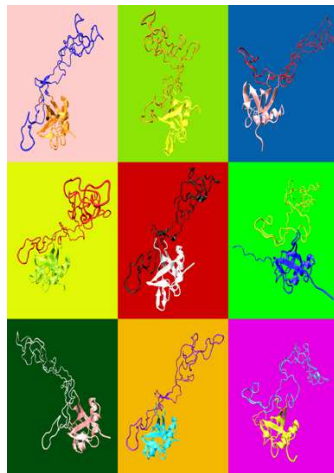




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πτυχιακή Εργασία

# Μελέτη γενετικών πολυμορφισμών στις κύριες πρωτεΐνες του ελληνικού γάλακτος



**ΠΙΤΣΙΝΟΥ ΑΓΓΕΛΙΚΗ  
ΜΗΤΡΑΪ ΝΙΚΟΛΕΤΑ**

Υπεύθυνος καθηγητής  
**Αντωνόπουλος Διονύσης**

Αιγάλεω 2022



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΤΡΟΦΙΜΩΝ

# **Μελέτη γενετικών πολυμορφισμών στις κύριες πρωτεΐνες του ελληνικού γάλακτος**

Εξεταστική επιτροπή

**1.ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ ΔΙΟΝΥΣΗΣ**

**2.ΧΟΥΧΟΥΛΑ ΔΗΜΗΤΡΑ**

**3. ΜΠΑΤΡΙΝΟΥ ΑΝΘΙΜΙΑ**

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι Πιτσινού Αγγελική του Εμμανουήλ, με αριθμό μητρώου 15084 και Μήτραϊ Νικολέτα του Πύρο , με αριθμό μητρώου 11219, φοιτήτριες του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, της Σχολής Επιστημών Τροφίμων, του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνουμε υπεύθυνα ότι:

«Είμαστε συγγραφείς αυτής της πτυχιακής 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, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το 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

**Πιτσινού Αγγελική**



Η δηλούσα

**Μήτραϊ Νικολέτα**



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

*Με την ολοκλήρωση της παρούσας πτυχιακής θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε όλους όσους βοήθησαν στην υλοποίησή της. Πρωτίστως οφείλουμε τις θερμές μας ευχαριστίες στον επιβλέπων καθηγητή Διονύση Αντωνόπουλο για την συνεχή καθοδήγηση και το αμέριστο ενδιαφέρον, αλλά και τον χρόνο που αφιέρωσε για την διεκπεραίωση αυτής της πτυχιακής εργασίας.*

*Τέλος ευχαριστούμε τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής για τον χρόνο τους.*

Πηγή εικόνα εξώφυλλου:

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Conformational\\_polymorphism\\_of\\_a\\_neurotoxic\\_protein\\_-\\_journal.pbio.1001338.g001.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Conformational_polymorphism_of_a_neurotoxic_protein_-_journal.pbio.1001338.g001.png)

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b> .....	<b>4</b>
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b> .....	<b>5</b>
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΙ ΠΙΝΑΚΕΣ</b> .....	<b>7</b>
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ</b> .....	<b>7</b>
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΕΣ ΕΙΚΟΝΕΣ</b> .....	<b>7</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	<b>9</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>10</b>
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	<b>11</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΓΑΛΑ</b> .....	<b>13</b>
1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	13
1.2 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	15
1.3 ΦΥΛΕΣ ΒΟΟΕΙΔΩΝ ΠΟΥ ΕΚΤΡΕΦΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ .....	17
1.4 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	20
1.4.1 ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ.....	22
1.4.2 ΛΙΠΑΡΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ .....	23
1.4.3 ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΚΑΙ ΑΛΑΤΑ .....	24
1.4.4 Ένζυμα .....	25
1.4.5 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	26
1.4.5.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	26
1.4.5.1.1 β-Λακτογλοβουλίνη ή β-Λακτοσφαιρίνη.....	27
1.4.5.1.2 α-Λακταλβουμίνη.....	29
1.4.5.1.3 Αλβουμίνη ορού.....	32
1.4.5.1.4 Ανοσογλοβουλίνες .....	33
1.4.5.2 ΚΑΖΕΪΝΕΣ .....	34
1.5 Μικκύλια καζεϊνών.....	35
1.6 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	37
1.6.1 Οξειδοαναγωγικό δυναμικό.....	38

1.6.2 Ηλεκτρική αγωγιμότητα .....	38
1.6.3 Σημείο πήξης .....	39
1.6.4 Σημείο βρασμού .....	40
1.6.5 Ωσμωτική πίεση .....	40
1.6.6 Οξύτητα-pH .....	40
1.6.7 Πυκνότητα και ειδικό βάρος .....	41
1.7 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ .....	41
1.7.1 Βακτήρια.....	43
1.7.2 Μύκητες και ζυμομύκητες.....	45
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ .....</b>	<b>47</b>
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟΝ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ .....	47
2.2 ΓΟΝΙΔΙΑ ΥΠΕΥΘΥΝΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ .....	48
2.3 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ.....	52
2.3.1 β – Λακτογλοβουλίνη ή β- λακτοσφαιρίνη.....	52
2.3.2 α-Λακτοαλβουμίνη.....	54
2.4 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΚΑΖΕΪΝΩΝ .....	55
2.4.1 α <sub>s1</sub> -καζεΐνη .....	55
2.4.2 α <sub>s2</sub> -καζεΐνη.....	57
2.4.3 β- καζεΐνη .....	58
2.4.4 κ-καζεΐνη .....	59
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ .....</b>	<b>61</b>
3.1 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ.....	61
3.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ .....	62
3.3 ΑΠΟΔΟΣΗ ΣΕ ΓΑΛΑ .....	63
3.4 ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΤΥΡΟΚΟΜΙΑ.....	65
3.5 ΕΚΜΕΤΑΛΛΕΥΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΟΥ DNA .....	67
3.6 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ .....	69
3.7 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΜΕ ΤΟ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΖΩΑ .....	74
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>79</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>82</b>

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΙ ΠΙΝΑΚΕΣ

<b>Πίνακας 1:</b> Παραγωγή γάλακτος στην Ελλάδα κατά είδος ζώου την περίοδο 2014-2019 (σε χιλιάδες τόνους).....	17
<b>Πίνακας 2:</b> Μέση σύσταση του γάλακτος από αίγα, πρόβατο, αγελάδα και άνθρωπο .....	21
<b>Πίνακας 3:</b> Σύσταση γάλακτος από διάφορες φυλές ζώων .....	22
<b>Πίνακας 4:</b> Λιπαρά οξέα στο γάλα της αγελάδας, των αιγοπροβάτων και του ανθρώπου.....	24
<b>Πίνακας 5:</b> Μέση περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία (ποσότητα δείγματος 100g) σε γάλα αγελάδας, αίγας, προβάτου και ανθρώπου .....	26
<b>Πίνακας 6</b> Ορισμένες φυσικές και χημικές σταθερές του γάλακτος κατανάλωσης από διάφορα είδη ζώων .....	38
<b>Πίνακας 7:</b> Σημείο πήξεως διαφορετικών ειδών γάλακτος .....	40
<b>Πίνακας 8:</b> Πηγές μόλυνσεως του γάλακτος και είδη μικροοργανισμών που μεταφέρονται .....	42
<b>Πίνακας 9:</b> Είδος γάλακτος και επιτρεπόμενος αριθμός μικροοργανισμών (30°C) ..	43
<b>Πίνακας 10:</b> Κυριότερα βακτήρια γάλακτος και η δράση τους .....	45

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

<b>Διάγραμμα 1:</b> Γαλακτοπαραγωγικά ζώα και % ποσοστό της συνολικής παραγωγής γάλακτος ανά είδος.....	3
<b>Διάγραμμα 2:</b> Οι κυριότεροι παγκόσμιοι παραγωγοί γάλακτος και τα αντίστοιχα ποσοστά (%) που αντιστοιχούν στην παγκόσμια παραγωγή.....	4

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΕΣ ΕΙΚΟΝΕΣ

<b>Εικόνα 1:</b> α. Βραχυκερατική φυλή (πάνω αριστερά) β. Φυλή Κατερίνης (πάνω δεξιά) γ. Φυλή Συκιάς (κάτω αριστερά) δ. Ελληνικός βούβαλος (κάτω δεξιά) .....	18
<b>Εικόνα 2:</b> Φυλή Holstein.....	19
<b>Εικόνα 3:</b> Μόριο Λακτόζης .....	22

<b>Εικόνα 4:</b> Δομή της β-λακτοσφαιρίνης όπου διακρίνονται οι δομές β-φύλλων (A-I), α-έλικες και τυχαία πηνία .....	28
<b>Εικόνα 5:</b> Μοντέλο της δομής της α-λακταλβουμίνης .....	31
<b>Εικόνα 6:</b> Σχηματική αναπαράσταση των διαφορετικών καζεϊνών .....	35
<b>Εικόνα 7:.</b> Μοντέλο μικκυλίων καζεΐνης που προτάθηκε a. από τον Waugh (1958) b. από τον Schmidt c. από τον Walstra (1990 & 1999) c. από τον Horne (2003) d. από τον Holt. E. συλλογή αποτυπώσεων του σωματιδίου μικκυλίου καζεΐνης.....	36
<b>Εικόνα 8:</b> Δομική οργάνωση των μεταγραφικών μονάδων που κωδικοποιούν τις 6 κύριες πρωτεΐνες γάλακτος. Καζεΐνες: α <sub>s1</sub> -CN (CSN1S1), β-CN (CSN2), α <sub>s2</sub> -CN (CSN1S2) και κ-CN (CSN3). Πρωτεΐνες ορού γάλακτος: α-λακταλβουμίνη (LAA) και β-λακτοσφαιρίνη(LGB) .....	49
<b>Εικόνα 9:</b> Αλληλουχίες αμινοξέων β-λακτοσφαιρίνη βοοειδών και μηρυκαστικών ....	53
<b>Εικόνα 10:</b> Ηλεκτροφόρηση σε άγαρ .....	70
<b>Εικόνα 11:</b> Αναπαράσταση της αντίδρασης PCR .....	71
<b>Εικόνα 12:</b> Σχηματική αναπαράσταση των διαφόρων σταδίων της μεθόδου RFLP .	73



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η μελέτη του πολυμορφισμού των πρωτεϊνών του γάλακτος. Οι κυριότερες αυτόχθονες φυλές βοοειδών που εκτρέφονται στην Ελλάδα είναι η Βραχυκερατική, η φυλή Κατερίνης, η Συκιάς και ο Ελληνικός Βούβαλος. Από τις φυλές που εισήχθησαν στον ελληνικό χώρο, ο κυριότερος εκπρόσωπος είναι η φυλή Holstein. Στο γάλα διακρίνουμε δύο ομάδες πρωτεϊνών : τις καζεΐνες και τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος . Οι γενετικές παραλλαγές των πρωτεϊνών μπορούν να επηρεάσουν τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά του γάλακτος, όπως το σημείο πήξης, τη θερμική σταθερότητα, την απόδοση και την αναλογία πρωτεϊνών. Έχουν εντοπισθεί τα υπεύθυνα γονίδια για την κωδικοποίηση των πρωτεϊνών. Ο προσδιορισμός του γενετικού πολυμορφισμού μπορεί να πραγματοποιηθεί με ηλεκτροφόρηση, τεχνικές HPLC, με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης – ανάλυση μονόκλωνου διαμορφωτικού πολυμορφισμού (PCR-SSCP). Μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί στις ελληνικές αυτόχθονες ποικιλίες αιγών, προβάτων και βοοειδών και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι γενετικές παραλλαγές των πρωτεϊνών του γάλακτος σχετίζονται με την απόδοση και διαμορφώνουν τα χαρακτηριστικά του ελληνικού γάλακτος.

## SUMMARY

The purpose of this thesis is to study the polymorphism of milk proteins. The main indigenous breeds of cattle bred in Greece are Vrachykeratiki, the breed of Katerini, the Sykia and the Greek Buffalo. Of the breeds introduced in Greece, the main representative is the Holstein breed. In milk we distinguish two groups of proteins: caseins and whey proteins. Genetic variations of proteins can affect the technological characteristics of milk, such as coagulation point, thermal stability, yield and protein ratio. The genes responsible for encoding proteins have been identified. The determination of genetic polymorphism can be performed by electrophoresis, HPLC techniques, by the method of polymerase chain reaction (PCR) and polymerase chain reaction - single-stranded polymorphism analysis (PCR-SSCP). Studies have been carried out on the Greek indigenous varieties of goats, sheep and cattle and the results showed that the genetic variants of milk proteins are related to performance and shape the characteristics of Greek milk.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γάλα αποτελεί ένα διατροφικό προϊόν ευρείας και συχνής κατανάλωσης, με ένα μεγάλο μέρος των καταναλωτών να είναι παιδιά ή βρέφη. Η κατανάλωση γάλακτος θεωρείται ότι αποτελεί μέρος μίας υγιούς και ισορροπημένης διατροφής, καθώς αποτελεί πηγή μακροθρεπτικών συστατικών, όπως είναι οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λίπη, αλλά και πηγή βιταμινών και μεταλλικών στοιχείων. Αποτελεί, επίσης την πρώτη ύλη για την παραγωγή των γαλακτοκομικών προϊόντων. Συμμετέχει στην παραγωγή ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως είναι το γιαούρτι ή το κεφίρ, που αποτελούν πηγές προβιοτικών. Τα τελευταία χρόνια έχει εκδηλωθεί διεθνώς, ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον όσον αφορά τον γενετικό πολυμορφισμό των πρωτεϊνών του γάλακτος και κυρίως έχει δοθεί ιδιαίτερη βαρύτητα στον πολυμορφισμό των β-καζεϊνών.

Στο πρώτο κεφάλαιο δίνονται ορισμένες πληροφορίες που αφορούν το γάλα, τη σύνθεση του γάλακτος και την παγκόσμια γαλακτοπαραγωγή. Σε εθνικό επίπεδο, οι κυριότερες αυτόχθονες φυλές βοοειδών που εκτρέφονται στην Ελλάδα είναι η Βραχυκερατική, η φυλή Κατερίνης, η Συκιάς και ο Ελληνικός Βούβαλος, ενώ η κυριότερη εισαγόμενη φυλή βοοειδών είναι η φυλή Holstein. Επίσης, αναφέρονται οι δύο κυριότερες ομάδες πρωτεϊνών του γάλακτος, οι καζεΐνες και πρωτεΐνες ορού. Οι κυριότεροι εκπρόσωποι των καζεϊνών είναι οι:  $\alpha_{s1}$ -  $\alpha_{s2}$  -, β-, γ και κ- καζεΐνες, ενώ στις πρωτεΐνες ορού γάλακτος ανήκουν η β-λακτογλοβουλίνη, η α-λακταλβουμίνη, η αλβουμίνη ορού και οι ανοσογλοβουλίνες.

Στο επόμενο κεφάλαιο, αναφέρονται πληροφορίες για τις γενετικές παραλλαγές των πρωτεϊνών. Τα υπεύθυνα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες των καζεϊνών, της β-λακτογλοβουλίνης και α-λακταλβουμίνης έχουν εντοπισθεί στο χρωμόσωμα 6, 5 και 11 αντίστοιχα για τα βοοειδή. Οι γενετικές παραλλαγές, σύμφωνα με διάφορες έρευνες, οφείλονται κυρίως σε συνώνυμες μεταλλάξεις

Το τρίτο κεφάλαιο, αναφέρεται το πως μπορούν να επηρεάσουν οι γενετικές παραλλαγές τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά του γάλακτος, όπως το σημείο πήξης, τη θερμική σταθερότητα, την απόδοση και την αναλογία πρωτεϊνών. Ο προσδιορισμός του γενετικού πολυμορφισμού μπορεί να πραγματοποιηθεί με ηλεκτροφόρηση, τεχνικές HPLC, με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης – ανάλυση μονόκλωνου διαμορφωτικού πολυμορφισμού (PCR-SSCP). Επίσης, αναφέρονται ορισμένες έρευνες που έχουν ως

αντικείμενο έρευνας τις ελληνικές αυτόχθονες ποικιλίες αιγών, προβάτων και βοοειδών και αποδεικνύουν τη συσχέτιση της παραλλακτικότητας των πρωτεϊνών με την απόδοση των γαλακτοπαραγωγικών ζώων και τα χαρακτηριστικά του γάλακτος που παράγεται, οργανοληπτικά ή τεχνολογικά.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ΓΑΛΑ

### 1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Στο άρθρο 80 του Κώδικα Τροφίμων και Ποτών, αναφέρονται ορισμένοι χρήσιμοι ορισμοί που αφορούν το γάλα, :

- Ως **«νωπό γάλα»** νοείται το γάλα που εκκρίνεται από τους μαστικούς αδένες μιας ή περισσότερων αγελάδων, προβατινών, αιγών ή βουβαλίδων, το οποίο δεν έχει θερμανθεί πέραν των 40°C, ούτε έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με ισοδύναμο αποτέλεσμα”.
- **«Γάλα»** είναι το απαλλαγμένο από πρωτόγαλα προϊόν του ολοσχερούς, χωρίς διακοπή αρμέγματος υγιούς γαλακτοφόρου ζώου, που ζει και τρέφεται υπό υγιεινούς όρους και που δεν βρίσκεται σε κατάσταση υπερκόπωσης. Με τον όρο «γάλα» απλά, χωρίς να συνοδεύεται αυτό από κάποιο επίθετο, νοείται αποκλειστικά και μόνο το γάλα το οποίο:
  1. Προέρχεται από αγελάδα.
  2. Είναι νωπό.
  3. Είναι πλήρες.
  4. Δεν έχει υποστεί αφυδάτωση ή συμπύκνωση.
  5. Δεν περιέχει άλλες ύλες που έχουν προστεθεί από έξω.”
- **“Θερμικά επεξεργασμένο γάλα** χαρακτηρίζεται γάλα κατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση που παράγεται με θερμική επεξεργασία άμεσα και αποκλειστικά από νωπό γάλα, και το οποίο έχει τη μορφή γαλακτος παστεριωμένου, UHT και αποστειρωμένου.”
- **“Το παστεριωμένο γάλα πρέπει:**
  - Να έχει υποβληθεί σε επεξεργασία που περιλαμβάνει την έκθεση σε υψηλή θερμοκρασία για μικρό χρονικό διάστημα (τουλάχιστον 71,7°C για 15 δευτερόλεπτα ή ισοδύναμος συνδυασμός) ή σε διαδικασία παστερίωσης που χρησιμοποιεί διαφορετικούς συνδυασμούς χρόνου και θερμοκρασίας για την επίτευξη ισοδυνάμου αποτελέσματος.
  - Να παρουσιάζει αρνητική αντίδραση στη δοκιμασία φωσφατάσης και θετική αντίδραση στη δοκιμασία υπεροξειδάσης. Ωστόσο επιτρέπεται η παραγωγή

παστεριωμένου γάλακτος με αρνητική αντίδραση στη δοκιμασία υπεροξειδάσης, υπό την προϋπόθεση ότι η ετικέτα του γάλακτος φέρει ένδειξη «υψηλής παστερίωσης».

- Αμέσως μετά την παστερίωση, να ψύχεται το συντομότερο δυνατόν, σε θερμοκρασία που δεν υπερβαίνει τους 6<sup>0</sup>C.”
- **“Το γάλα UHT πρέπει:**
  - Να έχει παραχθεί με συνεχή θέρμανση του νωπού γάλακτος που συνεπάγεται τη βραχυχρόνια εφαρμογή υψηλής θερμοκρασίας(τουλάχιστον +135<sup>0</sup>C επί ένα τουλάχιστον δευτερόλεπτο) με σκοπό την καταστροφή όλων των υπολειπομένων μικροοργανισμών και των σπορίων τους, και τη συσκευασία, υπό ασηπτικές συνθήκες, σε αδιαφανή δοχεία ή σε δοχεία που καθίστανται αδιαφανή από τη δεύτερη συσκευασία, κατά τρόπο όμως ώστε να μειώνονται στο ελάχιστο οι χημικές, φυσικές και οργανοληπτικές μεταβολές.
  - Να είναι δυνατόν, να διατηρηθεί, ούτως ώστε να μην ανιχνεύεται δειγματοληπτικά καμία αλλοίωση στο γάλα UHT που έχει διατηρηθεί επί δεκαπενθήμερο σε κλειστή συσκευασία και σε θερμοκρασία 30<sup>0</sup>C. Εφόσον χρειάζεται, μπορεί να προβλέπεται και η διατήρησή του επί επταήμερο σε κλειστή συσκευασία και σε θερμοκρασία +55<sup>0</sup>C C. Στην περίπτωση που η λεγόμενη «πολύ υψηλής θερμοκρασίας» μέθοδος επεξεργασίας του γάλακτος χρησιμοποιείται με απευθείας επαφή του γάλακτος με υδρατμούς, οι υδρατμοί αυτοί πρέπει να προέρχονται από πόσιμο νερό και δεν πρέπει να μεταφέρουν ξένες ουσίες στο γάλα, ούτε να επιδρούν δυσμενώς σε αυτό. Επίσης η εφαρμογή της μεθόδου δεν πρέπει να μεταβάλει την περιεκτικότητα του υφισταμένου την επεξεργασία γάλακτος σε νερό”.
- **“Το αποστειρωμένο γάλα πρέπει:**
  - Να έχει θερμανθεί και αποστειρωθεί σε ερμητικά κλειστές συσκευασίες ή δοχεία, των οποίων το σύστημα κλεισίματος πρέπει να παραμένει άθικτο.
  - Να είναι δυνατόν να διατηρηθεί, σε περίπτωση δειγματοληπτικού ελέγχου, χωρίς να παρουσιάσει καμιά αισθητή αλλοίωση, επί δεκαπενθήμερο, σε κλειστή συσκευασία και σε θερμοκρασία +30<sup>0</sup>C.

Επί πλέον, εάν αυτό είναι αναγκαίο, μπορεί να προβλέπεται και διατήρησή του επί επτάήμερο σε κλειστή συσκευασία και σε θερμοκρασία +55°C”.

- “**«Γάλα Κατάψυξης»** χαρακτηρίζεται το νωπό γάλα, το οποίο έγινε διατηρήσιμο, με κάποια αναγνωρισμένη μέθοδο ταχείας κατάψυξης, που διατηρείται στη συνέχεια σε θερμοκρασία κατώτερη από -15°C, και το οποίο πρέπει να διατίθεται στην κατανάλωση μετά από πλήρη απόψυξη. Το προϊόν που προσφέρεται έτσι πρέπει να πληροί τους όρους σύστασης και χαρακτήρων γενικά του αντίστοιχου νωπού (πλήρους, αποβουτυρωμένου κ.λπ. ) γάλακτος, από το οποίο προήλθε”.
- “**«Γάλα Αποβουτυρωμένο»** χαρακτηρίζεται το προϊόν που απομένει από το νωπό γάλα, μετά την αφαίρεση του λίπους από αυτό με μηχανική κατεργασία και χωρίς καμιά προσθήκη. Αυτό πρέπει να περιέχει λίπος σε ποσοστό 0,5% κατ' ανώτατο όριο και στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (Σ.Υ.Α.Λ. ) όπως καθορίζεται στην παράγραφο 3 (ελάχιστο όριο) ή διαφορετικά ο δείκτης διάθλασης του ορρού του πρέπει να είναι τουλάχιστον 38 ή (εφόσον ο προσδιορισμός του γίνεται ανέφικτος λόγω προσθήκης συντηρητικών) το ειδικό βάρος του ορρού του σε 15°C πρέπει να είναι μικρότερο από 1,036”.
- “**«Γάλα Ημιαποβουτυρωμένο»** χαρακτηρίζεται το προϊόν που απομένει από το νωπό γάλα μετά την αφαίρεση, όπως πιο πάνω, μέρους από το λίπος του, χωρίς οποιαδήποτε προσθήκη, το οποίο πρέπει να περιέχει λίπος σε ποσοστό 1,5-1,8%”.

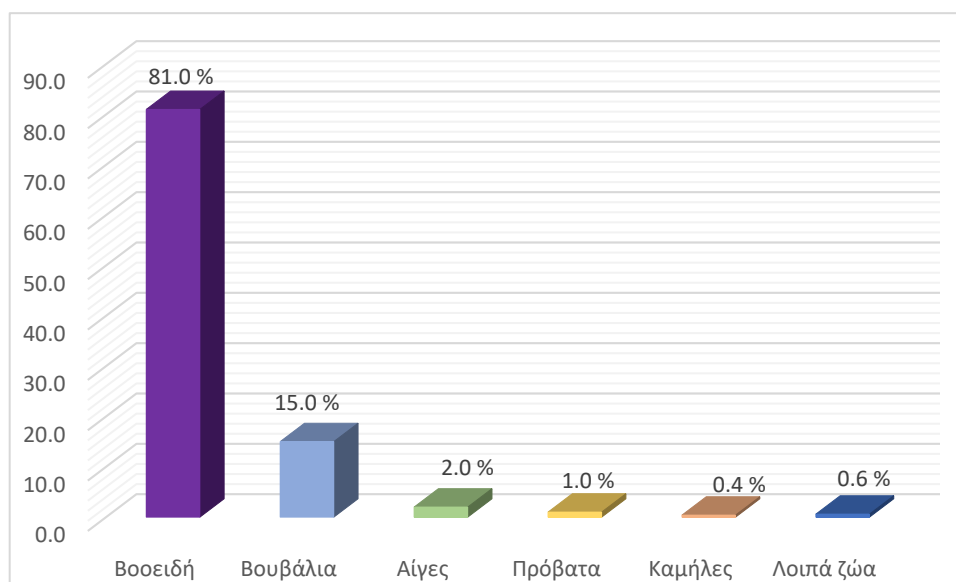
## 1.2 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Σύμφωνα με στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας (F.A.O), η παγκόσμια παραγωγή γάλακτος απασχολεί περίπου 150 εκατομμύρια παραγωγούς. Σε αρκετές από τις αναπτυσσόμενες χώρες, το γάλα παράγεται από μικροπαραγωγούς. Αποτελεί μία σημαντική πηγή εισοδήματος σε αρκετές περιπτώσεις και είναι ένα διατροφικό προϊόν που συνεισφέρει στην επισιτιστική ασφάλεια<sup>1</sup> του κάθε νοικοκυριού (F.A.O, 2021).

---

<sup>1</sup>«Η επισιτιστική ασφάλεια είναι η συνθήκη κατά την οποία όλοι οι άνθρωποι, σε κάθε χρονική στιγμή έχουν φυσική, κοινωνική και οικονομική πρόσβαση σε επαρκή, ασφαλή και θρεπτική τροφή

Στο παρακάτω διάγραμμα 1, διακρίνονται τα κυριότερα είδη γαλακτοπαραγωγικών ζώων: βοοειδή, βουβάλια, κασίκια, πρόβατα, καμήλες. Ένα ποσοστό 0,6% της παγκόσμια παραγωγής γάλακτος είναι από άλλα είδη ζώων όπως είναι το γάλα από γαϊδούρι, φώκια ή wallaby (μικρόσωμο καγκουρώ) (F.A.O, 2021).

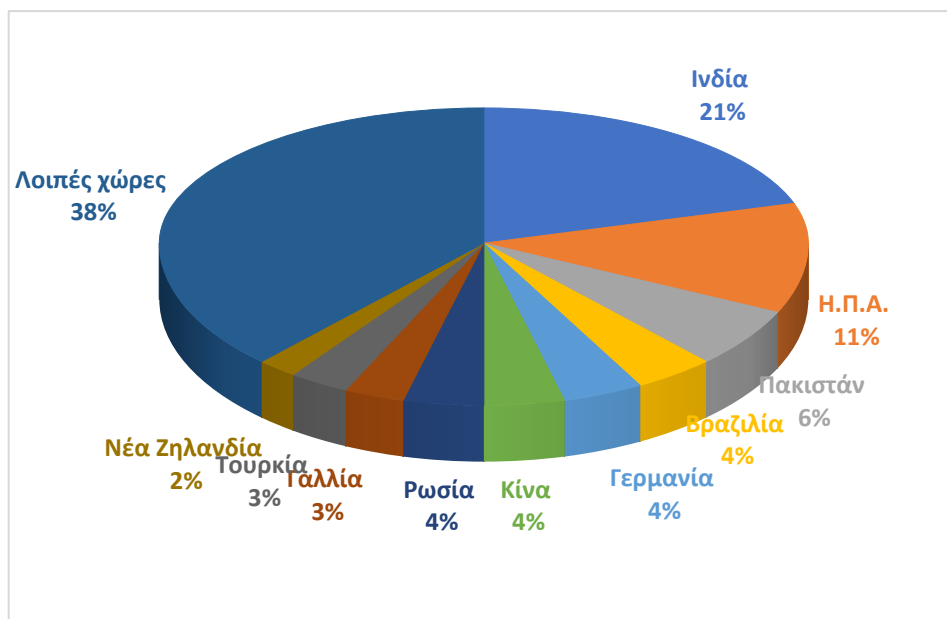


**Διάγραμμα 1:** Γαλακτοπαραγωγικά ζώα και % ποσοστό της συνολικής παραγωγής γάλακτος ανά είδος

**Πηγή:** Βασισμένο σε στοιχεία του FAO, 2019

Σύμφωνα με τα στοιχεία του F.A.O, η παγκόσμια παραγωγή γάλακτος τις τελευταίες τρεις δεκαετίες αυξήθηκε κατά 64% , από περίπου 538 εκατομμύρια τόνους το 1989 στους 883 εκατομμύρια τόνους το 2019. Στην Ασία, σημειώθηκε αύξηση στο διάστημα αυτό σχεδόν κατά 2,5 φορές, από 104 εκατομμύρια τόνους το 1989 σε 369 εκατομμύρια τόνους το 2019. Στο παρακάτω διάγραμμα 2, διακρίνονται οι χώρες με την μεγαλύτερη παραγωγή το 2019. Η Ινδία είναι η μεγαλύτερη χώρα παραγωγός και ακολουθούν οι Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, το Πακιστάν, η Γερμανία, η Κίνα, η Βραζιλία και η Ρωσία (F.A.O, 2021).





**Διάγραμμα 2:** Οι κυριότεροι παγκόσμιοι παραγωγοί γάλακτος και τα αντίστοιχα ποσοστά (%) που αντιστοιχούν στην παγκόσμια παραγωγή

**Πηγή:** Βασισμένο σε στοιχεία του FAO, 2019

Σύμφωνα με τα στοιχεία της Ελληνικής Στατιστικής Αρχής, στην Ελλάδα για την παραγωγή γάλακτος χρησιμοποιούνται κυρίως βοοειδή και αιγοπρόβατα. Η συνολική παραγωγή γάλακτος την περίοδο 2014-2019 παρουσίασε μία πτώση περίπου 55,9 χιλιάδων τόνων (2,77%). Η παραγωγή γάλακτος από πρόβατα αυξήθηκε κατά 45,7 χιλιάδες τόνους, αλλά η παραγωγή του αγελαδινού και του γάλακτος από κατσίκες περιορίστηκε κατά 65,2 και 36,4 χιλιάδες τόνους αντίστοιχα.

**Πίνακας 1:** Παραγωγή γάλακτος στην Ελλάδα κατά είδος ζώου την περίοδο 2014-2019 (σε χιλιάδες τόνους)

Είδος ζώου	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Βοοειδή	725,9	692,2	659,5	665,3	638,4	660,7
Πρόβατα	847,1	846,8	841,0	851,7	873,7	892,8
Αίγες	444,8	432,5	409,7	404,1	407,7	408,4
<b>Σύνολο</b>	<b>2017,8</b>	<b>1971,5</b>	<b>1910,2</b>	<b>1921,2</b>	<b>1919,9</b>	<b>1961,9</b>

**Πηγή:** Βασισμένος σε στοιχεία της ΕΛΣΤΑΤ

### 1.3 ΦΥΛΕΣ ΒΟΟΕΙΔΩΝ ΠΟΥ ΕΚΤΡΕΦΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ



**Εικόνα 1:** α. Βραχυκερατική φυλή (πάνω αριστερά) β. Φυλή Κατερίνης (πάνω δεξιά) γ. Φυλή Συκιάς (κάτω αριστερά) δ. Ελληνικός βούβαλος (κάτω δεξιά)

Πηγή: Γεωργούδης κ.α., 2011

Οι ελληνικές αυτόχθονες φυλές βοοειδών είναι σπάνιες. Μόνο τέσσερις φυλές βοοειδών έχουν καταγραφεί επίσημα και, αυτές, σύμφωνα με τα υπάρχοντα στοιχεία είναι υπό απειλή ή υπό εξαφάνιση (Γεωργούδης κ.α., 2011):

- **Βραχυκερατική.** Με χαρακτηριστικά του *Bos Taurus Brachycerus*. Περιοχές εκτροφής είναι οι ορεινές περιοχές Ηπείρου, Αιτωλοακαρνανίας και Κεφαλονιάς.

- **Κατερίνης.** Ανήκει στις Ελληνικές Στεππικές φυλές βοοειδών. Εκτρέφεται στη Θεσσαλία. Είναι σε κρίσιμη κατάσταση

- **Συκιάς.** Ανήκει στις Ελληνικές Στεππικές φυλές βοοειδών. Κύρια περιοχή εκτροφής θεωρείται η Σιθωνία Χαλκιδικής και είναι σε κατάσταση εξαφάνισης

- **Ελληνικός Βούβαλος.** Ανήκει στον κοινό βούβαλο τύπου Murrah. Εκτρέφεται κυρίως στην Κεντρική και Ανατολική Μακεδονία και Θράκη και είναι φυλή απειλούμενη προς εξαφάνιση.



**Εικόνα 2:** Φυλή Holstein

Πηγή: <https://www.agromasters.gr/cattle-breeds/>

Εκτός από τις αυτόχθονες φυλές βοοειδών, στην Ελλάδα εκτρέφονται και γαλακτοπαραγωγικά ζώα από φυλές, οι οποίες εισήχθησαν στον ελληνικό χώρο. Ο κυριότερος εκπρόσωπος αυτών, είναι η φυλή Holstein. Πρόκειται για μία αγελάδα που αναγνωρίζεται άμεσα από τον χρωματισμό της, ο οποίος είναι ασπρόμαυρος ή ασπρόκόκκινος (εικόνα 2). Σύμφωνα με την Ένωση Φυλής Χολστάιν Ελλάδας, η εκτροφή του ζώου στον ελληνικό χώρο ξεκίνησε το 1950 και στα τέλη τις δεκαετίας του 1970 φάνηκε ότι συγκριτικά με τις υπόλοιπες φυλές, υπερέχει στην γαλακτοπαραγωγή (Ένωση Φυλής Χολστάιν Ελλάδας).

Η φυλή Holstein θεωρείται μία από τις σημαντικότερες φυλές βοοειδών. Έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν τη ζωτροφή που καταναλώνουν σε πρωτεΐνες, κατάλληλες να καταναλωθούν από τον άνθρωπο. Προέρχονται από την Ολλανδία και εκτρέφονταν από μεταναστατευτικές φυλές στο Δέλτα του Ρήνου, 2 χιλιετίες πριν. Ωστόσο, ο ακριβής χρόνος εμφάνισής τους δεν έχει προσδιορισθεί. Το 1621, άποικοι από την Ολλανδία μετέφεραν μαζί τους βοοειδή στη Γερμανία, όπου η εκτροφή τους εξαπλώθηκε και επικράτησε. Στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, το πρώτο κοπάδι αγελάδων Holstein εμφανίστηκε το Belmont, της Μασαχουσέτης (Buchanan, 2016).

Ο χρωματισμός τους είναι χαρακτηριστικός: άσπρο και μαύρο χρώμα σε αναλογίες που ποικίλουν, από 100% μαύρο μέχρι 100% άσπρο. Ο κόκκινος χρωματισμός οφείλεται σε κόκκινο υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο, το οποίο εμφανίζεται σε μικρότερη συχνότητα από το μαύρο (Buchanan, 2016).

Η μέση παραγωγή γάλακτος είναι υψηλή, φθάνοντας τα 25-30 kg ανά ημέρα. Το παραγόμενο γάλα είναι πλούσιο σε λίπος, πρωτεΐνη και ιχνοστοιχεία (Buchanan, 2016). Η φυλή Holstein στην Ελλάδα φθάνουν μία μέση ημέρα γαλακτοπαραγωγή ίση με 8.510 kg γάλακτος σε 305 ημέρες. Ο πρώτος τοκετός του ζώου είναι κατά μέσο όρο στα 2,3 έτη, δηλαδή περίπου στους 28 μήνες, ενώ η μέση διάρκεια της παραγωγικής του ηλικίας είναι 2,3 έτη. Μεταξύ δύο τοκετών μεσολαβεί διάστημα 451 ημερών, ενώ το διάστημα από τον τοκετό μέχρι τη σύλληψη μεσολαβούν περίπου 159 ημέρες (Ένωση Φυλής Χολστάιν Ελλάδας).

#### 1.4 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Το γάλα εκκρίνεται από τα θηλυκά των θηλαστικών ζώων με κύριο σκοπό την πλήρη κάλυψη των διατροφικών απαιτήσεων των νεογνών. Αυτές οι διατροφικές απαιτήσεις δεν είναι ίδιες για όλα τα είδη θηλαστικών, αλλά μεταβάλλονται σημαντικά και εξαρτώνται άμεσα από ένα σύνολο παραγόντων, όπως είναι η ωριμότητά που το νεογνό παρουσιάζει κατά τη γέννησή του, ο ρυθμός ανάπτυξής του και οι ενεργειακές του απαιτήσεις, οι οποίες επηρεάζονται σημαντικά από το περιβάλλον και, κυρίως από τη θερμοκρασία (Goulding et al., 2020).

Κατά συνέπεια, η σύνθεση του γάλακτος, αλλά και η ποσότητα κάθε συστατικού που περιέχεται στο γάλα διαφοροποιείται σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών θηλαστικών ειδών, ώστε να καλύπτονται οι ανάγκες των νεογνών. Ωστόσο, μεταβολές στην ποιοτική και ποσοτική σύσταση του γάλακτος παρατηρούνται και κατά τη διάρκεια της γαλουχίας, καθώς οι απαιτήσεις του νεαρού θηλαστικού μεταβάλλονται. Οι αλλαγές αυτές είναι πιο έντονες κυρίως τις πρώτες μέρες μετά τη γέννηση του ζώου, ειδικά όσο αφορά τις ανοσοσφαιρίνες. Κατά την περίοδο της μέσης γαλουχίας, η σύνθεση είναι σχετικά σταθερή αλλά κατά την όψιμη γαλουχία μεταβάλλεται ξανά (Goulding et al., 2020).

Τέλος, η σύνθεση του γάλακτος διαφοροποιείται ακόμη και μεταξύ μεμονωμένων ζώων του ίδιου είδους. Εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως από τη φυλή στην οποία ανήκει το ζώο, από το στάδιο γαλουχίας, από τη σύσταση και την ποσότητα των ζωοτροφών, από την υγεία του ζώου (Goulding et al., 2020).

Τα θηλαστικά είδη του πλανήτη υπολογίζονται περίπου στα 4500. Η επιστημονική κοινότητα μέχρι σήμερα έχει ασχοληθεί και έχει αναλύσει το γάλα

περίπου των 180 ειδών (~4,0%). Από τα δεδομένα αυτά, αξιόπιστα μπορούν να θεωρηθούν μόνο αυτά που καλύπτουν το γάλα 50 περίπου ειδών, καθώς έχουν επαρκή αριθμό δειγμάτων που ελήφθησαν με αντιπροσωπευτική δειγματοληπτική μέθοδο και καλύπτουν επαρκώς την περίοδο γαλουχίας. Εκτός από το ανθρώπινο μητρικό γάλα, από τα γάλατα που έχουν εμπορική αξία για τον άνθρωπο έχουν χαρακτηριστεί ικανοποιητικά ως προς τη σύνθεσή τους το γάλα των βοοειδών, των αιγοπροβάτων, των βουβαλιών, των γιακ, των καμήλων, των γουρουνιών, των ιπποειδών. Επίσης, σημαντικές πληροφορίες έχουν συλλεχθεί και για άλλα είδη, όπως είναι οι άλκες (είδος ελαφιού), οι τάρανδοι, τα αλπικά (*Lama pacos*), οι φώκιες, οι θαλάσσιοι λέοντες και οι πολικές αρκούδες (Goulding et al, 2020).

Τα κυριότερα συστατικά που συνθέτουν το γάλα είναι οι πρωτεΐνες (1-20%), τα λιπίδια (2-55%), τα λιπαρά οξέα, τα σάκχαρα (λακτόζη- 0-10%), ορισμένα ιχνοστοιχεία (μέταλλα, βιταμίνες, ορμόνες, ένζυμα) και το νερό. Οι πρωτεΐνες αποτελούν βασικό συστατικό του γάλακτος σε όλα τα είδη θηλαστικών. Ο ρόλος τους είναι πολλαπλός. Πρώτα από όλα, παρέχουν στο νεογνό τα απαραίτητα αμινοξέα, δηλαδή τα αμινοξέα που δεν μπορεί να συνθέσει μόνο του. Ταυτόχρονα βοηθούν στη βιοσύνθεση των μη απαραίτητων αμινοξέων παρέχοντας στον νεαρό οργανισμό απαραίτητα δομικά συστατικά όπως είναι οι απαιτούμενες αμινομάδες. Επίσης, ένας σημαντικός αριθμός πρωτεϊνών και πεπτιδίων που περιέχονται στο γάλα συμμετέχουν στις διάφορες μεταβολικές διαδικασίες και στην άμυνα του νεαρού οργανισμού ή αποτελούν δομές των κυττάρων, των συνδετικών ιστών, των μυών και του δέρματός του, όπως για παράδειγμα οι ανοσοσφαιρίνες, τα ένζυμα, αρκετοί αναστολείς των ενζύμων, αυξητικοί παράγοντες, ορμόνες, αντιβακτηριακοί παράγοντες (Goulding et al, 2020).

Οι μέχρι τώρα έρευνες έχουν δείξει ότι το γάλα, ανεξάρτητα από το είδος του ζώου που προέρχεται, περιέχει δύο ομάδες πρωτεϊνικών μορίων: τις καζεΐνες και τις πρωτεΐνες ορού γάλακτος. Η αναλογία και η σύνθεσή τους, όπως αναφέρθηκε, ποικίλουν σημαντικά και εξαρτώνται από πλήθος παραγόντων. Οι δύο πιο σημαντικές πρωτεΐνες του ορού γάλακτος είναι η α-λακταλβουμίνη και η β-λακτοσφαιρίνη. Οι καζεΐνες διακρίνονται σε α-καζεΐνες, β-καζεΐνες, κ- καζεΐνες (Goulding et al., 2020).

Το γάλα, το οποίο καταναλώνεται και χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη για τα γαλακτοκομικά προϊόντα, μπορεί να προέρχεται από αγελάδα, προβατίνα, κατσίκια και άλλα θηλαστικά. Η σύσταση του γάλακτος κάθε ζώου διαφέρει κυρίως ως προς τη ποσότητα των συστατικών που περιέχει (πίνακας 2). Ανεξάρτητα την προέλευση του,

τα κυριότερα συστατικά του γάλακτος είναι το νερό, το λίπος, οι πρωτεΐνες, η λακτόζη, τα διάφορα άλατα κ.α. (Park et al., 2017)

**Πίνακας 2:** Μέση σύσταση του γάλακτος από αίγα, πρόβατο, αγελάδα και άνθρωπο

ΣΥΝΘΕΣΗ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	Αίγας	Πρόβατου	Αγελάδας	Ανθρώπου
Λίπος (%)	4,7	7,9	3,6	4,0
Στερεά χωρίς λίπος (%)	8,9	12,0	9,0	8,9
Ολικές πρωτεΐνες (%)	3,4	6,2	3,2	1,2
Καζεΐνη (%)	2,4	4,2	2,6	0,4
Υδατοδιαλυτές πρωτεΐνες (%)	0,6	1,0	0,6	0,7
Λακτόζη(%)	4,1	4,9	4,7	6,9
Τέφρα (%)	0,8	0,9	0,7	0,3
Μη πρωτεϊνικό άζωτο (%)	0,4	0,8	0,2	0,5
Θερμίδες /100ml	70,0	105,0	69,0	68,0

Πηγή : Park et al., 2007

Στον πίνακα 3, δίνεται η σύσταση του γάλακτος από διάφορες φυλές αγελάδων και αιγοπροβάτων.

**Πίνακας 3:** Σύσταση γάλακτος από διάφορες φυλές ζώων

ΦΥΛΕΣ	ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ (%)				
	Λίπος	Πρωτεΐνες	Λακτόζη	Τέφρα	Ολικά στερεά
<b>Αγελαδινό</b>					
Holstein	3,54	3,29	4,68	0,72	12,16
Ayrshire	3,95	3,48	4,60	0,72	12,77
Jersey	5,13	3,98	4,83	0,77	13,08
<b>Πρόβειο</b>					
Βλάχικο (ελληνική)	9,05	6,52	-	0,95	20,61
Καραγκούνικο (ελληνική)	8,70	6,60	-	0,93	20,31
Χίου (ελληνική)	7,90	6,20	-	0,92	19,08
Μπούτσικο (ελληνική)	7,68	6,04	4,80	0,93	19,30

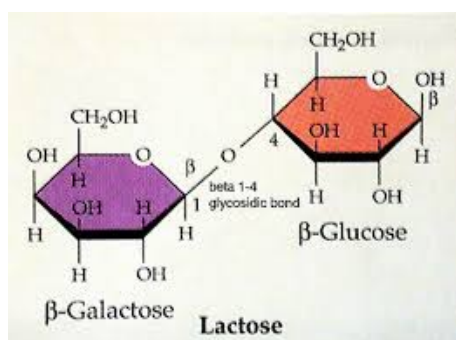
Λακούμ (γαλλική)	7,40	5,63	4,67	0,93	18,63
Mancheta (ισπανική)	7,78	6,01	4,29	0,90	18,98
Nadjii (Σαουδ.) Αραβίας	5,31	4,71	4,48	0,86	15,36
<b>Γίδινο</b>					
Ντόπιες ελληνικές	5,18	3,56	4,74	0,79	14,12
Ντόπιες πορτογαλικές	5,10	3,50	4,76	0,82	13,98
Ντόπιες νορβηγικές	3,83	3,22	4,47	0,79	12,37

-: δεν δίνονται δεδομένα

Πηγή: Κεχαγιάς, 2011

#### 1.4.1 ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ

Ο κύριος **υδατάνθρακας** του γάλακτος είναι η λακτόζη, η οποία υπάρχει αποκλειστικά στο γάλα. Η λακτόζη είναι ένας δισακχαρίτης ο οποίος σχηματίστηκε από ένα μόριο α-D-γλυκόζης και ένα μόριο β-D-γαλακτόζης με ημιακεταλικό δεσμό 1-4 (Κεχαγιάς, 2011).



Εικόνα 3: Μόριο Λακτόζης

Πηγή: [http://opencourses.aua.gr/wp-content/uploads/courses/ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ%20ΤΡΟΦΙΜΩΝ%20ΚΑΙ%20ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ%20ΤΟΥ%20ΑΝΘΡΩΠΟΥ/ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ%20ΤΡΟΦΙΜΩΝ/ETT\\_2470\\_6a\\_1h](http://opencourses.aua.gr/wp-content/uploads/courses/ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ%20ΤΡΟΦΙΜΩΝ%20ΚΑΙ%20ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ%20ΤΟΥ%20ΑΝΘΡΩΠΟΥ/ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ%20ΤΡΟΦΙΜΩΝ/ETT_2470_6a_1h)

Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε λακτόζη είναι αρκετά διαφορετική από θηλαστικό σε θηλαστικό π.χ. η περιεκτικότητα του γάλακτος της αγελάδας είναι περίπου 4,6% σε λακτόζη ενώ του ανθρώπου 7% (Κεχαγιάς, 2011).

Η λακτόζη είναι ένας δισακχαρίτης σταθερός σε ενζυμική επίθεση, αλλά πολύ ευαίσθητος σε μικροβιακή επίθεση. Η λακτόζη αποικοδομείται σε γλυκόζη και γαλακτόζη και καταλήγει στην παραγωγή πυροσταφυλικού οξέος. Στη συνέχεια προκύπτει L(+) ή D(-) γαλακτικό οξύ ή διάφορα μίγματά τους, γεγονός που συνεπάγεται τη μείωση του pH και επηρεάζει τις φυσικές ιδιότητες της καζεΐνης και, ως εκ τούτου, προάγει την πεπτικότητα, βελτιώνει τη χρησιμοποίηση του ασβεστίου και άλλων μετάλλων και αναστέλλει την ανάπτυξη των δυνητικά επιβλαβών βακτηρίων (Κεχαγιάς, 2011).

#### 1.4.2 ΛΙΠΑΡΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Η λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος είναι διαφορετική ανάλογα με το είδος του θηλαστικού. Για παράδειγμα, το αγελαδινό γάλα έχει μικρότερη λιποπεριεκτικότητα από το κατσικίσιο και το πρόβειο (πίνακας 2)

Η λιπαρή φάση του γάλακτος είναι διασκορπισμένη σε αυτό ως λιποσφαίρια, δηλαδή με μορφή μικροσκοπικών σφαιρών. Στη λιπαρή φάση του γάλακτος διακρίνονται τρεις κατηγορίες ενώσεων : ουδέτερα λίπη (τριγλυκερίδια, διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια), τα πολικά λιπίδια (φωσφολιπίδια, γλυκολιπίδια) και τα ασαπωνοποιητά συστατικά (στερόλες, λιποδιαλυτές βιταμίνες, καροτενοειδή). Το γαλακτικό λίπος αποτελείται από τριγλυκερίδια σε ποσοστό περίπου 98%, διγλυκερίδια περίπου 0,5%, χοληστερόλη σε ποσοστό μικρότερο του 0,5%, φωσφολιπίδια περίπου 1% και ελεύθερα λιπαρά οξέα περίπου 0,1% (πίνακας 4) (MacGibbon, 2020).

**Πίνακας 4:** Λιπαρά οξέα στο γάλα της αγελάδας, των αιγοπροβάτων και του ανθρώπου

	Αγελάδας	Προβάτου	Αίγας	Ανθρώπινο
4:0 (βουτυρικό οξύ)	3,3	4,0	2,6	-
6:0 (καπρωϊκό οξύ)	1,6	2,8	2,9	
8:0 (καπρυλικό οξύ)	1,3	2,7	2,7	
10:0 (καπρινικό οξύ)	3,0	9,0	8,4	1,3
12:0 (λαουρικό οξύ)	3,1	5,4	3,3	3,1
14:0 (μυριστικό οξύ)	9,5	11,8	10,3	5,1
16:0 (παλμιτικό οξύ)	26,3	25,4	24,6	20,2
16:1(παλμιτελαϊκό οξύ)	2,3	3,4	2,2	5,7
18:0 (στεατικό οξύ)	14,6	9,0	12,5	5,9



18:1 (ελαϊκό οξύ)	29,8	20,0	28,5	46,4
18:2 (λινελαϊκό οξύ)	2,4	2,1	2,3	13,0
18:3 (λινολενικό οξύ)	0,8	1,4	-	1,4

Πηγή: Macgibbon, 2020

Τα τριγλυκερίδια του λίπους υδρολύονται ενζυμικά με αποτέλεσμα την απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων. Παρατηρείται ότι τα κορεσμένα λιπαρά οξέα αποτελούν το σχεδόν το 63% των λιπαρών οξέων (πίνακας 4) (MacGibbon, 2020).

#### 1.4.3 BITAMINEΣ ΚΑΙ ΑΛΑΤΑ

Στο γάλα με τον όρο άλατα εννοούμε τις ουσίες εκείνες που βρίσκονται σε αυτό υπό τη μορφή ιόντων ή μη ιονισμένες ( στο pH που έχει το γάλα), σχετικά μικρού μοριακού βάρους (300) εκτός H<sup>+</sup> και OH<sup>-</sup>. Κατά αυτόν τον τρόπο, στην κατηγορία των αλάτων δεν περιλαμβάνονται μεγαλομοριακές ουσίες, όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, βιταμίνες (Ανδρικόπουλος, 2015).

Τα άλατα του γάλακτος έχουν διατροφική και τεχνολογική αξία. Επηρεάζουν :

- I. Τη διατροφή του ανθρώπου (ασβέστιο, φώσφορος)
- II. Τη δομή της καζεΐνης (διαλυτοποίηση κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου)
- III. Τη σταθερότητα του γάλακτος στη θέρμανση (έλλειψη ισορροπίας αλάτων → αστάθεια του γάλακτος )
- IV. Τον χρόνο πήξεως του γάλακτος με πυτιά ( κυρίως ιόντα ασβεστίου)
- V. Τον αρωματικό χαρακτήρα ορισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων (βούτυρο), καθώς τα κιτρικά άλατα χρησιμοποιούνται από ορισμένους μικροοργανισμούς για τον σχηματισμό αρωματικών ουσιών.
- VI. Μερικά μέταλλα (χαλκός και σίδηρος) δρουν ως προ-οξειδωτικοί παράγοντες

**Πίνακας 5:** Μέση περιεκτικότητα σε μεταλλικά στοιχεία (ποσότητα δείγματος 100g) σε γάλα αγελάδας, αίγας, προβάτου και ανθρώπου

Μέσοι όροι σε διάφορα γάλατα				
	Αγελάδας	Αίγας	Προβάτου	Γυναίκας
Κάλιο (mg)	152	181	136	55
Νάτριο (mg)	58	41	44	15
Ασβέστιο (mg)	122	134	193	33
Μαγνήσιο (mg)	12	16	18	4
Φώσφορος (mg)	119	121	158	43
Χλώριο (mg)	100	150	160	60
Θείο (mg)	32	28	29	14

Πηγή: Park et al, 2007

Στο γάλα, οι κυριότερες βιταμίνες που περιέχονται είναι: βιταμίνη Α και D καθώς και τις προβιταμίνες τους, Ε, Β1 (θειαμίνη), Β2 (ριβοφλαβίνη), Β6 (πυροδοξάλη), Β12, νιοτινικό οξύ, παντοθεικό οξύ, χολίνη, βιοτίνη και βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) (Ανδρικόπουλος, 2015).

#### 1.4.4 Ένζυμα

Τα ένζυμα στο γάλα διακρίνονται σε **ενδογενή** και **εξωγενή ένζυμα**. Τα ενδογενή ένζυμα αποτελούν μέρος της φυσιολογικής σύνθεσης του γάλακτος όταν εκκρίνεται από το μαστό του ζώου, ενώ τα εξωγενή ένζυμα παράγονται από μικροοργανισμούς που επιμολύνουν το γάλα μετά την άρμεξη (Nunez, 2016).

Τα ενδογενή ένζυμα έχουν ιδιαίτερη σημασία για το γάλα. Είναι συνδεδεμένα με τα μικκύλια της καζεΐνης ( πχ πλασμίνη, λιποπρωτεΐνη, λιπάση) και τη μεμβράνη των λιποσφαιριδίων (πχ αλκαλική φωσφατάση, ξανθίνη- οξειδάση) και ορισμένα από αυτά συναντώνται και στον ορό του γάλακτος (πχ γαλακτοϋπεροξειδάση, λυσισωμικές πρωτεϊνάσες) (Nunez, 2016).

Τα ενδογενή ένζυμα μπορούν να επηρεάσουν είτε θετικά είτε αρνητικά τον οργανοληπτικό χαρακτήρα του γάλακτος, καθώς είναι υπεύθυνα για την παραγωγή ενώσεων που προσφέρουν άρωμα και γεύση, όπως η λιποπρωτεϊνική λιπάση. Επίσης, προκαλούν υδρόλυση των πρωτεϊνών στο γάλα και στα προϊόντα του, όπως η πλασμίνη κατά την ωρίμανση πολλών τυριών. Τέλος, ορισμένα δρουν αντιβακτηριακά, όπως η λυσοζύμη και η λακτοϋπεροξειδάση (Nunez, 2016).

## 1.4.5 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

### 1.4.5.1 ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Οι πρωτεΐνες του ορού γάλακτος διαχωρίζονται από τις καζεΐνες κατά την απομόνωση των καζεϊνών και κατά τη διαδικασία της τυροκόμησης, ως παραπροϊόντα. Περιέχει δύο καλά καθορισμένες πρωτεϊνικές ομάδες: τις λακταλβουμίνες (lactalbumins) και τις λακτοσφαιρίνες (lactoglobulins). Οι λακταλβουμίνες διαλύονται (salting in) σε κορεσμένο διάλυμα θειικού αμμωνίου  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$  ή κορεσμένο διάλυμα θειικού μαγνησίου ( $\text{MgSO}_4$ ), ενώ οι λακτοσφαιρίνες είναι αδιάλυτες (salting out) σε αυτές τις συνθήκες. Στο κλάσμα της λακταλβουμίνης, κύριες πρωτεΐνες είναι η α- λακτοσφαιρίνη και η β- λακταλβουμίνη, ενώ περιέχονται και αρκετές δευτερεύοντες πρωτεΐνες οι οποίες βρίσκονται σε μικρότερες ποσότητες όπως είναι η λευκωματίνη (αλβουμίνη) ορού και η λακτοφερρίνη. Το κλάσμα της λακτοσφαιρίνης περιέχει κυρίως τις ανοσοσφαιρίνες που περιέχονται στο γάλα.

Υπάρχει σημαντικό ενδιαφέρον σε εμπορική κλίμακα για τις κύριες και για πολλές από τις δευτερεύουσες πρωτεΐνες του ορού του γάλακτος. Τα προϊόντα που περιέχουν πρωτεΐνη ορού γάλακτος έχουν διατροφική, θρεπτική και λειτουργική αξία και εφαρμογή. Παρασκευάζονται κατά τις ακόλουθες διαδικασίες (Goulding et al., 2020):

- Υπερδιήθηση (ultrafiltration) / διαδιήθηση (diafiltration). Μπορεί να εφαρμοστεί στο τυρόγαλα που παραλαμβάνεται κατά την διαδικασία παραγωγής τυριού όταν μετά την προσθήκη πτυιάς το γάλα πήζει και απομακρύνεται το τυρόπηγμα. Απομακρύνει διάφορες ποσότητες λακτόζης, μη πρωτεϊνικά αζωτούχα κλάσματα, άλατα, λίπος και βακτήρια και στη συνέχεια με κατά τη ξήρανση με ψεκασμό παράγονται συμπυκνώματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος (πρωτεΐνη 30% – 85%)

- Χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων και ξήρανση με ψεκασμό. Η καθαρότητα των συμπυκνωμάτων που παράγονται με την μέθοδο αυτή μπορεί να φθάσει ως το 95% της απομονωμένης πρωτεΐνης

- Απομεταλλοποίηση με ηλεκτροδιάλυση ή ιονική ανταλλαγή, θερμική εξάτμιση νερού και κρυστάλλωση λακτόζης

- Θερμική μετουσίωση. Η θερμικώς κατακρημνισμένη πρωτεΐνη απομακρύνεται από τον ορό γάλακτος με διήθηση / φυγοκέντρηση και ξήρανση με ψεκασμό. Είναι μία μέθοδος που χρησιμοποιείται για παράδειγμα κατά την παραγωγή λακταλβουμίνης, η οποία μετά τη θερμική μετουσίωση έχει ελάχιστη διαλυτότητα και κακή λειτουργικότητα.

#### 1.4.5.1.1 β-Λακτογλοβουλίνη ή β-Λακτοσφαιρίνη

Η β-λακτογλοβουλίνη ή β-λακτοσφαιρίνη (β-lactoglobulin - β - Lg) είναι η κυριότερη πρωτεΐνη του ορού γάλακτος των περισσότερων θηλαστικών. Είναι εκείνη η πρωτεΐνη ορού που βρίσκεται σε μεγαλύτερη αφθονία στο γάλα των μηρυκαστικών, όπως των βοειδών, αιγο-προβάτων και νεροβούβαλων. Ωστόσο, είναι μία πρωτεΐνη που δεν βρίσκεται στο γάλα ( Deeth & Bansal, 2019):

- ορισμένων τρωκτικών, όπως είναι τα ποντίκια, οι αρουραίοι και τα ινδικά χοιρίδια
- ορισμένων λαγόμορφων, όπως τα κουνέλια
- ορισμένων κάμηλων, όπως οι καμήλες και τα λάμα
- ορισμένων πρωτεύοντων, όπως ο άνθρωπος και ο χιμπατζής

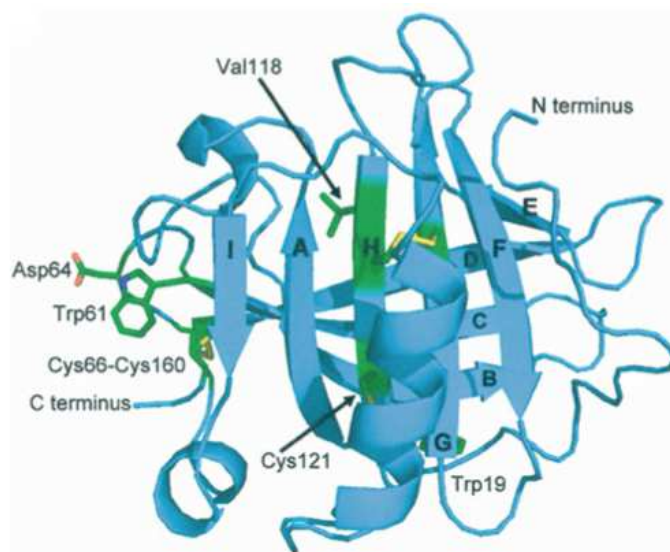
Η σύνθεσή της β-λακτοσφαιρίνης πραγματοποιείται στα εκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα του μαστικού αδένου των ζώων. Μεταξύ των διαφορετικών ειδών υπάρχει σημαντική μεταβλητότητα. Στο γάλα των βοειδών, αντιπροσωπεύει ένα ποσοστό ίσο με 10 – 12% του συνολικού πρωτεϊνικού περιεχομένου του γάλακτος, ενώ στον ορό γάλακτος το ποσοστό αυτό ανέρχεται περίπου στο 50%. Στο γάλα των χοίρων, η περιεκτικότητα της β-λακτοσφαιρίνης κυμαίνεται από 0,6 -16,2 mg/ml. Για ζώα που ανήκουν στο ίδιο είδος, η συγκέντρωση της πρωτεΐνης αυτής εξαρτάται από τη φυλή, το στάδιο της γαλουχίας, την εποχή του έτους, τη διατροφή του ζώου ( Deeth & Bansal, 2019).

**Χημική δομή:** Η β-λακτοσφαιρίνη είναι μία σφαιρική πρωτεΐνη, η οποία είναι μέλος της οικογένειας των λιποκαλινών. Στα βοειδή, η β-λακτογλοβουλίνη περιέχει περίπου 162 αμινοξέα, ενώ η μοριακή μάζα είναι περίπου 18.300 Da. Το ισοηλεκτρικό σημείο της είναι το pH = 5,2 (Goulding et al., 2020).

Η δομή της β-λακτοσφαιρίνη έχει προσδιορισθεί με τη βοήθεια διαφόρων τεχνικών: της υπέρυθρης φασματοσκοπίας (IR), του κυκλικού διχρωισμού, της

φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και των ακτίνων X (X-ray). Στο γάλα βοοειδών, η β-λακτοσφαιρίνη περιέχει κατά μέσο όρο 45% β-φύλλα, 8% α-έλικες και 47% τυχαία πηνία (Sawyer, 2013).

Οι εννέα δομές A-I των β-φύλλων οδηγούν στον σχηματισμό ενός «κάλυκα» (θύλακα) μέσα στο μόριο, μίας κοιλότητας στην οποία μπορούν να δεσμευτεί ένας σημαντικός αριθμός μορίων που επιδρά στον λειτουργικό ρόλο της συγκεκριμένης πρωτεΐνης (Deeth & Bansal, 2019).



**Εικόνα 4:** Δομή της β-λακτοσφαιρίνης όπου διακρίνονται οι δομές β-φύλλων (A-I), α-έλικες και τυχαία πηνία  
Πηγή: Sawyer, 2013

Το κάθε μόριο β-λακτοσφαιρίνης έχει σφαιρικό σχήμα με διάμετρο περίπου 3,6 nm. Η β-Lg σε pH μικρότερο των 3,5 και μεγαλύτερο του 7,5 συναντάται ως μονομερές, σε pH 3,5-5,5 ως οκταμερές (δηλαδή δομή 8 μορίων), σε pH 5,5 -7,5 ως διμερές (Goulding et al., 2020).

**Βιολογικός ρόλος:** Μία ιδιότητα της β-λακτογλοβουλίνης είναι ότι στη φυσική της μορφή παρουσιάζει ανθεκτικότητα έναντι της πρωτεόλυσης. Αυτό σημαίνει ότι παρουσιάζει περιορισμένη διατροφική λειτουργικότητα. Ο ρόλος της σχετίζεται με την ικανότητα που έχει να δεσμεύει ορισμένα μόρια, μέσα στον «κάλυκα» που σχηματίζει στη δομή της (Goulding et al., 2020).

Για παράδειγμα δεσμεύει τη ρετινόλη, η οποία είναι γνωστή και ως βιταμίνη A, προστατεύοντας την από την οξείδωση και επιτρέποντας τη μεταφορά της στο λεπτό έντερο του στομάχου. Εκεί, η ρετινόλη απομακρύνεται από τον θύλακα της β-

λακτοσφαιρίνης, καθώς δεσμεύεται από μίας άλλη πρωτεΐνη, παρόμοιας δομής με τη β-λακτοσφαιρίνη. Δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως πώς γίνεται η μεταφορά της ρετινόλης από τον πυρήνα των σφαιριδίων λίπους του γάλακτος, στα οποία αρχικά είναι εγκλωβισμένη, στο μόριο της β-λακτοσφαιρίνης, καθώς και γιατί ορισμένα θηλαστικά στο γάλα που εκκρίνουν δεν έχουν β-λακτοσφαιρίνη (Goulding et al., 2020).

Επίσης, η β-λακτοσφαιρίνη δεσμεύει λιπαρά οξέα και διεγείρει τη δράση της λιπάσης (Goulding et al., 2020).

#### 1.4.5.1.2 α-Λακταλβουμίνη

Η α-λακταλβουμίνη (α-lactalbumin – α-La) είναι η κυριότερη πρωτεΐνη του ανθρώπινου γάλακτος. Αποτελεί το 3,5% των ολικών πρωτεϊνών του αγελαδινού γάλακτος και το 20-25% των πρωτεϊνών του ορού γάλακτος (Jakorovic et al., 2016).

Η α-λακταλβουμίνη εκτός από τα γάλατα των βοοειδών έχει απομονωθεί επίσης και από το γάλα των προβάτων, της κασίικας, των χοίρων, των ανθρώπων, των βουβάλων, των αρουραίων, των ινδικών χοιριδίων, των ιπποειδών και πολλών άλλων θηλαστικών. Παρουσιάζονται μικρές διαφορές στη σύνθεση και τις ιδιότητες της α-λακταλβουμίνης των διαφορετικών ειδών (Goulding et al., 2020). Για παράδειγμα, στο βόειο γάλα, η α-λακταλβουμίνη από τα απαραίτητα αμινοξέα περιέχει υψηλότερες ποσότητες ιστιδίνης, τρυπτοφάνης και βαλίνης, ενώ στο ανθρώπινο γάλα είναι πλουσιότερη σε ισολευκίνη, λευκίνη και μεθειονίνη. Επίσης, από τα μη απαραίτητα αμινοξέα στο βόειο γάλα υψηλότερες ποσότητες παρουσιάζουν η ασπαραγίνη και το ασπαρτικό οξύ, ενώ στο ανθρώπινο γάλα υπερισχύουν οι συγκεντρώσεις της αλανίνης, γλουταμίνης, σερίνης και γλουταμινικού οξέος. Οι ποσότητες των υπολοίπων απαραίτητων και μη απαραίτητων αμινοξέων είναι ίσες (Jakorovic et al., 2016).

Το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων για την απομόνωση της α-λακταλβουμίνης είναι αυξημένο, καθώς αποτελεί ένα προϊόν που προορίζεται για ομάδες ανθρώπων που πάσχουν από ορισμένες διαταραχές υγείας ή για βρέφη (Jakorovic et al., 2016).

#### **Χημική δομή:**

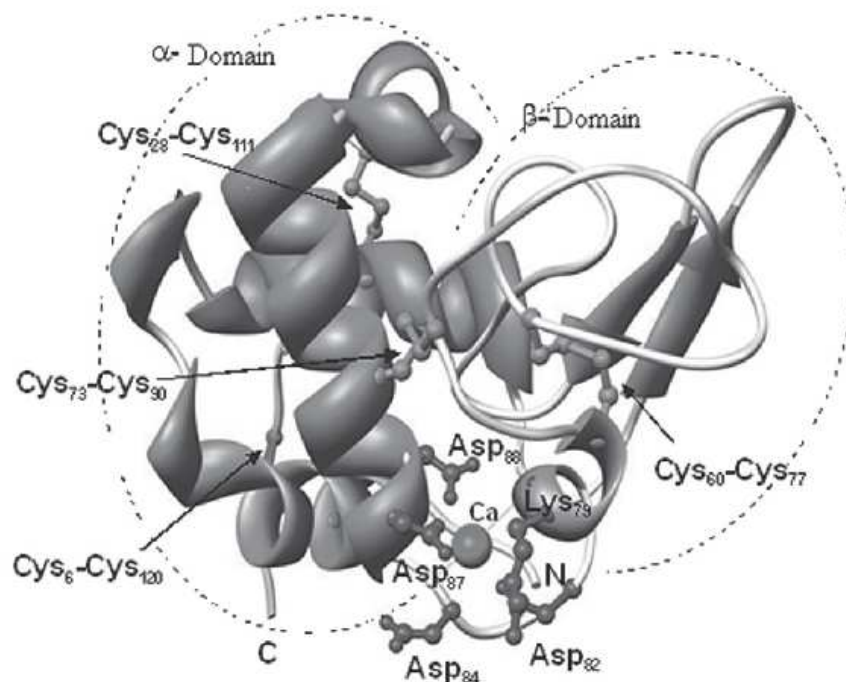
Είναι μια μικρή, συμπαγής, εξαιρετικά δομημένη σφαιρική πρωτεΐνη που αποτελείται από 123 αμινοξέα και με τη μοριακή της μάζα να προσεγγίζει τα 14 kDa. Η α-λακταλβουμίνη είναι μεταλλοπρωτεΐνη και περιέχει τέσσερα μόρια τρυπτοφάνης ανά mole, προσδίνοντάς του ειδική απορρόφηση στα 280 nm περίπου ίση με 20 ( $E_{1cm}^{1\%} = 20,1$ ). Επίσης, ανά mole α-λακταλβουμίνης περιέχονται τέσσερις ενδομοριακοί δισουλφιδικοί δεσμοί, χωρίς όμως να συνοδεύονται από την παρουσία κυστεΐνης, φωσφορικών αλάτων ή υδατανθράκων. Το ισοηλεκτρικό της σημείο είναι περίπου σε pH 4,8 (Goulding et al., 2020).

Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι η α-λακταλβουμίνη αποτελεί εξέλιξη της λυσοζύμης, μέσω γονιδιακού διπλασιασμού. Η ομοιότητα της πρωτοταγούς και της τριτοταγούς δομής των δύο πρωτεϊνών (α-λακταλβουμίνη και λυσοζύμη) στηρίζουν αυτόν τον ισχυρισμό. Η πρωτοταγής δομή της α-λακταλβουμίνης είναι ομόλογη με την δομή της λυσοζύμης, καθώς 54 από τα 123 (43,9%) παρουσιάζουν ομοιότητα με τα αντίστοιχα αμινοξέα της λυσοζύμης που απομονώθηκε από αυγό κοτόπουλου, ενώ άλλα 23 είναι δομικά παρόμοια. Η τριτοταγής δομή της είναι παρόμοια με της λυσοζύμης (Goulding et al., 2020).

Στην παρακάτω εικόνα, παρουσιάζεται ένα μοντέλο του μορίου της α-λακταλβουμίνης. Η σφαιρική δομή της σταθεροποιείται με τη βοήθεια τεσσάρων δισουλφικών δεσμών μεταξύ αμινοξέων κυστεΐνης (Cys<sub>6</sub>-Cys<sub>120</sub>, Cys<sub>60</sub>-Cys<sub>77</sub>, Cys<sub>90</sub>-Cys<sub>73</sub>, Cys<sub>28</sub>-Cys<sub>111</sub>). Η τριτοταγής δομή του μορίου αποτελείται από δύο τομείς: τον μεγάλο τομέα (α-Domain) που περιλαμβάνει τα αμινοξέα από 1-34 και 86-123 και τον μικρό τομέα (β-Domain) που περιλαμβάνει τα αμινοξέα 35-85. Στον μεγάλο τομέα σχηματίζονται τέσσερις α-έλικες, εκ των οποίων οι τρεις (μεταξύ των αμινοξέων 5-11, 23-34, 86-98) είναι σταθερές συναρτήσεως του pH, αντίθετα από την τέταρτη έλικα (23-34 αμινοξέα) η οποία εξαρτάται από τη μεταβολή του pH. Επίσης υπάρχουν δύο μικρότερες έλικες (18-20 και 115-118 αμινοξέα) και ένα εύκαμπτο τμήμα μεταξύ των αμινοξέων 105-110, το οποίο σε pH 6,5-8,0 παίρνει ελικοειδής διαμόρφωση. Στον μικρότερο τομέα, υπάρχει μία μικρή έλικα (77-80 αμινοξέα) καθώς και τρία αντιπαράλληλα φύλλα β-πτυχώσεων (41-44, 47-50 και 55-56 αμινοξέα) (Jakorovic et al., 2016)

Η α-λακταλβουμίνη είναι μία μεταλλοπρωτεΐνη καθώς έχει την ικανότητα να δεσμεύει μέταλλο-κατιόντα. Η θέση δέσμευσης του ασβεστίου διαμορφώνεται από τις καρβοξυλικές ομάδες τριών αμινοξέων ασπαρτικού οξέος (Asp<sub>82</sub>, Asp<sub>87</sub>, Asp<sub>88</sub>), δύο

καρβονυλικούς δεσμούς μεταξύ λυσίνης (Lys79) και ασπαρτικού οξέος (Asp88) και ενός ή δύο μορίων νερού. Στην ανθρώπινη α-λακταλβουμίνη επιβεβαιώθηκε και μία δεύτερη θέση δέσμευσης, λιγότερο σταθερή και απομακρυσμένη από την πρώτη, για τα κατιόντα ασβεστίου ( $Ca^{2+}$ ), μεταξύ των αμινοξέων Thr<sub>38</sub>, Gln<sub>39</sub>, Asp<sub>83</sub>, Leu<sub>81</sub>. Άλλα κατιόντα μετάλλων που μπορούν να δεσμευτούν από την α-λακταλβουμίνη είναι το μαγνήσιο ( $Mg^{2+}$ ), το νάτριο ( $Na^{+}$ ) και το κάλιο ( $K^{+}$ ). Τα δεσμευμένα κατιόντα μετάλλων ενισχύουν τη σταθερότητα της πρωτεΐνης έναντι των παραγόντων μετουσίωσης στους οποίους μπορεί να εκτεθεί, όπως είναι η θερμοκρασία, η πίεση, το pH (Jakorovic et al., 2016).



**Εικόνα 5:** Μοντέλο της δομής της α-λακταλβουμίνης

Πηγή: Jakorovic et al., 2016

**Βιολογικός ρόλος:** Η κύρια βιολογική λειτουργία της α-λακταλβουμίνης είναι η συνεισφορά της στη συνθάση της λακτόζης. Η συνθάση της λακτόζης αποτελείται από δύο μονάδες:

- την γαλακτοζυλοτρανσφεράση, η οποία καταλύει την σύνθεση της λακτόζης από τους μονοσακχαρίτες γαλακτόζη και γλυκόζη
- την α-λακταλβουμίνη, η οποία λειτουργεί ρυθμιστικά.

Για την ακρίβεια, μετά την προσκόλληση της α-λακταλβουμίνης στη γαλακτοζυλοτρανσφεράση, ενεργοποιείται η μετατροπή της γαλακτόζης σε N-



ακετυλογλυκοζαμίνη και ακολουθείται από τη σύνθεση λακτόζης από την ουριδυλοδιφωσφορική-γαλακτόζη και τη γλυκόζη. Η αντίδραση πραγματοποιείται στο σύστημα Golgi και απαιτεί την παρουσία κατιόντος μαγνησίου ( $Mg^{2+}$ ) (Jakorovic et al., 2016).

Οπότε, υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων α-λακταλβουμίνης και λακτόζης στο γάλα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της συσχέτισης μεταξύ α-λακταλβουμίνης και λακτόζης είναι στα υδρόβια, θαλάσσια θηλαστικά. Τα θαλάσσια θηλαστικά, όπως οι φώκιες, οι θαλάσσιοι λέοντες, οι μανάτοι, τα δελφίνια και οι φάλαινες παράγουν θρεπτικά γάλατα που έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε ενέργεια και λίπος, η οποία όμως μεταβάλλεται ανάλογα με το στάδιο της γαλουχίας και τις θερμορρυθμιστικές απαιτήσεις του ζώου. Η περιεκτικότητα σε σάκχαρα είναι χαμηλή, καθώς υφίσταται η ανάγκη να περιοριστεί στο ελάχιστο η μεταβολική διαδικασία της γλυκονεογένεσης σε είδη που κατά την γαλουχία ακολουθούν νηστεία ή να αυξηθεί η περιεκτικότητα σε λιπαρά, ακόμη και στο 40-60% σε είδη που αναγκάζονται να διανύουν μεγάλες αποστάσεις για αναζήτηση τροφής, χωρίς θηλασμό. Οι πρωτεΐνες που παρουσιάζει το γάλα αυτών των θηλαστικών αποτελούνται από καζεΐνες και πρωτεΐνες ορού γάλακτος, αλλά συχνά δεν διαθέτουν λειτουργική α-λακταλβουμίνη, όπως ο θαλάσσιος λέοντας και ο θαλάσσιος ίππος ή ακόμη και καθόλου, όπως η φάλαινα με ράμφος του Stejnerer. Το γάλα, επίσης, του μανάτο της Δυτικής Ινδίας παρουσιάζει μόνο ίχνη λακτόζης και εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα α-λακταλβουμίνης (Ofstedal, 2011).

#### 1.4.5.1.3 Αλβουμίνη ορού

Το βόειο γάλα περιέχει 0,1–0,4 g/L αλβουμίνης ορού αίματος (Blood Serum Albumin – BSA) το οποίο αντιστοιχεί στο 0,3% –1,0% του συνολικού αζώτου που περιέχεται στο γάλα. Η παρουσία της στο γάλα πιθανότατα οφείλεται σε διαρροή από το αίμα.

**Βιολογικός ρόλος.** Δεν παρουσιάζει καμία γνωστή βιολογική λειτουργία στο γάλα (Goulding et al., 2020).

#### 1.4.5.1.4 Ανοσογλοβουλίνες

Το βόειο γάλα περιέχει συνήθως 0,6–1 g/L ανοσοσφαιρίνες (Immunoglobulins - Igs), ποσότητα που αντιστοιχεί στο 3% του συνολικού αζώτου. Εξαιρέση αποτελεί το πρωτόγαλα στο οποίο η συγκέντρωση των ανοσοσφαιρινών ανέρχεται σε 10% (w/v). Αμέσως μετά τον τοκετό, η περιεκτικότητά τους στο γάλα παρουσιάζει γρήγορη μείωση. Η IgG1 είναι η κύρια ανοσογλουβίνη που συναντάται στο γάλα των βοοειδών, των βουβαλιών και των αιγοπροβάτων. Οι IgG2, IgA και IgM συναντώνται σε πιο μικρές ποσότητες στο γάλα αυτών των θηλαστικών. Η κύρια ανοσογλοβουλίνη του ανθρώπινου γάλακτος είναι η IgA (Goulding et al., 2020).

Η μεταφορά των ανοσογλοβουλινών από τη μητέρα στο νεογνό δεν είναι ίδια σε όλα τα είδη θηλαστικών. Στον άνθρωπο, αλλά και σε ορισμένα άλλα είδη θηλαστικών, όπως ο ίππος, η μεταφορά ανοσογλοβουλινών ξεκινά από την μήτρα και έτσι το βρέφος όταν γεννιέται έχει ένα ευρύ φάσμα αντισωμάτων. Η μητέρα συνεχίζει να τροφοδοτεί το μωρό με αντισώματα μέσω του πρωτογάλακτος, ενισχύοντας έτσι την ικανότητα του βρέφους να αντιστέκεται σε εντερικές μολύνσεις. Άλλα είδη θηλαστικών, όπως η αγελάδα, το πρόβατο και η κασίκα δεν μεταφέρουν ανοσογλοβουλίνες στο έμβρυο όσο βρίσκεται στη μήτρα. Κατά συνέπεια, το νεογνό μετά τη γέννησή του είναι ευαίσθητο στις βακτηριακές μόλυνσης και παρουσιάζει αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας. Μέχρι να μπορέσει το νεαρό ζώο να συνθέσει δικά του αντισώματα συνήθως αποκτάει παθητική ανοσία, απορροφώντας στο έντερο τις ανοσογλοβουλίνες που περιέχονται στο μητρικό γάλα μέσω (Hurley & Theil, 2013).

Οι αγελάδες γαλακτοπαραγωγής παράγουν πρωτόγαλα σε μεγαλύτερη ποσότητα από όσο χρειάζεται για να καλύψει τις τις απαιτήσεις του νεογνού. Το πλεόνασμα από αυτό το γάλα διατίθεται στη βιομηχανία τροφίμων για την ανάκτηση των ανοσογλοβουλινών, καθώς και άλλων θρεπτικών στοιχείων που περιέχει (Goulding et al., 2020).

#### 1.4.5.2 ΚΑΖΕΪΝΕΣ

Οι καζεΐνες αποτελούν περίπου το 80% της συνολικής πρωτεΐνης του γάλακτος. Οι καζεΐνες ανήκουν στις φωσφοπρωτεΐνες, δηλαδή έχουν στο μόριο τους συνδεδεμένες φωσφορικές ομάδες. Οι φωσφορικές αυτές ομάδες μετακινούν το ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών σε πιο όξινες περιοχές pH ( $pI \approx 4,6$ ). Το συνήθες

pH του γάλακτος όμως είναι πιο υψηλό (6,7-6,8), με αποτέλεσμα οι φωσφορικές ομάδες να προσδίδουν στο μόριο αρνητικό φορτίο(Goulding et al.,2020).

Η ύπαρξη των καζεϊνών στο γάλα είναι γνωστή από τα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα. Ωστόσο, η αρχική εικόνα που διαμορφώθηκε από τον Hammarsten (1883) για τις καζεΐνες είναι ότι η ισοηλεκτρική καζεΐνη ήταν μία ομοιογενής πρωτεΐνη. Στις αρχές, όμως του 20<sup>ου</sup> αιώνα, οι επιστημονικές ομάδες των Linderstrom-Lang et al. και Osborne & Wakeman παρουσίασαν στοιχεία ότι η καζεΐνη είναι ετερογενής πρωτεΐνη. Οι Linderstrom-Lang et al παρέλαβαν τρία κύρια και αρκετά δευτερεύοντα κλάσματα καζεΐνης. Τα κύρια κλάσματα περιείχαν φώσφορο σε συγκέντρωση 1,0%, 0,6% και - ,1%. Αργότερα τα αποτελέσματα τους επιβεβαιώθηκαν με τη βοήθεια της ηλεκτροφόρησης, όπου η ισοηλεκτρική πρωτεΐνη διαχωρίστηκε σε τρεις πρωτεΐνες που τις ονόμασαν α (75% περίπου της ολικής καζεΐνης), β (~22%) και γ (~3%) (Goulding et al.,2020).

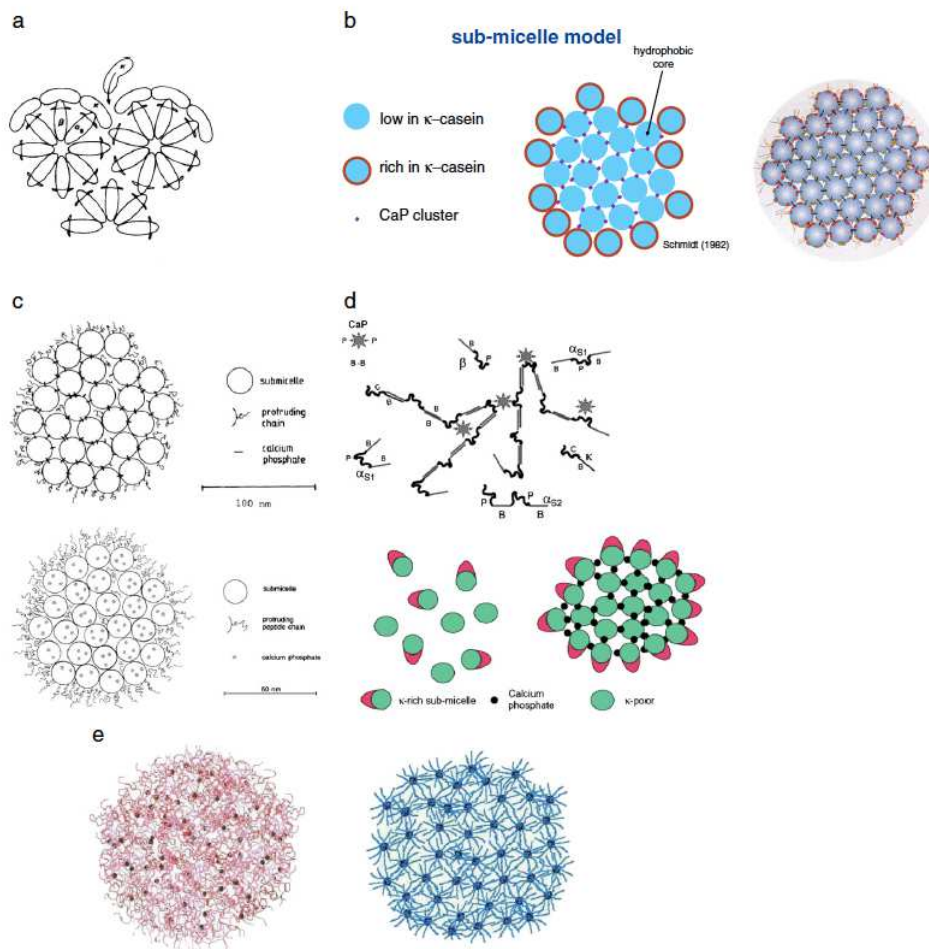
Το 1944, ο Warner κατάφερε να απομονώσει τις α- και β- καζεΐνη εκμεταλλευόμενος τη διαφορετική διαλυτότητά τους, σε pH=4 και σε θερμοκρασία 2°C, ενώ το 1952 οι Hipp et al. ανέπτυξαν μία μέθοδο κλασματοποίησης των α-, β-, και γ- καζεϊνικών μορίων σε διαλύματα ουρίας pH=4,9. Το 1956, οι Waugh & von Hippel διαχώρισαν το κλάσμα της α-καζεΐνης σε δύο υποκλάσματα, ανάλογα με το αν παρουσιάζουν ή όχι ευαισθησία στο ασβέστιο, τα οποία ονόμασαν α<sub>s</sub>- και κ-καζεΐνες, αντίστοιχα. Η α<sub>s</sub>- καζεΐνη αποδείχθηκε ότι περιέχει τις α<sub>s1</sub>- και α<sub>s2</sub>- πρωτεΐνες. Η κ-καζεΐνη έχει σημαντική τεχνολογική σημασία, καθώς αντιπροσωπεύει περίπου το 12% της ολικής ποσότητας καζεΐνης και είναι η κυρίως υπεύθυνη για τον σχηματισμό των μικκυλίων στο γάλα (Goulding et al.,2020). Στο παρακάτω διάγραμμα, διακρίνονται οι καζεΐνες που απομονώθηκαν από το γάλα των θηλαστικών.

#### **Εικόνα 6:** Σχηματική αναπαράσταση των διαφορετικών καζεϊνών

Κατά προσέγγιση η αναλογία α<sub>s1</sub>-: α<sub>s2</sub> -: β-: κ- καζεϊνών κυμαίνεται στο 4:3:3,5:1,5 αντίστοιχα (Dalgleish & Corredig, 2012).

#### 1.5 Μικκύλια καζεϊνών

Οι καζεΐνες στο γάλα όλων των θηλαστικών υπάρχουν ως μικκύλια. Για πρώτη φορά αναφορά στα μικκύλια έγινε από τον Schuler. Οι διαμορφώσεις αυτές έχουν αποτελέσει αντικείμενο έρευνας (Goulding et al., 2020). Η εσωτερική δομή των μικκυλίων καζεΐνης, δηλαδή η κατανομή των συστατικών εντός του μικκυλίου, αποτελεί αντικείμενο έρευνα και έχει γίνει προσπάθεια να μοντελοποιηθεί από το 1958 (De Kruijff et al., 2012). Στην παρακάτω εικόνα διακρίνονται διάφορα μοντέλα αναπαράστασης του μικκυλίου.



**Εικόνα 7:** Μοντέλο μικκυλίων καζεΐνης που προτάθηκε a. από τον Waugh (1958) b. από τον Schmidt c. από τον Walstra (1990 & 1999) c. από τον Horne (2003) d. από τον Holt. E. συλλογή αποτυπώσεων του σωματιδίου μικκυλίου καζεΐνης.

Πηγή: De Kruijff et al., 2012

Πιο αναλυτικά, στο γάλα, οι καζεΐνες μαζί με το φωσφορικό ασβέστιο ( $Ca_3(PO_4)_2$ ) σχηματίζουν συσσωματώματα τα οποία με μέση διάμετρο που κυμαίνεται από 150-200 nm, τα οποία καλούνται μικκύλια καζεΐνης. Τα μικκύλια είναι πολύ ενυδατωμένοι

σχηματισμοί, καθώς για κάθε kg πρωτεΐνης αντιστοιχούν περίπου 3,5 kg νερό. Είναι σχηματισμοί σταθεροί στις μεταβολές της θερμοκρασίας, είτε πρόκειται για θέρμανση είτε για ψύξη. Ωστόσο, αποσταθεροποιούνται όταν επεξεργαστούν με πρωτεολυτικά ένζυμα ή με οξίνιση και δίνουν πήγμα που είναι η βάση για την παρασκευή τυριών ή γιαουρτιού (Dalglish & Corredig, 2012).

Η σύνθεση των μικκυλίων εξαρτάται από το μέγεθός τους. Μικρότερα μικκύλια έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κ-καζεΐνη, μικρότερη σε β-καζεΐνη, ενώ η περιεκτικότητα της α<sub>s</sub>-καζεΐνης φαίνεται να μην εξαρτάται από το μέγεθος του μικκυλίου. Η κ-καζεΐνη βρίσκεται κατά κύριο λόγο στην επιφάνεια του μικκυλίου, ενώ η β-καζεΐνη είναι στο εσωτερικό. Η α<sub>s</sub>-καζεΐνες είναι διάχυτες σε όλο το μικκύλιο (Dalglish & Corredig, 2012)..

Οι Buchheim et al. (1989) σε μελέτη που πραγματοποίησαν ασχολήθηκαν με την εμφάνιση και το μέγεθος που παρουσιάζουν τα μικκύλια καζεΐνης στα γάλατα 19 διαφορετικών θηλαστικών ειδών: ινδικά χοιρίδια, αρουραίοι, μυοκάστορες, σκύλοι, γάτες, γκρίζες φώκιες, κουνέλια, γαϊδαροί, άλογα, αλπακά, αραβικές καμήλες, αγελάδες, κόκκινα ελάφια, πρόβατα, χοίροι, νεροβούβαλοι, κασίκες, φώκαινες (porpoise) και άνθρωποι. Με τη βοήθεια του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου οι δομές των μικκυλίων ήταν παρόμοιες, αλλά το μέγεθος των μικκυλίων διέφερε σημαντικά. Για παράδειγμα παρατηρήθηκε ότι τα μικκύλια που σχηματίζονται στο ανθρώπινο γάλα είχαν τη μικρότερη διάμετρο (64 nm), ενώ τα μικκύλια στο γάλα των αλπακά, της κασίκας, της καμήλας και του γαϊδάρου είχαν αρκετά μεγάλη διάμετρο (300-350 nm) (Buchheim et al., 1989).

## 1.6 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του γάλακτος

Ο προσδιορισμός των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του γάλακτος είναι μία πολύ χρήσιμη γνώση στον τεχνολόγο. Επιτρέπει την αξιολόγηση της καταλληλότητας ή μη του συγκεκριμένου προϊόντος για τη χρήση που το προορίζει και βοηθάει στην λήψη αποφάσεων για τις μεθόδους επεξεργασίας που θα υποστεί (Park et al., 2017).

**Πίνακας 6** Ορισμένες φυσικές και χημικές σταθερές του γάλακτος κατανάλωσης από διάφορα είδη ζώων

	Αγελάδας	Προβάτου	Αίγας
Πυκνότητα	1,023 -1,040	1,035- 1,038	1,029- 1,039

<b>Ιξώδες (Cp)</b>	2,0	2,86 – 3,93	2,12
<b>Σημείο πήξεως (- °C)</b>	0,530- 0,570	0,570	0,540-0,573
<b>Οξύτητα (γαλακτικό οξύ %)</b>	0,15- 0,18	0,22- 0,25	0,14-0,23
<b>pH</b>	6,65- 6,71	6,51 – 6,85	6,50-6,80
<b>Διάμετρος λιποσφαιρίων (μm)260</b>	4,55	3,30	3,49
<b>Διάμετρος μικελλών καζεΐνης (nm)</b>	180,0	193,0	260,0

Πηγή : Park et al, 2007

Τα κυριότερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά είναι : οξειδοαναγωγικό δυναμικό, ηλεκτρική αγωγιμότητα, σημείο πήξης, σημείο βρασμού, ωσμωτική πίεση, οξύτητα – pH και πυκνότητα και ειδικό βάρος (Park et al., 2007).

#### 1.6.1 Οξειδοαναγωγικό δυναμικό

Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό (Eh) εκφράζει τη δυνατότητα ενός συστήματος να δέχεται ή να δίνει ηλεκτρόνια, δηλαδή ουσιαστικά αποτελεί μία ένδειξη της ικανότητας του συστήματος να προκαλέσει οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις.

Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του φρέσκου γάλακτος απουσία οξυγόνου είναι +0,05V και διαμορφώνεται από ορισμένα συστατικά του, τα οποία μπορούν να συμμετέχουν σε οξειδοαναγωγικά συστήματα. Η παρουσία οξυγόνου αυξάνει το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και στην πραγματικότητα το φρέσκο γάλα μετά την εξισορρόπηση του με τον αέρα έχει Eh=+0,25 ως +0,35 V, T=25°C, pH= 6,6-6,7 σε ισορροπία με τον αέρα.

Οι διάφορες επεξεργασίες επηρεάζουν το Eh του γάλακτος όπως για παράδειγμα, κατά τη θέρμανση του γάλακτος σε T>80 °C αποβάλλεται O<sub>2</sub> και η μετουσίωση των πρωτεϊνών του ορού εκθέτει τις –SH ομάδες -> μείωση του Eh του γάλακτος κατά περίπου 0.05V. Η ζύμωση της λακτόζης επιφέρει μείωση του Eh, εξαιτίας της κατανάλωσης O<sub>2</sub> από τα βακτήρια.

Το Eh των τυριών και όλων των ζυμωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων είναι αρνητικό, εξαιτίας της κατανάλωσης οξυγόνου από τα βακτήρια. Στα τυριά συνήθως είναι -0,14 ως -0,15V (Κεχαγιάς, 2011).

### 1.6.2 Ηλεκτρική αγωγιμότητα

Ορίζεται ως μέτρο της ηλεκτρικής αντίστασης του διαλύματος σε αντίστοιχα ohms (mhos). Χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της συνολικής ιοντικής περιεκτικότητας του γάλακτος. Οι μεγαλύτεροι συντελεστές αγωγιμότητας είναι το νάτριο, το κάλιο και τα ιόντα χλωρίου. Επειδή τα ποσά του νατρίου και χλωρίου αυξάνονται όταν το θηλαστικό παρουσιάζει μαστίτιδα, οι μετρήσεις της αγωγιμότητας στο γάλα χρησιμοποιούνται για να δείξουν κλινικές περιπτώσεις της νόσου (Κεχαγιάς, 2011) .

### 1.6.3 Σημείο πήξης

Η θερμοκρασία πήξης του γάλακτος είναι μικρότερη από 0°C και οφείλεται σε διαλυμένα συστατικά. Είναι ένα από τα σταθερά χαρακτηριστικά του γάλακτος και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση τυχόν απάτης στο γάλα, δηλαδή για να διαπιστωθεί αν το γάλα έχει αραιωθεί με νερό και χρησιμοποιείται ως ένα νομικό πρότυπο. Οι σημαντικότεροι συντελεστές του σημείου πήξης είναι η λακτόζη και το χλώριο. Δεδομένου ότι το σημείο πήξης και η ωσμωτικότητα είναι ανάλογα και εξαρτώνται από τον αριθμό των διαλυμένων σωματιδίων, μπορούν να καθορίζονται με την ίδια μέθοδο.

Το σημείο πήξεως του γάλακτος δεν επηρεάζεται ή επηρεάζεται ελάχιστα από την καζεΐνη και το λίπος του γάλακτος, από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες και το στάδιο της γαλακτικής περιόδου, από επεξεργασίες του γάλακτος που δεν περιλαμβάνουν αραιώση ή συμπύκνωση. Ωστόσο, επηρεάζεται από κάθε μεταβολή που έχει ως συνέπεια την αύξηση του αριθμού των μορίων στο διάλυμα. Σύμφωνα με τον τύπο του Raoult προκαλείται ταπείνωση του σημείου πήξεως σύμφωνα με τον τύπο :

$$\Delta T_f = K_f m$$

( όπου  $\Delta T_f$ = ταπείνωση ΣΠ,  $K_f$ =κρυσκοπική σταθερά,  $m$ =μοριακή συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας)

Η αραιώση με νερό αυξάνει το ΣΠ αφού μειώνει τα διαλυτά μόρια : προσθήκη νερού 1% κ.ο. προκαλεί αύξηση του ΣΠ κατά 0,0055° C. Η οξίνιση του γάλακτος μειώνει το ΣΠ : αύξηση της τιτλοδοτούμενης οξύτητας κατά 0,01 % σε γαλακτικό οξύ προκαλεί μείωση του ΣΠ κατά 0,0033 ° C (Κεχαγιάς, 2011).

**Πίνακας 7:** Σημείο πήξεως διαφορετικών ειδών γάλακτος

<b>Είδος γάλακτος</b>	<b>Σημείο Πήξεως</b>
Πρόβειο γάλα	- 0,570 ° C
Αίγειο γάλα	-0,540 ° C ως -0,573 ° C
Αγελαδινό γάλα	-0,525 ° C ως -0,565 ° C

Πηγή : Συγκέντρωση πληροφοριών από *Μοάτσου, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις*

#### 1.6.4 Σημείο βρασμού

Λόγω των διαλυμένων συστατικών του, το σημείο βρασμού του γάλακτος είναι υψηλότερο από εκείνο του καθαρού νερού : μεταξύ 100,7 °C και 100,15°C (Neville & Jensen, 1995).

#### 1.6.5 Ωσμωτική πίεση

Προσθετική ιδιότητα που διαμορφώνεται από το σύνολο των μορίων των ουσιών που είναι διαλυμένες στο νερό του γάλακτος, κυρίως των μικρών μορίων και ιόντων (λακτόζη περίπου 54%, Na, K και Cl περίπου 31%), ενώ λοιπά άλατα και ουσίες μεγάλου ΜΒ συμβάλλουν ελάχιστα, γιατί ο αριθμός των μορίων τους /g είναι μικρός. Μετριέται με το ίδιο όργανο που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του σημείου ψύξη και ως μονάδα μέτρησης χρησιμοποιείται το osmol/kg (Neville & Jensen, 1995)

Η ωσμωτική πίεση του γάλακτος είναι αρκετά σταθερή και είναι ίση με την ωσμωτική πίεση του αίματος. Η συνολική συγκέντρωση των διαλυμένων σωματιδίων είναι υπεύθυνη για το φαινόμενο της ώσμωσης. Έτσι, η περιεκτικότητα σε λακτόζη είναι πολύ σημαντική για να διατηρηθεί η ωσμωτική ισορροπία ανάμεσα στην κυκλοφορία του αίματος και τα κύτταρα του μαστικού αδένος κατά τη σύνθεση του γάλακτος, και να ευνοήσει την αποβολή στην κυψελική κοιλότητα και το σύστημα αγωγών του μαστού (Ανδρικόπουλος, 2015).

#### 1.6.6 Οξύτητα-pH

Ο προσδιορισμός της οξύτητας είναι ένας καλός δείκτης της υγιεινής. Το φρέσκο γάλα έχει χαμηλή οξύτητα με pH μεταξύ 6,6 και 6,8, κυρίως ως αποτέλεσμα της παρουσίας της καζεΐνης και των φωσφορικών και κιτρικών ανιόντων. Το pH



αντιπροσωπεύει τη φυσική οξύτητα του γάλακτος και η σταθερότητα της καζεΐνης εξαρτάται από το pH (Κεχαγιάς, 2011).

Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, η οξύτητα είναι πολύ χρήσιμη για να καθορίσει την ανάπτυξη των βακτηρίων. Για παράδειγμα, η παρασκευή τυριού μειώνει το pH σε 5,2 ως 4,6 και αυτή η διαδικασία συμβάλλει ώστε το πηγμένο γάλα να μεταποιηθεί σε τυρί για αποστράγγιση. Υπάρχουν και άλλες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της οξύτητας που αναπτύσσεται στο γάλα, όπως η ζύμωση της λακτόζης και η μετατροπή της σε γαλακτικό οξύ (Ανδρικόπουλος, 2015)

#### 1.6.7 Πυκνότητα και ειδικό βάρος

Η πυκνότητα ορίζεται ως η μάζα ανά μονάδα όγκου. Μετριέται σε  $\text{kg/m}^3$  ή  $\text{g/ml}$  και συνήθως υποδεικνύεται από το σύμβολο  $\rho$  ή  $d$ . Η τιμή της πυκνότητας του γάλακτος καθορίζεται από τη συγκέντρωση του διαλελυμένου και τα αιωρούμενα σωματίδια. Η περιεκτικότητα σε λίπος είναι μικρότερη από το νερό ( 930  $\text{g/l}$  ), και για αυτό η πυκνότητα μειώνεται καθώς το λίπος αυξάνεται. Η πυκνότητα μεταβάλλεται επίσης ανάλογα με τη θερμοκρασία. Η πυκνότητα είναι παραδοσιακά η φυσική ιδιότητα που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση ενδεχομένης απάτης στο γάλα, όπως για παράδειγμα την προσθήκη νερού (Imran et al., 2008).

#### 1.7 Μικροβιολογία γάλακτος

Το νωπό, μη παστεριωμένο γάλα αποτελεί άριστο θρεπτικό υλικό για την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Η επιμόλυνση του γάλακτος μπορεί να ξεκινήσει ακόμη και πριν το γάλα εξέλθει από το μαστό του ζώου (πίνακας 8). Το σώμα του ζώου, το περιβάλλον, οι άνθρωποι και τα σκεύη που έρχονται σε επαφή με το γάλα, επιβαρύνουν την κατάσταση.

**Πίνακας 8:** Πηγές μόλυνσης του γάλακτος και είδη μικροοργανισμών που μεταφέρονται

Πηγές Μόλυνσης του γάλακτος	Μικροοργανισμοί	Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα/ml γάλακτος	
		Με προφύλαξη	Χωρίς προφύλαξη

Γαλακτοφόροι αγωγοί και γαλακτοφόρος κόλπος του μαστού Σημ. Απόρριψη πρώτων σταγόνων (20.000/ml)	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Lactococcus</li> <li>➤ Micrococcus</li> <li>➤ Υπεύθυνοι ΜΟ σε περίπτωση λοιμώξεων (Brucella melitensis, Mycobacterium bovis)</li> </ul>	500	5.000
Το σώμα του ζώου ( τρίχες, κύτταρα) και τα εκκρίματά του	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Enterobacteria</li> <li>➤ Clostridium</li> </ul>	Σημαντική μόλυνση όταν δεν υπάρχει καθαριότητα	
Το περιβάλλον του βουστασίου (σκόνες, ζωοτροφές, έντομα)	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ζύμες και μύκητες</li> <li>➤ Gram (-) βακτήρια</li> <li>➤ Enterobacteria</li> <li>➤ Micrococcus</li> <li>➤ Brucella</li> </ul>		
Αμελκτής και λοιπό προσωπικό	Mycobacterium tuberculosis		
Νερό	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ψυχρόφιλα</li> <li>➤ Κολοβακτηριοειδή</li> </ul>		
Σκευή αμέλξεως -Δοχεία και μηχανές αμέλγατος -Διήθηση από φίλτρα -Δεξαμένες αποθήκευσης και ψύξης	➤ Θερμοάντοχα βακτήρια	10.000	55.000
	➤ Οξυγαλακτικά βακτήρια	12.000	250.000
	➤ Ψυχρότροφα	15.000	1.000.000
Μεταφορά μέχρι το εργοστάσιο		20.000	3.500.000

Πηγή: Καμινारीδης, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις

Σύμφωνα με τον κανονισμό της Ευρωπαϊκής Ένωσης ΕΚ 1662/2006, ο αριθμός των μικροοργανισμών που επιτρέπεται σε κάθε είδος γάλα είναι καθορισμένος.

**Πίνακας 9:** Είδος γάλακτος και επιτρεπόμενος αριθμός μικροοργανισμών (30°C)

Είδος γάλακτος		Αριθμός μικροοργανισμών (30° C)	Αριθμός σωματικών κυττάρων
Νωπό γάλα αγελάδας		<100.000 / ml	<400.000 / ml
Νωπό γάλα αιγοπροβάτων και βουβάλων	Για παρασκευή θερμικά επεξεργασμένου	<1.500.000 / ml	

γάλακτος προϊόντων	ή		
Για παρασκευή προϊόντων χωρίς θερμική επεξεργασία		<500.000 / ml	

Πηγή: Καμιναρίδης, Πανεπιστημιακές Σημειώσεις

Οι μικροοργανισμοί που μπορούν να βρεθούν στο γάλα ανήκουν στις τάξεις των βακτηρίων των μυκήτων και των ζυμομυκήτων.

### 1.7.1 Βακτήρια

Η πολυπληθέστερη ομάδα μικροοργανισμών είναι τα βακτήρια, τα οποία διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες (Ανδρικόπουλος, 2015):

1. Οξυπαραγάωγα βακτήρια : Επιδρούν μέσω των ενζύμων που εκκρίνουν στο γαλακτοσάκχαρο του γάλατος και το διασπούν με γαλακτική ζύμωση προς γαλακτικό οξύ ή με τους γαλακτοβάκιλλους προς γαλακτόζη και γλυκόζη (οι οποίες στη συνέχεια με την επίδραση ζυμομυκήτων δίνουν αλκοόλη και CO<sub>2</sub>). Διακρίνονται στις παρακάτω υποκατηγορίες

- Οξυπαραγωγούς στρεπτόκοκκους (βακτήρια γαλακτικής ζύμωσης)
- Γαλακτοβάκιλλους (βακτήρια γαλακτικής ζύμωσης)
- Κολλοβακτηριοειδή
- Βακτήρια βουτυρικής ζύμωσης

2. Λιπολυτικά βακτήρια: Υδρολύουν μέσω λιπολυτικών ενζύμων παρόμοιων των λιπασών, τα λιπίδια του γάλατος προς παραγωγή γλυκερίνης και ελεύθερων λιπαρών οξέων. Οι λιπάσες του γάλατος δρουν με παρόμοιο τρόπο αλλά δεν προέρχονται από βακτήρια γιατί περιέχονται στα κανονικά συστατικά του γάλατος.

3. Πρωτεϊνολυτικά βακτήρια : Διακρίνονται σε δύο είδη :

- Βακτήρια που μετατρέπουν το γάλα σε διαυγές υγρό, κατόπιν υδρόλυσης των πρωτεϊνών σε υδατοδιαλυτά πεπτιδία και αμινοξέα
- Βακτήρια που μετατρέπουν τις πρωτεΐνες του γάλατος σε μαλακό πήγμα χωρίς να προηγηθεί γαλακτική ζύμωση, διαδικασία η οποία συνιστά τη “γλυκιά πήξη” του γάλατος

4. Παθογόνα βακτήρια : κανονικά δεν περιέχονται στο νωπό γάλα εκτός από την περίπτωση που το γάλα προέρχεται από άρρωστο ζώο ή από ζώο με μολυσμένους μαστούς ή από εξωτερική μόλυνση του γάλατος. Οι ασθένειες που μπορούν να μεταδοθούν στον άνθρωπο είναι η φυματίωση, η βουκέλλωση (μελιταίος πυρετός), ο τυφοειδής και ο παρατυφοειδής πυρετός (σαλμονελώσεις), η διφθερίτιδα και διάφορες γαστρεντερίτιδες και διάρροιες.

5. Χρωμογόνα βακτήρια : εκλύουν διάφορες ουσίες οι οποίες είτε μόνες τους είτε μετά από αλληλεπίδραση με τα συστατικά του γάλατος προκαλούν την χρώση του γάλατος με διάφορους χρωματισμούς (γάλα κυανού, κυανοπράσινο, κίτρινο, καστανό και με κόκκινη επιφάνεια).

**Πίνακας 10:** Κυριότερα βακτήρια γάλακτος και η δράση τους

a/a	Όνομασία	Υπόστρωμα	Ανάπτυξη	Προϊόντα	Δράση
<b>ΟΞΥΠΑΡΑΓΩΓΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ</b>					
<b>Οξυπαράγωγοι στρεπτόκοκκοι</b>					
1.	Streptococcus lactis	Λακτόζη	25 °C	Γαλακτικό οξύ (0,6-1%)	“Κόψιμο” γάλατος
2.	Streptococcus cremoris	Λακτόζη	15 °C	Γαλακτικό οξύ (0,6-1%) & αρωματικές ουσίες	Ωρίμανση ανθογάλατος
3.	Streptococcus diacetylactis	Κιτρικά άλατα		Δικετύλο (άρωμα)	Ωρίμανση κρέμας
4.	Streptococcus thermophilus	Λακτόζη	37-50 °C	Γαλακτικό οξύ (0,6-1%)	Γρήγορο πήξιμο γαλακτ.
<b>Γαλακτοβάκιλλοι</b>					
5.	Lactobacillus lactis	Λακτόζη	40-50 °C	Γαλακτικό οξύ (3%)	Οξίνιση του γάλατος
6.	Lactobacillus bulgaricus	Λακτόζη	40-45 °C	Γαλακτικό οξύ (3,5%)	Παρασκευή γιαούρτης
7.	Lactobacillus thermophilus	Λακτόζη	Ανθεκτικός σε υψηλές θ°	Γαλακτικό οξύ (3,5%)	Στο παστεριωμένο γάλα
8.	Lactobacillus casei	Λακτόζη	°C	Γαλακτικό οξύ (1,5%)	Ωρίμανση τυριού
9.	Lactobacillus acidophilus	Λακτόζη	37 °C	Γαλακτικό οξύ (1,5%)	Παρασκευή οξυγάλατος
<b>Κολλοβακτηριοειδή (coliforms)</b>					
10.	Escherichia coli	Λακτόζη	37 °C	Δύσοσμες ουσίες & οξέα	Μόλυνση γάλατος
11.	Cloacaaerogens	Λακτόζη	37 °C	Δύσοσμες ουσίες & οξέα	Βλενώδες γάλα και τυρί
12.	Bacteriumlactis viscosi	Λακτόζη	37 °C	Δύσοσμες ουσίες & οξέα	Βλενώδες γάλα και τυρί
<b>Βακτήρια βουτυρικής ζύμωσης</b>					
13.	Clostridium welchii	Λακτόζη		Βουτυρικό οξύ κ.α. αέρια	Βραδύ πήξιμο γάλατος

14.	Clostridium trobutylicum	Λακτόζη		Βουτυρικό οξύ κ.α. αέρια	Ανωμαλίες σε βούτυρο & τυρί
<b>ΛΙΠΟΛΥΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ</b>					
15.	Achromobacter lipids	Λιπαρά	Χαμηλές θερμ. .	Λιπαρά οξέα, γλυκερίνη	Δυσάρεστη οσμή και γεύση στο γάλα και στα προϊόντα του

a/a	Όνομασία	Υπόστρωμα	Ανάπτυξη	Προϊόντα	Δράση
16.	Achromabacter lipolyticum				
17.	Pseudomonas fragi				
<b>ΠΡΩΤΕΙΝΟΛΥΤΙΚΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ</b>					
18.	Bacillus - subtilus	Πρωτεΐνες	Θερμοανε- κτικά	Πήγμα πρωτεϊνών	“Γλυκιά πήξη γαλ.
19.	B.mesentericus	Πρωτεΐνες	Θερμοανε- κτικά	Υδρολυμένες πρωτεΐνες	“Διαυγές” γάλα
20.	B.cereus	Πρωτεΐνες	Θερμοανε- κτικά	Υδρολυμένες πρωτεΐνες	“Διαυγές” γάλα
21.	Pseudomonas fluorescens	Πρωτεΐνες	Θερμοανε- κτικά	Υδρολυμένες πρωτεΐνες	“Διαυγές” γάλα
22.	Streptococcus liquefaciens	Πρωτεΐνες	Θερμοανε- κτικά	Υδρολυμένες πρωτεΐνες	“Διαυγές” γάλα
<b>ΠΑΘΟΓΟΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ</b>					
23.	Mycobacterium bovis				Φυματίωση
24.	Brucella melitensis				Βουκέλωση (κατσίκες)
25.	B.abortus				Βουκέλωση
26.	Salmonella typhosa		Θερμοανε- κτικό		Τυφοειδείς
27.	S.paratyphi				Παράτυφος
28.	Corynebacterium diptheriae				Διφθερίτιδα
29.	B. enteritidis				Εντερίτιδα
30.	B.dysenteriae				Δυσεντερία
<b>ΧΡΩΜΟΓΟΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ</b>					
31.	Pseudomonas synsyana				Γάλα κυανό και καστανό
32.	Serratia marcescens				Κόκκινη επιφάνεια
33.	Flavobacterium xanthogens				Γάλα κίτρινο
34.	Pseudomonas aegyginosa				Γάλα κυανοπράσινο

Πηγή : Ανδρικόπουλος, 2015

### 1.7.2 Μύκητες και ζυμομύκητες

Οι **μύκητες** απαντούν στο γάλα μαζί με τους ζυμομύκητες σε μικρή αναλογία σε σχέση με τα βακτήρια και για να αναπτυχθούν στο γάλα χρειάζονται ελαφρά όξινο περιβάλλον. Στα διάφορα γαλακτοκομικά προϊόντα και, κυρίως στο τυρί, συναντώνται

επιφανειακά. Η παρουσία τους γενικά είναι ανεπιθύμητη, εκτός από τις περιπτώσεις παρασκευής ορισμένων τυριών στα οποία προσδίδουν τη χαρακτηριστική τους οσμή και γεύση π.χ στα τυριά Roquefort. Οι μύκητες καλύπτουν την επιφάνεια των τυριών και τα υποβαθμίζουν μακροσκοπικά και οργανοληπτικά, αλλά με απομάκρυνση του επιφανειακού υμένα των μυκήτων το υπόλοιπο τυρί παραμένει βρώσιμο, εκτός από τις περιπτώσεις όπου οι μύκητες αναπτύσσουν μερικές υφές τους μέσα στη μάζα του τυριού οπότε το τυρί καταστρέφεται (Ανδρικόπουλος, 2015).

Οι **ζυμομύκητες** προσβάλλουν το γάλα και, κυρίως, την επιφάνεια των γαλακτοκομικών προϊόντων. Γενικά είναι ανεπιθύμητοι γιατί προβάλλουν τη λακτόζη και ευνοούν την αλκοολική ζύμωση όπως οι ζυμομύκητες (*Sacharomyces*) και οι ζυγοσακχαρομύκητες (*Zugoccharomyces*). Εξαιρέση αποτελεί η περίπτωση παρασκευής κουμίσ με τους ζυμομύκητες τορούλα (*Torula*) (Ανδρικόπουλος, 2015).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ

### 2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟΝ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Από τα μέσα περίπου του 20<sup>ου</sup> αιώνα μέχρι σήμερα, έχει πραγματοποιηθεί ένας σημαντικός αριθμός επιστημονικών μελετών στις οποίες έχει γίνει αναφορά στα διαφορετικά γονίδια των πρωτεϊνών γάλακτος. Σε αρκετές περιπτώσεις, εξετάστηκε η συσχέτιση ανάμεσα σε αυτές τις γενετικές παραλλαγές και στα χαρακτηριστικά που παρουσιάζει το παραγόμενο γάλα (Ozdemir et al, 2018). Τεχνολογικά σημαντικές ιδιότητες του γάλακτος επηρεάζονται από την παρουσία γενετικών παραλλαγών, όπως είναι για παράδειγμα: η πήξη του γάλακτος, η θερμική σταθερότητά του, η απόδοση και η αναλογία των πρωτεϊνών γάλακτος (Goulding et al., 2020). Ορισμένοι συγγραφείς θεώρησαν ότι η πρωτεΐνη του γάλακτος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πολυμορφικός γενετικός δείκτης (Ozdemir et al, 2018).

Το 1955, οι Aschaffenburg & Drewry παρατήρησαν ότι η β-λακτοσφαιρίνη υπάρχει σε δύο μορφές, οι οποίες παρουσιάζουν διαφορά σε δύο αμινοξέα και καλούνται Α και Β. Οι διαφορετικές μορφές των πρωτεϊνών του γάλακτος ελέγχονται γενετικά και το φαινόμενο λέγεται γενετικός πολυμορφισμός. Με τη βοήθεια της ηλεκτροφόρησης, έχουν ανιχνευθεί τουλάχιστον 45 πολύμορφα στο γάλα αγελάδας, τα οποία διαφέρουν ως προς το φορτίο τους. Αυτό σημαίνει ότι η χαρτογράφηση των πρωτεϊνών του γάλακτος μπορεί να είναι ελλιπής και το μεγαλύτερο ποσοστό τους να μην έχει ανιχνευθεί ακόμη (Goulding et al., 2020).

Οι Alipanah et al. (2008) πραγματοποίησαν μία μελέτη όπου προσδιόρισαν τους γονότυπους της κ-καζεΐνης και των γονιδίων προλακτίνης (PRL – RSA 1) σε 72 αγελάδες Russian Black Pied και 98 αγελάδες Red Pied με τη μέθοδο πολυμορφισμού μήκους θραύσματος περιορισμού, τμημάτων ενισχυμένου DNA με PCR (Restriction Fragment Length Polymorphism of amplified DNA – PCR-RFLP). Βασίστηκαν στην λογική ότι ορισμένοι γονότυποι κ-καζεΐνης έχουν σχέση με την απόδοση της γαλουχίας και επιδρούν στη σύνθεση του γάλακτος, άρα και στην ιδιότητες επεξεργασίας του, όπως η απόδοση τυριού, ενώ τα γονίδια προλακτίνης έχουν μία σημαντική ρυθμιστική λειτουργία στην ανάπτυξη των μαστικών αδένων, στην παραγωγή γάλακτος και στην έκφραση των γονιδίων πρωτεΐνης γάλακτος. Από την έρευνα αυτή προέκυψε ότι οι δύο διαφορετικές φυλές αγελάδων, διέφεραν σημαντικά στη συχνότητα των αλληλόμορφων γονιδίων κ-καζεΐνης Α και Β, αλλά όχι στην συχνότητα των

αλληλόμορφων γονιδίων A και B προλακτίνης. Ο πολυμορφισμός της κ-καζεΐνης επηρέασε το ποσοστό λίπους και πρωτεΐνης στις Russian Black Pied αγελάδες, ενώ στις κόκκινες επηρέασε την απόδοση γάλακτος και τα ποσοστά πρωτεΐνης και λίπους (Aliranah et al., 2008).

Ωστόσο, ορισμένοι άλλοι ερευνητές θεώρησαν ότι ορισμένα χαρακτηριστικά οικονομικής απόδοσης που το γάλα παρουσιάζει δεν είναι σημαντικά διαφορετικά και δεν εξαρτώνται σημαντικά από τον πολυμορφισμό των γονιδίων των πρωτεϊνών του (Ozdemir et al., 2018).

Για παράδειγμα, ο Gurcan (2011) σε μελέτη που πραγματοποίησε προσδιόρισε τον πολυμορφισμό των πρωτεϊνών στο γάλα ασπρόμαυρων βοοειδών γαλακτοπαραγωγής και τη σχέση τους με ορισμένα χαρακτηριστικά παραγωγής, όπως είναι η απόδοση του γάλακτος, η μέση ημερήσια απόδοση και η διάρκεια της γαλουχίας του ζώου. Κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει άμεση συσχέτιση, ανάμεσα στην γενετική παραλλαγή της πρωτεΐνης του γάλακτος και τα εξεταζόμενα χαρακτηριστικά παραγωγής του γάλακτος. Ωστόσο, ο ερευνητής αφήνει το περιθώριο τα αποτελέσματα να διαφοροποιούνται από φυλή σε φυλή ή ακόμη και από αγέλη σε αγέλη (Gurcan, 2011).

Τα αντικρουόμενα αυτά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στις διαφορετικές συνθήκες κάτω από τις οποίες πραγματοποιήθηκαν οι πειραματικές διαδικασίες κάθε ερευνητικής ομάδας, όπως είναι το διαφορετικό μέγεθος δείγματος, οι διαφορετικές φυλές ζώων που εξετάστηκαν, οι διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, οι διαφορετικές αλληλεπιδράσεις που αναπτύχθηκαν μεταξύ γονιδίου και περιβάλλοντος, καθώς και τα διαφορετικά σχέδια μελέτης που κάθε ομάδα χρησιμοποίησε. (Ozdemir et al., 2018).

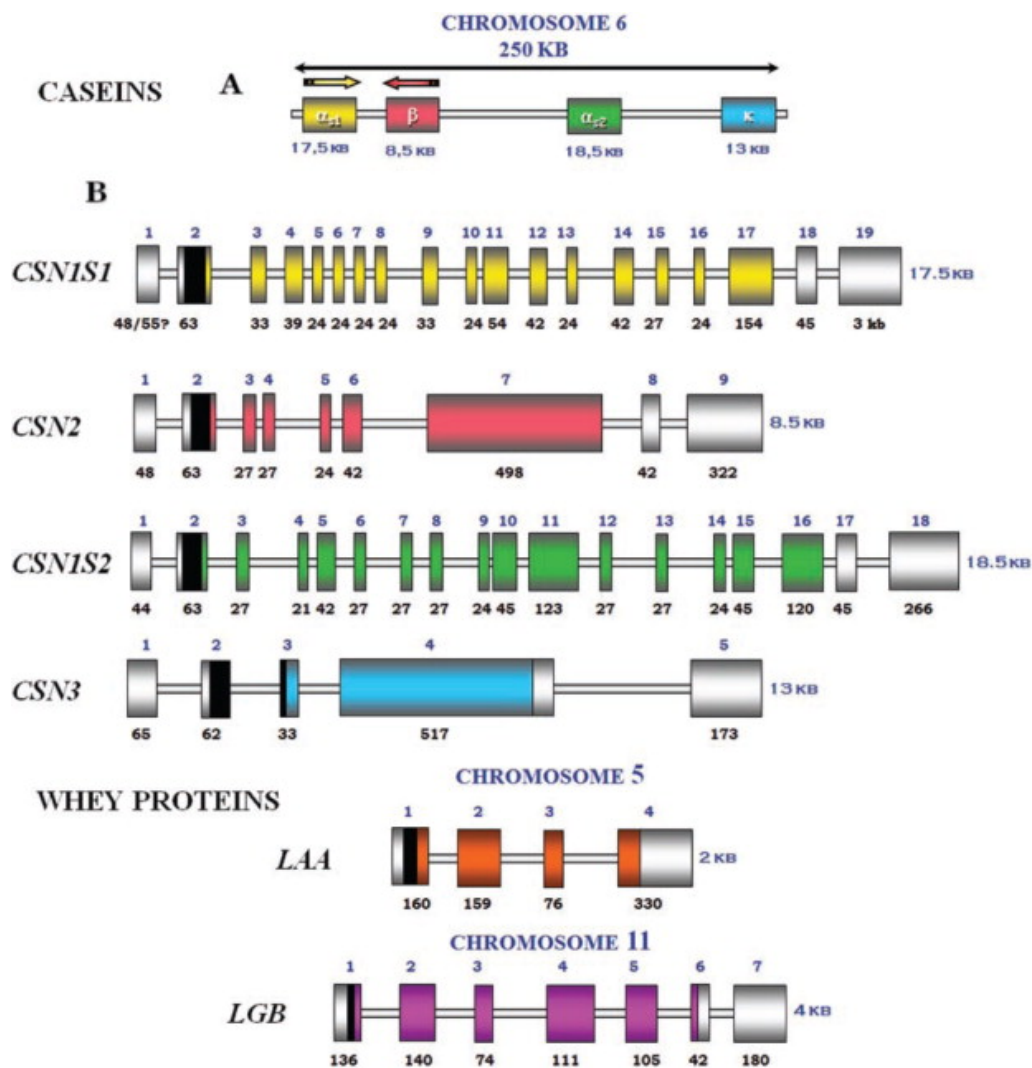
Οι γενετικά πολύμορφες πρωτεΐνες υποδεικνύονται στην ονομασία τους με τη βοήθεια λατινικών γραμμάτων και αριθμών. Για παράδειγμα : β-CN A 5P, αs1-CN B 9P, κ-CN A 1P (Goulding et al., 2020).

## 2.2 ΓΟΝΙΔΙΑ ΥΠΕΥΘΥΝΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος των μηρυκαστικών ζώων, όπως τα βοοειδή και τα αιγοπρόβατα, σε ποσοστό μεγαλύτερο από 95% κωδικοποιούνται από 6 δομικά γονίδια. Τα γονίδια των καζεϊνών συνδέονται στενά μεταξύ του και σχηματίζουν ένα



σύμπλεγμα μήκους περίπου 250-kB<sup>2</sup> το οποίο έχει χαρτογραφεί στο χρωμόσωμα 6. Η φυσική σειρά με την οποία παρουσιάζονται τα γονίδια αυτά είναι: CSN1S1, CSN2, CSN1S2 και CSN3 και κωδικοποιούν αντίστοιχα τις καζεΐνες  $\alpha_1$ -CN,  $\beta$ -CN,  $\alpha_2$ -CN και  $\kappa$ -CN. Αυτό το γονιδιακό σύμπλεγμα αναφέρεται επίσης ως *τόπος CN (CN locus)* ή *super locus*. Η  $\alpha$ -λακταλβουμίνη και  $\beta$ -λακτοσφαιρίνη κωδικοποιούνται από τα γονίδια LAA και LGB, τα οποία χαρτογραφούνται στο χρωμόσωμα 5 και στο χρωμόσωμα 11, αντίστοιχα (εικ.7) (Caroli et al., 2009).



**Εικόνα 8:** Δομική οργάνωση των μεταγραφικών μονάδων που κωδικοποιούν τις 6 κύριες πρωτεΐνες γάλακτος. Καζεΐνες:  $\alpha_1$ -CN (CSN1S1),  $\beta$ -CN (CSN2),  $\alpha_2$ -CN (CSN1S2) και  $\kappa$ -CN (CSN3). Πρωτεΐνες ορού γάλακτος:  $\alpha$ -λακταλβουμίνη (LAA) και  $\beta$ -λακτοσφαιρίνη(LGB)  
Πηγή: Caroli et al., 2009

<sup>2</sup> kB: kilobases. Μονάδα μέτρησης του μεγέθους γονιδιώματος και αντιστοιχεί σε χιλιάδες ζεύγη βάσεων

Μελέτες σχετικά με τη γενετική μεταβλητότητα των πρωτεϊνών γάλακτος ξεκίνησαν πριν από περισσότερα από 50 χρόνια, από τους Aschaffenburg & Drewry (1957), οι οποίοι εντόπισαν τις κύριες παραλλαγές της β-λακτοσφαιρίνης των βοοειδών. Η μελέτη της γενετικής μεταβλητότητας των πρωτεϊνών εντατικοποιήθηκε κατά τα επόμενα χρόνια, και ανακαλύφθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ειδών και των φυλών των βοοειδών. Οι γενετικές παραλλαγές μπορεί να προκύψουν με μονο-νουκλεοτιδικό πολυμορφισμό (Single-Nucleotide Polymorphism, SNP), καθώς και από διαγραφές ή παρεμβολές νουκλεοτιδίων (Caroli et al., 2009).

Τα γονίδια των πρωτεϊνών του γάλακτος έχουν αποτελέσει αντικείμενο έρευνας κυρίως σε βοοειδή και αίγες και έχει παρατηρηθεί ότι παρουσιάζουν σημαντική γενετική παραλλαγή. Οι διαφορετικές γενετικές παραλλαγές που έχουν ανιχνευθεί εκτός από την επίδραση που έχουν στα τεχνολογικά χαρακτηριστικά του γάλακτος και στα διαδικασίες παρασκευής γαλακτοκομικών προϊόντων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και για άλλους σκοπούς. Για παράδειγμα, με τη βοήθεια των γενετικών παραλλαγών του γάλακτος μπορεί να χαρακτηριστεί η φυλή ενός γαλακτοπαραγωγικού ζώου (Caroli et al., 2009).

Σύμφωνα με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στις αλληλουχίες των γονιδίων των καζεϊνών (γονίδια CN) έχει παρατηρηθεί μεγάλος αριθμός μεταλλάξεων, πιθανότατα λόγω του ότι οι δομικές απαιτήσεις που έχουν ώστε να διατηρήσουν τη λειτουργικότητά τους είναι ελάχιστες. Οι μεταλλάξεις αυτές συμπεριλαμβάνουν εισαγωγές, διαγραφές και μεταβάσεις σημείου (Caroli et al., 2009). Ωστόσο, σύμφωνα με συγκριτική μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί από τον Rijkels (2002) στις γονιδιωματικές αλληλουχίες CN του ανθρώπου, των τρωκτικών και των βοοειδών φαίνεται ότι η γονιδιακή οργάνωση και ο προσανατολισμός των γονιδίων διατηρούνται σε μεγάλο βαθμό. Η μοριακή ποικιλομορφία των γονιδίων CN που παρατηρείται είναι αποτέλεσμα της μεταβλητής χρήσης εξονίων στα διαφορετικά είδη και της μεγάλης εξελικτικής απόκλισης (Rijkels, 2002).

Το γονίδιο CSN3, το οποίο είναι υπεύθυνο για την κωδικοποίηση της καζεΐνης κ, έχει τον μεγαλύτερο βαθμό διατήρησης της γονιδιακής οργάνωσης μεταξύ των γονιδίων CN, γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με τη λειτουργία της καζεΐνης ως σταθεροποιητής

των μικκυλίων καζεΐνης. Η διερεύνηση σε επίπεδο DNA επιτρέπει τη σύγκριση μεταξύ συνώνυμων<sup>3</sup> και μη συνώνυμων<sup>4</sup> μεταλλάξεων.

Σε παλαιότερες μελέτες, οι Gatesy et al. (1996) σε φυλογενετική ανάλυση για την εξέλιξη και προέλευση των θηλαστικών από υδρόβια κήτη, συνέκριναν τις θέσεις CSN3 exon IV από 21 είδη θηλαστικών. Παρατήρησαν ότι για κάθε κωδικόνιο τα ποσοστά των συνώνυμων και μη συνώνυμων σημειακών μεταλλάξεων ανά θέση (ένα κωδικόνιο αποτελείται από τρία νουκλεοτίδια, άρα τρεις θέσεις) ήταν παρόμοια, με περίπου ισοδύναμες αποκλίσεις (Gatesy et al., 1996). Σύμφωνα, λοιπόν, με τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας, το γονίδιο CN3 που κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες ακολουθεί ένα αυστηρά ουδέτερο μοντέλο εξέλιξης (Gatesy et al., 1996). Επίσης, Ward et al. (1997) μελέτησαν την αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του γονιδίου CN3 σε διαφορετικές φυλές βοοειδών με μακρινή συγγένεια (*B. bison*, *B. Bonasus*, *Bos javanicus*, *B. grunniens*, *B. gaurus*, *Syncerus caffer caffer*, *S. caffer nanus*, *Tragelaphus imberbis*, *Bosehphus tragocamelu*, *Capra hircus*). Για την ακρίβεια επικεντρώθηκαν στη μελέτη μίας περιοχής 34 κωδικονίων που υπεύθυνη για τον σχηματισμός ενός πεπτιδίου της καζεΐνης κ, το καζεΐνομακροπεπτιδίο (CMP). Παρατήρησαν ότι ο πολυμορφισμός του συγκεκριμένου πεπτιδίου είναι περιορισμένος στο είδος και πιο εκτεταμένος μεταξύ των ειδών (Ward et al., 2009)

Πιο πρόσφατα, οι Lemay et al. (2009) μετά την χαρτογράφηση του γονιδιώματος του *Bos taurus*, μελέτησαν το γονιδίωμα γαλουχίας βοοειδών. Ανέφεραν την ύπαρξη ενός συνόλου 6.469 γονιδίων στον μαστικό αδένα εκ των οποίων τα 197 γονίδια είναι υπεύθυνα για τις πρωτεΐνες γάλακτος. Παρατήρησαν ότι η έκφραση αυτών των γονιδίων υπόκεινται σε αυστηρότερους περιορισμούς επιλογής (αρνητική επιλογή) σε σύγκριση με το υπόλοιπο γονιδίωμα, έτσι ώστε να μεγιστοποιηθεί η πιθανότητα επιβίωσης μητέρας και νεογνού (Lemay et al., 2009).

Οι Farrell et al. (2004) σε μία ανασκόπηση που πραγματοποίησαν στην ονοματολογία των πρωτεϊνών γάλακτος στο γένος *Bos* συγκέντρωσαν τις διαφορετικές παραλλαγές που αναφέρονται βιβλιογραφικά. Προσδιόρισαν την ύπαρξη

---

<sup>3</sup> Συνώνυμες μεταλλάξεις: πρόκειται για μεταλλάξεις σημείου που οδηγούν σε ένα κωδικόνιο που κωδικοποιεί το ίδιο αμινοξύ με το αρχικό κωδικόνιο βλ.

[https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/BIO\\_P\\_180/Amoutzias/Bioinfo\\_MSc2\\_lecture-practical2\\_2014\\_2015.pdf](https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/BIO_P_180/Amoutzias/Bioinfo_MSc2_lecture-practical2_2014_2015.pdf)

<sup>4</sup> Μη συνώνυμες μεταλλάξεις: πρόκειται για μεταλλάξεις σημείου που οδηγούν σε ένα κωδικόνιο που κωδικοποιεί αμινοξέα με παρόμοιες ή διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες βλ.

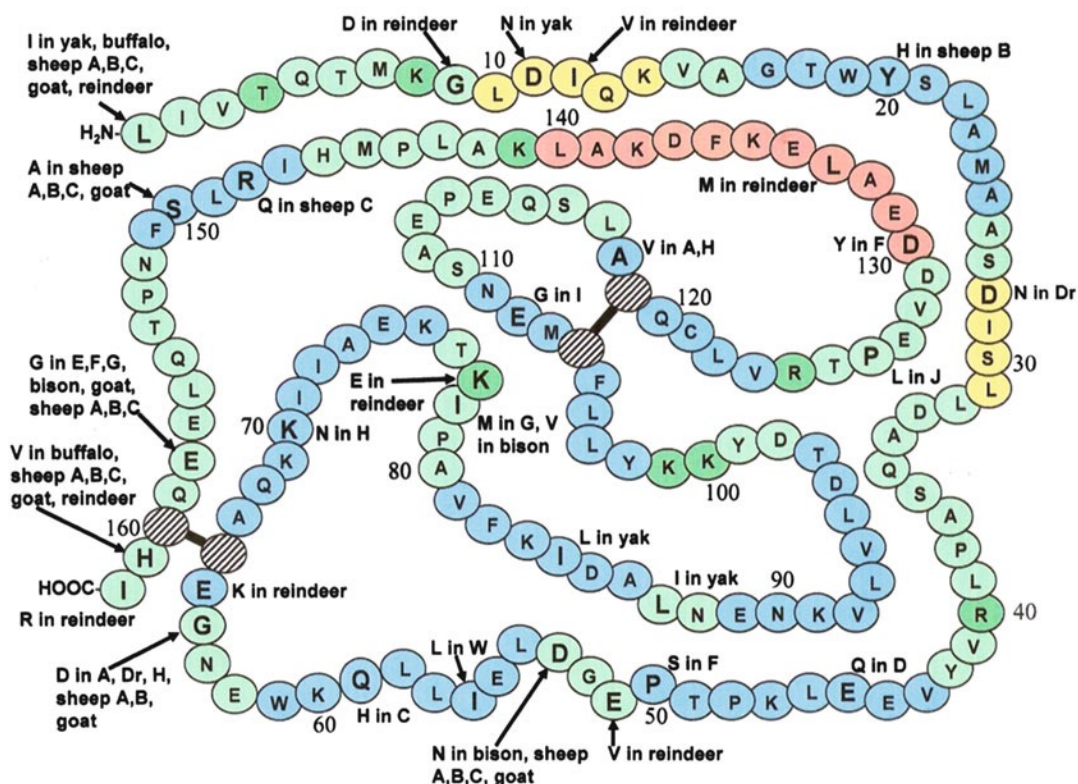
[https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/BIO\\_P\\_180/Amoutzias/Bioinfo\\_MSc2\\_lecture-practical2\\_2014\\_2015.pdf](https://eclass.uth.gr/modules/document/file.php/BIO_P_180/Amoutzias/Bioinfo_MSc2_lecture-practical2_2014_2015.pdf)

οκτώ  $\alpha_{s1}$ -CN (A, B, C, D, E, F, G, H), τεσσάρων  $\alpha_{s2}$ -CN (A, B, C, D), δώδεκα  $\beta$ -CN (A<sup>1</sup>, A<sup>2</sup>, A<sup>3</sup>, B, C, D, E, F, G, H<sup>1</sup>, H<sup>2</sup>, I), 11  $\kappa$ -CN (A, B, C, E, F<sup>1</sup>, F<sup>2</sup>, G<sup>1</sup>, G<sup>2</sup>, H, I, J), έντεκα  $\beta$ -λακτοσφαιρίνης (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, W) και τριών  $\alpha$ -λακταλβουμίνης (A, B, C). Οι παραλλαγές αυτές γενικεύονται και για τις τέσσερις φυλές του γένους *Bos* που εξετάζονται κυρίως σε μελέτες πρωτεϊνών γάλακτος βοοειδών, δηλαδή *Bos taurus*, *Bos indicus* (zebu), *Bos grunniens* (yak) και *Bos javanicus* (Caroli et al., 2009).

## 2.3 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

### 2.3.1 $\beta$ -λακτογλοβουλίνη ή $\beta$ -λακτοσφαιρίνη

Πρόκειται για μία πρωτεΐνη όπου παρουσιάζει γενετικό ποικιλομορφισμό, ο οποίος διαφέρει μεταξύ των διάφορων ειδών ζώων. Για παράδειγμα, έχουν περιγραφεί περισσότερες από 11 γενετικές παραλλαγές αυτής της πρωτεΐνης στο γάλα των βοοειδών. Συχνότερα παρουσιάζεται στη μορφή A και στη μορφή B, οι οποίες περιέχουν δύο δισουλφιδικούς δεσμούς στις θέσεις Cys66-Cys160 και στις θέσεις Cys106-Cys11 και υδροθειομάδα (θειόλη) στην θέση Cys121 (Deeth & Bansal, 2019).



**Εικόνα 9:** Αλληλουχίες αμινοξέων  $\beta$ -λακτοσφαιρίνη βοοειδών και μηρυκαστικών

### **Σε γάλα προβάτου**

Ένας πολυμορφισμός δύο αλληλόμορφων γονιδίων ανιχνεύθηκε με ηλεκτροφόρηση πηκτώματος αμύλου στις φυλές της Σικελίας: Comisana, Pinzirita και Barbaresca žChiofalo και Micari, 1987. Ο ίδιος πολυμορφισμός ανιχνεύθηκε στο γάλα της Λετονίας Darkhead EWE από τους Stambekov et al., 1977 (Moioli et al., 1998)

### **Στο DNA προβάτου**

Ένα ψευδογόνο αναφέρθηκε στα πρόβατα και τα γονιδιωματικά πρότυπα COM-PREX RFLP δείχνουν την εμφάνιση τουλάχιστον πέντε αλληλουχιών που σχετίζονται με την α-λακταλβουμίνης. Η έκφραση του γονιδίου της α-λακταλβουμίνης απαιτεί τη συνεργιστική δράση της ινσουλίνης και της προλακτίνης. Η προγεστερόνη, αντίθετα, αναστέλλει την έκφρασή του (Moioli et al., 1998).

### **Σε γάλα κατσίκας**

Δύο παραλλαγές αναγνωρίστηκαν σε γάλα κατσίκας από τους Maes et al (1976), οι οποίοι βρήκαν μεγάλη ομοιότητα αυτής της πρωτεΐνης με την ομόλογη των βοοειδών (Moioli et al., 1998)

### **Στο DNA κατσίκας**

Ένα ψευδογόνο αναφέρθηκε από τους Mercier & Vilotte, (1993) (Moioli et al., 1998)

#### **2.3.2 α-Λακτοαλβουμίνη**

Το γάλα που προέρχεται από τα ζώα που ανήκουν στη φυλή *Bos taurus* περιέχει μόνο μία γενετική παραλλαγή (B) της α-λακτοαλβουμίνης, αλλά το γάλα των βοοειδών της φυλής Zebu παράγουν δύο παραλλαγές (A και B). (Goulding et al., 2020).

Αρκετές γενετικές πολυμορφικές παραλλαγές της β-λακτοσφαιρίνης έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία και παρατηρούνται τεράστιες παραλλαγές μεταξύ των ειδών. Για παράδειγμα, 11 γενετικές παραλλαγές (A, J, W) της β-λακτοσφαιρίνης

βοοειδών περιγράφηκαν από τους Farrell et al. (2004), με τις παραλλαγές A και B να είναι οι πιο άφθονες. Ο αριθμός των γενετικών παραλλαγών στο β-Lg των βοοειδών έχει υπολογισθεί σε 13 από δημοσίευση των Martin et al. (2013). Στο πρόβειο γάλα, έχουν εντοπιστεί τρεις γενετικές παραλλαγές (A-C) του β-Lg που διαφέρουν μεταξύ τους σε ένα ή δύο αμινοξέα (Selvaggi et al, 2014). Στο κατσικίσιο γάλα, ενώ έχουν αναφερθεί αρκετές υποκαταστάσεις νουκλεοτιδίων, μέχρι στιγμής δεν έχουν εντοπιστεί παραλλαγές που να προκαλούν αλλαγές αμινοξέων (Selvaggi et al., 2014). Το ισοηλεκτρικό σημείο των βοοειδών β-Lg παραλλαγών A και B έχει αναφερθεί ως 5,13 ενώ τα ισοηλεκτρικά σημεία τους είναι 5,35 και 5,41, αντίστοιχα (Farrell et al., 2004). (Deeth & Bansal, 2019).

### **Σε γάλα προβάτου**

Ο King (1969) έδειξε ότι η πρωτεΐνη είναι πολυμερή σε διάφορες φυλές προβάτων. Οι γενετικές παραλλαγές A και B διαφέρουν στη θέση αμινοξέων 20, όπου η παραλλαγή A έχει TYR (Moioli et al., 1998).

### **Στο DNA προβάτου**

Οι Schlee et al. (1993) ανίχνευσαν σε DNA προβάτου τους ίδιους πολυμορφισμούς που αποδεικνύονται στο γάλα, ενισχύοντας με PCR ένα θραύσμα 236-βάσης-ζεύγους του γονιδίου οφθαλμού, συμπεριλαμβανομένου του Exon 2 και αποδεικνύεται μια θέση περιορισμού (Moioli et al., 1998).

### **Σε γάλα κασίκας**

Οι πολυμορφισμοί μελετήθηκαν από τους Ρώσους συγγραφείς žstupniskii & Il'chenko (1967). Macha, 1970 (Moioli et al., 1998).

Δεν παραπέμπεται πολυμορφισμός.

## 2.4 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΚΑΖΕΪΝΩΝ

### 2.4.1 $a_{s1}$ -καζεΐνη

#### **Πρόβειο γάλα**

King (1966): αποδείχθηκε η «ουαλική» παραλλαγή στη φυλή Cluny Forest, το ουαλικό βουνό και το Σάφολκ. Η παραλλαγή «Ουαλίας» εντοπίστηκε επίσης στην Ιταλία από τους Russo et al. (1981) στις φυλές Sarda και Massese, από τους Chiofalo et al. (1982) στη φυλή Pinzirita, από τους Rossi & Clementi (1984) στις φυλές Sarda και Arpennepea και από τους Bolla et al. (1989) και Piredda et al. (1993) στη φυλή Sarda (Moioli et al., 1998)

Οι Ferranti et al. (1995) καθόρισαν την πρωτογενή δομή των A, C και D παραλλαγών, που δείχνουν ότι οι διαφορές μεταξύ τους είναι απλές υποκαταστάσεις που σχετίζονται με τον βαθμό στον οποίο η πρωτεΐνη φωσφορυλιώνεται. (Moioli et al., 1998).

Η παραλλαγή E αναφέρθηκε σε μια εργασία των Chianese et al., (1996) στην οποία και οι πέντε παραλλαγές A-E. εντοπίστηκαν στο πρόβειο γάλα και προτάθηκε μια ονοματολογία για την ταυτοποίησή τους (Moioli et al., 1998).

#### **Στο DNA των προβάτων**

Ένας πολυμορφισμός δύο αλληλόμορφων με EcoRI και ένας πολυμορφισμός τριών αλληλόμορφων με TaqI στον τόπο  $a_{s1}$  στο Ile de France και στις φυλές Sarda ανιχνεύθηκε μετά τον υβριδισμό με έναν ανιχνευτή cDNA καζεΐνης  $a-s1$  βοοειδών (Di Gregorio et al., 1991; Leveziel et al., 1991) (Moioli et al., 1998).

#### **Στο κατσικίσιο γάλα**

Ένας πολυμορφισμός με επτά αλληλόμορφα (A, B1, B2, B3, C, D, E, F, G, O) βρέθηκε στις περισσότερες ευρωπαϊκές φυλές

Οι  $a_{s1}$  καζεΐνες A, B, Γ και E διαφέρουν μόνο λόγω μερικών υποκαταστάσεων αμινοξέων, ενώ οι  $a-s1$  καζεΐνες D και F δείχνουν βαθιές δομικές διαφορές, που

συνίστανται σε εσωτερικές διαγραφές, αντίστοιχα, 11 και 37 αμινοξέων. Η ετερογένεια της  $\alpha_{s1}$ -καζεΐνης της κασίκας σε μεμονωμένα δείγματα καζεΐνης καθορίζεται από διαφορετικές φωσφορυλίωσεις της πολυπεπτιδικής αλυσίδας: οι τρεις ζώνες που βρέθηκαν σε κάθε παραλλαγή αντιστοιχούν στην ίδια πρωτεϊνική αλυσίδα με διαφορετικούς βαθμούς φωσφορυλίωσης, 7P, 8P ή 9P. Η παραλλαγή A περιέχει οκτώ υπολείμματα φωσφορικού ενώ δύο παραλλαγές με επτά και εννέα υπολείμματα φωσφορικού, αντίστοιχα, ανιχνεύθηκαν (Moioli et al., 1998).

### **Στο DNA της αίγας**

Σύμφωνα με διάφορες μελέτες, αποδεικνύεται ότι το E αλληλόμορφο έχει μια εισαγωγή 457 ζευγών βάσεων εντός του εξονίου 19, ενώ το αλληλόμορφο O έχει μια διαγραφή στην περιοχή κωδικοποίησης. Πρόσφατα, η ανάλυση PCR και mRNA έδειξε ότι η εσωτερική διαγραφή στο αλληλόμορφο F οφείλεται στην απώλεια των εξωνίων 9, 10 και 11 κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης του mRNA, η οποία πιθανότατα καθορίζεται από τη διαγραφή ενός νουκλεοτιδίου εντός του εξωνίου 9 και από το εισαγωγή 11 και τριών νουκλεοτιδίων στο επόμενο ιντρόνιο. Αποδείχθηκε ωστόσο ότι παράγονται σωστά και λανθασμένα συναρμολογημένα Πολλαπλά mRNA παράγονται πολύ πιθανώς λόγω δυσκολιών στη συναρμολόγηση των εξονίων κατά την ωρίμανση. Στις πιο δημοφιλείς φυλές αιγών το αλληλόμορφο έχει συχνότητα 10%, ενώ τα αλληλόμορφα E και F έχουν συχνότητα 40% (Moioli et al., 1998).

Οι Martin & Leroux, (1994), εντόπισαν μια τρίτη ελαττωματική παραλλαγή G που δημιουργήθηκε με παράλειψη εξονίου. (Moioli et al., 1998).

#### 2.4.2 $\alpha_{s2}$ -καζεΐνη

### **Σε γάλα προβάτου**

Ορισμένες έρευνες που πραγματοποιήθηκαν με ηλεκτροφόρηση, δεν έδειξαν πολυμορφισμό στο γάλα των προβάτων. Οι Chianese et al. (1993b) ωστόσο ανίχνευσαν μία παραλλαγή στη φυλή Manchega χρησιμοποιώντας διακεκομμένη ηλεκτροφόρηση πολυακρυλαμιδίου-πηκτώματος και ανοσοαντίδρασης (Moioli et al., 1998).



### **Σε γάλα κατσίκας**

Δύο παραλλαγές A και B εντοπίστηκαν για πρώτη φορά από τους Boulanger et al (1984). Αργότερα οι Bouniol et al. (1994) σε ισοηλεκτρικές αναλύσεις εστίασης που έκαναν απέδειξαν την ύπαρξη μίας ακόμη παραλλαγής C. Οι παραλλαγές σχηματίζονται από υποκαταστάσεις αμινοξέων :η A σχηματίζεται από τη B και η A από τη C. Οφείλονται στην υποκατάσταση της γλυκίνης ( Gly) σε λυσίνη (Lys) στη θέση 64 και λυσίνης (Lys) σε λευκίνης στη θέση 167 (Moioli et al., 1998).

### **Σε DNA κατσίκας**

Οι Di Gregorio et al (1989) προσδιόρισαν έναν πολυμορφισμό δύο αλληλόμορφων μετά τον υβριδισμό με έναν ανιχνευτή C-DNA βοοειδών μετά την πέψη με EcoRI και EcoRV ενδονουκλεάσες (Moioli et al., 1998)

#### 2.4.3 β- καζεΐνη

### **Σε γάλα προβάτου**

Δεν υπάρχουν σαφείς ενδείξεις πολυμορφισμού.

### **Στο DNA προβάτου**

Το γονίδιο β-καζεΐνης εκχωρήθηκε στο χρωμόσωμα 3 στα πρόβατα (Hayes et al, 1993). Ο πολυμερισμός δύο αλληλόμορφων αναφέρθηκε από τους Di Gregorio et al (1991), μετά από πέψη DNA με τις τρεις ενδονουκλεάσες (ecorv, HindIII και Taqi), και υβριδισμό με ανιχνευτή cDNA βοοειδών (Moioli et al., 1998)

### **Σε γάλα κατσίκας**

Η β-καζεΐνη είναι το σημαντικότερο κλάσμα καζεΐνης στο γάλα κατσίκας. Ήταν για μεγάλο χρονικό διάστημα που θεωρείται μονομορφικό.

Οι. Chianese et al (1993a) βρήκαν την ύπαρξη μεταβλητού αριθμού αλληλουχιών στην περιοχή β-καζεΐνης χρησιμοποιώντας διαφορετικές μεθόδους και συνθήκες

προσδιορισμού όπως αλκαλικό pH, ανοσοαντιδραστή, φασματομετρία μάζας ηλεκτροφόρησης, και εκτόνωσης αυτής της ετερογένειας στην πολλαπλή φωσφορυγία των πρωτεϊνικών αλυσίδων (Moioli et al., 1998)

### **Σε κασίκα DNA**

Το m-RNA της β-καζεΐνης και β-καζεΐνης Β έχει πανομοιότυπο μήκος, αλλά το επίπεδό τους είναι πολύ χαμηλότερο στις κασίκες του γονότυπου Οτο σε σύγκριση με τα αίγες ΑRA, δημιουργώντας μια μικρή ποσότητα Β-καζεΐνης και υποδεικνύοντας ότι το Β-Casein Ο είναι ένα ψευδές «μηδενικό» αλληλόμορφο (Ramunno et al., 1994) .. για να προσδιοριστεί το πολλαπλασιαστικό συμβάν υπεύθυνο για το μειωμένο επίπεδο mRNA, Ramunno et al. (1994) έχουν προσδιορίσει την αλληλουχία της περιοχής 5'NA που περιέχει τα ρυθμιστικά στοιχεία του γονιδίου Β-καζεΐνης, που αποδεικνύει μια μετάλλαξη Transition C έως T. Στο 7ο εξόνιο που κωδικοποιεί το τερματικό τμήμα της πρωτεΐνης, η οποία δημιουργεί ένα κωδικόνιο τερματισμού στη θέση 182 στη θέση Β-καζεΐνης Ο Allele. Αυτή η μετάλλαξη θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για το μειωμένο επίπεδο mRNA και επομένως για την χαμηλή περιεκτικότητα σε καζεΐνη (Moioli et al., 1998)

#### 2.4.4 κ-καζεΐνη

### **Στο πρόβειο γάλα**

Οι πρωτεΐνες μελετήθηκαν από τους Alais και Jolles (1961) και από τους Soulier et al. (1974), Αλλά δεν βρέθηκε πολυμορφισμός (Moioli et al., 1998).

### **Στο DNA των προβάτων**

Το DNA των προβάτων των φυλών Apulian Merino, Ile de France και Altamura έδειξε έναν πολυμορφισμό δύο αλληλόμορφων με τις ενδονουκλεάσες HindIII και PstII και έναν πολυμορφισμό τριών αλληλόμορφων (Moioli et al., 1998).

### **Στο κατσικίσιο γάλα**

Δύο παραλλαγές αναφέρθηκαν στην N-τερματική περιοχή της παρα-κ-καζεΐνης, που ονομάζεται A και B (Moioli et al., 1998).

### **Στο αίγα DNA**

Οι Di Gregorio et al., (1989) βρήκαν γενετικούς δείκτες στην περιοχή του DNA που περιείχαν γονίδιο κ-καζεΐνης μετά την πέψη με BamHI, EcoRV και P $\text{O}$ uII, επίσης ενδοεντολικές διασπάσεις και υβριδισμό με ένα βόειο κ-καζεΐνη cDNA ανιχνευτή (Moioli et al., 1998).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

### 3.1 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ

Ο πολυμορφισμός των πρωτεϊνών του γάλακτος προκαλείται είτε από την αντικατάσταση ενός αμινοξέος είτε από τη διαγραφή πολλών από αυτά και μπορεί να ανιχνευθούν τόσο μέσω ηλεκτροφόρησης του γάλακτος όσο και μέσω ανάλυσης του DNA. Σε επίπεδο DNA, οι πολυμορφισμοί οφείλονται είτε σε σημειακές μεταλλάξεις είτε σε φαινόμενα επαναδιάταξης DNA. Στην περίπτωση σημειακών μεταλλάξεων, δηλαδή μίας απλής νουκλεοτιδικής υποκατάστασης, εντοπίζονται διαφορές μεταξύ δύο ατόμων χρησιμοποιώντας ένζυμα περιορισμού που κόβουν το DNA μόνο σε μια συγκεκριμένη αλληλουχία DNA: διαφορετικά αλληλόμορφα θα αποδειχθούν στην τεχνική πηκτώματος ηλεκτροφόρησης (πολυμορφισμοί μήκους θραύσης περιορισμού από ζώνες διαφορετικών μηκών). Σε περίπτωση που η σημειακή μετάλλαξη δεν αναγνωρίζεται από οποιεσδήποτε ενδονουκλεάσες, μπορούν να κατασκευαστούν εκκινητές, ειδικά για αλληλόμορφα για τις διαφορετικές παραλλαγές και να χρησιμοποιούνται ανεξάρτητα σε μια πολυμεράση αλυσιδωτή αντίδραση PCR. Με έναν δεύτερο κοινό εκκινητή μπορεί να ενισχυθεί περαιτέρω η περιοχή όπου έχει πραγματοποιηθεί αυτή η μετάλλαξη ώστε να ανιχνευθεί με την τεχνική PCR (Moioli et al., 1998)

Τα φαινόμενα αναδιάταξης αποτελούνται από παρεμβολές, διαγραφές και αναστροφές θραυσμάτων DNA. Οι πιο συνηθισμένες αναδιατάξεις συμβαίνουν σε μικρά τμήματα, οι οποίες αποτελούμενοι από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες δύο, τριών ή τεσσάρων νουκλεοτιδίων. Συγκεκριμένοι μικρο-δορυφόροι που περιέχονται σε ένα τμήμα αλληλουχίας μοναδικού DNA μπορούν να ενισχυθούν μεμονωμένα μέσω της PCR χρησιμοποιώντας ένα ζευγάρι παράπλευρων μοναδικών ολιγονουκλεοτιδίων. Οι ενισχυμένες αλληλουχίες που παράγονται από διαφορετικά άτομα εμφανίζουν πολυμορφική μεταβολή μήκους και χρησιμοποιούνται για την κατασκευή χαρτών σύνδεσης, υπολογίζοντας τις συχνότητες ανασυνδυασμού από άτομα που ανήκουν σε οικογένειες (Moioli et al., 1998)

Οι πίνακες 1 και 2 συνοψίζουν τις παραλλαγές πρωτεΐνης σε αιγοπρόβατα.

Table 1  
Protein variants in sheep

Locus	Protein variants (by milk analysis)	DNA polymorphisms
$\alpha$ -s1 casein	A, B, C, D (Welsh), E	<i>EcoRI</i> and <i>TaqI</i> polymorphic patterns by using DNA $\alpha$ -s1 bovine probe
$\alpha$ -s2 casein	A, B	<i>EcoRV</i> polymorphic pattern by using a cDNA $\alpha$ -s2 bovine probe
$\beta$ -casein	Nothing existing	<i>EcoRV</i> , <i>HindIII</i> and <i>TaqI</i> polymorphic patterns by using a cDNA $\beta$ -casein bovine probe
$\kappa$ -casein	Nothing existing	<i>Hind III</i> , <i>PvuII</i> and <i>PstI</i> polymorphic patterns by using a cDNA $\kappa$ -casein bovine probe
$\alpha$ -lactalbumin	A, B	Nothing existing
$\beta$ -lactoglobulin	A, B, C	A, B, C

Πηγή: Moiola et al., 1998

Table 2  
Protein variants in goats

Locus	Protein variants (by milk analysis)	DNA polymorphisms
$\alpha$ -s1 casein	A, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>3</sub> , C, D, E, F, G, O	A, B, C, D, E, F, G, O
$\alpha$ -s2 casein	A, B, C	<i>EcoRI</i> and <i>EcoRV</i> polymorphic patterns by using a cDNA bovine probe
$\beta$ -casein	A, B, O	Point mutation in exon 7
$\kappa$ -casein	A, B	<i>BamHI</i> , <i>EcoRV</i> and <i>PvuII</i> polymorphic patterns by using a cDNA bovine probe
$\alpha$ -lactalbumin	A, B	Nothing existing
$\beta$ -lactoglobulin	A, B	Nothing existing

Πηγή: Moiola et al., 1998

### 3.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Οι μεμονωμένες διαφορές στις πρωτεΐνες γάλακτος επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τα χαρακτηριστικά παραγωγής γάλακτος σε αιγοπρόβατα. Οι ειδικές λειτουργίες των πρωτεϊνών του γάλακτος, όπως η πρόσδεση στο νερό, η μαλάκωση ζελατινοποίησης και ο αφρισμός, σχετίζονται άμεσα με τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της πρωτεΐνης.

Οι σχέσεις μεταξύ των πολυμερισμάτων πρωτεϊνών γάλακτος και των χαρακτηριστικών παραγωγής γάλακτος αναζητήθηκε σε βοοειδή, Βυφ-Faloes, πρόβατα και κασίκες. Δεν βρέθηκε ακόμη γενετικός δείκτης, αλλά δεν αναμένεται να έχει μεγάλη επιρροή στην παραγωγή γάλακτος, διαφορετικά θα είχε καθοριστεί από τη μακροπρόθεσμη επιλογή για την απόδοση γάλακτος.

#### Θερμική σταθερότητα του γάλακτος

Μεταξύ των λίγων ερευνών που αναφέρθηκαν για το γάλα πρόβατα και κασίκι, δεν αναφέρθηκε καμία διαφορά στη σταθερότητα θερμότητας μεταξύ δειγμάτων γάλακτος από ομοζυτικές κασίκες των γονότυπων AA, EE και FF στον τόπο  $\alpha$ -s<sub>1</sub> (Moioli et al., 1998).

### Επίδραση στην πτυιά

Η επίδραση του πολυμορφισμού στη σύνθεση του γάλακτος στην αποτελεσματικότητα της πτυιάς, είναι ένα θέμα που χρήζει διερεύνησης.

Οι Piredda et al (1993) διαπίστωσαν ότι το γάλα από τα πρόβατα με «ουαλική» παραλλαγή έχει χαμηλότερη συνολική περιεκτικότητα σε καζεΐνη. Ο χρόνος πήξης είναι επίσης μεγαλύτερος στο «γάλα τύπου Welsh» και το τυρόπηγμα είναι μαλακότερο. Η παραλλαγή Α της β-λακτοσφαιρίνης στα πρόβατα Manchega έδειξε καλύτερη ιδιότητα τυροκομίας από τη Β, έρευνα Garzon & Martinez (1992). Οι Pilla et al (1995) ανέφερε ένα θετικό αποτέλεσμα της παραλλαγής Β στον χρόνο πήξης του γάλακτος του ιταλικού προβάτων γαλακτοκομικών προϊόντων. αλλά μετά από μελέτες για τη συσχέτιση των πολυμορφισμών β-λακτοσφαιρίνης με τεχνολογικές ιδιότητες του γάλακτος προβάτων (Lopez-Galvez et al, 1994, Recio et al, 1995) δεν κατέληξαν σε οριστικά συμπεράσματα (Moiooli et al., 1998).

Στο γάλα κασίκας, τα επτά αλληλόμορφα που αναφέρθηκαν για την  $\alpha_{s1}$ -καζεΐνη έχουν συσχετιστεί με διαφορετικές ποσότητες  $\alpha_{s1}$ -καζεΐνης . Επίσης, έδειξε ότι τα αλληλόμορφα συσχετίζονται με το συνολικό περιεχόμενο Ν, καζεΐνης και λιπαρών, μέγεθος μικυλλίων . Σημαντικές διαφορές στην ταχύτητα πήξης, της σταθερότητας και της απόδοσης τυριού αποδείχθηκαν μεταξύ των τριών ομάδων αλληλόμορφων. Οι καλύτερες παράμετροι ελήφθησαν με ομόζυγους  $\alpha_{s1}$  -καζεΐνης ΑΑ. Όσον αφορά τη γεύση, το αλληλόμορφο Α δίνει στο κασικίσιο τυρί πιο γλυκιά γεύση (Moiooli et al., 1998).

Το Α αλληλόμορφο συνδέεται με μεγαλύτερο χρόνο πήξης  $\frac{1}{4}$  20 λεπτά σε σύγκριση με 5,5 για το γάλα κασίκας. Επιπλέον, η απόδοση τυριού των κασικίων που δείχνει το αλληλόμορφο Ο είναι μόνο το 80% της απόδοσης των κασικίσιων τυριών με άλλα γάλατα (Moiooli et al., 1998).

### 3.3 ΑΠΟΔΟΣΗ ΣΕ ΓΑΛΑ

Ο πολυμορφισμός της λακτοαλβουμίνης σε πρόβατα συνδέθηκε από διάφορους συγγραφείς και έρευνες με την απόδοση σε γάλα . Αναφέρεται ότι η παραλλαγή Β της β-λακτοσφαιρίνης σχετίζεται με υψηλότερη απόδοση γάλακτος στη φυλή της Σάρδας, ενώ ο Di Stasio et al (1992) διαπίστωσε ότι τα ετερόζυγα πρόβατα της Σικελίας έδωσαν υψηλότερη απόδοση γάλακτος. Η μεγαλύτερη απόδοση γάλακτος από τις ετερόζυγες

προβατίνες υποδεικνύεται επίσης από τους Stambekov et al (1977b). Στα σοβιετικά πρόβατα Merino διαπιστώθηκε ότι οι προβατίνες με τους γονότυπους β-λακτοσφαιρίνης AB έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και καζεΐνη (Moioli et al., 1998).

Η παραλλαγή  $\alpha_{S1}$ -καζεΐνη D σχετίζεται με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και πρωτεΐνη στα πρόβατα Sarda

Η επίδραση του πολυμορφισμού της καζεΐνης  $\alpha_{S1}$  σε κασίκες στο γάλα, η απόδοση του λίπους και της πρωτεΐνης και η περιεκτικότητα σε λιπαρά και πρωτεΐνη μελετήθηκε από τους Mahe et al. (1994) και επιβεβαιώθηκε από τους Barbieri et al (1995). Σε κασίκες της αλπικής φυλής, που αποδεικνύουν ότι:

1. Το υψηλότερο ποσοστό πρωτεΐνης παρουσιάζεται από τους γονότυπους AA, ακολουθούμενη από AE) AF) EE) EE) EF) EF) FF και ότι η AA ομόζυγη κασίκια δίδουν 3,5 g πρωτεΐνη γάλα περισσότερο από EE και 4,8 g περισσότερο από τους γονότυπους FF.

2. Το ποσοστό λίπους είναι επίσης υψηλότερο στους γονότυπους AA, AE και AF σε σύγκριση με το EE και το FF.

3. Τα AA ομόζυγα κασίκια έχουν σημαντικά χαμηλότερη απόδοση γάλακτος σε σύγκριση με τους γονότυπους AE, AF, EE και FF.

Σύμφωνα με τους Chianese et al (1993a), το αλληλόμορφο O της β-καζεΐνης σε κασίκες σχετίζεται με μια πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε καζεΐνη στο γάλα.

Η επίδραση του πολυμορφισμού κ-καζεΐνης στο γάλα, και στη σύστασή του (περιεκτικότητα σε λίπος, πρωτεΐνη, καζεΐνη και απόδοση της λακτόζης) στη φυλή Murciana-Granadina μελετήθηκε από τους Angulo et al (1994). Από την έρευνα αυτή αποδείχθηκε ότι σημαντικά υψηλότερο σε θρεπτική αξία γάλα και απόδοση καζεΐνης παρουσιάζεται για γονότυπο K-CN BB. (Moioli et al., 1998).

### 3.4 ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΤΥΡΟΚΟΜΙΑ

Ένα από τα πιο εντυπωσιακά αποτελέσματα των πολυμορφισμών πρωτεΐνης γάλακτος σε χαρακτηριστικά με οικονομικό ενδιαφέρον είναι η σχέση τους με τις τυροκομικές ιδιότητες του γάλακτος. Αυτή η επίδραση έχει διερευνηθεί κυρίως σε βοοειδή. Μελέτες διεξήχθησαν στην Ιταλία τη δεκαετία του 1970 (δηλαδή, Losi et al., 1973; Mariani et al., 1976), πολλές από αυτές εστιάζουν στις επιδράσεις της κ-καζεΐνης

(κ-CN) στη ρεολογική ποιότητα του γάλακτος. Η κ-CN, που βρίσκεται κυρίως στην επιφάνεια των μικυλίων καζεΐνης, είναι το ειδικό υπόστρωμα της χυμοσίνης, η υδρολυτική δραστηριότητα του οποίου χωρίζει την κ-CN στο αδιάλυτο παρα-κ-CN (αμινοξύ 1-105) και το διαλυτό καζεΐνομακροπροπεπτιδίο ( CMP: αμινοξύ 106–171). Αυτή είναι μια κρίσιμη διαδικασία για την παραγωγή τυριού αλλά και για τη διατροφή των θηλαζουσών μοσχारीών. Σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες όπως αύξηση της αποτελεσματικότητας της πέψης και αντιβακτηριακή δραστηριότητα αποδόθηκαν συγκεκριμένα στο CMP (Caroli et al., 2009)

Είναι πολύ γνωστό ότι το γάλα με την παραλλαγή CSN3 \* B αντιδρά πιο γρήγορα με την πτυιά και έχει χρόνο πήξης σημαντικά μικρότερο από το γάλα με CSN3 \* A, ενώ το γάλα από ετεροζυγώδεις αγελάδες δείχνει μια ενδιάμεση συμπεριφορά. Οι διαφορές στη σταθερότητα των μικκυλίων που εμφανίζονται μεταξύ των 2 γενετικών παραλλαγών CSN3 \* A και CSN3 \* B συνδέονται αυστηρά με το μέγεθος των μικκυλίων και τον βαθμό γλυκοσυλίωσης της ίδιας της πρωτεΐνης. Ωστόσο, λιγότερο κοινά αλληλόμορφα CSN3 μπορεί να επηρεάσουν και τις ρεολογικές ιδιότητες του γάλακτος. Η συνεχής παρακολούθηση της διακύμανσης των πρωτεϊνών του γάλακτος σε διαφορετικές φυλές βοοειδών είναι μια ουσιαστική πρακτική που αποσκοπεί στην αποφυγή αύξησης των συχνότητων των μεταλλάξεων με δυσμενείς επιπτώσεις στην τυροπαραγωγή. Ένα παράδειγμα σπάνιου αλληλόμορφου που έχει αρνητική επίδραση στα ρεολογικά χαρακτηριστικά είναι το CSN3 \* G, που αναγνωρίζεται στη φυλή Pinzgauer και σχετίζεται με πιο δυσμενείς ιδιότητες πήξης από το CSN3 \* A. Ομοίως, στα Ιταλικά Φρισλανδικά, μια αρνητική επίδραση της παραλλαγής CSN3 \* E ανιχνεύθηκε στα χαρακτηριστικά πήξης του γάλακτος. Παρόλο που το κ-CN είναι ένα κρίσιμο στοιχείο στην επαναπλήρωση, πρέπει να ληφθούν υπόψη οι αλληλεπιδράσεις με τα άλλα συστήματα πρωτεϊνών γάλακτος, ιδίως τα β-CN και β-LG. Σε γενικές γραμμές, τα CSN2 \* B και LGB \* B βρέθηκαν πιο ευνοϊκά για την πήξη της πτυιάς και την ποιότητα του γάλακτος στο τυρί (Caroli et al., 2009)

Οι σύνθετοι γονότυποι CN εξετάστηκαν επίσης λόγω της στενής γενετικής σύνδεσης μεταξύ των γονιδίων CN. Στα ιταλικά Holsteins, σύμφωνα με τους Comin et al. (2008) διαπίστωσαν ότι τα CSN3 και CSN2 συσχετίζονται στενά με τα χαρακτηριστικά πήξης του γάλακτος και τις αποδόσεις γάλακτος και πρωτεΐνης, αντίστοιχα, και πρότειναν το σύνθετο γονότυπο και στα δύο γονίδια να είναι το καταλληλότερο κριτήριο για τις αποφάσεις επιλογής. Για χρόνο πήξης και



σταθερότητα, οι καλύτεροι σύνθετοι γονότυποι CSN2-CSN3 ήταν αυτοί με τουλάχιστον ένα αλληλόμορφο B και στους δύο τόπους (Caroli et al., 2009)

Μελέτες που στοχεύουν στη μελέτη του γενετικού πολυμορφισμού των πρωτεϊνών του τυριού που προέρχονται από το γάλα πραγματοποιήθηκαν για διάφορους τύπους τυριών. Στην κατασκευή τυριού του τυριού Manchego, η β-LG AA γάλακτος παρείχε την καλύτερη απόδοση τυριού πριν από την πίεση, ειδικά όταν η κατασκευή τυριού Manchego έγινε σε εργαστηριακή κλίμακα σε μικρο κλίμακα. Δύο τοπικά τυριά της Σικελίας, η Tuma, φτιαγμένη με καζεΐνη, και η Ricotta, παρασκευάστηκαν ενδεικτικά με υπολειμματικό ορό γάλακτος, με γονότυπος β-LG την περιεκτικότητα σε καζεΐνη και ορού γάλακτος Η απόδοση του τυριού δεν ήταν Cleding στους δύο τύπους τυριών που μελετήθηκαν (Portolano et al, 1997). Από αυτή την πειραματική διαδικασία συσχετίστηκε η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του ορού γάλακτος με μια μειωμένη απόδοση «Ricottaa ήταν σε συμφωνία με το υψηλότερο (Amigo et al., 2000)

Οι Di Stasio et al (1997), μελετώντας τους ίδιους τύπους τυριών, έδειξαν ότι ο φαινότυπος β-LG AA σχετίζεται με υψηλότερη απόδοση σε Ricotta (P (0,005)) και χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά (P (0,01)) στα τυριά Tuma (Amigo et al., 2000)

Όσον αφορά τις παραλλαγές, οι Pirisi et al. (1997) έχουν αναφέρει ότι η μέση ακαθάριστη απόδοση ήταν υψηλότερη στο CC γάλα (20,26%) από ό, τι στο γάλα AA (18,65%) και το γάλα DD (18,35%), το οποίο συνεπάγεται αυξήσεις της τάξεως 7.95 και 9,43% σε σύγκριση με το γάλα AA και DD, αντίστοιχα. Η απόδοση που ρυθμίζεται από την υγρασία έδειξε θετικά αποτελέσματα για το γάλα CC και DD. Για αυτή την παράμετρο, η DD μεταξύ των τριών ομάδων ήταν μικρότερη από την ακαθάριστη απόδοση για τα παλιά τυριά των 24 ωρών ήταν η σε περιεκτικότητα σε ξηρά ουσία. Το ποσοστό ανάκτησης ξηράς ύλης ήταν επίσης καλύτερο για το γάλα CC ενώ ο ρυθμός ανάκτησης λίπους ήταν χειρότερος από το γάλα AA και DD. Έχει αναφερθεί ότι η χημική σύνθεση τυριών 1 ημέρας ή 2 μηνών δεν ήταν σημαντικά μεταξύ των παραλλαγών, αν και τα τυριά που κατασκευάστηκαν από γάλα CC και CD ήταν χαμηλότερα σε λιπαρά από αυτά από το γάλα DD. Ωστόσο, τα κλάσματα ξηράς ύλης και αζώτου δεν σημείωσαν σημαντικές μεταβολές σε ωριμασμένα τυριά που κατασκευάζονται με DD γάλα (Amigo et al., 2000).

Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου να περιγραφεί καλύτερα τα σχετικά χαρακτηριστικά των τυριών που λαμβάνονται από μια τέτοια δοκιμασία, ιδίως όσον αφορά τα αισθητήρια χαρακτηριστικά τους.

### 3.5 ΕΚΜΕΤΑΛΛΕΥΣΗ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΤΟΥ DNA

Πολλά από τα οικονομικά σημαντικά χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένης της γαλακτοκομικής απόδοσης των αιγών και των προβάτων, έχουν πολύπλοκη φύση, πράγμα που σημαίνει ότι ένας εντυπωσιακός αριθμός παραγόντων εμπλέκεται στην έκφραση του φαινομένου. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια η έρευνα αποδεικνύει ότι ορισμένοι από αυτούς τους παράγοντες θα μπορούσαν να έχουν πολύ μεγαλύτερο αποτέλεσμα από τους άλλους και ότι θα μπορούσαν να προσδιοριστούν σε επίπεδο DNA.

Υπάρχουν δύο πολυμορφικοί τύποι:

- ο τύπος I αποτελείται από περιοχές που περιέχουν γονίδια τα οποία συμμετέχουν άμεσα στην έκφραση του χαρακτηριστικού.
- Ο τύπος II είναι, αντίθετα, ανώνυμες περιοχές, μικροαλληλουχίες, χωρίς λειτουργία κωδικοποίησης.

Όταν αναζητούνται πολυμορφισμοί τύπου I, επιλέγονται ένας περιορισμένος αριθμός περιοχών που φυσιολογικά συσχετίζονται με το χαρακτηριστικό. Πρέπει να δείχνουν πολυμορφισμό για να είναι χρήσιμες και πρέπει να χαρακτηρίζονται από το αντίστοιχο επίπεδο DNA. Όταν κανείς ψάχνει για πολυμορφισμούς τύπου II, σαρώνεται όλο το γονιδίωμα, επομένως απαιτείται ένας μεγάλος αριθμός αναλύσεων και ένας χάρτης γενετικής σύνδεσης, αλλά όλες οι περιοχές των διαφόρων χαρακτηριστικών μπορούν να αναγνωριστούν εφ' όσον συνδέονται με αντίστοιχο δείκτη (Moioli et al., 1998).

Τα γονίδια που συνθέτουν τις πρωτεΐνες γάλακτος έχουν όλα τα χαρακτηριστικά να είναι υποψήφια γονίδια γαλακτοκομικών χαρακτηριστικών σε πρόβατα και κασίκες. Μερικοί από αυτούς είναι πολυμορφικά και χαρακτηρίζονται σε επίπεδο DNA και εμπλέκονται άμεσα στη σύνθεση γάλακτος και απόδοση. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτού μπορεί να βρεθεί στη Γαλλία, όπου οι κύριοι στόχοι επιλογής για τις κασίκες είναι η απόδοση και το περιεχόμενο των πρωτεϊνών. Οι Manfredi et al,

(1995) έδειξαν πόσο η επιλογή διαφορετικών απογόνων των αλπικών και Saanen Bucks, AI-, αν και αγνοώντας τις πληροφορίες α<sub>S1</sub>-καζεΐνης διατηρούσαν τη συχνότητα του ευνοϊκού αλληλόμορφου A από 0,41 και 0,09 το 1987 έως 0,80 και 0,17 το 1994, αντίστοιχα. Επομένως, προκειμένου να αποφευχθεί η διατήρηση των νέων φορέων των δυσμενών αλληλόμορφων από τους ετερόζυγους γονείς A.A και AF. Μέχρι να δοκιμαστούν από τους απογόνους, ένα πρόγραμμα που βασίζεται σε μια έγκαιρη ηλεκτρονική επιλογή των παιδιών E Lite μέσω γονοτυπικών πληροφοριών στον τόπο της καζεΐνης A-S1 έχει εφαρμοστεί Zmanfredi et al., 1995 .. Η περαιτέρω εφαρμογή του DNA γονότυπου Η παραγωγή των ζώων παρέχει μια εναλλακτική λύση για την παρακολούθηση των γενεαλογιών και προσφέρει την ευκαιρία για τη μελέτη της σχέσης μεταξύ των τύπων πρωτεϊνών γάλακτος και της επιβίωσης των παιδιών και των αμνών(Moioli et al., 1998).

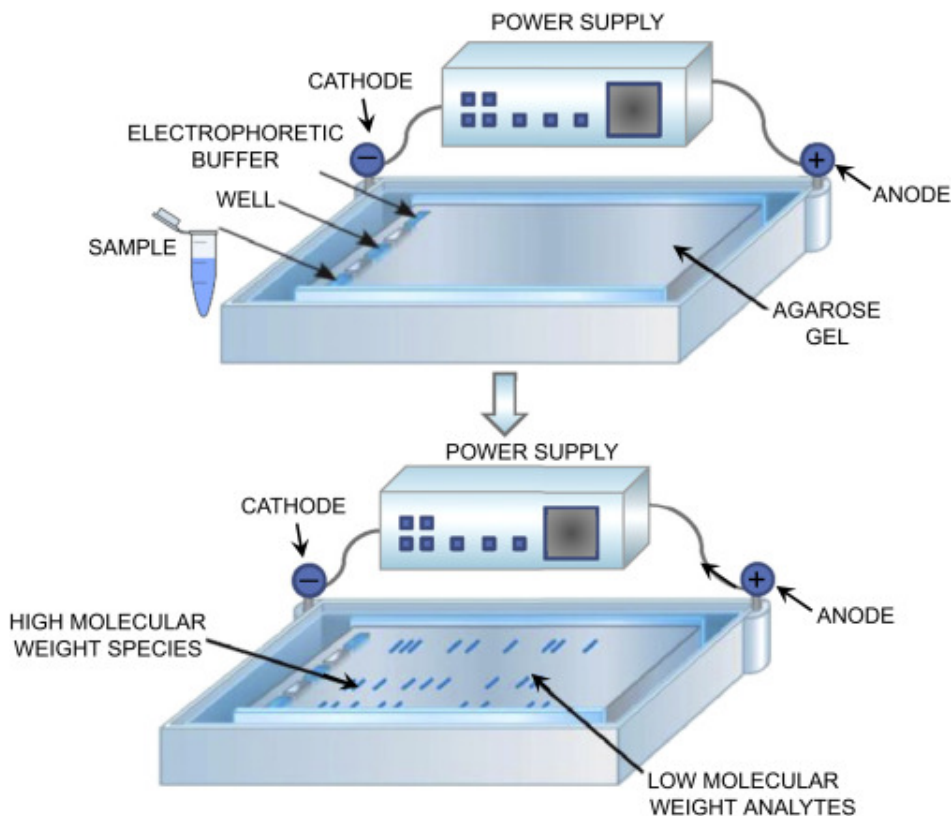
Ο σκοπός της μεταφοράς γονιδίων είναι η τροποποίηση του γονιδιώματος. Η απόδοση γάλακτος μπορεί να μεταβληθεί και θα μπορούσε να παραχθεί το γάλα διαφορετικών συνθέσεων. Οι ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες για ανθρώπινη χρήση θα μπορούσαν επίσης να παραχθούν στον μαστικό αδένα των διαγονιδιακών ζώων. Ο Wright et al (1991) δημιούργησαν διαγονιδιακά πρόβατα Το γάλα που περιείχε κατά μέσο όρο 35 gr/l σε ανθρώπινη δραστική αντιπρυψίνη και απέδειξε ότι το ιδρυτικό ζώο μεταδίδει αυτό το αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό στους απογόνους. Άλλες προοπτικές υπερβαίνουν το προέκκριμα των χαρακτηριστικών απόδοσης του γάλακτος και περιλαμβάνουν τη θειαία παραγωγή μαλλιού ή τη δημιουργία ανθεκτικών σε έντομα προβάτων (Moioli et al., 1998).

Ωστόσο, η μεταφορά γονιδίων δεν είναι δύσκολη. Το διαφορετικό DNA στην οποία μεταφέρονται ορισμένες αλληλουχίες σε εξόνια ή ιντρόνια του φυσικού γονιδίου σπάνια αναπαράγουν το περιβάλλον στο οποίο το σύστημα ελέγχου ενός συγκεκριμένου γονιδίου κανονικά θα λειτουργούσε. Σε ένα πολύπλοκο ευκαρυωτικό οργανισμό, όπως ένα υψηλότερο ζώο, μερικοί από τους απαιτούμενους παράγοντες ελέγχου για ένα γονίδιο, όπως ορμονικές πρωτεΐνες, μπορεί να εκφραστούν από τους ιστότοπους από το γονίδιο που ελέγχουν. Μεταφορά ξένου DNA μέσω μικροέγχυσης σε προφίλ των ζυγωτών των ωαρίων θεωρείται μια αναποτελεσματική διαδικασία επειδή μόνο το 0,2% έως 2% των εγχυμένων ζυγωτών που αναπτύχθηκαν σε διαγονιδιακά ζώα. Επομένως, η πρώτη προτεραιότητα στα πρόβατα είναι να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα στην απόκτηση διαγονιδιακών ζώων (Moioli et al., 1998).

### 3.6 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ

Ο γενετικός πολυμορφισμός που παρατηρείται στις πρωτεΐνες γάλακτος των ωαρίων είναι μια συνέπεια μεταλλάξεων που αλλάζουν την αλληλουχία νουκλεοτιδίων του συγκεκριμένου γονιδίου και ως εκ τούτου προκύπτουν αλληλουχίες αλληλουχικών αμινοξέων. Η εφαρμογή της διέλευσης ηλεκτροφορητικών τεχνικών όπως η όξινη και αλκαλική ηλεκτροφόρηση, η ισοηλεκτρική εστίαση, η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση (CE), η δισδιάστατη ηλεκτροφόρηση και η ανοσοτύπωση βοήθησε σημαντικά στη μελέτη του γενετικού πολυμορφισμού των πρωτεϊνών του γάλακτος. Ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι περιορίζονται στην ανίχνευση των παραλλαγών των πρωτεϊνών προκαλούνται από την υποκατάσταση ενός αμινοξέος για ένα άλλο. Θεωρητικά, εκτιμάται ότι οι μεταλλάξεις σε πρωτεΐνες λόγω υποκαταστάσεων αμινοξέων που δεν οδηγούν σε αλλαγή στο καθαρό φορτίο στις πρωτεΐνες (σιωπηρές παραλλαγές) εμφανίζονται τρεις φορές πιο συχνά από εκείνους που οδηγούν σε μια αλλοίωση σε καθαρό φορτίο. Οι τεχνικές HPLC ανταποκρίνονται καλά στην ανίχνευση των παραλλαγών των γαλακτοκομικών πρωτεϊνών. Ωστόσο αυτές οι τεχνικές έχουν εφαρμοστεί κυρίως για να μελετήσουν το γάλα κάποιου βοοειδούς (και πρωτεΐνες γάλακτος Caprine).

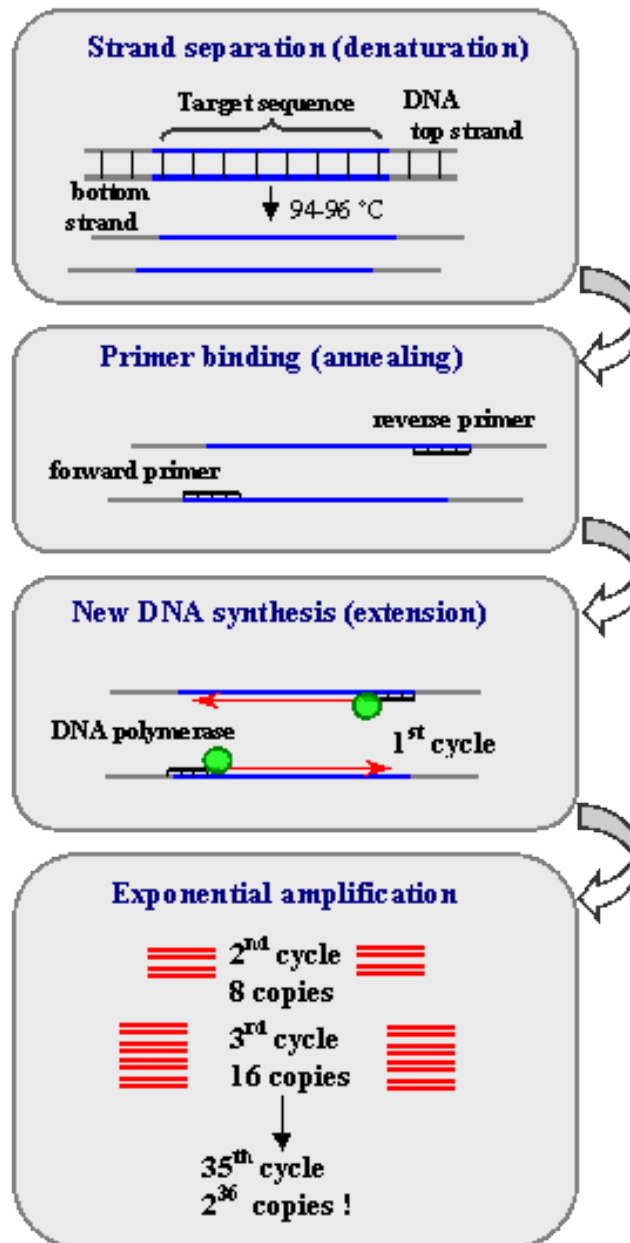
Η ηλεκτροφόρηση είναι μία εργαστηριακή μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό και την ανάλυση των νουκλεϊκών οξέων (DNA, RNA) ή πρωτεϊνών ανάλογα το μέγεθος των μορίων και το ηλεκτρικό τους φορτίο. Συνήθως, χρησιμοποιείται ένα πήκτωμα, μία γέλη στα άκρα της οποίας έχουν τοποθετηθεί δύο ηλεκτρόδια. Τα νουκλεϊκά οξέα λόγω των φωσφορικών ομάδων που περιέχουν μετακινούνται από την κάθοδο (αρνητικό ηλεκτρόδιο) προς την άνοδο (θετικό ηλεκτρόδιο) της συσκευής. Οι πόροι της γέλης επιτρέπουν στα μικρά μόρια να μετακινούνται πιο γρήγορα από τα μεγαλύτερα (Drabik et al, 2016).



**Εικόνα 10:** Ηλεκτροφόρηση σε άγαρ

Πηγή: Drabik et al, 2016

Η μέθοδος αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction – PCR) είναι μία μέθοδος που αναπτύχθηκε κατά τη δεκαετία 1980-1990 από τον βιοχημικό Kary B. Mullis (1944 – 2019) με την οποία μία γενετική αλληλουχία πολλαπλασιάζεται σε χιλιάδες αντίγραφα. Η μέθοδος PCR βασίζεται στην ικανότητα της DNA πολυμεράσης να συνθέτει νέους κλώνους DNA, συμπληρωματικούς ως προς ένα αρχικό – μητρικό. Για την έναρξη της διαδικασίας, απαιτείται αποδιάταξη του αρχικού DNA-στόχου (94- 96°C), και με βοήθεια ενός εκκινητή, ο οποίος τοποθετεί το πρώτο νουκλεοτίδιο του νέου κλώνου, ξεκινάει η διαδικασία αντιγραφής η οποία ολοκληρώνεται από την πολυμεράση. Έτσι, από ένα αρχικό μόριο, μία αρχική γενετική ακολουθία, στο τέλος του πρώτου κύκλου παράγονται δύο αντίγραφα, στο τέλος του δεύτερου κύκλου οκτώ αντίγραφα κ.λπ. φθάνοντας τα δισεκατομμύρια αντίγραφα μέσα σε διάστημα μερικών ωρών (Green & Sambrook, 2018).



**Εικόνα 11:** Αναπαράσταση της αντίδρασης PCR

Πηγή: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/>

Η αλληλούχιση νέας γενιάς (Next Generation Sequencing – NGS) είναι τεχνολογία προσδιορισμού αλληλουχιών DNA υψηλής απόδοσης που επιτρέπουν τον προσδιορισμό αλληλουχίας εκατομμυρίων κλώνων DNA παράλληλα δημιουργώντας μεγάλους όγκους δεδομένων αλληλουχίας σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα. Επιτρέπει την αλληλούχιση ακόμη και ολόκληρου του γονιδιώματος ενός οργανισμού σε σύντομο διάστημα και χαρακτηρίζεται από υψηλή ταχύτητα, ακρίβεια και οικονομία (Kelleher et al., 2015).

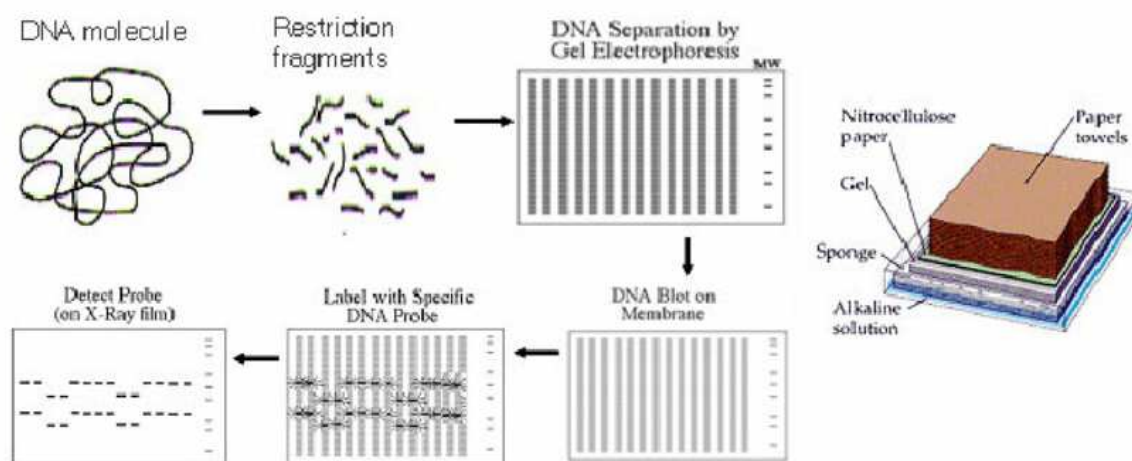
Με εξελίξεις στη μοριακή βιολογία, τεχνικές που ισχύουν για την ταυτότητα των παραλλαγών κάποιων γνωστών πρωτεΐνων γάλακτος των αιγοπροβάτων στο επίπεδο DNA έχουν δοκιμαστεί και τελειοποιηθεί. Ο πολυμορφισμός του DNA στους τέσσερις τόπους της καζεΐνης, η κληρονομιά τους και η σχέση σύνδεσης που χρησιμοποιούν την τεχνική πολυμορφισμού του θραύσματος περιορισμού (RFLP) έχουν περιγραφεί. Αυτά τα πρωτόκολλα αρχικής μοριακής δακτυλογράφησης έχουν συμπληρωθεί πολύ με την εμφάνιση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) (Agarwal et al., 2008)

Η ανάλυση RFLP είναι μια τεχνική που εφαρμόζεται στη μελέτη σύνθετων μικροβιακών κοινοτήτων και βασίζεται σε παραλλαγές στο γονίδιο 16S rRNA. Παρουσιάζει ταχύτητα, ευαισθησία ως προς την εκτίμηση της ποικιλομορφίας των σύνθετων κοινοτήτων χωρίς την ανάγκη για οποιαδήποτε πληροφορία γονιδιωματικής αλληλουχίας. Εφαρμόζεται επίσης ως γενετικός δείκτης για τον υπολογισμό της συχνότητας ανασυνδυασμού σε σχέση με ένα φαινοτυπικό δείκτη, στη διάγνωση γενετικών ασθενειών, στον προσδιορισμό των ατόμων που βρίσκονται σε ομάδες υψηλού και χαμηλού κινδύνου όσον αφορά στην προδιάθεση για ορισμένες ασθένειες όπως διαβήτη, στεφανιαία νόσο κ.α. Ακόμα χρησιμοποιείται στην αποτύπωση του DNA για τον έλεγχο πατρότητας, σε ιατροδικαστικές έρευνες για αποτύπωση DNA από μια κηλίδα αίματος από τον τόπο του εγκλήματος και από τους ύποπτους (Biosystems, 2019)

### **Στάδια τεχνικής:**

1. Το ολικό DNA εξάγεται αρχικά από το δείγμα και ενισχύεται χρησιμοποιώντας τους κατάλληλους εκκινητές.
2. Στη συνέχεια, το προϊόν PCR υποβάλλεται σε πέψη με τη χρήση περιοριστικών ενζύμων που αναγνωρίζουν και κόβουν ειδικές αλληλουχίες του δίκλωνου DNA, μήκους 4-8 νουκλεοτιδίων.

3. Αυτό το βήμα δημιουργεί τα θραύσματα περιορισμού δημιουργώντας μετά το κόψιμο μονόκλωνες συμπληρωματικές ουρές στο DNA.
4. Τα προϊόντα που υπέστησαν πέψη διαχωρίζονται και ανιχνεύονται σε κατάλληλη πλατφόρμα ηλεκτροφόρησης από μια σειρά (θραυσμάτων) διαφόρων μεγεθών και ύψους που αντιπροσωπεύει το προφίλ αυτού του δείγματος.



**Εικόνα 12:** Σχηματική αναπαράσταση των διαφόρων σταδίων της μεθόδου RFLP

Πηγή: Agarwal et al., 2008

Η ανάλυση DNA μέσω των ενδονουκλεασών περιορισμού μπορεί να πραγματοποιηθεί ανεξάρτητα από τον φαινότυπο και μπορεί να αποκαλύψει τις παραλλαγές του γενετικού κώδικα όχι μόνο στην κωδικές, αλλά και στις μη κωδικές περιοχές του γονιδίου υπό ανάλυση. Η μέθοδος RFLP και η μέθοδος PCR είναι ιδιαίτερα χρήσιμα εργαλεία για γενετική ανάλυση σε αρσενικά, νέους νεογέννητους και σε μη θηλάζοντα θηλυκά επειδή το DNA μπορεί να απομονωθεί από διάφορα κύτταρα (δείγματα αίματος ή σπέρματος). Οι ταχείες και απλές διαδικασίες καθιστούν ανάλυση SSCP πιθανό υποψήφιο για αναζήτηση άγνωστων μεταλλάξεων.



### 3.7 ΕΡΕΥΝΕΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΜΕ ΤΟ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΓΑΛΑ ΚΑΙ ΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΖΩΑ

Ο Moatsou et al. (2008) σε μεμονωμένα δείγματα κατσικίσιου γάλακτος, που ελήφθησαν από ζώα της αυτόχθονης ελληνικής φυλής κασίκας και από τις διεθνείς φυλές Saanen και Alpine, μελετήθηκαν με την μέθοδο RP-HPLC σχετικά με τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών τους. Τριάντα δύο δείγματα από την αυτόχθονη ελληνική φυλή και 17 από τις διεθνείς φυλές χαρακτηρίστηκαν περαιτέρω με RP-HPLC/ESI-MS. Η μέση συνολική περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη των δειγμάτων γάλακτος από την ελληνική φυλή ήταν υψηλότερη 38,8 g/l, σε σύγκριση με 31,9 g/l αυτών από διεθνείς φυλές, λόγω της μεγάλης διαφοράς μεταξύ της μέσης περιεκτικότητάς τους σε  $\alpha$ s1-Cn (6,90 και 3,02 g/l, αντίστοιχα). Στα δείγματα γάλακτος της ελληνικής φυλής επικράτησαν οι ισχυρές παραλλαγές  $\alpha$ s1-Cn B3, B4 και As/B1, ενώ στα δείγματα γάλακτος από διεθνείς ράτσες επικράτησαν η μεσαία παραλλαγή E και τα ελαττώματα F και null. Η παραλλαγή A του  $\alpha$ s2-Cn ακολουθούμενη από την παραλλαγή C και η  $\kappa$ -Cn D (πρώην B) ήταν η πιο άφθονη και στις δύο ομάδες. Το  $\alpha$ s2-Cn F και η σπάνια παραλλαγή  $\kappa$ -Cn C/B παρατηρήθηκαν στα δείγματα γάλακτος από την ελληνική φυλή. Οι  $\beta$ -καζεΐνες A και C ήταν παρούσες και στις δύο ομάδες δειγμάτων. Τέλος, παρουσιάζεται το επίπεδο φωσφορυλίωσης των διαφορετικών γονότυπων (Moatsou et al., 2008)

Οι Kalamaki et al. (2014) διερεύνησαν τη γενετική δομή των αλληλόμορφων CSN1S1 σε έναν πληθυσμό ελληνο-αυτόχθων αιγών Σκοπέλου. Συλλέχθηκαν δείγματα αίματος από 238 κασίκες φυλής Σκοπέλου. Τα ζώα ομαδοποιήθηκαν σε 2 κοπάδια που βρίσκονταν στα νησιά των Σποράδων της Ελλάδας. Και τα δύο κοπάδια εκτρέφονταν χρησιμοποιώντας παραδοσιακή γεωργία χαμηλών εισροών. Ο γονότυπος στον τόπο CSN1S1 προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας πρωτόκολλα PCR και PCR-RFLP ειδικά για αλληλόμορφα. Τα αλληλόμορφα A\* (A, G, I, H) και B\* (B1, B2, B3, B4 και C) υψηλής απόδοσης σε πρωτεΐνη ανιχνεύθηκαν σε υψηλότερες συχνότητες (0,56 και 0,59, αντίστοιχα) σε σύγκριση με τα αλληλόμορφα με χαμηλή πρωτεΐνη (F, 0,06 και E, 0,07). Η παρουσία του μηδενικού αλληλόμορφου N ανιχνεύθηκε σε συχνότητα 0,26. Ο γονότυπος του πληθυσμού αιγών της Σκοπέλου δεν ανέδειξε φορείς του αλληλόμορφου 01. Η αξιολόγηση της γενετικής

μεταβλητότητας CSN1S1 θα μπορούσε να είναι χρήσιμη για τη γενετική βελτίωση της κατσίκας της Σκοπέλου, μιας φυλής που είναι καλά προσαρμοσμένη σε συνθήκες εκτροφής χαμηλών εισροών ( Kalamaki et al., 2014).

Οι Triantaphyllopoulos et al. (2017) πραγματοποίησαν μελέτη για τη διερεύνηση του πολυμορφισμού c.112t>c στο εξόνιο ii του γονιδίου β-λακτοσφαιρίνης (β-LG) σε φυλές προβάτων караγκούνικο και Χίου χρησιμοποιώντας αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης – πολυμορφισμό μήκους θραύσματος περιορισμού (PCR-RFLP) και εξετάστηκαν οι συναφείς συσχετίσεις με τα χαρακτηριστικά του γάλακτος. Συνολικά, απομονώθηκαν 125 δείγματα DNA αίματος για ανάλυση PCR-RFLP και ελήφθη το προφίλ σύνθεσης των αντίστοιχων δειγμάτων γάλακτος 217. Η δοκιμή καλής προσαρμογής στην ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE) για τους γονότυπους β-LG εκτιμήθηκε και βρέθηκαν συσχετίσεις μεταξύ των γονότυπων β-LG και της σύνθεσης του νωπού γάλακτος. Παρατηρήθηκαν δύο αλληλόμορφα και τρεις γονότυποι (AA, AB και BB) και στις δύο φυλές και η φυλή Χίου απέκλινε σημαντικά ( $P \leq 0,05$ ) από την ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE). Συμπερασματικά, η γραμμική ανάλυση μικτού μοντέλου σε δείγματα, και από τις δύο φυλές συλλογικά, έδειξε σημαντικές επιδράσεις του γονότυπου β-LG στο ποσοστό λακτόζης και τον αριθμό των σωματικών κυττάρων (SCC), το στάδιο της γαλουχίας στην ημερήσια απόδοση γάλακτος και πρωτεΐνη, ενώ η επίδραση της φυλής ήταν σημαντική μόνο στην ημερήσια απόδοση γάλακτος (Triantaphyllopoulos et al., 2017).

Οι Tsartsianidou et al (2017) πραγματοποίησαν μελέτη όπου αξιολόγησαν τη δυνατότητα εφαρμογής της ισοηλεκτρικής εστίασης (Isoelectric Focusing – IEF) του πεπτιδίου para-k-καζεΐνη στη διαφοροποίηση μεταξύ γαλακτοκομικών προϊόντων αιγοειδούς (ισομορφής A) και προβατοειδών (ισομορφή B), με βάση τα διαφορετικά ισοηλεκτρικά σημεία τους. Η μέθοδος κρίθηκε ακατάλληλη, καθώς προηγήθηκε έλεγχος του DNA σε 87 αυτόχθονες κατσίκες γαλακτοπαραγωγής (*Capra hircus*), όπου αναλύθηκαν οι αλληλουχίες στο εξόνιο IV του γονιδίου κ-καζεΐνης. Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε δείγματα αίματος, όπου 32 δείγματα προήλθαν από 2 κοπάδια της Θεσσαλονίκης, 29 από το Κιλκίς και 26 από την περιοχή των Σερρών. Ένα θραύσμα 645 bp, που περιλαμβάνει ένα μέρος του ιντρονίου 3 και την πλήρη αλληλουχία του εξονίου IV (523 bp), του γονιδίου κ-CN κατσίκας ενισχύθηκε με PCR χρησιμοποιώντας ένα σύνολο εκκινητών: I3F (5'-TCCCAATGTTGTTACTTTCTTAA-

CATC- 3' και Kb2 (5'-GCGTT- GTCCTCTTTGATGTCTCCTTAG-3. Συνολικά, ανιχνεύθηκαν 9 πολυμορφικές θέσεις. Εντοπίστηκαν τρεις μη συνώνυμες σημειακές μεταλλάξεις, οι οποίες αλλάζουν το ισοηλεκτρικό σημείο του πεπτιδίου παρα-κ-καζεΐνης κασίκας έτσι ώστε να φαίνεται πανομοιότυπο με αυτό του πεπτιδίου προβατίνας. Δέκα σύνθετοι γονότυποι ανακατασκευάστηκαν και 6 από αυτούς περιελάμβαναν τις προβληματικές σημειακές μεταλλάξεις. Για την επαλήθευση των γενετικών αποτελεσμάτων, πραγματοποιήθηκε IEF. Και οι δύο μορφές κασίκας και προβατίνας εμφανίστηκαν στους προβληματικούς γονότυπους. Η συχνότητα αυτών των γονότυπων θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως μέτρια (0,23) έως υψηλή (0,60) στις ελληνικές αυτόχθονες φυλές (Tsatsianidou et al., 2017).

Οι Ibrahim et al. (2019) πραγματοποίησαν μελέτη με στόχο να αξιολογήσουν την επίδραση της διακύμανσης του γονιδίου της πρωτεΐνης 4 που δεσμεύει τα λιπαρά οξέα (FABP4) στα χαρακτηριστικά παραγωγής γάλακτος στα ελληνικά πρόβατα Σφακίων. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης – ανάλυση μονόκλωνου διαμορφωτικού πολυμορφισμού (PCR-SSCP) χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του γονότυπου συνολικά 374 προβατίνων Σφακίων για δύο περιοχές του FABP4 που βρίσκονται γύρω από το εξόνιο 2-ιντρόνιο 2 και το εξόνιο 3-ιντρόνιο 3. Κάθε μήνα, για μια περίοδο 6 μηνών, συλλέγονταν δείγματα γάλακτος από τις προβατίνες για να μετρηθεί η συνολική απόδοση γάλακτος, η περιεκτικότητα σε λίπος, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, η περιεκτικότητα σε λακτόζη, η περιεκτικότητα σε στερεά χωρίς λιπαρά, το pH και ο αριθμός σωματικών κυττάρων (SCC). Χρησιμοποιήθηκε ένα γενικό γραμμικό μοντέλο για να ελεγχθεί η συσχέτιση μεταξύ της διακύμανσης που παρατηρείται στο FABP4 και των χαρακτηριστικών παραγωγής γάλακτος. Τέσσερις παραλλαγές γονιδίων (A1–A4) βρέθηκαν στην περιοχή γύρω από το εξόνιο 2-ιντρόνιο 2 και δύο παραλλαγές (C1–C2) βρέθηκαν στην περιοχή γύρω από το εξόνιο 3-ιντρόνιο. Στην πρώτη περιοχή, ο γονότυπος FABP4 επηρέασε σημαντικά ( $P<0,05$ ) τα μη λιπαρά επίπεδα στερεών, την περιεκτικότητα σε λίπος και SCC. Η παρουσία της παραλλαγής A2 συσχετίστηκε σημαντικά ( $P<0,05$ ) με μειωμένο SCC, ενώ η παρουσία του A4 συσχετίστηκε σημαντικά με μειωμένη απόδοση γάλακτος ( $P<0,01$ ), αυξημένη περιεκτικότητα σε στερεά χωρίς λιπαρά ( $P<0,05$ ), μειωμένο λίπος περιεχόμενο ( $P<0,01$ ), αυξημένη περιεκτικότητα σε λακτόζη ( $P<0,05$ ) και αυξημένο pH ( $P<0,05$ ). Στη δεύτερη περιοχή, ο γονότυπος FABP4 είχε επίδραση ( $P<0,05$ ) στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και η παρουσία της παραλλαγής C2 συνδέθηκε ( $P<0,05$ )

με αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, μειωμένο SCC και χαμηλότερο pH. Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν συσχέτιση μεταξύ της διακύμανσης της FABP4 του προβάτου και των χαρακτηριστικών παραγωγής γάλακτος στα ελληνικά πρόβατα Σφακίων. Ωστόσο, περαιτέρω αναλύσεις σε ανεξάρτητους πληθυσμούς προβάτων αυξημένου μεγέθους θα ενισχύσουν αυτά τα ευρήματα (Ibrahim et al., 2019).

Οι Vougiouklaki et al. (2020) πραγματοποίησαν έρευνα όπου επικεντρώθηκαν στην ανίχνευση και ταυτοποίηση γενετικών πολυμορφισμών στο εξόνιο 7 του γονιδίου β-καζεΐνης CSN2 σε δείγματα αίματος από ελληνικές αγελάδες Holstein-Friesian. Για το σκοπό αυτό, εξήχθη DNA από 120 δείγματα αίματος αγελάδων, από δύο διαφορετικές περιοχές της Ελλάδας, την Κόρινθο και τη Λάρισα. Η επιθυμητή περιοχή του εξονίου 7 ενισχύθηκε με PCR, καταλήγοντας σε ένα προϊόν 121 bp. Το προϊόν PCR υπέστη πέψη με τη μέθοδο πολυμορφισμού μήκους θραύσματος περιορισμού (RFLP). Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι ο γονότυπος A1A2 υπερισχύει έναντι των άλλων. Συγκεκριμένα, από τα 120 βοοειδή, τα 72 εμφάνισαν τριπλές ζώνες 121 bp, 86 bp και 35 bp που υποδηλώνουν τον γονότυπο A1A2. Τα 42 βοοειδή έδειξαν μια μοναδική ζώνη στα 121 bp, υποδεικνύοντας ότι έφεραν τον γονότυπο A1A1. Τα υπόλοιπα 6 έδειξαν μόνο δύο ζώνες των 86 και 35 bps, υποδεικνύοντας ότι έφεραν τον γονότυπο A2A2. Στο σύνολο του πληθυσμού των ετεροζυγωτών οι A1A2-0,60 ήταν οι πιο συχνοί, ενώ οι ομοζυγώτες A2A2-0,06 ήταν οι λιγότερο συχνοί. Αυτό υποδηλώνει μια ελαφρά υπεροχή του αλληλόμορφου A-0,65 (Vougiouklaki et al., 2020).

Οι Antonopoulos et al. (2021) πραγματοποίησαν έρευνα με στόχο την ανίχνευση και την ταυτοποίηση του γενετικού πολυμορφισμού στο εξόνιο 7 του γονιδίου β-καζεΐνης CSN2 σε δείγματα αίματος από ελληνικές αγελάδες Holstein (780 δείγματα) από τοπικές ράτσες βοοειδών (86 δείγματα), όπως η Βραχυκεράτικη, η Κατερίνη και η Συκιάς, και από ελληνικά βουβάλια (14). Η επιθυμητή περιοχή του εξονίου 7 ενισχύθηκε με PCR, καταλήγοντας σε προϊόντα 121 και 251 bp σε δείγματα βοοειδών και βουβάλων. Το προϊόν PCR υπέστη πέψη με πολυμορφισμό μήκους θραύσματος περιορισμού (RFLP) σε πηκτώματα αγαρόζης. Χρησιμοποιήθηκαν τα ένζυμα περιορισμού DdeI και TaqI. Όλα τα δείγματα αίματος είχαν το ενισχυμένο μέγεθος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το 74,4% των ελληνικών αγελάδων Holstein είχαν τον γονότυπο β-καζεΐνης A2A2, από τις τρεις γηγενείς ράτσες η Βραχυκεράτικη είχε το

57,7% και οι άλλες δύο είχαν το 100% της β-καζεΐνης A2A2. Από τα 14 ελληνικά βουβάλια, το 100% είχε τη β-καζεΐνη A2A2. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ανταποκρίνονται σε αντίστοιχες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, αν και το αλληλόμορφο A2 παρουσιάζεται πιο συχνά (Antonopoulos et al., 2021).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το γάλα αποτελεί ένα σημαντικό διατροφικό προϊόν, απαραίτητο για μία ισορροπημένη διατροφή. Εκκρίνεται από τα γαλακτοπαραγωγικά ζώα με σκοπό να καλύψει τις θρεπτικές και ενεργειακές ανάγκες των νεογνών. Παράγεται από διάφορα γαλακτοπαραγωγικά ζώα με τα κυριότερα να είναι στον ελληνικό χώρο βοοειδή και τα αιγοπρόβατα.

Οι ελληνικές αυτόχθονες φυλές βοοειδών κινδυνεύουν με εξαφάνιση, ενώ έχει κυριαρχήσει η εκτροφή της φυλής Holstein.

Το γάλα ανεξάρτητα από το ζώο που το παράγει περιέχει:

- Νερό, που είναι το συστατικό που βρίσκεται στη μεγαλύτερη ποσότητα και αποτελεί τον διαλύτη των υπολοίπων συστατικών.
- Υδατάνθρακες, με κύριο εκπρόσωπο τη λακτόζη.
- Λιπίδια.
- Βιταμίνες και άλατα.
- Ένζυμα.
- Πρωτεΐνες

Ωστόσο, η αναλογία των συστατικών διαφέρει ανάλογα το είδος, τη φυλή, τη διατροφή, τις συνθήκες εκτροφής, την εποχή, την περίοδο αναπαραγωγής και γαλουχίας, την υγεία του ζώου καθώς και τις συνθήκες μεταχείρισης του γάλακτος κατά τη διακίνηση και επεξεργασία.

Οι πρωτεΐνες γάλακτος χωρίζονται σε πρωτεΐνες ορού γάλακτος και καζεΐνες και έχουν διατροφική αξία για τον άνθρωπο, αλλά και τεχνολογική αξία για την βιομηχανία τροφίμων.

Ορισμένοι από τους τρόπους που μπορούν να απομονωθούν οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος είναι: (α) με υπερδιήθηση, (β) με χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων και ξήρανση με ψεκασμό, (γ) με απομεταλλοποίηση με ηλεκτροδιάλυση ή ιονική ανταλλαγή, θερμική εξάτμιση νερού και κρυστάλλωση λακτόζης και (δ) θερμική μετουσίωση. Οι κυριότερες πρωτεΐνες ορού γάλακτος είναι η β-λακτογλουβουλίνη, η α-λακταλβουμίνη, η αλβουμίνη ορού, οι ανοσογλοβουλίνες.

Οι καζεΐνες αποτελούν το μεγαλύτερο κλάσμα των πρωτεϊνών του γάλακτος (περίπου 80%). Κλασματοποιούνται σε καζεΐνες as1-, as2-, κ-, β-, γ- καζεΐνες. Σχηματίζουν τα μικκύλια μαζί με φωσφορικό ασβέστιο και νερό. Συμμετέχουν στην πήξη του γάλακτος και στον σχηματισμό τυριών ή γιαουρτιού.

Ο γενετικός πολυμορφισμός του γάλακτος από τα μέσα του προηγούμενου αιώνα έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης, καθώς πιστεύεται ότι επηρεάζει τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά του γάλακτος, όπως το σημείο πήξεως, τη θερμική του σταθερότητα, αλλά και την απόδοση σε γάλα των ζώων και την αναλογία πρωτεϊνών που περιέχονται. Ο γενετικός πολυμορφισμός σημαίνει ότι υπάρχουν μεταβολές στα γονίδια των πρωτεϊνών που οδηγούν σε πρωτεΐνες με μικρή ή μεγάλη παραλλακτικότητα συγκριτικά με τα αρχικά μόρια. Αυτό που προβληματίζει είναι αν οι παραλλαγές αυτές είναι ικανές να διεκπεραιώσουν τον βιολογικό και τεχνολογικό ρόλο της αντίστοιχης αρχικής πρωτεΐνης.

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος των μηρυκαστικών ζώων κωδικοποιούνται σε μεγάλο ποσοστό από 6 δομικά γονίδια, τα οποία έχουν χαρτογραφεί και έχουν αποτελέσει αντικείμενο πολλών επιστημονικών ερευνών. Οι παραλλαγές των γονιδίων μπορούν να προκύψουν με διάφορους τύπους μεταλλάξεων, με τις κυριότερες να μπορούν να προκύψουν με μονο-νουκλεοτιδικό πολυμορφισμό, δηλαδή μεταφορά ή αντικατάσταση ενός μόνο νουκλεοτιδίου της γενετικής ακολουθίας, καθώς και από διαγραφές ή παρεμβολές νουκλεοτιδίων. Σε κάθε ένα από τα γονίδια των πρωτεϊνών του γάλακτος, αλλά και στο ίδιο το γάλα έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες που προσπαθούν να εντοπίσουν τον πολυμορφισμό, να προσδιορίσουν αν διαφοροποιείται από είδος σε είδος, από φυλή σε φυλή και αν επηρεάζεται από εξωγενείς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, η διατροφή ή η έκθεση σε ακτινοβολίες.

Οι μεταλλάξεις των πρωτεϊνών του γάλακτος μπορούν να μελετηθούν (HP σε δύο επίπεδα: είτε στο γάλα των ζώων είτε στο αίμα. Στην πρώτη περίπτωση προσδιορίζεται η παρουσία της πρωτεΐνης που έχει υποστεί παραλλαγή, ενώ στη δεύτερη προσδιορίζεται η παρουσία του γονιδίου που είναι υπεύθυνο για την κωδικοποίησή της. Οι τεχνικές HPLC (υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης) ανταποκρίνονται καλά στην ανίχνευση των παραλλαγών των γαλακτοκομικών πρωτεϊνών. Ο εντοπισμός των γονιδίων γίνεται συχνά με τη βοήθεια της μεθόδου PCR-RFLP, όπου είναι πιο εξειδικευμένη στον εντοπισμό αλληλόμορφων γονιδίων.

Στο ελληνικό γάλα έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες μελέτες για τον εντοπισμό των παραλλαγών των πρωτεϊνών σε γάλα βοοειδών αλλά και αιγοπροβάτων. Μελετήθηκε κυρίως η παραλλακτικότητα ειδικά των καζεϊνών και οι παράγοντες που την επηρεάζουν. Ο κυρίαρχος γονότυπος των καζεϊνών είναι A2A2 στα βοοειδή

Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω έρευνα σχετικά με τον καλύτερο χαρακτηρισμό του γάλακτος όσον αφορά τη γενετική παραλλαγή στη σύνθεση και σε ιδιότητες τυροκομίας. Πρέπει να προσδιορισθεί, επίσης, μέσω της χαρτογράφησης του γενετικού υλικού, αν ο πολυμορφισμός σε επίπεδο DNA συμβαίνει και σε μη κωδικοποιημένες περιοχές.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Agarwai, M., Shrivastava, N., Padh, H. (2008). Advances in molecular market techniques and their application in plant sciences. *Plant Cell Reports*, 27 (4): 617-631: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18246355/>
2. 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*, 10 (3):135-149:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694600000340>
3. Ανδρικόπουλος Ν., (2015), Τροφογνωσία, Περιγραφική Χημεία & Τεχνολογία Τροφίμων. Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράματα και Βοηθήματα, κεφάλαιο 20, σσ 328-341 Διατίθεται ηλεκτρονικά [10/02/2022]:  
<https://repository.kallipos.gr/handle/11419/4696>)
4. Antonopoulos D., Vougiouklaki, D., Laliotis, G.P., Tsironi, T., Valasi, I., Chatzilazarou, A., Halvatsiotis, P, Houhoula, D. (2021). Identification of Polymorphisms of the CSN2 Gene Encoding  $\beta$ -Casein in Greek Local Breeds of Cattle. *Vet. Sci.*, 8 (11):257 : <https://www.mdpi.com/2306-7381/8/11/257>
5. Alipanah, M., Alexandrovna, K., Rodionov, G.V. (2008). Kappa-casein and PRL-RSAI genotypic frequencies in two Russian cattle breeds. *Archivos de Zootecnia*, 57 (218): 131-138:  
[https://www.researchgate.net/publication/28317609\\_Kappa-casein\\_and\\_PRL-RSAI\\_genotypic\\_frequencies\\_in\\_two\\_Russian\\_cattle\\_breeds](https://www.researchgate.net/publication/28317609_Kappa-casein_and_PRL-RSAI_genotypic_frequencies_in_two_Russian_cattle_breeds)
6. Biosystems.A. (2019) “Terminal Fragment Length Polymorphism ( T-RFLP ) Analysis on Applied Biosystems Capillary Electrophoresis Systems,” *Analysis*, (5), pp. 1–4. Available at: [www.appliedbiosystems.com](http://www.appliedbiosystems.com).
7. Buchanan, D.S. (2016). Major *Bos taurus* Breeds. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (3<sup>rd</sup> edition): 106-115:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965006247>
8. Buchheim, W., Lund, S., Scholtissek. (1989). Vergleichende Untersuchungen zur Struktur und Grosse von Caseinmicellen in der Milch verschiedener Species. *Kieler Milchw. Forsch.* 41, 253-265
9. Γεωργούδης, Α., Λίγδα Χ., Καρκαβέλια, Ε., Κοτσαφτίκη, Α., Μιζέλη, Χ. (2011). Αυτόχθονες φυλές Αγροτικών Ζώων. 1<sup>η</sup> εκδ., Θεσσαλονίκη. Διατίθεται στο διαδίκτυο [10/11/2021] :

[http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/images/b/b0/Αυτόχθονες\\_φυλές\\_αγροτικών\\_ζώων.pdf](http://www.gaiapedia.gr/gaiapedia/images/b/b0/Αυτόχθονες_φυλές_αγροτικών_ζώων.pdf)

**10.** Caroli, A.M., Chessa, S. Erhardt G.J. (2009). Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*, 92 (11): 5335-5352: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030209708653>

**11.** Dalgleish, D.G. & Corredig, M. (2012). The structure of the Casein Micelle of Milk and Its Changes During Processing. *Annual Review of Food Science and Technology*. 3 (1): 449-467: [https://www.researchgate.net/publication/221883601\\_The\\_Structure\\_of\\_the\\_Casein\\_Micelle\\_of\\_Milk\\_and\\_Its\\_Changes\\_During\\_Processing](https://www.researchgate.net/publication/221883601_The_Structure_of_the_Casein_Micelle_of_Milk_and_Its_Changes_During_Processing)

**12.** Deeth, H. & Bansal, N. (2019). Chapter 1- Whey proteins: An Overview. In Book *Whey Proteins, From Milk to Medicine*: 1-50: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128121245000011>

**13.** De Kruif, C.G., Huppertz, T., Urban, V.S., Petukhov, A.V. (2012). Casein micelles and their internal structure. *Advances in Colloid and Interface Science*, 171-171 (1): 36-52: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000186861200005X#f0005>

**14.** Drabik, A., Bodzon-Kulakwska, A., Silberring, J. (2016). 7-Gel Electrophoresis. *Proteomic Profiling and Analytical Chemistry* (second edition): 115-143: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444636881000070>

**15.** ΕΛΣΤΑΤ (Ελληνική Στατιστική Αρχή). Ετήσια Γεωργική Στατιστική Έρευνα. Διατίθεται διαδικτυακά (05/11/2021): <https://www.statistics.gr>

**16.** Ένωση Φυλής Χολστάιν Ελλάδας. Η φυλή Χολστάιν. Διατίθεται διαδικτυακά [10/11/2021]: <http://holstein.gr/index.php/i-fili-holstain/>

**17.** FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2021). Milk Facts. Available online (05/11/2021): <https://www.fao.org/3/I9966EN/i9966en.pdf>

**18.** Gatesy, J, Hayashi, C, Actander, P. (1996). Evidence from milk casein genes that cetaceans are close relatives of hippopotamid artiodactyls. *Molecular biology and evolution*, 13 (7): <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8752004/>

**19.** Goulding, D.A., Fox, P.F., O'Mahony, J.A. (2020). Chapter 2 - Milk proteins : An overview. In the book: Boland, M. & Singh, H.(eds). *Milk Proteins. From*

*Expression to Food*. 3<sup>rd</sup> edition : 21-98 :

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128152515000025>

**20.** Green M.R & Sambrook, J. (2018). The Basic Polymerase Chain Reaction (PCR). *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018 (5): 338-334:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29717051/>

**21.** Gurcan, E.K. (2011). Association between milk protein polymorphism and milk production traits in Black and White dairy cattle in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 10 (6): 1044-1048:

[https://www.researchgate.net/publication/285634653\\_Association\\_between\\_Milk\\_protein\\_polymorphism\\_and\\_Milk\\_production\\_traits\\_in\\_Black\\_and\\_White\\_Dairy\\_Cattle\\_in\\_Turkey](https://www.researchgate.net/publication/285634653_Association_between_Milk_protein_polymorphism_and_Milk_production_traits_in_Black_and_White_Dairy_Cattle_in_Turkey)

**22.** Hurley, W.L & Theil, P.K. (2013). Immunoglobulins in Mammary Secretions. In the book: McSweeney, P. & Fox, P. (eds) *Advanced Dairy Chemistry*. Springer, Boston, MA: 275-294 : [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-4714-6\\_9](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-4714-6_9)

**23.** Ibrahim, A.H.M., Tzanidakis, N., Sotiraki, S., Zhou, H., Hickford, J.G.H. (2019). Identification of the association between FABP4 gene polymorphisms and milk production traits in Sfakia sheep. *Archives Animal Breeding*, 62: 413-422:

<https://aab.copernicus.org/articles/62/413/2019/>

**24.** Imran, M., Khan, H., Hassan, S.S., Khan, R. Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9 (7): 546-551:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2443350/>

**25.** Kalamaki, M.S., Gelasakis, A., Arsenos, G. (2014). Genetic polymorphism of the CSN1S1 gene in the Greek-indigenous Skopelos goats : Rahmann, G. & Aksou, U (eds) (2014) *Proceedings of the 4<sup>th</sup> ISO FAR Scientific Conference. "Building Organic Bridges"*, at the Organic World Congress 2014, 13-15 Oct. Instabul, Turkey: [https://orgprints.org/id/eprint/23947/1/23947\\_MM.pdf](https://orgprints.org/id/eprint/23947/1/23947_MM.pdf)

**26.** Κώδικας Τροφίμων και Ποτών. 2016. Άρθρο 80: Είδη γάλακτος. Μέρος Α , κεφάλαιο ΙΧ Προϊόντα ζωικής προέλευσης εκτός αυτών του Κεφαλαίου Χ.

Διατίθεται διαδικτυακά [11/02/2022]: <https://www.aade.gr/himeio/ix-proionta-zoikis-proeleysis-ektos-ayton-toy-kefalaioy-h>

**27.** Jakopovic, K.L., Barukcic, I. Bozanic, R. (2016). Physiological significance, structure and isolation of alpha-lactalbumin. *Mljekarstvo/ Dairy*, 66 (1):

3-11:

[https://www.researchgate.net/publication/299613516\\_Physiological\\_significance\\_structure\\_and\\_isolation\\_of\\_alpha-lactalbumin](https://www.researchgate.net/publication/299613516_Physiological_significance_structure_and_isolation_of_alpha-lactalbumin)

**28.** Kelleher, P., Murphy, J., Mahony, J., & Van Sinderen, D. (2015). Next-generation sequencing as an approach to dairy starter selection. *Dairy Science & Technology*, 95 (5): 545-568:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4712225/#CR83>

**29.** Lemay, D.G., Lynn, D.J., Martin, W.F., Neville, M.C., Casey, T.M., Rincon, G., Kriventsev, E.V., Baris, W.C., Hinrichs, A.S., Molenaar, A.J., Pollard, K.S., Maqbool, N.J., Singh, K., Murney, R. Zdobnov, E.M., Tellam, R.L., Medrano, J.F., German, J.F., Rijnkels, M. (2009). The bovine lactation genome: insights into the evolution of mammalian milk. *Genome Biology*, 10 (4): R43:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19393040/>

**30.** MacGibbon, A.K.H. (2020). Composition and Structure of Bovine Milk Lipids. In McSweeney, P.L.H., Fox, P.F, O'Mahony, J.A. (eds). *Advanced Dairy Chemistry*, 2. Springer, Cham.:1-32: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-48686-0\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-48686-0_1)

**31.** Moatsou, G., Moschopoulou, E., Molle, D., Gagnaire, V., Kandarakis, I. Leonil, J. (2008). Comparative study of the protein fraction of goat milk from the Indigenous Greek breed and from international breeds. *Food Chemistry*, 106 (2): 509-520: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814607006073>

**32.** Moioli, 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 (3): 185-195:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448897000539>

**33.** Nunez, M. (2016). Chapter 7 – Existing Technologies in Non-cow Milk Processing and Traditional Non-cow Milk Products. *Non-Bovine Milk and Milk Products*: 161-185:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128033616000077>

**34.** Neville, M. & Jensen, R.G. (1995). E-The Physical Properties of Human and Bovine Milks. *Handbook of Milk Composition*: 81-85:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123844309500081>

- 35.** Oftedal, O.T. (2011). Milk of Marine Mammals. In: Fuguay, J.W. (ed). Encycloped of Dairy Sciences, 2<sup>nd</sup> ed.: 538-580:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123744074003216>
- 36.** Ozdermir, M., Kopuzu, S., Topal, Bilgin, C. (2018). Relationships between milk protein polymorphisms and production traits in cattle: a systematic review and meta-analysis. Archives Animal Breeding, 61 (2):197-206:  
<https://aab.copernicus.org/articles/61/197/2018/>
- 37.** Park, Y.M., Juarez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Ruminant Research, 68, (1-2): 88-113:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448806002549>
- 38.** Rijnkels, M. Multispecies comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family. (2002). Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 7 (3): 327-345: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12751895/>
- 39.** Sawyer, L. (2013).  $\beta$ -lactoglobulin, in :McSweeney, P., Fox, P. (eds) Advanced Dairy Chemistry. Springer, Boston. MA: 211-259:  
[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-4714-6\\_7](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-4714-6_7)
- 40.** Tsiatsianidou, V., Triantafilidou, D., Karaiskou, N, Tarantili, P., Triantafyllidis, G., Georgakis, E., Triantafyllidis, A. (2017). Caprine and ovine Greek dairy products: The official German method generates false – positive results due to  $\kappa$ -casein gene polymorphism. Journal of Dairy Science, 100 (5): 3539-3547:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030217302370>
- 41.** Triantaphyllopoulos, K.A., Koutsouli, P., Kandris, A., Papachristou, D., Markopoulou, K.E., Mataragka, A., Massouras, T., Bizelis, I. (2017). Effect of  $\beta$ -lactoglobulin gene polymorphisms, lactation stage and breed on milk traits in Chios and Karagouniko sheep Breeds., Ann. Anim. Sci., 17(2): 371-384:  
[https://www.researchgate.net/profile/Kostas-Triantaphyllopoulos/publication/318445404\\_Effect\\_of\\_b-lactoglobulin\\_gene\\_polymorphism\\_lactation\\_stage\\_and\\_breed\\_on\\_milk\\_traits\\_in\\_Chios\\_and\\_Karagouniko\\_sheep\\_breed/links/596a269ca6fdcc18ea74f053/Effect-of-b-lactoglobulin-gene-polymorphism-lactation-stage-and-breed-on-milk-traits-in-Chios-and-Karagouniko-sheep-breed.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Kostas-Triantaphyllopoulos/publication/318445404_Effect_of_b-lactoglobulin_gene_polymorphism_lactation_stage_and_breed_on_milk_traits_in_Chios_and_Karagouniko_sheep_breed/links/596a269ca6fdcc18ea74f053/Effect-of-b-lactoglobulin-gene-polymorphism-lactation-stage-and-breed-on-milk-traits-in-Chios-and-Karagouniko-sheep-breed.pdf)
- 42.** Vougiouklaki, D., Antonopoulos, D., Allexeli, S., Houhoula, D. (2020). Identification of Polymorphisms of Gene CSN2 of B Casein in Greek Cow Breeds

(Holstein) by Restriction Fragment Length Polymorphism. *Journal of Agricultural Science*, 12 (11): 32-39: [https://www.researchgate.net/profile/Despina-Vougiouklaki/publication/344668872\\_Identification\\_of\\_Polymorphisms\\_of\\_Gene\\_CS\\_N2\\_of\\_B\\_Casein\\_in\\_Greek\\_Cow\\_Breeds\\_Holstein\\_by\\_Restriction\\_Fragment\\_Length\\_Polymorphism/links/5f88322492851c14bcc90554/Identification-of-Polymorphisms-of-Gene-CSN2-of-B-Casein-in-Greek-Cow-Breeds-Holstein-by-Restriction-Fragment-Length-Polymorphism.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Despina-Vougiouklaki/publication/344668872_Identification_of_Polymorphisms_of_Gene_CS_N2_of_B_Casein_in_Greek_Cow_Breeds_Holstein_by_Restriction_Fragment_Length_Polymorphism/links/5f88322492851c14bcc90554/Identification-of-Polymorphisms-of-Gene-CSN2-of-B-Casein-in-Greek-Cow-Breeds-Holstein-by-Restriction-Fragment-Length-Polymorphism.pdf)

**43.** Ward, T.J., Honeycutt, R.L., Derr, J.N. (1997). Nucleotide sequence evolution at the kappa-casein locus: evidence for positive selection within the family Bovidae, *Genetics*, 147 (4): 1863-1872: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9409842/>