφοροποιήσεων στη σύνθεση του γάλακτος (Coitinho et al., 2017).

Στην παρούσα εργασία, παρατίθενται εισαγωγικά στοιχεία για τη περίπτωση της νοθείας του γάλακτος ενώ ταυτόχρονα αναλύονται οι τεχνικές που εφαρμόστηκαν για την ανίχνευση αυτής σε εργαστηριακά παρασκευασμένα δείγματα. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την παρούσα μελέτη είναι ικανοποιητικά και οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν μπορούν να εφαρμοστούν ως κατάλληλα εργαλεία για την ανίχνευση της νοθείας του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων ευρέως.

1 Γενικά στοιχεία για το γάλα

1.1 Ορισμός γάλακτος

Ως γάλα, σύμφωνα με τον Codex Alimentarius του FAO, ορίζεται η φυσιολογική μαστική έκκριση από ένα ή περισσότερα αρμέγματα, χωρίς καμία προσθήκη ή αφαίρεση, και προορίζεται για την κατανάλωση ως πόσιμο γάλα ή για επιπλέον επεξεργασία (“Codex Alimentarius FAO milk.pdf,” n.d.). Ομοίως, το άρθρο 80 του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών του 2003 ορίζει ως γάλα:

1. "Γάλα" είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν του ολοσχερούς, χωρίς διακοπή αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, που ζει και τρέφεται υπό υγιεινούς όρους και που δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης. Με τον όρο "γάλα" απλά, χωρίς να συνοδεύεται αυτό από κάποιο επίθετο, νοείται αποκλειστικά και μόνο το γάλα το οποίο:

- α) Προέρχεται από αγελάδα
- β) Είναι νωπό
- γ) Είναι πλήρες
- δ) Δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση
- ε) Δεν περιέχει άλλες ύλες που έχουν προστεθεί από έξω

Εικόνα 1. 1 Ορισμός γάλακτος (“Κώδικας-Τροφίμων-και-Ποτών 2003.pdf,” n.d.)

Το νωπό γάλα και το πρωτόγαλα που παραλαμβάνεται από το μαστό ζώων, σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1662/2006, παράρτημα III, τμήμα ΙΧ, πρέπει να προέρχονται από ζώα που πρέπει να τηρούν τα παρακάτω χαρακτηριστικά (“ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1662-2006 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ.pdf,” n.d.)

1. Το νωπό γάλα πρέπει να προέρχεται από ζώα:
- (α) Τα οποία δεν παρουσιάζουν συμπτώματα λοιμωδών νόσων, οι οποίες είναι δυνατό να μεταδοθούν μέσω του γάλακτος στον άνθρωπο,
 - (β) τα οποία βρίσκονται σε καλή γενική κατάσταση υγείας και δεν παρουσιάζουν κανένα σύμπτωμα νόσου το οποίο μπορεί να προκαλέσει μόλυνση του γάλακτος και ιδίως δεν πάσχουν από μόλυνση της ουρογεννητικής οδού με απέκκριμα, από εντερίτιδα με εμπύρετη διάρροια ή από εμφανή φλεγμονή του μαστού,
 - (γ) τα οποία δεν παρουσιάζουν πληγές του μαστού που είναι δυνατό να αλλοιώσουν το γάλα, και
 - (δ) στα οποία δεν έχουν χορηγηθεί μη επιτρεπόμενες ουσίες ή προϊόντα και δεν έχουν υποβληθεί σε παράνομη αγωγή κατά την έννοια της οδηγίας 96/23/ΕΚ, και
 - (ε) για τα οποία σε περίπτωση που τους έχουν χορηγηθεί επιτρεπόμενες ουσίες ή προϊόντα, έχουν τηρηθεί οι οριζόμενες προθεσμίες αναμονής γι' αυτές τις ουσίες ή προϊόντα.

Εικόνα 1. 2 Χαρακτηριστικά γαλακτοφόρων ζώων για παροχή γάλακτος (“ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1662-2006 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ.pdf,” 2006.)

Χαρακτηριστική κατηγορία γάλακτος είναι το πρωτόγαλα, ένα γάλα που διαφέρει φυσικοχημικά στην αρχή της γαλακτικής περιόδου από το γάλα των υπόλοιπων ημερών. Το γάλα αυτό δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για κατανάλωση, καθώς με επίδραση υψηλής θερμοκρασίας εμφανίζει χαρακτηριστική οσμή και πήζει. Επίσης, η σύσταση του είναι ιδιαίτερα αυξημένη σε σημαντικά συστατικά, όπως βιταμίνες, υδατάνθρακες, μέταλλα, ιχνοστοιχεία, ένζυμα, βιταμίνες και αυξητικούς παράγοντες και χρησιμοποιείται κυρίως για να παρέχει στο νεογέννητο τις πρώτες μέρες τα κατάλληλα αντισώματα.

Όσον αφορά τη διάρκεια ζωής του γάλακτος, επηρεάζεται από ένα πλήθος παραγόντων όπως το αρχικό μικροβιακό φορτίο, το χρόνο επεξεργασίας, τη θερμοκρασία και τις συνθήκες συντήρησης, συσκευασίας, αποθήκευσης και διανομής. Η κατηγορία του παστεριωμένου γάλακτος εμφανίζει μια διάρκεια ζωής που φτάνει τις 40 ημέρες όταν βρίσκεται σε θερμοκρασία 0°C ενώ όταν η θερμοκρασία αποθήκευσης αυξηθεί στους 2°C και κατόπιν στους 4°C η διατηρησιμότητα υποδιπλασιάζεται φτάνοντας στις 20 και στις 10 ημέρες αντίστοιχα.

1.2 Ορισμός γαλακτοκομικών προϊόντων

Γαλακτοκομικό προϊόν ή προϊόν γάλακτος είναι το προϊόν, το οποίο λαμβάνεται από οποιαδήποτε επεξεργασία του γάλακτος και ενδέχεται να περιέχει πρόσθετα τροφίμων ή άλλα λειτουργικά συστατικά απαραίτητα για την επεξεργασία του (“Codex Alimentarius FAO milk.pdf,” n.d.). Στην κατηγορία των γαλακτοκομικών προϊόντων ανήκουν χαρακτηριστικά τα τυριά, το βούτυρο, η γιαούρτη και το παγωτό. Συμπληρωματικά, ο Κανονισμός 853/2004, ορίζει ως γαλακτοκομικά προϊόντα:

7.2. «Γαλακτοκομικά προϊόντα»: μεταποιημένα προϊόντα που προέρχονται από την μεταποίηση νοπού γάλακτος ή από την περαιτέρω μεταποίηση τέτοιων μεταποιημένων προϊόντων.

Εικόνα 1. 3 Ορισμός γαλακτοκομικών προϊόντων (“ΕΚ 853/2004.pdf,” n.d.)

Σύμφωνα με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, τα γαλακτοκομικά προϊόντα περιέχουν συστατικά του εκάστοτε γάλακτος που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τους, τα οποία εμφανίζουν συχνά ποικίλες λειτουργικές ιδιότητες, όπως είναι η επίδραση στο σωματικό βάρος, στην πίεση του αίματος, στον σακχαρώδη διαβήτη, στη συγκέντρωση της χοληστερόλης και στην καρδιαγγειακή υγεία (Visioli and Strata, 2014).

1.3 Κατηγορίες γάλακτος

Ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών αναφέρει πως στην κατηγορία του νωπού γάλακτος κατατάσσεται το γάλα, το οποίο δεν έχει υποστεί καμία άλλη μορφή επεξεργασίας εκτός από τη διαδικασία της διήθησης, ψύξης και ομογενοποίησης και διατίθεται για κατανάλωση (“Κώδικας-Τροφίμων-και-Ποτών 2003.pdf,” n.d.). Συμπληρωματικά, το Παράρτημα I του Κανονισμού 853/2004 και το άρθρο 80 του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών 2003, ορίζουν ως νωπό γάλα:

"Νωπό γάλα" νοείται το γάλα που εκκρίνεται από τους μαστικούς αδένες μιας ή περισσότερων αγελάδων, προβατίνων, αιγών ή βουβαλίδων, το οποίο δεν έχει θερμανθεί πέραν των 40° C, ούτε έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με ισοδύναμο αποτέλεσμα.

Εικόνα 1. 4 Ορισμός νωπού γάλακτος (“Κώδικας-Τροφίμων-και-Ποτών 2003.pdf,” n.d.)

Οι υπόλοιπες κατηγορίες γάλακτος προκύπτουν ανάλογα με τη θερμική επεξεργασία που υπόκεινται το νωπό γάλα, τον οργανισμό – στόχο κατά τη θερμική επεξεργασία, την περιεκτικότητα λίπους του τελικού προϊόντος και τη διάρκεια ζωής του όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.1.

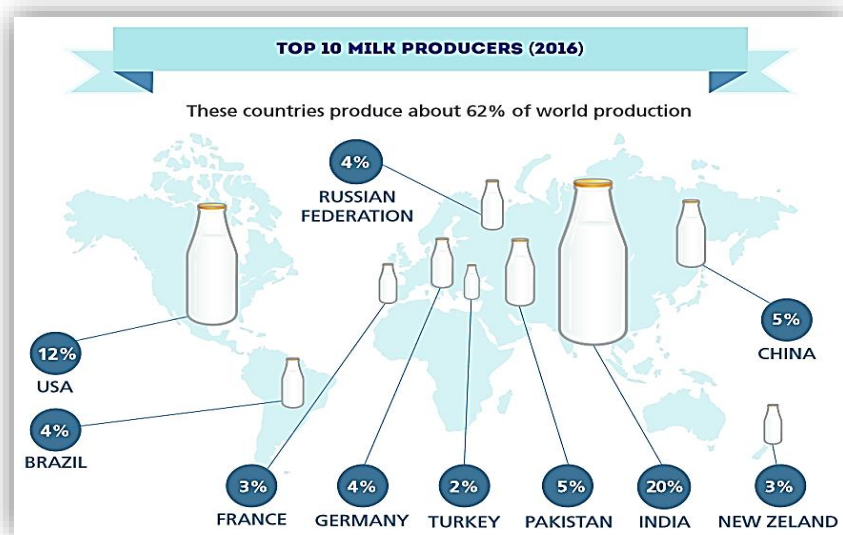
Πίνακας 1. 1 Κατηγορίες γάλακτος και ορισμοί τους (“Κώδικας-Τροφίμων-και-Ποτών 2003.pdf,” n.d.)

Κατηγορίες γάλακτος	Ορισμοί
Παστεριωμένο γάλα	Προϊόν θερμικής επεξεργασίας σε $\theta = 71,7^{\circ}\text{C}$ για 15 sec ή σε ισοδύναμο συνδυασμό για την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών.
Αποστειρωμένο γάλα	Προϊόν θερμικής επεξεργασίας σε ερμητικά κλειστά δοχεία σε $\theta = 135-150^{\circ}\text{C}$ για 2-10 sec για την καταστροφή των μικροοργανισμών.
Ομογενοποιημένο γάλα	Γάλα που έχει υποστεί ομογενοποίηση για την εξασφάλιση της ομοιογένειας του προϊόντος.
Αποβουτυρωμένο γάλα	Προϊόν πλήρους αφαίρεσης λίπους με μηχανική μέθοδο με $< 0,2\%$ λίπος και ανώτατο όριο $0,5\%$. Το γάλα αυτό μπορεί να χαρακτηριστεί ως άπαχο.
Μερικώς αποβουτυρωμένο γάλα	Προϊόν μετά από αφαίρεση ενός μέρους του λίπους νοπού γάλακτος με τελική περιεκτικότητα λίπους $> 1,8\%$.
Ημιαποβουτυρωμένο γάλα	Προϊόν μερικής αφαίρεσης λίπους νοπού γάλακτος με μηχανική μέθοδο έως το ποσοστό λίπους να είναι $1,5-1,8\%$. Μπορεί να χαρακτηριστεί ως ημιάπαχο γάλα.
Συμπυκνωμένο γάλα	Προϊόν συμπύκνωσης νοπού γάλακτος μέχρι το $1/3$ του αρχικού όγκου έως η περιεκτικότητα λίπους φτάσει 8% .
Μερικώς συμπυκνωμένο ή αφυδατωμένο ή εβαπορέ	Προϊόν μερικής συμπύκνωσης νοπού γάλακτος.
Σκόνη γάλακτος	Προϊόν πλήρους συμπύκνωσης νοπού γάλακτος με λίπος $1,5\%$, $14-17\%$ και 26% .
Σακχαρούχο γάλα	Προϊόν προσθήκης σακχάρου (καλαμοσάκχαρο, δεξτρόζη ή συνδυασμό τους) σε συμπυκνωμένο, αφυδατωμένο γάλα ή σκόνη γάλακτος

2 Παραγωγή Γάλακτος

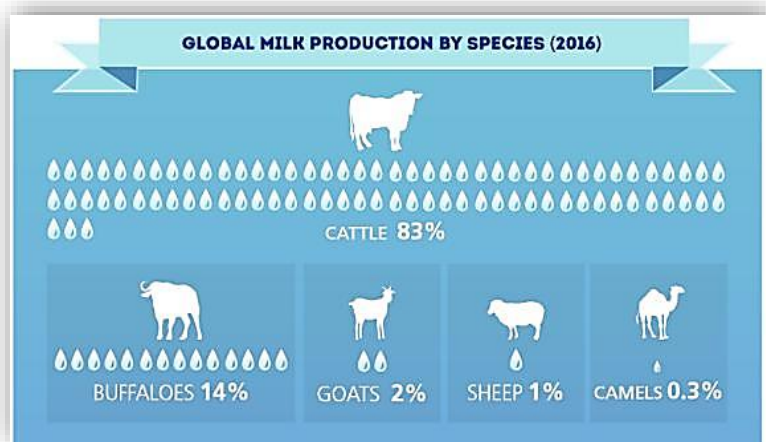
2.1 Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος

Η παραγωγή γάλακτος παγκοσμίως αυξήθηκε στο χρονικό διάστημα από το 1988 έως και το 2018 από 530 εκατομμύρια τόνους σε 843 εκατομμύρια τόνους σύμφωνα με στοιχεία που παραθέτει ο FAO (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.). Κατά το χρονικό διάστημα 1991 έως το 2011, η παραγωγή κατσικίσιου γάλακτος αυξήθηκε σε ποσοστό 70% και η αύξηση αυτή της παραγωγής οφειλόταν στις ευεργετικές ιδιότητες του κατσικίσιου γάλακτος ως προς την υγεία των καταναλωτών, στην αποδεκτή γεύση και οσμή του, στην ευπεπτότητα του καθώς και στην παρουσία πρωτεϊνών που θεωρούνται λιγότερο αλλεργιογόνες σε σχέση με τις πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (García et al., 2014). Σύμφωνα με στοιχεία του 2016, το 62% της παγκόσμιας παραγωγής γάλακτος καταλαμβάνεται από δέκα χώρες. Συγκεκριμένα, το 20% καταλαμβάνει η Ινδία, 12% οι ΗΠΑ, από 5% η Κίνα και το Πακιστάν αντίστοιχα, από 4% η Ρωσία, η Βραζιλία και η Γερμανία, από 3% καταλαμβάνουν η Γαλλία και η Ν. Ζηλανδία ενώ ως δέκατη χώρα κατατάσσεται η Τουρκία με ποσοστό 2% (Κεχαγιάς Χ., 2017).



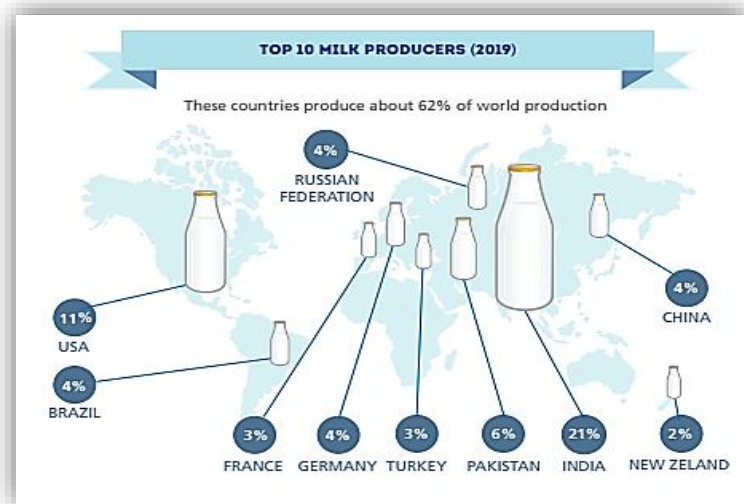
Εικόνα 2.1 Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος (%) και μερίδιο χωρών για το έτος 2016 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.)

Σχετικά με τις πηγές γάλακτος, το αγελαδινό γάλα αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος της παγκόσμιας παραγωγής σε ποσοστό κοντά στο 83% ενώ ακολουθεί το βουβαλίσιο γάλα σε ποσοστό κοντά στο 14% και τρίτο παγκοσμίως είναι το κατσικίσιο γάλα σε ποσοστό περίπου 2%. Ακολουθεί η παραγωγή πρόβειου γάλακτος σε ποσοστό 1% ενώ πέμπτο σε παραγωγή είναι το γάλα από άλλες πηγές ζώων όπως οι καμήλες σε ποσοστό 0,3% (Κεχαγιάς Χ., 2017).

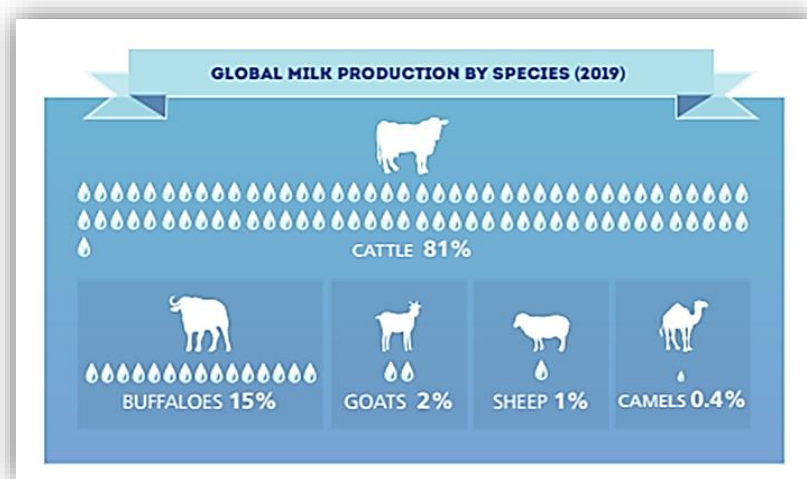


Εικόνα 2.2 Στοιχεία παγκόσμιας παραγωγής γάλακτος σε σχέση με τις διάφορες πηγές για το έτος 2016 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.)

Τελευταία στοιχεία που προκύπτουν για το έτος 2019, σύμφωνα με τον FAO, το 62% της παγκόσμιας παραγωγής γάλακτος κατανέμεται σε 10 χώρες με την Ινδία να καταλαμβάνει το 21%, τις ΗΠΑ το 11%, το Πακιστάν με το 6%, τη Ρωσία, Κίνα, Βραζιλία και Γερμανία να έχουν το 4% η καθεμία, τη Γαλλία και τη Τουρκία το 3% του ποσοστού της παγκόσμιας παραγωγής και τη Ν. Ζηλανδία με ποσοστό 2%. Οι πηγές γάλακτος παγκοσμίως καταλαμβάνονται κυρίως από πέντε είδη ζώων. Το 81% της παγκόσμιας παραγωγής προέρχεται από αγελαδινό γάλα, το 15% από βουβαλίσιο, το 2% από αίγες, το 1% από πρόβειο γάλα και τέλος το 0,4% από γάλα που προέρχεται από καμήλες. Όπως φαίνεται, οι πηγές γάλακτος καθώς και οι χώρες που αποτελούν το ποσοστό παγκόσμιας παραγωγής γάλακτος παραμένουν ίδιες τα τελευταία χρόνια αλλά η κατανομή του ποσοστού αυτού διαφέρει για κάποιες από τις χώρες συγκριτικά με το 2016 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.).



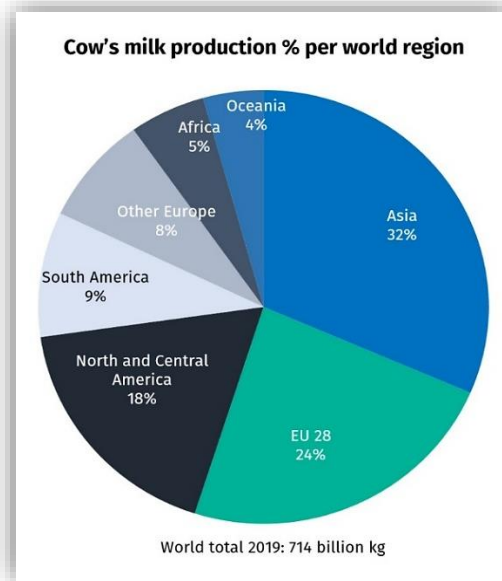
Εικόνα 2.3 Παγκόσμια παραγωγή γάλακτος (%) και μερίδιο χωρών για το έτος 2019 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.)



Εικόνα 2.4 Στοιχεία παγκόσμιας παραγωγής γάλακτος σε σχέση με τις διάφορες πηγές για το έτος 2019 (“FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf,” n.d.)

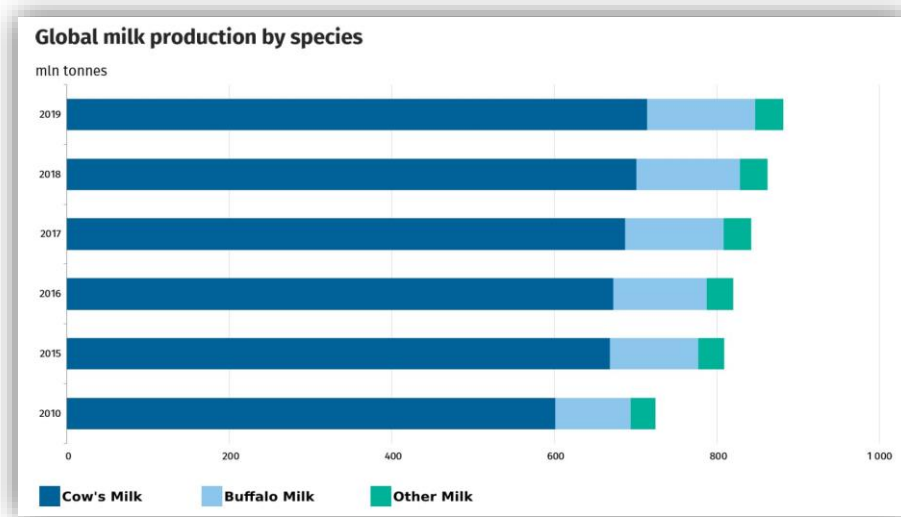
Το 2019 παρήχθησαν συνολικά 881 εκατομμύρια τόνοι γάλακτος παγκοσμίως και τα 714 εκατομμύρια από αυτούς προέρχονταν από αγελαδινό γάλα. Οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή αγελαδινού γάλακτος κατά φθίνουσα σειρά ήταν οι χώρες της Ασίας με 32%, των χωρών της Ευρώπης με 32%, της Βόρειας και Κεντρικής Αμερικής με 18%, της Νότιας Αμερικής με 9%, της Αφρικής με 5% και της Ωκεάνιας με 4%. Συνολικά, το αγελαδινό γάλα παράγεται σε μεγαλύτερο ποσοστό που αγγίζει μέχρι και το 81% της συνολικής παραγωγής ενώ ακολουθεί το βουβαλίσιο και το κατσικίσιο

γάλα με συνεχώς αυξανόμενη παραγωγή. Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι η παραγωγή γάλακτος στην Αφρική δεν ευνοείται όπως σε άλλες αναπτυσσόμενες χώρες. Το γεγονός αυτό οφείλεται κυρίως στο χαμηλό βιοτικό επίπεδο αλλά και στις δύσκολες καιρικές συνθήκες που επικρατούν (“Dairy’s Global Impact - IDF - IDF is the leading source of scientific and technical expertise for all stakeholders of the dairy chain.pdf,” n.d.).



Εικόνα 2.5 Ποσοστά παγκόσμιας παραγωγής αγελαδινού γάλακτος για το έτος 2019 (“Dairy’s Global Impact - IDF - IDF is the leading source of scientific and technical expertise for all stakeholders of the dairy chain.pdf,” n.d.)

Κατά το έτος αυτό παρατηρήθηκε αύξηση της παραγωγής γάλακτος κατά 2,2% σε σχέση με το έτος 2018 αλλά και μια αύξηση του 1,2% ως προς την κατά κεφαλήν κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων, η οποία καταγράφηκε στα 114,7 κιλά.



*Εικόνα 2.6 Σύγκριση παραγωγής αγελαδινού, βουβαλίσσιου και γάλακτος άλλων πηγών
 (“Dairy’s Global Impact - IDF - IDF is the leading source of scientific and technical expertise for all stakeholders of the dairy chain.pdf,” n.d.)*

2.2 Εγχώρια παραγωγή γάλακτος

Ο αριθμός των βοοειδών στη χώρα είναι σαφώς μικρότερος από τον αριθμό αιγών ετησίως, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2.1 ενώ ο υψηλότερος αριθμός κεφαλήν ζώων ανήκει στα πρόβατα. Με την πάροδο ετών η ετήσια παραγωγή ζώων κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα με μικρές διαφοροποιήσεις. Ειδικότερα, τα έτη 2018 και 2019 παρατηρήθηκε μια αύξηση στον αριθμό των βοοειδών και των προβάτων ενώ υπήρξε και μια μικρή μείωση στον αριθμό των αιγών συγκριτικά με τα έτη 2014-2017. Ενδεικτικά, το έτος 2019 ο αριθμός των βοοειδών καταγράφηκε στα 738.276, 8.917.973 πρόβατα και 3.944.691 αίγες συγκριτικά με το 2014 που η παραπάνω απογραφή έδωσε 617.780 βοοειδή, 8.481.073 πρόβατα και 4.233.970 αίγες (“Ετήσια Γεωργική Στατιστική Έρευνα (Οριστικά Αποτελέσματα) (2019).pdf,” n.d.). Αναφορικά με την παραγωγή γάλακτος στην Ελλάδα, η συνολική ετήσια παραγωγή όπως προκύπτει με στοιχεία της ΕΛΣΤΑΤ των τελευταίων ετών παραμένει στα ίδια περίπου επίπεδα με αυξομειώσεις. Συγκεκριμένα, το 2014 η ετήσια παραγωγή ανερχόταν στους 2.017,8 τόνους γάλακτος ενώ τα επόμενα δύο έτη εμφάνισε μια μικρή πτώση. Από το 2017 και έπειτα παρατηρείται μια αύξηση στην ετήσια παραγωγή φτάνοντας στο 2019 με 1.961,9 τόνους γάλακτος. Η ετήσια παραγωγή γάλακτος το 2019 αυξήθηκε κατά 2,2% σε σχέση με το 2018. Ειδικότερα, το 2019 η ετήσια παραγωγή γάλακτος από αγελάδες, πρόβατα και αίγες έφτασε τους 1.961,9 τόνους συγκριτικά με το 2018 που ήταν 1.919,9 τόνους (“Ετήσια Γεωργική Στατιστική Έρευνα (Οριστικά Αποτελέσματα) (2019).pdf,” n.d.). Συνοπτικά ακολουθούν σχετικοί πίνακες με τον αριθμό των ζώων ανάλογα με το είδος και την παραγωγή γάλακτος για τα έτη 2014-2019. Όσον αφορά τα γαλακτοκομικά προϊόντα, η Ελλάδα καταναλώνει μεγάλες ποσότητες τυριών και γιαούρτης και λιγότερη ποσότητα βουτύρου ενώ παράγει μεγάλες ποσότητες αιγοπρόβειου τυριού, δηλαδή φέτας, το οποίο εξάγεται σε μεγάλες ποσότητες ως προϊόν προστατευόμενης προέλευσης (ΠΟΠ) (Κεχαγιάς Χ., 2017).

Πίνακας 2.1 Αριθμός ζώων ανά είδος (2014-2019) (“ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2016(2014-2015).pdf,” n.d.; “ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2018.pdf,” n.d.)

Είδος ζώου	Έτη					
	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Βοοειδή	617.780	610.517	613.390	615.273	734.770	738.276
Πρόβατα	8.481.073	8.746.260	8.680.235	8.827.820	8.908.739	8.917.973
Αίγες	4.233.970	4.128.036	3.975.504	3.998.205	3.941.960	3.944.691

Πίνακας 2.2 Παραγωγή Γάλακτος ανά είδος ζώων (2014-2019) (“ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2016(2014-2015).pdf,” n.d.; “ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2018.pdf,” n.d.)

Προϊόντα	Έτη					
	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Συνολική Ετήσια Παραγωγή	2.017,8	1.971,5	1.910,2	1.921,2	1.919,9	1.961,9
Γάλα αγελάδων	725,9	692,2	659,5	665,3	638,4	660,7
Γάλα προβάτων	847,1	846,8	841,0	851,7	873,7	892,8
Γάλα αιγών	444,8	432,5	409,7	404,1	407,7	408,4

2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή

Κάποιοι από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή του κατσικίσιου γάλακτος ως προς την ποιότητα και την ποσότητα των συστατικών του είναι το είδος και η φυλή του ζώου, το μέγεθος και το βάρος σώματος του, η ηλικία, η εποχή του έτους, η θερμοκρασία, η γαλακτική περίοδος, οι συνθήκες διατροφής του ζώου, η συχνότητα και η περίοδος αρμέγματος, οι ενδεχόμενες ασθένειες και η υγιεινή κατάσταση του ζώου (G et al., 2016).

- Είδος και φυλή ζώου

Οι διαφορετικές φυλές αιγών επηρεάζουν την παραγωγή καθώς οι ευρωπαϊκές φυλές έχουν τη δυνατότητα να παράγουν μεγαλύτερες ποσότητες γάλακτος συγκριτικά με τις αυτόχθονες φυλές (G et al., 2016). Επιπλέον, κάποιες από τις φυλές αγελάδων, όπως η φυλή Holstein και η Jersey παράγουν αγελαδινό γάλα πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά και συνήθως προτιμώνται για την παρασκευή γάλακτος κατανάλωσης σε σχέση με το γάλα αγελάδων από διαφορετικές φυλές (Κεχαγιάς X., 2017).

- Μέγεθος και ηλικία

Η παραγωγή γάλακτος επηρεάζεται και από την ηλικία του ζώου σε συνδυασμό με την αύξηση του σωματικού του βάρους. Η παραγωγή επηρεάζεται σε ένα μεγάλο βαθμό κυρίως από το μέγεθος του ζώου. Τα ζώα με μεγαλύτερο μέγεθος παράγουν μεγαλύτερες ποσότητες γάλακτος και αυτό εν μέρει μπορεί να οφείλεται στην μεγαλύτερη κατανάλωση τροφής συγκριτικά με τα ζώα μικρότερου μεγέθους.

- Εποχή έτους

Η εποχή παραγωγής του γάλακτος επηρεάζει επίσης την απόδοση αλλά και την ποσότητα των βασικών συστατικών του γάλακτος. Η απόδοση είναι χαμηλότερη τους πρώτους τρεις μήνες του έτους ενώ αυξάνεται αργότερα μέσα στο έτος και συγκεκριμένα τους μήνες Οκτώβριο, Νοέμβριο και Δεκέμβριο (Κεχαγιάς X., 2017).

- Θερμοκρασία περιβάλλοντος

Η απόδοση των ζώων επηρεάζεται σημαντικά από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος, καθώς σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες τους καλοκαιρινούς μήνες είτε σε ιδιαίτερα χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια του χειμώνα, η τροφή των ζώων

μειώνεται και έτσι η παραγωγή γάλακτος μειώνεται σημαντικά (Κεχαγιάς Χ., 2017). Ιδιαίτερα, η παραμονή των ζώων που θηλάζουν σε χαμηλές θερμοκρασίες περιβάλλοντος μειώνει σημαντικά την απόδοση του γάλακτος (G et al., 2016).

- Συνθήκες διατροφής του ζώου

Απαραίτητο συστατικό της διατροφής για τη σύνθεση του γάλακτος είναι η παρουσία γλυκόζης στο μαστικό αδένα έτσι ώστε να μπορεί να παραχθεί η κατάλληλη ποσότητα λακτόζης, η οποία επηρεάζει την κίνηση του νερού μέσα στο γάλα (G et al., 2016). Ωστόσο, η μειωμένη πρόσληψη τροφής δεν παρέχει την απαραίτητη ποσότητα γλυκόζης στο μαστικό αδένα, με αποτέλεσμα να μειώνεται η παραγωγή του γάλακτος. Αντίθετα, η υπερβολική πρόσληψη τροφής δεν συμβάλλει στην αύξηση της παραγωγής παρά μόνο επηρεάζει το βάρος του ζώου και επιβαρύνει οικονομικά τον παραγωγό (Κεχαγιάς Χ., 2017).

- Ενδεχόμενες ασθένειες

Τα ζώα μπορούν να νοσήσουν εύκολα επηρεάζοντας αρνητικά την παραγωγή γάλακτος με αποτέλεσμα να μειώνεται η απόδοση ανάλογα το είδος της και τη σοβαρότητα αυτής. Χαρακτηριστική ασθένεια που προσβάλλει τα γαλακτοφόρα ζώα είναι η μαστίτιδα, η οποία οφείλεται σε ένα παθογόνο μικροοργανισμό, τον *Streptococcus agalactiae*. Η μαστίτιδα ουσιαστικά καταστρέφει το μαστό του ζώου με αποτέλεσμα να μην μπορεί να παραχθεί γάλα, οδηγώντας τελικά στη μείωση της παραγωγής (Κεχαγιάς Χ., 2017). Σημαντική παράμετρος για την αποφυγή ασθενειών των ζώων είναι η εφαρμογή σωστών πρακτικών υγιεινής.

- Συχνότητα και περίοδος αρμέγματος

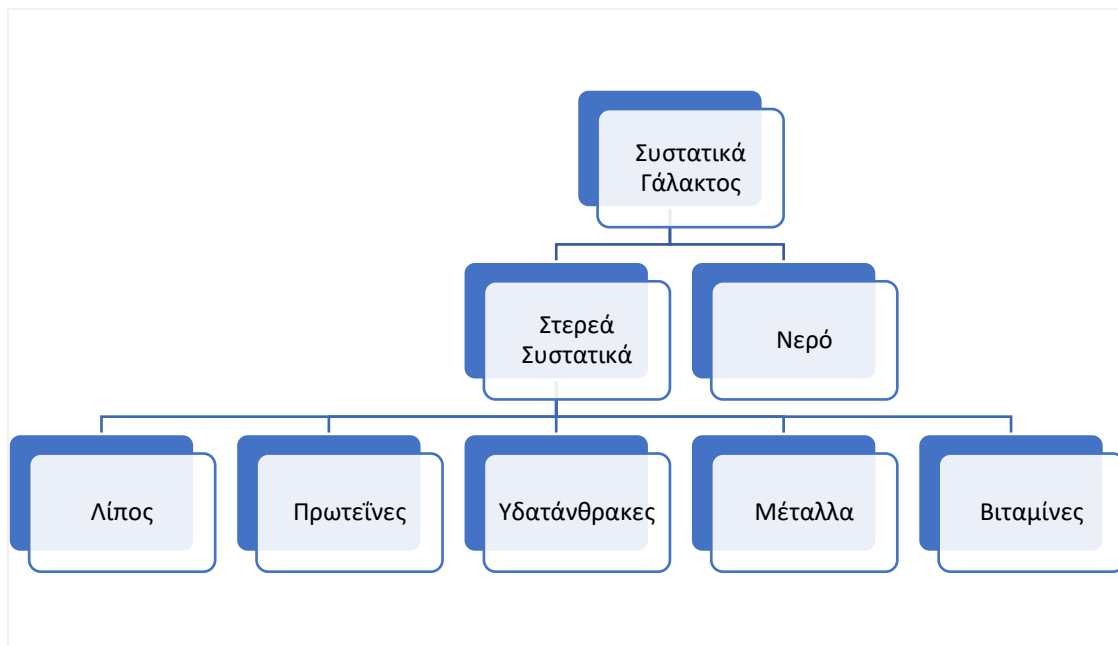
Το άρμεγμα των ζώων μια φορά την ημέρα δίνει μικρότερη ποσότητα γάλακτος ενώ αν η διαδικασία αυτή πραγματοποιηθεί δύο φορές με σταθερή διαφορά ωρών μεταξύ τους το ποσοστό παραγωγής αυξάνεται. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται μετά το πρώτο άμελγμα όπου αρχίζει να αυξάνεται η εκκριτική δραστηριότητα των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού επειδή απομακρύνεται ο παράγοντας που αναστέλλει την παραγωγή του γάλακτος.

- Γαλακτική περίοδος

Η γαλακτική περίοδος επηρεάζει και την απόδοση των ζώων σε γάλα αλλά και τη σύνθεση του γάλακτος ως προς την ποσότητα των πρωτεϊνών και του λίπους. Η ποσότητα γάλακτος εμφανίζεται αυξημένη τους πρώτους μήνες και κατόπιν μειώνεται με σταδιακό ρυθμό σε αντίθεση με τις ποσότητες πρωτεϊνών και λίπους που αυξάνονται κατά τους τελευταίους μήνες (Κεχαγιάς Χ., 2017). Επίσης, η απόδοση σε γάλα επηρεάζεται και από τον αριθμό των γαλακτικών περιόδων αφού παρατηρείται μια αύξηση μέχρι τις πρώτες τέσσερεις γαλακτικές περιόδους ενώ μετά μειώνεται έως την δέκατη.

3 Συστατικά Γάλακτος

Το γάλα είναι μια τροφή πλούσια σε πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας, απαραίτητα λιπαρά οξέα, υδατάνθρακες και μέταλλα όπως ασβέστιο, μαγνήσιο, φώσφορο και σελήνιο. Επιπλέον, περιέχει βιταμίνες με κυριότερη τη βιταμίνη Α, τις βιταμίνες του συμπλέγματος Β με πιο χαρακτηριστικές τις Β3, Β5, Β12 και τη ριβοφλαβίνη (Κεχαγιάς Χ., 2017). Είναι ένα προϊόν υψηλής θρεπτικής αξίας και προσφέρει σημαντικά θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για τον οργανισμό τόσο στα παιδιά όσο και στους ενήλικες. Τα συστατικά που περιέχονται στο γάλα διαφοροποιούνται ποιοτικά ή και ποσοτικά ανάλογα με το είδος, τη φυλή, την ηλικία και την κατάσταση υγιεινής του ζώου από το οποίο προέρχεται το γάλα, το στάδιο της γαλακτικής περιόδου, τις συνθήκες διατροφής, τη συχνότητα των τοκετών, τον τρόπο και την περίοδο της ημέρας που γίνεται το άρμεγμα (Κεχαγιάς Χ., 2017).



Σχήμα 3.1 Σύσταση γάλακτος

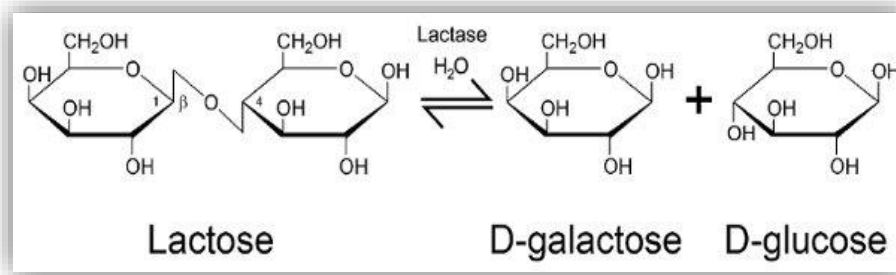
3.1 3.1 Κύρια συστατικά γάλακτος

3.1.1 Νερό

Το γάλα αποτελείται κυρίως από νερό σε ένα μεγάλο ποσοστό που διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος του ζώου από το οποίο προέρχεται. Συνήθως στο αγελαδινό γάλα κυμαίνεται περίπου στο 87,5%. Είναι ένα σημαντικό συστατικό του γάλακτος καθώς σε αυτό βρίσκονται διεσπαρμένα τα υπόλοιπα συστατικά.

3.1.2 Υδατάνθρακες

Η λακτόζη αποτελεί τον κυριότερο υδατάνθρακα του γάλακτος και έχει ιδιαίτερη σημασία για την παραγωγή των γαλακτοκομικών προϊόντων. Ανήκει στην κατηγορία των δισακχαριτών και αποτελείται από ένα μόριο D-γλυκόζης και ένα μόριο D-γαλακτόζης ενωμένα μεταξύ τους με β-1,4-γλυκοσιδικό δεσμό (Dominici et al., 2022). Έχει τη δυνατότητα να εμφανίζεται σε δύο μορφές, την α- και τη β-λακτόζη σε μια αναλογία 2:3, οι οποίες χαρακτηρίζονται ως ισομερείς, ανάλογα με τη μορφή της γλυκόζης αλλά διαφέρουν ως προς τη διαλυτότητα, με τη β-λακτόζη να έχει τη μεγαλύτερη διαλυτότητα (Gambelli, 2017). Η παραγωγή της λακτόζης στο γάλα πραγματοποιείται στα επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένου του ζώου με τη βοήθεια ενός ειδικού ενζύμου, τη συνθετάση της λακτόζης, το οποίο έχει την ικανότητα να μετατρέπει ένα μέρος της γλυκόζης στο αίμα σε γαλακτόζη (Gambelli, 2017). Ο συγκεκριμένος υδατάνθρακας μπορεί να υδρολύεται στους δύο μονοσακχαρίτες του από το ένζυμο β-γαλακτοσιδάση ή αλλιώς λακτάση. Το ένζυμο αυτό ανήκει στην οικογένεια των β-γαλακτοσιδασών και συνδέεται κυρίως με την πέψη της λακτόζης, αφού εντοπίζεται στα κύτταρα που καλύπτουν τις λάχνες του λεπτού εντέρου. Ωστόσο, πολλοί άνθρωποι εμφανίζουν δυσανεξία στη λακτόζη, καθώς απουσιάζει αυτό το ένζυμο για την υδρόλυση της λακτόζης ή εμφανίζει μειωμένη δράση με αποτέλεσμα να μην γίνεται σωστά η πέψη του υδατάνθρακα.



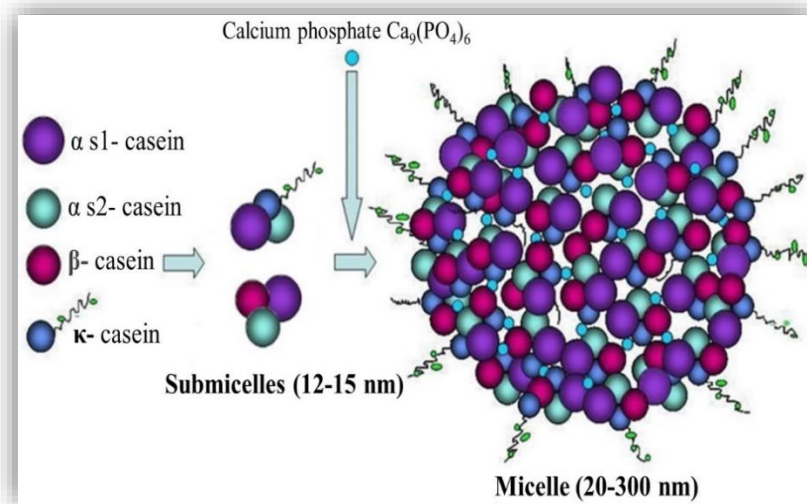
Εικόνα 3.1 Αντίδραση υδρόλυσης λακτόζης (Leksmono et al., 2018)

Η λακτόζη συμμετέχει ως βασικό συστατικό του γάλακτος στην παραγωγή των κυριότερων γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως η γιαούρτη και τα τυριά. Οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται ως εκκινητές των καλλιεργειών μεταβολίζουν τη λακτόζη, παράγουν κυρίως γαλακτικό οξύ και άλλες ενώσεις και προσδίδουν επιθυμητές ιδιότητες στο προϊόν. Το γαλακτικό οξύ που παράγεται δίνει χαρακτηριστική όξινη γεύση, μειώνει το pH του γάλακτος και συμβάλλει στην πήξη του γάλακτος και την υφή των τυροπηγμάτων (Κεχαγιάς X., 2017).

3.1.3 Πρωτεΐνες

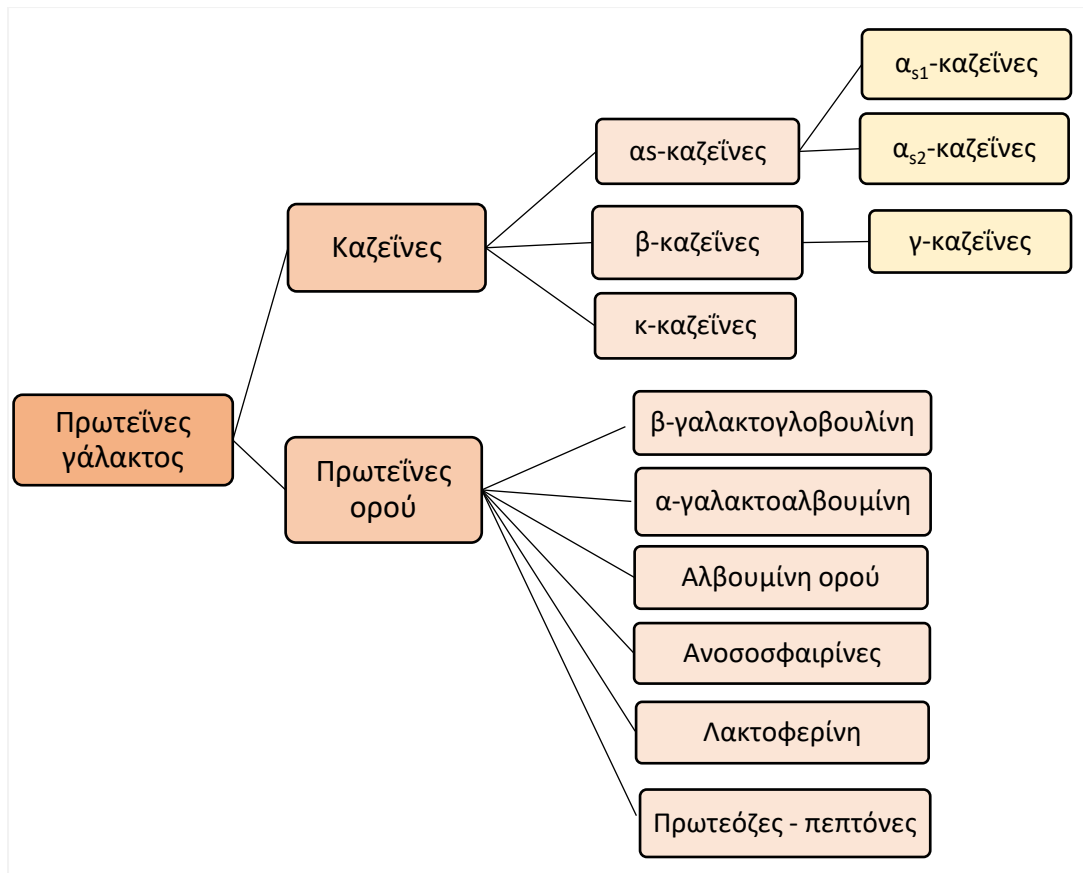
Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνες διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος του ζώου από το οποίο παραλαμβάνεται το γάλα. Τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα πρωτεϊνών έχει το πρόβειο γάλα με ποσοστό 5,5-6%, ακολουθεί το κατσικίσιο γάλα με περίπου 3,5-3,6% και το αγελαδινό με 3,3% ενώ πολύ χαμηλό ποσοστό πρωτεϊνών περίπου 1% περιέχεται στο ανθρώπινο γάλα (Κεχαγιάς Χ., 2017). Γενικώς, οι πρωτεΐνες που περιέχονται στο γάλα ανήκουν σε δύο κατηγορίες με διαφορετική φυσικοχημική δομή, τις καζεΐνες και τις πρωτεΐνες του ορού και ανάλογα με την πηγή του γάλακτος διαμορφώνεται και η αναλογία τους. Για παράδειγμα, στο αγελαδινό και πρόβειο γάλα η αναλογία των συνολικών πρωτεϊνών διαμορφώνεται σε 80% καζεΐνες και 20% πρωτεΐνες του ορού ενώ στο γίδινο γάλα η αναλογία αυτή τροποποιείται ελαφρώς με περίπου 75% καζεΐνες και 25% πρωτεΐνες του ορού (Κεχαγιάς Χ., 2017). Αντίθετα, στο ανθρώπινο γάλα παρατηρείται διαφορά στην παραπάνω αναλογία με περίπου 40% καζεΐνες και 60% πρωτεΐνες ορού (Prosser, 2021).

Οι καζεΐνες είναι μια μεγάλη κατηγορία σφαιρικών πρωτεϊνών, οι οποίες συντίθενται στο μαστό των ζώων, οπότε βρίσκονται μόνο στο γάλα και διαφέρουν ως προς την σύσταση των αμινοξέων αλλά και ως προς τη συμπεριφορά τους κατά την πήξη του γάλακτος με πυτιά. Είναι αδιάλυτες σε pH 4,6 και έχουν πολύπλοκη δομή. Εμφανίζονται με τη μορφή μικελλών, οι οποίες αποτελούνται από μικρότερες μονάδες, τις υπομικέλλες, που βοηθούν στη διαμόρφωση της σταθερής δομής των μικελλών μέσω της σύνδεσης με το κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο (Prosser, 2021). Το φωσφορικό ασβέστιο λειτουργεί ως στοιχείο σύνδεσης μεταξύ των υπομικελλών, καθώς με αυτό συνδέονται τα αμινοξέα των α - και β -καζεϊνών που μετατρέπονται σε φωσφορικό οξύ (McMahon and McManus, 1998). Οι μικέλλες της καζεΐνης έχουν αρνητικό φορτίο στο φυσιολογικό pH του γάλακτος, το οποίο είναι 6,7 - 6,8 λόγω του ότι βρίσκονται με τη μορφή ανιόντων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι μικέλλες να μην αντιδρούν μεταξύ τους αλλά να απωθούνται αποτρέποντας τη δημιουργία ιζήματος στο γάλα (McMahon and McManus, 1998).



Εικόνα 3.2 Δομή μικκυλίου (Petrova et al., 2022)

Οι πρωτεΐνες του ορού εμφανίζουν ποικίλες λειτουργίες καθώς παρέχουν αντισώματα με αποτέλεσμα να προστατεύουν τα ζώα και κατόπιν τον άνθρωπο από διάφορες ασθένειες, περιέχουν ένα πλήθος ουσιών που εμφανίζουν αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές, αντικές, αντικαρκινικές και λοιπές ιδιότητες ενώ παρέχουν και αμινοξέα (Κεχαγιάς Χ., 2017). Διαφέρουν, επίσης, από τις καζεΐνες ως προς τη δομή τους, τη σταθερότητα, την περιεκτικότητα σε φώσφορο και θείο, την υδροφοβικότητα. Μια από τις κύριες διαφορές που παρατηρούνται στις δύο αυτές μεγάλες κατηγορίες πρωτεϊνών είναι ότι οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος αποτελούνται από αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσίδας όπως βαλίνη, λευκίνη και ισολευκίνη σε μεγαλύτερο ποσοστό από ότι οι καζεΐνες (McGregor and Poppitt, 2013). Οι δύο κατηγορίες πρωτεϊνών του γάλακτος καθώς και οι πρωτεΐνες που τις αποτελούν παρουσιάζονται συνοπτικά στο Σχήμα 3.2.



Σχήμα 3.2 Απεικόνιση των κλασμάτων που απαρτίζουν τις πρωτεΐνες στο γάλα

3.1.3.1 Καζεΐνες

Η κατηγορία των καζεϊνών αποτελείται από τρία διαφορετικά κλάσματα, τις α₁-καζεΐνες, τις β-καζεΐνες και τις κ-καζεΐνες. Ειδικότερα, οι α₁-καζεΐνες διακρίνονται σε α₁¹- και α₁²-καζεΐνες ενώ οι β-καζεΐνες μπορούν να μετατραπούν σε γ-καζεΐνες. Ο σημαντικότερος ρόλος των πρωτεϊνών αυτών είναι να λειτουργούν ως φορείς μετάλλων κυρίως για το φώσφορο και το ασβέστιο.

α₁ – καζεΐνες

Είναι φωσφοροπρωτεΐνες που εμφανίζονται με δύο μορφές, τις α₁¹- και α₁²-. Η α₁¹- καζεΐνη είναι μια πρωτεΐνη που αποτελείται από 199 αμινοξέα και έχει μέγεθος περίπου 23.614 kDa ενώ η α₁²- καζεΐνη αποτελείται από περισσότερα αμινοξέα, 207 στο σύνολο, και έχει μέγεθος 24,3 kDa. Η α₁² – καζεΐνη βρίσκεται στο γάλα σε μικρή περιεκτικότητα από την α₁¹ – καζεΐνη και συγκεκριμένα καταλαμβάνει περίπου το 12,5% των συνολικών καζεϊνών στο βόειο γάλα ενώ η α₁¹ – καζεΐνη το 40% (Κεχαγιάς Χ., 2017). Η α₁² – καζεΐνη εμφανίζεται με τέσσερις διαφορετικές μορφές που διαφέρουν ως προς την ποσότητα φωσφόρου που είναι συνδεδεμένο σε αυτές. Οι α₁ – καζεΐνες είναι ιδιαίτερα ευαίσθητες στην παρουσία ασβεστίου και για αυτό το λόγο βρίσκονται στο εσωτερικό της δομής των μικελλών (Κεχαγιάς Χ., 2017). Στον άνθρωπο εμφανίζεται συχνά ανοσολογική αντίδραση στην υψηλή περιεκτικότητα της α₁¹ – καζεΐνης και αποτελεί μια από τις κύριες αιτίες αλλεργίας στις πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (Miciński et al., 2013).

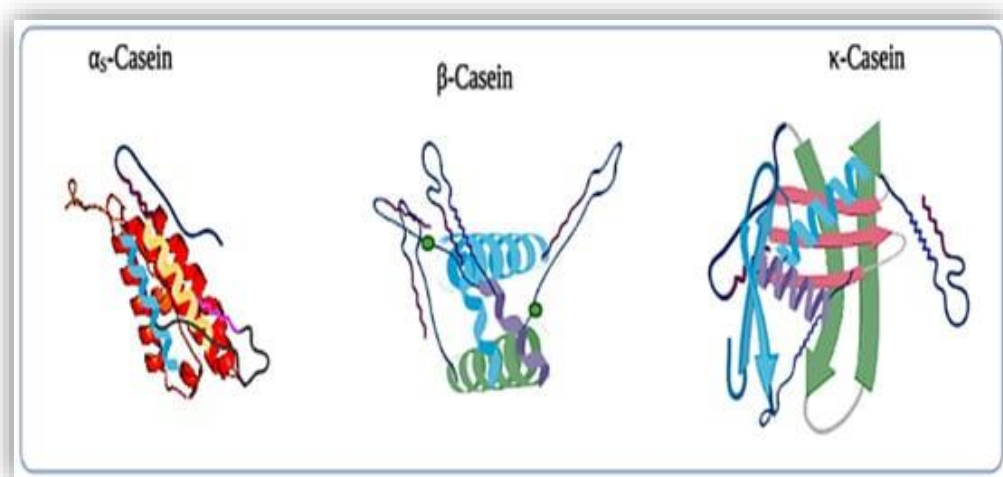
β – καζεΐνη

Ανήκει στην κατηγορία των καζεϊνών και περιέχεται στο αγελαδινό γάλα σε ποσοστό περίπου 35% του συνόλου τους. Αποτελείται από 209 αμινοξέα και έχει μέγεθος 23.986 kDa. Περιέχει σημαντική ποσότητα φωσφόρου και με τη δράση του πρωτεολυτικού ενζύμου πλασμίνη μπορεί να υδρολύεται και να παράγει τις γ-καζεΐνες (Κεχαγιάς Χ., 2017). Επίσης, θεωρείται ως η περισσότερο υδρόφοβη μορφή καζεΐνης συγκριτικά με τις υπόλοιπες και εμφανίζει μεγάλη ευαισθησία ως προς την παρουσία

ασβεστίου και για αυτό το λόγο περιέχεται στο εσωτερικό των μικελλών μαζί με τις ασ-καζεΐνες ώστε να προστατεύεται (Κεχαγιάς Χ., 2017).

κ – καζεΐνη

Είναι η μόνη φωσφοπρωτεΐνη που είναι γλυκοζυλιωμένη. Αποτελείται από λιγότερο αριθμό αμινοξέων από τις υπόλοιπες καζεΐνες, 169 αμινοξέα, έχει μέγεθος περίπου 21.269 kDa και στο αγελαδινό γάλα βρίσκεται σε ποσοστό περίπου το 12,5% του συνόλου των καζεϊνών. Όταν η κ-καζεΐνη υδρολύεται παράγεται ένα γλυκομακροπεπτίδιο, το οποίο μπορεί να μειώσει το γαστρικό οξύ που εκκρίνεται κατά την πέψη. Η μορφή αυτή εμφανίζει αντιπηκτικές ιδιότητες με αποτέλεσμα να προστατεύει τον οργανισμό από τη μεγάλη ποσότητα αιμοπεταλίων και την έκκριση σεροτονίνης (Miciński et al., 2013).



Εικόνα 3.3 Τριδιάστατη δομή ασ – καζεϊνών, β – καζεΐνης και κ – καζεΐνης (“Ultra-Heat Treatment on Milk Proteins.pdf,” n.d.)

3.1.3.2 Πρωτεΐνες του ορού

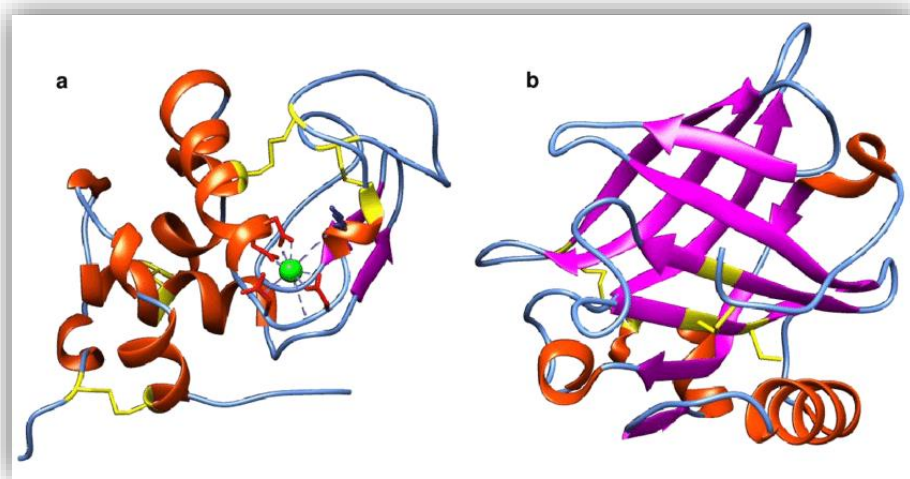
Οι πρωτεΐνες του ορού είναι μια ομάδα πρωτεϊνών που είναι διαλυτές σε pH περίπου 4,6 που αποτελεί και το ισοδύναμο σημείο τους. Οι κυριότερες πρωτεΐνες αυτής της κατηγορίας είναι η β-γαλακτογλοβουλίνη, η α-γαλακτοαλβουμίνη, οι ανοσοσφαιρίνες, η αλβουμίνη του ορού, η λακτοφερίνη καθώς και οι πρωτεόζες – πεπτόνες.

β – λακτογλοβουλίνη (β-Lg)

Η πρωτεΐνη αυτή αποτελεί το μεγαλύτερο ποσοστό των πρωτεϊνών του ορού, έχει μέγεθος 18,3 kDa με σφαιρική δομή και αποτελείται από 162 αμινοξέα πλούσια σε θείο. Ρόλος της είναι να λειτουργεί ως φορέας της ρετινόλης, δηλαδή να δεσμεύει τα ιόντα σιδήρου και χαλκού στο υδρόφοβο μέρος της και να την προστατεύει από την ενδεχόμενη οξειδωσή της (Κεχαγιάς Χ., 2017). Έχει παρατηρηθεί ότι αν εφαρμοστεί θερμική επεξεργασία στο γάλα η β – γαλακτογλοβουλίνη μπορεί να αντιδράσει με την κ – καζεΐνη επηρεάζοντας την ικανότητα πήξης του γάλακτος (Miciński et al., 2013).

α – γαλακτοαλβουμίνη (α-La)

Αποτελεί περίπου το 20-22% των συνολικών πρωτεϊνών του ορού και περιέχει μεγάλα ποσοστά αμινοξέων όπως λυσίνη, κυστίνη και τρυπτοφάνη. Έχει σφαιρική μορφή και μέγεθος 14 kDa. Συνδέεται με το σχηματισμό της λακτόζης για αυτό και η περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη εξαρτάται από το ποσοστό α-γαλακτοαλβουμίνης σε αυτό (Miciński et al., 2013). Η ύπαρξη αυτής της πρωτεΐνης σε συνδυασμό με την παρουσία ελαϊκού οξέος στο τριγλυκερίδια του λίπους στο γάλα δημιουργούν ένα χαρακτηριστικό σύμπλοκο με αποτέλεσμα να αυξάνουν την προστασία έναντι των καρκινικών κυττάρων προλαμβάνοντας έτσι την εμφάνιση κάποιας μορφής καρκίνου.



Εικόνα 3.4 Τρισδιάστατη δομή α – γαλακτοαλβουμίνης και β – λακτογλοβουλίνης
 α – τρισδιάστατη δομή α – γαλακτοαλβουμίνης με τους δισουλφιδικούς δεσμούς να απεικονίζονται με κίτρινο χρώμα και το δεσμευμένο ιόν ασβεστίου με πράσινο χρώμα
 β – τρισδιάστατη δομή β -λακτογλοβουλίνης με τους δισουλφιδικούς δεσμούς να απεικονίζονται με κίτρινο χρώμα (“On the heat stability of concentrated milk systems - Kinetics of heat-induced dissociation and aggregation of casein micelles.pdf,” n.d.)

Αλβουμίνη του ορού

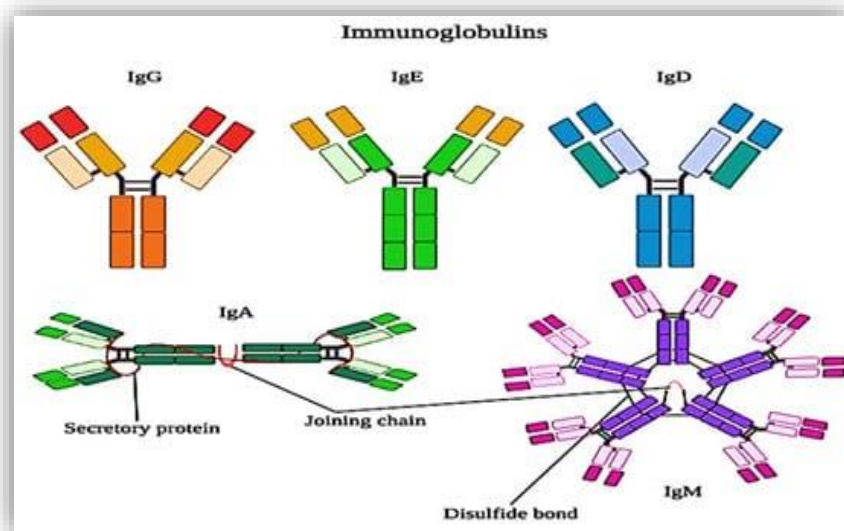
Είναι μια σφαιρική πρωτεΐνη, η οποία αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό αμινοξέων, 582 συνολικά, και εμφανίζει σημαντική αντιοξειδωτική δράση. Η πρωτεΐνη αυτή εμφανίζεται στο γάλα ως αποτέλεσμα της παθητικής μεταφοράς της από την κυκλοφορία του αίματος σε αντίθεση με τις υπόλοιπες πρωτεΐνες της κατηγορίας αυτής που παράγονται στο μαστικό αδέν. Βασικός ρόλος της είναι να μεταφέρει ελεύθερα λιπαρά οξέα στο αίμα προστατεύοντας από την οξείδωση (Κεχαγιάς Χ., 2017). Αδρανοποιείται περίπου σε θερμοκρασία 70-80°C ενώ με θερμική επεξεργασία δεν παρατηρείται μετουσίωσή της.



Εικόνα 3.5 Τρισδιάστατη δομή αλβουμίνης ορού (“Potential Applications of Milk Fractions and (2015).pdf,” n.d.)

Ανοσοσφαιρίνες (Igs)

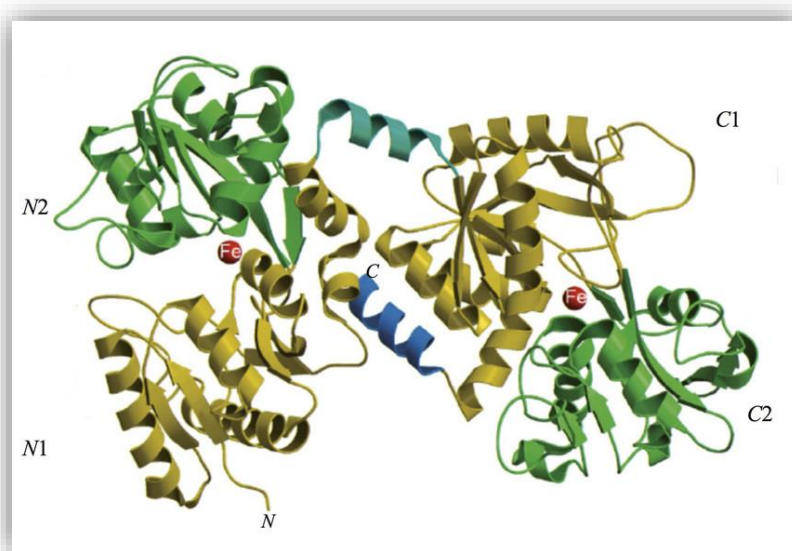
Είναι πρωτεΐνες που παράγονται από βακτήρια και ιούς και κύριος ρόλος τους είναι να προσφέρουν σημαντικά αντισώματα. Εμφανίζονται σε πέντε μορφές και λειτουργούν έναντι πέντε διαφορετικών τύπων αντιγόνων, G (G1 και G2), A, D, E και M (Κεχαγιάς X., 2017). Διαφέρουν ως προς τη δομή τους, ωστόσο έχουν παρόμοιο μέγεθος και ηλεκτροφορητικό φορτίο (Κεχαγιάς X., 2017). Οι ανοσοσφαιρίνες με την εφαρμογή θέρμανσης μετουσιώνονται αφού είναι θερμοευαίσθητες.



Εικόνα 3.6 Δομή των πέντε διαφορετικών μορφών της κατηγορίας των ανοσοσφαιρίνων (“Ultra-Heat Treatment on Milk Proteins.pdf,” n.d.)

Λακτοφερίνη (Lf)

Ανήκει στην κατηγορία των τρανσφερνών. Είναι μια σφαιρική γλυκοπρωτεΐνη, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην απορρόφηση του σιδήρου μέσω της δέσμησης και μεταφοράς του στο κυκλοφορικό σύστημα (Κεχαγιάς Χ., 2017). Εμφανίζει ένα σύνολο από θετικές δράσεις με κυριότερες τις αντιφλεγμονώδεις, αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές, αντιϊικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (Miciński et al., 2013). Η λακτοφερίνη έχει σημαντικές διαφοροποιήσεις ως προς τις διαφορετικές πηγές γάλακτος και συγκεκριμένα στο αγελαδινό γάλα η περιεκτικότητα λακτοφερίνης είναι μικρότερη συγκριτικά με το κατσικίσιο γάλα (Hernández-Ledesma et al., 2011).



Εικόνα 3.7 Τρισδιάστατη δομή λακτοφερίνης που αποτελείται από τέσσερις λοβούς (N1, N2, C1, C2) και δύο κόκκινες σφαίρες που απεικονίζουν τα ιόντα σιδήρου στις θέσεις πρόσδεσης (“Lactoferrin_A_Natural_Glycoprotein_Involved_in_Iro.pdf,” n.d.)

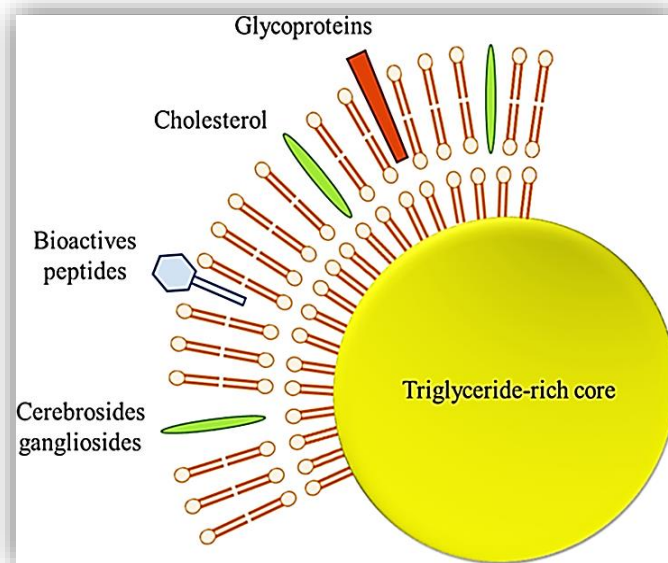
Πρωτεόζες – πεπτόνες

Φωσφοροπρωτεΐνες και γλυκοπρωτεΐνες που ανευρίσκονται σε μικρό ποσοστό στο γάλα συνήθως με τη μορφή διπεπτιδίων και προέρχονται από τη διάσπαση της β-καζεΐνης. Έχει παρατηρηθεί ότι με εφαρμογή θερμικής επεξεργασίας δεν πραγματοποιείται καθίζηση των πρωτεϊνών αυτών (Miciński et al., 2013).

3.1.4 Λίπος

Το λίπος βρίσκεται ως γαλάκτωμα στο γάλα, στο οποίο είναι διασπαρμένο με τη μορφή λιποσφαιριδίων στη συνεχή φάση του γάλακτος (Κεχαγιάς Χ., 2017). Θεωρείται μια καλή πηγή ενέργειας για τα άτομα που καταναλώνουν γάλα και προσφέρει βασικά λιπαρά οξέα. Επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό, επίσης, τη γεύση, το άρωμα και την εμφάνιση του γάλακτος αλλά και των γαλακτοκομικών προϊόντων που παράγονται. Το λίπος αποτελείται από λιποσφαιρίδια, δηλαδή μικρά σφαιρίδια λίπους με διάμετρο περίπου στα 3,5μm, τα οποία στο κέντρο περιέχουν έναν πυρήνα πλούσιο σε τριγλυκερίδια και εξωτερικά περιβάλλονται από μια μεμβράνη που αποτελείται από λιπίδια, όπως τριγλυκερίδια και φωσφολιπίδια αλλά και από πρωτεΐνες, ένζυμα, βιοενεργά πεπτίδια, γλυκολιπίδια, γλυκοπρωτεΐνες, χοληστερόλη, αρκετά ιχνοστοιχεία και ποσότητα δεσμευμένου νερού όπως φαίνεται στην Εικόνα (Yao et al., 2016). Η μεμβράνη των λιποσφαιριδίων έχει πολλαπλές ιδιότητες στο γάλα, αφού:

- παρουσιάζει αμφιφιλικές ιδιότητες, καθώς η μεμβράνη αυτή εσωτερικά περικλείει το λίπος και εμφανίζει υδρόφοβες ιδιότητες ενώ εξωτερικά διαβρέχεται από την υδατική φάση του γάλακτος και έχει υδρόφιλες ιδιότητες (Silva et al., 2021)
- διασφαλίζει τη σφαιρική μορφή του λίπους (Κεχαγιάς Χ., 2017)
- επιτρέπει τη διασπορά του λίπους στην υδατική φάση του γάλακτος
- εμποδίζει την πιθανή συσσωμάτωση των λιποσφαιριδίων μεταξύ τους
- προστατεύει τα λιποσφαιρίδια από τη δράση λιπολυτικών ενζύμων που μπορούν να προκαλέσουν οξείδωση άρα και υποβάθμιση της ποιότητας του γάλακτος (Silva et al., 2021).



Εικόνα 3.8 Δομή μεμβράνης λιποσφαιριδίων (Silva et al., 2021)

Το λίπος που περιέχεται στο γάλα παράγεται στο μαστό του ζώου με τη βοήθεια των γαλακτοκυττάρων και αποτελείται σε ένα υψηλό ποσοστό που αγγίζει το 95 - 96% από τριγλυκερίδια, δηλαδή εστέρες της γλυκερόλης με διάφορους συνδυασμούς λιπαρών οξέων. Το γάλα είναι η κυριότερη πηγή κορεσμένων λιπαρών οξέων ενώ περιέχει ποσότητες μονοακόρεστων αλλά και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα συχνά θεωρούνται ως κύριοι παράγοντες δημιουργίας καρδιαγγειακών νοσημάτων ενώ τα μονοακόρεστα και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εμφανίζουν κυρίως θετικές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό (Stergiadis et al., 2019). Στα λιποσφαιρίδια το υπόλοιπο 4 – 5% καταλαμβάνουν κυρίως τα διγλυκερίδια, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, οι στερόλες, οι ενώσεις που ανήκουν στην ομάδα των καροτενοειδών και επηρεάζουν φυσικές ιδιότητες του γάλακτος και οι λιποδιαλυτές βιταμίνες A, D, E και K. Το προφίλ των λιπαρών οξέων επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό κυρίως από τη διατροφή του ζώου. Το λίπος των μηρυκαστικών περιέχει τριγλυκερίδια που χαρακτηρίζονται από υψηλή συγκέντρωση λιπαρών οξέων με βραχεία και μέση ανθρακική αλυσίδα και χαμηλότερη συγκέντρωση σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα με χαρακτηριστικά το α-λινολενικό οξύ (C_{18:3}), το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (C_{20:5}) και το εικοσιδυακόπεντανοϊκό οξύ (C_{22:5}) (Κεχαγιάς X., 2017). Επιπλέον, το λίπος του γάλακτος εκτός από τριγλυκερίδια αποτελείται και από μικρότερο ποσοστό ελεύθερων λιπαρών οξέων, διγλυκεριδίων, στερολών, φωσφολιπιδίων και αρκετών λιποδιαλυτών βιταμινών και καροτενοειδών, με χαρακτηριστικότερη ομάδα τα β-καροτένια.

3.1.5 Άλατα

Το γάλα θεωρείται μια καλή πηγή μετάλλων τόσο σε οργανική μορφή όσο και με τη μορφή αλάτων. Τα άλατα δεν είναι μόνο ανόργανα αλλά και οργανικά, όπως είναι τα κιτρικά άλατα και διακρίνονται σε απλά ή σύμπλοκα. Χαρακτηριστικά είναι τα χλωριούχα, τα κιτρικά, τα ανθρακικά, τα θειικά και φωσφορικά άλατα. Στο γάλα περιέχονται δύο κατηγορίες μετάλλων, τα μακρομέταλλα και τα ιχνοστοιχεία (Stergiadis et al., 2019). Όσον αφορά τα μακρομέταλλα, αυτά υπερτερούν σε ποσότητα συγκριτικά με τα ιχνοστοιχεία και περιλαμβάνουν το νάτριο, το κάλιο, το ασβέστιο, τον φώσφορο καθώς και το μαγνήσιο. Αντιθέτως, τα ιχνοστοιχεία ανευρίσκονται σε μικρότερες ποσότητες και συνήθως είναι ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός και το ιώδιο (Stergiadis et al., 2019). Τα μέταλλα έχουν σημαντικό ρόλο στην λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού καθώς συμβάλλουν σε πολλές διεργασίες όπως είναι:

- η μεταφορά οξυγόνου,
- ο σχηματισμός των βιταμινών,
- η διαμόρφωση των οστών και
- η απορρόφηση απαραίτητων θρεπτικών συστατικών (Stergiadis et al., 2019)

Τα πιο σημαντικά μέταλλα, από τα 20 βασικά που απαρτίζουν το γάλα, είναι το ασβέστιο, ο φώσφορος, το μαγνήσιο, το κάλιο, το νάτριο και το χλώριο (Zamberlin et al., 2012). Το ασβέστιο και ο φώσφορος είναι τα σημαντικότερα μεταλλικά στοιχεία στο αγελαδινό αλλά και στο κατσικίσιο γάλα, καθώς το ασβέστιο εντοπίζεται σε υψηλή συγκέντρωση στο γάλα αλλά και στα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπως η γιαούρτη και το τυρί και έχει ιδιαίτερο ρόλο σε ιδιότητες του οργανισμού, όπως είναι η πήξη του αίματος, ο καρδιακός ρυθμός και η έκκριση των ορμονών (Zamberlin et al., 2012). Ο φώσφορος είναι εξίσου σημαντικό συστατικό του γάλακτος επειδή εντοπίζεται συχνά σε μια πληθώρα ενώσεων, όπως είναι το DNA, οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και οι υδατάνθρακες (Zamberlin et al., 2012). Τα δύο αυτά μεταλλικά στοιχεία στο γάλα είναι συνδεδεμένα κυρίως με τις καζεΐνες του γάλακτος με τη μορφή του κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου ενώ εμφανίζονται και στην υδατική φάση του γάλακτος ως υδατοδιαλυτό ασβέστιο και φώσφορος (Κεχαγιάς X., 2017).

Τα βασικότερα μέταλλα που περιέχονται στο γάλα διαφέρουν ποσοτικά ανάλογα με την πηγή του γάλακτος. Συγκεκριμένα, μεταξύ κατσικίσιου, αγελαδινού,

πρόβειου και ανθρώπινου γάλακτος τη χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ασβέστιο, φώσφορο, μαγνήσιο, κάλιο, νάτριο και χλώριο εμφανίζει το ανθρώπινο γάλα. Όσον αφορά την περιεκτικότητα τους στο κατσικίσιο και το αγελαδινό γάλα, παρατηρείται πως δεν υπάρχουν ιδιαίτερες αποκλίσεις για τα μέταλλα αυτά όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1 Ποσότητες μεταλλικών στοιχείων σε κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα (Zamberlin et al., 2012)

Μεταλλικά στοιχεία Γάλακτος	Κατσικίσιο γάλα (mg/100g)	Αγελαδινό γάλα (mg/100g)
Ασβέστιο (Ca)	106-192	107-133
Μαγνήσιο (Mg)	10-21	9-16
Φώσφορος (P)	92-148	63-102
Νάτριο (Na)	34-50	40-58
Κάλιο (K)	135-235	144-178
Χλώριο (Cl)	100-198	90-106

Η συνιστώμενη ημερήσια δόση για κάθε ένα από τα παραπάνω μεταλλικά στοιχεία διαφέρει ανάλογα με την ηλικία του ατόμου, το φύλο και την κατάσταση του. Συγκεκριμένα, παρατηρούνται διαφορές ανάμεσα σε άνδρες και γυναίκες κυρίως στις απαιτήσεις μαγνησίου, με τους άνδρες ηλικίας από 14 ετών έως και μεγαλύτερης των 70 ετών να λαμβάνουν μεγαλύτερη ποσότητα μαγνησίου συγκριτικά με γυναίκες του ίδιου ηλικιακού εύρους ενώ για τα υπόλοιπα μεταλλικά στοιχεία παρατηρούνται οι ίδιες συνιστώμενες δόσεις (Zamberlin et al., 2012). Επίσης, παρατηρείται πως οι απαιτήσεις στην πρόσληψη μαγνησίου για τις εγκύους διαφέρει σε σχέση με τις απαιτήσεις για όλα τα υπόλοιπα μέταλλα για τις ηλικίες 14-50 ετών (Zamberlin et al., 2012).

3.2 Δευτερεύοντα Συστατικά

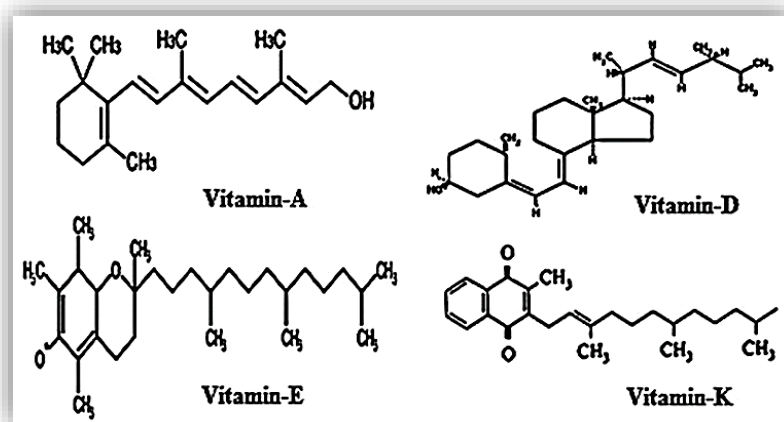
Η σύσταση του γάλακτος εκτός από τα βασικά συστατικά περιλαμβάνει και ένα πλήθος άλλων συστατικών με σημαντικές τεχνολογικές και διατροφικές ιδιότητες που χαρακτηρίζονται ως δευτερεύοντα. Τα συστατικά αυτά βρίσκονται σε πολύ μικρότερη συγκέντρωση από τα υπόλοιπα και είναι οι βιταμίνες και τα ένζυμα.

3.2.1 Βιταμίνες

Γενικώς, το γάλα αποτελείται από ένα σύνολο λιποδιαλυτών και υδατοδιαλυτών βιταμινών, οι οποίες κατανομούνται αναλόγως και η ποσότητες τους εξαρτώνται από την εποχή. Οι υδατοδιαλυτές βιταμίνες που περιέχονται στο γάλα είναι αυτές του συμπλέγματος Β και συγκεκριμένα οι Β1, Β2, Β3, Β5, Β6, Β12 καθώς και η βιταμίνη C και βρίσκονται στην υδατική φάση του γάλακτος (Pereira, 2014). Συγκεκριμένα, η βιταμίνη C ανιχνεύεται σε πολύ μικρό ποσοστό στο νωπό γάλα διότι αν το γάλα υποστεί κάποιου είδους θερμική επεξεργασία τότε η βιταμίνη αυτή οξειδώνεται και χάνεται. Αντίθετα, το σύνολο των λιποδιαλυτών βιταμινών περιέχεται στη λιπαρή φάση του γάλακτος και περιλαμβάνει τις βιταμίνες Α, D, Ε και Κ (Pereira, 2014).

- Οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β παίζουν καθοριστικό ρόλο σε διάφορες διεργασίες ως ενζυμικοί συμπαράγοντες.
- Η βιταμίνη Α ή αλλιώς ρετινόλη συμβάλλει στην ανάπτυξη, στην καλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, ενισχύει την ανάπτυξη των ιστών, προστατεύει την υγεία του δέρματος ενώ συμβάλλει και στην καλή λειτουργία των οφθαλμών (Pereira, 2014).
- Η βιταμίνη D, γνωστή αλλιώς και ως κοβαλαμίνη, έχει βρεθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην απορρόφηση του ασβεστίου και φωσφόρου από τον οργανισμό προστατεύοντας τελικά από την εμφάνιση οστεοπόρωσης. Ωστόσο, το γάλα δεν θεωρείται πλούσιο σε βιταμίνη D εκτός από την περίπτωση που μπορεί να είναι εμπλουτισμένο με τη βιταμίνη αυτή (Pereira, 2014).
- Η βιταμίνη Ε εμφανίζεται στο γάλα κυρίως με τη μορφή της α-τοκοφερόλης και σε μικρότερο ποσοστό βρίσκονται οι υπόλοιπες μορφές της. Βοηθά στην

προστασία των κυτταρικών μεμβρανών από το φαινόμενο της οξείδωσης, καθώς περιέχουν ένα υψηλό ποσοστό λιπαρών οξέων.



Εικόνα 3.9 Λιποδιαλυτές βιταμίνες στο γάλα (Pradeepkiran, 2019)

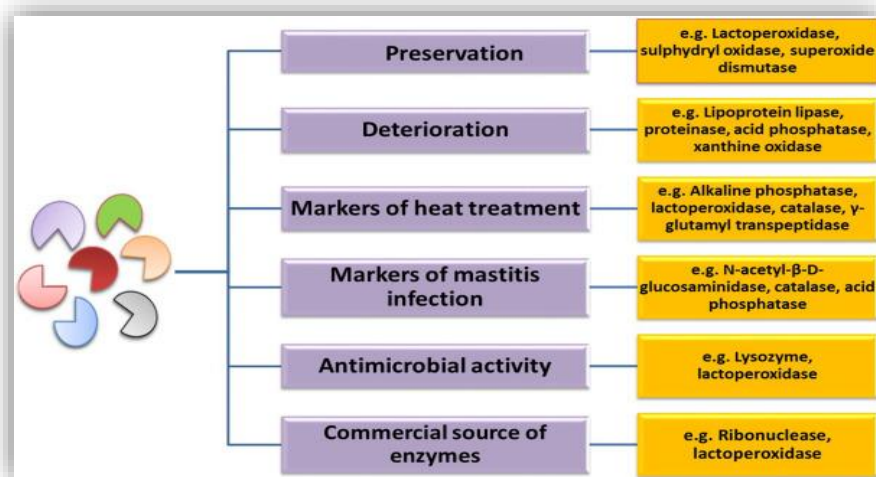
Η παρουσία των βιταμινών έχει ιδιαίτερη συμβολή στην κυριότερη αλλοίωση του γάλακτος που οφείλεται σε φαινόμενα οξείδωσης. Η οξείδωση που προκαλείται οδηγεί σε προβλήματα στην ποιότητα και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος. Το φαινόμενο της οξείδωσης οφείλεται στη δράση των ελεύθερων ριζών και επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό και από το φως. Μια ομάδα ενώσεων που εμφανίζει αυτή την αντιοξειδωτική δράση είναι τα καροτενοειδή. Είναι λιπόφιλα μόρια, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να βρίσκονται στη μεμβράνη των λιποσφαιριδίων και να τα προστατεύουν, καθώς η μεμβράνη είναι επιρρεπής στο φαινόμενο της οξείδωσης. Χαρακτηριστική ένωση της ομάδας των καροτενοειδών αποτελεί το β-καροτένιο, το οποίο έχει την ιδιότητα να απορροφά το φως αναστέλλοντας τη διαδικασία της φωτοοξείδωσης του γάλακτος (Khan et al., 2019).

Αντιοξειδωτική δράση εμφανίζουν και κάποιες από τις λιποδιαλυτές βιταμίνες, όπως η βιταμίνη E και A. Όσον αφορά τη βιταμίνη A, παρατηρείται πως το β-καροτένιο μετατρέπεται σε ρετινόλη στο κατσικίσιο γάλα με αποτέλεσμα η βιταμίνη A να βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό και η αντιοξειδωτική δράση της οφείλεται στη προστασία των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που ενδέχεται να υπόκεινται οξείδωση από τις ελεύθερες ρίζες. Αντιθέτως, στο αγελαδινό γάλα το β-καροτένιο δεν μετατρέπεται σε ρετινόλη και υπάρχει σε μεγάλο ποσοστό επηρεάζοντας ταυτόχρονα και το χρώμα του γάλακτος. Σχετικά με την αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης E, παρατηρείται ότι ο βασικός ρόλος της βιταμίνης αυτής είναι αφενός να προστατεύει τα

πολυακόρεστα λιπαρά οξέα από το φαινόμενο της υπεροξειδωσης και αφετέρου να αναστέλλει τη δραστηριότητα της πλασμίνης, ενός πρωτεολυτικού ενζύμου το οποίο διασπά την αs-καζεΐνη αλλά κυρίως την β-καζεΐνη σχηματίζοντας τις γ-καζεΐνες. Όλες οι ισομερείς μορφές της βιταμίνης E εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Η α-τοκοφερόλη βρίσκεται στην μεμβράνη των λιποσφαιριδίων και εμφανίζει την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση έναντι των ελεύθερων ριζών. Οι υπόλοιπες τρεις μορφές β, γ- και δ-τοκοφερόλη έχουν μικρότερη αντιοξειδωτική δράση συγκρινόμενες με την α-τοκοφερόλη (Khan et al., 2019).

3.2.2 Ένζυμα

Το γάλα περιέχει δύο βασικές κατηγορίες ενζύμων, τα εξωγενή και τα ενδογενή. Τα εξωγενή ένζυμα παράγονται από μικροοργανισμούς που τα εκκρίνουν και προστίθενται στο γάλα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του γάλακτος (Κεχαγιάς Χ., 2017). Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η πτυιά που χρησιμοποιείται κυρίως για την πήξη του γάλακτος, έτσι ώστε να παραχθεί τυρί. Ενδογενή ένζυμα υπάρχουν φυσικά στο γάλα είτε στον ορό του γάλακτος είτε συνδεδεμένα με τη μεμβράνη των λιποσφαιριδίων και τις μικέλλες της καζεΐνης (Κεχαγιάς Χ., 2017). Τα κυριότερα ενδογενή ένζυμα που εμφανίζονται στο γάλα προέρχονται κυρίως από το πλάσμα του αίματος, το μαστικό αδένια, τα σωματικά κύτταρα ή από μικροοργανισμούς που τα παράγουν ενδοκυτταρικά μετά το θάνατο τους και είναι η λακτοϋπεροξειδάση, οι φωσφατάσες, οι πρωτεΐνάσες, οι λιπάσες, η οξειδάση ξανθίνης και η καταλάση (Rajput, 2023). Τα περισσότερα από τα ένζυμα αυτά έχουν ποικίλες ιδιότητες στο γάλα και είναι υπεύθυνα για την αντιμικροβιακή δράση και τη συντήρηση του ενώ ταυτόχρονα μπορούν να οδηγήσουν και σε αλλοίωση του γάλακτος (Rajput, 2023). Επιπλέον, κάποια μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τη μορφή δεικτών για να δώσουν πληροφορίες για την επεξεργασία του γάλακτος για την παραγωγή προϊόντων γάλακτος (Rajput, 2023).



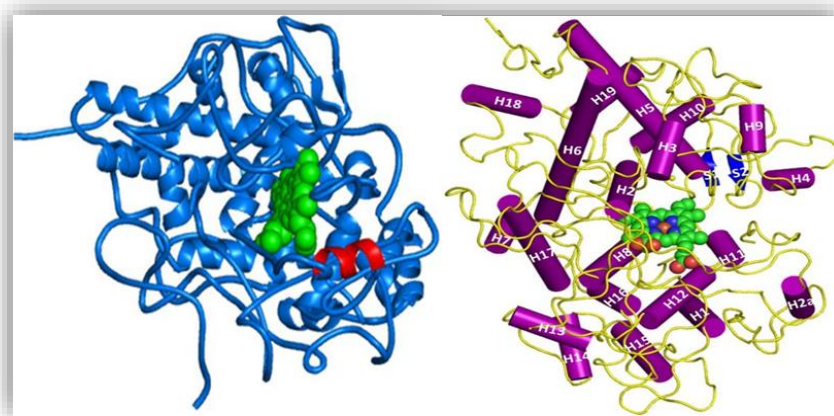
Εικόνα 3.10 Κατηγορίες ενδογενών ενζύμων και χαρακτηριστικές ιδιότητές τους στο γάλα (Rajput, 2023)

Τα ενδογενή ένζυμα που βρίσκονται στο γάλα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες της μόλυνσης από τη μαστίτιδα και της επίδρασης της θερμικής

επεξεργασίας ενώ δίνουν πληροφορίες για τη συντήρηση και την αντιμικροβιακή δράση του γάλακτος όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.10. Τα κυριότερα ένζυμα του γάλακτος αυτής της κατηγορίας παρουσιάζονται αναλυτικότερα όπως φαίνεται παρακάτω.

3.2.2.1 Λακτοϋπεροξειδάση

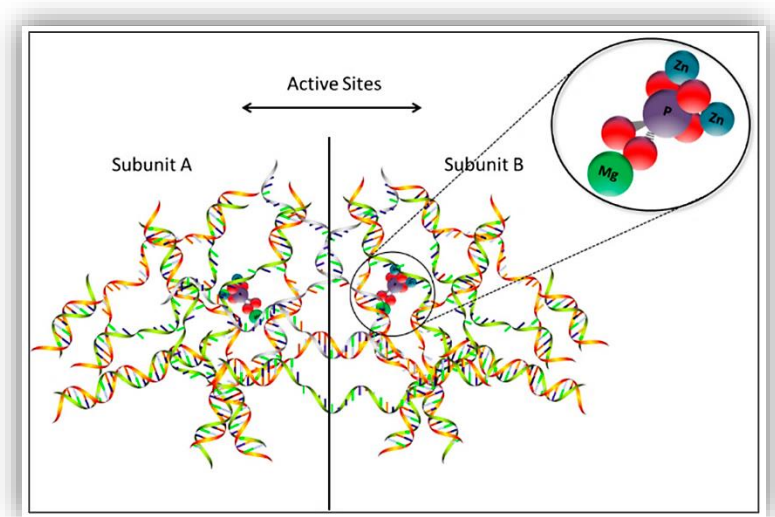
Είναι μια σφαιρική γλυκοπρωτεΐνη 595 αμινοξέων συνδεδεμένη με μια ομάδα αίμης στο κέντρο, η οποία συγκαταλέγεται μαζί με άλλα ένζυμα στην οικογένεια των ενζύμων υπεροξειδάσης και εμφανίζει αντιβακτηριδιακές ιδιότητες στο γάλα αναστέλλοντας την ανάπτυξη πολλών μικροοργανισμών, μεταξύ αυτών τα παθογόνα βακτήρια *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* και άλλες κατηγορίες παθογόνων μικροοργανισμών (Sharma et al., n.d.). Είναι ένα από τα ένζυμα που βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στο βόειο γάλα και συντίθεται στον μαστικό αδένα του ζώου. Χρησιμοποιείται για να ελεγχθεί η ένταση της θερμικής επεξεργασίας που έχει υποστεί το γάλα. Η λακτοϋπεροξειδάση με επίδραση θέρμανσης αδρανοποιείται περίπου σε θερμοκρασία 80°C για λίγα δευτερόλεπτα, δηλαδή σε θερμοκρασία μεγαλύτερη της παστερίωσης που πραγματοποιείται στους 72°C για 15sec. Αν δεν ανιχνευτεί λακτοϋπεροξειδάση στο γάλα μετά από θερμική επεξεργασία, σημαίνει πως έχει γίνει υπερπαστερίωση του γάλακτος και έχει καταστραφεί (Campbell and Drake, 2013).



Εικόνα 3.11 Απεικόνιση του μονομερούς της λακτοϋπεροξειδάσης (LPO) με την ομάδα της αίμης να διακρίνεται με πράσινο χρώμα (αριστερά) και της μοριακής δομής με τις α – έλικες (μωβ χρώμα) και τους β – κλώνους (μπλε βέλη) (δεξιά) (Sharma et al., n.d.)

3.2.2.2 Φωσφατάσες

Η κατηγορία αυτή των ενζύμων χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της επαρκούς παστερίωσης του γάλακτος και σημαντικότερη είναι η αλκαλική φωσφατάση. Η αλκαλική φωσφατάση παρουσιάζεται ως ένα διμερές ένζυμο, το οποίο έχει προκύψει από τη σύνδεση δύο όμοιων υπομονάδων και σε ένα σημείο υπάρχουν δύο ιόντα ψευδαργύρου και ένα μαγνησίου συνδεδεμένα με τα ανόργανα φωσφορικά (Balbaied and Moore, 2019). Έχει την ικανότητα να καταστρέφεται με θέρμανση κοντά στη θερμοκρασία παστερίωσης, δηλαδή στους 72°C για 15 sec, οπότε αν ανιχνευτεί στο γάλα που έχει υποστεί παστερίωση τότε σημαίνει πως έχει εφαρμοστεί ανεπαρκής παστερίωση (Κεχαγιάς Χ., 2017).



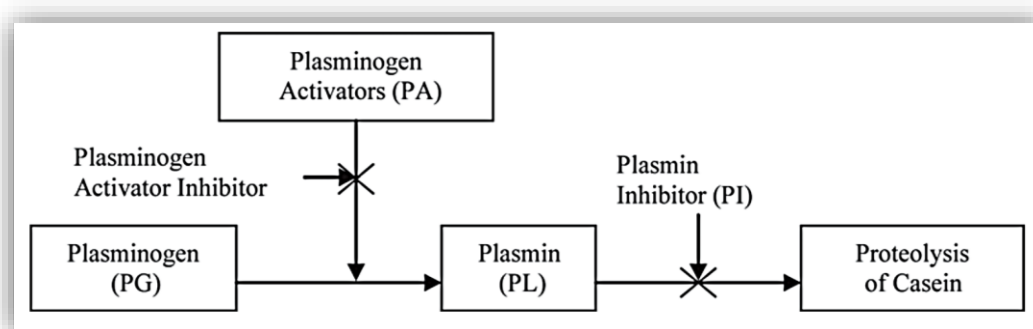
Εικόνα 3.12 Τρισδιάστατη δομή αλκαλικής φωσφατάσης αποτελούμενη από δύο μονομερή (A και B) με τα ανόργανα φωσφορικά και τα ιόντα μετάλλων (Balbaied and Moore, 2019)

3.2.2.3 Πρωτεΐνάσες

Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει είτε εγγενή ένζυμο είτε ενδογενή, τα οποία παράγονται από κάποια ψυχρότροφα βακτήρια. Στο γάλα εμφανίζονται δύο κύρια ένζυμα της κατηγορίας αυτής, η πλασμίνη και η καθεψίνη D (Campbell and Drake, 2013).

Πλασμίνη

Είναι ένα θερμοανθεκτικό πρωτεολυτικό ένζυμο και στο γάλα συνήθως εμφανίζεται με τη μορφή του πλασμινογόνου που καταλήγει στο γάλα μέσω του αίματος (Ismail and Nielsen, 2010). Κύριος ρόλος του είναι να διασπά τις α -καζεΐνες αλλά κυρίως τη β -καζεΐνη παράγοντας τελικά τις γ -καζεΐνες με βέλτιστη δραστηριότητα σε θερμοκρασία 37°C (Ismail and Nielsen, 2010). Η συγκέντρωση του ενζύμου εξαρτάται από τη διατροφή, τη γαλουχία των ζώων, την εποχή, το στρες και τη μαστίτιδα που μπορεί να εμφανίζει το ζώο. Η πλασμίνη συμβάλλει σημαντικά με τη δράση της στην οργανοληπτική ποιότητα των τυριών και στην πρωτεόλυση που πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης τους και ιδιαίτερα σε ποικιλίες που το τυρόπηγμα τους αναθερμαίνεται σε υψηλές θερμοκρασίες, όπως Mozzarella, Parmesan, Emmental και το ελληνικό κασέρι (Campbell and Drake, 2013).

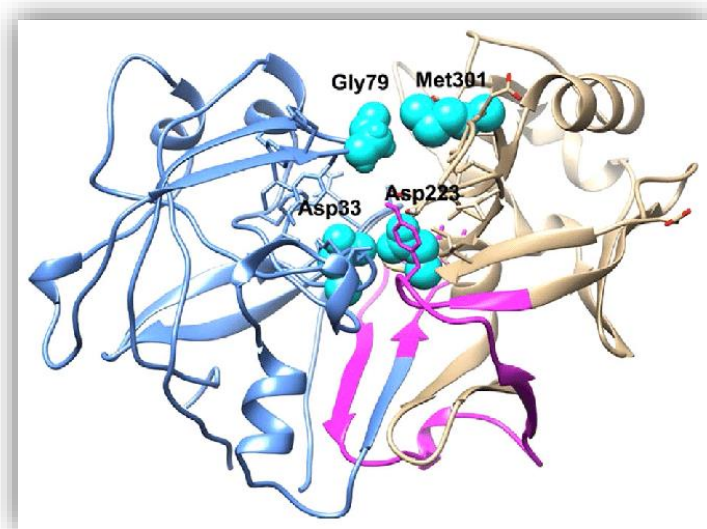


Εικόνα 3.13 Λειτουργία πλασμίνης στο γάλα (Ismail and Nielsen, 2010)

Καθεψίνη D

Το ένζυμο αυτό έχει ως βασικό ρόλο την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών α ₁-καζεΐνη, α ₂-καζεΐνη και κ -καζεΐνη στα λυσοσώματα (Campbell and Drake, 2013). Η διάσπαση αυτή των πρωτεϊνών ενδέχεται να επηρεάσει δυσμενώς την οργανοληπτική

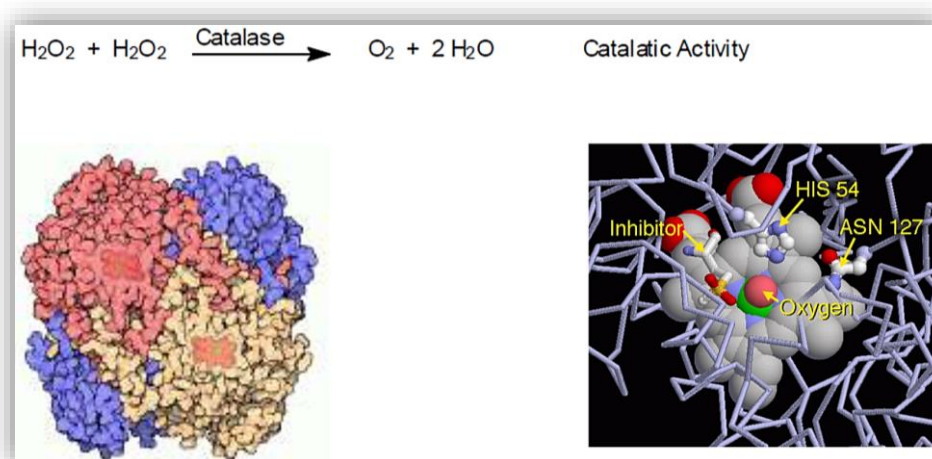
ποιότητα των γαλακτοκομικών προϊόντων δίνοντας πικρή γεύση. Γενικώς, είναι θερμοευαίσθητο και αδρανοποιείται όταν εφαρμοστεί θερμική επεξεργασία περίπου στους 70°C για 10 λεπτά (Campbell and Drake, 2013).



Εικόνα 3.14 Κρυσταλλική δομή καθεψινάσης – D στην οποία απεικονίζεται αριστερά με μπλε χρώμα η N – τερματική περιοχή, δεξιά με χρυσό χρώμα η C – τερματική περιοχή και τα δύο σημαντικά ασπαρτικά οξέα και τα υπολείμματα των άκρων (“Molecular Dynamics Simulations of Ligand-Induced Flap Conformational Changes in Cathepsin-D-A Comparative Study.nbib,” n.d.)

3.2.2.4 Καταλάση

Είναι ένα ένζυμο που αποτελείται από τέσσερις αλυσίδες στενά συνδεδεμένες μεταξύ τους και καταλύει την αποσύνθεση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) δίνοντας O_2 συνδεδεμένο με το ιόν σιδήρου και δύο μόρια H_2O (Mouri Ghosh, 2015). Είναι θερμοευαίσθητο ένζυμο και καταστρέφεται όταν εφαρμοστεί θέρμανση στους $65^\circ C$ για 16 sec. (Campbell and Drake, 2013). Στο γάλα μπορεί να λειτουργήσει και ως δείκτης μαστίτιδας αφού κατά την εμφάνιση του φαινομένου αυξάνεται η δραστηριότητά της που υποδεικνύει κακή υγεία του μαστού. Ωστόσο χρησιμοποιείται σπανιότερα συγκριτικά με τον αριθμό των σωματικών κυττάρων ή τον προσδιορισμό της N-ακετυλογλυκοζαμινιδάσης εφόσον η δράση της διαφέρει ως προς το στάδιο γαλουχίας των ζώων και τη διατροφή τους (Fox and Kelly, 2006).



Εικόνα 3.15 Δομή και λειτουργία του ενζύμου καταλάση που αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες και την ομάδα αίμης στο κέντρο συνδεδεμένη με το ιόν σιδήρου (Mouri Ghosh, 2015)

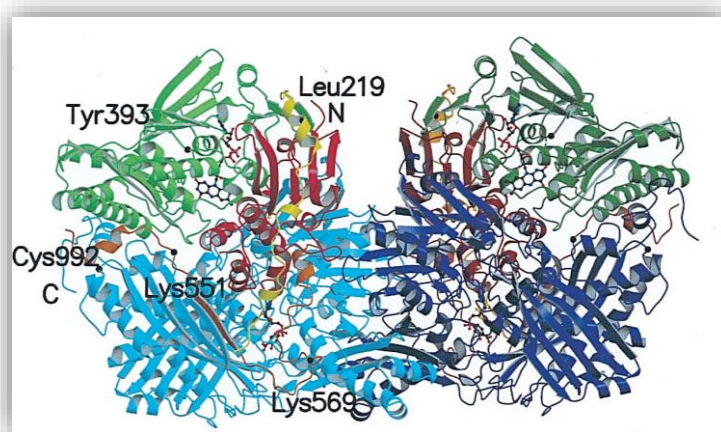
3.2.2.5 Λιπάσες και αμυλάσες

Οι λιπάσες χαρακτηρίζονται από την ικανότητα τους να προκαλούν υδρολυτική τάγγιση στο λίπος του γάλακτος με σημαντικότερο ένζυμο την λιποπρωτεϊνική λιπάση ενώ μπορούν να προκύψουν και ως προϊόντα ψυχρότροφων βακτηρίων κατά την αποθήκευση σε συνθήκες ψύξης. (Campbell and Drake, 2013; Fox and Kelly,

2006). Η λιποπρωτεϊνική λιπάση, συγκεκριμένα, είναι θερμοευαίσθητο ένζυμο, το οποίο απενεργοποιείται μερικώς σε θερμοκρασίες κοντά σε αυτές της παστερίωσης και μέσω της δράσης του συμβάλλει στην ωρίμανση των τυριών που παράγονται με γάλα που δεν έχει υποστεί παστερίωση. (Campbell and Drake, 2013; Fox and Kelly, 2006). Όσον αφορά τις αμυλάσες, το βασικότερο ένζυμο αυτής της κατηγορίας είναι η α -αμυλάση, η οποία έχει την ικανότητα να υδρολύει τους ολιγοσακχαρίτες διασπώντας τους α -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς μεταξύ των μορίων γλυκόζης. Ωστόσο, η δράση της α -αμυλάσης δεν είναι σαφής στο γάλα διότι δεν περιέχει άμυλο αλλά ολιγοσακχαρίτες.

3.2.2.6 Οξειδάση ή οξειδορεδοκτάση ξανθίνης

Κατατάσσεται στην κατηγορία των οξειδοαναγωγασών αφού καταλύει τις αντιδράσεις οξείδωσης και αναγωγής (Campbell and Drake, 2013; Fox and Kelly, 2006). Υπάρχει στο γάλα όλων των θηλαστικών αλλά στο αγελαδινό ανευρίσκεται στη μεμβράνη των λιποσφαιριδίων και εμφανίζει την μεγαλύτερη δραστηριότητα. Είναι θερμοευαίσθητη και απενεργοποιείται σε θερμοκρασία 72°C για 15 sec ενώ μπορεί να δράσει οξειδωτικά προκαλώντας οξειδωτική τάγγιση στο λίπος του γάλακτος και τελικά να υποβαθμιστεί η ποιότητα του (Κεχαγιάς X., 2017).



Εικόνα 3.16 Μοριακή δομή οξειδορεδοκτάσης ξανθίνης χωρισμένη σε τρεις περιοχές που ε-
νώνονται με δύο συνδετικούς βρόγχους κίτρινου και καφέ χρώματος αντίστοιχα (“Crystal
structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase Structure-based
mechanism of conversion.pdf,” n.d.)

3.3 Σύγκριση μεταξύ κατσικίσιου και αγελαδινού γάλακτος

3.3.1 Σύνθεση Γάλακτος

Τα δύο είδη γάλακτος αν και φαίνεται πως έχουν παρόμοια σύσταση εμφανίζουν μικρές διαφορές μεταξύ τους. Η συνήθης σύσταση του αγελαδινού γάλακτος που προκύπτει αμέσως μετά το άρμεγμα κατά φθίνουσα σειρά είναι 87,5% νερό και 12,5% ολικά στερεά συστατικά, των οποίων περίπου το 4,7% καταλαμβάνεται από υδατάνθρακες με τη μορφή λακτόζης, το 3,8% ανήκει σε λίπος και το 3,3% σε πρωτεΐνες (Κεχαγιάς Χ., 2017). Η τέφρα που προέρχεται από το αγελαδινό γάλα βρίσκεται περίπου σε ποσοστό 0,7%. Η διαφορά του κατσικίσιου με το αγελαδινό γάλα υπάγεται κυρίως στην περιεκτικότητα λίπους και πρωτεϊνών ενώ η περιεκτικότητα της λακτόζης κυμαίνεται σε μικρότερα ποσοστά από του αγελαδινού γάλακτος. Το κατσικίσιο γάλα περιέχει ολικά στερεά συστατικά κυρίως με τη μορφή πρωτεϊνών και λίπους που κυμαίνονται σε ποσοστά μεταξύ του πρόβειου και του αγελαδινού γάλακτος. Συγκεκριμένα, το ποσοστό των ολικών στερεών συστατικών είναι μεταξύ 13,0 – 16,0%, το λίπος 5,18%, η λακτόζη 4,74% και οι πρωτεΐνες 3,56%. Το ποσοστό της τέφρας ανέρχεται σε 0,8% (Κεχαγιάς Χ., 2017).

Composition (%)	Goat milk	Cow milk
Fat	3.8	3.6
Solid not fat (SNF)	8.9	9.0
Lactose	4.1	4.7
Protein	3.4	3.2
Casein	2.4	2.6
Non protein nitrogen	0.4	0.2
Ash	0.8	0.7
Calories/100ml	70	69

Εικόνα 3.17 Διαφορές σύνθεσης κατσικίσιου και αγελαδινού γάλακτος (Kumar et al., 2016)

Ειδικότερα, τα δύο είδη γάλακτος διαφέρουν ως προς το ποσοστό των πρωτεϊνών που ανήκουν στις δύο κύριες κατηγορίες πρωτεϊνών που περιέχονται στο γάλα. Στην κατηγορία των καζεϊνών παρατηρείται μια μεγαλύτερη διαφορά με το αγελαδινό γάλα να εμφανίζει μικρότερες ποσότητες από το σύνολο των πρωτεϊνών. Στην

κατηγορία των πρωτεϊνών του ορού φαίνεται συνολικά πως υπάρχει μικρή διαφορά μεταξύ των δύο ειδών γάλακτος με το αγελαδινό γάλα να υπερिशύει σε ποσότητα, εφόσον εμφανίζει μικρότερο ποσοστό α – γαλακτοαλβουμίνης και αλβουμίνης του ορού/λακτοφερίνης αλλά μεγαλύτερο β – λακτογλοβουλίνης.

Parameters	Cow	Buffalo	Sheep	Goat
TPC (g/L)	27.8	49.2	59.4	33.4
αS ₁ -casein (%)	37	90	33	99
αS ₂ -casein (%)	7	13	14	8.52
β-casein (%)	42	28	30	63
γ-casein (%)	6	22	9	18
κ- casein (%)	9	7	14	8

Εικόνα 3.18 Σύσταση καζεϊνών σε διάφορες πηγές γάλακτος (Khan et al., 2019)

Parameters	Cow Milk	Buffalo Milk	Sheep Milk	Goat Milk
Whey proteins (g/L)	6.46	6.46	10.76	6.14
β- Lactoglobulin (%)	59.3	59.3	61.1	54.2
α- lactalbumin (%)	16.2	16.2	10.8	21.4
Immunoglobulin's (%)	15.0	15.0	20.0	11.5
Serum albumin/lactoferrin (%)	9.5	9.5	8.1	12.8

Εικόνα 3.19 Σύσταση πρωτεϊνών ορού σε διάφορες πηγές γάλακτος (Khan et al., 2019)

Η περιεκτικότητα λίπους μεταξύ αγελαδινού και κατσικίσιου γάλακτος κυμαίνεται περίπου στα ίδια επίπεδα με εξαίρεση την υψηλή περιεκτικότητα του κατσικίσιου σε συγκεκριμένα λιπαρά οξέα μέσης ανθρακικής αλυσίδας, όπως το καπρικό και το καπρυλικό οξύ. Επιπλέον, περιέχει και κάποια διακλαδισμένα λιπαρά οξέα, όπως το 4-μεθυλο- και 4-αιθυλο-οκτανοϊκό οξύ (Prosser, 2021). Το κατσικίσιο γάλα περιέχει μικρή ποσότητα από το κορεσμένο στεατικό οξύ (C_{18:0}) και το μονοακόρεστο ελαϊκό οξύ (C_{18:1}) ενώ είναι πλούσιο σε λιπαρά οξέα βραχείας και μέτριας αλυσίδας από τέσσερα έως 18 άτομα άνθρακα (C₄-C₁₈), όπως τα κορεσμένα λιπαρά οξέα βουτυρικό οξύ, καπρυλικό, λαυρικό(C_{12:0}), καπροϊκό, παλμιτικό οξύ (C_{16:0}), μυριστικό (C_{14:0}), καθώς και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως το ω-3 λινολενικό οξύ (C_{18:2}) (Kumar et al., 2016).

Fatty acid	Goat milk	Cow milk
Butyric acid (C4:0)	0.13	0.11
Caproic acid (C6:0)	0.09	0.06
Caprylic acid (C8:0)	0.10	0.04
Capric acid (C10:0)	0.26	0.08
Lauric acid (C12:0)	0.12	0.09
Myristic acid (C14:0)	0.32	0.34
Palmitic acid (C16:0)	0.91	0.81
Stearic acid (C16:0)	0.44	0.40
Total medium chain triglycerides (C6-14)	0.89	0.61
Total saturated fatty acid (C4-18)	2.67	2.08
Palmitoleic acid (C16:1)	0.08	0.08
Oleic acid (C18:1)	0.98	0.84
Total mono-unsaturated fatty acid (C16:1-22:1)	1.11	0.96
Linoleic acid (C18:2)	0.11	0.08
Linolenic acid (C18:3)	0.04	0.05
Total Poly-unsaturated fatty acids (C18:2-18:3)	0.15	0.12

Εικόνα 3.20 Ποσότητες τριγλυκεριδίων (g/100g) σε κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα (Kumar et al., 2016)

Όσον αφορά τις βιταμίνες, το κατσικίσιο γάλα εμφανίζει μεγαλύτερες ποσότητες βιταμινών, όπως η βιταμίνη Α και οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β, όπως η βιταμίνη Β6 και η βιταμίνη Β2 γνωστή και ως ριβοφλαβίνη, που αποτελεί έναν ιδιαίτερο αυξητικό παράγοντα, σε αντίθεση με το αγελαδινό γάλα που παρουσιάζει μια αυξημένη ποσότητα βιταμίνης Β12. Επιπλέον, το κατσικίσιο γάλα εμφανίζει υψηλή περιεκτικότητα σε νιασίνη, ενώ το αγελαδινό γάλα σε φολικό οξύ (G et al., 2016; Prosser, 2021).

Vitamin	Goat milk	Cow milk
Vitamin A (IU)	185	126
Vitamin D (IU)	2.2	2.0
Thiamine (mg)	0.068	0.045
Riboflavin (mg)	0.21	0.16
Niacin (mg)	0.27	0.08
Pantothenic acid (mg)	0.31	0.32
Vitamin B ₆ (mg)	0.046	0.042
Folic acid (ug)	1.0	5.0
Biotin (ug)	1.5	2.0
Vitamin B ₁₂ (ug)	0.065	0.357
Vitamin C (mg)	1.29	0.94

Εικόνα 3.21 Ποσότητες βιταμινών σε κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα (Kumar et al., 2016)

Σχετικά με την περιεκτικότητα σε μέταλλα, το κατσικίσιο γάλα παρουσιάζει μια αυξημένη ποσότητα ασβεστίου, φωσφόρου, μαγνησίου, χλωρίου, σεληνίου και καλίου. Συγκεκριμένα, ένα λίτρο κατσικίσιου γάλακτος περιέχει περίπου 1,2g ασβεστίου. Ένα ποτήρι κατσικίσιου γάλακτος περιέχει ποσότητες 498,7 mg Κ και 121,5 mg Na

και ως εκ τούτου μπορεί να θεωρηθεί μια καλή πηγή καλίου βοηθώντας στη φυσιολογική αρτηριακή πίεση και στην καρδιακή λειτουργία. Επιπροσθέτως, το κατσικίσιο γάλα περιέχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα ψευδαργύρου συμβάλλοντας στην καλή λειτουργία του οργανισμού και βελτιώνοντας την όραση, και την υγεία του δέρματος.

Mineral (mg)	Goat milk	Cow milk
Ca	134	122
P	121	119
Mg	16	12
K	181	152
Na	41	58
Cl	150	100
S	28	32
Fe	0.07	0.08
Cu	0.05	0.06
Mn	0.032	0.02
Zn	0.56	0.53
Se	1.33	0.96

Εικόνα 3.22 Ποσότητες μεταλλικών στοιχείων (g/100g) σε κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα (Kumar et al., 2016)

3.3.2 Ευπεπτότητα

Το κατσικίσιο γάλα θεωρείται πως έχει αυξημένη πεπτικότητα συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα. Η καλύτερη ικανότητα πέψης του κατσικίσιου γάλακτος οφείλεται σε δύο βασικούς παράγοντες, το μέγεθος των λιποσφαιριδίων και την περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα. Σχετικά με το μέγεθος, έχει παρατηρηθεί ότι τα λιποσφαιρίδια που περιέχονται στο κατσικίσιο γάλα έχουν μικρότερο μέγεθος με τα αντίστοιχα του αγελαδινού γάλακτος, με αποτέλεσμα να μεταβολίζονται πολύ γρηγορότερα από τα αντίστοιχα του αγελαδινού, χωρίς όμως αυτός ο ισχυρισμός να έχει επιβεβαιωθεί (Prosser, 2021). Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα, η γρήγορη πέψη του κατσικίσιου γάλακτος έναντι του αγελαδινού οφείλεται στην παρουσία λιπαρών οξέων βραχείας και μέσης ανθρακικής αλυσίδας (C₆-C₁₄) (Ma et al., 2017). Τα λιπαρά αυτά οξέα που συνθέτουν τα τριγλυκερίδια έχουν την ικανότητα να μεταβολίζονται διαφορετικά από τα τριγλυκερίδια που περιέχουν λιπαρά οξέα μακράς ανθρακικής αλυσίδας όπως στην περίπτωση του αγελαδινού. Υδρολύονται ευκολότερα και τελικά απορροφώνται χωρίς επαναεστεροποίηση (Ceballos et al., 2009).

3.3.3 Διακριτή αλκαλικότητα και υψηλή ρυθμιστική ικανότητα

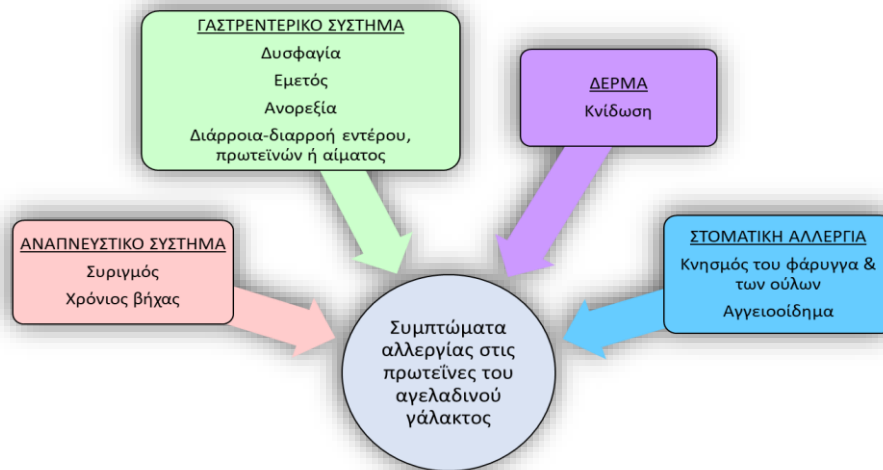
Το αγελαδινό γάλα είναι ελαφρώς όξινο. Αντιθέτως, το κατσικίσιο γάλα εμφανίζει μια αλκαλικότητα, η οποία οφείλεται κυρίως στην υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και τη διαφορετική διάταξη των φωσφορικών αλάτων. Ωστόσο και οι δύο συγκεκριμένες πηγές γάλακτος εμφανίζουν μια αυξημένη ρυθμιστική ικανότητα.

3.3.4 Επίδραση στην υγεία

Όσον αφορά τις ενδεχόμενες αλλεργίες που μπορεί να προκληθούν από την κατανάλωση γάλακτος, έχει παρατηρηθεί από μελέτες πως τόσο το αγελαδινό όσο και το κατσικίσιο γάλα περιέχουν ουσίες, οι οποίες μπορούν να λειτουργήσουν δυνητικά ως αλλεργιογόνες. Ωστόσο, η ιδιαιτερότητα που εμφανίζει το κατσικίσιο γάλα σε σχέση με το αγελαδινό δίνει τη δυνατότητα το γάλα αυτό να μπορεί να καταναλωθεί και από άτομα που δεν μπορούν να καταναλώσουν αγελαδινό γάλα. Αυτό το φαινόμενο ενδεχομένως να οφείλεται στο γεγονός ότι πολλά άτομα που καταναλώνουν αγελαδινό γάλα συνήθως εμφανίζουν αλλεργίες που προκαλούνται από τις πρωτεΐνες που περιέχει το συγκεκριμένο γάλα.

3.3.4.1 Αλλεργία στις πρωτεΐνες του γάλακτος

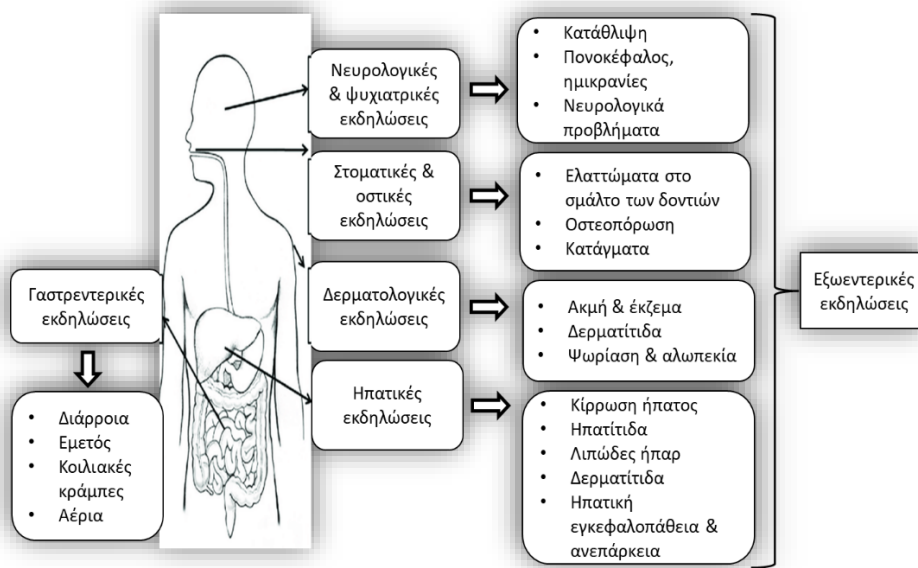
Συχνά οι αλλεργίες που προκαλούνται από το αγελαδινό γάλα αποτελούν μια ανοσολογική αντίδραση στις πρωτεΐνες του γάλακτος και συγκεκριμένα στην α_1 -καζεΐνη, στην α_2 -καζεΐνη, β -καζεΐνη, β -γαλακτογλοβουλίνη, α -γαλακτοαλβουμίνη καθώς και στην αλβουμίνη του ορού. Συγκεκριμένα, η β -γαλακτογλοβουλίνη ευθύνεται σε ποσοστό περίπου 66%, οι καζεΐνες σε 57% ενώ σε μικρότερο ποσοστό επηρεάζουν οι υπόλοιπες πρωτεΐνες του ορού. Η αντίδραση αυτή παρατηρείται συνήθως στα πρώτα στάδια της ζωής του ατόμου όταν εισάγεται το γάλα στη διατροφή του νεογνού ενώ παρατηρείται σπάνια σε μεγαλύτερη ηλικία. Τα συμπτώματα που παρουσιάζονται συνήθως είναι αναφυλαξία, αναπνευστικά επεισόδια, δερματικές αντιδράσεις ή ακόμη και γαστρεντερικά προβλήματα όπως διάρροια, εμετός ή αιματηρά κόπρανα (Pereira, 2014). Στα άτομα που παρατηρείται αλλεργία ως προς τις πρωτεΐνες συνίσταται η πλήρης αποφυγή όλων των γαλακτοκομικών προϊόντων αγελαδινού γάλακτος ενώ σε όσοι εμφανίζουν δυσανεξία στη λακτόζη συνήθως αποφεύγουν την κατανάλωση γάλακτος και μπορούν να στραφούν με μεγαλύτερη ασφάλεια στην κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων (Pereira, 2014).



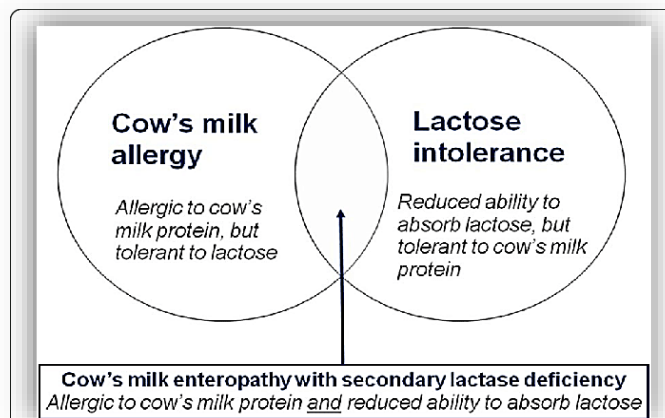
Εικόνα 3.23 Συμπτώματα οργανισμού στην αλλεργία στις πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (Altan et al., 2018)

3.3.4.2 Δυσανεξία στη λακτόζη

Το κατσικίσιο γάλα περιέχει λακτόζη σε ποσοστά χαμηλότερα από το αγελαδινό, τα οποία μπορεί να φτάνουν μέχρι και 7% και για αυτό το λόγο μπορεί να θεωρείται καταλληλότερο για αυτά τα άτομα χωρίς να έχει επιβεβαιωθεί ακόμα. Η δυσανεξία στη λακτόζη ορίζεται ως η κατάσταση ενός ατόμου κατά την οποία δεν μπορεί να μεταβολίσει τη λακτόζη. Σχετίζεται με την παρουσία του ενζύμου β-γαλακτοσιδάση και εμφανίζεται τόσο σε άτομα που παρουσιάζουν έλλειψη του ενζύμου β-γαλακτοσιδάση όσο και σε άτομα που έχουν το ένζυμο αλλά με χαμηλότερη δραστηριότητα. Η μειωμένη παραγωγή β-γαλακτοσιδάσης ή ακόμα και η ανεπάρκεια αυτής οδηγεί στη μη διάσπαση της λακτόζης στους μονοσακχαρίτες, με αποτέλεσμα να εισέρχεται στην αρχική της μορφή μέσα στο παχύ έντερο. Εκεί, η εντερική χλωρίδα που επικρατεί, προκαλεί ζύμωση στη συσσωρευμένη λακτόζη παράγοντας κυρίως οξικό, βουτυρικό και προπιονικό οξύ καθώς και διάφορα αέρια όπως, διοξείδιο του άνθρακα, μεθάνιο και υδρογόνο (Silva et al., 2020). Τα προβλήματα που εμφανίζονται με την κατανάλωση γάλακτος είναι κυρίως γαστρεντερικής φύσεως ως αποτέλεσμα της παραγωγής αερίων από τη ζύμωση της λακτόζης στο παχύ έντερο και περιλαμβάνουν συμπτώματα όπως διάρροια, εμετό, φούσκωμα, μετεωρισμό συνδυαζόμενα με ναυτία και κοιλιακές κράμπες (Pereira, 2014).



Εικόνα 3.24 Συμπτώματα της δυσανεξίας στη λακτόζη (Suri et al., 2019)



Εικόνα 3.25 Διάγραμμα συσχέτισης μεταξύ της δυσανεξίας της λακτόζης και της αλλεργίας στις πρωτεΐνες του αγελαδινού γάλακτος (Heine et al., 2017)

3.3.5 Διατροφικά οφέλη

Τα λιπαρά οξέα μέσης ανθρακικής αλυσίδας που βρίσκονται σε υψηλή συγκέντρωση στο κατσικίσιο γάλα εμφανίζουν σημαντικά οφέλη για την υγεία των καταναλωτών. Βοηθούν στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων εντερικών διαταραχών, στεφανιαίας νόσου, κακής απορρόφησης, πέτρας στη χολή, αναστέλλουν ή περιορίζουν την εναπόθεση χοληστερόλης και συμβάλλουν στην ανάπτυξη των βρεφών (G et al., 2016).

4 Νοθεία Γάλακτος

4.1 Ορισμός Νοθείας

Ο Νόμος αριθ. 4235/2014, άρθρο 1, παράγραφος 10 ορίζει ως νοθευμένα τρόφιμα:

10. Νοθευμένα τρόφιμα:
Τρόφιμα, στα οποία προστέθηκαν ύλες συνήθως ευτελέστερης αξίας για κερδοσκοπία ή για καλύτερη εμφάνιση των προϊόντων στην οποία δεν ανταποκρίνονται πραγματικά.

Εικόνα 4.1 Ορισμός νοθευμένων τροφίμων (“Νόμος 4235/2014”, 2014)

Γενικώς, νοθευμένα ορίζονται τα προϊόντα που περιέχουν ουσίες που δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται ή ουσίες που χρησιμοποιούνται σε ποσότητα μεγαλύτερη από εκείνη των επιτρεπόμενων ορίων. Αντιθέτως, ως μη νοθευμένα ορίζονται τα προϊόντα, των οποίων η σύσταση που αναγράφεται στη συσκευασία του προϊόντος αντιστοιχεί με την πραγματική σύσταση του χωρίς την προσθήκη άλλων ουσιών. Ο όρος νοθεία συσχετίζεται συχνά με την υποβάθμιση της ποιότητας των προϊόντων που τίθενται προς πώληση με αντικατάσταση ουσιών με άλλες κατώτερης ποιότητας ή με ανάμειξη με άλλα παρόμοια τρόφιμα κατώτερης ποιότητας ή ακόμα και με την απομάκρυνση σημαντικών συστατικών τους. Η νοθεία ενδέχεται να είναι είτε ακίνδυνη είτε επικίνδυνη για την υγεία των καταναλωτών και στην περίπτωση που είναι ακίνδυνη δεν προκαλεί προβλήματα στην υγεία αλλά μπορεί να ζημιώσει οικονομικά τους καταναλωτές.

Τα κύρια αίτια της νοθείας σε όλους τους τύπους των τροφίμων άρα και στο γάλα είναι η μείωση του κόστους του προϊόντος με αποτέλεσμα την αύξηση του κέρδους από την πλευρά των βιομηχανιών αλλά και η διαφοροποίηση μεταξύ της αυξημένης ζήτησης και της μειωμένης προσφοράς των προϊόντων (Nagraik et al., 2021). Επιπρόσθετα, αίτια είναι συνήθως η αυξημένη ανταγωνιστικότητα, η μη τήρηση των διαδικασιών κατά τη διακίνηση, την αποθήκευση και τη διάθεση των προϊόντων τροφίμων. Αίτιο νοθείας μπορεί επιπλέον να αποτελεί η απόκρυψη της προέλευσης του τροφίμου ή ακόμα και των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του

τρόφιμου, καθώς και η πώληση ληγμένων προϊόντων ή μη συμμορφούμενων με τη νομοθεσία (Nagraik et al., 2021). Νοθεία γάλακτος μπορεί να προκύψει και μη ηθελημένα εξαιτίας των ελαττωμάτων της πρώτης ύλης, της ευπαθούς φύσης του γάλακτος, της έλλειψης επίγνωσης και κατάλληλων μεθόδων ανίχνευσης (Nagraik et al., 2021).

4.2 Κατηγορίες Νοθείας

Υπάρχουν πολλοί τρόποι με τους οποίους μπορεί να γίνει η νοθεία στα τρόφιμα. Ως νοθευμένα μπορούν να χαρακτηριστούν τα προϊόντα που φέρουν οποιαδήποτε από τις παρακάτω περιπτώσεις νοθείας:

- Υποκατάσταση ή αντικατάσταση ενός συστατικού ή μέρους του τρόφιμου υψηλής αξίας με ένα συστατικό ή μέρος του προϊόντος με άλλο χαμηλότερης αξίας έτσι ώστε να μην μπορεί να αναγνωρισθεί η προέλευση ή η μέθοδος επεξεργασίας. Μπορεί να παρατηρηθεί ακόμη και αφαίρεση ενός βασικού ή αυθεντικού συστατικού ή συστατικού υψηλής διατροφικής αξίας από το προϊόν χωρίς την ενημέρωση των καταναλωτών.
- Αραίωση ή ανάμειξη συστατικών υψηλής αξίας με συστατικά χαμηλότερης αξίας (υγρών)
- Προσθήκη μη επιτρεπτών ουσιών στο προϊόν
- Απόκρυψη συστατικών ή ιδιοτήτων του προϊόντος ή παραποίηση στοιχείων
- Λανθασμένη επισήμανση του προϊόντος ή παρουσία ψευδών ισχυρισμών στη συσκευασία του προϊόντος
- Ψευδής δήλωση γεωγραφικής προέλευσης
- Μόλυνση από φυσικούς, χημικούς ή μικροβιολογικούς κινδύνους

4.3 Περιστατικά νοθείας γάλακτος παγκοσμίως

Περιστατικά νοθείας του γάλακτος αλλά και των γαλακτοκομικών προϊόντων παρατηρούνται όλο και περισσότερο τα τελευταία είκοσι χρόνια παγκοσμίως με κάποια από αυτά να εμφανίζουν ιδιαίτερα σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία των καταναλωτών και στην οικονομία των χωρών. Στον Πίνακα 4.1 παρουσιάζονται ενδεικτικά κάποια από τα μεγαλύτερα περιστατικά νοθείας του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων.

Πίνακας 4.1 Καταγεγραμμένα περιστατικά νοθείας παγκοσμίως σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα

Έτος	Χώρα	Περιστατικό νοθείας
2021	Ιταλία	Μη ύπαρξη σήμανσης στα τυριά
2012-2018	Πακιστάν	Νοθευμένο γάλα με διάφορες ουσίες
2012	Ινδία	Γάλα νοθευμένο με απορρυπαντικό, λίπος και ουρία
2008	Κίνα	Σκάνδαλο με μελαμίνη σε σκόνη βρεφικού γάλακτος και βρεφικά προϊόντα
1858	Νέα Υόρκη	Swill Milk

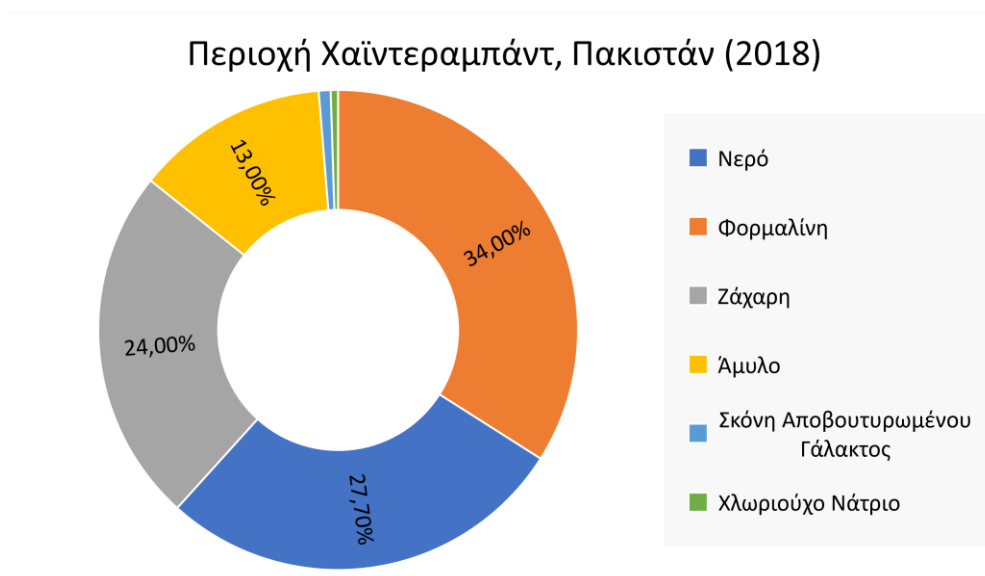
Από τα περιστατικά που αναφέρθηκαν στον Πίνακα 4.1 τρεις περιπτώσεις χαρακτηρίστηκαν ως σοβαρά διατροφικά σκάνδαλα αφού εμφάνισαν δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία ενώ ταυτόχρονα επηρεάστηκε και η οικονομία της εκάστοτε χώρας που εμφανίστηκαν όπως αναλύεται παρακάτω.

4.3.1 Νοθευμένο γάλα με διάφορες ουσίες σε περιοχές του Πακιστάν

Το Πακιστάν είναι η τέταρτη χώρα παγκοσμίως στην παραγωγή γάλακτος μετά τις Ηνωμένες Πολιτείες, τη Ρωσία και την Ινδία. Ωστόσο, το φαινόμενο της νοθείας του γάλακτος εμφανίζεται σε πολλές περιοχές του Πακιστάν κυρίως κατά τους καλοκαιρινούς μήνες καθώς το γάλα εμφανίζει μεγαλύτερη πιθανότητα αλλοίωσης (Shabir

Barham, 2014). Η πιο συχνή μέθοδος που εφαρμόζεται είναι η προσθήκη νερού με τη μορφή πάγου με σκοπό την αύξηση της φρεσκότητας του. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή αραιώνει το γάλα και οι μεσάζοντες για να το αντιμετωπίσουν προσθέτουν άλλες ουσίες με κυριότερες το άμυλο, αλεύρι, φυτικά έλαια, ζαχαροκάλαμο, σκόνη ορού γάλακτος ή αποβουτυρωμένου γάλακτος, για την αύξηση της συγκέντρωσης των στερεών συστατικών. Επιπλέον, προστίθενται ποσότητες απορρυπαντικού για να βελτιωθεί η αφριστική δράση του γάλακτος, η οποία εξασθενεί με τη προσθήκη νερού. Η χρήση του νερού όταν προέρχεται από μολυσμένες πηγές ενδέχεται να προκαλέσει υδατογενείς ασθένειες ενώ οι υπόλοιποι νοθευτές προκαλούν τροφική δηλητηρίαση, ναυτία, εμετό, αλλά και καρδιακές, ηπατικές και νεφρικές παθήσεις.

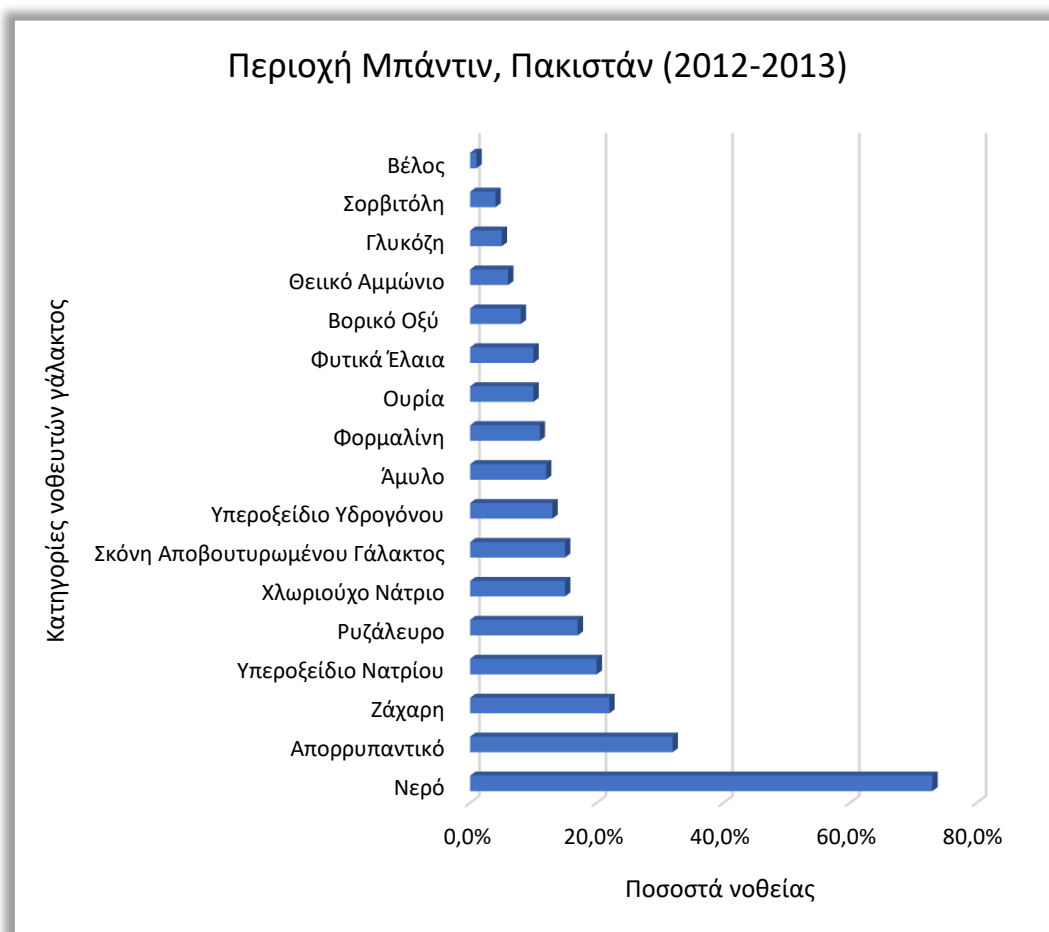
Σύμφωνα με έρευνα που διεξήχθη το 2018 στην περιοχή Χαϊντεραμπάντ, σε 100 δείγματα βουβαλίσσιου γάλακτος που εξετάστηκαν παρατηρήθηκε ότι όλα ήταν νοθευμένα. Συγκεκριμένα, όλα τα δείγματα περιείχαν νερό ενώ το 34% αυτών περιείχε φορμαλίνη, το 24% περιείχε ζάχαρη, το 13% άμυλο, το 0,8% αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη και το 0,5% χλωριούχο νάτριο (Memon et al., 2018).



Σχήμα 4.1 Ποσοστά νοθευτών σε 100 δείγματα βουβαλίσσιου γάλακτος στην περιοχή Χαϊντεραμπάντ (2018) (Memon et al., 2018)

Σύμφωνα με έρευνα που διεξήχθη το έτος 2012-2013 στην περιοχή Μπάντιν, εξετάστηκαν 80 δείγματα βουβαλίσσιου γάλακτος από διαφορετικά σημεία πώλησης γάλακτος, δηλαδή από παραγωγούς, συλλέκτες, πωλητές και καταστήματα γαλακτοκομικών. Παρατηρήθηκε ότι κύριο συστατικό νοθείας ήταν το νερό αλλά δεν καταγράφηκαν άλλοι νοθευτές (Soomro et al., n.d.). Σε μια άλλη έρευνα που διεξήχθη στην ίδια

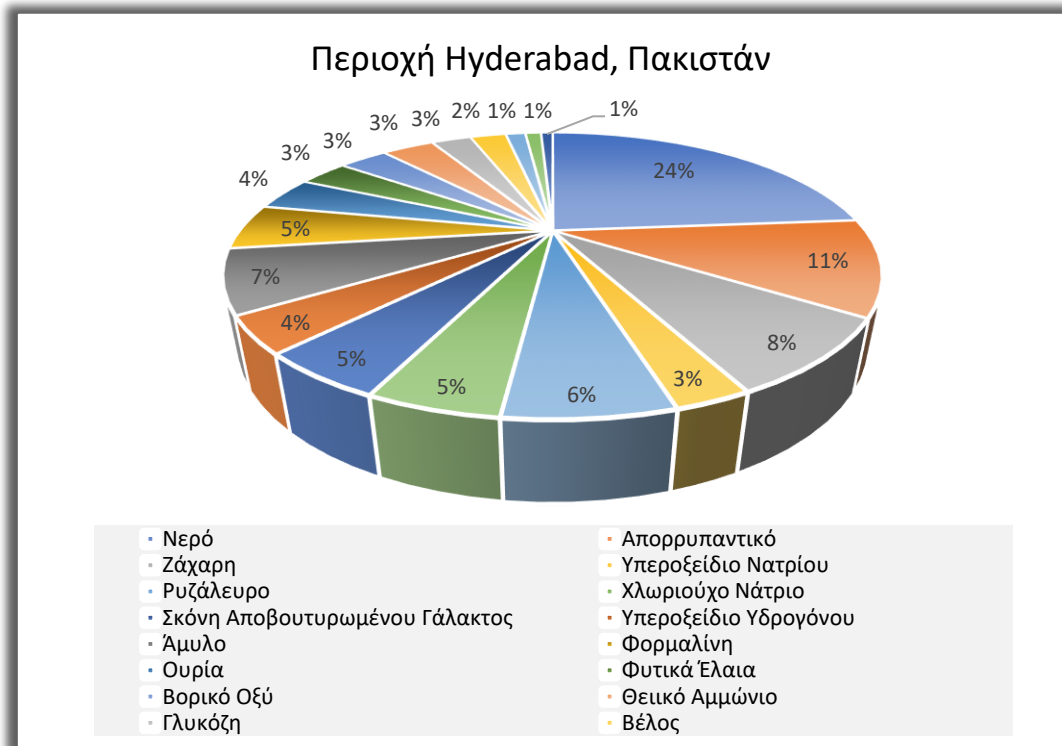
περιοχή , εξετάστηκαν 100 δείγματα μη επεξεργασμένου γάλακτος από παραγωγούς, συλλέκτες, μεσάζοντες, μεταποιητές και βιομηχανίες παραγωγής γάλακτος. Στα δείγματα εντοπίστηκε το νερό ως κύριο συστατικό νοθείας σε ποσοστό περίπου 73% και ακολούθως απορρυπαντικό σε 32%, ζάχαρη σε 22%, υπεροξείδιο του νατρίου σε 20%, ρυζάλευρο σε 17%, χλωριούχο νάτριο σε 15%, σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος σε 15%, υπεροξείδιο υδρογόνου σε 13%, άμυλο σε 12%, φορμαλίνη σε 11%, ουρία και φυτικά έλαια σε 10% το κάθε ένα, βορικό οξύ σε 8%, θειικό αμμώνιο σε 6%, γλυκόζη σε 5%, σορβιτόλη 4%, βέλος 1% (Department of Animal Products Technology et al., 2014). Ωστόσο, δεν ανιχνεύτηκε σαλικυλικό οξύ και υποχλωριώδες (Department of Animal Products Technology et al., 2014).



Σχήμα 4.2 Ποσοστά νοθευτών σε 100 δείγματα μη επεξεργασμένου γάλακτος στην περιοχή Μπάντιν

Σε παρόμοια έρευνα στη περιοχή του Hyderabad της Sindh ελήφθησαν 100 δείγματα μη επεξεργασμένου γάλακτος και μετά από έλεγχο βρέθηκε ως κύριος νοθευτής το νερό σε ποσοστό 90% (Department of Animal Products Technology et al., 2014).

Ακολουθως, εντοπίστηκε απορρυπαντικό σε ποσοστό 41%, ζάχαρη σε 31%, άμυλο σε 27%, ρυζάλευρο σε 24%, φορμαλίνη σε 20%, χλωριούχο νάτριο σε 19%, σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος σε 19%, ουρία και υπεροξειδίο του υδρογόνου σε 15% το καθένα, θειικό αμμώνιο σε 13%, φυτικό έλαιο και βορικό οξύ σε 12%, καυστική σόδα σε 11%, γλυκόζη σε 10%, βελόνα σε 9%, υποχλωριώδες σε 5%, σαλικυλικό οξύ σε 4% και σορβιτόλη σε 3% . (Department of Animal Products Technology et al., 2014).



Σχήμα 4.3 Ποσοστά νοθευτών σε 100 δείγματα μη επεξεργασμένου γάλακτος στην περιοχή Hyderabad, Sindh

4.3.2 Κινέζικο σκάνδαλο με μελαμίνη σε βρεφικό γάλα

Το διατροφικό σκάνδαλο προσθήκης μελαμίνης σε σκόνη βρεφικού γάλακτος εκδηλώθηκε τον Σεπτέμβριο του 2008 επηρεάζοντας την υγεία πολλών βρεφών και προκαλώντας οικονομική καταστροφή σε αγρότες και επιχειρήσεις παραγωγής γάλακτος της Κίνας. Η προσθήκη μελαμίνης είχε προηγουμένως παρατηρηθεί και σε άλλες κατηγορίες προϊόντων, όπως προϊόντα δημητριακών, κέικ, μπισκότα, καταψυγμένα προϊόντα ακόμα και οδοντόκρεμες και ζωοτροφές (Gossner et al., 2009). Η συγκεκριμένη μέθοδος νοθείας προέκυψε με σκοπό να αυξηθεί η παραγωγή με όσο το δυνατόν χαμηλότερο κόστος αλλά και να καλυφθεί η απαιτούμενη περιεκτικότητα πρωτεΐνης σύμφωνα με τα πρότυπα που είχε ορίσει η κυβέρνηση της Κίνας για τα βρεφικά γάλατα (Yang et al., 2009). Όσα γάλατα εντοπίστηκαν αρχικά βρέθηκε ότι παράγονταν από την εταιρεία Sanlu Dairy Company στη βόρεια Κίνα, ενώ μετά από περαιτέρω ελέγχους παρατηρήθηκε ότι η αντίστοιχη νοθεία υπήρξε και σε άλλες 22 επιχειρήσεις παραγωγής γαλακτοκομικών προϊόντων (Xiu and Klein, 2010a). Έτσι, σε πρώτη φάση οι κινεζικές αρχές συγκέντρωσαν περισσότερους από 2000 τόνους σκόνης γάλακτος από μια αποθήκη της επιχείρησης, οι οποίοι μετά από έλεγχο βρέθηκε ότι περιείχαν τη συγκεκριμένη ουσία σε ποσοστό 2,563 mg/kg (Gossner et al., 2009). Έπειτα, ελέγχθηκε μια δεύτερη σειρά δειγμάτων της εταιρείας και εντοπίστηκε στα δείγματα ποσότητα μελαμίνης 6,197 mg/kg, η οποία είναι αρκετά υψηλότερη από την αντίστοιχη ποσότητα μελαμίνης σε ίδια δείγματα γάλακτος που είχε ορίσει ο FDA.

Το διατροφικό αυτό σκάνδαλο είχε εξαιρετικά καταστροφικές συνέπειες για την υγεία των καταναλωτών, τη βιωσιμότητα των επιχειρήσεων που δημιούργησαν τη νοθεία αλλά τελικά και για την οικονομία της χώρας. Αναφορικά με τα προβλήματα υγείας, βρέφη και παιδιά ηλικίας κάτω των 3 με 4 ετών που κατανάλωσαν τη συγκεκριμένη σκόνη γάλακτος εμφάνισαν μέσα σε 3 με 6 μήνες προβλήματα υγείας, με περίπου 294.000 παιδιά να εμφανίσουν πέτρες στα νεφρά ή νεφρική ανεπάρκεια ενώ 6 βρέφη οδηγήθηκαν στο θάνατο (Maleki et al., 2018; Yang et al., 2009).



Εικόνα 4.2 Κατανάλωση μολυσμένου γάλακτος από βρέφη και μικρά παιδιά
<https://www.csmonitor.com/World/Asia-Pacific/2008/0917/p01s03-woap.html>

Όσον αφορά τις επιχειρήσεις και την οικονομία, η κυβέρνηση επέβαλλε μεγάλα πρόστιμα και σε κάποιες περιπτώσεις μέχρι και φυλάκιση στους υπαίτιους (Xiu and Klein, 2010b). Επιπρόσθετα, υπήρξε σημαντική μείωση στις εξαγωγές γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων ενώ οι χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και οι ΗΠΑ απαγόρευσαν την εισαγωγή τους και εξέδωσαν προειδοποίηση και για άλλες κατηγορίες τροφίμων της ίδιας χώρας που είχε παρατηρηθεί παρουσία μελαμίνης (Yang et al., 2009). Η κινεζική κυβέρνηση για να μπορέσει να αντιμετωπίσει τις συνέπειες και ταυτόχρονα να εξαλείψει το παραπάνω φαινόμενο προχώρησε σε κάποια συγκεκριμένα μέτρα. Αρχικά, συνέταξε ιατρικές ομάδες σε συνεργασία με ιατρικά ιδρύματα και παρείχε δωρεάν διάγνωση και περίθαλψη σε όσα βρέφη και παιδιά μικρής ηλικίας κατανάλωσαν το συγκεκριμένο γάλα. Με τη σειρά της η Γενική Διοίκηση Ποιότητας, Εποπτείας, Επιθεώρησης και Καραντίνας (AQSIQ) ανέλαβε να συλλέξει και να ελέγξει σε συνεργασία με μια ομάδα έρευνας από μέλη του Υπουργείου Υγείας της Κίνας όλες τις μάρκες σκόνης γάλακτος που κυκλοφορούσαν στην κινεζική αγορά για να βρεθεί ποιες επιχειρήσεις είχαν χρησιμοποιήσει μελαμίνη και σε τι ποσότητα και να αναλυθούν τα αίτια αυτής της νοθείας (“Dairy goods’ exports see massive fall.pdf,” n.d.).

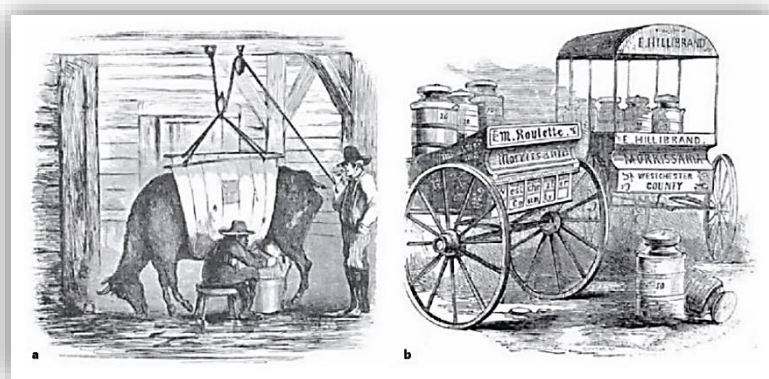


Εικόνα 4.3 Έλεγχος βρεφικής σκόνης γάλακτος διάφορων γαλακτοβιομηχανιών από την κινεζική κυβέρνηση <https://www.csmonitor.com/World/Asia-Pacific/2008/0917/p01s03-woap.html> (αριστερά) και εικόνα της αγοράς μετά από εντοπισμό γάλακτος μολυσμένου με μελαμίνη (δεξιά)

Με βάση τα αποτελέσματα των ελέγχων δημιουργήθηκε ένα καινούριο πρότυπο ποιότητας και ασφάλειας από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), το οποίο όριζε ως ανώτατη ποσότητα μελαμίνης το 1 mg/kg στο νωπό γάλα και τα 2,5 mg/kg σε σκόνη γάλακτος, (Maleki et al., 2018) ενώ όσες γαλακτοβιομηχανίες χρησιμοποιούσαν μελαμίνη εντός των συγκεκριμένων ορίων έπρεπε να φέρουν ειδικό σήμα στις συσκευασίες (Xiu and Klein, 2010b). Ωστόσο, παρατηρήθηκε πως ακόμα και μετά από τη θέσπιση του νέου πρότυπου ασφάλειας των τροφίμων υπήρξαν παρόμοια φαινόμενα νοθείας γάλακτος με χαρακτηριστικό παράδειγμα την επιχείρηση Tiantian Dairy, που προώθησε στην αγορά 170 τόνους γάλακτος νοθευμένα με μελαμίνη (Xiu and Klein, 2010b).

4.3.3 Swill Milk

Το σκάνδαλο Swill milk ξέσπασε στη Νέα Υόρκη κατά τη δεκαετία του 1850 και αφορούσε ποσότητες νοθευμένου νωπού γάλακτος με διάφορα συστατικά. Συγκεκριμένα, η νοθεία αυτή προκάλεσε θάνατο σε περίπου 8000 βρέφη μέσα σε ένα έτος σύμφωνα με τους New York Times (Nagraik et al., 2021). Το γάλα προήλθε από αγελάδες που ζούσαν σε άθλιες συνθήκες και δεν τρέφονταν σωστά. Βρίσκονταν σε στάβλους δίπλα από αποστακτήρια ούισκι, λόγω της μαζικής παραγωγής οινοπνευματωδών ποτών που ήταν ιδιαίτερος διαδεδομένη με τη χρήση αποστακτηρών στήλης (Obladen, 2014), εγκλωβίζονταν σε στενούς πάγκους, δένονταν και παρέμεναν όρθιες πάνω στα ίδια τους τα απόβλητα ενώ έπασχαν συχνά από ασθένειες. Σχετικά με τη τροφή τους, ήταν ένα ζεστός χυλός από τα απορρίμματα των αποστακτηριών ως παραπροϊόν της παραγωγής ούισκι (Obladen, 2014) και είχε ως αποτέλεσμα να έχουν σάπια δόντια, οι ουρές τους να πέφτουν και οι μαστοί τους καλύπτονταν με έλκη, γεγονός που έδινε γάλα με δυσάρεστη εμφάνιση και γεύση (Nagraik et al., 2021). Για την αντιμετώπιση των παραπάνω λόγων, οι βιομηχανίες γάλακτος πρόσθεταν νερό και αλεύρι στο γάλα για να αυξηθεί ο όγκος και να γίνει πήξη του γάλακτος αντίστοιχα (Nagraik et al., 2021). Επιπλέον, νοθευόταν και με σάπια αυγά, καμένη ζάχαρη, ενώ ακόμα χρησιμοποιήθηκε γύψος και μελάσα για να αλλάξει το χρώμα του (Obladen, 2014). Τελικώς, το γάλα που προέκυπτε, έβγαινε στην αγορά ως pure country milk ή Orange County Milk. Εξαιτίας της θνησιμότητας που εμφανίστηκε οι βιομηχανίες υποχρεώθηκαν να παράγουν «καθαρότερο» γάλα, ενώ μισό αιώνα μετά το σκάνδαλο αυτό θεμελιώθηκαν νέοι νόμοι σχετικά με την ασφάλεια τροφίμων δίνοντας ιδιαίτερη σημασία στις μεθόδους συντήρησης.



Εικόνα 4.4 Φωτογραφίες από το Frank Leslie's Illustrated Newspaper, 1858(Obladen, 2014)

5 Μέθοδοι νοθείας γάλακτος και τεχνικές ανίχνευσης τους

5.1 Μέθοδοι νοθείας γάλακτος

Το φαινόμενο της νοθείας του γάλακτος είναι ολοένα και αυξανόμενο τις τελευταίες δεκαετίες παγκοσμίως εξαιτίας των ελλειπών μέτρων παρακολούθησης και ελέγχων για την αποτροπή της και εμφανίζεται τόσο σε υποανάπτυκτες όσο και σε αναπτυσσόμενες χώρες (Nagraik et al., 2021; Reddy et al., n.d.). Οι συνηθέστερες πρακτικές νοθείας του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων ανήκουν στην κατηγορία της προσθήκης ή αφαίρεσης ουσιών στην πρώτη ύλη και της ανάμειξης ή αντικατάστασης ενός ή περισσότερων συστατικών με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η σύσταση και η τελική ποιότητα του γάλακτος.

5.1.1 Αφαίρεση ή αντικατάσταση ενός ή περισσότερων συστατικών

Όσον αφορά την αφαίρεση ή την αντικατάσταση συστατικών, συνήθως στο γάλα αφαιρούνται κάποια από τα βασικά συστατικά που περιέχονται σε αυτό σε μικρές ποσότητες ή εξ ολοκλήρου χωρίς να γίνεται ενημέρωση των καταναλωτών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα συστατικού που αφαιρείται ή αντικαθίσταται συχνότερα στο γάλα είναι το λίπος. Στην πρώτη περίπτωση το λίπος αφαιρείται χωρίς να αναγράφεται πάνω στο προϊόν με ειδική σήμανση ή να πωλείται ως ημιαποβουτυρωμένο ή αποβουτυρωμένο γάλα. Στην περίπτωση της αντικατάστασης, το λίπος αντικαθίσταται με άλλα λίπη χαμηλότερης αξίας, τα οποία μπορεί να είναι φυτικής ή ζωικής προέλευσης.

5.1.2 Ανάμειξη γάλακτος με γάλα άλλων ειδών

Η ανάμειξη γάλακτος με αντίστοιχο γάλα άλλων πηγών βασίζεται στην ανάμειξη ποσότητας γάλακτος χαμηλότερης αξίας ή σκόνης γάλακτος με πρώτη ύλη υψηλότερης αξίας. Χαρακτηριστικό παράδειγμα για την ανάμειξη με γάλα χαμηλότερης αξίας είναι η χρήση αγελαδινού γάλακτος σε κατσίκισιο, πρόβειο, αιγοπρόβειο ή βουβαλίσιο γάλα

με κυριότερο στόχο την αύξηση του κέρδους (Reddy et al., n.d.). Αυτά τα είδη γάλακτος διαφέρουν κυρίως στο χρώμα αλλά και στη σύνθεση τους σε σχέση με το αγελαδινό γάλα ωστόσο σε σχετικά μικρές ποσότητες ανάμειξης δεν μπορεί να διακριθεί η νοθεία. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων. Η περίπτωση όμως της ανάμειξης φρέσκου γάλακτος με σκόνη γάλακτος γίνεται κυρίως όταν η χώρα που παράγεται το γάλα παράγει περισσότερη ποσότητα σκόνης γάλακτος.

5.1.3 Προσθήκη συστατικών

Στη συγκεκριμένη μέθοδο νοθείας γίνεται προσθήκη διάφορων ανεπιθύμητων ουσιών, οι οποίες σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να επηρεάσουν την υγεία των καταναλωτών σε μικρό ή μεγαλύτερο βαθμό ή σε συγκεκριμένες περιπτώσεις ουσιών μπορεί να οδηγήσουν και σε θάνατο. Τέτοιες ουσίες είναι το νερό, το αλάτι, η ζάχαρη, το άμυλο, το χλώριο, η πρωτεΐνη ορού γάλακτος, τα φυτοφάρμακα, τα αντιβιοτικά, τα απορρυπαντικά, το σαλικυλικό οξύ, ενώ ως πιο επικίνδυνες ουσίες μπορούν να χαρακτηριστούν η μελαμίνη, η ουρία, η φορμαλίνη, το υδροξείδιο του νατρίου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το θειϊκό αμμώνιο και τα ανθρακικά και διττανθρακικά άλατα (Nagraik et al., 2021).

5.1.3.1 Συχνότερα προστιθέμενες ουσίες

Νερό

Ο πιο συχνός νοθευτής του γάλακτος στην κατηγορία των προστιθέμενων ουσιών είναι το νερό με τις βιομηχανίες να το επιλέγουν λόγω του χαμηλού κόστους του και της ευκολίας νόθευσης της πρώτης ύλης σε σχέση με άλλες ουσίες (Reddy et al., n.d.). Η κυριότερη λειτουργία του είναι η αύξηση του όγκου του τελικού προϊόντος με αποτέλεσμα να μειώνει τη θρεπτική αξία του γάλακτος αλλά χωρίς να επηρεάζει σημαντικά την υγεία των καταναλωτών όταν είναι απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς και άλλες μολύνσεις (Reddy et al., n.d.).

Ουρία

Η ουρία αποτελεί μια από τις σημαντικότερες ουσίες που συνήθως προστίθενται στο γάλα, αφού εξυπηρετεί πολλαπλές λειτουργίες, όμως η κατανάλωση της συνδέεται με μια σημαντική πληθώρα κινδύνων για την υγεία. Η ουρία έχει την ικανότητα να αυξάνει την περιεκτικότητα του γάλακτος σε άζωτο λόγω της σύστασης της βελτιώνοντας ταυτόχρονα και τη συνοχή του (Reddy et al., n.d.). Επιπλέον, δίνει ένα λευκότερο χρώμα στο γάλα που τις περισσότερες φορές συμβάλλει στην παραπλάνηση των καταναλωτών ως προς το είδος του γάλακτος (Reddy et al., n.d.). Αναφορικά με τους κινδύνους για την υγεία από την κατανάλωση γάλακτος με υψηλή περιεκτικότητα ουρίας, έχουν καταγραφεί προβλήματα σε αρκετά όργανα με σημαντικότερα την καρδιά, το συκώτι και τα νεφρά λόγω του μεγαλύτερου χρονικού διαστήματος που απαιτείται για το φιλτράρισμα και την απομάκρυνση της συγκεκριμένης ουσίας από τον οργανισμό οδηγώντας τελικά σε προβλήματα στη λειτουργία τους ή σε νεφρική ανεπάρκεια (“ESTIMATION OF QUALITY OF RAW MILK (OPEN & BRANDED) BY MILK ADULTERATION TESTING KIT (2012).pdf,” n.d.). Επιπρόσθετα, μπορεί να εμφανιστούν διαταραχές στο γαστρεντερικό σύστημα ενώ ενδέχεται να συμβάλλει και στην εμφάνιση διάφορων ειδών καρκίνου. Η μέγιστη επιτρεπτή ποσότητα ουρίας ως φυσικό συστατικό του νωπού γάλακτος σύμφωνα με την Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων και Προτύπων της Ινδίας (FSSAI) στο γάλα ορίζεται στα 70 mg/100mL.

Μελαμίνη

Η μελαμίνη εκτός από τη χρήση της στην βιομηχανία παραγωγής πλαστικών υλικών αποτελεί και τη δεύτερη ένωση που παρατηρείται στο γάλα μετά από το νερό, καθώς χαρακτηρίζεται από μια μεγάλη περιεκτικότητα αζώτου (Liu et al., 2012). Στο γάλα η διάκριση της με συμβατικές μεθόδους, όπως η Dumas ή η Kjeldahl δεν γίνεται εύκολα, καθώς η περιεκτικότητα αζώτου πλησιάζει το 66% w/w με αποτέλεσμα να δίνεται εσφαλμένη ένδειξη υψηλής περιεκτικότητας του γάλακτος σε πρωτεΐνη (“Erratum to The melamine adulteration scandal.pdf,” n.d.). Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ έχει ορίσει τη μέγιστη περιεκτικότητα της μελαμίνης στο γάλα και γενικότερα σε άλλα είδη διατροφής μετά από το σκάνδαλο της νοθείας γάλακτος με μελαμίνη στην Κίνα το 2008 στα 50 ppb, καθώς σε υψηλότερη συγκέντρωση δημιουργεί νεφρική ανεπάρκεια στον άνθρωπο και μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο των βρεφών (Khan et al., 2015).

5.1.3.2 Άλλες προστιθέμενες ουσίες

Η προσθήκη άλλων νοθευτών μπορεί να γίνει για τη βελτίωση της διάρκειας ζωής του γάλακτος, για την καταπολέμηση των μικροοργανισμών, για τη βελτίωση του χρώματος και της σύνθεσης ή μπορεί να καταλήγουν στο γάλα μέσα από τη διαδικασία της άλμεξης. Κάποιες από αυτές δεν προκαλούν δυσμενείς επιδράσεις στον άνθρωπο ενώ άλλες οδηγούν σε σοβαρότερα συμπτώματα. Από τις πιο ήπιες σε συμπτώματα ενώσεις που χρησιμοποιούνται είναι τα απορρυπαντικά, τα οποία αποτελούν ένα σύνολο ουσιών που συμβάλλουν στη γαλακτωματοποίηση του λίπους στο γάλα δίνοντας επιθυμητά και μη χαρακτηριστικά στο γάλα, όπως το λευκό χρώμα και ο αφρισμός αντίστοιχα (Reddy et al., n.d.). Εκτός από τα χαρακτηριστικά αυτά η παρουσία των απορρυπαντικών στο γάλα σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να οδηγήσει σε γαστρεντερικές διαταραχές ή ακόμα σε φλεγμονή. Επιπλέον, η προσθήκη φυτικών ελαίων δεν παρουσιάζει δυσμενείς επιπτώσεις στους καταναλωτές και δεν θεωρείται επικίνδυνη καθώς αποτελεί μια φυτική πηγή λίπους που χρησιμοποιείται στο γάλα όταν γίνεται αντικατάσταση του αρχικού λίπους του. Ο ορός γάλακτος συχνά μπορεί να χρησιμοποιηθεί στο γάλα με δύο μορφές, τη στερεή που χρησιμοποιείται σε γάλα UHT από πυτιά και την υγρή μορφή που προστίθεται είτε σε γάλα ή σε σκόνη γάλακτος (Reddy et al., n.d.). Άλλες χαρακτηριστικές ουσίες είναι το άμυλο και το χλώριο. Χρησιμοποιείται είτε άμυλο ή άλλες πηγές, όπως αλεύρι σίτου ή ρυζάλευρο έτσι ώστε να αυξηθεί η ποσότητα του μη στερεού λίπους. Γενικώς, δεν προκαλεί σοβαρές επιπτώσεις στα άτομα που καταναλώνουν γάλα με προσθήκη αμύλου αλλά σε υψηλές συγκεντρώσεις έχουν παρατηρηθεί γαστρεντερικές διαταραχές ή σε υψηλότερες ποσότητες επηρεάζουν άτομα που πάσχουν από διαβήτη (Reddy et al., n.d.). Σχετικά με το χλώριο, η οξύτητα του γάλακτος μειώνεται με την προσθήκη ποσότητας χλωρίου και αν έχει συνδυαστεί με ταυτόχρονη προσθήκη αμμωνίας δημιουργεί διαταραχές στα νεφρά. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν και ενώσεις που καταλήγουν στο γάλα μέσα από τη διαδικασία της άλμεξης είναι τα φυτοφάρμακα και τα αντιβιοτικά. Η παρουσία των φυτοφαρμάκων προκύπτει στο γάλα μετά τη χρήση τους για την καταπολέμηση των μικροοργανισμών που μπορεί να υπάρχουν σε αυτό παρουσιάζοντας τοξική και καρκινογόνο δράση (Reddy et al., n.d.). Τα αντιβιοτικά από την άλλη χορηγούνται στα ζώα για τη θεραπεία των ασθενειών, με συχνότερη τη μαστίτιδα, η οποία παρουσιάζεται στους μαστικούς αδένες των ζώων από τη δράση του παθογόνου μικροοργανισμού *Streptococcus agalactiae*.

Χαρακτηριστικά αντιβιοτικά στο γάλα είναι η τετρακυκλίνη, η πενικιλίνη, και η νεο-μυκίνη ενώ μπορούν να ανιχνευτούν και άλλα (Reddy et al., n.d.). Η παρουσία των αντιβιοτικών στο γάλα μπορεί να προκαλέσει αλλεργική αντίδραση σε άτομα που είναι ευαίσθητα στην παρουσία αντιβιοτικών (Reddy et al., n.d.).

Από τις ενώσεις που προκαλούν σοβαρά συμπτώματα χαρακτηριστική είναι η φορμαλίνη, η οποία μπορεί να προκαλέσει διαφόρων ειδών συμπτώματα που κυμαίνονται από ήπια, όπως είναι διάρροια, εμετός και κοιλόπονος, έως και σοβαρότερα με πιο συχνή τη νεφρική ανεπάρκεια. Η χρήση υπεροξειδίου του υδρογόνου προσδίδει φρεσκάδα στο γάλα αλλά σε μεγάλες συγκεντρώσεις δημιουργεί γαστρεντερικά προβλήματα ενώ το θειικό αμμώνιο αυξάνει την ένδειξη του ειδικού βάρους του γάλακτος για να είναι εντός των ορίων για κάθε είδος ζώου σε γάλα που έχει γίνει αραίωση μετά την προσθήκη νερού. Επιπλέον, τα ανθρακικά και διττανθρακικά άλατα μπορεί να επηρεάσουν τις ορμόνες που σχετίζονται με την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη.

5.2 Μέθοδοι ανίχνευσης νοθείας

5.2.1 Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση προστιθέμενων ουσιών στο γάλα

Από το σύνολο των ουσιών που μπορούν να χαρακτηριστούν ως νοθευτές του γάλακτος οι σημαντικότερες ως προς τα προβλήματα που προκαλούν στην υγεία είναι η μελαμίνη, η ουρία, το υδροξείδιο του νατρίου, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, τα απορρυπαντικά, το βενζοϊκό οξύ και το θειικό αμμώνιο και για αυτό κρίνεται απαραίτητη όχι μόνο η ανίχνευση τους αλλά και ο ποσοτικός προσδιορισμός τους. Οι υπόλοιπες ενώσεις μπορεί να επηρεάσουν την υγεία των καταναλωτών αλλά συνήθως σε μικρότερο βαθμό. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι κοινές στις περισσότερες ενώσεις ως προς τις διαδικασίες, όμως διαφέρουν ανάλογα με τα όρια ανίχνευσης, τα πρότυπα διαλύματα ή ακόμα και τις ταινίες απορρόφησης των ενώσεων. Ειδικότερα, σημαντική είναι η ανίχνευση και ο προσδιορισμός της μελαμίνης, της ουρίας αλλά και των πρωτεϊνών που προστίθενται στο γάλα ως νοθευτές.

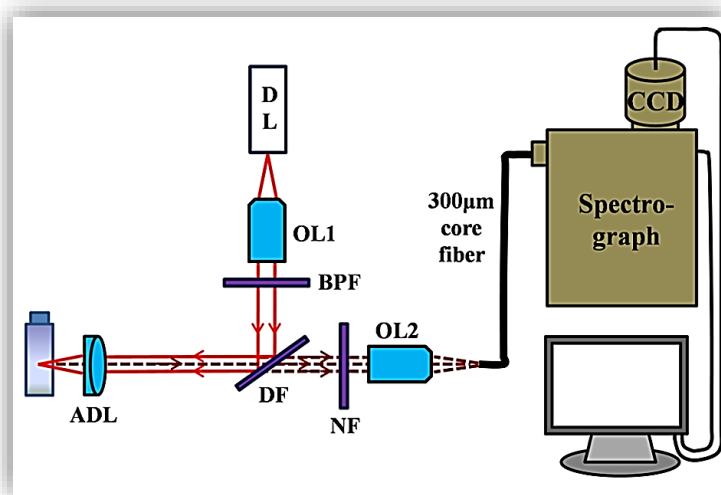
Μελαμίνη

Η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της συγκεκριμένης ουσίας στο γάλα είναι ιδιαίτερα σημαντική διότι η μελαμίνη μπορεί να προκαλέσει σοβαρά προβλήματα στην υγεία των καταναλωτών που μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και στον θάνατο. Από τις τεχνικές που μπορούν να εφαρμοστούν ευρέως σημαντικότερες είναι αυτές που μπορούν να προσδιορίσουν ποσοτικά την ουσία, καθώς το όριο των 50 ppb ορίστηκε μετά από το διατροφικό σκάνδαλο της νοθείας σκόνης βρεφικού γάλακτος με μελαμίνη που εντοπίστηκε στην Κίνα το 2008 (Azad and Ahmed, 2016). Τέτοιες τεχνικές είναι η μέθοδος υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), η υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS) σε γάλα και σε βρεφικά σκευάσματα γάλακτος με όριο ανίχνευσης 10 mg/kg, η αέρια χρωματογραφία συνδυαστικά με φασματομετρία μάζας (GC-MS) και η μέθοδος φασματοσκοπίας Raman με ιδιαίτερη έμφαση στην ζώνη των 676 cm^{-1} για την ανίχνευση της σε σκόνη γάλακτος (Azad and Ahmed, 2016). Επιπλέον, εξαιρετικά αποτελέσματα ως προς τον ποσοτικό προσδιορισμό σε γάλα και σκόνη γάλακτος έχει δώσει και η τεχνική της φασματοσκοπίας υπέρυθρου εξασθενημένης ολικής ανάκλασης μονής αναπήδησης με μετασχηματισμό Fourier (SB – ATR – FTIR) (Azad and Ahmed, 2016). Από τις μοριακές μεθόδους συχνότερα

εφαρμόζεται η ELISA που χρησιμοποιεί τα αντισώματα για τη μελαμίνη ωστόσο τα αποτελέσματα δεν είναι πάντα αξιόπιστα διότι μπορούν να εμφανιστούν προβλήματα σχετικά με τις διασταυρούμενες αντιδραστικότητες των αντισωμάτων (Liu et al., 2012).

Ουρία

Για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της ποσότητας ουρίας στο γάλα έχουν εφαρμοστεί ποικίλες τεχνικές ανάλογα με την πλειονότητα των πλεονεκτημάτων που εμφανίζουν κατά την ανάλυση, όπως είναι η ευκολία της ανάλυσης, η υψηλή ευαισθησία και ακρίβεια και μη προεπεξεργασία των δειγμάτων. Από τις πιο συχνά εφαρμόσιμες τεχνικές είναι η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας και συγκεκριμένα η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) και η αέρια χρωματογραφία που έχει συνδυαστεί με φασματομετρία μάζας ισοτοπικής αραίωσης (GC/IDMS) (Azad and Ahmed, 2016). Σημαντική τεχνική είναι επίσης και η φασματοσκοπία Raman στο εγγύς υπέρυθρο, η οποία μπορεί να προσδιορίσει ποσοτικά στα 785 nm με ακρίβεια μεγαλύτερη από 90% την προσθήκη ουρίας διαφορετικών συγκεντρώσεων σε δείγματα γάλακτος (Khan et al., 2015). Επίσης, έχει καταγραφεί ως τεχνική και ο συνδυασμός της φασματοφωτομετρικής μεθόδου και της αντίδρασης Kjeldahl ώστε να προσδιοριστεί η ποσότητα αζώτου που υπάρχει στο γάλα (Azad and Ahmed, 2016).



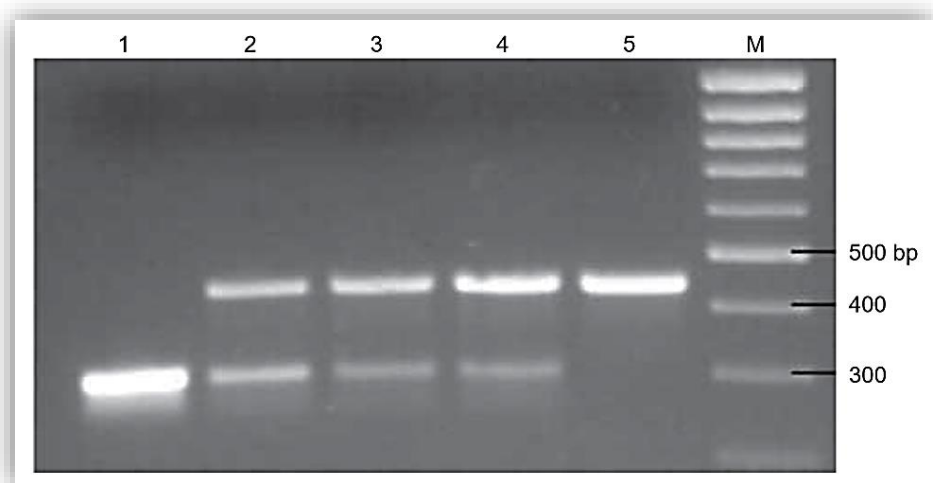
Εικόνα 5.1 Παράδειγμα λειτουργίας φασματοσκοπίας Raman για τον ποσοτικό προσδιορισμό ουρίας σε δείγματα γάλακτος (Khan et al., 2015)

Φυτικές πρωτεΐνες

Υπάρχει μια ποικιλία φυτικών πρωτεϊνών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο γάλα και σε γαλακτοκομικά προϊόντα για άτομα, τα οποία πάσχουν από δυσανεξία στο σάκχαρο του γάλακτος, τη λακτόζη (Azad and Ahmed, 2016). Ωστόσο, πολλές από αυτές τις φυτικές πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται ως νοθευτές του γάλακτος εξαιτίας του χαμηλότερου κόστους παραγωγής συγκριτικά με την παραγωγή της πρωτεΐνης του γάλακτος. Ως φυτικές πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται οι πρωτεΐνες σόγιας, ρυζιού, σιταριού, καλαμποκιού, μπιζελιού, λούπινου και αμυγδάλου που αποτελούν ισχυρά αλλεργιογόνα για τον άνθρωπο με πιο κοινή προστιθέμενη πρωτεΐνη για τη νοθεία του γάλακτος αυτή της σόγιας (Azad and Ahmed, 2016). Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση των φυτικών πρωτεϊνών είναι από την κατηγορία των μοριακών τεχνικών η ELISA, η οποία έχει εφαρμοστεί για την ανίχνευση προσθήκης πρωτεϊνών σόγιας, μπιζελιού και σιταριού σε σκόνη παστεριωμένου γάλακτος ή UHT γάλακτος (Azad and Ahmed, 2016). Επίσης, για τις ίδιες πρωτεΐνες έχει εφαρμοστεί από την κατηγορία των ενόργανων μεθόδων η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) σε σκόνη αποβουτυρωμένου γάλακτος, η μέθοδος της πολωσιμετρίας, η ηλεκτροφόρηση πολυακρυλαμιδίου δωδεκυλοθειϊκού νατρίου (SDS-PAGE) και η φασματοσκοπία NIR και ATR – FTIR (Azad and Ahmed, 2016).

5.2.2 Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ανάμιξης γάλακτος από διαφορετικές πηγές

Όσον αφορά την ανίχνευση προσθήκης γάλακτος από διαφορετικά είδη ζώων χρησιμοποιούνται κυρίως μοριακές μέθοδοι ανάλυσης, όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και η έμμεση ανταγωνιστική ELISA, οι οποίες έχουν εφαρμοστεί για την ανίχνευση ποσότητας αγελαδινού γάλακτος σε βουβαλίσιο, πρόβειο και αιγοπρόβειο γάλα αλλά και σε βουβαλίσιο και κατσικίσιο τυρί. Από τις φυσικοχημικές μεθόδους σημαντικότερη είναι η τεχνική της χρωματογραφίας, με ποικίλες εφαρμογές της αέριας και της υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματοσκοπία μάζας ενώ χρησιμοποιείται ιδιαίτερος και η φασματοσκοπία IR.



Εικόνα 5.2 Εικόνα ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αгарόζης 5 δειγμάτων γάλακτος μετά από duplex – PCR

Τα δείγματα 1 – 5 είναι με τη σειρά αγελαδινό γάλα, μείγμα αγελαδινού 1% σε κατσικίσιο γάλα, μείγμα 5%, μείγμα 10%, κατσικίσιο γάλα ενώ το M αντιπροσωπεύει το μάρτυρα αναφοράς 100 bp (ladder) (Kotowicz et al., n.d.).

5.3 Συνέπειες νοθείας γάλακτος και γαλακτοκομικών

Η συνεχής αυξανόμενη δημοσιοποίηση διατροφικών σκανδάλων που οφείλονται σε φαινόμενα νοθείας του γάλακτος αλλά και των γαλακτοκομικών προϊόντων προκαλεί ανησυχία τόσο στον κλάδο της βιομηχανίας όσο και στην εμπιστοσύνη που δείχνουν οι καταναλωτές ως προς τα προϊόντα και την αξιοπιστία των βιομηχανιών (Reddy et al., n.d.). Οι καταναλωτές ανησυχούν για την ποιότητα και την καθαρότητα του γάλακτος που αγοράζουν καθώς και για τις συνέπειες στην υγεία τους από την κατανάλωση νοθευμένου γάλακτος, οι οποίες μπορεί να κυμαίνονται συνήθως από απλές ή σοβαρές για την υγεία έως και θανατηφόρες (Nagraik et al., 2021). Από την άλλη πλευρά, οι βιομηχανίες γάλακτος αντιμετωπίζουν κυρίως τις οικονομικές συνέπειες αυτού του προβλήματος, υποβαθμίζεται η αξιοπιστία τους και ταυτόχρονα επηρεάζεται και η θέση τους στην αγορά ενώ πρέπει να δημιουργήσουν το κατάλληλο κλίμα για να κεντρίσουν το ενδιαφέρον και την εμπιστοσύνη των καταναλωτών.

6 Μέθοδοι ανίχνευσης νοθείας γάλακτος μετά από βιβλιογραφική ανασκόπηση

6.1 Μοριακές Τεχνικές

Από τις μοριακές τεχνικές σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της αυθεντικότητας και της νοθείας του γάλακτος έχουν οι μέθοδοι που βασίζονται στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης. Αυτές οι μέθοδοι έχουν εφαρμοστεί ακόμη και σε πληθώρα γαλακτοκομικών προϊόντων όπως τα τυριά, το βούτυρο, η γιαούρτη αλλά και σε προϊόντα με βάση το γάλα. Οι σημαντικότερες εφαρμογές της PCR στη πάροδο των ετών παρουσιάζονται παρακάτω ως εξής:

- Ταυτοποίηση αγελαδινού και βουβαλίσιου γάλακτος σε τυρί Mozzarella

Το 2001, εφαρμόστηκε ως μοριακή μέθοδος, από τους Rea et al., η duplex PCR για την ταυτοποίηση αγελαδινού και βουβαλίσιου γάλακτος σε τυριά mozzarella, τα οποία παραδοσιακά παρασκευάζονται με τη χρήση αποκλειστικά βουβαλίσιου γάλακτος. Η χρήση αγελαδινού γάλακτος ήταν και παραμένει ιδιαίτερος συχνή ως μέθοδος νοθείας των συγκεκριμένων τυριών εξαιτίας του χαμηλότερου κόστους που εμφανίζει συγκριτικά με το βουβαλίσιο γάλα. Από τα αποτελέσματα της έρευνας προέκυψε πως το ελάχιστο ποσοστό ανίχνευσης του αγελαδινού γάλακτος υπολογίστηκε περίπου στο 1% (Rea et al., 2001).

- Έλεγχος νοθείας αιγοπρόβειων τυριών με αγελαδινό γάλα

Το 2004, οι Mafra et al. χρησιμοποίησαν τη duplex PCR για την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση της νοθείας αιγοπρόβειων τυριών με αγελαδινό γάλα. Παρατηρήθηκε ότι στα προϊόντα αυτά χρησιμοποιήθηκε ποσότητα από νωπό, παστεριωμένο ή ακόμη και νωπό αγελαδινό γάλα σε ποσοστό μεταξύ του εύρους 1 – 50% (“A novel approach to the quantification of bovine milk in ovine cheeses using a duplex polymerase chain reaction method.nbib,” n.d.). Παρόμοιες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί τις τελευταίες περίπου δύο δεκαετίες από ποικίλες ομάδες ερευνητών λόγω της αυξανόμενης κατανάλωσης τέτοιων ειδών τυριών καθώς και της υψηλής αξίας της πρώτης ύλης που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τους με όριο ανίχνευσης συνήθως το 0,1%.

- Ταυτοποίηση κατσικίσιου σε αιγοπρόβειο γάλα

Το 2005, μελετήθηκε από τους López-Calleja et al. η ταυτοποίηση κατσικίσιου γάλακτος σε μείγματα αιγοπρόβειου γάλακτος με αυξανόμενες συγκεντρώσεις κατσικίσιου. Για την ταυτοποίηση αυτή επιλέχθηκε η μέθοδος PCR και το όριο ανίχνευσης του κατσικίσιου γάλακτος στα μείγματα που παρασκευάστηκαν ήταν 0,1% (López-Calleja et al., 2005).

- Ταυτοποίηση διαφορετικών ειδών γάλακτος σε γαλακτοκομικά προϊόντα

Το 2012, μια ακόμη μέθοδος PCR εφαρμόστηκε για την ταυτοποίηση ύπαρξης αγελαδινού, βουβαλίσιου, κατσικίσιου και πρόβειου γάλακτος σε γαλακτοκομικά προϊόντα από τους Gonçalves et al. Χρησιμοποιήθηκε για το σκοπό αυτό η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πολλαπλών στόχων μιτοχονδριακού DNA σε συνδυασμό με τριχοειδή ηλεκτροφόρηση. Από την παραπάνω μελέτη, αποδείχθηκε πως στα εμπορικά δείγματα που ελέγχθηκαν κυριαρχούσε το φαινόμενο της προσθήκης γάλακτος από διαφορετικούς οργανισμούς αλλά και η απουσία των ειδών που αναγράφονται στις ετικέτες των δειγμάτων (Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança et al., 2018; “New method for the simultaneous identification of cow, sheep, goat, and water buffalo in dairy products by analysis of short species-specific mitochondrial DNA targets. nbib,” n.d.).

Όσον αφορά αποκλειστικά την περίπτωση νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος με προσθήκη άλλων πηγών, όπως αγελαδινό γάλα η μέθοδος PCR έχει εφαρμοστεί αρκετές φορές με τις σημαντικότερες από αυτές να παρουσιάζονται παρακάτω ως εξής:

- Ταυτοποίηση αγελαδινού και αιγοπρόβειου γάλακτος σε γαλακτοκομικά προϊόντα

Το 2003, οι ερευνητές Bottero et al., χρησιμοποίησαν ως δοκιμή για το συγκεκριμένο έλεγχο τη multiplex PCR ή αλλιώς πολλαπλή PCR. Χρησιμοποιήθηκαν ως δείγματα τυριά που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο με διάφορες πηγές γάλακτος, δηλαδή με καθαρό αγελαδινό, πρόβειο και αιγοπρόβειο και μείγματα αυτών, αλλά και 19 τυριά που προέρχονται από σουπερμάρκετ έτσι ώστε να επαληθευτούν τα στοιχεία που αναγράφονταν στις ετικέτες αυτών. Η πολλαπλή PCR έδωσε σημαντικά αποτελέσματα σε επίπεδο ανίχνευσης 0,5% ως προς τα τυριά που προέρχονταν από το λιανικό εμπόριο. Συγκεκριμένα, βρέθηκε πως από τα 19 εμπορικά δείγματα τυριών, τα δείγματα που έφεραν την ένδειξη κατσικίσιο – αγελαδινό γάλα και πρόβειο – αγελαδινό γάλα, μέσω

της εικόνας της ηλεκτροφόρησης ταυτοποιήθηκαν μόνο ως προς την ύπαρξη αγελαδινού γάλακτος ενώ τα δείγματα τυριού με την ένδειξη αποκλειστικά κατσικίσιου γάλακτος υπήρχε και παρουσία αγελαδινού (Bottero et al., 2003).

- Ανίχνευση αγελαδινού σε κατσικίσιο γάλα με εφαρμογή duplex PCR

Το 2007 πραγματοποιήθηκε μια μελέτη, στην οποία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος duplex PCR για να ανιχνευθεί η προσθήκη αγελαδινού γάλακτος σε κατσικίσιο γάλα που πωλείται στην πολωνική αγορά. Οι ερευνητές παρέλαβαν 34 δείγματα κατσικίσιου γάλακτος από τρεις διαφορετικούς παραγωγούς της Πολωνίας και 20 δείγματα από ένα παραγωγό της Ευρωπαϊκής κοινότητας και παρασκεύασαν συνολικά 54 δείγματα κατσικίσιου γάλακτος με προσθήκη αγελαδινού από 1-99%. Από το σύνολο των δειγμάτων που εξετάστηκαν, το αγελαδινό γάλα ανιχνεύτηκε σε 33 δείγματα σε ποσοστό μικρότερο του 1% ενώ στα δείγματα κατσικίσιου από τον παραγωγό της Ευρωπαϊκής κοινότητας δεν ταυτοποιήθηκε η προσθήκη αγελαδινού γάλακτος (Kotowicz et al., 2007).

- Ανίχνευση αγελαδινού σε κατσικίσια γαλακτοκομικά προϊόντα με real-time PCR

Ως μια πρόσφατη έρευνα, το 2019 η ομάδα των Tsakali et al. μελέτησε τη νοθεία σε συνολικά 40 δείγματα κατσικίσιων γαλακτοκομικών προϊόντων με την παρασκευή των δειγμάτων με προσθήκη αγελαδινού γάλακτος από 0,01 έως 90% με τη χρήση της PCR πραγματικού χρόνου. Η διάκριση των δύο ειδών γάλακτος έγινε με μεγάλη ευκολία με τη μέθοδο αυτή καθώς το κατσικίσιο γάλα εμφάνισε θραύσμα στα 444 bp ενώ το αγελαδινό γάλα στα 300 bp με υψηλό όριο ανίχνευσης που άγγιξε το 0,1%. Το συμπέρασμα των μελετητών ήταν ότι τα 36 από τα 40 δείγματα, εκτός του καθαρού δείγματος κατσικίσιου, ταυτοποιήθηκαν ως προς την προσθήκη αγελαδινού γάλακτος (Tsakali et al., 2019).

Συμπερασματικά, οι εφαρμογές της PCR για τον έλεγχο της νοθείας του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων από άλλες πηγές γάλακτος παραθέτονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6.1 Εφαρμογές PCR για τον έλεγχο της νοθείας γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων από άλλες πηγές γάλακτος

Έτος	Είδος ελέγχου	Όριο ανίχνευσης	Αναφορές
2019	Ανίχνευση αγελαδινού σε κατσικίσια γαλακτοκομικά προϊόντα με real-time PCR	0,01%	(Tsakali et al., 2019)
2012	Ταυτοποίηση αγελαδινού, βουβαλίσιου, κατσικίσιου και πρόβειου γάλακτος σε γαλακτοκομικά προϊόντα	1%	(“New method for the simultaneous identification of cow, sheep, goat, and water buffalo in dairy products by analysis of short species-specific mitochondrial DNA targets.nbib,” n.d.)
2007	Ανίχνευση αγελαδινού σε κατσικίσιο γάλα με εφαρμογή duplex PCR	< 1%	(Kotowicz et al., 2007)
2005	Ανίχνευση κατσικίσιου γάλακτος σε μείγματα αιγοπρόβειου γάλακτος	0,1%	(López-Calleja et al., 2005)
2004	Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση νοθείας αιγοπρόβειων τυριών με αγελαδινό γάλα	0,1%	(“A novel approach to the quantification of bovine milk in ovine cheeses using a duplex polymerase chain reaction method.nbib,” n.d.).
2003	Ταυτοποίηση αγελαδινού και αιγοπρόβειου γάλακτος σε γαλακτοκομικά προϊόντα	0,5%	(Bottero et al., 2003)
2001	Ανίχνευση αγελαδινού και βουβαλίσιου γάλακτος σε τυρί mozzarella	1%	(Rea et al., 2001)

Από την παραπάνω ανασκόπηση προκύπτει το εύλογο συμπέρασμα πως η εφαρμογή των μοριακών τεχνικών που αναφέρθηκαν οδήγησε σε μια εύκολη και σχετικά γρήγορη ανίχνευση νοθείας του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων από άλλα είδη ζώων, δίνοντας ιδιαίτερα σημαντικά ποσοστά ανίχνευσης, τα οποία κυμαίνονται μέχρι 1%, με βέλτιστο το ποσοστό ανίχνευσης 0,1%.

6.2 Φυσικοχημικές τεχνικές

6.2.1 Φασματοσκοπία Υπέρυθρου Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης με Μετασχηματισμό Fourier (ATR-FTIR)

Η υπέρυθη φασματοσκοπία εφαρμόζεται σε μεγάλο βαθμό στη βιομηχανία και γενικότερα στον κλάδο των τροφίμων με αναλύσεις σε διάφορες κατηγορίες όπως σε δημητριακά και προϊόντα αυτών, σε κρέας και κρεατοσκευάσματα, σε πληθώρα φρούτων και λαχανικών, σε ιχθυηρά, αλκοολούχα ποτά αλλά και εδώδιμα έλαια. Όσον αφορά το γάλα καθώς και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, η τεχνική του ATR-FTIR έχει εφαρμοστεί σε μεγάλο πλήθος μελετών σχετικών κυρίως με τον έλεγχο της νοθείας αλλά και της σύστασης και ταξινόμησης των συστατικών τους. Ειδικότερα, η φασματοσκοπία ATR-FTIR έχει εφαρμοστεί για:

- Προσδιορισμό των πρωτεϊνών νοπού αγελαδινού γάλακτος χρησιμοποιώντας την περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος

Η μελέτη αυτή έγινε το 2004 από την ομάδα Etzion et al. που εξέτασαν την συγκέντρωση των πρωτεϊνών νοπού αγελαδινού γάλακτος από τοπικό γαλακτοκομείο με τη χρήση φασματοσκοπίας ATR-FTIR στο εύρος του μέσου υπέρυθρου. Ελέγχθηκαν οι περιοχές του φάσματος που αντιστοιχούν στις πρωτεΐνες και συγκεκριμένα η περιοχή που παρατηρείται απορρόφηση των δεσμών αμίδιων (Etzion et al., 2004).

- Έλεγχο νοθείας νοπού γάλακτος διάφορων πηγών με διαφορετικούς νοθευτές

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχει εφαρμοστεί η τεχνική της φασματοσκοπίας ATR-FTIR για την ανίχνευση διάφορων ειδών νοθευτών που χρησιμοποιούνται γενικώς στο γάλα όπως νερό, φορμαλίνη, άμυλο, σακχαρόζη, κιτρικό νάτριο αλλά και για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της προσθήκης μελαμίνης, κυανουρικού οξέος, ουρίας ή

ορού γάλακτος σε νωπό γάλα ή σε γάλα με τη μορφή σκόνης (Mendes and Duarte, 2021).

- Προσδιορισμό συστατικών

Έχει χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των ολικών στερεών που υπάρχουν στο νωπό γάλα, της ποσότητας των λιπαρών οξέων σε αγελαδινό γάλα, του προφίλ λιπαρών οξέων για τη διάκριση του πρόβειου γάλακτος και της σύνθεσης των λιπαρών οξέων σε φρέσκο και αποψυγμένο αγελαδινό γάλα σε συνδυασμό με χημειομετρικές τεχνικές.

- Ανίχνευση νοθείας σε γάλατα που προέρχονται από διαφορετικές πηγές

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε το 2018 από τους O. Cirak et. al, οι οποίοι μελέτησαν την νοθεία διαφορετικών ειδών γάλακτος. Δημιούργησαν δείγματα γάλακτος με ανάμιξη σε διάφορες συγκεντρώσεις τριών διαφορετικών πηγών, πρόβειου, βουβαλίσσιου και αγελαδινού γάλακτος από παραγωγούς στην Κωνσταντινούπολη και μέσω της ανάλυσης με ATR-FTIR κατάφεραν να ταυτοποιήσουν και τα τρία διαφορετικά είδη γάλακτος (Cirak et al., 2018).

- Ταξινόμηση τυριών ως προς τα διαφορετικά στάδια ωρίμανσης τους

Έχει εφαρμοστεί για την ταξινόμηση τυριών Pecorino από 8 διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας με βάση την μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή τους και το στάδιο ωρίμανσης τους που κυμαίνεται από 3 έως και 8 μήνες (Lerma-García et al., 2010). Επίσης, χρησιμοποιήθηκε ώστε να ταξινομηθούν τυριά Parmigiano-Reggiano που βρίσκονταν με τη μορφή τρίμματος και να διακριθούν από άλλα ιταλικά τυριά με παρόμοια μορφή (Gori et al., 2012). Το 2014 η τεχνική αυτή χρησιμοποιήθηκε και για να προβλεφθούν τα αισθητηριακά χαρακτηριστικά που θα είχαν τα τυριά κατά την ωρίμανση τους (Kraggerud et al., 2014). Μια πρόσφατη μελέτη πραγματοποιήθηκε το 2023 με την εφαρμογή της τεχνική ATR-FTIR για τον έλεγχο των βιοχημικών μεταβολών που πραγματοποιούνται κατά το στάδιο της ωρίμανσης ενός λευκού τυριού που παράγεται στην Τουρκία με διάρκεια ωρίμανσης 100 ημέρες. Δείγματα από αυτό το τυρί συλλέχθηκαν κατά την πρώτη ημέρα ωρίμανσης και έπειτα κάθε 20 ημέρες από την έναρξη της και αναλύθηκαν σε φασματομέτρο ATR-FTIR στην περιοχή 4000 – 650 cm^{-1} . Από την επεξεργασία των φασμάτων παρατηρήθηκε πως κατά την ωρίμανση του τυριού υπήρξαν μεγάλες μεταβολές στην περιοχή 1800 – 900 cm^{-1} που περιλαμβάνει τις χαρακτηριστικές ομάδες με κυριότερες τις ομάδες αμιδίου στα 1680 – 1510 cm^{-1} και 1430 – 1360 cm^{-1} (Yaman et al., 2023).

Ειδικότερα, για τη μελέτη του κατσικίσιου γάλακτος, οι περιπτώσεις ερευνών, σύμφωνα με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση που παρατίθενται παρακάτω, ως προς το φαινόμενο της νοθείας εστιάζουν περισσότερο στην ταυτοποίηση των φυλών και στη διάκριση του συγκεκριμένου είδους γάλακτος από άλλα είδη με συχνότερο το αγελαδινό.

- Ταυτοποίηση κατσικίσιου γάλακτος ανάλογα με τις διαφορετικές φυλές αιγών
Η έρευνα που έγινε το 2019 από τους Salleh. N.A. et al. χρησιμοποιήθηκε για τον χαρακτηρισμό κατσικίσιου γάλακτος ανάλογα με τις διαφορετικές κατηγορίες αιγών από τις οποίες προέρχονταν τα δείγματα. Οι φυλές αιγών που εξετάστηκαν ήταν η Saanen, η Jamnapari και η Toggenburg. Με τη μέθοδο FTIR σε συνδυασμό με πολυπαραγοντική ανάλυση βρέθηκε ότι τελικά το κατσικίσιο γάλα από τη φυλή Jamnapari είχε διαφορετική σύσταση από αυτό των υπόλοιπων φυλών με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά, όπως το λίπος, η λακτόζη και οι πρωτεΐνες (Salleh et al., 2019).

- Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ποσότητας αγελαδινού σε κατσικίσιο γάλα
Μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε το 2016 από τους Terouzi et. al για την ανίχνευση προσθήκης αγελαδινού γάλακτος σε κατσικίσιο χρησιμοποιώντας νωπό γάλα από τα δύο διαφορετικά είδη από παραγωγούς γάλακτος της ίδιας περιοχής. Παρασκευάστηκαν συνολικά 52 δείγματα κατσικίσιου γάλακτος με προσθήκη αγελαδινού σε ποσοότητες από 0 έως 30% και εξετάστηκαν με τη τεχνική ATR-FTIR στο εύρος του μέσου υπέρυθρου, $4000 - 450 \text{ cm}^{-1}$. Η τεχνική αυτή έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς την ανίχνευση του αγελαδινού γάλακτος κυρίως στην περιοχή 2927 και 2856 cm^{-1} που κυριαρχούν οι απορροφήσεις των λιπαρών οξέων και στο εύρος των $1800 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ που κυριαρχούν οι πρωτεΐνες του γάλακτος (Terouzi et al., n.d.).

- Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ποσότητας αγελαδινού σε κατσικίσιο γάλα με βάση την παρουσία καροτενοειδών
Μια παρόμοια μελέτη πραγματοποιήθηκε το 2020 από τον Yaman εξέτασε την ανίχνευση αλλά και ποσοτικοποίηση της ποσότητας αγελαδινού γάλακτος που προστέθηκε σε κατσικίσιο γάλα σε συνδυασμό με πολυπαραγοντική ανάλυση. Η μελέτη αυτή στηρίχθηκε επίσης στην παρουσία ποσότητας β-καροτένιου που υπάρχει στο αγελαδινό γάλα αλλά απουσιάζει από το κατσικίσιο εφόσον μετατρέπεται σε βιταμίνη Α. Εξετάστηκαν οι ταινίες απορρόφησης που εμφανίζονται για το β-καροτένιο με τη μέθοδο FTIR και συγκεκριμένα στα 1454 cm^{-1} , 1373 cm^{-1} και στα 956 cm^{-1} και παρατηρήθηκε

ότι με τη μέθοδο αυτή δείγματα που είχαν διαφορά περιεκτικότητας αγελαδινού περίπου κοντά στο 20% είχαν κάποιες μικρές διαφοροποιήσεις (Yaman, 2020a).

6.2.2 Προσδιορισμός χρώματος

Ο προσδιορισμός του χρώματος έχει πραγματοποιηθεί εδώ και της δεκαετίας για την ανίχνευση της νοθείας και τη διάκριση γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων που προέρχονται από διάφορα είδη ζώων. Ειδικότερα, μια σημαντική μελέτη πραγματοποιήθηκε το 2014 από της A. F. Devi et al., οι οποίοι χρησιμοποίησαν χρωματόμετρο σε συνδυασμό με της μεθόδους, της η HPLC και η δοκιμή της Ο-φθαλδιαλδεΐδης/Ν-ακετυλ-L-κυστεΐνης (OPA/NAC) για την εκτίμηση του χρώματος αποβουτυρωμένου γάλακτος κατά την επίδραση υψηλής πίεσης κατά την επεξεργασία. Η μελέτη αυτή οδήγησε στο αποτέλεσμα πως η επίδραση της θερμικής επεξεργασίας σε επίπεδο υψηλής πίεσης, περίπου στα 400 Μρα, οδήγησε σε πήξη των πρωτεϊνών, η οποία επηρέασε και τελικώς το χρώμα του γάλακτος σε ημιδιαφανές (Devi et al., 2015).

Μέσα από βιβλιογραφική ανασκόπηση που δημοσιεύτηκε το 2020, μελετήθηκε το χρώμα σε διάφορα είδη γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων. Συγκεντρώθηκαν και αναλύθηκαν άρθρα και μελέτες για διάφορα είδη γάλακτος με κυριότερο το αγελαδινό και λιγότερο το κατσικίσιο, το πρόβειο, το γάλα καμήλας και ελαφιού. Επιπλέον, υπήρχαν στοιχεία και για της κατηγορίες, της τυριά και γενικώς προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση, ορό γάλακτος και σκόνη γάλακτος, βούτυρο, γιαούρτη, επιδόρπια με βάση το γάλα και της κατηγορίες που περιλάμβαναν σκόνη γάλακτος για βρεφική φόρμουλα ή πρωτόγαλα. Οι μελέτες εκτός από το είδος του προϊόντος που αναλύθηκε κάθε φορά διέφεραν και ως της:

- το τύπο των συσκευών που χρησιμοποιήθηκαν, της το Minolta, το σύστημα Hunter, το σύστημα υπολογιστικής όρασης ή αλλιώς CVS ή της συσκευές της το Data Color, το Gardner και το Colorgard,
- την πηγή φωτός, η οποία ήταν συχνότερα η D65 και κατόπιν η χρήση του φωτός ημέρας ή λάμπας βολφραμίου,
- τη γωνία παρατήρησης, η οποία κυμαινόταν από 0° έως και μεγαλύτερη από 45° με πιο συχνές της γωνίες 2° και 10°

και συγκρίθηκαν μεταξύ της προσδιορίζοντας της παραμέτρους της φωτεινότητας, της ερυθρότητας και της κίτρινης – μπλε χρωματικότητας (Milovanovic et al., 2020).

Ως μια πιο πρόσφατη μελέτη, το 2021 η ομάδα των Milovanovic et al. χρησιμοποίησε ταυτόχρονα το σύστημα όρασης υπολογιστή (CVS), το οποίο απεικονίζει το χρώμα με τη μορφή ψηφιακής εικόνας, το φορητό χρωματόμετρο, το οποίο μετρά της παραμέτρους L^* , a^* και b^* και την οπτική αξιολόγηση ώστε να συγκριθεί το χρώμα μεταξύ 27 διαφορετικών ειδών γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων που προέρχονταν από διάφορες περιοχές της Σερβίας. Μελετήθηκε το χρώμα σε αγελαδινό, πρόβειο, κατσικίσιο και παστεριωμένο γάλα καθώς και σε ημίσκληρα, μουχλιασμένα, επεξεργασμένα, πλαθόμενα τυριά και σε ένα παραδοσιακό τυρί το kajmak, που παράγεται από μη παστεριωμένο γάλα και σε βούτυρο, επιδόρπιο γιαουρτιού και σκόνη ορού γάλακτος. Η σύγκριση των δύο αυτών συσκευών μέτρησης χρώματος οδήγησε σε διαφορετικά αποτελέσματα δείχνοντας πως η χρήση του συστήματος ψηφιακής εικόνας έδωσε πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα με ανοικτόχρωμη εμφάνιση στα δείγματα που εξετάστηκαν σε αντίθεση με το χρωματόμετρο που είχε πιο σκούρα και κιτρινωπή απόχρωση στα δείγματα (Milovanovic et al., 2021).

7 Θεωρητικό υπόβαθρο μοριακών και φυσικοχημικών τεχνικών

7.1 Μοριακές Τεχνικές

Από την πληθώρα μοριακών τεχνικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση του φαινομένου νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος με διαφορετικές ποσότητες αγελαδινού γάλακτος επιλέχθηκε η τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης συνδυαστικά με την ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης 2%. Η τεχνική της PCR θεωρείται ένα από τα σημαντικότερα και αξιόπιστα εργαλεία για την ανίχνευση της νοθείας γενικότερα εξαιτίας της μεγάλης ευαισθησίας που εμφανίζει, ανιχνεύοντας πολύ μικρές ποσότητες θραυσμάτων DNA, αλλά και της υψηλής αναπαραγωγικότητας του DNA δεδομένου ότι μπορεί να παράγει πολλαπλά αντίγραφα του ίδιου μορίου σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα (Centro de Investigaçao de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança et al., 2018). Η μέθοδος αυτή υπερισχύει συγκριτικά με άλλες μεθόδους ανίχνευσης νοθείας, αφού το μόριο του DNA κατά την επίδραση υψηλών θερμοκρασιών δεν καταστρέφεται όπως άλλα συστατικά των τροφίμων αλλά παραμένουν μικρά θραύσματα DNA που με τη μέθοδο της PCR μπορούν να δώσουν ικανοποιητικά αποτελέσματα (López-Calleja et al., 2005). Για την εφαρμογή της παραπάνω τεχνικής πρέπει να προηγηθεί η απομόνωση του γενετικού υλικού από τα δείγματα γάλακτος. Η απομόνωση του DNA περιλαμβάνει συνοπτικά τα στάδια προετοιμασίας του δείγματος, τη λύση των κυττάρων, υδρόλυση της πρωτεΐνης, δέσμευση του DNA, έκπλυση και τέλος την έκλυση του DNA. Τα σημαντικότερα από αυτά τα στάδια που οδηγούν τελικά σε απομόνωση DNA υψηλής ποιότητας και καθαρότητας είναι:

- Λύση κυττάρων

Για τη λύση των κυτταρικών μεμβρανών συνήθως χρησιμοποιείται ένα διάλυμα λύσης γνωστό ως Lysis Buffer, το οποίο περιέχει συστατικά που βοηθούν στη λύση των κυτταρικών μεμβρανών και στην απελευθέρωση του γενετικού υλικού. Σε αυτό το στάδιο συνήθως χρησιμοποιείται και η πρωτεΐνάση K, η οποία δρα όπως υποδηλώνει το όνομα της ως πρωτεΐνάση με αποτέλεσμα να οδηγεί στην απενεργοποίηση ενδογενών νουκλεασών που επηρεάζουν την απομόνωση του DNA (Gong and Li, 2014).

- Δέσμευση DNA και διαχωρισμός από τις πρωτεΐνες

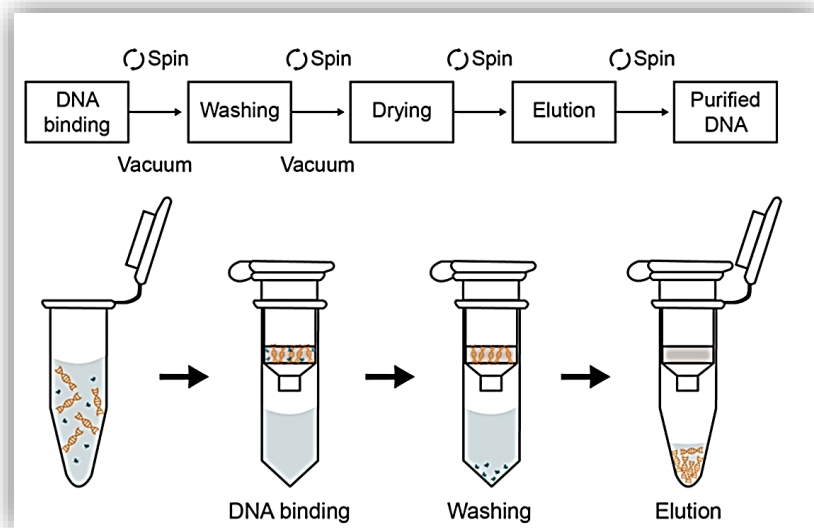
Για τη δέσμευση του DNA από τα δείγματα του γάλακτος χρησιμοποιείται ένα εμπορικό κιτ, το οποίο περιέχει στήλες με μεμβράνη πυριτίου, η οποία σε συνδυασμό με το χαοτροπικό άλας που υπάρχει βοηθά στην δέσμευση και τελικά στον καθαρισμό του γενετικού υλικού.

- Έκπλυση

Πραγματοποιείται πλύση με τη χρήση ρυθμιστικού διαλύματος που περιέχει αιθανόλη και υψηλή περιεκτικότητα άλατος έτσι ώστε να απομακρυνθούν όλες οι προσμίξεις, δηλαδή πρωτεΐνες, άλατα και ενδεχομένως ρύποι από το δείγμα και το DNA παραμένει με τη βοήθεια της αιθανόλης συνδεδεμένο πάνω στη μεμβράνη πυριτίου που περιέχει η στήλη (Gong and Li, 2014).

- Έκλουση

Χρησιμοποιείται ένα ρυθμιστικό διάλυμα, το οποίο εφαρμόζεται στη στήλη που είναι συνδεδεμένο το DNA και εξαιτίας της διαλυτότητας του γενετικού υλικού σε αυτό, το DNA τελικά απελευθερώνεται από τη στήλη και παραλαμβάνεται ως έκλουσμα. Το DNA που τελικά απομονώθηκε από το δείγμα μπορεί να αποθηκευτεί και να αναλυθεί με περαιτέρω διαδικασία.



Εικόνα 7.1 Στάδια απομόνωσης DNA με τη χρήση εμπορικού κιτ (“Centrifugation-free extraction of circulating nucleic acids using immiscible liquid under vacuum pressure.pdf,” n.d.)

Η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης που ακολουθεί είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ανάλυση και στηρίζεται στην ικανότητα που έχει η έλικα του DNA ως προς την αποδιάταξη και επανασύσταση σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας. Η αντίδραση PCR αποτελείται από τρία βασικά στάδια που στοχεύουν στο θερμικό πολλαπλασιασμό του DNA-στόχου, το στάδιο της αποδιάταξης του δίκλωνου DNA, του υβριδισμού των εκκινητών στο DNA που εξετάζεται καθώς και το στάδιο επιμήκυνσης των εκκινητών. Συνολικά η διαδικασία επαναλαμβάνεται για αρκετούς κύκλους έως ότου παραχθεί η κατάλληλη ποσότητα από το DNA-στόχο που χρειάζεται για ανίχνευση και ταυτοποίηση.

- 1^ο στάδιο: Αποδιάταξη δίκλωνου DNA

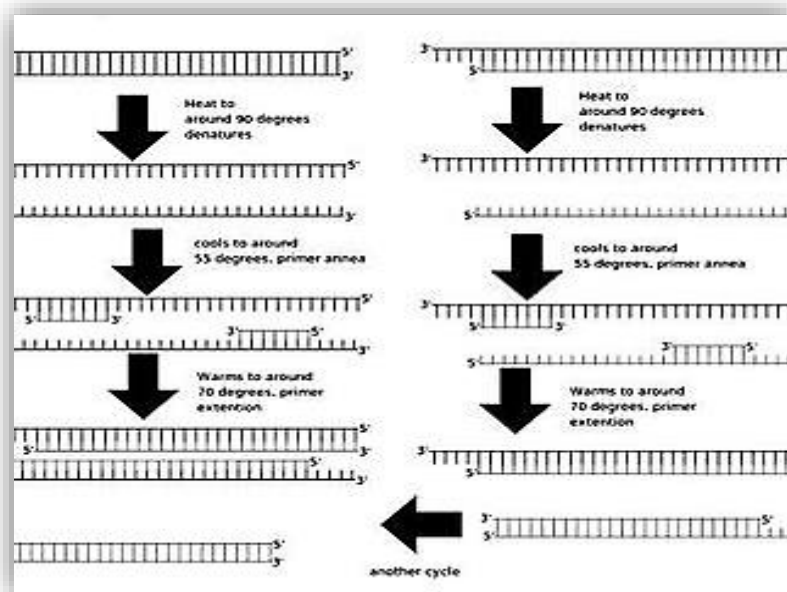
Εφαρμόζεται υψηλή θερμοκρασία θέρμανσης της αντίδρασης, συνήθως 94-96°C, και σε αυτές τις συνθήκες πραγματοποιείται θραύση των δεσμών υδρογόνου που συνδέουν τις δύο έλικες του DNA οδηγώντας τελικά σε δύο μονόκλωνες αλυσίδες DNA (Μπατρίνου, 2011).

- 2^ο στάδιο: Υβριδοποίηση εκκινητών

Σε αυτό το στάδιο μειώνεται η θερμοκρασία της αντίδρασης, η οποία φτάνει σε ένα εύρος από 40 έως 60°C ώστε να μπορεί να γίνει η υβριδοποίηση των εκκινητών στις μονόκλωνες αλυσίδες DNA που προέκυψαν από το προηγούμενο στάδιο σύμφωνα με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες που φέρουν (Μπατρίνου, 2011).

- 3^ο στάδιο: Επιμήκυνση εκκινητών

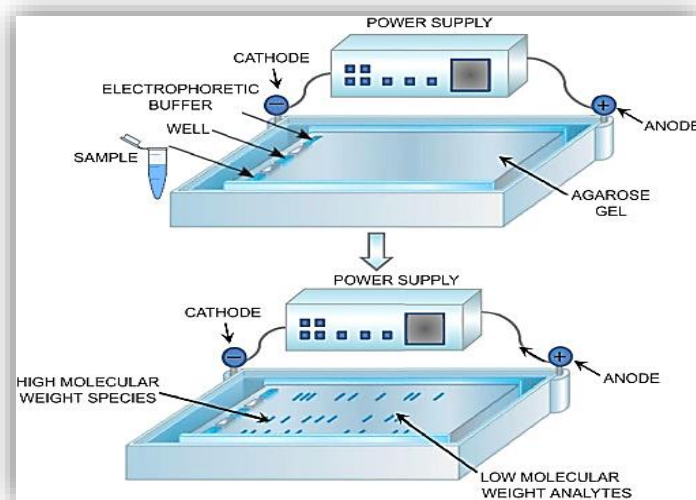
Το στάδιο αυτό πραγματοποιείται συνήθως στους 72°C, εφόσον η DNA πολυμεράση που χρησιμοποιείται για την αντίδραση προέρχεται από το θερμοφίλο βακτήριο *Thermus aquaticus* με βέλτιστη θερμοκρασία δράσης τους 72°C. Με τη βοήθεια της πραγματοποιείται η επιμήκυνση των εκκινητών που έχουν προσδεθεί στις μονόκλωνες αλυσίδες, καθώς προσδένεται πάνω τους και προσθέτει ελεύθερα νουκλεοτίδια συνθέτοντας τελικά δύο νέες αλυσίδες DNA (Μπατρίνου, 2011).



Εικόνα 7.2 Απεικόνιση σταδίων αντίδρασης PCR, DOI:10.13040/IJPSR.0975-8232.5(8).3086-

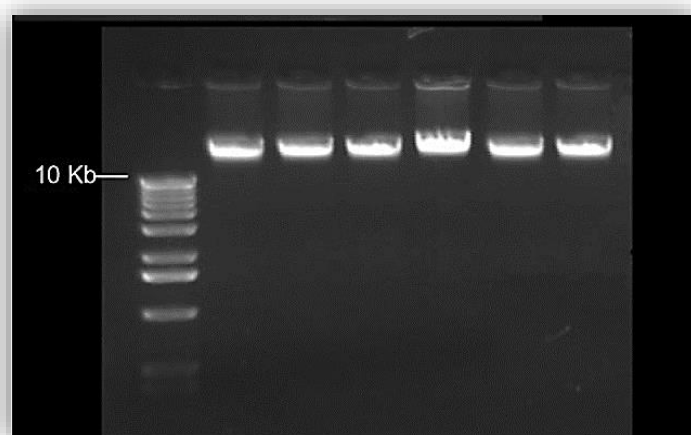
Μετά το τέλος της αντίδρασης PCR εντός της συσκευής του θερμικού κυκλοποιητή ελέγχεται αν το προϊόν της PCR περιέχει σε μεγάλη ποσότητα τα επιθυμητά τμήματα DNA με το κατάλληλο μήκος μέσω της διαδικασίας της ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης. Η αγαρόζη είναι ένας πολυσακχαρίτης που αποτελείται από μόρια D-γαλακτόζης και 3,6-ανυδρο-L-γαλακτόζης με υψηλό μοριακό βάρος. Πρακτικά, εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο από μια μονάδα τάσης που βρίσκεται εντός της μονάδας ηλεκτροφόρησης δημιουργώντας διαφορά δυναμικού με αποτέλεσμα τα μόρια που εμφανίζουν ίδιο φορτίο και διαφορετικό μέγεθος να εμφανίζουν διαφορετική κινητικότητα και τελικά να διαχωρίζονται (Μπατρίνου, 2011). Η μετακίνηση του γενετικού υλικού εντός του πηκτώματος αγαρόζης γίνεται από το αρνητικό προς το θετικό ηλεκτρόδιο, αφού τα νουκλεϊκά οξέα χαρακτηρίζονται από αρνητικό φορτίο λόγω της ύπαρξης αρνητικά φορτισμένων φωσφορικών ομάδων σε κάθε ένα από τα νουκλεοτίδια που τα συνθέτουν (Μπατρίνου, 2011). Ο διαχωρισμός του γενετικού υλικού με τη συγκεκριμένη μέθοδο βασίζεται στο διαφορετικό μέγεθος που φέρουν τα μόρια, δηλαδή το μοριακό τους βάρος. Τα μόρια DNA με μεγάλο μοριακό βάρος κινούνται με μικρότερη ταχύτητα εντός του πηκτώματος και διανύουν μικρότερη απόσταση σε αντίθεση με τα μόρια μικρότερου μοριακού βάρους, των οποίων η ταχύτητα είναι μεγαλύτερη και

διανύουν μεγαλύτερες αποστάσεις στο πήκτωμα. Αυτό υποδηλώνει πως η ταχύτητα κίνησης εμφανίζει αντιστρόφως ανάλογη σχέση ως προς το μοριακό βάρος.



Εικόνα 7.3 Διαδικασία ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63688-1.00007-0>

Η αποτελεσματικότητα της αντίδρασης εξασφαλίζεται μέσω της χρήσης λυχνίας υπεριώδους φωτός (UV) μετά τη διαδικασία της ηλεκτροφόρησης. Τα μόρια DNA με επιθυμητό μήκος που πολλαπλασιάζονται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης PCR, εμφανίζουν έντονες ζώνες στην εικόνα της ηλεκτροφόρησης εξαιτίας της φθορίζουσας ουσίας βρωμιούχου αιθιδίου που προστίθεται στα δείγματα κατά τη φόρτωσή τους στην πηκτή αγαρόζης με την ικανότητα να προσδένεται στο DNA και να εμφανίζεται στο υπεριώδες φως (Μπατρίνου, 2011).



Εικόνα 7.4 Παράδειγμα ηλεκτροφόρησης gel αγαρόζης σε λάμπα UV (Gong and Li, 2014)

7.2 Φυσικοχημικές τεχνικές

7.2.1 Προσδιορισμός Ειδικού Βάρους

Ο προσδιορισμός του ειδικού βάρους αποτελεί μια απλή, γρήγορη, εύκολη και χωρίς ιδιαίτερες απαιτήσεις δοκιμή για τον έλεγχο της νοθείας του γάλακτος κυρίως με προσθήκη νερού όταν συνδυάζεται με τον προσδιορισμό του λίπους. Ως ειδικό βάρος γάλακτος (E.B.) ορίζεται σύμφωνα με το άρθρο VI του 92/608/ΕΟΚ:

Το ειδικό βάρος του γάλακτος είναι ο λόγος του βάρους συγκεκριμένου όγκου γάλακτος στους 20 °C προς το βάρος ίδιου όγκου νερού στους 20 °C.

Εικόνα 7.5 Ορισμός ειδικού βάρους γάλακτος (“Επίσημη εφημερίδα E.E. 14/11/92”)

Η τιμή του ειδικού βάρους επηρεάζεται κυρίως από τη θερμοκρασία, τα ανόργανα συστατικά, τους παράγοντες που επιδρούν στη συγκέντρωση βασικών συστατικών του γάλακτος όπως το λίπος, η λακτόζη, οι πρωτεΐνες και από τα ανόργανα συστατικά (Καμιναρίδης Σ., 2009). Οι ελάχιστες τιμές του ειδικού βάρους στους 15°C για γάλατα από διαφορετικές πηγές, σύμφωνα με τον κώδικα Τροφίμων και Ποτών, άρθρο 80, παράγραφος 3, ορίζονται ως:

- 1,028 g/L για το αγελαδινό γάλα
- 1,032 g/L για το κατσικίσιο γάλα
- 1,035 g/L για το πρόβειο γάλα (“Κώδικας-Τροφίμων και Ποτών 2003.pdf,” n.d.)

Η τιμή του ειδικού βάρους ενός γάλακτος εμφανίζει διακυμάνσεις που ενδέχεται να οφείλονται είτε φυσικά λόγω διατήρησης σε χαμηλές θερμοκρασίες, είτε σκόπιμα λόγω μεταβολών στην περιεκτικότητα λίπους και συχνότερα στην προσθήκη νερού ως μέθοδο νοθείας. Σχετικά με την περιεκτικότητα λίπους, ένα γάλα χαμηλής λιποπεριεκτικότητας ή αποβουτυρωμένο γάλα έχει αυξημένη τιμή E.B. (Κεχαγιάς X., 2017). Ομοίως, αν το γάλα έχει υποστεί ψύξη λόγω στερεοποίησης του λίπους σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (Κεχαγιάς X., 2017). Αντιθέτως, ένα γάλα το οποίο είναι νοθευμένο με νερό εμφανίζει χαμηλότερη τιμή ειδικού βάρους από την κανονική τιμή.

7.2.2 Προσδιορισμός Σημείου Πήξης

Το σημείο πήξης του γάλακτος είναι μια σημαντική φυσικοχημική ιδιότητα και προσδιορίζεται ως το σύνολο των ουσιών που βρίσκονται στην υδατική φάση του προϊόντος. Από τα συστατικά του γάλακτος, μεγαλύτερη επίδραση στη τιμή του σημείου πήξης έχουν τα άλατα με σημαντικότερα τα χλωριούχα και λιγότερο τα άλατα νατρίου και καλίου και η λακτόζη ενώ συστατικά όπως οι πρωτεΐνες και το λίπος επηρεάζουν λιγότερο το σημείο πήξης σε ποσοστό περίπου 25% (Καμιναρίδης Σ., 2009). Το σημείο πήξης του γάλακτος διαφοροποιείται ανάλογα με την ογκομετρούμενη οξύτητα και το φαινόμενο της συμύκνωσης ή αραίωσης του γάλακτος. Η τιμή του σημείου πήξεως επηρεάζεται αντιστρόφως ανάλογα με την ογκομετρούμενη οξύτητα, αφού όσο αυξάνεται η οξύτητα το σημείο πήξης μειώνεται. Στην περίπτωση της αραίωσης ή της συμύκνωσης του γάλακτος παρατηρείται αύξηση ή μείωση της τιμής του σημείου πήξης αντίστοιχα.

Το όργανο που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του σημείου πήξης, το κρυσκόπιο, έχει την ικανότητα να ρυθμίζει το κρυσκοπικό σημείο με σκοπό να υπολογιστεί η % ποσότητα του νερού που έχει προστεθεί στο γάλα για να γίνει η νοθεία (Κεχαγιάς Χ., 2017). Ωστόσο, η τιμή αυτή διαφέρει και ανάλογα με το είδος του ζώου από το οποίο προέρχεται το γάλα. Χαρακτηριστικά για το γίδινο γάλα η τιμή κυμαίνεται μεταξύ $-0,540^{\circ}\text{C}$ με $-0,573^{\circ}\text{C}$ ενώ για το αγελαδινό είναι από $-0,530^{\circ}\text{C}$ μέχρι $-0,570^{\circ}\text{C}$ (Κεχαγιάς Χ., 2017).

7.2.3 Φασματοσκοπία Υπέρυθρου Μετασχηματισμού Fourier με αποσβένουσα ολική ανάκλαση (ATR-FTIR)

Η φασματοσκοπία υπέρυθρου είναι μια τεχνική, η οποία δίνει τη δυνατότητα ταυτοποίησης διαφόρων ουσιών ή του χημικού χαρακτηρισμού τους. Το φάσμα της υπέρυθρης ακτινοβολίας διακρίνεται σε τρεις περιοχές:

1. Εγγύς Υπέρυθρο (NIR)

Ονομάζεται η περιοχή κοντά στην ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Αντιστοιχεί σε τιμές κυματαριθμού από $14.000 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$ και χαρακτηρίζεται από ηλεκτρονιακές, δονητικές αλλά και περιστροφικές διεγέρσεις.

2. Μέσο Υπέρυθρο (MIR)

Η περιοχή αυτή του φάσματος αντιστοιχεί σε τιμές κυματαριθμού $4.000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ και χαρακτηρίζεται κυρίως από δονητικές αλλά και περιστροφικές διεγέρσεις.

3. Άπω Υπέρυθρο (FIR)

Ορίζεται ως η περιοχή που η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία απορροφάται από βαρέα άτομα, όπως ανόργανες και οργανομεταλλικές ουσίες. Αντιστοιχεί σε τιμές κυματαριθμού από $4.000 - 10 \text{ cm}^{-1}$ και χαρακτηρίζεται μόνο από περιστροφικές διεγέρσεις.

Η απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην περιοχή του μέσου υπέρυθρου συμβάλλει σημαντικά στην ταυτοποίηση διάφορων οργανικών ενώσεων και πολλών χαρακτηριστικών ομάδων των μορίων, γεγονός που την καθιστά ικανή για οργανικές χημικές αναλύσεις. Ειδικότερα, κατά την ακτινοβολήση στην περιοχή του MIR το μόριο παραμένει στη θεμελιώδη ηλεκτρονιακή του κατάσταση και το φάσμα απορρόφησης που λαμβάνεται αποτελείται από πολλές ταινίες μικρού εύρους που αντιστοιχούν στις δονητικές διεγέρσεις των μοριακών δεσμών. Η περιοχή του MIR διακρίνεται σε τέσσερις υπό-περιοχές ανάλογα με τις απορροφήσεις των επιμέρους δεσμών στο μόριο, τις περιοχές χαρακτηριστικών ομάδων και την περιοχή του δακτυλικού αποτυπώματος. Η διάκριση αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι οι απλοί δεσμοί εμφανίζουν μεγαλύτερο μήκος συγκριτικά με τους διπλούς και τριπλούς δεσμούς με αποτέλεσμα να χρειάζεται μικρότερο ποσό ενέργειας για τη διάσπαση του δεσμού. Οι τέσσερις περιοχές που προκύπτουν είναι οι εξής:

- 4.000 – 2700 cm^{-1}

Το εύρος των τιμών κυματαριθμού, στο οποίο απορροφούν οι βραχείς σ – δεσμοί, όπως C – H, O – H, C – C, N – H και δίνουν δονήσεις τάσης.

- 2.700 – 2.000 cm^{-1}

Η περιοχή κυματαριθμών που απορροφούν οι τριπλοί δεσμοί των μορίων, όπως είναι για παράδειγμα οι δεσμοί $\text{C} \equiv \text{C}$, $\text{C} \equiv \text{N}$, ή οι διαδοχικοί διπλοί δεσμοί όπως $\text{C} = \text{C} = \text{C}$, $\text{N} = \text{C} = \text{O}$ δίνοντας δονήσεις τάσης.

- 2.000 – 1.500 cm^{-1}

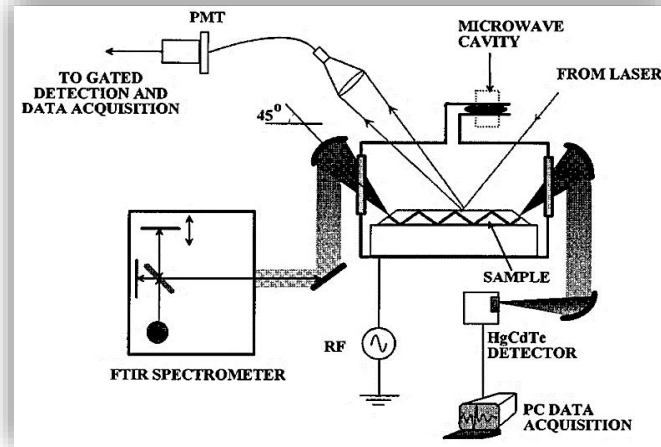
Το εύρος των τιμών κυματαριθμού, στο οποίο απορροφούν οι διπλοί δεσμοί, όπως οι δεσμοί $\text{C} = \text{C}$, $\text{C} = \text{N}$, $\text{N} = \text{O}$, $\text{C} = \text{O}$ δίνοντας δονήσεις τάσης.

- 1.500 – 400 cm^{-1}

Η περιοχή που απορροφούν οι υπόλοιποι σ – δεσμοί δίνοντας δονήσεις τάσης αλλά και κάμψης. Ονομάζεται περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος και είναι ιδιαίτερα σημαντική για την αναγνώριση χαρακτηριστικών ενώσεων, καθώς οι χημικές ενώσεις διαφέρουν ως προς την κατανομή των ταινιών τους όταν πρόκειται για καθαρές ουσίες και πρότυπα τρόφιμα.

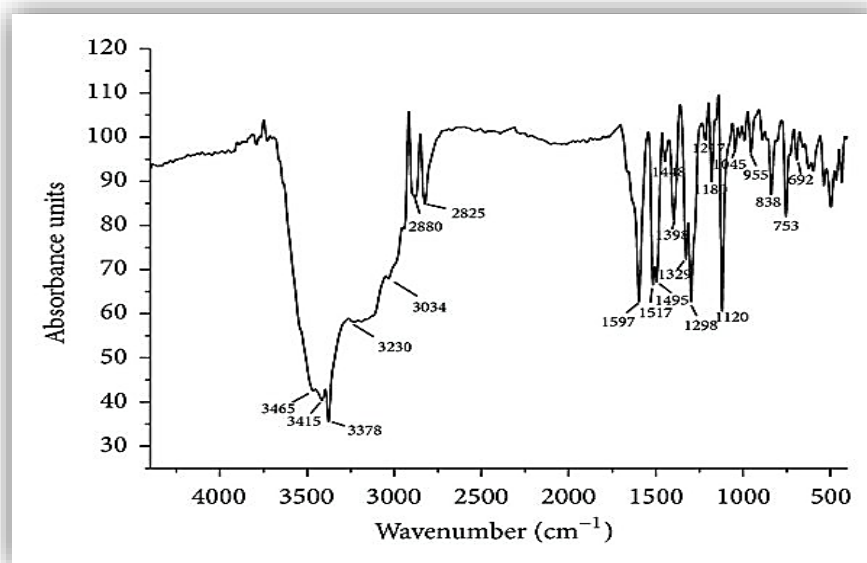
Η Φασματοσκοπία Υπέρυθρου Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης με Μετασχηματισμό Fourier διαφέρει από τις υπόλοιπες διότι βασίζεται στο φαινόμενο της ολικής ανάκλασης ή αλλιώς ολικής εσωτερικής ανάκλασης. Για να πραγματοποιηθεί η ολική ανάκλαση μεταξύ δύο υλικών είναι απαραίτητο να γίνει διάδοση της ακτινοβολίας με τη μορφή μιας δέσμης από ένα μέσο που εμφανίζει μεγάλο δείκτη διάθλασης σε ένα άλλο που θα έχει μικρότερο δείκτη διάθλασης. Χαρακτηριστικό στοιχείο της τεχνικής ATR-FTIR αποτελεί ο κρύσταλλος, στον οποίο τοποθετείται πάνω το δείγμα προς ανάλυση και λειτουργεί ως το στοιχείο που προκαλεί την εσωτερική ανάκλαση. Είναι διαφανής και χαρακτηρίζεται από υψηλό δείκτη διάθλασης που υποδηλώνει πως αν η υπέρυθη ακτινοβολία πέσει πάνω στον κρύσταλλο με συγκεκριμένη γωνία πρόσπτωσης, συνήθως 45° , τότε ο κρύσταλλος προκαλεί πολλαπλές ανακλάσεις και κάποιες από αυτές απορροφώνται πολλές φορές από τη διεπιφάνεια του κρυστάλλου με το δείγμα, φτάνοντας τελικά στο εσωτερικό του με τη μορφή ενός κύματος συγκεκριμένου μήκους κύματος (“Real time in situ monitoring of surfaces during glow discharge processing NH_3 and H_2 plasma passivation of GaAs.pdf,” n.d.). Εντός του δείγματος το κύμα

αυτό εξασθενεί στην περιοχή του υπέρυθρου φάσματος, δηλαδή στο εύρος που απορροφά ακτινοβολία το δείγμα ενώ οι υπόλοιπες ανακλάσεις οδηγούνται στον ανιχνευτή του οργάνου.



Εικόνα 7.6 Ανάλυση φασματομέτρου FTIR (“Real time in situ monitoring of surfaces during glow discharge processing NH₃ and H₂ plasma passivation of GaAs.pdf,” n.d.)

Το φάσμα απορρόφησης προκύπτει τελικά από την αποσβένουσα ακτινοβολία συναρτήσεως του εύρους κυματηριθμού και διαφέρει από τα συμβατικά φάσματα απορρόφησης κυρίως ως προς την ένταση των ταινιών απορρόφησης σε υψηλότερα μήκη κύματος (Xie et al., 2015).



Εικόνα 7.7 Παράδειγμα φάσματος FTIR με χαρακτηριστικές ταινίες απορρόφησης (Xie et al., 2015)

7.2.4 Προσδιορισμός χρώματος

Η μελέτη του χρώματος μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα μεγάλο εύρος τροφίμων, εφόσον είναι εύκολη στη χρήση, χαρακτηρίζεται από μεγάλη ακρίβεια αποτελεσμάτων και έχει χαμηλό κόστος χωρίς να απαιτείται ιδιαίτερη επεξεργασία των δειγμάτων πριν από την ανάλυση. Τόσο το αγελαδινό όσο και το κατσικίσιο γάλα εμφανίζουν κοινά χαρακτηριστικά ως προς τη σύνθεση τους, ωστόσο διαφέρουν ως προς την ποιότητα και την ποσότητα βασικών συστατικών, όπως οι πρωτεΐνες και το λίπος. Το χρώμα του γάλακτος επηρεάζεται κυρίως από το λίπος, από τις χρωστικές και το φωσφορικό ασβέστιο που είναι συνδεδεμένο με τις καζεΐνες (Chudy et al., 2020). Όσον αφορά τις χρωστικές, επηρεάζουν το χρώμα του γάλακτος και οι δύο κατηγορίες που βρίσκονται στο γάλα, δηλαδή οι υδατοδιαλυτές και οι λιποδιαλυτές. Από την κατηγορία των υδατοδιαλυτών χρωστικών σημαντικότερη είναι η βιταμίνη Β2 ή αλλιώς ριβοφλαβίνη, η οποία προσδίδει το κίτρινο χρώμα του γάλακτος. Από τις λιποδιαλυτές χρωστικές, αυτές που επηρεάζουν το χρώμα είναι το β-καροτένιο, οι ξανθοφύλλες και η ρετινόλη. Στο αγελαδινό γάλα περιέχονται κυρίως το β-καροτένιο σε υψηλές συγκεντρώσεις που παραμένει ατούσιο στο γάλα, οι ξανθοφύλλες και η ρετινόλη ενώ στο κατσικίσιο γάλα περιέχονται μόνο οι ξανθοφύλλες και η ρετινόλη ενώ η ποσότητα β-καροτένιου απουσιάζει λόγω μετατροπής του σε βιταμίνη Α (Chudy et al., 2020). Αυτό υποδηλώνει πως τα δύο αυτά είδη γάλακτος μπορούν εύκολα να διακριθούν, διότι η μετατροπή των β-καροτένιων σε βιταμίνη Α προσδίδει ένα λευκότερο χρώμα στο κατσικίσιο γάλα λόγω μεγαλύτερης διάθλασης του φωτός από τα λιποσφαιρίδια ενώ αντίθετα στο αγελαδινό γάλα, η παρουσία των β-καροτένιων δίνει ένα πιο κιτρινωπό χρώμα στο γάλα (Yaman, 2020b).

Το χρωματικό σύστημα που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του χρώματος στηρίζεται στη θεωρία των «αντίθετων χρωμάτων», η οποία υποθέτει ότι οι οπτικές οδοί έχουν νευρώνες για την επεξεργασία της φωτεινότητας, της κόκκινης – πράσινης χρωματικότητας αλλά και της μπλε – κίτρινης χρωματικότητας. Είναι ένα σύστημα, το οποίο εφαρμόζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό του χρώματος χρησιμοποιώντας τις χρωματικές συντεταγμένες L^* , a^* και b^* . Οι όροι του συστήματος CIE L^*, a^*, b^* διαφέρουν από το σύστημα Hunter καθώς βασίζεται στην κυβική ρίζα για το μετασχηματισμό των δεδομένων ενώ οι όροι του συστήματος Hunter βασίζονται στη

τετραγωνική ρίζα. Αναλυτικότερα, οι παραπάνω χρωματικές συντεταγμένες χαρακτηρίζονται ως εξής:

- Χρωματική συντεταγμένη L^*

Ως συντεταγμένη L^* χαρακτηρίζεται ο άξονας «φωτεινότητας», ένας κατακόρυφος άξονας του χρωματικού χώρου, ο οποίος αντιστοιχεί στη φωτεινότητα του χρώματος δείχνοντας πόσο λευκό ή μαύρο είναι ένα χρώμα. Ο άξονας αυτός είναι βαθμονομημένος από το μηδέν που αντιστοιχεί στο μαύρο χρώμα έως το 100 για το λευκό ενώ οι ενδιάμεσες τιμές απεικονίζουν το γκρι χρώμα (Ly et al., 2020).

- Χρωματική συντεταγμένη a^*

Απεικονίζει την «ερυθρότητα» ή αλλιώς κόκκινη – πράσινη χρωματικότητα και αποτελεί έναν από τους δύο οριζόντιους άξονες του χρωματικού χώρου. Η κόκκινη χρωματικότητα αντιστοιχεί στις θετικές τιμές a^* ενώ η πράσινη χρωματικότητα στις αρνητικές τιμές a^* υποδηλώνοντας πόσο κόκκινο ή πράσινο είναι το χρώμα αντίστοιχα (Ly et al., 2020).

- Χρωματική συντεταγμένη b^*

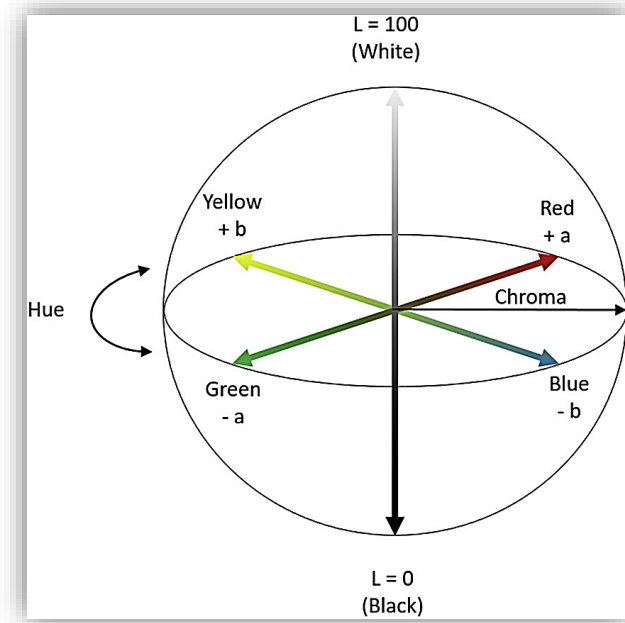
Είναι η «κίτρινη απόχρωση» ή αλλιώς κίτρινη - μπλε χρωματικότητα και αποτελεί το δεύτερο οριζόντιο άξονα του χρωματικού χώρου. Οι θετικές τιμές b^* αντιστοιχούν στην κίτρινη χρωματικότητα ενώ αρνητικές τιμές b^* στη μπλε χρωματικότητα υποδηλώνοντας πόσο μπλε ή κίτρινο είναι το χρώμα αντίστοιχα (Ly et al., 2020).

- Παράμετρος C^*

Είναι η πολική ακτίνα που προσδιορίζεται κατά τη μέτρηση του χρώματος και απεικονίζει την ένταση ή αλλιώς τον κορεσμό, ο οποίος είναι χαμηλός στο αχρωματικό σημείο του άξονα και μέγιστος στην περιφέρεια.

- Παράμετρος h

Είναι η γωνία που σχηματίζει ο άξονας της κόκκινης – πράσινης χρωματικότητας, δηλαδή του άξονα a^* με την πολική ακτίνα C^* κατά τον προσδιορισμό του χρώματος. Η τιμή αυτή απεικονίζει τον τόνο ή αλλιώς χροιά του χρώματος.



Εικόνα 7.8 Χρωματικός χώρος CIELAB με τις παραμέτρους L^* , a^* , b^* (Ly et al., 2020)

Για τη διάκριση των δύο ειδών γάλακτος, κατσικίσιου και αγελαδινού, με τη τεχνική του χρώματος, λαμβάνονται υπόψη οι διαφοροποιήσεις των παραπάνω παραμέτρων. Το κατσικίσιο γάλα, όπως προαναφέρθηκε, εμφανίζει ένα λευκότερο χρώμα, πιο φωτεινό συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα, γεγονός που υποδηλώνει πως το κατσικίσιο γάλα έχει υψηλότερη τιμή φωτεινότητας L^* , και χαμηλότερη τιμή ερυθρότητας a^* και κίτρινης – μπλε χρωματικότητας b^* συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα.

8 Πειραματικό Μέρος

8.1 Προετοιμασία Δειγμάτων

Τα δύο είδη γάλακτος, αγελαδινό και κατσικίσιο συλλέχθηκαν από δύο διαφορετικές φάρμες της χώρας κατά το Μάρτιο του 2023. Για την ανάλυση τους και την παρασκευή των μειγμάτων τα αρχικά αυτά δείγματα προέκυψαν μετά από χειρωνακτικό άρμεγμα και από τις δύο φάρμες αντίστοιχα ώστε να αποφευχθεί η πιθανότητα νοθείας τους. Τα κοπάδια αποτελούνταν από καθαρόαιμα ζώα του είδους που διέφεραν ως προς το στάδιο γαλακτοπαραγωγής, την ηλικία και το βαθμό εκτροφής. Τα δύο δείγματα καταψύχθηκαν στους -16°C και κατόπιν χρησιμοποιήθηκαν στο εργαστήριο έτσι ώστε το κατσικίσιο γάλα να νοθευτεί με προσθήκη αγελαδινού γάλακτος σε συγκεντρώσεις 0, 5, 15, 25, 35 και 100% v/v. Έτσι προέκυψαν συνολικά 6 δείγματα.



Εικόνα 8.1 Δείγματα κατσικίσιου γάλακτος νοθευμένα με 0, 5, 15, 25, 35 και 100 % v/v αγελαδινού γάλακτος

Οι τεχνικές που εφαρμόστηκαν για τον έλεγχο της νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος είναι οι μοριακές και συγκεκριμένα η τεχνική της πολυπλεκτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε συνδυασμό με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης αλλά και οι φυσικοχημικές τεχνικές, όπως η ανάλυση του χρώματος, ο προσδιορισμός του ειδικού βάρους και του σημείου πήξης και η φασματοσκοπία υπέρυθρου αποσβένουσας ολικής ανάκλασης με μετασχηματισμό Fourier (ATR-FTIR).

8.2 Μοριακή ανάλυση DNA με μέθοδο multiplex PCR συνδυασμένη με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης

8.2.1 Υλικά και εξοπλισμός

Για την απομόνωση του DNA

- Δείγματα γάλακτος
- NucleoSpin Food kit απομόνωσης DNA από τρόφιμα της εταιρείας Macherey – Nagel, Duren, Γερμανία
- Σωλήνες συλλογής (falcons) των 50 mL
- Πλαστικά Eppendorf των 1,5 mL

Για τη μέτρηση συγκέντρωσης του DNA

- Δείγματα DNA
- Αιθανόλη

Για την αντίδραση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)

- Δείγματα DNA γάλακτος
- HRM mix
- Ζεύγος εκκινητών για την πρόσδεση σε αγελαδινό DNA της εταιρείας Thermo Fisher
- Ζεύγος εκκινητών για την πρόσδεση σε κατσικίσιο DNA της εταιρείας Eurofins Genomics
- Δις -απεσταγμένο νερό
- Αποστειρωμένα πλαστικά tips
- Πλαστικά Eppendorf των 1,5 mL
- Ειδικοί σωλήνες (PCR tubes)

Για την ηλεκτροφόρηση

- Δείγματα από την αντίδραση PCR

- Αγαρόζη
- Ρυθμιστικό διάλυμα TBE 10x
- Διάλυμα βρωμιούχου αιθιδίου (10x EtBr) 10 mg/mL
- Υγρό ηλεκτροφόρησης (για 300 mL διαλύματος προστίθενται 30 mL TBE σε 270 mL απεσταγμένο νερό)
- Χρωστική φόρτωσης (Gel Loading Dye Purple Buffer 6x, BioLabs, New England)
- Μάρτυρας μοριακών μεγεθών (Quick-Load Purple 100 bp DNA Ladder, BioLabs, New England)
- Κωνική φιάλη των 250 mL
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 100 mL
- Ανοξειδωτή σπάτουλα
- Αποστειρωμένα ρύγχη μικροπιπετών 20 μ L
- Καλούπι για πήκτωμα αγαρόζης μαζί με «χτενάκια»
- Γάντια

Εξοπλισμός

- Αναλυτικός ζυγός
- Φυγόκεντρος
- Θερμομπλόκ
- Συσκευή Vortex
- Φασματοφωτόμετρο
- Θερμοκυκλοποιητής
- Φούρνος μικροκυμάτων
- Συσκευή ηλεκτροφόρησης
- Μονάδα τάσης ηλεκτροφόρησης
- Συσκευή με λυχνία UV
- Αυτόματες ρυθμιζόμενες μικροπιπέτες PIPETMAN GILSON Classic (20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L)

Εξοπλισμός με τη σειρά που χρησιμοποιήθηκε αναλυτικά

Απομόνωση του DNA



Εικόνα 8.2 Φυγόκεντρος

Μοντέλο	SL 16 Centrifuge
Εταιρεία	Thermo Scientific™
Χώρα Προέλευσης	Ελλάδα



Εικόνα 8.3 Θερμομπλόκ

Μοντέλο	M503-HBD
Εταιρεία	Artiglass
Χώρα Προέλευσης	Ιταλία



Εικόνα 8.4 Συσκευή Vortex

Μοντέλο	Vortex V-1 plus
Εταιρεία	Biosan
Χώρα Προέλευσης	Λετονία

Μέτρηση συγκέντρωσης του DNA



Μοντέλο	Epoch™ Microplate Spectrophotometer
Εταιρεία	Biotek
Χώρα Προέλευσης	Η.Π.Α

Εικόνα 8.5 Φασματοφωτόμετρο

Αντίδραση της πολυπλεκτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)



Μοντέλο	Veriti Dx Thermal Cycler
Εταιρεία	Thermo Fisher Scientific
Χώρα Προέλευσης	Αυστρία

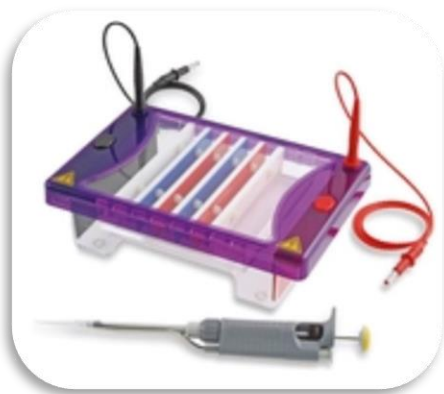
Εικόνα 8.6 Θερμοκυκλοποιητής

Ηλεκτροφόρηση



Μοντέλο	Precisa-202A
Εταιρεία	Precisa
Χώρα Προέλευσης	Γερμανία

Εικόνα 8.7 Αναλυτικός ζυγός



Μοντέλο	MultiSUB Midi-96
Εταιρεία	Cleaver Scientific
Χώρα Προέλευσης	Ηνωμένο Βασίλειο

Εικόνα 8.8 Μονάδα ηλεκτροφόρησης



Μοντέλο	Lively 300V Power Supply, MP-310
Εταιρεία	Major Science
Χώρα Προέλευσης	Η.Π.Α

Εικόνα 8.9 Τροφοδοτικό ηλεκτροφόρησης



Μοντέλο	MiniBis Pro
Εταιρεία	Bio-Imaging Systems
Χώρα Προέλευσης	Ισραήλ

Εικόνα 8.10 Συσκευή με λυχνία UV

8.2.2 Μεθοδολογία

8.2.2.1 Απομόνωση DNA

Η διαδικασία απομόνωσης του DNA των δειγμάτων συνεχίζεται με τη βοήθεια ενός κιτ όπως φαίνεται και παρακάτω από το πρωτόκολλο απομόνωσης. Το κιτ που χρησιμοποιήθηκε είναι το NucleoSpin Food της εταιρείας Macherey – Nagel. Πριν από την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να προθερμανθεί το Lysis Buffer (CF) στους 65°C και το Elution Buffer (CE) στους 70°C.

Πρωτόκολλο απομόνωσης DNA από δείγματα γάλακτος

1. Προετοιμασία δειγμάτων

Για να επιτευχθεί η απομόνωση του γονιδιώματος από κάθε δείγμα γάλακτος επιλέχθηκαν αποστειρωμένα falcon των 50 mL και τοποθετήθηκε εντός αυτών ποσότητα περίπου στα 40 mL από κάθε ένα δείγμα γάλακτος. Τα falcon τοποθετήθηκαν εντός της φυγοκέντρου και κατόπιν ρυθμίστηκε η φυγόκεντρος σε ταχύτητα 6200 rpm για διάστημα 10 min. Μετά το πέρας των 10 min, απομακρύνθηκαν από τις ειδικές θέσεις της φυγόκεντρος και έγινε απόχυση του υπερκείμενου από κάθε δείγμα. Το υπερκείμενο περιέχει συστατικά όπως είναι πρωτεΐνες, λίπος, νερό και άλλα υδατοδιαλυτά συστατικά. Έπειτα παραλαβή των κυττάρων που είχαν καθιζάνει.

2. Λύση κυττάρων

Η ποσότητα από τα κύτταρα που λήφθηκαν μετά από τη φυγοκέντρηση τοποθετήθηκαν σε ένα erpendorf των 2mL, προστέθηκαν 550 μL από το Lysis Buffer (CF) που έχει προθερμανθεί στους 65°C και αναμίχθηκαν προσεκτικά για 15s. Έπειτα προστέθηκαν 10 μL από το διάλυμα Proteinase K και αναμίχθηκαν για άλλα 2-3s. Επωάστηκε στους 65°C για 30 min και κατόπιν πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρηση για 10 min (>10.000 rpm) έως ότου διαχωριστούν οι προσμίξεις και τα υπολείμματα των κυττάρων.

3. Ρύθμιση συνθηκών πρόσδεσης DNA

Το διαυγές υπερκείμενο που προέκυψε μετά τη φυγοκέντρηση μεταφέρθηκε σε ένα σωληνάριο μικροφυγοκέντρωσης ικανό να συγκρατήσει τουλάχιστον τρεις όγκους δείγματος και προστέθηκε αντίστοιχος όγκος από το Binding Buffer (C4) και την

αιθανόλη και ακολούθησε ανάμιξη με τη βοήθεια vortex για 30s. Συγκεκριμένα στα δείγματα που εξετάστηκαν οι όγκοι που προστέθηκαν φαίνονται στον Πίνακα 8.1.

Πίνακας 8.1 Όγκοι αιθανόλης και Binding Buffer (C4) που προστίθενται σε κάθε δείγμα σύμφωνα με τον όγκο του καθαρού υπερκείμενου

Δείγματα	Όγκος (μL)	Binding Buffer C4 (μL)	Αιθανόλη (μL)
K	400	400	400
KA5%	600	600	600
KA15%	400	400	400
KA25%	500	500	500
KA35%	400	400	400
A	200	200	200

4. Πρόσδεση DNA

Για κάθε ένα από τα δείγματα λήφθηκε μια στήλη από το κιτ και τοποθετήθηκε μέσα σε ένα κατάλληλο σωλήνα συλλογής. Μεταφέρθηκαν μέσα σε κάθε στήλη 700 μL από το δείγμα του προηγούμενου σταδίου και έγινε φυγοκέντρηση για 1 min στις 11.000 rpm. Απομακρύνθηκε το υπερκείμενο από το σωλήνα συλλογής και το στάδιο αυτό έγινε για όλο τον όγκο του καθενός από τα δείγματα που προέκυψε από το στάδιο 3.

5. Πλύση και στέγνωμα μεμβράνης πυριτίου

Ακολούθησαν τρεις διαδοχικές πλύσεις.

- Στην πρώτη τοποθετήθηκαν 400 μL από το Wash Buffer (CQW) μέσα στη στήλη και έγινε φυγοκέντρηση για 1 min στις 11.000 rpm και απομακρύνθηκε το υπερκείμενο.
- Στη δεύτερη πλύση προστέθηκαν 700 μL από το Wash Buffer (C5) μέσα στη στήλη και έγινε ξανά φυγοκέντρηση για 1 min στις 11.000 rpm και απομάκρυνση του υπερκείμενου.
- Στη τρίτη πλύση προστέθηκαν 200 μL από το Wash Buffer (C5) μέσα στη στήλη και έγινε φυγοκέντρηση για 2 min στις 11.000 rpm έτσι ώστε να απομακρυνθεί εντελώς όλο το Wash Buffer (C5).

6. Έκλυση DNA

Η στήλη τοποθετήθηκε σε ένα νέο σωλήνα συλλογής 1,5 mL και προστέθηκαν 100 μ L Elution Buffer (CE), που έχει προθερμανθεί στους 70°C, κάθετα στη μεμβράνη της στήλης σε δύο φάσεις. Αρχικά προστέθηκαν τα 50 μ L, αφήνεται για 5 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (15-25°C) και κατόπιν έγινε φυγοκέντρηση για 1 min στις 11.000 rpm. Το υπερκείμενο δεν απομακρύνθηκε και η διαδικασία αυτή έγινε ξανά και για τα άλλα 50 μ L από το Elution Buffer (CE). Το υπερκείμενο τελικά συλλέχθηκε σε ένα νέο eppendorf και είναι το DNA που απομονώθηκε.

8.2.2.2 Μέτρηση συγκέντρωσης DNA απομόνωσης

Το φασματοφωτόμετρο μικροπλακών Epoch της εταιρείας Bio Tek αποτελείται από μια μικρή πλακέτα χωρητικότητας 16 δειγμάτων σε ποσότητες έως και 2 μ L, η οποία τοποθετείται σε μια μεγάλη όγκου πλακέτα εντός της συσκευής. Η περιοχή που ελέγχεται είναι στο UV-Vis με μήκος κύματος μεταξύ 200 και 999 nm. Η συσκευή συνδέεται με το λογισμικό Gen5 μέσω υπολογιστή όπου εμφανίζονται οι απορροφήσεις, η συγκέντρωση του DNA και η καθαρότητα του. Λήφθηκε με τη βοήθεια μιας μικροπιπέτας ποσότητα 2 μ L για κάθε ένα από τα 6 δείγματα DNA που απομονώθηκαν από τα δείγματα γάλακτος και τοποθετήθηκε με προσοχή πάνω στην πλακέτα Take3. Κατόπιν έγινε σύνδεση με το λογισμικό και τελικά μετά από μια γρήγορη σάρωση μήκους κύματος μεταξύ 200 και 999nm δόθηκε η συγκέντρωση του DNA των δειγμάτων σε ng/ μ L καθώς και οι απορροφήσεις στα 260 και 280nm και η καθαρότητα του κάθε δείγματος.

8.2.2.3 Πολυπλεκτική Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)

Το είδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης που θα χρησιμοποιηθεί είναι η πολυπλεκτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ή αλλιώς multiplex PCR. Σε αυτό το είδος PCR μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολλά διαφορετικά ζεύγη εκκινητών ταυτόχρονα για τον πολλαπλασιασμό πολλών αλληλουχιών. Σύμφωνα με το πρωτόκολλο που εφαρμόστηκε οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για την πρόσδεση με το DNA που περιέχεται στο κατσικίσιο γάλα είναι οι παρακάτω.

- Forward εκκινητής (GOATFORW): 5'-CCA ACA TGC GTA TCC CGT-3'
- Reverse εκκινητής (GOATREV): 5'-AGC GGA TGC ATG ATG AAA TG-3'

Ο εκκινητής GOATREV έχει θερμοκρασία υβριδισμού στους 55,3°C ενώ ο εκκινητής GOATFORW εμφανίζει θερμοκρασία υβριδισμού στους 56,0°C. Η σύνδεση των εκκινητών αυτών δίνει θραύσμα στην ηλεκτροφόρηση στα 444 bp. Αντίστοιχα, οι αλληλουχίες των εκκινητών που προσδένονται στο DNA που περιέχεται στο αγελαδινό γάλα είναι:

- Forward εκκινητής (COWFORW): 5'-CAA TAA CTC AAC ACA GAA TTT GC-3' και
- Reverse εκκινητής (COWREV): 5'-CGT GAT CTA ATG GTA AGG AAT A-3'

Ο εκκινητής COWFORW έχει θερμοκρασία υβριδισμού στους 55,3°C ενώ ο εκκινητής COWREV εμφανίζει θερμοκρασία υβριδισμού στους 54,7°C. Η σύνδεση των παραπάνω εκκινητών δίνει θραύσμα στην ηλεκτροφόρηση στα 300 bp. Όπως γίνεται αντιληπτό υπάρχει διαφορά μεταξύ των ζευγών βάσεων στις οποίες προσδένονται οι εκκινητές στο γονιδίωμα μεταξύ κατσικίσιου και αγελαδινού γάλακτος γεγονός στο οποίο βασίζεται και η ανίχνευση νοθείας εξαιτίας της προσθήκης ποσότητας αγελαδινού στο κατσικίσιο γάλα. Η θερμοκρασία υβριδισμού που επιλέχθηκε για τη διαδικασία της συγκεκριμένης αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης είναι τέτοια έτσι ώστε όλοι οι εκκινητές να μπορούν να έχουν την ίδια θερμοκρασία υβριδισμού. Συγκεκριμένα, η θερμοκρασία υβριδισμού που επιλέχθηκε είναι 55,0°C.

Διαδικασία Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR)

Η χρήση της multiplex PCR υπάγεται στη χρήση δύο ζευγών εκκινητών για την ανά-
λυση της παραπάνω νοθείας.

- Υπολογίστηκαν οι ποσότητες που χρειάστηκε να προστεθούν για να δημιουργηθεί η αντίδραση PCR στα ειδικά σωληνάκια με τελικό όγκο τα 50 μL .
- Οι εκκινητές ήταν αποθηκευμένοι στους -20°C και ένα μέρος τους αραιώθηκε σε τελική συγκέντρωση 10 pmol/ μL .
- Δημιουργήθηκαν δύο διαφορετικά μείγματα PCR σε δύο σωλήνες συλλογής των 2 mL. Το ένα μίγμα περιείχε τις κατάλληλες ποσότητες από το HRM mix, το ζεύγος εκκινητών που δεσμεύονται στο κατάλληλο γονίδιο του κατσικίσιου γάλακτος και το δις-απεσταγμένο νερό όπως φαίνονται στον Πίνακα 8.2. Ομοίως, το δεύτερο μίγμα περιείχε τις ίδιες ποσότητες αυτών των συστατικών με τη διαφορά όμως ότι αντί για το ζεύγος εκκινητών που δεσμεύονται στο κατσικίσιο DNA χρησιμοποιήθηκε ένα άλλο ζεύγος εκκινητών, το οποίο δεσμεύεται στο κατάλληλο γονίδιο του αγελαδινού γάλακτος.

Πίνακας 8.2 Σχεδιασμός της αντίδρασης PCR

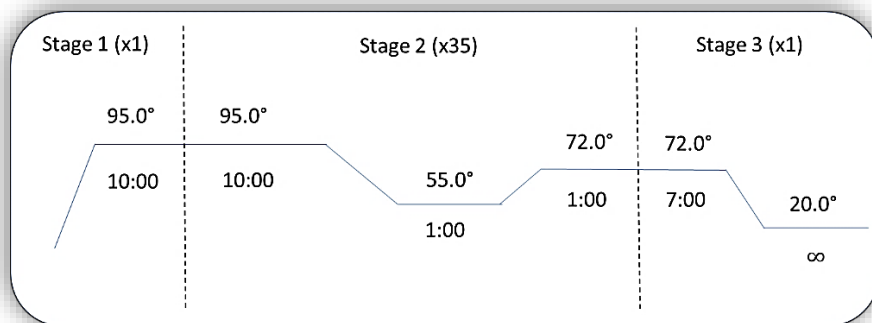
Αντιδραστήρια	Mix Goat	Ποσότητες για Mix Goat (μL)	Mix Cow	Ποσότητες για Mix Cow (μL)
DNA (δείγματα)	+	10	+	10
HRM mix	+	25	+	25
Forward εκκινητής για κατσικίσιο DNA	+	1	-	-
Reverse εκκινητής για κατσικίσιο DNA	+	1	-	-
Forward εκκινητής για αγελαδινό DNA	-	-	+	1
Reverse εκκινητής για αγελαδινό DNA	-	-	+	1
H ₂ O	+	13	+	13
Τελικός όγκος (μL)		50		50

- Λήφθηκαν δύο σειρές από ειδικά σωληνάκια PCR για κάθε ένα από τα δείγματα και ένα για το αρνητικό.
- Στη μια σειρά των ειδικών σωλήνων τοποθετήθηκε η ποσότητα του μείγματος με τους εκκινητές του κατσικίσιου γάλακτος ενώ στη δεύτερη σειρά προστέθηκε ποσότητα από τους εκκινητές του αγελαδινού γάλακτος. Κατόπιν, σε κάθε μια σειρά προστέθηκε ποσότητα DNA από τα δείγματα εκτός από το αρνητικό δείγμα, στο οποίο τοποθετήθηκαν όλα τα συστατικά της αντίδρασης και αντί για δείγμα DNA προστέθηκε δις-απεσταγμένο νερό σε ίση ποσότητα.
- Οι ειδικοί σωλήνες για PCR τοποθετήθηκαν μέσα στον θερμοκυκλοποιητή και επιλέχθηκε το κατάλληλο πρόγραμμα με θερμοκρασία 55°C έτσι ώστε να γίνει υβριδοποίηση και επιμήκυνση των εκκινητών.

Πίνακας 8.3 Συνθήκες που ρυθμίζονται για την μέθοδο PCR

Στάδια	Διαδικασίες σε κάθε στάδιο	Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (min)	Αριθμός κύκλων
1 ^ο	Ενεργοποίηση ενζύμου & αρχική αποδιάταξη DNA	95,0	10	1
2 ^ο	Αποδιάταξη DNA	95,0	1	35
	Υβριδοποίηση εκκινητών	55,0	1	
	Επιμήκυνση	72,0	1	
3 ^ο	Τελική επιμήκυνση	72,0	7	1
	Συντήρηση	20,0	∞	

Οι συνθήκες που παρουσιάζονται παραπάνω για την επίτευξη της αντίδρασης PCR εμφανίζονται με τη μορφή γραφήματος, όπως απεικονίζεται στο θερμοκυκλοποιητή σε όλη τη διάρκεια της αντίδρασης.



Εικόνα 8.11 Στάδια αντίδρασης PCR κατά τη διάρκεια του πειράματος

8.2.2.4 Διαχωρισμός DNA με τη τεχνική της ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης

Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων επιλέχθηκε η μέθοδος της ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης. Ο διαχωρισμός και η ταυτοποίηση της νοθείας των δειγμάτων κασικίσιου με αυξανόμενες ποσότητες αγελαδινού γάλακτος πραγματοποιήθηκε μετά από τη χρήση λυχνίας υπεριώδους ακτινοβολίας (UV).

Παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης

- Ζυγίστηκαν 2,0 g αγαρόζης σε κωνική φιάλη των και προστέθηκαν 100 mL ρυθμιστικού διαλύματος TBE οπότε προέκυψε πήκτωμα αγαρόζης 2%.
- Η κωνική φιάλη θερμάνθηκε σε φούρνο μικροκυμάτων ανακινώντας καλά έως ότου διαλυθεί η αγαρόζη.
- Προστέθηκε με προσοχή το βρωμιούχο αιθίδιο σε συγκέντρωση 0,5 μg/ml μέσα στην κωνική φιάλη και ανακινήθηκε ελαφρώς για ομοιόμορφη κατανομή του διαλύματος. Το βρωμιούχο αιθίδιο είναι μέτρια τοξικό και για αυτό κρίνεται απαραίτητη η χρήση γαντιών.
- Το ζεστό διάλυμα αγαρόζης προστέθηκε άμεσα με προσοχή στο καλούπι της ηλεκτροφόρησης και τοποθετήθηκε στο ψυγείο για 20-30 min έως ότου πήξει.
- Όταν το διάλυμα πήρε τη μορφή gel, δηλαδή είχε πήξει πλήρως η αγαρόζη, αφαιρέθηκε η χτένα που είχε τοποθετηθεί και δημιουργήθηκαν πλέον οι θήκες ή αλλιώς πηγαδάκια.

Διαδικασία ηλεκτροφόρησης

- Το πήκτωμα αγαρόζης βυθίστηκε στη συσκευή της ηλεκτροφόρησης, η οποία είχε προηγουμένως γεμίσει με ρυθμιστικό διάλυμα κατάλληλο για ηλεκτροφόρηση.
- Τα δείγματα προετοιμάστηκαν με τη προσθήκη 1 μL Loading Dye Gel και φορτώθηκαν στα πηγαδάκια του πηκτώματος αγαρόζης.
- Κατόπιν, συναρμολογήθηκε η συσκευή της ηλεκτροφόρησης χρησιμοποιώντας μια μονάδα τάσης. Η μονάδα αυτή αποτελείται από δύο ηλεκτρόδια, ένα το οποίο αντιστοιχεί στο αρνητικό φορτίο και ένα στο θετικό φορτίο, που συνδέονται με τη μονάδα ηλεκτροφόρησης που βρίσκεται σε κάθετη διάταξη.
- Η μονάδα ηλεκτροφόρησης συνδέθηκε με τα ηλεκτρόδια της μονάδας τάσης και τέθηκε σε λειτουργία. Η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιήθηκε στα 160 V για 45 min και μετά το πέρας αυτής απομακρύνθηκαν τα ηλεκτρόδια και το πήκτωμα μεταφέρθηκε σε μια συσκευή με λυχνία υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) συνδεδεμένη με υπολογιστή ώστε να ληφθεί η εικόνα της ηλεκτροφόρησης και να ταυτοποιηθούν τα θραύσματα του DNA μέσω φθορισμού που προέκυψαν κατά τη διάρκεια της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης.

8.3 Φυσικοχημικές Τεχνικές

8.3.1 Προσδιορισμός Ειδικού Βάρους

Τα δείγματα εξετάστηκαν ως προς το ειδικό βάρος σε μικρό χρονικό διάστημα μετά το άρμεγμα των ζώων, καθώς η μεγάλη παραμονή τους θα μπορούσε να οδηγήσει σε μεγαλύτερη αποκορύφωση του γάλακτος. Επίσης, τα γάλατα αμέσως μετά το άρμεγμα είχαν αρκετά υψηλή θερμοκρασία, η οποία πλησίαζε στους 38°C και ενδεχομένως να περιείχε ποσότητα αέρα. Όλες αυτές οι συνθήκες λήφθηκαν υπόψη καθώς μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά την τιμή του ειδικού βάρους.

8.3.1.1 Υλικά και εξοπλισμός

- Δείγματα γάλακτος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (15-25°C)

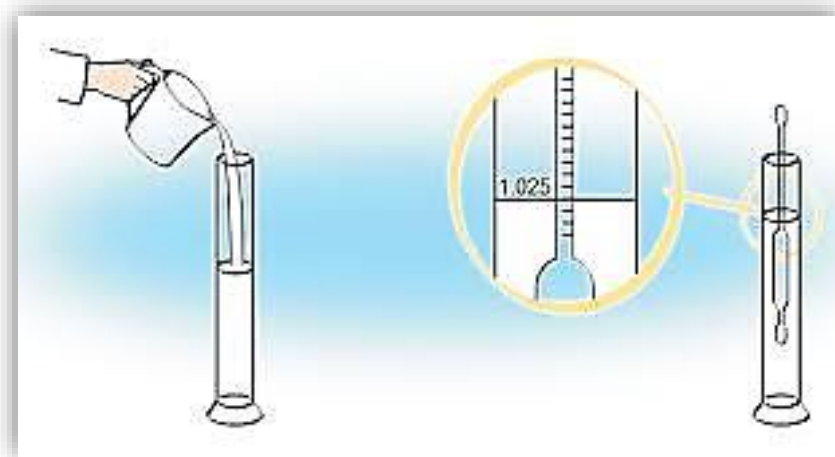


Εικόνα 8.12 Εξοπλισμός για τον προσδιορισμό ειδικού βάρους

α. Γαλακτόμετρα για κάθε ένα από τα δείγματα γάλακτος βαθμολογημένα στους 15°C με κλίμακα θερμοκρασία από 0°C έως 35°C, β. Γυάλινοι ογκομετρικοί κύλινδροι των 250 mL για κάθε ένα από τα δείγματα γάλακτος με διάμετρο διπλάσια από αυτή των γαλακτόμετρων, ώστε να μπορούν να βυθίζονται με ευκολία

8.3.1.2 Μεθοδολογία

Τα δείγματα αναμίχθηκαν καλά με αναστροφή για να γίνει σωστή διασπορά του λίπους σε όλο το γάλα. Έπειτα, μεταφέρθηκαν προσεκτικά μέσα σε κάθε έναν από τους ογκομετρικούς κυλίνδρους υπό κλίση ώστε να μη δημιουργηθεί αφρός στο δείγμα αλλά η ποσότητα να είναι τέτοια έτσι ώστε όταν βυθιστεί το γαλακτόμετρο στον κύλινδρο να μπορεί να γίνει υπερχείλιση του γάλακτος. Κατόπιν, βυθίστηκε το γαλακτόμετρο στον κύλινδρο και αφέθηκε να ισορροπήσει. Αφού επιτεύχθηκε η ισορροπία του οργάνου, έγινε ανάγνωση αρχικά της θερμοκρασίας του γάλακτος και έπειτα της ένδειξης του ειδικού βάρους στο σημείο που αντιστοιχούσε το πάνω μέρος του μηνίσκου.



Εικόνα 8.13 Τρόπος μέτρησης ειδικού βάρους σε δείγμα γάλακτος (Tessema and Tibbo, n.d.)

8.3.2 Προσδιορισμός Σημείου Πήξης

Τα δείγματα του γάλακτος πρέπει να εξετάζονται σε μικρό χρονικό διάστημα μετά το άρμεγμα με στόχο την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, οι οποίοι μπορούν να καταναλώσουν ποσότητες της λακτόζης που περιέχεται στο γάλα και να επηρεάσουν την τελική τιμή του σημείου πήξης. Επιπλέον, τα δείγματα δεν πρέπει να παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στην κατάψυξη και κατόπιν να εξετάζονται ως προς το σημείο πήξης, καθώς επηρεάζεται εξίσου το σημείο πήξης, δίνοντας λανθασμένη εκτίμηση.

8.3.2.1 Υλικά και εξοπλισμός

- Δείγματα γάλακτος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (15 – 25°C)
- Κυψελίδες κρυσκοπίου



Μοντέλο	The Advanced Cryoscope 4D3
Εταιρία	Advanced Instruments, INC
Χώρα Προέλευσης	ΗΠΑ

Εικόνα 8.14 Κρυσκόπιο



Μοντέλο	Lactrol 530
Εταιρία	Advanced Instruments, INC
Χώρα Προέλευσης	ΗΠΑ

Εικόνα 8.15 Πρότυπο διάλυμα (-0,530°)

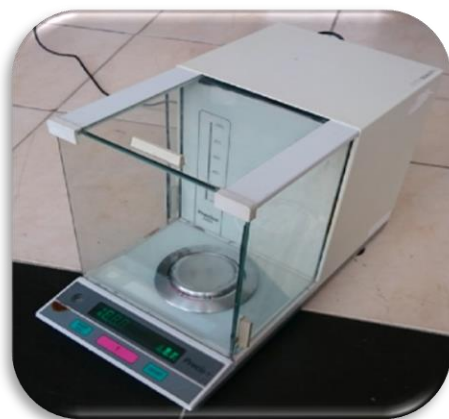
8.3.2.2 Μεθοδολογία

Τα δείγματα γάλακτος αφαιρέθηκαν από την κατάψυξη και παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος έως ότου ξεπαγώσουν πλήρως για να μην υπάρξουν ενδεχόμενα πηγάματα που θα επηρεάσουν τις μετρήσεις. Το κρυσκόπιο αποτελείται από πέντε βασικά μέρη, ένα λουτρό ψύξης με ψυκτικό υγρό θερμοστατικά ελεγχόμενο, ένα θερμίστορα, ο οποίος είναι συνδεδεμένος στο κύκλωμα με τη βοήθεια γαλβανόμετρου, έναν αναδευτήρα δείγματος, ένα σωλήνα υποδοχής του δείγματος και ένα σύστημα ανάγνωσης των μετρήσεων (Κεχαγιάς Χ., 2017). Για τον προσδιορισμό του σημείου πήξης, το κρυσκόπιο μιας θέσης τέθηκε σε λειτουργία και αρχικά χρησιμοποιήθηκε ένα πρότυπο δείγμα για να επιβεβαιωθεί η πηγή του γάλακτος για το οποίο έχει ρυθμιστεί το όργανο. Έπειτα, κάθε ένα από τα δείγματα εξετάστηκε ως προς το σημείο πήξης προσθέτοντας μια μικρή ποσότητα γάλακτος στην κυψελίδα μέχρι τη χαραγή και κατόπιν η κυψελίδα τοποθετήθηκε στον σωλήνα υποδοχής του δείγματος. Με την έναρξη του κρυσκοπίου, η κυψελίδα τοποθετήθηκε εντός του λουτρού ψύξης που περιέχει ψυκτικό υγρό έως ότου να φτάσει στο σημείο πήξης του γάλακτος και στη συνέχεια η ένδειξη διαβάστηκε από το σύστημα ανάγνωσης. Η διαδικασία αυτή ακολουθήθηκε για όλα τα δείγματα γάλακτος που εξετάστηκαν και για κάθε ένα έγινε ανάγνωση της τιμής του σημείου πήξης στο σύστημα ανάγνωσης του οργάνου.

8.3.3 Φασματοσκοπία Υπέρυθρου Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης με Μετασχηματισμό Fourier (ATR-FTIR)

8.3.3.1 Υλικά και εξοπλισμός

- Δείγματα γάλακτος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (15-25°C)
- Γυάλινα τρυβλία Petri
- Σπάτουλα εργαστηρίου



Μοντέλο	Precisa-202A
Εταιρεία	Precisa
Χώρα Προέλευσης	Γερμανία

Εικόνα 8.16 Αναλυτικός ζυγός



Μοντέλο	Vacutherm VT 6025
Εταιρεία	Heraeus In- struments
Χώρα Προέλευσης	Γερμανία

Εικόνα 8.17 Φούρνος κενού



Μοντέλο	IRAffinity-1S
Εταιρεία	Shimadzu
Χώρα Προέλευσης	Ιαπωνία

Εικόνα 8.18 Φασματοφωτόμετρο υπέρυθρων μετασχηματισμού Fourier

8.3.3.2 Μεθοδολογία

Για τη τεχνική της Φασματοσκοπίας υπέρυθρου αποσβένουσας ολικής ανάκλασης με μετασχηματισμό Fourier (ATR-FTIR) τα 6 δείγματα γάλακτος ζυγίστηκαν σε ποσότητα των 5 g και τοποθετήθηκαν σε ειδικά τρυβλία Petri. Τα δείγματα χωρίστηκαν σε δυο σειρές και προέκυψαν δύο επαναλαμβανόμενα υποδείγματα, α και β, για κάθε ένα από τα αρχικά. Έπειτα, τοποθετήθηκαν μέσα σε φούρνο κενού στους 71,0°C και παρέμειναν σε αυτόν μέχρι να απομακρυνθεί το μεγαλύτερο μέρος της υγρασίας τους. Κατόπιν, απομακρύνθηκαν από το φούρνο κενού, μετατράπηκαν σε μορφή σκόνης και εξετάστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου χρησιμοποιώντας το φασματόμετρο FTIR συνοδευόμενο με το λογισμικό LabSolutions IR για την επεξεργασία και ανάλυση. Λήφθηκε μικρή ποσότητα από κάθε δείγμα ώστε να ελεγχθεί στην περιοχή του φάσματος από 4000 έως 400 cm^{-1} . Το όργανο τέθηκε σε λειτουργία και τοποθετήθηκε μια μικρή ποσότητα από τη σκόνη κάθε δείγματος στην ειδική υποδοχή του οργάνου, στην οποία βρίσκεται ο διαφανής κρύσταλλος. Το δείγμα, στη συνέχεια, πιέστηκε προς τα κάτω με τη βοήθεια της ειδικής πρέσας που διαθέτει το όργανο για να εξασφαλιστεί η βέλτιστη επαφή του δείγματος με τον κρύσταλλο. Το όργανο ξεκίνησε να λειτουργεί παρέχοντας ακτινοβολία και ξεκίνησε η καταγραφή του φάσματος απορρόφησης στο σύστημα από την αποσβένουσα ακτινοβολία συναρτήσεως του εύρους κυματαριθμού. Τα φάσματα απορρόφησης μετά την ανάλυση επεξεργάστηκαν μέσω διόρθωσης του ATR, κανονικοποίησης και παραγωγοποίησης.

8.3.4 Μελέτη χρώματος

8.3.4.1 Υλικά και εξοπλισμός

- Δείγματα γάλακτος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (15 – 25°C)
- Τρυβλία Petri

. Φορητό χρωματόμετρο



Μοντέλο	CR-400
Εταιρεία	KONICA MI- NOLTA
Χώρα Προέλευσης	Ιαπωνία

Εικόνα 8.19 Φορητό χρωματόμετρο

8.3.4.2 Μεθοδολογία

Για τον προσδιορισμό του χρώματος, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ίσες ποσότητες σε ειδικά τρυβλία Petri δημιουργώντας μια ομοιόμορφη στρώση και κατόπιν καλύφθηκαν. Η υποδοχή του φορητού χρωματόμετρου τοποθετήθηκε στην επιφάνεια του κάθε τρυβλίου αφού προηγήθηκε βαθμονόμηση με μια λευκή τυπική πλάκα και λήφθηκαν τρεις τυχαίες μετρήσεις από κάθε δείγμα. Για τις παραμέτρους του χρώματος L^* , a^* , b^* , h και C^* για κάθε ένα από τα δείγματα υπολογίστηκε ο μέσος όρος των τριών μετρήσεων που προηγήθηκαν.

9 Αποτελέσματα τεχνικών

9.1 Μοριακές τεχνικές

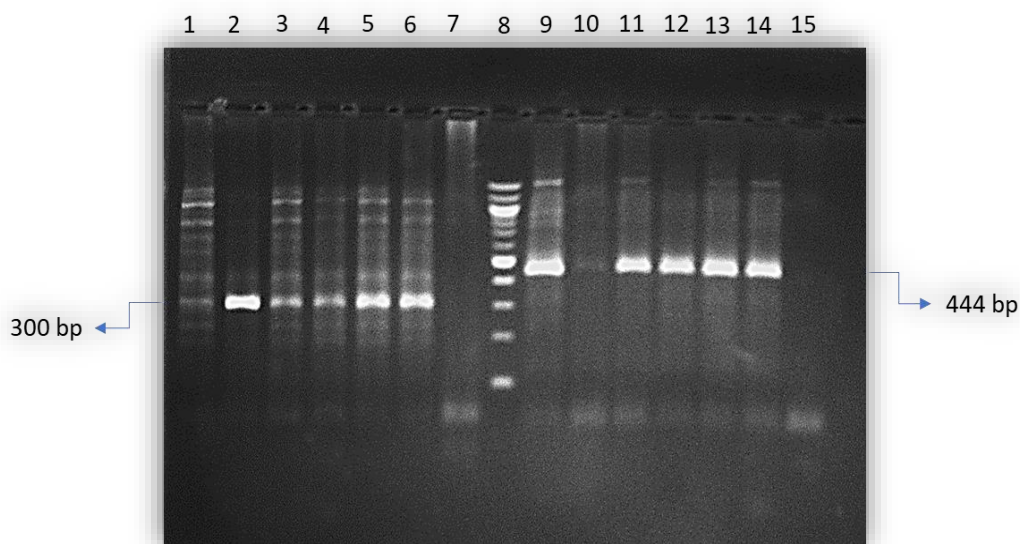
Για την μοριακή ανάλυση των δειγμάτων γάλακτος με την μέθοδο της multiplex PCR απομονώθηκε το DNA από έξι διαφορετικά δείγματα κατσικίσιου γάλακτος που προέκυψαν με ανάμιξη με ποσότητα αγελαδινού σε συγκεντρώσεις 0, 5, 15, 25 και 35% v/v. Η ποσότητα αλλά και η καθαρότητα των δειγμάτων που συλλέχθηκαν ελέγχθηκε με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου και παρατηρήθηκε πως όλα τα δείγματα που μετρήθηκαν είχαν συγκέντρωση περίπου 12,3 – 36 ng/μL και υψηλή καθαρότητα που κυμαίνονταν από 1,604 – 1,862.

Πίνακας 9.1 Συγκέντρωση και καθαρότητα DNA από δείγματα γάλακτος

Δείγματα DNA	Καθαρότητα (260/280)	Συγκέντρωση (ng/μL)
K	1,833	22,081
KA5%	1,857	13,083
KA15%	1,604	35,937
KA25%	1,862	17,722
KA35%	1,751	13,824
A	1,714	12,278

Το DNA που απομονώθηκε θεωρείται καθαρό καθώς η αναλογία των απορροφήσεων στα 260 nm και 280 nm είναι αρκετά υψηλή και εντός του αναμενόμενου εύρους. Κυρίως τα δείγματα με τιμές μεταξύ 1,8 έως 2,0 θεωρούνται απαλλαγμένα από πρωτεΐνες ή άλλες μολύνσεις. Ωστόσο, αν η αναλογία αυτή υπερβαίνει τη τιμή 2,0 σημαίνει πως το δείγμα εμφανίζει προσμίξεις με RNA ενώ αν η τιμή είναι χαμηλότερη του 1,8 τότε το DNA ενδεχομένως να περιέχει προσμίξεις πρωτεϊνών. Μετά την PCR ενίσχυση των συγκεκριμένων τμημάτων γονιδίων που μελετήθηκαν για κάθε είδος γάλακτος ακολούθησε ηλεκτροφόρηση τους σε πηκτή αγαρόζης 2% και για τη διαφοροποίηση των θραυσμάτων μεταξύ των διαφορετικών δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε ένας

μάρτυρας γνωστού μοριακού βάρους, το λεγόμενο ladder, με 100 bp. Τα δείγματα που περιείχαν DNA κατσικίσιου γάλακτος έδωσαν θραύσμα στα 444 bp ενώ όσα από τα δείγματα περιείχαν DNA αγελαδινού γάλακτος οδήγησαν σε θραύσμα στα 300 bp όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 9.1 παρακάτω.



Εικόνα 9.1 Αποτέλεσμα ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης 2% w/v με χρώση βρωμιούχου αιθιδίου και χρήση μάρτυρα (Ladder 100 bp)

Από την Εικόνα 9.1 της ηλεκτροφόρησης μπορεί να γίνει διάκριση των δειγμάτων που εξετάστηκαν ως εξής:

- 1 - Κ με ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό γάλα
- 2 - Α με ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό γάλα (θραύσμα στα 300 bp)
- 3 - 5% ΚΑ με ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό γάλα (θραύσμα στα 300 bp)
- 4 - 15% ΚΑ με ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό γάλα (θραύσμα στα 300 bp)
- 5 - 25% ΚΑ με ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό γάλα (θραύσμα στα 300 bp)
- 6 - 35% ΚΑ με ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό γάλα (θραύσμα στα 300 bp)
- 7 - Αρνητικό control
- 8 - Ladder 100 bp
- 9 - Κ με ζεύγος εκκινητών για κατσικίσιο γάλα (θραύσμα στα 444 bp)
- 10 - Α με ζεύγος εκκινητών για κατσικίσιο γάλα

- 11 - 5% ΚΑ με ζεύγος εκκινητών για κατσικίσιο γάλα (θραύσμα στα 444 bp)
- 12 - 15% ΚΑ με ζεύγος εκκινητών για κατσικίσιο γάλα (θραύσμα στα 444 bp)
- 13 - 25% ΚΑ με ζεύγος εκκινητών για κατσικίσιο γάλα (θραύσμα στα 444 bp)
- 14 - 35% ΚΑ με ζεύγος εκκινητών για κατσικίσιο γάλα (θραύσμα στα 444 bp)
- 15 - Αρνητικό control

Από τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης προκύπτει πως γίνεται αρχικά διάκριση μεταξύ γίδινου και αγελαδινού γάλακτος με τη χρήση των δύο ζευγών εκκινητών καθώς στην περιοχή αριστερά του μάρτυρα είναι τα δείγματα DNA μαζί με το αρνητικό control που εξετάστηκαν ως προς την παρουσία αγελαδινού γάλακτος με το ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό DNA ενώ στη δεξιά πλευρά του μάρτυρα βρίσκονται τα δείγματα μαζί με το αρνητικό control που εξετάστηκαν ως προς την παρουσία κατσικίσιου γάλακτος με το ζεύγος εκκινητών για κατσικίσιο DNA. Όπως φαίνεται από την Εικόνα 9.1, το δείγμα 1 που αντιστοιχεί στο καθαρό κατσικίσιο γάλα που ελέγχεται για παρουσία αγελαδινού DNA βγαίνει αρνητικό ενώ το δείγμα 2 που αντιστοιχεί στο καθαρό αγελαδινό γάλα βγαίνει θετικό στην παρουσία αγελαδινού DNA. Αντιθέτως, το δείγμα 9 που αντιστοιχεί στο καθαρό κατσικίσιο γάλα, το οποίο εξετάζεται ως προς την παρουσία κατσικίσιου γάλακτος βγαίνει θετικό ενώ το δείγμα 10, το οποίο αντιστοιχεί στο καθαρό αγελαδινό γάλα βγαίνει αρνητικό ως προς την παρουσία κατσικίσιου DNA.

Τα μείγματα που παρασκευάστηκαν με την προσθήκη αγελαδινού γάλακτος δίνουν θετικό αποτέλεσμα ως προς την παρουσία κατσικίσιου και αγελαδινού DNA αντίστοιχα δημιουργώντας θραύσματα σε διαφορετικές περιοχές. Αξίζει να σημειωθεί πως στην περιοχή αριστερά του μάρτυρα που παρουσιάζεται η ανίχνευση αγελαδινού DNA υπάρχει μια διακύμανση στα θραύσματα που σχετίζονται με την ποσότητα αγελαδινού γάλακτος. Τα δείγματα 3, 4, 5 και 6 αντιστοιχούν στην προσθήκη αγελαδινού γάλακτος στο κατσικίσιο σε ποσοστό 5%, 15%, 25% και 35% αντίστοιχα. Στα δείγματα αυτά φαίνεται ποιοτικά πως όσο αυξάνεται η ποσότητα του αγελαδινού γάλακτος και ειδικά μετά από το ποσοστό του 15% η εικόνα της μπάντας που αντιπροσωπεύει το θραύσμα αυξάνεται πλησιάζοντας την αντίστοιχη μπάντα για το αγελαδινό γάλα. Αυτό μπορεί να παρατηρηθεί και ποσοτικά από την μέτρηση της ευαισθησίας κατά τη διαδικασία της ηλεκτροφόρησης.

Πίνακας 9.2 Σύγκριση δειγμάτων ηλεκτροφόρησης με ζεύγος εκκινητών για αγελαδινό DNA ως προς την ευαισθησία

Δείγματα ηλεκτροφόρησης	Ευαισθησία
2 (δείγμα Α)	69,54
3 (δείγμα ΚΑ5%)	42,67
4 (δείγμα ΚΑ15%)	43,32
5 (δείγμα ΚΑ25%)	66,56
6 (δείγμα ΚΑ35%)	67,54

Σύμφωνα με τον Πίνακα 9.2 η ευαισθησία της ανίχνευσης του αγελαδινού DNA αυξάνεται με την αύξηση της ποσότητας αγελαδινού γάλακτος που προστίθεται σε κάθε ένα από τα δείγματα με τα μείγματα ΚΑ25% και ΚΑ35% να πλησιάζουν ιδιαίτερα την τιμή του καθαρού αγελαδινού γάλακτος.

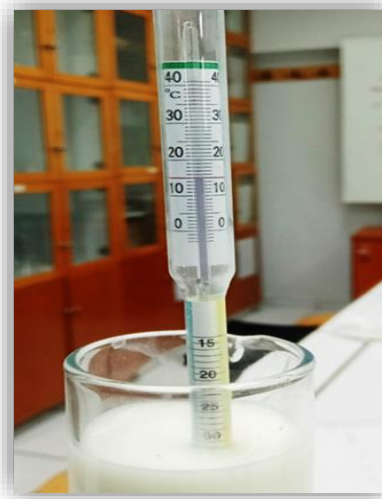
9.2 Φυσικοχημικές τεχνικές

9.2.1 Προσδιορισμός Ειδικού Βάρους

Τα δείγματα πλήρους γάλακτος εξετάστηκαν αμέσως μετά την παραλαβή των δύο ειδών γάλακτος και την παρασκευή των μειγμάτων, έτσι ώστε να μην παραμείνουν για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα και υπάρξει έστω και μια μικρή αποκορύφωση, η οποία θα διαφοροποιούσε τη τιμή του ειδικού βάρους για κάθε ένα από τα δείγματα. Ο προσδιορισμός έγινε με τη χρήση γαλακτόμετρων όπως φαίνεται ενδεικτικά για κάποια από τα δείγματα στις παρακάτω εικόνες.



Εικόνα 9.2 Προσδιορισμός Ε.Β δείγματος Α



Εικόνα 9.3 Προσδιορισμός Ε.Β. για ΚΑ5% και ΚΑ15%



Εικόνα 9.4 Προσδιορισμός Ε.Β. για ΚΑ25%

Οι τιμές που προέκυψαν από τον προσδιορισμό του ειδικού βάρους με τα γαλακτόμετρα παρουσιάζονται στον Πίνακα 9.3.

Πίνακας 9.3 Τιμές Ειδικού Βάρους αρχικά και μετά από διόρθωση

Δείγματα	Θερμοκρασία Μέτρησης (°C)	Αρχική Ένδειξη E.B.	Τελική Ένδειξη E.B.
K	16,0	1,032	1,0322
KA5%	15,0	1,032	1,0320
KA15%	15,0	1,032	1,0320
KA25%	15,5	1,0315	1,0316
KA35%	15,5	1,031	1,0311
A	16,0	1,030	1,0302

Για τα μείγματα 5% και 15% προσθήκης αγελαδινού γάλακτος ο προσδιορισμός του ειδικού βάρους έγινε σε θερμοκρασία 15,0°C που ταυτίζεται με τη θερμοκρασία του γαλακτόμετρου οπότε η τιμή δεν χρειάζεται διόρθωση. Αντιθέτως, για τα υπόλοιπα δείγματα χρειάζεται να γίνει διόρθωση του ειδικού βάρους εφόσον η θερμοκρασία του κάθε δείγματος ήταν υψηλότερη από τη θερμοκρασία βαθμονόμησης των γαλακτόμετρων που χρησιμοποιήθηκαν. Ωστόσο, η τελική τιμή του ειδικού βάρους για αυτά τα δείγματα προκύπτει μετά από την πρόσθεση της διόρθωσης στην αρχική ένδειξη αφού ισχύει $\theta_{\text{δειγμάτων}} > \theta_{\text{γαλακτόμετρου}}$.

- Για το δείγμα καθαρού κατσικίσιου γάλακτος (K) ισχύει:

Διόρθωση: $(\theta_{(K)} - \theta_{\text{γαλακτόμετρου}}) \cdot 0,0002 = (16,0 - 15,0) \cdot 0,0002 = 1 \cdot 0,0002 = 0,0002$ οπότε
 $E.B._{(K)} = 1,032 + 0,0002 = 1,0322 \Rightarrow E.B._{(K)} = 1,0322$

- Για το δείγμα καθαρού αγελαδινού γάλακτος (A) ισχύει:

Διόρθωση: $(\theta_{(A)} - \theta_{\text{γαλακτόμετρου}}) \cdot 0,0002 = (16,0 - 15,0) \cdot 0,0002 = 1 \cdot 0,0002 = 0,0002$ οπότε
 $E.B._{(A)} = 1,030 + 0,0002 = 1,0302 \Rightarrow E.B._{(A)} = 1,0302$

- Για το μείγμα KA25% ισχύει:

Διόρθωση: $(\theta_{25\%} - \theta_{\text{γαλακτόμετρου}}) \cdot 0,0002 = (15,5 - 15,0) \cdot 0,0002 = 0,5 \cdot 0,0002 = 0,0001$
 $E.B._{(25\%)} = 1,0315 + 0,0001 = 1,0316 \Rightarrow E.B._{(25\%)} = 1,0316$

- Για το μείγμα ΚΑ35% ισχύει:

$$\text{Διόρθωση: } (\theta_{35\%} - \theta_{\gamma\alpha\lambda\alpha\kappa\tau\acute{o}\mu\epsilon\tau\rho\upsilon}) \cdot 0,0002 = (15,5 - 15,0) \cdot 0,0002 = 0,5 \cdot 0,0002 = 0,0001$$

$$\text{E.B.}_{(35\%)} = 1,031 + 0,0001 = 1,0322 \Rightarrow \text{E.B.}_{(35\%)} = 1,0311$$

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 9.3 παρατηρείται πως υπάρχει διαφορά στη τιμή του ειδικού βάρους μεταξύ κατσικίσιου και αγελαδινού γάλακτος, η οποία επιβεβαιώνει τις τιμές που ορίζονται από τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών για τα δύο αυτά είδη γάλακτος. Το ειδικό βάρος του κατσικίσιου εμφανίζεται αυξημένο εξαιτίας της μεγαλύτερης περιεκτικότητας λίπους και πρωτεϊνών και ανόργανων συστατικών συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα. Τα ειδικά βάρη των μειγμάτων ακολουθούν μια σταδιακή μείωση όσο αυξάνεται η προσθήκη αγελαδινού γάλακτος, η οποία όμως δεν είναι εύκολα διακριτή στα δύο πρώτα μείγματα προσθήκης αγελαδινού ΚΑ5% και ΚΑ15%. Όμως ξεπερνώντας το ποσοστό προσθήκης 15% παρατηρείται σημαντική μείωση στο ειδικό βάρος με το τελικό μείγμα 35% προσθήκης αγελαδινού να πλησιάζει περισσότερο στο ειδικό βάρος του καθαρού αγελαδινού γάλακτος. Η μείωση που παρατηρείται προκαλείται από τη διαφορετική σύσταση του αγελαδινού γάλακτος και τη μείωση της ποσότητας κατσικίσιου γάλακτος βαθμιαία επηρεάζοντας έτσι και το ειδικό βάρος.

9.2.2 Προσδιορισμός Σημείου Πήξης

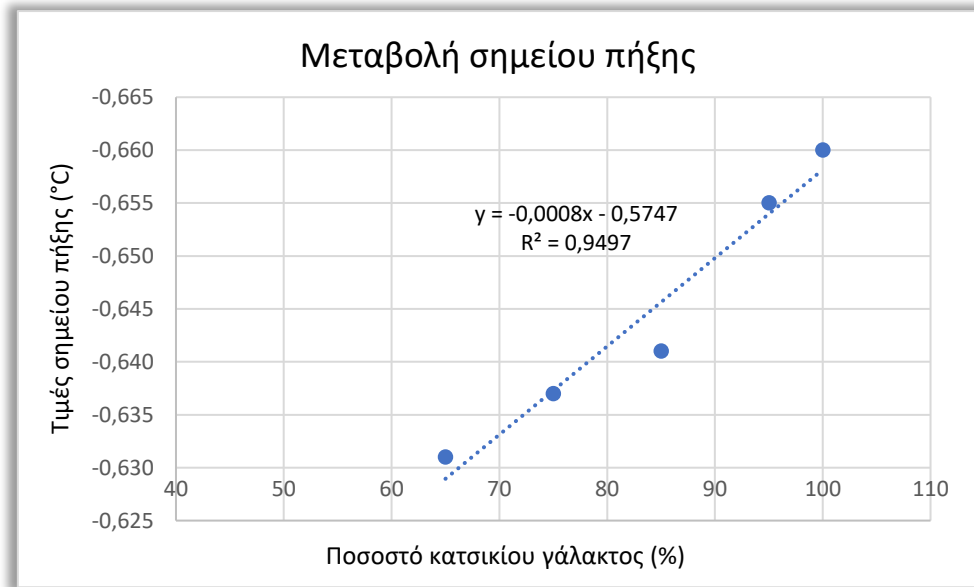
Από τις τιμές που προσδιορίστηκαν με το κρυοσκόπιο παρατηρήθηκε πως το σημείο πήξης των δειγμάτων κυμάνθηκε από -0,660 έως -0,622°C. Το σύνολο των δειγμάτων εμφάνισε γενικώς χαμηλές τιμές σημείου πήξης σε συγκριτικά με τις συνήθεις τιμές που αναφέρονται στη νομοθεσία όπως συνοψίζεται παρακάτω στον Πίνακα 9.4.

Πίνακας 9.4 Τιμές σημείου πήξης

Δείγματα γάλακτος	Σημείο πήξης (°C)
K	-0,660
KA5%	-0,655
KA15%	-0,641
KA25%	-0,637
KA35%	-0,631
A	-0,622

Οι χαμηλότερες τιμές του σημείου πήξης για τα δύο είδη γάλακτος, αγελαδινό και κατσικίσιο, καθώς και των μειγμάτων τους οφείλονται στο γεγονός πως το σημείο πήξης προσδιορίστηκε μετά από κατάψυξη που προηγήθηκε για κάποιο χρονικό διάστημα μικρής ποσότητας από κάθε δείγμα με αποτέλεσμα να αναπτυχθούν μικροοργανισμοί και να καταναλώσουν κάποια ποσότητα από τη λακτόζη του γάλακτος παράγοντας γαλακτικό οξύ και μειώνοντας έτσι το pH του γάλακτος. Η μείωση αυτή του pH οδήγησε σε αύξηση της οξύτητας στα δείγματα προκαλώντας τελικά μείωση του σημείου πήξης. Παρόλο που υπήρξε αυτή η μείωση του σημείου πήξης είναι εμφανής η διαφοροποίηση που υπάρχει μεταξύ των σημείων πήξης για τα δύο καθαρά είδη γάλακτος γεγονός που βοηθά στην διάκριση τους. Το σημείο πήξης για το κατσικίσιο γάλα είναι χαμηλότερο από του αγελαδινού γεγονός που προκαλείται από τη διαφορά σύστασης των δύο ειδών σε ανόργανα άλατα και λακτόζη που επηρεάζουν το σημείο πήξης του γάλακτος σε ποσοστό 75% και λιγότερο στη ποσότητα λίπους και πρωτεϊνών που επηρεάζουν μόνο σε ποσοστό 25%. Όσον αφορά τα μείγματα, είναι εμφανές πως

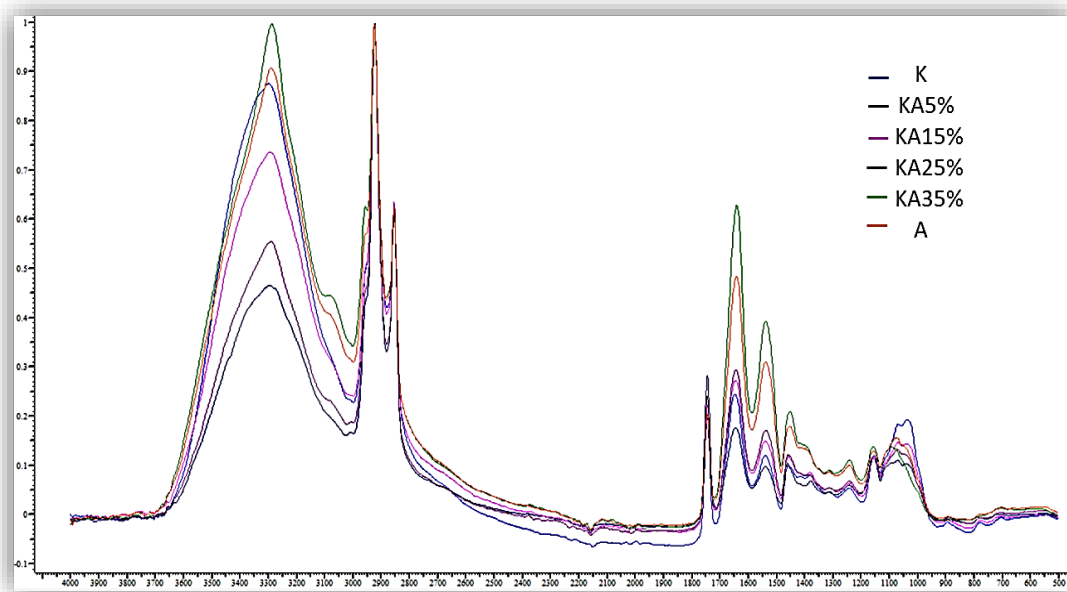
υπάρχει μια αύξηση στο σημείο πήξης όσο αυξάνεται το ποσοστό αγελαδινού γάλακτος που προστίθεται σε κάθε μείγμα γεγονός που επιβεβαιώνεται και από το γράφημα που παρουσιάζεται παρακάτω.



Γράφημα . Μεταβολή σημείου πήξης ανάλογα με το ποσοστό αγελαδινού γάλακτος που προστίθεται

9.2.3 Φασματοσκοπία υπέρυθρου εξασθενημένης ολικής ανάκλασης με μετασχηματισμό Fourier (ATR–FTIR)

Η φασματοσκοπία υπέρυθρου εξασθενημένης ολικής ανάκλασης με μετασχηματισμό Fourier στα δείγματα που εξετάστηκαν έδωσε 6 κατηγορίες διαφορετικών φασμάτων στο εύρος από 4000 έως 500 cm^{-1} .



Εικόνα 9.5 Επικάλυψη φασμάτων ATR – FTIR γάλακτος στο εύρος 4000-500 cm^{-1} .

Κάθε ένα από τα 6 δείγματα γάλακτος δίνει ένα διαφορετικού χρώματος φάσμα όπως φαίνεται και στο υπόμνημα. Τα παραπάνω φάσματα επεξεργάστηκαν έτσι ώστε να προκύψουν οι ταινίες απορρόφησης για κάθε ένα από τα δείγματα και να γίνει αποτίμηση των φασμάτων. Όλα τα φάσματα εμφάνισαν παρόμοιες ταινίες απορρόφησης που υποδηλώνουν την απορρόφηση της υπέρυθρης ακτινοβολίας από τις χαρακτηριστικές ενώσεις των βασικών συστατικών του γάλακτος, όπως είναι το νερό, οι πρωτεΐνες, η λακτόζη, το λίπος και άλλα δευτερεύοντα συστατικά όπως οι χρωστικές και οι αρωματικές ενώσεις. Η ασθενής ζώνη απορρόφησης στα 3630 cm^{-1} αντιστοιχεί σε μια δόνηση τάσης του δεσμού O-H που ανήκει στην κατηγορία των φαινολών. Η απορρόφηση στα 3290 cm^{-1} αποδίδεται σε μια ισχυρή δόνηση τάσης για το δεσμό N-H του αμιδίου I των πεπτιδίων και των πρωτεϊνών. ενώ στα 3007 cm^{-1} εμφανίζεται μια μέτρια δόνηση τάσης του cis δεσμού C(sp²)-H=C-H. Η ταινία απορρόφησης στα 2954 cm^{-1} δίνει μια μέτρια ασύμμετρη δόνηση τάσης για το δεσμό μεταξύ του άνθρακα και

του υδρογόνου στην ομάδα του μεθυλίου (-CH₃) της μακράς αλυσίδας των λιπαρών οξέων στο λίπος. Η ζώνη απορρόφησης στα 2854 cm⁻¹ και στα 2922 cm⁻¹ παρουσιάζεται μια συμμετρική και ασύμμετρη ισχυρή δόνηση τάσης στο δεσμό μεταξύ άνθρακα και υδρογόνου στην ομάδα του μεθυλενίου (-CH₂) της μακράς αλυσίδας των λιπαρών οξέων στο λίπος του γάλακτος. Η ισχυρή δόνηση τάσης στα 1743 cm⁻¹ αποδίδεται στο δεσμό του καρβονύλιου C=O που αντιστοιχεί στην ομάδα των εστέρων που περιέχονται στο λίπος του γάλακτος. Η ζώνη απορρόφησης στα 1638 cm⁻¹ δίνει μια ισχυρή δόνηση τάσης του δεσμού C=O στην περιοχή του αμιδίου I των πεπτιδίων και των πρωτεϊνών που υπάρχουν στο γάλα. Η ζώνη στα 1545 cm⁻¹ αποδίδεται σε μια ισχυρή δόνηση τάσης που αντιστοιχεί στις εκτεταμένες δονήσεις του δεσμού C-N και μια μέτρια δόνηση κάμψης του δεσμού N-H. Οι δονήσεις αυτές περιγράφουν την ζώνη του αμιδίου II των πεπτιδίων και των πρωτεϊνών που υπάρχουν στο γάλα. Οι ταινίες απορρόφησης στα 1458 cm⁻¹, στα 1417 cm⁻¹ και στα 1377 cm⁻¹ αποδίδονται σε μέτριες δονήσεις κάμψης που αποδίδονται στο δεσμό μεταξύ άνθρακα και υδρογόνου στην ομάδα του μεθυλίου (-CH₃) και μεθυλενίου (-CH₂) των πρωτεϊνικών τμημάτων. Η ζώνη απορρόφησης στα 1238 cm⁻¹ αποδίδεται σε μια ασύμμετρη δόνηση τάσης ενώ στα 1070 cm⁻¹ μια συμμετρική δόνηση τάσης που αντιστοιχεί στο δεσμό P=O των φωσφολιπιδίων και των νουκλεϊκών οξέων και η απορρόφηση στα 1157 cm⁻¹ υποδηλώνει μια δόνηση τάσης του δεσμού CO που ανήκει στην ομάδα C-OH στις βασικές ομάδες των αμινοξέων, των πρωτεϊνών και των υδατανθράκων. Στα 1030 cm⁻¹ υπάρχει μια μέτρια δόνηση τάσης του δεσμού C-O που περιλαμβάνει τις ενώσεις των νουκλεϊκών οξέων, των λιπιδίων, πρωτογενών αλκοολών και των πολυσακχαριτών του γάλακτος ενώ η ζώνη απορρόφησης στα 720 cm⁻¹ αποδίδεται σε μια μέτρια δόνηση κάμψης που οφείλεται στο cis δεσμό των ανθράκων του διπλού δεσμού στα αλκένια, που στην περίπτωση του γάλακτος αναφέρεται στην κατηγορία των β – καροτένιων. Συνοπτικά, οι ταινίες απορρόφησης που ταυτοποιήθηκαν για κάθε ένα από τα δείγματα συνοψίζονται στον Πίνακα 9.5 σύμφωνα με τη διαδικασία αποτίμησης των φασμάτων.

Πίνακας 9.5 Αποτίμηση φασμάτων υπέρυθρου

Κυματαριθμός (cm ⁻¹)	Δεσμός	Αναφορές
3630	Δόνηση τάσης O-H φαινολών	(Nandiyanto et al., 2019)
3290	Δόνηση τάσης N-H Αμιδίου I	(Candoğan et al., 2021)
3007	Δόνηση τάσης C(sp ²)-H=C-H (cis)	(Nandiyanto et al., 2019)
2954	Ασύμμετρη δόνηση τάσης C-H (-CH ₃) μακράς αλυσίδας λιπαρών οξέων	(Candoğan et al., 2021)
2922	Ασύμμετρη δόνηση τάσης C-H (-CH ₂) μακράς αλυσίδας λιπαρών οξέων	
2854	Συμμετρική δόνηση τάσης C-H (-CH ₂) μακράς αλυσίδας λιπαρών οξέων	
1743	Δόνηση τάσης C=O εστέρων	(Lestari et al., 2022)
1638	Δόνηση τάσης C=O Αμιδίου I	(Sinanoglou et al., 2018)
1545	Δόνηση τάσης C-N και δόνηση κάμψης δεσμού N-H Αμιδίου II	
1458, 1417, 1377	Δονήσεις κάμψης C-H των ομάδων (-CH ₃) και (-CH ₂) πρωτεϊνών	
1238	Ασύμμετρη δόνηση τάσης P=O φωσφολιπιδίων και νουκλεϊκών οξέων	(Candoğan et al., 2021)
1157	Δόνηση τάσης CO των ομάδων C-OH αμινοξέων, πρωτεϊνών, υδατανθράκων	
1070	Συμμετρική δόνηση τάσης P=O φωσφολιπιδίων και νουκλεϊκών οξέων	(Sinanoglou et al., 2018)
1030	Δόνηση τάσης C-O νουκλεϊκών οξέων, λιπιδίων, 1γενών αλκοολών, πολυσακχαριτών	(Candoğan et al., 2021)
720	Δόνηση κάμψης -HC=CH-(cis)	(Lestari et al., 2022)

Σε συνέχεια της ερμηνείας των φασμάτων ATR–FTIR για τα δείγματα κατσικίσου, αγελαδινού γάλακτος και τα μείγματα αυτών ελέγχθηκαν οι τιμές των απορροφήσεων για κάθε μια από τις ζώνες απορρόφησης που εμφανίστηκαν στα δείγματα όπως φαίνεται στον Πίνακα 9.6.

Πίνακας 9.6 Σημαντικές απορροφήσεις που προκύπτουν από τα φάσματα IR

Δείγματα	Σημαντικές ταινίες απορρόφησης								
	3630	3290	3007	2954	2922	2854	1743	1638	1545
K	0,007	0,007	0,000	0,039	0,577	0,380	0,452	0,484	0,339
KA5%	0,007	0,007	0,000	0,037	0,586	0,383	0,452	0,483	0,153
KA15%	0,007	0,008	0,001	0,036	0,581	0,385	0,453	0,487	0,157
KA25%	0,007	0,009	0,002	0,036	0,579	0,385	0,456	0,522	0,167
KA35%	0,007	0,009	0,003	0,037	0,573	0,386	0,459	0,538	0,201
A	0,008	0,013	0,006	0,034	0,580	0,393	0,467	0,637	0,232
		1458	1417	1377	1238	1157	1070	1030	720
K		0,119	0,011	0,039	0,056	0,137	0,020	0,030	0,010
KA5%		0,109	0,012	0,040	0,044	0,129	0,045	0,130	0,000
KA15%		0,110	0,009	0,039	0,045	0,130	0,043	0,121	0,000
KA25%		0,110	0,012	0,038	0,047	0,129	0,038	0,111	0,003
KA35%		0,114	0,011	0,039	0,049	0,132	0,036	0,102	0,006
A		0,116	0,010	0,040	0,053	0,135	0,033	0,079	0,007

Όπως γίνεται αντιληπτό από τον παραπάνω πίνακα υπάρχουν διαφοροποιήσεις για τις τιμές των απορροφήσεων για τα δείγματα K και A, δηλαδή για το κατσικίσιο και αγελαδινό γάλα αντίστοιχα που μπορεί να οδηγήσει στην ταυτοποίηση και διάκριση τους. Σχετικά με τις τιμές των υπόλοιπων δειγμάτων, στις περισσότερες από τις ζώνες απορρόφησης παρατηρούνται μικρές έως και μεγαλύτερες διακυμάνσεις σε σχέση με τα καθαρά δείγματα, όμως από τις ήδη υπάρχουσες τιμές είναι δύσκολο να παρατηρηθεί μια σταδιακή διακύμανση μεταξύ των τιμών και να γίνει ταυτοποίηση και διάκριση των μειγμάτων ανάλογα με την αυξανόμενη συγκέντρωση αγελαδινού γάλακτος που προστίθεται. Για αυτό το λόγο υπολογίζονται οι αναλογίες των σημαντικότερων απορροφήσεων για τις ενώσεις των βασικών συστατικών των δύο ειδών γάλακτος.

Πίνακας 9.7 Αναλογίες σημαντικότερων απορροφήσεων

Δείγματα	Αναλογίες σημαντικότερων απορροφήσεων			
	1638/1545	1157/1030	1157/1070	1070/1030
K	3,16	0,99	2,87	0,35
KA5%	3,08	1,07	3,02	0,36
KA15%	2,92	1,16	3,39	0,34
KA25%	2,60	1,29	3,67	0,35
KA35%	2,32	1,71	4,09	0,42
A	1,88	4,57	6,85	0,67

Οι τιμές του Πίνακα 9.7 παρουσιάζουν τις σημαντικότερες αναλογίες απορροφήσεων για τα δείγματα που εξετάστηκαν. Η σύγκριση μεταξύ του καθαρού κατσίκι-σιου και αγελαδινού γάλακτος μπορεί να γίνει με μεγάλη ευκολία, καθώς οι αναλογίες που προκύπτουν έχουν μεγάλη διαφορά μεταξύ τους, γεγονός που διευκολύνει και τη διάκριση τους. Ειδικότερα, το κατσίκισιο γάλα εμφανίζει μια υψηλή τιμή για την αναλογία 1638/1545 και αρκετά χαμηλότερες τιμές για τις αναλογίες 1157/1030, 1157/1070 και 1070/1030. Για τα μείγματα η αναλογία 1638/1545 που αναφέρεται μεταξύ Αμιδίου Ι και Αμιδίου ΙΙ φαίνεται πως όσο αυξάνεται η ποσότητα αγελαδινού γάλακτος η αναλογία αυτή μειώνεται με σταδιακό ρυθμό. Αντιθέτως, η αναλογία 1157/1030 που αντιστοιχεί στην αναλογία των δονήσεων του δεσμού CO και η αναλογία 1157/1070, η οποία αντιπροσωπεύει την αναλογία του δεσμού CO και του δεσμού P=O των φωσφολιπιδίων και των νουκλεϊκών οξέων φαίνεται πως αυξάνονται όσο αυξάνεται και η ποσότητα του αγελαδινού γάλακτος στα μείγματα. Σχετικά με την αναλογία 1070/1030 που αντιπροσωπεύει το δεσμό P=O των φωσφολιπιδίων και των νουκλεϊκών οξέων με το δεσμό C-O νουκλεϊκών οξέων, των λιπιδίων, πρωτογενών αλκοολών και των πολυσακχαριτών στα μείγματα KA5%, KA15% και KA25% παρατηρείται πως δεν υπάρχει σταθερή διακύμανση στις τιμές.

9.2.4 Προσδιορισμός χρώματος

Όλα τα δείγματα εξετάστηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ταυτόχρονα με το φορητό χρωματόμετρο και προέκυψαν 3 μετρήσεις για κάθε ένα από αυτά. Από τις μετρήσεις υπολογίστηκε ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση για κάθε μια από τις παραμέτρους αντίστοιχα όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 9.8. παρακάτω.

Πίνακας 9.8 Αποτελέσματα προσδιορισμού χρώματος

Δείγματα	Μετρήσεις (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)				
	L*	a*	b*	h	C*
K	61,39±0,36	-1,65±0,09	3,57±0,14	114,73±0,38	3,84±0,10
KA5%	60,34±1,25	-1,64±0,02	3,58±0,09	113,33±0,16	3,93±0,17
KA15%	60,27±0,77	-1,62±0,07	3,74±0,14	113,16±0,38	4,06±0,14
KA25%	60,23±1,03	-1,60±0,09	3,75±0,12	113,13±0,15	4,07±0,18
KA35%	59,89±1,07	-1,57±0,07	3,76±0,13	112,77±0,42	4,08±0,16
A	59,77±0,14	-1,40±0,05	3,84±0,08	111,39±0,50	4,18±0,09

Από τον Πίνακα 9.8 αποτελεσμάτων προσδιορισμού του χρώματος των δειγμάτων είναι εμφανής η διάκριση του καθαρού κατσικίσιου γάλακτος από το αγελαδινό και με τις πέντε παραμέτρους του χρώματος που εξετάστηκαν, αφού οι παράμετροι συμβαδίζουν με τα αποτελέσματα παρόμοιων μελετών ανάλυσης και σύγκρισης του χρώματος για τα δύο αυτά είδη γάλακτος. Όπως φαίνεται, το καθαρό κατσικίσιο γάλα χαρακτηρίζεται από υψηλότερες τιμές φωτεινότητας και χροιάς και χαμηλότερες τιμές ερυθρότητας, κίτρινης – μπλε χρωματικότητας και κορεσμού σε σχέση με το αγελαδινό γάλα. Όσον αφορά τη φωτεινότητα L*, το κατσικίσιο γάλα εμφανίζει υψηλότερη τιμή επειδή υπάρχει μια μεγαλύτερη διάθλαση του φωτός από τα λιποσφαιρίδια του γάλακτος. Αυτό οφείλεται στην μεγαλύτερη περιεκτικότητα λίπους του κατσικίσιου γάλακτος συγκριτικά με το αγελαδινό που τα λιποσφαιρίδια προκαλούν μικρότερη διάθλαση

του φωτός. Η χροιά του χρώματος h είναι επίσης υψηλότερη υποδηλώνοντας πως δημιουργείται μεγαλύτερη γωνία με την πολική ακτίνα. Σχετικά με την ερυθρότητα ή αλλιώς κόκκινη – πράσινη χρωματικότητα a^* , εμφανίζει μια μικρότερη τιμή υποδηλώνοντας πως το κατσικίσιο γάλα χαρακτηρίζεται από λιγότερη ερυθρότητα συγκριτικά με τις τιμές για το αγελαδινό γάλα. Ομοίως, η κίτρινη – μπλε χρωματικότητα ή αλλιώς κίτρινη απόχρωση b^* είναι χαμηλότερη, γεγονός που δείχνει πως διαθέτει μια λιγότερο κιτρινωπή απόχρωση συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα. Η χαμηλή τιμή της παραμέτρου οφείλεται κατά κύριο λόγο στη μετατροπή των β – καροτένιων σε βιταμίνη Α, κάτι που δεν γίνεται στο αγελαδινό γάλα, με αποτέλεσμα να μην προσδίδει στο κατσικίσιο γάλα έντονο κίτρινο χρώμα. Τέλος, ο κορεσμός C^* παρουσιάζεται χαμηλότερη τιμή παρουσιάζοντας χαμηλότερο κορεσμό συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα.

Ομοίως, στην περίπτωση των μειγμάτων που παρασκευάστηκαν με αυξανόμενη ποσότητα αγελαδινού γάλακτος παρατηρείται μια ομαλή διακύμανση όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα αγελαδινού γάλακτος στο μείγμα. Συγκεκριμένα, στο πρώτο μείγμα 5% ΚΑ που η ποσότητα του αγελαδινού είναι ιδιαίτερα μικρή υπερिशύουν οι τιμές χρώματος του κατσικίσιου γάλακτος ενώ στο μείγμα 35% ΚΑ που έχει αυξηθεί η ποσότητα αγελαδινού οι τιμές αρχίζουν να βρίσκονται πιο κοντά σε αυτές του καθαρού αγελαδινού γάλακτος. Όσον αφορά τις διακυμάνσεις των πέντε επιμέρους παραμέτρων, η φωτεινότητα L^* και η χροιά h μειώθηκαν σταδιακά με την αύξηση της ποσότητας αγελαδινού γάλακτος ενώ αντίθετα η κόκκινη – πράσινη χρωματικότητα a^* , η κίτρινη – μπλε χρωματικότητα b^* και η τιμή C^* αυξήθηκαν.

10 Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, είναι αντιληπτό πως η ανίχνευση της νοθείας κατσικίσιου γάλακτος με προσθήκη γάλακτος άλλων πηγών, όπως το αγελαδινό γάλα είναι ιδιαίτερης σημασίας, καθώς το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται συχνά διότι το αγελαδινό γάλα είναι μια οικονομικότερη πηγή γάλακτος αλλά διαφέρει στη σύσταση και στις φυσικοχημικές ιδιότητες από το κατσικίσιο γάλα. Στην παρούσα μελέτη στόχος ήταν η ανίχνευση της νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος με αυξανόμενη ποσότητα αγελαδινού με τη βοήθεια μοριακών και φυσικοχημικών τεχνικών, οι οποίες όπως προέκυψε από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση χρησιμοποιούνται λόγω της μεγάλης ευαισθησίας, ακρίβειας και ευκολίας που εμφανίζουν κατά την ανάλυση. Μελετήθηκαν συνολικά 6 δείγματα κατσικίσιου γάλακτος, τα οποία αναμίχθηκαν με αυξανόμενη ποσότητα αγελαδινού γάλακτος σε συγκεντρώσεις 0, 5, 15, 25, 35 και 100% v/v από δύο διαφορετικές φάρμες της χώρας. Από τις τεχνικές χρησιμοποιήθηκαν η μοριακή ανάλυση DNA με τη χρήση της πολυπλεκτικής αντίδρασης πολυμεράσης (multiplex PCR) σε συνδυασμό με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης, η φασματοσκοπία υπέρυθρου αποσβένουσας ολικής ανάκλασης με μετασχηματισμό Fourier (ATR - FTIR), ο προσδιορισμός του χρώματος με φορητό χρωματόμετρο καθώς και ο προσδιορισμός του ειδικού βάρους και του σημείου πήξης των δειγμάτων.

Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως η συγκεκριμένη περίπτωση νοθείας μπορεί να ανιχνευθεί ικανοποιητικά από τις τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν συγκρίνοντας τα αποτελέσματα που προέκυψαν με τα αποτελέσματα αντίστοιχων ερευνών νοθείας κατσικίσιου γάλακτος. Συγκεκριμένα, η τεχνική της μοριακής ανάλυσης DNA που χρησιμοποιήθηκε, η φασματοσκοπία υπέρυθρου αποσβένουσας ολικής ανάκλασης με μετασχηματισμό Fourier καθώς και ο προσδιορισμός του χρώματος των δειγμάτων έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς την ανίχνευση της νοθείας σε αρκετά χαμηλά ποσοστά με υψηλή ευαισθησία. Η μοριακή ανάλυση DNA έδειξε πως η χρήση των δύο ζευγών εκκινητών συνέβαλε ικανοποιητικά στην ανίχνευση της νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος ταυτοποιώντας το DNA και των δύο ειδών γάλακτος. Η εικόνα της ηλεκτροφόρησης έδειξε την ταυτοποίηση κατσικίσιου καθώς και αγελαδινού DNA στα δείγματα 5, 15, 25 και 35% v/v προσθήκης αγελαδινού γάλακτος ενώ στα δείγματα καθαρού κατσικίσιου και αγελαδινού γάλακτος ταυτοποιήθηκε η παρουσία κατσικίσιου και αγελαδινού DNA αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε, επίσης, ποιοτική

διαφοροποίηση ως προς τα μείγματα που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο με αύξηση της απεικόνισης του θραύσματος όσο αυξανόταν η προστιθέμενη ποσότητα αγελαδινού γάλακτος, κάτι που επιβεβαιώνεται και από την ευαισθησία που υπολογίστηκε κατά την ηλεκτροφόρηση. Ικανοποιητικά αποτελέσματα προέκυψαν και από τη φασματοσκοπία υπέρυθρου ATR – FTIR και συγκεκριμένα από τις αναλογίες 1638:1545, 1157:1030, 1157:1070 και 1070:1030, οι οποίες λειτουργούν ως δείκτες για την ανίχνευση της συγκεκριμένης περίπτωσης νοθείας αφού διαφοροποιούνται με την αυξανόμενη ποσότητα του αγελαδινού γάλακτος. Οι δείκτες αυτοί αποτελούν τις ζώνες απορρόφησης για το Αμίδιο-I και Αμίδιο-II καθώς και για τους δεσμούς χαρακτηριστικών ομάδων, όπως τα νουκλεϊκά οξέα, τα φωσφολιπίδια, τη λακτόζη και τις φωσφορυλιωμένες πρωτεΐνες που διαφέρουν στο κατσίκισιο και το αγελαδινό γάλα διαμορφώνοντας ένα διαφορετικό δακτυλικό αποτύπωμα. Ο προσδιορισμός του χρώματος έδειξε διαφορετικές τιμές ως προς τις βασικές παραμέτρους του χρώματος μεταξύ κατσίκισιου και αγελαδινού γάλακτος και συνέβαλε στην ανίχνευση της νοθείας στα μείγματα που δημιουργήθηκαν. Σύμφωνα με παρόμοιες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί στο κατσίκισιο γάλα η φωτεινότητα και η χροιά του χρώματος εμφανίζουν υψηλότερες τιμές ενώ η ερυθρότητα, η κίτρινη απόχρωση και ο κορεσμός εμφανίζουν χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με το αγελαδινό γάλα. Αυτό επιβεβαιώθηκε από τις τιμές που προέκυψαν από την παρούσα μελέτη αφού το κατσίκισιο γάλα εμφανίζει ένα πιο φωτεινό χρώμα με μεγαλύτερη κίτρινη απόχρωση από το αγελαδινό. Επιπλέον, οι τιμές των παραμέτρων του χρώματος εμφάνισαν διαφοροποιήσεις ως προς την ποσότητα αγελαδινού γάλακτος που προστέθηκε κάθε φορά. Επιπλέον, η τεχνική προσδιορισμού του σημείου πήξης έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς την ανίχνευση νοθείας. Το σημείο πήξης που προσδιορίστηκε κατά τη μελέτη εμφανίστηκε χαμηλότερο από τις συνήθεις τιμές για το κατσίκισιο και το αγελαδινό γάλα, γεγονός που οφείλεται στην ανάπτυξη μικροοργανισμών, οι οποίοι κατάφεραν να μεταβολίσουν το κύριο σάκχαρο του γάλακτος και παράγαγαν γαλακτικό οξύ αυξάνοντας την οξύτητα του γάλακτος. Ωστόσο, παρατηρήθηκε μια σταδιακή γραμμική αύξηση του σημείου πήξης με την αυξανόμενη συγκέντρωση αγελαδινού γάλακτος που προστέθηκε γεγονός που βοήθησε στη διαφοροποίηση των δειγμάτων προσεγγίζοντας στη μεγαλύτερη συγκέντρωση το σημείο πήξης του αγελαδινού γάλακτος. Αντιθέτως, στον προσδιορισμό του ειδικού βάρους παρατηρήθηκε διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων μόνο στις δύο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις 25 και 35% v/v προσθήκης αγελαδινού γάλακτος οδηγώντας στο

συμπέρασμα πως δεν μπορεί να υπάρξει ακριβής διαφοροποίηση του ποσοστού νοθείας σε χαμηλές συγκεντρώσεις με αυτή την τεχνική.

Συμπερασματικά, από τα αποτελέσματα όλων των τεχνικών που εφαρμόστηκαν για την παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε πως η αυξανόμενη ποσότητα αγελαδινού γάλακτος επηρέασε τα χαρακτηριστικά των μειγμάτων με το μείγμα που είχε 35% v/v να πλησιάζει τις τιμές του αγελαδινού γάλακτος. Επιπροσθέτως, οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν μπόρεσαν να ανιχνεύσουν τη συγκεκριμένη περίπτωση νοθείας σε χαμηλά ποσοστά προσθήκης αγελαδινού, που στην προκειμένη περίπτωση ήταν 5% v/v, εκτός από τον προσδιορισμό του ειδικού βάρους των δειγμάτων όπου δεν μπόρεσε να προσδιοριστεί με ακρίβεια η νοθεία παρά μόνο σε υψηλά ποσοστά προσθήκης αγελαδινού γάλακτος και συγκεκριμένα μεγαλύτερα από 25% v/v. Ωστόσο, παρατηρήθηκε πως για να προκύψουν ασφαλή αποτελέσματα ως προς την εφαρμογή των παραπάνω μεθόδων για την ανίχνευση της νοθείας του κατσικίσιου γάλακτος από αγελαδινό και να γίνει ακριβής προσδιορισμός για να βρεθεί στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων συνίσταται η εφαρμογή σε ένα μεγαλύτερο πληθυσμό δειγμάτων με περισσότερες διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις αγελαδινού γάλακτος, τα οποία θα προέρχονται από διαφορετικές φάρμες της χώρας με διαφορετικές γαλακτικές περιόδους ώστε να γίνει ποιοτική και ποσοτική σύγκριση στα δείγματα με τις παραπάνω τεχνικές.

11 Βιβλιογραφία

Ξενόγλωση βιβλιογραφία

1. A novel approach to the quantification of bovine milk in ovine cheeses using a duplex polymerase chain reaction method. nbib, n.d.
2. Altan, H., Cosgun, A., Altan, A., 2018. Cow's Milk Protein Allergy in Pediatric Dentistry: A Narrative Review. *J. Pediatr. Rev.* 11–16. <https://doi.org/10.32598/jpr.7.1.11>
3. Azad, T., Ahmed, S., 2016. Common milk adulteration and their detection techniques. *Int. J. Food Contam.* 3, 22. <https://doi.org/10.1186/s40550-016-0045-3>
4. Balbaied, Moore, 2019. Overview of Optical and Electrochemical Alkaline Phosphatase (ALP) Biosensors: Recent Approaches in Cells Culture Techniques. *Biosensors* 9, 102. <https://doi.org/10.3390/bios9030102>
5. Bottero, M.T., Civera, T., Nucera, D., Rosati, S., Sacchi, P., Turi, R.M., 2003. A multiplex polymerase chain reaction for the identification of cows', goats' and sheep's milk in dairy products. *Int. Dairy J.* 13, 277–282. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00170-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00170-X)
6. Campbell, R.E., Drake, M.A., 2013. Invited review: The effect of native and nonnative enzymes on the flavor of dried dairy ingredients. *J. Dairy Sci.* 96, 4773–4783. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6598>
7. Candoğan, K., Altuntas, E.G., İğci, N., 2021. Authentication and Quality Assessment of Meat Products by Fourier-Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Food Eng. Rev.* 13, 66–91. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09251-y>
8. Ceballos, L.S., Morales, E.R., De La Torre Adarve, G., Castro, J.D., Martínez, L.P., Sampelayo, M.R.S., 2009. Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *J. Food Compos. Anal.* 22, 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.10.020>
9. Centrifugation-free extraction of circulating nucleic acids using immiscible liquid under vacuum pressure.pdf, n.d.
10. Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Amaral, J.S., Mafra, I., REQUIMTE-LAQV, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Pissard, A., Fernández Pierna, J.A., Baeten, V., Walloon Agricultural Research Centre, 2018. Milk and milk products, in: Eurofins

- Analytics France, Morin, J.-F., Lees, M. (Eds.), FoodIntegrity Handbook. Eurofins Analytics France, pp. 1–23. <https://doi.org/10.32741/fihb.1.milk>
11. Chudy, S., Bilska, A., Kowalski, R., Teichert, J., 2020. Colour of milk and milk products in CIE L*a*b* space. *Med. Weter.* 76, 6327–2020. <https://doi.org/10.21521/mw.6327>
 12. Cirak, O., Icyer, N.C., Durak, M.Z., 2018. Rapid detection of adulteration of milks from different species using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). *J. Dairy Res.* 85, 222–225. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000201>
 13. Codex Alimentarius FAO milk.pdf, n.d.
 14. Coitinho, T.B., Cassoli, L.D., Cerqueira, P.H.R., da Silva, H.K., Coitinho, J.B., Machado, P.F., 2017. Adulteration identification in raw milk using Fourier transform infrared spectroscopy. *J. Food Sci. Technol.* 54, 2394–2402. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2680-y>
 15. Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase Structure-based mechanism of conversion.pdf, n.d.
 16. Dairy goods' exports see massive fall.pdf, n.d.
 17. Dairy's Global Impact - IDF - IDF is the leading source of scientific and technical expertise for all stakeholders of the dairy chain.pdf, n.d.
 18. Department of Animal Products Technology, Barham, G.S., Khaskheli, M., Soomro, A.H., Nizamani, Z.A., 2014. Extent of extraneous water and detection of various adulterants in market milk at Mirpurkhas, Pakistan. *IOSR J. Agric. Vet. Sci.* 7, 83–89. <https://doi.org/10.9790/2380-07318389>
 19. Devi, A.F., Buckow, R., Singh, T., Hemar, Y., Kasapis, S., 2015. Colour change and proteolysis of skim milk during high pressure thermal-processing. *J. Food Eng.* 147, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.09.017>
 20. Dominici, S., Marescotti, F., Sanmartin, C., Macaluso, M., Taglieri, I., Venturi, F., Zinnai, A., Facioni, M.S., 2022. Lactose: Characteristics, Food and Drug-Related Applications, and Its Possible Substitutions in Meeting the Needs of People with Lactose Intolerance. *Foods* 11, 1486. <https://doi.org/10.3390/foods11101486>
 21. Erratum to The melamine adulteration scandal.pdf, n.d.

22. ESTIMATION OF QUALITY OF RAW MILK (OPEN & BRANDED) BY MILK ADULTERATION TESTING KIT (2012).pdf, n.d.
23. Etzion, Y., Linker, R., Cogan, U., Shmulevich, I., 2004. Determination of Protein Concentration in Raw Milk by Mid-Infrared Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflectance Spectroscopy. *J. Dairy Sci.* 87, 2779–2788. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73405-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73405-0)
24. FAO Milk and dairy products in human nutrition.pdf, n.d.
25. Fox, P.F., Kelly, A.L., 2006. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects—Part 2. *Int. Dairy J.* 16, 517–532. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.09.017>
26. G, G., A, M., A, W., H, K., 2016. Review on Goat Milk Composition and its Nutritive Value. *J. Nutr. Health Sci.* 3. <https://doi.org/10.15744/2393-9060.3.401>
27. Gambelli, L., 2017. Milk and Its Sugar-Lactose: A Picture of Evaluation Methodologies. *Beverages* 3, 35. <https://doi.org/10.3390/beverages3030035>
28. García, V., Rovira, S., Boutoial, K., López, M.B., 2014. Improvements in goat milk quality: A review. *Small Rumin. Res.* 121, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.12.034>
29. Gong, R., Li, S., 2014. Extraction of human genomic DNA from whole blood using a magnetic microsphere method. *Int. J. Nanomedicine* 3781. <https://doi.org/10.2147/IJN.S59545>
30. Gori, A., Maggio, R.M., Cerretani, L., Nocetti, M., Caboni, M.F., 2012. Discrimination of grated cheeses by Fourier transform infrared spectroscopy coupled with chemometric techniques. *Int. Dairy J.* 23, 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.11.005>
31. Gossner, C.M.-E., Schlundt, J., Ben Embarek, P., Hird, S., Lo-Fo-Wong, D., Beltran, J.J.O., Teoh, K.N., Tritscher, A., 2009. The Melamine Incident: Implications for International Food and Feed Safety. *Environ. Health Perspect.* 117, 1803–1808. <https://doi.org/10.1289/ehp.0900949>
32. Heine, R.G., AlRefaee, F., Bachina, P., De Leon, J.C., Geng, L., Gong, S., Madrazo, J.A., Ngamphaiboon, J., Ong, C., Rogacion, J.M., 2017. Lactose intolerance and gastrointestinal cow's milk allergy in infants and children –

- common misconceptions revisited. *World Allergy Organ. J.* 10, 41. <https://doi.org/10.1186/s40413-017-0173-0>
33. Hernández-Ledesma, B., Ramos, M., Gómez-Ruiz, J.Á., 2011. Bioactive components of ovine and caprine cheese whey. *Small Rumin. Res.* 101, 196–204. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.040>
 34. Ismail, B., Nielsen, S.S., 2010. Invited review: Plasmin protease in milk: Current knowledge and relevance to dairy industry. *J. Dairy Sci.* 93, 4999–5009. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3122>
 35. Khan, I.T., Nadeem, M., Imran, M., Ullah, R., Ajmal, M., Jaspal, M.H., 2019. Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids Health Dis.* 18, 41. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-0969-8>
 36. Khan, K.M., Krishna, H., Majumder, S.K., Gupta, P.K., 2015. Detection of Urea Adulteration in Milk Using Near-Infrared Raman Spectroscopy. *Food Anal. Methods* 8, 93–102. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9873-z>
 37. Kotowicz, M., Adamczyk, E., Bania, J., n.d. APPLICATION OF A DUPLEX-PCR FOR DETECTION OF COWS' MILK IN GOATS' MILK.
 38. Kraggerud, H., Næs, T., Abrahamsen, R.K., 2014. Prediction of sensory quality of cheese during ripening from chemical and spectroscopy measurements. *Int. Dairy J.* 34, 6–18. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.07.008>
 39. Kumar, H., Yadav, D., Kumar, N., Seth, R., Goyal, A.K., 2016. Nutritional and nutraceutical properties of goat milk - A review.
 40. Lactoferrin_A_Natural_Glycoprotein_Involved_in_Iro.pdf, n.d.
 41. Leksmono, C.S., Manzoni, C., Tomkins, J.E., Lucchesi, W., Cottrell, G., Lewis, P.A., 2018. Measuring Lactase Enzymatic Activity in the Teaching Lab. *J. Vis. Exp.* 54377. <https://doi.org/10.3791/54377>
 42. Lerma-García, M.J., Gori, A., Cerretani, L., Simó-Alfonso, E.F., Caboni, M.F., 2010. Classification of Pecorino cheeses produced in Italy according to their ripening time and manufacturing technique using Fourier transform infrared spectroscopy. *J. Dairy Sci.* 93, 4490–4496. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3199>
 43. Lestari, D., Rohman, A., Syofyan, S., Yuliana, N.D., Abu Bakar, N.K.Bt., Hamidi, D., 2022. Analysis of beef meatballs with rat meat adulteration using

- Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy in combination with chemometrics. *Int. J. Food Prop.* 25, 1446–1457. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2083637>
44. Liu, Y., Todd, E.E.D., Zhang, Q., Shi, J., Liu, X., 2012. Recent developments in the detection of melamine. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 13, 525–532. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1100389>
45. López-Calleja, I., González, I., Fajardo, V., Martín, I., Hernández, P.E., García, T., Martín, R., 2005. Application of Polymerase Chain Reaction to Detect Adulteration of Sheep's Milk with Goats' Milk. *J. Dairy Sci.* 88, 3115–3120. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72993-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72993-3)
46. Ly, B.C.K., Dyer, E.B., Feig, J.L., Chien, A.L., Del Bino, S., 2020. Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement. *J. Invest. Dermatol.* 140, 3-12.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>
47. Ma, Y.-J., Dong, W.-B., Fan, C., Wang, E.-D., 2017. Identification of cow milk in goat milk by nonlinear chemical fingerprint technique. *J. Food Drug Anal.* 25, 751–758. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.05.008>
48. Maleki, J., Nazari, F., Yousefi, J., Khosrokhavar, R., Hosseini, M.-J., 2018. Determinations of Melamine Residue in Infant Formula Brands Available in Iran Market Using by HPLC Method.
49. McGregor, R.A., Poppitt, S.D., 2013. Milk protein for improved metabolic health: a review of the evidence. *Nutr. Metab.* 10, 46. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-10-46>
50. McMahon, D.J., McManus, W.R., 1998. Rethinking Casein Micelle Structure Using Electron Microscopy. *J. Dairy Sci.* 81, 2985–2993. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75862-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75862-X)
51. Memon, M.A., Khaskheli, M., Kamboh, A.A., Soomro, N.A., Mangsi, A.S., Barham, G.S., Korejo, N.A., 2018. Surveillance of Milk Adulteration and its Influence on Physico-Chemical Characteristics of Milk in Hyderabad, Pakistan. *J. Anim. Health Prod.* 6. <https://doi.org/10.17582/journal.jahp/2018/6.1.5.12>
52. Mendes, E., Duarte, N., 2021. Mid-Infrared Spectroscopy as a Valuable Tool to Tackle Food Analysis: A Literature Review on Coffee, Dairies, Honey, Olive Oil and Wine. *Foods* 10, 477. <https://doi.org/10.3390/foods10020477>

53. Miciński, J., Kowalski, I.M., Zwierzchowski, G., Szarek, J., Pierożyński, B., Zabłocka, E., 2013. Characteristics of cow's milk proteins including allergenic properties and methods for its reduction. *Pol. Ann. Med.* 20, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.poamed.2013.07.006>
54. Milovanovic, B., Djekic, I., Miocinovic, J., Djordjevic, V., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Mörlein, D., Tomasevic, I., 2020. What Is the Color of Milk and Dairy Products and How Is It Measured? *Foods* 9, 1629. <https://doi.org/10.3390/foods9111629>
55. Milovanovic, B., Tomovic, V., Djekic, I., Miocinovic, J., Solowiej, B.G., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Tomasevic, I., 2021. Colour assessment of milk and milk products using computer vision system and colorimeter. *Int. Dairy J.* 120, 105084. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105084>
56. Molecular Dynamics Simulations of Ligand-Induced Flap Conformational Changes in Cathepsin-D-A Comparative Study.nbib, n.d.
57. Mouri Ghosh, 2015. Chapter 3: Introduction to oxidative cytotoxicity and cellular defense mechanisms. <https://doi.org/10.13140/2.1.5009.9527>
58. Nagraik, R., Sharma, A., Kumar, D., Chawla, P., Kumar, A.P., 2021. Milk adulterant detection: Conventional and biosensor based approaches: A review. *Sens. Bio-Sens. Res.* 33, 100433. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2021.100433>
59. Nandiyanto, A.B.D., Oktiani, R., Ragadhita, R., 2019. How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. *Indones. J. Sci. Technol.* 4, 97. <https://doi.org/10.17509/ijost.v4i1.15806>
60. New method for the simultaneous identification of cow, sheep, goat, and water buffalo in dairy products by analysis of short species-specific mitochondrial DNA targets.nbib, n.d.
61. nomos4235_fek32_110214.pdf, n.d.
62. Obladen, M., 2014. From Swill Milk to Certified Milk: Progress in Cow's Milk Quality in the 19th Century. *Ann. Nutr. Metab.* 64, 80–87. <https://doi.org/10.1159/000363069>
63. On the heat stability of concentrated milk systems - Kinetics of heat-induced dissociation and aggregation of casein micelles.pdf, n.d.
64. Pereira, E.V. dos S., Fernandes, D.D. de S., de Araújo, M.C.U., Diniz, P.H.G.D., Maciel, M.I.S., 2020. Simultaneous determination of goat milk adulteration

- with cow milk and their fat and protein contents using NIR spectroscopy and PLS algorithms. *LWT* 127, 109427. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109427>
65. Pereira, P.C., 2014. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition* 30, 619–627. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.10.011>
66. Petrova, S.Yu., Khlgatian, S.V., Emelyanova, O.Yu., Pishchulina, L.A., Berzhets, V.M., 2022. Structure And Biological Functions Of Milk Caseins. *Russ. Open Med. J.* 11, e0209. <https://doi.org/10.15275/rusomj.2022.0209>
67. Potential Applications of Milk Fractions and (2015).pdf, n.d.
68. Pradeepkiran, J.A., 2019. Aquaculture role in global food security with nutritional value: a review. *Transl. Anim. Sci.* 3, 903–910. <https://doi.org/10.1093/tas/txz012>
69. Prosser, C.G., 2021. Compositional and functional characteristics of goat milk and relevance as a base for infant formula. *J. Food Sci.* 86, 257–265. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15574>
70. Rajput, Y. S., & Sharma, R. (Eds.). (2023). *Enzymes Beyond Traditional Applications in Dairy Science and Technology*. Elsevier.
71. Rea, S., Chikuni, K., Branciarri, R., Sangamayya, R.S., Ranucci, D., Avellini, P., 2001. Use of duplex polymerase chain reaction (duplex-PCR) technique to identify bovine and water buffalo milk used in making mozzarella cheese. *J. Dairy Res.* 68, 689–698. <https://doi.org/10.1017/S0022029901005106>
72. Real time in situ monitoring of surfaces during glow discharge processing NH₃ and H₂ plasma passivation of GaAs.pdf, n.d.
73. Reddy, D.M., Venkatesh, K., Reddy, C.V.S., n.d. Adulteration of milk and its detection: A review. *Int. J. Chem. Stud.*
74. Salleh, N.A., Selamat, J., Meng, G.Y., Abas, F., Jambari, N.N., Khatib, A., 2019. Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis of milk from different goat breeds. *Int. J. Food Prop.* 22, 1673–1683. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1668803>
75. Shabir Barham, G., 2014. Detection and Extent of Extraneous Water and Adulteration in Milk Consumed at Hyderabad, Pakistan. *J. Food Nutr. Sci.* 2, 47. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.20140202.15>

76. Sharma, S., Singh, A.K., Kaushik, S., Sinha, M., Singh, R.P., Sharma, P., Sirohi, H., Kaur, P., Singh, T.P., n.d. Lactoperoxidase: structural insights into the function, ligand binding and inhibition.
77. Silva, A.R.A., Silva, M.M.N., Ribeiro, B.D., 2020. Health issues and technological aspects of plant-based alternative milk. *Food Res. Int.* 131, 108972. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108972>
78. Silva, R.C.D., Colleran, H.L., Ibrahim, S.A., 2021. Milk fat globule membrane in infant nutrition: a dairy industry perspective. *J. Dairy Res.* 88, 105–116. <https://doi.org/10.1017/S0022029921000224>
79. Sinanoglou, V., Cavouras, D., Xenogiannopoulos, D., Proestos, C., Zoumpoulakis, P., 2018. Quality Assessment of Pork and Turkey Hams Using FT-IR Spectroscopy, Colorimetric, and Image Analysis. *Foods* 7, 152. <https://doi.org/10.3390/foods7090152>
80. Soomro, A.A., Khaskheli, M., Memon, M.A., Barham, G.S., Haq, I.U., Fazlani, S.N., Khan, I.A., Lochi, G.M., Soomro, R.N., n.d. STUDY ON ADULTERATION AND COMPOSITION OF MILK SOLD AT BADIN.
81. Stergiadis, S., Nørskov, N.P., Purup, S., Givens, I., Lee, M.R.F., 2019. Comparative Nutrient Profiling of Retail Goat and Cow Milk. *Nutrients* 11, 2282. <https://doi.org/10.3390/nu11102282>
82. Suri, S., Kumar, V., Prasad, R., Tanwar, B., Goyal, A., Kaur, S., Gat, Y., Kumar, A., Kaur, J., Singh, D., 2019. Considerations for development of lactose-free food. *J. Nutr. Intermed. Metab.* 15, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.jnim.2018.11.003>
83. Terouzi, W., Omari, S., Boutoial, K., Oussama, A., n.d. Quantitative Detection of Cow Milk in Goat Milk by Chemometrics Analysis Based on Mid Infrared Spectroscopy.
84. Tessema, A., Tibbo, M., n.d. Milk quality control.
85. Tsakali, E., Agkastra, C., Koliaki, C., Livanios, D., Boutris, G., Christopoulou, M.I., Koulouris, S., Koussissis, S., Impe, J.F.M.V., Houhoula, D., 2019. Milk Adulteration: Detection of Bovine Milk in Caprine Dairy Products by Real Time PCR. *J. Food Res.* 8, 52. <https://doi.org/10.5539/jfr.v8n4p52>
86. Ultra-Heat Treatment on Milk Proteins.pdf, n.d.

87. Visioli, F., Strata, A., 2014. Milk, Dairy Products, and Their Functional Effects in Humans: A Narrative Review of Recent Evidence. *Adv. Nutr.* 5, 131–143. <https://doi.org/10.3945/an.113.005025>
88. Windarsih, A., Irnawati, Rohman, A., 2020. Application of FTIR-ATR spectroscopy and chemometrics for the detection and quantification of lard oil in bovine milk fat. *Food Res.* 4, 1732–1738. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(5\).087](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(5).087)
89. Xie, G., Luo, P., Deng, M., Wang, Z., 2015. Nanoplugging Performance of Hyperbranched Polyamine as Nanoplugging Agent in Oil-Based Drilling Fluid. *J. Nanomater.* 2015, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/821910>
90. Xiu, C., Klein, K.K., 2010a. Melamine in milk products in China: Examining the factors that led to deliberate use of the contaminant. *Food Policy* 35, 463–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2010.05.001>
91. Xiu, C., Klein, K.K., 2010b. Melamine in milk products in China: Examining the factors that led to deliberate use of the contaminant. *Food Policy* 35, 463–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2010.05.001>
92. Yaman, H., 2020a. A rapid method for detection adulteration in goat milk by using vibrational spectroscopy in combination with chemometric methods. *J. Food Sci. Technol.* 57, 3091–3098. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04342-4>
93. Yaman, H., 2020b. A rapid method for detection adulteration in goat milk by using vibrational spectroscopy in combination with chemometric methods. *J. Food Sci. Technol.* 57, 3091–3098. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04342-4>
94. Yaman, H., Aykas, D.P., Rodriguez-Saona, L.E., 2023. Monitoring Turkish white cheese ripening by portable FT-IR spectroscopy. *Front. Nutr.* 10, 1107491. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1107491>
95. Yang, R., Huang, W., Zhang, L., Thomas, M., Pei, X., 2009. Milk adulteration with melamine in China: crisis and response. *Qual. Assur. Saf. Crops Foods* 1, 111–116. <https://doi.org/10.1111/j.1757-837X.2009.00018.x>
96. Yao, Y., Zhao, G., Xiang, J., Zou, X., Jin, Q., Wang, X., 2016. Lipid composition and structural characteristics of bovine, caprine and human milk fat globules. *Int. Dairy J.* 56, 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.12.013>

97. Zamberlin, Š., Antunac, N., Havranek, J., Samaržija, D., 2012. Mineral elements in milk and dairy products.
98. <https://www.csmonitor.com/World/Asia-Pacific/2008/0917/p01s03-woap.html>
99. DOI:10.13040/IJPSR.0975-8232.5(8).3086-95

Ελληνική βιβλιογραφία

1. Επίσημη εφημερίδα Ε.Ε. για την καθιέρωση ορισμένων μεθόδων ανάλυσης και δοκιμής του θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος που προορίζεται για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση.pdf, n.d.
2. ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2016(2014-2015).pdf, n.d.
3. ΕΤΗΣΙΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ Έτος 2018.pdf, n.d.
4. Ετήσια Γεωργική Στατιστική Έρευνα (Οριστικά Αποτελέσματα) (2019).pdf, n.d.
5. Καμινारीδης, Σ., & Μοάτσου, Γ. (2009). Γαλακτοκομία.*Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα*, 23-26.
6. κανονισμός 8532004.pdf, n.d.
7. ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 1662-2006 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ.pdf, n.d.
8. Κεχαγιάς, Χ., & Τσάκαλη, Ε. (2017). *Επιστήμη και Τεχνολογία Γάλακτος και Γαλακτοκομικών Προϊόντων*. Αθήνα: Εκδόσεις Νέων Τεχνολογιών.
9. Κώδικας-Τροφίμων-και-Ποτών 2003.pdf, n.d.
10. Μπατρίνου, Α. Μ. (2011). Σύγχρονη Βιοτεχνολογία Τροφίμων Γενετικά Τροποποιημένα Τρόφιμα. Στο ΑΜ Μπατρίνου.*Σύγχρονη Βιοτεχνολογία Τροφίμων Γενετικά Τροποποιημένα Τρόφιμα*, 32-44.