



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS

Βιοχημεία Τροφίμων I

Ενότητα 5^η
Γάλα II

Όνομα καθηγητή: Έφη Τσακαλίδου

Τμήμα: Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ





Στόχοι ενότητας

- Κατανόηση της δομής των πρωτεϊνών του γάλακτος
- Κατανόηση της δομής των μικκυλίων
- Κατανόηση της αποικοδόμησης των πρωτεϊνών του γάλακτος
- Κατανόηση της αποικοδόμησης ελεύθερων αμινοξέων
- Κατανόηση της δομής και της λειτουργικότητας βιοενεργών πεπτιδίων και βιογενών αμινών



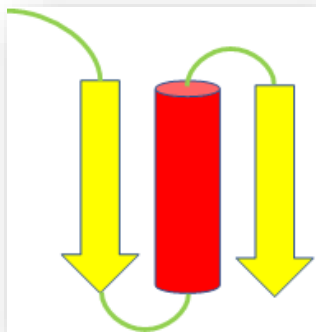
Λέξεις - κλειδιά

- Λέξεις κλειδιά: Μικκύλια, Πρωτεΐνες Ορρού, Πυτιά, Ένζυμα, Καταβολισμός Αμινοξέων, Βιοενεργά Πεπτίδια, Βιογενείς Αμίνες
- Key words: Micelles, Whey Proteins, Rennet, Enzymes, Amino Acid Degradation, Bioactive Peptides, Biogenic Amines

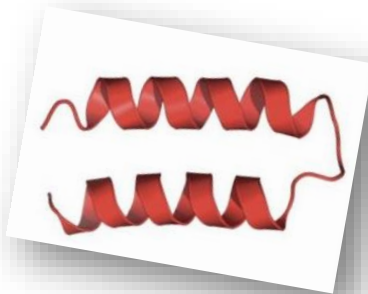


Δομή πρωτεϊνών γάλακτος (α)

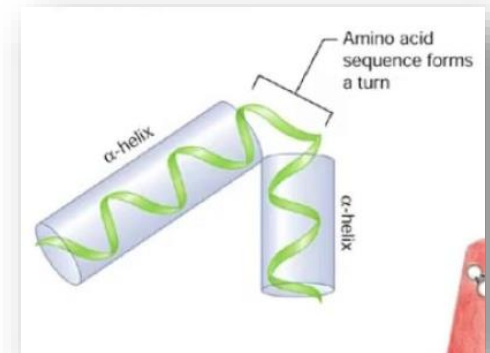
- η πρωτοταγής δομή των κύριων πρωτεϊνών: γνωστή.
- η τριτοταγής δομή των πρωτεϊνών του ορρού: γνωστή.
- η τριτοταγής δομή των καζεϊνών: άγνωστη
- Υπερ-δευτεροταγής δομή καζεϊνών (μοτίβα):



β-α-β



α-έλικα – φουρκέτα – α-έλικα

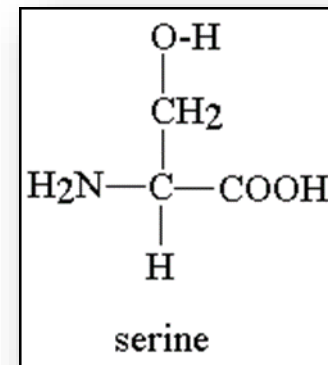


στροφή – α-έλικα – στροφή



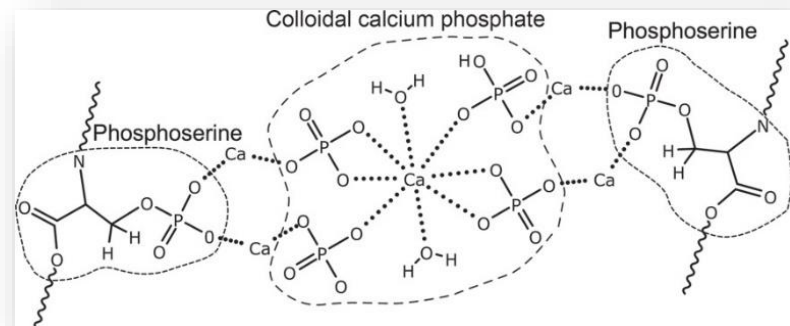
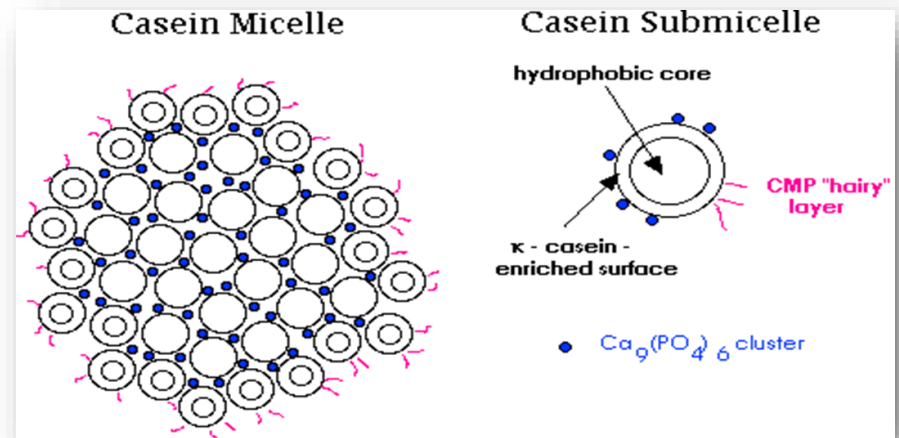
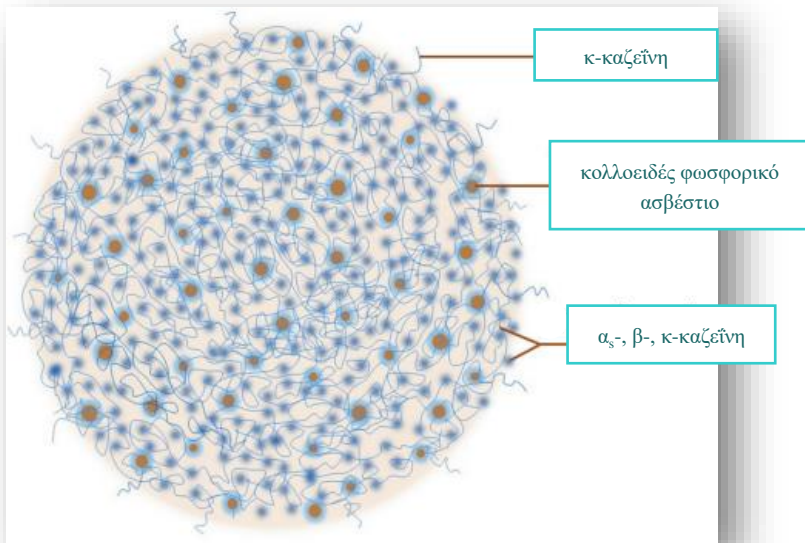
Δομή πρωτεϊνών γάλακτος (β)

- μετα-μεταφραστική φωσφορυλίωση σε μόρια Ser (ανιονικές περιοχές):
 - α_{s1} -καζεΐνη: 8 **Ser** – **P**.
 - α_{s2} -καζεΐνη: 11 **Ser** – **P**.
 - β -καζεΐνη: 5 **Ser** – **P**.
 - κ -καζεΐνη: 1 **Ser** – **P**.
- πρόσδεση Ca^{++} στις ανιονικές περιοχές.
- εξουδετέρωση του αρνητικού φορτίου.
- ανατροπή ισορροπίας ηλεκτροστατικών & υδρόφοβων αλληλοεπιδράσεων.
- α_{s1} -, α_{s2} - και β - μειωμένη διαλυτότητα.
- κ -καζεΐνη παραμένει εν διαλύσει.





Σχηματική αναπαράσταση καζεϊνικών μικκυλίων





Μικκύλια (α)

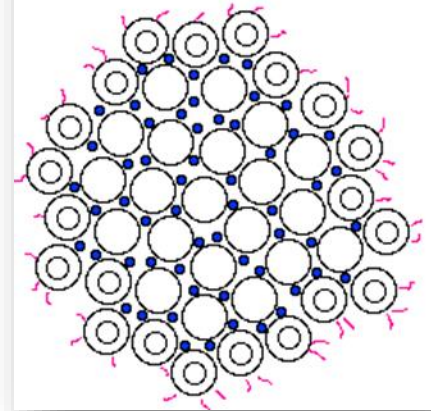
- ενυδατωμένα σύμπλοκα καζεϊνών - φωσφορικού Ca^{++}
- Διάμετρος \varnothing 30-300 nm (κάποια μέχρι και 600 nm).
- Μέσο βάρος ενός μικκυλίου: 105 kDa.
- Κάθε μικκύλιο περίπου 5.000 μόρια καζεΐνης.
- Από συνένωση υπο-μικκυλίων \varnothing 10-20 nm.
- 92% πρωτεΐνη:
 - $\alpha_{s1} : \alpha_{s2} : \beta : \kappa = (3 : 1 : 3 : 1)$.
- 8% άλατα:
 - φωσφορικό ασβέστιο, άλατα μαγνησίου, κιτρικά άλατα
 - επηρεάζουν την συμπεριφορά του γάλακτος & προϊόντων κατά την διάρκεια της επεξεργασίας και αποθήκευσης.



Μικκύλια (β)

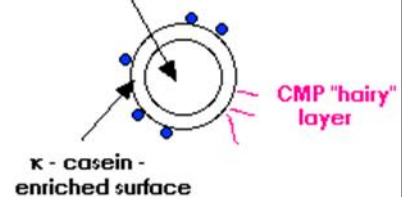
- πορώδης, σπογγώδης δομή.
- υψηλός βαθμός ενυδάτωσης:
 - (3.7g H₂O / g καζεΐνης).
 - κατά μια τάξη μεγέθους μεγαλύτερος του αντίστοιχου των τυπικών σφαιρικών πρωτεϊνών.
- Τα συστατικά των μικκυλίων σε θερμοδυναμική αλλά αργή ισορροπία με τον ορό του γάλακτος.
- κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, οι ποσότητες των καζεϊνών στον ορό εξαιρετικά χαμηλές.

Casein Micelle



Casein Submicelle

hydrophobic core

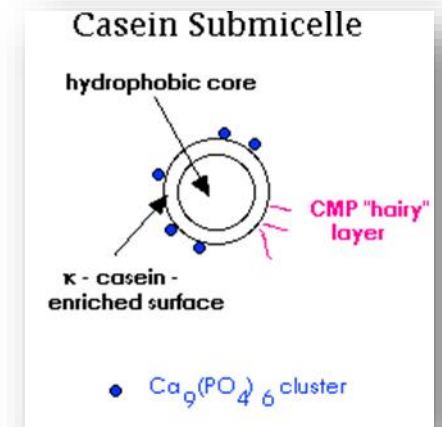
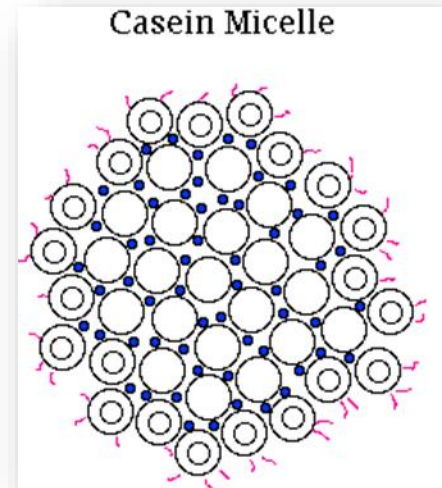


● Ca₉(PO₄)₆ cluster



Μικκύλια (γ)

- πειραματικές ενδείξεις:
 - στην εξωτερική επιφάνεια κυρίως κ-καζεΐνη.
 - στο εσωτερικό κυρίως α_s - και β -καζεΐνες.
 - α_s - και β -καζεΐνες προσεγγίζουν την επιφάνεια.
- επιφάνεια των μικκυλίων:
 - «τριχώδες» στρώμα (γλυκοζυλιωμένη Thr133)
 - πολική περιοχή της κ-καζεΐνης (Ser149).
 - ευλύγιστο, έντονα ενυδατωμένο πολικό πολυπεπτίδιο που σταθεροποιεί το μικκύλιο.
 - Η απομάκρυνση πεπτιδίου οδηγεί σε αποσταθεροποίηση επιφάνειας και συνένωση μικκυλίων.





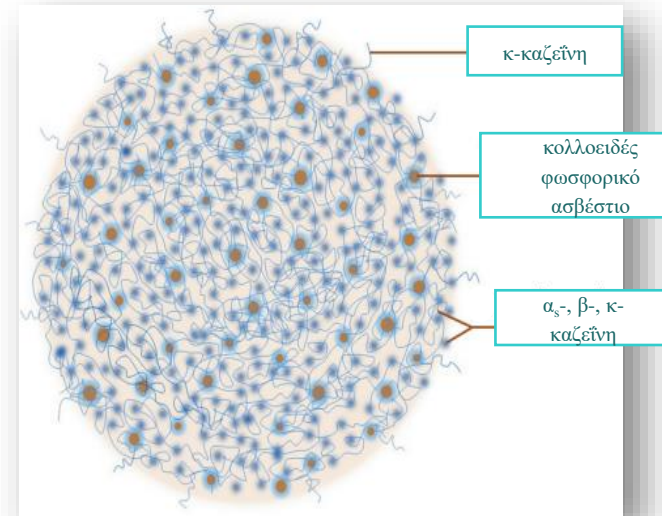
Μικκύλια (δ)

- Δεν σχηματίζουν σταθερά συσσωματώματα όταν πλησιάσουν πολύ κοντά μεταξύ τους.
- Ίζημα μικκυλίων που σχηματίζεται με καταβύθιση επαναδιασπείρεται αυθόρμητα.
- Η επιφάνεια των μικκυλίων είναι αδρανής,
 - πράγμα που ερμηνεύει την ικανοποιητική σταθερότητα τους,
 - στη διάρκεια των περισσότερων επεξεργασιών που υφίσταται το γάλα.
- Μπορούν να ανασυσταθούν από αφυδατωμένο γάλα χωρίς μεγάλες μεταβολές στις ιδιότητες τους.



Μικκύλια (ε)

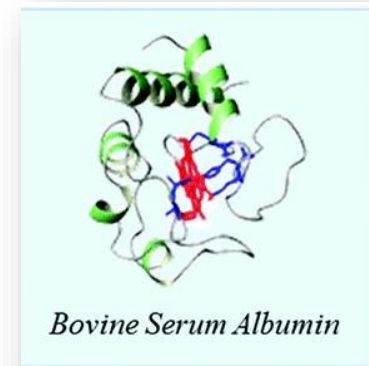
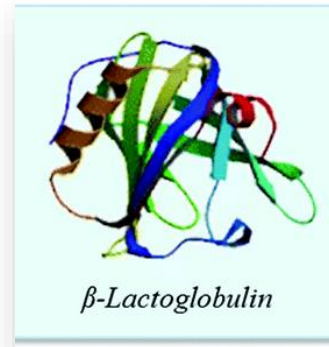
- Σε θερμοκρασίες ψύξης αποσταθεροποιούνται μερικώς λόγω της τοπικής αύξησης της συγκέντρωσης του Ca^{2+} .
- Σε υψηλές θερμοκρασίες (π.χ. στους 140°C):
 - τα μικκύλια αρχικά σπάνε,
 - μετά συσσωματώνονται,
 - και τέλος δημιουργείται ίζημα.
- Δεν επηρεάζονται από την ομογενοποίηση,
 - είτε υπό συνήθη πίεση (περίπου 20 MPa),
 - είτε υπό υψηλές πιέσεις (μέχρι 200 MPa).
- Το μέγεθος τους αυξάνει
 - σε πιέσεις γύρω στα 250 Mpa.
- Το μέγεθος τους μειώνεται (κατά 50%)
 - σε πιέσεις > 400 Mpa





Πρωτεΐνες του ορού

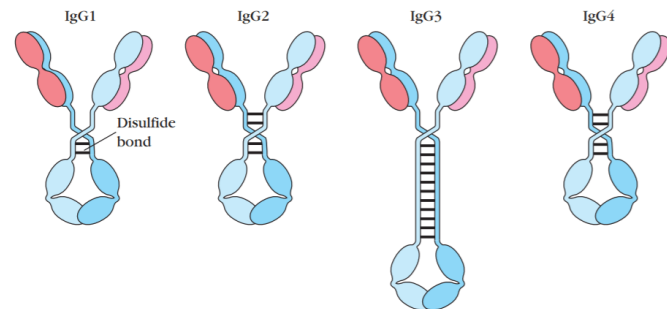
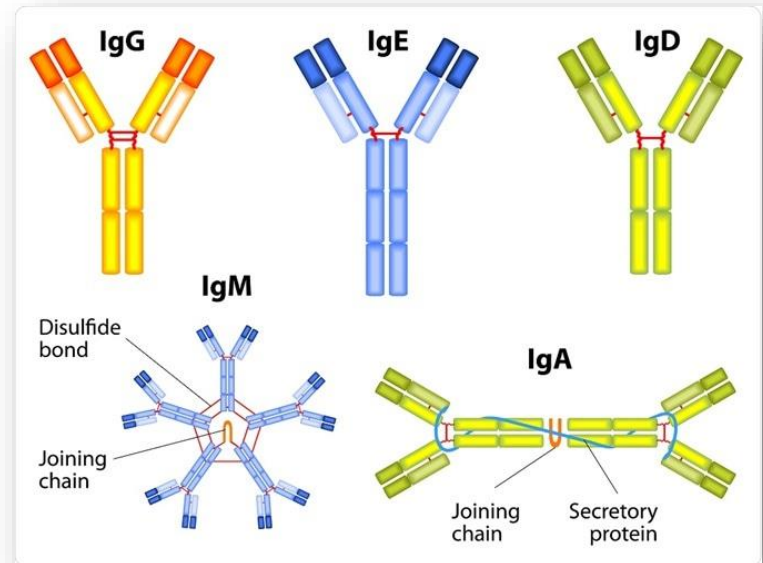
- β-λακτογλοβουλίνη (M.B. 18,4 kDa).
- α-λακταλβουμίνη (M.B. 14,2 kDa).
- αλβουμίνη του ορού (M.B. 66 kDa) (BSA, bovine serum albumin).
 - υπεύθυνη για τη μεταφορά των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο αίμα.
 - λόγω της χαμηλής της συγκέντρωσης (1-2%) θεωρείται ότι δεν έχει τεχνολογική σημασία.
- Ανοσοπρωτεΐνες





Ανοσοπρωτεΐνες του ορού (α)

- συγκέντρωση στο πρωτόγαλα υψηλή (περίπου 10%).
- μειώνεται σταδιακά 5 ημέρες μετά την γέννηση του νεογνού στο 0,1%.
- στα **μηρυκαστικά** ζώα IgG1, IgG2, IgA & IgM.
- στα **μονογαστρικά** ζώα (και άρα στον άνθρωπο) η IgA





Ανοσοπρωτεΐνες του ορού (β)

- Τα μηρυκαστικά δεν μεταφέρουν ανοσοπρωτεΐνες στο έμβρυο στη μήτρα,
 - Άρα αυτό γεννιέται χωρίς αντισώματα και επομένως είναι ευαίσθητο σε μολύνσεις.
 - τις πρώτες ημέρες μετά την γέννηση απορροφά ανοσοπρωτεΐνες από το έντερο και λίγες εβδομάδες μετά είναι σε θέση να συνθέσει τις δικές του.
- στον άνθρωπο η μεταφορά ανοσοπρωτεϊνών γίνεται ήδη από το στάδιο που το έμβρυο είναι ακόμη στη μήτρα.



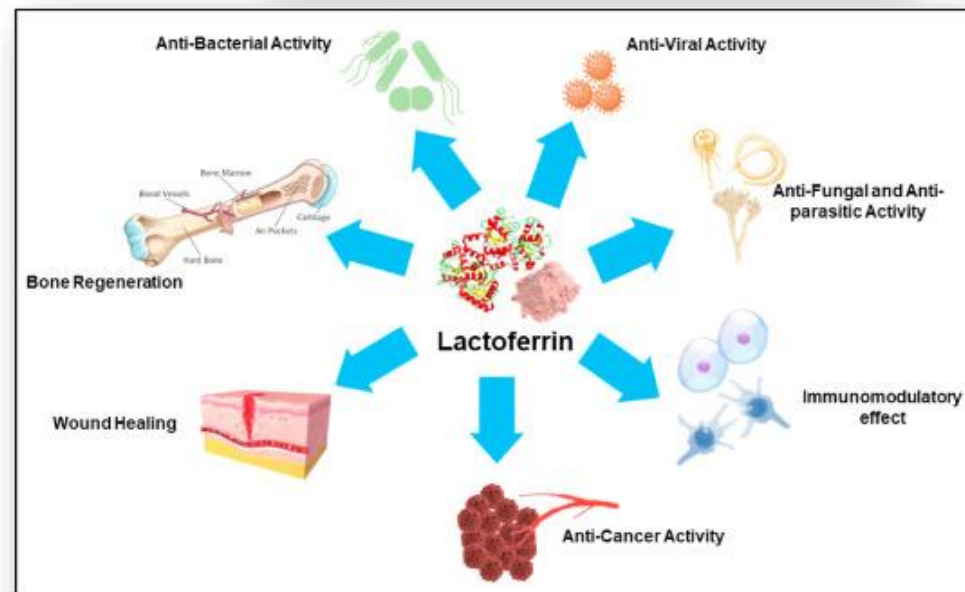
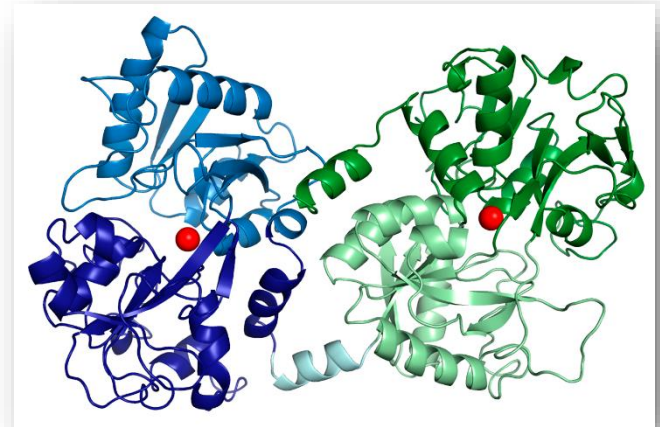
Μεταλλοπρωτεΐνες

- Καζεΐνες (Ca, Mg, PO₄): ποσοτικά οι πιο σημαντικές
- Άλλες
 - α-λακταλβουμίνη (Ca),
 - οξειδάση της ξανθίνης (Fe, Mo),
 - αλακαλική φωσφατάση (Zn, Mg),
 - λακτοπεροξειδάση (Fe),
 - καταλάση (Fe),
 - υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (Se),
 - σεροφερρίνη (Fe),
 - **λακτοφερρίνη (Fe).**



Λακτοφερρίνη (α)

- Η λακτοφερρίνη
 - γλυκοπρωτεΐνη.
 - περιέχει μη αιμικό σίδηρο.
 - απαντάται σε διάφορα υγρά του σώματος, όπως το σάλιο, τα δάκρυα, ο ιδρώτας και το σπέρμα.
- Βιολογικές δράσεις:
 - βελτίωση βιοδιαθεσιμότητας Fe.
 - βακτηριοστατική,
 - αντιοξειδωτική,
 - αντιϊική,
 - αντικαρκινογόνος,
 - αντιφλεγμονώδης
 - ανοσορυθμιστική.





Λακτοφερρίνη (β)

- Το ανθρώπινο γάλα πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις λακτοφερρίνης (αποτελεί το 20% περίπου του συνολικού N), από το αγελαδινό.
- Η υδρόλυση της λακτοφερρίνης με πεψίνη παράγει πεπτίδια:
 - **λακτοφερρισίνες.**
 - έχουν ισχυρότερη βακτηριοστατική δράση από την ίδια τη λακτοφερρίνη,
 - η οποία είναι μάλιστα ανεξάρτητη από τον σίδηρο.



Ένζυμα στο γάλα (α)

- Περίπου 80 ενδογενή ένζυμα.
- Μικρό μεν αλλά σημαντικό τμήμα του πρωτεϊνικού του συστήματος,
 - είτε συντίθενται στα εκκριτικά κύτταρα του μαστού του ζώου,
 - είτε προέρχονται από το αίμα του ζώου.
- **Αλκαλική φωσφατάση, οξειδάση της ξανθίνης, γ-γλουταμυλο-τρανσπεπτιδάση:**
 - στη μεμβράνη των λιποσφαιρίων
- **Πλασμίνη και λιποπρωτεΐνη λιπάση:**
 - στα καζεϊνικά μικκύλια.
- **Καταλάση και δισμουτάση του υπεροξειδίου:**
 - στον ορρό του γάλακτος.



Ένζυμα στο γάλα (β)

- Η κατανομή τους επηρεάζεται από τις συνθήκες επεξεργασίας και αποθήκευσης του γάλακτος.
- Η ψύξη του γάλακτος επάγει:
 - τη μεταφορά της λιπάσης από τα καζεϊνικά μικκύλια στα λιποσφαίρια,
 - κατά συνέπεια επάγει τη λιπόλυση.
- 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.



Ένζυμα στο γάλα (γ)

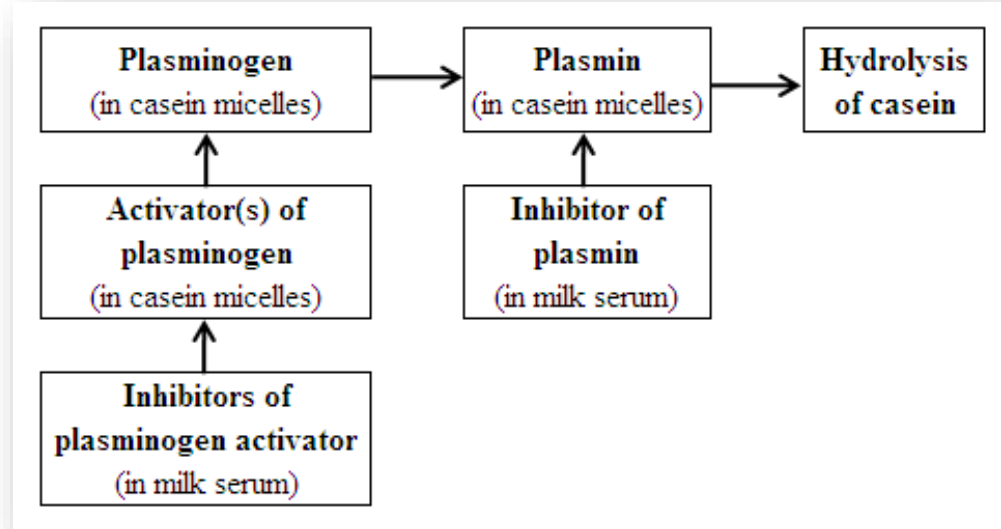
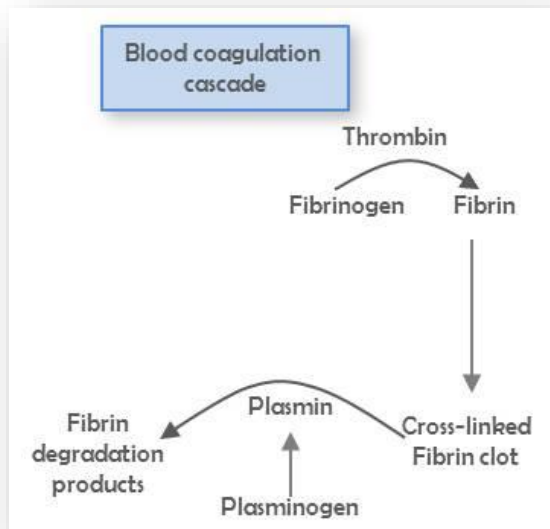
- **Αλκαλική φωσφατάση και οξειδάση της ξανθίνης:**
 - απενεργοποιούνται σε συνθήκες παστερίωσης (72-75°C για 15-20 sec).
 - χρησιμοποιούνται ως μάρτυρες παστερίωσης του γάλακτος.
- **Απενεργοποίηση της γ-γλουταμυλο-τρανσπεπτιδάσης**
 - δείκτης υπερπαστερίωσης του γάλακτος.



Ένζυμα στο γάλα (ε)

● Πλασμίνη

- μεταφέρεται από το αίμα του ζώου στο γάλα.
- ενεργοποιείται στην παστερίωση λόγω απενεργοποίησης των παρεμποδιστών του πλασμινογόνου από το οποίο προκύπτει
- 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), στις οποίες απενεργοποιείται η ρεννίνη.





Ένζυμα στο γάλα (στ)

- **Λιποπρωτεΐνη λιπάση**
 - απενεργοποιείται κατά την παστερίωση, αν και όχι πλήρως.
 - συμμετέχει θετικά στην ωρίμανση των τυριών.
 - ιδιαίτερα αυτών που παρασκευάζονται από απαστερίωτο γάλα.
 - μπορεί να προκαλέσει υδρολυτική τάγγιση.

LIPOPROTEIN LIPASE

The primary enzyme responsible for the hydrolysis of lipoprotein triglyceride into free fatty acids and monoglycerides

Attached to the luminal surface of the endothelial cells in capillaries of the adipose tissue

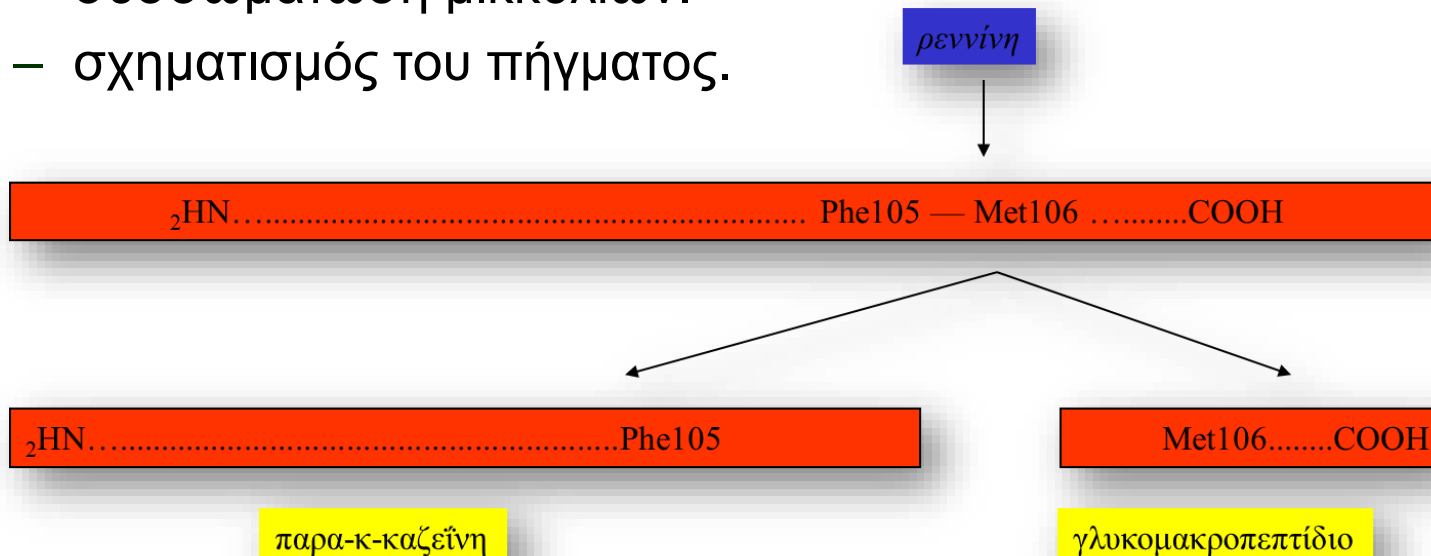
Hydrolyzes the extracellular triglycerides in lipoproteins

Insulin activates lipoprotein lipase



Δράση πτυιάς (α)

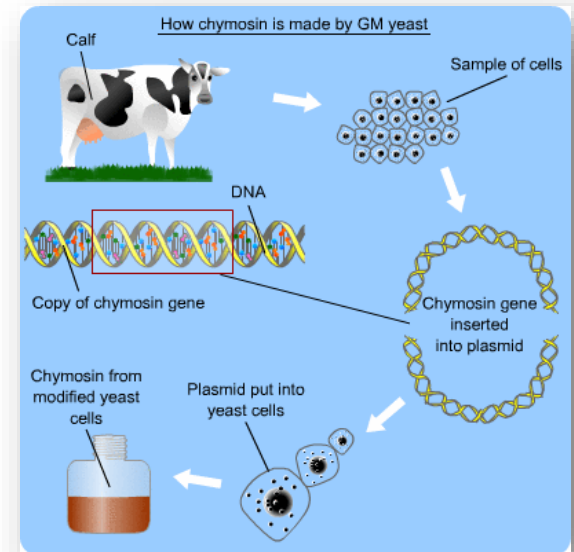
- ρεννίνη (πτυιά = μίγμα χυμοσίνης και πεψίνης):
 - υδρολύει τον δεσμό Phe105 - Met106 της κ-καζεΐνης.
 - αρνητικά φορτισμένο γλυκομακροπεπτίδιο + παρα-κ-καζεΐνη.
 - μείωση του συνολικού αρνητικού φορτίου των μικκυλίων.
 - αποσταθεροποίηση μικκυλίων.
 - συσσωμάτωση μικκυλίων.
 - σχηματισμός του πήγματος.





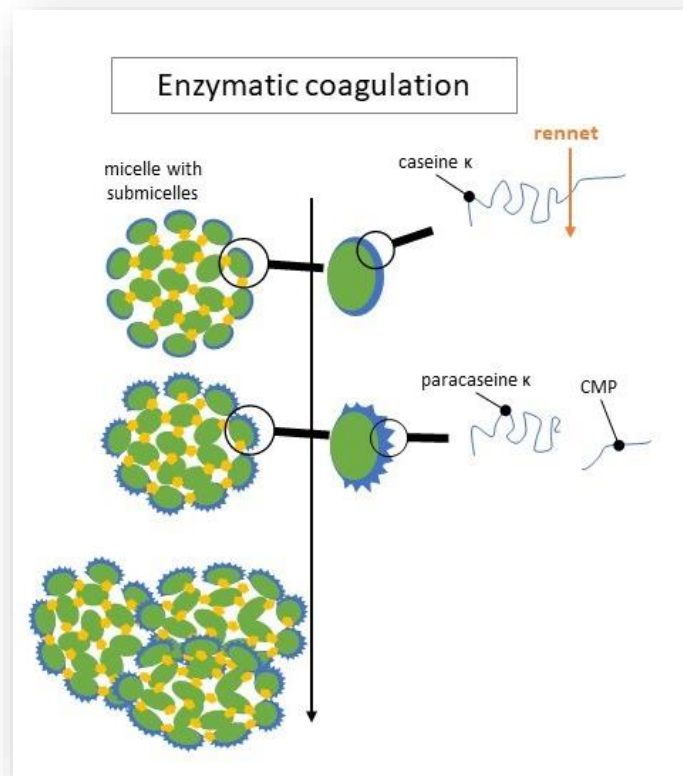
Δράση πτυιάς (β)

- υδρόλυση της κ-καζεΐνης:
 - τυπική κινητική Michaelis-Menten.
 - βέλτιστο pH 5.1-5.3.
- δράση της ρεννίνης επεκτείνεται:
 - σε μη προστατευμένα μόρια της α - και β -καζεΐνης.
 - β -καζεΐνη υδρολύεται με μικρότερη ταχύτητα.





Δράση πτυιάς (γ)

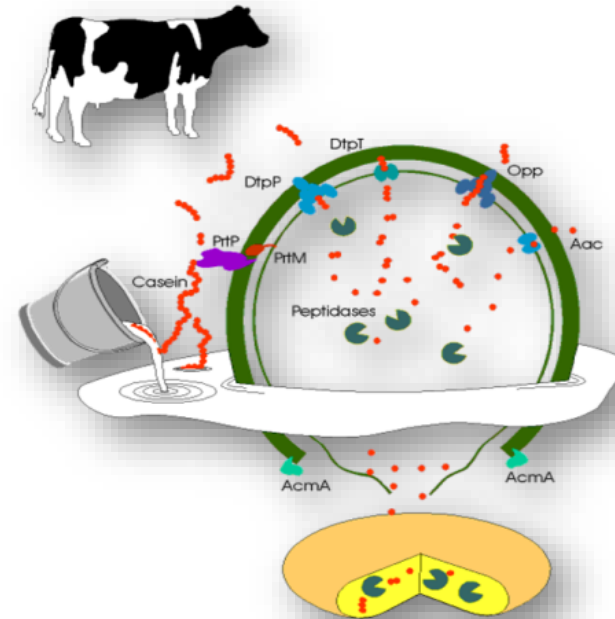
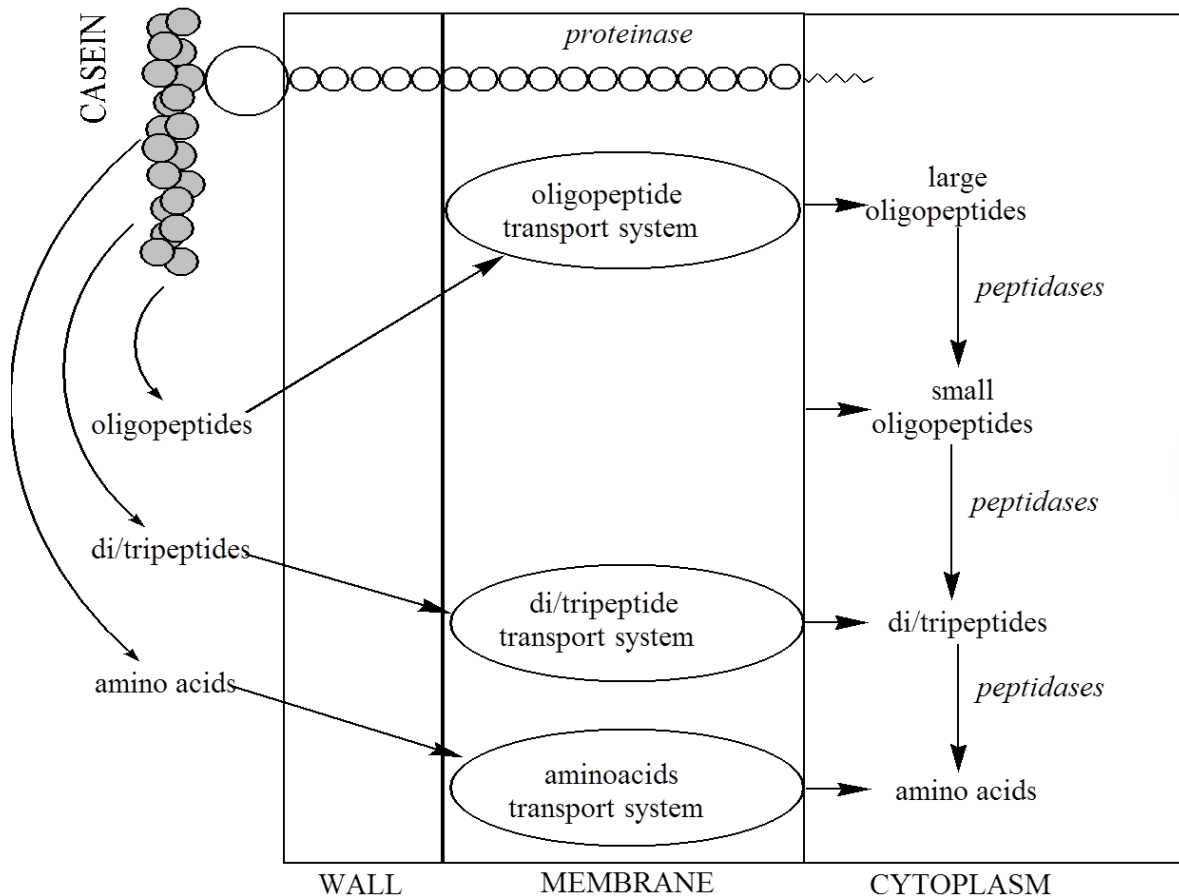


<https://www.youtube.com/watch?v=kqQojoZd9eo>

<https://www.sciencelearn.org.nz/videos/701-cheese-a-molecular-view>



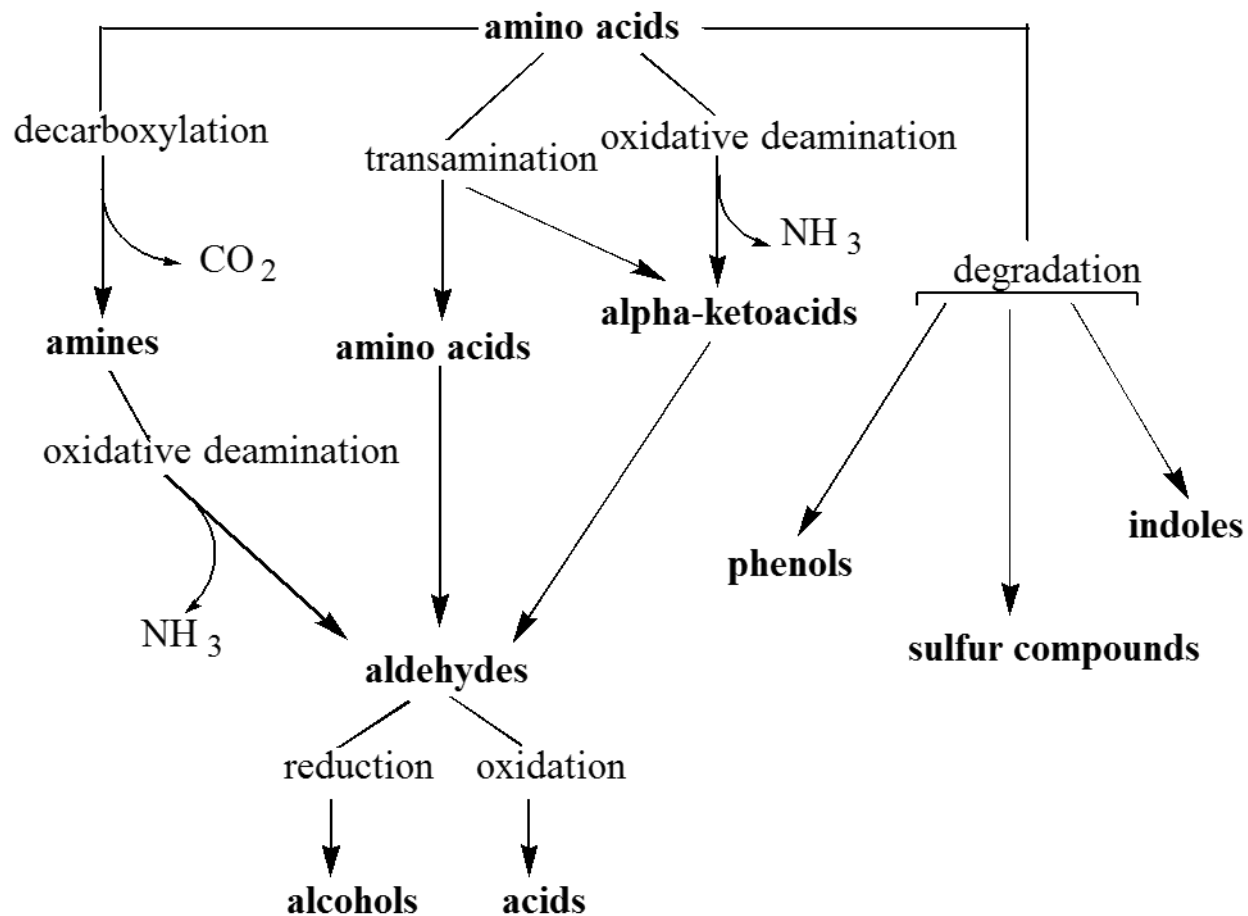
Πρωτεολυτικό σύστημα οξυγαλακτικών βακτηρίων





Καταβολισμός αμινοξέων (α)

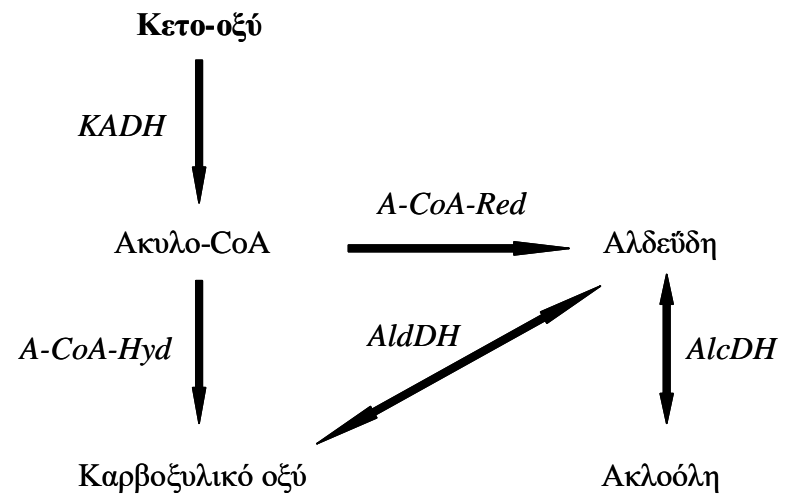
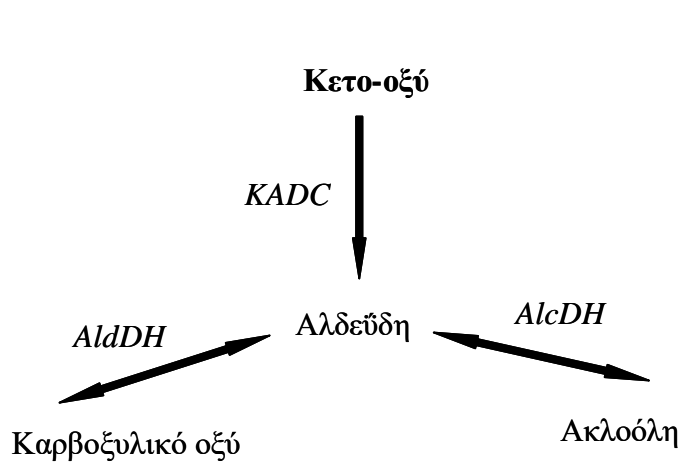
Καταβολισμός αμινοξέων από τα οξυγαλακτικά βακτήρια:





Καταβολισμός αμινοξέων (β)

Καταβολισμός αμινοξέων από τα οξυγαλακτικά βακτήρια:

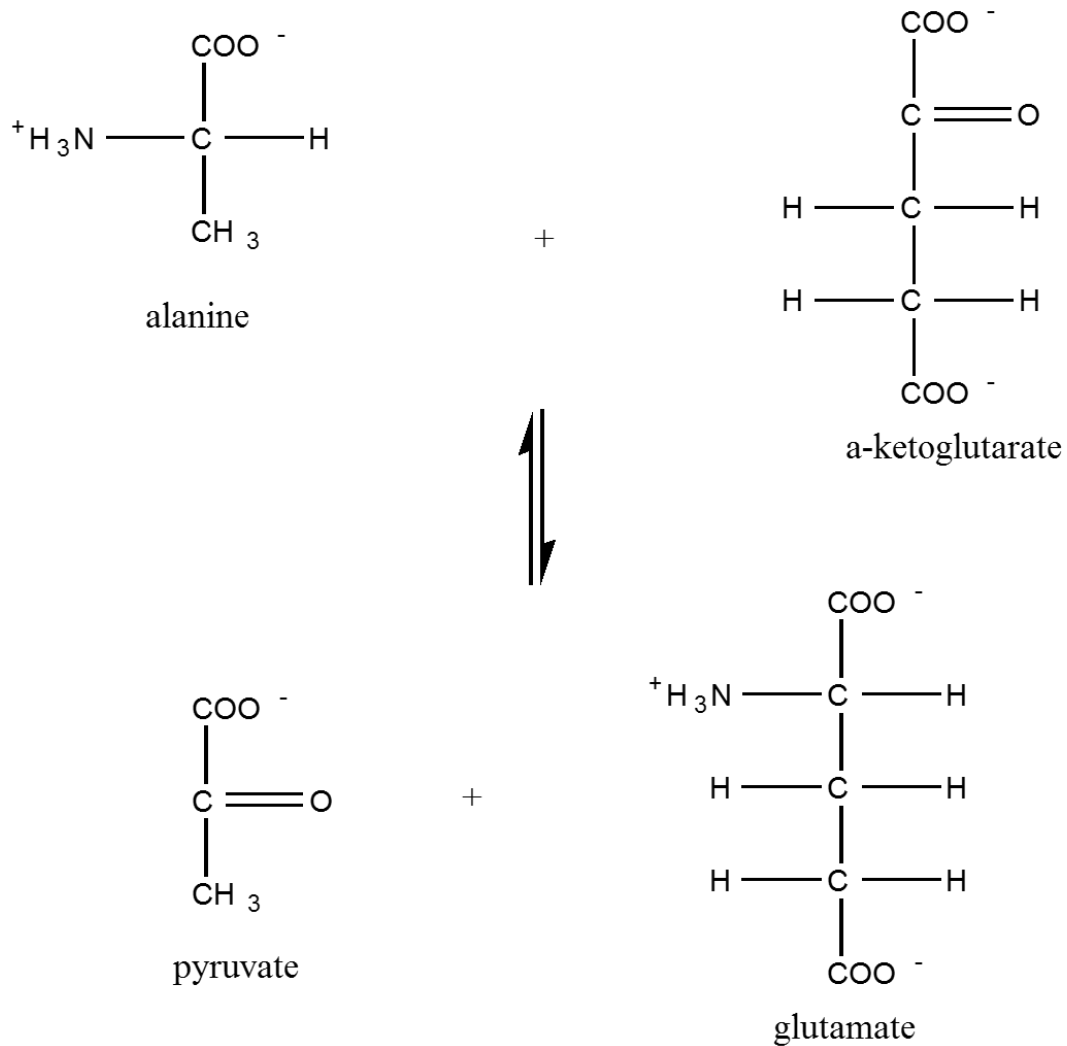


AT: αμινοτρανσφεράση
 KADC: αποκαρβοξυλάση κετο-οξέος
 KADH: δεϋδρογενάση κετο-οξέος

AldDH: αλδεϋδική δεϋδρογενάση
 AlcDH: αλκοολική δεϋδρογενάση
 A-CoA-Red: αναγωγία ακυλο-CoA
 A-CoA-Hyd: υδρολάση ακυλο-CoA



Τρανσαμίνωση





Προϊόντα αποικοδόμησης αμινοξέων (α)

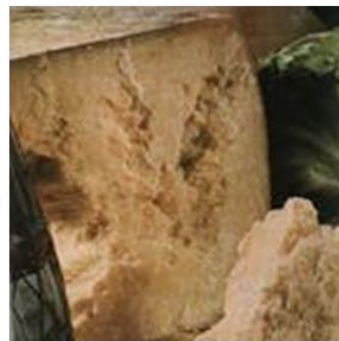
Προϊόντα αποικοδόμησης των αμινοξέων Phe, Leu και Met:

Ένωση	Phe	Leu	Met
α-κετο-οξύ R-CH ₂ -CO-COOH	Φαινυλο- πυροσατφυλικό	α-κετο- ισοκαπρωϊκό	α-κετο- μεθυλοθειοβουτυρικό
Υδρόξυ-οξύ R-CH ₂ -CHO-COOH	Φαινυλο-γαλακτικό	Υδροξυ- ισοκαπρωϊκό	Υδρόξυ- μεθυλοθειοβουτυρικό
Καρβοξυλικό οξύ R-CH ₂ -COOH	Φαινυλ-οξικό	Ισο-βαλερικό	3-μεθυλο- θειοπρωπιονικό
Αλδεΐδη R-CH ₂ -CHO	Φαινυλ-ακεταλδεΐδη	3-μεθυλο- βουτανάλη ή ισο-βαλεραλδεΐδη	Μεθειονάλη
Αλκοόλη R-CH ₂ -CHOH		3-μεθυλο- βουτανόλη	Μεθειονόλη
Πτητικές θειούχες ενώσεις			Μεθανοθειόλη Διμεθυλο-δισουλφίδιο Διμεθυλο-τρисуλφίδιο



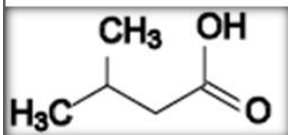
Προϊόντα αποικοδόμησης αμινοξέων (β)

Parmesan



3-methyl-butanal

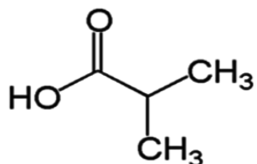
spicy cocoa flavor



isovalerate

isobutyrate

sweaty notes



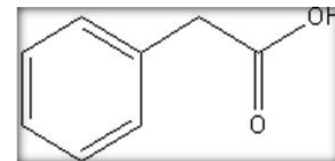
Emmental



phenylacetate

phenylacetaldehyde

fruity notes

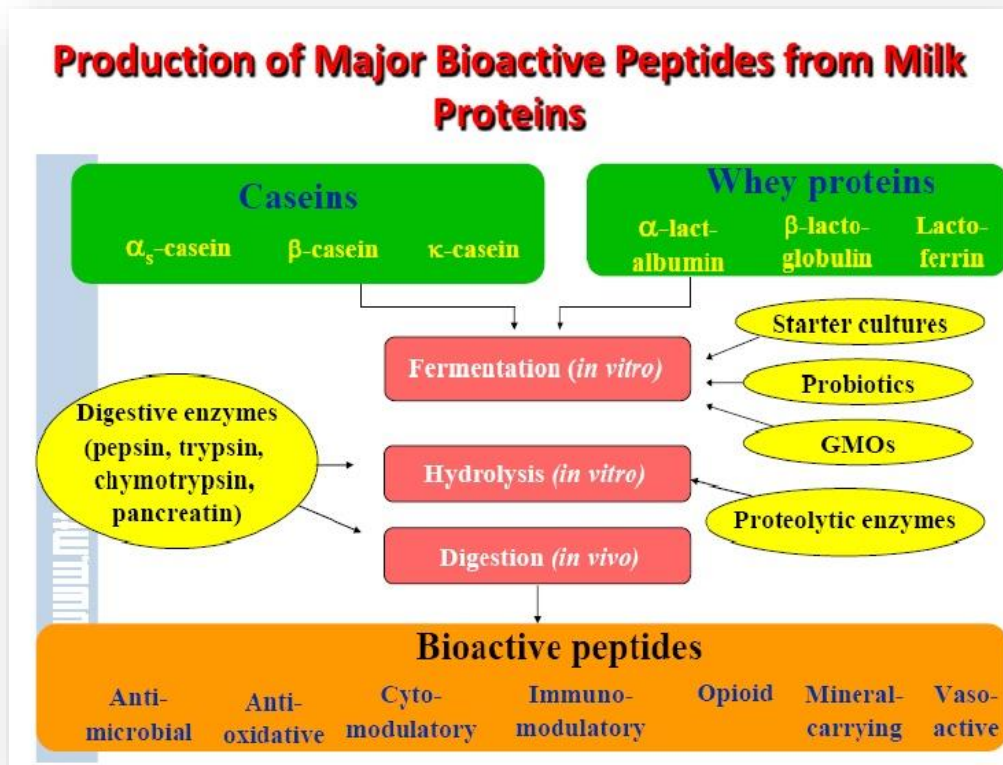




Βιοενεργά πεπτίδια (α)

Δράσεις:

- Οπιοειδή.
- Παρεμποδιστές του ενζύμου μετατροπής της αγγειοτενσίνης I.
- Ανοσορυθμιστικά πεπτίδια.
- Αντιθρομβωτικά πεπτίδια.
- Αντιμικροβιακά πεπτίδια.



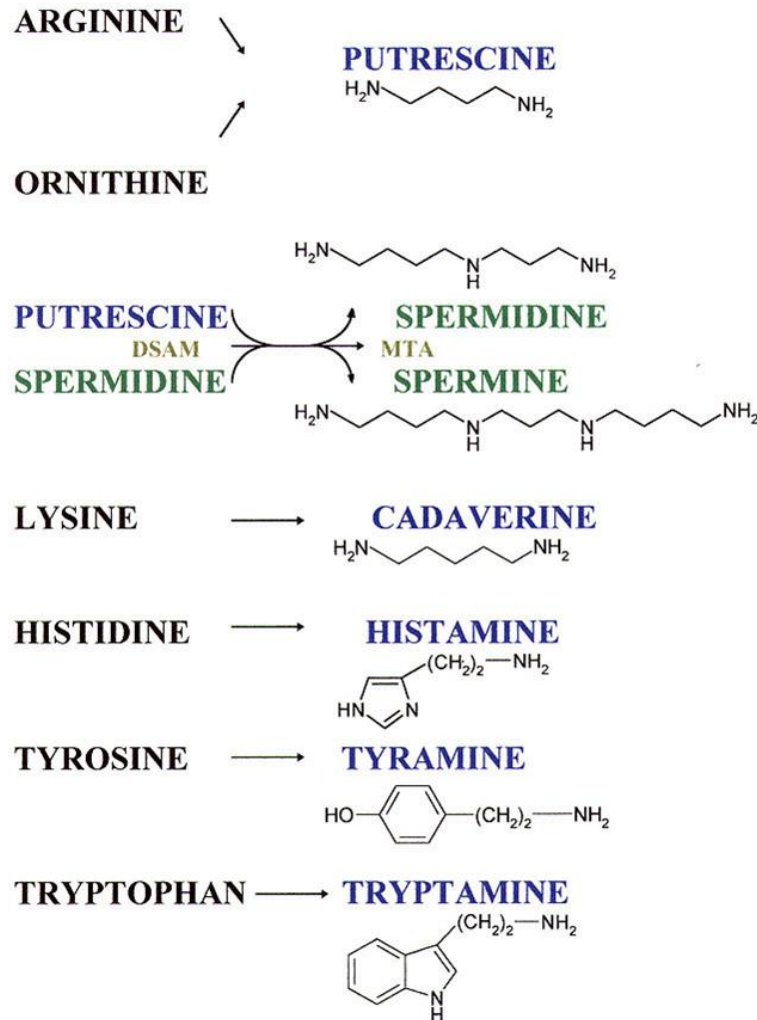


Βιοενεργά πεπτίδια (β)

- β-καζομορφίνη 1-3: H-Tyr-Pro-Phe-OH.
- β-καζομορφίνη 1-4: H-Tyr-Pro-Phe-Pro-OH.
- β-καζομορφίνη 1-4, αμίδιο: H-Tyr-Pro-Phe-Pro-NH₂.
- β-καζομορφίνη 5: H-Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-OH.
- β-καζομορφίνη 7: H-Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile-OH.
- β-καζομορφίνη 8: H-Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile-Pro-OH.



Βιογενείς αμίνες





Βιβλιογραφία

- B.K. Simpson (2012) Food Biochemistry and Food Processing, Wiley-Blackwell
- M.J. Berg, L.J. Tymoczko, G.J. Gato, L. Stryer (2015) Βιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης