

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΚΟΡΜΠΑΚΗ ΜΑΡΙΑ (15044)

ΓΚΙΟΚΑ ΜΑΡΙΝΑ (15017)

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΔΙΟΝΥΣΗΣ ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ ΟΣΟΝ ΑΦΟΡΑ ΤΑ ΠΟΙΟΤΙΚΑ
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΕ ΟΛΑ ΤΑ ΕΙΔΗ**



ΑΘΗΝΑ, 2021

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την διεκπεραίωση της παρούσας πτυχιακής εργασίας, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον επιβλέποντα καθηγητή, κο. Διονύση Αντωνόπουλο, όπως και την κα. Δήμητρα Χούχουλα, για τη συνεργασία και την πολύτιμη συμβολή τους στην ολοκλήρωσή της.

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Κορμπάκη Μαρία του Νικολάου , με αριθμό μητρώου 15044 και η κάτωθι υπογεγραμμένη Γκιόκα Μαρίνα του Ιωάννη, με αριθμό μητρώου 15017, φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της σχολής Επιστήμων Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

<<Είμαστε συγγραφείς αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχαμε για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες κάναμε χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνουμε ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμάς αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μας, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μας ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μας >>.

Η Δηλούσα

Κορμπάκη Μαρία



Η Δηλούσα

Γκιόκα Μαρίνα



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ABSTRACT

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Κεφάλαιο 1ο : Γάλα	11
Εισαγωγή.....	11
Ορισμός.....	12
Ιστορική αναδρομή.....	14
Αξία γάλακτος.....	16
Κεφάλαιο 2ο : Είδη γάλακτος	17
2.1 Αγελαδινό.....	17
2.2 Πρόβειο.....	18
2.3 Αίγιο.....	19
Κεφάλαιο 3ο : Ιδιότητες γάλακτος	21
3.1 Φυσικής ιδιότητες γάλακτος.....	21
3.2 Χημική σύσταση γάλακτος.....	25
3.2.1 Υδατάνθρακες.....	25
3.2.2 Λιπαρά.....	26
3.2.3 Μέταλλα κ' βιταμίνες.....	26
3.2.4 Άλατα & Ιχνοστοιχεία.....	28
3.3 Παράγοντες που την επηρεάζουν.....	29
Κεφάλαιο 4ο : Πρωτεΐνες γάλακτος	32
4.1 Χημεία πρωτεϊνών γάλακτος.....	32
4.2 Καζεΐνες γάλακτος (α ₁ -CN, α ₂ -CN, β-CN κ-CN).....	34
4.2.1 α ₁ -καζεΐνη.....	37
4.2.2 β-καζεΐνη.....	39
4.2.3 κ-καζεΐνη.....	39
4.3 Πρωτεΐνες ορού γάλακτος.....	40
4.3.1 Β-λακτογλοβουλίνη (β-Lg).....	42
4.3.2 Α-γαλακτογλοβουλίνη (α-La).....	42
4.3.3 Οροαλβουμίνη (Sa).....	42
4.3.4 Ανοσογλοβουλίνες ή Ανοσοσφαιρίνες (-Ig ή Immunoglobulins).....	43
4.3.5 Δευτερεύουσες πρωτεΐνες κι ενώσεις NPN.....	43
Κεφάλαιο 5ο : Γενετικός πολυμορφισμός πρωτεϊνών γάλακτος	45

5.1 Ορισμός.....	45
5.2 Ιστορική ανασκόπηση.....	46
5.3 Γονότυποι.....	46
5.3.1 Γονότυποικαζεΐνών.....	48
5.3.1.1 as1-καζεΐνη.....	50
5.3.1.2 as2-καζεΐνη.....	53
5.3.1.3 β-καζεΐνη.....	55
5.3.1.4 κ-καζεΐνη.....	59
5.3.2 Γονότυποι β-λακτογλοβουλίνης.....	62
5.3.3 Γονότυποι α-λακτογλοβουλίνης.....	63
5.4 Γενετική βάση του φαινομένου.....	64
5.5 Ανίχνευση πρωτεϊνικών πολυμορφισμών.....	64
5.5.1 Τεχνικές ηλεκτροφόρησης.....	66
5.5.2 Τεχνικές εστίασης στο ισοηλεκτρικό σημείο.....	67
5.5.3 Χρωματογραφικές μέθοδοι.....	68
5.5.4 Τεχνικές ανίχνευσης σε επίπεδο DNA και ιστούς.....	70
Κεφάλαιο 6ο : Επιρροή πολυμορφικών γονιδίων πρωτεϊνών σε ποιοτικά χαρακτηριστικά γάλακτος.....	72
6.1 Περιεκτικότητα σε λίπος.....	72
6.2 Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.....	73
6.3 Περιεκτικότητα σε λακτόζη.....	79
6.4 Άλλα χαρακτηριστικά.....	79
Συμπεράσματα-Συζήτηση.....	83
Βιβλιογραφία.....	86

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γάλα πρόκειται για ένα από τα σημαντικότερα τρόφιμα. Χρησιμοποιείται τόσο για την κατανάλωση τους, όσο και για την χρήση του για παρασκευή διάφορων προϊόντων όπως π.χ. τυρί, βούτυρο κ.ά.

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος, δηλαδή περιεκτικότητα σε λίπος, πρωτεΐνη, σάκχαρα, όπως και τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά, βρίσκονται σε άμεση επιρροή με την σύσταση του γάλακτος αλλά και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των προϊόντων του.

Στόχος τη παρούσας μελέτης είναι η αναζήτηση της σχέσης ανάμεσα στον πολυμορφισμό των πρωτεϊνών σε διάφορα είδη γάλακτος και στα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά. Γι' αυτό τον σκοπό έγινε αναζήτηση βιβλιογραφίας σε έγκυρες μηχανές αναζήτησης και πηγές σχετικά με τον πολυμορφισμό των γονιδίων που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του γάλακτος σε διάφορα είδη όπως και τον τρόπο που επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά του γάλακτος.

Από τα αποτελέσματα είναι εμφανές πως στα διάφορα είδη γάλακτος, ο πολυμορφισμός των γονιδίων που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του , επηρεάζει άμεσα όλα τα χαρακτηριστικά του γάλακτος, με διαφορετικό βαθμό και σε διαφορετικό τρόπο ανάλογα με το είδος του γάλακτος.

Λέξεις κλειδιά: πολυμορφισμός γονιδίων, σύσταση γάλακτος, πρωτεΐνες γαλακτος

ABSTRACT

Milk is one of the most important foods. It is used both for their consumption and for its use for the preparation of various products such as e.g. cheese, butter, etc.

The quality characteristics of milk, such as fat, protein, sugar as well as its physicochemical characteristics, are directly influenced by the composition of milk and the quality characteristics of its products.

The aim of this study is to find the relationship between the polymorphism of proteins in different types of milk and their quality characteristics. To this end, a literature search has been conducted on valid search engines and sources on the polymorphism of genes encoding milk proteins in various species as well as the way they affect milk characteristics.

From the results it is obvious that in the different types of milk the polymorphism of the genes that encode its proteins directly affects all the characteristics of the milk, to a different degree and in a different way depending on the type of milk.

Keywords: gene polymorphism, milk composition, milk proteins

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα1 :Γάλα.....	12
--------------------	----

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1:Πρωτεϊνική σύσταση αγελαδινού, πρόβειου κι αίγειου γάλακτος.....	20
Πίνακας 2:Μερικές φυσικοχημικές ιδιότητες του αίγειου, πρόβειου κι αγελαδινού γάλακτος.....	21
Πίνακας 3:Χαρακτηριστικά των μορίων των μικκυλίων στα διάφορα είδη γάλακτος.....	24
Πίνακας 4:Περιεκτικότητα γάλακτος σε μέταλλα και ιχνοστοιχεία στα διάφορα είδη γάλακτος.....	27
Πίνακας 5:Περιεκτικότητα σε βιταμίνες ανά 100gr.....	27
Πίνακας 6: Μέση σύσταση διαφόρων ειδών γάλακτος.....	28
Πίνακας 7:Συγκέντρωση αμινοξέων γάλακτος (g/100gr πρωτεΐνης).....	32
Πίνακας 8:Ιδιότητες πρωτεϊνών αγελαδινού γάλακτος.....	33
Πίνακας 9:Αναλογία κλασμάτων καζεΐνης σε διάφορα είδη γάλακτος.....	34
Πίνακας 10:Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των καζεϊνών του γάλακτος αγελάδων.....	36
Πίνακας 11:Φυσικά χαρακτηριστικά κύριων πρωτεϊνών ορού.....	41
Πίνακας 12:Μερικές δευτερεύουσες πρωτεΐνες στο αίγιο γάλα, αγελαδινό γάλα και ανθρώπινο γάλα.....	43
Πίνακας 13:Συχνότητα εμφάνισης γενοτύπων τις κ-καζεΐνης, β-καζεΐνης, αs1-καζεΐνης, β-γαλακτογλοβουλίνης και α-γαλακτογλοβουλίνης σε αγελάδες.....	48
Πίνακας 14:Αλληλόμορφα και γενότυποι μερικών πρωτεϊνών γάλακτος.....	49
Πίνακας 15:Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της αs2-καζεΐνηςστις αγελάδες.....	51
Πίνακας 16 : Θέσεις αλλά και διαφορές των αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της αs1-καζεΐνης στις αίγες.....	53
Πίνακας 17 :Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της αγελαδινήsαs2-καζεΐνης.....	53

Πίνακας 18:Θέσεις καθώς και διαφορές στα αμινοξέα στις γενετικές παραλλαγές της αs2-καζεΐνης στις αίγες.....	54
Πίνακας 19 :Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της β-καζεΐνης στις αγελάδες.....	56
Πίνακας 20:Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της β-καζεΐνης στις αίγες.....	57
Πίνακας 21:Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της κ-καζεΐνηςστις αγελάδες.....	59
Πίνακας 22:Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της κ-καζεΐνης της αίγας.....	61
Πίνακας 23:Τεχνικές και συστατικά που χρησιμοποιούνται σαν δείκτες για ανίχνευσηδιαφόρων τύπων ζωικού γάλακτος.....	64

Κεφάλαιο 1ο : Γάλα

1.1 Εισαγωγή

Το γάλα πρόκειται για ένα από τα σημαντικότερα προϊόντα στην ανθρώπινη διατροφή. Από τα αρχαία χρόνια το γάλα αποτελεί μία εξαιρετική πηγή τροφής για τον άνθρωπο καθώς περιέχει πλήθος θρεπτικών ουσιών που λειτουργούν σαν πηγή ενέργειας και τροφοδοτεί τον ανθρώπινο οργανισμό με απαραίτητα θρεπτικά συστατικά.

Τα κύρια συστατικά του γάλακτος είναι οι πρωτεΐνες, το λίπος και τα σάκχαρα, ενώ περιέχει ανόργανα συστατικά, βιταμίνες, μέταλλα και ιχνοστοιχεία που καθορίζουν τα ποιοτικά του χαρακτηριστικά. Ακόμα μερικές άλλες ιδιότητες του επηρεάζουν την ποιότητά του όπως π.χ. οι ρεολογικές του ιδιότητες καθώς και τα χαρακτηριστικά των μικκυλίων του.

Όλα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος επηρεάζονται από τον πολυμορφισμό των πρωτεϊνών του γάλακτος σε διαφορετικό βαθμό ανάλογα το είδος και τα χαρακτηριστικά του. Ο πολυμορφισμός αυτός αφορά τα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του γάλακτος και περιλαμβάνει διαφορές στην γονιδιακή αλληλουχία που οδηγούν στην παραγωγή πρωτεϊνών με διαφορετικά χαρακτηριστικά ακόμα και σε επίπεδο ελάχιστων αμινοξέων. Αυτός ο πολυμορφισμός παρόλο που είναι απειροελάχιστος μπορεί να επηρεάσει σε πολύ μεγάλο βαθμό όλα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος όπως π.χ. την σύνθεση των πρωτεϊνών του γάλακτος κ.α.

Τα τελευταία χρόνια η έρευνα έχει στραφεί στην μελέτη των γονιδίων σε επίπεδο DNA ώστε να αποσαφηνιστεί η σχέση ανάμεσα στον πολυμορφισμό τους και την σύνδεσή τους με τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος καθώς και ο τρόπος που τα επηρεάζουν. Τα αποτελέσματα σε ορισμένες περιπτώσεις συμφωνούν μεταξύ τους ενώ σε άλλες είναι αντικρουόμενα.

Έτσι, ο πολυμορφισμός των πρωτεϊνών μπορεί να είναι διαφορετικός ανάλογα στα διαφορετικά είδη γάλακτος (π.χ. γάλα από αγελάδες) και να επηρεάζει διαφορετικά τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος.

1.2 Ορισμός

Το γάλα πρόκειται για το έκκριμα από τον μαστικό αδένα των θηλαστικών και προορίζεται για την διατροφή των νεογέννητων. Αποτελεί την μοναδική τροφή τους έως μία ορισμένη ηλικία. Για τον άνθρωπο το γάλα καταναλώνεται καθημερινά στα πλαίσια της διαίτας είτε αυτούσιο είτε με την μορφή γαλακτοκομικών προϊόντων (π.χ. τυριά) σε όλη σχεδόν την διάρκεια της ζωής του.

Ο ορισμός για το γάλα, σύμφωνα με τον Ελληνικό κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κ.Τ.Π., 1998) είναι ο εξής: 'Γάλα είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν του ολοσχερούς, χωρίς διακοπή αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου που ζει και τρέφεται από υγιεινούς ορούς και που δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερόπωσης'.



Εικόνα 1 : Γάλα Πηγή : <https://www.olivemagazine.gr/>

Σαν γάλα εννοούμε το γάλα το οποίο προέρχεται από αγελάδα, είναι νωπό, πλήρες, δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση και δεν περιέχει άλλες ύλλες που του έχουν προστεθεί (Μάντης, 2000)

Ο ορισμός που έδωσε FAO (1973) για το γάλα είναι ο εξής: 'Γάλα είναι το έκκριμα του μαστού το οποίο είναι απαλλαγμένο από πρωτόγαλα, λαμβάνεται

με άμελξη μίας ή περισσότερων υγιών αγελάδων και το οποίο περιέχει τουλάχιστον 3,15% λίπος και 8,25% στερεά συστατικά άνευ λίπους'.

Ανάλογα με τις ανάγκες των καταναλωτών έχουν δημιουργηθεί διάφορες παραλλαγές του γάλακτος, όπως το ζαχαρούχο γάλα, θερμικά επεξεργασμένο γάλα, συμπυκνωμένο γάλα κ.α.

Πρωτόγαλα ή πυάρ. Πρόκειται για το γάλα που παράγει το ζώο αμέσως μετά τον τοκετό για σύντομο χρονικό διάστημα. Η σύσταση του είναι ανώμαλη και βλεννώδης. Λόγω της χαρακτηριστικής του οσμής δεν εμπορεύεται σαν βρώσιμο.

Νωπό γάλα. Πρόκειται για το γάλα που διατίθεται στην κατανάλωση χωρίς καμία άλλη πεξεργασία εκτό από την διήθηση, ψύξη και ομογενοποίηση.

Παστεριωμένο γάλα. Πρόκειται για το γάλα που υποβάλλεται σε παστερίωση ώστε να καταστραφεί το μεγαλύτερο μέρος των παθογόνων μικροοργανισμών. Η παστερίωση γίνεται με παραμονή του γάλακτος σε υψηλές θερμοκρασίες για σύντομο χρονικό διάστημα (ταχεία μέθοδος, 73°C για 15 sec)

Αποστειρωμένο γάλα. Πρόκειται για το γάλα που αποστειρώνεται ώστε να καταστραφούν σχεδόν όλοι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Η διαδικασία αυτή γίνεται με θέρμανση του γάλακτος στους 100°C για σύντομο χρονικό διάστημα (ταχεία μέθοδος 135-150°C για 2-10 sec).

Οογενοποιημένο γάλα. Πρόκειται για το γάλα το οποίο έπειτα από κατάλληλη κατεργασία σε συσκευή ομογενοποίησης δεν εμφανίζει απκορύφωση κατά την παραμονή του λόγω της κατάτμησης των λιποσφαιρίων του σε μέγεθος 1mm.

Γάλα κατάψυξης. Πρόκειται για το γάλα που έχει διατηρηθεί με ταχεία κατάψυξη κι έπειτα διατηρείται στους 15°C.

Γάλα αποβουτυρωμένο. Πρόκειται για το γάλα όπου έχει απομείνει έπειτα από πλήρη αφαίρεση του βουτύρου από το νωπό γάλα με μηχανική επεξεργασία και χωρίς καμία προσθήκη. Μπορεί να περιέχει έως και 0,2% λιπαρά.

Γάλα ημιαποβουτρωμένο. Πρόκειται για το προϊόν που απομένει έπειτα από τη μερική αφαίρεση του βουτύρου από το νωπό γάλα, που πρέπει να περιέχει 1,5-1,8% λιπαρά.

Γάλα μερικώς αποβουτρωμένο. Πρόκειται για προϊόν όμοιο με το ημιαποβουτρωμένο γάλα με την διαφορά πως τα λιπαρά του είναι περισσότερα (1,8%) και η σύστασή του θα πρέπει να αναφέρεται στην συσκευασία.

Γάλα εβαπορέ ή μερικώς συμπυκνωμένο ή γάλα αφυδατωμένο. Προϊόν που λαμβάνεται από την συμπύκνωση του νωπού γάλακτος, δηλαδή από την αφαίρεση μίας ποσότητας νερού (μισή του αρχικού όγκου)

Γάλ συμπυκνωμένο. Πρόκειται για το προϊόν συμπύκνωσης του νωπού γάλακτος σε όγκο 1/3 του αρχικού του όγκου. Θα πρέπει να περιέχει το λιγότερο 8% λιπαρά.

Σκόνη γάλακτος ή ξηρό γάλα. Προϊόν της πλήρους συμπύκνωσης του νωπού γάλακτος που θα πρέπει να διαθέτει τα εξής ποσοστά λιπαρών:24% για σκόνη ημιαποβουτρωμένου,14-17% για σκόνη ημιαποβουτρωμένου, 1,5% για σκόνη αποβουτρωμένου.

Γάλα σακχαρύχο. Πρόκειται για το αφυδατωμένο ή συμπυκνωμένο ή ξηρό γάλα στο οποίο έχει προστεθεί καλμοσάκχαρο ή δεξτρόζη ή και τα δύο.

1.3 Ιστορική αναδρομή

Από τα προϊστορικά χρόνια το γάλα έχει χρησιμοποιηθεί από τον άνθρωπο σαν τροφή. Οι ιδιότητες του γάλακτος είναι γνωστές από τα αρχαία χρόνια όπως και η παραγωγή προϊόντων του όπως τυρί ή γιαούρτι.

Είναι φανερό πως η κατανάλωση γάλακτος ξεκίνησε με την εξημέρωση των γαλακτοπαράγωγων ζώων. Τα κύρια ζώα που προσαρμόστηκαν στην εκτροφή τους για γαλακτοπαραγωγή ήταν οι αγελάδες, πρόβατα, αίγες και βουβάλια. Όμως χρησιμοποιήθηκαν κι άλλα ζώα για τον σκοπό αυτό όπως η γαιδούρα, καμήλα και φοράδα. Οι πρώτες ματυρίες για την σημασία του γάλακτος εντοπίζονται στην προχή της Σαχάρας σε τοιχογραφίες το 4.000π.Χ., που φανερώνουν την σημασία του γάλακτος για τους ανθρώπους. Το γάλα

λαμβάνονταν από τα πρόβατα και τις κασίκες κυρίως όπου εκτρέφονται και γι' αυτό τον σκοπό αλλά και για το κρέας και το μαλλί τους. Αυτό το πράγμα οδήγησε στην κοινωνική αλλά και πνευματική ανάπτυξη των ανθρώπων. Οι αγελάδες χρησιμοποιούνταν κυρίως σαν ζώα εργασίας. (Μάθιου, 2016)

Κατά την περίοδο του Μεσαίωνα τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούσαν πολύ σημαντικά τρόφιμα σε όλη την Ευρώπη. Στην Ελλάδα η κατανάλωση υριού ήταν ιδιαίτερα συνηθισμένη ενώ το βούτυρο και φρέσκο γάλα ήταν γνωστά στις περιοχές της Ευρώπης αλλά και της Ασίας. Στην βόρεια Αμερική το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα έγιναν γνωστά με την άφιξη των Ευρωπαίων τον 14ο και 15ο αιώνα όπου αρχίζει η ανάπτυξη του κλάδου της παραγωγής γάλακτος και προϊόντων τους. Τον 17ο και 18ο αιώνα έχουμε δημιουργία των τσελιγκάτων στις ορεινές περιοχές όπου οδήγησαν στην οικονομική ανάπτυξη των περιοχών αυτών. Ακόμα την περίοδο αυτή δημιουργούνται και τα πρώτα τυροκομεία, μέρη του τσελιγκάτου. Επιπλέον, από τον 18ο αιώνα κι έπειτα γίνονται αρκετές αλλαγές στον χειρισμό του γάλακτος καθώς κι στην παραγωγή προϊόντων του. Η τεχνολογική ανάπτυξη της εποχής εκείνης έρχεται να δώσει ώθηση στην παραγωγή γάλακτος και προϊόντων της με αποτέλεσμα να εδραιώνει την θέση τους στην διατροφή των ανθρώπων σε όλες τις περιοχές της Γης (Μάθιου, 2016).

Στην Ελλάδα μέχρι πρόσφατα, η κτηνοτροφία ασχολείται κυρίως με την κάλυψη των αναγκών για μαλλί και δέρμα καθώς το γάλα αποτελούσε ευαίσθητο προϊόν. Μεγάλη ώθηση στην παραγωγή γάλακτος έδωσε η δημιουργία της βιομηχανίας ΕΒΓΑ στην Αθήνα το 1934 από Ελληνοαμερικάνους μετανάστες ώστε να παράγει παστεριωμένο αγελαδινό γάλα.

Το 1950 στην Ελλάδα προωθείται το πρόγραμμα γενετικής βελτίωσης των εγχώριων φυλών αγελάδων ώστε να βελτιωθούν τα χαρακτηριστικά τους. Στην Αθήνα και Θεσσαλονίκη ιδρύονται δύο κέντρα τεχνικής σερατέγχυσης ενώ ταυτόχρονα εμφανίζονται τα πρώτα εργοστάσια. Το πρώτο εργοστάσιο που δημιουργήθηκε ήταν το εργοστάσιο του συναιτερισμού αγελαδοτρόφων Ασπρόπυργου ΑΣΠΡΟ. Έπειτα, δημιουργείται το ΑΣΤΥ στην Αθήνα όπου ακολουθείται από την δημιουργία σύγχρονων συναιτεριστικών εργοστασίων όπως της Λάρισσας κ.α. όπου ξεκίνησε η παραγωγή παστεριωμένου γάλακτος και τυριών. (Μάθιου, 2016).

1.4 Αξία γάλακτος

Τα γαλακτοκομικά μπορούν να καταναλωθούν στα πλαίσια μίας ισορροπημένης Μεσογειακής διατροφής (Trichoroulou et al., 2006). Η κατανάλωση ενός λίτρου γάλακτος καλύπτει το 40% των ενεργειακών αναγκών στα παιδιά, το 70% των αναγκών σε πρωτεΐνες και το 100% των αναγκών σε ασβέστιο και φώσφορο. Ανάλογα με τις βιταμίνες οι ανάγκες του οργανισμού καλύπτονται από 5% ως 100% (Ζαρπούτης, 1994).

Το γάλα αποτελεί πλήρη τροφή και άριστη πηγή θρεπτικών συστατικών για τον άνθρωπο. Έχει χαρακτηριστεί σαν σημαντική πηγή βιενρεγώ συστατικών όπου έχει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της αρτηριοσκληρόνωσης, υπέρτασης και του διαβήτη. Έτσι μπορεί να καταναλωθεί με μέτρο σε καθημερινή βάση (Ζαρμπούτης, 1994).

Η αναλογία των συστατικών του ποικίλλει ανάλογα με τα είδη γάλακτος ενώ η χρησιμότητα της λακτόζης, πρωτεϊνών και λίπους έγκειται στο γεγονός πως αποτελούν πηγή ενέργειας για τον ανθρώπινο οργανισμό. Το γάλα συμβάλλει ακόμα στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων του ανοσοποιητικού συστήματος ενώ προστατεύει τον ανθρώπινο οργανισμό από όγκους και καρκίνο μέσω της αντιμικροβιακής του δράσης.

Συγκεκριμένα οι πρωτεΐνες γάλακτος πρόκειται για πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας που αποτελούν δομικά συστατικά του οργανισμού. Η βιταμίνη Α προστατεύει την όραση, Η βιταμίνη Β12 βοηθάει στην απορρόφηση συστατικών. Ακόμα το γάλα περιέχει ζωντανούς μικροοργανισμούς (έπειτα από τη ζύμωσή του) που ρυθμίζουν την ισορροπία η εντερικής χλωρίδας . Η λακτόζη του γάλακτος παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση της γεύσης και του χρώματος των γαλακτοκομικών προϊόντων ενώ βοηθάει στον σχηματισμό του εγκεφάλου και των νευρικών ιστών. Τέλος, η αξία της λακτόζης έγκειται στο γεγονός ότι μεγάλο μέρος της παραμένει άθικτο

και συμβάλλει στην ανάπτυξη απαραίτητων βακτηρίων για τον οργανισμό καθώς και στην απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. (Γεωργάκης , 2002).

Κεφάλαιο 2° : Είδη γάλακτος

Τα διάφορα είδη γάλακτος κατηγοριοποιούνται ανάλογα με την προέλευσή τους, δηλαδή το γαλαοφόρο ζώο από το οποίο λαμβάνονται. Τα σημαντικότερα είδη γάλακτος είναι το αγελαδινό γάλα, το πρόβειο γάλα και το αίγιο γάλα. Ακόμα θα γίνει και μία μικρή αναφορά στο μητρικό γάλα λόγω της ιδιαίτερης σημασίας του.

2.1 Αγελαδινό

Το αγελαδινό γάλα πρόκειται για το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο γάλα από τον άνθρωπο. Χρησιμοποιείται στην καθημερινή ζωή και είναι το πιο διάσημο είδος γάλακτος. Η αγελάδα προσφέρει περίπου το 91% της παγκόσμιας γαλακτοπαραγωγής με αρκετές χώρες να παράγουν μόνο αγελαδινό γάλα.

Η μέση χημική σύσταση του αγελαδινού γάλακτος, σχετικά με τα κύρια χαρακτηριστικά του είναι η εξής: Νερό 87%, Λίπος 3,6%, Καφεΐνες 2,8%, Πρωτεΐνες ορού 0,6%, Λακτόζη 4,9% και Ανόργανα άλατα (τέφρα) 0,7%. Αναλυτικότερα, η περιεκτικότητα του αγελαδινού γάλακτος σε νερό κυμαίνεται σε 85-88%. Σε όλα τα είδη γάλακτος αποτελεί το συστατικό με την μεγαλύτερη αναλογία (Ανυφαντάκης, 1994).

Η μέση περιεκτικότητα του αγελαδινού γάλακτος σε πρωτεΐνες κυμαίνεται στα 3,3g/100ml με μέσο όρο τα 3,5g/100ml. Οι καζεΐνες αποτελούν το 2,9% και το 0,6% αποτελούν οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος. Η κύρια πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος είναι η αs-1καζεΐνη που θεωρείται υπεύθυνη για αλλεργίες που προκαλούνται σε βρέφη και ενήλικες. Όμως λόγω του μεγάλου πλήθους παραλλαγών που υπάρχουν είναι δύσκολο να εντοπιστεί η ακριβής πρωτεΐνη που προκαλεί αλλεργία.

Η λιποπεριεκτικότητα του διαφέρει ανάλογα με την φυλή αγελάδας, την ηλικία, την διατροφή και τις περιβαλλοντικές του συνθήκες. Για παράδειγμα οι ελβετικές αγελάδες αποδίδουν γάλα με λιπαρά 4% ενώ τα λιπαρά του

γάλακτος των ολλανδικών αγελάδων είναι χαμηλότερα, 3,3%. Ο Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών (1971) δέχεται σαν μικρότερη τιμή το 3,5%. Το λίπος του αγελαδινού γάλακτος περιέχει 85% λιπαρά οξέα που εντοπίζονται στο μόριο των γλυκεριδίων εκ των οποίων το 35% είναι λιπαρά οξέα μέσης αλυσίδας. Ακόμα το λίπος στο γάλα είναι μορφοποιημένο σε λιποσφαίρια όπου στο μεγαλύτερο μέρος τους αποτελούνται από τριγλυκερίδια (95-96%) (Ανυφαντάκης, 1994).

2.2 Πρόβειο

Το πρόβειο γάλα πρόκειται για το γάλα που λαμβάνεται από πρόβατα. Περιέχει περισσότερα λιπαρά, πρωτεΐνες και άλατα από το αγελαδινό γάλα. Μία προβατίνα αποδίδει 25-100lt γάλακτος τον χρόνο και η περίοδος γαλουχίας της διαρκεί 180-220 ημέρες. Προβατίνες ράτσας μπορούν να αποδώσουν έως και 250lt γάλα τον χρόνο.

Η σύσταση του πρόβειου γάλακτος εμφανίζει σημαντική διακύμανση στην εκατοστιαία αναλογία των βασικών συστατικών του ιδιαίτερα κατά την γαλακτική περίοδο και ως προς το λίπος και τις πρωτεΐνες.

Η μέση περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνη κυμαίνεται στα 5,8% (w/w) και αποτελεί το 95% του ολικού N που περιέχεται σε αυτό. Τα μικκύλια του πρόβειου γάλακτος είναι όμοια με τα μικκύλια του αίγειου γάλακτος και περιέχουν περισσότερο Ca, ανόργανο φώσφορο και non-centrifugal καζεΐνης, ενώ είναι λιγότερο διαλυτά σε σχέση με τα καζεϊνικά μικκύλια το αγελαδινού γάλακτος (Ανυφαντάκης, 1994).

Η λιποπεριεκτικότητα και περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες στο πρόβειο γάλα είναι υψηλότερες από αυτές του αγελαδινού. Η περιεκτικότητα σε λίπος εμφανίζει διακύμανση κατά τη διάρκεια της γαλακτοπαραγωγής. Το λίπος εμφανίζει μία σχετική μείωση έως την τρίτη εβδομάδα και στη συνέχεια αυξάνεται. Κατά την δίοδο από τις 3 έως 2 αμέλξεις ανά 24ωρο παρατηρείται μία απότομη πτώση της λιποπεριεκτικότητας του γάλακτος (2-3%) ενώ απαιτούνται 3-4 εβδομάδες ώστε να ανέλθει στα προηγούμενα επίπεδα. Την ίδια πορεία εμφανίζει το κλάσμα των συνολικών στερεών και οι πρωτεΐνες έπειτα από μικρή πτώση ενώ την πρώτη-δεύτερη εβδομάδα αυξάνονται τα κανονικά του επίπεδα (5,5-6,5%) για να παραμείνουν σταθερές κατά την υπόλοιπη γαλακτική περίοδο. Ακόμα η λακτόζη έπειτα από μία μικρή αρχική

περίοδο (2η εβδομάδα) μειώνεται ελάχιστα έως να παραμείνει σταθερή σε όλη την υπόλοιπη περίοδο (Ανυφαντάκης, 1994).

Τέλος το πρόβειο γάλα είναι πιο πλούσιο σε λευκώματα και λίπος από το αγελαδινό γάλα ενώ δεν εντοπίζονται άλλες ουσιαστικές διαφορές μεταξύ τους. Εμφανίζει ακόμα μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε άλατα ενώ η περιεκτικότητα σε λακτόζη είναι παραπλήσια. Έτσι το πρόβειο γάλα αποδίδει περισσότερη ποσότητα τυριού κατά την τυροκόμιση ενώ παράγει γιαούρτι με μεγαλύτερο ιξώδες.

2.3 Αίγαιο

Το αίγαιο γάλα καθώς και τα γλακτοκομικά προϊόντα που παράγονται από αυτό, πρόκειται για προϊόντα που διαθέτουν πλήθος θρεπτικών συστατικών στα πλαίσια μίας ισορροπημένης και υγιεινής διατροφής. Σχετικά με τα υπόλοιπα είδη γάλακτος διαφοροποιείται τόσο ως προς την ποσότητα όσο και ως προς την ποιότητα των θρεπτικών συστατικών που περιέχει.

Η μέση περιεκτικότητα του αίγειου γάλακτος σε πρωτεΐνες κυμαίνεται στα 4,6% (w/w). Οι πρωτεΐνες του αίγειου γάλακτος διαφέρουν από αυτές άλλων ειδών γάλακτος, κυρίως ως προς την σύνθεση των αμινοξέων τους όπως είναι ίδιες και στο αγελαδινό γάλα. Οι πρωτεΐνες του αίγειου γάλακτος είναι πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας που δεν προκαλούν αλλεργία καθώς περιέχει πολύ μικρή περιεκτικότητα σε as-1καζεΐνη, πράγμα στο οποίο οφείλεται η υποαλλεργική ιδιότητά του. Επιπλέον, η χαμηλή περιεκτικότητα του κασικίσιου γάλακτος σε αυτή την πρωτεΐνη ευνοεί τον σχηματισμό πιο μαλακού και εύθραυστου πήγματος κατά την πήξη του γάλακτος με αποτέλεσμα το πήγμα αυτό να διασπάται πιο γρήγορα από τα ένζυμα του στομάχου (πρωτεάσες) κάνοντάς το πιο εύπεπτο. Τέλος οι πρωτεΐνες του αίγειου γάλακτος αποτελούν πηγή βιοενεργών πεπτιδίων που εμφανίζουν διατροφικό και κλινικό ενδιαφέρον καθώς επιδρούν θετικά στην λειτουργία των συστημάτων του ανθρώπινου οργανισμού (Ανυφαντάκης, 1994).

Οι διατροφικές ιδιότητες του κασικίσιου γάλακτος οφείλονται και στην δομή και σύσταση του λίπους του γάλακτος (προφίλ λιπαρών οξέων) όπου κι εντοπίζονται οι μεγαλύτερες διαφορές σε σχέση με το αγελαδινό γάλα. Τα λιποσφαίρια του λίπους του κασικίσιου γάλακτος με διάμετρο μικρότερη των 3μm είναι μικρότερα από τα αντίστοιχα του αγελαδινού γάλακτος. Σε συνδυασμό με την έλλειψη αγλουτανίνης από την μεμβράνη τους στερεί από

το γάλα την ικανότητα φυσικής αποκορύφωσης (δηλαδή συγκέντρωσης λίπους στην επιφάνειά του) με αποτέλεσμα την φυσική του ομογενοποίηση. Το μικρότερο μέγεθος των λιποσφαιρίων σε συνδυασμό με την έλλειψη καροτενίων συμβάλλει στο λευκό χρώμα του. Η μεγαλύτερη επιφάνεια των λιποσφαιρίων καθώς και η ομοιόμορφη κατανομή τους συμβάλλει επίσης στην καλύτερη πεπτικότητα του λόγω της ταχύτερης και αποτελεσματικότερης δράσης λιπολυτικών ενζύμων (Park, 1994).

Οι διαφορές στο προφίλ των λιπαρών οξέων εντοπίζονται κυρίως στην μικρή και μεσαία αλυσίδα λιπαρών οξέων που εντοπίζονται σε αυξημένη συγκέντρωση στο κατσικίσιο γάλα. Το λίπος του αίγειου γάλακτος περιέχει 35% λιπαρά οξέα μέσης αλυσίδας με τα ποσοστά του καπροϊκού, καπρυλικού και καπρικού οξέος να κυμαίνεται στα 15% (Park, 1994).

Το αίγειο γάλα περιέχει λακτόζη σε ελαφρώς χαμηλότερα ποσοστά από το αγελαδινό γάλα. Οι ολιγοσακχαρίτες εντοπίζονται σε 10πλάσια ποσότητα στο κατσικίσιο γάλα σε σχέση με το αγελαδινό. Οι ολιγοσακχαρίτες δρουν ευνοϊκά στην ενίσχυση τη ανάπτυξης των Bifidobacteria που κατέχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην μικροχλωρίδα του εντέρου.

Το γίδινο γάλα περιέχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σε βιταμίνες Α, θειαμίνη, ριβοφλαμίνη, νιασίνη και παντοθενικό οξύ. Σε μικρότερες ποσότητες περιέχει φολικό οξύ, βιταμίνη Β όπως και μερικά ένζυμα όπως η ξανθίνη οξειδάση, αλκαλική φωσφατάση και ριβονουκλεοτάση (Park, 1994).

Η περίοδος γαλουχίας στις κατσικές ξεκινάει τον χειμώνα και διαρκεί 120-220 ημέρες, με απόδοση διπλάσια από αυτή του προβάτου. Σε ορισμένες φυλές η απόδοση μπορεί να φτάσει έως και τα 500-800lt το χρόνο.

Συστατικά (g/100g)	Αγελαδινό γάλα	Πρόβειο γάλα	Αίγειο γάλα
Ολική πρωτεΐνη	3,2	4,6	3,2
Καζεΐνες	2,6	3,9	2,6
Πρωτεΐνες ορού	0,6	0,7	0,6

Πίνακας 1 : Πρωτεϊνική σύσταση αγελαδινού, πρόβειου κι αίγειου γάλακτος

Πηγή : Borkova & Snaselova (2005).

Κεφάλαιο 3ο : Ιδιότητες γάλακτος

3.1 Φυσικές ιδιότητες γάλακτος

Από την σκοπιά της φυσικής το γάλα είναι ένα αραιό γαλάκτωμα, και κολλοειδές αιώρημα. Επειδή το κύριο συστατικό του γάλακτος είναι το νερό, οι φυσικές του ιδιότητες ομοιάζουν με αυτές του γάλακτος, που όμως τροποποιούνται από την διασπορά των στερεών του συστατικών.

Ιδιότητες	Αίγαιο γάλα	Πρόβειο γάλα	Αγελαδινό γάλα
Ειδικό βάρος	1,029-1,039	1,0347-1,0348	1,0231-1,0398
Ιξώδες	2,12	2,86-3,93	2
Επιφανειακή τάση (dynes/cm)	52	44,94-48,47	42,3-52,1
Αγωγιμότητα ($\Omega^{-1}\text{cm}^{-1}$)	0,0043- 0,0139	0,0038	0,0040-0,0055
Δείκτης διάθλασης	1,450±0,39	1,349201,3497	1,451±0,35
Σημείο πήξης (-°C)	0,540-0,573	0,57	0,530-0,570
Οξύτητα (γαλακτικό οξύ %)	0,14-0,23	0,22-0,25	0,15-0,18
pH	6,50-6,80	6,50-6,85	6,65-6,71

Πίνακας 2 : Μερικές φυσικοχημικές ιδιότητες του αίγειου, πρόβειου και αγελαδινού γάλακτος

Πηγή : Juarez and Ramos (1986) , Kurkdjan and Gabrielian (1962), Jennes et al., (1974).

➤ **Χρώμα**

Όσον αφορά το χρώμα του γάλακτος, το χρώμα του είναι λευκό και οφείλεται στον σκεδασμό του φωτός που προκαλείται από τα λιποσφαίρια και μικκύλια της καζεΐνης. Η ικανότητα των μικκυλίων να σκεδάζουν το φως αυξάνεται ανάλογα με την περιεκτικότητα των μικκυλίων σε φωσφορικό ασβέστιο. Ο υποκίτρινος χρωματισμός του γάλακτος οφείλεται κατά κύριο λόγο στην ποσότητα λίπους και καροτονίνης αλλά και στα καροτένια (λιποδιαλυτές κίτρινες χρωστικές) που περιέχει. Η ποσότητα καροτονίνης που περιέχεται στο γάλα καθορίζεται από την φυλή και διατροφή των ζώων (Μάντης, 2000).

Το χρώμα του αγελαδινού γάλακτος είναι υπόλευκο έως υποκίτρινο λόγω της υψηλής του περιεκτικότητας σε λιποδιαλυτές χρωστικές, συγκεκριμένα την καροτίνη και ξανθοφύλλη. (Ζαρμπούτης, 1994).

➤ **Οργανοληπτικά χαρακτηριστικά**

Η γεύση του γάλακτος είναι ευχάριστη, υπόγλυκη, αποτέλεσμα της υψηλής περιεκτικότητας σε λακτόζη και της υπερχής της έναντι στην αλμυρή γευση των χλωριούχων αλάτων. Στα τέλη της γαλακτικής περιόδου ή σε περιπτώσεις που τα ζώα έχουν προσβληθεί από μαστίτιδα η περιεκτικότητα σε λακτόζη μειώνεται, ενώ η περιεκτικότητα σε άλατα αυξάνεται, πράγμα που καθιστά την γεύση υφάλμυρη. Στην περίπτωση που το γάλα παραμείνει χωρίς ψύξη η γεύση του γίνεται όξινη, πράγμα που οφείλεται στα προϊόντα που παράγονται κατά την διάσπαση της λακτόζης, κυρίως στο γαλακτικό οξύ (Ζαρμπούτης, 1994).

➤ **Πυκνότητα και ειδικό βάρος**

Η πυκνότητα του γάλακτος είναι η μάζα του ανά μονάδα όγκου και εκφράζεται σε kg/m^3 . Η πυκνότητα διαμορφώνεται ανάλογα με τα επιμέρους

συστατικά, δηλαδή από τον βαθμό ενυδάτωσης των πρωτεϊνών καθώς και τον ειδικό όγκο της λιπαρής φύσης του γάλακτος . Το ειδικό βάρος του γάλακτος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό τυχών νοθείας του. Το ειδικό βάρος του αγελαδινού γάλακτος είναι κατά μέσο όρο 1,032. Το ειδικό βάρος του πρόβειου γάλακτος κυμαίνεται από 1,035-1,036 (Ζαρμπούτης, 1994).

➤ **Ιξώδες**

Το ιξώδες αποτελεί το μέτρο της αντίστασης ενός υγρού στην κίνησή του. Για τα υγρά συγκεκριμένα αντιστοιχεί στην <<πηκτότητά>> του (Symon, Keith, 1971). Το ιξώδες του γάλακτος εξαρτάται από την θερμοκρασία του καθώς και την διασπορά των συστατικών του. Η τιμή του ιξώδους στο γάλα κυμαίνεται στα 0,9-2,1 cP και επηρεάζεται από την διασπορά των μικκυλίων καζεΐνης καθώς και από τον αριθμό των λιποσφαιρίων (Αληχανίδης, 2002)

➤ **Σημείο πήξης**

Το σημείο πήξης του γάλακτος εξαρτάται από την συγκέντρωση των υδατοδιαλυτών συστατικών του και ιδιαίτερα από τα μικρά μόρια και ιόντα του όπως η λακτόζη, οι πρωτεΐνες ορού και από τα άλατα, κυρίως από το χλώριο.

Το σημείο πήξης χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό τυχών νοθείας του γάλακτος με νερό καθώς αποτελεί την πιο σταθερή φυσική του ιδιότητα. Η μέση τιμή του σημείου πήξης του γάλακτος είναι $-0,545^{\circ}\text{C}$. Η όξυνση του γάλακτος μειώνει το σημείο πήξης του καθώς αυξάνει τον αριθμό μορίων των διαλυτών συστατικών του λόγω της διάσπασης της λακτόζης (Ζαρμπούτης, 1994).

➤ **Οξύτητα γάλακτος**

Το γάλα την στιγμή της άρμεξής του είναι ελαφρώς όξινο, πράγμα που οφείλεται στην καζεΐνη, αλβουμίνη, φωσφορικά και κιτρικές ενώσεις αλλά και στο CO₂ που περιέχει. Στην περίπτωση που το γάλα παραμείνει χωρίς ψύξη η οξύτητά του μεταβάλλεται αρκετά καθώς αναπτύσσονται σε αυτό μικροοργανισμοί που διασπούν την λακτόζη παράγοντας γαλακτικό οξύ και άλλα οξέα. Η οξύτητα του γάλακτος χρησιμοποιείται για την μέτρηση της μικροβιακής του ποιότητας αλλά και για την ακαταλληλότητα για παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων.

Χαρακτηριστικά	Αγελαδινό	Πρόβειο	Αίγιο
Μόρια			
Υπολείμματα αμινοξέων / μόριο			
as1-καζεΐνη	199	299	199
as2-καζεΐνη	207	208	208
β-καζεΐνη	209	207	207
κ-καζεΐνη	169	171	171
Αριθμός διαφορών υπολειμμάτων αμινοξέων μεταξύ των ειδών γάλακτος			
	Αγελαδινό/Αίγιο	Αγελαδινό/Πρόβειο	Αίγιο/Πρόβειο
as1-καζεΐνη	25	24	6
as2-καζεΐνη	25	27	4
β-καζεΐνη	21	-	-
κ-καζεΐνη	27	25	8
Μικκύλια			
Σχετική αναλογία καζεϊνών (% του συνόλου)			
as1- και as2-	48	36	2
β- και γ-	40	50	55
κ-καζεΐνη	12	14	18
Μέση διάμετρος (μm)	175	202	255
Βαθμός ενυδάτωσης	1,9	1,83	1,75
Άλατα (mg/g)			
Ασβέστιο	29	33	36
Ανόργανος φώσφορος	12	13	15

Πίνακας 3 : Χαρακτηριστικά των μορίων των μικκυλίων στα διάφορα είδη γάλακτος

Πηγή : Αλεξανδράκη (2009)

3.2 Χημική σύσταση γάλακτος

Το γάλα πρόκειται για την τροφή που προόρισε η φύση ώστε να παρέχει όλα τα θρεπτικά συστατικά στα νεογνά θηλαστικών ώστε να αναπτύσσονται γρήγορα. Ανάμεσα στα διάφορα είδη γάλακτος (εδώ θα αναλυθούν τρία είδη : το αγελαδινό, πρόβειο κι αίγειο γάλα) εμφανίζονται διαφορές στην αναλογία των διαφόρων συστατικών του παρόλο που τα κύρια συστατικά είναι τα ίδια για όλα τα είδη κι εντοπίζονται σε σημαντικές ποσότητες. Όλα αυτά τα συστατικά είναι διαλυμένα και εναιωρημένα στο νερό ενώ εντοπίζονται σε άλλα δευτερεύοντα συστατικά που εντοπίζονται σε συγκεκριμένα είδη γάλακτος σε πολύ μικρές ποσότητες.

3.2.1. Υδατάνθρακες

Το σημαντικότερο σάκχαρο που εντοπίζεται σε σημαντική ποσότητα είναι η λακτόζη. Στο αγελαδινό γάλα το μόνο σάκχαρο είναι η λακτόζη ενώ στο πρόβειο κι αίγειο γάλα εντοπίζονται και μικρές ποσότητες από άλλα είδη σακχάρων . Η λακτόζη αποτελείται από ένα μόριο γλυκόζης κι ένα μόριο γαλακτόζης ενωμένα με γλυκοζιτικό δεσμό. Η γαλακτόζη έχει σημαντικό ρόλο στο έντερο στην απορρόφηση του ασβεστίου. Η λακτόζη συντίθεται στον μαστό μέσω της γλυκόζης του αίματος.

Ανάλογα το είδος γάλακτος η περιεκτικότητα σε λακτόζη διαφέρει. Στο αγελαδινό γάλα η περιεκτικότητα σε λακτόζη ανέρχεται στο 4,28%, στο πρόβειο στο 4,75% και στο αίγειο στο 4,51% (Barlowska et al.,2011). Το γυναικείο γάλα πρόκειται για το είδος γάλακτος με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λακτόζη.

Σε ορισμένες περιπτώσεις η λακτόζη μπορεί να προκαλέσει δυσανεξία σε ανθρώπους ανεξαρτήτως ηλικίας ενώ ορισμένοι άνθρωποι υπολείπονται το Ένζυμο λακάσης ή αυτό παρουσιάζει μειωμένη δραστηριότητα (Μάντης,2000).

Στην φύση η γλυκόζη απαντάει στα διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα με τις Εξής μορφές :

- Κρυσταλλική ένυδρη α-λακτόζη.

- Κρυσταλλική άνυδρη β-λακτόζη.
- Άμορφη μη κρυσταλλική (ή άνυδρη υαλώδης).

Άλλοι υδατάνθρακες που εντοπίζονται σε μικρές ποσότητες είναι αρκετοί μονοσακχαρίτες ,ουδέτεροι ή όξινοι ολιγοσακχαρίτες καθώς και σάκχαρα δεσμευμένα με πρωτεΐνες ή πεπτίδια. Από τους μονοσακχαρίτες ανευρίσκονται η γλυκόζη,γαλακτόζη σε ποσά 10-20 mg/100ml (Nakamura et. Al., 2000).

Γλυκοπεπτίδια έχουν απομονωθεί από το πρωτόγαλα της αγελάδας και της γυναίκας και βρίσκονται να περιέχουν γαλακτόζη ,γλυκοζαμίνη,γαλακτοζαμίνη (Clare and swainsgoodt, 2002). Άλλοι μονοσακχαρίτες που εντοπίζονται στα διάφορα είδη γάλακτος είναι η φουκόζη ,γλυκπεπτίδια ή γλυκοπρωτεΐνες ,N-ακετυλογλυκοζαμίνη, N-ακετυλονευραμινικό και N-ακετυλογαλακταζαμίνη.

Οι ολιγοσακχαρίτες που περιέχονται στο γάλα επίσης φαίνεται να επιδρούν θετικά στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι ολιγοσακχαρίτες του μητρικού γάλακτος επιδρούν θετικά στην υγεία των βρεφών λόγω των πρεβιοτικών τους ιδιοτήτων καθώς και της συμμετοχής τους σε μηχανισμούς ενίσχυσης του ανοσολογικού συστήματος . πιθανώς σχετίζονται με τη ρύθμιση της μικροχλωρίδας στο έντερο, επιδρώντας σε διάφορες γαστροεντερικές διεργασίες και τροποποιώντας φλεγμονώδεις λειτουργίες (Gnoth et al .,2000). Πολύ λίγες είναι οι περιπτώσεις όπου βρέφη που τρέφονται με μητρικό γάλα κατά τους πρώτους μήνες της ζωής τους, υποφέρουν από παθήσεις όπως διάρροια και γενικότερα από μολυσματικές ασθένειες ,πράγμα που οφείλεται στην αντιμικροβιακή ιδιότητα των ολιγοσακχαρίτων του μητρικού γάλακτος (Newburg,1999).

3.2.2. Λιπαρά

Τα λιπαρά αποτελούν το σημαντικότερο συστατικό του γάλακτος από άποψη κόστους καθώς βρίσκονται σε άμεση επιρροή με την τιμή πώλησής του ιδιαίτερα όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων.

Το μεγαλύτερο μέρος των λιπιδίων (σχεδόν το 98%) αποτελούντα τριγλυκερίδια ενώ εντοπίζεται κι ένας μεγάλος αριθμός εστερποιημένων λιπαρών πξέων. Στο αίγαιο και πρόβειο γάλα εκτός από τριγλυκερίδια εντοπίζονται κι άλλα απλά λιπίδια (φωσφολιπίδια) όπως και λιποδιαλυτές ενώσεις (στερόλες καθώς και υδρογονάθρακες χοληστερόλης) (Haenlein and wedorff,2006). Το λίπος στο γάλα εντοπίζεται με την μορφή λιποσφαιρίων. Στο πρόβειο και αίγαιο γάλα το μέγεθος τους είναι μικρότερο των 3,5 μμ ,πράγμα που καθιστά το αίγαιο και πρόβειο γάλα πιο εύπεπτο από το αγελαδινό καθώς τα λιπίδια αυτά μπορούν να μεταβολιστούν πιο εύκολα από τον ανθρώπινο οργανισμό σε σχέση με τις λιπαρές ουσίες του αγελαδινού γάλακτος (Park,1994). Και στα τρία είδη η δομή και η σύνθεση της μεμβράνης

τους αντιπροσωπεύει το 1% του συνολικού όγκου των λιπαρών ουσιών του γάλακτος (Scolozzi et al., 2003).

3.2.3. Μέταλλα και βιταμίνες

Το γάλα αποτελεί σημαντική πηγή μετάλλων για τον άνθρωπο ενώ περιέχει σημαντικές ποσότητες από ασβέστιο, φώσφορο, μαγνήσιο, ψευδάργυρος, νάτριο, κάλιο αλλά και βιταμίνες όπως C,B1,B2,B6,B12 (Ζαρμπούτης,1994).

mg/100g	Αγελαδινό	Πρόβειο	Αίγιο
Ca	122	195	132
P	119	124	97,7
K	152	136	152
Mg	12	18	15,8
Na	58	44	59,4
μg/100gr			
Zn	530	520	370
Fe	80	72	60
Cu	60	40	80
I	2,1	10,4	2,2
Se	1	3,1	1,3

Πίνακας 4: Περιεκτικότητα γάλακτος σε μέταλλα και ιχνοστοιχεία στα διάφορα είδη γάλακτος **Πηγή:** Barlowska et. al., (2011).

Οι βιταμίνες αποτελούν μία επιπλέον ομάδα σημαντικών συστατικών για την υγεία του ανθρώπου. Το γάλα περιέχει τόσο λιποδιαλυτές όσο και υδατοδιαλυτές βιταμίνες . Περιέχει σχεδόν όλες τις βιταμίνες όμως αποτελεί

καλή πηγή των βιταμινών A,B1,B2, νιασίνη και παντοθενικού οξέος (Μάντης ,2000).

		Αίγαιο	Πρόβειο	Αγελαδινό
A	IU	185	146	126
D	IU (*μg)	2,3	1,18*	2
Θειαμίνη	mg	0,07	0,08	0,05
Ριβοφλαμίνη	mg	0,21	0,38	0,16
Νιασίνη	mg	0,27	0,42	0,08
Παντοθενικό οξύ	mg	0,31	0,41	0,32
B6	mg	0,05	0,08	0,04
Φολικό οξύ	μg	1	5	5
Βιοτίνη	μg	1,5	0,93	2
B12	μg	0,07	0,71	0,36
C	mg	1,29	4,16	0,94

Πίνακας 5: Περιεκτικότητα σε βιταμίνες ανά 100gr **Πηγή:** Park et al., (2007)

3.2.4 Άλατα & Ιχνοστοιχεία

Το γάλα περιέχει μεγάλη ποσότητα μεταλλικών στοιχείων είτε σε ιοντική μορφή είτε δεσμευμένα με άλλα συστατικά είτε με την μορφή οργανικών και ανόργανων αλάτων.

Στα διάφορα είδη γάλακτος η σχέση λακτόζης και αλάτων παραμένει σταθερή και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την διατήρηση της ωσμωτικής πίεσης του γάλακτος σε τιμές ίδιες με αυτές του αίματος.

Τα ιχνοστοιχεία που εντοπίζονται στο γάλα επηρεάζονται από την περιεκτικότητά τους στην τροφή του ζώου. Το γάλα θεωρείται πηγή μεγάλου αριθμού ιχνοστοιχείων όπως ο μόλυβδος και το αρσενικό. Τα ιχνοστοιχεία στο γάλα εντοπίζονται κυρίως με την μορφή οργανικών ενώσεων συνδεδεμένα με τις πρωτεΐνες παρόλο που μερικά από αυτά (Cu, Fe, Mn, Zn) εντοπίζονται και στην μεμβράνη των λιποσφαιρίων. Για παράδειγμα το κοβάλτιο αποτελεί συστατικό της βιταμίνης B12.

3.3 Παράγοντες που την επηρεάζουν

Η σύσταση του γάλακτος παρόλο που είναι παρόμοια για όλα τα είδη του διαφοροποιείται ανάλογα τόσο με το ζώο που το παράγει όσο και με τα χαρακτηριστικά του και τις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες εκτίθεται.

➤ **Είδος και φυλή ζώου**

Ανάλογα το είδος του ζώου εντοπίζονται και μεγάλες ποσοτικές διαφορές στα είδη γάλακτος. Διαφορές εντοπίζονται ακόμα και ανάλογα την φυλή των ζώων από τα οποία προέρχεται. Πιο αναλυτικά, το πρόβειο γάλα παρουσιάζει αυξημένα ολικά στερεά σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη γάλακτος ενώ το αίγιο γάλα παρουσιάζει μεγάλες διαφοροποιήσεις ανάλογα με την φυλή του ζώου ή ζώων από το οποίο πάρθηκε. Το αίγιο γάλα από τις ντόπιες φυλές παρουσιάζει αυξημένα ολικά στερεά συγκριτικά με φυλές από άλλες χώρες όπως η γαλλική φυλή alpine. Οι διακυμάνσεις αυτές εντοπίζονται σε όλα τα συστατικά του όπως π.χ. η λακτόζη (Καμιναρίδης, Μοάτσου, 2009).

Είδος	Λίπος	Πρωτεΐνες	Καζεΐνη	Λακτόζη	Τέφρα	Στερεό υπόλειμμα
Αγελάδα	3,7	3,4	2,75	4,9	0,7	12,7

Πρόβατο	7,9	5,5	4,8	4,8	0,9	18,2
Αίγα	4,2	3,6	2,4	4,3	0,8	12,9
Βουβάλι	7,8	4,4	3,4	4,9	0,8	17,9
Όνος	2,5	2	0,7	6,1	0,4	10,9
Άνθρωπος	3,7	1,6	0,55	6,9	0,2	12,4

Πίνακας 6 : Μέση σύσταση διαφόρων ειδών γάλακτος **Πηγή** : Park et al., (2007)

➤ **Στάδιο γαλακτικής περιόδου**

Γαλακτική περίοδος είναι το παραγωγικό διάστημα στο οποίο το ζώο παράγει γάλα. Το διάστημα αυτό διαρκεί από τον τοκετό έως την διακοπή της γαλακτοπαραγωγής και η διάρκειά της διαφοροποιείται ανάλογα το είδος. Στις αγελάδες συνήθως διαρκεί 10 μήνες (7-12 μήνες) και στα πρόβατα και κατσίκες διαρκεί λιγότερο.

Κατά την διάρκεια της περιόδου αυτής η σύσταση του γάλακτος διαφοροποιείται. Στις πρώτες 6 ημέρες η σύνθεση του γάλακτος δεν είναι η συνηθισμένη και το γάλα ονομάζεται πρωτόγαλα καθώς παρουσιάζει πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε ανοσογλοβουλίνες και σαν σκοπό έχει την μετάδοση αντισωμάτων στο νεογέννητο. Έπειτα από το πρωτόγαλα ακολουθεί η παραγωγή του συνηθισμένου γάλακτος. Στην αρχή της παραγωγής, τους πρώτους 1-2 μήνες η περιεκτικότητά του μειώνεται ενώ έπειτα ξεκινάει να αυξάνεται. Οι μεταβολές σε πρωτεΐνες είναι παρόμοιες. Η περιεκτικότητα σε λακτόζη είναι σχετικά σταθερή. Επιπλέον η απόδοση σε γάλα παρουσιάζει ανοδική τάση τους πρώτους μήνες ενώ έπειτα μειώνεται σταδιακά (Καμιναρίδης, Μοάτσου, 2009).

➤ **Εποχή και θερμοκρασία περιβάλλοντος**

Εφόσον τα ζώα διαμένουν σε φυσιολογικές συνθήκες η εποχή επηρεάζει ελάχιστα την ποσότητα του παραγόμενου γάλακτος όπως και οι περιβαλλοντικές θερμοκρασίες. Σε υψηλές θερμοκρασίες όπως π.χ. το καλοκαίρι, ή σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, όπως π.χ. τον χειμώνα, η

γαλακτοπαραγωγή μπορεί να μειωθεί. Συγκεκριμένα θερμοκρασίες μεταξύ 5-24 βαθμών είναι άριστες για γαλακτοπαραγωγή. .

➤ **Ασθένειες μαστών**

Η μαστίτιδα αποτελεί την συχνότερη πάθηση των μαστών, με την πιο σοβαρή συνέπεια να είναι η απώλεια γαλακτοπαραγωγής καθώς ο ιστός που παράγει γάλα καταστρέφεται. Σε πιο ήπια συμπτώματα, η θρεπτική αξία του γάλακτος μειώνεται, η περιεκτικότητα σε λακτόζη ελαττώνεται κατά 5-20%, η συνολική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες μειώνεται ανεπαίσθητα και η καζεΐνη μειώνεται κατά 6-18%. Ακόμα, μειώνεται η οξύτητα του γάλακτος και αυξάνεται το pH που σε περίπτωση σοβαρής προσβολής γίνεται αλκαλικό

(pH=7) με αποτέλεσμα να μην μπορεί να πήξει το γάλα (Καμιναρίδης, Μοάτσου, 2009).

➤ **Στάδιο και τρόπος άμελης**

Το στάδιο της άμελης αποτελεί το σημαντικότερο στάδιο κατά την παραγωγική διαδικασία του γάλακτος και θα πρέπει να γίνεται με σωστό τρόπο ενώ οι συνθήκες να είναι υγιείς. Σημαντικό είναι να μεσολαβήσει διάστημα 12 ωρών ανάμεσα σε διαδοχικά αρμέγματα.

Σημαντικός είναι και ο χειρισμός του ζώου. Το άρμεγμα θα πρέπει να γίνει με τέτοιο τρόπο ώστε το ζώο να δώσει όλη την ποσότητα γάλακτος που εντοπίζεται στον μαστό του. Στην περίπτωση που το ζώο δεν δώσει όλη την ποσότητα γάλακτος, το γάλα μπορεί να εμφανίσει μειωμένη απόδοση και λιποπεριεκτικότητα καθώς το γάλα που θα παραμείνει στο μαστό μετά το άρμεγμα είναι πλούσιο σε λίπος. Υπερβολικό άρμεγμα μπορεί να τραυματίσει το μαστό με αποτέλεσμα αρνητική επίδραση στην υγεία του ζώου (Καμιναρίδης, Μοάτσου, 2009).

➤ **Διατροφή ζώου**

Η διατροφή του ζώου αποτελεί έναν πολύ σημαντικό παράγοντα που επηρεάζει την σύνθεση του γάλακτος αλλά και την παραγόμενη ποσότητα. Επαρκής ποσότητα τροφής και ισορροπημένη διατροφή ανάλογα με το στάδιο του ζώου θα βοηθήσει το ζώο να αποδώσει σύμφωνα με το δυναμικό του.

Στην περίπτωση αλλαγής στην σύνθεση του σιτηρεσίου ή χορήγηση σιτηρεσίου με μειωμένη περιεκτικότητα σε χονδροειδείς τροφές η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος επηρεάζεται αρνητικά.

Η διατροφή του ζώου ακόμα επηρεάζει τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου γάλακτος. Συγκεκριμένα η χορήγηση σιτηρεσίων πλούσιων σε χλωρή νομή οδηγεί στην παραγωγή γάλακτος πιο κιτρινωπού χρώματος σε σχέση με χορήγηση σιτηρεσίου άφθονο σε σανό. Ακόμα σιτηρέσια με έντονες οσμές επηρεάζουν την οσμή του γάλακτος (π.χ. σκόρδο) (Καμινारीδης, Μοάτσου, 2009).

Κεφάλαιο 4^ο : Πρωτεΐνες γάλακτος

4.1 Χημεία πρωτεϊνών γάλακτος

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος αποτελούν το βασικό του συστατικό. Πρόκειται για πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας που προσδίδουν στον οργανισμό όλα τα απαραίτητα αμινοξέα.

Για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα υπήρχε κάποια σύγχυση σχετικά με την ονοματολογία των πρωτεϊνών όμως έπειτα από πειράματα μπόρεσαν να κατηγοριοποιηθούν σε πρωτεΐνες ορού και καζεΐνες. Οι πρωτεΐνες ορού είναι οι πρωτεΐνες που παραμένουν έπειτα από την απομάκρυνση της καζεΐνης από το άπαχο γάλα. Οι πρωτεΐνες όπου κατακρημνίζονται κατά την όξυνση του άπαχου γάλακτος μέχρι pH=4.6 σε θερμοκρασία 20°C ονομάζονται πρωτεΐνες ορού. Έτσι λοιπόν, το πρωτεϊνικό κλάσμα του γάλακτος αποτελείται από τις καζεΐνες και τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος. Οι διαφορές ανάμεσα στις πρωτεΐνες ορού και τις καζεΐνες είναι οι εξής:

- Οι πρωτεΐνες ορού δεν κατακρημνίζονται σε pH=4.6 και θερμοκρασία 20°C, ενώ οι καζεΐνες δεν καθιζάνουν.
- Τα ένζυμα που περιέχονται στην «πυτιά» και τα άλλα πρωτεολυτικά ένζυμα. Προκαλούν μικρές και εξειδικευμένες μεταβολές στις καζεΐνες με αποτέλεσμα την κατακρήμιση ιόντων ασβεστίου. Οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος δεν υφίστανται τέτοιες μεταβολές, παραμένοντας διαλυτές.
- Οι καζεΐνες δεν επηρεάζονται σημαντικά από την θερμοκρασία. Μπορούν να θερμανθούν στους 100°C, χωρίς να μετουσιωθούν. Οι πρωτεΐνες ορού (εξαιρέση αποτελούν οι πρωτεόζες-πεπτόνες), είναι

πολύ ευαίσθητες στην θερμοκρασία και υφίστανται αλλαγή στην δομή τους, έπειτα από θέρμανση στους 90°C για 5 λεπτά.

- Οι καζείνες είναι φωσφοροπρωτείνες, με περιεκτικότητα σε φώσφορο 0,85%. Αντίθετα, οι πρωτείνες ορού περιέχουν περισσότερο θείο από τις καζείνες.
- Οι καζείνες συντίθενται στον μαστό του γαλακτοπαράγωγου ζώου αλλά εντοπίζονται και στο αίμα από όπου και μεταφέρονται στο γάλα.
- Σχετικά με την σύσταση τους, ο ορός γάλακτος αποτελείται κατά 5% από μη πρωτεϊνικές αζωτούχες ενώσεις και κατά 15% από οροπρωτείνες (Μάντης, 1993).

Αμινοξύ	Τιμή αναφοράς FAO/WHO	Αγελαδινό	Πρόβειο	Αίγριο	Ανθρώπινο
Ασπαρτικό οξύ (Asp)		7,8	-	7,4	8,3
Θρειόνη (Thr)	4	4,5	4,2	5,7	4,6
Σερίνη (Ser)		4,8	-	5,2	5,1
Γλουταμινικό οξύ (Glu)		23,2	-	19,3	17,8
Προλίνη (Pro)		9,6	-	14,6	8,6
Κυστεΐνη (Cys)	3,5 (Cys +Met)	0,6	0,8	0,6	1,7
Γλυκίνη (Gly)		1,8	-	2,1	2,6
Αλανίνη (Ala)		3	-	3,6	4
Βαλίνη (Val)	5	4,8	6,2	5,7	6
Μεθειονίνη (Met)	3,5 (Met +Cys)	1,8	2,7	3,5	1,8
Ισολευκίνη	4	4,2	4,6	7,1	5,8
Λευκίνη (Leu)	7	8,7	9,7	8,2	10,1
Τυροσίνη (Tyr)	6 (Try + Phe)	4,5	3,7	4,8	4,7
Φαινυλαλανίνη (Phe)	6 (Phe + Tyr)	4,8	4,2	6	4,4
Ιστιδίνη (His)		3	-	5	2,3
Λυσίνη (Lys)	5,5	8,1	7,7	8,2	6,2
Αργινίνη (Arg)		3,3	-	2,9	4
Τρυπτοφάνη (Try)	1	1,5	-	-	1,8

Πίνακας 7 : Συγκέντρωση αμινοξέων γάλακτος (g/100gr πρωτεΐνης) **Πηγή :** Barlowska et al, (2011)

Εκτός από τις καζείνες και τις πρωτείνες ορού στο γάλα εντοπίζονται και άλλες πρωτείνες όπως η γαλακτοσιδερίνη, οι πρωτείνες της μεμβράνης των λιποσφαιρίων καθώς και διάφορα ένζυμα (Ανυφαντάκης, 1994)

Οι καζείνες αλλά και το μη καζεϊνικό κλάσμα πρωτεϊνών είναι ετερογενή. Οι καζείνες ανάλογα με την διάταξη των αμινοξέων στο μόριό τους κατατάσσονται σε αs_1 , αs_2 , β καθώς και κ -καζείνες. Οι πρωτείνες ορού γάλακτος ανάλογα με την διαλυτότητά τους ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες: τις γαλακταλβουμίνες (β -λακτογλοβουλίνη, α -λακταλβουμίνη, οροαλβουμίνη), τις γαλακτογλοβουλίνες (IgG1, IgG2, IgA, IgM) και τις πρωτεόζες-πεπτόνες (Swainsgood, 1982).

Τύπος πρωτεΐνης	Περιεκτικότητα (%)	Ισοηλεκτρικό σημείο pH	Μοριακό βάρος
αs -καζείνες	45-55	4,1	23.000
κ -καζεΐνη	8-15	4,1	19.000
β -καζεΐνη	25-35	4,5	24.000
α -λακταλβουμίνη	2-10	5,1	14.437
β -λακταγλοβουλίνη	7-12	5,3	18.000
οροαλβουμίνη	0,7-1,3	4,7	68.000
πρωτεόζες-πεπτόνες	2-6	3,3-3,7	4.100-200.000
Λακτοφερίνη	0,2-0,8		87.000
IgG1	1-2		160.000
IgG2	0,2-0,5		160.000
IgM	0,1-0,2		1.000.000
IgA	0,0005-0,10		400.000

Πίνακας 8: Ιδιότητες πρωτεϊνών, αγελαδινού γάλακτος **Πηγή :** Swainsgood (1982)

4.2 Καζείνες γάλακτος (αs -CN, αs_2 -CN, β -CN, κ -CN)

Η ομάδα των καζεϊνών είναι η χαρακτηριστική και η σημαντικότερη ομάδα πρωτεϊνών του γάλακτος. Συγκεκριμένα το 90% της ποσότητας της καζεΐνης απαντάται στο γάλα με την μορφή μικκυλίων ενώ το υπόλοιπο 10% εντοπίζεται σε διαλυτή μορφή. Η μορφή της επηρεάζεται από την ποσότητα ιόντων ασβεστίου και φωσφόρου στο γάλα. Στην περίπτωση μείωσης της

συγκέντρωσης ασβεστίου το μέγεθος των μικκυλίων μειώνεται και η περιεκτικότητα του γάλακτος σε διαλυτή καζεΐνη αυξάνεται ενώ το αντίθετο συμβαίνει με αύξησή του. (Ανυφαντάκης, 2004).

Τα μικκύλια της καζεΐνης είναι σφαιρικά , έχουν διάμετρο 100-300nm με μοριακό βάρος από 19 έως 25,2 kDa και είναι αρνητικά φορτισμένα. Αυτά τα μικκύλια είναι ανθεκτικά στην υψηλή θερμοκρασία, αλλά ευαίσθητα στα πεπτικά ένζυμα (Matsuo et al., 2015). Ο όγκος τους οφείλεται στην ενυδάτωση των υπομικκυλίων, όπου είναι περίπου 2g νερού /g καζεΐνης στις υδρόφιλες ομάδες των καζεϊνών στην επιφάνεια των μικκυλίων , αλλά και στην ανώμαλη επιφάνειά τους (Fox & McSweeney, 1998).

Το κάθε ένα μικκύλιο της καζεΐνης αποτελείται από υπομικκύλια που συγκρατούνται μεταξύ τους με γέφυρες κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου, υδρόφοβες αλλά και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου (Fox & McSweeney, 1998). Οι γέφυρες κολλοειδούς φωσφορικού ασβεστίου πρόκειται για τις ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ

των αρνητικά φορτισμένων φωσφορικών ομάδων της καζεΐνης και των συσσωματωμάτων $Ca_9(PO)_6$, που φορτίζονται θετικά προσροφώντας δύο Ca^{2+} από το περιβάλλον.

Η καζεΐνη πρόκειται για το χαρακτηριστικό λεύκωμα του γάλακτος που βρίσκεται υπό κολλοειδή μορφή. Η πεπτικότητα του γάλακτος σε καζεΐνη ανέρχεται σε 2,2-3,15 % και 65% αντίστοιχα. Αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών του γάλακτος (2,6%). Απαντώνται στο γάλα με την μορφή αλάτων τους με ιόντα ασβεστίου και περιέχουν εστεροποιημένο φωσφορικό οξύ κυρίως με την σερίνη. Η κ-καζεΐνη περιέχει και μικρές ποσότητες υδατανθράκων.

Είδος γάλακτος	Αγελαδινό γάλα	Πρόβειο γάλα	Αίγιο γάλα
Ολική πρωτεΐνη (g/100g γάλακτος)	3,6	5,5	3,1
Καζεΐνες σε σχέση με την ολική πρωτεΐνη (g/100g γάλακτος)	2,88	4,4	2,48
αs1-καζεΐνη (% της ολικής καζεΐνης)	38	16	5
αs2-καζεΐνη (% της ολικής καζεΐνης)	10	15	25
β-καζεΐνη (% της ολικής καζεΐνης, συμπεριλαμβάνονται και οι γ-καζεΐνες)	39	47	30

Πίνακας 9 : Αναλογία κλασμάτων καζεΐνης σε διάφορα είδη γάλακτος **Πηγή** : Huppertz et al., (2006)

Οι παραπάνω ομάδες είναι ετερογενείς μεταξύ τους και περιλαμβάνουν η κάθε μία 2 διαφορετικές γενετικές παραλλαγές που έχουν μικρή διαφορά στον αριθμό αμινοξέων. Στην παρουσία των φωσφορικών ομάδων οφείλεται το όξινο ισοηλεκτρικό τους σημείο ($pH=4.6$). Οι ομάδες α- και β- καζεϊνών παρουσιάζουν ομοιότητα ως προς το γεγονός πως τα αμινοξέα τους εστεροποιούνται σε φωσφορικό οξύ που δεσμεύει το ασβέστιο και σχηματίζει δεσμούς εντός των μορίων. Έτσι, ξεκινάει η δημιουργία πολυμερών καζεϊνών που σχηματίζονται από πολλαπλή ή διαφορετική μόρια καζεϊνών (Huppertz et al., 2006).

Σχετικά με την δομή των καζεϊνών, όλες οι καζεΐνες είναι φωσφορυλιωμένες σε κυμαινόμενο βαθμό στα υπολείμματα σερίνης (SerP) και περιστασιακά στα υπολείμματα θρεονίνης. Οι γενετικές παραλλαγές των κ-, as1- και β-καζεϊνών περιέχουν συνήθως έναν χαρακτηριστικό αριθμό φωσφορυλιωμένων υπολειμμάτων σερίνης και συγκεκριμένα 1,8 ή 9 και 4 ή 5 αντίστοιχα. Σχετικά με την φωσφορυλίωση οι as2- καζεΐνες εμφανίζουν την μεγαλύτερη διακύμανση (Swainsgood, 1992). Τα δύο υπολείμματα κυστεΐνης που εντοπίζονται στην αλληλουχία των αμινοξέων των κ- και as2- καζεϊνών τους δίνουν την δυνατότητα σχηματισμού ενδομοριακών σουλφυδριλικών – δισουλφιδικών δεσμών. Τα σχετικά υψηλά ποσοστά υπολειμμάτων προλίνης κυρίως στις καζεΐνες (35 στην β-CN, 20 στην κ-CN , 17 στην as1-CN και 10 στην as2-CN. Αυτά επηρεάζουν την δομή της πρωτεΐνης καθώς διακόπτουν την α- ελικοειδή και β- πτυχωτή δομή ενώ εμφανίζονται συνήθως στις β-στροφές (Swainsgood, 1992).

Λόγω του πλήθους των φωσφορικών ομάδων καθώς και υδρόφοβων περιοχών τα μόρια των καζεϊνών δεν είναι σταθερά. Οι ομάδες αυτές είναι ιονισμένες στο pH του αγελαδινού γάλακτος (6,7-6,8), συγκεκριμένα εντοπίζονται με την μορφή ανιόντων. Οι φωσφορικές ομάδες της καζεΐνης λόγω των παραπάνω ιδιοτήτων τους έχουν ορισμένους σημαντικούς ρόλους που είναι οι εξής :

- Στο pH του γάλακτος (6,7-6,8) οι φωσφορικές ομάδες εντοπίζονται με την μορφή ανιόντος όπου μπορούν να σχηματίσουν άλας (καζεϊνικό ασβέστιο) με τα ιόντα ασβεστίου που εντοπίζονται στο περιβάλλον.
- Τα φορτία των φωσφορικών ανιόντων προκαλούν την δημιουργία μικκυλίων χάρη στα οποία οι καζεΐνες είναι τελικά διαλυτές και για αυτό τον λόγο δεν περιέχεται ίζημα στο γαλάκτωμα.

Στην περίπτωση που στο γάλα προστεθεί ποσότητα οξέος, όπως π.χ. οξικό ή υδροχλωρικό , τότε οι φωσφορικές ομάδες προπανιώνονται , δηλαδή

καταστρέφεται το άλας του καζεϊνικού ασβεστίου με αποτέλεσμα να διαταράσσεται η ηλεκτρική ισορροπία στα μόρια των πρωτεϊνών οπότε και έλκονται μεταξύ τους με αποτέλεσμα την κροκίδωση.

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά	as1-	as2-	β-	κ-
Υπολείμματα προλίνης/mole	17	10	35	20
Υπολείμματα κυστεΐνης/mole	0	2	0	2
Αναλογία %	36	10	34	13
Διαλυτότητα				
0-4°C	αδιάλυτη	αδιάλυτη	διαλυτή	διαλυτή
20-25°C	αδιάλυτη	αδιάλυτη	αδιάλυτη	διαλυτή
Αμινοξέα (Αριθμός/μόριο)	199	207	209	169
Μοριακό Βάρος	23.600	25.200	24.000	19.000
Φορτίο (σε pH=6,6)	-20,9	-14,8	-12,3	-3,0
Ευαισθησία				
στην χυμοσίνη	+	-	+	+++
στο Ca	++	+++	++	-
Υδατάνθρακες Υπολείμματα κυστεΐνης	-	-	-	+
	-	2	-	2
Φωσφοσερίνες	8-9	13-10	5	1-2

Πίνακας 10 : Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των καζεϊνών του γάλακτος αγελάδων **Πηγή** : Walstera et al., (2006).

4.2.1 as-καζεΐνη

Το κλάσμα της as-καζεΐνης αποτελεί το 40-45% της ολικής ποσότητας σε καζεΐνες που περιέχονται στο γάλα και είναι η πλουσιότερη πρωτεΐνη σε φώσφορο, καθώς περιέχει το 1% του φωσφόρου, καθόλου σάκχαρα και κυστίνη.

➤ as-καζεΐνη γάλακτος

Η as1-CN πρόκειται για κατηγορία καζεΐνης που αποτελεί το 1,2-1,5 % των συστατικών του γάλακτος και το 39-46% των καζεϊνών του γάλακτος. Αποτελείται από 199 αμινοξέα, με υπολογισμένο μοριακό βάρος 23.615 daltons και αντιπροσωπεύει το 40% του καζεϊνικού κλάσματος (Eigel et al., 1984). Οι παραλλαγές A,B, C έχουν 8 φωσφορικές ομάδες και η D εννέα (Mercier et al., 1971) Πρόκειται για πρωτεΐνη ευαίσθητη στα ιόντα ασβεστίου που καταβυθίζεται με χλωριούχο ασβέστιο 0,4 M σε pH=7.0 και θερμοκρασία 40⁰ C, ενώ δεν περιέχει κυστίνη ή σάκχαρα (Ανυφαντάκης , 1994).

Αποτελείται από δύο συστατικά, δύο πρωτεΐνες που είναι πολυπεπτίδια μονής αλυσίδας με την ίδια αλληλουχία αμινοξέων που διαφέρουν ως προς τον βαθμό φωσφορυλίωσης, καθώς και από εάν επιπλέον φωσφορυιωμένο υπόλειμμα σερίνης στην θέση 41.

Η καζεΐνη as1-CN πρόκειται για την πρωτεΐνη που είναι υπεύθυνη για την πρόκληση αλλεργιών. Ο πολυμορφισμός των γονιδίων της δεν επιτρέπει την ακριβή ταυτοποίηση της πρωτεΐνης που είναι υπεύθυνη για την πρόκληση αλλεργιών. Στο αγελαδινό γάλα η περιεκτικότητά της είναι μεγαλύτερη από ότι στο αίγαιο γάλα και για αυτό το αίγαιο γάλα διαθέτει υποαλλεργικές ιδιότητες.

➤ **As2-CN γάλακτος**

Η as2-CN αποτελεί το 0,3-0,4% των συστατικών του γάλακτος και 8-11% των συνολικών καζεϊνών. Αποτελείται από 207 αμινοξέα και το MB=25,226 και αντιπροσωπεύει το 10% του καζεϊνικού κλάσματος. Ακόμα διαθέτει 10-13 φωσφορικές ομάδες. Η πρωτεΐνη αυτή περιέχει μεγαλύτερη ποσότητα φωσφόρου σχετικά με τις υπόλοιπες καζεΐνες, ενώ είναι η λιγότερο υδρόφοβη καζεΐνη.

Απότελείται από δύο μεγάλα και πολλά μικρά συστατικά (Farrell et al., 2004). Η as2-CN περιέχει 2 αμινοξέα κυστίνης που εμπλέκονται σε δισουλφιδικές αλυσίδες (Rasmussen et al., 1994). Έχουν περιγραφεί 4 γενετικές παραλλαγές η A, B, C, D. Η παραλλαγή C διαφέρει σε 3 θέσεις από την παραλλαγή A (Mahe & Grosclaude, 1982). Η εσωτερική απαλοιφή 8 αμινοξέων έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια ενός ολόκληρου συμπλέγματος φωσφορυλιωμένων σερινών (Paul L. Mc.Sweeney et al., 2013).

4.2.2 β-καζεΐνη

Αποτελεί το 0,9-1,1 % των συστατικών του γάλακτος και το 25-35 % των συνολικών καζεϊνών του. Αποτελείται από 209 αμινοξέα στις αγελάδες και τα πρόβατα και πρόκειται για την υδρόφοβη καζεΐνη. Σε θερμοκρασία μικρότερη των 10⁰ C δεν καταβυθίζεται παρουσία ιόντων ασβεστίου και εξακολουθεί να παραμένει διαλυτή. Όμως, σε θερμοκρασίες της τάξης των 20⁰C, μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγές στην δομή τους, με αποτέλεσμα να γίνουν πιο ευαίσθητες στα ιόντα ασβεστίου. Η ακολουθία της β-καζεΐνης ήταν η πρώτη που καθορίστηκε σε επίπεδο πρωτεϊνών ενώ χρησιμοποιήθηκε με την χρήση μίας νέας μεθόδου προσδιορισμού της δομής των πρωτεϊνών (Ribedau et al., 1992).

4.2.3 κ-καζεΐνη

Μία από τις σημαντικότερες πρωτεΐνες είναι η κ-καζεΐνη. Αποτελεί το 0,3-0,4% των συστατικών του γάλακτος, το 8-15% της ολικής καζεΐνης του γάλακτος κι εντοπίζεται σε αυτό με την μορφή πολυμερών κ-καζεϊνών που συνδέονται μεταξύ τους με διθειικούς δεσμούς. Ακόμα αποτελείται από 169 υπολείμματα αμινοξέων στο μόριό της στις αγελάδες ενώ στα πρόβατα διαθέτει 171 υπολείμματα αμινοξέων. Η απομόνωσή της σε πρόβατα έγινε σε αλκαλικό pH κι απέδωσε 5 ζώνες της ίδιας σύστασης αμινοξέων με διαφορετικό βαθμό γλυκοζυλίωσης με αποτέλεσμα να εμφανίζονται διαφορετικές ηλεκτροφορητικές ικανότητες. Διαθέτει την ιδιότητα

σταθεροποίησης των καζεϊνών που είναι ευαίσθητες σε Ca^{2+} που αντιστοιχούν στο δεκαπλάσιο της μάζας την (Fox and Brodtkorb, 2008) ενώ είναι διαλυτή παρουσία ασβεστίου σε όλες τις θερμοκρασίες. Η σημαντικότητα της οφείλεται στην ομάδα υδατανθράκων (1,3% γαλακτόζη, 1,4% γαλακτοζαμίνη και 2,0% αμινοακετυλονευραμινικό οξύ) που εντοπίζεται στο μόριό της και χρησιμεύει για την δημιουργία τυριού, στο πρώτο στάδιο της τυροκόμησης όπου διασπώνται οι υδατάνθρακες από το μόριο της κ-καζεΐνης στην επιφάνεια των μικκυλίων. Έτσι, τα μικκύλια παύουν να είναι διαλυτά και να αρχίζουν να συσσωματώνονται σχηματίζοντας το τυρόπηγμα. Ο δεσμός φαινυλανίνης – μεθειονίνης εντοπίζεται στην θέση 105-106 και προσβάλλεται από την ρεννίνη κατά την πήξη του γάλακτος και έτσι παράγεται η παρα-κ-καζεΐνη και ένα γλυκομακροπεπτιδίο.

Η κ-CN που έχει απομονωθεί από το γάλα αποτελείται από εάν μίγμα πολυερών τα οποία πιθανών συγκρατούνται μεταξύ τους με ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς (Walstra & Jenness, 1984). Τα 2/3 των μορίων της κ-CN διαθέτουν μία ομάδα υδατάνθρακα που είναι εστεροποιημένη σε ένα από

τα υπολείμματα θρεονίνης και περιέχει γαλακτοζαμίνη και γαλακτόζη καθώς και ένα ή δύο υπολείμματα N-ακετυλ-νευραμινικό-οξύ (NANA) (Walstre et al., 2006). Τελευταία όμως έχει τακτοποιηθεί και ένα είδος κ-CN με δύο SerP και χωρίς υδατάνθρακες (Vreeman et al., 1977).

Σε χαμηλές θερμοκρασίες η δομή του μικκυλίου αποδυναμώνεται λόγω του γεγονότος πως οι αλυσίδες της κ-καζεΐνης ξεκινούν να αποσυνδέονται και το υδροξυφωσφορικό ασβέστιο φεύγει από το μικκύλιο. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο γεγονός πως η β-καζεΐνη είναι η πιο υδρόφοβη καζεΐνη καθώς και στο γεγονός πως οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις αποδυναμώνονται από την μείωση της θερμοκρασίας.

Ο αριθμός των υπολειμμάτων σακχάρων που είναι ενωμένα στην πεπτιδική αλυσίδα μπορεί να ποικίλλει και κατά συνέπεια ποικίλλει το μοριακό βάρος καθώς και η ικανότητα ηλεκτροφόρησής του. Στο μόριό της ακόμα περιέχει τον ιδιαίτερα ευαίσθητο δεσμό Phe (105) – Met (106), ο οποίος όταν υδρολυθεί χάνεται η προστατευτική του δράση απέναντι στις άλλες καζεΐνες πράγμα που έχει σαν αποτέλεσμα την πήξη του γάλακτος (Ανυφαντάκης & Καλαντζόπουλος, 1993).

4.3 Πρωτεΐνες ορού γάλακτος

Οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος πρόκειται για το πρωτεϊνικό τμήμα που απομένει στο ορό του άπαχου γάλακτος έπειτα από την καθίζηση των καζεϊνών με όξυνση σε $\text{pH}=4,6$ και θερμοκρασία 200°C . Ανάλογα με την διαδικασία παραλαβής και τις εποχικές διακυμάνσεις η σύσταση και λειτουργικότητα του ορού μπορεί να ποικίλλει ανάλογα. Ορός μπορεί να

προκύπτει κι έπειτα από ενζυμική καταβύθιση των καζεΐνων του γάλακτος με την χρήση οξέος π.χ υδροχλωρικό οξύ η οξικό (όξινος όρος) (Fennema, 1996).

Οι πρωτεΐνες του ορού αποτελούν το 20% περίπου των συνολικών πρωτεϊνικών συστατικών του γάλακτος. Στο γάλα συγκέντρωση του είναι περίπου 0,5% g/lit . Οι κυριότερες πρωτεΐνες του ορού είναι οιαλακταλβουμίνη (α- Lac), β- λακτογλοβουλίνη (β-Lg) και η αλβουμίνη ορού (BSA) ενώ γενικότερα στον ορό γάλακτος περιλαμβάνονται οι εξής πρωτεΐνες :

- Αλβουμίνη ορού
- Ανοσογλοβουλίνες
- Α- γαλακτοαλβουμίνη
- Β- γαλακτογλοβουλίνη
- Πρωτεόζες - πεπτόνες

Οι πρωτεΐνες αυτές θεωρούνται πλήρεις και υψηλής βιολογικής αξίας καθώς περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα που απαιτούνται από τον οργανισμό για να αναδομήσει τους ιστούς του, να παράγει αντισώματα, ορμόνες, ένζυμα καθώς και να παραλάβει ενέργεια. Παραμένουν διαλυτές κατά την διαδικασία πήξης του γάλακτος με πυτιά, και απομακρύνονται με το τυρόγαλα κατά την παρασκευή τυριών. Στην περίπτωση που το γάλα υποστεί διαδικασία υπερφυγοκέντρωσης παραμένουν διαλυτές ενώ κατακρημνίζονται σε διάλυμα 12% T.C.A. Στο πρόβειο γάλα η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες ορού είναι μεγαλύτερη (14g/lit) σε σχέση με το αγελαδινό γάλα (6g/lit). Ως προς την σύσταση τους πρόκειται για πρωτεΐνες πλούσιες σε θείο (1,7 %) και περιέχουν κυστεΐνη η και κυστίνη. Η υψηλή τους περιεκτικότητα σε θειώδη αμινοξέα (μεθεινίνη + κυστεΐνη) , λευκίνη καθώς και σε λυσίνη , θρεονίνη, τρυπτοφάνη τις καθιστά πρωτεΐνες με υψηλή βιολογική αξία. Το σχήμα τους είναι σφαιρικό ενώ είναι έντονα υδρόφοβες. Η αναλογία δομής α- έλικας και β- πτυχωτής δομής είναι μεγάλη. Εξάιρεση στο παραπάνω αποτελούν οι πρωτεόζες και πεπτόνες, που διαθέτουν διαφορετικά χαρακτηριστικά (Ανυφαντάκης, 2004).

Πρωτεΐνη	Συγκέντρωση (g/lit)	Μοριακό βάρος (g/mol)	Ισηλεκτρικό σημείο pH
β-λακτογλοβουλίνη	2.7	18,362	5.2
α-λακτογλοβουλίνη	1.2	14,147	4.5-4.8
Ανοσογλοβουλίνες	0.65	150,000-1,000,000	5.5-8.3

Πίνακας 11 : Φυσικά χαρακτηριστικά κύριων πρωτεϊνών ορού **Πηγή** : Zydney (1998)

Οι πρωτεΐνες ορού παρουσιάζουν μεγάλη διαλυτότητα σε τιμές pH μακριά από το ισοηλεκτρικό τους σημείο πράγμα που οφείλεται στο μόριό τους που είναι μικρού μεγέθους, στον μεγάλο αριθμό υδρόφιλων ομάδων που εντοπίζονται εκτεθειμένες στην επιφάνεια τους και τέλος στο ομόσημο φορτίο στα μόρια τους. Σε τιμές pH κοντά στο ισοηλεκτρικό τους φορτίο η διαλυτότητα τους μειώνεται. Η διαλυτότητα τους δεν επηρεάζεται από την παρουσία αλάτων.

Οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος εμφανίζουν αξιοσημείωτη αντοχή στην θερμική μετουσίωση (Fennema, 1996) με την ακόλουθη σειρά : Ig > β- Lg & SA>α- La. Οι πρωτεΐνες του πρόβειου και αίγειου γάλακτος είναι αρκετά πιο ευαίσθητες στην θέρμανση σε αυτές του αγελαδινού γάλακτος. Η κατάταξη αυτή αναφέρεται σε θερμοκρασίες < 70°C (Ανυφαντάκης ,2004)

4.3.1 Β- λακτογλοβουλίνη (β- Lg)

Πρωτεΐνη ορού με μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ορό γάλακτος (Damdaran and Paraf, 1997) Η β-Ig πρόκειται για μια υδρόφοβη πρωτεΐνη. Παρουσιάζει γενικότερα μια πολύ οργανωμένη σφαιρική δομή με τα το 43-50% των αμινοξέων να οργανώνονται σε δομή β-πτυχωτού φύλλου και το 10-15% να είναι οργανωμένο σε δομή α-έλικας. Διάμετρος της είναι περίπου 3,6nm. Σχηματίζει σύμπλοκο μαζί με την κ-καζεΐνη το οποίο εμφανίζει σημαντική σταθερότητα κατά την θέρμανση. Η β- Lg χρησιμοποιείται για να διαπιστωθεί η ανάμειξη ή μη διαφόρων ειδών γάλακτος (Ανυφαντάκης, 2004). Ανάλογα με τις τιμές pH εντοπίζεται σε διάφορες δομές που μπορεί να είναι:

- Σαν μονομερές εντοπίζεται σε υψηλές θερμοκρασίες (λόγω διάσπασης) σε pH < 3,5 και σε pH> 7,5. Το M.B είναι περίπου 18.000.
- Σαν διμερές εντοπίζεται στο pH του γάλακτος, σε θερμοκρασία δωματίου και σε pH=5-7. Το M.B είναι περίπου 36.000
- Σαν οκταμερές εντοπίζεται σε pH 4,5 καθώς και σε θερμοκρασίες κοντά στους 0°C. Το M.B. είναι περίπου 144.000

4.3.2 Α-γαλακτογλοβουλίνη (α-La)

Η α-La πρόκειται για ένα μικρό και σφαιρικό μόριο πρωτεΐνης. Αποτελείται από 123 αμινοξέα και η δομή του είναι λιγότερο οργανωμένη από αυτή της β-λακτογλοβουλίνης. Το 9% των αμινοξέων της είναι οργανωμένα σε β-πτυχωτά φύλλα ενώ ο 30% είναι οργανωμένα σε α-ελικά. Η δομή της σταθεροποιείται από τέσσερις δισουλφιδικούς δεσμούς που σχηματίζουν 8 μόρια κυστεΐνης στο μόριο της. Δεν σχηματίζει διμερή και πολυμερή ενώ αποτελεί τμήμα της

συνθετάσσει της λακτόζης. Πρόκειται για μια ασβεσομεταλλο- πρωτεΐνη (1 Mole Ca / mole πρωτεΐνης) ενώ μοιάζει με την λυσοζύμη ως προς την σειρά αμινοξέων στο μόριο της (δεν παρουσιάζει αντιβακτηριδιακή δράση όμως) (Ανυφαντάκης, 2004).

4.3.3 Οροαλβουμίνη (Sa)

Πρωτεΐνη του όρου γάλακτος με ωοειδές σχήμα και διαστάσεις περίπου 3×13 nm. Πρόκειται για την μεγαλύτερη μονομερή πρωτεΐνη του ορού καθώς έχει M.B.= 66.267. Το μόριο της αποτελείται από 582 αμινοξέα ενώ περιέχει 17 δισουλφιδικούς δεσμούς . Συγκεκριμένα στο μόριο της διαθέτει 35 αμινοξέα κυστεΐνης τα οποία ενώνονται ανά δύο και σχηματίζουν 17 δισουλφιδικούς δεσμούς. Έτσι στο μόριο της φέρει μια ελεύθερη σουλφυδριλική ομάδα. Με την προσθήκη οξέος ή βάσης όπως και με θέρμανση στους 45- 50 ° C μετουσιώνεται.

Οι ιδιότητες της αλβουμίνης ορού είναι όμοιες με τις ιδιότητες της αλβουμίνης του αίματος καθώς προέρχεται από το αίμα των γαλακτοφόρων ζώων (Ανυφαντάκης, 2004).

4.3.4 Ανοσογλοβουλίνες ή Ανοσοσφαιρίνες (-Ig ή Immunoglobulins)

Πρωτεΐνες του όρου γάλακτος που παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια. Στο πρωτόγαλα και το μαστικό γάλα εμφανίζονται σε αρκετά μεγάλη περιεκτικότητα. Διακρίνονται κυρίως σε IgG1, IgG2, IgA, IgMz κι εμφανίζουνσημαντικές ανοσοβιολογικές ιδιότητες. Το μοριακό τους βάρος είναι μεγάλο και κυμαίνεται περίπου M.B= 70.000-900.000 ανάλογα το είδος τους. Πρόκειται για πολυμερή γλυκοπεπτίδια με την βασική τους μονάδα να αποτελείται από δυο είδη πολυπεπτιδικών αλυσίδων: δυο ελαφριές και δυο βαριές αλυσίδες. Πρόκειται για πρωτεΐνη αρκετα ευαίσθητες στην θέρμανση (Ανυφαντάκης, 2004).

- **IgG1:** Είδος ανοσογλοβουλίνης. Αποτελεί το κύριο μέρος των ανοσογλοβουλινικών και εντοπίζεται στην μεγαλύτερη αναλογία στο γάλα. Αποτελείται από δύο ελαφριές και δυο βαριές πολυπεπτιδικές αλυσίδες που συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς ενώ στο μόριο τους εντοπίζονται και υδατάνθρακες. Το M.B τους είναι περίπου 150.000. Κάθε βαριά αλυσίδα διαθέτει M.B=52.000 ενώ κάθε ελαφριά αλυσίδα έχει M.B= 23.000. Η σύσταση της είναι ίδια με την γλοβουλίνη του αίματος.

4.3.5 Δευτερεύουσες πρωτεΐνες κι ενώσεις NPN

Στις δευτερεύουσες πρωτεΐνες του γάλακτος περιλαμβάνονται ανοσοσφαιρίνες, η λακτοφερρίνη, η τρανσφερρίνη, η φερριτίνη, πρωτεόζες και πεπτόνες δεσμευμένης πρωτεΐνης ασβεστίου κλπ. Οι πρωτεΐνες αυτές αποτελούν την οικογένεια των γλυκοπρωτεϊνών οι οποίες εντοπίζονται στο γάλα όλων των σπονδυλωτών ειδών. Η σημαντικότερη πρωτεΐνη από αυτές είναι η λακτοφερρίνη η οποία δεσμεύει τα σίδηρο στο ανθρώπινο γάλα.

Πρωτεΐνες	Αίγιο γάλα	Αγελαδινό γάλα	Ανθρώπινο γάλα
Λακτοφερρίνη (mg/ml)	20-200	20-200	< 2000
Τρανσφερρίνη (mg/ml)	20-200	20-200	< 50
Προλακτίνη (mg/ml)	44	50	40-160
Φολικό-δεσμευτική πρωτεΐνη (mg/ml)	12	8	-
Ανοσοσφαιρίνες			
IgA (γάλα : mg/ml)	30-80	140	1000
IgA (πρωτόγαλα: mg/ml)	0.9-2.4	3.9	17,35
IgM (γάλα : mg/ml)	1-10	50	100
IgM (πρωτόγαλα: mg/ml)	1.6-5.2	4.2	1,59
IgG (γάλα : mg/ml)	100-400	590	40
IgG (πρωτόγαλα: mg/ml)	50-60	47.6	0,43
Μη πρωτεϊνικό N (%)	0.4	0.2	0,5

Πίνακας 12 : Μερικές δευτερεύουσες πρωτεΐνες στο αίγιο γάλα, αγελαδινό γάλα και ανθρώπινο γάλα. **Πηγή :** Park (2006a), Renneuf and Lenoir (1986), Renner et al., (1989).

➤ **Πρωτεόζες - πεπτόζες :**

Αποτελούν το 20% των πρωτεϊνών του γάλακτος και το 0,1 % των πρωτεϊνών του ορού. Πρόκειται για μια ετερογενή ομάδα πολυμερών αμινοξέων με MW μικρότερο από αυτό των άλλων πρωτεϊνών του γάλακτος. Εκτός από συστατικά του γάλακτος αποτελούν και προϊόντα της διάσπασης των άλλων πρωτεϊνών κατά τον βρασμό.

Για την παραλαβή τους από τον ορό του γάλακτος απαιτείται ο βρασμός του γάλακτος κι η όξυνση σε pH= 4,6 όπου και οι γαλακτο-αλβουμίνες και γαλακτο-γλοβουλίνες καθιζάνουν μαζί με τις καζεΐνες.

Κεφάλαιο 5° : Γενετικός πολυμορφισμός πρωτεϊνών γάλακτος

Τα τελευταία χρόνια ο γενετικός πολυμορφισμός των πρωτεϊνών του γάλακτος έχει αποτελέσει πεδίο έρευνας κι ενδιαφέροντος καθώς σχετίζεται άμεσα με όλα τα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος. Συγκεκριμένα τις τελευταίες δεκαετίες μελετώνται εκτενώς ο πολυμορφισμός των κύριων πρωτεϊνών του γάλακτος ιδιαίτερα της κ-καζεΐνης και β-λακτογλοβουλίνης σε βοοειδή κυρίως αλλά και σε πρόβατα κι αίγες.

Οι μελέτες αυτές ασχολούνται με την μελέτη σε επίπεδο DNA σε διάφορα ποιοτικά χαρακτηριστικά γάλακτος (π.χ λιποπεριεκτικότητα, περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες) όπως και χαρακτηριστικά του ζώου (π.χ ύψος γαλακτοπαραγωγής).

Όμως σε αρκετές περιπτώσεις τα συμπεράσματα των μελετών συχνά είναι διφορούμενα και αντικρουόμενα με αποτέλεσμα να μην μπορεί να δοθεί μια σαφής σχέση ανάμεσα στον γενετικό πολυμορφισμό των πρωτεϊνών του γάλακτος και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του.

5.1 Ορισμός

Τα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών ελέγχονται από γονίδια. Γονίδιο είναι το τμήμα DNA όπου ελέγχει συγκεκριμένα χαρακτηριστικά. Η σύνθεση των πρωτεϊνών ελέγχεται από γονίδια. Το γονίδιο μεταγράφεται σε αγγελιοφόρο

RNA, μεταφράζεται σε ένα πολυπεπτίδιο που τροποποιείται ώστε να χρηματίσει την πρωτεΐνη. Την διαδικασία αυτή ακολουθούν οι πρωτεΐνες γάλακτος κατά τον σχηματισμό τους (Μάντης, 1993).

Σε άτομα του ίδιου είδους τα χρωμοσώματα των ζευγών εμφανίζουν εξαιρετική ομοιότητα μεταξύ τους. Όμως σε ορισμένα τμήματα των χρωμοσωμάτων μπορεί να εντοπίζεται κάποια παραλλακτικότητα στην αλληλουχία των βάσεων του DNA. Η παραλλακτικότητα αυτή μπορεί να οδηγήσει στην δημιουργία συγκεκριμένων γονιδίων με περισσότερες από μια μορφές (αλληλόμορφα). Στην περίπτωση που η γενετική παραλλακτικότητα εντοπίζεται σε ποσοστό > 5% τότε το φαινόμενο ονομάζεται γενετικός πολυμορφισμός. Τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα εντοπίζονται σε δυο αντίγραφα, με αποτέλεσμα να εντοπίζονται δυο αλληλόμορφα κάθε γονιδίου. Στην περίπτωση που τα αλληλόμορφα είναι όμοια μεταξύ τους τότε το άτομο είναι ομόζυμο ενώ σε αντίθετη περίπτωση το άτομο είναι ετερόζυγο.

Οι 6 κύριες πρωτεΐνες του γάλακτος χαρακτηρίζονται από πολυμορφισμό καθώς κωδικοποιούνται από πολυμορφικά γονίδια και γι' αυτό το λόγο εμφανίζουν αρκετές συνώνυμες και μη- μεταλλάξεις (47 διαφορετικές πρωτεΐνες συγκεκριμένα). Η μελέτη των πολυμορισμών των πρωτεϊνών του

γάλακτος είναι ιδιαίτερα σημαντική για την μελέτη των ποιοτικών χαρακτηριστικών του γάλακτος για τον σχεδιασμό εκτροφής κ.α.

5.2 Ιστορική ανασκόπηση

Ο γενετικός πολυμορφισμός των πρωτεϊνών γάλακτος εντοπίζεται για πρώτη φορά από τους Aschaffenburg και Drewry το 1955 και συγκεκριμένα αφορούσε την β-λακτογλοβουλίνη. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι τα δείγματα γάλακτος από διαφορετικές αγελάδες κατά την ηλεκτροφόρηση παράγαν μια ή δυο διαφορετικές ηλεκτροφορητικές δέσμες ή μείγμα τους, που προσδιορίστηκαν σαν β1 και β2 (με σειρά μειωμένης κινητικότητας). έπειτα από δυο χρόνια όταν ανακαλύφθηκε πως η σύνθεση των δύο διαφορετικών τύπων της β-λακτογλουβουλίνης βρισκόταν υπό γενετικό έλεγχο τα παραπάνω ονόματα αντικαταστάθηκαν από A και B (Aschaffenburg and Drewry, 1957).

Η παραπάνω ανακάλυψη οδήγησε στην έναρξη μιας περιόδου μελέτης του γενετικού πολυμορφισμού της β-λακτογλοβουλίνης όπως και της πιθανότητας ύπαρξης γενετικού πολυμορφισμού σε υπόλοιπες οροπρωτεΐνες αλλά και στις καζεΐνες. Οι πρώτες προσπάθειες επικεντρώθηκαν στην δημιουργία μεθόδων προσδιορισμού των γενετικών αλληλόμορφων των πρωτεϊνών του γάλακτος στις διάφορες φυλές βοοειδών. Έπειτα η έρευνα στράφηκε στην εύρεση γονιδιακών τύπων σχετικών με την παραγωγή γάλακτος. Μέχρι και τις μέρες μας οι περισσότερες μελέτες που πραγματοποιούνται επικεντρώνονται στον

έλεγχο της σύνθεσης των τεσσάρων τύπων καζεϊνών (as1, as2, β, κ) αλλά και στην β-λακτογλοβουλίνη.

5.3 Γονότυποι

Σαν γονότυπος ορίζεται το σύνολο των γονιδίων ενός οργανισμού δηλαδή το σύνολο των αλληλόμορφων που αποτελούν το DNA των κυττάρων του. Ο γονότυπος καθορίζει τα χαρακτηριστικά του οργανισμού (φαινότυπος). Ο όρος αυτός επινοήθηκε από τον Wilhelm Johannesen το 1903 (Johannsen, 1903). Ο γονότυπος είναι ένας από τους τρεις παράγοντες που καθορίζουν τον φαινότυπο, μαζί με κληρονομικούς επιγενετικούς παράγοντες και μη κληρονομικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Όλοι οι οργανισμοί με τον ίδιο γονότυπο δεν φαίνονται ούτε δρουν με τον ίδιο τρόπο επειδή η εμφάνιση και η συμπεριφορά τροποποιούνται από περιβαλλοντικές και αναπτυσσόμενες συνθήκες. Ομοίως δε έχουν πάντα όλοι οι οργανισμοί τον ίδιο γονότυπο.

Όταν αναφερόμαστε στον γονότυπο ενός ατόμου σε σχέση με το γονίδιο ενδιαφέροντος αναφερόμαστε και στον συνδυασμό των αλληλόμορφων που φέρει το άτομο (είτε είναι ομόζυμο είτε ετερόζυγο). Συχνά οι γονότυποι συμβολίζονται με γράμματα όπως π.χ B.b όπου το B συμβολίζει το ένα αλληλόμορφο και το b συμβολίζει το άλλο αλληλόμορφο (Alberts et al., 2014). Περισσότερο από το 95% των πρωτεϊνών που περιέχονται στο γάλα των μηρυκαστικών κωδικοποιείται από 6 δομικά γονίδια (Martin et al., 2002), 2 γονίδια (LALBA και LGB) για τις κύριες πρωτεΐνες ορού γάλακτος α-λακτογλοβουλίνη και β-λακτογλοβουλίνη και 4 για την καζεΐνη και τις 4 μορφές της (CSN1S1, CSN1S2, CSN2 και CSN3, αντίστοιχα). Όμως πρόσφατα αναθεωρήθηκε η ονοματολογία των πρωτεϊνών γάλακτος λαμβάνονται υπόψιν μόνο τις πολυμορφικές πρωτεΐνες περιλαμβάνοντας 8 αS1-CN, 4 αS2-CN, 12 β-CN, 11 κ-CN, 11 β-LG και 3 α-LA παραλλαγές στο γένος Bos.

Είδος πρωτεΐνης	Γενότυπος	Συχνότητα (%)
κ-καζεΐνης	AA*	53
	BB	4
	AB	43
	A1A1*	30,7
	A2A2	16,6
	A1A2	
	A1A3	51,3
	A2A3	
β-καζεΐνη	A1B	0
	A2B	

	BB*	94
	AB	0,6
	BC	5,4
as1-καζεΐνης	CC	0
	AA	13,4
	AB*	50,5
β-γαλακτογλοβουλίνη	BB	36
α-γαλακταλβουμίνη	BB*	100

*Οι πιο συνηθισμένοι γενότυποι

Πίνακας 13 : Συχνότητα εμφάνισης γονοτύπων τις κ-καζεΐνης, β-καζεΐνης, as1-καζεΐνης, β-γαλακτογλοβουλίνης και α-γαλακτογλοβουλίνης σε αγελάδες
Πηγή : Ng-Kwai-Hang et al., (1984a)

5.3.1 Γονότυποι καζεΐνών

Οι καζεΐνες αποτελούνται από 4 γονίδια. Συγκεκριμένα η κάθε μορφή καζεΐνης αS1-CN, αS2-CN, β-CN και κ-CN κωδικοποιείται από τα αντίστοιχα γονίδια CSN1S1, CSN1S2, CSN2 και CSN3 σε όλα τα είδη. Τα γονίδια των καζεΐνών εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 6. με αποτέλεσμα την αυξημένη πιθανότητα ασταθών συνδέσεων μεταξύ τους (Treadgill and Womack, 1990). Με αυτό τον τρόπο υπάρχει πιθανότητα να βρούμε διαφορές στο φαινοτυπικό πολυμορφισμό των πρωτεϊνών.

Συγκεκριμένα τα γονίδια της καζεΐνης βρίσκονται συνδεδεμένα μέσα σε 250Kb σύμπλεγμα στην ομάδα γονιδίων U15 στο 6^ο χρωμόσωμα. Το γονίδιο της β-λακτογλοβουλίνης εντοπίζεται στην ομάδα γονιδίων U16 στο ίδιο χρωμόσωμα και γι' αυτό το λόγο είναι δυνατών να επηρεαστεί η δράση του καθενός από άλλα γονίδια που εντοπίζονται κοντά τους (Bovenhuis et al., 1992).

Αρκετές είναι οι περιοχές ύπαρξης πολυμορφισμού εντός του συμπλέγματος CN που επηρεάζουν και την δομή των καζεΐνών αλλά και άλλα παραγωγικά χαρακτηριστικά του γάλακτος. Αυτή πρόκειται για περίπτωση

πολυμορφισμού εντός ενός νουκλεοτιδίου στο Βον-42 στο δεύτερο ιντρόνιο του γονιδίου CSN3 κι εντοπίστηκε από τους Damiani et al., (2000b)

Η καζεΐνη είναι μια πρωτεΐνη γάλακτος, στην οποία ανιχνεύτηκε γενετικός πολυμορφισμός. Η ανίχνευση έγινε μέσω της χρήσης ουσιών όπως η μερκαπταιθανόλη και κυστεΐνη, οι οποίες έχουν την ικανότητα να διασπούν τους διθειικούς δεσμούς και να μετατρέπουν τα πολυμερή της κ-καζεΐνης σε μονομερή ώστε να διαχωριστούν τα αλληλόμορφα της.

Είδος πρωτεΐνης	Αλληλόμορφο	Σύνολο	Γονότυποι	Σύνολο
κ-καζεΐνη	A,B	2	AA,AB,BB	33
β-καζεΐνη	A1,A2,A3,B	4	A1A1,A1A2,A1A3,A1B,A2B2,A2A3,A2B	7
αs1-καζεΐνη	A,B,C	3	AB,BB,BC,CC	4
β- λακτογλοβουλίνη	A,B,C	2	AA,AB,BB	3
α- γαλακταλβουμίνη	B	1	BB	1

Πίνακας 14 : Αλληλόμορφα και γονότυποι μερικών πρωτεϊνών γάλακτος

Πηγή : Ng-Kwai-Hang et al., (1984a)

➤ **Αγελάδες**

Στις αγελάδες της φυλής Holstein ο γονότυπος των καζεϊνών ελέγχεται από δύο αλληλόμορφα AA, AB καθώς και BB (Alexander et al., 1988). Το αλληλόμορφο A είναι διαφορετικό από το αλληλόμορφο B στις θέσει 136 και 148 της πεπτιδικής του αλυσίδας. Όμως μπορεί να το αντικαταστήσει η θρεονίνη και το ασπαρτικό οξύ από την ισολευκίνη και αλανίνη αντίστοιχα.

➤ **Πρόβατα**

Στο πρόβειο γάλα οι καζεΐνες αποτελούν το 76-83% των ολικών πρωτεϊνών τους με τις μορφές $\alpha s1$ -, $\alpha s2$, β - και κ - . Υπάρχει ετερογένεια μεταξύ τους, η οποία οφείλεται στον πολυμορφισμό των γονιδίων τους αλλά και σε άλλους παράγοντες. Ένας παράγοντας από αυτούς είναι το διακριτό επίπεδο φωσφορυλίωσης και η συνύπαρξή τους μαζί με πρωτεΐνες, που συγκεντρώνονται σε αλυσίδες διαφορετικού μήκους (Part et al., 2007).

➤ **Αίγες**

Οι καζεΐνες αιγών $\alpha S1$, $\alpha S2$, β και κ κωδικοποιούνται από τα γονίδια CSN1S1, CSN1S2, CSN2 και CSN3, αντιστοίχως, τα οποία εντάσσονται σε μια περιοχή 250 kb στο χρωμόσωμα 6 με τη σειρά CSN1S1 – CSN2 – CSN1S2 – CSN3 (Rijnkels, 2002).

5.3.1.1 $\alpha s1$ -καζεΐνη

Η $\alpha s1$ -καζεΐνη είναι η κύρια πρωτεΐνη στο αγελαδινό γάλα και θεωρείται υπεύθυνη για αλλεργίες. Επειδή, υπάρχουν πάρα πολλές γενετικές παραλλαγές είναι αρκετά δύσκολο να βρεθεί η πρωτεΐνη που προκαλεί την αλλεργική αντίδραση.

➤ **Αγελάδες**

Σε γερμανικά μαύρα και άσπρα βοοειδή εντοπίστηκε το $\alpha s1$ -CN F, η $\alpha s1$ -CN G ανακαλύφθηκε στις ιταλικές καφέ αγελάδες (Mariani et al., 1995). Η παραλλαγή A που εντοπίστηκε σε αγελάδες της φυλής Holstein, Friesian και κόκκινες Holstein (Ng-Kwain-Hang et al., 1984a). Επίσης, η παραλλαγή C εντοπίζεται σε φυλές Bos indicus και Bos frummiens και η παραλλαγή A εντοπίζεται σε φυλές στην Γαλλία (Grosclaude, 1972) και στην Ιταλία (Mariana & Russo, 1995). Ακόμα η παραλλαγή A εντοπίζεται σε φυλές Jensey στην Ολλανδία (Corrandini, 1969). Η παραλλαγή E εντοπίζεται σε φυλές Bos

grunniens (Grosclaude et al., 1976) ενώ ακόμα εντοπίζονται και παραλλαγές F, G κι H.

Στις φυλές Holsterin Friesians, Red Holsteins και German Red η κυρίαρχη παραλλαγή της πρωτεΐνης αυτής είναι η A ενώ στα είδη Bos Taurus είναι η B. Στα είδη Bos indicus και Bos grunniens η παραλλαγή C είναι κυρίαρχη ενώ σε άλλες φυλές αγελάδων η παραλλαγή D είναι κυρίαρχη. Η παραλλαγή E είναι κυρίαρχη στο είδος Bos grunniens. Τέλος έχουν εντοπιστεί και παραλλαγές F,G,H της πρωτεΐνης αυτής στις αγελάδες (Farrell et al., 2004).

		Θέση και αμινοξύ στην πρωτεΐνη					
Πρωτεΐνη	Παραλλαγή	14-26	53	51-58	59	66	192
	A	Απαλοιφή					Glu
	B		Ala		Gln	SerP	Glu
	C						Gly
	D		ThrP				Glu
	E				Lys		Gly
	F					Leu	Glu
	G						Glu
as1-CN (199 αμινοξέα)	H			Απαλοιφή			Glu

Πίνακας 15 : Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της as2-καζείνης στις αγελάδες

Πηγή : Farrell et al., (2004).

➤ Πρόβατα

Στα πρόβατα έχουν εντοπιστεί πέντε παραλλαγές της as1-CN οι A έως E όπου ταυτοποιήθηκαν από τους Chianese et al., (1996) με την χρήση τεχνικών ηλεκτροφόρησης συνδυασμένες με ανοσολογικές μεθόδους φασματοφωτομετρίας μαζών. Η παραλλαγή as1-CN C διαφέρει από την A ως προς την αντικατάσταση του αμινοξέος Ser από το αμινοξύ Pro στην θέση 13 η οποία καθορίζει την απώλεια της φωσφορικής ομάδας στην περιοχή 12 της πεπτιδικής αλυσίδας (Park et al., 2007). Επιπλέον αντικατάσταση της SerP από την Asn στην θέση 68 προκαλεί απώλεια δύο φωσφορικών ομάδων στα υπολείμματα αμινοξέων Ser64 και Ser66 στην παραλλαγή D (Amigo et al., 2000). Έτσι η γενετική παραλλαγή αυτή παρουσιάζει την μικρότερη φωσφορυλίωση που εξηγείται από τον μεγαλύτερο χρόνο μετακίνησης στην τριχοειδή ηλεκτροφόρηση κάτω από όξινες συνθήκες pH αλλά και αργή μετακίνηση σε αλκαλική πηκτή πολυακρυλαμιδίου (Park et al., 2007). Σχετικά με την κατανομή των παραλλαγών τους ανάμεσα στις διαφορετικές φυλές προβάτων η παραλλαγή D είναι η πιο συχνή ενώ έχουν εντοπιστεί αρκετές φυλές με εξαιρετικά χαμηλή συχνότητα εμφάνισης της παραλλαγής αυτής. Η

παραλλαγή C είναι η πιο συχνή από όλες τις φυλές και τις διασταυρώσεις ενώ η παραλλαγή E έχει εντοπιστεί σε μερικές μόνο φυλές (Amigo et al., 2000).

➤ Αίγες

Η as1-CN αντιπροσωπεύει το 10% της ολικής καζεΐνης όμως μπορεί να ποικίλλει από 0-25% ανάλογα με τον γονότυπο του ζώου (Jordana et al., 1996). Μελέτες του πολυμορφισμού της αίγας as1-CN ανακάλυψαν 14 αλληλόμορφα γονίδια που αντιστοιχούν σε 7 ηλεκτροφορητικές παραλλαγές.

Οι πολυμορφισμοί των καζεϊνών και γενικότερα των πρωτεϊνών διαφέρουν ανάλογα με την φυλή αίγας. Για παράδειγμα, η παραλλαγή A κι E της as1-CN είναι οι πιο συχνές παραλλαγές στις ιταλικές φυλές Saanen και Alpine ενώ η παραλλαγή B εμφανίζεται πιο συχνά σε φυλές Sandra (Vacc et al., 2014). Στις αφρικάνικες φυλές αίγας τα αλληλόμορφα B/E και A/B είναι τα πιο συχνά ενώ οι παραλλαγές C, G, N και O1 εμφανίζουν μειωμένη συχνότητα εμφάνισης στις Ιταλικές φυλές.

Τα αλληλόμορφα Α και Β σχετίζονται με υψηλή περιεκτικότητα του αίγιου γάλακτος σε as1-καζείνη και είναι αρκετά γνωστές σε τοπικές φυλές της Μεσογείου και της Αφρικής. Το 'ενδιάμεσο' αλληλόμορφο Ε συναντάται πιο συχνά σε τοπικές φυλές της Γαλλίας και Ισπανίας. Οι Γαλλικές φυλές πλέον εμφανίζουν υψηλή συχνότητα των 'ελλαπτωματικών' αλληλόμορφων F, E και O. Συγκεκριμένα στις φυλές Alpine και Saanen η παρουσία αλληλόμορφων Α έχει συχνότητα εμφάνισης 10% ενώ τα αλληλόμορφα Ε και F έχουν συχνότητα εμφάνισης 40% (Moioli et al., 1998).

Πρωτεΐνη	Παραλλαγή	Αmino acid positions											
		1	8	14-26	16	59-69	59-95	66	77	90	100	195	
as2-CN (199 αμινοξέα)	A								Gln				
	B1	Arg	His		Leu			Ser	Glu	Arg	Arg	Thr	
	B2				Pro								
	B3				Pro							Lys	
	B4				Pro							Lys	
	C		Ile		Pro							Lys	Ala
	D				Pro	Απαλοιφή							
	E				Pro							Lys	Ala
	F				Pro		Απαλοιφή						
	G			Απαλοιφή					Gln				
	H	Lys							Gln				
	I		Δεν έχει χαρακτηριστεί										
	L				Pro						His		
M								Leu					

Πίνακας 16 : Θέσεις αλλά και διαφορές των αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της as1-καζεΐνης στις αίγες **Πηγή** : Marletta et al., (2007).

5.3.1.2 as2-καζεΐνη

Η as2-καζεΐνη πρόκειται για την ομάδα καζεϊνών που εμφανίζει την μεγαλύτερη διακύμανση στην έκταση της φωσφορυλίωσης και είναι πιο υδρόφιλη από τις υπόλοιπες με αποτέλεσμα να είναι πιο ευαίσθητη στα ιόντα ασβεστίου από ότι η ομάδα as1-CN (Walstra et al., 2006). Η πρωτεΐνη αναφορά γι' αυτή την ομάδα είναι η as2-CN A-11P η οποία είναι ένα πολυπεπτίδιο μονής αλυσίδας με έναν ενδομοριακό δισουλφιδικό δεσμό μεταξύ των υπολειμμάτων κυστεΐνης 36 και 40 (Farrell et al, 2004).

➤ Αγελάδες

Οι 4 γνωστές παραλλαγές της είναι η A, B, C και D και έχουν εντοπιστεί στις αγελάδες του είδους Bos Taurus.

Πρωτεΐνη	Παραλλαγή	Θέση και αμινοξύ στην πρωτεΐνη			
		33	47	51-59	130
as2-CN (207 αμινοξέα)	A	Glu			Thr
	B	Η ολοκληρωμένη αλληλουχία δεν έχει καθοριστεί			
	C	Gly	Thr		Ile
	D	Απαλοιφή			

Πίνακας 17 : Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της αγελαδινής as2-καζεΐνης

➤ Πρόβατα

Στα πρόβατα εντοπίζονται δύο γενετικές παραλλαγές της η as2-CN A καθώς και η as2-CN B. Διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την αντικατάσταση των αμινοξέων Asn49 και Lys200 από τα αμινοξέα Asp49 και Asn200 αντίστοιχα. Σε επίπεδο πρωτεϊνών ανακαλύφθηκε παραλλαγή της στην φυλή προβάτων Manchega. Η παραλλαγή αυτή χαρακτηρίστηκε από δύο επιπλέον ζώνες υψηλής ανοδικής κινητικότητας σε αλκαλική και όξινη ηλεκτροφόρηση πράγμα που είναι ανάλογο του μοριακού βάρους σε σχέση με την κοινή as2-καζείνη. Αυτό επαληθεύτηκε από την SDS-PAGE του κλάσματος ης as2-CN. Επίσης, στην τριχοειδή ηλεκτροφόρηση υπάρχει μεγάλη ετερογένεια της πρωτεΐνης αυτής που οφείλεται στον διαφορετικό βαθμό φωσφορυλίωσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας (Amigo et al., 2000).

➤ Αίγες

Στο αίγιο γάλα έχουν ταυτοποιηθεί επτά αλληλόμορφα που εμφανίζουν τρία διαφορετικά ποσοτικά επίπεδα σύνθεσης (Marletta et al., 2007). Το αλληλόμορφο A (όπου αποτελεί πρωτεΐνη αναφοράς), B, C, D, E καθώς κι F έχουν κανονική περιεκτικότητα σε as2-CN (2,5g/lit γάλακτος) και χαρακτηρίζονται μόνο από την αντικατάσταση ενός αμινοξέος (Trujillo et al., 2000a). Το αλληλόμορφο D οδηγεί σε μειωμένη περιεκτικότητα σε as2-CN (Trujillo et al., 2000a).

Το αλληλόμορφο D αποτελεί ένα σπάνιο κι ελαττωματικό αλληλόμορφο που αποτελείται από 205 υπολείμματα αμινοξέων και χαρακτηρίζεται από την απαλοιφή των υπολειμμάτων 122-124 (Pro-Thr-Val) καθώς και την αντικατάσταση της Thr στην θέση 121 από την Asn, σχετικά με την παραλλαγή A. Το O αλληλόμορφο αποτελείται από 109 υπολειμματικά

αμινοξέα και δίνει μη ανιχνεύσιμα επίπεδα καζεΐνες στο γάλα (Marletta et al., 2007).

Πρωτεΐνη	Παραλλαγή	7	64	121	122-124	167	193
	A	Val	Glu	Thr		Lys	Pro
	B		Lys				
	C					Ile	
	D						
	(205 Αμινοξέα)			Asn	Διαγραφή		
	E					Ile	Arg
	F	Ile					
	O						
as2-CN (208 αμινοξέα)	(109 Αμινοξέα)						

Πίνακας 18: Θέσεις καθώς και διαφορές στα αμινοξέα στις γενετικές παραλλαγές της as2-καζεΐνης στις αίγες **Πηγή :** Marletta et al., (2007)

5.3.1.3 β-καζεΐνη

Η β-καζεΐνη στις αγελάδες περιλαμβάνει 209 υπολείμματα αμινοξέων (Eigel et al., 1984) και αντιπροσωπεύει το 45% του καζεϊνικού κλάσματος. Πιο

συγκεκριμένα, πρόκειται για μια περίπλοκη πρωτεΐνη. Η δράση της οδηγεί στον σχηματισμό των γ1-γ2- και γ3-CN που είναι κλάσματα της β-CN και αποτελούνται από τα υπολείμματα 29-209, 106-209 και 108-209 αντίστοιχα (Farrell et al., 2004). Οι πρωτεΐνες αναφοράς γι' αυτή την ομάδα είναι η as2-5P και αποτελείται από μία μονή πολυπεπτιδική αλυσίδα που δεν περιλαμβάνει υπολείμματα κυστεΐνης.

➤ **Αγελάδες**

Στις αγελάδες η β-καζεΐνη εμφανίζει 12 παραλλαγές. Σε όλα τα είδη του γένους *Bos* η γενετική παραλλαγή A είναι κυρίαρχη. Οι παραλλαγές C και D έχουν μία λιγότερη φωσφορική ομάδα από τις υπόλοιπες παραλλαγές (Eigel, et al., 1984).

Πρόσφατα ανακαλύφθηκαν και παραλλαγές της β-CN, οι β-CN F-5P που περιέχει ένα υπόλειμμα Leu αντί για Pro στην θέση 152 της β-CN A και η β-CN G-5P που είναι παρόμοια με την β-CN A και F περιέχει ένα υπόλειμμα Leu αντί για Pro στη θέση 137 ή 138 (Dong & ng-Kwai-Hong, 1998). Η β-CN H διαφέρει από την παραλλαγή A² με αντικατάσταση του υπολείμματος Arg στη θέση 25 από τα υπολείμματα Cys και του υπολείμματος Leu στη θέση 88 από το υπόλειμμα Ile (Farrell et al., 2004). Οι Senocq et al., (2002) ανακάλυψαν την γενετική παραλλαγή H² που διαφέρει από την παραλλαγή A² σε δύο γνωστές θέσεις – αντικατάστασης της Met στην θέση 93 από την Leu και της Gln στην θέση 72 από την Glu- και από αντικατάσταση της Gln από την Glu στην αλληλουχία 114-169. Τέλος η παραλλαγή I περιλαμβάνει την αντικατάσταση της Met στην θέση 93 από την Leu στην παραλλαγή H² (Farrell et al., (2004).

Πρωτεΐνη	Παραλλαγή	18	25	35	36	37	67	72	88	93	106	122	137/138	152
β-CN (209 αμινοξέα)	A1						His							
	A2	SerP	Arg	SerP	Glu	Glu	Pro	Gln	Leu	Met	His	Ser	Leu/Pro	Pro
	A3										Gln			
	B						His					Arg		
	C			Ser		Lys	His							
	D	Lys												
	E				Lys									
	F						His							Leu
	G						His						Leu	
	H1		Cys							Ile				
	H2								Glu		Leu			

Πίνακας 19 : Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της β-καζεΐνης στις αγελάδες **Πηγή** : Farrell et al., (2004).

➤ **Πρόβατα**

Στα πρόβατα εντοπίζονται τρεις γενετικές παραλλαγές οι A, B, C. Η μόνη διαφορά ανάμεσα στις παραλλαγές A και C είναι η αντικατάσταση του αμινοξέος Glu στην θέση 2 στην A παραλλαγή από το αμινοξύ Gln στην παραλλαγή C (Park et al., 2007). Η παρουσία πολύ-φωσφορυλιωμένων μορφών της β-CN μπορεί να επηρεάζει την σταθερότητα του μικκυλίου αλλά και την διαθεσιμότητα και την κατανομή του Ca στο γάλα. Αυτό οφείλεται στην ικανότητα των μορφών της β-CN όπου είναι φωσφορυλιωμένες σε διαφορετικό βαθμό καθώς δεσμεύουν διαφορετικές ποσότητες Ca. Ακόμα το επίπεδο της φωσφορυλίωσης της β-CN σε μεμονωμένα γάλατα καθορίζεται από το στάδιο γαλακοπαραγωγής, την υγεία ηλικία καθώς και την διαθεσιμότητα P (Amigo et al., 2000).

➤ **Αίγες**

Η β-καζεΐνη στο αίγειο γάλα αντιστοιχεί στο κυριότερο κλάσμα των καζεϊνών ως προς την ποσότητα τους (Moiooli et al., 1998). Η β-καζεΐνη στο αίγειο γάλα περιέχει 171 υπολείμματα αμινοξέων και δύο συστατικά με ίδιο μοριακό βάρος τα οποία εμφανίζουν δύο επίπεδα φωσφορυλίωσης (τα 5 κι 6) (Trujillo et al., 2000a) παρόλο που αναφέρονται κι άλλες μορφές, οι 3P και 4P (Marlette et al., 2007). Το πρόβειο και αγελαδινό γάλα αποτελείται από πολλά κλάσματα που έχουν όμοιες μερικές πεπτιδικές αλυσίδες καθώς και διαφορετική περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (Trujillo et al., 2000a).

Έχουν γίνει αρκετές μελέτες σχετικά με τον πολυμορφισμό της καζεΐνης στο αίγειο γάλα και έχουν εντοπιστεί αρκετά αλληλόμορφα τα οποία εκφράζουν

διαφορετικά επίπεδα περιεκτικότητάς της στο γάλα αυτό. Επίσης, η ετερογένεια αυτή οφείλεται στην πολλαπλή φωσφορυλίωση της πεπτιδικής αλυσίδας, ενώ μερικά είδη αίγειου γάλακτος μπορεί να στερούνται εντελώς αυτής της πρωτεΐνης.

Οι γενετικές παραλλαγές της έχουν χαρακτηριστεί αν Α (αποτελεί την πρωτεΐνη αναφοράς), Α₁ (το σιωπηλό αλληλόμορφο), Ο', , Β, C, D, και Ε. Το αλληλόμορφο Ε χαρακτηρίστηκε μόλις πρόσφατα. Το αλληλόμορφο Ο' και Ο, είναι μηδενικά και είναι υπεύθυνα για την απουσία ή την μειωμένη ποσότητά τους (50%) στο γάλα αίγας. Το αλληλόμορφο C διαφέρει από το Α ως προς την αντικατάσταση της Ala στην θέση 177 από τη Val και το D διαφέρει από το C στην αντικατάσταση της Val στην θέση 207 από την Asn. Τέλος, το αλληλόμορφο Ε διαφέρει από το Α ως προς την αντικατάσταση της Ser στην θέση 166 από την Tyr κι εντοπίζεται στις αίγες της φυλής Frisa (Marletta et al., 2007).

Πρωτεΐνης	Παραλλαγή	Θέση αμινοξέος στην πρωτεΐνη		
		166	177	207
	A	Ser	Ala	Val
	O	(166 αμινοξέα)		
	B	Δεν έχει χαρακτηριστεί		
	C	Val		
	D	Val Asn		
as2-CN (207 αμινοξέα)	E	Tyr		

Πίνακας 20 : Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της β-καζεΐνης στις αίγες **Πηγή** : Martletta et al., (2007).

5.3.1.4 κ-καζεΐνηη

Οι πρωτεΐνες για την ομάδα των κ-καζεΐνών είναι η κ-CN A-1P. Οι δύο πιο κοινές παραλλαγές έχουν χαρακτηριστεί σαν Α και Β, με την Α να τείνει να κυριαρχεί στις γαλακτοπαραγωγές φυλές βοοειδών (Farrell et al., 2004). Η παραλλαγή κ-CN A-1P διαφέρει από την Β λόγω αντικατάστασης ενός υπολείμματος Thr από ένα υπόλειμμα Ile στην θέση 136, που επηρεάζει την γλυκοζυλίωση καθώς και ενός υπολείμματος Arg από ένα υπόλειμμα Ala στην θέση 148 (Ng-Kwai-Hang & Grosclaude, 1992). Οι αντικαταστάσεις των δύο αυτών πεπτιδίων γίνονται στην περιοχή του μακροπεπτιδίου (106-169 κ-CN) και προκύπτει από την υδρόλυση της κ-CN από την χυμοσίνη.

➤ Αγελάδες

Οι δύο κοινές γενετικές παραλλαγές του είναι η Α και Β. Η παραλλαγή Α κυριαρχεί στις περισσότερες φυλές αγελάδων που δίνουν γάλα για την δημιουργία γαλακτοκομικών προϊόντων, με εξαίρεση την φυλή Jersey. Η παραλλαγή C διαφέρει από την παραλλαγή Α με υποκατάσταση His97 για Arg97, η E διαφέρει από την Α με υποκατάσταση Gly 155 για Ser 155. Η SI04A τροποποίηση στην παραλλαγή I μεταβάλλει την –Ser-Phe-Met-Ala-χυμοσίνη ευαίσθητη περιοχή που περιγράφεται από τον Viser et al., (1976) και επηρεάζει την παραγόμενη πήξη του γάλακτος.

Πρωτεΐνη	Παραλλαγή	10	97	104	135	136	148	155
	A	Arg	Arg	Ser	Thr	Thr	Asp	Ser
	B					Ile	Ala	
	C		His					
	E							Gly
	F ¹						Val	
	F ²	His				Ile	Ala	
κ-CN (169 αμινοξέα)	G ¹		Cys			Ile	Ala	
	G ²						Ala	

H		Ile		
I	Ala			
J		Ile	Ala	Arg

Πίνακας 21 : Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της κ-καζεΐνης στις αγελάδες **Πηγή** : Farrell et al., (2004)

Στην κ-καζεΐνη στις αγελάδες υπάρχουν και άλλες νέες γενετικές παραλλαγές που έχουν ονομαστεί F¹, F², G¹, G², H, I και J. Από τις 11 γνωστές παραλλαγές των κ-καζεϊνών οι 8 εντοπίζονται στην περιοχή του γλυκομακροπεπτιδίου, μακριά από τον δεσμό χυμοσίνης που υδρολύεται και οι μεταλλάξεις κυμαίνονται στις θέσεις 136-155. Στις παραλλαγές C, F², G¹ οι διαφορές βρίσκονται στην περιοχή της παρα-κ-καζεΐνης (Farrell et al., 2004).

Στο είδος *Bos Indicus* (ασιατική αγελάδα) έχουν εντοπιστεί ακόμα οι παραλλαγές C και E που διαφέρουν από την παραλλαγή A ως προς την αντικατάσταση της His από την Arg στην θέση 97 και την αντικατάσταση της Gly από την Ser στην θέση 155 (Ng-Kwai-Hang & Grosclaude, 1992). Στην περίπτωση ηλεκτροφόρησης με pH=8,6 υπό την παρουσία μεκταπποαιθανόλης και ουρίας οι δύο παραλλαγές δίνουν πολλαπλές ζώνες, με την A παραλλαγή να εμφανίζει μεγαλύτερη κινητικότητα (Eigel et al., 1984). Η C παραλλαγή της κ-CN εντοπίζεται στο επίπεδο της A παραλλαγής της κ-CN κι ελαφρώς λίγο πιο πάνω από αυτήν ενώ κινείται και πιο αργά από ότι η A και η β-παρα-κ-CN. Ο ρυθμός κίνησης των παραλλαγών A κι E κ-CN είναι παρόμοιος και έχουν pH=8,6 (Miranda et al., 1993).

➤ Πρόβιατα

Στα πρόβιατα δεν έχουν βρεθεί γενετικές παραλλαγές της κ-καζεΐνης (Moioili et al., 1998 ; Park et al., 2007) όμως παρατηρείται το φαινόμενο του γενετικού πολυμορφισμού λόγω του διαφορετικού βαθμού γλυκοζυλίωσης σε 3 διαφορετικά υπολείμματα Thr, στις θέσεις 135,137 κι 138 καθώς και φωσφορυλίωσης σε δύο περιοχές Ser P₁₅₁ και Ser P₁₆₉ (Park et al., 2007). Η γλυκοζυλίωση πρόκειται για μία σύνθετη μεταφραστική τροποποίηση που παρατηρείται στα αμινοξέα Asn και/ ή Ser/Thr. Η κ-CN μεταφέρει Ο-συζευγμένες γλυκάνια σε διαφορετικά υπολείμματα Ser. Οι Amigo et al., (2000) έχουν εντοπίσει 3 πολύ-φωσφορυλιωμένες μορφές κ-CN. Τέλος στα

πρόβατα το κλάσμα των ολικών καζεϊνών περιέχουν επίσης τις γ-καζεΐνες, προϊόντα πρωτεόλυσης των β-CN από την πλασμίνη (Park et al., 2007).

➤ Αίγες

Η κ-καζεΐνη στις αίγες περιέχει 171 υπολείμματα αμινοξέων, 2 φωσφορικές ομάδες και παρουσιάζει ομολογία 84% σχετικά με την παραλλαγή A στις αγελάδες. Για παράδειγμα και στις αίγες και στις αγελάδες και στα πρόβατα, αποτελείται από πολλά κλάσματα που έχουν όμοιες πεπτιδικές αλυσίδες, έχοντας όμως διαφορετική περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες (Trujillo et al., 2000a).

Μόλις πρόσφατα ο αριθμός των αλληλόμορφων που ταυτοποιήθηκαν αυξήθηκε στα 16 από τα 13 που αντιστοιχούν σε παραλλαγές πρωτεϊνών καθώς και σε 3 'σιωπηλές' μεταλλάξεις (Moio et al., 2007). Οι γενετικές παραλλαγές έχουν χαρακτηριστεί σαν A (πρωτεΐνη αναφοράς), B, C, D, E, F, και G. Οι νέες παραλλαγές F και G βρέθηκαν μόνο σε Ιταλικές φυλές αιγών. Μεταξύ των 7 γενετικών παραλλαγών η B βρέθηκε σε όλους τους πληθυσμούς και είναι το κυρίαρχο αλληλόμορφο. Για να διαπιστώσουμε διαφορά μεταξύ των παραλλαγών F και G έγκειται να γίνει αντικατάσταση ενός και μόνο αμινοξέος της Val από την Ile στην θέση 65 της πρωτεΐνης. Η παραλλαγή F παρουσιάζει τα αμινοξέα Val και Pro στις θέσεις 65 και 159 αντίστοιχα. Πιο συγκεκριμένα, πρόκειται για συνδυασμό που δεν έχει παρατηρηθεί στις παραλλαγές που έχουν ήδη αναφερθεί (Yahyaoui et al., 2003). Ακόμα έχουν χαρακτηριστεί και τα αλληλόμορφα H,I,J,K,L,M (Martletta et al., 2007).

Η πιο συχνή παραλλαγή του γονιδίου που κωδικοποιεί την κ-καζεΐνη είναι οι παραλλαγές A και B, στις περισσότερες φυλές. Η παραλλαγή D ήταν πιο συχνή σε πληθυσμούς της Άπω Ανατολής και Ασίας. Συγκεκριμένα η παραλλαγή αυτή είναι πιο συχνή σε φυλές της Τουρκίας και Ινδίας. Επίσης, η παραλλαγή D είναι σπάνια στις περισσότερες Αφρικάνικες κι Ευρωπαϊκές φυλές αιγών με εξαίρεση μερικές Ιταλικές φυλές (Yahyaoui et al., 2003).

Πρωτεΐνη	Παραλλαγή	Θέση και αμινοξύ στην πρωτεΐνη								
		44	53	61	65	90	119	145	156	159

κ-CN (171 αμινοξέα)	A	Gln	Asn	Tyr	Val	Asp	Val	Val	Ala	Ser
	B						Ile			
	C				Asp		Ile		Val	Pro
	D	Arg			Ile		Ile			Pro
	E					Gly	Ile			
	F						Ile			Pro
	G				Ile		Ile			Pro
	H		Ser				Ile			
	I				Ile		Ile			
	J			Cys			Ile			
	K	Arg					Ile			
	L				Ile		Ile			Pro
	M					Asn	Ile	Ala		Pro

Πίνακας 22 : Θέσεις και διαφορές αμινοξέων στις γενετικές παραλλαγές της κ-καζεΐνης της αίγας **Πηγή** : Yahyaoui et al., (2003) ; Marletta et al., (2007)

Διαπιστώσαμε πως οι παραλλαγές βρέθηκαν στο είδος *Capra hircus* και διαχωρίζονται σε δύο ομάδες ανάλογα με το ισοηλεκτρικό τους σημείο (IP) : A^{IEF} (A,B,B',B'',C,C',F,G,H,I,J,L – IP = 5.29). Οι παραλλαγές B', B'' και C' πρόκειται για σιωπηλά αλληλόμορφα.

5.3.2 Γονότυποι β-λακτογλοβουλίνης

Το γονίδιο BLG είναι επίσης εκτενώς πολυμορφικό και διαθέτει μεγάλο αριθμό γενετικών παραλλαγών ενώ εντοπίζονται και περιοχές προαγωγής, κωδικοποίησης και μη κωδικοποίησης.

➤ Αγελάδες

Η β-λακτογλοβουλίνη κωδικοποιείται από το γονίδιο LGB που εντοπίζεται στο 11^ο χρωμόσωμα (Hayes & Petit, 1993).

Στην φυλή αγελάδων Holstein, όσον αφορά τον γενετικό πολυμορφισμό της β-λακτογλοβουλίνης, εντοπίζονται τα αλληλόμορφα A, B, C, D. Η συχνότητα των αλληλόμορφων C και D είναι πολύ μικρή για να αξιολογηθούν. Έτσι, με λίγα λόγια, εντοπίζονται κυρίως τρεις συνδυασμοί αλληλόμορφων A και B που οδηγούν στην ύπαρξη τριών γενότυπων της β-λακτογλοβουλίνης, οι οποίοι

είναι AA, AB και BB. Τα αλληλόμορφα της διαφοροποιούνται στις θέσεις 64 και 118, όπου το ασπαρτικό οξύ και η γλυκίνη αντικαθίστανται από την βαλίνη και αλανίνη αντίστοιχα.

➤ **Πρόβατα**

Στα πρόβατα έχουν εντοπιστεί 3 παραλλαγές της β-λακτογλοβουλίνης η A, B και C. Οι παραλλαγές A και B διαφέρουν μόνο στην αντικατάσταση ενός αμινοξέους συγκεκριμένα της His από την Tyr στην θέση 20. Η C παραλλαγή γιαφέρει από την A παραλλαγή στην αντικατάσταση τις Arg από την Gln την θέση 148 (Erhards et al., 1989). Ακόμα η παραλλαγή A φαίνεται να είναι πιο συχνή από την παραλλαγή β.

➤ **Αίγες**

Στις αίγες τα γονίδια που κωδικοποιούν την β-LG εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 11. Μεταξύ αυτών, ο πολυμορφισμός SacII στο εξόνιο VII (rs666423193, A> G) ορίζει τους γονότυπους A και B (Kumar et al., 2006).

5.3.3 Γενότυποι α-λακτογλοβουλίνης

Η α-λακτογλοβουλίνη κωδικοποιείται από το γονίδιο LAA στο 5^ο χρωμόσωμα (Hayes et al., 1993).

➤ **Πρόβατα**

Στα πρόβατα τα γονίδια που κωδικοποιούν την α-λακτογλοβουλίνη εντοπίζονται στο 3^ο χρωμόσωμα ενώ έχουν εντοπιστεί 2 παραλλαγές της α-LA η A και η B. Η B παραλλαγή είναι πιο σπάνια. Έως τώρα αυτή η παραλλαγή έχει εντοπιστεί σε πέντε Ιταλικές φυλές αλλά και σε κάποιες Γερμανικές και Ισπανικές φυλές.

➤ Αίγες

Στις αίγες τα γονίδια που κωδικοποιούν την α-LA εντοπίζονται στο 5^ο χρωμόσωμα.

5.4 Γενετική βάση του φαινομένου

Στις γαλακτοπαράγωγες αγελάδες ο γενετικός πολυμορφισμός των πρωτεϊνών γάλακτος οφείλεται είτε σε υποκατάσταση αμινοξέων στη πεπτιδική αλυσίδα είτε στην απόσπαση αμινοξέων από αυτή. Οι παραπάνω μεταβολές έχουν σαν αποτέλεσμα μεταλλάξεις που προκαλούν αλλαγές στο γονιδίωμα (Swainsgood, 1992). Αλλαγές στην αλληλουχία του DNA μπορούν να εντοπιστούν στο τμήμα του γονιδίου όπου είναι υπεύθυνο για την κωδικοποίηση και μεταγραφή σε m-RNA ή σε περιοχές του DNA που ρυθμίζεται η γονιδιακή έκφραση (Moiooli et al., 1998).

5.5 Ανίχνευση πρωτεϊνικών πολυμορφισμών

Γενετικές διαφορές εντοπίζονται ανάμεσα σε πληθυσμούς ζώων, στις οποίες μπορούν να εκτιμηθούν οι γονιδιακές συχνότητες των αλληλόμορφων για μία σειρά πρωτεϊνικών πολυμορφισμών σε έναν πληθυσμό ενώ παράλληλα εκτιμώνται έμμεσα και οι γενετικές διαφορές ανάμεσα στους πληθυσμούς ή και η γενετική τους απόσταση. Η γενετική απόσταση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απεικόνιση των γενετικών σχέσεων ανάμεσα στους πληθυσμούς.

Η ανίχνευση των γονιδιακών πολυμορφισμών των πρωτεϊνών γίνεται με τις εξής μεθόδους :

- Με τεχνικές ηλεκτροφόρησης.
- Με τεχνικές εστίασης στο ισοηλεκτρικό σημείο.
- Με τεχνικές χρωματογραφίας στήλης σε δείγματα γάλακτος.
- Με τεχνικές ανίχνευσης σε επίπεδο DNA και ιστούς.

Οι παραπάνω μέθοδοι είναι αρκετά χρήσιμοι και για την μελέτη νοθείας του γάλακτος καθώς και στον ποιοτικό προσδιορισμό των πρωτεϊνών του.

Τεχνική	Συστατικό δείκτης
Ηλεκτροφορητική Κατακόρυφη ηλεκτροφόρηση πολυακρυλαμιδίου	αγελαδινή παρα-κ καζεΐνη αγελαδινή as1-καζεΐνη αγελαδινή α-καζεΐνη αγελαδινές γ2- και γ3- καζεΐνες, μέθοδος αναφοράς της ΕΕ
Ισοηλεκτρικός εστιασμός	αίγεια και πρόβεια παρα-κ-καζεΐνη
Τριχοειδής ηλεκτροφόρηση	αίγεια α-γαλακαλβουμίνη και αγελαδινή β-λακτογλοβουλίνη Α , αγελαδινή as1-καζεΐνη
Ανοσχημικές μέθοδοι	
Έμμεση ELISA	αγελαδινή κ-καζεΐνη αγελαδινή ανοσογλοβουλίνη G αίγεια as1-καζεΐνη
Sandwich ELISA	αγελαδινή as1-καζεΐνη αγελαδινή β-καζεΐνη αίγεις πρωτεΐνες ορού αγελαδινή β-γαλακτογλοβουλίνη
Χρωματογραφία	
RP HPLC	αγελαδινή, αίγεια και πρόβεια β-λακτογλοβουλίνη αγελαδινή α-λακτογλοβουλίνη και β-λακτογλοβουλίνη Β, αγελαδινή α-καζεΐνη
HIC	Αγελαδινή, αίγεια και πρόβεια as1- as2- και κ-καζεΐνη

Πίνακας 23 : Τεχνικές και συστατικά που χρησιμοποιούνται σαν δείκτες για ανίχνευση διαφόρων τύπων ζωικού γάλακτος **Πηγή** : Barkova & Snaselova, (2005)

5.5.1 Τεχνικές ηλεκτροφόρησης

Η τεχνική της ηλεκτροφόρησης πρόκειται για μία τεχνική που διαχωρίζει ογκώδεις φορτισμένα μόρια που κινούνται κάτω από την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου, προς πόλους με αντίθετο φορτίο. Οι τεχνικές ηλεκτροφόρησης στηρίζονται στο γεγονός πως οι πρωτεΐνες του γάλακτος (όπως και όλες οι πρωτεΐνες έχουν ηλεκτρικό φορτίο το οποίο ρυθμίζεται από το ηλεκτρικό φορτίο των αμινοξέων από τα οποία αποτελούνται. Το καθαρό ηλεκτρικό φορτίο μίας πρωτεΐνης επηρεάζεται από το pH του ρυθμιστικού διαλύματος

στο οποίο βρίσκεται κιάλας. Στο ισοηλεκτρικό σημείο (pI) το μόριο της πρωτεΐνης εμφανίζεται ηλεκτρικά ουδέτερο λόγω εξισορρόπησης των θετικών με αρνητικών φορτίων.

Η κινητικότητα (μ) του φορτισμένου μορίου δίνεται από τον εξής τύπο :

$$M = Q \times D / 4\pi R^2 ,$$

Όπου

Q : το φορτίο του πρωτεϊνικού μορίου

D : η απόσταση της διπλής ηλεκτρικής στοιβάδας από το πρωτεϊνικό μόριο

R : η ακτίνα του μορίου

η : το ιξώδες του μέσου

Κατά την φάση της ηλεκτροφόρησης τα πρωτεϊνικά μόρια που έχουν διαφορετικό φορτίο έλκονται και κινούνται με ταχύτητα προς τα κάτω ή προς τα επάνω, δημιουργώντας μία χαρακτηριστική αναγνωρίσιμη εικόνα.

Τα ιονισμένα πρωτεϊνικά μόρια λόγω της επίδρασης του ηλεκτρικού πεδίου μπορούν να κινηθούν σε διάφορα μέσα ανάλογα με την τεχνική που χρησιμοποιείται. Μερικά τέτοια μέσα είναι το χαρτί, γέλη αμύλου, γέλη πολυακρυλαμιδίου καθώς και οι λωρίδες οξικής κυτταρίνης. Στην περίπτωση προσδιορισμού του γενετικού πολυμορφισμού ης κ-καζεΐνης στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιείται μερκαπτοαιθανόλη.

Η μέθοδος της ηλεκτροφόρησης μπορεί να εφαρμοστεί σε όλα τα είδη οργανισμών ενώ μπορεί να αναγνωρίσει ετεροζυγωτά γονίδια. Μόνο ένα μειονέκτημα υπάρχει πως η παραλλακτικότητα των πρωτεϊνικών πολυμορφισμών αποτελούν ένα πολύ μικρό τμήμα της παραλλακτικότητας του DNA.

Οι Mayer & Hortner (1992) χρησιμοποίησαν την μέθοδο της ασυνεχούς ανοδικής ηλεκτροφόρησης των β-καζεϊνών σε όξινο pH. Αυτό συνέβη γιατί ήθελαν να προσδιορίσουν τις καζεΐνες στο αγελαδινό γάλα και τα τυροκομικά προϊόντα. Η μέθοδος αυτή ξεχωρίζει την αγελαδινή β-καζεΐνη από τις πρόβειες κι αίγιες β-καζεΐνες.

5.5.2 Τεχνικές εστίασης στο ισοηλεκτρικό σημείο

Οι διάφορες τεχνικές εστίασης στο ισοηλεκτρικό σημείο μπορούν να θεωρηθούν σαν έναν ειδικό τύπο ηλεκτροφόρησης σε γέλη, πάνω στο οποίο το κάθε αλληλόμορφο της πρωτεΐνης μετακινείται σε ένα συγκεκριμένο σημείο. Το σημείο αυτό αποτελεί το ισοηλεκτρικό σημείο του αλληλόμορφου πρωτεϊνών και είναι χαρακτηριστικό για τα κάθε ένα αλληλόμορφο. Ακόμα κατά μήκος της γέλης εντοπίζεται μία κλίμακα καταγραφής του pH. Διάφοροι τύποι γέλης έχουν χρησιμοποιηθεί όπως η γέλη αγαρόζης καθώς και η γέλη πουακρυλαμιδίου (Di Luccia et al., 1988). Το πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι πως μπορούν να διαχωριστούν αλληλόμορφα με μικρές διαφορές, της τάξης των 0,02 μονάδων pH. Το μειονέκτημα τη μεθόδου είναι πως πρόκειται για αρκετά χρονοβόρα διαδικασία ενώ τα ποσοστά σφάλματος αρκετά μεγάλο καθώς η κινητικότητα των πρωτεϊνών μπορεί να επηρεαστεί από το ηλεκτρικό ρεύμα που εφαρμόζεται για τον σχηματισμό των διαβαθμίσεων pH καθώς και από την επίδραση θερμότητας.

Η μέθοδος αυτή αποτελεί την επίσημη μέθοδο αναφοράς της Ευρωπαϊκής Κοινότητας για την ανίχνευση νωπού και θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος. Επίσης, γίνεται ανίχνευση των καζεϊνικών αλάτων σε φρέσκα και ώριμα τυριά που παρασκευάστηκαν από πρόβειο, αίγιο γάλα ή από κάποιο μείγμα τους.

Η τεχνική αυτή βασίζεται στην ανίχνευση των γ-καζεϊνών έπειτα από πλασμινόλυση και συγκεκριμένα στα διαφορετικά ισοηλεκτρικά σημεία των γ₂- και γ₃- καζεϊνών, τα οποία σχετίζονται με τα αντίστοιχα των πρόβειων κι αίγειων (Moatsou, 2009). Το ισοηλεκτρικό τους σημείο εντοπίζεται σε pH=6,5-7,5 (Borkova & Snaselova, 2005). Ακόμα πρότυπα δείγματα με 0% και 1% αγελαδινό γάλα αναλύονται ταυτόχρονα με τα άγνωστα δείγματα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των παραπάνω δειγμάτων βασίζεται στην ένταση των ζωνών των γ₂- και γ₃- καζεϊνών συγκριτικά με τις αντίστοιχες ζώνες των πρότυπων δειγμάτων.

Τα τελευταία χρόνια η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση (CE) χρησιμοποιείται για ανάλυση των πρωτεϊνών του γάλακτος και αναφέρεται πως εμφανίζει μεγάλες δυνατότητες σχετικά με την ανάλυση πολύπλοκων μιγμάτων πεπτιδίων. Ο διαχωρισμός τους βασίζεται στο καθαρό φορτίο, τη μάζα και την υδροδυναμική ακτίνα των πεπτιδίων. Επιπλέον, στην συμβατική

ηλεκτροφόρηση οι πρωτεΐνες και τα πεπτιδία στην πήκτη εμφανίζονται με χρώση ενώ στην CE χρησιμοποιείται συνεχής παρακολούθηση με UV απορρόφηση που δίνει την δυνατότητα ανίχνευσης μικρών πεπτιδίων, τα οποία δεν είναι ορατά με χρώση (McSweeney & fox, 1997).

5.5.3 Χρωματογραφικές μέθοδοι

Στις χρωματογραφικές μεθόδους, το υλικό που θα μελετηθεί διοχετεύεται σε έναν κατακόρυφο γυάλινο σωλήνα όπου περιέχει ένα απορροφητικό υλικό (π.χ. αλουμίνιο,σιλικόνη). Σε αυτήν την περίπτωση τα γενετικά αλληλόμορφα ανάλογα με το φορτίο των πρωτεϊνών τους μετακινούνται κατά μήκος του απορροφητικού χαρτιού, καθώς το καένα έχει διαφορετική ταχύτητα. Έτσι παράγονται δέσμες με διάφορες στήλες επάνω στο χρωματογραφικό χαρτί. Η μέθοδος αυτή ονομάζεται χρωματογράφημα.

➤ Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

Η υγρή χρωματογραφία αποτελεί μέθοδο που χρησιμοποιείται ευρέως για τον διαχωρισμό πρωτεϊνικών κλασμάτων σε αρκετά είδη γάλακτος ενώ χρησιμοποιείται και για τον προσδιορισμό της νοθείας γάλακτος βάση του διαφορετικού χρόνου έκλουσης των καζεϊνών.

Η διαδικασία είναι η εξής : η κινητή φάση προωθείται προς την χρωματογραφική στήλη μέσω αντλίας όπου σε αυτή εισέρχεται και το δείγμα με ένεση, στην περιοχή της μονάδας εισαγωγής δείγματος πριν την στήλη. Έπειτα το δείγμα εισέρχεται στην χρωματογραφική στήλη. Καθώς το δείγμα κινείται στην χρωματογραφική στήλη με την βοήθεια της κινητής φάσης, διαχωρίζονται τα συστατικά του σε διαφορετικούς χρόνους και όταν εκλύονται ανιχνεύονται με έναν ανιχνευτή. Με την βοήθεια μοντέλων ταυτοποιούνται και τα συστατικά του δείγματος βάση του χρόνου έκλουσης. Η ποσότητα του εκάστοτε συστατικού προσδιορίζεται με βάση το ύψος ή την περιοχή της κορυφής του στο χρωματογράφημα.

➤ Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης ανεστραμμένης φάσης (RP-HPLC)

Η πιο ευρέως διαδεδομένη μέθοδος καθώς το 75% των διαχωρισμών με HPLC γίνεται με αυτή την τεχνική. Η «ανεστραμμένη φάση» αναφέρεται στην χρήση μίας μη πολικής στατικής φάσης και μίας πολικής κινητής φάσης.

Με την μέθοδο αυτή διαχωρίζονται τα συστατικά βάση του υδρόφοβου χαρακτήρα τους. Στο σύστημα αυτό δεν μπορούν να ενυδατωθούν οι υδρόβοφες αλκαλικές ομάδες. Σημαντικό για την πραγματοποίηση αυτής της μεθόδου είναι η επιλογή της κατάλληλης κινητής φάσης, έχοντας ως στόχο την βελτιστοποίηση του διαχωρισμού. Η κινητή φάση αποτελείται από μίγμα νερού ή ρυθμιστικών διαλυμάτων με διάφορους διαλύτες που μπορούν να αναμειχθούν με το νερό (Meyer, 1994).

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται εκτεταμένα για τον διαχωρισμό των κύριων καζεϊνών κλασμάτων στα διάφορα είδη γάλακτος και για την ταυτοποίηση των πολυμορφικών τους παραλλαγών αλλά και για την ανίχνευση νοθείας σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα.

➤ **Χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής**

Η χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής (IEC) βασίζεται στις ισχυρές αλληλεπιδράσεις φορτίων ανάμεσα στις πρωτεΐνες του δείγματος και της στατικής φάσης που έχει σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερο χρόνο ανάλυσης και πιο πλατιές χρωματογραφικές κορυφές.

Το δείγμα φέρεται στο εσωτερικό στήλης μέσω ρυθμιστικού διαλύματος χαμηλής ιοντικής δύναμης κι εξασφαλίζει την προσρόφηση των συστατικών του δείγματος στην στατική φάση ενώ έπειτα τα μόρια εκκλούνται με την χρήση ενός δεύτερου διαλύματος έκλουσης που η ιοντική του δύναμη αυξάνει γραμμικά. Αλλιώς το pH του δείγματος μπορεί να τροποποιηθεί ώστε να προσδώσει στην πρωτεΐνη ή στο υπόστρωμα φορτίο.

Αυτού του είδους η μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί για διαχωρισμό καζεϊνών του αγελαδινού, πρόβειου κι αίγειου γάλακτος αλλά και για τον προσδιορισμό ποσοστού αγελαδινού, πρόβειου κι αίγειου γάλακτος σε τυριά (Kaminarides & Anifantakis, 1993; Mayer et al., 1997).

➤ **Χρωματογραφία υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων (HIC)**

Εξειδικευμένη μέθοδος ανεστεραμμένης φάσης, η οποία κατακρατά τις πρωτεΐνες σε ήπια υδρόφοβη στατική φάση. Επίσης, την χρησιμοποιούμε συνήθως για να διαχωρίσουμε τις πρωτεΐνες. Στην HIC οι πρωτεΐνες δεσμεύονται σε μία τροποποιημένη υδρόφοβη επιφάνεια χρησιμοποιώντας κινητή φάση, έχοντας υψηλή ιοντική δύναμη που στη συνέχεια εκλύεται με γραμμική μείωση της ιοντικής δύναμης. Συνήθως χρησιμοποιείται σαν δευτερεύουσα μέθοδος διαχωρισμού (Robards et al., 1994).

Έχει χρησιμοποιηθεί για διαχωρισμό και προσδιορισμό των α 1- , α 2- β - και κ -καζεΐνών σε νωπό αγελαδινό, πρόβειο κι αίγιο γάλα.

5.5.4 Τεχνικές ανίχνευσης σε επίπεδο DNA και ιστούς

Οι τεχνικές αυτές επιτρέπουν τον άμεσο γενότυπο των πρωτεϊνών του γάλακτος σε δείγμα σπέρματος ή αίματος ανεξαρτήτως του φύλου ή ηλικίας του ζώου. Μερικές τεχνικές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης – PCR, η τεχνική «restriction fragment length polymorphism – RFLP» και η τεχνική «single strand confirmation polymorphism – SSCP» (Barroso, et al., 1997; Zadworny et al., 1990; Denicourt et al., 1990).

Οι παραπάνω τεχνικές δίνουν την δυνατότητα επιλογής των επιθυμητών γενότυπων σε πρώιμη ηλικία και στα δύο φύλα ζώων ενώ είναι οι μόνες διαθέσιμες μέθοδοι για αρσενικά ζώα καθώς και για νεαρά ζώα. Οι μέθοδοι αυτοί είναι αρκετά επιλεκτικές και ευαίσθητες, κι έτσι δίνουν την δυνατότητα ανίχνευσης ακόμα κι ενός μορίου DNA σε ένα μείγμα. Η εφαρμογή του όμως προϋποθέτει την ύπαρξη εξειδικευμένου εργαστηριακού εξοπλισμού.

➤ Τεχνική αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)

Είναι μια τεχνική ενίσχυσης για την δημιουργία μεγάλων ποσοτήτων μίας συγκεκριμένης αλληλουχίας DNA in vitro. Μία τέτοια διαδικασία περιλαμβάνει 30 ή παραπάνω κύκλους ο καθένας εκ των οποίων αποτελείται από 3 στάδια : αποδιάταξη αλληλουχίας στόχου στους 95 °C, μετουσίωση στους 55°C και in vitro σύνθεση DNA στους 75°C.

Τα δείγματα γάλακτος είναι ιδανικά καθώς περιέχουν καθαρό DNA λόγω της περιεκτικότητάς τους σε σωματικά κύτταρα. Χρησιμοποιείται ευρέως για την διάκριση γονιδίων των πρωτεϊνών καθώς και για να εντοπιστεί ο πολυμορφισμός τους.

➤ **Τεχνολογία Microarray**

Η τεχνολογία Microarray ανοίγει νέες πόρτες στην μελέτη της πολυπλοκότητας του γονιδιώματος κι εντοπισμού πολυμορφισμών γονιδίων. Οι παρατάξεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να μελετήσουν ένα πρωταρχικό DNA με σκοπό να ταυτοποιηθεί και να εντοπιστεί ο γενότυπος ενός γενετικού πολυμορφισμού. Ακόμη, ο υβριδισμός και υβριδισμό με ενζυματική επεξεργασία πρόκειται για δύο διαφορετικές προσεγγίσεις (Hacia, 1999). Μόλις πρόσφατα μία παράταξη μικρονουκλεοτιδίων χαρακτηρίστηκε με βάση την τεχνική επέκταση εναρμονισμένων εκκινητών επιτρέποντας την ταυτοποίηση του γενότυπου στο γονίδιο, το οποίο συναντάμε κατά την πρωτεϊνοσύνθεση του βόειου γάλακτος (Kaminski et al, 2005).

Κεφάλαιο 6ο : Επιρροή πολυμορφικών γονιδίων πρωτεϊνών σε ποιοτικά χαρακτηριστικά γάλακτος

Τα επιμέρους χαρακτηριστικά του γάλακτος και η αναλογία τους καθορίζουν την ποιότητα και την διατροφική του αξία. Ο γενετικός πολυμορφισμός σχετίζεται άμεσα με την διαμόρφωση των χαρακτηριστικών αυτών του γάλακτος και κατά συνέπεια με τα ποιοτικά του χαρακτηριστικά, σε όλα τα είδη γάλακτος.

6.1 Περιεκτικότητα σε λίπος

Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος είναι μία από τις σημαντικότερες ποιοτικές του ιδιότητες καθώς επηρεάζει τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων προϊόντων όπως το βούτυρο, τυρί κ.α. αλλά και την ίδια την ποιότητα του γάλακτος. Σύμφωνα με διάφορες μελέτες έχουμε παρατηρήσει ότι το λίπος επηρεάζει αρκετά τα χαρακτηριστικά του γάλακτος.

Οι περισσότεροι μελετητές συμφωνούν πως δεν εντοπίζονται σημαντικές μεταβολές στην λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος σε ζώα με διαφορετικούς γενότυπους της κ-καζεΐνης (McLean et al., 1984 ; Ng-Kwai-Hang et al., 1984a : Gonyon et al., 1987 : Bovenhuis et a., 1992 ; Lunden et al., 1997). Όμως οι Hoogerdoom et al., (1969), Munro 1978) καθώς και οι Ng-Kwai-Hang et al., (1986) αναφέρουν πως το αλληλόμορφο Β της καζεΐνης επιδρά θετικά στην λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος.

➤ **Αγελάδες**

Όσον αφορά τον γενετικό πολυμορφισμό της β-λακτογλοβουλίνης, η παρουσία του αλληλόμορφου Β ευνοεί την υψηλότερη λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος (Hoogerdoom et al., 1969 ; Mc Lean et al., 1984 ; Ng-Kwai-Hang et al., 1984a ; Hill, 1993). Όμως σημαντικός αριθμός μελετών αναφέρουν πως δεν υπάρχει καμία σχέση ανάμεσα στην λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος και την παρουσία του αλληλόμορφου Β της β-λακτογλοβουλίνης (Cerbulis and Farrell, 1975 ; Graml et al., 1985 ; Lin et al., 1986 ; Gonyon et al., 1987 ; Ng-Kwai-Hang et al., 1990a ; Ojala et al., 1997).

➤ **Αίγες**

Σχετικά με τον πολυμορφισμό της as1-καζεΐνης (AA>EE>FF) επιδρά θετικά στην λιποπεριεκτικότητα. Η επιλογή ζώων με ισχυρά αλληλόμορφα της οδηγούν σε αύξηση της λιποπεριεκτικότητας κατά 3gr/lit). Συγκεκριμένα το αλληλόμορφο Α και Β σχετίζονται με ψηλή περιεκτικότητα σε λίπος (Guan, et al., 2019).

Η απώλεια πρωτεΐνης από το πήγμα επηρεάζει αρνητικά την λιποπεριεκτικότητα στα παραγόμενα προϊόντα του (Calvo & Balcones, 2000). Συγκεκριμένα τυρί Φέτα που παρασκευάστηκε από πρόβειο γάλα και μίγμα 75% πρόβειου και 25% αίγειου γάλακτος είχε λιποπεριεκτικότητα 25,6% και 22,6% αντίστοιχα (Anifantakis & Moatsou, 2006).

6.2 Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη

Η συγκέντρωση πρωτεϊνών στο γάλα είναι ιδιαίτερης σημασίας για την ποιότητά του καθώς και για την ποιότητα των παραγόμενων προϊόντων του. Αναλυτικότερα, η συγκέντρωση πρωτεϊνών στο γάλα επηρεάζει την ικανότητα παραγωγής προϊόντων του όπως τυρί, βρεφικό γάλα καθώς και συμπληρώματα διατροφής όπως πρωτεΐνη ορού γάλακτος. Σύμφωνα με τους Wedholm et al., (2006) η συγκέντρωση πρωτεϊνών στο γάλα επιδρά στην ποσότητα πρωτεϊνών του παραγόμενου προϊόντος και συγκεκριμένα επηρεάζει παράγοντες σημαντικούς για την διαδικασία επεξεργασίας του γάλακτος όπως ο χρόνος πήξης του θερμού γάλακτος των βοοειδών (Singh, 2004). Εκτός από την διαδικασία επεξεργασίας του γάλακτος η πρωτεϊνική σύνθεση του γάλακτος επηρεάζει και την ποιότητά του. Τα υψηλά επίπεδα ελευθέρων αμινοξέων, που προκύπτουν από την υδρόλυση των πρωτεϊνών καθώς και βρίσκονται σε γάλα πρώιμης ή όψιμης παραγωγής, υποδεικνύουν γάλα κακής ποιότητας. Στην περίπτωση που το γάλα χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βρεφικής φόρμουλας τότε θα πρέπει να συμπληρωθεί με τα απαιτούμενα αμινοξέα ώστε το γάλα από βοοειδή να αποκτήσει παρόμοιο διατροφικό προφίλ με αυτό του ανθρώπινου γάλακτος. Συγκεκριμένα στο ανθρώπινο γάλα το 50% των συνολικών αμινοξέων αντιπροσωπεύουν η γλυκίνη και το γλουταμινικό οξύ. Ακόμα οι μονάδες επεξεργασίας γάλακτος μπορούν να κοστολογήσουν υψηλότερα το γάλα με βάση το προφίλ ελευθέρων αμινοξέων του (McDermott et al., 2016).

Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνες όμως επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς αλλά και γενετικούς παράγοντες. Οι γενετικοί παράγοντες αφορούν τα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του γάλακτος. Η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες με την σειρά της επηρεάζει και την απόδοση και ποιότητα των προϊόντων του. Συγκεκριμένα η περιεκτικότητα του γάλακτος σε καζεΐνη, και ειδικότερα η αναλογία της καζεΐνης προς ολική πρωτεΐνη, επηρεάζει την πρωτεϊνική σύνθεση των προϊόντων το γάλακτος. Συγκεκριμένα η αναλογία αυτή επηρεάζεται από τον πολυμορφισμό των γονιδίων που κωδικοποιούν την ν-λακτογλοβουλίνη.

Η σύνθεση του γάλακτος ακόμα, όπως π.χ. η πρωτεϊνική του σύνθεση, έχει σημαντική επίδραση σε χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τις μεταγενέστερες διαδικασίες επεξεργασίας του γάλακτος όπως π.χ. ο χρόνος πήξης τυριάς. Αυξημένες συγκεντρώσεις των α_s1-CN, β-CN και κ-καζεΐνης και του β-LG B ήταν βρέθηκε πως αυξάνει σημαντικά την απόδοση σε τυρί. Χαμηλή συγκέντρωση β-λακτογλοβουλίνης μειώνει τα ποσοστά ρύπανσης του εξοπλισμού θέρμανσης. Ακόμα η συγκεκριμένη πρωτεΐνη αποτελεί αλλεργιογόνο και αυξημένη ποσότητά της σχετίζεται με την εμφάνιση αλλεργιών. Οι διαφορετικοί γονότυποι της κ-καζεΐνης και β-λακτογλοβουλίνης βρέθηκε πως επηρεάζουν σημαντικά την ικανότητα όξινης πήξης του γάλακτος. Συγκεκριμένα οι μεταβολές στην συγκέντρωση των πρωτεϊνών γάλακτος, κυρίως της α_S2-CN-12P, ερμήνευσαν τις διαφορές ανάμεσα στην πήξη και όξινη πήξη του γάλακτος. (Ketto et al., 2019).

➤ **Αγελάδες**

Σχετικά με την κ-καζεΐνη οι περισσότερες έρευνες συμφωνούν πως η παρουσία του Β αλληλόμορφου της κ-καζεΐνης ευνοεί την υψηλή περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνες (Li, 1971 ; Ng-Kwai-Hang et al., 1984a ; Gonyon et al., 1987 ; Bovenhuis and Weller, 1994 ; Van Eeernaam and Medrano, 1991a ; Aleandri et al., 1990). Όμως εντοπίζονται και μερικές αναφορές που δεν εντοπίζουν κάποιο συσχετισμό ανάμεσα στον γενετικό πολυμορφισμό της κ-καζεΐνης και της περιεκτικότητας του γάλακτος σε πρωτεΐνες (McLean et al., 1984 ; Lunden et al., 1997 ; Ojala et al., 1997).

Η πρώτη αναφορά σχετικά με την συσχέτιση της β-λακτογλοβουλίνης και της περιεκτικότητας του γάλακτος σε πρωτεΐνη έγινε από τους Achaffenburg και Drewry το 1957. Συγκεκριμένα ανακάλυψαν πως ζώα με γενοτύπο AA της β-λακτογλοβουλίνης σχετίζονται με την παραγωγή γάλακτος με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες από αντίστοιχα ζώα με τους γενοτύπους AB και BB. Σε αυτό το συμπέρασμα κατέληξαν και άλλοι ερευνητές σε περαιτέρω έρευνες (Moustgaard et al., 1960 ; Feagan et al., 1972 ; Cerbulis and Farrell, 1975 ; Ng-Kwai-Hang et al., 1984a ; Ng-kwai-Hang et al., 1990a). Όμως ευρήματα των μελετών των McLean et al., (1984), Gonyon et a., (1987), Bovenhuis et al., (1992), Lunden et al., (1997), Ojala et al., (1997) δεν

εντοπίζουν κάποια συσχέτιση ανάμεσα στους γενοτύπους της β-λακτογλοβουλίνης και την αυξημένη περιεκτικότητα γάλακτος σε πρωτεΐνες.

Οι γενετικές παραλλαγές επηρεάζουν και την σύσταση των πρωτεϊνών του γάλακτος. Σύμφωνα με τους Ng-Kwai-Hang et al., (1987) γενετικές παραλλαγές των β-LG και κ-καζεΐνη επηρεάζουν άμεσα την σύσταση των πρωτεϊνών του γάλακτος. Η παραλλαγή Β της β-λακτογλοβουλίνης σχετίζεται με χαμηλότερη συγκέντρωση του παραγόμενου γάλακτος σε β-λακτογλοβουλίνη καθώς και με υψηλότερη περιεκτικότητα σε καζεΐνη με συνέπεια μειωμένη θερμική σταθερότητα του γάλακτος και κατά συνέπεια της αύξησης της απόδοσης του γάλακτος σε τυρί, χωρίς μεγάλες επιπτώσεις στις υπόλοιπες ιδιότητες του τυριού (Schopen et al., 2009).

Οι ύπαρξη διαφορετικών γονότυπων β-λακτογλοβουλίνης επηρεάζει και το είδος της καζεΐνης που αποτελεί το καζεϊνικό κλάσμα του γάλακτος. Αρκετά πειράματα έδειξαν πως οι διαφορετικοί γενοτύποι της β-LG σχετίζονται με την ποσότητα της πρωτεΐνης αS1-CN-8P. Όπως έχουμε αναφέρει και παραπάνω η β-λακτογλοβουλίνη αποτελεί μία από τις σημαντικότερες πρωτεΐνες του γάλακτος. Η συγκέντρωσή της στο γάλα επηρεάζεται από τις παραλλαγές της, καθώς και από την συγκέντρωση της αS1-CN-8P. Επίσης, πειράματα έδειξαν πως μια υψηλότερη συγκέντρωση β-LG συσχετίστηκε με υψηλότερη συγκέντρωση αS1-CN-8P. Ωστόσο, όταν οι παραλλαγές πρωτεΐνης β-LG αποκλείστηκαν από το μοντέλο, η σχέση μεταξύ συγκέντρωσης β-LG και συγκέντρωσης αS1-CN-8P ήταν αρνητική. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από την υψηλότερη συγκέντρωση β-LG AA στο γάλα σε σύγκριση με το γάλα σε σύγκριση με β-LG BB. Έτσι η παραλλαγή β-LG AA σχετίζεται με χαμηλότερη συγκέντρωση αS1-CN-8P, και η παραλλαγή β-LG BB με υψηλότερη συγκέντρωσή της. Όμως ο μηχανισμός που σχετίζει τις παραλλαγές της β-LG με την συγκέντρωση πρωτεΐνης αS1-CN-8P παραμένει ακόμα ασαφής (Farell et al., 2004).

➤ Πρόβιατα

Στο πρόβιο γάλα ο πολυμορφισμός της β-LG και της αS1-CN παρουσιάζουν ενδιαφέρον γιατί η παραλλαγή D της αS1-CN προκαλεί ζημιές στο πρόβιο γάλα καθώς σχετίζεται με μειωμένη περιεκτικότητά του σε καζεΐνη, έχοντας ως συνέπεια την μειωμένη ικανότητα πήξης. Το

αλληλόμορφο D είναι σπάνιο με συχνότητα εμφάνισης που κυμαίνεται μεταξύ 0 και 0,03 (Amigo et al., 2000).

Δείγματα πρόβειου γάλακτος που περιέχουν την παραλλαγή CC της as1-CN εμφανίζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καζεΐνη πράγμα που βελτιώνει την τεχνολογική συμπεριφορά του γάλακτος (Amigo et al., 2000). Συγκεκριμένα, το γάλα που περιέχει την παραλλαγή CC έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καζεΐνη από γάλατα παραλλαγών DC και DD. Αντίθετα, το γάλα της παραλλαγής DD ακόμα εμφανίζει μικρότερη περιεκτικότητα σε as1-CN. Οι κύριες διαφορές εμφανίστηκαν στον σχηματισμό πήγματος. Πειράματα έδειξαν πως το πρόβειο γάλα της CC παραλλαγή έχει καλύτερες ιδιότητες πήξης σε σχέση με γάλατα CD και DD. Τυριά 1^ην μέρας ωρίμανσης και πλήρως ώριμα εμφάνισαν διαφορετική αναλογία λίπους/ξηράς ουσίας και διαφορετική ηλεκτροφορητική κινητικότητα της as1-CN, πράγμα που ήταν χαμηλότερο για τυριά που φτιάχτηκαν από γάλα της παραλλαγής DD (Moioli et al., 2007).

Ο πολυμορφισμός της β-LG φέρει θετικά αποτελέσματα στην περιεκτικότητα σε β-LG με γάλα από την παραλλαγή A να εμφανίζει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε β-LG από την παραλλαγή B ενώ ο πολυμορφισμός της επηρεάζει αρνητικά την ποσότητα καζεΐνης.

➤ Αίγες

Το αίγιο γάλα δεν έχει μελετηθεί όσο το γάλα των βοοειδών σχετικά με τον πολυμορφισμό των πρωτεϊνών του όμως η έρευνα έχει στραφεί σε αυτό τα τελευταία χρόνια λόγω των ιδιοτήτων του.

Στις αίγες και στα βοοειδή έχουν εντοπιστεί περίπου 50 γενετικές παραλλαγές των πρωτεϊνών τους, με τον αριθμό αυτό να παρουσιάζει αυξητική τάση. Παρόλο που οι 6 κύριες πρωτεΐνες είναι όμοιες με αυτές των βοοειδών (αS1-CN, αS2-CN, β-CN, κ-CN, β-LG, και α-LA), παρουσιάζονται μεγάλες διαφορές ανάμεσα στα είδη.

Η περιεκτικότητα του αίγιου γάλακτος σε πρωτεΐνη επηρεάζεται άμεσα από το γονίδιο της *as1*-καζεΐνης. Συγκεκριμένα οι διαφορετικοί ρυθμοί σύνθεσης της συνδέεται άμεσα με τις διαφορετικές παραλλαγές (Roncada et al., 2002).

Οκτώ από τα αλληλόμορφα της *as1*-CN που έχουν ταυτοποιηθεί στο αίγιο γάλα (A, B₁, B₂, B₃, B₄, H και L) συνδέονται με υψηλό ποσοστό παραγωγής της *as1*- (3,5g/lit γάλακτος), τα αλληλόμορφα E και I με ενδιάμεσα ποσά της στο γάλα (1,1-1,7g/lit) καθώς και τα αλληλόμορφα F και G με χαμηλά ποσά της στο γάλα (0,45g/lit). Τα αλληλόμορφα O₁ και O₂ δεν παράγουν *as1*-CN στο αίγιο γάλα (Park et al., 2007). Ακόμα εντοπίζονται κι άλλα αλληλόμορφα, τα οποία χωρίζονται σε κατηγορίες, όπως τα αλληλόμορφα M (‘ισχυρό’), D (‘ενδιάμεσο’) και N (μηδενικό). Γάλα που παράγεται από αίγες που διαθέτουν διαφορετικούς γονότυπους παρουσιάζει κάποια διακύμανση στην ποσότητα της *as1*-CN που ποικίλλει από 7g/lit³ ομόζυγα ισχυρά αλληλόμορφα έως 0,9 g/lit³ και 0g/lit³ για τα αδύναμα και μηδενικά ομόζυγα αλληλόμορφα αντίστοιχα (Marletta et al., 2007). Ισχυρά αλληλόμορφα οδηγούν στην μεγαλύτερη απόδοση σε τυρί καθώς η ποσότητα των ολικών καζεϊνών σχετίζεται θετικά με την ποσότητα της *as1*-CN (Roncada et al., 2002). Τέλος τα αλληλόμορφα A και B του γονιδίου της *as1*-CN σχετίζονται με αυξημένη περιεκτικότητα καζεΐνης στο γάλα και γενικότερα με αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

Ακόμα ο γονότυπος της *as1*-καζεΐνης στο αίγιο γάλα επηρεάζει την ολική περιεκτικότητα του σε καζεΐνες καθώς επηρεάζει το επίπεδο έκκρισής του. Μειωμένα επίπεδα έκφρασής της δεν μπορεί να αντισταθμιστεί από αύξηση των επιπέδων των υπόλοιπων καζεϊνών. Αίγιο γάλα με χαμηλή περιεκτικότητα σε *as1*-καζεΐνη χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερα μικκύλια σε σχέση με γάλατα υψηλής περιεκτικότητας σε αυτή. Έτσι η αναλογία της κ-καζεΐνης αυξήθηκε με μείωση της διαμέτρου των μικκυλίων. Ακόμα το αντίθετο φαινόμενο παρατηρείται για τις β- και *as2*-καζεΐνες. Συγκεκριμένα η περιεκτικότητα αίγιου γάλακτος σε *as1*-καζεΐνη μειώθηκε με την μείωση του μεγέθους των μικκυλίων σε γάλα αιγών με τις παραλλαγές B/E ενώ στην παραλλαγή F παρατηρήθηκε αύξηση μικρής τάξης στην ποσότητα της *as1*-καζεΐνης και των μικρότερων μικκυλίων. Έτσι τα αποτελέσματα αυτά μας δείχνουν πως *as1*-καζεΐνη μπορεί να εντοπίζεται στην επιφάνεια των μικκυλίων. Η αναλογία Ca/P παρέμεινε σταθερή στα μικκύλια (Tziboula &

Horne, 1999). Τέλος τα αλληλόμορφα A και B σχετίζονται με υψηλή περιεκτικότητα του αίγιου γάλακτος σε as1-καζεΐνη.

Το αλληλόμορφο A (όπου αποτελεί πρωτεΐνη αναφοράς), B, C, D, E καθώς κι F αποδίδουν κανονική περιεκτικότητα σε as2-CN (2,5g/lit γάλακτος). Το αλληλόμορφο AA ακόμα περιέχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (κυρίως σε καζεΐνες). Ισχυρά αλλόμορφα της πρωτεΐνης αυτής (AA) σχετίζονται με αύξηση της περιεκτικότητας του γάλακτος σε πρωτεΐνη κατά 5gr.lit. Η αύξηση αυτή ευνοεί την δράση των οξυγαλακτικών βακτηρίων ενώ γάλα με υψηλή περιεκτικότητα σε καζεΐνη εμφανίζει ισχυρές ρυθμιστικές ικανότητα (Raynal-Ljutocan et al., 2005). Ο γονότυπος AA παράγει μικρότερη ποσότητα σε πρωτεΐνες, καζεΐνη και λίπος αλλά και υψηλότερη αναλογία καζεΐνης/πρωτεΐνης από γάλα ομόζυγων αιγών για το αλληλόμορφο F με αποτέλεσμα το αίγιο γάλα AA να υπερέχει από το αίγιο γάλα FF σχετικά με τις τεχνολογικές του ιδιότητες (συνεκτικότητα πηγματος, ικανότητα ενζυμικής πήξης καθώς και παόδοση σε τυρί).

Σύμφωνα με τους Pierre et al., (1998) γάλα που προέρχεται από ομόζυγες αίγες για το αλληλόμορφο O έχει μηδενική συγκέντρωση σε as1-καζεΐνη.

Σε ορισμένες περιπτώσεις το αίγιο γάλα μπορεί να στερείται την β-καζεΐνη. Αυτό όμως μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα στην ενζυμική πήξη καθώς απαιτείται μεγαλύτερος χρόνος (15-25 min) από ότι στο κανονικό γάλα (4-7 min) και παρατηρήθηκε πως δημιουργεί ασθενέστερο πηγμα (Park et al., 2007).

6.3 Περιεκτικότητα σε λακτόζη

Δεν έχει ερευνηθεί αρκετά η σχέση περιεκτικότητας του γάλακτος σε λακτόζη με διαφορετικούς γενοτύπους κ-καζεΐνης και β-λακτογλοβουλίνης. Η μόνη αναφορά (για αγελάδες) εντοπίζεται από τους Lunden et al., (1997) που διαπίστωσαν πως η περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη δεν σχετίζεται με τον γενετικό πολυμορφισμό των παραπάνω δύο πρωτεϊνών.

➤ Αγελάδες

Αύξηση της ποσότητας κ-καζεΐνης σχετίζεται με αύξηση στην συγκέντρωση αS1-CN και α-LA. Η α-LA σχετίζεται θετικά με την απόδοση σε λακτόζη καθώς και το ποσοστό λακτόζης στο γάλα. Αυτό μπορεί να είναι συνέπεια του γεγονότος πως η ποσότητα λακτόζης στο γάλα επηρεάζεται από την ικανότητα της α-LA να μεγιστοποιεί την σύνθεσή της (Walstra and Jenness, 1984).

6.4 Άλλα χαρακτηριστικά

➤ Αγελάδες

Ο γονότυπος της β-λακτογλοβουλίνης και οι σύνθετοι γονότυποι των γονιδίων που κωδικοποιούν την αS1 της καζεΐνης, βρέθηκε πως επηρεάζουν την συγκέντρωση ακετοΐνης στο αποθηκευμένο γάλα ακόμα και όταν η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη ρυθμίστηκε με την χρήση στατιστικού μοντέλου (Keto et al., 2018).

➤ Πήξη

Σχετικά με την πήξη, ο μηχανισμός της ενζυμικής όξινης πήξης δεν παρουσιάζει διαφορές ανάμεσα στα διάφορα είδη πήξεως.

➤ Αγελάδες

Το αλληλόμορφο Β της κ-καζεΐνης σχετίστηκε με βελτιωμένες ιδιότητες πήξεως του γάλακτος ενώ το αλληλόμορφο Ε επιδρούσε αρνητικά στα χαρακτηριστικά αυτά. Ο γονότυπος Α2Α2 της β-καζεΐνης σχετίστηκε με κατώτερα χαρακτηριστικά πήξης του γάλακτος (Hallen e., et al., 2007).

Όσον αφορά της πρωτεΐνη αs1-CN ο φαινότυπος ΒΒ σχετίζεται με υψηλότερες αποδόσεις σε γάλα και υψηλότερη απόδοση σε πρωτεΐνη κατά την γαλακτοπαραγωγή. Όμως ο ίδιος φαινότυπος σχετίζεται με χαμηλή πρωτεϊνοπεριεκτικότητα στο γάλα. Αγελάδες που φέρουν το αλληλόμορφο G παράγουν λιγότερη αs1-CN και περισσότερη από τις άλλες καζεΐνες.

Συγκεκριμένα ομόζυγες αγελάδες (GG) παράγουν 55% λιγότερη as1-CN. Η γενετική παραλλαγή A της πρωτεΐνης από την άλλη πλευρά εμφανίζει πολύ διαφορετικά χαρακτηριστικά από τις υπόλοιπες παραλλαγές πράγμα που οφείλεται στην απαλοιφή των 13 υπολειμμάτων αμινοξέων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να εξαφανίζονται τα περισσότερα από τα υδροφοβικά υπολείμματα στην N-τελική περιοχή. Έτσι η πρωτεΐνη αυτής της παραλλαγής παρουσιάζει μειωμένη υδροβοφία και δεν συσσωματώνεται εκτενώς με παρουσία ασβεστίου, αυξάνοντας την περιεκτικότητα του γάλακτος σε ασβέστιο. Τέλος τυριά που παρασκευάζονται από γάλα που περιέχει αυτή την γενετική παραλλαγή της as1-CN C σχηματίζουν πιο συνεκτικό πήγμα σε σχέση με τυριά που παρασκευάζονται από γάλα που περιέχει την γενετική παραλλαγή as1-CN B (Farrell et al., 2004).

➤ **Πρόβιατα**

Το πρόβειο γάλα είναι αρκετά ευαίσθητο στην χυμοσίνη λόγω της μεγάλης αναλογίας β-/as-CN κι έτσι μπορεί να πήξει πιο γρήγορα από το αγελαδινό γάλα. Σε αυτό οφείλεται το φαινόμενο πως το πρόβειο γάλα απαιτεί μικρότερη ποσότητα χυμοσίνης από το αγελαδινό για να πήξει στον ίδιο χρόνο ενώ δεν χρειάζεται να προστεθεί CaCl_2 κατά την διαδικασία της τυροκόμισης (Alichanidis & Polychroniadou, 1996), παρόλο που στην πράξη χρησιμοποιείται για βελτίωση των τυροκομικών ιδιοτήτων του γάλακτος. Ακόμα η θερμότητα πρέπει να είναι σε υψηλές θερμοκρασίες, γιατί επιμηκύνει κατά λίγο τον χρόνο πήξης με πτυιά. Ο ρυθμός σχηματισμού του πήγματος είναι υψηλός και η περίοδος συναίρεσης μεγάλη (Γλωσσιώτης, 1984). Συμπεραίνουμε ότι οι διαφορές αυτές ανάμεσα στα είδη γάλακτος οφείλονται στην μεγαλύτερη περιεκτικότητα του πρόβειου γάλακτος σε καζεΐνη και σε κολλοειδές ασβέστιο (Alichanidis & Polychroniadou, 1996).

Ακόμα το τυρόπηγμα του πρόβειου γάλακτος στραγγίζει λιγότερο σε σχέση με αυτό του αγελαδινού κι αίγειου γάλακτος (Calvo & Balcones, 2000) καθώς έχει αρκετή περιεκτικότητα σε ολικά στερεά, λίπος αλλά και σε καζεΐνη. Επιπλέον εμφανίζει μεγαλύτερη συνεκτικότητα από το αγελαδινό με αποτέλεσμα η περίοδος αλατίσματος να είναι μεγαλύτερη αλλά ο ρυθμός διάχυσης του αλατιού μικρότερος (Alichanidis & Polychroniadou, 1996).

➤ **Αίγες**

Το αίγιο γάλα εμφανίζει μειωμένες τυροκομικές ιδιότητες συγκριτικά με το αγελαδινό και το πρόβιο γάλα. Αρχικά δίνει μικρότερη απόδοση σε τυρί αντί το πρόβιο γάλα (Kaminarides et al., 2000) καθώς το τυρόπηγμά του εμφανίζει μία τάση για θρυμματισμό, έχοντας ως αποτέλεσμα να χάνονται μικρά τεμαχίδια από το τυρογάλα (Ανυφαντάκης, 2004).

Επίσης, στο αίγιο γάλα η πήξη του μπορεί να γίνει με πυτιά στους 2-4°C και να διατηρηθεί για μερικές ώρες, πράγμα που δεν μπορεί να συμβεί στο πρόβιο και αγελαδινό γάλα. Αυτό οφείλεται στην μικρότερη σταθερότητα των μικκυλίων του αίγιο γάλακτος.

➤ Σταθερότητα μικκυλίων καζεΐνης (από φωσφορυλίωση)

Ο πολυμορφισμός των γονιδίων των καζεϊνών βρίσκεται σε άμεση επίδραση στην διαμόρφωση των μικκυλίων των καζεϊνών και κατά συνέπεια με την σταθεροποίηση της δομής του γάλακτος. Αυτό οφείλεται στην διαδικασία φωσφορυλίωσης των καζεϊνών.

Πιο συγκεκριμένα, η φωσφορυλίωση και η αποφωσφορυλίωση μιας πρωτεΐνης μπορεί να ρυθμίσει σχεδόν κάθε παράμετρο της λειτουργίας της όπως για παράδειγμα η βιολογική της δραστηριότητα, η σταθεροποίησή της καθώς και η αλληλεπίδρασή της με άλλες πρωτεΐνες (Cohen, 2002).

Η φωσφορυλίωση της καζεΐνης είναι μια μετα-μεταφραστική τροποποίηση που αποτελείται από ένζυμα κινάσης. Πιο συγκεκριμένα, τα ένζυμα αυτά συνδέουν φωσφορικές ομάδες σε ειδικά ελεύθερα αμινοξέα στην πρωτεϊνική αλληλουχία. Αυτή η τροποποίηση είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που ευθύνονται για τη σταθεροποίηση των νανοκυττάρων φωσφορικού ασβεστίου στα μικκύλια καζεΐνης (Huppertz, 2013). Αυτή η δομή των μικκυλίων της καζεΐνης είναι πάρα πολύ σημαντική, καθώς επηρεάζει την διαθεσιμότητα ασβεστίου στο γάλα.

Η κατάσταση φωσφορυλίωσης ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των καζεϊνών. Αν και οι α S1-CN, α S2-CN, β -CN και κ -CN είναι όλες φωσφοπρωτεΐνες ο αριθμός των φωσφορυλιωμένων ομάδων ($n \times P$) που διαθέτουν ποικίλλει από 1P έως 3P σε κ -CN, 4P έως 5P σε β -CN, 8P έως 9P σε α S1-CN, έως 10P έως 13P σε α S2-CN (Farell et al., 2004). Τα αίτια διαφοροποίησης των φωσφορυλιωμένων μορφών των καζεϊνών καθώς και οι επιπτώσεις της

διαδικασίας αυτής στην εσωτερική δομή των μικκυλίων καζεΐνης δεν είναι γνωστές και υπάρχει μια περίπτωση να διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο της καζεΐνης.

Οι διαφορές στη φωσφορυλίωση του α S1-CN παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον επειδή το συνολικό α S1-CN αποτελεί έως και το 40% του συνολικού κλάσματος καζεΐνης στο γάλα και έχει 2 κοινές φωσφορυλιωμένες καταστάσεις: α S1-CN-8P και α S1-CN-9P. Το κλάσμα α S1-CN-9P περιέχει ένα επιπλέον υπόλειμμα φωσφορυλιωμένης σερίνης στη θέση 56 της προπρωτεΐνης, συμπεριλαμβανομένου του πεπτιδίου σήματος, και ήταν προηγουμένως γνωστό ως α S0-CN.

➤ **Αγελάδες**

Μελέτες σε δείγματα 2.000 ατόμων αγελάδων των φυλών Holstein-Friesian έδειξαν πως το κλάσμα α S1-CN-8P εμφανίστηκε αρκετά παραπάνω, δηλαδή σε τριπλάσια περίσσεια έναντι του κλάσματος α S1-CN-9P (Heck et al., 2008). Παραμένει όμως άγνωστο ακόμα το το γενετικό υπόβαθρο των διαφοροποιήσεων αυτών.

Συζήτηση-Συμπεράσματα

Το γάλα αποτελεί το βέλτιστο διατροφικό προϊόν για τα νεογνά θηλαστικών. Είναι εφοδιασμένο με πλήθος θρεπτικών συστατικών απαραίτητων για την ορθή τους ανάπτυξη.

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα συστατικά τους. Χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τις καζεΐνες και τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος. Σε ορισμένες περιπτώσεις εντοπίζονται και απειροελάχιστες ποσότητες δευτερευόντων πρωτεϊνών.

Οι καζεΐνες πρόκειται για την σημαντικότερη ομάδα πρωτεϊνών του γάλακτος. Κατά 90% εντοπίζεται με την μορφή μικκυλίων και περιλαμβάνουν

την as1-καζεΐνη, as2-καζεΐνη, β-καζεΐνη και κ-καζεΐνη. Οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος πρόκειται για την δεύτερη ομάδα πρωτεϊνών και περιλαμβάνουν την αλβουμίνη ορού, ανοδογλουβουλίνη, α-γαλακτοαλβουμίνη, β-γαλακτογλουβουλίνη και τις πρωτεόζες-πεπτόνες.

Από τις παραπάνω πρωτεΐνες οι καζεΐνες, η α-γαλακτοαλβουμίνη αλλά και η β-λακτογλουβουλίνη εντοπίστηκε πως παρουσιάζουν πολυμορφισμό ως προς τα γονίδια που τις κωδικοποιούν. Συγκεκριμένα τα είδη όπου έχει μελετηθεί κυρίως ο πολυμορφισμός των πρωτεϊνών τους είναι η αγελάδα, το πρόβατο και η αίγα.

Η as1- καζεΐνη έχει εντοπιστεί με 8 παραλλαγές A-H στις αγελάδες, με 5 παραλλαγές A-E στα πρόβατα και με 14 παραλλαγές στις αίγες. Η as2-καζεΐνη έχει εντοπιστεί στις αγελάδες με 4 παραλλαγές, στα πρόβατα με 2 παραλλαγές ενώ στις αίγες με 7 παραλλαγές. Όσον αφορά την β-καζεΐνη στις αγελάδες εντοπίζονται 12 παραλλαγές με την παραλλαγή A να είναι η κυρίαρχη, στα πρόβατα εντοπίζονται 3 παραλλαγές ενώ στις αίγες έχουν εντοπιστεί 5 αλληλόμορφα. Η κ-καζεΐνη στις αγελάδες έχει εντοπιστεί με 11 παραλλαγές, στα πρόβατα δεν έχουν εντοπιστεί μέχρι στιγμής γενετικές παραλλαγές ενώ στις αίγες έχουν εντοπιστεί 16 παραλλαγές. Σχετικά με τις παραλλαγές της α-λακτογλουβουλίνης και β-λακτογλουβουλίνης στο πρόβειο γάλα έχουν εντοπιστεί 2 και 3 παραλλαγές αντίστοιχα.

Οι παραπάνω γενετικοί πολυμορφισμοί των πρωτεϊνών επηρεάζουν άμεσα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του παραγόμενου από τα γαλακτοπαραγάωγά ζώα γάλακτος. Αρχικά ο γενετικός πολυμορφισμός επηρεάζει άμεσα την σύνθεση του γάλακτος. Σχετικά με την λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος στις αγελάδες το αλληλόμορφο B της β-λακτογλουβουλίνης ευνοεί την υψηλή λιποπεριεκτικότητά όμως εντοπίζονται και μελέτες που δεν βρίσκουν κάποια σύνδεση μεταξύ τους. Στις αίγες ο πολυμορφισμός της as1-καζεΐνης επιδρά θετικά στην λιποπεριεκτικότητα ενώ για τα πρόβατα δεν εντοπίστηκαν στοιχεία.

Σχετικά με την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη στις αγελάδες το B αλληλόμορφο της κ-καζεΐνης σχετίζεται με υψηλή περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνη ενώ μερικές μελέτες δεν εντοπίζουν κάποιον

συσχετισμό. Ο γενότυπος AA της β-λακτογλοβουλίνης σχετίζεται με μεγαλύτερη περιεκτικότητα γάλακτος από τους γενότυπους AB και BB.

Ακόμα τα διαφορετικά αλληλόμορφα επηρεάζουν και την πρωτεϊνική σύνθεση του γάλακτος. Η παραλλαγή B της β-λακτογλοβουλίνης στις αγελάδες σχετίζεται με χαμηλότερη συγκέντρωση του γάλακτος σε β-λακτογλοβουλίνη και υψηλότερη περιεκτικότητα σε καζεΐνη. Στα πρόβατα η παραλλαγή D της as1-καζεΐνης σχετίζεται με μειωμένη περιεκτικότητα του γάλακτος σε καζεΐνη ενώ η παραλλαγή CC οδηγεί σε γάλα με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καζεΐνη και γενικά πρωτεΐνες. Στις αίγες τα αλληλόμορφα (A, B1, B2, B3, B4, H και L) συνδέονται με υψηλό ποσοστό παραγωγής της as1-(3,5g/lit γάλακτος) ενώ τα αλληλόμορφα O1 και O2 οδηγούν σε παραγωγή της as1-CN.

Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε λακτόζη δεν έχει ερευνηθεί ευρέως η σχέση των πρωτεϊνικών πολυμορφισμών σε σχέση με αυτή. Στις αγελάδες αυξημένη ποσότητα της κ-καζεΐνης και α-LA σχετίζεται θετικά με την ποσότητα λακτόζης στο γάλα.

Σχετικά με άλλα ποιοτικά του γάλακτος, στις αγελάδες το αλληλόμορφο B της κ-καζεΐνης σχετίζεται με βελτιωμένη πήξη του γάλακτος ενώ η γενετική παραλλαγή A της as1-CN οδηγεί στην παραγωγή as1-CN με μειωμένη υδροφοβία πράγμα που αυξάνει την παρουσία ασβεστίου στο γάλα με αποτέλεσμα την δημιουργία μη συνεκτικών πηγμάτων σε αυτό. Τέλος σχετικά με την σταθερότητα των μικκυλίων του γάλακτος ο πολυμορφισμός των γονιδίων την επηρεάζει άμεσα όμως δεν είναι ακόμα γνωστό το γενετικό υπόβαθρο των διαφοροποιήσεων.

Από τα παραπάνω είναι εμφανές πως τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους επηρεάζονται από τον γενετικό πολυμορφισμό των πρωτεϊνών του γάλακτος τόσο άμεσα, όταν πρόκειται για την πρωτεϊνική σύνθεση του, όσο κι έμμεσα μέσω της επιρροής των παραγόμενων πρωτεϊνών στα υπόλοιπα ποιοτικά χαρακτηριστικά. Έτσι καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως είναι αρκετά πολύπλοκη η σχέση ανάμεσα στον πολυμορφισμό των γονιδίων και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος κι επιδέχεται περαιτέρω έρευνας στο αγελαδινό, πρόβειο κι αίγειο γάλα.

Βιβλιογραφία

1. Alberts B, Bray D, Hopkin K, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2014). Essential Cell Biology (4th ed.). New York, NY: Garland Science. p. 659.
2. Alexander L.J., Stewart A.F., McKinlay A.G., Kapelinskaya T.V., Tkach T.M., Godoretsky S.I., (1988). Isolation and characterization of the bovine κ-casein gene. Eur. J. Biochem. 178 : 395-401.
3. Alichanidis E., Polychroniadou A., (1996). Special feature of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. In : Proceedings, Production and Utilization of Ewe and Goat Milk,

- Crete, Greece, Oct. 19-21, 1995 International Dairy Federation Publ. Brussels, Belgium, 21-43.
4. Alonso, L., Fontecha, J., Lozada, L., Fraga, M.J., Juárez, M., (1999). Fatty acid composition of caprine milk: major, branched chain and trans fatty acids. *J. Dairy Sci.* 82, 878–884.
 5. Amigo L., Recio I., Ramos M., (2000). Genetic polymorphism of ovine milk proteins : its influence on technological properties of milk – A review. *International Dairy Journal*, vol.10, 00.135-149.
 6. Aschaffenburg R. and Drewry J., (1955). Occurrence of different beta-lactoglobulins in cow's milk. *Nature* 176 : 218-219.
 7. Aschaffenburg R. and Drewry J., (1957). Genetics of the b-lactoglobulins of cow's milk. *Nature* 180: 376-378.
 8. Babukov A.V., mityuko V.E., Komisserenko A.D., (1982). Use of genofond of polymorphic milk proteins for improvement of black and white cattle. *Proc. XXI Inter. Dairy COng. Moscow, Vol.1, Book 1, p.39.*
 9. Badola S., Bhattacharya T.K., Kumar P., Sharma A., (2003). Association of beta-lactoglobulin polymorphism with milk production traits in cattle. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 16(11):1560-1564.
 10. Barosso A., Dunner S., Canon J., (1997). Use of an SSCP analysis to perform a simple genotyping in bovine k-casein. *Journal of Dairy Research* 64 : 535-540.
 11. Borkova M., Snaselova J., (2005). Quantification of bovine casein fractions by direct chromatographic analysis of milk. Approach in the application to a real production context. *Journal of Chromatography A.*, 1216, pp.165-168.
 12. Bovenhuis H., Van Arendonk J.A.M., Korver s., (1992). Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. *J. Dairy Sci.* 75 : 2549-2559.
 13. Bovenhuis H. and Weller J.L., (1994). Mapping and analysis of dairy cattle quantitative trait loci by maximum likelihood methodology using milk proteins genes as genetic markers. *Genetics* 137 (1) : 267-280.
 14. Bwrlowska, J., Swaijowska M., Liwinezuk Z., Matwijczuk A., (2011). The influence of cow breed and feeding system on the dispersion state of milk fat and content of cholesterol. *Annals of Polish Asspc. Zootech, Roczniki Naukowe polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 7, 57-65.

15. Calvo M.M., Balcones E., (2000). Some Factors Influencing the Syneresis of Bovine Ovine and Caprine Milks. *J. Dairy Sci.*, 83, 1733-1739.
16. Cardak A.D, (2005). Effects of genetic variants in milk protein on yield and composition of milk from Holstein-Friesian and Simmentaler cows. *South African J. Anim.. Sci.* 35 (1) : 41-47.
17. Cerbulis J. and Farrell H.M., (1975). Composition of milk of dairy cattle. I. Protein , lactose and fat contents and distribution of protein fraction. *J. Dairy Sci.* 58 : 817-827.
18. Clare D. and Swainsoodt H.E., (2002). Bioactive milk peptides : Department of Food Science.
19. Cohen, (2002). The origins of protein phosphorylation, *Nat. Cell Biol.*, 4 (2002), pp. E127-E130
20. Comberg G., Meyer H., Groing M., (1964). Correlations between beta-lactoglobulin types in cattle and age at first calving milk yield and fat contents. *Zuchtugskunde* 36:248-255.
21. Damiani, G., S. Florio, E. Budelli, P. Bolla, and A. Caroli. (2000b). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) within Bov-A2 SINE in the second intron of bovine and buffalo κ -casein (CSN3) gene. *Anim. Genet.* 31:277–279
22. Damodarran, S., & Paraf A., (1997). Food proteins and their application, Marcel Dekker Inc.
23. Denicourt D., Sabou M.P., McAllister A.J., (1990). Detection of bovine κ -casein genomic variants by the polymerase chain reaction method. *Anim. Genet.* 21 : 215-216.
24. Di Luccia A., Addeo F., COrradini C., Mariani P., (1988). Bovine kappa casein c, and electrophoretic study. *Sci. Tech. Latt-Cas.* 39 : 413-422.
25. Erhardt, G., Godovac-Zimmermann, J. and Conti, A. (1989). Isolation and complete primary sequence of a new ovine wild-type β -lactoglobulin C. *Biological Chemistry Hoppe-Seyler* 370, 757-762
26. Faegan J.T>, Bailey L.F., Hehir A.F>, McLean D.M., Ellis N.J.S>, (1972). Coagulation of milk proteins. 1. Effect of genetic variants of milk proteins on rennet coagulation and heat stability on normal milk. *Australia Journal of Dairy Technology* 27 : 129-134.

27. Famula T.R., Medrano J.F., (1994). Estimation of genotype effects for milk proteins with animal and sire transmitting ability models. *J. Dairy Sci.* 77:3153-3162.
28. Fennema, O.R., (1996). *Food chemistry*, Macel Dekker Inc.
29. Farrell H.M., Jr., R. Jimenez-Flores, G.T. Bleck, E.M. Brown, J.E. Butler, L.K. Creamer, C.L. Hicks, C.M. Hollar, K.F. Ng-Kwai-Hang, H.E. Swaisgood (2004). Nomenclature of the proteins of cows' milk—Sixth revision, *J. Dairy Sci.*, 87 (2004), pp. 1641-1674
30. Fox P.F., and Brodtkorb A., (2008). The casein micelle : Historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, vol. 18, pp.677-684.
31. Gonyon D.S., Mather R.E., Hines H.C., Haenlein G.F.W., Arave C.W., Gaunt S.N., (1987). Associations of bovine blood and milk polymorphisms with lactation traits : Hlsteins. *J. Dairy Sci.* 70:2585-2598.
32. Gnoth M.J., Junz C., Kinne-Safran E., Rudloff S., (2000). Human milk oligosaccharides are minimally divested in vitro. *Journal of Nutrition*, vol. 130, pp.3014-3020.
33. Graml R. Buchberger J., Klostemeyer H. and Pirchner F., (1985). Pleiotrope wirkungen von b-lactoglobulin and casein genotypen auf milchinhaltsstoffe der bayerischen Fleckviehs und Braunviehs. *Z. Tierzucht. Zuch Biol* 102 : 353-370.
34. Grosclaude F., M.F. Mahe, J.C., Mercier and B. Ribaudeau-Dumas. 1972. Localisation de substitutions d'acides amines differenciant les variants A et B de la caseine k bovins. *Ann. Genet. Sel. Anim.* 63 : 1154-1166.
35. Goudjil, H., Fontecha, J., Luna, P., Fuente de la, M.A., Alonso, L., Juárez, M., (2004). Quantitative characterization of unsaturated and trans fatty acids in ewe's milk fat. *Lait* 84, 473–482.
36. Guan D., Sanchez-Marmol E., Cardoso T.F., Such X., Landi V., Tawari N.R., Amills M., (2019). Genomic analysis of the origins of extant casein variation in goats, *Journal of Dairy Science*, Vol. 102, pp. 5230-5241.
37. Haenlein G.F.W., Caccese R., (1984). Goat milk versus cow milk. In : Haenlein, G.F.W., Ace D.L., (Eds), *Extension goat Handbook*. USDA Publ., Washington, DC, p.1.

38. Haenlein, G.F.W., Wendorff, W.L., (2006). Sheep milk—production and utilization of sheep milk. In: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals. Blackwell Publishing Professional, Oxford, UK, and Ames, Iowa, USA, pp. 137–194.
39. Hacia, J. G. (1999). Resequencing and mutational analysis using oligonucleotide microarrays. *Nat. Genet. (Suppl. 21)*:42–47.
40. Hallen E., Allmere T., Nasjlund J., Andren A., Lunden A., (2007). Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin-induced milk gels, *International Dairy Journal*, Vol.17, pp. 791-799.
41. Hayes E., Wles W.J., Haas de Y., veerkamp R.F., (1993). Genomic selection for feed efficiency in dairy cattle. *Animal*, vol. 1, pp.1-10.
42. Hayes, H., E. Petit, C. Bouniol, and P. Popescu. (1993). Localisation of the α S2-casein gene (CASA2) to the homoeologous cattle, sheep, and goat chromosomes 4 by in situ hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.* 64:281–285
43. Hill J.P., (1993). The relationship between α -lactoglobulin phenotypes and milk composition in New Zealand dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 76 : 281-286.
44. Hoogerdoorn M.P., Moxley J.E., Hawes R.O., MacRae H.F. (1969). Separation and gene frequencies of blood serum transferrin, casein and beta-lactoglobulin loci of dairy cattle and their effects on certain production traits. *Can J. Anim. Sci.* 49 : 331-341.
45. Huppertz T., Upadhaya V.K., Kelly A.L., Tamime A.Y., (2006). Constituents and Properties of Milk from Different species. In : *Brined cheeses* (edr A.Y., Tamime), Blackwell Publishing Ltd, pp.1-42.
46. Huppertz T., (2013). Chemistry of the caseins, P.L.H. McSweeney, P.F. Fox (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry. Vol. 1A: Proteins: Basic Aspects*, Springer, New York, NY (2013), pp. 135-160
47. Janichi C., (1978). Beta-lactoglobulin and some milk production characteristics of Holstein-Friesian cows in Poland imported from USA and Canada. *Rocz. Akad. Roln. Poz.* 25:169-175.
48. Jenness, R., Shipe, W.F., Sherbon, J.W., (1974). In: Sebb, B.H., Johnson, A.H., Alford, J.A. (Eds.), *Fundamentals of Dairy Chemistry*. A.V. Publishing Co., Westport, p. 402.

49. Jensen, R.G., 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.* 85, 295–350.
50. Johannsen W (1903). "Om arvelighed i samfund og i rene linier". Oversigt birdy over Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Forhandlingerm (in Danish). 3: 247–70. German ed. "Erblichkeit in Populationen und in reinen Linien" (in German). Jena: Gustav Fischer. 1903.
51. Jordana J., Amills M., Diaz e., Angulo ., Serradilla J.M., Sanchez A., (1996). Gene frequencies of caprine as1-casein polymorphism in Spanish goat breeds. *Small Ruminant Research*, vol.20, pp.215-221.
52. Ju`arez, M., Ramos, M., (1986). Physico-chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. In: International Dairy Federation (Ed.), *Proceedings of the IDF Seminar Production and Utilization of Ewe's and Goat's Milk*, Bulletin No. 202. Athens, Greece, pp. 54–67.
53. Kaminarades S., Rogoti E., Mallatou H., (2000). Comparison of the characteristics of halloumi cheese made from ovine milk, caprine milk of mixtures of these milks. *International Journey of Dairy Technology*, 53, 100-105.
54. Kaminski, S., A. Ahman, A. Rusc, E. Wojcik, and T. Malewski. (2005). MilkProtChip—A microarray of SNPs in candidate genes associated with milk protein biosynthesis—Development and validation. *J. Appl. Genet.* 46:45–58.
55. KaminaradesS.E., Anifantakis E.M., (1993). COMprarative study of the separation of casein from bovine, ovine and caprine milks using HPLC. *Journal of Dairy research*, vol.60, pp.495-504.
56. Ketto A., Abdelghani A., Johanesen A.G., Oyaas J., Skeie S.B., (2019). Effect of milk protein genetic polymorphisms on rennet and acid coagulation properties after standardisation of protein content, *International Dairy Journal*, Vol. 88, pp.18-24.
57. Ketto A., Oyaas J, Johanesen A.G., Skeie S.B., Anday T., Schuller R.B., (2018). The influence of milk protein genetic polymorphism on the physical properties of cultured milk, *International Dairy Journal*, Vol.78, pp.130-137.

58. Kumar, A., P. K. Rout, and R. Roy. 2006. Polymorphism of betalactoglobulin gene in Indian goats and its effect on milk yield. *J. Appl. Genet.* 47:49–53.
59. Kurkdjian, V., Gabrielian, T., (1962). Physical and chemical properties and composition of ewe's milk. In: *Proceedings of the XVI Int. Dairy Congr.*, vol. AP, pp. 197–208.
60. Lin C.Y., McAllister A.J., Ng-Kwai-Hang K.F., Hayes J.F., Batra T.R., Lee A.J., Roy G.L., Vesely J.A., Wauthy J.M., Winter K.A., (1989). Relationships of milk protein types to lifetime performance. *J. Dairy Sci.* 72 : 3085-3090.
61. Lunden A., Nilsson M., Janson L., (1997). Marked effect of b-lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *J. Dairy Sci.* 80 : 2996-3005.
62. Mariani P., Summer A., AnghienettinA., Senese C., Di Gregorio P., Rando P., Serventi O., (1995). Effects of the s1-CN G allele on the percentage distribution of caseins a s1-, as2- , b- and k- in Italian Brown cows *Ind. Latte* 31.
63. Marletta D., Crioscione A., Bordonaro S., Guastella A.M., D'Urso G., (2007). Casein polymorphism in goat's milk. *Lai*, vol.87, pp.491-504.
64. Martin, P., M. Szymanowska, L. Zwierzchowski, and C. Leroux. (2002). The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. *Reprod. Nutr. Dev.* 42:433–459.
65. Mayer W. & Hortner H., (1992). Discontinuous electrophoresis o b-caseins for the determination of bovine caseins in milk and dairy products. *Electrophoresis*, Vol. 13, pp.803-804.
66. Mayer V.R., (1994). *Practical High Performance Liquid Chromatography*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England, pp.144-155.
67. Mayer H., Heidler D., Rockenbauer c., (1997). Determination of the Percentaes of Cows, Ewes and Goats Milk in cheese by Isoelectric Focusing and Cation-exchange HPLC of γ -and para- κ -Caseins. *Int. Dairy Journal*, vol.7, pp.619-628.
68. McDermott A., Visentin G., Marchi De M., Berry D.P., Fenelon M.A., O' Connor P.M., Kenny O.A., McParland S., (2016). Prediction of individual milk proteins including free amino acids in bovine milk using mid-infrared

- spectroscopy and their correlations with milk processing characteristics, *Journal of Dairy Science*, vol. 99, pp. 3171-3182.
69. McSweeney P.L.H., Fox P.E., (1997). Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait*, vol.77, pp. 41-76.
 70. Mercier J.C.F., Brignon, Ribedau-Duman (1973). Structure primaire de la caseine k B bovine. *Sequene omplete. Eur. J. Biochem.* 35 : 222-235.
 71. Mianda G., ANglade P., Mahe M.F., erhard G., (1993). Biochemical characterization of the bovine genetic k-casein C and E variants. *Animal Genetics*, vol. 24, pp.27-31.
 72. Muioli B., Pilla F., Tripaldi C., (1998). Detection of milk protein genetic polymorphisms in order to improve dairy traits in sheep and goats : a review. *Small Ruminant Research* 27 : 185-195.
 73. Moustgaard J., Moller I., Sorensesn P.H., (1960). Polymorphism of bovine b-lactoglobulin. *Aarsberetin, hist Sterilitets fofskn. K. Ve. Landbohojsk. Kbh*, 111-123.
 74. Munro G.L., (1987). Effect of genetic variants of milk proteins on yield and composition of milk. In *XX Int. Dairy Congr.*, Paris, France, p.10.
 75. Nakamura H., Kawase K., Kimura Y., Watanabe M., Ohtani I., Arai and T. Urashima (2000). Consternations of Sialyloligosaccharides in Bovine Colostrum and Milk during the Prepartum and Early Lactation
 76. Newburg D.S., (1999). Human milk glycoconjugate that inhibit pathogens. *Current Medicine Chemistry*, vol. 6, pp. 117-127.
 77. Ng-Kwai-Hang K.F., Hayes J.F., Moxley J.E., Monardes H.G., (1984a). Association of genetic variants of casein and milk serum proteins milk, fat and protein production in dairy cattle. *J., Dairy sci.* 67 : 835-840.
 78. Ng-Kwai-Hang K.F., Hayes J.F., Moxley F.E., Monardes H.G., (1986). Relationship between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 69 : 22-26.
 79. Ng-Kwai-Hang K.F., Monrades H.G., Hayes J.F., (1990a). Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. *J. Dairy Sci.* 73 : 3414-3420.
 80. Park, Y.W., (1994). Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. *Small Rumin. Res.* 14, 151–161.

81. Park Y.W., Juarez M., Ramos M., Haenlein G.F.W., (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68:88.
82. Paul L.H., McSweene, Patrick F., Fox Editors. (2013). *Advanced Dairy chemistry*, 2013.
83. Pupkova G.V. (1980). Milk protein polymorphism and milk production of Estonian Black Pied cows. *J. Dairy Sci.* 45 ; 6620 (Abstr.).
84. Ribedau D.D., Brignon G., Grosclaude F., Mercier J.C., (1972). Structure rimare de la caseine b bovine. *Eur. J. Biochem* 25.
85. Rijnkels M, (2002). Multispecies comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 7 (2002), pp. 327-345
86. Robardsa K., Haddad P.R>, Jackson P.E., (1994). *Principles and Practise of Modern Chromatographic Method*. Academic Press Inc., London, U.K., pp.305-379.
87. Roncada P., gaviaraghi A., Liberatori S., Canas B., Bini L., Greppi G.P., (2002). Identification of caseins in goat milk. *Proteomics,aol.2*, pp.723-726.
88. Schopen G.C.B., J. M. L. Heck, H. Bovenhuis, M. H. P. W. Visker, H. J. F. van Valenberg, J. A. M. van Arendonk, (2009). Genetic parameters for major milk proteins in Dutch Holstein-Friesians, *J. Dairy Sci.* 92:1182–1191.
89. Scolozzi, C., Martini, M., Abramo, F., (2003). A method for identification and characterization of ewe's milk fat globules. *Milchwissensch* 58, 490–493.
90. Singh H., (2004). Heat stability of milk. *Int. J. Dairy Technol.*, 57 (2004), pp. 111-119
91. Symon, Keith (1971). *Mechanics* (3rd έκδοση). Addison-Wesley. ISBN 0-201-07392-7.
92. Swainsgood H.E., (1982). Chemistry of milk proteins. Page 1 in *Developments in Dairy chemistry – 1*.P.F. Fox, ed Appl. Sci. London England
93. Trichopoulou A., Soukara S., Vasilopoulou E., (2007). Traditional foods : a science and society perspective. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 420-427.
94. Trujillo A.J., Casals I., Guamis b., (2000a). Analysis of Majorr Caprine Milk Proteins by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography

- and Electrospray Ionization-Mass Spectrometry. *J. Dairy Sci*, vol.83, pp.11-19.
95. Tziboula A., Horne S.D., (1999). The role of α_1 -casein in the structure of caprine casein micelles. *International Dairy Journal*, vol.9, pp.173-178.
 96. Vlsser S., van Rooijen P.J., Schattenkerk C., Kerling K.E., (1976). Peptide substrates for chymosin (rennin). Kinetic studies with peptides of different chain length including parts of the sequence 101-112 of bovine κ -casein. *Biochim Biophys. Acta (BBA) – Enzymology*, 438.
 97. Vreeman H., Both P., Brinkhous J.A., van der Sprenk C.A., (1977). Purification and some physicochemical properties of bovine κ -casein. *Biocimica et Biophysica Acta*, 491, 93-103.
 98. Yahyaoui M.H., Angiolillo A., Pilla F., Sanchez A., Folch J.M., (2003). Characterization and Genotyping of the Caprine κ -Casein Fractions. *J. Dairy Sci*, vol.86, pp.2715-2720.
 99. Walstra, P., and R. Jenness, eds. (1984). *Protein composition of milk. Dairy Chemistry and Physics*. Wiley, New York, NY
 100. Walstra P., Wouters J.T.M., Guerts T.j., (2006). *Dairy science and technology*, (2nd edition), Boca Raton FL, USA : CRC Press
 101. Wedholm W., Larsen L.B., Lindmark-Mansson H., Karlsson A.H., Andren A. (2006). Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows, *J. Dairy Sci.*, 89 (2006), pp. 3296-3305
 102. M.H. Yahyaoui, A. Angiolillo, F. Pilla, A. Sánchez, J.M. Folch (2003). Characterization and genotyping of the caprine κ -casein variants, *J. Dairy Sci.*, 86 (2003), pp. 2715-2720
 103. Zadworny D., Kuhnlein U., Ng-Kwai-hang K.F., (1990). Determination of κ -casein alleles in Holstein dairy cows and bulls using polymerase chain reaction. *Proc. 4th World Congr. Appl. Livestock Prod. XIV*, pp.251-254.
 104. Zydny, A.L., 1998, *Protein Separations Using Membrane Filtration: New Opportunities For Whey Fractionation*, *Int. Dairy Journal*, vol.8, pp. 243-250.
 105. Αληξανίδης, Γ., (2002). Χημεία, φυσική και τεχνολογία γάλακτος. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

106. Αλεξανδράκη Σ., (2009). Προσδιορισμός του αίγειου γάλακτος σε πρόβειο γάλα και τυρί. Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Μεταπτυχιακή διατριβή.
107. Ανυφαντάκης Ε.Μ., & Καλαντζόπουλος Γ.Κ., (1993) Γαλακτοκομία, τόμος πρώτος, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα-Πειραιάς
108. Ανυφαντάκης Ε.Μ., (1994). Χημεία και ανάλυση του γάλακτος. Εκδόσεις Α., Σταμούλης, Αθήνα - Πειραιάς
109. Ανυφαντάκης Ε.Μ., (2004). Τυροκομία, Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα.
110. Γεωργάκης Σ.Α., (2002). Τεχνολογία τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Β' Έκδοση, Εκδοτικός Οίκος 'Σύγχρονη Παιδεία', Θεσσαλονίκη.
111. Γλωσσιώτης Ν., (1984). Προϊόντα από πρόβειο γάλα, Επιμορφωτικά σεμινάρια στην Γαλακτοκομία, Αθήνα 5-9 Νοεμβρίου, Θεσσαλονίκη 12-16 Νοεμβρίου. Κείμενα Ομιλιών, Τόμος β' 233-238.
112. Καμινारीδης Στ., Μοάτσου Γ., (2009). Γαλακτοκομία, Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα 2009.
113. Μάθιο Β., (2016). Διαφορές στη σύνθεση βιολογικού και συμβατικού γάλακτος. ΤΕΙ Πελοποννήσου, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, Θεσσαλονίκη 2016, σελ. 7-9, 53-59
114. Μάντης Α., (1993). Υγιεινή και Τεχνολογία του γάλακτος και των προϊόντων του. Εκδόσεις Οίκος Κυριακίδη, 2^η έκδοση, κεφάλαιο 1, σελ. 1-45.
115. Μάντης Α., (2000). Υγιεινή και Τεχνολογία του Γάλακτος και των Προϊόντων του, Γ έκδοση. Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη
116. Ζαρμπούτης Γ., (1994). Γαλακτοκομία, Εκδόσεις Ίων, Αθήνα