

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

Μαθήματα
ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Πανεπιστημιακές Παραδόσεις

Έφη Τσακαλίδου

Αθήνα
ΑΕ 2023-2024

Στην Ηλέκτρα, την Άννα, τη γιαγιά

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΡΕΑΣ ΚΑΙ ΨΑΡΙ

1. *Εισαγωγή*
2. *Η διατροφική αξία του κρέατος*
3. *Η δομή του μύος*
4. *Ο συνδετικός ιστός*
5. *Οι συσταλτές πρωτεΐνες του κρέατος*
6. *Η μυοσφαιρίνη του κρέατος*
7. *Η συστολή μύος*
8. *Μεταθανάτιες βιοχημικές μεταβολές των μυών*
9. *Τα προϊόντα ζύμωσης του κρέατος*

ΓΑΛΑ

1. *Εισαγωγή*
2. *Η βιοσύνθεση του γάλακτος*
3. *Η σύσταση του γάλακτος*
4. *Η διατροφική αξία του γάλακτος*
5. *Η παρασκευή του τυριού*

ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ

1. *Εισαγωγή*
2. *Η δομή και η σύσταση του σπόρου*
3. *Η παρασκευή της μύρας*
4. *Η παρασκευή του ψωμιού*

ΦΡΟΥΤΑ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΑ

1. *Εισαγωγή*
2. *Η σύσταση φρούτων και λαχανικών*
3. *Η αναπνοή*
4. *Οι αλλαγές των χρωμάτων*
5. *Οι αλλαγές της δομής*
6. *Το άρωμα και η γεύση*

Η ΑΜΑΥΡΩΣΗ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

1. *Εισαγωγή*
2. *Φαινολικές ενώσεις στα τρόφιμα*
3. *Η ενζυμική αμαύρωση*
4. *Η βιολογική σημασία της πολυφαινολοξειδάσης*
5. *Μέθοδοι ελέγχου της ενζυμικής αμαύρωσης*
6. *Η παρασκευή του τσαγιού*
7. *Η αντίδραση Maillard*

ΚΡΕΑΣ ΚΑΙ ΨΑΡΙ

1. Εισαγωγή

Ο όρος κρέας αναφέρεται στους μυϊκούς ιστούς όλων των ειδών των ζώων, οι οποίοι χρησιμοποιούνται ως τροφή. Οι πλέον συνήθεις πηγές κρέατος είναι η αγελάδα, το πρόβατο, ο χοίρος, το κοτόπουλο και το ψάρι.

Το κρέας αποτελούσε τμήμα της ανθρώπινης διατροφής από τους προϊστορικούς χρόνους. Με την πάροδο του χρόνου, ο άνθρωπος πέρασε από το κυνήγι άγριων ζώων στην εκτροφή κατοικίδιων ζώων, και στις μέρες μας πλέον στην εντατική κτηνοτροφία. Το ψάρι είναι η μόνη πηγή κρέατος που ακόμα και σήμερα προέρχεται σε μεγάλο βαθμό από το κυνήγι (ψάρεμα). Παρ' όλ' αυτά και εδώ η εικόνα αλλάζει σταδιακά χάρις στην συνεχή ανάπτυξη και επέκταση ιχθυοτροφικών μονάδων αλλά και λόγω της σταδιακής εξαφάνισης διαφόρων ειδών ψαριών.

Η ποιότητα του κρέατος εξαρτάται από δύο βασικούς παράγοντες. Αρχικά, από την βιολογική λειτουργία των μυών στο ζώο όταν αυτό είναι ζωντανό. Οι εξειδικευμένες λειτουργίες των μυών καθορίζονται από τις πρωτεΐνες τους καθώς και από τις πηγές άνθρακα (υδατάνθρακες και λίπη) και τα μεταβολικά μονοπάτια που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ενέργειας. Ο δεύτερος παράγοντας είναι η απώλεια της βιολογικής ρύθμισης μετά τον θάνατο του ζώου. Οι μεταβολές που λαμβάνουν χώρα καθορίζουν την ποιότητα του κρέατος αυτού καθ' αυτού αλλά και τις λειτουργικές ιδιότητες του κρέατος όταν αυτό χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή προϊόντων επεξεργασίας κρέατος (π.χ. αλλαντικά).

Σε όλο το ζωικό βασίλειο η βασική λειτουργία των μυών είναι η κίνηση. Ως εκ τούτου είναι αναμενόμενες οι διαφορές που παρατηρούνται ανάμεσα στο κρέας των ζώων και των ψαριών. Το σώμα των ψαριών υποστηρίζεται μηχανικά από το νερό και επομένως τα ψάρια δεν χρειάζονται και επομένως δεν διαθέτουν ισχυρό συνδετικό ιστό. Επίσης, λόγω του ιδιαίτερου τρόπου κίνησης του ψαριού μέσα στο νερό, η δομική οργάνωση των μυών του είναι σημαντικά διαφορετική από αυτή των ζώων. Πρέπει να τονισθεί επίσης ότι οι πρωτεΐνες, άρα και τα ένζυμα, των ψαριών είναι προσαρμοσμένες στις υψηλές υδροστατικές πιέσεις, κάτω από τις οποίες ζούν τα περισσότερα ψάρια. Πέραν τούτου, τα περισσότερα ψάρια είναι ποικιλόθερμα και είναι αναγκασμένα να προσαρμόζονται στις θερμοκρασίες του περιβάλλοντος τους, οι οποίες μπορεί να κυμαίνονται από -2 °C μέχρι θερμοκρασίες παρόμοιες των θερμόαιμων ζώων. Καθώς όμως στο μεγαλύτερο μέρος του υδάτινου περιβάλλοντος οι θερμοκρασίες είναι χαμηλότερες των 5 °C, οι πρωτεΐνες των μυών στα ψάρια έχουν διαφορετικές ιδιότητες από αυτές των θερμόαιμων ζώων. Χάρις στην προσαρμογή τους όμως στις χαμηλές αυτές θερμοκρασίες, τα ένζυμα των ψαριών εμφανίζουν παρόμοιες καταλυτικές ενεργότητες με τα ομόλογα ένζυμα των θερμόαιμων ζώων.

Η έρευνα πάνω στο κρέας έχει επικεντρωθεί στις ιδιότητες εκείνες των μυών που επηρεάζουν την αξία του κρέατος ως τροφίμου. Στην περίπτωση των ζώων, η δομή και η εμφάνιση του κρέατος είναι οι κύριες ιδιότητες που μπορούν να ελεγχθούν κατά την σφαγή και την μεταθανάτια αποθήκευση και για τον λόγο αυτό η έρευνα έχει επικεντρωθεί στην κατανόηση των μεταθανάτιων μεταβολών που σχετίζονται με την συστολή του μυός (π.χ. μεταβολή του pH, τρυφεροποίηση). Από την άλλη πλευρά, στο φρέσκο ψάρι οι δομικές μεταβολές είναι περιορισμένες και ως εκ τούτου και η έρευνα προς αυτή την κατεύθυνση περιορισμένη. Διαφορετική είναι η εικόνα στην περίπτωση των καταψυγμένων προϊόντων. Στα καταψυγμένα ψάρια, οι μεταβολές είναι πολύ σημαντικές και έχουν να κάνουν με την ευαισθησία των πρωτεϊνών τους στις συνθήκες κατάψυξης (π.χ. αυξημένη συγκέντρωση άλατος, χαμηλό pH). Αντίθετα, οι πρωτεΐνες των ζώων είναι πιο ανθεκτικές σε συνθήκες χαμηλών θερμοκρασιών και η έρευνα στον χώρο αυτό είναι μάλλον περιορισμένη. Τέλος, ιδιαίτερα έχει μελετηθεί η μεταθανάτια αποικοδόμηση λιπιδίων και αζωτούχων ενώσεων, η οποία σχετίζεται με τις μεταβολές της γεύσης, ιδιαίτερα στα ψάρια.

Στο κεφάλαιο αυτό θα συζητηθούν οι φυσικοχημικές και βιοχημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα μετά τον θάνατο του ζώου και οδηγούν στην μεταθανάτια τρυφεροποίηση και την μετατροπή του μυός σε εδώδιμο κρέας. Η κατανόηση των αντιδράσεων αυτών συμβάλλει στην παραγωγή υψηλής ποιότητας κρέατος και ψαριού.

2. Η διατροφική αξία του κρέατος

Η διατροφική αξία του κρέατος είναι υψηλή. Ενδεικτικά, η σύσταση των μυών δίνεται στον Πίνακα 1 και είναι όμοια για ένα μεγάλο αριθμό ειδών. Όπως φαίνεται, μετά το νερό, το κύριο συστατικό του κρέατος είναι οι πρωτεΐνες που κυμαίνονται από 18 μέχρι 23%. Σημαντικές αποκλίσεις παρατηρούνται μόνο σε καταστάσεις ασιτίας ή σε συγκεκριμένα στάδια του αναπαραγωγικού κύκλου, ιδιαίτερα στα ψάρια.

Πίνακας 1. Η χημική σύσταση του μυϊκού ιστού

Είδος	Σύσταση (% w/w)			
	H ₂ O	Πρωτεΐνη	Λίπος	Τέφρα
Βοδινό	70-73	20-22	4-8	1
Χοιρινό	68-70	19-20	9-11	1.4
Κοτόπουλο	73.7	20-23	4.7	1
Πρόβατο	73	20	5-6	1.6
Μπακαλιάρος	81.2	17.6	0.3	1.2
Σολωμός	64	20-22	13-15	1.3

Στο άπαχο κρέας το νερό ανέρχεται κατά μέσο όρο στο 75% του βάρους του. Η κατακράτηση του νερού είναι ιδιαίτερα σημαντική για το κρέας, πρώτ' απ' όλα για οικονομικούς λόγους, καθώς απώλεια νερού σημαίνει αυτόματα απώλεια βάρους για το κρέας. Δεύτερον, η απώλεια νερού στο συσκευασμένο κρέας το καθιστά μη ελκυστικό για τον καταναλωτή. Τρίτον, απώλεια νερού σημαίνει απώλεια υδατοδιαλυτών συστατικών και συγκεκριμένα των βιταμινών της ομάδας Β, στις οποίες το κρέας είναι ιδιαίτερα πλούσιο. Τέλος, η κατακράτηση νερού σχετίζεται με την δομή του κρέατος. Αύξηση της κατακράτησης νερού συνεπάγεται μείωση της μηχανικής αντοχής του κρέατος.

Το λίπος είναι το πλέον μεταβλητό συστατικό του κρέατος. Βρίσκεται τόσο υπό μορφή τριγλυκεριδίων εντός των μυϊκών κυττάρων (intramuscular), μεταξύ των μυϊκών κυττάρων (intermuscular) και στον λιπώδη ιστό (adipose tissue), όσο και υπό μορφή φωσφολιπιδίων στις κυτταρικές μεμβράνες. Στους λευκούς μύες το λίπος βρίσκεται εκτός των μυϊκών κυττάρων, ενώ στους κόκκινους μύες βρίσκεται και υπό μορφή μικροσωματιδίων μέσα στο κύτταρο. Η ενδοκυτταρική συγκέντρωση του λίπους κυμαίνεται από 4 ως 5%, αλλά μπορεί να φτάσει μέχρι και 9%. Ιδιαίτερα στα λιπαρά ψαριά η συγκέντρωση του λίπους εξαρτάται από την εποχή και σχετίζεται με τον αναπαραγωγικό κύκλο του ψαριού. Στο σκουμπρί π.χ. κυμαίνεται από 5.1 ως 22.6 % κατά την διάρκεια του έτους. Στα άπαχα ψαριά, όπως ο μπακαλιάρος, το αποθηκευτικό λίπος βρίσκεται στο ήπαρ, ενώ τα μυϊκά κύτταρα περιέχουν μόνο 1% λίπος υπό μορφή φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Στα λιπαρά ψάρια, όπως το σκουμπρί, εκτός του ήπατος, το λίπος αποθηκεύεται και υπό μορφή εξοκυτταρικών λιπαρών μικροσωματιδίων μέσα στον μυϊκό ιστό. Η υψηλή συγκέντρωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών στα ψάρια είναι απαραίτητη για την διατήρηση της ρευστότητας των κυτταρικών μεμβρανών σε συνθήκες τόσο χαμηλών θερμοκρασιών όσο και υψηλών υδροστατικών πιέσεων. Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA, polyunsaturated fatty acids), ιδιαίτερα τα ω-3 λιπαρά οξέα [π.χ. το 20:5 ω-3 (EPA) και το 22:6 ω-3 (DHA)], καθιστούν το λίπος των ψαριών διατροφικά ανώτερο από αυτό των ζώων, καθώς συσχετίζονται με την προστασία από καρδιαγγειακές παθήσεις.

Τα λιπαρά συστατικά των μυών ποικίλουν ανάλογα με το είδος του ζώου, το είδος του μυός στο ίδιο ζώο, την ηλικία του ζώου και τέλος την διατροφή του. Τα μονογαστρικά ζώα (π.χ. χοίροι, κοτόπουλα) πρακτικά ενσωματώνουν το μεγαλύτερο μέρος των λιπαρών οξέων της τροφής τους ως έχουν (αμετάβλητα) στον λιπώδη ιστό και τις κυτταρικές μεμβράνες. Το γεγονός αυτό επιτρέπει την ρύθμιση της σύστασης των λιπαρών συστατικών των ζώων αυτών μέσω της τροφής τους (π.χ. εμπλουτισμός σε ω-ακόρεστα λιπαρά οξέα). Αντίθετα, στα μηρυκαστικά (π.χ. αγελάδα, πρόβατο) αυτό είναι πιο δύσκολο, καθώς ένα μεγάλο μέρος (> 90%) των ακόρεστων λιπαρών οξέων της τροφής τους υφίσταται στην μεγάλη κοιλία των ζώων αυτών την λεγόμενη βιο-υδρογώνωση. Χάρης επίσης στις πολύπλοκες ζυμώσεις που λαμβάνουν χώρα στην μεγάλη κοιλία των μηρυκαστικών, το κρέας τους είναι πλούσιο στο συζευγμένο

λιγνελαικό οξύ (CLA, conjugated linoleic acid), κυρίως στο 9-*cis*, 11-*trans*-δεκαοκταδιενικό οξύ, το οποίο θεωρείται ότι έχει ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου.

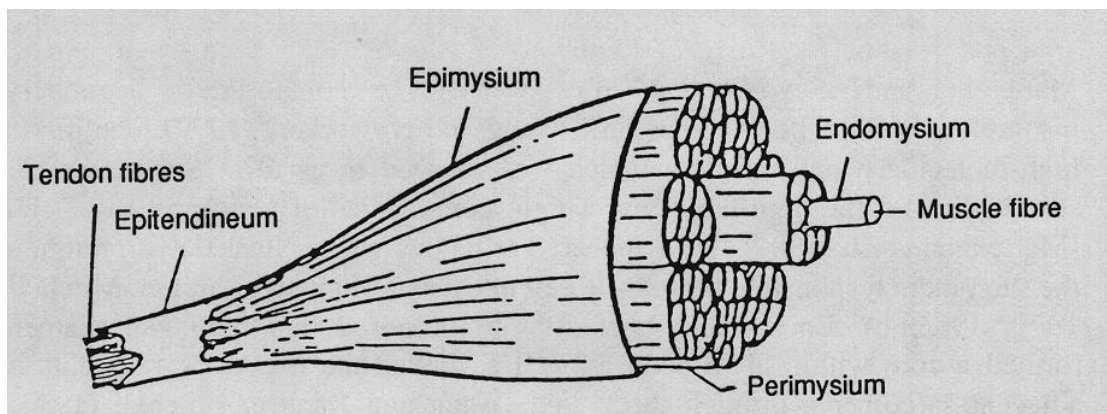
Το κρέας αποτελεί εξαιρετική πηγή μερικών από τις βιταμίνες της ομάδας Β, όπως π.χ. της θειαμίνης (B1), της ριβοφλαβίνης (B2), της νιασίνης (B3), της πυριδοξίνης (B6) και της κοβαλαμίνης (B12). Αντίθετα, η βιταμίνη C βρίσκεται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Οι συγκεντρώσεις των λιποδιαλυτών βιταμινών Α, D, Ε και Κ είναι μάλλον χαμηλές, με υψηλότερη αυτή της βιταμίνης Α. Επίσης το κρέας αποτελεί καλή πηγή σιδήρου και φωσφόρου, και πολύ λιγότερο ασβεστίου. Περιέχει, τέλος, 40-90 mg νατρίου και 250-420 mg καλίου ανά 100 g άπαχου μυός. Τα ψάρια αποτελούν σημαντική πηγή των βιταμινών Α και D, καθώς και των βιταμινών Β6 και Β12, ενώ μας προμηθεύουν με σημαντικές ποσότητες ιωδίου και σεληνίου, αν και ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στις περιπτώσεις εκείνες που τα ψάρια, σε κάποια οικοσυστήματα, συσσωρεύουν υδράργυρο.

3. Η δομή του μυός

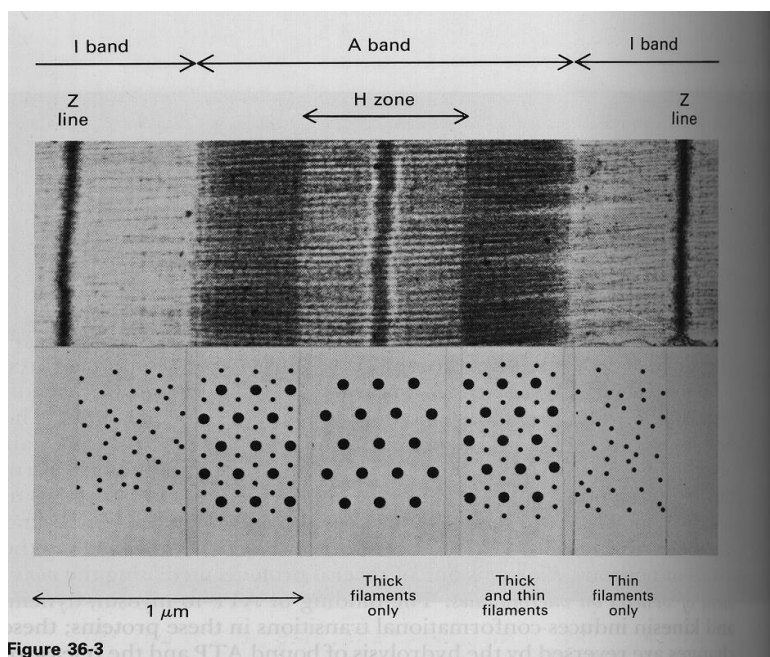
Η δομική μονάδα του μυός είναι το μυϊκό κύτταρο ή η μυϊκή ίνα (muscle fiber). Στους σκελετικούς μύες η μυϊκή ίνα είναι ένα πολύ μακρύ, μερικές φορές μέχρι και μερικά εκατοστά (2-3 cm), κυλινδρικό, πολυπυρηνικό και πολυμιτοχονδριακό κύτταρο, διαμέτρου 10-100 μm. Στο εσωτερικό της περιέχει περίπου 1000 μυϊκά νήματα (myofibrils) διαμέτρου 1 μm, τα οποία αποτελούνται κυρίως από μυοσίνη και ακτίνη, εκτείνονται παράλληλα με τον άξονα της και περιβάλλονται από το κυτταρόπλασμα (σαρκόπλασμα). Το σαρκόπλασμα περιέχει πυρήνες, μιτοχόνδρια, το σαρκοπλασματικό δίκτυο (sarcoplasmic reticulum) και είναι πλούσιο σε διαλυτές πρωτεΐνες (π.χ. μυοσφαιρίνη), γλυκολυτικά ένζυμα, γλυκογόνο, ATP και φωσφορική κρεάτινη. Η κυτταρική μεμβράνη που περιβάλλει την μυϊκή ίνα ονομάζεται σαρκόλημμα (sarcolemma). Το σαρκόλημμα σχηματίζει αναδιπλώσεις προς το εσωτερικό του κυττάρου (T, tubule system), ενώ ταυτόχρονα το σαρκοπλασματικό δίκτυο περιβάλλει πολύ σφιχτά τα μυϊκά νήματα, υπό μορφή «κολλάρου». Η οργάνωση αυτή εξασφαλίζει την ταχεία μεταφορά του νευρικού ερεθίσματος στο εσωτερικό της μυϊκής ίνας και άρα την άμεση ανταπόκριση, υπό μορφή συστολής, των μυϊκών νημάτων. Οι σκελετικοί (ή γραμμωτοί) μύες χαρακτηρίζονται από εκούσια συστολή και έτσι διαφοροποιούνται από τους καρδιακούς αλλά και τους λείους μύες (στομάχι, έντερο, αγγεία), των οποίων η συστολή ελεγχεται ορμονικά.

Κάθε μυϊκή ίνα (μυϊκό κύτταρο) περιβάλλεται από ένα στρώμα συνδετικού ιστού που ονομάζεται ενδομύσιο (endomysium). Πολλές μυϊκές ίνες μαζί σχηματίζουν μια δέσμη που περιβάλλεται από ένα δεύτερο στρώμα συνδετικού ιστού, το περιμύσιο (perimysium). Τέλος, οι σχηματιζόμενες δέσμες καλύπτονται και συγκρατούνται μεταξύ τους από ένα τρίτο στρώμα συνδετικού ιστού, το επιμύσιο (epimysium). Τα ινώδη στρώματα του συνδετικού ιστού ενώνονται μεταξύ τους σχηματίζοντας τους τένοντες που χρησιμεύουν στην πρόσδεση των μυών πάνω στα οστά (Σχήμα 1). Τα μεγάλα αγγεία του κυκλοφοριακού συστήματος διέρχονται

μέσα από το περιμύσιο, ενώ τα τριχοειδή αγγεία μέσα από το ενδομύσιο. Οι συνδετικοί ιστοί αποτελούνται από ινώδεις πρωτεΐνες (stroma proteins), όπως το κολλαγόνο, η ελαστίνη και η ρετικουλίνη και είναι σημαντικοί για την δομή και την εδωδιμότητα του κρέατος. Στο ψάρι οι συνδετικοί ιστοί είναι πολύ λιγότεροι και έτσι το πρόβλημα της τρυφεροποίησης μικρότερο.



Σχήμα 1. Οι συνδετικοί ιστοί του μύος



Σχήμα 2. Εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου μιας κατά μήκος τομής των μυϊκών νημάτων, η οποία αναπαριστά ένα μεμονωμένο σαρκομερές. Στο κάτω μέρος φαίνεται η σχηματική αναπαράσταση της αντίστοιχης εγκάρσιας τομής

Εξετάζοντας την μυϊκή ίνα με μικροσκόπιο αντιστρόφου φάσεως, παρατηρούμε μια γραμμωτή δομή, στην οποία εναλλάσσονται σκοτεινές (Α-ζώνες; Ανισότροπες) με φωτεινές (Ι-ζώνες; Ισότροπες) ζώνες (Σχήμα 2). Μέσα στην Α-ζώνη υπάρχει μια φωτεινότερη ζώνη (Η-ζώνη; Hell = φωτεινός) και στο κέντρο αυτής μια σκοτεινή γραμμή (Μ-γραμμή). Αντίθετα, μέσα στην φωτεινή Ι-ζώνη διαγράφεται μια σκοτεινή γραμμή (Ζ-δίσκος; Zwischen = μεταξύ). Το τμήμα που περικλείεται μεταξύ δύο γειτονικών Ζ-δίσκων ονομάζεται σαρκομερές (sarcomere) και αποτελεί στην ουσία την συστατική μονάδα του μυός. Εξετάζοντας το σαρκομερές με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, βλέπουμε το στρώμα των παχέων μυϊκών νημάτων που αποτελούνται κυρίως από μυοσίνη, καθώς και το στρώμα των λεπτών μυϊκών νημάτων που αποτελούνται κυρίως από F-ακτίνη.

Η Α-ζώνη αποτελείται και από παχέα μυϊκά νήματα (μυοσίνη) και από λεπτά μυϊκά νήματα (ακτίνη), ενώ η Ι-ζώνη μόνο από λεπτά (ακτίνη). Τα λεπτά μυϊκά νήματα ξεκινούν από τον Ζ-δίσκο, εκτείνονται προς το κέντρο του σαρκομερούς και αλληλεπικαλύπτονται με τα παχέα μυϊκά νήματα στις ακραίες (σκοτεινές) περιοχές της Α-ζώνης. Η κεντρική, φωτεινή περιοχή της Α-ζώνης (Η-ζώνη) αποτελείται μόνον από παχέα μυϊκά νήματα (μυοσίνη). Η Μ-γραμμή είναι η λεπτή σκοτεινή ζώνη στο κέντρο της Η-ζώνης, στην οποία στηρίζονται τα παχέα μυϊκά νήματα (μυοσίνη) και εκτείνονται προς τα άκρα του σαρκομερούς. Κατά την διάρκεια της συστολής του μυός, τα παχέα και λεπτά μυϊκά νήματα ολισθαίνουν τα μεν πάνω στα δε. Κατά την διάρκεια της συστολής το μήκος της Α-ζώνης παραμένει σταθερό, αλλά το μήκος της Ι- και Η-ζώνης μειώνεται.

Η οργάνωση των μυών στα ψάρια είναι πολύ διαφορετική από αυτή των ζώων, και έχει να κάνει με τον ιδιαίτερο τρόπο που τα ψάρια κινούν το σώμα τους μέσα στο νερό. Οι μυϊκοί ιστοί είναι οργανωμένοι σε δομές σχήματος W που ονομάζονται μυοτομές. Κάνοντας μια τομή στο σώμα του ψαριού κάθετη προς τον κεντρικό του σκελετό, αποκαλύπτονται πολλαπλές μυοτομές, η μια πάνω στην άλλη, ενώ το επίπεδο κάθε μυοτομής σχηματίζει οξεία γωνία με τον κεντρικό σκελετό του ψαριού. Κάθε μυοτομή έχει πάχος ενός κυττάρου, και τα μυϊκά κύτταρα που την αποτελούν είναι τοποθετημένα σχεδόν κάθετα στο επίπεδο της μυοτομής. Οι μυοτομές συνδέονται μεταξύ τους με ένα στρώμα συνδετικού ιστού που αποτελείται από κολλαγόνο.

4. Ο συνδετικός ιστός

Ο χώρος ανάμεσα στα μυϊκά κύτταρα (μυϊκές ίνες) καταλαμβάνεται από τον συνδετικό ιστό. Ο συνδετικός ιστός περιλαμβάνει ινώδη πρωτεϊνικά στρώματα (ενδομύσιο, περιμύσιο, επιμύσιο) αλλά και κύτταρα διαφόρων τύπων (π.χ. ινωδοβλάστες, μακροφάγα, λεμφοκύτταρα). Τα ινώδη πρωτεϊνικά στρώματα του συνδετικού ιστού ενώνονται στα άκρα του μυός και σχηματίζουν τους τένοντες, οι οποίοι χρησιμεύουν στην πρόσδεση των μυών πάνω στα οστά. Κατά την συστολή του μυός η κίνηση μεταδίδεται μέσω του τένοντα στα οστά και άρα στον

σκελετό. Η περιορισμένη ελαστικότητα του κολλαγόνου του τένοντα έχει ως αποτέλεσμα την μετάφραση της μυϊκής συστολής σε μεγάλο βαθμού κίνηση των οστών.

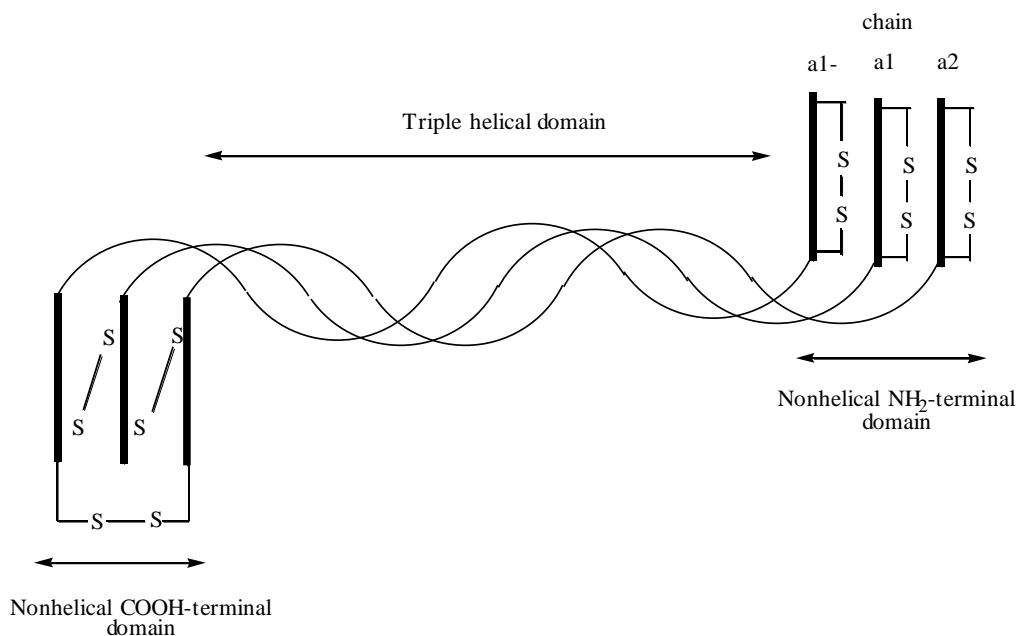
Το κύριο συστατικό του συνδετικού ιστού είναι το **κολλαγόνο**, το οποίο απαντάται επίσης στους τένοντες, τα οστά, τα δόντια, την επιδερμίδα και το αγγειακό σύστημα των ζώων. Το κολλαγόνο είναι μια γλυκοπρωτεΐνη M.B. 300.000 Da με δομή τριπλής έλικας. Αποτελεί το 1/3 της συνολικής πρωτεΐνης των ζώων (συμπεριλαμβανομένου του κολλαγόνου των οστών) και το 10% της πρωτεΐνης των μυών. Τα αντίστοιχα ποσοστά τα ψάρια είναι σημαντικά χαμηλότερα.

Το μονομερές του κολλαγόνου είναι ένα μακρύ κυλινδρικό πρωτεϊνικό μόριο μήκους 2800 Å και διαμέτρου 14-15 Å. Αποτελείται από τρεις ελικοειδείς πεπτιδικές αλυσίδες, οι οποίες είναι οργανωμένες μεταξύ τους σε δεξιόστροφη υπερ-ελικοειδή δομή με την βοήθεια δεσμών υδρογόνου (Σχήμα 3). Οι δεσμοί υδρογόνου αναπτύσσονται ανάμεσα στην πεπτιδική —NH ομάδα μιας γλυκίνης στην μια αλυσίδα και στην πεπτιδική —CO ομάδα ενός άλλου αμινοξέος σε μια από τις δύο άλλες αλυσίδες. Πρέπει να σημειωθεί ότι σε κάθε τρίτη θέση στο μόριο του κολλαγόνου βρίσκεται ένα μόριο γλυκίνης. Το κολλαγόνο απαντάται σε διάφορους πολυμορφικούς τύπους. Ο πιο συνηθισμένος τύπος είναι το κολλαγόνο I που αποτελείται από δύο είδη πεπτιδικών αλυσίδων, την α1(I) και την α2(I), οι οποίες σχηματίζουν μια τριπλή έλικα του τύπου α1(I)α1(I)α2(I). Σήμερα, είναι γνωστά τουλάχιστον δέκα διαφορετικά είδη α-αλυσίδων, τα οποία είναι υπεύθυνα για την διαμόρφωση των διαφόρων τύπων κολλαγόνου (I, II, III, IV και V). Ο τύπος I [α1(I)α1(I)α2] απαντάται στον συνδετικό ιστό, τους τένοντες, τα οστά, τα δόντια και τον κερατοειδή χιτώνα. Ο τύπος II [3α(II)] απαντάται στους χόνδρους και τους δίσκους της σπονδυλικής στήλης. Ο τύπος III [3α(III)] στο αγγειακό σύστημα, ενώ οι τύποι IV [α1(IV)α2(IV)α2(IV)] και V [α1(V)α2(V)α2(V)] στην επιδερμίδα και τον πλακούντα. Οι α-αλυσίδες διαφέρουν ως προς την πρωτοταγή δομή, αλλά γενικά αποτελούνται κυρίως από γλυκίνη (35%), προλίνη και 4-υδροξυ-προλίνη (20%), και αλανίνη (12%). Περιέχουν επίσης και 5-υδροξυ-λυσίνη, η οποία συνήθως είναι γλυκοζυλιωμένη, κατά κανόνα με ένα διασκαχαρίτη γλυκόζης-γαλακτόζης. Το μοριακό βάρος των α-αλυσίδων κυμαίνεται περί τα 100 kDa. Η γλυκίνη λόγω του υψηλού ποσοστού της (35%) και το μικρού μεγέθους της εξασφαλίζει στις αλυσίδες του κολλαγόνου ευελιξία στην αναδίπλωση, ενώ αντίθετα η προλίνη λειτουργεί αντίστροφα και αναγκάζει τα μόρια να σχηματίσουν δεξιόστροφες έλικες.

Η **βιοσύνθεση του κολλαγόνου** γίνεται σε εξειδικευμένα κύτταρα, τους ινωδοβλάστες. Στο εσωτερικό των ιδωνοβλαστών γίνεται αρχικά η σύνθεση πρόδρομων πεπτιδικών αλυσίδων μεγάλου μοριακού βάρους (pro-α1 και pro-α2). Εν συνεχεία, μόρια προλίνης και λυσίνης υδροξυλιώνονται με την βοήθεια των αντίστοιχων υδροξυλασών προς 4-υδροξυ-προλίνη και 5-υδροξυ-λυσίνη, αντίστοιχα. Οι υδροξυλάσες απαιτούν την παρουσία μοριακού οξυγόνου, α-κετο-γλουταρικού οξέος, δισθενούς Fe και ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C). Το ασκορβικό οξύ βοηθά τα ένζυμα να παραμείνουν στην ενεργή τους μορφή, διατηρώντας το άτομο του σιδήρου που περιέχουν στην ανηγμένη κατάσταση (Fe^{2+}). Κολλαγόνο που συντίθεται απουσία

ασκορβικού οξέος υφίσταται ανεπαρκή υδροξυλίωση, έχει χαμηλό σημείο τήξεως και δεν σχηματίζει φυσιολογικές ίνες (όπως π.χ. στο σκορβούτο). Η παραγόμενη 5-υδροξυ-λυσίνη γλυκοζυλιώνεται με την βοήθεια αρχικά μιας γαλακτοζυλο-τρανσφεράσης και εν συνεχεία μιας γλυκοζυλο-τρανσφεράσης.

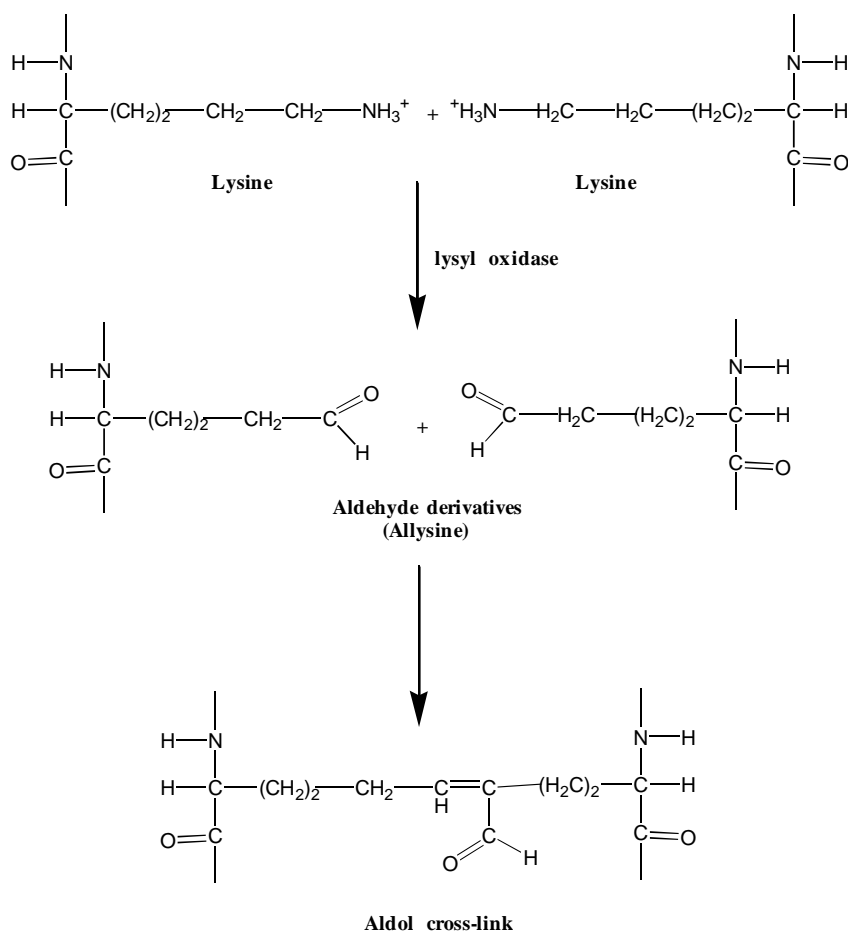
Οι υδροξυλιωμένες και γλυκοζυλιωμένες πρόδρομες πεπτιδικές αλυσίδες οργανώνονται σε τριπλή έλικα σχηματίζοντας το **προκολλαγόνο**, το οποίο εκκρίνεται από τους ινδοβλάστες. Έξω από τους ινδοβλάστες πλέον το προκολλαγόνο υδρολύεται στα δύο άκρα του από εξειδικευμένες πεπτιδάσες με αποτέλεσμα τον σχηματισμό του τροποκολλαγόνου (Σχήμα 3). Για κάθε τύπο κολλαγόνου υπάρχει μια πεπτιδάση για το αμινοτελικό άκρο και μια για το καρβοξυτελικό άκρο του προκολλαγόνου. Έλλειψη των πεπτιδασών οδηγεί σε ατελή σχηματισμό του κολλαγόνου. Παράδειγμα αποτελούν το σύνδρομο Ehlers-Danlos στους ανθρώπους και η δερμοσπάραξη στις αγελάδες.



Σχήμα 3. Σχηματική αναπαράσταση του προκολλαγόνου I που αποτελείται από δύο ταυτόσημες αλυσίδες pro-α1 (I) και μια αλυσίδα pro-α2 (I). Η υδρολυτική απομάκρυνση του αμινοτελικού πεπτιδίου (περίπου 15 kDa) και του καρβοξυτελικού πεπτιδίου (περίπου 30 kDa) οδηγεί στον σχηματισμό του τροποκολλαγόνου I

Τέλος, το **τροποκολλαγόνο** «ωριμάζει» προς κολλαγόνο με την σταδιακή δημιουργία ομοιοπολικών δεσμών, τόσο ανάμεσα στις αλυσίδες μιας τριπλής έλικας όσο και ανάμεσα σε διαφορετικές τριπλές έλικες. Οι δεσμοί αυτοί σχηματίζονται ανάμεσα σε μόρια λυσίνης και 5-υδροξυ-λυσίνης. Αρχικά, η οξειδάση της λυσίνης μετατρέπει την ε-αμινομάδα της λυσίνης και της 5-υδροξυ-λυσίνης σε αλδεϋδη (Σχήμα 4). Το ένζυμο περιέχει χαλκό στο ενεργό του κέντρο και χρησιμοποιεί ως συνένζυμο την φωσφορική πυριδοξάλη (B6) σε μια περίπλοκη αντίδραση οξείδωσης που απαιτεί την παρουσία O₂. Τέλος, τα αλδεϋδικά παράγωγα της λυσίνης και της 5-

υδροξυ-λυσίνης ενώνονται μέσω αλδολικής συμπύκνωσης. Οι διαμοριακοί ομοιοπολικοί δεσμοί σχηματίζονται στα μη ελικοειδή άκρα του μορίου του κολλαγόνου, και πιο συγκεκριμένα μεταξύ του C-άκρου μιας έλικας και του N-άκρου μιας γειτονικής έλικας. Η σημασία των δεσμών αυτών για την σωστή ωρίμανση του κολλαγόνου είναι εμφανής στην περίπτωση του λαθουρισμού. Ο λαθουρισμός είναι μια ασθένεια των ζώων που προκαλείται από την βρώση σπόρων του *Lathyrus odoratus*, ενός γλυκού μπιζελιού. Το *Lathyrus odoratus* περιέχει την τοξική ένωση β-αμινο-προπιονιτρίλιο [$\text{N}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$], το οποίο δρα ως παρεμποδιστής της οξειδάσης της λυσίνης. Το κολλαγόνο των ζώων αυτών είναι μόριο εξαιρετικά ασθενικό σε δυνάμεις τάνσης. Αντίθετα, πρέπει να τονισθεί ότι η δύναμη μιας ίνας φυσιολογικού, υγιούς κολλαγόνου είναι εντυπωσιακή. Απαιτείται βάρος τουλάχιστον 10 kg για να διαρραγεί μια ίνα κολλαγόνου διαμέτρου 1 mm.



Σχήμα 4. Οξείδωση και αλδολική συμπύκνωση δύο μορίων λυσίνης στην έλικα του κολλαγόνου

Το κολλαγόνο ως κύριο συστατικό του συνδετικού ιστού επηρεάζει σημαντικά την δομή του κρέατος. Μια αποδεκτή δομή προϋποθέτει ένα συγκεκριμένο βαθμό διασταυρώσεων (cross-linking) στο μόριο του κολλαγόνου. Έχει βρεθεί ότι η διαλυτότητα του κολλαγόνου σε όξινα διαλύματα ή διαλύματα αλάτων μειώνεται όσο αυξάνει η ηλικία του ζώου. Η σκληρότητα του

κρέατος ηλικιωμένων ζώων οφείλεται στον μεγάλο αριθμό διασταυρώσεων του κολλαγόνου τους. Ανάλογος είναι και ο ρόλος του κολλαγόνου στα ψάρια, μολονότι αυτά περιέχουν μόνο το 1/10 του κολλαγόνου που βρίσκουμε στο κόκκινο κρέας.

Η θερμική επεξεργασία του κολλαγόνου οδηγεί σε μερική διαλυτοποίηση (ζελατινοποίηση) και μετατροπή της οργανωμένης ελικοειδούς δομής του κολλαγόνου σε μια πιο άμορφη δομή, την ζελατίνη. Η διαλυτοποίηση αυτή είναι αποτέλεσμα τόσο της αποδιάταξης (μέσω της διάσπασης δεσμών υδρογόνου) των ινών του κολλαγόνου όσο και της μερικής υδρόλυσης του μορίου. Η θερμοκρασία στην οποία το 50% του κολλαγόνου έχει αποδιάταχθεί προς ζελατίνη ονομάζεται σημείο τήξεως (T_m). Το σημείο τήξεως εξαρτάται από την περιεκτικότητα του κολλαγόνου σε ιμινοξέα (προλίνη και 4-υδροξυ-προλίνη), από το βαθμό υδροξυλίωσης του κολλαγόνου, και από το είδος και την ηλικία του ζώου. Γενικά το T_m του κολλαγόνου των ζώων είναι υψηλότερο του T_m του κολλαγόνου των ψαριών. Η πλήρης μετουσίωση του κολλαγόνου οδηγεί στην δημιουργία ενός πλήρως άμορφου μορίου, της κόλλας, εξ ου και η προέλευση της λέξης κολλαγόνο.

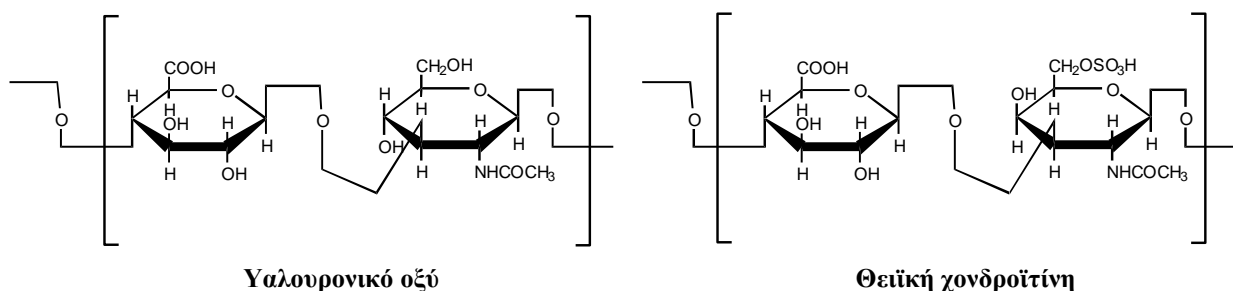
Το κολλαγόνο δεν έχει μεγάλη διατροφική αξία, τόσο λόγω της υψηλής περιεκτικότητας του σε τρία μόνο αμινοξέα (γλυκίνη, προλίνη και αλανίνη) και της ταυτόχρονης απουσίας απαραίτητων αμινοξέων, όσο και λόγω της ανθεκτικότητας του απέναντι σε πρωτεολυτικά ένζυμα του ανθρώπινου πεπτικού συστήματος, όπως η πεψίνη, η θρυψίνη και η χυμοθρυψίνη.

Τα περισσότερα πρωτεολυτικά ένζυμα δεν μπορούν να υδρολύσουν το μη μετουσιωμένο κολλαγόνο, αλλά αποικοδομούν πιο εύκολα το διαλυτοποιημένο (μετουσιωμένο) κολλαγόνο. Κολλαγενάσες έχουν εντοπισθεί σε διάφορους ζωικούς ιστούς και όργανα (π.χ. στην μήτρα των θηλαστικών), αλλά η δράση τους είναι πολύ περιορισμένη σε σχέση με αυτή των μικροβιακών κολλαγενασών, π.χ. του είδους *Clostridium histolyticum*. Η σημασία των κολλαγενασών στην *in situ* διάσπαση του κολλαγόνου δεν είναι γνωστή, αλλά φαίνεται ότι τα ένζυμα αυτά παίζουν κάποιο ρόλο στην μεταθανάτια τρυφεροποίηση του κρέατος.

Η δεύτερη σε σημασία πρωτεΐνη του συνδετικού ιστού είναι η **ελαστίνη**. Συναντάται κυρίως σε ελαστικούς ιστούς, όπως π.χ. στις αρτηρίες και τους συνδέσμους. Η δομή της είναι ινώδης, αντέχει στην θέρμανση σε νερό, διογκώνεται αλλά δεν διαλύεται πλήρως. Είναι επίσης ανθεκτική απέναντι στα περισσότερα πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως η πεψίνη, η θρυψίνη και η χυμοθρυψίνη, αλλά υφίσταται μερική υδρόλυση από την ελαστάση του παγκρέατος και την παπαΐνη. Δεν προσβάλλεται από οξέα και από σχετικά πυκνά διαλύματα βάσεων. Η δομή της είναι πολύπλοκη. Έχουν απομονωθεί δύο τύποι ελαστίνης, η α -ελαστίνη M.B. > 70 kDa και η β -ελαστίνη με M.B. 5.5 kDa. Οι πεπτιδικές αλυσίδες της ελαστίνης διασταυρώνονται όπως και στο κολλαγόνο, δηλαδή αναπτύσσουν ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ μορίων λυσίνης και 5-υδροξυ-λυσίνης. Όπως και στην περίπτωση του κολλαγόνου, οι πεπτιδικές αλυσίδες της ελαστίνης περιέχουν μεγάλες ποσότητες γλυκίνης (30%) και προλίνης (12%). Αντίθετα όμως προς το κολλαγόνο περιέχουν πολύ χαμηλές ποσότητες 4-υδροξυ-προλίνης, 5-υδροξυ-λυσίνης

και πολικών αμινοξέων. Τέλος, η ελαστίνη περιέχει υψηλές ποσότητες αλανίνης (30%) και άλλων μη πολικών, αλειφατικών αμινοξέων (π.χ. βαλίνη 12%).

Σημαντικό ρόλο στην δομική ακεραιότητα του συνδετικού ιστού παίζουν διάφοροι ετεροπολυσακχαρίτες, όπως π.χ. η θειϊκή χονδροϊτίνη, η θειική κερατάνη και το υαλουρονικό οξύ, οι οποίοι είναι γνωστοί με το όνομα **γλυκοζαμινογλυκάνια**. Επειδή τα διαλύματα των γλυκοζαμινογλυκανίων έχουν βλεννώδη υφή, αυτά ονομάζονται και βλεννοπολυσακχαρίτες ή και όξινοι βλεννοπολυσακχαρίτες, καθώς όλοι τους περιέχουν στο μόριο τους είτε καρβοξυλομάδες είτε θειϊκές ομάδες ή και τις δύο. Τα γλυκοζαμινογλυκάνια αποτελούνται από μια επαναλαμβανόμενη βασική μονάδα ενός δισακχαρίτη. Ο δισακχαρίτης αποτελείται από ένα ουρονικό οξύ και από ένα ακετυλαμινο-σάκχαρο, όπως η N-ακετυλο-γλυκοζαμίνη και η N-ακετυλο-γαλακτοζαμίνη. Τα συσσωματώματα των γλυκοζαμινογλυκανίων με πρωτεΐνες ονομάζονται **πρωτεογλυκάνια**. Ένα τυπικό πρωτεογλυκάνιο είναι ο χόνδρος.



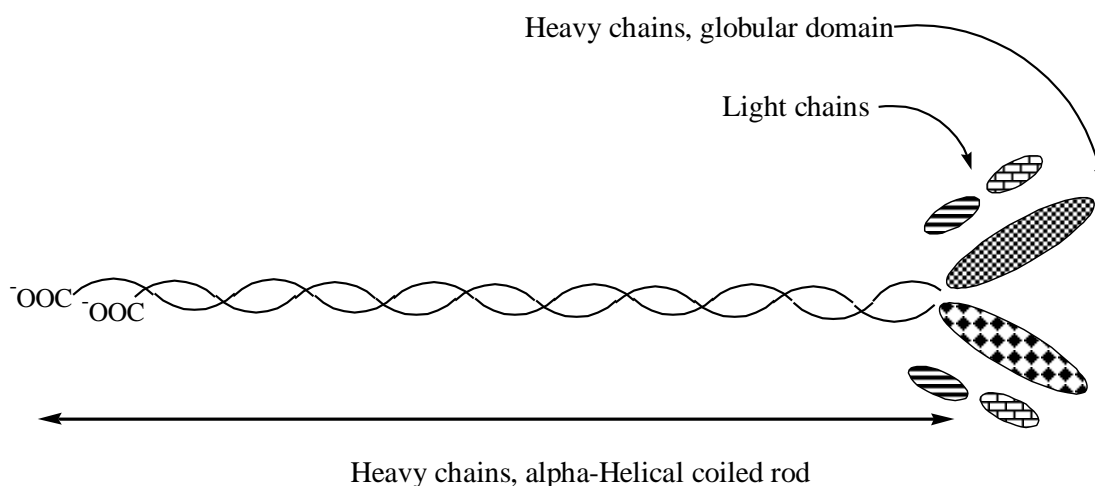
5. Οι συσταλτές πρωτεΐνες του κρέατος

Οι κύριες πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην συστολή του μυός είναι η μυοσίνη και η ακτίνη. Εκτός από αυτές υπάρχουν και άλλες πρωτεΐνες, οι οποίες παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στο φαινόμενο της συστολής.

Η **μυοσίνη** αποτελεί το 45% των πρωτεϊνών των μυϊκών νημάτων και είναι το βασικό συστατικό των παχέων μυϊκών νημάτων. Είναι μια πρωτεΐνη μεγάλου μοριακού βάρους (540 kDa) και αποτελείται από έξι υπομονάδες. Οι δύο βαριές αλυσίδες έχουν μοριακό βάρος περί τα 230 kDa, ενώ για τις τέσσερις ελαφρές αλυσίδες το μοριακό βάρος κυμαίνεται περί τα 20 kDa. Οι δύο βαριές υπομονάδες έχουν κατά 55% ελικοειδή δομή (ουρά) αλλά το αμινοτελικό τους άκρο έχει σφαιρική δομή (κεφαλή). Οι δύο βαριές αλυσίδες είναι περιελικωμένες μεταξύ τους σε μια α-ελικοειδή υπερ-δευτεροταγή δομή, η οποία σταματά στην περιοχή της κεφαλής. Στην κεφαλή των βαριών αλυσίδων εφάπτονται οι τέσσερις σφαιρικής δομής ελαφρές υπομονάδες (Σχήμα 5).

Οι τέσσερις ελαφρές υπομονάδες ομαδοποιούνται ανά δύο, στις DTNB-υπομονάδες που απομακρύνονται από το μόριο της μυοσίνης με την επίδραση του DTNB [5,5'-διθειο-δισ-(2-

νιτροβενζοϊκό οξύ), αντιδραστήριο που αντιδρά με SH-ομάδες], και στις αλκαλικές υπομονάδες που απομακρύνονται από το μόριο της μυοσίνης μετά από επίδραση αλκαλικού διαλύματος. Η κεφαλή κάθε βαριάς υπομονάδας εφάπτεται με μια DTNB-υπομονάδα και μια αλκαλική υπομονάδα. Οι DTNB-υπομονάδες σχετίζονται με την συμπεριφορά της μυοσίνης παρουσία Ca^{2+} ενώ οι αλκαλικές υπομονάδες με την ικανότητα της μυοσίνης να δρα ως ATP-άση.

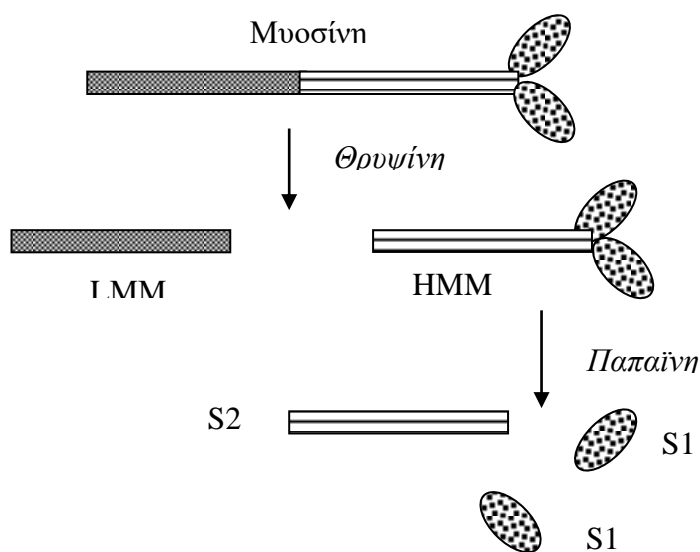


Σχήμα 5. Σχηματική αναπαράσταση του μορίου της μυοσίνης

Η μυοσίνη έχει τρεις σημαντικές βιολογικές ενεργότητες. Πρώτον, τα μόρια της μυοσίνης κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ιοντικής ισχύος και pH έχουν την ικανότητα να οργανώνονται σε ίνες. Η ενεργότητα αυτή εντοπίζεται στην περιοχή της «ουράς» του μορίου. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται τα παχέα μυϊκά νήματα που αναφέραμε στην δομή του μυός. Ένα παχύ μυϊκό νήμα αποτελείται από περίπου 400 μόρια μυοσίνης διατεταγμένα έτσι ώστε η κεφαλή του ενός να εφάπτεται στην ουρά του επομένου. Δεύτερον, η μυοσίνη έχει την ικανότητα να προσδένεται στην πολυμερισμένη δομή της ακτίνης (F-ακτίνη), η οποία αποτελεί το κύριο συστατικό των λεπτών μυϊκών νημάτων. Τέλος, η μυοσίνη είναι ένζυμο και πιο συγκεκριμένα έχει ενεργότητα ATP-άσης, δηλαδή υδρολύει το ATP παρουσία ιόντων Mg^{2+} και Ca^{2+} . Ο αριθμός ανακύκλησης (turnover number) της ATP-άσης αυξάνει 200 φορές παρουσία ακτίνης. Τόσο η ικανότητα πρόσδεσης στην πολυμερισμένη ακτίνη, όσο και η ενεργότητα της ATP-άσης εντοπίζονται στην κεφαλή του μορίου της μυοσίνης.

Η μυοσίνη μπορεί να υδρολυθεί ενζυμικά σε κλάσματα, τα οποία διατηρούν κάποιες από τις ενεργότητες του αρχικού μορίου. Η θρυψίνη υδρολύει την μυοσίνη σε δύο κλάσματα, την ελαφρά μερο-μυοσίνη (LMM, Light MeroMyosin) και την βαριά μερο-μυοσίνη (HMM, Heavy MeroMyosin). Η ελαφρά μερο-μυοσίνη διατηρεί την ικανότητα να σχηματίζει παχέα μυϊκά νήματα, αλλά δεν μπορεί να προσδεθεί με την ακτίνη ούτε να δράσει ως ATP-άση. Αντίθετα, η

βαριά μερο-μυοσίνη διατηρεί την ικανότητα να δένεται στην ακτίνη, όπως επίσης και να υδρολύει το ATP, αλλά δεν μπορεί να σχηματίσει παχέα μυϊκά νήματα. Η βαριά μερο-μυοσίνη μπορεί να υδρολυθεί από την παπαΐνη σε δύο σφαιρικά (S1) και ένα ραβδώδες (S2) κλάσμα. Τα σφαιρικά κλάσματα (S1) διατηρούν την ικανότητα πρόσδεσης στην ακτίνη καθώς και την ενεργότητα της ATP-άσης, αλλά δεν μπορούν να δεθούν ταυτόχρονα στο ATP και στην ακτίνη (Σχήμα 6).

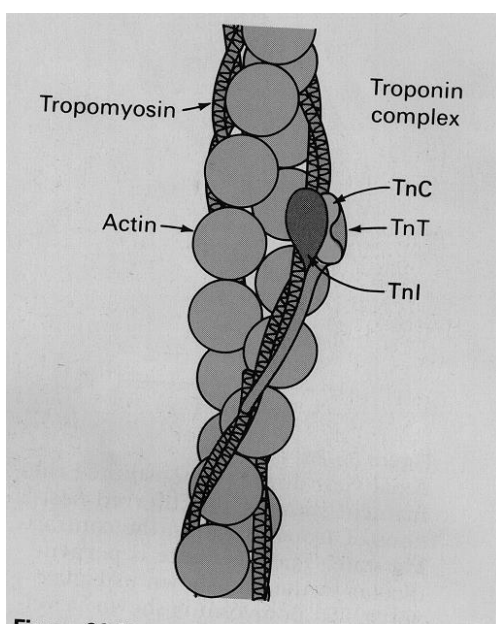


Σχήμα 6. Η ενζυμική υδρόλυση της μυοσίνης σε ενεργά κλάσματα. Στο σχήμα δεν φαίνονται οι τέσσερις ελαφρές αλυσίδες της μυοσίνης

Στα παχέα μυϊκά νήματα, εκτός από την μυοσίνη που αποτελεί το κύριο συστατικό τους, έχουν εντοπισθεί και κάποιες άλλες πρωτεΐνες, των οποίων όμως ο βιολογικός ρόλος δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως. Οι **πρωτεΐνες C, H και X** εντοπίζονται περιοδικά πάνω στα παχέα μυϊκά νήματα και μοιάζουν σαν να τα περιβάλλουν, έχοντας τον κύριο άξονα τους παράλληλα με αυτόν των παχέων μυϊκών νημάτων. Πιστεύεται ότι ο ρόλος των πρωτεϊνών αυτών είναι να προστατεύουν τα παχέα μυϊκά νήματα από μεγάλες δυνάμεις τάνυσης ή από απότομες μεταβολές της ιοντικής ισχύος.

Τα παχέα μυϊκά νήματα στηρίζονται στην Μ-γραμμή. Η κύρια πρωτεΐνη της Μ-γραμμής είναι η **μυομεσίνη**. Αποτελεί το 3% των πρωτεϊνών των μυϊκών νημάτων και έχει μοριακό βάρος 165 kDa. Ο βιολογικός της ρόλος είναι να συγκρατεί «αγκυροβολημένα» τα παχέα μυϊκά νήματα σε οργανωμένη δομή. Μια άλλη πρωτεΐνη της Μ-γραμμής είναι και η **κινάση της κρεατίνης**, η οποία, όπως θα δούμε παρακάτω, εμπλέκεται στην αναγέννηση του ATP.

Η **ακτίνη** αποτελεί το 20% των πρωτεϊνών των μυϊκών νημάτων και είναι το βασικό συστατικό των λεπτών μυϊκών νημάτων. Σε διαλύματα χαμηλής ιοντικής ισχύος η ακτίνη είναι ένα μονομερές με μοριακό βάρος 42 kDa και σφαιρική δομή, γι' αυτό και ονομάζεται G-ακτίνη (Globular). Αυξανομένης της ιοντικής ισχύος προς τα φυσιολογικά επίπεδα (κύτταρο), η G-ακτίνη πολυμερίζεται προς μια ινώδη μορφή διπλής έλικας που ονομάζεται F-ακτίνη (Fibrous) με 13 μόρια G-ακτίνης ανά στροφή (Σχήμα 7). Οι ίνες της F-ακτίνης (λεπτά μυϊκά νήματα) προσδένονται στις δύο πλευρές του Z-δίσκου με αντίθετη πολικότητα και με τον τρόπο αυτό γίνεται δυνατή η κίνηση των παχέων μυϊκών νημάτων του γειτονικού σαρκομερούς προς τον Z-δίσκο.



Σχήμα 7. Αναπαράσταση του λεπτού νήματος. Το σύμπλοκο της τροπονίνης αποτελείται από τις TnC, TnI και TnT. Στον μυ εν ηρεμία (χαμηλή συγκέντρωση Ca^{2+}) η τροπομυοσίνη παρεμποδίζει την ακτίνη να αλληλεπιδράσει με τη μυοσίνη

Όταν η μυοσίνη αναμιχθεί *in vitro* με την ακτίνη σχηματίζεται ένα σύμπλοκο που ονομάζεται **ακτομυοσίνη**. Η προσθήκη ATP συνεπάγεται την διάσταση του συμπλόκου, όπως ακριβώς συμβαίνει *in vivo*. Η ακτομυοσίνη είναι η κύρια μορφή, με την οποία συναντάμε την μυοσίνη και την ακτίνη στον μυ μετά τον θάνατο του ζώου, καθώς ο μεταθανάτιος μεταβολισμός του μυός οδηγεί σε εξάντληση των αποθεμάτων του ενδοκυτταρικού ATP.

Η **τροπομυοσίνη** αποτελεί το 5% των πρωτεϊνών των μυϊκών νημάτων και είναι συστατικό των λεπτών μυϊκών νημάτων. Αποτελείται από δύο ελικοειδή πολυπεπίδια, τα οποία ενώνονται σε μια ελικοειδή υπερ-δευτεροταγή δομή. Τα επί μέρους πολυπεπίδια, η α-

και η β-τροπομουσίνη, έχουν μοριακό βάρος 37 και 33 kDa, αντίστοιχα, και συνδυάζονται είτε ως α-α ή β-β ομοδιμερή είτε ως α-β ετεροδιμερή. Τα διμερή μόρια της τροπομουσίνης προσδένονται πάνω στα λεπτά νήματα της F-ακτίνης, έτσι ώστε κάθε διμερές μόριο τροπομουσίνης να εφάπτεται με επτά μόρια G-ακτίνης (Σχήμα 7). Η τροπομουσίνη μαζί με τροπονίνη, η οποία περιγράφεται αμέσως μετά, σχηματίζουν ένα σύμπλοκο, το οποίο ρυθμίζει τις αλληλοεπιδράσεις της μουσίνης (παχέα μυϊκά νήματα) με την ακτίνη (λεπτά μυϊκά νήματα).

Η **τροπονίνη** αποτελεί το 5% των πρωτεϊνών των μυϊκών νημάτων και είναι και αυτή συστατικό των λεπτών μυϊκών νημάτων. Αποτελείται από τρεις υπομονάδες (την TnC, TnI και TnT), η κάθε μια με τον δικό της διακριτό ρόλο (Σχήμα 7). Η τροπονίνη C (M.B. 18 kDa) δεσμεύει ασβέστιο. Περιλαμβάνει δυο ομόλογες περιοχές, μία στο N-άκρο και μία στο C-άκρο, κάθε μία από τις οποίες διαθέτει δύο θέσεις δέσμησης ασβεστίου. Οι θέσεις στο N-άκρο έχουν χαμηλή συγγένεια στο ασβέστιο ($K_d = 10 \mu\text{M}$), ενώ οι θέσεις στο C-άκρο υψηλή συγγένεια ($K_d = 0.1 \mu\text{M}$). Η τροπονίνη I (M.B. 24 kDa) δεσμεύει την ακτίνη, και η τροπονίνη T (M.B. 37 kDa) δεσμεύει την τροπομουσίνη. Όπως και η τροπομουσίνη, το σύμπλοκο της τροπονίνης ρυθμίζει τις αλληλοεπιδράσεις μιας περιοχής επτά μορίων G-ακτίνης.

Η **νεβουλίνη** αποτελεί το 5% των πρωτεϊνών των μυϊκών νημάτων και έχει μοριακό βάρος 700 - 900 kDa. Διαθέτει πολλές περιοχές πρόσδεσης πάνω στην ακτίνη, και εμφανίζει διαφορετικά μήκη ανάλογα με το μήκος των λεπτών νημάτων. Ο βιολογικός της ρόλος είναι η ρύθμιση του μήκους των λεπτών νημάτων.

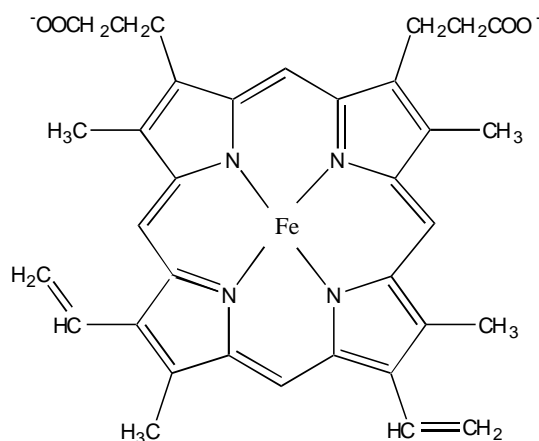
Η **α-ακτινίνη** βρίσκεται αποκλειστικά στον Z-δίσκο. Αποτελείται από δύο όμοιες υπομονάδες και έχει μοριακό βάρος 200 kDa. Ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών που δεσμεύουν την F-ακτίνη. Ο ρόλος της είναι να παρέχει δομή στον Z-δίσκο. Η **β-ακτινίνη** είναι ένα διμερές πρωτεϊνικό μόριο από δύο πολυπεπίδια μοριακού βάρους 35 και 31 kDa. Δεσμεύει την F-ακτίνη και παρεμποδίζει τον ανασχηματισμό της διασπασμένης F-ακτίνης. Βρίσκεται στα ελεύθερα άκρα των λεπτών μυϊκών νημάτων και εμπλέκεται στην ρύθμιση του μήκους τους. Η **δεσμίνη** έχει μοριακό βάρος 55 kDa και σχηματίζει ίνες μήκους 10 nm. Οι ίνες της δεσμίνης βρίσκονται στην περιφέρεια του Z-δίσκου και αποτελούν τον σύνδεσμο ανάμεσα σε γειτονικά μυϊκά νήματα.

Η **τιττίνη** (κονεκτίνη) είναι μια μεγάλου μοριακού βάρους (1.000 kDa) ελαστική πρωτεΐνη, μήκους 0.9-1 μm , που εκτείνεται κατά το ήμισυ του σαρκομερούς, δηλαδή από τον Z-δίσκο μέχρι την M-γραμμή. Μετά την μουσίνη και την ακτίνη είναι η τρίτη από άποψη ποσότητας πρωτεΐνη των μυϊκών νημάτων, αντιπροσωπεύοντας το 10% του συνόλου. Αλληλεπιδρά με την μουσίνη, τις πρωτεΐνες της M-γραμμής και την α-ακτινίνη. Πιστεύεται ότι ο ρόλος της είναι η ρύθμιση του μήκους των παχέων μυϊκών νημάτων και η διατήρηση της μηχανικής τους συνέχειας. Οι ίνες της τιττίνης αποτελούν τις λεγόμενες ίνες των διάκενων (gap filaments), οι οποίες παρατηρούνται μεταξύ των λεπτών και των παχέων νημάτων, όταν οι μύες εκτείνονται πέρα από το σημείο της αλληλοεπικάλυψης των μυϊκών νημάτων.

6. Η μυοσφαιρίνη του κρέατος

Το χρώμα του κρέατος παίζει σημαντικό ρόλο στην επιλογή του καταναλωτή. Η κύρια χρωστική του κρέατος είναι η ερυθρού χρώματος οξυ-μυοσφαιρίνη, η οποία κατά την διάρκεια της συντήρησης μετατρέπεται σε μετα-μυοσφαιρίνη, η οποία έχει καφέ χρώμα. Πρέπει να σημειωθεί ότι και η αιμοσφαιρίνη του αίματος συμβάλλει στο κόκκινο χρώμα του φρέσκου κρέατος, αλλά μόνο κατά 5%, καθώς το μεγαλύτερο μέρος του αίματος απομακρύνεται κατά την σφαγή του ζώου. Η ποσότητα της μυοσφαιρίνης στους μύες ποικίλει ανάλογα με τον ιστό, αλλά και το είδος, την ηλικία, το φύλο και την φυσική δραστηριότητα του ζώου. Εντυπωσιακή είναι η περιεκτικότητα των μυών της φάλαινας σε μυοσφαιρίνη (περίπου 8%), η οποία εξυπηρετεί τις αυξημένες ανάγκες του ζώου σε οξυγόνο όταν αυτό καταδύεται για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Η **μυοσφαιρίνη** είναι μια σφαιρική πρωτεΐνη που αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα μοριακού βάρους 16.8 kDa και αποτελεί το 1.5 % της πρωτεΐνης στους σκελετικούς μύες. Το 80 % των αμινοξέων της βρίσκονται οργανωμένα σε 8 α-έλικες, με μόρια προλίνης στα σημεία καμπής. Το χρωμοφόρο συστατικό του μορίου είναι ο πορφυρινικός δακτύλιος της αίμης (Σχήμα 8) που είναι τοποθετημένος μέσα σε μια υδρόφοβη εσωτερική περιοχή του πρωτεϊνικού μορίου και φέρει στο κέντρο του ένα άτομο σιδήρου.



Σχήμα 8. Αναπαράσταση του μορίου της αίμης

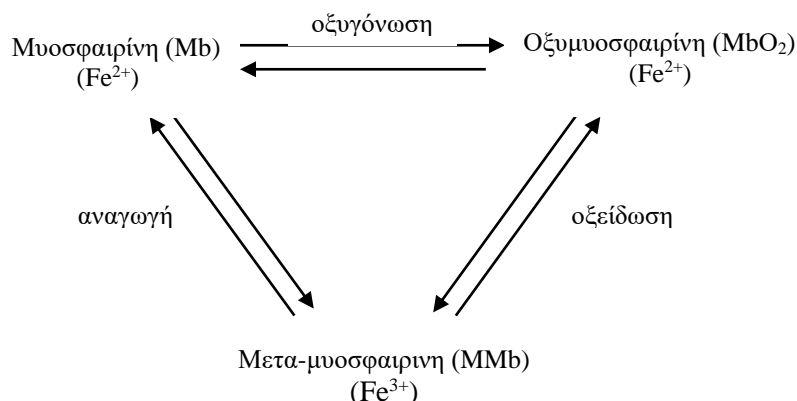
Ο πορφυρινικός δακτύλιος αποτελείται από τέσσερις πυρρολικούς δακτυλίους, οι οποίοι συνδέονται μέσω τεσσάρων μεθυλενομάδων (=CH—) και διαθέτουν οκτώ συνολικά υποκατάστατες, τέσσερις μεθυλομάδες (—CH₃), δύο βινυλομάδες (CH₂=CH—) και δύο ομάδες προπιονικού οξέος (—CH₂—CH₂—COOH). Συνολικά ο δακτύλιος της αίμης διαθέτει υψηλή συζυγία, πράγμα που τον καθιστά επίπεδο, άκαμπτο αλλά σταθερό. Ο σίδηρος στο κέντρο της αίμης διαθέτει έξι συντεταγμένες, τέσσερις από τις οποίες συνδέονται με τα τέσσερα άτομα

αζώτου του τετραπυρρολικού δακτυλίου, αυξάνοντας το μήκος κύματος απορρόφησης του μορίου. Η πέμπτη συντεταγμένη συνδέεται με την ιστιδίνη-93 (εγγύς ιστιδίνη) της πεπτιδικής αλυσίδας της μυοσφαιρίνης. Η ιστιδίνη-93 πρακτικά σταθεροποιεί τον δακτύλιο της αίμης μέσα στην υδρόβουφη υποδοχή της μυοσφαιρίνης. Τέλος, η έκτη συντεταγμένη είναι διαθέσιμη να συμπλοκοποιηθεί με ηλεκτροαρνητικά άτομα, όπως π.χ. το οξυγόνο. Ένα δεύτερο μόριο ιστιδίνης (ιστιδίνη-64, άπω ιστιδίνη) βρίσκεται κοντά στον δακτύλιο της αίμης, χωρίς όμως να σχηματίζει δεσμό με αυτήν. Ο ρόλος της είναι να προστατεύει τον σίδηρο από την οξείδωση, αλλά και να αναγκάζει το μονοξειδίο του άνθρακα (CO) σε γωνιακή πρόσδεση, έτσι ώστε να δυσχεραίνεται η δέσμευση του από τον δακτύλιο της αίμης, καθώς η συγγένεια της αίμης, όταν αυτή υπάρχει ως ελεύθερο μόριο, προς το μονοξειδίο του άνθρακα, είναι πολύ υψηλότερη από αυτή που διαθέτει προς το οξυγόνο. Ο βιολογικός ρόλος της μυοσφαιρίνης είναι η αποθήκευση του οξυγόνου στα κύτταρα προκειμένου να χρησιμοποιηθεί στις μεταβολικές διεργασίες του κυττάρου. Το οξυγόνο μεταφέρεται από τους πνεύμονες στους ιστούς μέσω του κυκλοφοριακού συστήματος από την αιμοσφαιρίνη, η οποία από άποψη δομής αποτελεί ένα τετραμερές της μυοσφαιρίνης, αν και μόνο τα 24 από τα 141 αμινοξέα της μυοσφαιρίνης είναι ίδια με αυτά μιας υπομονάδας της αιμοσφαιρίνης.

Το χρώμα του κρέατος προσδιορίζεται από την χημεία της μυοσφαιρίνης, την κατάσταση οξείδωσης του αιμικού σιδήρου, τους υποκατάστατες στον δακτύλιο της αίμης και την κατάσταση του πρωτεϊνικού τμήματος της μυοσφαιρίνης. Ο αιμικός σίδηρος μπορεί να βρίσκεται σε δύο μορφές, στην ανηγμένη (Fe^{2+}) και στην οξειδωμένη (Fe^{3+}). Η κατάσταση της οξείδωσης του αιμικού σιδήρου όμως πρέπει να διαφοροποιηθεί από την οξυγόνωση της μυοσφαιρίνης. Ο όρος μυοσφαιρίνη (Mb, ή αλλιώς δεοξυ-μυοσφαιρίνη) αναφέρεται στο μόριο, στο οποίο ο αιμικός σίδηρος είναι στην ανηγμένη του μορφή (Fe^{2+}) και ταυτόχρονα η έκτη συντεταγμένη του σιδήρου είναι ελεύθερη. Οξυγόνωση της μυοσφαιρίνης σημαίνει πρόσδεση μοριακού οξυγόνου στην μυοσφαιρίνη, η οποία τότε μεταπίπτει στην οξυ-μυοσφαιρίνη (MbO_2), χωρίς μεταβολή του σθένους του αιμικού σιδήρου (Fe^{2+}). Οξείδωση της μυοσφαιρίνης σημαίνει ότι ο αιμικός σίδηρος είναι στην οξειδωμένη του κατάσταση (Fe^{3+}) και τότε η μυοσφαιρίνη ονομάζεται μετα-μυοσφαιρίνη (MMb) (Σχήμα 9). Το πρωτεϊνικό τμήμα του μορίου της μυοσφαιρίνης προστατεύει τον σίδηρο της αίμης από την οξείδωση. Αντίθετα, όταν το μόριο της αίμης είναι ελεύθερο, τότε η δέσμευση του οξυγόνου συνεπάγεται ταχεία οξείδωση του Fe^{2+} σε Fe^{3+} , ιδιαίτερα κάτω από όξινες συνθήκες.

Το κρέας που περιέχει κατά κύριο λόγο μυοσφαιρίνη έχει χρώμα κόκκινο. Η πρόσδεση μοριακού οξυγόνου στην έκτη συντεταγμένη του σιδήρου οδηγεί στον σχηματισμό της οξυ-μυοσφαιρίνης (MbO_2) και το χρώμα του κρέατος αλλάζει προς το γνωστό φωτεινό κόκκινο. Ο δισθενής αιμικός σίδηρος τόσο της μυοσφαιρίνης όσο και της οξυ-μυοσφαιρίνης μπορεί να οξειδωθεί προς τρισθενή, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό της μετα-μυοσφαιρίνης (MMb), η οποία έχει καστανό χρώμα. Η μετα-μυοσφαιρίνη δεν μπορεί να δεσμεύσει μοριακό οξυγόνο και την θέση του οξυγόνου στην έκτη συντεταγμένη του αιμικού σιδήρου καταλαμβάνει ένα μόριο

νερού. Όταν η μερική πίεση του οξυγόνου είναι υψηλή, ευνοείται η οξυγόνωση και ο σχηματισμός της φωτεινής κόκκινης οξυ-μυοσφαιρίνης. Αντίθετα, όταν η μερική πίεση του οξυγόνου είναι χαμηλή ευνοείται ο σχηματισμός της μυοσφαιρίνης. Η ταχύτητα σχηματισμού της μετα-μυοσφαιρίνης, που προέρχεται από την οξείδωση του σιδήρου ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$) μπορεί να ελαχιστοποιηθεί όταν αποκλεισθεί πλήρως το οξυγόνο.



Σχήμα 9. Οι μορφές της μυοσφαιρίνης

Μέσα στο σύνθετο βιολογικό σύστημα του κρέατος οι αντιδράσεις που φαίνονται στο Σχήμα 9 είναι σε δυναμική ισορροπία, η οποία εξαρτάται από τις συνθήκες που επικρατούν στον ιστό. Οι αλληλοεπιδράσεις των παραγόντων που επηρεάζουν την ισορροπία αυτή είναι κρίσιμες αλλά παράλληλα καθιστούν δύσκολη την εκτίμηση των επί μέρους ρόλων. Ανάμεσα τους περιλαμβάνονται η έκθεση στο φως, η θερμοκρασία, η σχετική υγρασία, το pH και η παρουσία συγκεκριμένων ομάδων βακτηρίων. Η οξείδωση ευνοείται σε χαμηλές τιμές pH αλλά και παρουσία υπεριώδους φωτός, άλατος, μεταλλικών στοιχείων και ιδιαίτερα του χαλκού, καθώς και παρουσία αερόβιων βακτηρίων. Ο ρόλος του άλατος είναι διττός καθώς μειώνει τόσο την ρυθμιστική ικανότητα του κρέατος όσο και την διαλυτότητα του οξυγόνου. Σε υψηλές θερμοκρασίες και χαμηλό pH το πρωτεϊνικό τμήμα του μορίου μετουσιώνεται, αφήνοντας έτσι απροστάτευτο το δακτύλιο της αίμης να υποστεί ταχεία οξείδωση. Η σταθερότητα του χρώματος της μυοσφαιρίνης του κρέατος μπορεί να βελτιωθεί με την προσθήκη αντιοξειδωτικών, όπως π.χ. το ασκορβικό οξύ, η βιταμίνη E και η βουτυρυλο-υδροξυ-ανισόλη [BHA; $p\text{-HO-C}_6\text{H}_3\text{R-OCH}_3$ όπου $\text{R} = -\text{C}(\text{CH}_3)$]. Οι ενώσεις αυτές καθυστερούν την οξείδωση των λιπιδίων του κρέατος καθώς και την οξείδωση της μυοσφαιρίνης. Σήμερα, μια από τις πλέον διαδεδομένες τεχνικές συσκευασίας του κρέατος που βελτιώνει όχι μόνο την σταθερότητα των χρωστικών του αλλά ταυτόχρονα και το μικροβιακό του φορτίο είναι η συσκευασία κάτω από τροποποιημένες ατμόσφαιρες (Modified Atmosphere Packaging).

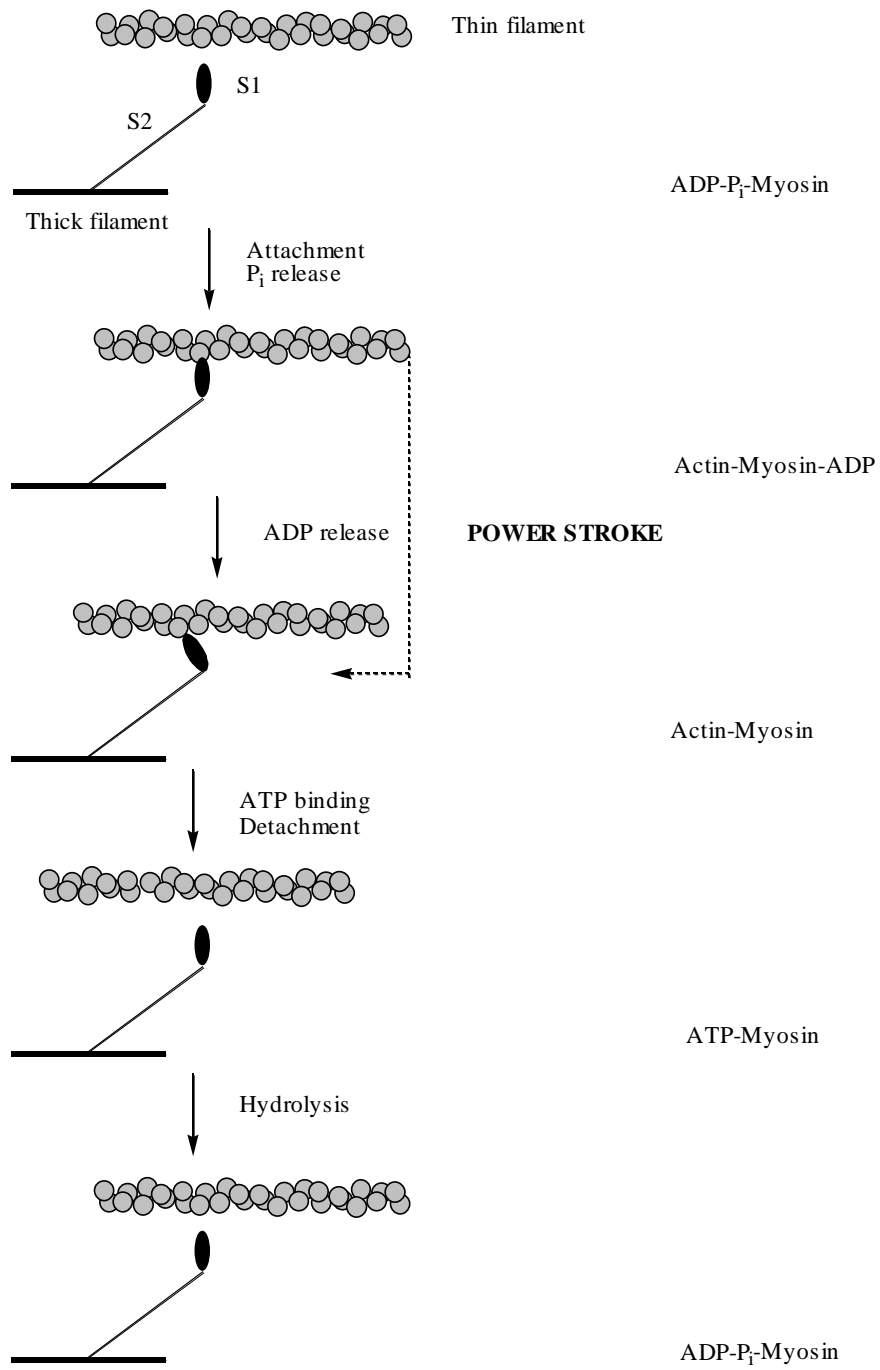
Κατά την επεξεργασία του κρέατος με νιτρώδη και νιτρικά άλατα (π.χ αλιπάσωση) λαμβάνουν χώρα αντιδράσεις, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το σταθερό ροζ χρώμα των

προϊόντων του κρέατος. Αρχικά αντιδρά το μονοξείδιο του αζώτου (NO) με την μυοσφαιρίνη (Mb) και παράγεται η νιτροζυλο-μυοσφαιρίνη (MbNO₂), η οποία έχει φωτεινό κόκκινο χρώμα, το οποίο όμως είναι ασταθές. Με την θέρμανση του προϊόντος το πρωτεϊνικό κομμάτι της μυοσφαιρίνης μετουσιώνεται και σχηματίζεται η νιτροζυλο-αιμοχρωμίνη, η οποία είναι ένωση χημικά σταθερή και έχει το επιθυμητό ροζ χρώμα. Απουσία οξυγόνου το σύμπλοκο μυοσφαιρίνης και μονοξειδίου του αζώτου είναι σχετικά σταθερό. Παρ' όλ' αυτά, ιδιαίτερα κάτω από αερόβιες συνθήκες, είναι ευαίσθητο στο φως. Η προσθήκη όμως αναγωγικών αντιδραστηρίων, όπως π.χ. ασκορβικού οξέος ή σουλφυδρυλικών ενώσεων, ευνοεί την αναγωγή των νιτροδών σε μονοξείδιο του αζώτου. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται ο ταχύτερος σχηματισμός της νιτροζυλο-μυοσφαιρίνης (MbNO₂). Η μετα-μυοσφαιρίνη (MMb) μπορεί να υποστεί την ίδια σειρά αντιδράσεων, με την προϋπόθεση όμως ότι θα μετατραπεί πρώτα σε μυοσφαιρίνη με την βοήθεια αναγωγικών αντιδραστηρίων. Παρουσία όμως περισσεύσεων νιτροδών αλάτων, η μετα-μυοσφαιρίνη μετατρέπεται απ' ευθείας σε νιτροδο-μυοσφαιρίνη (NMb), η οποία με θέρμανση και απουσία οξυγόνου μετατρέπεται στην πράσινη χρωστική νιτροδο-αιμίνη. Η εμφάνιση της χρωστικής αυτής είναι ανεπιθύμητη και το πρόβλημα αυτό ονομάζεται «νιτροδές κάψιμο».

Εκτός της μυοσφαιρίνης υπάρχουν και άλλες χρωστικές, οι οποίες συμβάλλουν στην διαμόρφωση του χρώματος στο κρέας. Τα τελευταία χρόνια μελετάται ο ρόλος των κυτοχρωμάτων, τα οποία είναι μεταλλοπρωτεΐνες που διαθέτουν αιμικό σίδηρο. Ο ρόλος τους φαίνεται να είναι σημαντικός στα κοτόπουλα, ειδικότερα όταν αυτά έχουν υποστεί στρες πριν την σφαγή. Τα καροτένια, τα οποία τα ζώα και τα ψάρια προσλαμβάνουν από την τροφή τους (π.χ. χόρτο, δημητριακά, ζωοπλαγκτόν, φύκη), συμβάλλουν επίσης στο χρώμα των μυϊκών κυττάρων. Αν και στο βόειο κρέας η περίσσεια καροτενοειδών χρωστικών μπορεί να υποβαθμίσει την ποιότητα του κρέατος, το αντίθετο συμβαίνει στο κρέας από κοτόπουλα, καθώς το κίτρινο χρώμα σχετίζεται από τον καταναλωτή με κοτόπουλα που έχουν μεγαλώσει στην φάρμα (home-reared).

7. Η συστολή μυός

Η συστολή του μυός περιλαμβάνει χημικές αντιδράσεις μεταξύ των παχέων και των λεπτών νημάτων, οι οποίες τα οδηγούν να ολισθήσουν τα μεν πάνω στα δε. Κατά την συστολή, το μήκος των παχέων και λεπτών νημάτων δεν μεταβάλλεται, όπως δεν μεταβάλλεται και το μήκος της A-ζώνης. Αντίθετα, το μήκος της I- και της H-ζώνης, καθώς και το μήκος του σαρκομερούς μειώνονται. Η δύναμη της συστολής του μυός παράγεται από μια κυκλική εναλλαγή σχηματισμού και διάστασης του συμπλόκου μυοσίνης-ακτίνης (ακτομυοσίνη), χρονικής διάρκειας 50 msec. Επαναλαμβανόμενοι κύκλοι πρόσδεσης των δύο μορίων, ολίσθησης και τελικά απομάκρυνσης τους λαμβάνουν χώρα κατά την διάρκεια μιας και μόνο συστολής. Η διαδικασία περιγράφεται στο Σχήμα 10.



Σχήμα 10. Ο μηχανισμός αλληλοεπίδρασης μυοσίνης-ακτίνης κατά την συστολή του μυός

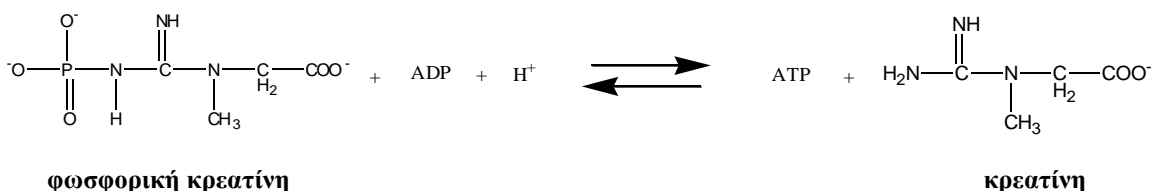
Η συστολή του μυός λαμβάνει χώρα όταν αυτός διεγείρεται από ηλεκτρικό σήμα του νευρικού συστήματος, το οποίο αποπολώνει την κυτταρική μεμβράνη της μυϊκής ίνας (σαρκόλημμα). Το ερέθισμα (αποπόλωση) μεταφέρεται στο εσωτερικό της μυϊκής ίνας, η οποία λόγω δομής (T, tubule system, αναδιπλώσεις του σαρκόλημματος προς το εσωτερικό του κυττάρου) αντιδρά πλέον ακαριαία και ως σύνολο. Πιο συγκεκριμένα, η αποπόλωση μεταφέρεται μέσω του πρωτεϊνικού καναλιού της διυδροπυριδίνης στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, το οποίο είναι πλούσιο σε ασβέστιο και ταυτόχρονα περιβάλλει ως «κολλάρο» το σύστημα των παχέων και λεπτών νημάτων. Το πρωτεϊνικό κανάλι της διυδροπυριδίνης ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνικών καναλιών ασβεστίου. Το ασβέστιο ελευθερώνεται από το σαρκοπλασματικό δίκτυο μέσω ενός άλλου πρωτεϊνικού καναλιού ασβεστίου, αυτού της ρυαδονίνης. Το αποτέλεσμα είναι η αύξηση της σαρκοπλασματικής συγκέντρωσης του ασβεστίου από 0.1 σε 10 μM . Το ασβέστιο δένεται στην τροπονίνη C. Πριν την άφιξη του νευρικού ερεθίσματος (κατάσταση ηρεμίας) το ασβέστιο καταλαμβάνει μόνο τις θέσεις υψηλής συγγένειας της τροπονίνης C που βρίσκονται στο C-άκρο της. Με την απελευθέρωση ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο λόγω της έλευσης του νευρικού ερεθίσματος, το πλεονάζον ασβέστιο καταλαμβάνει και τις θέσεις χαμηλής συγγένειας που βρίσκονται στο N-άκρο της τροπονίνης C. Αυτό οδηγεί σε δομικές μεταβολές στο μόριο της τροπονίνης C και ως εκ τούτου συνολικά στο σύμπλοκο τροπονίνης - τροπομυοσίνης - ακτίνης, με αποτέλεσμα η τροπομυοσίνη να μετακινηθεί μέσα στην κοιλότητα της έλικας της F-ακτίνης. Με τον τρόπο αυτό τα λεπτά νήματα ενεργοποιούνται / κινητοποιούνται (turned on) και μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα παχέα νήματα.

Σε ό,τι αφορά την μυοσίνη, όταν ο μυς ηρεμεί η κεφαλή S1 της μυοσίνης, η οποία φέρει τις δύο ελαφρές αλυσίδες (DTNB και αλκαλικές υπομονάδες), δεν αγγίζει τα λεπτά νήματα (ακτίνη), ενώ το ADP και η φωσφορική ομάδα P_i είναι ομοιοπολικά δεμένα στο μόριο της μυοσίνης. Με την άφιξη του νευρικού ερεθίσματος στον μυ και την μαζική εκροή ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο, η κεφαλή S1 της μυοσίνης προσεγγίζει και ακουμπά τα μόρια της ακτίνης των λεπτών νημάτων. Η φωσφορική ομάδα P_i απομακρύνεται από το σύμπλοκο “ακτίνη - μυοσίνη - ADP - P_i ”, ενώ ταυτόχρονα η κεφαλή S1 αλλάζει δομή και προσανατολισμό σε σχέση με την ακτίνη. Η αλλαγή αυτή προκαλεί την μυϊκή συστολή με αποτέλεσμα τα λεπτά νήματα να «ολισθήσουν» κατά 75 Å. Η απομάκρυνση του ADP στο τέλος της διαδρομής και η επακόλουθη πρόσδεση ενός νέου μορίου ATP στην μυοσίνη αναστρέφουν τις δομικές μεταβολές της κεφαλής S1 με αποτέλεσμα την απομάκρυνση της S1 από την ακτίνη των λεπτών νημάτων. Τέλος, το ATP που δέθηκε στην μυοσίνη υδrolύεται από αυτήν προς ADP και την φωσφορική ομάδα P_i και με τον τρόπο αυτό ξεκινά ένας νέος κύκλος. Η ουσία λοιπόν όλης της διαδικασίας είναι η κυκλική εναλλαγή στην διαμόρφωση της κεφαλής S1 της μυοσίνης και της ικανότητας της να δεσμεύει τόσο την ακτίνη όσο και το ATP, το τελευταίο με μεγαλύτερη συγγένεια.

Η ηρεμία του μυός προϋποθέτει απενεργοποίηση (turning off) των λεπτών νημάτων. Αυτό επιτυγχάνεται με την μείωση της συγκέντρωσης του σαρκοπλασματικού ασβεστίου από 10 σε 0.1 μM και απαιτεί την ενεργή μεταφορά του ασβεστίου πίσω στο σαρκοπλασματικό δίκτυο. Η αντλία του ασβεστίου που αναλαμβάνει αυτό το έργο είναι μια σαρκοπλασματική πρωτεΐνη M.B. 100 kDa. Ένα μόριο ATP και δύο ιόντα ασβεστίου ενώνονται με την αντλία ασβεστίου. Μέσω δομικών μεταβολών της αντλίας ασβεστίου και με την υδρόλυση του ATP το ασβέστιο μεταφέρεται πίσω στο σαρκοπλασματικό δίκτυο και ενώνεται με την καλσικεστρίνη, την πρωτεΐνη που είναι υπεύθυνη για την αποθήκευση του. Είναι προφανές λοιπόν ότι η υδρόλυση ATP δεν είναι απαραίτητη μόνο για την συστολή του μυός, αλλά χρειάζεται και για την αποκατάσταση της ηρεμίας του μυός.

Στους λείους μύες, οι οποίοι βρίσκονται σε διάφορα όργανα, όπως τα τοιχώματα του στομάχου, των εντέρων και των αιμοφόρων αγγείων, η τροπονίνη και η τροπομυοσίνη δεν παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στην συστολή του μυός. Στην περίπτωση των λείων μυών η αλληλοεπίδραση μυοσίνης – ακτίνης γίνεται μόνον όταν οι ελαφρές αλυσίδες της μυοσίνης φωσφορυλιωθούν. Συγκεκριμένα, υπό τον ορμονικό έλεγχο της επινεφρίνης (αδρεναλίνης), ενεργοποιείται η αδενυλοκυκλάση με αποτέλεσμα τον σχηματισμό κυκλικού-AMP (c-AMP) από ATP. Το c-AMP διεγείρει την έκκριση Ca^{++} από το σαρκοπλασματικό δίκτυο, το οποίο συμπλοκοποιείται με μια ειδική πρωτεΐνη, τη καλμοδουλίνη (M.B. 17 kDa). Το σύμπλοκο αυτό ενεργοποιεί την κινάση των ελαφρών αλυσίδων της μυοσίνης (MLCK, myosin light chain kinase), η οποία με την σειρά της ενεργοποιεί, μέσω φωσφορυλίωσης, τις ελαφρές αλυσίδες της μυσοσίνης με αποτέλεσμα αυτές την αλληλοεπιδράσουν με την ακτίνη.

Το διαθέσιμο ATP στους μύες εν ηρεμία ανέρχεται στα 4-5 mM και επαρκεί για να υποστηρίξει ενεργειακά την συστολή του μυός για λιγότερο από 1 sec. Σε περιπτώσεις λοιπόν απότομης ή έντονης κίνησης, το ATP εξαντλείται πριν προλάβουν να ενεργοποιηθούν για την αναπλήρωση του μεταβολικά μονοπάτια, όπως π.χ. η γλυκόλυση, η β -οξείδωση των λιπαρών οξέων και ο κύκλος του Krebs. Στις καταστάσεις αυτές, το ATP αναπληρώνεται προσωρινά από την υδρόλυση της φωσφορικής κρεατίνης, της οποίας η συγκέντρωση στους μύες ανέρχεται στα 20-25 mM.



Η κρεατίνη είναι ένα μικρό μόριο που συντίθεται στο ήπαρ με πρόδρομη ένωση το αμινοξύ γλυκίνη. Ακολούθως μεταφέρεται μέσω του κυκλοφοριακού συστήματος στους σκελετικούς μύες και την καρδιά. Στα μιτοχόνδρια των μυϊκών κυττάρων φωσφορυλιώνεται με

την βοήθεια της κινάσης της κρεατίνης προς φωσφορική κρεατίνη. Η ελεύθερη ενέργεια της υδρόλυσης της κρεατίνης είναι -10.3 kcal/mol και άρα μεγαλύτερη από την ελεύθερη ενέργεια της υδρόλυσης του ATP (-7.3 kcal/mol). Το γεγονός αυτό καθιστά ενεργειακά δυνατή την μεταφορά μιας φωσφορικής ομάδας από το μόριο της φωσφορικής κρεατίνης στο μόριο του ADP και επομένως την παραγωγή ATP από την φωσφορική κρεατίνη.

Οι σκελετικοί μύες διακρίνονται στους αργούς (slow) και τους γρήγορους (fast). Τα κύτταρα των αργών μυών περιέχουν περισσότερη μυοσφαιρίνη, γι' αυτό και ονομάζονται κόκκινοι (red). Λόγω της πλεονάζουσας μυοσφαιρίνης μπορούν να δεσμεύουν περισσότερο οξυγόνο και να παράγουν ενέργεια (ATP) χωρίς ταυτόχρονη παραγωγή γαλακτικού οξέος (οξειδωτικός μεταβολισμός), υποστηρίζοντας έτσι κινήσεις και δραστηριότητες που απαιτούν αντοχή (π.χ. δρόμοι αντοχής). Αντίθετα, τα κύτταρα των γρήγορων μυών διαθέτουν λιγότερη μυοσφαιρίνη, γι' αυτό και ονομάζονται λευκοί μύες (white). Παράγουν ταχύτερα ενέργεια (ATP) αλλά ταυτόχρονα και γαλακτικό οξύ (γλυκολυτικός μεταβολισμός), υποστηρίζοντας έτσι κινήσεις και δραστηριότητες που απαιτούν ταχύτητα (π.χ. δρόμοι ταχύτητας).

8. Μεταθανάτιες βιοχημικές μεταβολές των μυών

Από την στιγμή που το ζώο ή το ψάρι πεθάνουν μέχρι να καταναλωθούν ως τρόφιμα λαμβάνει χώρα μια σειρά βιοχημικών μεταβολών. Η περίοδος αυτή μπορεί να διαιρεθεί σε τρεις κύριες φάσεις.

α) Στην πρώτη φάση, πριν την νεκρική ακαμψία (pre-rigor), ο μυς είναι ακόμα μαλακός, υπάρχει ακόμα ενεργή γλυκόλυση (αναερόβια) αλλά αρχίζει να παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης του ATP και της φωσφορικής κρεατίνης. Η μείωση του ATP οφείλεται αφ' ενός μεν στην μικρότερη παραγωγή ATP από την αναερόβια γλυκόλυση σε σχέση με την αερόβια, αφ' ετέρου δε στην δράση ATP-ασών, οι οποίες ενεργοποιούνται από την ανεξέλεγκτη εκροή ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο. Η μεταθανάτια αναερόβια γλυκόλυση παράγει γαλακτικό οξύ που συμβάλλει στην πτώση του pH, αν και αυτή οφείλεται σε μεγάλο βαθμό και στην απελευθέρωση φωσφορικών ιόντων από την υδρόλυση του ATP. Η πτώση του pH εξαρτάται από το είδος του μυός, το είδος του ζώου, καθώς και την φυσική κατάσταση του ζώου πριν την σφαγή.

β) Στην δεύτερη φάση, της νεκρικής ακαμψίας (rigor mortis), το κρέας σκληραίνει και γίνεται άκαμπτο καθώς πέφτει το pH, ενώ λόγω της ελλείψης ATP δεν μπορεί να διασπασθεί το σύμπλοκο της ακτομυοσίνης. Η εξέλιξη αυτή είναι αρχικά αργή, αλλά γίνεται με πολύ μεγαλύτερη ταχύτητα αργότερα. Στα ζώα η φάση της νεκρικής ακαμψίας ξεκινά 1-12 h μετά το θάνατο του ζώου και διαρκεί 15-20 h, ανάλογα με το είδος του ζώου. Στα ψαριά η νεκρική ακαμψία ξεκινά 1-7 h μετά τον θάνατο και διαρκεί λιγότερο. Η φάση αυτή είναι πιο κρίσιμη στην περίπτωση των ψαριών, καθώς η ακαμψία στα ψάρια θεωρείται ένδειξη καλής ποιότητας

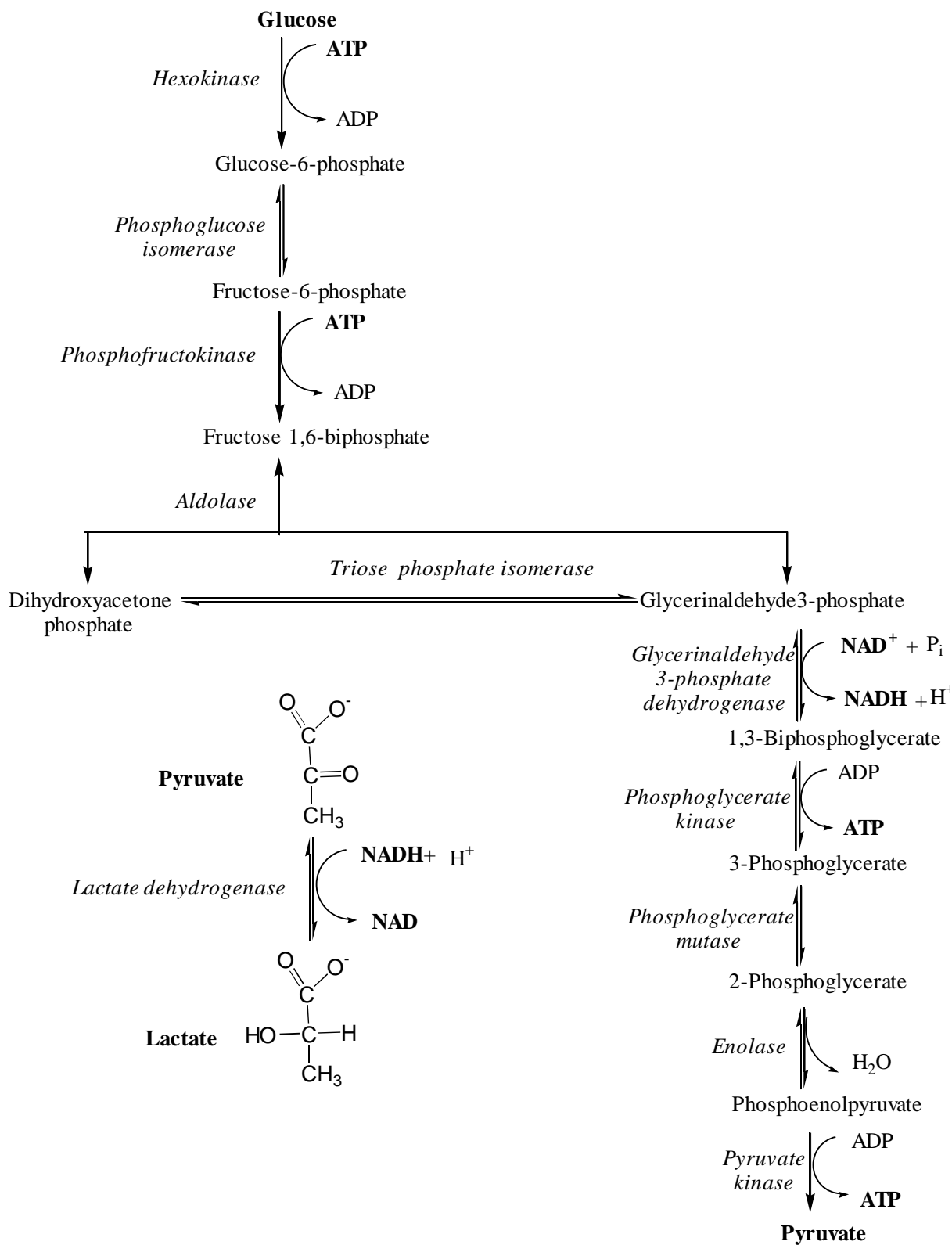
για το φρέσκο ψάρι, από την άλλη όμως αποτελεί μειονέκτημα στην περίπτωση παρασκευής φιλέτων, καθώς η επεξεργασία τότε γίνεται πιο δύσκολη.

γ) Στην τρίτη φάση, μετά την νεκρική ακαμψία (post-rigor), οι μύες σταδιακά μαλακώνουν και γίνονται οργανοληπτικά αποδεκτοί. Στα ζώα ο χρόνος αυτός είναι περίπου 2-3 βδομάδες στους 2 °C.

Όταν το ζώο είναι ακόμα εν ζωή, οι μύες οφείλουν να διατηρούν το ATP σε φυσιολογικά επίπεδα. Αυτό επιτυγχάνεται με την οξείδωση αποθηκευτικών μορίων και συγκεκριμένα των υδατανθράκων και των λιπών. Μέσω της γλυκόλυσης, της β-οξείδωσης των λιπαρών οξέων, του κύκλου του Krebs και της αναπνευστικής αλυσίδας οι μύες εξασφαλίζουν την παραγωγή ενέργειας. Σε περιπτώσεις όμως έντονης μυϊκής δραστηριότητας, το οξυγόνο δεν επαρκεί για την πλήρη οξείδωση των αποθηκευτικών μορίων μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας. Στην περίπτωση αυτή οι μύες καταφεύγουν στην αναερόβια γλυκόλυση (Σχήμα 11) που οδηγεί στην παραγωγή και συσσώρευση γαλακτικού οξέος. Κατά την αναερόβια γλυκόλυση η παραγωγή ATP είναι σημαντικά χαμηλότερη (2 mole ATP ανά mole γλυκόζης) από την αντίστοιχη της αερόβιας γλυκόλυσης (30 mole ATP ανά mole γλυκόζης).

Οι αντιδράσεις της αναερόβιας γλυκόλυσης έχουν ιδιαίτερη σημασία στην περίπτωση του κρέατος, καθώς λαμβάνουν χώρα μετά τον θάνατο του ζώου και επηρεάζουν την τελική ποιότητα του κρέατος. Μετά τον θάνατο του ζώου, οι μυϊκοί ιστοί χαρακτηρίζονται ως «νεκροί», σε αντίθεση με τα φρούτα και λαχανικά, τα οποία ακόμη και μετά την απομάκρυνση τους από το μητρικό φυτό μπορούν να χαρακτηρισθούν ως «ζωντανά». Αυτό έχει να κάνει με την διαφορετική μορφολογία και φυσιολογία των ζωικών κυττάρων από τα φυτικά, καθώς επίσης και με το γεγονός ότι η φυσιολογική λειτουργία των ζωικών κυττάρων εξαρτάται πλήρως από το κυκλοφοριακό σύστημα. Μετά τον θάνατο του ζώου η κυκλοφορία του αίματος σταματά και οι μύες παύουν να τροφοδοτούνται με οξυγόνο.

Αμέσως μετά τον θάνατο του ζώου απενεργοποιείται ο μηχανισμός μεταφοράς ηλεκτρονίων και η οξειδωτική φωσφορυλίωση, και ξεκινά η αναερόβια γλυκόλυση και επομένως μειώνεται δραματικά η παραγωγή ATP. Η συγκέντρωση του ATP μειώνεται επίσης και λόγω της δράσης διαφόρων ATP-ασών, κυρίως των μεμβρανικών συστημάτων του κυττάρου αλλά και της μυοσίνης. Μερική αναπλήρωση του ATP επιτυγχάνεται με την μετατροπή της φωσφορικής κρεατίνης σε κρεατίνη και την μεταφορά της φωσφορικής της ομάδας στο ADP. Και η φωσφορική κρεατίνη όμως εξαντλείται σχετικά γρήγορα και η μερική αναπλήρωση του ATP γίνεται μόνο μέσω της αναερόβιας γλυκόλυσης. Κάποια στιγμή και η αναερόβια γλυκόλυση σταματά λόγω της εξάντλησης του υποστρώματος (γλυκογόνο, γλυκόζη), αλλά και λόγω της πτώσης του pH, που προκαλείται από την παραγωγή γαλακτικού οξέος και την υδρόλυση του ATP. Η συγκέντρωση του γλυκογόνου σε στήθος κοτόπουλου μειώνεται από 9.4 mg/g που είναι μετά την σφαγή σε 0.2 mg/g μετά από 24 h. Η πτώση του pH οδηγεί στην παρεμπόδιση κρίσιμων ενζύμων του μονοπατιού της γλυκόλυσης και ιδιαίτερα της φωσφοφρουκτοκινάσης. Καθώς η γλυκόλυση υποχωρεί, η συγκέντρωση του ATP μειώνεται



Σχῆμα 11. Το μονοπάτι της γλυκόλυσης και η αναγωγή του πυροσταφυλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ

μέχρι πλήρους εξαφάνισης σε 24-48 h, ανάλογα με το είδος του ζώου και τις συνθήκες συντήρησης.

Η εξάντληση του ATP σημαίνει ότι δεν είναι δυνατή καμία πλέον βιοσυνθετική διεργασία ενώ ταυτόχρονα το κύτταρο είναι ανίκανο να διατηρήσει την ακεραιότητά του, κυρίως σε ό,τι αφορά τα συστήματα των κυτταρικών μεμβρανών. Για τα μυϊκά κύτταρα όμως υπάρχει και ένα ιδιαίτερο αποτέλεσμα. Όπως προαναφέρθηκε, το ATP είναι απαραίτητο τόσο για την συστολή του μυός, όσο και για την επαναφορά του στην κατάσταση ηρεμίας. Απουσία λοιπόν ATP, το σύμπλοκο μυοσίνης-ακτίνης δεν μπορεί πλέον να διασπασθεί και ο μυς χάνει την ελαστικότητά του και μεταπίπτει στην λεγόμενη νεκρική ακαμψία. Η συνολική σκληρότητα του κρέατος είναι το αποτέλεσμα την ανταγωνιστικής τάσης / ακαμψίας των διαφόρων μυών.

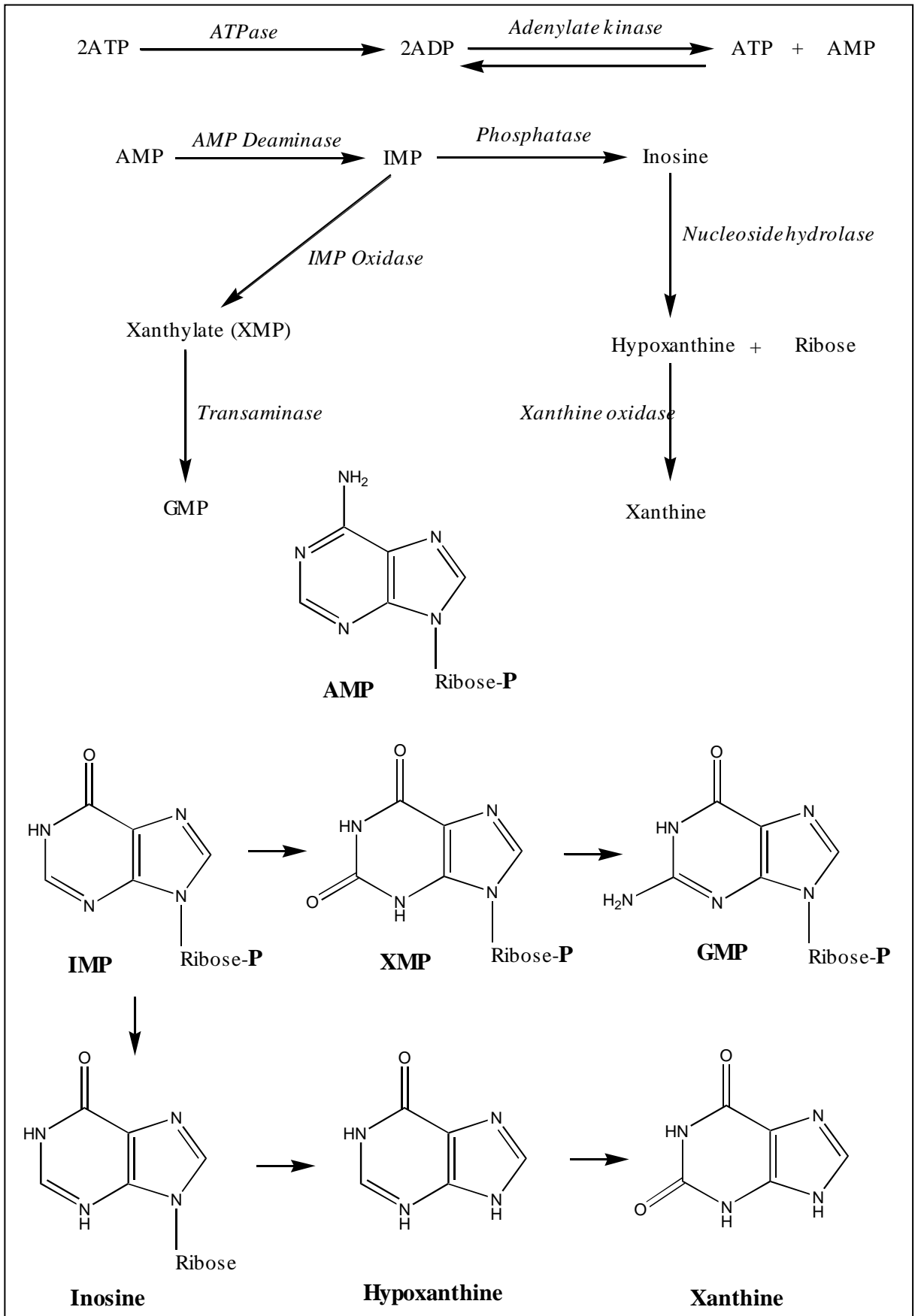
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, μετά τον θάνατο του ζώου η συγκέντρωση του ATP μειώνεται λόγω της δράσης διαφόρων ATP-ασών, κυρίως των μεμβρανικών συστημάτων του κυττάρου αλλά και της ίδιας της μυοσίνης. Ως αποτέλεσμα, το ATP βαθμιαία μετατρέπεται σε άλλα νουκλεοτίδια, ριβόζη και πουρίνες (Σχήμα 12). Το ATP υδρολύεται αρχικά σε ADP, και αυτό εν συνεχεία μετατρέπεται σε AMP. Το AMP με απαμίνωση μετατρέπεται σε IMP (ινοσινικό οξύ), το οποίο αποφωσφορυλιώνεται προς ινοσίνη. Η ινοσίνη μπορεί να διασπασθεί σε ριβόζη και υποξανθίνη, η οποία με την σειρά της μπορεί να οξειδωθεί προς ξανθίνη. Παράλληλα, το IMP μπορεί να οξειδωθεί προς XMP (ξανθυλικό οξύ), το οποίο με τρανσαμίνωση μετατρέπεται τελικά σε GMP (γουανυλικό οξύ).

Τα νουκλεοτίδια IMP και GMP, τα οποία έχουν την ριβόζη φωσφορυλιωμένη στην θέση 5 και την πουρίνη υδροξυλιωμένη στην θέση 6, συμβάλλουν θετικά στην διαμόρφωση της γεύσης του κρέατος. Αντίθετα, η υποξανθίνη έχει πικρή γεύση και είναι υπεύθυνη για την δυσάρεστη γεύση στα αποθηκευμένα ψάρια. Το ίδιο μπορεί να συμβεί και με κονσερβοποιημένο βόειο κρέας, το οποίο έχει ακτινοβοληθεί χωρίς προηγουμένως να έχει υποστεί θερμική επεξεργασία, η οποία θα προκαλούσε απενεργοποίηση των ενζύμων που ευθύνονται για τον σχηματισμό της ξανθίνης. Η παραγωγή του IMP από το ATP (μέσω του ADP και του AMP) είναι ταχεία, η παραγωγή της ινοσίνης γίνεται με μικρότερη ταχύτητα, ενώ τέλος η μετατροπή της ινοσίνης σε υποξανθίνη είναι πολύ αργή. Μετρώντας λοιπόν τις συγκεντρώσεις των προϊόντων αυτών σε μια δεδομένη χρονική στιγμή έχουμε μια ένδειξη της ηλικίας και του βαθμού αλλοίωσης του κρέατος. Πιο συγκεκριμένα, και ιδιαίτερα στην περίπτωση των ψαριών, έχει προταθεί ο λόγος K ως δείκτης ποιότητας.

$$(ινοσίνη + υποξανθίνη + ξανθίνη) \times 100$$

$$K = \frac{\quad}{\quad}$$

$$ATP + ADP + AMP + IMP + ινοσίνη + υποξανθίνη + ξανθίνη$$



Σχήμα 12. Η αποικοδόμηση του ATP στο μεταθανάτιο μύ

Η μεταθανάτια πτώση του pH έχει τεράστια σημασία για την ποιότητα του κρέατος, καθώς επηρεάζει την δομή, την ικανότητα κατακράτησης νερού, το χρώμα και την ανθεκτικότητα του σε μικροοργανισμούς. Ο ρυθμός μείωσης και η τελική τιμή του pH εξαρτώνται από το είδος του ζώου και το είδος του μυός και επομένως από το μεταβολικό ρυθμό και την ρυθμιστική ικανότητα του μυός. Γενικά, οι λευκοί μύες περιέχουν αυξημένες ποσότητες σερίνης και καρνοσίνης (β-αλάνυλο-1-ιστιδίνη), αμινοξέα τα οποία δρουν ρυθμιστικά μέσα στο κύτταρο. Αμέσως μετά την σφαγή, το ζώο έχει μια θερμοκρασία 37-39 °C. Ακόμα και κατά την διάρκεια της διαδικασίας ψύξης που ακολουθεί, το κρέας ψύχεται αργά καθώς συνεχίζουν να λαμβάνουν χώρα εξώθερμες αντιδράσεις, όπως η αναερόβια γλυκόλυση. Στην φάση αυτή, ο συνδυασμός της υψηλής θερμοκρασίας και του χαμηλού pH, έτσι όπως αυτό διαμορφώνεται από την μεταθανάτια γλυκόλυση, τόσο οι συσταλτές όσο και οι σαρκοπλασματικές πρωτεΐνες του κρέατος μετουσιώνονται γρήγορα. Η μετουσίωση οδηγεί σε αλλαγή χρώματος των πρωτεϊνών και μείωση της ικανότητας δέσμευσης νερού.

Στα θηλαστικά, το pH από την φυσιολογική του αρχική τιμή 7.2-7.4 φτάνει στην τελική τιμή 5.5-5.7 που αντιστοιχεί σε 100 mM γαλακτικού οξέος. Στο γενικά αποδεκτό καλής ποιότητας κρέας (RFN, red-firm-normal), η τελική τιμή pH 5.5-5.7 επιτυγχάνεται όταν το κρέας προέρχεται από ξεκούραστο ζώο, με καλή διατροφή και χειρισμό πριν την σφαγή, όταν δηλαδή τα επίπεδα του γλυκογόνου είναι στο μέγιστο. Στην περίπτωση που το ζώο έχει υποστεί πριν την σφαγή έντονη σωματική καταπόνηση ή νηστεία και επομένως τα αποθέματα γλυκογόνου είναι ελάχιστα, το τελικό pH φτάνει μόλις στο 6.0-6.5 που αντιστοιχεί σε περίπου 40 mM γαλακτικού οξέος. Το κρέας στην περίπτωση αυτή είναι σκούρο, στεγνό, ευαίσθητο σε μικροοργανισμούς και αναφέρεται ως DFD (dark-firm-dry). Λόγω της έλλειψης ATP όμως τρυφεροποιείται πιο γρήγορα από το κανονικό κρέας. Άλλες φορές συναντάμε κρέας με pH χαμηλότερο του 5.3. Στις περιπτώσεις αυτές το κρέας παρουσιάζει ασπριδερό χρώμα και χαλαρή δομή (pale-soft-exudative, PSE), καθώς οι περισσότερες πρωτεΐνες του κρέατος έχουν το ισοηλεκτρικό τους σημείο (pI) γύρω στο 5.0-5.1, και άρα μειωμένη ικανότητα δέσμευσης νερού. Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται κυρίως στο χοιρινό κρέας, όταν ο φόβος του ζώου πριν την σφαγή (PSS, porcine stress syndrome) οδηγεί σε ταχύ καταβολισμό του γλυκογόνου πριν την σφαγή και άρα απότομη πτώση του pH.

Προκειμένου να επιτύχουμε την βέλτιστη ποιότητα κρέατος, το κρέας αμέσως μετά την σφαγή και πριν την έναρξη της φάσης της νεκρικής ακαμψίας πρέπει να διατηρείται στους 15-16°C για 24-48 ώρες. Με την εφαρμογή ηλεκτρικού ρεύματος (electrical stimulation) στο σφάγιο επιτυγχάνεται η ελεγχόμενη επιτάχυνση της μεταθανάτιας αναερόβιας γλυκόλυσης και άρα η μείωση του χρόνου συντήρησης του κρέατος σ' αυτή την θερμοκρασία. Εν συνεχεία, απομακρύνονται τα οστά και το κρέας αφήνεται να ωριμάσει μέχρι και 14 ημέρες. Εναλλακτικά, ο διαχωρισμός των πιο σημαντικών τμημάτων του κρέατος από τα οστά μπορεί να γίνει 1-2 h μετά την σφαγή (hot boning). Το κρέας συσκευάζεται κατάλληλα σε πλαστικά υλικά για να ελαχιστοποιηθεί η νεκρική ακαμψία. Αν το κρέας ψυχθεί μεταξύ 0 και 15°C

αμέσως μετά την σφαγή, πριν ακόμη αρχίσει η φάση της νεκρικής ακαμψίας και όταν το pH είναι $> 6.0-6.4$ ενώ ταυτόχρονα υπάρχει αρκετό διαθέσιμο ATP, τότε ο μυς συρρικνώνεται και το τελικό προϊόν θα είναι λιγότερο τρυφερό (cold shortening). Βιοχημικά αυτό συμβαίνει διότι η απότομη μείωση της θερμοκρασίας μειώνει την ικανότητα του σαρκοπλασματικού δικτύου να συγκρατήσει το ασβέστιο που περιέχει. Έτσι το ασβέστιο ελευθερώνεται ανεξέλεγκτα στο σαρκόπλασμα και παρουσία του διαθέσιμου ακόμη ATP ενεργοποιεί την συστολή των μυϊκών νημάτων. Η συρρίκνωση αλλά και η σκλήρυνση του κρέατος γίνονται ακόμη πιο έντονες όταν το κρέας καταψυχθεί ($< 0^{\circ}\text{C}$) αμέσως μετά την σφαγή (thaw rigor). Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται συχνότερα στο κρέας από μοσχάρι ή πρόβατο και είναι πιο έντονο στο άπαχο κρέας σε σχέση με το κρέας που έχει υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος. Τέλος, μειωμένη τρυφεροποίηση παρατηρείται και όταν το κρέας συντηρηθεί αμέσως μετά την σφαγή σε θερμοκρασίες $> 15^{\circ}\text{C}$, καθώς λόγω της θερμοκρασίας επιταχύνονται τόσο η αναερόβια γλυκόλυση όσο και η μεταθανάτια αποικοδόμηση του ATP (heat rigor).

Το τελικό pH στα ψάρια είναι γενικά υψηλότερο από αυτό των θηλαστικών και επηρεάζεται από την εποχή του έτους καθώς η σύσταση της τροφής τους αλλάζει ανάλογα με την εποχή. Χαμηλότερο τελικό pH παρατηρείται στα ψάρια που ψαρεύονται στις αρχές του καλοκαιριού όταν μετά από μια περίοδο σχετικής ασιτίας ακολουθεί περίοδος πλούσιας διατροφής. Το χαμηλό pH έχει ως αποτέλεσμα το άνοιγμα των μυοτομών στο σώμα του ψαριού (gaping). Το πρόβλημα αυτό γίνεται πιο έντονο όταν το ψάρι καταψυχθεί. Πρέπει να σημειωθεί ότι το τελικό pH στα ψάρια δεν σχετίζεται με την καταπόνηση που υφίσταται το ψάρι κατά το ψάρεμα. Εάν μεν το ψάρι καταπονηθεί κατά το ψάρεμα παράγεται γαλακτικό οξύ, το οποίο όμως διαχέεται πολύ αργά μέσω της κυτταρικής μεμβράνης και επομένως αρκεί για να διαμορφώσει το μεταθανάτιο pH. Όταν το ψάρι συλληφθεί χωρίς ιδιαίτερη καταπόνηση τότε η πτώση του pH θα προέλθει από την μεταθανάτια γλυκόλυση, η οποία θα παράγει τόσο ATP όσο και γαλακτικό οξύ και το τελικό αποτέλεσμα είναι το ίδιο.

Όπως προαναφέρθηκε, την φάση της νεκρικής ακαμψίας (rigor mortis) ακολουθεί η φάση κατά την οποία οι μύες σταδιακά μαλακώνουν και γίνονται οργανοληπτικά αποδεκτοί (post-rigor). Η διαδικασία της τρυφεροποίησης είναι εξαιρετικά σημαντική για την δομή και τις οργανοληπτικές ιδιότητες του κρέατος και έχει μελετηθεί διεξοδικά. Η τρυφεροποίηση του κρέατος αποδίδεται κυρίως στην έλλειψη βιολογικής ρύθμισης των πρωτεϊνών, οι οποίες ήταν υπεύθυνες για την ανακύκλωση των πρωτεϊνών στα ζωντανά μυϊκά κύτταρα. Σήμερα δεχόμαστε ότι στην φάση μετά την νεκρική ακαμψία (post-rigor), οι πρωτεΐνες αυτές υδρολύουν τις συσταλτές πρωτεΐνες των μυϊκών κυττάρων, εξασθενώντας έτσι την δομή των μυϊκών νημάτων και του συμπλόκου της ακτομυοσίνης, με τελικό αποτέλεσμα την τρυφεροποίηση. Οι πρωτεΐνες του κρέατος περιλαμβάνουν τα ενδογενή ένζυμα των μυϊκών κυττάρων, αλλά και τα ένζυμα των ινωδοβλαστών, των ερυθρών αιμοσφαιρίων, καθώς και τα βακτηριακά ένζυμα. Η ενεργότητα των ενζύμων αυτών στον μεταθανάτιο μυ εξαρτάται από την ποσότητα του ενζύμου, από την παρουσία παρεμποδιστών και ενεργοποιητών, από την

παρουσία των απαραίτητων συνενζύμων και βέβαια από το pH. Οι διαφορές στην ενεργότητα των ενζύμων καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό και τις διαφορές που παρατηρούνται στην ταχύτητα τρυφεροποίησης του κρέατος διαφόρων ζώων. Μεγαλύτερες ταχύτητες απαντώνται στα κοτόπουλα, τα οποία ακολουθούνται από τους χοίρους, το πρόβατο και τελευταία την αγελάδα.

Οι κύριες ενδογενείς πρωτεΐνες των μυϊκών κυττάρων διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τις **καθεψίνες** και τις **καλπαΐνες**. Οι **καθεψίνες** βρίσκονται στα λυσοσώματα των μυϊκών κυττάρων, δρουν σε όξινο pH και σύμφωνα με τα υπάρχοντα πειραματικά δεδομένα φαίνεται ότι υδρολύουν κυρίως την μυοσίνη και την ακτίνη. Οι πλέον μελετημένες είναι η καθεψίνη B (pH 3.5-6.0), η καθεψίνη H (pH 6.0), η καθεψίνη L (pH 5.0), και η καθεψίνη D (pH 3.0-5.0). Είναι όλες μικρού μοριακού βάρους πρωτεΐνες (20-40 kDa) με αποτέλεσμα να εισχωρούν εύκολα μέσα στα μυϊκά νήματα και να αναλαμβάνουν δράση. Η δράση τους ρυθμίζεται από ενδογενείς παρεμποδιστές, τις λεγόμενες κυστατίνες, με πιο καλά μελετημένη την κυστατίνη C στα κοτόπουλα.

Οι **καλπαΐνες** είναι ουδέτερες πρωτεΐνες κυστεΐνης που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών κυττάρων, κοντά στον Z-δίσκο. Είναι διμερή μοριακού βάρους 110 kDa, αποτελούμενα από μια καταλυτική υπομονάδα 80 kDa και μια υπομονάδα 30 kDa άγνωστης λειτουργίας. Εμφανίζουν μέγιστη δραστικότητα σε pH 7.5, η οποία μειώνεται σημαντικά σε pH < 6.0. Ενεργοποιούνται παρουσία ασβεστίου και θεωρούνται υπεύθυνες κυρίως για την αποικοδόμηση των πρωτεϊνών του Z-δίσκου, αλλά και της τιτίνης, της νεβουλίνης, της τροπομυοσίνης και της τροπονίνης T και I. Ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά σε σκελετικούς μύες λαγού, αλλά σήμερα γνωρίζουμε ότι είναι μια πολύ διαδεδομένη κατηγορία πρωτεϊνών που απαντάται σε όλους τους μύες. Μέχρι στιγμής, έχουν περιγραφεί δύο τύποι, η καλπαΐνη I (μ-καλπαΐνη) που ενεργοποιείται παρουσία 50-70 μM Ca^{++} , και η καλπαΐνη II (m-καλπαΐνη) που ενεργοποιείται παρουσία 1-5 mM Ca^{++} . Η σταθερότητα της καλπαΐνης I στον μεταθανάτιο μυ είναι μικρή καθώς αυτολύεται, ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες και παρουσία του ασβεστίου που απελευθερώνεται από το σαρκοπλασματικό δίκτυο. Η καλπαΐνη II αντίθετα είναι πιο σταθερή διατηρώντας την ενεργότητα της για 2-3 εβδομάδες μετά την σφαγή του ζώου. Η καλπαστατίνη, μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους 50-172 kDa, δρα ως αντιστρεπτός συναγωνιστικός παρεμποδιστής των καλπαϊνών και ρυθμίζει την δράση τους μέσω μιας αλληλοεπίδρασης που εξαρτάται από την παρουσία ασβεστίου. Αυτό λαμβάνει χώρα για μερικές μόνο ημέρες καθώς η καλπαστατίνη σταδιακά αυτολύεται. Υψηλότερη συγκέντρωση ή ενεργότητα καλπαστατίνης συνεπάγεται μικρότερη αποικοδόμηση των μυϊκών νημάτων.

Γενικά είναι αποδεκτό ότι οι καλπαΐνες παίζουν σημαντικότερο ρόλο από τις καθεψίνες στην μεταθανάτια τρυφεροποίηση του κρέατος. Πέραν των δύο αυτών κύριων κατηγοριών πρωτεϊνών, οι μύες διαθέτουν ενδογενείς τρι-πεπτιδάσες, δι-πεπτιδάσες, αμινο-πεπτιδάσες και καρβοξυ-πεπτιδάσες, οι οποίες συνεχίζουν το έργο των καθεψινών και καλπαϊνών παράγοντας πεπτίδια και αμινοξέα, τα οποία παίζουν ρόλο στην διαμόρφωση των

οργανοληπτικών ιδιοτήτων του κρέατος. Στα ψάρια έχουν εντοπισθεί πρωτεΐνες σερίνης, παρόμοιες με την θρυψίνη, οι οποίες προκαλούν ανεπιθύμητες υδρολύσεις. Τέλος, πρέπει να αναφερθεί ότι παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστος ο ρόλος του πρωτεοσώματος στην μεταθανάτια τρυφεροποίηση του κρέατος, αν και ο ρόλος του πολυκαταλυτικού αυτού συμπλόκου στην ανακύκλωση των πρωτεϊνών στο ζωντανό κύτταρο είναι καλά μελετημένος.

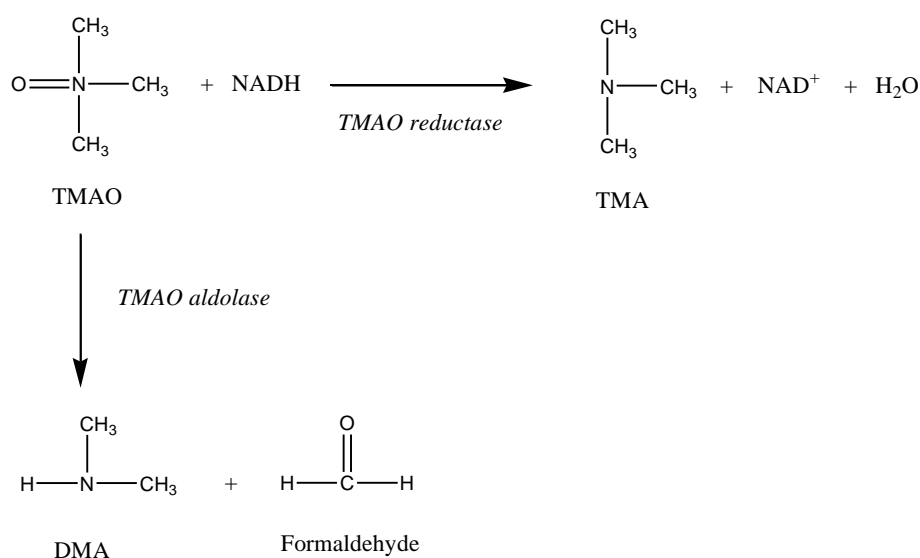
Η τρυφεροποίηση του κρέατος μπορεί επίσης να επιτευχθεί με την ρήξη του συνδετικού ιστού, είτε μηχανικά, είτε ενζυμικά, δηλαδή με την επίδραση εξωγενών πρωτεασών που συνήθως προέρχονται από μύκητες (*Aspergillus oryzae*) ή φυτά (παπαΐνη). Η θερμική μετατροπή του κολλαγόνου σε ζελατίνη αλλά και η δράση διαλύματος χλωριούχου νατρίου παρουσία οξικού οξέος (ξύδι, μαρινάρισμα) συμβάλλουν επίσης στην ρήξη του συνδετικού ιστού.

Τα προϊόντα της υδρόλυσης των πρωτεϊνών του κρέατος (πεπτίδια και ελεύθερα αμινοξέα) αποτελούν ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Τα βακτηριακά ένζυμα μπορούν να αποικοδομήσουν τα αμινοξέα σε αλδεϋδες, κετόνες, σουλφίδια, μερκαπτάνες και αμίνες. Ειδικότερα, οι αμίνες είναι αποτέλεσμα της αποκαρβοξυλίωσης των αμινοξέων. Η μικροβιακή μετατροπή των αμινοξέων σε αμίνες (π.χ. ιστιδίνη σε ισταμίνη και τυροσίνη σε τυραμίνη) αποτελεί ένα σοβαρό πρόβλημα στην περίπτωση των ψαριών, καθώς τα προϊόντα αυτά αφ' ενός μεν έχουν δυσάρεστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, αφ' ετέρου δε εμπλέκονται σε αλλεργικού τύπου τροφιμογενείς δηλητηριάσεις με κύρια συμπτώματα την ναυτία και τους πονοκεφάλους.

Τα θαλασσινά ψάρια και γενικότερα τα περισσότερα ζώα του θαλάσσιου περιβάλλοντος περιέχουν σημαντικές συγκεντρώσεις του οξειδίου της τριμεθυλοαμίνης (TMAO). Σε κάποια είδη η συγκέντρωση του TMAO στην υδατική φάση του μυϊκού ιστού μπορεί να υπερβαίνει το 0.1 M. Ο φυσιολογικός ρόλος του TMAO είναι η προστασία και σταθεροποίηση των κυττάρων έναντι της υψηλής ωσμωτικής πίεσης, δρα δηλαδή ωσμωπροστατευτικά. Στο νεκρό ψάρι, μικροοργανισμοί μπορούν να προκαλέσουν αναγωγή του TMAO σε τριμεθυλο-αμίνη (TMA), η οποία είναι υπεύθυνη για την έντονη μυρωδιά της «ψαρίλας». Το TMAO μπορεί επίσης να διασπασθεί σε διμεθυλο-αμίνη (DMA) και φορμαλδεϋδη, ιδιαίτερα σε ψάρια όπως ο μπακαλιάρος. Η ταχύτητα της αντίδρασης αυξάνει με την ψύξη του ψαριού και η παραγόμενη φορμαλδεϋδη συμβάλλει στην διασταύρωση (cross-linking) των μυϊκών πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την αύξηση της σκλήρυνσης που παρατηρείται στα ψάρια αυτά κατά την κατάψυξη (Σχήμα 13).

Μετά τον θάνατο του ζώου λαμβάνουν χώρα και μεταβολές που αφορούν στα λιπώδη συστατικά των μυϊκών κυττάρων. Οι μεταβολές αυτές έχουν μελετηθεί περισσότερο στα ψάρια παρά στα θερμόαιμα ζώα. Οι λόγοι είναι βασικά τρεις. Στην περίπτωση των ψαριών τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι ποσοτικά περισσότερα απ' ό,τι στα ζώα, και ως γνωστόν τα ακόρεστα λιπαρά οξέα είναι πιο ευαίσθητα στην οξειδωση. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα στα ψάρια επηρεάζουν περισσότερο τις συσταλτές πρωτεΐνες του ψαριού, καθώς οι τελευταίες είναι

πιο ευαίσθητες από ότι αυτές των ζώων. Τέλος, τα ψάρια κυκλοφορούν σε μεγάλο βαθμό σε καταψυγμένη μορφή και η κατάψυξη διευκολύνει την οξείδωση των λιπιδίων. Ο βαθμός της οξείδωσης εξαρτάται από την παρουσία ενώσεων που ευνοούν την οξείδωση, όπως π.χ. ο τρισθενής σιδηρός, αλλά και από τα ίδια τα λιπαρά οξέα του λίπους. Το ένζυμο λιποξυγενάση επιταχύνει την οξείδωση. Από την άλλη μεριά όμως το κρέας περιέχει και ενδογενή αντιοξειδωτικά συστατικά. Ενώσεις όπως η τοκοφερόλη, πεπτίδια που περιέχουν ιστιδίνη (π.χ. η καρνοσίνη), και ένζυμα, όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, παρεμποδίζουν την οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Αυτονόητα, και η προσθήκη εξωγενών αντιοξειδωτικών έχει το ίδιο αποτέλεσμα. Αν π.χ. στην τροφή μιας αγελάδας προστεθεί βιταμίνη Ε (οξική α-τοκοφερόλη), το κρέας που θα παραχθεί θα είναι πλούσιο σε αυτή την βιταμίνη και θα εμφανίσει μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στην οξείδωση των λιπιδίων.



Σχημα 13. Οι μεταβολές του TMAO στα ψάρια

9. Τα προϊόντα ζύμωσης του κρέατος

Η μετατροπή του ωμού κρέατος σε προϊόντα ζύμωσης είναι κυρίως αποτέλεσμα της ενζυμικής δράσης μικροοργανισμών. Δύο είναι οι κύριες ομάδες μικροοργανισμών που οδηγούν στην παρασκευή όχι μόνο γευστικών αλλά συγχρόνως ασφαλών και σταθερών προϊόντων. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια, και κυρίως οι γαλακτοβακίλλοι, και οι μικρόκοκκοι. Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των προϊόντων αυτών τα οξυγαλακτικά βακτήρια καταβολίζουν τα ελεύθερα σάκχαρα του κρέατος παράγοντας γαλακτικό οξύ και επομένως οδηγούν σε μείωση του pH, ενώ οι μικρόκοκκοι μετατρέπουν τα νιτρικά και νιτρώδη άλατα σε μονοξείδιο του αζώτου, το οποίο είναι κρίσιμης σημασίας για τον σχηματισμό του κόκκινου χρώματος, όπως εξηγήσαμε προηγουμένως. Η μείωση του pH επηρεάζει την αναγωγή των

νιτρικών και νιτρωδών αλάτων από τους μικρόκοκκους, ενώ παράλληλα οι μικρόκοκκοι παράγουν καταλάση, η οποία διασπά το H₂O₂ που παράγεται από τα οξυγαλακτικά και μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα στο χρώμα του προϊόντος.

Η παραγωγή προϊόντων ζύμωσης του κρέατος μπορεί να στηριχθεί στην παρουσία της αυτόχθονης χλωρίδας του κρέατος. Σήμερα όμως προκειμένου να εξασφαλισθεί η σταθερή ποιότητα αλλά και η ασφάλεια των προϊόντων χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες εναρκτήριες καλλιέργειες. Αυτές είναι συνήθως μίγματα οξυγαλακτικών βακτηρίων (*Lactobacillus*, *Pediococcus*), θετικών ως προς την καταλάση κόκκων (*Staphylococcus*, *Kocuria*, *Micrococcus*), ζυμών (*Debaryomyces*) και μυκήτων (*Penicillium*). Η συμβολή των μικροοργανισμών αυτών στις οργανοληπτικές ιδιότητες του προϊόντος έχει να κάνει με το γλυκολυτικό, πρωτεολυτικό και λιπολυτικό ενζυμικό τους σύστημα, τα οποία είναι υπεύθυνα για την παραγωγή οργανικών οξέων, π.χ. γαλακτικό και οξικό οξύ, αρωματικών ουσιών, π.χ. αλδεϋδών και κετονών, όπως το διακετύλιο και η ακετοΐνη, αλλά και βιογενών αμινών. Η 3-μεθυλο-βουτανάλη που προέρχεται από τον μεταβολισμό της λευκίνης, κυρίως από τους σταφυλόκοκκους και σε μικρότερο βαθμό από τους γαλακτοβακίλλους, θεωρείται από τα πιο σημαντικά συστατικά του αρώματος στα αλλαντικά. Οι ζύμες και οι μύκητες συμβάλλουν στην οξειδωτική απαμίνωση αμινοξέων προς αμμωνία και τα αντίστοιχα α-κετοξέα. Η παραγόμενη αμμωνία οδηγεί σε αύξηση του pH πράγμα που προσδίδει μια πιο ήπια γεύση στο προϊόν. Πέραν αυτών, το στρώμα που δημιουργούν στο εξωτερικό του προϊόντος οι ζύμες και οι μύκητες μειώνει την απώλεια νερού, εξασφαλίζει ομοιόμορφη αφυδάτωση και προστατεύει το προϊόν από την οξείδωση και την τάγγιση.

Σε προϊόντα μεγάλου χρόνου ζύμωσης παρατηρείται συχνά η συσσώρευση βιογενών αμινών, οι οποίες προέρχονται από την αποκαρβοξυλίωση ελεύθερων αμινοξέων που παράγονται από την πρωτεόλυση των πρωτεϊνών του κρέατος. Οι υπεύθυνες αποκαρβοξυλάσες είναι βακτηριακής προέλευσης. Τα *Enterobacteriaceae* εμπλέκονται στην παραγωγή πουτρεσκίνης, ισταμίνης και καδαβερίνης, και στελέχη του γένους *Pseudomonas* στην παραγωγή πουτρεσκίνης. Σε ό,τι αφορά τα οξυγαλακτικά βακτήρια στελεχή του γένους *Carnobacterium* αλλά και κάποια στελέχη των ειδών *Lactobacillus curvatus* και *Lactobacillus plantarum* που χρησιμοποιούνται ως εναρκτήριες καλλιέργειες παράγουν τυραμίνη. Παρόμοια δεδομένα υπάρχουν και για τους μικρόκοκκους και τους εντερόκοκκους. Οι βιογενείς αμίνες κάτω από φυσιολογικές συνθήκες αποικοδομούνται με την δράση των αντίστοιχων οξειδασών προς αλδεϋδες, αμμωνία και υπεροξείδιο του υδρογόνου. Τέτοιες οξειδάσες συναντάμε στα βακτήρια, τους μύκητες, τα φυτά, τα ζώα και τον άνθρωπο. Στον άνθρωπο, αν η πρόσληψη βιογενών αμινών είναι υψηλή ή αν λόγω κάποιας φαρμακευτικής αγωγής η δραστηριότητα των οξειδασών είναι χαμηλή, τότε δημιουργούνται προβλήματα υγείας, όπως αλλεργικού τύπου τροφιμογενείς δηλητηριάσεις με κύρια συμπτώματα την ναυτία και τους πονοκεφάλους, ενώ παράλληλα μπορούν να αντιδράσουν με τα νιτρώδη άλατα προς καρκινογόνες νιτροζαμίνες.

1. Εισαγωγή

Το γάλα είναι ένα υγρό, το οποίο εκκρίνεται από τους μαστούς των θηλυκών θηλαστικών, τα οποία ανέρχονται στα 4.500 περίπου διαφορετικά είδη στην φύση, προκειμένου να καλυφθούν οι διατροφικές ανάγκες των νεογνών του εκάστοτε είδους. Οι διατροφικές ανάγκες των νεογνών εξαρτώνται από το είδος του ζώου και μεταβάλλονται όσο τα νεογνά μεγαλώνουν. Δεν είναι περίεργο λοιπόν ότι η σύσταση του γάλακτος εμφανίζει μεγάλες διακυμάνσεις τόσο μεταξύ των ειδών, όσο και μέσα στο ίδιο είδος. Έτσι, οι συγκεντρώσεις του λίπους κυμαίνονται από 1 ως 50%, της πρωτεΐνης από 1 ως 20% και της λακτόζης από 0 ως 10%. Οι διαφορές μάλιστα ανάμεσα στα διαφορετικά είδη ως προς τα μικροστοιχεία του γάλακτος είναι ακόμη μεγαλύτερες των διαφορών ως προς τα συστατικά που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Η σύσταση του γάλακτος αφ' ενός μεταβάλλεται κατά την διάρκεια της γαλακτικής περιόδου, αντικατοπτρίζοντας τις αλλαγές στις διατροφικές απαιτήσεις των νεογνών, αφ' ετέρου επηρεάζεται σημαντικά από την φυσιολογική κατάσταση του ζώου, π.χ. αν το ζώο πάσχει από μαστίτιδα ή υφίσταται κάποιου είδους καταπόνηση.

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι από τις πιο σημαντικές πηγές ζωικών πρωτεϊνών, βιταμινών και απαραίτητων λιπαρών οξέων για παιδιά και ενήλικες. Η κύρια πηγή γάλακτος στον κόσμο είναι η αγελάδα (*Bos taurus*). Παράλληλα, σε πολλές περιοχές του κόσμου, ανάλογα με τις ιδιαίτερες κλιματικές συνθήκες ή και τις πολιτισμικές και θρησκευτικές παραδόσεις, χρησιμοποιείται γάλα και άλλων θηλαστικών όπως π.χ. των προβάτων, αιγών, βουβαλιών, καμήλων, φοράδων κλπ. Η παγκόσμια ετήσια παραγωγή γάλακτος ανέρχεται περίπου στους 900×10^6 τόννους (δεδομένα 2020). Από αυτούς, το 83% είναι αγελαδινό γάλα, το 13% βουβαλίσιο γάλα και ακολουθούν το αίγαιο (2.6) και το πρόβειο (1.2) γάλα.

Το γάλα είναι μια εξαιρετικά ευέλικτη πρώτη ύλη. Η ευελιξία του οφείλεται στις φυσικοχημικές του ιδιότητες, μερικές από τις οποίες είναι μοναδικές, και στα συστατικά του, τα κυριότερα από τα οποία απομονώνονται εύκολα επιτρέποντας έτσι την παραγωγή πολύ σημαντικών συστατικών τροφίμων. Το μεγαλύτερο μέρος του παραγόμενου γάλακτος καταναλώνεται στην υγρή του μορφή, ως πλήρες ή (μερικώς) αποβουτυρωμένο. Παράλληλα, το γάλα χρησιμοποιείται για την παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων, κυρίως τυριού, βουτύρου και γιαούρτης. Μικρότερες ποσότητες γάλακτος χρησιμοποιούνται για την παραγωγή προϊόντων, όπως είναι διάφοροι τύποι ζυμούμενου γάλακτος (fermented milks), η σκόνη γάλακτος (αποβουτυρωμένη και μη), το συμπυκνωμένο γάλα, λειτουργικές πρωτεΐνες γάλακτος, λακτόζη, γάλα για βρέφη κλπ.

Η παρασκευή του τυριού έχει τις ρίζες της χιλιάδες χρόνια πριν στις χώρες της Μεσοποταμίας και της Ανατολικής Μεσογείου. Ο Κύκλωπας της Ομηρικής Οδύσσειας θεωρείται ένας από τους πρώτους τυροκόμους στον Ελληνικό χώρο. Η τυροκομία εισήχθη στην Ευρώπη κατά τους Ρωμαϊκούς χρόνους και η παραγωγή γινόταν είτε σε μοναστήρια είτε σε

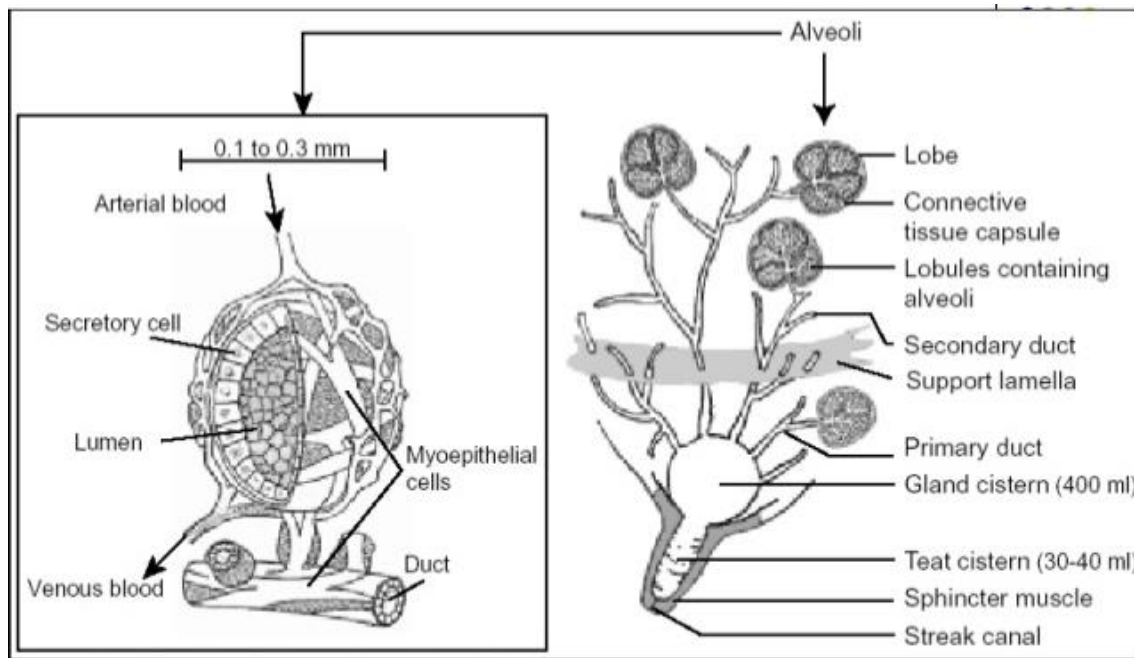
αγροκτήματα. Μόλις στα μέσα του 19^{ου} αιώνα άρχισε η βιομηχανική παρασκευή τυριού. Σήμερα, παράγονται παγκοσμίως περίπου 1.400 διαφορετικοί τύποι τυριών, οι οποίοι διαφέρουν κυρίως ως προς το είδος του γάλακτος, τις εναρκτήριες καλλιέργειες, την τεχνολογία παρασκευής και τον χρόνο ωρίμανσης.

Στο κεφαλαίο αυτό θα συζητηθεί η σύσταση και οι φυσικοχημικές ιδιότητες του (αγελαδινού) γάλακτος, η βιοσύνθεση και αποικοδόμηση των κύριων συστατικών του, καθώς και οι βιοχημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την παρασκευή τυριού.

2. Η βιοσύνθεση του γάλακτος

Ο μηρυκαστικός χαρακτήρας του πεπτικού συστήματος της αγελάδας επιτρέπει στο ζώο να συνθέσει θρεπτικές ουσίες χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη προϊόντα φυτικής προέλευσης (π.χ. κυτταρίνη, φυτικές ίνες) και απλές αζωτούχες ενώσεις (π.χ. ουρία). Χρησιμοποιώντας λοιπόν υλικά, τα οποία ο ανθρώπινος οργανισμός δεν είναι σε θέση να υδρολύσει στο πεπτικό του σύστημα και να αφομοιώσει, η αγελάδα παράγει το γάλα, ένα προϊόν υψηλής θρεπτικής αξίας για τον άνθρωπο. Η βιοσύνθεση του γάλακτος γίνεται στον μαστό του ζώου. Από αυτή την άποψη λοιπόν ο μαστός της αγελάδας είναι ένα εντυπωσιακό βιοσυνθετικό εργαλείο. Με μια μέση ετήσια παραγωγή 5.000 lit γάλακτος μια αγελάδα παράγει 10-12 kg φωσφορικού οξέος και 8-10 kg ασβεστίου.

Η οργάνωση του μαστού φαίνεται στο Σχήμα 1. Το μικρότερο πλήρες εργοστάσιο παραγωγής γάλακτος είναι το αδενικό λοβίο (alveolus). Το αδενικό λοβίο είναι ένα σχεδόν σφαιρικό οργανίδιο, το οποίο αποτελείται από ένα κεντρικό αποθηκευτικό χώρο, την αδενοκυψελίδα (lumen), η οποία περιβάλλεται από ένα μονό στρώμα εκκριτικών επιθηλιακών κυττάρων. Τα επί μέρους αδενικά λοβία συνδέονται μεταξύ τους με ένα σύστημα σωληνίσκων, τους γαλακτοφόρους πόρους (ducts). Τα εκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα είναι με τέτοιο τρόπο τοποθετημένα, ώστε το άνω άκρο τους (apical end) να εφάπτεται στην αδενοκυψελίδα, ενώ η βάση τους (basal end) στα αγγεία του κυκλοφοριακού και λεμφικού συστήματος, τα οποία τροφοδοτούν τα εκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα με τις πρώτες ύλες για την βιοσύνθεση του γάλακτος. Τέλος, τα εκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα καλύπτονται από ένα στρώμα συσταλών μυοεπιθηλιακών κυττάρων. Με την οργάνωση αυτή οι πρόδρομες ενώσεις για την βιοσύνθεση του γάλακτος μεταφέρονται από το κυκλοφοριακό σύστημα στα εκκριτικά επιθηλιακά κύτταρα, το γάλα που παράγεται μέσα σ' αυτά μεταφέρεται στην αδενοκυψελίδα και εκκρίνεται στο σύστημα των γαλακτοφόρων πόρων, οι οποίοι αυξάνουν σε μέγεθος όσο πλησιάζουν την θηλή του μαστού.



Σχήμα 1. Ο μαστικός αδένας της αγελάδας σε αυξανόμενες μεγεθύνσεις

Η βιοσύνθεση του γάλακτος λαμβάνει χώρα στο ενδοπλασματικό δίκτυο των επιθηλιακών κυττάρων ενώ η απαραίτητη ενέργεια εξασφαλίζεται μέσω του μηχανισμού της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης στα μιτοχόνδρια των εκκριτικών επιθηλιακών κυττάρων. Το ενδοπλασματικό δίκτυο των επιθηλιακών κυττάρων είναι προσανατολισμένο προς το κάτω άκρο (basal end) των κυττάρων, ενώ ταυτόχρονα οι μεμβράνες τους έχουν την ικανότητα να μετασχηματίζονται σε συσκευή Golgi, εκκριτικά κυστίδια και κυτταρική μεμβράνη. Θα μπορούσαμε να περιγράψουμε το ενδοπλασματικό δίκτυο ως ένα κυτταρικό σύστημα αντλιών, με εσωτερικές πηγές (cisternae) που αδειάζουν στην συσκευή Golgi. Μετά την βιοσύνθεση, τα παραγόμενα συστατικά του γάλακτος οργανώνονται σε εκκριτικά κυστίδια στην συσκευή Golgi (υδατοδιαλυτά συστατικά) και σε λιπιδίδια στο κυτταρόπλασμα (λιπαρά συστατικά), τα οποία μέσω του άνω άκρου των επιθηλιακών κυττάρων μεταφέρονται και αποθηκεύονται στην αδενοκυψελίδα. Όταν η οξυτοκίνη, μια ορμόνη που παράγεται στην υπόφυση και κυκλοφορεί στο αίμα, προσδεθεί πάνω στα μυοεπιθηλιακά κύτταρα, το αδενικό λοβίο συστέλλεται και ωθεί το γάλα από την αδενοκυψελίδα στο σύστημα των γαλακτοφόρων πόρων και τελικά προς την θηλή του μαστού.

Η βιοσύνθεση των πρωτεϊνών του γάλακτος γίνεται στα ριβοσωμάτια, τα οποία είναι συνδεδεμένα με το ενδοπλασματικό δίκτυο. Πρώτη ύλη για την βιοσύνθεση των πρωτεϊνών του γάλακτος είναι τα ελεύθερα αμινοξέα, τα οποία βρίσκονται στο αίμα του ζώου. Από το αίμα μεταφέρονται με σύστημα ενεργής μεταφοράς (κατανάλωση ενέργειας) μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα, δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης των επιθηλιακών κυττάρων από την περιοχή του κάτω άκρου. Στην περιοχή αυτή το ενδοπλασματικό δίκτυο καλύπτεται από ριβοσωμάτια, τα οποία καθιστούν την μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου τραχεία, και η βιοσύνθεση των

πρωτεϊνών είναι ταχεία. Όσο προχωράμε όμως δια μέσου του ενδοπλασματικού δικτύου προς το άνω άκρο των επιθηλιακών κυττάρων, τα αμινοξέα εξαντλούνται και η βιοσύνθεση των πρωτεϊνών επιβραδύνεται. Στην περιοχή αυτή η μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου γίνεται μαλακή και μετατρέπεται σε μεμβράνη της συσκευής Golgi.

Η βιοσύνθεση των πρωτεϊνών του γάλακτος γίνεται σύμφωνα με το γενικό σχήμα της μεταγραφής του DNA σε mRNA, και εν συνεχεία της μετάφρασης του mRNA σε πρωτεΐνη. Η πρωτεϊνική σύνθεση ολοκληρώνεται στο εσωτερικό της συσκευής Golgi, στην οποία λαμβάνει χώρα οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών (π.χ. γλυκοζυλίωση και φωσφορυλίωση) και εμφανίζονται για πρώτη φορά τα μικύλια της καζεΐνης. Όταν ολοκληρωθεί η βιοσύνθεση πρωτεϊνών, τα οργανίδια Golgi «τήκονται» με την κυτταρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων κοντά στο άνω άκρο και εκκρίνουν το περιεχόμενό τους στην αδενοκυψελίδα του αδενικού λοβίου.

Πρέπει να σημειωθεί ότι από τις πρωτεΐνες του γάλακτος μόνον οι καζεΐνες, η β-λακτογλοβουλίνη και η α-λακταλβουμίνη συντίθενται *de novo* στα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού. Η αλβουμίνη του ορού και οι ανοσοσφαιρίνες δε συντίθενται εκεί, υπάρχουν όμως εξειδικευμένοι υποδοχείς για τις πρωτεΐνες αυτές στην κυτταρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων κοντά στο κάτω άκρο τους. Η αλβουμίνη του ορού και οι ανοσοσφαιρίνες του αίματος του ζώου δεσμεύονται από τους υποδοχείς αυτούς και τα σύμπλοκα που σχηματίζονται οργανώνονται σε μεμβρανικά κυστίδια μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα και μεταφέρονται δια μέσου αυτών στην αδενοκυψελίδα του αδενικού λοβίου.

Η **βιοσύνθεση του λίπους του γάλακτος** γίνεται σε μεγάλο βαθμό στο ενδοπλασματικό δίκτυο των επιθηλιακών κυττάρων. Σε αντίθεση όμως με τις πρωτεΐνες και την λακτόζη, μετά την βιοσύνθεση, το λίπος κατευθύνεται προς το κυτταρόπλασμα όπου και οργανώνεται υπό μορφή λιποσφαιρίων. Τα λιποσφαίρια κατευθύνονται προς το άνω άκρο των επιθηλιακών κυττάρων, όπου περιβάλλονται από ένα στρώμα κυτταρικής μεμβράνης και υπό αυτή την μορφή μεταφέρονται στην αδενοκυψελίδα του αδενικού λοβίου (εξωκυττάρωση). Η παρουσία αυτής της μεμβράνης γύρω από τα λιποσφαίρια έχει σημαντικές συνέπειες για την συμπεριφορά του γάλακτος κατά τις διάφορες επεξεργασίες που υφίσταται.

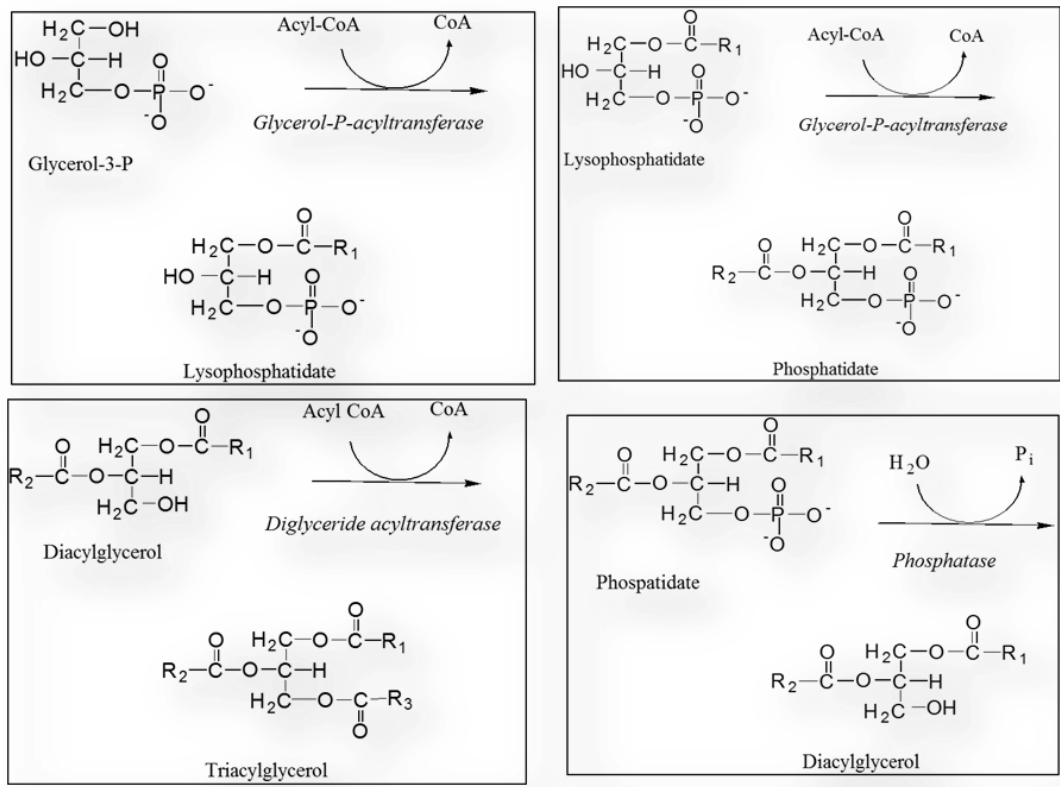
Σε ό,τι αφορά την βιοσύνθεση των επί μέρους λιπαρών οξέων του λίπους του γάλακτος υπάρχει σημαντική ετερογένεια. Τα ακόρεστα λιπαρά οξέα ελαϊκό (*cis*, 18:1), λινελαϊκό (*cis*, 18:2) και βακκενικό (*trans*, 18:2) είναι προϊόντα της υδρογόνωσης του λινολενικού οξέος (*cis*, 18:3) της τροφής του ζώου, η οποία λαμβάνει χώρα στην μεγάλη κοιλία των μηρυκαστικών. Ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώνεται τα τελευταία χρόνια στα παράγωγα του συζευγμένου λινελαϊκού οξέος (CLA, conjugated linoleic acid), και κυρίως στο 9-*cis*, 11-*trans*-δεκαοκταδιενικό οξύ, το οποίο θεωρείται ότι έχει ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου, όπως αντικαρκινική δράση, παρεμπόδιση σχηματισμού αθηρωματικής πλάκας, ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος κλπ.

Το βουτυρικό οξύ (C4) παράγεται από την αναγωγή του β-υδροξυ-βουτυρικού οξέος, το οποίο συντίθεται από τις διατητικές ίνες της τροφής του ζώου με την δράση των βακτηρίων της μεγάλης κοιλίας, και για τον λόγο αυτό η συγκέντρωση του παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις ανάλογα με την τροφή του ζώου. Όλα τα C6-C14 λιπαρά οξέα και το 50% του C16 συντίθενται *de novo* στους μαστούς του ζώου, ακολουθώντας το γνωστό σχήμα της βιοσύνθεσης λιπαρών οξέων (Πίνακας 1) με πρώτη ύλη μόρια ακέτυλο-CoA, τα οποία προέρχονται από μόρια οξικού οξέος που παράγονται στην μεγάλη κοιλία και μεταφέρονται μέσω του αίματος στους μαστούς των ζώων.

Πίνακας 1. Κύριες αντιδράσεις της βιοσύνθεσης των λιπαρών οξέων

	Αντίδραση	Ένζυμο
1	$\text{ακέτυλο-CoA} + \text{HCO}_3^- + \text{ATP} \rightarrow \text{μηλότυλο-CoA} + \text{ADP} + \text{P}_i + \text{H}^+$	<i>Καρβοξυλάση του ακέτυλο-CoA</i>
2	$\text{ακέτυλο-CoA} + \text{ACP} \leftrightarrow \text{ακέτυλο-ACP} + \text{CoA}$	<i>Ακετυλο-τρανσακυλάση</i>
3	$\text{μηλότυλο-CoA} + \text{ACP} \leftrightarrow \text{μηλότυλο-ACP} + \text{CoA}$	<i>Μηλοτυλο-τρανσακυλάση</i>
4	$\text{ακέτυλο-ACP} + \text{μηλότυλο-ACP} \rightarrow \text{ακετοακέτυλο-ACP} + \text{ACP} + \text{CO}_2$	<i>Ένζυμο συμπύκνωσης του ακυλο-μηλότυλο-ACP</i>
5	$\text{ακετοακέτυλο-ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{D-3-υδροξυ-βουτύρυλο-ACP} + \text{NADP}^+$	<i>Αναγωγή του β-κετο-άκυλο-ACP</i>
6	$\text{D-3-υδροξυ-βουτύρυλο-ACP} \leftrightarrow \text{κροτότυλο-ACP} + \text{H}_2\text{O}$	<i>Δεϋδρατάση του 3-υδροξυ-άκυλο-ACP</i>
7	$\text{κροτότυλο-ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{βουτύρυλο-ACP} + \text{NADP}^+$	<i>Αναγωγή του ενότυλο-ACP</i>

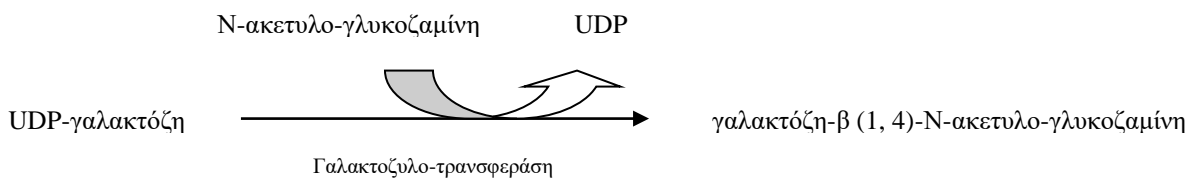
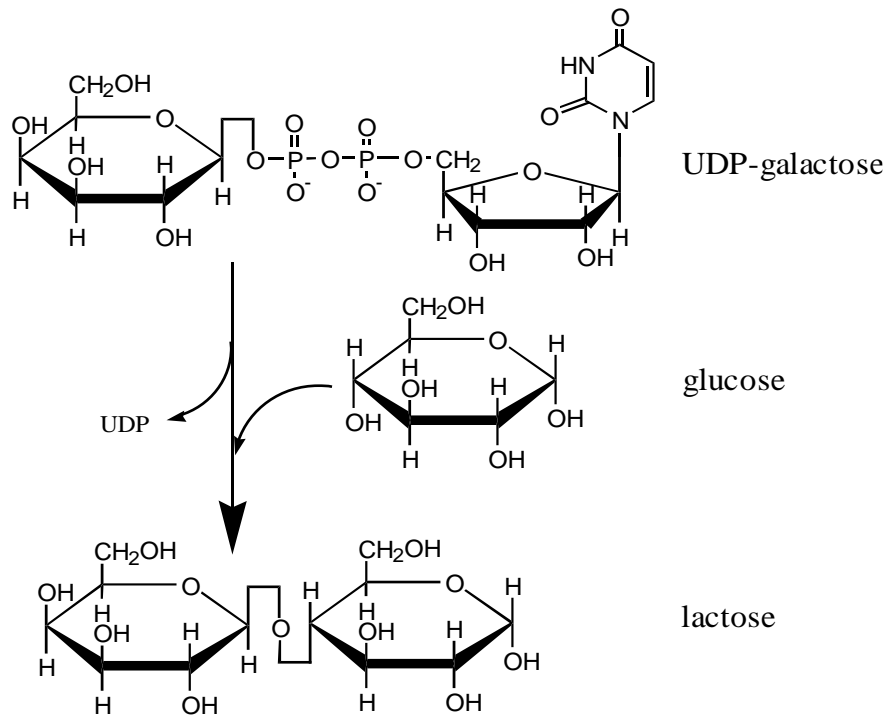
Το άλλο 50% του C16 και πρακτικά το 100% των C18, κορεσμένων ή ακόρεστων, λιπαρών οξέων προέρχονται απ' ευθείας από το λίπος της τροφής. Τα οξέα αυτά μεταφέρονται, υπό μορφή τριγλυκεριδίων, από το αίμα του ζώου στο γάλα, δια μέσου των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού. Η μεταφορά των τριγλυκεριδίων αυτών στα επιθηλιακά κύτταρα καταλύεται από την λιποπρωτεΐνη λιπάση, με την απο-λιποπρωτεΐνη C-II να λειτουργεί ως συνένζυμο. Το ένζυμο μέσω του αίματος προσεγγίζει τα επιθηλιακά κύτταρα και προσκολλάται στην κυτταρική τους μεμβράνη. Στο σημείο επαφής κυττάρου και αιμοφόρου αγγείου, η λιποπρωτεΐνη λιπάση υδρολύει τα τριγλυκερίδια που υπάρχουν στο αίμα του ζώου. Τα παραγόμενα λιπαρά οξέα διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων, εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα και μετατρέπονται πάλι σε τριγλυκερίδια. Η βιοσύνθεση των νέων τριγλυκεριδίων γίνεται σύμφωνα με το Σχήμα 2.



Σχήμα 2. Η βιοσύνθεση των τριγλυκεριδίων

Η **βιοσύνθεση της λακτόζης** λαμβάνει χώρα στην συσκευή Golgi. Όταν ολοκληρωθεί η βιοσύνθεση, τα οργανίδια Golgi «τήκονται» με την κυτταρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων κοντά στο άνω άκρο τους και εκκρίνουν την λακτόζη στην αδενοκυψελίδα του αδενικού λοβίου. Η βιοσύνθεση της λακτόζης καταλύεται από το ένζυμο συνθάση της λακτόζης. Με την βοήθεια της συνθάσης της λακτόζης, η UDP-γαλακτόζη μεταφέρει το μόριο της γαλακτόζης σε ένα μόριο γλυκόζης για να σχηματισθεί ένα μόριο λακτόζης και να ελευθερωθεί ένα μόριο UDP.

Το ένζυμο είναι τοποθετημένο στην μεμβράνη της συσκευής Golgi ενώ η γλυκόζη και η UDP-γαλακτόζη μεταφέρονται στην συσκευή Golgi από το κυτταρόπλασμα. Η συνθάση της λακτόζης αποτελείται από δύο υπομονάδες, μια καταλυτική υπομονάδα, την γαλακτοζυλο-τρανσφεράση, και μια ρυθμιστική υπομονάδα, την α-λακταλβουμίνη. Μόνο παρουσία της α-λακταλβουμίνης είναι δυνατή η σύνθεση της λακτόζης. Απουσία της α-λακταλβουμίνης, η γαλακτοζυλο-τρανσφεράση δεν μπορεί να συνθέσει λακτόζη. Στην περίπτωση αυτή η γαλακτοζυλο-τρανσφεράση καταλύει την μεταφορά της γαλακτόζης σε άλλα σάκχαρα, π.χ. σε μόρια N-ακετυλο-γλυκοζαμίνης γλυκοπρωτεϊνών.



Η συγκέντρωση της α-λακταλβουμίνης υπόκειται σε ορμονικό έλεγχο. Κατά την διάρκεια της κυοφορίας του ζώου, στον μαστό του ζώου παράγεται κανονικά η καταλυτική υπομονάδα της συνθάσης της λακτόζης (γαλακτοζυλο-τρανσφεράση), ενώ η ρυθμιστική υπομονάδα (α-λακταλβουμίνη) παράγεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Με την γέννηση του νεογνού αυξάνονται τα επίπεδα της ορμόνης προλακτίνης, η οποία διεγείρει την σύνθεση υψηλών συγκεντρώσεων της α-λακταλβουμίνης. Σε αυτή την φάση πλέον η α-λακταλβουμίνη ενώνεται με την γαλακτοζυλο-τρανσφεράση με αποτέλεσμα τον σχηματισμό της ενεργής συνθάσης της λακτόζης.

Οι ηλεκτρολύτες του γάλακτος μεταφέρονται από το αίμα του ζώου στα επιθηλιακά κύτταρα με ένα σύστημα αντλιών και καναλιών στην περιοχή του κάτω άκρου των επιθηλιακών κυττάρων. Οι συγκεντρώσεις νατρίου και καλίου στο γάλα μοιάζουν με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων. Επειδή όμως το γάλα είναι ισοτονικό προς το πλάσμα του αίματος αλλά ταυτόχρονα το σημαντικότερο κομμάτι της ωσμωτικής πίεσης του γάλακτος οφείλεται στην λακτόζη (περίπου το 50%), η πραγματική

συγκέντρωση των ηλεκτρολυτών του γάλακτος είναι χαμηλότερη από αυτή του αίματος ή του κυτταροπλάσματος των επιθηλιακών κυττάρων.

3. Η σύσταση του γάλακτος

Το (αγελαδινό) γάλα αποτελείται από νερό, λίπος, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία (Πίνακας 2). Είναι ένα προϊόν με μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό, σχεδόν ίση με αυτή των προϊόντων φυτικής προέλευσης, ταυτόχρονα όμως παρουσιάζει μια αξιοσημείωτη ποσοτική ισορροπία ως προς το λίπος, τις πρωτεΐνες και τους υδατάνθρακες. Η οργάνωση του μεγαλύτερου μέρους των πρωτεϊνών του γάλακτος (καζεΐνες) υπό μορφή μεγάλων σφαιρικών μικκυλίων και παράλληλα του λίπους υπό μορφή ακόμη μεγαλύτερων λιποσφαιρίων, συντελούν στην μείωση των κινητικών μονάδων μέσα στο γάλα, με αποτέλεσμα τόσο το ιξώδες όσο και η οσμωτική πίεση του γάλακτος να είναι βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα, πράγμα που δεν θα συνέβαινε αν δεν υπήρχαν αυτές οι οργανωμένες δομές μορίων. Το φρέσκο γάλα είναι ασθενώς όξινο με pH περίπου 6.6-6.7.

Το κανονικό γάλα συντίθεται σε υγιείς μαστούς. Στην αρχή της γαλακτικής περιόδου, μετά τον τοκετό, οι μαστοί εκκρίνουν το λεγόμενο πρωτόγαλα (colostrum), το οποίο είναι πλούσιο σε ανοσοσφαιρίνες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο για την διατροφή του νεογνού. Στην περίπτωση που το ζώο πάσχει από μαστίτιδα, η σύσταση του γάλακτος μεταβάλλεται και τείνει να ομοιάσει αυτήν του αίματος. Το γάλα αυτό είναι ακατάλληλο για οποιαδήποτε χρήση. Η σύσταση του γάλακτος επηρεάζεται κυρίως από το είδος του ζώου, την ηλικία του και την εποχή του έτους. Οι μεγαλύτερες διακυμάνσεις παρατηρούνται στην συγκέντρωση του λίπους. Παλαιότερα, η άξια του γάλακτος υπολογιζόταν με βάση την λιποπεριεκτικότητα του. Σήμερα όμως λαμβάνεται υπ' όψιν η περιεκτικότητα του γάλακτος σε πρωτεΐνη.

Πίνακας 2. Μέση σύσταση του αγελαδινού γάλακτος. Μέγεθος και αριθμός των μορίων και των υπερμοριακών δομών των κύριων συστατικών του γάλακτος

	Μέση σύσταση (%, w/w)	Μέγεθος (διάμετρος, nm)	Αριθμός / ml
Νερό	86.6		
Πρωτεΐνες	3.6		
- καζεΐνες		30-300 (μικκύλια)	10 ¹⁴
- ορρού		4-6 (μόρια)	10 ¹⁷
Λίπος	4.1	2000-6000 (λιποσφαίρια)	10 ¹⁰
Λακτόζη	5.0	0.5 (μόρια)	10 ¹⁹
Τέφρα	0.7		

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος είναι ένα ετερογενές μίγμα που αποτελείται από τις ανοικτής δομής καζεΐνες και τις σφαιρικής δομής πρωτεΐνες του ορρού (Πίνακας 3). Οι κυριότερες πρωτεΐνες του γάλακτος είναι οι καζεΐνες α_{s1} -, α_{s2} -, β -, και κ -, οι οποίες θα συζητηθούν εκτενέστερα παρακάτω, και οι πρωτεΐνες του ορρού β -λακτογλοβουλίνη (M.B. 18.4 kDa) και α -λακταλβουμίνη (M.B. 14.2 kDa). Οι πρωτεΐνες αυτές είναι οι μόνες που συντίθενται *de novo* στον μαστό του ζώου.

Πίνακας 3. Οι κύριες πρωτεΐνες του γάλακτος

Πρωτεΐνη	g/l	% ολικής πρωτεΐνης
<i>Καζεΐνες</i>	24-28	80
α_s -καζεΐνες	15-19	48
α_{s1}	12-15	38
α_{s2}	3-4	10
β -καζεΐνη	9-11	36
κ -καζεΐνη	3-4	12
γ -καζεΐνη	1-2	4
<i>Πρωτεΐνες του ορρού</i>	5-7	20
β -λακτογλοβουλίνη	2-4	9
α -λακταλβουμίνη	1-1.5	4
Πρωτεόζες-πεπτόνες	0.6-1.8	4
Πρωτεΐνες αίματος		
Πρωτεΐνη του ορρού	0.1-0.4	1
Ανοσοσφαιρίνες	0.6-1.0	1
<i>Σύνολο</i>		<i>100</i>

Στον ορρό υπάρχουν και άλλες πρωτεΐνες σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, όπως η αλβουμίνη του ορρού του αίματος και οι ανοσοπρωτεΐνες, οι οποίες μεταφέρονται ως έχουν από το αίμα του ζώου στο γάλα. Η αλβουμίνη του ορρού του αίματος με M.B. 66 kDa (BSA, bovine serum albumin) είναι υπεύθυνη για την μεταφορά των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο αίμα, αλλά η βιολογική της λειτουργία στο γάλα είναι άγνωστη, και λόγω της χαμηλής της συγκέντρωσης (1-2%) θεωρείται ότι δεν έχει τεχνολογική σημασία.

Σε ό,τι αφορά τις ανοσοπρωτεΐνες, η συγκέντρωσή τους στο πρωτόγαλα είναι υψηλή (περίπου 10%) αλλά μειώνεται σταδιακά 5 ημέρες μετά την γέννηση του νεογνού στο 0.1%. Η κύρια ανοσοπρωτεΐνη στα μηρυκαστικά είναι η IgG1 (M.B. 160 kDa), ακολουθούμενη από τις IgG2, IgA και IgM, ενώ στα μονογαστρικά ζώα (και άρα στον άνθρωπο) είναι η IgA (M.B. 320 kDa). Τα μηρυκαστικά δεν μεταφέρουν ανοσοπρωτεΐνες στο έμβρυο όσο αυτό βρίσκεται μέσα στην μήτρα, με αποτέλεσμα αυτό να γεννιέται χωρίς αντισώματα και επομένως να είναι

ευαίσθητο σε μολύνσεις και λοιμώξεις. Τις πρώτες ημέρες μετά την γέννηση του τροφοδοτείται με ανοσοπρωτεΐνες μέσω του πρωτογάλακτος και λίγες εβδομάδες μετά είναι σε θέση να συνθέσει τις δικές του. Αντίθετα στον άνθρωπο η μεταφορά ανοσοπρωτεϊνών γίνεται ήδη από το στάδιο που το έμβryo βρίσκεται στην μήτρα.

Το γάλα περιέχει επίσης αρκετές μεταλοπρωτεΐνες. Οι καζεΐνες (Ca, Mg) είναι ποσοτικά οι πιο σημαντικές. Άλλες είναι η α -λακταλβουμίνη (Ca), η οξειδάση της ξανθίνης (Fe, Mo), η αλκαλική φωσφατάση (Zn, Mg), η λακτοπεροξειδάση (Fe), η καταλάση (Fe), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Se), η σεροφερρίνη (Fe) και η λακτοφερρίνη (Fe). Η λακτοφερρίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που περιέχει μη αιμικό σίδηρο και απαντάται σε διάφορα υγρά του σώματος, όπως το σάλιο, τα δάκρυα, ο ιδρώτας και το σπέρμα. Της αποδίδονται πολλές βιολογικές δράσεις, όπως βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας του Fe, βακτηριοστατική δράση (καθιστώντας τον Fe μη διαθέσιμο για τα εντερικά βακτήρια), αντιοξειδωτική, αντιϊκή, αντικαρκινογόνος, αντιφλεγμονώδης και ανοσορυθμιστική. Το ανθρώπινο γάλα περιέχει πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις λακτοφερρίνης (αποτελεί το 20% περίπου του συνολικού N) από το αγελαδινό. Η υδρόλυση της λακτοφερρίνης με πεψίνη παράγει πεπτίδια, τις λεγόμενες λακτοφερρισίνες, οι οποίες έχουν ισχυρότερη βακτηριοστατική δράση από την ίδια την λακτοφερρίνη, και η δράση αυτή φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από τον σίδηρο.

Οι **καζεΐνες** αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών του γάλακτος (80%). Όλες οι καζεΐνες συνυπάρχουν με φωσφορικό ασβέστιο υπό την μορφή ενυδατωμένων σφαιρικών σωματιδίων, διαμέτρου 30-300 nm (κάποια μέχρι και 600 nm), τα οποία ονομάζονται μικκύλια. Τα καζεϊνικά μικκύλια μαζί με τα λιποσφαίρια του γάλακτος είναι υπεύθυνα για την σκέδαση του φωτός που οδηγεί στο λευκό του χρώμα. Οι καζεΐνες καταβυθίζονται σε pH 4.6 στους 20°C, ενώ κάτω από αυτές τις συνθήκες οι υπόλοιπες πρωτεΐνες παραμένουν στον ορρό εν διαλύσει. Τα κύρια κλάσματα της καζεΐνης είναι η α_{s1} -καζεΐνη, η α_{s2} -καζεΐνη, η β -καζεΐνη, και η κ -καζεΐνη, και αποτελούν το 38, 10, 36 και 12 % του συνόλου της καζεΐνης, αντίστοιχα. Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των καζεϊνών είναι η παρουσία στο μόριο τους φωσφορυλιωμένων ομάδων σερίνης καθώς και η σχετικά υψηλή περιεκτικότητά τους σε προλίνη. Λόγω του διαφορετικού βαθμού φωσφορυλίωσης, κάθε κλάσμα καζεΐνης έχει την δική του συμπεριφορά απέναντι στα ιόντα του ασβεστίου. Η υψηλή περιεκτικότητά σε προλίνη εμποδίζει την περιέλιξη των μορίων, με αποτέλεσμα αυτά, σε αντίθεση με τις πρωτεΐνες του ορρού, να αποκτούν ανοικτή δομή, εύκολα προσπελάσιμη σε πρωτεολυτικά ένζυμα.

Για κάθε κλάσμα καζεΐνης υπάρχουν οι λεγόμενες γενετικές παραλλαγές που οφείλονται στην αντικατάσταση συνήθως ενός, δύο ή ακόμα και περισσότερων αμινοξέων στο μόριο τους. Το φαινόμενο του γενετικού πολυμορφισμού έχει να κάνει με την φυλή του ζώου και το γένος του. Οι γενετικές παραλλαγές συμβολίζονται με κεφαλαία λατινικά γράμματα (π.χ. A, B, C, D). Αν οι διαφορές ανάμεσα στις γενετικές παραλλαγές οφείλονται σε διαφορετικού βαθμού φωσφορυλίωση, τότε ακολουθεί ένας αριθμός και το κεφαλαίο λατινικό γράμμα P. Με αυτόν

τρόπο αυτό η κύρια γενετική παραλλαγή Β της α_{s1} -καζεΐνης με οκτώ φωσφορυλιωμένα μόρια σερίνης συμβολίζεται ως α_{s1} -CN Β-8Ρ.

Η πρωτοταγής δομή όλων των κύριων πρωτεϊνών του γάλακτος έχει προσδιορισθεί, όπως επίσης και η τριτοταγής δομή των πρωτεϊνών του ορρού. Αν και η σχέση ανάμεσα στην δομή των πρωτεϊνών και την λειτουργικότητα τους στο τρόφιμο δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως, παρ' όλ' αυτά έχει γίνει σημαντική πρόοδος στον τομέα αυτό. Σε ό,τι αφορά τις καζεΐνες υπάρχει μια γενική εικόνα της δομής τους που στηρίζεται στην πρωτοταγή τους δομή και στα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά. Η πρωτοταγής τους δομή αποκαλύπτει την ύπαρξη διακριτών πολικών και υδρόφοβων περιοχών μέσα στο μόριο τους που καθιστά τα μόρια αμφίφιλα ή αμφιπαθή. Δεδομένα από αναλύσεις κυκλικού διχρωϊσμού (CD, Circular Dichroism) και φασματοσκοπίας Raman, όπως επίσης και προβλέψεις που στηρίζονται στην πρωτοταγή τους δομή, υποδεικνύουν ότι όλες οι καζεΐνες διαθέτουν ως ένα βαθμό δευτεροταγή δομή.

Στην πραγματικότητα έχουν προταθεί υπερ-δευτεροταγείς δομές, οι οποίες ερμηνεύουν ως ένα βαθμό τις αλληλοεπιδράσεις των καζεϊνών και τον σχηματισμό των καζεϊνικών μικκυλίων. Τέτοιες υπερ-δευτεροταγείς δομές είναι το μοτίβο β - α - β (δηλαδή β -πτωχωτή – α -έλικα – β -πτωχωτή) στην υδρόφοβη περιοχή της κ-καζεΐνης, το μοτίβο *στροφή* – α -έλικα – *στροφή* κοντά στην περιοχή του δεσμού Phe105 - Met106 της κ-καζεΐνης, και τέλος το μοτίβο α -έλικα – *φουρκέτα* – α -έλικα με την φουρκέτα να περιέχει τις ανιονικές περιοχές της α - και β -καζεΐνης. Πιστεύεται όμως ότι οι δομές αυτές είναι μάλλον οριακά σταθερές και αντικατοπτρίζουν την ευλυγισία των καζεϊνικών μορίων στο διάλυμα. Επί πλέον, οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες και η ευαισθησία τους σε πρωτεολυτικά ένζυμα υποδεικνύουν ότι η όποια τριτοταγής τους δομή είναι μάλλον ανοικτή και εύκαμπτη. Σε αυτό συμβάλλει αφ' ενός μεν η παρουσία της προλίνης που διακόπτει την δευτεροταγή δομή (α -έλικα) και ευνοεί τον σχηματισμό στροφών, αφ' ετέρου δε η χαμηλή περιεκτικότητα σε κυστεΐνη που δεν ευνοεί τον σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών.

Οι καζεΐνες έχουν την ιδιότητα να αλληλεπιδρούν με ιόντα ασβεστίου, γεγονός που διαμορφώνει σε μεγάλο βαθμό τις φυσιολογικές τους ιδιότητες αλλά και την διατροφική τους αξία. Λόγω της ιδιάζουσας πρωτοταγούς αλλά και δευτεροταγούς τους δομής οι καζεΐνες υφίστανται μετα-μεταφραστική φωσφορυλίωση σε μόρια σερίνης, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται έντονα ανιονικές περιοχές στο μόριο τους. Το φαινόμενο αυτό είναι πιο έντονο στις καζεΐνες α_{s1} -, η α_{s2} - και β -, οι οποίες φέρουν αντίστοιχα 8, 10-13 και 5 μόρια φωσφορυλιωμένης σερίνης. Αντίθετα, η κ-καζεΐνη περιέχει 1 μόνο μόριο φωσφορυλιωμένης σερίνης.

Η πρόσδεση του Ca^{2+} στις ανιονικές αυτές περιοχές έχει ως αποτέλεσμα την εξουδετέρωση του αρνητικού φορτίου της περιοχής και επομένως την μείωση της ικανότητας δέσμευσης νερού που οδηγεί στην ανατροπή της ισορροπίας ηλεκτροστατικών απώσεων και υδρόφοβων αλληλοεπιδράσεων υπέρ των τελευταίων. Έτσι εξηγείται γιατί οι καζεΐνες α_{s1} -, α_{s2} - και β - έχουν μειωμένη διαλυτότητα ακόμη και παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων Ca^{2+}

καταβυθίζονται παρουσία συγκεντρώσεων ασβεστίου > 6 mM, σε θερμοκρασίες > 20°C), ενώ αντίθετα η κ-καζεΐνη παραμένει εν διαλύσει, ακόμα και σε υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου. Πιστεύεται ότι οι αλληλουχίες των καζεϊνών α_{s1} - , α_{s2} - και β - προέρχονται από την εξέλιξη ενός κοινού προγονικού γονίδιου, ενώ η κ-καζεΐνη έχει τις ρίζες της σε διαφορετικό γονίδιο.

Η α_{s1} -καζεΐνη αποτελείται από 199 αμινοξέα, 17 από τα οποία είναι η προλίνη (8.4%), η οποία είναι ομοιόμορφα κατανεμημένη σε όλο το μόριο, με αποτέλεσμα να είναι δύσκολος ο σχηματισμός α -έλικας (δευτεροταγής δομή). Η περιοχή μεταξύ των αμινοξέων 41 και 80 περιέχει 8 φωσφορυλιωμένες ομάδες σερίνης (ανιονική περιοχή) και επομένως εμφανίζει υψηλό αρνητικό φορτίο (-20.6 σε pH 6.6), το οποίο αντιπροσωπεύει σχεδόν το συνολικό καθαρό φορτίο του μόριου (Πίνακας 4). Το υπόλοιπο μόριο έχει ελάχιστο καθαρό φορτίο και περιλαμβάνει τρεις πολύ υδρόφοβες περιοχές, τις 1-40, 90-110 και 130-199. Η α_{s1} -καζεΐνη είναι λοιπόν ένα αμφίφιλο μόριο, με υδρόφιλο και όξινο χαρακτήρα στο N-τελικό άκρο, και υδρόφοβο στο C-τελικό άκρο. Παρουσιάζει γενετικές παραλλαγές, όπως π.χ. τις A, B, C, D, E, F, G και H. Η κύρια γενετική παραλλαγή είναι η B (*Bos taurus*).

Πίνακας 4. Φορτίο και ισοηλεκτρικό σημείο των πρωτεϊνών του γάλακτος

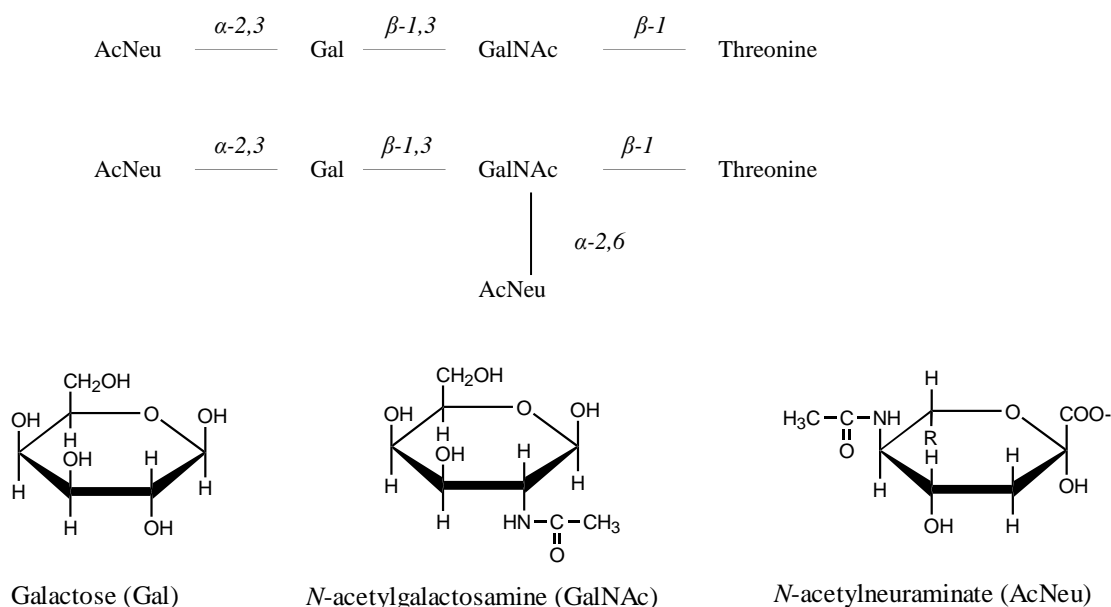
Πρωτεΐνη	Φορτίο σε pH 6.6	Ισοηλεκτρικό σημείο
α_{s1} -καζεΐνη B-8P	- 21.9	4.94
α_{s2} - καζεΐνη A-11P	- 13.8	5.37
β -καζεΐνη A ² -5P	- 13.3	5.14
κ-καζεΐνη B-1P	- 2.0	5.90
β -λακτογλοβουλίνη B	-10.0	5.34
α -λακταλβουμίνη B	- 2.6	4.80

Η α_{s2} -καζεΐνη με 207 αμινοξέα, μεταξύ αυτών 10 μόρια προλίνης (4.8%), είναι το πιο υδρόφιλο κλάσμα καζεΐνης, διότι περιέχει 10-13 φωσφορυλιωμένα μόρια σερίνης τοποθετημένα σε τρεις διακριτές περιοχές μέσα στο μόριο της, τις 8-16, 56-61 και 129-143 (ανιονικές περιοχές). Ως εκ τούτου, αν και διαθέτει συνολικά μικρότερο καθαρό φορτίο από την α_{s1} -καζεΐνη (Πίνακας 4), είναι πιο υδρόφιλη από αυτήν. Η αμινοτελική της περιοχή (68 αμινοξέα) έχει καθαρό αρνητικό φορτίο -21. Παράλληλα όμως διαθέτει μια ασθενώς υδρόφοβη περιοχή μεταξύ των αμινοξέων 90 και 120 και ένα πολύ υδρόφοβο καρβοξυτελικό άκρο (160-207), το οποίο όμως έχει σχετικά υψηλό θετικό φορτίο (+9.5). Έχουν αναφερθεί γενετικές παραλλαγές, όπως π.χ. οι A, B, C και D.

Η β -καζεΐνη αποτελείται από 209 αμινοξέα, 35 από τα οποία είναι προλίνη (16.7%). Όπως και στην α_{s1} -καζεΐνη, η προλίνη είναι διασκορπισμένη ομοιόμορφα σε όλο το μόριο με αποτέλεσμα να είναι δύσκολος ο σχηματισμός δομής α -έλικας. Είναι η πιο υδρόφοβη καζεΐνη. Το N-τελικό άκρο της (1-21) είναι ισχυρά αρνητικά φορτισμένο (-11.5), λόγω της παρουσίας 4

εκ των 5 μορίων φωσφορυλιωμένης σερίνης που διαθέτει (ανιονική περιοχή). Το υπόλοιπο όμως μόριο, και ιδιαίτερα το καρβοξυτελικό άκρο του, είναι υδρόφοβο. Έχουν αναφερθεί αρκετές γενετικές παραλλαγές, όπως π.χ. οι A¹, A², A³, B, C, D, E, F και G.

Η **γ-καζεΐνη** είναι προϊόν της υδρόλυσης του καρβοξυτελικού άκρου της β-καζεΐνης από την πλασμίνη, την ενδογενή πρωτεΐνάση του γάλακτος, η οποία μεταφέρεται στο γάλα από το αίμα του ζώου. Η υδρόλυση λαμβάνει χώρα πριν ή μετά την άμελξη και παράγει 6 πολυπεπίδια, μεταξύ των οποίων τα γ1, γ2 και γ3 που κλασματοποιούνται κατά την τυροκόμηση με το καζεϊνικό κλάσμα, καθώς και τις πρωτεόζες-πεπτόνες που κλασματοποιούνται κατά την τυροκόμηση με τον ορρό. Γενικότερα, οι καζεΐνες λόγω της ανοιχτής τους δομής και της υδροφοβίας τους αποτελούν εξαιρετικά υποστρώματα για πρωτεΐνάσες, είτε ενδογενείς του γάλακτος είτε μικροβιακές, οι οποίες αφήνουν ανέπαφες τις πρωτεΐνες του ορρού.

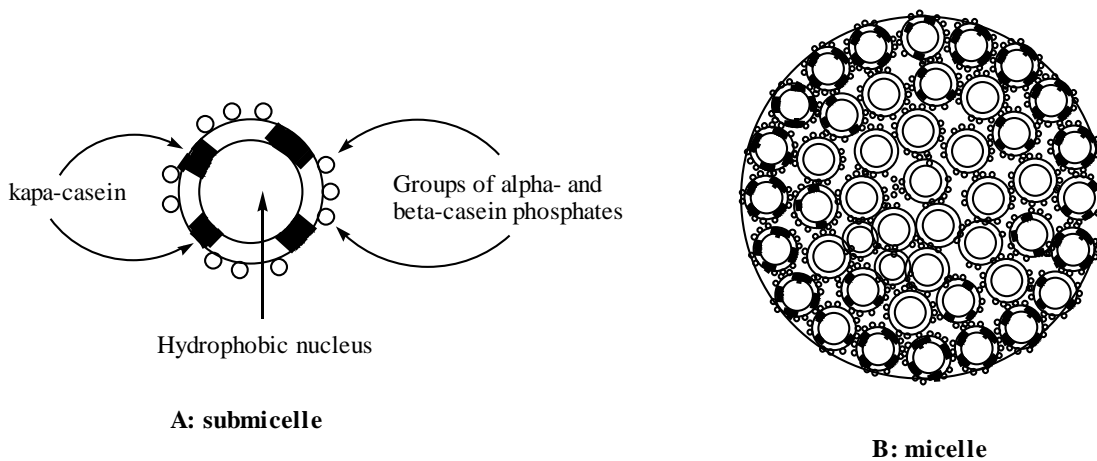


Σχήμα 3. Το υδατανθρακικό τμήμα της κ-καζεΐνης

Η **κ-καζεΐνη** περιέχει 169 αμινοξέα, 20 από τα οποία είναι προλίνη (11.8%). Σε αντίθεση με τις καζεΐνες α_{s1}-, η α_{s2}- και β-, περιέχει μια μόνο φωσφορυλιωμένη σερίνη (Ser149). Παράλληλα, η πολική καρβοξυ-τελική περιοχή της κ-καζεΐνης περιέχει την ομάδα Ser132 - Thr133, στην οποία η Thr133 είναι γλυκοζυλιωμένη. Το υδατανθρακικό τμήμα της περιέχει N-ακετυλο-νευραμινικό οξύ (AcNeu), γαλακτόζη (Gal) και N-ακετυλο-γαλακτοζαμίνη (GalNAc) και εμφανίζεται είτε ως τρισακχαρίτης είτε ως τετρασακχαρίτης (Σχήμα 3). Το υδατανθρακικό αυτό τμήμα εντοπίζεται στο καρβοξυτελικό άκρο της (Thr133) και καθιστά την περιοχή εκείνη υδρόφιλη, ενώ το υπόλοιπο μόριο είναι ισχυρά υδρόφοβο, με αποτέλεσμα η κ-καζεΐνη να είναι

ένα αμφίφιλο μόριο. Το κύριο χαρακτηριστικό της κ-καζεΐνης είναι η διαλυτότητα της σε συγκεντρώσεις ασβεστίου, στις οποίες οι υπόλοιπες καζεΐνες καταβυθίζονται. Ο ρόλος της λοιπόν στο καζεϊνικό μικκύλιο είναι να το σταθεροποιεί. Κατά την τυροκόμηση, η κ-καζεΐνη υδρολύεται από την ρεννίνη στην θέση Phe105 - Met106 με αποτέλεσμα την απελευθέρωση ενός γλυκομακροπεπτιδίου από το καρβοξυτελικό άκρο, ενώ το N-άκρο μαζί με τα υπόλοιπα δύο τρίτα του μορίου αποτελούν την παρα-κ-καζεΐνη. Η αντίδραση αποσταθεροποιεί το καζεϊνικό μικκύλιο με αποτέλεσμα την κατακρήμνιση των καζεϊνών και τον σχηματισμό πήγματος. Έχουν αναφερθεί αρκετές γενετικές παραλλαγές, όπως π.χ. οι A, B, C, D, E, F^S, F^I, G^S, H, I και J.

Όπως προαναφέρθηκε, οι καζεΐνες συνυπάρχουν με φωσφορικό ασβέστιο υπό την μορφή ενυδατωμένων σφαιρικών συμπλόκων, διαμέτρου 30-300 nm (κάποιων μέχρι και 600 nm), τα οποία ονομάζονται **μικκύλια**. Το μέσο βάρος ενός μικκυλίου ανέρχεται στα 10⁵ kDa και το κάθε μικκύλιο περιέχει περίπου 5.000 μόρια καζεΐνης. Πιστεύεται ότι καζεϊνικά μικκύλια σχηματίζονται από την συνένωση μικρότερων υπομικκυλίων διαμέτρου 10-20 nm (Σχήμα 4). Τα μικκύλια περιέχουν 92% πρωτεΐνη που αποτελείται από τις καζεΐνες $\alpha_{s1} : \alpha_{s2} : \beta : \kappa$, σε αναλογία 3 : 1 : 3 : 1, και 8% άλατα, κυρίως φωσφορικό ασβέστιο αλλά και σημαντικές ποσότητες μαγνησίου και κιτρικών. Τα χαρακτηριστικά των μικκυλίων επηρεάζουν την συμπεριφορά του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων κατά την διάρκεια της επεξεργασίας και της αποθήκευσης.



Σχήμα 4. Η δομή του καζεϊνικού υπομικκυλίου (A) και μικκυλίου (B)

Τα καζεϊνικά μικκύλια έχουν πορώδη και σπογγώδη δομή με υψηλό βαθμό ενυδάτωσης (2 g H₂O / g καζεΐνης). Ο βαθμός ενυδάτωσης τους είναι κατά μια τάξη μεγέθους μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο των τυπικών σφαιρικών πρωτεϊνών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα όλα τα συστατικά των μικκυλίων να βρίσκονται σε μια θερμοδυναμική, αν και αργή ισορροπία, με τον ορρό του γάλακτος που τα περιβάλλει. Έτσι καζεΐνες και άλατα μπορούν να αποσυνδεθούν

αντιστρεπτά από τα μικκύλια. Παρ' όλα αυτά, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, οι ποσότητες των καζεϊνών στον ορρό είναι εξαιρετικά χαμηλές.

Στην εξωτερική επιφάνεια των μικκυλίων επικρατεί η κ-καζεΐνη, ενώ στο εσωτερικό τους η α_s- και η β-καζεΐνη, αν και φαίνεται ότι οι τελευταίες προσεγγίζουν ως ένα βαθμό και την επιφάνεια. Στην επιφάνεια των μικκυλίων έχει εντοπισθεί ένα τριχώδες στρώμα (γλυκοζυλιωμένη Thr133), το οποίο, μαζί με την φωσφορυλιωμένη Ser149, αντιπροσωπεύει την πολική περιοχή του μορίου της κ-καζεΐνης. Η παρουσία αυτού του ευλύγιστου, έντονα ενυδατωμένου πολικού πεπτιδίου καθιστά το μικκύλιο σταθερό. Η απόσπαση αυτού του πεπτιδίου από το μόριο της κ-καζεΐνης, μέσω της δράσης της ρεννίνης στην θέση Phe105 - Met106, αλλάζει πλήρως τα χαρακτηριστικά της επιφάνειας του μικκυλίου και το αποσταθεροποιεί. Η νέα επιφάνεια είναι πλέον ενεργή με αποτέλεσμα την συνένωση των μικκυλίων και το σχηματισμό πήγματος, όπως γίνεται κατά την παρασκευή του τυριού.

Ένα θεμελιώδες χαρακτηριστικό των μικκυλίων είναι το γεγονός ότι δεν μπορούν να σχηματίσουν σταθερά συσσωματώματα όταν πλησιάσουν πολύ κοντά μεταξύ τους. Έτσι, ίζημα μικκυλίων που σχηματίζεται με καταβύθιση, επαναδιασπείρεται αυθόρμητα όταν παραμείνει. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η επιφάνεια των μικκυλίων είναι αδρανής, πράγμα που ερμηνεύει την ικανοποιητική σταθερότητα τους στην διάρκεια των περισσότερων επεξεργασιών που υφίσταται το γάλα. Έτσι, τα μικκύλια μπορούν να ανασυσταθούν από αφυδατωμένο γάλα χωρίς μεγάλες μεταβολές στις ιδιότητες τους. Η ψύξη του γάλακτος αποσταθεροποιεί τα μικκύλια. Σε υψηλές θερμοκρασίες, π.χ. στους 140°C, τα μικκύλια αρχικά αποδιατάσσονται, μετά συσσωματώνονται, και τέλος δημιουργούν πήγμα. Τα μικκύλια δεν επηρεάζονται από την ομογενοποίηση, είτε αυτή γίνεται με χαμηλές πιέσεις (περίπου 20 MPa) είτε με την εφαρμογή υψηλών πιέσεων (μέχρι 200 MPa). Το μέγεθος τους αυξάνει σε πιέσεις γύρω στα 250 MPa ενώ σε πιέσεις > 400 MPa το μέγεθος τους μειώνεται κατά 50%.

Το κolloειδές φωσφορικό ασβέστιο (CCP, colloid calcium phosphate) είναι ένα συστατικό-κλειδί για τον σχηματισμό των μικκυλίων. Αν και ο σχηματισμός συμπλόκων παρομοίων με τα μικκύλια είναι δυνατός παρουσία και μόνον Ca²⁺, ο ανόργανος φωσφόρος είναι απαραίτητος για την θερμική σταθερότητα των μικκυλίων. Η δομή του κolloειδούς φωσφορικού ασβεστίου, το οποίο αποτελείται από ασβέστιο, φωσφορικά ιόντα, μαγνήσιο και κιτρικά ιόντα, έχει αποτελέσει πεδίο έντονης αντιπαράθεσης. Πρόσφατες μελέτες με φασματοσκοπία IR και ακτινών X, έδειξαν ότι η δομή του στα μικκύλια μοιάζει πολύ με δομή ψήκτρας. Οι φωσφορικοί εστέρες στις ανιονικές περιοχές των υπομικκυλίων φαίνεται ότι αποτελούν ενιαίο τμήμα της μήτρας φωσφορικών - Mg²⁺ - κιτρικών.

Για την ερμηνεία της δομής των μικκυλίων έχουν προταθεί διάφορα μοντέλα. Σήμερα, όλα τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν το μοντέλο των υπομικκυλίων, σύμφωνα με το οποίο τα υπομικκύλια έχουν διαφορετική σύνθεση (Σχήμα 4). Μέσα στο υπομικκύλιο, οι καζεΐνες συγκρατούνται χάρις σε υδρόφοβες αλληλοεπιδράσεις που αναπτύσσονται μεταξύ β-πτυχωτών στις υδρόφοβες περιοχές της κ-καζεΐνης και των άλλων

καζεΐνών. Το γεγονός όμως ότι τα υπομικκύλια είναι σταθερά ακόμα και σε θερμοκρασίες που καταργούν τις υδρόφοβες αλληλοεπιδράσεις σημαίνει ότι αυτές δεν είναι οι μόνες δυνάμεις που συγκρατούν τις καζεΐνες. Σημαντικός λοιπόν θεωρείται και ο ρόλος του CCP.

Το γάλα περιέχει περίπου 60 ενδογενή **ένζυμα**, τα οποία αντιπροσωπεύουν ένα μικρό μεν αλλά πολύ σημαντικό τμήμα του πρωτεϊνικού του συστήματος. Τα ένζυμα αυτά είτε συντίθενται στα εκκριτικά κύτταρα του μαστού του ζώου είτε προέρχονται από το αίμα του ζώου. Πολλά από τα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος είναι συγκεντρωμένα στην μεμβράνη των λιποσφαιρίων, όπως π.χ. η οξειδάση της ξανθίνης, η σουλφυρυδυλική οξειδάση και η γ-γλουταμυλο-τρανσπεπτιδάση. Αυτά συντίθενται είτε στην συσκευή Golgi είτε στο κυτταρόπλασμα των εκκριτικών κυττάρων του μαστού και παγιδεύονται μέσα στην μεμβράνη των λιποσφαιρίων κατά την εξωκυττάρωση. Η πλασμίνη και η λιποπρωτεΐνη λιπάση βρίσκονται προσδεσμένα στα καζεϊνικά μικκύλια, ενώ αρκετά ένζυμα, όπως η καταλάση και η δισμουτάση του υπεροξειδίου, βρίσκονται στον ορρό του γάλακτος. Η κατανομή όμως των ενζύμων επηρεάζεται από τις συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης του γάλακτος και των προϊόντων του, και αυτό έχει ουσιαστική επίδραση στις ενεργότητες τους. Έτσι, η ψύξη του γάλακτος επάγει την μεταφορά της λιπάσης από τα καζεϊνικά μικκύλια στα λιποσφαίρια και κατά συνέπεια επάγει την λιπόλυση.

Από την ανακάλυψη της λακτοπεροξειδάσης το 1881 το ενδιαφέρον για τα ένζυμα του γάλακτος και την βιολογική και τεχνολογική τους σημασία παραμένει αμείωτο. Αν και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, τα ενδογενή ένζυμα του γάλακτος επηρεάζουν σημαντικά την σταθερότητα και τις ιδιότητες των γαλακτοκομικών προϊόντων. Η σημασία τους γίνεται όλο και μεγαλύτερη όσο εξελίσσονται οι τεχνολογίες επεξεργασίας του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων. Οι συνθήκες επεξεργασίας άλλοτε επιτρέπουν την διατήρηση της ενζυμικής ενεργότητας και άλλοτε ευνοούν την επανενεργοποίησή τους. Η αλκαλική φωσφατάση και η οξειδάση της ξανθίνης απενεργοποιούνται σε συνθήκες παστερίωσης (72-75°C για 15-20 sec) και για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται ως μάρτυρες παστερίωσης του γάλακτος. Αντίθετα, η απενεργοποίηση της γ-γλουταμυλο-τρανσπεπτιδάσης και της λακτοπεροξειδάσης αποτελεί δείκτη υπερπαστερίωσης του γάλακτος.

Η πλασμίνη, η οποία μεταφέρεται από το αίμα του ζώου στο γάλα, ενεργοποιείται κατά την παστερίωση, λόγω απενεργοποίησης των παρεμποδιστών του πλασμινογόνου, δηλαδή του αρδανούς πρόδρομου μορίου της πλασμίνης. Η πλασμίνη συμβάλλει στην πρωτεόλυση κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των τυριών, ιδιαίτερα στις ποικιλίες εκείνες που το τυρόπηγμα αναθερμαίνεται σε υψηλές θερμοκρασίες (π.χ. Emmental, Mozzarella, Κασέρι, Parmesan) με αποτέλεσμα να απενεργοποιείται η ρεννίνη. Η λιποπρωτεΐνη λιπάση απενεργοποιείται κατά την παστερίωση, αν και όχι πλήρως. Συμμετέχει θετικά στην ωρίμανση των τυριών, ιδιαίτερα αυτών που παρασκευάζονται από απαστερίωτο γάλα, αλλά μπορεί να προκαλέσει υδρολυτική τάγγιση. Η αλκαλική φωσφατάση αποφωσφορυλιώνει την καζεΐνη και μεταβάλλει έτσι τις λειτουργικές της ιδιότητες. Η οξειδάση της ξανθίνης δρα οξειδωτικά και μπορεί να προκαλέσει

οξειδωτική τάγγιση, ενώ ανάγει τα νιτρικά, τα οποία χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της ανάπτυξης του *Clostridium* σε κάποιες ποικιλίες τυριών, προς νιτρώδη. Η λακτοπεροξειδάση δρα βακτηριοστατικά παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων H_2O_2 και SCN^- και χρησιμοποιείται για την λεγόμενη ψυχρή αποστείρωση του γάλακτος. Τέλος, στην περίπτωση της μαστίτιδας αυξάνει η συγκέντρωση και η ενεργότητα διαφόρων ενζύμων στο γάλα, με πιο χαρακτηριστικά την πλασμίνη, την καταλάση, την αλκαλική φωσφατάση και την N-ακετυλο-γλυκοαμινιδάση.

Τα τελευταία χρόνια το ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώνεται στα λεγόμενα **βιοενεργά πεπτίδια** του γάλακτος. Πρόκειται για πεπτιδικές αλληλουχίες μέσα στα μόρια των πρωτεϊνών του γάλακτος, οι οποίες όταν ελευθερωθούν μέσω ενζυμικής υδρόλυσης, εξασκούν εξειδικευμένες βιολογικές λειτουργίες, οι οποίες επηρεάζουν ευεργετικά την υγεία του ανθρώπου. Η ενζυμική υδρόλυση μπορεί να γίνει είτε *in vivo* μέσα στο πεπτικό σύστημα του ανθρώπου, είτε *in vitro* με εξειδικευμένα ένζυμα και κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες. Τα πλέον μελετημένα βιοενεργά πεπτίδια που προέρχονται από τις καζεΐνες του γάλακτος είναι τα φωσφοπεπτίδια, τα οποία περιέχουν ομάδες φωσφορυλιωμένης σερίνης και πιστεύεται ότι βοηθούν στην απορρόφηση μετάλλων (Ca, Fe, Zn), οι καζομορφίνες, οι οποίες δρουν ως οπιοειδείς αγωνιστές και ως παρεμποδιστές του ACE-I (angiotensin converting enzyme inhibitors; αντι-υπερτασική δράση), και το γλυκομακροπεπτίδιο [CMP, caseinomacropetide, κ-CN f106-169], το οποίο προκύπτει από την υδρόλυση της κ-καζεΐνης από την ρεννίνη στον δεσμό Phe105 – Met106. Στο γλυκομακροπεπτίδιο αποδίδεται αντικαρκινογόνος δράση, ανοσορρυθμιστική δράση, παρεμπόδιση της πρόσδεσης βακτηρίων και ιών στο εντερικό επιθήλιο, ενίσχυση της ανάπτυξης των bifidobacteria στον εντερικό αυλό και μείωση των γαστρικών εκκρίσεων. Από τις πρωτεΐνες του ορού α-λακταλβουμίνη και β-λακτογλοβουλίνη προέρχονται οι α- και β-λακτορφίνες, αντίστοιχα, οι οποίες δρουν ως οπιοειδείς αγωνιστές και ως παρεμποδιστές του ACE.

Το **λίπος** του γάλακτος είναι το πιο σύνθετο σύστημα λίπους που γνωρίζουμε. Τα τριγλυκερίδια αποτελούν με διαφορά το μεγαλύτερο κλάσμα του λίπους του γάλακτος και σχηματίζουν τον πυρήνα των λιποσφαιρίων (Πίνακας 5). Αντίθετα, τα φωσφολιπίδια και η χοληστερόλη εντοπίζονται στην μεμβράνη των λιποσφαιρίων. Τα κυριότερα φωσφολιπίδια του γάλακτος είναι η φωσφατιδυλο-αιθανολαμίνη [22.3 %; R = $OHCH_2CH_2NH_2$], η φωσφατιδυλο-χολίνη [33.6 %; R = $OHCH_2CH_2N(CH_3)_2$] και η σφιγγομυελίνη [35.3 %; R = $OHCH_2CH_2N(CH_3)_2$].

Η συγκέντρωση των συνολικών λιπιδίων αλλά και των επί μέρους συστατικών του λίπους εξαρτώνται από την φυλή του ζώου, το ίδιο το ζώο, το στάδιο της γαλακτικής περιόδου, την ποιότητα και την ποσότητα της διατροφής, την συχνότητα των αμέλξεων και την ύπαρξη ή όχι μαστίτιδας. Ανάμεσα στις δύο κύριες φυλές που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αγελαδινού γάλακτος, οι Friesian-Holstein παράγουν το γάλα με την χαμηλότερη συγκέντρωση λίπους (περίπου 3.5%), ενώ οι Jersey-Guernsey με την υψηλότερη (περίπου 6%). Όταν όμως εφαρμόζεται η λεγόμενη συγχρονισμένη αγελαδοτροφία (synchronized calving), τότε στις

αγελάδες Friesian-Holstein το λίπος του γάλακτος κυμαίνεται από περίπου 3% στην έναρξη της γαλακτικής περιόδου μέχρι > 4.5% στο τέλος της γαλακτικής περιόδου. Έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 400 διαφορετικά λιπαρά οξέα στο γάλα, αλλά μόνο 13 βρίσκονται σε συγκεντρώσεις που υπερβαίνουν το 1% (w/w) (Πίνακας 6). Μέχρι τώρα έχουν ταυτοποιηθεί στο γάλα 223 διαφορετικά ως προς την σύσταση τριγλυκερίδια, τα οποία αντιπροσώπευουν το 80% των συνολικών του τριγλυκεριδίων. Η συνολική mole % αναλογία των ομάδων των τριγλυκεριδίων, και οι οκτώ κυριότεροι συνδυασμοί (συγκεντρώσεις > 2 mole %) φαίνονται στον Πίνακα 7. Τα κεκορεσμένα και ακόρεστα τριγλυκερίδια κάνουν το 65 mole % των λιπιδίων, και οι οκτώ κυριότεροι συνδυασμοί το 25 mole %.

Πίνακας 5. Η σύσταση του λίπους του γάλακτος

Λιπίδιο	Ποσοστό βάρους (% w/w)	g/l
Τριγλυκερίδια	95.80	30.70
Διγλυκερίδια	2.25	0.72
Μονογλυκερίδια	0.08	0.03
Ελεύθερα λιπαρά οξέα	0.28	0.09
Φωσφολιπίδια	1.11	0.36
Χοληστερόλη	0.46	0.15
Εστέρες χοληστερόλης	0.02	0.006

Πίνακας 6. Τα κυριότερα λιπαρά οξέα του γάλακτος

Λιπαρό οξύ	Ποσοστό βάρους (% w/w)	Λιπαρό οξύ	Ποσοστό βάρους (% w/w)
4:0	3.8	15:0	1.1
6:0	2.4	16:0	43.7
8:0	1.4	16:1	2.6
10:0	3.5	18:0	11.3
12:0	4.6	18:1	11.3
14:0	12.8	18:2	1.5
14:1	1.6		

Το λίπος του γάλακτος είναι οργανωμένο υπό μορφή σφαιριδίων (λιποσφαίρια) διαμέτρου 2000-6000 nm. Τα λιποσφαίρια είναι τα μεγαλύτερα σωματίδια του γάλακτος και είναι τα κατ' εξοχήν υπεύθυνα για την σκέδαση του φωτός στο γάλα, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την λευκή, κρεμώδη μορφή του πλήρους γάλακτος. Κάθε σφαιρίδιο λίπους περιβάλλεται από μια μεμβράνη, η οποία το διαχωρίζει από την υδατική φάση του ορρού. Η

μεμβράνη των λιποσφαιρίων έχει μεγάλη σημασία για την σταθερότητα της λιπαρής φάσης στο γάλα καθώς και για τις μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά την επεξεργασία του γάλακτος.

Η μεμβράνη αυτή προέρχεται από την κυτταρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού και δημιουργείται κατά την μεταφορά του λίπους από το άνω άκρο του επιθηλιακού κυττάρου στην αδενοκυψελίδα του αδενικού λοβίου (εξωκυττάρωση). Ως εκ τούτου, η μεμβράνη των λιποσφαιρίων έχει σύσταση κυτταρικής μεμβράνης, και πράγματι περιέχει το 70% των φωσφολιπιδίων και το 85% της χοληστερόλης του γάλακτος. Περιέχει επίσης μεμβρανικές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανόμενων και ενζύμων. Τέτοια ένζυμα είναι η αλκαλική φωσφατάση, η οξειδάση της ξανθίνης, η 5'-νουκλεοτιδάση, η σουλφυδρική οξειδάση και η φωσφο-διεστεράση. Ο πυρήνας των λιποσφαιρίων αποτελείται αποκλειστικά σχεδόν από τριγλυκερίδια. Μεταξύ του πυρήνα και της μεμβράνης των λιποσφαιρίων υπάρχει τέλος ένα στρώμα πρωτεϊνών, οι οποίες προέρχονται από τα επιθηλιακά κύτταρα και προσροφήθηκαν πάνω στα τριγλυκερίδια λίγο πριν την έκκριση τους στην αδενοκυψελίδα του αδενικού λοβίου. Ένα μέρος των πρωτεϊνών αυτών εμφανίζονται στην εξωτερική επιφάνεια των λιποσφαιρίων.

Πίνακας 7. Τα κυριότερα τριγλυκερίδια του γάλακτος

Τύπος	Άτομα			mole %
	Είδη			
	άνθρακα	λιπαρών οξέων		
Κεκορεσμένα τριγλυκερίδια (σύνολο)				32.4
	34	4:0	14:0 16:0	3.1
	36	4:0	16:0 16:0	3.2
	38	4:0	16:0 18:0	2.5
Μονο-ακόρεστα τριγλυκερίδια (σύνολο)				32.6
	38	4:0	16:0 18:1	4.2
	40	6:0	16:0 18:1	2.0
	48	14:0	16:0 18:1	2.8
	50	16:0	16:0 18:1	2.3
	52	16:0	16:0 18:1	2.2
Δι-ακόρεστα τριγλυκερίδια (τύπος 011)* (σύνολο)				10.6
Δι-ακόρεστα τριγλυκερίδια (τύπος 002)* (σύνολο)				2.5
Πολυ-ακόρεστα τριγλυκερίδια (όλοι οι τύποι) (σύνολο)				5.2

* 0: κεκορεσμένο λιπαρό οξύ, 1: μονο-ακόρεστο λιπαρό οξύ, 2: δι-ακόρεστο λιπαρό οξύ

Τα λιποσφαίρια έχουν χαμηλότερο ειδικό βάρος από την υδατική φάση του γάλακτος, με αποτέλεσμα στο μη ομογενοποιημένο γάλα να ανεβαίνουν στην επιφάνεια (αποκορύφωση). Θεωρητικά, η ταχύτητα αποκορύφωσης είναι το αντίστροφο της ταχύτητας καταβύθισης, όπως αυτή περιγράφεται από τον τύπο του Stokes. Η ταχύτητα της αποκορύφωσης των λιποσφαιρίων

είναι μεγαλύτερη από αυτή που δικαιολογεί το μέγεθος τους. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στην συσσωμάτωση των λιποσφαιρίων που προκαλείται από την αλληλοεπίδραση των πρωτεϊνών της μεμβράνης των λιποσφαιρίων και της ανοσοσφαιρίνης IgM του γάλακτος. Και, όπως θεωρητικά προβλέπεται, τα μεγαλύτερα συσσωματώματα ανέρχονται ταχύτερα από τα μεμονωμένα λιποσφαίρια.

$$V = \frac{2}{9} \times \frac{(d - d') \times r^2 \times g}{n}$$

V = ταχύτητα καταβύθισης

d = πυκνότητα λίπους

d' = πυκνότητα μέσου διασποράς

r² = ακτίνα λιποσφαιρίων

n = συντελεστής ιξώδους μέσου διασποράς

Τύπος του Stokes

Σήμερα, στο φρέσκο γάλα εφαρμόζεται η ομογενοποίηση, κατά την οποία με την εφαρμογή υψηλής πίεσης μειώνεται το μέγεθος των λιποσφαιρίων (μέση διάμετρος < 1 μm), αυξάνεται η επιφάνεια του λίπους (από 4 μέχρι 6 φορές), αντικαθίσταται μερικά η μεμβράνη των λιποσφαιρίων από ένα στρώμα καζεΐνης, μετουσιώνονται οι κρυσφαιρίνες, και έτσι παρεμποδίζεται η συσσωμάτωση των λιποσφαιρίων. Η ομογενοποίηση έχει μερικές πολύ σημαντικές συνέπειες για τις ιδιότητες του γάλακτος. Καθυστερεί η αποκορύφωση λόγω της μείωσης του μεγέθους των λιποσφαιρίων και της μετουσίωσης των κρυσφαιρινών. Αυξάνει όμως η ευαισθησία στην υδρολυτική τάγγιση καθώς η ενδογενής λιποπρωτεΐνη λιπάση, η οποία κανονικά βρίσκεται στην επιφάνεια των καζεϊνικών μικκυλίων, μεταφέρεται μερικά στην επιφάνεια των λιποσφαιρίων (λόγω της μερικής αντικατάστασης της μεμβράνης των λιποσφαιρίων από ένα στρώμα καζεΐνης) οπότε έρχεται σε άμεση επαφή με το λίπος του γάλακτος. Από την άλλη πλευρά, μειώνεται η ευαισθησία στην οξειδωτική τάγγιση, καθώς μεταλλικά στοιχεία αλλά και η οξειδάση της ξανθίνης, που κανονικά βρίσκονται στην μεμβράνη των λιποσφαιρίων, κατανέμονται πλέον ομοιόμορφα σε όλο το γάλα. Αυξάνει η λευκότητα του γάλακτος, καθώς αυξάνει ο αριθμός των σωματιδίων σκέδασης (αριθμός λιποσφαιρίων). Τέλος, μειώνεται η ικανότητα συνέρεσης του γάλακτος και για τον λόγο αυτό στην τυροκόμηση δεν χρησιμοποιείται ομογενοποιημένο γάλα.

Η **λακτόζη** (4-O-β-D-γαλακτοπυρανοζυλο-D-γλυκοπυρανόζη) είναι ο κύριος υδατάνθρακας του γάλακτος και αποτελεί το 50% των στερεών του αποβουτυρωμένου γάλακτος. Η συγκέντρωση της λακτόζης στο γάλα κυμαίνεται από 0.5 % (πολική αρκούδα) μέχρι περίπου 10% (κάποια είδη πιθήκων). Στο αγελαδινό γάλα και κατά το μέσον της γαλακτικής περιόδου η συγκέντρωση της λακτόζης ανέρχεται στο 4.8%, ενώ στο γάλα του ανθρώπου στο 7 %.

Η λακτόζη είναι ανάγον σάκχαρο και βρίσκεται και σε δύο ανωμερείς μορφές, την α- και την β-λακτόζη, σε αναλογία β/α = 1.68 στους 20°C. Η β-λακτόζη είναι θερμοδυναμικά πιο σταθερή από την α- και η ταχύτητα ανωμερίωσης είναι μεγάλη σε θερμοκρασία περιβάλλοντος,

αλλά πολύ χαμηλή στους 0°C. Η β-λακτόζη κρυσταλλώνεται ως άνυδρο μόριο, ενώ η α-λακτόζη με ένα μόριο νερού. Η ενυδατωμένη κρυσταλλική μορφή της α-λακτόζης απαντάται σε διάφορα σχήματα, με πιο συνηθισμένο το σχήμα tomahawk, το οποίο είναι υπεύθυνο για την «αμμώδη» γεύση κάποιων γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως π.χ. στο «αμμώδες» παγωτό. Γενικά, η λακτόζη, παρά την χαμηλή της διαλυτότητα σε σχέση με άλλα σάκχαρα, όταν διαλυθεί, κρυσταλλώνεται πολύ δύσκολα και δημιουργεί υπερκορεσμένα διαλύματα. Η λακτόζη έχει το 1/6 της γλυκαντικής δύναμης της σακχαρόζης, συμβάλλει όμως στην χαρακτηριστική γεύση του γάλακτος, ενώ παράλληλα χρησιμοποιείται ως γλυκαντική ουσία σε περιπτώσεις που είναι επιθυμητά χαμηλά επίπεδα γλυκύτητας.

Τα κύρια **άλατα** του γάλακτος είναι τα χλωριούχα, τα φωσφορικά, τα κιτρικά και τα όξινα ανθρακικά άλατα του νατρίου, του καλίου, του ασβεστίου και του μαγνησίου. Επομένως στο γάλα υπάρχουν και ανόργανα και οργανικά άλατα, άρα η περιεκτικότητα του σε άλατα δεν πρέπει να συγχέεται με την συγκέντρωση της τέφρας. Τα άλατα του γάλακτος βρίσκονται είτε υπό μορφή διαλυτών ελευθέρων ιόντων ή συμπλόκων ιόντων είτε σε κολλοειδή μορφή (Πίνακας 8). Κάποια από τα τελευταία, και ιδιαίτερα το κολλοειδές φωσφορικό ασβέστιο (CCP, Colloid Calcium Phosphate), συμμετέχουν στην διαμόρφωση της δομής των καζεϊνικών μικκυλίων. Οι αλληλοεπιδράσεις που αναπτύσσουν με τις καζεΐνες επηρεάζουν την σταθερότητα και την λειτουργικότητα των καζεϊνών και κατ' επέκταση τις ιδιότητες των γαλακτοκομικών προϊόντων. Τέλος, το γάλα περιέχει περί τα 20-25 στοιχεία σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις ή ίχνη, με σημαντικότερα τον Fe και τον Cu που δρουν οξειδωτικά στα λιπίδια του γάλακτος.

Πίνακας 8. Η συγκέντρωση των ιχνοστοιχείων και της λακτόζης του γάλακτος

	Συγκέντρωση (mg/100 ml)	Διαλυτή μορφή (%, w/w)	Κολλοειδής μορφή (%, w/w)
Ca (ολικό)	121	33	67
Ca ⁺⁺	8	100	0
Mg (ολικό)	12.5	64	36
Κιτρικό ιόν	181	94	6
P	65	55	45
Na ⁺	60	96	4
K ⁺	144	94	6
Cl ⁻	108	100	0
Λακτόζη	4800	100	0

Τα άλατα και η λακτόζη του γάλακτος διαμορφώνουν την ωσμωτική του πίεση. Η διαδικασία βιοσύνθεσης του γάλακτος επιβάλλει εκ των πραγμάτων ισορροπία ωσμωτικής

πίεσης μεταξύ του γάλακτος και του αίματος του ζώου. Το αποτέλεσμα είναι, μέσω της βιοσύνθεσης, να διαμορφώνεται τελικά μια αντίστροφη σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων αλάτων και λακτόζης, έτσι ώστε το άθροισμα των συγκεντρώσεων τους να μην παρουσιάζει ουσιαστικές διακυμάνσεις. Αυτό συνεπάγεται ένα σταθερό σημείο τήξεως για το γάλα (-0.53 έως -0.57°C), οι αποκλίσεις από το οποίο υποδεικνύουν νοθεία του γάλακτος με νερό.

4. Η διατροφική αξία του γάλακτος

Το γάλα είναι μια εξαιρετική πηγή πρωτεΐνης υψηλής διατροφικής αξίας, ριβοφλαβίνης (B2), κοβαλαμίνης (B12), ασβεστίου, φωσφόρου και καλή πηγή βιταμίνης A, θειαμίνης (B1), νιασίνης (B3) καθώς και μαγνησίου. Στο αποβουτυρωμένο γάλα το μεγαλύτερο μέρος των λιποδιαλυτών βιταμινών χάνεται. Κατά την παρασκευή του τυριού ένα σημαντικό μέρος των υδατοδιαλυτών βιταμινών φεύγει στον ορρό, αλλά το ασβέστιο παραμένει. Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες του γάλακτος καθώς και οι υδατοδιαλυτές ριβοφλαβίνη (B2), νιασίνη (B3), παντοθενικό οξύ και βιοτίνη είναι μάλλον σταθερές, και η παστερίωση [LTLT, low temperature long time (62-65°C για 30 min), ή HTST, high temperature short time (72-74°C για 150 sec)] ή η UHT επεξεργασία [135-140°C για 3-5 sec, άμεση με την χρήση εναλλακτών θερμότητας ή έμμεση με την έγχυση ατμού] δεν προκαλούν μεγάλες απώλειες. Αντίθετα, η θειαμίνη (B1), το φολικό οξύ, η πυριδοξίνη (B6), η κοβαλαμίνη (B12) και η βιταμίνη C είναι πιο ευαίσθητες.

Το ανθρώπινο γάλα περιέχει λιγότερο μεν σίδηρο από το αγελαδινό αλλά περισσότερο βιοδιαθέσιμο, όπως επίσης και μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του απαραίτητου λινελαϊκού οξέος (*cis*, 18:2). Είναι φτωχότερο του αγελαδινού σε καζεΐνες, πράγμα που ερμηνεύει τόσο το υψηλότερο pH του (περίπου 7.2), όσο και την υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα του σιδήρου του, αλλά είναι πλουσιότερο σε ανοσοσφαιρίνες, οι οποίες ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα των βρεφών.

Η πρωτεΐνη του γάλακτος θεωρείται υψηλής διατροφικής αξίας, με τιμή 0.9 έναντι 1.0 του αυγού (πρωτεΐνη αναφοράς), λόγω κυρίως της μερικής έλλειψης των θειούχων αμινοξέων κυστεΐνης και μεθειονίνης στο καζεϊνικό κλάσμα των πρωτεϊνών του. Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος μπορεί να προκαλέσει μερική αποδιάταξη των πρωτεϊνών, κυρίως του ορρού, οι οποίες όμως στην ουσία βελτιώνουν την διατροφική τους αξία, καθώς τις καθιστούν πιο ευαίσθητες στα πρωτεολυτικά ένζυμα του πεπτικού μας συστήματος. Αντίθετα, αλλαγές στην πρωτοταγή τους δομή μπορεί να μειώσουν την βιοδιαθεσιμότητα τους. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η β-απόσπαση σε μόρια κυστεΐνης ή σερίνης με αποτέλεσμα τον σχηματισμό δεϋδροαλανίνης, η οποία αντιδρά με μόρια λυσίνης προς λυσυλο-αλανίνη. Η λυσυλο-αλανίνη δεν αφομοιώνεται και ταυτόχρονα δημιουργεί διασταυρώσεις στο πρωτεϊνικό μόριο με αποτέλεσμα την μείωση της βιοδιαθεσιμότητας της. Η παστερίωση και η επεξεργασία UHT δεν οδηγούν σε σχηματισμό σημαντικών ποσοτήτων λυσυλο-αλανίνης, αλλά η παραμονή UHT

γάλακτος για μεγάλο χρονικό διάστημα σε θερμοκρασίες υψηλότερες των 35°C μειώνουν σημαντικά την διαθέσιμη λυσίνη.

Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος μπορεί να προκαλέσει αντίδραση Maillard μεταξύ της ε-αμινομάδας μορίων λυσίνης των πρωτεϊνών του γάλακτος και της αλδεϋδικής ομάδας μορίων λακτόζης ή λακτουλόζης. Στο πρώτο στάδιο της αντίδρασης σχηματίζεται το προϊόν Amadori, η λακτοζυλο-λυσίνη, η οποία εν συνεχεία αποικοδομείται σε διάφορα προϊόντα Maillard, όπως φορμικό οξύ, φουρφουράλες και υδροξυ-μεθυλο-φουρφουράλες. Το πλέον εμφανές αποτέλεσμα της αντίδρασης Maillard είναι η αλλαγή του χρώματος του γάλακτος (καστάνωση) λόγω του σχηματισμού χρωστικών με το όνομα μελανοΐδινες, ενώ εκτεταμένη αντίδραση Maillard προκαλεί πολυμερισμό των πρωτεϊνών. Εν ολίγοις, η αντίδραση Maillard αλλάζει όχι μόνο το άρωμα αλλά και την διατροφική αξία του γάλακτος, καθώς μειώνεται η πεπτικότητα των πρωτεϊνών και η διαθεσιμότητα της λυσίνης.

Στο ανθρώπινο γάλα πέραν της λακτόζης συναντάμε σε μικρές συγκεντρώσεις και κάποιους ολιγοσακχαρίτες (μέχρι εξασακχαρίτες), οι οποίοι προέρχονται από την λακτόζη (το μη ανάγον άκρο τους είναι λακτόζη, και πολλοί περιέχουν φουκόζη και N-ακετυλο-νευραμινικό οξύ). Στο ανθρώπινο γάλα έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 130 ολιγοσακχαρίτες, ενώ υψηλές συγκεντρώσεις παρόμοιων ολιγοσακχαριτών συναντάμε στο γάλα του ελέφαντα και της αρκούδας. Οι ολιγοσακχαρίτες αυτοί (prebiotics) δεν υδρολύονται από τα ενδογενή ένζυμα του ανθρώπινου πεπτικού συστήματος, ευνοούν όμως την ανάπτυξη στελεχών του γένους *Bifidobacterium* (probiotics), τα οποία απαντώνται σε σημαντικούς πληθυσμούς στο πεπτικό σύστημα των βρεφών που θηλάζουν, και πιστεύεται ότι ενισχύουν το ανοσοποιητικό τους σύστημα (bifidogenic effect).

Η θερμική επεξεργασία του γάλακτος οδηγεί στην μετατροπή (ισομερίωση) της λακτόζης σε λακτουλόζη (γαλακτοζυλο-β-1,4-φρουκτόζη), ένα σάκχαρο το οποίο δεν απαντάται στην φύση. Η συγκέντρωση της λακτουλόζης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της θερμικής επεξεργασίας του γάλακτος, καθώς αυτή αυξάνει πηγαίνοντας από το παστεριωμένο γάλα προς το UHT και το αποστειρωμένο γάλα. Η λακτουλόζη δεν υδρολύεται από την β-γαλακτοζιδάση ή λακτάση, το ένζυμο που υδρολύει την λακτόζη στο ανθρώπινο πεπτικό σύστημα, αλλά εισέρχεται στο έντερο όπου δρα ως καθαρτικό ενώ ταυτόχρονα ευνοεί την ανάπτυξη των bifidobacteria που αναφέρθηκαν προηγουμένως.

Η λακτόζη σχετίζεται τέλος με δύο σύνδρομα έλλειψης ενζύμων, την δυσανεξία στην λακτόζη και την γαλακτοζαιμία. Στην πρώτη περίπτωση λόγω της έλλειψης της β-γαλακτοζιδάσης ή λακτάσης στο ανθρώπινο πεπτικό σύστημα, η λακτόζη εισέρχεται άθικτη στο παχύ έντερο και εκεί ζυμώνεται από τα βακτήρια της εντερικής χλωρίδας με αποτέλεσμα την δημιουργία αερίων, άρα αίσθηση φουσκώματος και κραμπών. Καθώς δε η μη υδρολυμένη λακτόζη δεσμεύει νερό από τον εντερικό βλενογόνο προκαλούνται και διάρροειες. Το πρόβλημα αντιμετωπίζεται είτε με τον πλήρη αποκλεισμό της λακτόζης από την διαίτα (π.χ. μη κατανάλωση γάλακτος ή κατανάλωση γάλακτος από το οποίο έχει αφαιρεθεί η λακτόζη με

υπερδιήθηση), είτε με την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων, στα οποία το μεγαλύτερο μέρος της λακτόζης έχει αποικοδομηθεί μικροβιακά (π.χ. τυρί, γιαούρτη).

Στην περίπτωση της γαλακτοζαιμίας, η γαλακτόζη δεν καταβολίζεται λόγω της έλλειψης είτε της γαλακτοκινάσης είτε της ουρυδυλο-τρανσφεράσης της γαλακτόζης-1-P. Η συχνότητα εμφάνισης των συνδρόμων αυτών είναι 1 στις 50.000 γεννήσεις. Απουσία της γαλακτοκινάσης, η γαλακτόζη καταβολίζεται μέσω εναλλακτικών οδών παράγοντας γαλακτιτόλη, η οποία συσσωρεύεται σε διάφορους ιστούς, μεταξύ των οποίων και τα μάτια, προκαλώντας καταράκτη. Απουσία της ουρυδυλο-τρανσφεράσης της γαλακτόζης-1-P προκαλούνται ανωμαλίες στις μεμβράνες των κυττάρων του εγκεφάλου και άρα νοητική καθυστέρηση.

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει ένα συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για τα λεγόμενα προβιοτικά προϊόντα γάλακτος, τα οποία ανήκουν στην γενικότερη κατηγορία των λειτουργικών τροφίμων. Πρόκειται κυρίως για προϊόντα ζύμωσης του γάλακτος (π.χ. γιαούρτη), τα οποία παρασκευάζονται με την χρήση προβιοτικών οξυγαλακτικών βακτηρίων. Προβιοτικοί ονομάζονται οι μικροοργανισμοί εκείνοι, οι οποίοι όταν καταναλωθούν σε επαρκείς ποσότητες εξασκούν μια ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου, μεγαλύτερη από αυτή που προσφέρει μια τυπική, υγιεινή διατροφή. Οι μικροοργανισμοί αυτοί για να μπορέσουν να δράσουν μέσα στο πεπτικό σύστημα του ανθρώπου, πρέπει να είναι σε θέση να επιβιώσουν κάτω από τις αντίξοες συνθήκες που επικρατούν εκεί (π.χ. χαμηλό pH στο στομάχι, χολικά άλατα στον εντερικό σωλήνα) και να αποικίσουν έστω και παροδικά το παχύ έντερο. Επιβιώνοντας μέσα στο πεπτικό σύστημα παρεμποδίζουν παθογόνους μικροοργανισμούς για τον άνθρωπο, είτε παράγοντας αντιμικροβιακές ενώσεις είτε μέσω του ανταγωνισμού για θρεπτικά συστατικά στον εντερικό αυλό και για θέσεις πρόσδεσης στο εντερικό επιθήλιο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει επίσης η ρύθμιση του ανθρώπινου ανοσοποιητικού συστήματος. Σήμερα, υπάρχουν αρκετά αξιόπιστα δεδομένα σχετικά με τον προστατευτικό ρόλο των προβιοτικών σε ασθένειες του πεπτικού συστήματος (π.χ. διάρροιες, γαστρίτιδα, ιδιοπαθή νοσήματα του εντέρου), τροφικές αλλεργίες, ακόμη και σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

5. Η παρασκευή του τυριού

Η παρασκευή του τυριού αρχίζει με τον σχηματισμό του πήγματος και τελειώνει με την ωρίμανση του. Σε γενικές γραμμές τα κύρια βήματα της παρασκευής του τυριού είναι η οξύνιση, η πήξη, η στράγγιση, το αλάτισμα και η ωρίμανση. Καθ' όλη την διάρκεια αυτής της διαδικασίας, τα κύρια συστατικά του γάλακτος, δηλαδή οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λίπη υφίστανται μια σειρά βιοχημικών και φυσικοχημικών μεταβολών. Τα τελικά προϊόντα των αντιδράσεων αυτών διαμορφώνουν τα φυσικοχημικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τυριού.

Για την **οξύνιση** του γάλακτος χρησιμοποιούνται οι λεγόμενες εναρκτήριοι καλλιέργειες, με κυρίαρχη κατηγορία μικροοργανισμών τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Τα οξυγαλακτικά

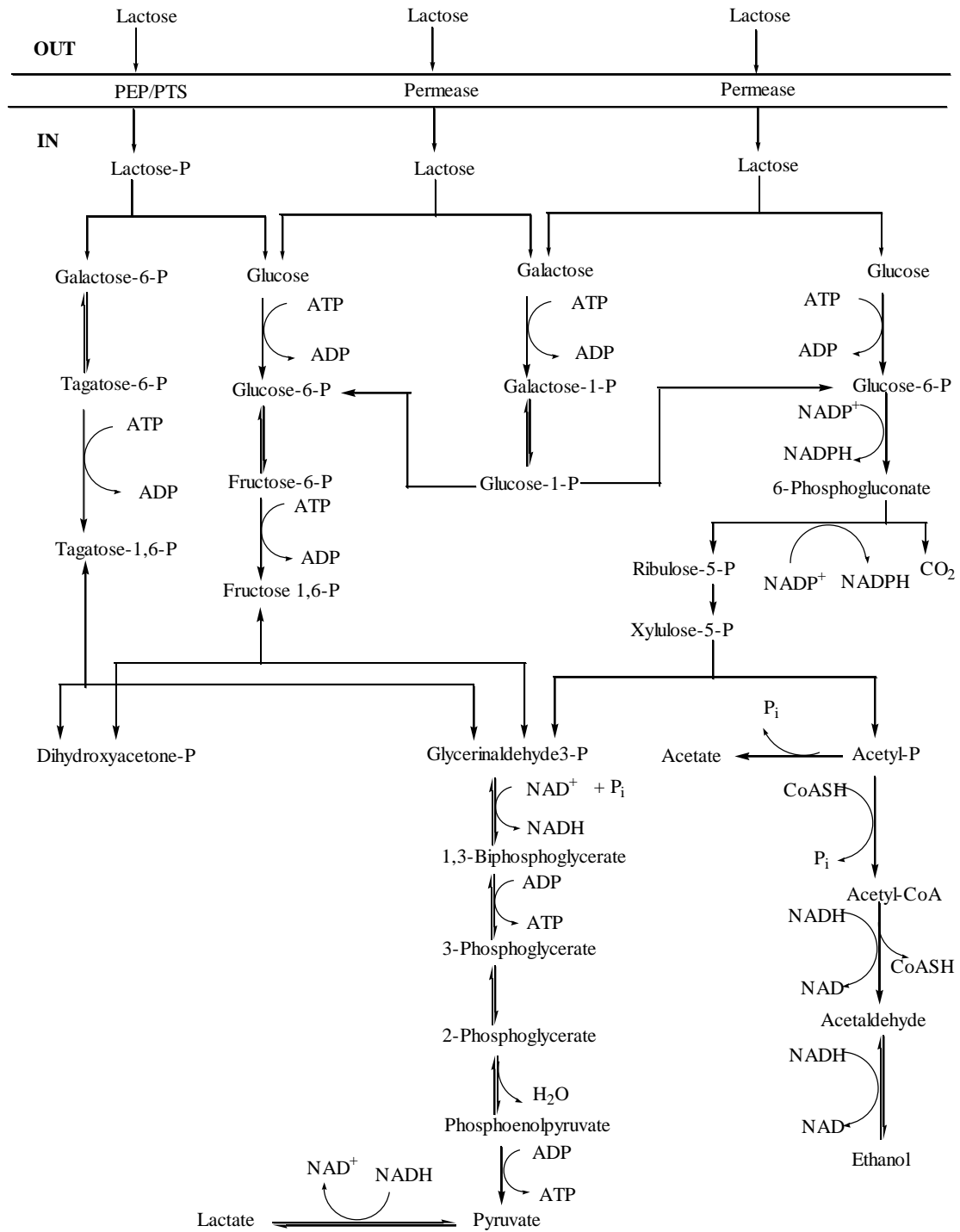
βακτήρια καταβολίζουν την λακτόζη του γάλακτος προς πυροσταφυλικό οξύ, το οποίο με την βοήθεια της γαλακτικής δεϋδρογενάσης μετατρέπεται τελικά σε γαλακτικό οξύ. Το στάδιο αυτό είναι κρίσιμο για την παρασκευή του τυριού καθώς η πτώση του pH που προκαλεί το γαλακτικό οξύ διευκολύνει την δράση της πυτιάς, τον σχηματισμό του πήγματος, την δράση άλλων ενζύμων και φυσικά προστατεύει το τυρί κατά την διάρκεια της ωρίμανσης από ανεπιθύμητους παθογόνους ή αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς. Κάποια οξυγαλακτικά βακτήρια είναι ομοζυμωτικά και ακολουθούν το μονοπάτι της γλυκόλυσης για τον καταβολισμό των σακχάρων ενώ τα λεγόμενα ετεροζυμωτικά ακολουθούν το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών.

Οι τρόποι μεταφοράς της λακτόζης στο εσωτερικό του κυττάρου των οξυγαλακτικών βακτηρίων, καθώς και ο **καταβολισμός της λακτόζης** έχουν διευκρινισθεί για τα περισσότερα είδη (Σχήμα 5). Στα θερμοφιλά είδη και στο γένος *Leuconostoc*, η μεταφορά γίνεται συνήθως από την περμεάση της λακτόζης, η οποία μεταφέρει την λακτόζη ως έχει στο εσωτερικό του κυττάρου. Μέσα στο κύτταρο υδρολύεται από την β-γαλακτοζιδάση σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Τα ομοζυμωτικά βακτήρια καταβολίζουν την παραγόμενη γλυκόζη μέσω της οδού της γλυκόλυσης, παράγοντας θεωρητικά 2 mole γαλακτικού οξέος και 2 mole ATP ανά mole γλυκόζης. Η γαλακτόζη συνήθως εκκρίνεται προς το εξωτερικό του κυττάρου. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις, στις οποίες η γαλακτόζη μεταβολίζεται μέσω της οδού Leloir σε γλυκόζη-1-P, η οποία εν συνεχεία εισέρχεται στην γλυκόλυση.

Στα ετεροζυμωτικά βακτήρια ο καταβολισμός της γλυκόζης και της γαλακτόζης γίνεται μέσω της οδού των φωσφορικών πεντοζών. Η αντίδραση κλειδί στο μονοπάτι αυτό είναι η μετατροπή της ξυλουλόζης-5-P σε γλυκεριναλδεϋδη-3-P και ακετυλο-φωσφορικό οξύ. Η γλυκεριναλδεϋδη-3-P μετατρέπεται εν συνεχεία σε γαλακτικό οξύ, ενώ το ακετυλο-φωσφορικό οξύ σε οξικό οξύ και αιθανόλη (Σχήμα 5). Από 1 mole γλυκόζης η ετερογαλακτική ζύμωση παράγει θεωρητικά ισοδύναμες ποσότητες (1 mole) γαλακτικού οξέος, οξικού οξέος ή αιθανόλης, CO₂ και ATP.

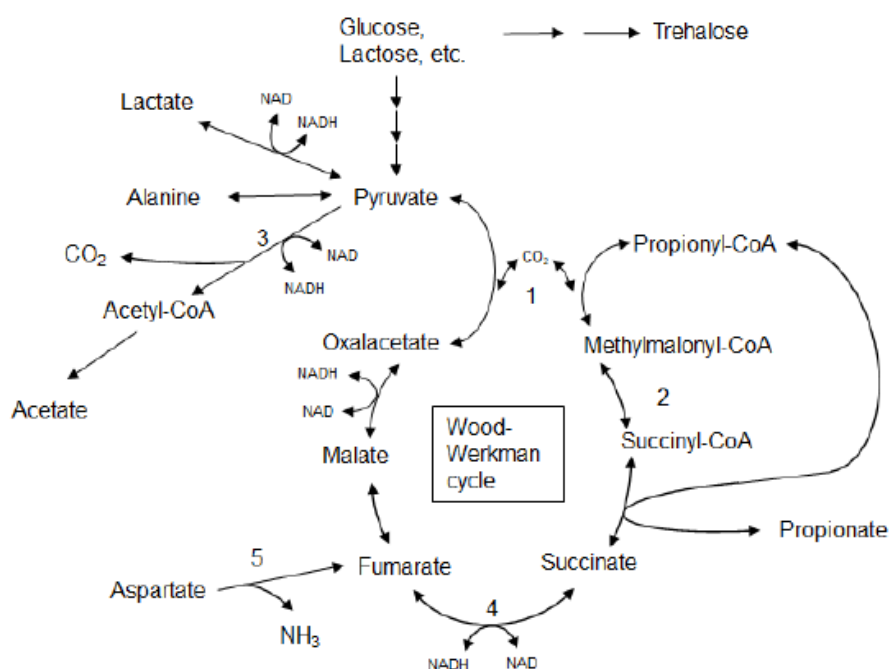
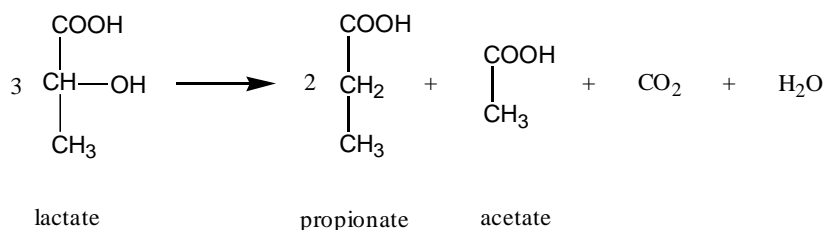
Στο είδος *Lactococcus lactis* αλλά και σε πολλά είδη του γένους *Lactobacillus*, η μεταφορά της λακτόζης γίνεται από το σύστημα της φωσφοτρανσφοράσης του φωσφοενολπυροσταφυλικού οξέος (PEP/PTS; phosphoenolpyruvate / phosphotransferase system) (Σχήμα 5). Η λακτόζη μεταφέρεται στο εσωτερικό του κυττάρου με ταυτόχρονη φωσφορυλίωση. Μέσα στο κύτταρο υδρολύεται από την φωσφο-β-γαλακτοζιδάση σε γλυκόζη και 6-φωσφορική γαλακτόζη. Το σύστημα PEP/PTS είναι γενικά επαγωγίμο και καταστέλλεται από την γλυκόζη. Ενώ το σύστημα της περμεάσης που προαναφέρθηκε είναι ένα απλό ενζυμικό σύστημα, το σύστημα PEP/PTS είναι σχετικά πολύπλοκο. Αποτελείται από τέσσερις πρωτεΐνες και απαιτεί παρουσία Mg²⁺. Δύο από τις πρωτεΐνες αυτές, το ένζυμο II και το ένζυμο III βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη και παρουσιάζουν υψηλή εξειδίκευση ως προς το σάκχαρο-υπόστρωμα. Αντίθετα, το ένζυμο I και η χαμηλού μοριακού βάρους θερμοανθεκτική πρωτεΐνη HPr είναι κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες και είναι κοινές σε όλα τα συστήματα PEP/PTS. Ο περαιτέρω καταβολισμός της γλυκόζης προς γαλακτικό οξύ γίνεται μέσω της

γλυκόλυσης. Αντίθετα, η γαλακτόζη-6-P μεταβολίζεται μέσω παραγώγων της ταγκατόζης σε γλυκεριναλδεΐδη-3-P και φωσφορική διϋδροξυακετόνη, οι οποίες εν συνεχεία εισέρχονται στην οδό της γλυκόλυσης.



Σχήμα 5. Ο καταβολισμός της λακτόζης

Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η μετατροπή του γαλακτικού οξέος και σακχάρων σε **προπιονικό οξύ** από τα προπιονικά βακτήρια (Propionic Acid Bacteria; Γένος *Propionibacterium*) στα τυριά Ελβετικού τύπου, όπως το Emmental αλλά και η Ελληνική Γραβιέρα. Το γαλακτικό οξύ που παράγεται στην πρώτη φάση της ζύμωσης από τα οξυγαλακτικά βακτήρια αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας για τα προπιονικά βακτήρια. Η στοιχειομετρία της μετατροπής παρουσιάζεται συνοπτικά παρακάτω, αν και στην πράξη συνήθως υπάρχουν αποκλίσεις, ενώ το πλήρες μονοπάτι στο Σχήμα 5α.



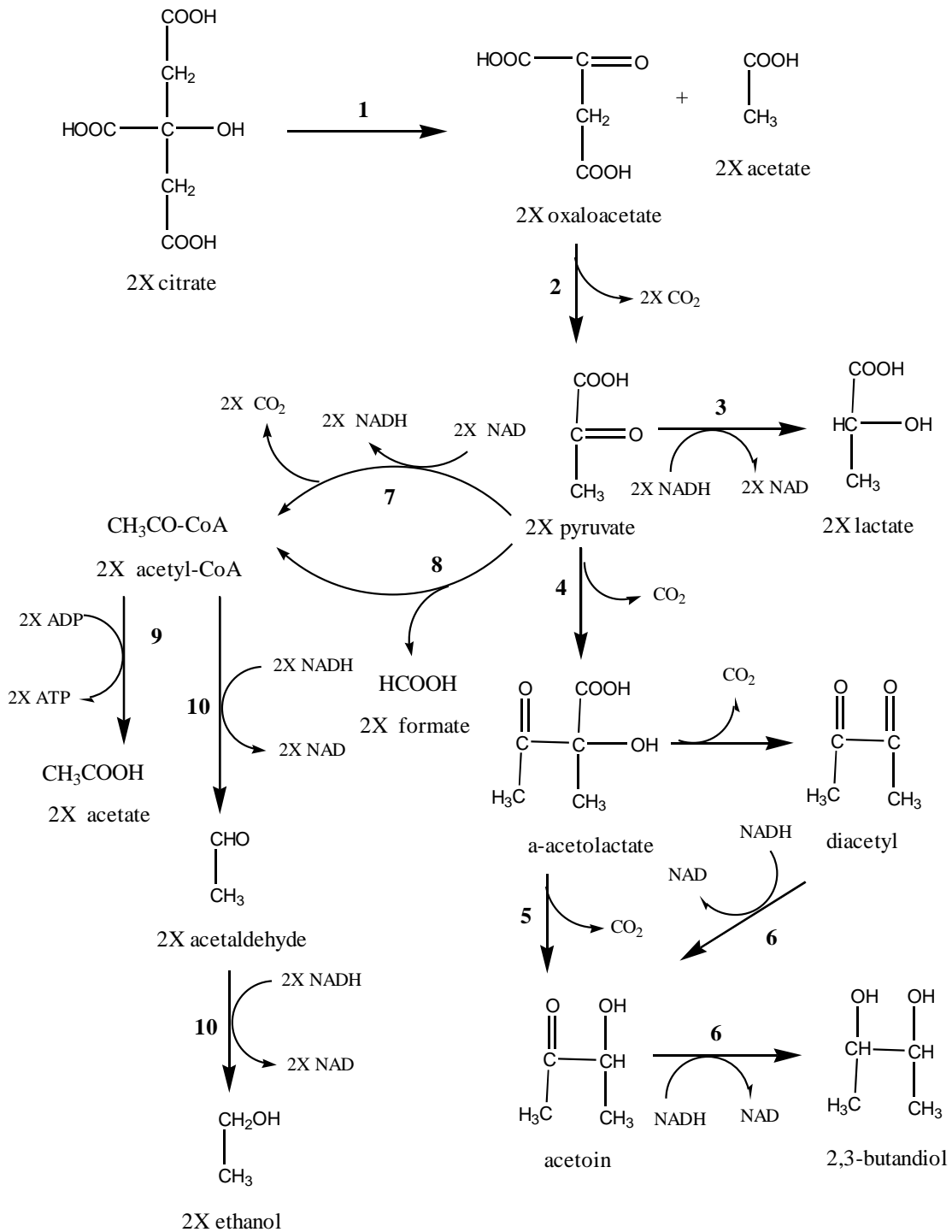
Σχήμα 5α. Ο μεταβολισμός του πυροσταφυλικού οξέος στο είδος *Propionibacterium freudenreichii*. 1: καρβόξυ-μεταφοράση του μέθυλο-μηλόνυλο-CoA; 2: μουτάση του μέθυλο-μηλόνυλο-CoA; 3: πυροσταφυλική αφυδρογονάση; 4: αναγωγή φουμαρικού; 5: λυάση ασπαραγινικού-αμμωνίας

Το γαλακτικό οξύ μετετρέπεται σε προπιονικό οξύ μέσω του μονοπατιού του μέθυλο-μηλόνυλο-CoA, γνωστού ως κύκλου των Wood-Werkman (WWC) ή των καρβόξυ-μεταφορασών. Το μονοπάτι περιλαμβάνει δι-καρβοξυλικά οξέα (οξαλοξικό, φουμαρικό, μηλικό και ηλεκτρικό οξύ) και χρησιμοποιεί το NADH που παράγεται στην γλυκόλυση για την

μετατροπή του γαλακτικού σε πυροσταφυλικό ή του πυροσταφυλικού σε οξικό. Όλες οι αντιδράσεις του WWC είναι αντιστρεπτές. Οι κρίσιμες αντιδράσεις για την παραγωγή του προπιονικού οξέος είναι οι αντιδράσεις 1 και 2. Η αντίδραση 1 είναι μια αντίδραση τρανσκαρβοξυλίωσης, χωρίς την συμμετοχή ελεύθερου CO₂, κατά την οποία μια καρβοξυλική ομάδα μεταφέρεται από το μέθυλο-μηλότυλο-CoA στο πυροσταφυλικό ώστε να σχηματισθεί οξαλοξικό και προπιότυλο-CoA. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από την καρβόξυ-μεταφοράση του μέθυλο-μηλότυλο-CoA (με συνένζυμο την βιοτίνη) και το ένζυμο αυτό έχει βρεθεί μέχρι σήμερα μόνο στα προπιονικά βακτήρια. Η αντίδραση 2 καταλύεται από ένα άλλο σημαντικό ένζυμο την μουτάση του μέθυλο-μηλότυλο-CoA, γνωστής και ως ισομεράση του μέθυλο-μηλότυλο-CoA, η οποία εξαρτάται από την βιταμίνη B12 και καταλύει την ισομερείωση του ηλέκτυλο-CoA σε μέθυλο-μηλότυλο-CoA.

Μια εναλλακτική πηγή άνθρακα για τα οξυγαλακτικά βακτήρια στο γάλα είναι και το **κιτρικό οξύ** (9 mM), ο μεταβολισμός του οποίου θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στις ζυμώσεις του γάλακτος (Σχήμα 5β). Η ικανότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων να καταβολίζουν το κιτρικό ποικίλει και εξαρτάται από την παρουσία ενός πλασμιδίου που περιέχει το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη που μεταφέρει το κιτρικό οξύ στο εσωτερικό του κυττάρου (περμεάση κιτρικού). Μέσα στο κύτταρο το κιτρικό μετατρέπεται αρχικά σε οξικό οξύ και οξαλοξικό οξύ με την βοήθεια της λυάσης του κιτρικού. Το οξαλοξικό οξύ εν συνεχεία αποκαρβοξυλιώνεται προς πυροσταφυλικό οξύ. Ανάλογα με τον ενζυμικό εξοπλισμό του κυττάρου το πυροσταφυλικό μπορεί να μετατραπεί:

- 1) σε ακέτυλο-CoA (μέσω της δεϋδρογενάσης του πυροσταφυλικού), το οποίο εν συνεχεία μπορεί να δώσει οξικό (μέσω της κινάσης του οξικού) ή ακεταλδεϋδη και αιθανόλη (μέσω της αλκοολικής δεϋδρογενάσης),
- 2) σε μυρμηκικό (μέσω της λυάσης πυροσταφυλικού-μυρμηκικού),
- 3) σε α-ακέτυλο-γαλακτικό (μέσω της συνθάσης του α-ακέτυλου-γαλακτικού), το οποίο μπορεί να μετατραπεί
 - a. είτε σε ακετοΐνη (μέσω της αποκαρβοξυλάσης του α-ακέτυλου-γαλακτικού) και εν συνεχεία σε 2,3-βουτανودیολη (μέσω της αναγωγάσης ακετοΐνης-διακετυλίου),
 - b. είτε πρώτα σε διακετύλιο (χημικά και παρουσία O₂) και εν συνεχεία πάλι σε 2,3-βουτανودیολη (μέσω της αναγωγάσης ακετοΐνης-διακετυλίου), και τέλος,
- 4) σε γαλακτικό (μέσω της γαλακτικής δεϋδρογενάσης).



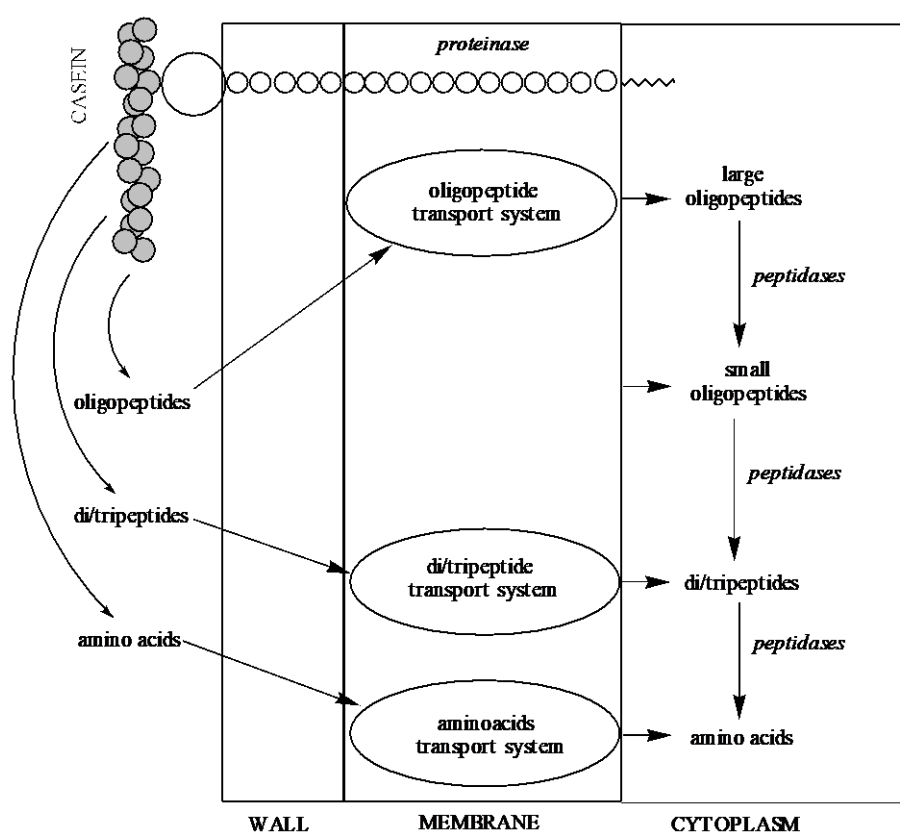
Σχήμα 5β. Ο καταβολισμός του κιτρικού οξέος. Ένζυμα: 1: λύση κιτρικού, 2: αποκαρβοξυλάση οξαλοξικού, 3: γαλακτική δεϋδρογενάση, 4: συνθάση α-ακετολυ-γαλακτικού, 5: αποκαρβοξυλάση α-ακετολυ-γαλακτικού, 6: αναγωγή ακετοΐνης-διακετυλίου, 7: πυροσταφυλική δεϋδρογενάση, 8: λύση πυροσταφυλικού-μυρμηκικού, 9: κινάση οξικού και 10: αλκοολική δεϋδρογενάση

Κατά τον καταβολισμό του κιτρικού οξέος ενέργεια παράγεται κυρίως από την μετατροπή του ακετύλο-CoA σε οξικό οξύ, πράγμα που σημαίνει ότι το κιτρικό λειτουργεί ως αποδέκτης ηλεκτρονίων οδηγώντας σε υψηλή παραγωγή οξικού και ATP μέσω της αντίδρασης της κινάσης του οξικού. Πολλά από τα προϊόντα του καταβολισμού του κιτρικού οξέος, όπως το διακετύλιο, η ακεταλδεΐδη και η ακετοΐνη έχουν ιδιάζουσες αρωματικές ιδιότητες και ως εκ τούτου επηρεάζουν σημαντικά το άρωμα και την γεύση των προϊόντων ζύμωσης του γάλακτος. Ιδιαίτερα το διακετύλιο χαρίζει αρωματικές ιδιότητες στα φρέσκα τυριά, στο βούτυρο και στην κρέμα γάλακτος. Επίσης, το παραγόμενο CO₂ μπορεί να συμβάλει στην διαμόρφωση των δομικών χαρακτηριστικών κάποιων γαλακτοκομικών προϊόντων.

Η **πήξη** του γάλακτος προκαλείται από την ρεννίνη (πυτιά). Η κλασική πυτιά απομονώνεται από το τέταρτο στομάχι (ήνυστρο) μη απογαλακτισμένων ζώων και αποτελείται από χυμοσίνη (> 80%, M.B. 31.4 kDa) και πεψίνη (< 20%, M.B. 33.4 kDa). Σήμερα, η πυτιά παρασκευάζεται βιοτεχνολογικά, χάρις στην κλωνοποίηση των αντιστοιχών γονιδίων σε μικροοργανισμούς των γενών *Kluyveromyces*, *Aspergillus* και *Mucor*. Η πυτιά υδρολύει τον δεσμό Phe105 - Met106 στο μόριο της κ-καζεΐνης και ελευθερώνει το αρνητικά φορτισμένο γλυκομακροπεπτιδίο και την παρα-κ-καζεΐνη. Το αποτέλεσμα είναι η μείωση του συνολικού αρνητικού φορτίου των μικκυλίων, άρα η αποσταθεροποίηση, η συσσωμάτωση τους και τελικά ο σχηματισμός του πήγματος. Η **υδρόλυση της κ-καζεΐνης** από την ρεννίνη ακολουθεί την τυπική κινητική Michaelis-Menten και το βέλτιστο pH της αντίδρασης είναι 5.1-5.3. Η δράση της ρεννίνης επεκτείνεται γρήγορα και στα μη προστατευμένα πλέον μόρια της α- και β-καζεΐνης, με την β-καζεΐνη να υδρολύεται με μικρότερη ταχύτητα. Περίπου το 10% της ρεννίνης παραμένει στο πήγμα και μετά την στράγγιση και συνεχίζει την δράση της ιδιαίτερα κατά τον πρώτο μήνα της ωρίμανσης. Στα τυριά, στα οποία το πήγμα υφίσταται θερμική επεξεργασία (π.χ. σκληρά τυριά), η υπολειπόμενη ρεννίνη απενεργοποιείται. Στις περιπτώσεις αυτές τον κύριο ρόλο στο φαινόμενο της πρωτεόλυσης κατά την ωρίμανση του τυριού αναλαμβάνει η ενδογενής πρωτεΐνωση του γάλακτος, η πλασμίνη, η οποία είναι θερμοανθεκτική.

Κατά την **ωρίμανση του τυριού**, την πρωτεολυτική δράση της ρεννίνης στα διάφορα κλάσματα της καζεΐνης συμπληρώνουν τα πρωτεολυτικά ένζυμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Αν και τα οξυγαλακτικά βακτήρια θεωρούνται λιγότερο πρωτεολυτικά από άλλες κατηγορίες μικροοργανισμών, διαθέτουν ένα πολύπλοκο πρωτεολυτικό σύστημα (Σχήμα 6), το οποίο αποτελείται από τις πρωτεΐνάσες του κυτταρικού τοιχώματος, τα συστήματα μεταφοράς πεπτιδίων και αμινοξέων, και τις ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες. Οι πρωτεΐνάσες του κυτταρικού τοιχώματος είναι επαγώγιμα ένζυμα και στις περισσότερες περιπτώσεις το αντίστοιχο γονίδιο είναι πλασμιδιακό. Ανήκουν στην κατηγορία των πρωτεΐνασών σερίνης και διακρίνονται σε δύο βασικούς τύπους. Η πρωτεΐνάση P_I υδρολύει μόνο την β-καζεΐνη, ενώ η πρωτεΐνάση P_{III} υδρολύει τόσο την α- όσο και την β-καζεΐνη. Οι δύο τύποι δίνουν διαφορετικά προϊόντα υδρόλυσης της β-καζεΐνης.

Τα πεπτίδια και αμινοξέα που προκύπτουν από την δράση των πρωτεϊνών μεταφέρονται στο εσωτερικό του κυττάρου μέσω εξειδικευμένων συστημάτων μεταφοράς. Μέχρι σήμερα, έχουν βρεθεί και μελετηθεί τρία διακριτά συστήματα μεταφοράς πεπτιδίων / αμινοξέων στα οξυγαλακτικά βακτήρια. Το σύστημα μεταφοράς αμινοξέων, το οποίο ανάλογα με το αμινοξύ εξαρτάται ενεργειακά είτε από διαβάθμιση συγκέντρωσης H^+ , είτε από κατανάλωση ATP, είτε τέλος λειτουργεί ως αντιμεταφορέας. Το σύστημα μεταφοράς δι- και τρι-πεπτιδίων παρουσιάζει ευρεία εξειδίκευση ως προς την σύνθεση των δι- και τρι-πεπτιδίων, εξαρτάται δε ενεργειακά από διαβάθμιση συγκέντρωσης H^+ . Το σύστημα μεταφοράς ολιγοπεπτιδίων μπορεί να μεταφέρει πεπτίδια που αποτελούνται συνήθως από 4 μέχρι και 35 αμινοξέα.

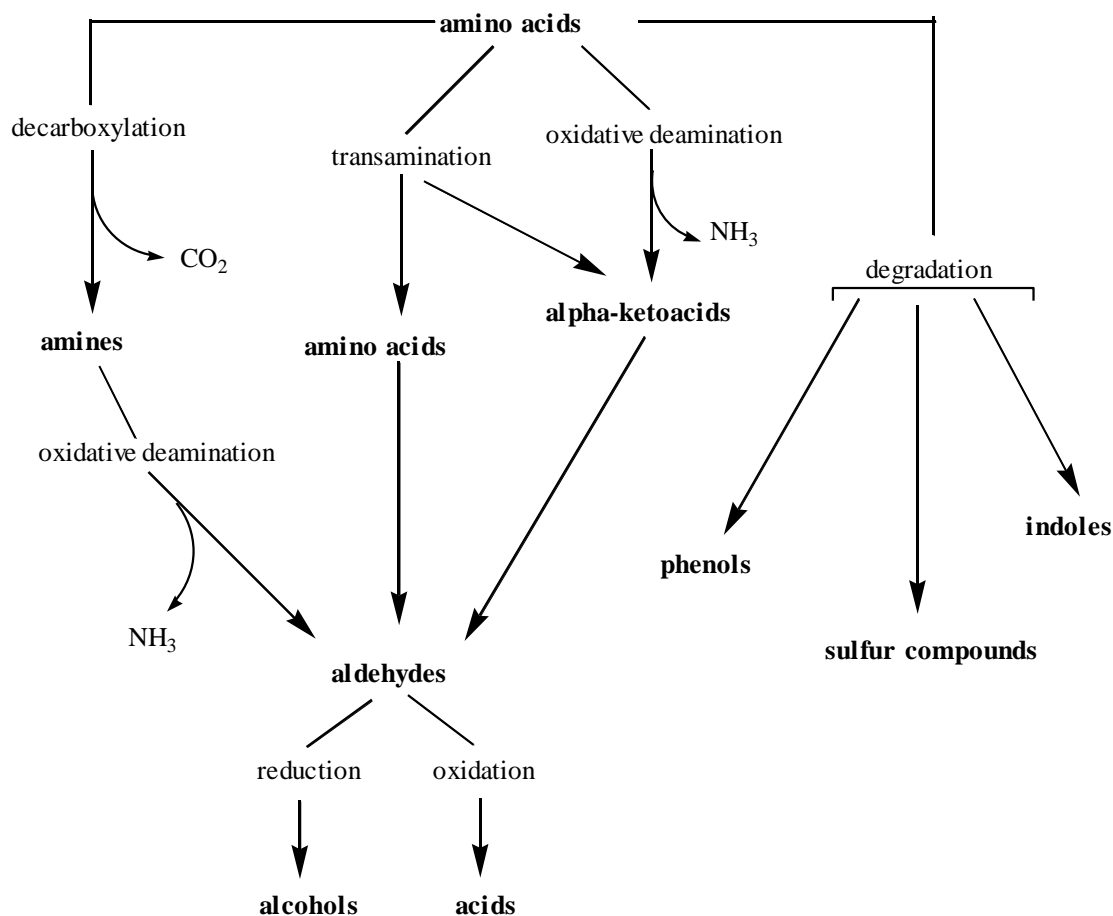


Σχήμα 6. Το πρωτεολυτικό σύστημα των οξυγαλακτικών βακτηρίων

Οι ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες αναλαμβάνουν την τελική υδρόλυση των πεπτιδίων που εισέρχονται στο εσωτερικό του κυττάρου. Ανάλογα με την εξειδίκευσή τους οι ενδοκυτταρικές πεπτιδάσες κατατάσσονται σε κατηγορίες όπως η X-προλυλο-διπεπτυλο-αμινοπεπτιδάση, οι αμινοπεπτιδάσες N, οι αμινοπεπτιδάσες C, οι προλυλο-ιμινο-πεπτιδάσες, οι δι-πεπτιδάσες, οι τρι-πεπτιδάσες, οι ενδο-πεπτιδάσες κλπ. Μέχρι σήμερα, ένας μεγάλος αριθμός πεπτιδάσων έχει απομονωθεί και χαρακτηριστεί τόσο βιοχημικά όσο και γενετικά.

Ο βαθμός πρωτεόλυσης των καζεϊνών και τα παραγόμενα πεπτίδια καθορίζουν τα δομικά χαρακτηριστικά του τυριού. Παράλληλα, τα μικρού μοριακού βάρους πεπτίδια και τα ελεύθερα αμινοξέα που παράγονται κατά την πρωτεόλυση συνεισφέρουν στην διαμόρφωση της γεύσης του τυριού. Μεγάλη σημασία έχουν τα λεγόμενα πικρά πεπτίδια, τα οποία είναι μικρού μοριακού βάρους, πλούσια σε υδρόφοβα αμινοξέα, όπως π.χ. λευκίνη και φαινυλαλανίνη. Η δυσάρεστη πικρή γεύση που προκαλούν χάνεται με την περαιτέρω αποικοδόμησή τους.

Εκτός όμως από αυτά καθ' αυτά τα **ελεύθερα αμινοξέα**, σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση της γεύσης του τυριού παίζουν και τα προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού τους. Αυτά προέρχονται από αντιδράσεις αποκαρβοξυλίωσης, τρανσαμίνωσης, απαμίνωσης και υδρολυτικής αποικοδόμησης, οι οποίες καταλύονται από μικροβιακά ένζυμα, είτε των εναρκτήριων καλλιιεργειών που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή του τυριού, είτε της δευτερογενούς μικροχλωρίδας του τυριού (Σχήμα 7). Τα προϊόντα των αντιδράσεων αυτών δεν είναι πάντα επιθυμητά. Έτσι, η αποκαρβοξυλίωση των αμινοξέων προς αμίνες, όπως π.χ. η τυραμίνη και η ισταμίνη, δημιουργεί δυσάρεστα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και μπορεί να προκαλέσει αλλεργικού τύπου τροφιμογενείς δηλητηριάσεις με κύρια συμπτώματα την ναυτία και τους πονοκεφάλους.



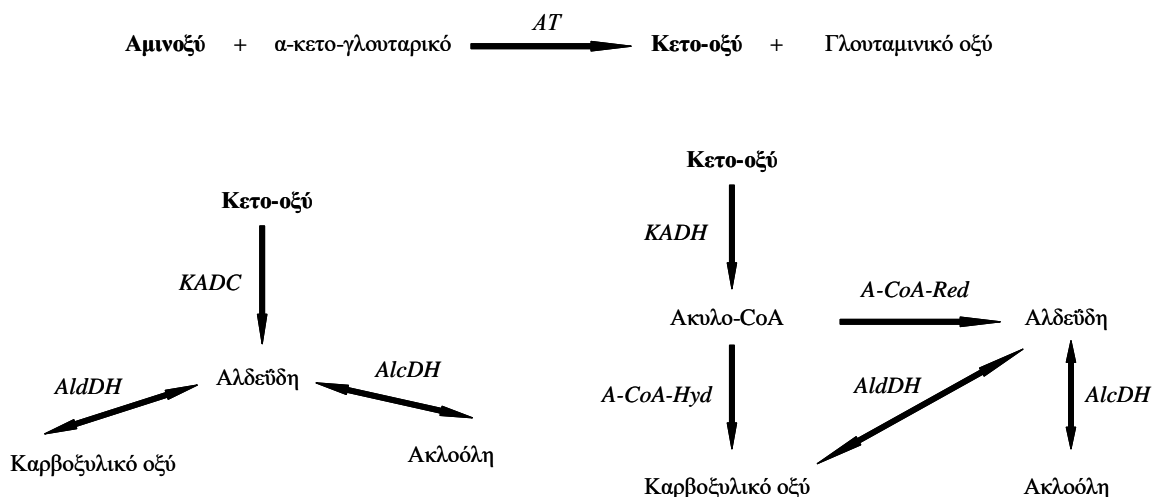
Σχήμα 7. Ο δευτερογενής καταβολισμός αμινοξέων

Σήμερα το ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώνεται στα **διακλαδισμένα, θειούχα και αρωματικά αμινοξέα** και την συμβολή τους στην διαμόρφωση του αρώματος και της γεύσης στα προϊόντα ζύμωσης του γάλακτος. Ο καταβολισμός των αμινοξέων αυτών έχει μελετηθεί διεξοδικά για το είδος *Lactococcus lactis* και τους μεσόφιλους γαλακτοβακίλλους. Στα βακτήρια αυτά ο καταβολισμός των αμινοξέων ξεκινά με μια αντίδραση τρανσαμίνωσης, η οποία απαιτεί την παρουσία ενός α-κετο-οξέος, το οποίο λειτουργεί ως αποδέκτης μιας αμινομάδας. Η παραγωγή α-κετο-οξέων από τα οξυγαλακτικά βακτήρια συχνά περιορίζει τον καταβολισμό των αμινοξέων αλλά υπάρχουν στελέχη, τα οποία διαθέτουν ενεργότητα δεϋδρογενάσης του γλουταμινικού οξέος. Χάρης σ' αυτήν μπορούν να καταβολίσουν τα αμινοξέα προς ενώσεις, οι οποίες είναι πολύ χαρακτηριστικές για κάποιους τύπους τυριών (Πίνακας 9 και Σχήμα 8).

Πίνακας 9. Προϊόντα αποικοδόμησης φαινυλανίνης (Phe), λευκίνης (Leu) και μεθειονίνης (Met)

Προϊόντα αποικοδόμησης			
Ένωση	Phe	Leu	Met
α-κετο-οξύ R-CH ₂ -CO-COOH	Φαινυλο-πυροσατυλικό	α-κετο-ισοκαπροϊκό	α-κετο-μεθυλο-θειο-βουτυρικό
Υδροξύ-οξύ R-CH ₂ -CHO-COOH	Φαινυλο-γαλακτικό	Υδροξύ-ισοκαπροϊκό	Υδροξύ-μεθυλο-θειο-βουτυρικό
Καρβοξυλικό οξύ R-CH ₂ -COOH	Φαινυλοξικό	Ισοβαλερικό	3-μεθυλο-θειο-προπιονικό
Αλδεΐδη R-CH ₂ -CHO	Φαινυλο-ακεταλδεΐδη	3-μεθυλο-βουτανάλη ή ισοβαλεραλδεΐδη	Μεθειονάλη
Αλκοόλη R-CH ₂ -CHOH		3-μεθυλο-βουτανόλη	Μεθειονόλη
Πτητικές θειούχες ενώσεις			Μεθανοθειόλη Διμεθυλο-δισουλφίδιο Διμεθυλο-τρисуλφίδιο

Έτσι στα Ελβετικού τύπου τυριά ενώσεις που προέρχονται από διακλαδισμένα αμινοξέα (3-μεθυλο-βουτανάλη, ισοβουτυρικό οξύ ή ισοβαλερικό οξύ και οι εστέρες τους), την μεθειονίνη (μεθειονάλη, μεθανοθειόλη, διμεθυλο-τρисуλφίδιο) και την φαινυλαλανίνη (φαινυλοξικό οξύ, φαινυλακεταλδεΰδη) είναι οι ενώσεις-κλειδιά για το άρωμα τους. Το ισοβουτυρικό οξύ και το ισοβαλερικό οξύ διαμορφώνουν τους τόνους γλυκιάς γεύσης και έντονης γεύσης τυριού, αντίστοιχα, ενώ η 3-μεθυλο-βουτανάλη το άρωμα βύνης. Οι ενώσεις που προέρχονται από την μεθειονίνη έχουν **τόνους** θείου που γενικά αρέσουν όταν υπάρχουν στο τυρί. Τέλος, το φαινυλοξικό οξύ και η φαινυλο-ακεταλδεΰδη προσδίδουν φρουτώδεις τόνους. Κάποιες φορές βέβαια σχηματίζονται ενώσεις, όπως η μεθειονάλη από την μεθειονίνη ή η ινδόλη από την τρυπτοφάνη, οι οποίες όταν βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις ευθύνονται για την δυσάρεστη οσμή (off flavors).



Σχήμα 8. Καταβολισμός αμινοξέων από τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Ένζυμα: AT: αμινοτρανσφεράση, KADC: αποκαρβοξυλάση κετο-οξέος, KADH: δεϋδρογενάση κετο-οξέος, AldDH: αλδεϋδική δεϋδρογενάση, AlcDH: αλκοολική δεϋδρογενάση, A-CoA-Red: αναγωγή ακυλο-CoA, A-CoA-Hyd: υδρολάση ακυλο-CoA

Παράλληλα με την υδρόλυση των πρωτεϊνών του γάλακτος, κατά την διάρκεια της ωρίμανσης λαμβάνει χώρα και μερική **υδρόλυση του λίπους** του γάλακτος. Η κύρια ενδογενής λιπάση του γάλακτος είναι η λιποπρωτεΐνη λιπάση. Όπως και η ενδογενής πρωτεΐνάση του γάλακτος πλασμίνη, έτσι και η λιποπρωτεΐνη λιπάση είναι συνδεδεμένη με τα καζεϊνικά μικκύλια. Ο βιολογικός ρόλος του ενζύμου στο ζώο είναι η μεταφορά λιπαρών οξέων από τα τριγλυκερίδια του αίματος στα επιθηλιακά κύτταρα του μαστού, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν στην βιοσύνθεση του λίπους του γάλακτος. Υδρολύει τριγλυκερίδια μικρού και μεγάλου μοριακού βάρους και μερικώς διγλυκερίδια και φωσφολιπίδια. Το ένζυμο έχει μεγάλη εξειδίκευση ως προς την θέση *sn*-1 των τριγλυκεριδίων, αλλά προσβάλλει εύκολα και

γρήγορα και την θέση *sn-3*, στην οποία όπως προαναφέρθηκε απαντώνται τα μικρού μοριακού βάρους λιπαρά οξέα.

Η λιποπρωτεΐνη λιπάση είναι υπεύθυνη για την αυθόρμητη λιπόλυση στο γάλα. Τα λιποσφαίρια του γάλακτος φαίνεται ότι είναι κατ' αρχήν ανθεκτικά στο ένζυμο, καθώς η μεγαλύτερη ποσότητα του ενζύμου είναι συνδεδεμένη με τα καζεϊνικά μικκύλια. Η ψύξη του γάλακτος όμως επάγει την μεταφορά του ενζύμου από τα καζεϊνικά μικκύλια στα λιποσφαίρια, και κατά συνέπεια επάγει την λιπόλυση. Ο μηχανισμός της μεταφοράς είναι ακόμη ασαφής. Η λιπάση απενεργοποιείται κατά την παστερίωση, αν και υπάρχουν ενδείξεις ότι η χαμηλή παστερίωση δεν καταστρέφει πλήρως το ένζυμο.

Το είδος των παραγόμενων λιπαρών οξέων εξαρτάται τόσο από το λίπος του γάλακτος (ποσότητα, σύνθεση), όσο και από το λιπολυτικό ένζυμο. Η καλή γεύση του τελικού προϊόντος στηρίζεται σε μια ευαίσθητη ισορροπία μεταξύ των παραγόμενων λιπαρών οξέων, ενώ η ανάπτυξη ταγγής γεύσης οφείλεται είτε σε υπερβολική υδρόλυση του λίπους (υδρολυτική τάγγιση), είτε στην οξειδωση ακόρεστων λιπαρών οξέων (οξειδωτική τάγγιση). Πρέπει να τονισθεί, ότι και το ίδιο το λίπος είναι σημαντικό για την γεύση, καθώς κρατά θα λέγαμε εν διαλύσει τα αρωματικά, υδρόφοβα συστατικά του προϊόντος. Τέλος, τα λιπαρά οξέα που ελευθερώνονται μπορούν να μετατραπούν δευτερογενώς σε μεθυλοκετόνες, θειοεστέρες, δ-κετο-οξέα, δ-υδροξυ-οξέα και λακτόνες, ενώσεις, οι οποίες συμβάλλουν συμπληρωματικά στην γεύση του τελικού προϊόντος.

Εκτός από την ενδογενή λιπάση του γάλακτος, στην λιπόλυση συμμετέχουν και οι εξωγενείς λιπάσες, οι λιπάσες ψυχρότροφων βακτηρίων, και τέλος τα λιπολυτικά ένζυμα των οξυγαλακτικών βακτηρίων, τα οποία χρησιμοποιούνται ως εναρκτήριες καλλιέργειες. Σε πολλές ποικιλίες τυριών χρησιμοποιούνται εξωγενή ένζυμα, όπως η προγαστρική λιπάση ή λιπάσες μικροβιακής προέλευσης. Τα ένζυμα αυτά προστίθενται είτε υπό μερικώς καθαρή μορφή, είτε ως συστατικό της πυτιάς. Με τον τρόπο αυτό ελέγχεται ο βαθμός λιπόλυσης και επιτυγχάνεται η επιθυμητή χαρακτηριστική γεύση του τελικού προϊόντος. Η προγαστρική λιπάση παρουσιάζει εξειδίκευση ως προς την *sn-3* θέση των τριγλυκεριδίων, και επομένως παράγει υψηλές συγκεντρώσεις λιπαρών οξέων μικρού μοριακού βάρους.

Τα ψυχρότροφα βακτήρια αναπτύσσονται όταν το γάλα αποθηκευθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα σε χαμηλή θερμοκρασία. Παράγουν θερμοανθεκτικές λιπάσες, οι οποίες με την δράση τους οδηγούν στον σχηματισμό ταγγής γεύσης. Η συμμετοχή των οξυγαλακτικών βακτηρίων στην λιπόλυση κατά την διάρκεια της ωρίμανσης του τυριού θεωρείται δεδομένη, αν και τα οξυγαλακτικά βακτήρια θεωρούνται λιγότερο λιπολυτικά σε σύγκριση με άλλα είδη μικροοργανισμών. Πειράματα *in situ* έχουν δείξει την δράση των λιπολυτικών ενζύμων των οξυγαλακτικών βακτηρίων στο λίπος του γάλακτος. Παρ' όλ' αυτά είναι πολύ περιορισμένα τα δεδομένα που υπάρχουν σήμερα σχετικά με την φύση των ενζύμων αυτών καθώς και με την θέση τους μέσα στο κύτταρο. Ένας μεγάλος αριθμός λιπασών και εστερασών οξυγαλακτικών βακτηρίων έχουν απομονωθεί και χαρακτηριστεί βιοχημικά, υπάρχουν όμως ελάχιστες

πληροφορίες σε επίπεδο γονιδίων. Τέλος, στα τυριά που ωριμάζουν παρουσία μυκήτων, η λιπόλυση οφείλεται κυρίως στις λιπάσες των μικροοργανισμών αυτών. Το *Penicillium roquefortii* παράγει δύο λιπάσες, μια όξινη και μια αλκαλική, ενώ το *Penicillium camembertii* μια αλκαλική λιπάση. Τα ένζυμα αυτά μπορούν να υδρολύσουν μέχρι και το 10% του λίπους του γάλακτος.

ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ

1. Εισαγωγή

Οι φυτικοί ιστοί, χάρις στην ικανότητα τους να φωτοσυνθέτουν, προμηθεύουν ουσιαστικά τον άνθρωπο με κάθε είδους θρεπτικό συστατικό. Υπολογίζεται ότι 150 δισεκατομύρια τόννοι άνθρακα δεσμεύονται ετησίως από 300.000 διαφορετικά φυτικά είδη στην γη. Οι φυτικοί ιστοί παράγουν το 70% της πρωτεΐνης που καταναλώνεται παγκοσμίως από τους ανθρώπους, αν και στις αναπτυγμένες χώρες το ποσοστό αυτό είναι πολύ χαμηλότερο (20%).

Ανάμεσα στα φυτικά είδη, 100-200 είναι τα σημαντικότερα στο διεθνές εμπόριο των τροφίμων φυτικής προέλευσης, μεταξύ αυτών και η οικογένεια *Gramineae* (δημητριακά). Ειδικότερα, το σιτάρι, το καλαμπόκι, το κριθάρι και το ρύζι αντιπροσωπεύουν το 85% της παγκόσμιας παραγωγής δημητριακών. Τα δημητριακά αποτελούν μια πολύ σημαντική πηγή διατροφικών στοιχείων και ενέργειας, ιδιαίτερα στις αναπτυσσόμενες χώρες. Προμηθεύουν άμεσα ή έμμεσα το 70% της πρωτεΐνης που καταναλώνεται παγκοσμίως, καθώς και το 50% των διατροφικών θερμίδων, ενώ σε χώρες όπως η Κίνα και η Ινδία το ποσοστό αυτό ανέρχεται στο 80%. Παρά την μείωση της κατανάλωσης τους στις χώρες του Δυτικού κόσμου, τα δημητριακά εξακολουθούν να δίνουν το 20% των θερμίδων και των πρωτεϊνών, το 30-40% των υδατανθράκων, το 14% της ριβοφλαβίνης (B2), το 23% της νιασίνης (B3), και το 34% της θειαμίνης (B1). Το σιτάρι που χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή ψωμιού περιέχει ανά 100 g φρέσκου βάρους 454 mg κάλιο, 433 mg φωσφόρο, 183 mg μαγνήσιο και 45 mg ασβέστιο. Επί πλέον, τα τρόφιμα που προέρχονται από δημητριακά αποτελούν μια από τις σημαντικότερες πηγές διατητικών ινών.

Οι σπόροι των δημητριακών, λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας τους σε νερό (< 14%) η οποία περιορίζει την ανάπτυξη μικροοργανισμών αλλά και τις χημικές αντιδράσεις, δεν υφίστανται ζύμωση. Με αυτή την μορφή τα δημητριακά χρησιμοποιούνται για την παρασκευή προϊόντων, όπως τα ζυμαρικά, το σιμιγδάλι, το πλιγούρι, το porridge, τα γλυκά, κλπ. Όταν όμως τα δημητριακά αναμιχθούν με νερό, ως έχουν ή υπό μορφή αλεύρου, τότε λαμβάνουν χώρα ενζυμικές αντιδράσεις, οι οποίες προκαλούνται από τα ενδογενή ένζυμα των δημητριακών και από τα ένζυμα των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται κάτω από αυτές τις συνθήκες. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είτε αποτελούν την φυσική μικροχλωρίδα (μικροβίωμα) των δημητριακών είτε προστίθενται ως εναρκτήριες καλλιέργειες. Με αυτό τον τρόπο παράγονται παγκοσμίως πολλά προϊόντα ζύμωσης με πρώτη ύλη το σιτάρι, το κριθάρι, το καλαμπόκι, την σίκαλη, την βρώμη, το ρύζι, το σόργο κ.α. Τέτοια προϊόντα είναι διάφοροι τύποι ψωμιού, διάφοροι τύποι ζυμωμένων ξινών porridges και gruels, τα dumplings, η μπύρα, το σάκε, το ουϊσκυ κλπ. Οι λειτουργικές και οργανοληπτικές ιδιότητες των προϊόντων ζύμωσης ποικίλουν σημαντικά και εξαρτώνται τόσο από το είδος του δημητριακού που χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη, όσο και από την τεχνολογία παρασκευής και την μικροβιακή χλωρίδα που

εμπλέκεται στην ζύμωση. Πέραν των οργανοληπτικών ιδιοτήτων, η ζύμωση επηρεάζει τον χρόνο ζωής των τελικών προϊόντων αλλά και την διατροφική τους αξία.

Το κεφάλαιο αυτό θα συζητήσει τις βιοχημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την ανάπτυξη και την βλάστηση των δημητριακών, καθώς και κατά την μετατροπή τους στα δύο κύρια προϊόντα ζύμωσης, την μύρα και το ψωμί.

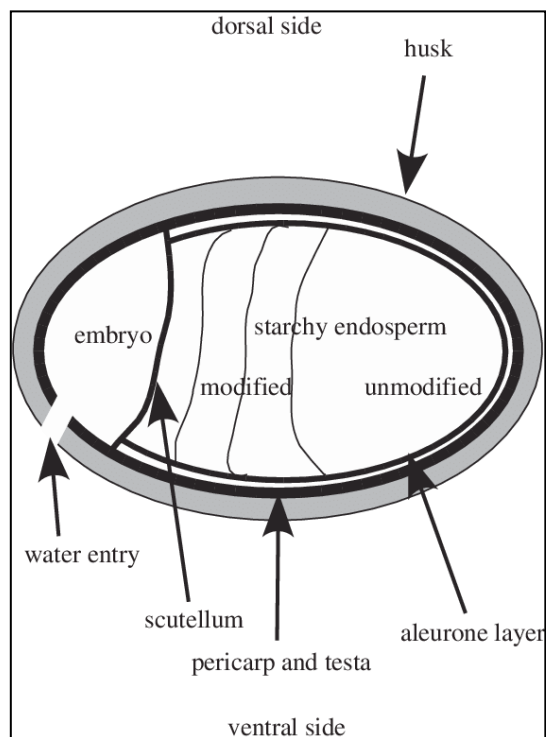
2. Η δομή και η σύσταση του σπόρου

Οι σπόροι των δημητριακών αποτελούνται από τρεις κύριους ιστούς, το έμβρυο, το ενδοσπέρμιο και το στρώμα της αλευρόνης που περιβάλλει το ενδοσπέρμιο (Σχήμα 1). Ανατομικά, η δομή των σπόρων των διαφόρων δημητριακών είναι παρόμοια με ελάχιστες διαφορές. Έτσι, ο σπόρος στο σιτάρι και το καλαμπόκι περιβάλλεται από τον φλοιό (seed coat) και το περικάρπιο (fruit coat), τα οποία συνιστούν την καρύωση, ενώ στο κριθάρι, την βρώμη και το ρύζι υπάρχει ένας επί πλέον φλοιός γύρω από την καρύωση. Το ενδοσπέρμιο αποτελεί το 80% του βάρους του σπόρου, το στρώμα της αλευρόνης το 8%, το περικάρπιο και ο φλοιός το 8.5%, και τέλος το έμβρυο το 3.5%.

Το περικάρπιο και ο φλοιός αποτελούνται από κυτταρίνη, ημικυτταρίνες και λιγνίνη. Περιέχουν επίσης διοξείδιο του πυριτίου και κάποιες υδατοδιαλυτές βιταμίνες, όπως η Β1 (θειαμίνη). Η αποφλοιώση του ρυζιού, σε χώρες των οποίων η διατροφή στηρίζονταν στο ρύζι, προκαλούσε έλλειψη της Β1 και αυτή με την σειρά της την ασθένεια beri-beri.

Τα αποθηκευτικά συστατικά του σπόρου είναι το άμυλο, τα λιπίδια και οι πρωτεΐνες (Πίνακες 1 και 2). Τα λιπίδια είναι υπεύθυνα για την ενεργειακή υποστήριξη του εμβρύου και του στρώματος της αλευρόνης κατά τα αρχικά στάδια της βλάστησης του σπόρου, μέχρις ότου αρχίσει το ενδοσπέρμιο να προσφέρει το άμυλο του ως πηγή ενέργειας. Εν συνεχεία, το ενδοσπέρμιο είναι αυτό που προμηθεύει στον σπόρο θρεπτικά συστατικά. Τα συστατικά αυτά ελευθερώνονται με την βοήθεια υδρολυτικών ενζύμων, τα οποία βρίσκονται κυρίως στα κύτταρα του εμβρύου και του στρώματος της αλευρόνης και υδρολύουν τα αποθηκευτικά συστατικά του ενδοσπερμίου.

Όταν τα δημητριακά αλέθονται, η απόδοση σε αλεύρι (βαθμός εκχύλισης) αντικατοπτρίζει τον βαθμό, στον οποίο τα πύριρα (περικάρπιο, φλοιός) και το έμβρυο απομακρύνονται και επομένως την λευκότητα του αλεύρου, την διατροφική του αξία και τις αρτοποιητικές του ιδιότητες. Ο μικρός βαθμός εκχύλισης μειώνει κατά συνέπεια την περιεκτικότητα του αλεύρου σε διαιτητικές ίνες, λίπος, βιταμίνες, ιχνοστοιχεία και επομένως υποβαθμίζει το διατροφικό του προφίλ.



Σχήμα 1. Διαγραμματική απεικόνιση του σπόρου του σιταριού

Πίνακας 1. Η μέση σύσταση των σπόρων του σιταριού, του καλαμποκιού και του ρυζιού (% του ξηρού βάρους)

	Πρωτεΐνες	Λίπη	Υδατάνθρακες
Σιτάρι	12	2	80
Καλαμπόκι	12	6.5	79
Ρύζι	9	2	82

Πίνακας 2. Η μέση σύσταση των τμημάτων του σπόρου του σιταριού (% του ξηρού βάρους)

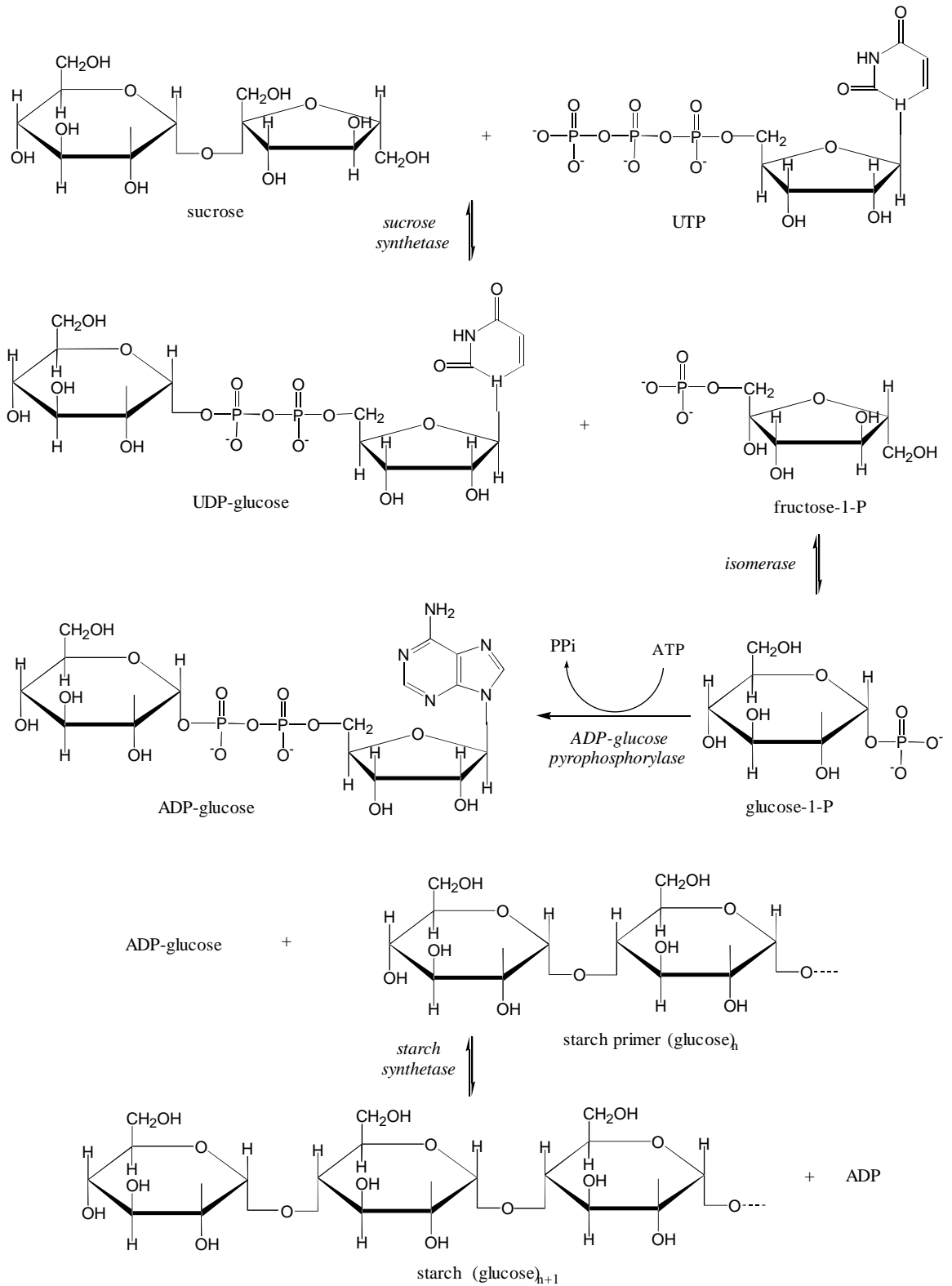
	Κλάσμα (%)	Πρωτεΐνες	Λίπη	Ιχνοστοιχεία
Σπόρος	100	12	2	2
Ενδοσπέρμιο*	80	10	1.2	0.6
Αλευρόνη	8	18	8.5	15
Φλοιός & περικάρπιο	8.5	6	1	3.5
Έμβρυο	3.5	25	10	4.5

* Οι ίδιες συγκεντρώσεις ισχύουν και για το αλεύρι

Το **άμυλο** αποτελείται από δύο μεγάλου μοριακού βάρους μόρια, την αμυλόζη και την αμυλοπηκτίνη. Η αμυλόζη είναι το μη διακλαδισμένο πολυμερές της γλυκόζης με α -1,4 δεσμούς, αν και υπάρχουν ελάχιστες α -1,6 διακλαδώσεις. Αποτελείται από περίπου 2.000 μόρια γλυκόζης και διαθέτει δομή γραμμικής έλικας, ικανής να εγκλωβίζει λιπίδια. Η αμυλοπηκτίνη είναι το διακλαδισμένο πολυμερές της γλυκόζης με μια α -1,6 διακλάδωση κάθε περίπου τριάντα α -1,4 δεσμούς. Σε αντίθεση με την αμυλόζη, πρόκειται για ένα εξαιρετικά διακλαδισμένο μόριο, με το 95% των δεσμών σε α -1,4 διαμόρφωση και το υπόλοιπο 5% σε α -1,6. Η αμυλοπηκτίνη δεν εγκλωβίζει λιπίδια. Αποτελείται από περίπου 2.000.000 μόρια γλυκόζης. Η συνήθης αναλογία αμυλόζης : αμυλοπηκτίνης είναι 1 : 3, αλλά εν τω μεταξύ έχουν αναπτυχθεί ποικιλίες δημητριακών με υψηλότερη του κανονικού περιεκτικότητα είτε σε αμυλόζη είτε σε αμυλοπηκτίνη. Αυτές χαρακτηρίζονται ως αμυλώδεις και κηρώδεις ποικιλίες, αντίστοιχα.

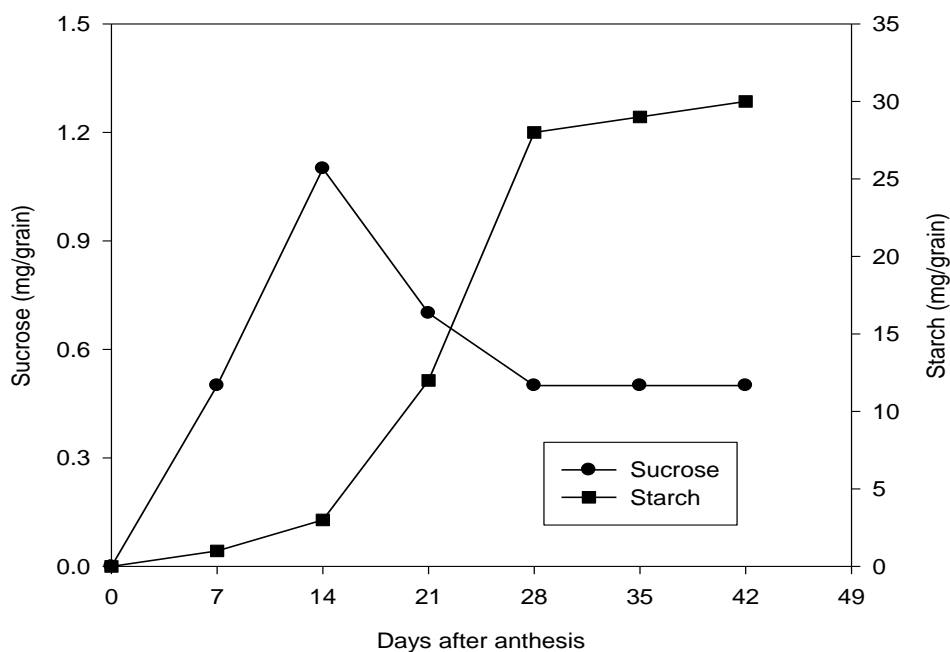
Στον ώριμο σπόρο, το άμυλο είναι οργανωμένο υπό την μορφή κοκκίων (granules), των οποίων το μέγεθος και το σχήμα εξαρτώνται από το είδος του δημητριακού. Στο σιτάρι οι διαστάσεις των κοκκίων του αμύλου κυμαίνονται από 2 έως 35 μm . Η δομή του αμύλου μέσα στα άθικτα κοκκία χαρακτηρίζεται ως ημικρυσταλλική, καθώς τόσο η αμυλόζη όσο και η αμυλοπηκτίνη διαθέτουν σημαντικό βαθμό μοριακής οργάνωσης. Κατά την πρόσληψη νερού υπό θέρμανση όμως η εντροπία του αμύλου αυξάνει με ταυτόχρονη μείωση της ικανότητας του να διαθλά το πολωμένο φως. Το άμυλο μεταπίπτει σε άμορφη κατάσταση και ζελατινοποιείται. Στην διαδικασία αυτή η αμυλόζη βγαίνει έξω από τα κοκκία, ενώ η αμυλοπηκτίνη παραμένει μέσα. Με την απομάκρυνση του νερού όμως το άμυλο ανακτά σε σημαντικό βαθμό την οργανωμένη του δομή (ανακρυστάλλωση, retro-gradation), με την αμυλόζη να ανακρυσταλλώνεται ταχύτερα από την αμυλοπηκτίνη.

Στον αναπτυσσόμενο σπόρο η **βιοσύνθεση του αμύλου** γίνεται σε εξειδικευμένα οργανίδια, τους αμυλοπλάστες που ανήκουν στην γενικότερη κατηγορία των λευκοπλαστών. Η κύρια πηγή άνθρακα που χρησιμοποιείται είναι η σακχαρόζη και η σύνθεση ξεκινά με την είσοδο της σακχαρόζης στο ενδοσπέρμιο (Σχήμα 2). Η σακχαρόζη μετατρέπεται σε UDP-γλυκόζη και φρουκτόζη-1-P με την βοήθεια της συνθετάσης της σακχαρόζης. Εν συνεχεία, η φρουκτόζη-1-P, με την βοήθεια της ισομεράσης της γλυκόζης-1-P, μετατρέπεται σε γλυκόζη-1-P. Η γλυκόζη-1-P μετατρέπεται σε ADP-γλυκόζη από την πυροφωσφορυλάση της ADP-γλυκόζης. Τέλος, η συνθάση του αμύλου προσθέτει κάθε φορά ένα νέο μόριο γλυκόζης στο μη ανάγον άκρο μιας προϋπάρχουσας αλυσίδας α -1,4 γλυκόζης, η οποία, όπως και στην περίπτωση του γλυκογόνου, λειτουργεί ως εκκινήτης και είναι συνδεδεμένη με μια πρωτεΐνη, την αμυλογενίνη. Έτσι, σχηματίζεται ένας νέος α -1,4 γλυκοζιτικός δεσμός και η αλυσίδα επιμηκύνεται κατά ένα μόριο γλυκόζης.



Σχήμα 2. Η βιοσύνθεση του αμύλου

Στην αντίδραση αυτή, η ADP-γλυκόζη είναι πιο ενεργός δότης μορίων γλυκόζης από την UDP-γλυκόζη. Υπάρχουν δύο ισοένζυμα της συνθάσης του αμύλου, μια προσδεδεμένη στα κοκκία του αμύλου και μια υδατοδιαλυτή. Η προσδεδεμένη συνθάση φαίνεται ότι είναι υπεύθυνη για την βιοσύνθεση της αμυλόζης, ενώ η υδατοδιαλυτή συνθάση για την προσθήκη των α-1,4 ομάδων στην αναπτυσσόμενη αλυσίδα της αμυλοπηκτίνης. Η τελευταία είναι ευαίσθητη σε θερμοκρασίες 35-44 °C, πράγμα που αποτελεί τον κύριο λόγο της μείωσης της συσσώρευσης του αμύλου στους σπόρους των δημητριακών, όταν αυτά εκτίθενται σε υψηλές θερμοκρασίες κατά την περίοδο της «πλήρωσης» των σπόρων. Τέλος, ο σχηματισμός των α-1,6 διακλαδώσεων στο μόριο της αμυλοπηκτίνης καταλύεται από ένα εξειδικευμένο ένζυμο, το διακλαδωτικό ένζυμο Q, το οποίο αποκόπτει (ενεργότητα υδρολάσης) ένα μικρό τμήμα της α-1,4 αλυσίδας, το μεταφέρει (ενεργότητα μεταφοράς) σε ένα άλλο σημείο αυτής και το συνδέει εκ νέου (ενεργότητα λιγάσης) δημιουργώντας όμως αυτήν την φορά έναν α-1,6 δεσμό.



Σχήμα 3. Μεταβολές των συγκεντρώσεων της σακχαρόζης και του αμύλου κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του σπόρου

Η απουσία ανιχνεύσιμου πυροφωσφορικού οξέος (PP_i) κατά την διάρκεια της βιοσύνθεσης υποδεικνύει την ταχεία υδρόλυση του από την αλκαλική ανόργανη πυροφωσφατάση. Το ένζυμο αυτό περιορίζει την συσσώρευση του PP_i και έτσι ελέγχει την σύνθεση του αμύλου καθώς το PP_i παρεμποδίζει την πυροφωσφορυλάση της ADP-γλυκόζης. Παράλληλα, η εξαιρετικά χαμηλή συγκέντρωση γλυκόζης-1-P στον αναπτυσσόμενο σπόρο υποδεικνύει ότι και αυτή μεταβολίζεται με μεγάλη ταχύτητα.

Τα επίπεδα των ελευθέρων σακχάρων και του αμύλου κατά την διάρκεια της ανάπτυξης του σπόρου, αλλά και οι ενεργότητες των ενζύμων που εμπλέκονται στην βιοσύνθεση του αμύλου έχουν μελετηθεί αρκετά διεξοδικά. Βρέθηκε λοιπόν ότι η συγκέντρωση της σακχαρόζης αρχίζει να αυξάνει με την άνθηση του φυτού, φθάνει στην μέγιστη τιμή της 14 μέρες μετά την άνθηση, και εν συνεχεία μειώνεται μετά την 28^η μέρα και σταθεροποιείται. Από την άλλη πλευρά, η συγκέντρωση του αμύλου είναι ασήμαντη τις 7 πρώτες μέρες μετά την άνθηση, αλλά αυξάνει σημαντικά μετά την 14^η μέρα. Η αύξηση συνεχίζεται μέχρι την 28^η μέρα και εν συνεχεία η συγκέντρωση του αμύλου σταθεροποιείται (Σχήμα 3). Παράλληλα, οι ενεργότητες της πυροφωσφορυλάσης της ADP-γλυκόζης, της αλκαλικής ανόργανης πυροφωσφατάσης και της συνθάσης του αμύλου αυξάνουν και φθάνουν στο μέγιστο της ενεργότητας τους 28 μέρες μετά την άνθηση του φυτού και εν συνεχεία μειώνονται. Το διάστημα της αύξησης αυτής αντιστοιχεί στην περίοδο της ταχείας σύνθεσης του αμύλου.

Η αποικοδόμηση του αμύλου είναι ίσως η σημαντικότερη υδρόλυση που λαμβάνει χώρα κατά την βλάστηση του σπόρου των δημητριακών. Ο βιολογικός ρόλος της είναι να προμηθεύει τον σπόρο που βλαστάνει με την απαραίτητη ενέργεια για την ανάπτυξη του. Τα ένζυμα που εμπλέκονται στην υδρόλυση του αμύλου είναι η α-αμυλάση, η β-αμυλάση, τα αποδιακλαδωτικά ένζυμα και οι α-1,4- και α-1,6-γλυκοζιδάσες.

Η **α-αμυλάση** ανήκει στην κατηγορία των μεταλλοενζύμων (περιέχει Ca^{2+} στο ενεργό της κέντρο) και απαντάται υπό μορφή ισοενζύμων. Συντίθεται *de novo* κατά την βλάστηση του σπόρου. Η σύνθεση της γίνεται στα κύτταρα του στρώματος της αλευρόνης, μετά την έκκριση της ορμόνης γιββερικό οξύ από το έμβρυο. Οι γιββεριλίνες είναι μόρια λακτονικής δομής, δηλαδή κυκλικοί, πενταμελείς ή εξαμελείς εστέρες. Η α-αμυλάση υδρολύει στο μόριο του αμύλου μόνον εσωτερικούς α-1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς, σταματά όμως σε α-1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς που βρίσκονται τέσσερις θέσεις πριν από μια α-1,6 διακλάδωση. Έτσι τα προϊόντα υδρόλυσης είναι η μαλτόζη (δύο μόρια γλυκόζης με α-1,4 γλυκοζιτικό δεσμό), η μαλτοτριόζη (τρία μόρια γλυκόζης με α-1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς), και α-δεξτρίνες (ολιγοπολυμερή της γλυκόζης με α-1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς αλλά και α-1,6 διακλαδώσεις).

Η **β-αμυλάση** περιέχει ομάδες κυστεΐνης στο ενεργό της κέντρο, και όπως και η α-αμυλάση απαντάται υπό μορφή ισοενζύμων. Η β-αμυλάση συντίθεται στο ενδοσπέρμιο κατά την ωρίμανση του σπόρου, υπό την μορφή πρόδρομου ανενεργού μορίου. Κατά την διάρκεια της βλάστησης, πρωτεΐνάσες του ενδοσπερμίου υδρολύουν το πρόδρομο μόριο και έτσι απελευθερώνεται η ενεργή β-αμυλάση. Η β-αμυλάση υδρολύει το άμυλο αποσπώντας μόρια μαλτόζης από το μη άναγον άκρο του, σταματά όμως, όπως και α-αμυλάση, σε α-1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς που βρίσκονται τέσσερις θέσεις πριν από μια α-1,6 διακλάδωση.

Ο ρόλος των αποδιακλαδωτικών ενζύμων είναι να απομακρύνουν το οριακό τμήμα του αμύλου που απέμεινε μετά την δράση των αμυλασών γύρω από μια α-1,6 διακλάδωση. Συγκεκριμένα, υδρολύουν (ενεργότητα υδρολάσης) τον πλησιέστερο σε αυτήν α-1,4 δεσμό, μεταφέρουν (ενεργότητα μεταφοράσης) το τμήμα που απελευθερώνεται στον κύριο σκελετό

του μόριου του αμύλου (πολυμερισμένη γλυκόζη με α-1,4 δεσμούς) και το προδένουν εκεί (ενεργότητα λιγάσης) σχηματίζοντας αυτήν την φορά α-1,4 γλυκοζιτικό δεσμό. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται νέο υπόστρωμα για τις δύο αμυλάσες. Κάποια αποδιακλαδωτικά ένζυμα συντίθενται στο ενδοσπέρμιο κατά την ωρίμανση του σπόρου, υπό την μορφή πρόδρομου ανενεργού μόριου, το οποίο ενεργοποιείται όπως η β-αμυλάση κατά την βλάστηση, ενώ άλλα συντίθενται *de novo* στα κύτταρα του στρώματος της αλευρόνης κατά την βλάστηση του σπόρου μετά το ερέθισμα του γιββερλικού οξέος, όπως δηλαδή συμβαίνει με την α-αμυλάση.

Τέλος, η α-1,4-γλυκοζιδάση αναλαμβάνει την υδρόλυση της παραγόμενης μαλτόζης προς γλυκόζη, ενώ η α-1,6-γλυκοζιδάση την υδρόλυση των α-1,6 γλυκοζιτικών δεσμών. Η σύνθεση των α-γλυκοζιδασών γίνεται στα κύτταρα του στρώματος της αλευρόνης.

Οι αποθηκευτικές πρωτεΐνες του σπόρου του σιταριού ανέρχονται στο 12% του βάρους του, βρίσκονται στο ενδοσπέρμιο, και διακρίνονται ανάλογα με την διαλυτότητα τους σε τέσσερις κατηγορίες (Πίνακας 3α). Στις αλβουμίνες που είναι διαλυτές στο νερό, στις σφαιρίνες (γλοβουλίνες) που δεν διαλύονται στο νερό αλλά είναι διαλυτές παρουσία άλατος, στις προλαμίνες που είναι διαλυτές σε 70-90% αλκοόλη, και στις γλουτενίνες, οι οποίες διαλύονται σε όξινα ή ελαφρά αλκαλικά διαλύματα ή παρουσία αποδιατακτικών μορίων, όπως η ουρία. Ο όρος γλουτένη αναφέρεται στην ελεύθερη αμύλου, ιξώδη, ελαστική, πρωτεϊνικής φύσεως μάζα, η οποία δημιουργείται όταν το ζυμάρι μαλαχτεί κάτω από τρεχούμενο νερό. Η γλουτένη αποτελείται από προλαμίνες και γλουτενίνες.

Πίνακας 3α. Πρωτεϊνικά κλάσματα των δημητριακών (% κατά βάρος)

	Σιτάρι	Σίκαλη	Κριθάρι	Βρώμη	Ρύζι	Καλαμπόκι
Αλβουμίνες	9	8	12	10	5	4
Σφαιρίνες	6	10	12	55	10	3
Προλαμίνες	45	42	52	12	7	55
Γλουτενίνες	40	40	24	23	78	38

Οι αλβουμίνες και οι σφαιρίνες είναι πρωτεΐνες μικρού Μ.Β. (12 kDa), με μικρή τεχνολογική σημασία. Το κύριο αποθηκευτικό πρωτεϊνικό κλάσμα είναι οι προλαμίνες και οι γλουτενίνες, οι οποίες αποτελούν το 80-85% των πρωτεϊνών του ενδοσπερμίου. Σημειώνεται ότι ο όρος προλαμίνες είναι ένας γενικότερος όρος για τις αποθηκευτικές πρωτεΐνες των δημητριακών που είναι διαλυτές σε αλκοόλη. Ειδικότερα, οι προλαμίνες του σιταριού ονομάζονται γλιαδίνες, του κριθαριού χορδεΐνες, του καλαμποκιού ζεΐνες και της σίκαλης σεκαλίνες.

Οι γλιαδίνες του σιταριού είναι ένα ετερογενές πρωτεϊνικό μίγμα. Αναλυτικές μέθοδοι όπως η ηλεκτροφόρηση και η HPLC, οι οποίες εφαρμόζονται για την ταυτοποίηση ποικιλιών του σιταριού και του κριθαριού, αποκαλύπτουν 20-40 πρωτεϊνικά μόρια. Στην πραγματικότητα

υπάρχουν 4 τύποι γλιαδινών (α-, β-, γ- και ω-), οι οποίες εμφανίζουν έντονο γενετικό πολυμορφισμό. Τα πρωτεϊνικά αυτά μόρια απομονώνονται ως μεμονωμένες πολυπεπτιδικές αλυσίδες με M.B. 30-80 kDa. Η ύπαρξη τριτοταγούς δομής που στηρίζεται στην ανάπτυξη ενδομορικών δισουλφιδικών δεσμών έχει αποδειχθεί για τις γλιαδίνες α-, β-, και γ-, όχι όμως για τις ω-γλιαδίνες. Αντίθετα, δεν έχει αποδειχθεί η ύπαρξη τεταρτοταγούς δομής, δηλαδή ο σχηματισμός συσσωματωμάτων, ενδεχομένως λόγω της αποδιατακτικής δράσης της αλκοόλης που χρησιμοποιείται για την απομόνωση τους. Η δομή των γλιαδινών ερμηνεύει τον ρόλο τους στην διαμόρφωση του ιξώδους και της εκτατικότητας της γλουτένης.

Η γλουταμίνη είναι το κυρίαρχο αμινοξύ των γλιαδινών και εντοπίζεται κυρίως στα πρώτα δύο τρίτα του μορίου τους. Μάλιστα, περίπου στο κέντρο του μόριου της α- και β-γλιαδίνης υπάρχει μια αλληλουχία 18 μορίων γλουταμίνης, η οποία μειώνει την πεπτικότητα των γλιαδινών και σχετίζεται με την πρόκληση τροφικής αλλεργίας (κοιλιοκάκη, celiac disease). Η γλουταμίνη μαζί με το γλουταμινικό οξύ αποτελούν το 34.5 % των αμινοξέων (Πίνακας 3β). Οι γλιαδίνες περιέχουν επίσης σημαντικές ποσότητες προλίνης (16.2 %), αλλά ελάχιστη λυσίνη και τρυπτοφάνη. Ανάλογη είναι και η εικόνα στις χορδεΐνες του κριθαριού και στις ζείνες του καλαμποκιού. Η χαμηλή περιεκτικότητα των γλιαδινών στα απαραίτητα αμινοξέα λυσίνη και τρυπτοφάνη, μειώνει την διατροφική αξία των πρωτεϊνών των δημητριακών. Ιδιαίτερα στο καλαμπόκι οι συγκεντρώσεις αυτές μηδενίζονται, με αποτέλεσμα σε χώρες, των οποίων η διατροφή στηρίζεται σε αυτό, να εμφανίζεται συχνά η λεγόμενη πελλάγρα, που προκαλείται από την έλλειψη της νιασίνης (B3), πρόδρομη ένωση της οποίας είναι η τρυπτοφάνη. Πρέπει να σημειωθεί ότι η νιασίνη είναι η μοναδική υδατοδιαλυτή βιταμίνη που μπορεί να συνθέσει ο ανθρώπινος οργανισμός, έστω και με αργό ρυθμό, με την προϋπόθεση ότι υπάρχει διαθέσιμη τρυπτοφάνη.

Οι γλουτενίνες του σιταριού είναι στην ουσία ένα μίγμα διαφορετικών πρωτεϊνικών μορίων με τα μοριακά τους βάρη να κυμαίνονται από 20 ως 130 kDa. Διακρίνονται σε τρεις τύπους. Οι γλουτενίνες τύπου A έχουν M.B. 20-60 kDa, είναι πλούσιες σε βασικά αμινοξέα και είναι αδιάλυτες σε αιθανόλη. Οι γλουτενίνες τύπου B έχουν M.B. 60-130 kDa, είναι πλούσιες σε γλουταμίνη, προλίνη και γλυκίνη, δεν περιέχουν κυστεΐνη, είναι αδιάλυτες σε αιθανόλη και είναι ιδιαίτερα υδρόφοβα μόρια. Οι γλουτενίνες τύπου B δεν απαντώνται στο σκληρό σιτάρι, το οποίο χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή ζυμαρικών και σιμιγδαλιού. Τέλος, οι γλουτενίνες τύπου C έχουν M.B. περίπου 40 kDa, είναι διαλυτές σε αιθανόλη και μοιάζουν με τις γλιαδίνες. Με την βοήθεια ενδο- και διαμοριακών δεσμών υδρογόνου, υδρόφοβων αλληλοεπιδράσεων και δισουλφιδικών δεσμών, τα επιμέρους πρωτεϊνικά μόρια των γλουτενινών οργανώνονται σε συσσωματώματα M.B. μέχρι και 3.000 kDa. Τα συσσωματώματα αυτά συμβάλλουν στην διαμόρφωση της ελαστικότητας της γλουτένης.

Πίνακας 3β. Τα αμινοξέα των πρωτεϊνών του σιταριού (% mole)

	Γλιαδίνη	Γλουτενίνη	Σφαιρίνη
Γλυκίνη	3.1	7.5	9.5
Αλανίνη	3.3	4.4	6.1
Βαλίνη	4.8	4.8	2.4
Λευκίνη	7.0	6.5	9.0
Ισολευκίνη	4.3	3.7	1.4
Φαινυλαλανίνη	4.3	3.6	2.4
Προλίνη	16.2	11.9	3.6
Τρυπτοφάνη	0.4	1.3	-
Σερίνη	6.1	7.0	11.1
Θρεονίνη	2.4	3.5	4.8
Τυροσίνη	1.8	2.5	1.6
Κυστεΐνη	3.3	2.6	13.4
Μεθειονίνη	1.2	1.4	0.4
Ασπαρτικό οξύ	2.8	3.6	6.0
Γλουταμικό οξύ*	34.5	28.9	5.1
Λυσίνη	0.6	2.0	10.6
Ιστιδίνη	1.9	1.9	1.8
Αργινίνη	2.0	3.0	10.6

* Σύνολο γλουταμίνης και γλουταμινικού οξέος

Η βιοσύνθεση των πρωτεϊνών του ενδοσπερμίου γίνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, σύμφωνα με το γενικό σχήμα της μεταγραφής του DNA σε mRNA και εν συνεχεία της μετάφρασης του mRNA σε πρωτεΐνη. Τυχόν μετα-μεταφραστικές αλλαγές των πρωτεϊνικών μορίων λαμβάνουν χώρα στην συσκευή Golgi. Μέσα στο αμυλώδες ενδοσπέρμιο, οι αποθηκευτικές πρωτεΐνες οργανώνονται υπό μορφή σωματιδίων. Μετά την βιοσύνθεση, οι πρωτεΐνες αρχίζουν να συσσωματώνονται σε μικρά σωματίδια μεγέθους 5-10 μm. Αυτά με την σειρά τους δημιουργούν μεγαλύτερα συσσωματώματα μεγέθους 50-100 μm, τα οποία περιβάλλονται από μια μεμβράνη. Η διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται περίπου ένα μήνα μετά την άνθηση του φυτού. Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης του σπόρου, η μηχανική πίεση που ασκείται από τα αναπτυσσόμενα κοκκία του αμύλου έχει ως αποτέλεσμα την διάρρηξη της μεμβράνης των πρωτεϊνικών σωματιδίων, την διάχυση των πρωτεϊνών και τον σχηματισμό του πρωτεϊνικού στρώματος (protein matrix), το οποίο είναι χαρακτηριστικό του ώριμου σπόρου.

Τα λιπίδια του σπόρου του σιταριού είναι κατανομημένα στο έμβρυο, στο στρώμα της αλευρόνης και στο ενδοσπέρμιο, και αποτελούνται από τα μη πολικά τριγλυκερίδια και τα πολικά φωσφολιπίδια (Πίνακας 4). Τα τελευταία αποτελούν κυρίως τα συστατικά των

κυτταρικών μεμβρανών. Τα λιπίδια του ενδοσπερμίου βρίσκονται είτε συσσωματωμένα υπό μορφή σφαιρικών σωματιδίων, είτε συνδεδεμένα με τα κοκκία του αμύλου. Στην δεύτερη περίπτωση, η συντριπτική πλειοψηφία τους, περίπου το 96%, ανήκει στην κατηγορία των φωσφολιπιδίων, με σημαντικότερα την φωσφατιδυλο-αιθανολαμίνη και την φωσφατιδυλο-χολίνη. Φαίνεται ότι υπάρχει ευθεία συσχέτιση ανάμεσα στην ποσότητα της αμυλόζης και στην ποσότητα των λιπιδίων του ενδοσπερμίου. Έτσι, το κηρώδες καλαμπόκι, το οποίο είναι ελλειμματικό σε αμυλόζη, έχει λίγα λιπίδια, ενώ το αμυλώδες καλαμπόκι, το οποίο περιέχει περισσότερη αμυλόζη από την συνηθισμένη, περιέχει και περισσότερα λιπίδια. Τα κυριότερα λιπαρά οξέα των λιπιδίων των δημητριακών είναι το λινελαϊκό (*cis*, 18:2), το ελαϊκό (*cis*, 18:1), το παλμιτικό (16:0) και το λινολενικό (*cis*, 18:3), κατά σειρά φθίνουσας συγκέντρωσης.

Πίνακας 4. Η κατανομή των λιπιδίων του σιταριού στους ιστούς του σπόρου (% του συνόλου των λιπιδίων)

	Έμβryo	Αλευρόνη	Ενδοσπέρμιο	
			Ελεύθερα	Συνδεδεμένα με το άμυλο
Ουδέτερα λιπίδια	24.1	17.9	9.7	0.7
Πολικά λιπίδια	6.3	6.9	19.5	14.9
Μερικό σύνολο			29.2	15.6
Σύνολο	30.4	24.8	44.8	

Η βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων ακολουθεί το γνωστό σχήμα της βιοσύνθεσης λιπαρών οξέων που περιγράφεται συνοπτικά στον Πίνακα 1 στο κεφάλαιο του γάλακτος. Τα λιπαρά οξέα μετατρέπονται εν συνεχεία σε τριγλυκερίδια σύμφωνα με το Σχήμα 2 στο κεφάλαιο του γάλακτος.

3. Η παρασκευή της μύρας

Η παρασκευή της μύρας έχει μια ιστορία χιλιάδων χρόνων. Η πρώτη ιστορική μαρτυρία ανάγεται στο 6000 π.Χ στην αρχαία Βαβυλωνία. Σε ένα κομμάτι κεραμικού απεικονίζονται εργάτες που αναδύουν ή απομακρύνουν τον αφρό από ένα δοχείο μύρας. Η ζυθοποιία γνώρισε μεγάλη άνθηση και στην αρχαία Αίγυπτο. Στην πραγματικότητα η παρασκευή της μύρας ήταν ένας έμμεσος αλλά αποτελεσματικός τρόπος εξυγίανσης του πόσιμου νερού, χάρις στην αντιμικροβιακή δράση της αιθανόλης που περιείχε. Σε πολύ μεγάλο βαθμό εκεί οφείλεται και η ανάπτυξη της ζυθοποιίας στα Μεσαιωνικά χρόνια στην Κεντρική και Βόρεια Ευρώπη, σε αντίθεση με την Αρχαία Ελλάδα και την Αρχαία Ρώμη, στις οποίες το κατ' εξοχήν αλκοολούχο ποτό ήταν το κρασί.

Σήμερα, η ζυθοποιία αποτελεί παγκόσμια μια από τις σημαντικότερες βιομηχανίες στον χώρο των ποτών και των τροφίμων γενικότερα. Η λέξη μύρα κατ' άλλους προέρχεται από την παλιά αγγλοσαξωνική λέξη για το κριθάρι *baere* (*barley*), και κατ' άλλους από το λατινικό *bibere* που σημαίνει πίνω. Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιείται το κριθάρι, το 10% της παγκόσμιας παραγωγής του οποίου απορροφάται για την παρασκευή της μύρας. Οι κυριότερες χώρες παραγωγής κριθαριού είναι οι ΗΠΑ, ο Καναδάς, η Μεγάλη Βρετανία, η Γαλλία, η Γερμανία, η Δανία και η Αυστραλία, αλλά τα τελευταία χρόνια και η Κίνα.

Τα τελευταία 50 χρόνια η ποιότητα της μύρας έχει βελτιωθεί σημαντικά, αφ' ενός μεν διότι η τεχνολογία της παρασκευής της έχει υποστεί πολλές τροποποιήσεις, αφ' ετέρου δε διότι έχουν αναπτυχθεί βελτιωμένες ποικιλίες κριθαριού. Οι ποικιλίες αυτές χαρακτηρίζονται από μεγάλη ικανότητα βλάστησης, αυξημένη ενεργότητα υδρολυτικών ενζύμων του σπόρου (π.χ. θερμοανθεκτικές β-γλυκανάσες), και περιεκτικότητα σε φλοιό < 10% του βάρους του σπόρου. Η βελτίωση των ποικιλιών κριθαριού γίνεται είτε με την κλασική διασταύρωση διαφορετικών ποικιλιών είτε με γενετική τροποποίηση (διαγονιδιακό κριθάρι). Η διαγονιδιακές ποικιλίες άρχισαν να αναπτύσσονται στην δεκαετία του 1990, αρχικά με την τεχνική του βομβαρδισμού σωματιδίων (*particle bombardment*) και αργότερα με την τεχνική της ηλεκτροδιάτρησης (*electroporation*).

Τέσσερα είναι τα κύρια στάδια στην παρασκευής της μύρας, η βυνοποίηση, ο βρασμός (*brewing*), η ζύμωση και η ωρίμανση.

Κατά την **βυνοποίηση** το κριθάρι, αφού καθαριστεί, αφήνεται για 2 έως 4 ημέρες σε μια ρηχή κλίνη με νερό στους 10-15°C για να βλαστήσει. Έχει σημασία το κριθάρι να είναι απαλλαγμένο από μύκητες του γένους *Fusarium*. Οι μύκητες αυτοί δημιουργούν προβλήματα ασφάλειας και ποιότητας στο τελικό προϊόν, καθώς είναι υπεύθυνοι τόσο για την παραγωγή τοξινών στην διάρκεια της παρασκευής της μύρας, όσο και για μια μη τυπική έκχυση (*gushing*) κατά το άνοιγμα της φιάλης. Ένας τρόπος καταπολέμησης των μυκήτων είναι η ελεγχόμενη προσθήκη κατά την βυνοποίηση οξυγαλακτικών βακτηρίων, όπως ο *Lactobacillus plantarum* και ο *Pediococcus pentosaceus*, οι οποίοι παράγουν αντιμικροβιακές ενώσεις (π.χ. οργανικά οξέα, βακτηριοσίνες κλπ) που παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των μυκήτων. Η εκκίνηση της βλάστησης γίνεται με την έκκριση του γιββεριλικού οξέος από το έμβρυο του σπόρου. Το γιββεριλικό οξύ είναι μια φυτική ορμόνη, υπεύθυνη για την βλάστηση του σπόρου *in vivo*, η οποία σήμερα ψεκάζεται κατά την βυνοποίηση στο κριθάρι σε συγκεντρώσεις 0.1-0.2 ppm προκειμένου να επιταχυνθεί η βλάστηση. Το γιββεριλικό οξύ ενεργοποιεί τα υδρολυτικά ένζυμα των κυττάρων του στρώματος της αλευρόνης, δηλαδή τις β-γλυκανάσες, τις πρωτεϊνάσες, την α-αμυλάση, τις α-γλυκοζιδάσες (α-1,4 και α,1-6) και ένα μέρος των αποδιακλαδωτικών ενζύμων, καθώς και τα πρωτεολυτικά ένζυμα των κυττάρων του εμβρύου.

Αρχικά, **οι β-γλυκανάσες** αποικοδομούν τα β-γλυκάνια του κυτταρικού τοιχώματος των κυττάρων του ενδοσπερμίου. Τα β-γλυκάνια είναι το κύριο δομικό συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των κυττάρων του ενδοσπερμίου (70%), μαζί με τα αραβοξυλάνια (15%) και τα

γλυκομανάνια (3%). Τα αραβοξυλάνια είναι γραμμικά ετεροπολυμερή αραβινόζης και ξυλόζης, τα γλυκομανάνια γραμμικά ετεροπολυμερή γλυκόζης και μανόζης, ενώ τα β-γλυκάνια είναι γραμμικά ομοπολυμερή της γλυκόζης με β-1,3 και β-1,4 δεσμούς. Έχουν αναφερθεί αρκετές ενδο-β-γλυκανάσες στο κριθάρι. Η 1,3-β-D-γλυκανάση υδρολύει τα β-1,3-γλυκάνια, καθώς και κάποιους β-1,3 δεσμούς στα β-1,3: 1,4-D-γλυκάνια. Η ενδο-1,3:1,4-β-D-γλυκανάση υδρολύει τόσο τους β-1,3 όσο και τους β-1,4 δεσμούς τα β-1,3:1,4-D-γλυκάνια. Πειράματα που έγιναν με την χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου έδειξαν ότι η αποικοδόμηση ξεκινά από το σημείο επαφής του ενδοσπερμίου με το έμβρυο.

Η αποικοδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος των κυττάρων του ενδοσπερμίου ονομάζεται τροποποίηση και είναι κρίσιμη για την ανάπτυξη της καλής βύνης. Χαμηλή τροποποίηση συνεπάγεται τόσο μειωμένη απόδοση σε βύνη όσο και προβλήματα στην διαύγηση της μύρας. Ένας από τους στόχους της γενετικής βελτίωσης των ποικιλιών του κριθαριού είναι η παραγωγή θερμοανθεκτικών β-γλυκανασών, οι οποίες να παραμένουν ενεργές και μετά την θερμική ξήρανση των βυνοποιημένων σπόρων που ακολουθεί, έτσι ώστε να είναι εφικτή η εκ των υστέρων διορθωτική επανάληψη της τροποποίησης. Έχει επίσης βρεθεί ότι η ελεγχόμενη χρήση κατάλληλων οξυγαλακτικών βακτηρίων συμβάλλει στην υδρόλυση των β-γλυκανίων του κυτταρικού τοιχώματος των κυττάρων του ενδοσπερμίου. Αυτό αποδίδεται είτε στις ενδογενείς βακτηριακές γλυκανάσες, είτε στην επίδραση των βακτηρίων στις γλυκανάσες του κριθαριού, αν και για το τελευταίο ο μηχανισμός είναι άγνωστος. Η αποικοδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος των κυττάρων του ενδοσπερμίου από τις γλυκανάσες ανοίγει τον δρόμο και για τα υπόλοιπα υδρολυτικά ένζυμα των κυττάρων του στρώματος της αλευρόνης προς το εσωτερικό του ενδοσπερμίου.

Παράλληλα με τις γλυκανάσες ενεργοποιούνται και οι πρωτεϊνάσες του σπόρου. Αρχικά, λαμβάνει χώρα περιορισμένη υδρόλυση των πρωτεϊνών στα κύτταρα του εμβρύου και του στρώματος της αλευρόνης από μια σειρά πρωτεολυτικών ενζύμων, όπως όξινη πρωτεϊνάση, καρβοξυπεπτιδάση, και ουδέτερες και αλκαλικές πεπτιδάσες. Τα παραγόμενα αμινοξέα χρησιμοποιούνται για την *de novo* σύνθεση της α-αμυλάσης και μέρους των αποδιακλαδωτικών ενζύμων. Εν συνέχεια, αποικοδομούνται οι αποθηκευτικές πρωτεΐνες του ενδοσπερμίου δηλαδή οι χορδεΐνες (οι προλαμίνες του κριθαριού) και οι γλουτενίνες. Η υδρόλυση των χορδεϊνών και γλουτενινών γίνεται από όξινη πρωτεϊνάση του εμβρύου και του στρώματος της αλευρόνης, οι οποίες εισέρχονται στα κύτταρα του ενδοσπερμίου μετά την αποικοδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος από τις β-γλυκανάσες. Τα αμινοξέα που παράγονται από την υδρόλυση των αποθηκευτικών πρωτεϊνών του ενδοσπερμίου επιστρέφουν στο έμβρυο και χρησιμοποιούνται για την νέα πρωτεϊνική σύνθεση που λαμβάνει χώρα κατά την ανάπτυξη του σπόρου.

Η βλάστηση ολοκληρώνεται με την υδρόλυση του αμύλου του ενδοσπερμίου. Η υδρόλυση του αμύλου ξεκινά από το σημείο επαφής του ενδοσπερμίου με το έμβρυο, και κατόπιν συνεχίζεται κατά μήκος του ενδοσπερμίου. Η υδρόλυση του αμύλου προς α-δεξτρίνες, μαλτοτριόζη, μαλτόζη και γλυκόζη περιγράφηκε αναλυτικά προηγουμένως και επιτυγχάνεται

με την συνδυασμένη δράση της α-αμυλάσης, της β-αμυλάσης, των αποδιακλαδωτικών ενζύμων και των α-γλυκοζιδασών (α, 1-4 και α, 1-6). Η βιολογική σημασία της υδρόλυσης του αμύλου είναι να προμηθεύσει τον σπόρο που βλαστάνει με την απαραίτητη ενέργεια για την ανάπτυξη του.

Πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την βλάστηση λαμβάνει χώρα και μερική υδρόλυση των αποθηκευτικών λιπιδίων του κριθαριού. Η δράση των λιπασών στον αδρανή σπόρο είναι περιορισμένη. Όταν όμως αρχίζει η βλάστηση η ενεργότητα τους αυξάνεται. Συγκεκριμένα, η λιπόλυση προχωρά αργά τις πρώτες δύο ημέρες της βλάστησης, αλλά μετά την 3^η ημέρα η αύξηση της λιπόλυσης είναι ραγδαία. Έχουν απομονωθεί δυο διαφορετικές λιπάσες με το ίδιο περίπου μοριακό βάρος (400 kDa) αλλά διαφορετικό φορτίο. Το κύριο κλάσμα, η λιπάση I, βρίσκεται στο έμβρυο ενώ η μικρότερη λιπάση II βρίσκεται στο ενδοσπέρμιο. Η υδρόλυση του λίπους προσφέρει την απαραίτητη ενέργεια στα κύτταρα του εμβρύου και του στρώματος της αλευρόνης κατά τα αρχικά στάδια της βλάστησης, μέχρις ότου αρχίσει το ενδοσπέρμιο να προσφέρει το άμυλο του ως πηγή ενέργειας. Η περιεκτικότητα του κριθαριού σε λιπίδια ποικίλει από 0.8 έως 4.8% στο βάρος επί ξηρού. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στις συνθήκες και το στάδιο ανάπτυξης του κριθαριού αλλά και τους διαφορετικούς τρόπους υπολογισμού του λίπους. Η σύσταση του λίπους σε λιπαρά οξέα είναι παρόμοια για όλες τις ποικιλίες κριθαριού, και κατά μέσο όρο είναι η ακόλουθη: λινελαϊκό (*cis*, 18:2), παλμιτικό (16:0), ελαϊκό (*cis*, 18:1), λινολενικό (*cis*, 18:3) και στεαρικό (18:0), σε ποσοστό 58, 20, 12, 9 και 0.8%, αντιστοίχως.

Η βλάστηση τερματίζεται με την ξήρανση των βυνοποιημένων σπόρων. Η υγρασία μειώνεται από το 45 στο 5% με την χρήση θερμού αέρα. Σημασία έχει η διαδικασία αυτή να γίνει σταδιακά προκειμένου να διατηρηθούν ενεργά κάποια ένζυμα, όπως οι αμυλάσες. Η θερμοκρασία και ο χρόνος ξήρανσης, και άρα η τελική υγρασία, επηρεάζουν το χρώμα, το άρωμα και την γεύση της βύνης και επομένως και της μύρας. Έτσι, στις μύρες τύπου lager η υγρασία της αποξηραμένης βύνης φτάνει το 4-5% ενώ στις μύρες τύπου ale το 2-3%, γεγονός που διαφοροποιεί τους δύο τύπους ως προς το χρώμα, με αποτέλεσμα οι lager να χαρακτηρίζονται ως «ξανθές» και οι ale ως «σκούρες». Πρέπει να σημειωθεί ότι σήμερα πλέον η παραγωγή της βύνης γίνεται από ανεξάρτητες μονάδες, οι οποίες προμηθεύουν με βύνη τις μονάδες ζυθοποιίας.

Αφού το βυνοποιημένο κριθάρι ξηραθεί είναι έτοιμο για να ξεκινήσει η **διαδικασία του βρασμού**. Αρχικά, το βυνοποιημένο κριθάρι αλέθεται. Η άλεση διευκολύνει την εκχύλιση των υδατοδιαλυτών συστατικών του, δηλαδή των σακχάρων και των ενώσεων αζώτου. Ο βρασμός γίνεται σε μεγάλες δεξαμενές, οι οποίες παλιότερα κατασκευάζονταν από χαλκό, σήμερα όμως γίνονται από ανοξείδωτο χάλυβα. Η διαδικασία ξεκινά με το νερό στους 45°C υπό συνεχή έλεγχο της συγκέντρωσης των σακχάρων, του ιξώδους και του pH που πρέπει να είναι γύρω στο 5.5. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, αφ' ενός μεν ενυδατώνεται το ενδοσπέρμιο, αφ' έτερου η α- και η β-αμυλάση αναλαμβάνουν ξανά δράση, με την α-αμυλάση να είναι πιο θερμοανθεκτική από την β-αμυλάση. Εν συνέχεια, η θερμοκρασία ανεβαίνει στους 70-75°C, και ταυτόχρονα το

μίγμα ενισχύεται με την προσθήκη μη βυνοποιημένων δημητριακών, συνήθως καλαμπόκι ή ρύζι, τα οποία προηγουμένως έχουν ζελατινοποιηθεί. Η χρήση πρόσθετων εφαρμόζεται πλέον συστηματικά στην ζυθοποιία, τόσο για λόγους κόστους όσο και για λόγους ποιότητας, καθώς οι δεξτρίνες που παραμένουν διαμορφώνουν το λεγόμενο «σώμα» στην μύρα. Ιδιαίτερη σημασία έχει η ποιότητα του νερού που χρησιμοποιείται στον βρασμό, με σημαντικότερα τα ιόντα του ασβεστίου που προστατεύουν την α-αμυλάση από την θερμική μετουσίωση, και τα ανθρακικά και όξινα ανθρακικά ιόντα που ρυθμίζουν το pH.

Μετά την ολοκλήρωση του βρασμού, τα αδιάλυτα συστατικά απομακρύνονται με διήθηση και χρησιμοποιούνται συνήθως ως ζωοτροφές. Στο διήθημα προστίθεται ο λυκίσκος και ακολουθεί βρασμός στους 70-140°C για 2 ώρες. Με τον βρασμό επιτυγχάνεται η αποστείρωση και η συμύκνωση του ζωμού/γλεύκους (wort), η απενεργοποίηση των αμυλολυτικών ενζύμων, η εκχύλιση των πικρών ουσιών του λυκίσκου, η ανάπτυξη επιθυμητών και η εξάτμιση ανεπιθύμητων αρωματικών ουσιών, καθώς και η κατακρήμνιση μεγαλομοριακών πρωτεϊνών. Η απομάκρυνση των τελευταίων έχει μεγάλη σημασία για την κολλοειδή σταθερότητα της μύρας.

Ο λυκίσκος (*Humulus lupulus*) είναι φυτό που ευδοκμεί κυρίως σε εύκρατα κλίματα. Στην ζυθοποιία χρησιμοποιούνται οι θηλυκοί κώνοι των λουλουδιών του, οι οποίοι συλλέγονται, ξηραίνονται στους 70°C μέχρι 7% υγρασία, και κατατάσσονται ανάλογα με την εμφάνιση, το άρωμα και τις πικρές ρητίνες που περιέχουν. Παλιότερα χρησιμοποιούνταν απ' ευθείας οι αποξηραμένοι κώνοι. Σήμερα όμως και προκειμένου να αποφευχθεί ο κίνδυνος οξείδωσης των συστατικών τους κατά την συντήρηση, οι κώνοι είτε κονιοποιούνται είτε πραγματοποιείται εκχύλιση των ενώσεων που περιέχουν με οργανικό διαλύτη ή υγρό διοξείδιο του άνθρακα.

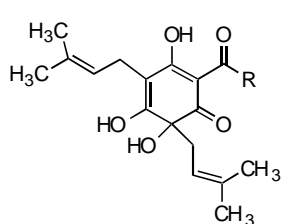
Τα συστατικά του λυκίσκου δίνονται στον Πίνακα 5, με σειρά φθίνουσα σημασίας για την μύρα. Η κυρίαρχη οικογένεια ενώσεων του λυκίσκου είναι οι ρητίνες. Ρητίνες γενικά ονομάζονται φυτικά εκκρίματα, τα οποία περιέχουν σεσκιτερπένια (ενώσεις με 15 άτομα C) και πολυτερπενικές ενώσεις (ενώσεις με 20, 30 ή 40 άτομα C). Τα τερπενοειδή είναι ισοπρενοειδείς ενώσεις, είτε υδρογονάνθρακες (τερπένια) είτε οξυγονωμένα παράγωγα (καμπορές), οι οποίες έχουν επαναλαμβανόμενο τον ανθρακικό σκελετό του ισοπρενίου [$\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3) - \text{CH} = \text{CH}_2$]. Οι κύριες ρητίνες του λυκίσκου ονομάζονται και μαλακές ρητίνες λόγω της διαλυτότητας τους στον πετρελαϊκό αιθέρα. Τα κύρια συστατικά των μαλακών ρητινών του λυκίσκου είναι τα λεγόμενα α- και β-οξέα, τα οποία είναι υπεύθυνα για την πικρή γεύση.

Τα α-οξέα ή χουμουλόνες είναι μίγμα ομόλογων κυκλικών υποκατεστημένων ενώσεων, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους μόνο ως προς τον υποκαταστάτη της θέσης 2 του εξαμελούς δακτυλίου (Σχήμα 4). Κατά τον βρασμό, οι χουμουλόνες ισομεριώνονται χημικά στα αντίστοιχα ισο-α-οξέα ή ισο-χουμουλόνες. Οι ισο-χουμουλόνες είναι ακόμα πιο πικρές από τις αρχικές χουμουλόνες και διαμορφώνουν την πικρή γεύση της μύρας. Τα β-οξέα ή λουπουλόνες περιλαμβάνουν μια παρόμοια οικογένεια κυκλικών υποκατεστημένων ενώσεων,

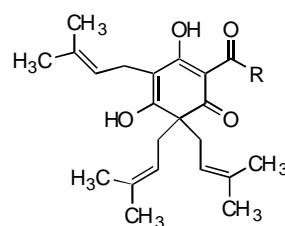
οι οποίες έχουν παρόμοιους υποκαταστάτες του εξαμελούς δακτυλίου με τα α-οξέα, αλλά διαθέτουν έναν παραπάνω υποκαταστάτη (Σχήμα 4). Κατά τον βρασμό τα β-οξέα οξειδώνονται προς πικρά αλλά και μη πικρά παράγωγα. Γενικά, η συμβολή τους στην διαμόρφωση της πικρής γεύσης της μύρας είναι μικρότερη από αυτή των α-οξέων. Το πιο σκούρο χρώμα και η πιο πικρή γεύση στις μύρες τύπου ale σε σχέση με τις μύρες τύπου lager οφείλεται μεταξύ άλλων και στην υψηλότερη ποσότητα λυκίσκου που χρησιμοποιείται κατά την παρασκευή μύρας τύπου ale.

Πίνακας 5. Η χημική σύσταση του αποξηραμένου λυκίσκου

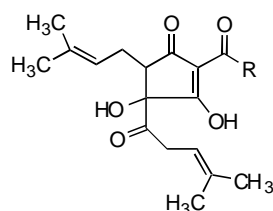
Συστατικό	%	Σημασία στη ζυθοποιΐα
α-οξέα	2-12	XXX
β-οξέα	1-10	XX
Αιθέρια έλαια	0.5-1.5	XX
Πολυφαινόλες	2-5	XX
Λιπίδια και ελεύθερα λιπαρά οξέα	ίγνη-25	X
Πρωτεΐνες	15	
Κυτταρίνη	40-50	
Νερό	8-12	
Πηκτίνες	2	
Άλατα	10	



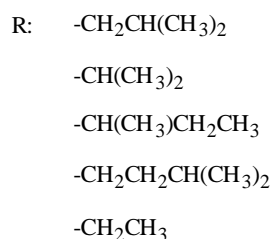
alpha-acids



beta-acids



iso-alpha-acids



Σχήμα 4. Η χημική δομή των (ίσο)-α-οξέων (χουμουλόνης) και β-οξέων (λουπουλόνης) του λυκίσκου

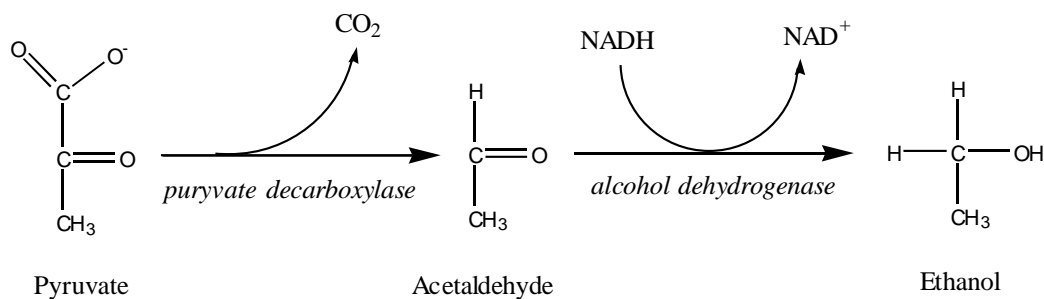
Πέραν των α- και β-οξέων, ο λυκίσκος περιέχει αιθέρια έλαια, δηλαδή τερπενοειδείς ακλοόλες και αλδεΐδες. Από αυτά τα σημαντικότερα είναι το μυρκένιο, το χουμουλένιο και το γαρυφυλλένιο. Πρόκειται για σχετικά ασταθείς τερπενοειδείς ενώσεις, και γι' αυτό τον λόγο δεν έχει διευκρινισθεί ακόμα αν επηρεάζουν το άρωμα της μύρας. Ο λυκίσκος περιέχει επίσης πολυφαινόλες, οι οποίες συμμετέχουν στην διαμόρφωση της γεύσης και του χρώματος της μύρας, αλλά ταυτόχρονα ευθύνονται μερικά για την θολερότητα της μύρας μετά την ζύμωση. Ο λυκίσκος, ο οποίος δεν έχει σχηματίσει ακόμη σπόρους, δεν περιέχει ουσιαστικά λιπίδια αλλά μόνον 0.1% ελεύθερα λιπαρά οξέα, κυρίως λινελαϊκό (*cis*, 18:2) και λινολενικό (*cis*, 18:3). Κάποια από αυτά μεταφέρονται στην μύρα. Η συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στην μύρα είναι περίπου 1 ppm αλλά τα περισσότερα από αυτά θεωρείται ότι είναι προϊόντα του μεταβολισμού των ζυμών.

Μετά τον βρασμό, ο ζωμός (ζυθογλεύκος) διαχωρίζεται από τα στέρεα υπολείμματα και μεταφέρεται στο δοχείο ζύμωσης. Κατά την **ζύμωση** οι προστιθέμενες ζύμες καταβολίζουν τα ελεύθερα σάκχαρα που προήλθαν από την υδρόλυση του αμύλου προς αιθανόλη και διοξείδιο του ανθρακα. Οι αντιδράσεις ακολουθούν αρχικά το μονοπάτι της γλυκόλυσης. Εν συνέχεια, το παραγόμενο πυροσταφυλικό οξύ αποκαβοξυλιώνεται προς ακεταλδεΐδη, με την βοήθεια της πυροσταφυλικής αποκαρβοξυλάσης, η οποία χρησιμοποιεί την πυροφωσφορική θειαμίνη (B1) ως συνένζυμο. Τέλος, η ακεταλδεΐδη ανάγεται προς αιθανόλη με την βοήθεια της αλκοολικής δεϋδρογενάσης, η οποία χρησιμοποιεί το NADH (νιασίνη, B3) ως συνένζυμο (Σχήμα 5α).

Οι υδατάνθρακες του προς ζύμωση ζωμού αποτελούν το 90-92% των στερεών συστατικών του. Από αυτούς το 70-80% είναι οι ζυμώσιμοι υδατάνθρακες και πιο συγκεκριμένα η σακχαρόζη, η φρουκτόζη, η γλυκόζη, η μαλτόζη, η μαλτοτριόζη και κάποιες δεξτρίνες. Οι τρεις κύριοι ζυμώσιμοι υδατάνθρακες είναι η γλυκόζη, η μαλτοτριόζη και η μαλτόζη, με την τελευταία να συνιστά το 50-70% των ζυμώσιμων υδατανθράκων. Οι ζύμες που χρησιμοποιούνται στην ζυθοποιία καταναλώνουν αρχικά την γλυκόζη, εν συνέχεια την μαλτόζη και τέλος την μαλτοτριόζη. Ο καταβολισμός της μαλτόζης και της μαλτοτριόζης καταστέλλεται παρουσία γλυκόζης, και ξεκινά μόνον όταν έχει ήδη καταναλωθεί το 60% της γλυκόζης. Ο *Saccharomyces cerevisiae* διαθέτει 20 διαφορετικούς μεταφορείς μονοσακχαριτών, δισακχαριτών και τρισακχαριτών στην κυτταρική του μεμβράνη. Η μαλτόζη και η μαλτοτριόζη υδρολύονται στο εσωτερικό του κυττάρου προς ελεύθερα μόρια γλυκόζης από την ίδια α-γλυκοζιδάση.

Τις πρώτες ώρες της ζύμωσης, στον ζωμό διοχετεύεται αέρας, καθώς το οξυγόνο είναι απαραίτητο για την σύνθεση στερολών και ακόρεστων λιπαρών οξέων που ενσωματώνονται στην κυτταρική μεμβράνη των ζυμών. Σε μεγάλης κλίμακας ζυμώσεις ο αερόβιος αυτός καταβολισμός των υδατανθράκων διαρκεί συνήθως 12 ώρες. Παρ' ολ' αυτά ακόμη και κάτω από αυτές τις συνθήκες μόνο το 10% της γλυκόζης οξειδώνεται μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας ενώ το υπόλοιπο αποικοδομείται μέσω της ακλοολικής ζύμωσης. Ο μειωμένος

οξειδωτικός μεταβολισμός παρουσία υψηλής συγκέντρωσης σακχάρων ονομάζεται φαινόμενο Crabtree.



Σχήμα 5α. Η μετατροπή του πυροσταφυλικού οξέος προς αιθανόλη

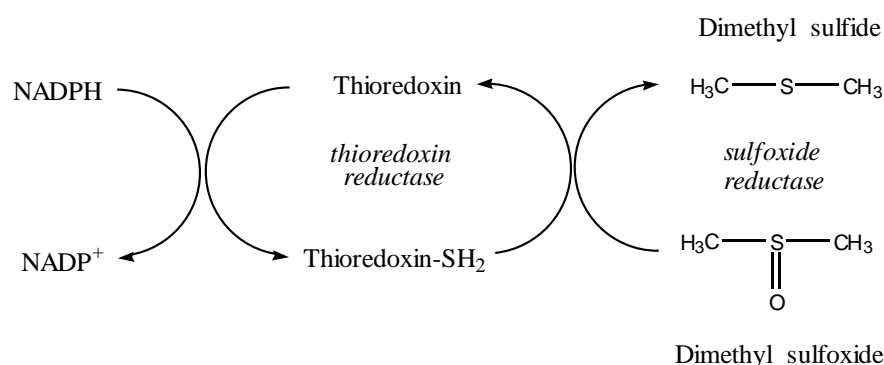
Οι χρησιμοποιούμενες ζύμες προσδιορίζουν και το τελικό προϊόν. Για τις μπίρες τύπου lager χρησιμοποιούνται ζύμες που καθιζάνουν (bottom fermented beers), όπως ο *Saccharomyces uvarum*, και η ζύμωση διαρκεί 7 ημέρες στους 7-15°C. Για μπίρες τύπου ale χρησιμοποιούνται ζύμες που μένουν στην επιφάνεια (top fermented beers), όπως ο *Saccharomyces cerevisiae*, και η ζύμωση διαρκεί 2-3 ημέρες στους 18-22°C.

Σήμερα, στην ζυθοποιία εφαρμόζονται **σύγχρονες τεχνικές** που σκοπό έχουν την μείωση του χρόνου της ζύμωσης και της ωρίμανσης της μπίρας, την ελαχιστοποίηση του απαιτούμενου εξοπλισμού αλλά και την αύξηση της απόδοσης. Στην λεγόμενη ζυθοποίηση υψηλής πυκνότητας (High Gravity Brewing) η ζύμωση γίνεται σε μικρούς όγκους και στο τέλος ο ζωμός (ζυθογλεύκος) αραιώνεται στον επιθυμητό όγκο, και άρα αλκοολικό βαθμό, με την χρήση υψηλής ποιότητας νερού απαλλαγμένου από οξυγόνο. Η χρήση ακινητοποιημένων ζυμών είναι επίσης μια σύγχρονη τεχνική, η οποία βρίσκει σήμερα εφαρμογή κυρίως στην φάση της ωρίμανσης της μπίρας. Με την ακινητοποίηση των ζυμών επιτυγχάνεται η αύξηση της συγκέντρωσης των ζυμών και άρα η αύξηση της δράσης τους. Η χρήση των λεγόμενων υπερκροκιδώσιμων ζυμών (super flocculants yeasts), οι οποίες παράγονται με γενετική τροποποίηση, αν και δεν επιτρέπεται ακόμα, αναμένεται ότι θα συμβάλει στην περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης των ακινητοποιημένων ζυμών.

Πέραν των κυρίων προϊόντων της ζύμωσης, οι ζύμες παράγουν μια σειρά δευτερογενών μεταβολιτών, οι οποίοι συμβάλλουν στην διαμόρφωση της γεύσης και του αρώματος της μπίρας. Η πιο σημαντική κατηγορία πηκτικών ενώσεων που προσδίδουν την φρουτώδη γεύση στην μπίρα είναι οι εστέρες. Ο σχηματισμός των εστέρων εξαρτάται από το στέλεχος της ζύμης, την θερμοκρασία ζύμωσης και τον αερισμό, και οφείλεται στην αντίδραση των αλκοολών με το ακέτυλο-CoA. Το ακέτυλο-CoA είναι προϊόν του καταβολισμού των λιπαρών οξέων από τις ζύμες, ενώ οι αλκοόλες όπως π.χ. η 2-φαινυλο-αιθανόλη, η βουτανόλη, η προπανόλη και η εξανόλη, προέρχονται είτε από τους υδατάνθρακες μέσω του σχηματισμού

κετο-οξέων, είτε από την τρανσαμίνωση ή απαμίνωση ελεύθερων αμινοξέων. Πρέπει να σημειωθεί ότι και οι ίδιες οι αλκοόλες συμβάλουν στην γεύση της μπίρας.

Πτητικές θειούχες ενώσεις, όπως το υδρόθειο (H_2S) και το διμεθυλο-σουλφίδιο ($H_3C-S-CH_3$, DMS) παράγονται από τις ζύμες με πρώτη ύλη τα θειούχα αμινοξέα των πρωτεϊνών που βρίσκονται στην βύνη. Τις ενώσεις αυτές τις συναντάμε και σε άλλα τρόφιμα, όπως τα βρασμένα λαχανικά, το τσάι, το κακάο, το γάλα και το κρασί. Συγκεντρώσεις διμεθυλο-σουλφιδίου μεταξύ 0.03 – 0.1 ppm προσδίδουν στις μπίρες τύπου lager ευχάριστο άρωμα και γεύση, πάνω όμως από το 0.1 ppm το άρωμα που αναπτύσσεται θυμίζει βρασμένο καλαμπόκι (cooked sweet corn) και είναι δυσάρεστο. Το διμεθυλο-σουλφίδιο παράγεται είτε από την ενζυμική αναγωγή του διμεθυλο-σουλφοξειδίου (DMSO) (Σχήμα 5β) είτε από την θερμική αποικοδόμηση της μεθειονίνης [$HOOC-CH(NH_2)-CH_2-CH_2-S-CH_3$] κατά την διάρκεια της ξήρανσης της βύνης ή του βρασμού του ζωμού.



Σχήμα 5β. Η παραγωγή του διμεθυλο-σουλφιδίου

Μια άλλη κατηγορία δευτερογενών μεταβολιτών είναι οι δικετόνες με σημαντικότερες το διακετύλιο και την πεντανοδιόνη-2,3. Οι δικετόνες προσδίδουν βουτυρώδη γεύση στην μπίρα. Συγκεντρώσεις διακετυλίου > 0.05 ppm δημιουργούν προβλήματα ποιότητας. Τα προβλήματα αυτά μπορούν να ξεπεραστούν κατά την διάρκεια της **ωρίμανσης της μπίρας**, η οποία ακολουθεί την ζύμωση, κατά την οποία όμως συνεχίζεται και ο καταβολισμός των σακχάρων μέχρι του επιθυμητού αλκοολικού βαθμού. Οι μπίρες τύπου lager ωριμάζουν στους 2-6°C για 2-4 εβδομάδες ενώ οι τύπου ale ωριμάζουν σε υψηλότερες θερμοκρασίες (12-20°C) αλλά για μικρότερο χρονικό διάστημα (1-2 εβδομάδες). Το όνομα lager άλλωστε προέρχεται από την γερμανική λέξη lagern που σημαίνει αποθηκεύω. Το όνομα το καθιέρωσαν Γερμανοί μοναχοί, οι οποίοι αποθήκευσαν, στην πραγματικότητα ξέχασαν, την μπίρα στα κελάρια της μονής τους, διαπιστώνοντας εκ των υστέρων ότι η γεύση της μπίρας είχε βελτιωθεί σημαντικά, πράγμα που αποδόθηκε στην μακρύτερη της συνηθισμένης παραμονή της μπίρας σε χαμηλές θερμοκρασίες. Αυτό που πραγματικά συνέβη ήταν να μειωθεί περισσότερο του συνηθισμένου η συγκέντρωση του διακετυλίου. Αυτός είναι άλλωστε ακόμα και σήμερα ο σκοπός του σταδίου της ωρίμανσης για όλους τους τύπους μπίρας.

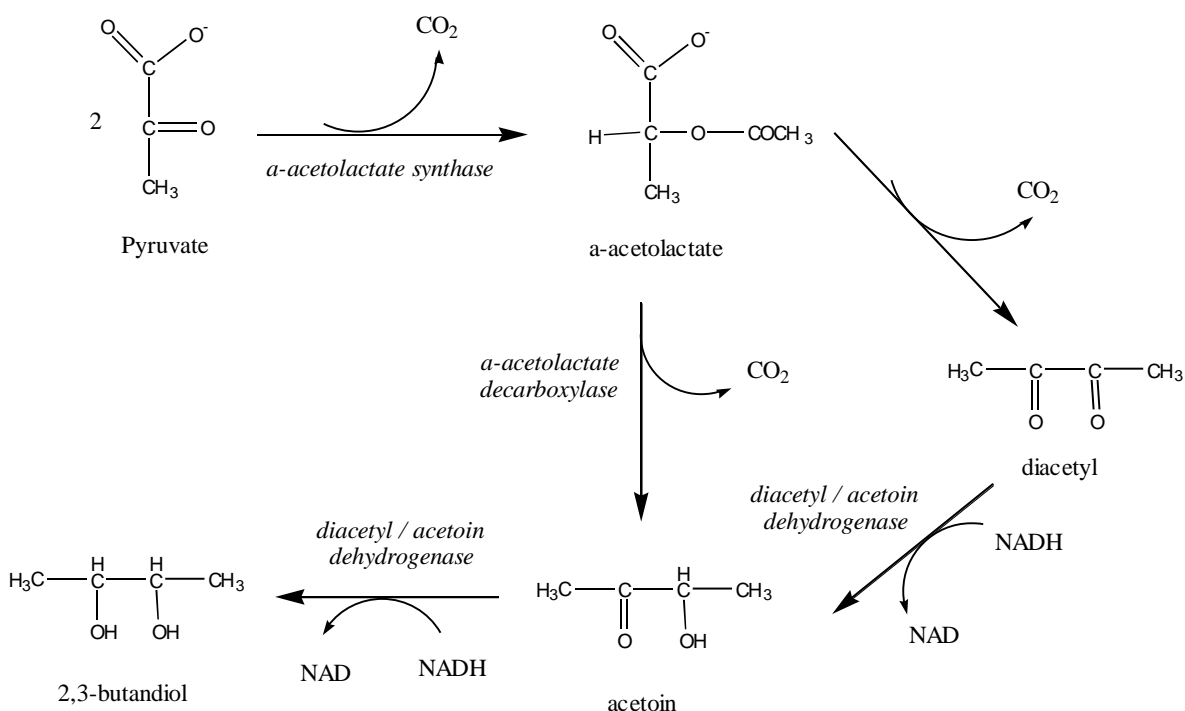
Το διακετύλιο σχηματίζεται από την αποκαρβοξυλίωση του α-ακετυλο-γαλακτικού οξέος, το οποίο είναι προϊόν συμπίκνωσης δύο μορίων πυροσταφυλικού οξέος (Σχήμα 5γ). Ο σχηματισμός του διακετυλίου από το α-ακετυλο-γαλακτικό οξύ είναι μια καθαρά χημική και όχι ενζυμική αντίδραση, η οποία απαιτεί την παρουσία οξυγόνου. Η αντίδραση αυτή γίνεται με χαμηλή ταχύτητα λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών που επικρατούν κατά την ωρίμανση της μύρας. Το διακετύλιο που σχηματίζεται ανάγεται εν συνεχεία από την αναγωγή διακετυλίου-ακετοΐνης που διαθέτουν οι ζύμες. Τα προϊόντα της ταχείας αυτής ενζυμικής αναγωγής είναι διαδοχικά η ακετοΐνη και η 2,3-βουτανοδιόλη, οι οποίες δεν προσδίδουν βουτυρώδη γεύση στην μύρα, και με τον τρόπο αυτό βελτιώνεται η γεύση του προϊόντος.

Σήμερα, δοκιμάζονται διάφορες τεχνικές προκειμένου να μειωθεί ο χρόνος ωρίμανσης της μύρας. Οι τεχνικές αυτές συνίστανται κυρίως στην προσθήκη εξωγενούς αποκαρβοξυλάσης του α-ακετυλο-γαλακτικού οξέος ή ακόμα και προσθήκη βακτηρίων, όπως τα είδη *Enterobacter aerogenes* και *Klebsiella terrigena*, τα οποία, σε αντίθεση με τις ζύμες που εφαρμόζονται σήμερα στην ζυθοποιΐα, παράγουν αποκαρβοξυλάση του α-ακετυλο-γαλακτικού οξέος. Το ένζυμο αυτό μετατρέπει το α-ακετυλο-γαλακτικό οξύ απ' ευθείας σε ακετοΐνη, η οποία εν συνεχεία ανάγεται προς 2,3-βουτανοδιόλη από την αναγωγή διακετυλίου-ακετοΐνης που διαθέτουν οι ζύμες. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται η παραγωγή διακετυλίου.

Πρέπει να σημειωθεί πάντως ότι η παραγωγή γενετικά τροποποιημένων ζυμών που παράγουν ενδογενή αποκαρβοξυλάση του α-ακετυλο-γαλακτικού οξέος είναι σήμερα δυνατή, αλλά δεν επιτρέπεται ακόμη η χρήση τους. Μια άλλη τεχνική για την μείωση του χρόνου ωρίμανσης της μύρας είναι η εφαρμογή ακινητοποιημένων ζυμών κατά την παρασκευή της. Αυτό επιτρέπει την απομάκρυνση του ζωμού (ζυθογλεύκος) μετά την ζύμωση και την θέρμανση του για 10 min στους 90°C, με αποτέλεσμα την ταχεία χημική αποκαρβοξυλίωση του α-ακετυλο-γαλακτικού σε διακετύλιο. Ο ζωμός (ζυθογλεύκος) εν συνεχεία μεταφέρεται και πάλι σε σύστημα ακινητοποιημένων ζυμών, οι οποίες ενζυμικά μετατρέπουν το διακετύλιο σε ακετοΐνη και 2,3-βουτανοδιόλη σε διάστημα 2 h στους 15°C.

Μετά την ζύμωση και την ωρίμανση η μύρα είναι αρκετά θολή και πρέπει να υποστεί διαύγαση πριν δοθεί στην κατανάλωση. Η θολερότητα οφείλεται κατ' αρχήν στην παρουσία των ζυμών, οι οποίες απομακρύνονται με φυγοκέντρωση. Ένα σημαντικό όμως μέρος της θολερότητας οφείλεται στην παρουσία πρωτεϊνών και πολυφαινολών (ταννινών). Οι πρωτεΐνες κατακρημνίζονται λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας, του χαμηλού pH (4.2), και της περιορισμένης διαλυτότητας τους στην αιθανόλη. Παράλληλα όμως οι πρωτεΐνες αντιδρούν με υδατάνθρακες αλλά και πολυφαινόλες με αποτέλεσμα τον σχηματισμό κολλοειδούς αιωρήματος. Το πρόβλημα αυτό ξεπερνιέται με την χρήση πρωτεΐνασών, όπως π.χ. η παπαΐνη, η φικίνη και η βρωμοελαΐνη. Η παπαΐνη είναι η πιο φτηνή αλλά έχει το μειονέκτημα ότι υδρολύει τις πρωτεΐνες της μύρας που είναι υπεύθυνες για τον αφρισμό ενώ προκαλεί και αλλεργίες. Πρόσφατα άρχισε μια προσπάθεια για την χρήση πρωτεΐνασών από ζύμες. Βρέθηκε

ότι η εξωκυτταρική πρωτεΐνάση της *Candida olea* εμφανίζει πλεονεκτήματα σε σχέση με τις παραδοσιακές πρωτεΐνάσες.



Σχήμα 5γ. Η σύνθεση του διακετυλίου

Η ξηρά ουσία της μύρας ανέρχεται στα 40 g/l, ξεπερνώντας κατά πολύ την αντίστοιχη των κόκκινων (22 g/l) και λευκών (15 g/l) κρασιών. Αυτό οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητα της μύρας σε δεξτρίνες (22 g/l) αλλά και σε ανάγοντα σάκχαρα, κυρίως μαλτόζη (9 g/l). Η ποσότητα της αλκοόλης εξαρτάται από τον τύπο της μύρας και κυμαίνεται από 2.5 °GL (20 g αιθανόλη) μέχρι 5.5 °GL (44 g αιθανόλη). Η μύρα, τέλος, περιέχει και υδατοδιαλυτές βιταμίνες, κυρίως της ομάδας Β.

4. Η παρασκευή του ψωμιού

Το ψωμί είναι ένα φθινό και ταυτόχρονα υψηλής διατροφικής αξίας τρόφιμο. Για την παρασκευή του χρησιμοποιείται κυρίως αλεύρι από σιτάρι, και σε μικρότερο βαθμό από σίκαλη. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται αλεύρι από μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum*), το οποίο καλλιεργείται ευρέως στις Ευρωπαϊκές χώρες. Αντίθετα, το σκληρό σιτάρι (*Triticum durum*) καλλιεργείται σε χώρες με θερμότερο κλίμα, και χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή ζυμαρικών, σιμιγδαλιού, τραχανά και κους-κούς. Το σκληρό σιτάρι είναι πιο

πλούσιο σε πρωτεΐνες και οι κόκκοι του είναι σκληρότεροι και υαλώδεις με αποτέλεσμα να θρυματίζεται πιο εύκολα σε σιμιγδάλι παρά να κονιοποιείται σε αλεύρι.

Η παρατήρηση ότι η προσθήκη νερού σε αλεύρι έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή αερίου, οξέος και τελικά την δημιουργία ζυμαριού πρωτοέγινε εδώ και χιλιάδες χρόνια από τους Σουμέριους στην Νότια Μεσοποταμία (6000 π.Χ.). Στην αρχή το ψωμί γίνονταν από αποξηραμένους και θρυμματισμένους σπόρους δημητριακών και ψήνονταν πάνω σε καυτές στρογγυλές πέτρες. Η στοιχειώδης αυτή τεχνική της αρτοποιίας των δημητριακών τελειοποιήθηκε στην αρχαία Αίγυπτο (3000-2000 π.Χ.), στην οποία το ψωμί ήταν κάτι παραπάνω από απλό τρόφιμο. Ήταν δείκτης κοινωνικής στάθμης και μέσο αμοιβής της εργασίας. Σύμφωνα με αναπαραστάσεις της εποχής εκείνης, το ψωμί είχε σχήμα μικρού καρβελιού, όπως τα σημερινά muffins, ή επιμηκυσμένου ρολού, και συχνά το πάνω μέρος ήταν σκεπασμένο με σπόρους.

Οι αρχαίοι Έλληνες βελτίωσαν την γεύση του ψωμιού προσθέτοντας συστατικά, όπως το σουσάμι, το μέλι και κομμάτια φρούτων. Η προσφορά ψωμιού στην διάρκεια ενός γεύματος ήταν ένδειξη φιλοξενίας. Μέχρι τον 5^ο π.Χ αιώνα, η παρασκευή του ψωμιού γίνονταν αποκλειστικά στο σπίτι και μόνον τότε άρχισαν να δημιουργούνται τα πρώτα αρτοποιεία. Το ψωμί είχε διάφορα ονόματα, ανάλογα με τον τρόπο του ψησίματος (π.χ. «αποπυρίας» όταν ψήνονταν στα κάρβουνα, «εσχαρίτης» όταν ψήνονταν σε ταψί), ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής («ζυμίτης» και «άζυμος» όταν γίνονταν με ή χωρίς μαγιά), ή ανάλογα με το σχήμα του («βλωμαίος» το σχεδόν τετράγωνο ψωμί κομμένο σε κομμάτια, «μυστρίλη» το κοίλο ψωμί, «πλακίτης» το λεπτό, επίπεδο ψωμί). Τα ερείπια της Πομπηΐας μαρτυρούν ότι και στην αρχαία Ρώμη στα περισσότερα σπίτια υπήρχαν μύλοι και φούρνοι, ενώ την ίδια εποχή εμφανίζονται οι πρώτοι νερόμυλοι. Επί αυτοκράτορα Τραϊανού (100 μ.Χ.) δημιουργείται και η πρώτη ένωση αρτοποιών (College of Pistoris). Οι ανεμόμυλοι εμφανίζονται στους μεσαιωνικούς χρόνους και για την τεχνική εξέλιξη τους εργάστηκε ακόμη και ο Leonardo Da Vinci. Οι πρώτοι μεταλλικοί κύλινδροι (από σίδηρο) για μύλους κατασκευάζονται τον 19^ο αιώνα.

Η μηχανοποίηση της παρασκευής του ψωμιού, οι καλύτερες ποικιλίες σιταριού, η χρήση βελτιωτικών για την καλύτερη διάγκωση ανέπτυξαν μεν την τεχνολογία της αρτοποιίας αλλά δεν είχαν τίποτε το επαναστατικό. Μόλις στο τέλος του 19^{ου} αιώνα αρχίζει να γίνεται αντιληπτή η σημασία της μικροχλωρίδας της ζύμωσης. Ο Wolffin το 1894 ήταν ο πρώτος που έδειξε την παρουσία ζυμών και βακτηρίων στο ζυμάρι και συσχέτισε την παρουσία των βακτηρίων με την οξύνιση του ζυμαριού. Η πρώτη καλλιέργεια, η οποία χρησιμοποιήθηκε βιομηχανικά για την παρασκευή ψωμιού και κατοχυρώθηκε με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας στις αρχές της δεκαετίας του 1970, είναι αυτή που χρησιμοποιήθηκε για το ψωμί από προζύμι του San Francisco (*Lactobacillus sanfranciscensis*). Εκτοτε, ο ρόλος των μικροοργανισμών στην παρασκευή του ψωμιού συγκεντρώνει όλο και μεγαλύτερο ερευνητικό και εμπορικό ενδιαφέρον, ειδικότερα τα 35 τελευταία χρόνια. Τις τελευταίες δεκαετίες, η τεχνολογία παρασκευής ψωμιού έχει υποστεί

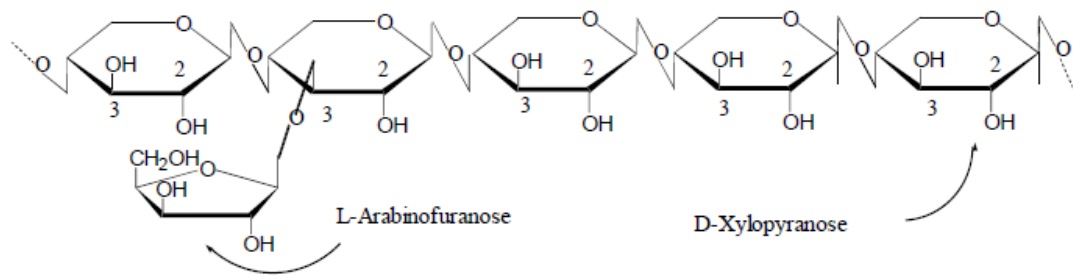
σημαντικές αλλαγές. Η ανάπτυξη των μεγάλων σουπερ-μάρκετ και των εμπορικών κέντρων οδήγησε στην εγκατάσταση φούρνων μέσα σε αυτά. Σήμερα, επίσης, παρασκευάζονται καταψυγμένα ζυμαρία ή προψημένα προϊόντα αλεύρου έτοιμα σχεδόν για ένα σύντομο τελικό ψήσιμο. Παράλληλα, έχουν αυξηθεί οι ποικιλίες ψωμιού.

Για την **παρασκευή του ζυμαριού**, το αλεύρι (100 g) αναμιγνύεται με νερό (65 g), αλάτι (35 g/l) και μαγιά (ζύμη, 35 g/l) και μαλάσσεται. Οι αναλογίες που δίνονται σε παρένθεση είναι ενδεικτικές. Η ενυδάτωση του αλεύρου συνεπάγεται ενυδάτωση του αμύλου και των πρωτεϊνών του. Ταυτόχρονα, με την μάλαξη ενσωματώνεται αέρας, ο οποίος μειώνει το ειδικό βάρος του ζυμαριού, ενώ παράλληλα το άζωτο σχηματίζει κυψελίδες, οι οποίες αργότερα θα εγκλωβίσουν το διοξείδιο του ανθρακα που παράγεται κατά την ζύμωση. Στόχος της μάλαξης είναι να σχηματισθεί τελικά ένα συνεκτικό και ταυτόχρονα ελαστικό ζυμάρι. Η γεύση, το άρωμα και το χρώμα του ψωμιού οφείλονται τόσο στα ήδη υπάρχοντα συστατικά του αλεύρου όσο και στις ενώσεις που παράγονται κατά την διάρκεια της ζύμωσης (fermentation) και του ψησίματος.

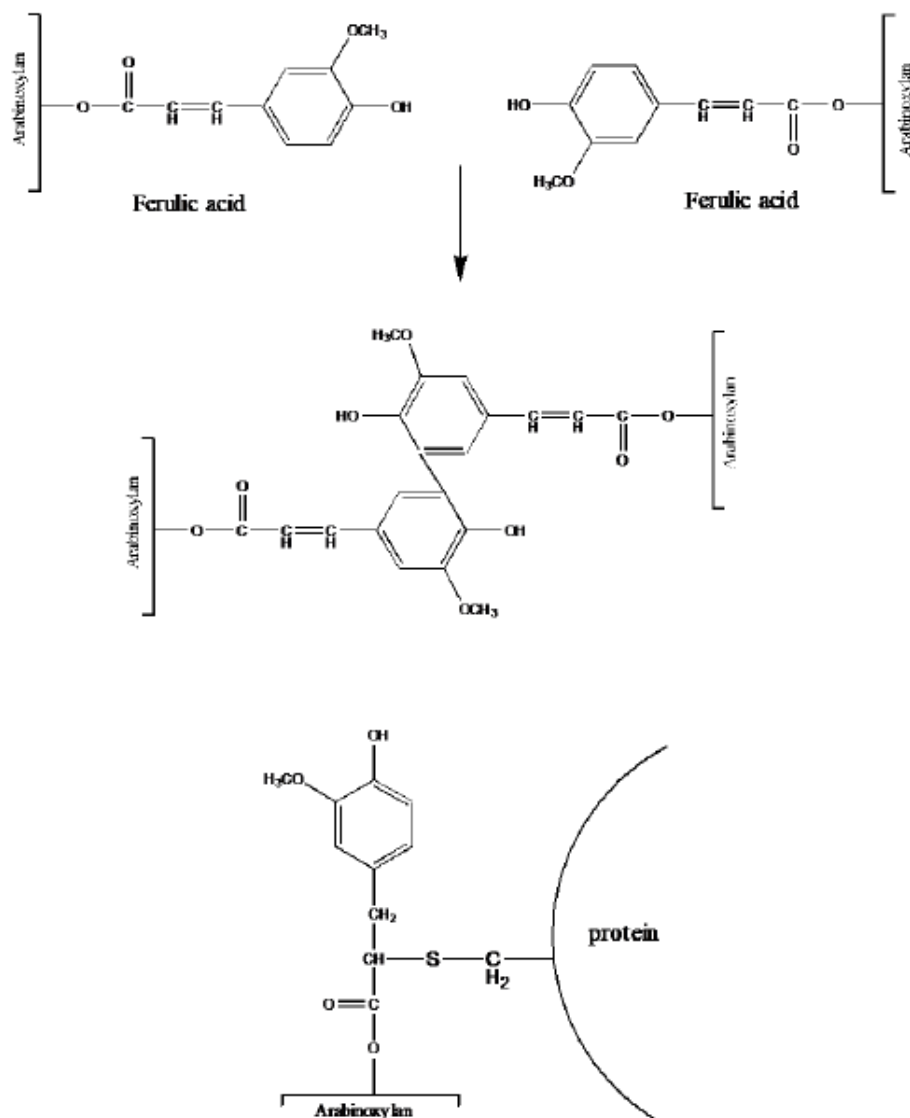
Η ποσότητα των πρωτεϊνών του αλεύρου επηρεάζει τον χρόνο ανάμιξης. Αλεύρι με περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες <12% απαιτεί μεγαλύτερο χρόνο μάλαξης. Το σημαντικότερο μέρος της ελαστικής μάζας που σχηματίζεται κατά την ανάμιξη αλεύρου και νερού είναι η γλουτένη και όπως προαναφέρθηκε περιέχει τα δύο κύρια πρωτεϊνικά κλάσματα του αλεύρου, τις γλιαδίνες (οι προλαμίνες του σιταριού) και τις γλουτενίνες. Οι γλιαδίνες συμβάλλουν στην διαμόρφωση του ιξώδους και της εκτατικότητας της γλουτένης, ενώ γλουτενίνες στην διαμόρφωση της ελαστικότητας της. Ως εκ τούτου, οι διαφορές στην ικανότητα αρτοποιήσης διαφόρων ποικιλιών αλεύρου αποδίδονται κυρίως στην φύση της γλουτένης.

Ιδιαίτερα σημαντικός είναι ο ρόλος των γλουτενινών. Όπως προαναφέρθηκε, οι γλουτενίνες είναι ένα μίγμα διαφορετικών πρωτεϊνικών μορίων με μοριακά βάρη από 20 ως 130 kDa. Με την βοήθεια ενδο- και διαμοριακών δεσμών υδρογόνου, υδρόφοβων αλληλοεπιδράσεων αλλά και δισουλφυδικών δεσμών, τα επιμέρους πρωτεϊνικά μόρια, και ειδικότερα οι γλουτενίνες C, οργανώνονται σε συσσωματώματα μοριακού βάρους μέχρι και 3.000 kDa. Ο όγκος του ζυμαριού είναι ευθέως ανάλογος προς την περιεκτικότητα του αλεύρου σε δυσδιάλυτες γλουτενίνες (μεγαλομοριακά συσσωματώματα γλουτενινών) και αντιστρόφως ανάλογος προς αυτή των ευδιάλυτων γλουτενινών (μικρομοριακά συσσωματώματα γλουτενινών).

Κατά την μάλαξη του ζυμαριού, η γλουτένη σχηματίζει ένα ευέλικτο υμένιο, το οποίο εγκλωβίζει το διοξείδιο του ανθρακα. Το υμένιο αυτό σταθεροποιείται με την μετουσίωση των πρωτεϊνών της γλουτένης κατά το ψήσιμο εξασφαλίζοντας το απαραίτητο δομικό πλαίσιο στο ψωμί. Σημαντικές για την διαμόρφωση της δομής της γλουτένης αλλά και την ικανότητα της να συγκρατεί το διοξείδιο του ανθρακα θεωρούνται **οι πεντοζάνες του αλεύρου**. Η κυριότερη πεντοζάνη του αλεύρου είναι τα αραβοξυλάνια, τα οποία είναι γραμμικά πολυμερή D-ξυλόζης με β,1-4 δεσμούς και παράπλευρες ομάδες D-αραβινόζης στις θέσεις 2- ή 3- των μορίων της D-ξυλόζης (Σχήμα 6).



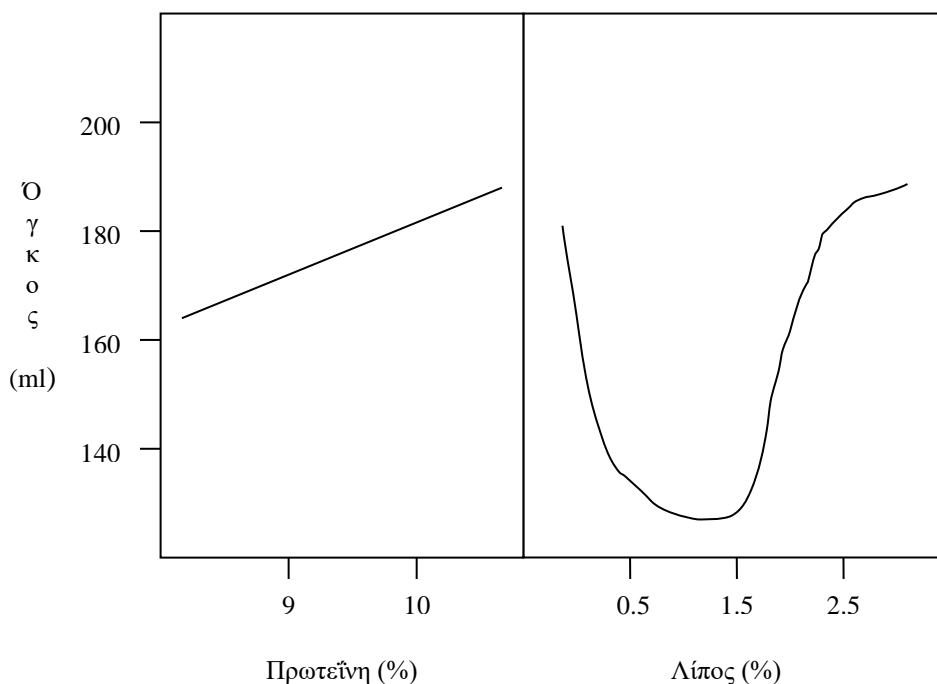
Σχήμα 6. Η δομή της πεντοζάνης



Σχήμα 7. Η οξειδωτική σύζευξη του φερουλικού οξέος και ο σχηματισμός πηκτής πεντοζάνης-πρωτεΐνης

Κάποια από τα μόρια της D-ξυλόζης φέρουν ως υποκαταστάτη στην θέση 3 ένα μόριο φερρουλικού οξέος. Οι πεντοζάνες ομαδοποιούνται με βάση την διαλυτότητα τους στο νερό, η οποία είναι αντιστρόφως ανάλογη του αριθμού των παράπλευρων ομάδων της D-αραβινόζης. Οι πεντοζάνες με χαμηλή διαλυτότητα στο νερό (WU-AX, water unextractable arabinoxylans) έχουν αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη του όγκου του ψωμιού, ενώ αντίθετα αυτές με υψηλότερη διαλυτότητα (WE-AX, water extractable arabinoxylans) θετική. Παρουσία οξειδωτικών αντιδραστηρίων και με την συμμετοχή και του φερουλικού οξέος οι υδατοδιαλυτές πεντοζάνες σχηματίζουν πηκτές (Σχήμα 7).

Τα λιπίδια του αλεύρου παρά την χαμηλή τους συγκέντρωση (2%) φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην αρτοποιία βελτιώνοντας την αναμικτικότητα και τον όγκο του ζυμαριού. Πιο σημαντικά φαίνεται ότι είναι τα πολικά λιπίδια (φωσφολιπίδια και γλυκολιπίδια), και μάλιστα εκείνα που βρίσκονται ελεύθερα και όχι συνδεδεμένα με τις πρωτεΐνες της γλουτένης. Το ενδιαφέρον είναι ότι, ενώ ο όγκος του ζυμαριού μεταβάλλεται ευθέως ανάλογα προς την περιεκτικότητα του αλεύρου σε πρωτεΐνες, στην περίπτωση των λιπιδίων η συσχέτιση είναι διαφορετική (Σχήμα 8). Υπάρχει μια κρίσιμη συγκέντρωση λιπιδίων, κάτω από την οποία ο όγκος του ζυμαριού είναι αντιστρόφως ανάλογος της συγκέντρωσης των λιπιδίων. Μεγάλο ρόλο παίζουν επίσης και οι αλληλοεπιδράσεις λιπιδίων και πρωτεϊνών. Με την ενυδάτωση του αλεύρου τα ελεύθερα λιπίδια αρχίζουν να προσδένονται στις πρωτεΐνες, σταθεροποιώντας το πλέγμα της γλουτένης και βελτιώνοντας έτσι την ικανότητα κατακράτησης του διοξειδίου τα άνθρακα.



Σχήμα 8. Η μεταβολή του όγκου του ζυμαριού σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα του αλεύρου σε πρωτεΐνη και λίπος

Το άμυλο παίζει σημαντικό ρόλο στην παρασκευή του ζυμαριού λόγω της ικανότητας του να προσροφά νερό, να ζελατινοποιείται και να ανακρυσταλλώνεται. Τα κοκκία του αμύλου δεν διαλύονται στο νερό αλλά προσροφούν νερό και διογκώνονται. Τα άθικτα κοκκία αμύλου απορροφούν μόνο το 1/2 του βάρους τους σε κρύο νερό, σε αντίθεση με τα θρυμματισμένα κοκκία, τα οποία απορροφούν νερό μέχρι και 2 φορές το βάρος τους. Η σημασία των θρυμματισμένων κοκκίων για την αρτοποιία συνίσταται στην αύξηση της προσρόφησης νερού, επομένως στην αύξηση της απόδοσης σε τελικό προϊόν. Ο βαθμός θρυμματισμού των κοκκίων αμύλου μπορεί να ελεγχθεί κατά την άλεση του σίτου.

Αιώρημα αμύλου σε νερό διαθλά το πολωμένο φως, πράγμα που σημαίνει υψηλό βαθμό μοριακής οργάνωσης του αμύλου μέσα στα κοκκία, υπό την μορφή ομόκεντρων δακτυλίων (“κρυσταλλική” δομή). Όταν το αιώρημα του αμύλου θερμανθεί τότε εξασθενούν οι δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στα επιμέρους μόρια του αμύλου, αποδιατάσσεται η μοριακή οργάνωση των κοκκίων, αυξάνει η προσρόφηση νερού και εκμηδενίζονται οι διαθλαστικές ιδιότητες. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται ζελατινοποίηση και το ζελατινοποιημένο άμυλο χαρακτηρίζεται ως άμορφο (μη κρυσταλλικό). Ανάλογα με το δημητριακό, η θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου κυμαίνεται από 55 ως 78°C, καθώς εξαρτάται από την αναλογία της αμυλόζης προς την αμυλοπηκτίνη. Η ζελατινοποίηση του αμύλου του σιταριού ξεκινά στους 60°C. Η σημασία της ζελατινοποίησης του αμύλου για την αρτοποιία έγκειται στην επίδραση που έχει πάνω στις αλληλοεπιδράσεις πρωτεϊνών και αμύλου και κατά συνέπεια στην αναμικτικότητα του ζυμαριού.

Ο όρος ανακρυστάλλωση αναφέρεται στην μετάπτωση του άμορφου ζελατινοποιημένου αμύλου σε μια πιο οργανωμένη ημικρυσταλλική μορφή. Στο φρέσκο ψωμί, το άμυλο είναι κυρίως άμορφο αλλά κατά την παραμονή ανακρυσταλλώνεται. Το φαινόμενο αυτό είναι υπεύθυνο για την παλαίωση του ψωμιού. Με την ανακρυστάλλωση μειώνεται η διαλυτότητα του αμύλου και αυξάνει η ακαμψία του ψωμιού. Πειραματικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι στο φαινόμενο της ανακρυστάλλωσης σημαντικότερο ρόλο παίζει το γραμμικό μόριο της αμυλόζης από το διακλαδισμένο μόριο της αμυλοπηκτίνης, καθώς η αμυλόζη ανακρυσταλλώνεται ταχύτερα από την αμυλοπηκτίνη. Ο βαθμός ανακρυστάλλωσης επηρεάζεται από το ποσοστό υγρασίας του ζελατινοποιημένου αμύλου.

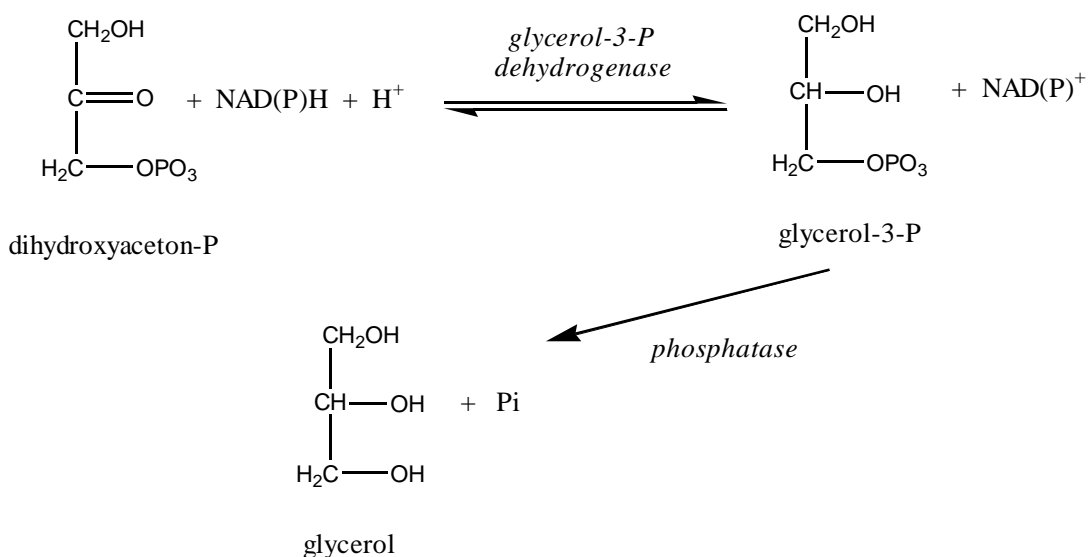
Οι ζύμες που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του ψωμιού ανήκουν στο είδος *Saccharomyces cerevisiae* με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 25-30°C. Οι ζύμες καταβολίζουν αρχικά τα ελευθέρα σάκχαρα του αλεύρου, ξεκινώντας από τους μονοσακχαρίτες και εφόσον αυτοί εξαντληθούν προχωρούν στον καταβολισμό των δισακχαριτών. Τα σπουδαιότερα ελευθέρα σάκχαρα του αλεύρου είναι οι μονοσακχαρίτες γλυκόζη και φρουκτόζη και οι δισακχαρίτες μαλτόζη (γλυκόζη-α-1,4-γλυκόζη) και σακχαρόζη (γλυκόζη-α-1,2-φρουκτόζη), σε συνολική συγκέντρωση περίπου 1.55–1.85%.

Στις ζύμες τα σάκχαρα εισέρχονται στο κύτταρο χωρίς κατανάλωση ενέργειας, με την βοήθεια είτε επαγωγίμης είτε συστατικής περμεάσης. Μέσα στο κύτταρο, τα σάκχαρα

καταβολίζονται μέσω του μονοπατιού της γλυκόλυσης και παράγουν πυροσταφυλικό οξύ. Κάτω από τις αναερόβιες συνθήκες που επικρατούν, και όπως προαναφέρθηκε στην μπύρα, το πυροσταφυλικό οξύ αποκαρβοξυλιώνεται προς ακεταλδεϋδύδη, η οποία ανάγεται τελικά σε αιθανόλη (αλοολική ζύμωση, Σχήμα 5α). Η αναγωγή αυτή οδηγεί στην αναγέννηση του NAD, το οποίο είναι απαραίτητο για την συνέχιση της γλυκόλυσης κάτω από αναερόβιες συνθήκες, καθώς αναπληρώνει το NAD που ανάγεται προς NADH κατά την μετατροπή της γλυκεραλδεϋδης-3-P προς 1,3-δισ-φωσφογλυκερινικό οξύ (Σχήμα 5, κεφάλαιο γάλακτος).

Εναλλακτικά, το NAD μπορεί να αναγεννηθεί από την αναγωγή της φωσφοδιϋδροξυακετόνης προς γλυκερόλη-3-P, η οποία εν συνεχεία αποφωσφορυλιώνεται προς γλυκερόλη (Σχήμα 9). Η αποφωσφορυλίωση της γλυκερόλης-3-P έχει σημασία για την σωστή ανακύκλωση των ανόργανων φωσφορικών ιόντων κατά την γλυκόλυση, ενώ ταυτόχρονα η συσσώρευση της γλυκερόλης παίζει σημαντικό ρόλο στην διόγκωση του ζυμαριού με υψηλή συγκέντρωση σακχάρων.

Εκτός από το μονοπάτι της γλυκόλυσης, οι ζύμες μπορούν να χρησιμοποιήσουν και το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών (Σχήμα 5, κεφάλαιο γάλακτος), το οποίο οδηγεί στην σύνθεση NADPH που εν συνεχεία χρησιμοποιείται στην βιοσύνθεση λιπαρών οξέων και αμινοξέων. Ανάλογα με την φάση ανάπτυξης, ο *Saccharomyces cerevisiae* μπορεί να καταβολίζει μέχρι και το 20% της γλυκόζης μέσω του μονοπατιού των φωσφορικών πεντοζών.



Σχήμα 9. Σχηματισμός και αποφωσφορυλίωση της γλυκερόλης-3-P

Η διόγκωση του ζυμαριού οφείλεται στο διοξείδιο του άνθρακα που παράγεται μαζί με την αιθανόλη κατά την αλκοολική ζύμωση. Περίπου το 40% του παραγόμενου αερίου παραμένει στο ζυμάρι. Η ζύμωση των σακχάρων και επομένως η διόγκωση του ζυμαριού πριν το ψήσιμο διαρκεί συνήθως 3-4 ώρες αλλά μεταβάλλεται ανάλογα με την ποσότητα της ζύμης (μαγιάς) που προστίθεται και τον χρόνο μάλαξης του ζυμαριού. Το ψωμί ψήνεται συνήθως στους 250°C για 20-30 min. Στο διάστημα αυτό η γλουτένη μετουσιώνεται μη αντιστρεπτά και το άμυλο ζελατινοποιείται. Η αντίδραση Maillard ανάμεσα στις αμινομάδες των πρωτεϊνών και τις καρβονυλικές ομάδες των αναγόντων σακχάρων διαμορφώνει το χρώμα της επιφάνειας του ψωμιού (κόρα) αλλά και το άρωμα του.

Ανάμεσα στα παραπροϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης είναι και η τρεχαλόζη, ένας αποθηκευτικός δισακχαρίτης (γλυκόζη-α-1,1-γλυκόζη) που παράγεται από την γλυκόζη-6-P. Η τρεχαλόζη παίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία των κυτταρικών μεμβρανών των ζυμών έναντι υψηλών συγκεντρώσεων σακχάρων ή άλατος (ωσμωπροστατευτικό) και η βιοσύνθεση της συνήθως επάγεται κάτω από συνθήκες στρες.

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μια τάση επιστροφής των καταναλωτών, και επομένως της αγοράς, στο ψωμί που παρασκευάζεται με παραδοσιακό ξινό ζυμάρι (sourdough), το γνωστό **προζύμι**. Στην περίπτωση αυτή η ζύμωση των σακχάρων του αλεύρου γίνεται με την συνεργιστική δράση ζυμών και οξυγαλακτικών βακτηρίων. Η γνωστή ζύμη της «μαγιάς», ο *Saccharomyces cerevisiae*, απαντάται πολύ συχνά στο προζύμι και τα στελέχη του μπορούν και καταβολίζουν την μαλτόζη του αλεύρου. Η ζύμη *Candida milleri* είναι επίσης συνηθισμένο είδος ζύμης στο προζύμι, αν και τα στελέχη της δεν είναι ικανά να καταβολίσουν την μαλτόζη του αλεύρου. Σε ό,τι αφορά τα οξυγαλακτικά βακτήρια απαντώνται κυρίως οι ετεροζυμωτικοί γαλακτοβακίλλοι, όπως τα είδη *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus brevis* και *Lactobacillus pontis*. Συχνά απαντώνται και άλλα οξυγαλακτικά βακτήρια, όπως είδη των γενών *Pediococcus* και *Leuconostoc*.

Είναι γενικά αποδεκτό ότι με την χρήση του προζυμιού όχι μόνο βελτιώνονται οι οργανοληπτικές ιδιότητες του ψωμιού αλλά ταυτόχρονα καθυστερεί η παλαίωση του ψωμιού και παρεμποδίζεται η αλλοίωση του από μύκητες και βακτήρια. Τα οργανικά οξέα που παράγονται στο ψωμί που γίνεται με προζύμι βελτιώνουν τα οργανοληπτικά και φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του ψωμιού ενώ ταυτόχρονα αυξάνουν τον χρόνο ζωής του. Το οξικό οξύ σε συγκεντρώσεις 100-200 ppm αυξάνει την ένταση των αρωματικών συστατικών του ψωμιού ενώ ένας συντελεστής ζύμωσης 2.0 - 2.7 (fermentation quotient, FQ = γραμμομοριακή αναλογία γαλακτικού οξέος προς οξικό οξύ) καθιστά την γεύση και το άρωμα του ψωμιού πολύ πιο έντονα.

Ιδιαίτερη σημασία αποκτά η χρήση προζυμιού στην παρασκευή ψωμιού σίκαλης. Οι πρωτεΐνες του αλεύρου της σίκαλης στην ουσία αδυνατούν να σχηματίσουν ένα επαρκές πλέγμα ενυδατωμένης γλουτένης που είναι κρίσιμο τόσο για την συγκράτηση του νερού κατά την παρασκευή του ζυμαριού όσο και του διοξειδίου του άνθρακα κατά την ζύμωση. Η οξίνιση

όμως ενδυναμώνει το πλέγμα της γλουτένης και βοηθά στην σωστή διόγκωση του ψωμιού. Ταυτόχρονα καθυστερεί την ανακραστώδωση του αμύλου και άρα την παλαίωση του ψωμιού. Τέλος, στην περίπτωση της σίκαλης οι πεντοζάνες παίζουν τον ρόλο της γλουτένης και φαίνεται ότι η δράση τους βελτιώνεται όταν χρησιμοποιείται προζύμι.

Ανάλογα με την τεχνολογία που εφαρμόζεται, **το προζύμι απαντάται σε 3 τύπους**. Η τεχνολογία που εφαρμόζεται ανά τύπο παρουσιάζεται στο Σχήμα 10, ενώ οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί (οξυγαλακτικά βακτήρια και ζύμες), οι οποίοι πραγματοποιούν την ζύμωση στον Πίνακα 6.

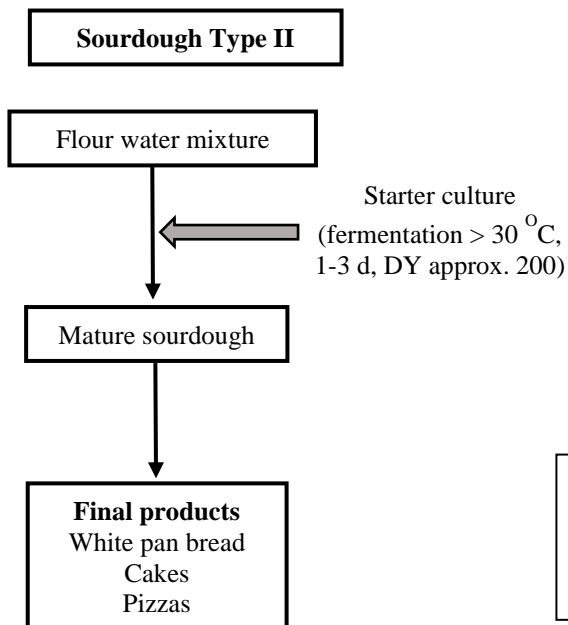
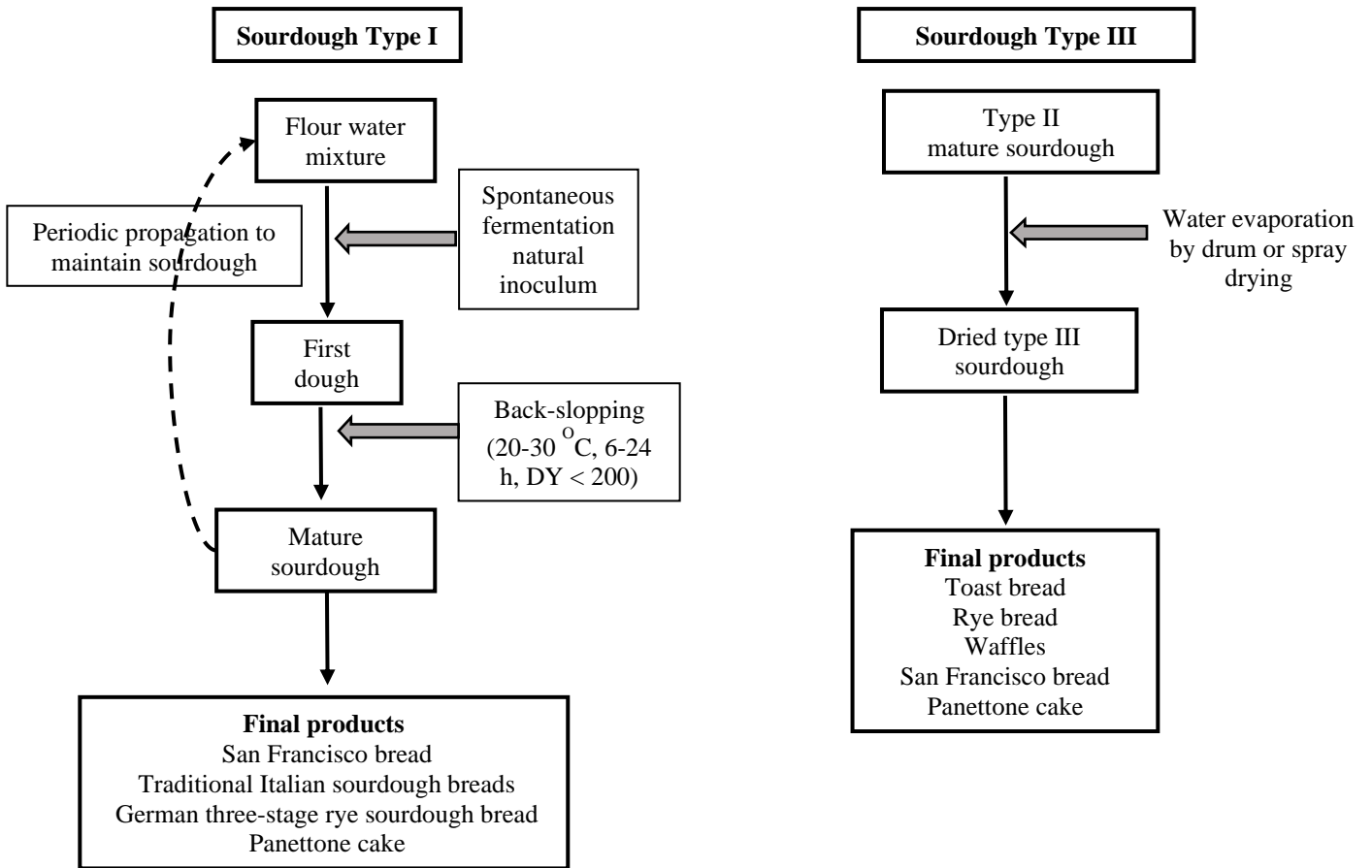
Στον **τύπο I**, το προζύμι παρασκευάζεται με διαδοχικές ανανεώσεις (back-slopping technology), συνήθως τρεις, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 20-30°C και έχει ένα τελικό pH 3.9. Η ζύμωση πραγματοποιείται από την αυτόχθονη μικροχλωρίδα (οξυγαλακτικά βακτήρια και ζύμες) που υπάρχει στο αλεύρι, το περιβάλλον και τυχόν άλλα υλικά που προστίθενται (π.χ. βασιλικός, δάφνη). Στον τύπο αυτό ανήκουν το Ελληνικό προζύμι, το Γερμανικό Anstellgut, το mother sponge του San Francisco, το Γαλλικό le chef, το Ισπανικό masa madre και τα Ιταλικά madre και capolievito.

Στο προζύμι **τύπου II** εφαρμόζεται ζύμωση ενός σταδίου στους 30°C, μετά την προσθήκη, στο μίγμα αλεύρου-νερού, εναρκτήριας καλλιέργειας, η οποία αποτελεί μικροβιακή κοινοπραξία οξυγαλακτικών βακτηρίων και ζυμών σε αναλογία 100:1. Εν συνεχεία το προζύμι ψύχεται για να ανασταλεί η μεταβολική δράση των εναρκτήριων καλλιεργειών. Το προζύμι αυτό χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον σε (ημι)βιομηχανικό επίπεδο, κυρίως ως μέσο οξύνισης του ζυμαριού και όχι διόγκωσης, για την παρασκευή (καταψυγμένων) προϊόντων αρτοποιίας, όπως π.χ. η πίτσα.

Το προζύμι **τύπου III** είναι αποξηραμένο σκεύασμα (κατά κανόνα προέρχεται από προζύμι τύπου II) που περιέχει καθορισμένες εναρκήριες καλλιέργειες, οι οποίες είναι ανθεκτικές στην διαδικασία της ξήρανσης. Παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα έναντι των τύπων I και τύπου II, όπως σταθερή ποιότητα, μεγαλύτερη διάρκεια ζωής, μικρότερο όγκο, και κατά συνέπεια ευκολία στο χειρισμό, την μεταφορά και την αποθήκευση. Για τους παραπάνω λόγους χρησιμοποιείται πλέον ευρύτατα στην παραγωγή τυποποιημένων τελικών προϊόντων σε βιομηχανικό επίπεδο αλλά και σούπερ μάρκετ. Τα προϊόντα ψωμιού που παράγονται με προζύμι τύπου III περιλαμβάνουν ψωμί τοστ, βάφλες, ψωμί σίκαλης, κλπ.

Πίνακας 6. Το μικροβιακό οικοσύστημα στους τρεις τύπους προζυμιού

Sourdough Type I	Sourdough Type II	Sourdough Type III
Lactic acid bacteria		
<p>Obligate heterofermentative <i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus pontis</i> <i>Lactobacillus rossiae</i></p>	<p>Obligate heterofermentative <i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus pontis</i> <i>Lactobacillus panis</i> <i>Lactobacillus frumenti</i> <i>Weissella</i> spp.</p>	<p>Obligate heterofermentative <i>Lactobacillus brevis</i></p>
<p>Facultative heterofermentative <i>Lactobacillus alimentarius</i> <i>Lactobacillus paralimentarius</i> <i>Lactobacillus plantarum</i></p>		<p>Facultative heterofermentative <i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i></p>
<p>Obligate homofermentative <i>Lactobacillus amylovorus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i></p>	<p>Obligate homofermentative <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus johnsonii</i> <i>Lactobacillus farciminis</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus amylovorus</i> (rye)</p>	
Yeasts		
<p><i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Kazachstania exigua</i> <i>Candida humilis</i> (reclassified as <i>Kazachstania humilis</i>) <i>Pichia kudriavzevii</i> <i>Torulaspora delbrueckii</i> <i>Wickerhamomyces anomalus</i></p>	<p><i>Saccharomyces cerevisiae</i> is added</p>	<p><i>Saccharomyces cerevisiae</i> is added</p>

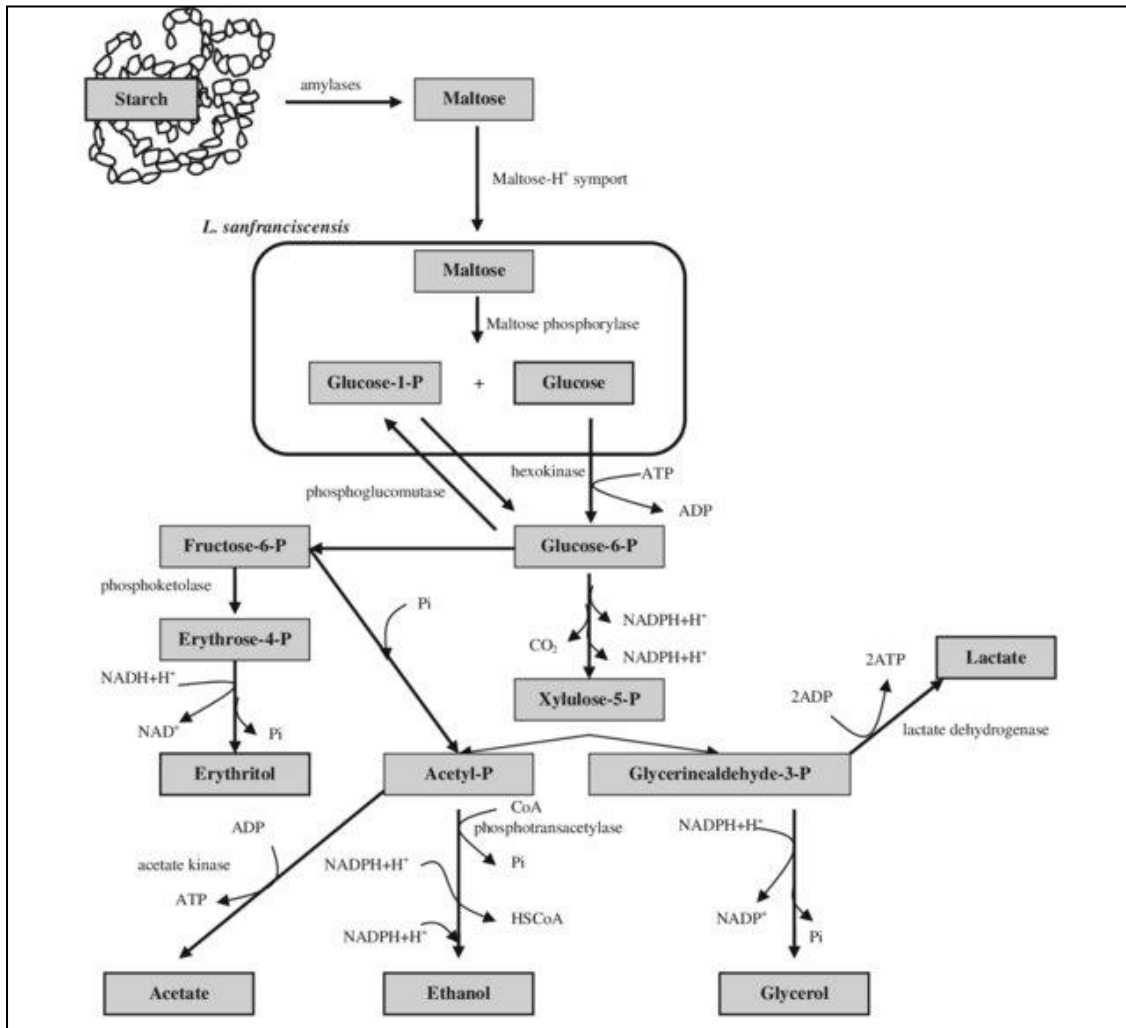


Σχήμα 10. Η τεχνολογία των τριών τύπων προζυμιού
DY: dough yield
 $[DY = (flour\ mass + water\ mass) \times 100 / (flour\ mass)]$

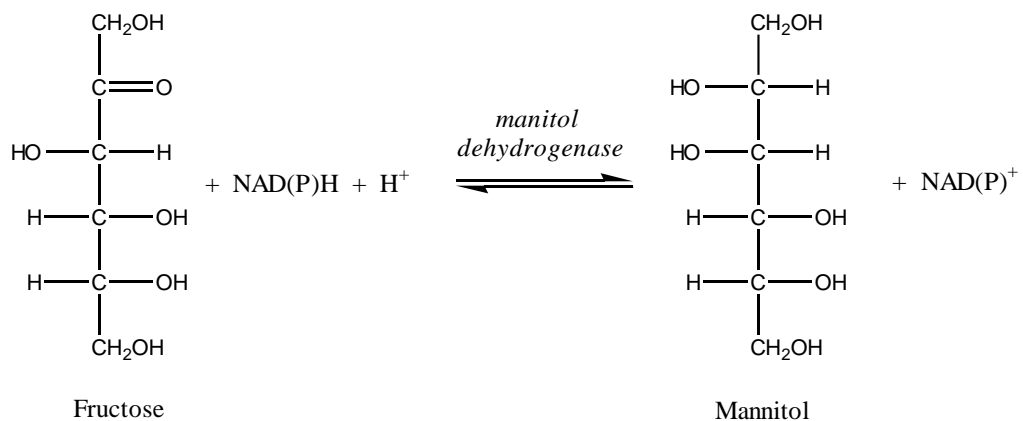
Η μαλτόζη είναι ο κύριος υδατάνθρακας στο αλεύρι και ως εκ τούτου ο καταβολισμός της παίζει πολύ σημαντικό ρόλο (Σχήμα 11). Τα οξυγαλακτικά ετεροζυμωτικά βακτήρια *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus reuteri* και *Lactobacillus fermentum* διαθέτουν μια συστατική, ενδοκυτταρική φωσφορυλάση της μαλτόζης, η οποία καταλύει την διάσπαση της μαλτόζης προς γλυκόζη-1-P και γλυκόζη. Η γλυκόζη-1-P μέσω της φωσφογλυκομουτάσης μετατρέπεται σε γλυκόζη-6-P, η οποία εν συνεχεία μεταβολίζεται μέσω του μονοπατιού των φωσφορικών πεντοζών. Παράλληλα, η μη φωσφορυλιωμένη γλυκόζη εκκρίνεται κατά κανόνα προς τα έξω, καθώς τα βακτήρια αυτά όταν αναπτύσσονται παρουσία μαλτόζης δεν παράγουν επαρκείς ποσότητες εξωκινάσης ώστε να μετατρέψουν την γλυκόζη σε γλυκόζη-6-P. Η εξωκινάση όμως φαίνεται ότι επάγεται από την παρουσία γλυκόζης ή φρουκτόζης. Τα είδη *Lactobacillus sanfranciscensis* και *Lactobacillus pontis* χρησιμοποιούν την φρουκτόζη ως πηγή άνθρακα και επομένως ενέργειας. Παρουσία όμως μαλτόζης την χρησιμοποιούν κυρίως ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, ανάγοντας την φρουκτόζη προς μαννιτόλη (Σχήμα 12).

Η συγκέντρωση των υδατοδιαλυτών υδατανθράκων στο αλεύρι, δηλαδή της μαλτόζης, της σακχαρόζης, της γλυκόζης και της φρουκτόζης, κυμαίνεται από 1.55 μέχρι 1.85%, ανάλογα με τον τύπο του αλεύρου, καθώς και την δυναμική ισοροπία ανάμεσα στην υδρόλυση του αμύλου, κυρίως από τα ενδογενή ένζυμα του αλεύρου, και του καταβολισμού των ελεύθερων σακχάρων από τα ένζυμα των ζυμών και των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Στο πολύπλοκο οικοσύστημα του προζυμιού η ζύμωση των σακχάρων επηρεάζεται από τις αλληλοεπιδράσεις ζυμών και οξυγαλακτικών βακτηρίων. Έχουν μάλιστα καταγραφεί τόσο φαινόμενα ανταγωνισμού όσο και συνεργιστικά φαινόμενα μεταξύ βακτηρίων και ζυμών ως προς τον καταβολισμό των σακχάρων.

Ένα σημαντικό θέμα κατά την παρασκευή του προζυμιού είναι πολλές φορές η έλλειψη ισορροπίας ανάμεσα στην κατανάλωση μαλτόζης από τους μικροοργανισμούς και την παραγωγή νέας μαλτόζης από την ενζυμική αποικοδόμηση του αμύλου του αλεύρου. Αυτό οδηγεί στην γρήγορη εξάντληση των διαλυτών σακχάρων στο προζύμι που παρασκευάζεται από αλεύρι σιταριού. Για τον λόγο αυτό, σήμερα, σε πολλές χώρες επιτρέπεται ο εμπλουτισμός του αλεύρου αρτοποιίας με εξωγενείς α - και β -αμυλάσες. Με την προσθήκη των εξωγενών ενζύμων επιτυγχάνεται μερική υδρόλυση του αμύλου κατά την διάρκεια της παρασκευής του ζυμαριού με αποτέλεσμα την αύξηση των ελευθέρων σακχάρων που μπορούν να καταβολίσουν οι ζύμες και τα οξυγαλακτικά βακτήρια, και επομένως την μείωση του χρόνου που απαιτείται για την διόγκωση του ζυμαριού, καθώς επίσης και την αύξηση του όγκου του ψωμιού. Το αλεύρι της σικάλης είναι σαφώς πιο πλούσιο σε ενδογενή αμυλολυτικά ένζυμα.



Σχήμα 11. Ο καταβολισμός της μαλτόζης από τον *L. sanfranciscensis* στο προζύμι



Σχήμα 12. Αναγωγή της φρουκτόζης σε μαννιτόλη

Πέρα από τα εξωγενή ένζυμα που αναφέρθηκαν παραπάνω, στην αρτοποιία βιομηχανικής κλίμακας χρησιμοποιούνται αρκετά άλλα πρόσθετα. Η κυστεΐνη και το θειώδες ή μεταθειώδες νάτριο χρησιμοποιούνται ως αναγωγικά αντιδραστήρια των δισουλφιδικών δεσμών στις πρωτεΐνες και συμβάλλουν στην καλύτερη ανάπτυξη του ζυμαριού (dough relaxer). Το ασκορβικό οξύ, ως οξειδωτικό αντιδραστήριο, δυναμώνει την γλουτένη και επομένως βελτιώνει την κατακράτηση του διοξειδίου του άνθρακα και ως εκ τούτου τον όγκο του ψωμιού. Το ιωδικό νάτριο και ασβέστιο δρουν ως ταχέα οξειδωτικά, ενώ τα αντίστοιχα βρωμικά άλατα ως βραδέα. Η δράση και των δύο αφορά στην οξείδωση σουλφυδρικών ομάδων σε δισουλφίδια, και επομένως στην ενδυνάμωση της γλουτένης. Διάφοροι γαλακτωματοποιητές συμβάλλουν στην καλύτερη διασπορά του λίπους στο ζυμάρι με αποτέλεσμα την αύξηση της εκτατικότητας του, ενώ αλληλοεπιδρώντας με το σύμπλοκο γλουτένης-αμύλου συμβάλλουν στην καθυστέρηση της παλαίωσης του ψωμιού. Υδροκολλοειδή (προϊόντα αμύλου από διάφορα φυτά) ρυθμίζουν την κατακράτηση και την κατανομή του νερού αυξάνοντας έτσι την απόδοση στο τελικό προϊόν ενώ ταυτόχρονα ενισχύουν την δομή της κόρας και βελτιώνουν την πεπτικότητα του ψωμιού. Κυτταρίνη ή παράγωγα κυτταρίνης χρησιμοποιούνται ως πηγές διαιτητικών ινών. Τέλος, η προσθήκη αλατιού (περίπου 2% του βάρους του αλεύρου) συμβάλλει στην αύξηση του αρώματος, μεταβάλλει τον χρόνο ανάμιξης του ζυμαριού, αυξάνει την σταθερότητα του ζυμαριού, την κατακράτηση του διοξειδίου του άνθρακα καθώς και την θερμοκρασία ζελατινοποίησης του αμύλου.

Το ψωμί είναι ένα τρόφιμο υψηλής **διατροφικής αξίας**. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν κάποια σημεία που πρέπει να αναδειχθούν. Τα δημητριακά περιέχουν φυτικό οξύ (εξα-φωσφορική μυο-ινοσιτόλη), το οποίο δεσμεύει πολύτιμα μεταλλικά στοιχεία, όπως ο Zn, ο Fe και το Ca, μειώνοντας έτσι την βιοδιαθεσιμότητά τους. Επί πλέον, το φυτικό οξύ φαίνεται ότι μειώνει την διατροφική αξία των πρωτεϊνών σε αλεύρι σιταριού ολικής άλεσης με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη. Στο ψωμί, το φυτικό οξύ διασπάται τόσο από την ενδογενή φυτάση του αλεύρου, όσο και από τις φυτάσεις των ζυμών και των βακτηρίων που χρησιμοποιούνται στην ζύμωση. Πρέπει να αναφερθεί πάντως ότι κάποιοι ερευνητές αποδίδουν στο φυτικό οξύ ευεργετικές ιδιότητες, π.χ. αντικαρκινογόνο δράση και προστασία στις καρδιαγγειακές παθήσεις, οι οποίες όμως κατ' άλλους σχετίζονται με τις διαιτητικές ίνες.

Η ανάπτυξη μυκήτων είναι η πιο συχνή αιτία αλλοίωσης του ψωμιού. Ο χρόνος ζωής του ψωμιού, χωρίς την χρήση συντηρητικών, ανέρχεται στις 3-4 ημέρες, ιδιαίτερα όταν δεν τηρούνται πλήρως οι κανόνες υγιεινής κατά την παρασκευή του. Εκτός από την απωθητική όψη που προσδίδουν στο ψωμί, οι μύκητες ευθύνονται για την δυσάρεστη οσμή, την παραγωγή μυκοτοξινών και αλλεργιογόνων ενώσεων, οι οποίες σχηματίζονται πριν ακόμη γίνει ορατή η ανάπτυξη των ίδιων των μυκήτων. Τα είδη των μυκήτων που επικρατούν είναι τα είδη *Penicillium commune*, *Penicillium solium*, *Penicillium corylophilum* και *Aspergillus flavis* στο ψωμί από σιτάρι, και οι *Penicillium roqueforti*, *Penicillium corylophilum* και σε κάποιο βαθμό

είδη του γένους *Euroticum* στο ψωμί από σίκαλη. Επίσης ζύμες, όπως το είδος *Endomyces fibuliger*, προκαλούν αλλοίωση στο ψωμί (chalk moulds). Έχει αποδειχθεί όμως ότι στο ψωμί που παρασκευάζεται με προζύμι, το γαλακτικό και κυρίως το οξικό οξύ που παράγονται από τα ετεροζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια που συμμετέχουν στην ζύμωση έχουν αντιμυκητιακή δράση. Σε πειράματα που έγιναν με ψωμί επιμολυσμένο με κονίδια από τυπικούς μύκητες που συναντάμε στο ψωμί, όπως τα είδη *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum* και *Penicillium verrucosum*, ο χρόνος ζωής του ψωμιού που έγινε με προζύμι ήταν μεγαλύτερος αυτού που είχε το ψωμί χωρίς προζύμι. Εκτός από το γαλακτικό και το οξικό οξύ, και άλλα οργανικά οξέα που παράγονται κατά την ζύμωση, όπως το καρποϊκό οξύ από τον *Lactobacillus sanfranciscencis* ή το φαινυλο-γαλακτικό οξύ και το π-υδρόξυ-φαινυλο-γαλακτικό οξύ από τον *Lactobacillus plantarum*, φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιμήκυνση του χρόνου ζωής του ψωμιού.

Η κολλώδης υφή είναι η δεύτερη πιο σημαντική αλλοίωση του ψωμιού, ιδιαίτερα όταν οι κλιματικές συνθήκες ευνοούν την ανάπτυξη βακτηρίων, όπως του είδους *Bacillus subtilis* αλλά και των ειδών *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus* και *Bacillus megaterium*. Αρχικά εμφανίζεται μια δυσάρεστη οσμή, ακολουθεί αποχρωματισμός και τέλος το ψωμί γίνεται κολλώδες και μαλακό, λόγω της αποικοδόμησης πρωτεϊνών και αμύλου και της παραγωγής εξωκυτταρικών βλενωδών πολυσακχαριτών. Η παρεμπόδιση των παραπάνω ειδών του γένους *Bacillus* αποδίδεται τόσο στην θερμική απενεργοποίηση των σπορίων τους κατά το ψήσιμο του ψωμιού όσο και στην δράση των οργανικών οξέων (οξικό και γαλακτικό οξύ) αλλά και των βακτηριοσινών (αντιμικροβιακών πρωτεϊνών/πεπτιδίων) που παράγουν τα οξυγαλακτικά βακτήρια που συμμετέχουν στην ζύμωση του ψωμιού.

Αν και πολλά από τα προϊόντα ζύμωσης των δημητριακών υφίστανται θερμική επεξεργασία μετά την ζύμωση και επομένως η μικροχλωρίδα της ζύμωσης θανατώνεται, τα τελευταία χρόνια το ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώνεται στα λεγόμενα λειτουργικά τρόφιμα, τα οποία περιέχουν μικροοργανισμούς, κάποιιο από τους οποίους μπορεί να διαθέτουν προβιοτικό δυναμικό. Προβιοτικοί ονομάζονται οι μικροοργανισμοί εκείνοι, οι οποίοι όταν καταναλωθούν σε επαρκείς ποσότητες εξασκούν μια ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου, πέραν αυτής που προσφέρει μια τυπική, υγιεινή διατροφή. Προκειμένου οι μικροοργανισμοί αυτοί να μπορέσουν να δράσουν ευεργετικά πρέπει να είναι σε θέση να επιβιώσουν κάτω από τις αντίξοες συνθήκες που επικρατούν στο πεπτικό σύστημα του ανθρώπου (π.χ. χαμηλό pH στο στομάχι, χολικά άλατα στον εντερικό σωλήνα) και να αποικίσουν έστω και παροδικά τον εντερικό σωλήνα. Ένας από τους παράγοντες που υποστηρίζουν τον αποικισμό του από τα προβιοτικά είναι και τα λεγόμενα πρεβιοτικά (prebiotics).

Τα πρεβιοτικά είναι ολιγοσακχαρίτες ή πολυσακχαρίτες, οι οποίοι δεν υδρολύονται από τα ενδογενή ένζυμα του πεπτικού σωλήνα του ανθρώπου, καταβολίζονται όμως από μικροοργανισμούς του εντέρου, μεταξύ των οποίων είναι και τα προβιοτικά. Στα δημητριακά

τέτοια μόρια είναι η κυτταρίνη, το ανθεκτικό άμυλο (resistant starch), τα αραβοξυλάνια, οι πεντοζάνες και τα γλυκάνια. Ανάμεσα στα προϊόντα της αποικοδόμησης των πρεβιοτικών ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα μικρού μοριακού βάρους λιπαρά οξέα (short chain fatty acids, SCFA), και ιδιαίτερα το οξικό, το προπιονικό και το βουτυρικό οξύ. Το βουτυρικό χρησιμοποιείται ως πηγή ενέργειας από τα κύτταρα του επιθηλίου του εντέρου, ενώ τα άλλα δύο αφού εισέλθουν στην εντεροηπατική κυκλοφορία πιστεύεται ότι μειώνουν την ηπατική σύνθεση της χοληστερόλης.

ΦΡΟΥΤΑ ΚΑΙ ΛΑΧΑΝΙΚΑ

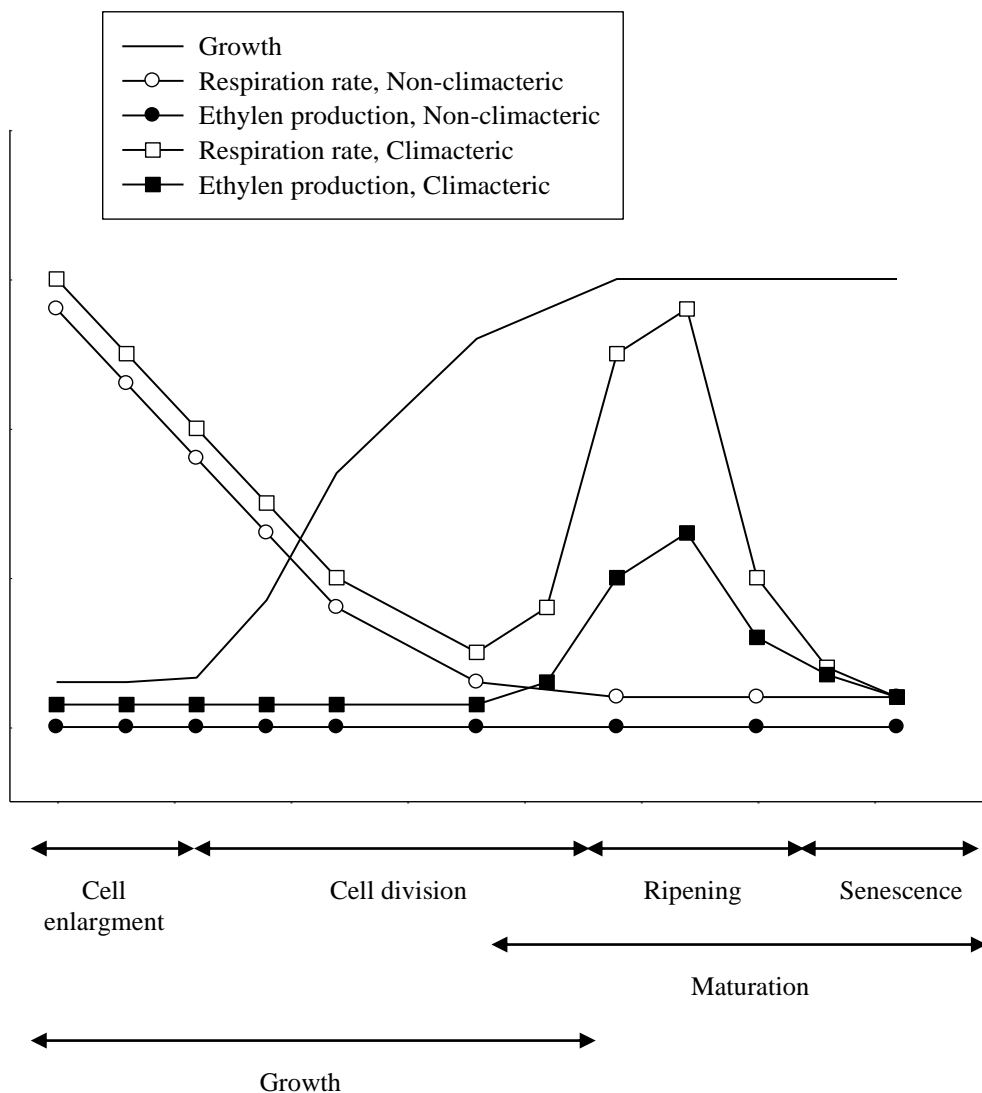
1. Εισαγωγή

Το άρωμα και η γεύση, το χρώμα, το μέγεθος, το σχήμα αλλά και η απουσία εξωτερικών τραυμάτων είναι τα χαρακτηριστικά εκείνα των φρούτων και λαχανικών, τα οποία καθορίζουν την ποιότητά τους αλλά και την προτίμηση των καταναλωτών. Η ανάπτυξη των χαρακτηριστικών αυτών είναι αποτέλεσμα βιοχημικών και χημικών αντιδράσεων, οι οποίες λαμβάνουν χώρα τόσο κατά την ανάπτυξη και ωρίμανση του φυτού, όσο και μετασυλλεκτικά και κατά την διάρκεια της συντήρησης του.

Με βάση την εξωτερική τους εμφάνιση μπορούμε να κατατάξουμε τους εδώδιμους φυτικούς ιστούς σε τέσσερις κατηγορίες, τα ριζώματα, τους βολβούς, τα φύλλα και τους καρπούς (fruits). Παράλληλα όμως, τα φυτικής προέλευσης τρόφιμα ομαδοποιούνται με βάση την εμπορική τους χρήση και τον τρόπο που τα καταναλώνουμε, όπως π.χ. σε φρούτα, λαχανικά, ξηρούς καρπούς, σιτηρά κλπ. Η δεύτερη ομαδοποίηση στηρίζεται περισσότερο στον τρόπο, με τον οποίο ο καταναλωτής αντιλαμβάνεται το τρόφιμο και όχι με όρους συστηματικής βοτανικής. Έτσι π.χ. ως καταναλωτές κατατάσσουμε την ντομάτα στα λαχανικά, ενώ για τον βοτανολόγο η ντομάτα είναι φρούτο. Στην κατηγορία των ριζωμάτων ανήκουν τα σακχαρότευτλα, οι γλυκοπατάτες και η κάσσαβα. Στην κατηγορία των βολβών ανήκουν οι πατάτες, τα κρεμμύδια, το σκόρδο, το σακχαροκάλαμο, το σπαράγγι και η γογγυλοκράμβη (kohlrabi). Στην κατηγορία των φύλλων ανήκουν το μαρούλι, το σπανάκι, το λάχανο, το τσάι και το σινάπι. Στην κατηγορία των φρούτων ανήκουν καλλιέργειες, όπως η ντομάτα, τα πράσινα φασολάκια και το αγγούρι.

Τα εδεσματολογικά φρούτα τρώγονται συνήθως ωμά ως επιδόρπιο και έχουν χαρακτηριστικές γεύσεις, οι οποίες οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στην παρουσία οργανικών οξέων και υδατανθράκων. Τα δημητριακά είναι ένας τύπος καρπού που ονομάζεται καρύοψη, στην οποία ο λεπτός φλοιός του καρπού είναι σθεναρά συνδεδεμένος με το περικάρπιο. Τα πραγματικά κάρυα (π.χ. τα βελανίδια, τα φουντούκια, τα κάστανα) είναι μονόσποροι καρποί που περιβάλλονται από ένα σκληρό κάλυμμα. Τα εδεσματολογικά κάρυα διακινούνται είτε μόνο ως σπόροι (π.χ. τα καρύδια και τα αμύγδαλα), είτε δεν είναι κάρυα με την βοτανική έννοια του όρου (π.χ. το φιστίκι είναι σπόρος ψυχανθούς).

Αν και τα όρια δεν είναι πάντα σαφή, η ζωή των φρούτων και λαχανικών μπορεί συμβατικά να διαιρεθεί σε τρία κύρια φυσιολογικά στάδια που ακολουθούν την βλάστηση. Αυτά είναι η ανάπτυξη (cell enlargement και cell division), η ωρίμανση (ripening) και ο μαρρασμός (senescence) (Σχήμα 1). Η ανάπτυξη περιλαμβάνει την μεγένθυση των κυττάρων και την κυτταρική διαίρεση, δηλαδή αναβολικές (συνθετικές) βιοχημικές διεργασίες. Στα στάδια της ωρίμανσης και του μαρρασμού αντίθετα κυριαρχούν οι καταβολικές βιοχημικές διεργασίες που τελικά οδηγούν στην γήρανση και τον θάνατο των ιστών.



Σχήμα 1. Ανάπτυξη, αναπνοή και παραγωγή αιθυλενίου κλιμακτηριακών και μη κλιμακτηριακών φυτών

Η ανάπτυξη και τα πρώτα στάδια της ωρίμανσης ολοκληρώνονται μόνον όταν ο καρπός είναι ακόμη επάνω στο μητρικό φυτό. Αντίθετα, το τελευταίο στάδιο της ωρίμανσης και ο μαρασμός μπορούν να λάβουν χώρα τόσο πάνω στο μητρικό φυτό όσο και μετά την απομάκρυνση από αυτό. Τα φρούτα γενικά συλλέγονται αφού έχουν ωριμάσει, αν και κάποια φρούτα που καταναλώνονται ως λαχανικά (π.χ. ντομάτα) συλλέγονται πριν αρχίσει η ωρίμανση. Η ανάπτυξη και η ωρίμανση φρούτων και λαχανικών εξαρτώνται από την αναπνοή, την φωτοσύνθεση, καθώς και την απορρόφηση νερού και ιχνοστοιχείων από τις ρίζες του μητρικού φυτού. Σε αντίθεση με τους ζωϊκούς ιστούς, οι φυτικοί ιστοί δεν εξαρτώνται από ένα κυκλοφοριακό σύστημα. Μετά την απομάκρυνση από το μητρικό φυτό σταματά η παροχή

θρεπτικών στοιχείων. Παρ' όλ' αυτά οι μετασυλλεκτικοί καρποί μπορούν να θεωρηθούν κατ' αρχήν «ζωντανοί». Πράγματι, από την στιγμή που θα συλλεχθούν γίνονται αυτόνομες μονάδες και η αναπνοή παίζει τον κύριο ρόλο. Το οξυγόνο μπορεί να διαχυθεί στο εσωτερικό των ιστών, το διοξείδιο του άνθρακα προς τα έξω, ενώ άχρηστα προϊόντα συσσωρεύονται στα κενοτόπια των κυττάρων. Με την πάροδο του χρόνου φυσικά οι φυτικοί ιστοί αλλοιώνονται λόγω της διακοπής παροχής θρεπτικών στοιχείων από το μητρικό φυτό αλλά και της απώλειας βιολογικής ρύθμισης.

Η φύση και η έκταση των μετασυλλεκτικών μεταβολών στα φυτά εξαρτώνται από την κυτταρική οργάνωση των φυτικών ιστών. Οι φυτικοί ιστοί δεν είναι ομοιογενείς σε ό,τι αφορά τους τύπους των κυττάρων, την κατανομή των μεταβολιτών και την κυτταρική οργάνωση. Κάθε ιστός είναι δομικά προσαρμοσμένος έτσι ώστε να διεκπεραιώνει μια συγκεκριμένη βιολογική λειτουργία. Με βάση την υπάρχουσα επιστημονική γνώση μπορούμε να μιλήσουμε αρχικά για μια ενότητα βιοχημικών αντιδράσεων, οι οποίες είναι στην ουσία ταυτόσημες για όλα τα είδη φυτικών κύτταρων. Τέτοιες αντιδράσεις είναι η βιοσύνθεση των πρωτεϊνών στα ριβοσώματα του ενδοπλασματικού δικτύου, η οξειδωτική φωσφορυλίωση και η μεταφορά ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, και η βιοσύνθεση των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος. Παράλληλα όμως υπάρχουν και αντιδράσεις, όπως η φωτοσύνθεση, ο μεταβολισμός των οργανικών οξέων, το μονοπάτι του σικιμικού οξέος και το μονοπάτι του μεβαλονικού οξέος, οι οποίες είναι κοινές για συγκεκριμένα όργανα των φυτών. Τέλος, υπάρχουν αντιδράσεις, οι οποίες είναι εξειδικευμένες ανάλογα με το είδος του φυτού, όπως π.χ. η βιοσύνθεση θειούχων ενώσεων στο σκόρδο και το κρεμμύδι.

Ο βιολογικός ρόλος των φρούτων είναι η προσέλκυση μεταφορέων, π.χ. ζώων, πτηνών και εντόμων, οι οποίοι θα βοηθήσουν στην διασπορά των σπόρων. Για τον λόγο αυτό τα φρούτα έχουν αναπτύξει οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, όπως το χρώμα, το άρωμα και η γεύση, τα οποία διεγείρουν τα αντίστοιχα όργανα των οργανισμών-μεταφορέων. Τα βιοχημικά λοιπόν μονοπάτια στα φρούτα είναι έτσι δομημένα ώστε να εξυπηρετούνται οι παραπάνω στόχοι. Αλλά και η ποιότητα όπως και η διατροφική αξία των φρούτων είναι αποτέλεσμα της συσσώρευσης ενώσεων που προκύπτουν από αυτά τα βιοχημικά μονοπάτια. Σε όρους παραγωγής και όγκου οι κυρίαρχες καλλιέργειες φρούτων παγκοσμίως είναι αυτές των προτοκαλιών, της μπανάνας και του γρέϊπ-φρουτ, ενώ στην περίπτωση των λαχανικών της ντομάτας και της πατάτας.

2. Η σύσταση φρούτων και λαχανικών

Στον Πίνακα 1 δίνεται η σύσταση των πιο συνηθισμένων ομάδων εδώδιμων φυτικών προϊόντων. Τα φρούτα περιέχουν τυπικά 10-25% υδατάνθρακες, < 1% πρωτεΐνες και < 0.5% λίπος, με ενδιαφέρουσες όμως αποκλίσεις.

Πίνακας 1. Η σύσταση των πιο συνηθισμένων ομάδων εδάδιμων φυτών

	H₂O (%)	Υδατάνθρακες (%)	Πρωτεΐνες (%)	Λίπος (%)
Φρούτα	80-90	5-20	0.5-3	0.1-0.5
Λαχανικά	80-90	2-20	5-7	0.1-0.3
Όσπρια	10-50	6-60	5-25	1-18
Ξηροί καρποί	3-50	10-40	3-25	2-70
Δημητριακά	12-14	65-75	7-12	2-6

Το **νερό** είναι το κύριο συστατικό φρούτων και λαχανικών φτάνοντας μέχρι το 90% του βάρους τους. Ως κυρίαρχο συστατικό επηρεάζει τόσο την ποιότητα όσο και την αποσύνθεση τους. Η σκληρότητα είναι ένας βασικός παράγοντας ποιότητας και η απώλεια της μετασυλλεκτικά κατά την αποθήκευση και μεταφορά σχετίζεται με την μείωση της ποιότητας τους. Για τον λόγο αυτό η συλλογή τους πρέπει να γίνεται στο δροσερό διάστημα της ημέρας.

Μετά το νερό, το κυρίαρχο συστατικό φρούτων και λαχανικών είναι οι **υδατάνθρακες**, η συγκέντρωση των οποίων ποικίλει ανάλογα με το είδος. Τα κυριώτερα απλά σάκχαρα είναι η γλυκόζη, η φρουκτόζη, η σακχαρόζη και η μαλτόζη. Το άμυλο αποτελεί τον κύριο αποθηκευτικό πολυσακχαρίτη και η κυτταρίνη τον κύριο δομικό πολυσακχαρίτη. Τα φρούτα και τα λαχανικά θεωρούνται επίσης οι κύριες πηγές διαιτητικών ινών, με συγκεντρώσεις από 0.5 ως 1.5%. Αυτές περιλαμβάνουν την κυτταρίνη, τις ημικυτταρίνες, τις πηκτίνες αλλά και την λιγνίνη. Χάρης στην υψηλή ικανότητα κατακράτησης νερού συμβάλλουν στην περισταλτική κίνηση του εντέρου και θεωρείται ότι μειώνουν τον κίνδυνο του καρκίνου του εντέρου και των καρδιαγγειακών παθήσεων.

Οι **πρωτεΐνες** κυμαίνονται κατά κανόνα σε χαμηλές συγκεντρώσεις, αν και στην περίπτωση της σόγιας φτάνουν το 3.5% και στους ξηρούς καρπούς το 25%. Σε σύγκριση με τις πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης θεωρούνται χαμηλότερης θρεπτικής αξίας, διότι συχνά είναι ελλειμματικές σε ένα ή περισσότερα απαραίτητα αμινοξέα (π.χ. το σιτάρι σε λυσίνη και η σόγια σε μεθειονίνη). Παρ' ολ' αυτά αποτελούν βασική πηγή αζώτου σε χώρες όπου τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης είναι περιορισμένα. Στις πρωτεΐνες ανήκουν φυσικά και πολλά ένζυμα, όπως η χλωροφυλλάση, η κυτταρινάση, η πολυγαλακτουρονάση, η λιποξυγενάση, η πολυφαινυλοξειδάση κλπ, τα οποία, όπως θα δούμε παρακάτω, εμπλέκονται στην ωρίμανση και αποσύνθεση φρούτων και λαχανικών.

Με εξαίρεση τις ελιές, το αβοκάντο και τους ξηρούς καρπούς, το **λίπος** κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα. Αυτό συνίσταται από αποθηκευτικά τριγλυκερίδια, τα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών αλλά περιλαμβάνει και τους κηρούς της επιφάνειας, οι οποίοι ευθύνονται για την λαμπερή εμφάνιση των φρούτων, ενώ ταυτόχρονα τα προστατεύουν από την απώλεια νερού και την προσβολή από παθογόνους μικροοργανισμούς. Το λίπος παίζει επίσης ρόλο στο άρωμα και την γεύση των φρούτων. Παραδείγματος χάριν, στο κομμένο φρούτο η

λιποξυγενάση έρχεται σε άμεση επαφή με τα υποστρώματα της (ακόρεστα λιπαρά οξέα, π.χ. λινελαϊκό, λινολενικό) και οδηγεί στην παραγωγή πτητικών ενώσεων, σε κάποιες περιπτώσεις όμως και δυσάρεστων οσμών (off-flavors), όπως π.χ. στην σόγια.

Τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν τις κύριες πηγές των περισσότερων **βιταμινών**. Σε μια ισορροπημένη δίαιτα, η συμβολή τους στην ημερήσια πρόσληψη βιταμινών είναι ως εξής: βιταμίνη Α 50%, θειαμίνη (βιταμίνη Β1) 60%, ριβοφλαβίνη (βιταμίνη Β2) 30%, νιασίνη (βιταμίνη Β3) 50% και βιταμίνη C 100%. Όπως όμως είναι γνωστό οι βιταμίνες είναι ευαίσθητες σε ακραίες θερμοκρασίες, στο φως, και στην παρουσία οξυγόνου και μεταλλικών στοιχείων. Επομένως, σε πολλές από τις επεξεργασίες που υφίστανται τα φρούτα και τα λαχανικά (πλύσιμο, λεύκανση, κονσερβοποίηση) παρατηρούνται απώλειες βιταμινών.

Τα κύρια **μεταλλικά στοιχεία** στα φρούτα είναι είτε όξινα (P, Cl, S) είτε βασικά (K, Ca, Mg, Na), με κυρίαρχο το κάλιο (K), ακολουθούμενο από το ασβέστιο (Ca) και το μαγνήσιο (Mg). Σε μικρότερες ποσότητες απαντώνται το Mn, ο Zn, ο Fe, ο Cu, το Co, το Mo και το I.

Τέλος, τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν επίσης **χρωστικές** καθώς και **φαινολικές ενώσεις**. Οι κύριες χρωστικές είναι η χλωροφύλλη, τα καροτενοειδή και οι ανθοκυανίνες που είναι υπεύθυνες για το χρώμα τους τόσο προσυλλεκτικά όσο και μετασυλλεκτικά. Οι μετασυλλεκτικές μεταβολές των χρωστικών αυτών θα συζητηθούν αναλυτικότερα σ' αυτό το κεφάλαιο. Στο επόμενο κεφάλαιο, της ενζυμικής αμαύρωσης, θα συζητηθούν οι φαινολικές ενώσεις και ο βιολογικός τους ρόλος στα φρούτα και τα λαχανικά.

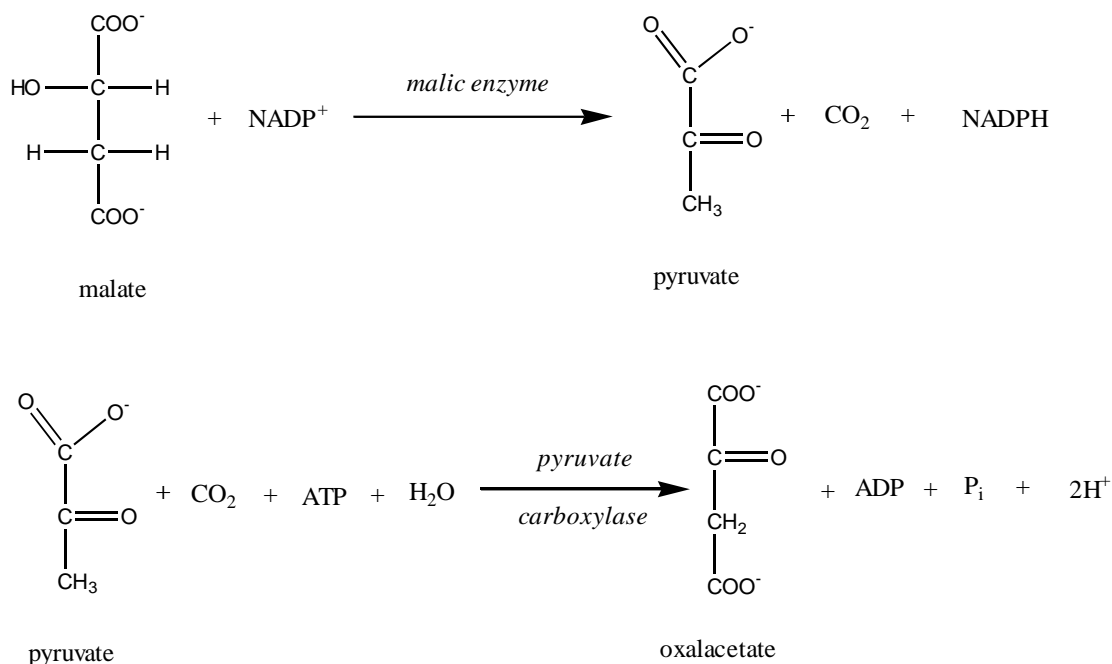
3. Η αναπνοή

Η αναπνοή είναι μια θεμελιώδης μεταβολική διεργασία, η οποία παίζει πρωταρχικό ρόλο στην μετασυλλεκτική φυσιολογία των φυτικών ιστών. Η αναπνοή των φυτικών ιστών περιλαμβάνει διάφορα μεταβολικά μονοπάτια και μπορεί να συνοψισθεί στην παρακάτω γενική αντίδραση.



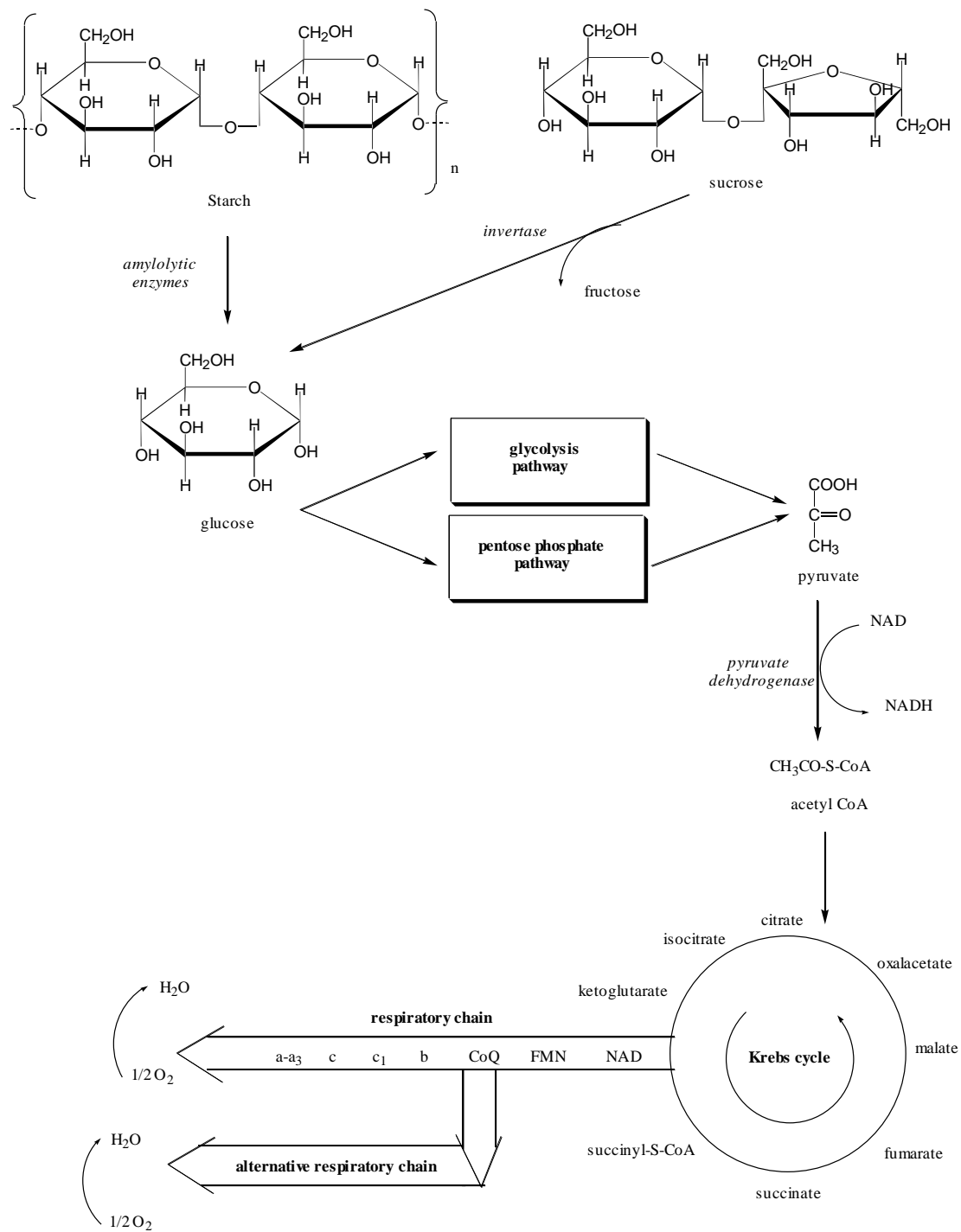
Θεωρητικά, το 60% της ενέργειας που παράγεται από την οξειδωση της γλυκόζης χάνεται ως θερμότητα, ενώ το υπόλοιπο 40% αποθηκεύεται υπό την μορφή ATP. Στην πράξη όμως έχει αποδειχθεί ότι μετασυλλεκτικά οι απώλειες υπό μορφή θερμότητας είναι μεγαλύτερες (90% ή και περισσότερο) και επομένως η παραγωγή ATP χαμηλότερη. Είναι, λοιπόν, προφανές ότι λόγω της υψηλής παραγωγής θερμότητας, η μετασυλλεκτική αναπνοή πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπ' όψιν στον σχεδιασμό των συνθηκών συντήρησης των φρούτων και των λαχανικών. Στα φυτά τα κύρια αποθηκευτικά μόρια είναι η σακχαρόζη και το άμυλο. Παρουσία οξυγόνου, οι ενώσεις αυτές οξειδώνονται πλήρως σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό με ταυτόχρονη

παραγωγή ενέργειας. Πέραν τούτων όμως, η κατανάλωση οξυγόνου και η παραγωγή διοξειδίου του άνθρακα μπορεί να ποικίλει ανάλογα με την οξείδωση και αποκαρβοξυλίωση και άλλων ενώσεων, όπως τα λιπαρά οξέα, τα αμινοξέα και τα οργανικά οξέα. Οι παρακάτω αντιδράσεις είναι δύο τέτοια παραδείγματα αποκαρβοξυλίωσης και καρβοξυλίωσης.



Η σημασία διαφόρων μεταβολικών κύκλων και οδών οξειδωτικού χαρακτήρα, όπως του κύκλου του Krebs, του κύκλου του γλυοξυλικού οξέος, του μονοπατιού της γλυκόλυσης και του μονοπατιού των φωσφορικών πεντοζών, στην μετασυλλεκτική αναπνοή ποικίλει ανάλογα με το είδος του φυτού, αλλά και με τον ιστό μέσα στο ίδιο φυτό (Σχήμα 2α). Ο κύκλος του Krebs και η γλυκόλυση φαίνεται να είναι τα σημαντικότερα μονοπάτια, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών φαίνεται ότι αναλαμβάνει το 30% του καταβολισμού της γλυκόζης. Η συμμετοχή του μονοπατιού των φωσφορικών πεντοζών είναι ιδιαίτερα σημαντική στους ώριμους φυτικούς ιστούς και σε φρούτα, όπως η μπανάνα, το πορτοκάλι, το λεμόνι, η ντομάτα και το πιπέρι.

Το επονομαζόμενο **κλάσμα αναπνοής** (Respiratory Quotient, RQ) χρησιμοποιείται ως μέτρο των μετασυλλεκτικών αλλαγών, οι οποίες παρατηρούνται στα μεταβολικά μονοπάτια που εμπλέκονται στην αναπνοή, αλλά ταυτόχρονα και ως δείκτης της λειτουργίας των μη αναπνευστικών συστημάτων οξείδωσης και αποκαρβοξυλίωσης, τα οποία άμεσα ή έμμεσα συνεισφέρουν στην αναπνοή. Το RQ ορίζεται ως ο λόγος του όγκου του CO₂ που εκλύεται προς τον όγκο του O₂ που καταναλώνεται μέσα σε μια συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Στον Πίνακα 2 δίνονται οι τιμές του RQ για κάποιους φυτικούς ιστούς.



Σχήμα 2α. Μεταβολικά μονοπάτια που εμπλέκονται στην μετασυλλεκτική αναπνοή των φρούτων και των λαχανικών

Πίνακας 2. Κλάσμα αναπνοής (RQ) σε μετασυλλεκτικούς φυτικούς ιστούς

Ιστός	Κλάσμα αναπνοής (RQ)
Φύλλα πλούσια σε υδατάνθρακες	1.00
Βλαστώνων σπόρος δημητριακού	1.00
Βλαστώνων σπόρος δημητριακού παρουσία 5-20% O ₂	0.95
Μήλο σε προκλιμακτηριακή φάση	1.00
Μήλο σε κλιμακτηριακή φάση	1.50
Μήλο σε μετακλιμακτηριακή φάση	1.30
Μήλο παρουσία HCN	2.00
Μήλο παρουσία CHCl ₃	0.25

Η ταχύτητα αναπνοής των διαφόρων οργάνων των φυτών ακολουθεί την εξής σειρά: ριζώματα και βολβοειδή λαχανικά (π.χ. πατάτα, κρεμμύδι, γλυκοπατάτα) < ώριμοι καρποί (π.χ ντομάτα, μήλο) < ανώριμοι καρποί (π.χ. πράσινα φασολάκια, μελιτζάνες) < αναπτυσσόμενοι βολβοί και ιστοί άνθους (π.χ. σπαράγγι, μπρόκολο). Οι σπόροι των δημητριακών έχουν πολύ χαμηλή ταχύτητα αναπνοής, η οποία όμως αυξάνει δραματικά όταν η υγρασία υπερβεί το 14%. Γενικά, η φύση του επιφανειακού φλοιού αλλά και η αναλογία επιφάνειας - όγκου επηρεάζουν την ταχύτητα αναπνοής.

Η ταχύτητα της μετασυλλεκτικής αναπνοής επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Μέσα σε φυσιολογικά για το φυτό πλαίσια θερμοκρασίας, συνήθως η ταχύτητα αναπνοής αυξάνει αυξανόμενης της θερμοκρασίας. Οι μεταβολές εκφράζονται σε τιμές Q₁₀. Η τιμή Q₁₀ ορίζεται γενικότερα ως ο λόγος της ταχύτητας μιας αντίδρασης στην θερμοκρασία T °C προς την ταχύτητα σε θερμοκρασία $T-10$ °C. Για τα περισσότερα φρούτα οι τιμές Q₁₀ κυμαίνονται από 7 έως και λιγότερο από 1 αλλά οι πιο συνηθισμένες τιμές είναι μεταξύ 1 και 2. Επίσης, η μείωση της μερικής πίεσης του οξυγόνου (κάτω από 21%) και η αύξηση της μερικής πίεσης του διοξειδίου του άνθρακα (πάνω από 0.03%) επιβραδύνουν την αναπνοή. Στην περίπτωση αυτή πρέπει να διευκρινισθεί ότι η συγκέντρωση ενός αερίου μέσα στον ιστό μπορεί να διαφέρει σημαντικά από την εξωτερική συγκέντρωση του αερίου, ανάλογα με την διαλυτότητα του αερίου, την ικανότητα διάχυσης, αλλά και τα μεταβολικά χαρακτηριστικά του ιστού.

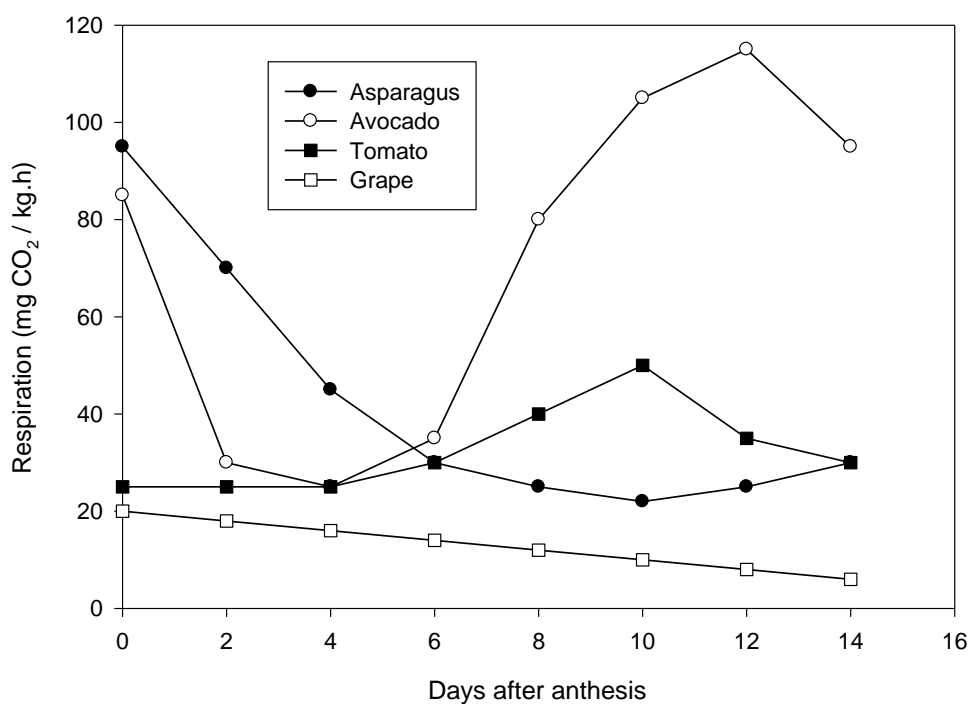
Πέραν των προαναφερθέντων μεταβολικών κύκλων και οδών, στα φρούτα που ωριμάζουν συναντάμε ένα εναλλακτικό μιτοχονδριακό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων (Σχήμα 2α). Το σύστημα αυτό λειτουργεί παράλληλα με την κλασική αναπνευστική αλυσίδα αλλά περιλαμβάνει μια εναλλακτική οξειδάση. Η οξειδάση αυτή, σε αντίθεση με την οξειδάση του κυτοχρώματος C της κλασικής αναπνευστικής αλυσίδας, δεν παρεμποδίζεται από τα κυανιούχα ιόντα (CN⁻) και γι' αυτό το εναλλακτικό αυτό σύστημα ονομάζεται **αναπνοή μη ευαίσθητη στα κυανιούχα ιόντα**.

Η οξειδάση του κυτοχρώματος στην κλασική αναπνευστική αλυσίδα έχει μεγάλη συγγένεια προς το οξυγόνο και ο κορεσμός της επέρχεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου. Αντίθετα, η **οξειδάση του εναλλακτικού μιτοχονδριακού συστήματος** έχει χαμηλή συγγένεια προς το οξυγόνο και επομένως η αναπνοή μέσω αυτού του συστήματος επηρεάζεται περισσότερο από υψηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου. Η εναλλακτική οξειδάση αποτελείται από δύο όμοιες υπομονάδες, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους είτε μέσω δισουλφιδικών δεσμών (οξειδωμένη μορφή), είτε μέσω άλλων μη ομοιοπολικών αλληλοεπιδράσεων (ανηγμένη μορφή). Το ένζυμο φαίνεται ότι περιέχει μια γέφυρα Fe-O-Fe στο ενεργό του κέντρο. Η δραστηριότητα του εξαρτάται από την κατάσταση οξειδωσης του καθώς αυτή επηρεάζει την διαμόρφωση του. Έτσι η ανηγμένη μορφή είναι 4-5 φορές πιο δραστική από την οξειδωμένη. Μια άλλη βασική διάφορα από την κλασική αναπνευστική αλυσίδα είναι ότι το σύστημα αυτό δεν είναι συζευγμένο με την οξειδωτική φωσφορυλίωση και επομένως δεν παράγεται ενέργεια υπό την μορφή του ATP. Παράγεται όμως θερμότητα, και γι αυτό ονομάζεται και **«θερμογενής αναπνοή»**. Φαίνεται ότι η λειτουργία του εναλλακτικού μιτοχονδριακού συστήματος μεταφοράς ηλεκτρονίων εξαρτάται από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του μιτοχονδρίου. Όταν η συγκέντρωση του NADH είναι πολύ υψηλή, τότε ενεργοποιείται η εναλλακτική οξειδάση και τα ηλεκτρόνια διοχετεύονται από την ουβικινόνη στην εναλλακτική οξειδάση του κυτοχρώματος C (Σχήμα 2α). Με άλλα λόγια όταν υπάρχει περίσσεια μεταβολιτών προς καύση στα μιτοχόνδρια, η λειτουργία της εναλλακτικής οξειδάσης οδηγεί στην μείωση της συγκέντρωσης του NADH χωρίς όμως την ταυτόχρονη παραγωγή ATP.

Το εναλλακτικό μιτοχονδριακό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων είναι υπεύθυνο για την χαρακτηριστική αύξηση της ταχύτητας της αναπνοής που παρατηρείται σε πολλά φρούτα κατά την διάρκεια της ωρίμανσης. Το φαινόμενο αυτό συμπίπτει κατά το μάλλον ή ήττον με τις εμφανείς αλλαγές στο χρώμα, την γεύση και την δομή, οι οποίες παραπέμπουν στην ωρίμανση και ονομάζεται **κλιμακτηριακή αύξηση της αναπνοής** και τα φρούτα κλιμακτηριακά. Στην ουσία η κλιμακτηριακή αύξηση της αναπνοής σηματοδοτεί το τέλος της ωρίμανσης και την έναρξη της αποσύνθεσης. Ως κλιμακτηριακή περίοδος λοιπόν ορίζεται η περίοδος αυξημένης μεταβολικής ενεργότητας κατά την μετάβαση από την φάση της ανάπτυξης στην φάση της αποσύνθεσης. Το μέγεθος της κλιμακτηριακής αύξησης της αναπνοής ποικίλει ανάλογα με το είδος του φρούτου (Σχήμα 2β). Υπάρχουν φρούτα και μαζί με αυτά όλα τα λαχανικά, τα οποία δεν εμφανίζουν αυτόνομη μετασυλλεκτική αύξηση της ταχύτητας αναπνοής και γι' αυτό ονομάζονται μη κλιμακτηριακά. Στα μη κλιμακτηριακά φρούτα και τα λαχανικά η ταχύτητα αναπνοής παρουσιάζει μετασυλλεκτικά μια σταθερή μείωση. Στον Πίνακα 3 δίνονται παραδείγματα κλιμακτηριακών και μη κλιμακτηριακών φρούτων.

Πίνακας 3. Ταξινόμηση των εδώδιμων φρούτων με βάση την κλιμακτηριακή αύξηση της αναπνοής

Κλιμακτηριακά	Μη κλιμακτηριακά
Μήλο	Πορτοκάλι
Ροδάκινο	Λεμόνι
Βερίκοκο	Γκρέϊπφρουτ
Μπανάνα	Σταφύλι
Καρπούζι	Πεπόνι
Αβοκάντο	Ανανάς
Ντομάτα	Φράουλα



Σχήμα 2β. Μετασυλλεκτική αναπνευστική συμπεριφορά κλιμακτηριακών και μη κλιμακτηριακών φρούτων

Αν και ο διαχωρισμός των φρούτων με βάση το αναπνευστικό τους προφίλ σε κλιμακτηριακά και μη κλιμακτηριακά θεωρείται από κάποιους αυθαίρετος, βοήθησε σημαντικά στην κατανόηση της κλιμακτηριακής αναπνοής. Σήμερα λοιπόν γνωρίζουμε ότι οι δύο κατηγορίες διαφοροποιούνται τόσο ως προς την δική τους **ικανότητα παραγωγής αιθυλενίου** κατά την ωρίμανση, όσο και ως προς την ανταπόκριση τους στην εξωτερική εφαρμογή αιθυλενίου. Όλα τα φρούτα παράγουν μικρές ποσότητες αιθυλενίου κατά την διάρκεια της

ανάπτυξης τους. Αλλά κατά την διάρκεια της ωρίμανσης τα κλιμακτηριακά φρούτα παράγουν πολύ μεγαλύτερες ποσότητες από τα μη κλιμακτηριακά.

Η σημασία του αιθυλενίου στην ωρίμανση των φρούτων διαπιστώθηκε για πρώτη φορά στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, όταν θερμοαντήρες που έκαιγαν κηροζίνη χρησιμοποιούνταν για το κιτρίνισμα (ωρίμανση) πράσινων (ανώριμων) λεμονιών στην Καλιφόρνια. Αρχικά, η ωρίμανση αποδίδονταν στην θερμότητα αλλά αργότερα αποδείχθηκε ότι αυτή ήταν αποτέλεσμα της παρουσίας αιθυλενίου στην καύσιμη ύλη.

Οι ενδογενείς συγκεντρώσεις αιθυλενίου στα κλιμακτηριακά φρούτα ποικίλλουν (π.χ. στο μήλο από 25 μέχρι 2500 $\mu\text{l/l}$, στο ροδάκινο από 0.9 μέχρι 20.7 $\mu\text{l/l}$, στην μπανάνα από 0.05 μέχρι 2.1 $\mu\text{l/l}$ και στην ντομάτα από 3.6 μέχρι 29.8 $\mu\text{l/l}$). Στα μη κλιμακτηριακά φρούτα όμως παρατηρούνται ελάχιστες μεταβολές μεταξύ του σταδίου ανάπτυξης και του σταδίου της ωρίμανσης (π.χ. στο λεμόνι από 0.11 μέχρι 0.17 $\mu\text{l/l}$, στο πορτοκάλι από 0.13 μέχρι 0.32 $\mu\text{l/l}$ και στον ανανά από 0.16 μέχρι 0.40 $\mu\text{l/l}$).

Εξωτερική εφαρμογή αιθυλενίου σε συγκεντρώσεις 0.1 – 1.0 $\mu\text{l/l}$ για μία ημέρα αρκεί για να επιταχύνει την ωρίμανση ενός κλιμακτηριακού φρούτου, αλλά η αύξηση της κλιμακτηριακής αναπνοής είναι ανεξάρτητη της συγκέντρωσης του αιθυλενίου που εφαρμόζεται εξωτερικά. Στην περίπτωση των μη κλιμακτηριακών φρούτων η εξωτερική εφαρμογή αιθυλενίου προκαλεί μια προσωρινή αύξηση της αναπνοής, το μέγεθος της οποίας αυξάνει αυξανόμενης της συγκέντρωσης του αιθυλενίου. Η ταχύτητα αναπνοής όμως μειώνεται μόλις σταματήσει η εφαρμογή του αιθυλενίου.

Το **αιθυλένιο** ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$) λειτουργεί ως φυτική ορμόνη. Η αποτελεσματικότητα του αιθυλενίου εξαρτάται από την συγκέντρωση του, την διάρκεια εφαρμογής και την χρονική στιγμή της εφαρμογής. Φρούτο, το οποίο δεν έχει αποκοπεί από το μητρικό φυτό, εμφανίζει μικρότερη ευαισθησία στο αιθυλένιο, ενώ παράλληλα, όσο ωριμάζει το φρούτο, τόσο μειώνεται η ευαισθησία του στο αιθυλένιο. Οι αλλαγές της ταχύτητας παραγωγής αλλά και της συγκέντρωσης του αιθυλενίου έχουν καταγραφεί σε αρκετά κλιμακτηριακά φρούτα. Σε κάποια φρούτα, όπως π.χ. στην μπανάνα και την ντομάτα, η συγκέντρωση του αιθυλενίου αυξάνει πριν από την έναρξη της ωρίμανσης, πράγμα το οποίο ορίζεται ως αρχική αναπνευστική αύξηση. Σε φρούτα, όπως π.χ. το μήλο, το αβοκάντο και το μάνγκο, η συγκέντρωση του αιθυλενίου δεν αυξάνει πριν την έναρξη της ωρίμανσης.

Η **βιοσύνθεση του αιθυλενίου** δίνεται στο Σχήμα 3. Περιλαμβάνει την μετατροπή της S-αδενοσυλο-μεθειονίνης (SAM) σε 1-αμινο-1-καρβοξυ-κυκλοπροπάνιο (ACC) μέσω της συνθάσης του ACC. Εν συνεχεία, το ACC μετατρέπεται σε αιθυλένιο μέσω της οξειδάσης του ACC. Πρόδρομη ένωση του αιθυλενίου είναι το αμινοξυ μεθειονίνη, η οποία αναγεννάται μέσω του αντιστοίχου κύκλου. Τα κυανιούχα ιόντα που παράγονται μαζί με το αιθυλένιο αντιδρούν με κυστεΐνη προς β-κυανο-αλανίνη με την βοήθεια της συνθάσης της β-κυανο-αλανίνης.

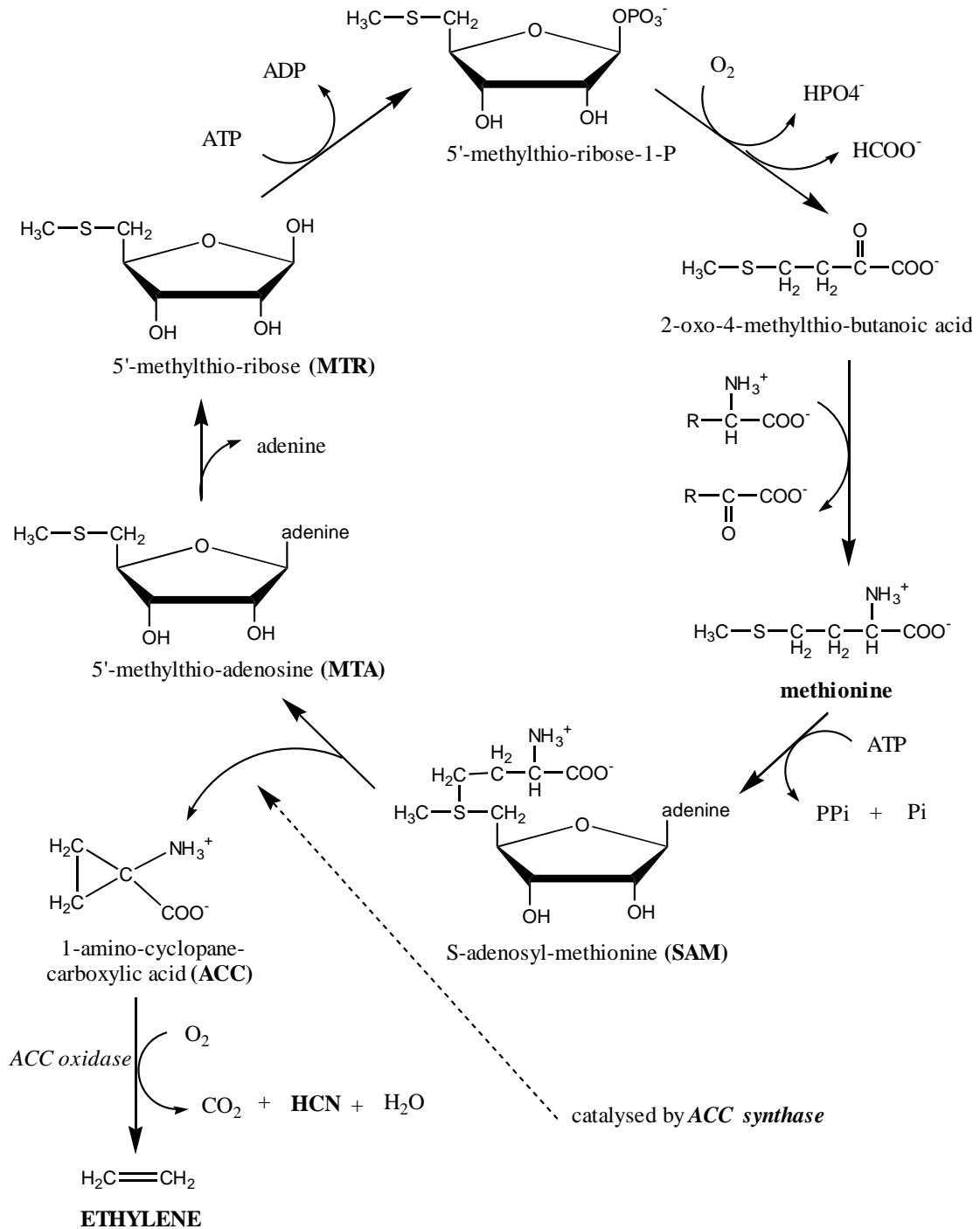
Η ρύθμιση της βιοσύνθεσης του αιθυλενίου πιστεύεται ότι γίνεται στο στάδιο της μετατροπής της S-αδενοσυλο-μεθειονίνης (SAM) σε 1-αμινο-1-καρβοξυ-κυκλοπροπάνιο

(ACC), μέσω της συνθάσης του ACC. Έχει παρατηρηθεί όμως ότι η προσθήκη ACC σε προκλιμακτηριακά (ανώριμα) φρούτα οδηγεί γενικά σε χαμηλή παραγωγή αιθυλενίου, υποδεικνύοντας έτσι ότι και η οξειδάση του ACC δεν παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της βιοσύνθεσης του αιθυλενίου. Η οξειδάση του ACC είναι ένζυμο ασταθές και ευαίσθητο στο οξυγόνο. Πιστεύεται ότι τα κυανιούχα ιόντα, τα οποία παράγονται από την αντίδραση της οξειδάσης του ACC, αφ' ενός μεν ρυθμίζουν την βιοσύνθεση του αιθυλενίου αφ' ετέρου ευνοούν την λειτουργία του εναλλακτικού μιτοχονδριακού συστήματος μεταφοράς ηλεκτρονίων, το οποίο όπως προαναφέρθηκε ονομάζεται αναπνοή μη ευαίσθητη στα κυανιούχα ιόντα. Η συνθάση του ACC χρησιμοποιεί ως συνένζυμο την φωσφορική πυριδοξάλη (pyridoxal-5'-phosphate, PLP) καθώς παρεμποδίζεται από ενώσεις που παρεμποδίζουν άλλα PLP-ένζυμα ενώ η δράση της απαιτεί την παρουσία Fe^{2+} , ασκορβικού οξέος και οξυγόνου. Παρεμποδίζεται υπό αναερόβιες συνθήκες, σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 35 °C και παρουσία ιόντων κοβαλτίου. Η συνθάση του ACC παρουσιάζει χαμηλή ενεργότητα στην προκλιμακτηριακή φάση, μέγιστη ενεργότητα κατά την κλιμακτηριακή φάση και μείωση στο υπερώριμο φρούτο. Έχει επίσης βρεθεί ότι η βιολογική και η μηχανική καταπόνηση του φρούτου επάγουν την δράση της συνθάσης του ACC με αποτέλεσμα την παραγωγή του αιθυλενίου. Έτσι, στα δένδρα *Hevea* (καουτσουκόδενδρα) το αιθυλένιο διεγείρει την ροή του καουτσούκ (latex), το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ένα είδος αμυντικής αντίδρασης.

Το αιθυλένιο ως φυτική ορμόνη δρα σε συνεργασία με άλλες φυτικές ορμόνες, όπως οι αυξίνες, οι γιββεριλίνες και οι κινίνες. Χάρης στις σύγχρονες και ευαίσθητες αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό του αιθυλενίου (π.χ. αέρια χρωματογραφία), γνωρίζουμε σήμερα πολλά για την σχέση αιθυλενίου και ωρίμανσης. Όπως και για τις άλλες φυτικές ορμόνες, πιστεύεται ότι το αιθυλένιο δεσμεύεται σε ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης αλλά και μεμβρανών υποκυτταρικών οργανιδίων, όπως ο πυρήνας, σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο που πυροδοτεί την ωρίμανση. Η δράση του αιθυλενίου επηρεάζεται από τον αριθμό των διαθέσιμων υποδεχέων και από την παρουσία άλλων ενώσεων. Η πρόσδεση του αιθυλενίου στους υποδοχείς είναι αντιστρεπτή και λαμβάνει χώρα στην πλευρά του υποδοχέα που περιέχει μέταλλο (κοβάλτιο). Η συγγένεια του αιθυλενίου προς τον υποδοχέα του αυξάνει παρουσία οξυγόνου και μειώνεται παρουσία διοξειδίου του άνθρακα. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις ενδογενούς αιθυλενίου στα ανώριμα φρούτα υποδεικνύει ότι διαδικασίες που παρεμποδίζουν το αιθυλένιο να φτάσει μια κρίσιμη συγκέντρωση καθυστερούν την ωρίμανση. Έτσι η ωρίμανση της μπανάνας μπορεί να καθυστερήσει για 180 ημέρες στους 20°C σε ατμόσφαιρα 5% CO₂, 3% O₂ και 92% N₂.

Η διαδικασία της ωρίμανσης βρίσκεται κάτω από γενετικό έλεγχο στα κύτταρα των φρούτων. Στα κλιμακτηριακά φρούτα, πριν αλλά και κατά τα πρώτα στάδια της κλιμακτηριακής φάσης, παρατηρείται αύξηση τόσο της πρωτεϊνικής σύνθεσης, όσο και της σύνθεσης νουκλεϊνικών οξέων, κυρίως του mRNA. Η αύξηση αυτή αφορά ιδιαίτερα σε υδρολυτικά ένζυμα που αποικοδομούν υδατάνθρακες, όπως π.χ. τις πηκτίνες, την κυτταρίνη και

τις ημικυτταρίνες. Οι υδατάνθρακες αυτοί είναι υπεύθυνοι για την δομική ακεραιότητα των φυτικών κυττάρων.



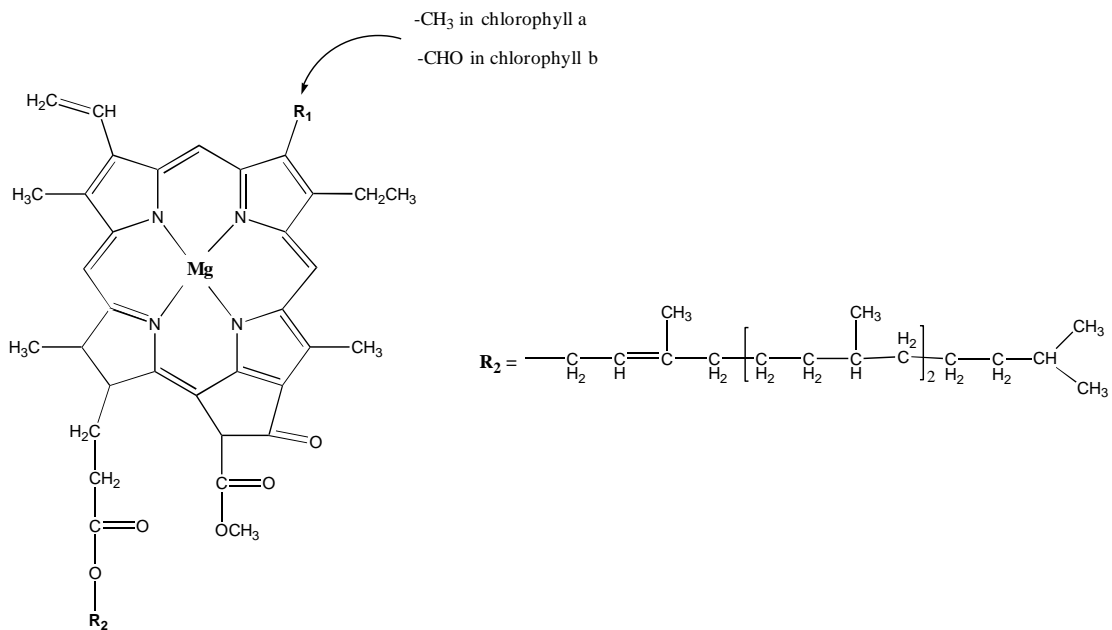
Σχήμα 3. Η βιοσύνθεση του αιθυλενίου

4. Οι αλλαγές των χρωμάτων

Μια από τις πρώτες αλλαγές που παρατηρούνται κατά την ωρίμανση πολλών φρούτων και λαχανικών είναι η απώλεια του πράσινου χρώματος και η εμφάνιση κόκκινου ή κίτρινου χρώματος. Οι φυτικοί ιστοί παύουν να συνθέτουν χλωροφύλλη και η υπάρχουσα χλωροφύλλη αρχίζει να αποικοδομείται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αποκάλυψη και επικράτηση του χρώματος των υπαρχόντων καροτενοειδών. Παράλληλα, στους μετασχηματισμένους χλωροπλάστες, τους επονομαζόμενους χρωμοπλάστες, ξεκινά η βιοσύνθεση νέων καροτενοειδών. Μια άλλη κατηγορία ενώσεων, οι ανθοκυάνες, είναι υπεύθυνες για το ελκυστικό ροζ, κόκκινο, ιώδες και μπλε χρώμα των φρούτων και των λαχανικών. Συσσωρεύονται επίσης στα κύτταρα της επιδερμίδας των φρούτων και των λαχανικών αλλά και στα φύλλα και τις ρίζες, καθώς το μητρικό φυτό αναπτύσσεται και ωριμάζει.

Η **χλωροφύλλη** είναι η κύρια χρωστική των πράσινων φυτών. Βρίσκεται μέσα στις θυλακοειδείς μεμβράνες των χλωροπλάστων, τα οργανίδια στα οποία λαμβάνει χώρα η φωτοσύνθεση. Το πρώτο στάδιο στον πολύπλοκο μηχανισμό της φωτοσύνθεσης είναι η δέσμευση του φωτός, την οποία διεκπεραιώνει η χλωροφύλλη. Η χλωροφύλλη είναι ένας υποκατεστημένος τετραπυρρολικός δακτύλιος (πορφυρίνη), στο κέντρο του οποίου βρίσκεται ένα άτομο μαγνησίου (Σχήμα 4). Το μόριο της χλωροφύλλης χαρακτηρίζεται από την παρουσία της φυτόλης, η οποία είναι μια υδρόφοβη, μονοακόρεστη αλκοόλη με 20 άτομα άνθρακα, εστεροποιημένη με τον προπιονικό υποκαταστάτη του δακτυλίου D της πορφυρίνης. Η ικανότητα δέσμευσης του φωτός και ταυτόχρονα το χρώμα της χλωροφύλλης οφείλονται στην υψηλή συζυγία του μορίου της, δηλαδή στην εναλλαγή απλών και διπλών δεσμών. Στην φύση συναντάμε αρκετούς τύπους χλωροφύλλης, οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τους υποκαταστάτες της πορφυρίνης. Στα πράσινα φυτά συναντάμε την χλωροφύλλη-α και την χλωροφύλλη-β σε αναλογία 3:1. Οι δύο διαφέρουν ως προς τον υποκαταστάτη του C-3 (δακτύλιος B), καθώς η χλωροφύλλη-α φέρει μια μεθυλομάδα ενώ η χλωροφύλλη-β μια φορμυλομάδα.

Ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης (ϵ) της χλωροφύλλης-α και της χλωροφύλλης-β είναι $> 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$, από τους υψηλότερους που συναντάμε σε οργανικά μόρια. Το φάσμα απορρόφησης της χλωροφύλλης-α διαφέρει από αυτό της χλωροφύλλης-β. Η χλωροφύλλη-α έχει μέγιστα απορρόφησης στα 430 και 670 nm, ενώ η χλωροφύλλη-β στα 460 και 640 nm. Το φως που δεν απορροφάται επαρκώς από την χλωροφύλλη-α (π.χ. στα 460 nm) δεσμεύεται από την χλωροφύλλη-β, η οποία έχει μέγιστο απορρόφησης στο συγκεκριμένο μήκος κύματος. Με άλλα λόγια, οι δυο τύποι χλωροφύλλης συνεργάζονται για την δέσμευση του φωτός. Καμία από τις δύο δεν απορροφά στην περιοχή από 500 μέχρι 600 nm αλλά αυτό δεν δημιουργεί πρόβλημα στα περισσότερα πράσινα φυτά. Άλλους τύπους χλωροφύλλης συναντάμε επίσης σε άλγη (φύκια) και σε φωτοσυνθετικά βακτήρια (κυανοβακτήρια).

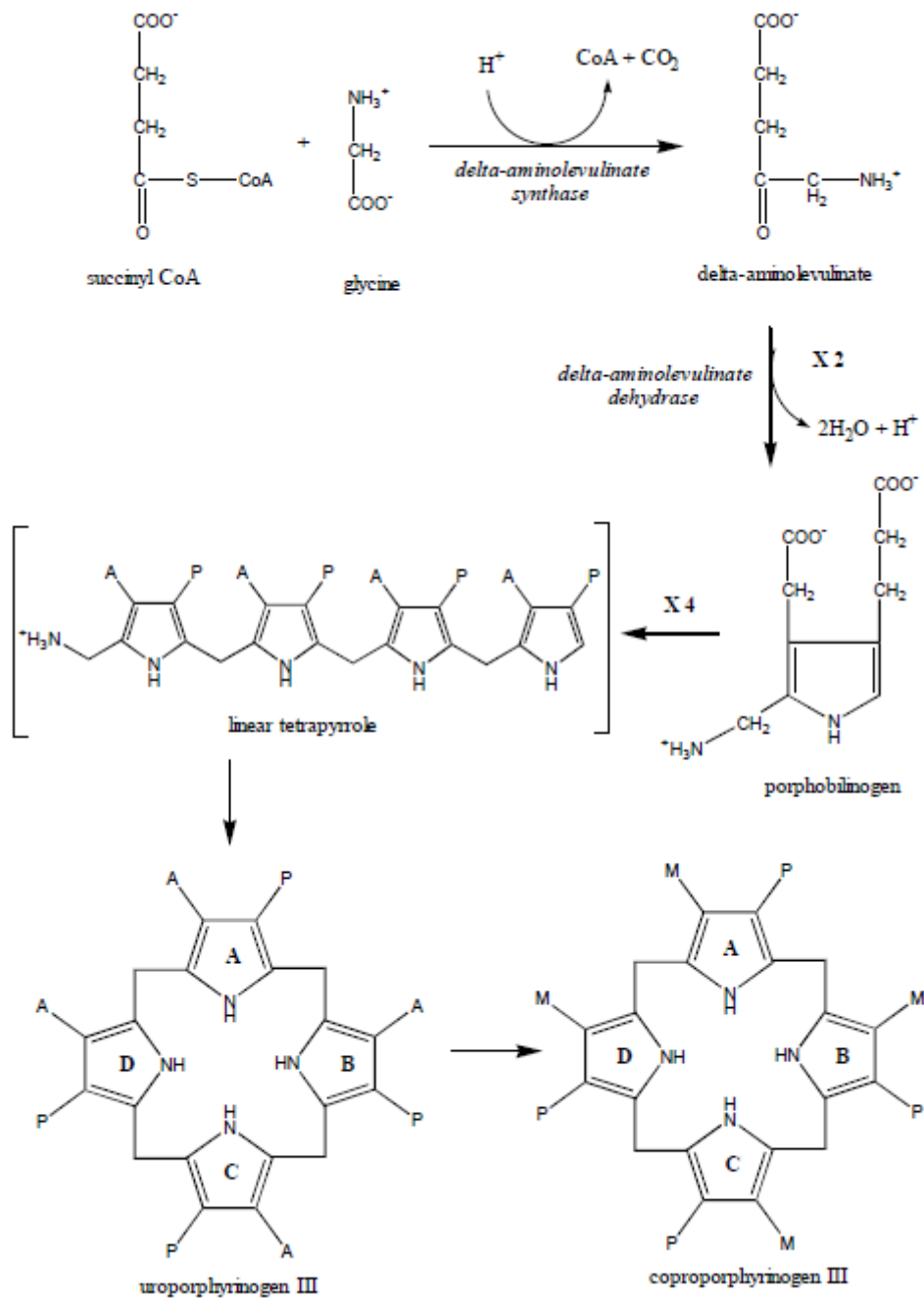


Σχήμα 4. Η δομή της χλωροφύλλης

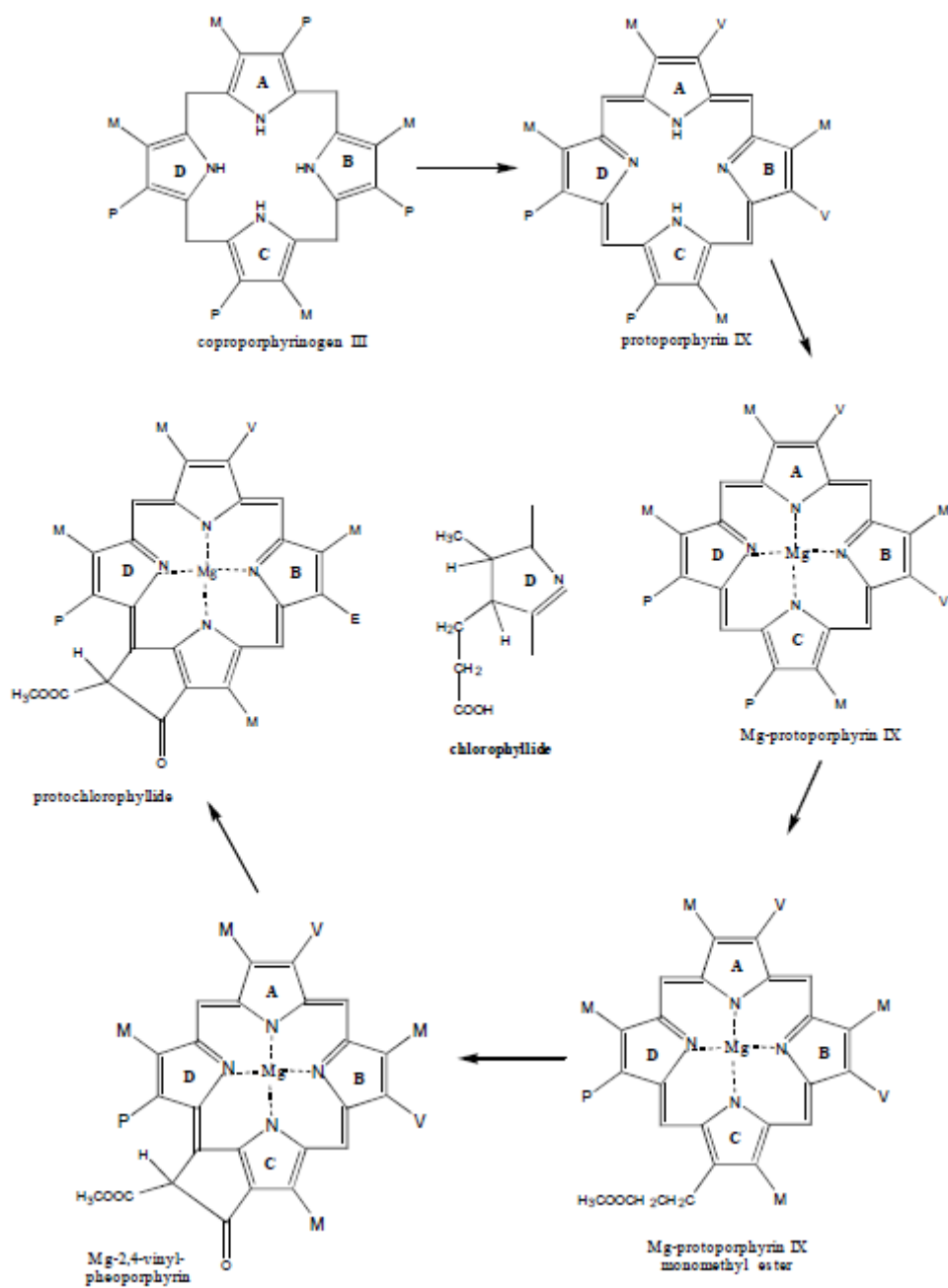
Η βιοσύνθεση της χλωροφύλλης ξεκινά με την σύνθεση της πορφυρίνης (Σχήματα 5α και 5β). Πρόδρομες ενώσεις είναι η γλυκίνη και το ηλεκτρυλο-CoA, οι οποίες αντιδρούν προς δ-αμινο-λεβουλνικό οξύ (ALA), με την βοήθεια της συνθάσης του ALA. Δύο μόρια ALA συμπυκνώνονται προς πορφοχολινογόνο (PBG), με την βοήθεια της δεϋδρατάσης του ALA. Τέσσερα μόρια PBG συμπυκνώνονται, κεφαλή - με - ουρά, και σχηματίζεται ένα γραμμικό τετραπυρρόλιο. Το γραμμικό τετραπυρρόλιο χάνει ένα μόριο NH_4^+ και κυκλοποιείται προς το ουροπορφυρινογόνο III, με την βοήθεια μιας συνθάσης και μιας συν-συνθάσης.

Ο σκελετός της πορφυρίνης έχει ήδη σχηματισθεί και ακολουθούν αντιδράσεις (α) τροποποίησης των υποκαταστατών της, (β) συμπλοκοποίησης του Mg και (γ) προσάρτησης της φυτόλης. Πρέπει να σημειωθεί ότι η ρύθμιση της βιοσύνθεσης της χλωροφύλλης γίνεται στο στάδιο του σχηματισμού του δ-αμινο-λεβουλνικού οξέος (ALA).

Συγκεκριμένα, το ουροπορφυρινογόνο III μετατρέπεται σε συν-προπορφυρινογόνο III μετά από αποκαρβοξυλίωση των τεσσάρων παράπλευρων οξικών ομάδων στους τέσσερις πυρρολικούς δακτυλίους προς μεθυλομάδες. Με οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση των δύο προπιονικών ομάδων των πυρρολικών δακτυλίων A και B προς βινυλομάδες, καθώς και απώλεια ηλεκτρονίων από τον τετραπυρρολικό δακτύλιο, σχηματίζεται η πρωτοπορφυρίνη IX. Ακολουθεί η συμπλοκοποίηση της πρωτοπορφυρίνης IX με το Mg, η οποία γίνεται ενζυμικά και με κατανάλωση ενέργειας (ATP).



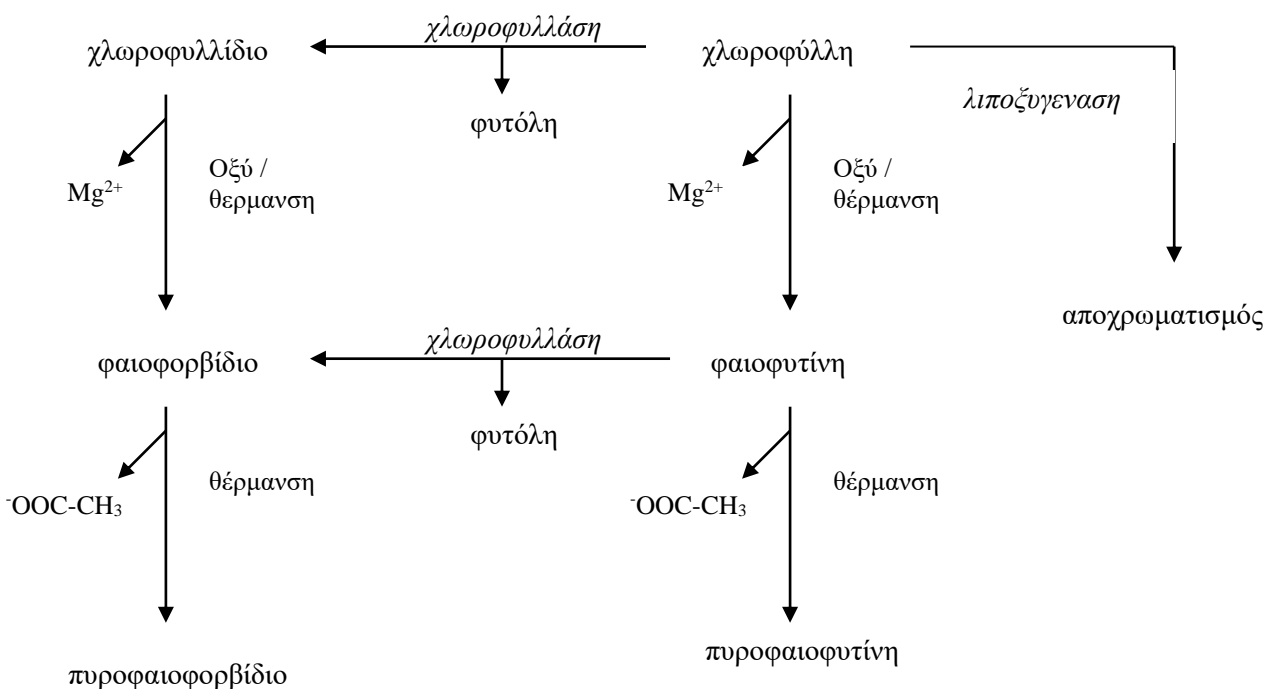
Σχήμα 5a. Η βιοσύνθεση της χλωροφύλλης. Συντημήσεις: A = $-\text{CH}_2\text{COOH}$, E = $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, M = $-\text{CH}_3$, P = $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, V = $-\text{CH}=\text{CH}_2$



Σχήμα 5β. Η βιοσύνθεση της χλωροφύλλης. Συντημήσεις: A = $-\text{CH}_2\text{COOH}$, E = $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, M = $-\text{CH}_3$, P = $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, V = $-\text{CH}=\text{CH}_2$

Ακολουθεί η μεθυλίωση της παράπλευρης προπιονικής ομάδας του πυρρολικού δακτυλίου C και σχηματίζεται ο μεθυλεστέρας της Mg-πρωτοπορφυρίνης IX. Η μετατροπή του μεθυλεστέρα της Mg-πρωτοπορφυρίνης IX σε πρωτοχλωροφυλλίδιο περιλαμβάνει την οξειδωτική κυκλοποίηση του μεθυλιωμένου προπιονικού οξέος του δακτυλίου D και εν συνεχεία την αναγωγή της βινυλομάδας του πυρρολικού δακτυλίου B σε αιθυλομόδα. Το πρωτοχλωροφυλλίδιο μετατρέπεται σε χλωροφυλλίδιο-α με φωτοαναγωγή του πυρρολικού δακτυλίου D. Το τελευταίο βήμα στην βιοσύνθεση της χλωροφύλλης-α είναι η εστεροποίηση του παράπλευρου προπιονικού οξέος στο δακτύλιο D με γερανυλο-γερανιόλη (βλέπε καρροτενοειδή), η οποία εν συνεχεία ανάγεται σε φυτόλη. Η χλωροφύλλη-β παράγεται με οξείδωση της παράπλευρης μεθυλομάδας του δακτυλίου B σε φορμυλομάδα.

Κατά την μετασυλλεκτική περίοδο οι χλωροπλάστες παύουν να συνθέτουν χλωροφύλλη, ενώ παράλληλα αρχίζει η αποικοδόμηση της ήδη υπάρχουσας. Οι γνώσεις μας γύρω από την **αποικοδόμηση της χλωροφύλλης** είναι αποσπασματικές. Είναι γενικά αποδεκτό ότι η πράσινου χρώματος χλωροφύλλη αποικοδομείται σε άχρωμα προϊόντα, έτσι ώστε τελικά να αποκαλύπτεται και να κυριαρχεί το πορτοκαλί, κίτρινο ή κόκκινο χρώμα των καρροτενοειδών. Στα φρούτα και τα λαχανικά η απώλεια της χλωροφύλλης συσχετίζεται με μετασυλλεκτικές δομικές αλλαγές των φυτικών ιστών, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση οργανικών οξέων και υδρολυτικών ενζύμων. Σε γηρασμένους φυτικούς ιστούς η αποικοδόμηση της χλωροφύλλης ολοκληρώνεται σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα, αν και δεν έχουν ταυτοποιηθεί όλα τα ενδιάμεσα και τελικά προϊόντα της *in vivo* αποικοδόμησης.



Σχήμα 6. Η αποικοδόμηση της χλωροφύλλης

Η **χλωροφυλλάση** είναι το ένζυμο που καταλύει την αποικοδόμηση της χλωροφύλλης. Η χλωροφυλλάση είναι μια γλυκοπρωτεΐνη, η οποία βρίσκεται στις θυλακοειδείς μεμβράνες των χλωροπλαστών. Δρα ως εστεράση και αποσπά την φυτόλη από την χλωροφύλλη και τα ελεύθερα Mg παράγωγα της (φαιοφυτίνες), σχηματίζοντας χλωροφυλλίδια και φαιοφορβίδια, αντίστοιχα (Σχήμα 6). Στα φρέσκα πράσινα φύλλα των λαχανικών, ο σχηματισμός των χλωροφυλλιδίων λαμβάνει χώρα μόνο μετά από μετασυλλεκτική ενεργοποίηση της χλωροφυλλάσης με θέρμανση. Στα λαχανικά η βέλτιστη θερμοκρασία του ενζύμου κυμαίνεται από 60 μέχρι 82 °C, αλλά στους 100 °C η χλωροφυλλάση απενεργοποιείται.

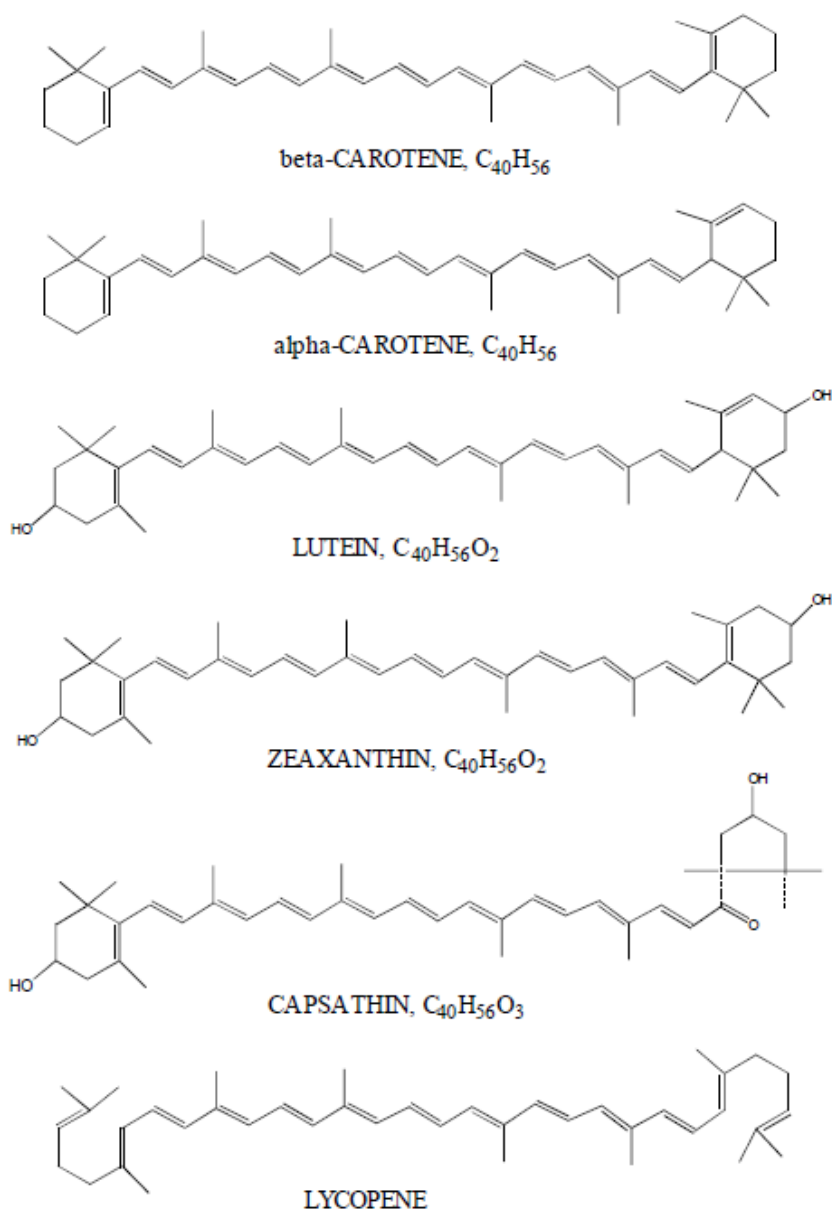
Τα **καροτενοειδή** είναι οι πιο διαδεδομένες χρωστικές στην φύση, με παραγωγή 100 εκατομμυρίων τόνων βιομάζας τον χρόνο. Η μεγαλύτερες ποσότητες παράγονται από τα άλγη των ωκεανών. Στα ανώτερα φυτά, τα καροτενοειδή των χλωροπλαστών συνήθως καλύπτονται από την κυρίαρχη χλωροφύλλη. Όταν όμως αρχίζει η αποικοδόμηση της χλωροφύλλης, αποκαλύπτεται το χρώμα των καροτενοειδών. Ο βιολογικός ρόλος των καροτενοειδών είναι η συμμετοχή τους στην φωτοσύνθεση και η προστασία των φυτικών ιστών αλλά και της ίδιας της χλωροφύλλης από το φως. Στην φωτοσύνθεση συμμετέχουν δευτερογενώς και συμπληρωματικά προς την χλωροφύλλη στην δέσμευση του φωτός. Ο φωτοπροστατευτικός ρόλος τους πηγάζει από την ικανότητα τους να απενεργοποιούν τις δραστικές μορφές του οξυγόνου, οι οποίες σχηματίζονται κατά την έκθεση του φυτού στο φως και τον αέρα.

Τέλος, τα καροτενοειδή παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην διατροφή του ανθρώπου αλλά και άλλων ζώων, καθώς αποτελούν τις πρόδρομες ενώσεις της βιταμίνης Α. Η ενεργότητα προ-βιταμίνης Α προϋποθέτει την ύπαρξη ρετινοειδούς δομής, δηλαδή παρουσία δύο δακτυλίων β-ιονόνης στα άκρα του μορίου του καροτενοειδούς. Το β-καροτένιο είναι αυτό με την μεγαλύτερη ενεργότητα προ-βιταμίνης Α, αλλά και άλλα καροτενοειδή, όπως το α-καροτένιο και η β-κρυπτοξανθίνη διαθέτουν αυτή την ιδιότητα. Υπολογίζεται ότι, ανάλογα με το είδος της διατροφής, τα καροτένια των φρούτων και των λαχανικών, τα οποία διαθέτουν ενεργότητα προ-βιταμίνης Α, καλύπτουν το 30-100% των αναγκών του ανθρώπου σε βιταμίνη Α.

Καθώς τα καροτενοειδή οξειδώνονται πολύ εύκολα, μπορούν να δράσουν αντιοξειδωτικά και άρα προστατευτικά για άλλα ευαίσθητα μόρια. Πιστεύεται ότι η αντιοξειδωτική δράση των καροτενοειδών παίζει ρόλο στον περιορισμό της αθηροσκλήρωσης, του καρκίνου, του καταρράκτη και της διαδικασίας γήρανσης των κυττάρων. Τα καροτενοειδή θεωρούνται σχετικά ανθεκτικά στην θέρμανση. Σήμερα όμως γνωρίζουμε ότι η θερμική παστερίωση επάγει την *cis/trans* ισομερίωση, η οποία μειώνει την ενεργότητα προ-βιταμίνης Α των καροτενοειδών.

Τα καροτενοειδή είναι C₄₀ ισοπρενοειδείς ενώσεις (Σχήμα 7). Ο βασικός σκελετός τους αποτελείται από μονάδες ισοπρενίου, οι οποίες είναι ενωμένες είτε κεφάλι - με - ουρά είτε ουρά - με - ουρά, σχηματίζοντας έτσι ένα συμμετρικό μόριο με διπλούς δεσμούς σε συζυγία. Χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα καροτένια και τις ξανθοφύλλες. Τα **καροτένια** από δομικής άποψης είναι υδρογονάνθρακες ενώ οι **ξανθοφύλλες** αντιστοιχούν σε οξυγονωμένα παράγωγα των καροτενίων, τα οποία περιέχουν υδροξυ-, εποξυ-, αλδεϋδο- και κετο-ομάδες. Τα

υδροξυλιωμένα παράγωγα απαντώνται επίσης και εστεροποιημένα με λιπαρά οξέα. Μερικά καροτενοειδή περιέχουν δύο δακτυλίους στα δύο άκρα του μορίου (π.χ. β-καροτένιο), ενώ άλλα περιέχουν έναν ή κανένα δακτύλιο (π.χ. το λυκοπένιο, η κύρια κόκκινη χρωστική της ντομάτας). Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 500 καροτενοειδή.



Σχήμα 7. Η δομή των καροτενοειδών

Το πιο συνηθισμένο καροτενοειδές των φυτικών ιστών είναι το β-καροτένιο, το οποίο, μαζί με άλλα φυσικά αλλά και συνθετικά καροτένια, χρησιμοποιείται ως χρωστική στα τρόφιμα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα καροτενοειδών στους εδώδιμους φυτικούς ιστούς είναι το α- και β-καροτένιο στα καρότα, το λυκοπένιο στις ντομάτες, η καψανθίνη στο κόκκινο πιπέρι, η λουτεΐνη και η ζεαξανθίνη στο καλαμπόκι (Σχήμα 7). Όλα τα πράσινα φυλλώδη

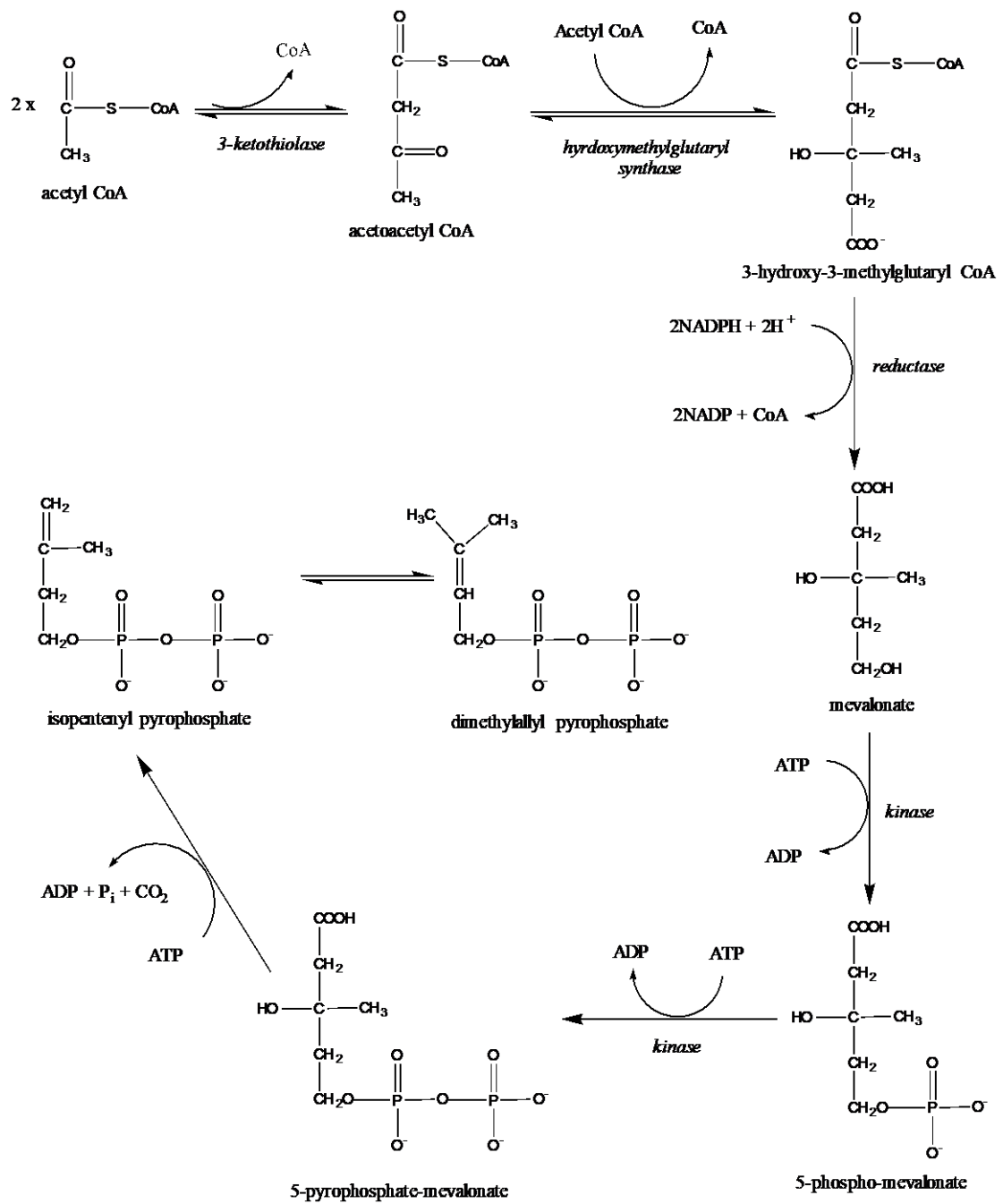
λαχανικά περιέχουν καροτενοειδή, το χρώμα τους όμως καλύπτεται από το πράσινο της χλωροφύλλης. Γενικά, τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καροτενοειδών τις συναντάμε στους φυτικούς ιστούς που περιέχουν τις μεγαλύτερες ποσότητες χλωροφύλλης.

Τα ζώα παίρνουν τα καροτενοειδή από την τροφή τους. Έτσι το ροζ χρώμα του σολομού οφείλεται κυρίως στην παρουσία ασταξανθίνης, την οποία το ψάρι προσλαμβάνει από θαλάσσια φυτά που περιέχουν καροτενοειδή. Είναι γνωστό ότι κάποια καροτενοειδή, τόσο στα ζώα όσο και στα φυτά, συμπλοκοποιούνται με πρωτεΐνες. Έτσι η κόκκινη ασταξανθίνη του εξωτερικού σκελετού στις γαρίδες και τους αστακούς έχει κυανίζον χρώμα όταν είναι υπό μορφή συμπλόκου με πρωτεΐνη. Η θέρμανση μετουσιώνει το σύμπλοκο και αλλάζει τις φασματοσκοπικές ιδιότητες της χρωστικής, με αποτέλεσμα την αλλαγή του χρώματος από μπλε σε κόκκινο. Τέλος, υπάρχουν και γλυκοζυλιωμένα καροτενοειδή, όπως π.χ. η κροκεΐνη στην ζαφορά.

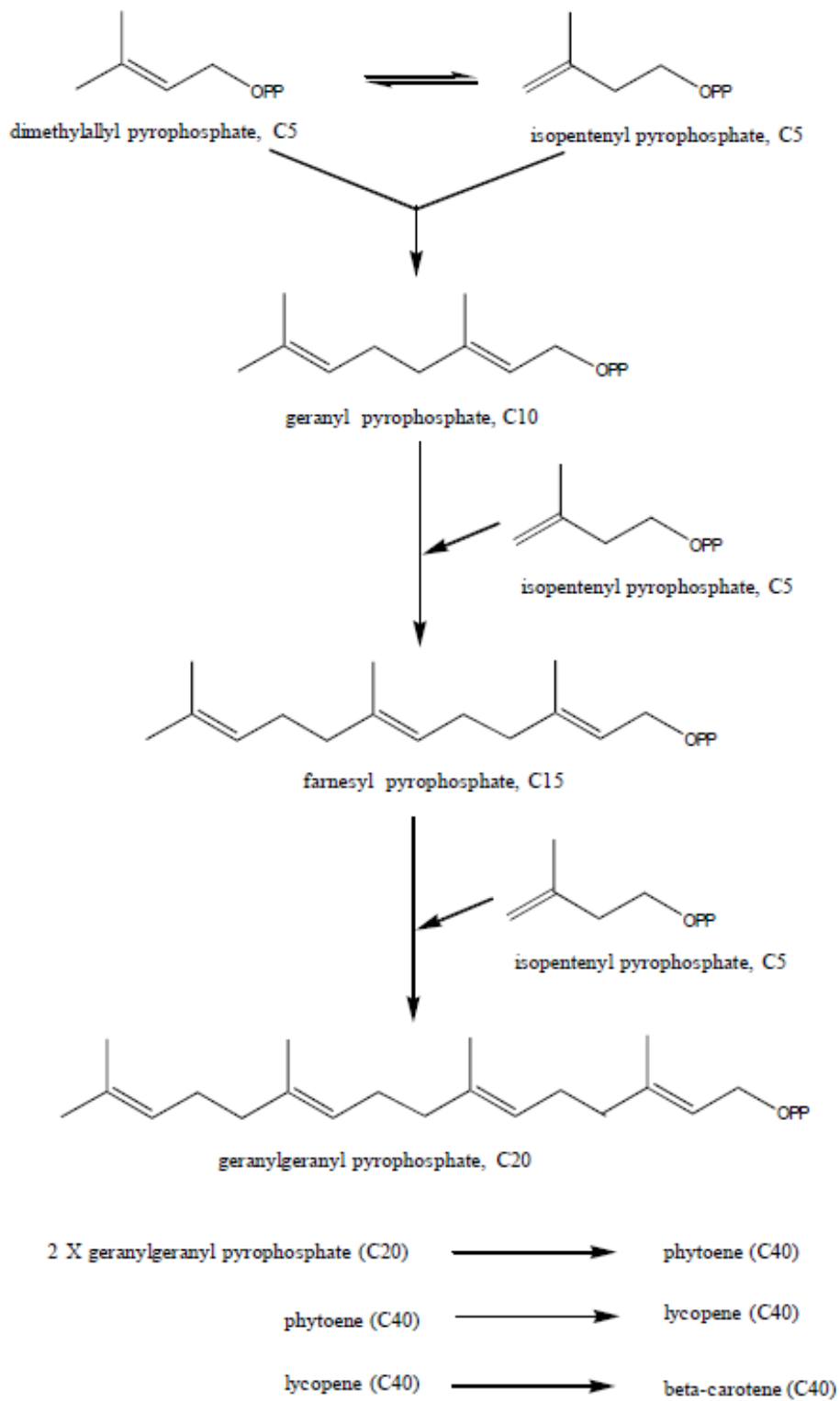
Η **βιοσύνθεση των καροτενοειδών** γίνεται στους χλωροπλάστες κατά την ανάπτυξη του φρούτου και του λαχανικού πάνω στο μητρικό φυτό. Σε πολλές περιπτώσεις όμως η βιοσύνθεση τους συνεχίζεται και κατά την διάρκεια της ωρίμανσης. Η ωρίμανση των φυτικών ιστών συνοδεύεται από δομικές αλλαγές στα μεμβρανικά συστήματα των κυττάρων τους. Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης, λοιπόν, το πλέγμα των θυλακοειδών μεμβρανών των χλωροπλάστων αποδιατάσσεται και οι χλωροπλάστες χάνουν πλέον τόσο την ικανότητα να συνθέτουν χλωροφύλλη όσο και την φωτοσυνθετική τους ικανότητα. Μεταπίπτουν έτσι στους λεγόμενους χρωμοπλάστες, οι οποίοι αναλαμβάνουν την συνέχιση της βιοσύνθεσης των καροτενοειδών.

Πρόδρομη ένωση των καροτενοειδών είναι το ισοπεντυλο-πυροφωσφορικό οξύ (C_5 , IPP) (Σχήματα 8α και 8β). Το IPP συντίθεται από το μεβαλονικό οξύ (MVA). Το MVA προέρχεται από την αναγωγή του 3-υδροξυ-3-μεθυλο-γλουτάρυλο-CoA. Το 3-υδροξυ-3-μεθυλο-γλουτάρυλο-CoA προκύπτει από την συμπύκνωση τριών μορίων ακέτυλο-CoA. Η μη αντιστρεπτή αυτή αντίδραση καταλύεται από την αναγωγή του 3-υδροξυ-3-μεθυλο-γλουταρυλο-CoA, και αποτελεί το σημείο ρύθμισης της βιοσύνθεσης των καροτενοειδών.

Με μια σειρά διαδοχικών συμπυκνώσεων, $C_5 \rightarrow C_{10} \rightarrow C_{15} \rightarrow C_{20}$, το ισοπεντυλο-πυροφωσφορικό οξύ (C_5 , IPP) μετατρέπεται σε γερανυλο-γερανυλο-πυροφωσφορικό οξύ (C_{20} , GGPP). Ο σχηματισμός του πρώτου C_{40} υδρογονάνθρακα, του φυτοένιου, προέρχεται από την συμπύκνωση δύο μορίων γερανυλο-γερανυλο-πυροφωσφορικού οξέος (C_{20} , GGPP). Το φυτοένιο είναι σχεδόν άχρωμο, και μετατρέπεται στο έγχρωμο λυκοπένιο με απόσπαση υδρογόνου και σχηματισμό συζυγιακού συστήματος *trans* διπλών δεσμών. Το τελευταίο βήμα της βιοσύνθεσης των καροτενοειδών είναι η κυκλοποίηση των άκρων του μορίου και ο σχηματισμός ενός ή δύο δακτυλίων. Πειραματικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι η βιοσύνθεση των καροτενοειδών, μέχρι του σημείου της σύνθεσης του φυτοένιου, λαμβάνει χώρα στην μήτρα των χρωμοπλάστων ενώ η αντίδραση της κυκλοποίησης καταλύεται από μεμβρανικά ένζυμα.

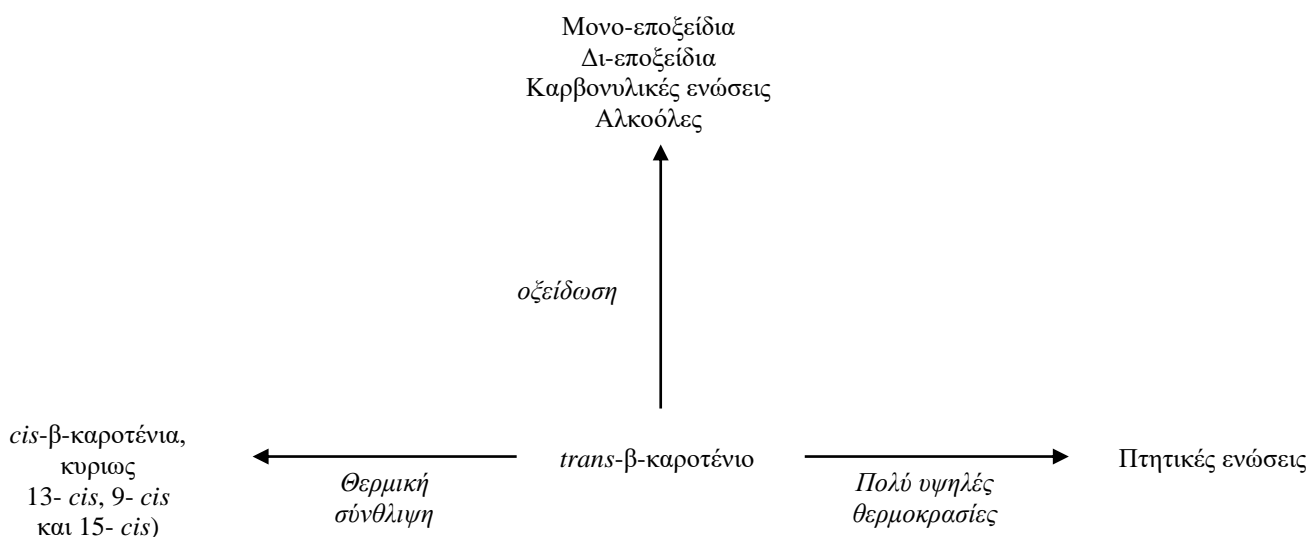


Σχήμα 8α. Η βιοσύνθεση των καροτενοειδών



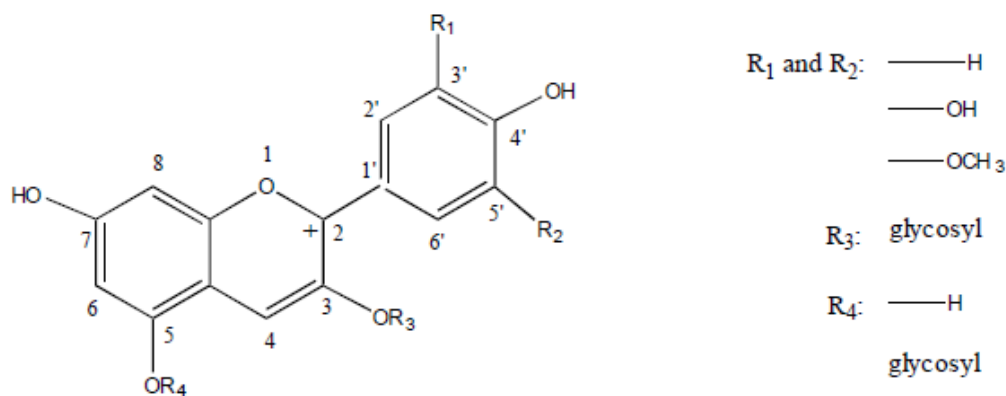
Σχήμα 8β. Η βιοσύνθεση των καροτενοειδών

Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των φρούτων και των λαχανικών, αρχίζει η **αποικοδόμηση των καροτενοειδών των χλωροπλαστών** (π.χ. α- και β-καροτένιο, λουτεΐνη), ενώ παράλληλα ξεκινά η βιοσύνθεση των καροτενοειδών των χρωμοπλαστών (π.χ. κρυπτοξανθίνη, ζεαξανθίνη). Όπως και στην περίπτωση της χλωροφύλλης, η αποικοδόμηση των καροτενοειδών σχετίζεται με μετασυλλεκτικές δομικές αλλαγές των φυτικών ιστών. Η διαμερισματοποίηση των φυτικών κυττάρων βαθμιαία καταργείται, τα καροτενοειδή αποπροστατεύονται και όντας πολυακόρεστες ενώσεις υψηλής συζυγίας υφίστανται εύκολα χημικές αντιδράσεις οξειδωσης, ισομερίωσης και διάσπασης, με αποτέλεσμα την απώλεια του χρώματος. Τα προϊόντα των αντιδράσεων αυτών είναι πολλά και τα περισσότερα δεν έχουν ταυτοποιηθεί, εκτός ίσως από την περίπτωση της αποικοδόμησης του β-καροτένιου (Σχήμα 9).



Σχήμα 9. Η αποικοδόμηση του β-καροτένιου

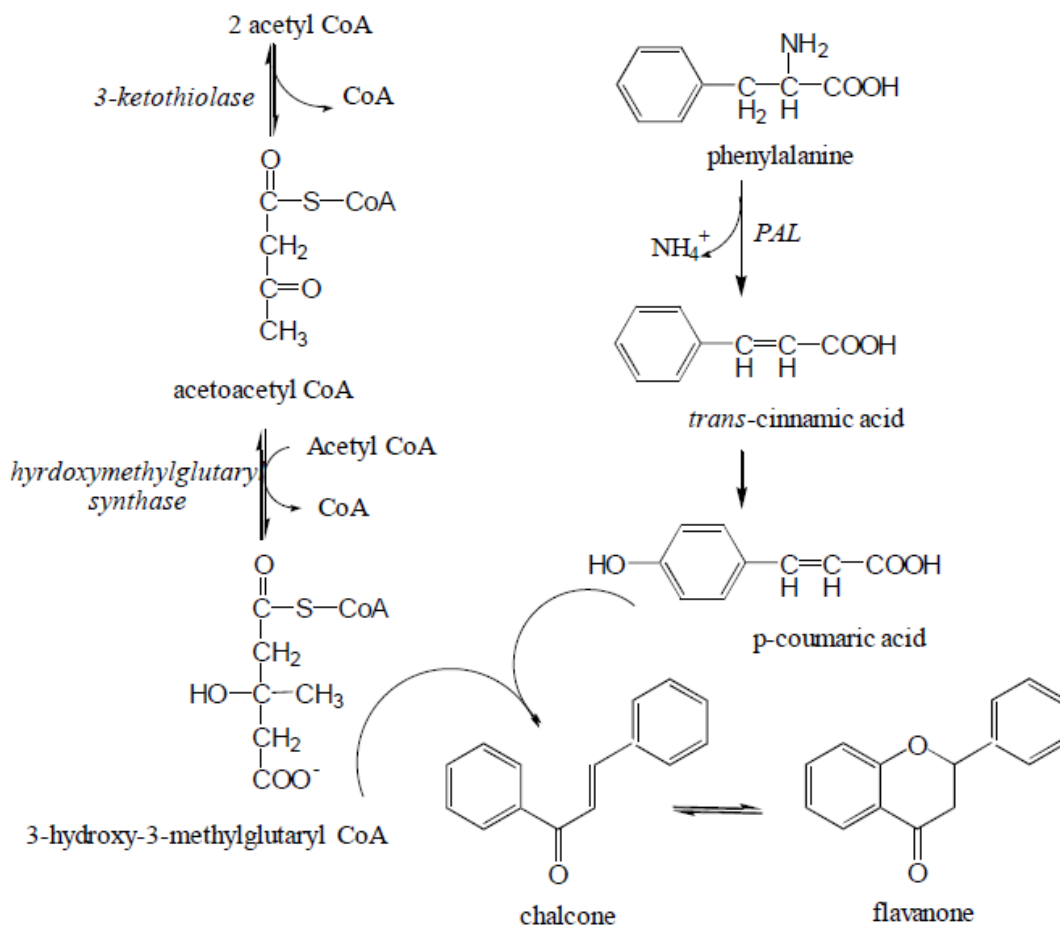
Οι **ανθοκυάνες** είναι υπεύθυνες για το ελκυστικό ροζ, κόκκινο, ιώδες και μπλε χρώμα των φρούτων και των λαχανικών. Συσσωρεύονται στα κύτταρα της επιδερμίδας των φρούτων και των λαχανικών, αλλά και στα φύλλα και τις ρίζες, καθώς το μητρικό φυτό αναπτύσσεται και ωριμάζει. Βρίσκονται εν διάλυσει στο κυτταρόπλασμα των φυτικών κυττάρων, το οποίο είναι ελαφρά όξινο, και κάτω από αυτές τις συνθήκες είναι σταθερές. Οι ανθοκυάνες ανήκουν στις φλαβονοειδείς ενώσεις λόγω του χαρακτηριστικού ανθρακικού σκελετού $C_6C_3C_6$. Πράγματι, οι ανθοκυάνες είναι γλυκοζίδια των πολυ-υδροξυ- ή / και των πολυ-μεθοξυ-παραγώγων του 2-φαινυλο-βενζοπυρενίου (φλαβύλιο) (Σχήμα 10). Τα αντίστοιχα άγλυκα μόρια ονομάζονται ανθοκυανιδίνες, οι οποίες είναι λιγότερο σταθερές από τις αντίστοιχες ανθοκυάνες. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περί τις 250 διαφορετικές ανθοκυάνες.



Σχήμα 10. Η δομή του 2-φαινυλο-βενζοπυρένιου (φλαβύλιο)

Το γλυκό (υδατανθρακικό) τμήμα των ανθοκυανών αποτελείται συνήθως από γλυκόζη, γαλακτόζη, αραβινόζη και ξυλόζη, είτε υπό την μορφή μονοσακχαριτών, είτε ως δι- και τρισακχαρίτες (όμο- και έτερο-). Συχνά, τα σάκχαρα είναι ακυλιωμένα με οξέα, όπως το καφεϊκό, το π-κουμαρικό, το σιναπικό, το π-υδροξυ-βενζοϊκό, το φερουλικό, το μηλικό, το ηλεκτρικό και το οξικό οξύ. Η ένταση του χρώματος των ανθοκυανών εξαρτάται από την συγκέντρωσή τους, το pH, και την παρουσία μεταλλικών ιόντων ή άλλων χρωστικών. Οι σκιές και οι τόνοι στο χρώμα τους αντικατοπτρίζουν τον βαθμό υδροξυλίωσης ή μεθοξυλίωσης. Η υδροξυλίωση συνεπάγεται εντονότερο μπλε ενώ η μεθοξυλίωση εντονότερο κόκκινο χρώμα.

Η **βιοσύνθεση των ανθοκυανών** λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα των φυτικών κυττάρων, σε εξειδικευμένα υποκυτταρικά οργανίδια, τους ανθοκυανοπλάστες. Η βιοσύνθεση ξεκινά με πρόδρομες ενώσεις το ακετύλο-CoA και την φαινυλαλανίνη (Σχήμα 11). Τρία μόρια ακετύλο-CoA συμπυκνώνονται προς 3-υδροξυ-3-μεθυλο-γλουτάρυλο-CoA. Παράλληλα, η φαινυλαλανίνη μετατρέπεται, με την βοήθεια της λυάσης της φαινυλαλανίνης (PAL), προς κινναμικό οξύ, το οποίο εν συνεχεία υδοξυλιώνεται προς π-κουμαρικό οξύ. Το 3-υδροξυ-3-μεθυλο-γλουταρυλο-CoA και το π-κουμαρικό οξύ συμπυκνώνονται προς καλκόνη, η οποία εν συνεχεία κυκλοποιείται προς φλαβονόνη. Ο αρωματικός δακτύλιος A της φλαβονόνης προέρχεται από το 3-υδροξυ-3-μεθυλο-γλουτάρυλο-CoA, ενώ ο αρωματικός δακτύλιος B και ο ετεροκυκλικός δακτύλιος C προκύπτουν από το π-κουμαρικό οξύ. Η φλαβονόνη είναι η μητρική ένωση των φλαβονοειδών. Η βιοσύνθεση των ανθοκυανών ολοκληρώνεται με αντιδράσεις υδροξυλίωσης, μεθοξυλίωσης, γλυκοξυλίωσης και ακυλίωσης, τις οποίες όμως δεν θα περιγράψουμε. Πρέπει να σημειωθεί ότι το στάδιο ρύθμισης της βιοσύνθεσης των ανθοκυανών είναι η αντίδραση της λυάσης της φαινυλαλανίνης (PAL), δηλαδή ο σχηματισμός του κινναμικού οξέος από την φαινυλαλανίνη.



Σχήμα 11. Η βιοσύνθεση των ανθοκυανών

Οι ανθοκυάνες είναι γενικά ασταθή μόρια. Εμφανίζουν την μεγαλύτερη σταθερότητα σε χαμηλές τιμές pH. Ο τόνος του χρώματος των ανθοκυανών αλλά και η σταθερότητα του εξαρτώνται από το είδος των υποκαταστατών. Η **αποικοδόμηση των ανθοκυανών** λαμβάνει χώρα τόσο κατά την εκχύλιση τους από το φυτικό ιστό, όσο και κατά την επεξεργασία και συντήρηση των ιστών. Οι κύριοι παράγοντες, οι οποίοι συμβάλλουν στην αποικοδόμηση, είναι το pH, η θερμοκρασία και το οξυγόνο. Σε μικρότερο βαθμό συμμετέχουν κάποια υδρολυτικά ένζυμα, όπως π.χ. οι πολυφαινολοξειδάσες και οι υπεροξειδάσες, αλλά και το ασκορβικό οξύ, το διοξειδίο του θείου, μεταλλικά ιόντα και σάκχαρα.

5. Οι αλλαγές της δομής

Η υφή των φρούτων και των λαχανικών καθορίζεται από την δομή και την οργάνωση των κυττάρων τους, και ιδιαίτερα του κυτταρικού τοιχώματος αλλά και των υποκυτταρικών οργανιδίων. Επομένως, οι αλλαγές στην υφή των φρούτων και των λαχανικών κατά την ωρίμανση οφείλονται κυρίως στις αρχιτεκτονικές αλλαγές του κυτταρικού τοιχώματος. Τα κύρια συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος είναι η κυτταρίνη, οι ημικυτταρίνες, οι πηκτίνες και η λιγνίνη. Αν και συχνά παραβλέπεται, τα κυτταρικά τοιχώματα περιέχουν επίσης μικρές ποσότητες δομικών πρωτεϊνών (π.χ. η εξτενσίνη) αλλά και κάποια ένζυμα (π.χ. υδρολάσες και υπεροξειδάσες).

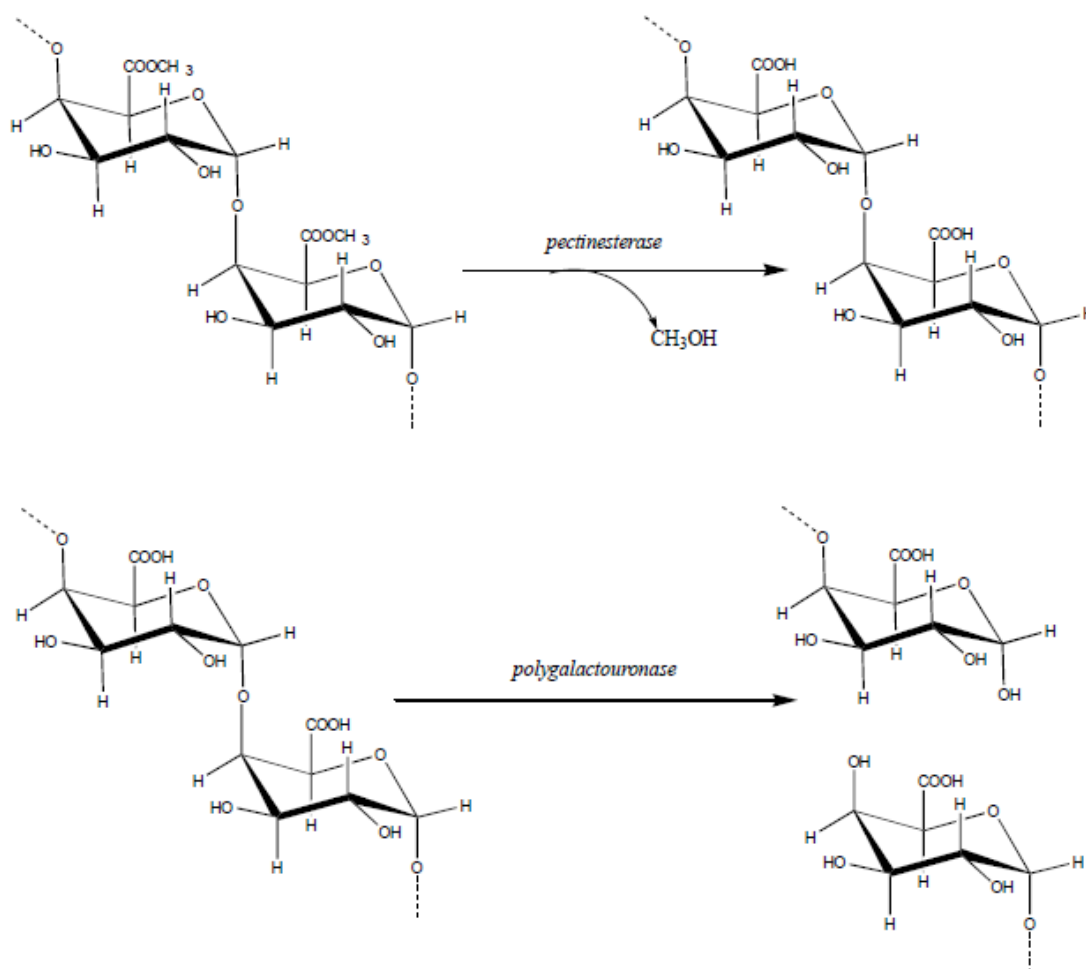
Η κυτταρίνη είναι ο πιο διαδεδομένος υδατάνθρακας στην φύση. Είναι πολυμερές της γλυκόζης με δεσμούς β-1,4. Η διαμόρφωση του β-1,4 δεσμού υποχρεώνει το μόριο να αποκτήσει μια ανοικτή γραμμική δομή. Αν και αποτελεί το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος, η οργάνωση του μορίου της μέσα σε αυτό δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη. Η βιοσύνθεση της κυτταρίνης καταλύεται από το ενζυμικό σύμπλοκο της συνθάσης των β-1,4-γλυκανίων, το οποίο βρίσκεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Το ένζυμο χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα την UDP-γλυκόζη, η οποία προστίθεται σε μια ήδη υπάρχουσα μικρού μήκους μονάδα κυτταρίνης και την επιμηκώνει. Οι αλυσίδες της κυτταρίνης σχηματίζουν γραμμικά συσσωματώματα (ίνες), μέσα στα οποία οι επί μέρους αλυσίδες συγκρατούνται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου που αναπτύσσονται ανάμεσα στα υδροξύλια των C-6 μιας αλυσίδας και των γλυκοζιτικών οξυγόνων των γειτονικών αλυσίδων. Μέσα στα συσσωματώματα της κυτταρίνης συνυπάρχουν «κρυσταλλικές» (οργανωμένες) περιοχές, αλλά και άμορφες.

Η αποικοδόμηση της κυτταρίνης καταλύεται από την C1-κυτταρινάση ή β-1,4 γλυκανάση. Η κυτταρινάση έχει μοριακό βάρος 54,2 kDa και προκύπτει μετά από εκτεταμένη μετα-μεταφραστική τροποποίηση ενός πρόδρομου μορίου μοριακού βάρους 54 kDa. Η τροποποίηση περιλαμβάνει πρωτεολυτική υδρόλυση και γλυκοζυλίωση. Έχει επίσης αναφερθεί και η ύπαρξη τριών ισομορφών της κυτταρινάσης, με μοριακά βάρη από 50 ως 55 kDa, οι οποίες βρίσκονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, την κυτταρική μεμβράνη και το κυτταρικό τοίχωμα. Οι ισομορφές της κυτταρινάσης συντίθενται αρχικά κατά την έναρξη της ωρίμανσης στο ένα άκρο του φρούτου και η βιοσύνθεση τους προχωρά με την εξέλιξη της ωρίμανσης στο άλλο άκρο του φρούτου. Η πλήρης υδρόλυση της κυτταρίνης προς γλυκόζη ολοκληρώνεται με την δράση της Cx κυτταρινάσης και της β-1, 4 γλυκοζιτιδάσης.

Οι **ημικυτταρίνες** είναι ετεροπολυσακχαρίτες που περιέχουν διάφορες εξόζες και πεντόζες και σε κάποιες περιπτώσεις και ουρονικά οξέα. Ονομάζονται ανάλογα με τον τύπο του μονοσακχαρίτη που επικρατεί στο μόριό τους και έτσι διακρίνουμε τα ξυλάνια, τα μαννάνια, τα γλυκομαννάνια, τα γαλακτάνια και τα αραβογαλακτάνια. Τα ξυλάνια συμμετέχουν στην διαμόρφωση του πλέγματος των ινών κυτταρίνης στο κυτταρικό τοίχωμα, με την βοήθεια

δεσμών υδρογόνου. Την υδρόλυση των ημικυτταρινών κατά την ωρίμανση των φρούτων και των λαχανικών αναλαμβάνουν οι κυτταρινάσες και οι γαλακτοζιδάσες.

Οι **πηκτίνες** είναι γραμμικά πολυμερή του α-D-γαλακτουρονικού οξέος και των μεθυλεστέρων του, με δεσμούς β-1, 4 (Σχήμα 12). Το κύριο υπόστρωμα για την βιοσύνθεση των πηκτινών είναι το UDP-γαλακτουρονικό οξύ, το οποίο είναι προϊόν της οξείδωσης της γαλακτόζης. Οι πηκτίνες του πρωτεύοντος κυτταρικού τοιχώματος (primary wall) έχουν μεγαλύτερο βαθμό μεθυλίωσης από τις πηκτίνες της μεσαίας φολίδας (middle lamella). Οι πηκτίνες περιέχουν επίσης σημαντικές ποσότητες ουδέτερων (μη ουρονικών) σακχάρων, τα οποία είτε αποτελούν τμήμα του πολυγαλακτουρονικού σκελετού (π.χ. ραμνόζη), είτε συνδέονται με αυτόν ως παράπλευρες ομάδες (π.χ. αραβινόζη και ξυλόζη) και δημιουργούν την «τριχώδη» περιοχή του μορίου.



Σχήμα 12. Η δράση των πολυγαλακτουρονάσων και των μεθυλεστερασών της πηκτίνης

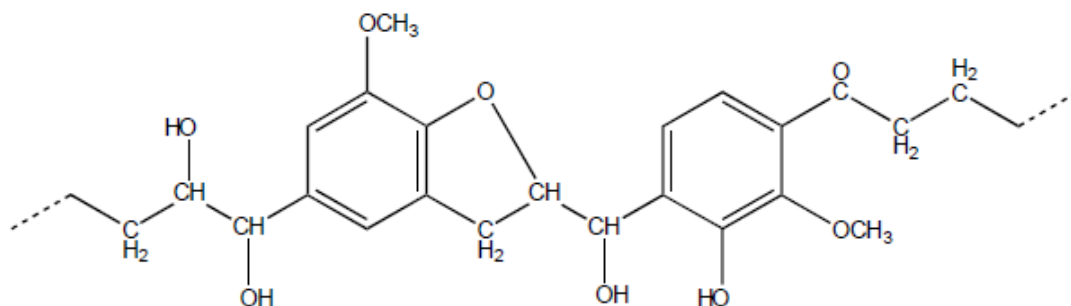
Η αποικοδόμηση της πηκτίνης καταλύεται από δύο κατηγορίες ενζύμων, τις πολυγαλακτουρονάσες (ή γαλακτουρονάσες, PG) και τις μεθυλεστεράσες της πηκτίνης (ή πηκτινεστεράσες) (Σχήμα 12). Οι πολυγαλακτουρονάσες υδρολύουν τους γλυκοζιτικούς β-1,4

δεσμούς, δρώντας είτε στο εσωτερικό του μορίου της πηκτίνης (ενδο-πολυγαλακτουρονάσες), είτε στα άκρα του (εξω-πολυγαλακτουρονάσες). Η ενεργότητα των πολυγαλακτουρονασών αυξάνει κατά την ωρίμανση. Ο ρόλος των μεθυλεστερασών της πηκτίνης είναι η υδρόλυση των εστέρων των γαλακτουρονικού οξέος, προκειμένου να διευκολυνθεί η δράση των πολυγαλακτουρονασών. Οι ενδείξεις για την μεταβολή της ενεργότητας των μεθυλεστερασών της πηκτίνης κατά την διάρκεια της ωρίμανσης είναι μάλλον αντιφατικές. Φαίνεται ότι δεν παίζουν πολύ μεγάλο ρόλο στην μείωση της σκληρότητας των φρούτων, καθώς εμφανίζονται σε αυξημένες συγκεντρώσεις και σε ανώριμα φρούτα και λαχανικά.

Υπάρχουν τρεις κύριες ισομορφές των πολυγαλακτουρονασών, η PG1, η PG2a και η PG2b. Η PG1 (M.B. 100 kDa) κυριαρχεί κατά την έναρξη της ωρίμανσης, ενώ η ενεργότητα της PG2a (M.B. 43 kDa) και της PG2b (M.B. 45 kDa) αυξάνει προς το τέλος της ωρίμανσης. Η PG2a και η PG2b προκύπτουν από το ίδιο πρόδρομο μόριο ύστερα από μετα-μεταφραστική πρωτεόλυση και γλυκοζυλίωση. Στην πραγματικότητα είναι το ίδιο πολυπετίδιο με διαφορετικό βαθμό γλυκοζυλίωσης. Η PG1 αποτελεί σύμπλεγμα της PG2a, της PG2b και μιας υπομονάδας M.B. 38 kDa, η οποία ονομάζεται β-υπομονάδα. Η β-υπομονάδα εντοπίζεται κοντά στο κυτταρικό τοίχωμα, όπου και συμπλέκεται με τις PG2a και PG2b για να δώσουν την PG1.

Παρουσία αιθυλενίου, το οποίο όπως προαναφέρθηκε επάγει την ωρίμανση, παρατηρείται αύξηση των επιπέδων του mRNA της PG και της ίδιας της PG. Οι μεταβολές αυτές δεν παρατηρούνται όταν χρησιμοποιηθούν ιόντα αργύρου, τα οποία δεσμεύονται στους υποδοχείς του αιθυλενίου και επομένως παρεμποδίζουν την δράση του. Επομένως υπάρχει άμεση σχέση ανάμεσα στο αιθυλένιο, την σύνθεση της PG και το μαλάκωμα της ντομάτας. Η κατανόηση της βιοσύνθεσης και της ρύθμισης της PG χρησιμοποιώντας εργαλεία της μοριακής βιολογίας είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη μεθόδων για την επιμήκυνση του χρόνου της μετασυλλεκτικής ωρίμανσης της ντομάτας. Έτσι, εφαρμόζοντας την τεχνολογία του αντινοσηματικού RNA για την PG, τα επίπεδα σύνθεσης της διατηρούνται χαμηλά, με αποτέλεσμα η ντομάτα να αργεί να μαλακώσει, χωρίς όμως να επηρεάζονται οι υπόλοιποι μηχανισμοί ωρίμανσης.

Η **λιγνίνη** είναι μία μεγαλομοριακή ένωση (μέχρι και 5.000 Da) και η δομή της ποικίλει από φυτό σε φυτό, διότι το τελικό στάδιο σχηματισμού της είναι αντιδράσεις οξειδωσης – σύζευξης μέσω του μηχανισμού των ελευθέρων ριζών, άρα δεν υπόκειται σε ενζυμικό έλεγχο. Διαφέρει από τα άλλα φυσικά μεγαλομόρια (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, νουκλεϊκά οξέα) καθώς η δομή της είναι τυχαία. Οι μονομερείς ομάδες που αντιδρούν για τον σχηματισμό της λιγνίνης είναι φαινόλες και φαινολαιθέρες, κυρίως η κωνιφερόλη και η σιναυλική αλκοόλη (Σχήμα 1β, κεφάλαιο Αμαύρωση Τροφίμων).



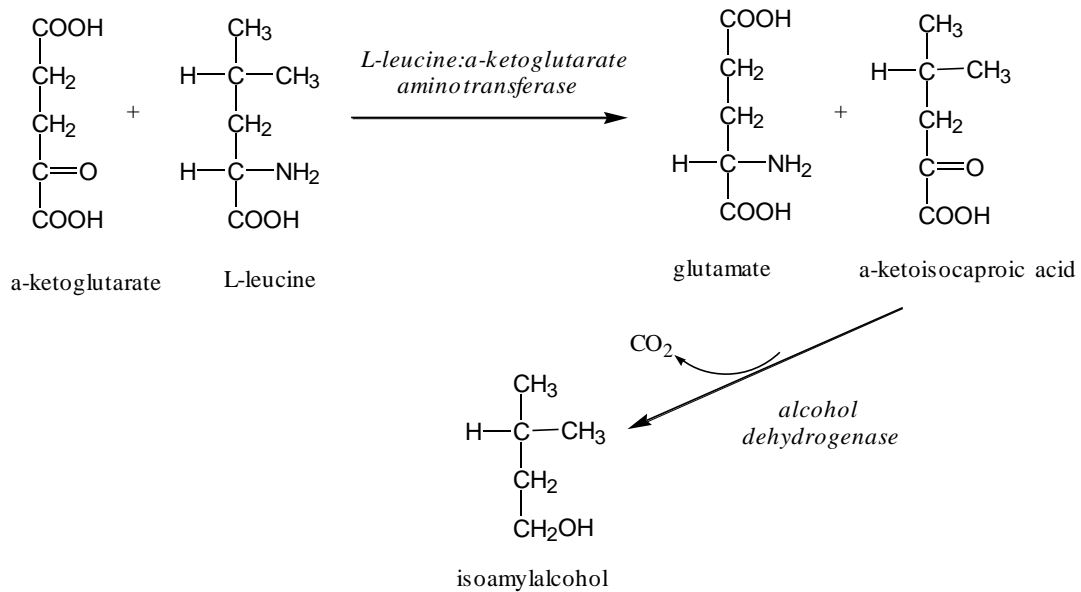
Hypothetical partial lignin structure

Η λιγνίνη προσδίδει μηχανική αντοχή και σκληρότητα στο κυτταρικό τοίχωμα, ιδιαίτερα στους υποστηρικτικούς ιστούς των φυτών. Σε λαχανικά, όπως π.χ. το σπαράγγι και το σέλερι, κατά την διάρκεια της ωρίμανσης λαμβάνει χώρα σύνθεση λιγνίνης στους τριχοειδείς σωλήνες, με αποτέλεσμα την λεγόμενη λιγνινοποίηση ή ξυλοποίηση. Η μικροβιακή αποικοδόμηση της λιγνίνης στο έδαφος οδηγεί στον σχηματισμό των χουμικών και φουλβικών οξέων (χούμος). Τα οξέα αυτά είναι χαμηλότερου μοριακού βάρους (1000 Da), πολύπλοκες αρωματικές ενώσεις με φαινολικά υδροξύλια και καρβοξυλικές ομάδες, που αποτελούν το κύριο οργανικό συστατικό του εδάφους. Σχηματίζουν σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, καθιστούν υδατοδιαλυτές υδρόφοβες οργανικές ενώσεις και εμφανίζουν φυσιολογική δράση στην διαίρεση και επιμήκυνση των κυττάρων.

6. Το άρωμα και η γεύση

Το **άρωμα** των φρούτων και λαχανικών οφείλεται σε ένα σύνθετο μίγμα οργανικών, πτητικών ενώσεων, οι οποίες συντίθενται κατά την διάρκεια της ωρίμανσης τους και η βιοσύνθεση τους είναι συνυφασμένη με την κλιμακτηριακή αύξηση της αναπνοής. Οι ενώσεις αυτές είναι κυρίως εστέρες, αλδεΐδες, κετόνες, αλκοόλες, λακτόνες, τερπένια και θειούχες ενώσεις. Πράγματι, πάνω από 300 πτητικές ενώσεις δημιουργούν το χαρακτηριστικό άρωμα της φράουλας. Παράλληλα όμως, σε κάποια φρούτα και λαχανικά, αρκεί μια μόνο ένωση ή μια κατηγορία ενώσεων για να διαμορφωθεί το χαρακτηριστικό άρωμα, όπως π.χ. η 2,6-νοναδιενάλη στο αγγούρι, ο οξικός εστέρας της αμυλικής αλκοόλης στην μπανάνα, τα σουλφίδια στο κρεμμύδι και τα φθιαλίδια στο σέλινο. Οι ενώσεις αυτές προέρχονται συνήθως από τον δευτερογενή μεταβολισμό αρωματικών και θειούχων αμινοξέων, από υδατάνθρακες και παράγωγα αυτών, καθώς και από άκορεστα λιπαρά οξέα (Σχήμα 13).

Η **γεύση** καθορίζεται από μη πτητικές ενώσεις όπως είναι τα σάκχαρα, τα οργανικά οξέα και οι τανίνες. Ο λόγος [σακχάρων : οξέων] είναι ένας χρήσιμος δείκτης ωρίμανσης ενώ οι τανίνες (πολυφαινόλες) είναι υπεύθυνες για την στυφή γεύση των ανώριμων φρούτων.



Σχήμα 13. Η βιοσύνθεση της ισοαμυλικής αλκοόλης, αρωματικής ουσίας της ντομάτας

Τα οργανικά οξέα είναι το κύριο συστατικό των φρούτων και η ωρίμανση των φρούτων συνοδεύεται με αλλαγές στις συγκεντρώσεις των οργανικών οξέων. Η συγκέντρωση των οξέων αυτών φτάνει στην μέγιστη τιμή κατά την ανάπτυξη του φρούτου στο δένδρο. Ο κύκλος του Krebs είναι ο κατ' εξοχήν υπεύθυνος για την παραγωγή οργανικών οξέων, όπως π.χ. το κιτρικό, το μηλικό, το οξαλικό και το ηλεκτρικό οξύ. Φρούτα, όπως τα πορτοκάλια, τα λεμόνια και οι φράουλες, είναι πλούσια σε κιτρικό οξύ, τα μήλα, τα αχλάδια και τα δαμάσκηνα σε μηλικό οξύ, ενώ τα σταφύλια σε ταρταρικό οξύ. Μετά την αποκοπή του φρούτου από το μητρικό φυτό και κατά την ωρίμανση, η συγκέντρωση των οργανικών οξέων μειώνεται. Η μείωση οφείλεται στην οξείδωση τους, η οποία συμβαδίζει με την κλιμακτηριακή αύξηση της αναπνοής. Εκτός από τα παραπάνω οξέα, σημαντική είναι και η παρουσία του ασκορβικού οξέος. Το ασκορβικό οξύ συναντάται κυρίως στην ανηγμένη του μορφή αλλά μπορεί να οξειδωθεί με την βοήθεια της οξειδάσης του ασκορβικού οξέος.

Η σύνθεση του αμύλου αλλά και η αποικοδόμηση του σε απλά σάκχαρα είναι μια σημαντική μεταβολική διεργασία στα μετασυλλεκτικά φρούτα και λαχανικά. Στις πατάτες π.χ. η υδρόλυση του αμύλου είναι ανεπιθύμητη, καθώς τα παραγόμενα σάκχαρα είναι η αιτία για την κακή υφή μετά το μαγείρεμα, την ανεπιθύμητη πολύ γλυκιά γεύση και την εκτεταμένη αμαύρωση κατά το τηγάνισμα. Αντίθετα, σε πολλά φρούτα, όπως π.χ. στην μπανάνα, η μερική μετασυλλεκτική υδρόλυση του αμύλου και η παραγωγή απλών σακχάρων, όπως η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η σακχαρόζη, είναι επιθυμητή, καθώς τα σάκχαρα αυτά διαμορφώνουν την γλυκιά γεύση. Τέλος, σε άλλα φυτά π.χ. σε σπόρους, όπως το καλαμπόκι και τα φασόλια, επικρατεί μετασυλλεκτικά η βιοσύνθεση του αμύλου.

Η ΑΜΑΥΡΩΣΗ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

1. Εισαγωγή

Οι αντιδράσεις αμαύρωσης είναι από τα πιο σημαντικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα κατά την επεξεργασία και αποθήκευση των τροφίμων. Οι δύο σημαντικότερες κατηγορίες αντιδράσεων είναι η ενζυμική αμαύρωση, η οποία οφείλεται στην ενζυμική οξειδωση των φαινολικών ενώσεων των τροφίμων και η μη ενζυμική αμαύρωση, η οποία οφείλεται στην αντίδραση Maillard μεταξύ αμινομάδων και αλδεϋδικών ομάδων των συστατικών των τροφίμων.

Η ενζυμική αμαύρωση είναι μια επιθυμητή αντίδραση σε διεργασίες, όπως π.χ. η ζύμωση του τσαγιού, του καφέ και του κακάο, η ξήρανση της σταφίδας, των σύκων, των δαμάσκηνων, των χουρμάδων κλπ, εν τούτοις προκαλεί ανεπιθύμητες αλλαγές χρώματος σε άλλους φυτικούς ιστούς όταν αυτοί τραυματισθούν, αρρωστήσουν ή παγώσουν. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η αμαύρωση της πατάτας, του μήλου, του ροδάκινου, της μπανάνας, των μανιταριών κλπ. Παρόμοιες αντιδράσεις συναντάμε επίσης στις γαρίδες και τα οστρακοειδή. Ως υποστρώματα της αντίδρασης αυτής λειτουργούν οι απλές φαινόλες, τα παράγωγα του κινναμικού οξέος, καθώς και τα φλαβονοειδή. Η τάση ενός φυτικού ιστού προς αμαύρωση εξαρτάται σημαντικά από την ποικιλία της καλλιέργειας, στην οποία ανήκει. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στην διακύμανση της συγκέντρωσης των ενζύμων που καταλύουν την αντίδραση της αμαύρωσης, στην περιεκτικότητα του φυτικού ιστού σε φαινολικές ενώσεις, στην παρουσία οξυγόνου αλλά και μεταλλικών ιόντων. Σήμερα, στην επεξεργασία τροφίμων εφαρμόζονται διάφορες μέθοδοι για την παρεμπόδιση της ενζυμικής αμαύρωσης στις περιπτώσεις που αυτή είναι ανεπιθύμητη. Μεταξύ αυτών είναι ο αποκλεισμός του οξυγόνου, η μείωση του pH, η θερμική απενεργοποίηση των ενζύμων και η χρήση ενζυμικών παρεμποδιστών.

Η μη ενζυμική αμαύρωση είναι από τις πλέον πολύπλοκες αντιδράσεις στην χημεία τροφίμων, λόγω του μεγάλου αριθμού των συστατικών των τροφίμων που μπορούν να συμμετάσχουν σε αυτή, δίνοντας ένα πολύπλοκο μίγμα τελικών προϊόντων. Αναφέρεται ως αντίδραση Maillard και είναι μια από τις κύριες αντιδράσεις που οδηγούν στην υποβάθμιση των πρωτεϊνών των τροφίμων. Η υποβάθμιση των πρωτεϊνών προκαλείται είτε από αλλαγές ή και απώλεια της διατροφικής τους αξίας, λόγω της καταστροφής απαραίτητων αμινοξέων, είτε από μείωση της πεπτικότητας των πρωτεϊνών και της βιοδιαθεσιμότητας των αμινοξέων.

Πέραν των δύο αυτών κύριων κατηγοριών αντιδράσεων, η αμαύρωση του ασκορβικού οξέος (θερμική αποικοδόμηση του ασκορβικού οξέος, κάτω είτε από αερόβιες είτε από αναερόβιες συνθήκες, οξειδωτικά ή μη, παρουσία ή απουσία αμινοξέων), η αμαύρωση λιπιδίων (ενζυμική ή μη ενζυμική οξειδωση ακόρεστων λιπαρών οξέων και επακόλουθος πολυμερισμός ή αλληλεπίδραση με ελεύθερες αμινομάδες πρωτεϊνών και πεπτιδίων) και η μη ενζυμική αμαύρωση αμινο-φωσφολιπιδίων (σχηματισμός προϊόντων Amadori μεταξύ φωσφολιπιδίων και σακχάρων) προκαλούν παρόμοια προβλήματα ποιότητας στα τρόφιμα. Το κεφάλαιο αυτό όμως

δεν θα επεκταθεί στις περιπτώσεις αυτές, αλλά θα αναφερθεί στις δύο βασικές κατηγορίες της ενζυμικής και μη ενζυμικής αμαύρωσης.

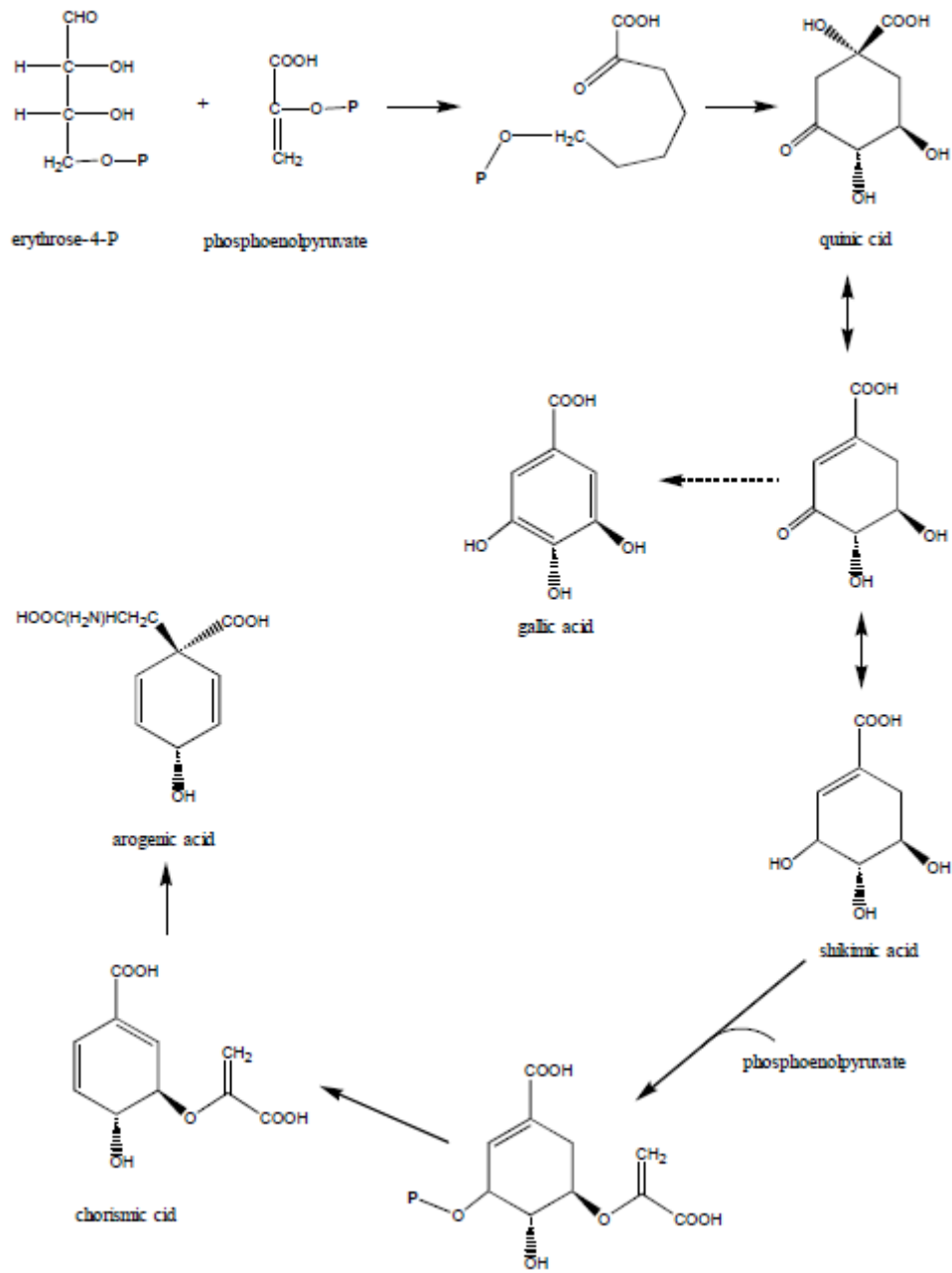
2. Φαινολικές ενώσεις στα τρόφιμα

Οι φαινολικές ενώσεις που συναντάμε στους φυτικούς ιστούς περιλαμβάνουν ένα μεγάλο αριθμό οργανικών ενώσεων, οι οποίες διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα χημικών αλλά και λειτουργικών ιδιοτήτων. Παραδοσιακά, οι ενώσεις αυτές θεωρούνται ιδιαίτερης σημασίας για τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης, λόγω του ρόλου τους στην διαμόρφωση της γεύσης και του χρώματος των τροφίμων. Τα τελευταία χρόνια όμως αναπτύσσεται ένα ιδιαίτερο διατροφικό ενδιαφέρον γύρω από τις ενώσεις αυτές. Πιστεύεται ότι οι φαινολικές ενώσεις έχουν ευεργετική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου, καθώς πολλές από αυτές εμφανίζουν αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση.

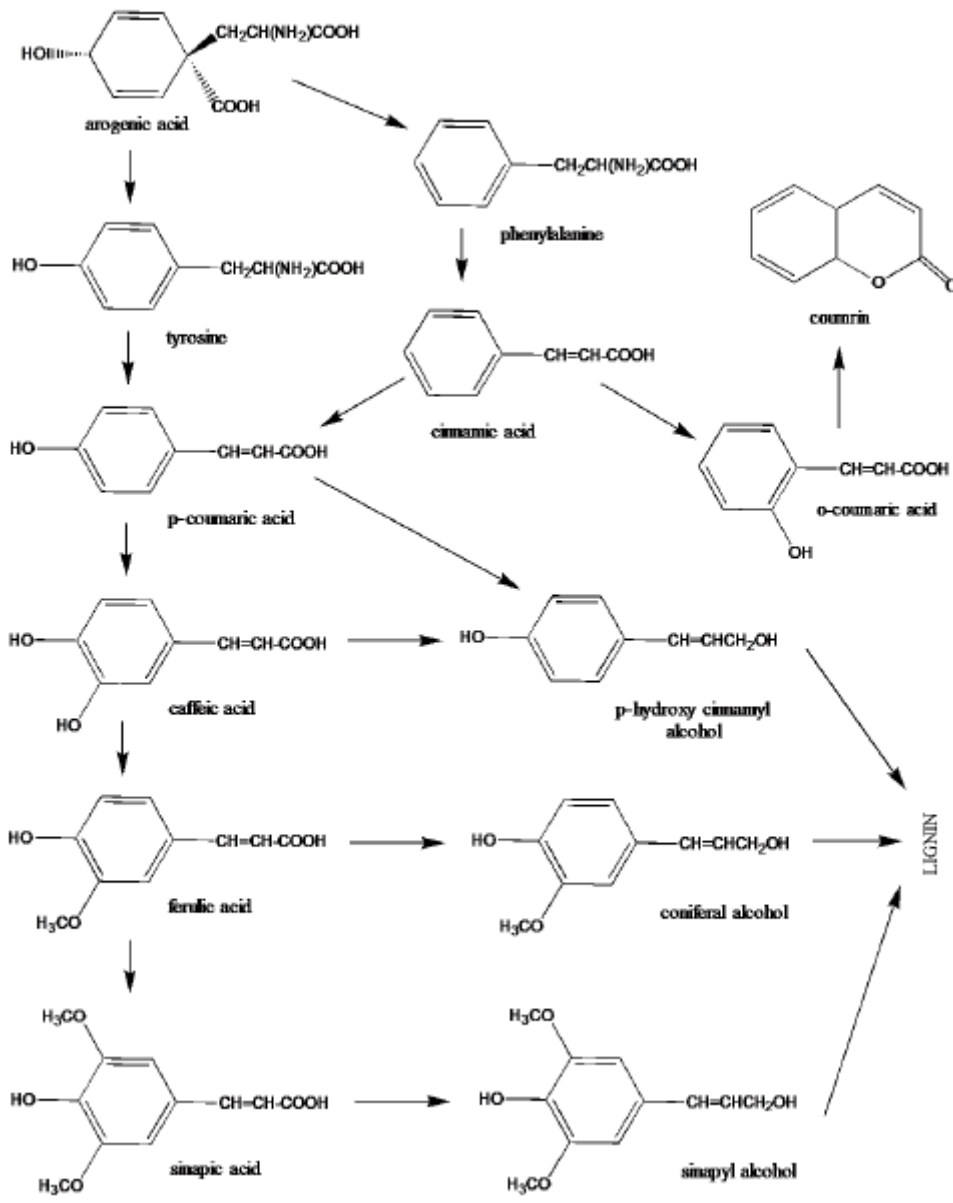
Η βασική δομική μονάδα των φαινολικών ενώσεων είναι ένας υδροξυλιωμένος αρωματικός δακτύλιος, όπως π.χ. η φαινόλη, η π-κρεσόλη και η 3-αιθυλο-φαινόλη. Τα φαινολικά οξέα, όπως το καφεϊκό, το κουμαρικό και το φερούλικό οξύ, απαντώνται στο μονοπάτι του σικιμικού οξέος των φυτικών ιστών. Το μονοπάτι αυτό ξεκινά με την συμπύκνωση του φωσφοενολο-πυροσταφυλικού οξέος και της ερυθρόζης-4-P (Σχήμα 1α, β).

Οι φαινολικές ενώσεις απαντώνται συχνά και υπό μορφή εστέρων είτε με σάκχαρα είτε με άλλες φαινολικές ενώσεις (δεψίδια). Το χλωρογενικό οξύ, επί παραδείγματι, είναι ο εστέρας του καφεϊκού οξέος με το κιννοϊκό οξύ, και είναι η κύρια φαινολική ένωση στα μήλα, τα αχλάδια, τα ροδάκινα, τα δαμάσκηνα, τις μελιτζάνες και τον καφέ. Θεωρείται επίσης ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην πατάτα όταν αυτή μετά το ψήσιμο παίρνει ένα γκρίζο-μαύρο χρώμα. Αυτό αποδίδεται στην οξειδωση των συμπλόκων που σχηματίζονται μεταξύ του σιδήρου και του καφεϊκού και χλωρογενικού οξέος. Τα αμινοξέα φαινυλαλανίνη και τυροσίνη κατατάσσονται στις φαινολικές ενώσεις. Η βιοσύνθεση τους γίνεται επίσης μέσω του μονοπατιού του σικιμικού οξέος και αποτελούν πρόδρομες ενώσεις για την βιοσύνθεση άλλων φαινολικών ενώσεων. Η τυροσίνη αποτελεί κύριο υπόστρωμα της ενζυμικής αμαύρωσης στις γαρίδες, τον αστακό και τα μανιτάρια, ενώ παίζει σημαντικό ρόλο και στην βιοσύνθεση της λιγνίνης.

Οι περισσότερες φαινολικές ενώσεις λειτουργούν ως υποστρώματα στην ενζυμική αμαύρωση, αλλά ταυτόχρονα συμβάλλουν και χημικά στην αμαύρωση σχηματίζοντας σύμπλοκα με μεταλλικά ιόντα, όπως ο χαλκός και ο σίδηρος. Η συμπλοκοποίηση αυτή παρεμποδίζεται από χηλικές ενώσεις, όπως το EDTA και τα φωσφορικά ιόντα.



Σχήμα 1α. Η βιοσύνθεση των φαινολικών οξέων (μονοπάτι του σικιμικού οξέος)



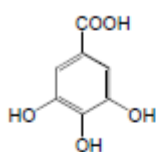
Σχήμα 1β. Η βιοσύνθεση των φαινολικών οξέων (μονοπάτι του σικιμικού οξέος)

Κατά την διάρκεια της ωρίμανσης των φρούτων, παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων. Αντίθετα, η συγκέντρωση τους αυξάνει σε συνθήκες καταπόνησης (stress), όπως π.χ. ο τραυματισμός του ιστού, η προσβολή του από μύκητες ή βακτήρια και οι χαμηλές θερμοκρασίες. Η έκταση και το μέγεθος των αλλαγών αυτών εξαρτώνται από το ίδιο το φυτό αλλά και από τις συνθήκες συντήρησης. Έτσι, όταν τεμαχισμένα καρότα αποθηκεύονται παρουσία αέρα αυξάνει η συσσώρευση του *trans*-5'-καφεϋλο-κιννοϊκού οξέος. Αντίθετα, παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων διοξειδίου του άνθρακα ή απουσία οξυγόνου η συσσώρευση αυτή παρεμποδίζεται.

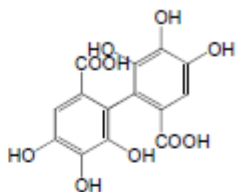
Οι φαινολικές ενώσεις απαντώνται επίσης και ως τμήμα των μορίων των **ταννινών** ή άλλως **πολυφαινολών**. Οι πολυφαινόλες/ταννίνες προσδίδουν διάφορα λειτουργικά χαρακτηριστικά στο τρόφιμο, όπως το χρώμα αλλά και η στυπτικότητα. Από χημικής άποψης, οι πολυφαινόλες/ταννίνες είναι μια ετερογενής οικογένεια μορίων, μοριακού βάρους μέχρι και 3000 Da, τα οποία αποτελούνται από καρβοξυλικά οξέα, φαινολικά οξέα και σάκχαρα. Πρέπει να σημειωθεί ότι η ακριβής δομή των μεγαλομοριακών πολυφαινολών/ταννινών δεν είναι γνωστή. Παραδοσιακά, οι πολυφαινόλες/ταννίνες διακρίνονται στις υδρολυόμενες και τις συμπυκνωμένες ταννίνες (Σχήμα 2). Ο διαχωρισμός αυτός είναι μάλλον συμβατικός καθώς στην πράξη οι ταννίνες και των δύο κατηγοριών μπορούν να υδρολυθούν. Στις υδρολυόμενες ταννίνες ανήκουν οι γαλλοταννίνες και οι ελλαγιταννίνες. Στις συμπυκνωμένες ταννίνες κατατάσσονται οι προανθοκυανιδίνες και οι ταννίνες που προέρχονται από τις φλαβανο-3,4-διόλες.

Το όνομα ταννίνες προέρχεται από την χρήση φυτικών εκχυλισμάτων για την μετατροπή της δοράς, η οποία είναι κατά βάση πρωτεϊνικής σύστασης, σε δέρμα. Οι αλληλοεπιδράσεις των ταννινών με πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο και στα τρόφιμα. Έτσι η συμπλοκοποίηση των ταννινών του λυκίσκου με τις πρωτεΐνες της βύνης οδηγούν στον σχηματισμό του θολώματος στην μύρα. Η συμπλοκοποίηση των πρωτεϊνών με τις ταννίνες θεωρείται ότι μειώνει την διατροφική αξία του τροφίμου, αν και άλλοι ερευνητές πιστεύουν ότι αυτό είναι αποτέλεσμα μιας περισσότερο άμεσης αντιδιατροφικής δράσης των ταννινών. Γενικά, πρωτεΐνες πλούσιες σε προλίνη συμπλοκοποιούνται πιο εύκολα με τις ταννίνες. Έτσι η ζελατίνη, η οποία είναι πλούσια σε προλίνη, χρησιμοποιείται για την συμπλοκοποίηση των ταννινών του κρασιού προκειμένου να μειωθεί η στυπτικότητά του. Η στυπτικότητα πολλών φρούτων προκαλείται από την αλληλοεπίδραση των ταννινών των φρούτων με τις πρωτεΐνες του επιθηλίου της στοματικής κοιλότητας.

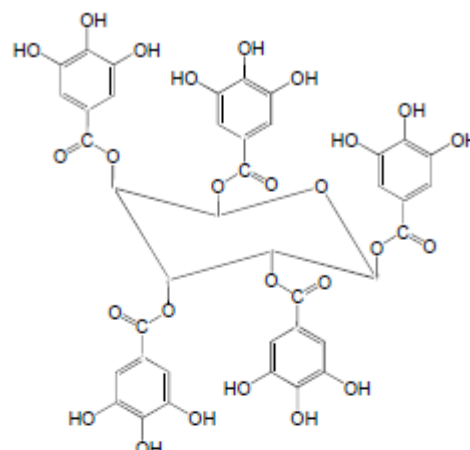
Gallotannins ('hydrolyzable tannins')



gallic acid

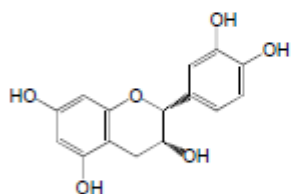


hexahydroxy-diphenic acid

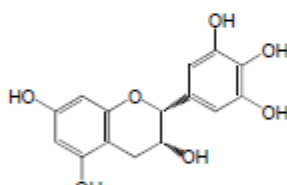


b-pentagalloyl-glucose

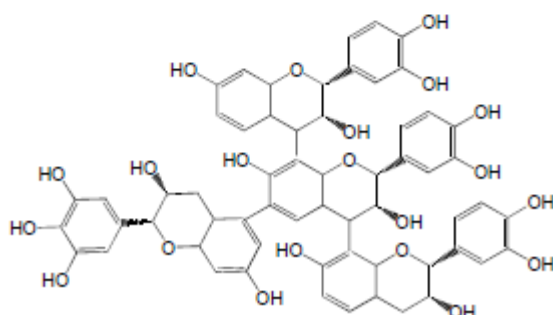
Flavan-3,4-diol derived ('Condensed Tannins')



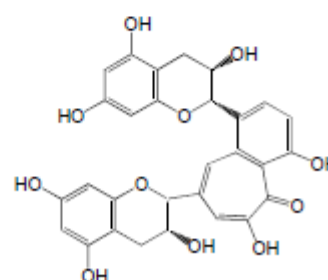
epicatechin



epigallocatechin



a condensed tannin



theaflavin

Σχήμα 2. Η δομή των ταννινών

3. Η ενζυμική αμαύρωση

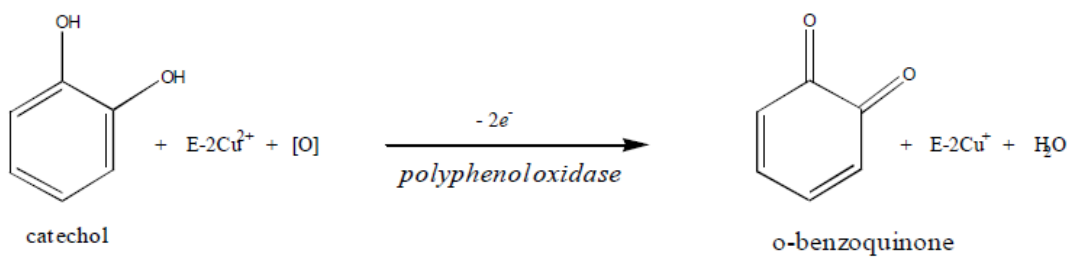
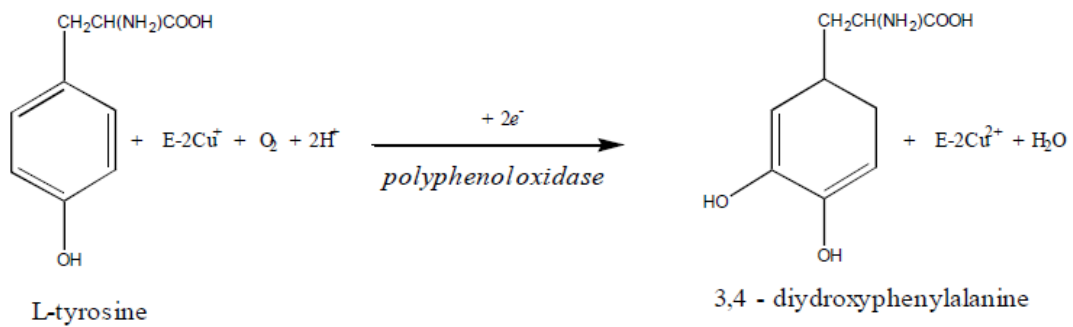
Η αντίδραση της ενζυμικής αμαύρωσης περιλαμβάνει δύο στάδια. Το πρώτο στάδιο είναι ενζυμικό ενώ το δεύτερο χημικό. Τα πιο καλά μελετημένα ένζυμα που εμπλέκονται στο πρώτο στάδιο την ενζυμικής αμαύρωσης είναι η πολυφαινολοξειδάση (polyphenol oxidase, PPO, ο-διφαινολ-οξειδοαναγωγή, EC 1.10.3.1) και η λακκάση (π-διφαινολ-οξειδάση, EC 1.10.3.2).

Η **πολυφαινολοξειδάση** απαντάται εκτός από τα φυτά και στα ζώα και τους μικροοργανισμούς, κυρίως τους μύκητες. Άρχισε να μελετάται το 1895 στον μηλίτη οίνο και στα μανιτάρια και από τότε έχει μελετηθεί και σε καρπούς ανώτερων φυτών, όπως η πατάτα, το αβοκάντο, το σταφύλι, το μήλο, το αχλάδι, ο ανανάς, η φάβα, το μαρούλι, το σπανάκι κλπ. Με την χρήση της ηλεκτροφόρησης έχουν εντοπισθεί περί τα δέκα ισοένζυμα, τα οποία εμφανίζουν διαφορετική εξειδίκευση έναντι των φαινολικών υποστρωμάτων.

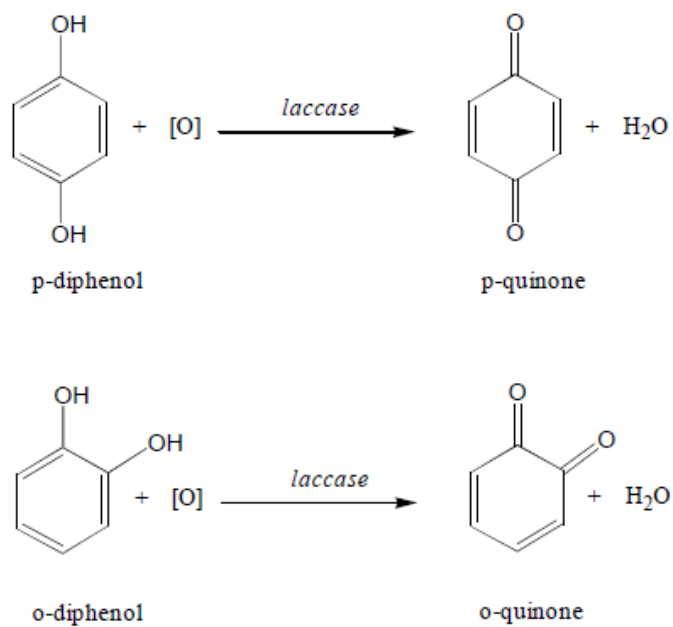
Η πολυφαινολοξειδάση απαντάται τόσο ως διαλυτό ένζυμο του κυτταροπλάσματος όσο και ως μεμβρανικό. Το ένζυμο ανήκει στην κατηγορία των οξειδοαναγωγασών και χρησιμοποιεί το οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων. Στο ενεργό κέντρο του ενζύμου βρίσκονται δύο άτομα χαλκού, τα οποία είναι συνδεδεμένα με δύο μόρια ιστιδίνης της πεπτιδικής αλυσίδας. Η πολυφαινολοξειδάση απαντάται σε τρεις μορφές, την οξυ-, την δεοξυ- και την μετα-μορφή. Στην οξυ-μορφή, ένα εξωγενές μόριο οξυγόνου γεφυρώνει τα δύο άτομα χαλκού Cu (II). Στην δεοξυ-μορφή αντί του μοριακού οξυγόνου ένα εξωγενές μόριο μονοξειδίου τα άνθρακα γεφυρώνει τα δύο άτομα χαλκού Cu (II). Τέλος, στην μετα-μορφή τα άτομα χαλκού βρίσκονται στην ανηγμένη μορφή τους Cu (I) και ενώνονται μεταξύ τους. Το βέλτιστο pH της κυμαίνεται μεταξύ 4.0 και 7.0 ενώ το μοριακό της βάρος από 57 ως 62 kDa.

Η πολυφαινολοξειδάση καταλύει δύο τύπους αντιδράσεων, οι οποίες αφορούν όμως μόνον τις ο-διφαινόλες. Αφ' ενός μεν καταλύει την υδροξυλίωση των μονοφαινολών σε ο-διφαινόλες (μονο-φαινολ-οξειδάση), αφ' ετέρου καταλύει την οξείδωση των ο-διφαινολών σε κινόνες (δι-φαινολ-οξειδάση) (Σχήμα 3). Η δεύτερη αντίδραση γίνεται με πολύ μεγαλύτερη ταχύτητα από την πρώτη. Αν και ο μηχανισμός των αντιδράσεων αυτών δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως, η συμμετοχή του χαλκού θεωρείται δεδομένη.

Η **λακκάση** ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά στο δένδρο της λάκας (*Melanorrhiza* sp.) και στην συνέχεια σε πολλά είδη μυκήτων αλλά και σε φυτά, όπως η ροδακινιά. Το ένζυμο είναι μια διαλυτή γλυκοπρωτεΐνη του κυτταροπλάσματος, η οποία περιέχει χαλκό. Δεν παρεμποδίζεται από το μονοξείδιο του άνθρακα και ανάλογα με την προέλευση του, το μοριακό του βάρος ποικίλει ενώ το βέλτιστο pH μπορεί να είναι όξινο ή ουδέτερο. Η λακκάση οξειδώνει τόσο τις π-διφαινόλες όσο και τις ο-διφαινόλες προς κινόνες (Σχήμα 4).



Σχήμα 3. Η αντίδραση της πολυφαινολοξειδάσης



Σχήμα 4. Η αντίδραση της λακκάσης

Στο δεύτερο στάδιο της ενζυμικής αμαύρωσης, οι κινόνες που παράγονται, ως χημικά ασταθείς ενώσεις, και παρουσία οξυγόνου, υφίστανται χημική πλέον οξειδωση και τέλος πολυμερισμό προς κόκκινα ή καφέ-κόκκινα πολυμερή και τελικά προς μαύρες μελανίνες. Οι μελανίνες είναι υπεύθυνες για την ανεπιθύμητη αμαύρωση που παρατηρούμε στην μπανάνα, το μήλο, το ροδάκινο, την πατάτα, τα μανιτάρια. Το ίδιο ισχύει και στις γαρίδες αλλά ακόμα και στον σχηματισμό των φακίδων στους ανθρώπους. Αντίθετα, ο σχηματισμός χρώματος είναι επιθυμητός στο μαύρο τσάι, τον καφέ, τις σταφίδες, τα δαμάσκηνα αλλά και την ανθρώπινη επιδερμίδα. Οι κινόνες μπορούν να αντιδράσουν με την ε-αμινομάδα της λυσίνης πρωτεϊνικών μορίων με αποτέλεσμα την μείωση της διαλυτότητας αλλά και της διατροφικής αξίας των πρωτεϊνών.

4. Η βιολογική σημασία της πολυφαινολοξειδάσης

Η πιο παλιά μελέτη πάνω στις πολυφαινολοξειδάσες έγινε το 1895 στον μηλίτη οίνο και αργότερα στα μανιτάρια. Την εποχή εκείνη πίστευαν ότι ένζυμα, τα οποία ονομάζονταν οξυγενάσες, αντιδρούν με ο-διφαινολικές ενώσεις και παράγουν υπεροξειδίο του υδρογόνου. Αυτό, εν συνεχεία, αντιδρά με μια χρωμογόνο ένωση με αποτέλεσμα τον σχηματισμό καφέ χρωστικών. Βρέθηκαν πολλά φρούτα και λαχανικά πλούσια σε φαινολικές ενώσεις και οξυγενάσες, όπως π.χ. τα μήλα, τα ροδάκινα και οι πατάτες. Αντίθετα, άλλα φρούτα, όπως τα εσπεριδοειδή δεν έχουν τέτοιες ενώσεις. Αργότερα ο όρος οξυγενάση αντικαταστάθηκε από τον όρο πολυφαινολοξειδάση και βρέθηκε ότι ο χαλκός είναι απαραίτητος για την αντίδραση.

Ο ρόλος της πολυφαινολοξειδάσης στο ζωντανό άθικτο κύτταρο παρέμενε μέχρι πρόσφατα αδιευκρίνιστος. Σύμφωνα με παλιότερες μελέτες, η πολυφαινολοξειδάση ήταν η τελευταία οξειδάση της αναπνοής ή κατ' άλλους συμμετείχε στην βιοσύνθεση της λιγνίνης. Πιο πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η πολυφαινολοξειδάση βρίσκεται μόνο σε πλαστίδια (π.χ. χλωροπλάστες ή άλλα) του φυτικού κυττάρου. Το μεγαλύτερο μέρος του ενζύμου είναι προσδεδεμένο σε αδρανή μορφή με την θυλακοειδή μεμβράνη των χλωροπλάστων, στην οποία ως γνωστόν λαμβάνει χώρα και η φωτοσύνθεση. Σε αυτήν την μορφή η πολυφαινολοξειδάση έχει πολύ χαμηλή ενεργότητα έναντι των φαινολικών ενώσεων που βρίσκονται απομονωμένα στα κενοτόπια (χυμοτόπια).

Καθώς όμως το ένζυμο ενεργοποιείται όταν το κύτταρο αρχίζει να καταστρέφεται, προφανώς η πολυφαινολοξειδάση παίζει έναν προστατευτικό ρόλο. Όταν το φυτό προσβληθεί από ιούς, βακτήρια, ζύμες ή υποστεί μηχανική βλάβη, τότε η πολυφαινολοξειδάση έρχεται σε επαφή με τις φαινολικές ενώσεις των κενοτοπίων και δρα σχηματίζοντας ένα φράγμα από αδιάλυτο πολυμερές (μελανίνες), το οποίο προστατεύει το φυτό από την εξάπλωση της προσβολής. Επίσης, καθώς το ένζυμο έχει βρεθεί στις ρίζες φυτών, ενδεχομένως να παίζει ρόλο και στο σχηματισμό και την ανάπτυξη των ριζών.

5. Μέθοδοι ελέγχου της ενζυμικής αμαύρωσης

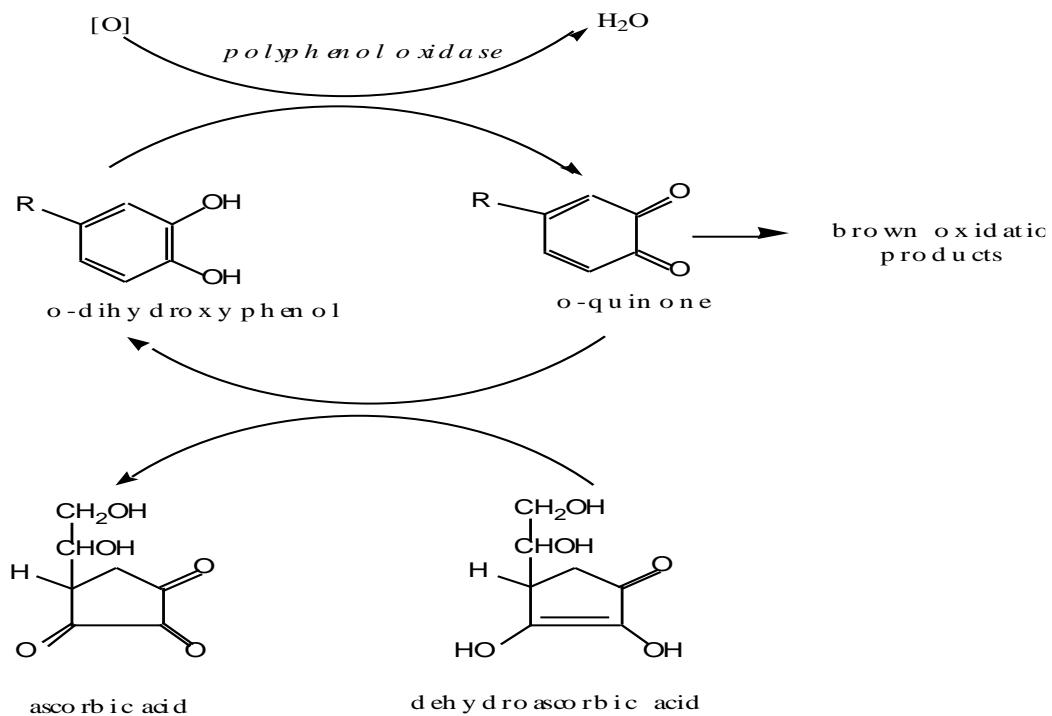
Έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι έλεγχου της πολυφαινολοξειδάσης αλλά μερικές μόνο από αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα τρόφιμα. Η παρεμπόδιση του ενζύμου μπορεί να γίνει με αποκλεισμό του οξυγόνου, μετουσίωση του ενζύμου, συμπλοκοποίηση του χαλκού και δέσμευση των φαινολικών υποστρωμάτων ή των κινονών.

Ο αποκλεισμός του οξυγόνου είναι η πιο απλή μέθοδος. Το μειονέκτημα είναι ότι η αντίδραση θα ξεκινήσει και πάλι μόλις το φυτό επανεκτεθεί στο οξυγόνο. Στην περίπτωση καταψυγμένων προϊόντων χρησιμοποιείται το ασκορβικό οξύ για την δέσμευση του οξυγόνου. Η μετουσίωση του ενζύμου και η επακόλουθη απενεργοποίηση του επιτυγχάνεται με θέρμανση, η οποία όμως δεν πρέπει να επηρεάζει το φρούτο ή το λαχανικό γενικότερα, δηλαδή το άρωμα, την γεύση και την δομή. Η διαδικασία αυτή εξαρτάται από τον χρόνο και το pH. Η βέλτιστη θερμοκρασία της πολυφαινολοξειδάσης ποικίλει ανάλογα με το φυτό και ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα.

Η εφαρμογή της θέρμανσης γίνεται είτε με την επίδραση ζεστού νερού είτε με μικροκύματα. Στην πρώτη περίπτωση έχουμε απώλειες σε υδατοδιαλυτά συστατικά του φυτού. Το μειονέκτημα είναι η αργή θέρμανση του πυρήνα του καρπού καθώς η θερμότητα διαβιβάζεται με μικρή ταχύτητα. Η δεύτερη μέθοδος δεν εφαρμόζεται πολύ αλλά έχειδειχθεί ότι λαμβάνει χώρα πιο γρήγορη απενεργοποίηση των ενζύμων από ό,τι με το ζεστό νερό χωρίς ταυτόχρονα να έχουμε επίδραση στην δομή του φυτού.

Ένας άλλος τρόπος έλεγχου της πολυφαινολοξειδάσης είναι η ρύθμιση του pH. Αυτό μπορεί να γίνει με οξέα, τα οποία συναντώνται στα φυτά, όπως το κιτρικό, το μηλικό, το φωσφορικό και το ασκορβικό. Οι πιο πολλές πολυφαινολοξειδάσες έχουν βέλτιστο pH μεταξύ 4 και 7, και πολύ μικρή ενεργότητα κάτω από 3. Το pH δεν επηρεάζει μόνο την ενζυμική αντίδραση που καταλύει η πολυφαινολοξειδάση αλλά και τον επακόλουθο πολυμερισμό των κινονών σε μελανίνες. Ο πολυμερισμός είναι μια καθαρά χημική αντίδραση και είναι ταχύτερος σε τιμές pH 6-7 ενώ προχωρά με πολύ μικρή ταχύτητα σε pH κάτω από 5.

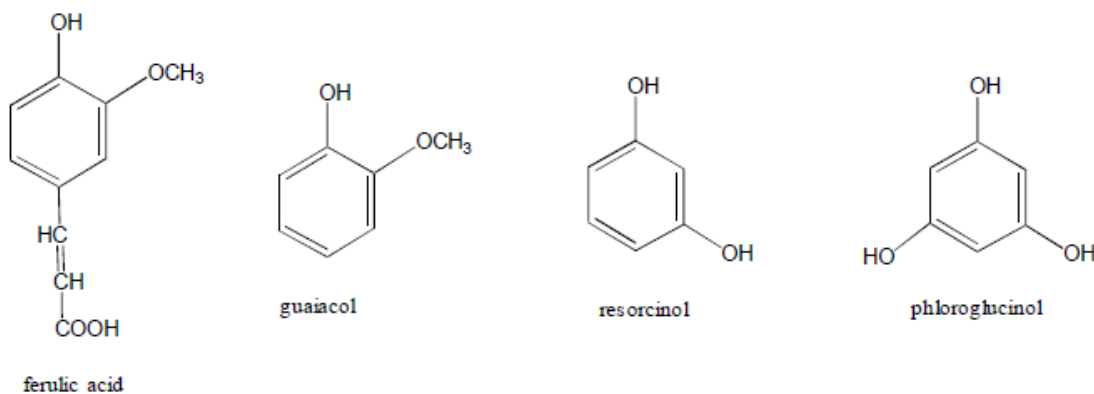
Το ασκορβικό οξύ θεωρείται ένας πολύ αποτελεσματικός αναστολέας της πολυφαινολοξειδάσης. Είναι δραστικό σε χαμηλές συγκεντρώσεις και έτσι δεν επηρεάζει το άρωμα του φρούτου ούτε προσβάλλει την μεταλλική συσκευασία. Ο μηχανισμός δράσης του φαίνεται στο Σχήμα 5. Οι κινόνες στην ουσία μετατρέπονται και πάλι στις μητρικές διυδροξυφαινόλες. Ο μηχανισμός δράσης του ασκορβικού οξέος επί του ενζύμου είναι μάλλον ασαφής. Έχουν προταθεί διάφοροι τρόποι. Άλλοι υποστηρίζουν ότι το προϊόν της αντίδρασης, παρουσία του ασκορβικού οξέος, αντιδρά ομοιοπολικά με το ένζυμο. Άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η παρεμπόδιση οφείλεται στην αναγωγή του χαλκού παρουσία του ασκορβικού οξέος. Η ποσότητα του ασκορβικού οξέος που πρέπει να προστεθεί προκειμένου να ανασταλεί η ενζυμική αμαύρωση πρέπει να είναι επαρκής ώστε να δεσμευθεί όλο το οξυγόνο.



Σχήμα 5. Αναγωγή του ασκορβικού οξέος από τα πρωτογενή προϊόντα οξείδωσης της ενζυμικής αμαύρωσης

Ως παρεμποδιστές της πολυφαινολοξειδάσης μπορούν να δράσουν και κάποιες ενώσεις του θείου, όπως το διοξείδιο του θείου και τα θειώδη άλατα. Οι αναστολείς αυτοί είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι στις περιπτώσεις εκείνες που η θέρμανση επηρεάζει αρνητικά την δομή και το άρωμα του προϊόντος. Ταυτόχρονα έχουν αντισηπτικές ιδιότητες και δεν καταστρέφουν την βιταμίνη C. Τα μειονεκτήματά τους είναι η οσμή τους, η λεύκανση των φυσικών χρωστικών του προϊόντος που προκαλούν και ενδεχομένως η διάβρωση της μεταλλικής συσκευασίας. Επίσης τα θειώδη άλατα είναι τοξικά σε συγκεντρώσεις πάνω από 0.01 M και παράλληλα καταστρέφουν την βιταμίνη B1. Τέλος, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις αλλεργικής αντίδρασης στις θειούχες ενώσεις με εκδήλωση άσθματος. Παρ' όλ' αυτά χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω του χαμηλού κόστους και της αποτελεσματικότητάς τους παρά τις συζητήσεις που γίνονται τα τελευταία χρόνια για την ασφάλειά τους. Ο μηχανισμός δράσης τους αφορά είτε απ' ευθείας το ένζυμο, αφού οι ενώσεις αυτές αντιδρούν με τους δισουλφιδικούς δεσμούς του ενζύμου και το απενεργοποιούν, είτε με τα προϊόντα της αντίδρασης, δηλαδή τις κινόνες, με τις οποίες αντιδρούν και σχηματίζουν άχρωμα προϊόντα προσθήκης.

Υπάρχουν ενώσεις, οι οποίες μοιάζουν δομικά με τις ο-διφαινόλες, αλλά δεν μπορούν να λειτουργήσουν ως υποστρώματα της πολυφαινολοξειδάσης. Τέτοιες ενώσεις είναι τα μεθυλιωμένα φαινολικά παράγωγα, όπως το φερουλικό οξύ καθώς και οι μ-διφαινόλες (Σχήμα 6). Οι ενώσεις αυτές δρουν ως συναγωνιστικοί αναστολείς του ένζυμου.



Σχήμα 6. Παρεμποδιστές της πολυφαινολοξειδάσης

Καθώς η πολυφαινολοξειδάση είναι μεταλλοένζυμο χαλκού παρεμποδίζεται από διάφορα χημικά αντιδραστήρια όπως το διαιθυλο-διθειο-καρβαμικό νάτριο (DIECA) και το αιθυλο-ξανθικό κάλιο αλλά και το αζίδιο του νατρίου και το αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ (EDTA). Οι δύο τελευταίες ενώσεις είναι λιγότερο εξειδικευμένες από τις δύο πρώτες. Επί πλέον, το διαιθυλο-διθειο-καρβαμικό νάτριο (DIECA) και το αιθυλο-ξανθικό κάλιο, εκτός από την συμπλοκοποίηση του χαλκού του ενζύμου, παρεμποδίζουν και τον επακόλουθο χημικό πολυμερισμό δεσμεύοντας τις κινόνες που παράγονται από την πολυφαινολοξειδάση. Τέλος, ένας άλλος αναστολέας του ενζύμου είναι η κυστεΐνη, η οποία δρα είτε ως αναγωγικό αντιδραστήριο είτε δεσμεύοντας τις κινόνες αλλά η χρήση της στα τρόφιμα είναι οικονομικά ασύμφορη.

6. Η παρασκευή του τσαγιού

Το τσάι είναι το ρόφημα με την μεγαλύτερη κατανάλωση στον κόσμο. Παρασκευάζεται από τα φύλλα του φυτού *Camellia sinensis*. Πολλά από τα χαρακτηριστικά του σχετίζονται με την παρουσία ταννινών (πολυφαινολών) σε αυτό. Η παραγωγή μαύρου τσαγιού εξαρτάται από τις οξειδωτικές αλλαγές των πολυφαινολών των φύλλων του κατά την επεξεργασία. Οι αλλαγές αυτές είναι πολύ σημαντικές τόσο για το τελικό χρώμα όσο και για την μείωση της πικρής και στυφής γεύσης, η οποία οφείλεται στις μη οξειδωμένες ταννίνες. Τα φρέσκα φύλλα του φυτού περιέχουν πολυφαινόλες σε ποσοστό 40% επί του ξηρού βάρους. Οι κυριότερες πολυφαινόλες του τσαγιού είναι η κατεχίνη, η επικατεχίνη, η γαλλοκατεχίνη, η επιγαλλοκατεχίνη, η γαλλική

οξειδωση των ταννινών του τσαγιού οδηγεί στον σχηματισμό φλαβινών, οι οποίες είναι υπεύθυνες για το κοκκινωπό χρώμα, αλλά και επιτεϊοφλαβικών οξέων, τα οποία ευθύνονται για το μαύρο χρώμα του τσαγιού.

Η παραγωγή του τσαγιού γίνεται σε τέσσερα στάδια. Στο πρώτο στάδιο οι βλαστοί του φυτού αφήνονται να μαραθούν. Εν συνεχεία, σπάει μηχανικά ο φυτικός ιστός και καταστρέφεται η κυτταρική δομή, δημιουργώντας έτσι τις κατάλληλες συνθήκες για τις οξειδωτικές διαδικασίες. Το επόμενο στάδιο είναι η «ζύμωση» σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, σε υγρή ατμόσφαιρα και με παροχή οξυγόνου. Οι συνθήκες αυτές είναι κατάλληλες για την δράση της πολυφαινολοξειδάσης στις πολυφαινόλες/ταννίνες του τσαγιού, με αποτέλεσμα τόσο την μείωση της στυφής γεύσης όσο και την μετατροπή του πράσινου χρώματος των φύλλων σε χαλκοκόκκινο και καφέ. Όταν επιτευχθεί ο επιθυμητός βαθμός οξειδωσης, η «ζύμωση» διακόπτεται με την ξήρανση των φύλλων στους 90-95°C και την μείωση της υγρασίας στο 3-4%.

Η κρίσιμη βιοχημική διεργασία κατά την «ζύμωση» είναι η οξειδωση των κατεχινών προς ο-κινόνες από την πολυφαινολοξειδάση. Οι κινόνες αυτές είναι ενδιάμεσα προϊόντα, τα οποία υφίστανται περαιτέρω οξειδωση με παραγωγή της τεϊοφλαβίνης και της γαλλικής τεϊοφλαβίνης που δίνουν το κιτρινοπορτοκαλί χρώμα στο τσάι. Οι ενώσεις αυτές ονομάζονται και τεϊορουβιγίνες.

Το πράσινο τσάι είναι ιδιαίτερα δημοφιλές στις χώρες της Ανατολής, όπως η Ιαπωνία και η Κίνα. Είναι τσάι, το οποίο δεν έχει υποστεί ζύμωση, έχει φωτεινό χρώμα και χαρακτηριστικό βαθμό στυπτικότητας. Αυτό επιτυγχάνεται με θέρμανση (ζεμάτισμα) κατά τα πρώτα στάδια της παραγωγής, όπου και παρεμποδίζεται η δράση της πολυφαινολοξειδάσης και άρα η οξειδωση των πολυφαινολών. Τέλος, το κόκκινο και το κίτρινο τσάι είναι ενδιάμεσα προϊόντα περιορισμένης ζύμωσης.

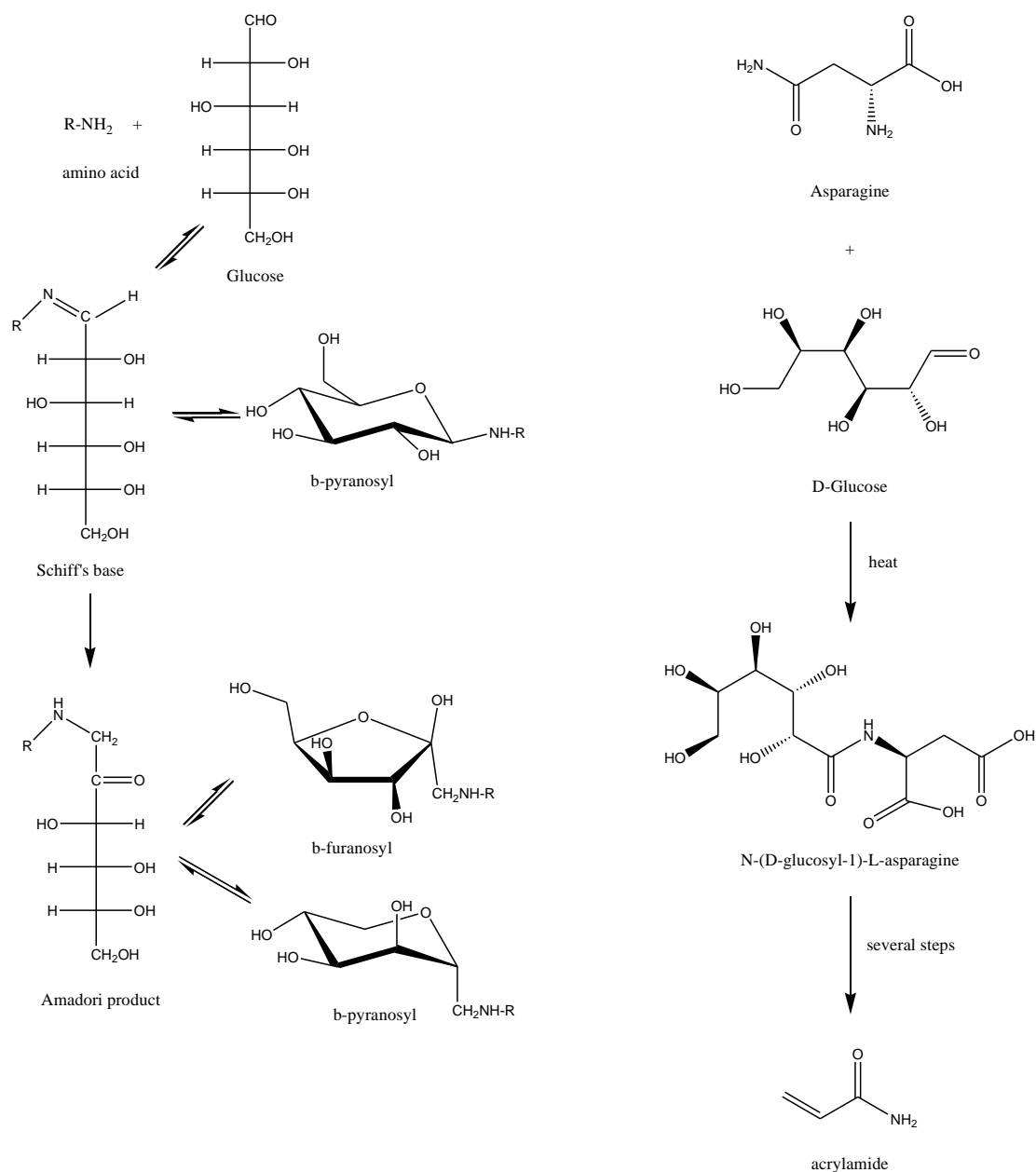
7. Η αντίδραση Maillard

Η αντίδραση Maillard περιλαμβάνει ένα μεγάλο εύρος πολύπλοκων μετατροπών, οι οποίες οδηγούν στον σχηματισμό ενός μεγάλου αριθμού πτητικών και μη πτητικών ενώσεων. Μπορεί να χωρισθεί σε τρεις κύριες φάσεις.

Στην πρώτη φάση λαμβάνει χώρα η συμπύκωση πρωτοταγών αμινομάδων πρωτεϊνών, πεπτιδίων και αμινοξέων με καρβονυλικές ομάδες αναγόντων σακχάρων. Κατά την συμπύκνωση αυτή χάνεται ένα μόρια νερού και μέσω σχηματισμού βάσεως του Schiff παράγεται το προϊόν Amadori (1-αμινο-1-δεοξυ-2-κετόζη), το οποίο είναι σχετικά σταθερό. Amadori ονομάζεται το προϊόν όταν το αρχικό ανάγον σάκχαρο είναι μια αλδόζη (Σχήμα 7). Στην περίπτωση που η αντίδραση ξεκινά με μια κετόζη τότε το τελικό προϊόν ονομάζεται ένωση Heyns.

Σε πολλά τρόφιμα, η πρωτοταγής αμινομάδα είναι κυρίως η ε-αμινομάδα της λυσίνης (απαραίτητο αμινοξύ) με αποτέλεσμα να μειώνεται η βιοδιαθεσιμότητα της και άρα η

διατροφική αξία της πρωτεΐνης. Τα προϊόντα Amadori αποτελούν πρόδρομες ενώσεις για τον σχηματισμό χαρακτηριστικού αρώματος, γεύσης αλλά και καστανών πολυμερών. Καθώς τα προϊόντα Amadori σχηματίζονται πριν γίνουν αντιληπτές οι οργανοληπτικές μεταβολές στο τρόφιμο, ο προσδιορισμός τους μπορεί να αποτελέσει έναν ευαίσθητο δείκτη ανίχνευσης των επερχόμενων μεταβολών.



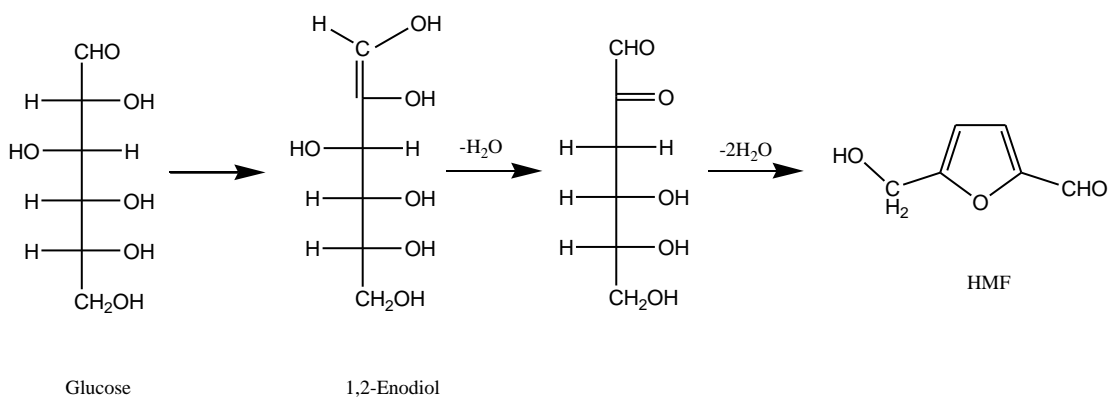
Σχήμα 7. Τα αρχικά στάδια της αντίδρασης Maillard και ο σχηματισμός του ακρυλαμιδίου

Στην δεύτερη φάση, τα προϊόντα Amadori αποικοδομούνται και σχηματίζονται ενεργές ενδιάμεσες ενώσεις, όπως η 3-δεοξυ-γλυκοζόνη, και πτητικές ενώσεις (σχηματισμός αρώματος). Η 3-δεοξυ-γλυκοζόνη συμμετέχει στην διασταύρωση (cros-linking) πρωτεϊνών με μεγαλύτερες ταχύτητες από την γλυκόζη, ενώ η περαιτέρω αποικοδόμηση της οδηγεί στον σχηματισμό ενώσεων όπως η 5-υδροξυμεθυλο-2-φουραλδεΐδη και η πυρραλίνη.

Η τρίτη φάση περιλαμβάνει τον σχηματισμό αζωτούχων καστανών πολυμερών που ονομάζονται μελανοΐδινες, των οποίων η δομή είναι σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστη. Κατά μία εκδοχή είναι πολυμερή που αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες ομάδες φουρανίων ή πυρρολών, οι οποίες σχηματίζονται στα τελευταία στάδια της αντίδρασης Maillard.

Η ταχύτητα της αντίδρασης Maillard εξαρτάται από την χημική σύσταση του τροφίμου, την ενεργότητα του νερού (a_w), το pH και φυσικά την θερμοκρασία. Καθώς τα τρόφιμα είναι εξαιρετικά πολύπλοκα συστήματα, κινητικές μελέτες πάνω στην αντίδραση Maillard έχουν γίνει σε συστήματα-μοντέλα προσομοίωσης τροφίμων. Σύμφωνα με αυτά, φαίνεται ότι οι πεντόζες αντιδρούν ταχύτερα από τις εξόζες και αυτές με την σειρά τους από τους δισακχαρίτες, ενώ η ε-αμινομάδα της λυσίνης αντιδρά ταχύτερα από τις υπόλοιπες αμινομάδες. Η ταχύτητα μειώνεται αυξανόμενης της ενεργότητας του νερού αλλά αυξάνει με την αύξηση του pH ή της θερμοκρασίας.

Στην επεξεργασία τροφίμων η αντίδραση Maillard μπορεί να έχει επιθυμητά ή ανεπιθύμητα αποτελέσματα. Σε διεργασίες, όπως το ψήσιμο ή το τηγάνισμα, η αντίδραση Maillard αποτελεί την βάση για την ανάπτυξη αρώματος, γεύσης και χρώματος. Σε άλλες περιπτώσεις όμως, όπως η παστερίωση, η αποστείρωση ή η ξήρανση, προκαλεί ανεπιθύμητες διατροφικές μεταβολές, π.χ. μείωση διατροφικής αξίας πρωτεϊνών. Ένα άλλο ανεπιθύμητο αποτέλεσμα είναι ο σχηματισμός καρκινογόνων ετεροκυκλικών αμινών και του καρκινογόνου ακρυλαμιδίου (Σχήμα 7), αν και σε κάποια προϊόντα της αντίδρασης Maillard αποδίδονται ευεργετικές σε σχέση με την υγεία του ανθρώπου δράσεις, π.χ. αντιοξειδωτικές, αντικαρκινογόνες και αντιμικροβιακές.



Σχήμα 8. Ενολοποίηση 1,2 και σχηματισμός της υδροξυμεθυλο-φουρφουράλης

Κατά την διάρκεια της μη ενζυμικής αμαύρωσης στα τρόφιμα, σχηματίζονται και προϊόντα που προέρχονται από την καραμελοποίηση των υδατανθράκων, χωρίς την συμμετοχή αμινομάδων. Η καραμελοποίηση λαμβάνει χώρα κάτω από όξινες αλλά και αλκαλικές συνθήκες. Ξεκινά με άνοιγμα του ημιακεταλικού δακτυλίου αναγόντων υδατανθράκων και ακολουθεί ενολοποίηση και σχηματισμός ισομερών υδατανθράκων. Σε όξινο περιβάλλον, σχηματίζονται χαμηλές συγκεντρώσεις ισομερών αλλά ευνοείται η αφυδάτωση που οδηγεί στην παραγωγή φουραλδεϋδών, όπως η 5-υδροξυμεθυλο-2-φουραλδεϋδη (HMF) από τις εξόζες και η 2-φουραλδεϋδη από τις πεντόζες (Σχήμα 8). Σε αλκαλικό περιβάλλον, οι αντιδράσεις αφυδάτωσης είναι αργές αλλά παρατηρείται αποικοδόμηση προς προϊόντα, όπως η ακετόνη, η ακετοΐνη και το διακετύλιο. Παρουσία οξυγόνου σχηματίζονται οργανικά οξέα, όπως το φορμικό και το οξικό. Η καραμελοποίηση ευνοείται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 120°C και σε pH μεγαλύτερο του 9 και μικρότερο του 3, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν μπορεί να λάβει χώρα και εκτός των συνθηκών αυτών, έστω και σε μικρότερο βαθμό.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alais C. & G. Linden (1991) Food Biochemistry, Ellis Horwood Ltd., UK
2. Αλεξάνδρου Ν.Ε. & Α.Γ. Βάρβογλης (1977) Μαθήματα Οργανικής Χημείας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη
3. Berg M.J., J.L. Tymoczko, G.J. Gato & L. Stryer (2021) Βιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης
4. Brody T. (1998) Nutritional Biochemistry, Academic Press Inc., UK
5. Day P.M. & J.B. Harborne (1997) Plant Biochemistry, Academic Press Inc., SD, USA
6. Eskin M.N.A. (1990) Biochemistry of Foods, Academic Press Inc., UK
7. Fennema O.R. (1996) Food Chemistry, Marcel Dekker Inc., NY
8. Hui Y.H. (2006) Food Biochemistry and Food Processing, Blackwell Publishing, Iowa, USA
9. Kotzekidou P. & E. Tsakalidou (2006) Fermentation Biotechnology of Plant Based Traditional Foods of the Middle East and Mediterranean Region. In: Food Biotechnology. 2nd Edition, pp. 1795-1828. K. Shetty, G. Paliyath, A. Pometto, R.E. Levin, Eds., Taylor & Francis, NY
10. Tsakalidou E. & P. Kotzekidou (2006) Fermentation Biotechnology of Animal Based Traditional Foods of the Middle East and Mediterranean Region. In: Food Biotechnology. 2nd Edition, pp. 1829-1872. K. Shetty, G. Paliyath, A. Pometto, R.E. Levin, Eds., Taylor & Francis, NY