



Γαλακτοκομία

Ενότητα 2:

Πρωτεΐνες Ορού (WP), 1,5ΔΩ

Τμήμα: Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής Του Ανθρώπου

Διδάσκοντες: Καμινारीδης Στέλιος, Καθηγητής

Μοάτσου Γκόλφω, Επ. Καθηγήτρια



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





Μαθησιακοί Στόχοι

- Να γνωρίζουν οι φοιτητές τη σύσταση, τη δομή, τις φυσικοχημικές ιδιότητες και τα μικροβιολογικά χαρακτηριστικά του νωπού γάλακτος.



Λέξεις Κλειδιά

- Αλβουμίνη ορού
- Ανοσογλοβουλίνες
- α-γαλακτοαλβουμίνη
- β-γαλακτογλοβουλίνη
- Πρωτεόζες-πεπτόνες
- Πρωτεΐνες του ορού
- Δομή



Γενικά 1/4

- Περιλαμβάνει το τμήμα των πρωτεϊνών το οποίο απομένει στον ορό του άπαχου γάλακτος μετά την καθίζηση των καζεϊνών του με οξίνιση σε pH 4,6 και θερμοκρασία των 200C.
- Παραμένουν διαλυτές κατά την πήξη του γάλακτος με πτυδιά, οπότε απομακρύνονται με το τυρόγαλα κατά την παρασκευή των τυριών.
- Οι πρωτεΐνες τυρογάλακτος (WP) περιλαμβάνουν πέραν των άλλων πρωτεϊνών του ορού και το γλυκομακροπεπτίδιο που προέρχεται από την υδρόλυση της κ-καζεΐνης από τη χυμοσίνη. Επίσης περιέχουν περισσότερες πρωτεόζες πεπτόνες σε σχέση με τον ορό του γάλακτος.



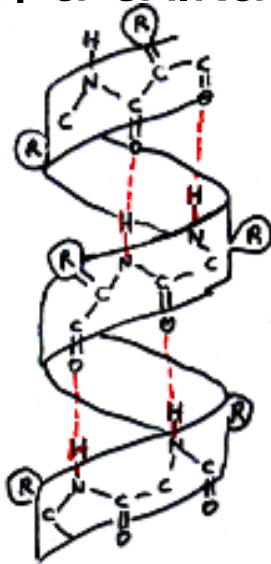
Γενικά 2/4

- Παραμένουν διαλυτές κατά την υπερφυγοκέντρωση του γάλακτος.
- Είναι πρωτεΐνες πλούσιες σε S (1,7%) και περιέχουν κυστεΐνη και/ ή κυστίνη.
- Κατακρημνίζονται σε διάλυμα 12% T.C.A.
- Αποτελούν ~ το 18-20% των πρωτεϊνών του αγελαδινού γάλακτος. Σε μεγαλύτερη αναλογία βρίσκεται στο γάλα των μονογαστρικών, στο πρωτόγαλα και στο μαστικό γάλα.
- Οι πρωτεΐνες του ορού με εξαίρεση την ομάδα των πρωτεοζών-πεπτονών είναι σφαιρικές πρωτεΐνες με σημαντική αναλογία δομή α- έλικας και β-πτυχωτής δομής και παρουσιάζουν μεγάλη υδροφοβία.



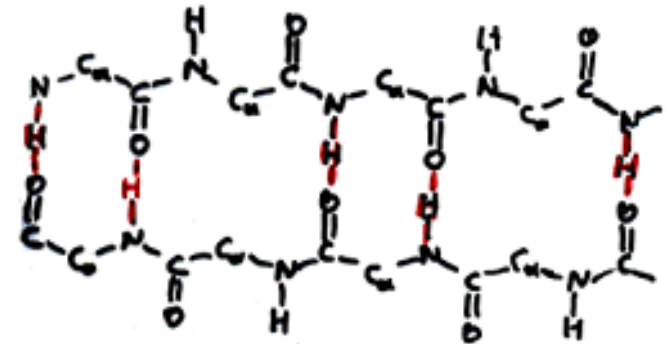
Δευτεροταγής Δομή

- Η πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται και αποκτά είτε δομή α-έλικας, είτε πτυχωτή δομή ή β-δομή.



Δομή α-έλικας

Δεσμοί υδρογόνου της NH ομάδος και του καρβονυλικού οξυγόνου συντελούν στη διαμόρφωση της πεπτιδικής αλυσίδας σε ελικοειδή μορφή.



Πτυχωτή δομή δομή ή β-δομή

Η πολυπεπτιδική αλυσίδα διατάσσεται παράλληλα σχηματίζοντας πτυχωτή δομή που σταθεροποιείται με δεσμούς υδρογόνου.

Δρ. Καμινारीδης Στέλιος



Πρωτεΐνες Ορού του Αγελαδινού Γάλακτος

Πίνακας : Πρωτεΐνες ορού του αγελαδινού γάλακτος (από τους Walstra et al., 1999 και Smit 2003)

Πρωτεΐνες	Συγκέντρωση στο γάλα (g/kg)	Μοριακό βάρος	
Πρωτεΐνες του ορού	6,3		Διαλυτές σε pH 4,6 (Ι.Σ. καζεΐνης)
β-γαλακτογλοβουλίνη	3,2	18283	Περιέχει S
α-γαλακτοαλβουμίνη	1,2	14176	Περιέχει S
Αλβουμίνη ορού	0,4	66267	Προέρχεται από το αίμα, περιέχει S
Πρωτεόζες-πεπτόνες	0,8	4000-40000	Ετερογενής ομάδα, μερικές είναι τμήματα της β-καζεΐνης
Ανοσογλοβουλίνες (IgG, IgA, IgM)	0,8	150000-900000	Διάφοροι τύποι, βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο πρωτόγαλα, μερικές προέρχονται από το αίμα, ένα μέρος τους αποτελεί την κρυογλοβουλίνη
Λακτοφερίνη	0,1	86000	Γλυκοπρωτεΐνη, δεσμεύει Fe, αντιμικροβιακή δράση
Άλλες πρωτεΐνες	~0,1		



Γενικά 3/4

- Είναι ευαίσθητες στη θέρμανση εκτός των P-P και αποτελούν τη βάση των τυριών τυρογάλακτος. Η σειρά ευαισθησίας είναι η ακόλουθη:

Ig > β-Lg & SA > α-La

- Οι πρωτεΐνες ορού του γίδινου και πρόβειου γάλακτος είναι πιο ευαίσθητες στη θέρμανση από τις αντίστοιχες του αγελαδινού γάλακτος.

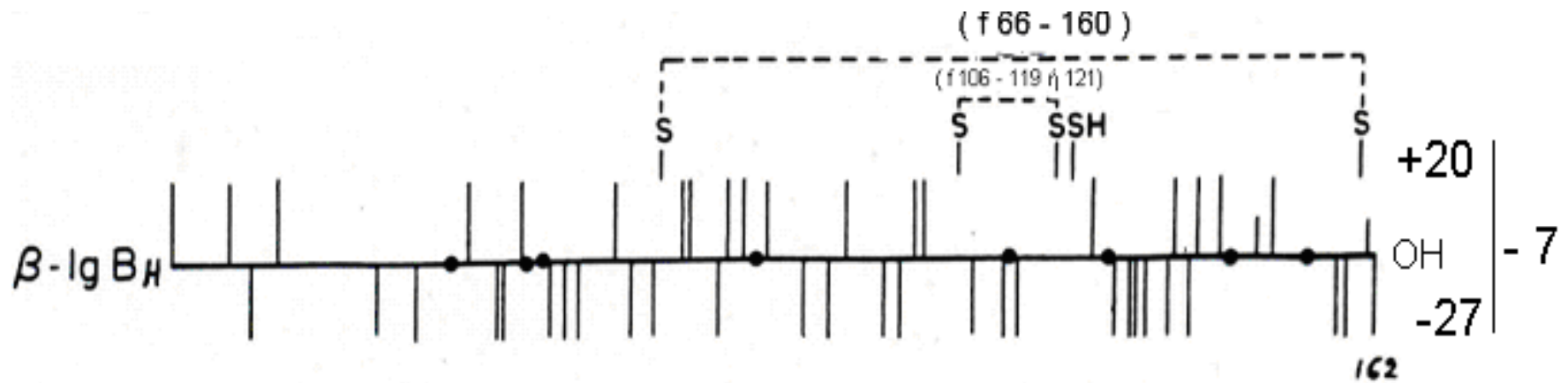


Γενικά 4/4

- Έχουν υψηλή βιολογική αξία που οφείλεται στη σημαντική ποσότητα των WP σε απαραίτητα αμινοξέα και κυρίως σε θειώδη αμινοξέα (μεθειονίνη + κυστεΐνη) και λευκίνη καθώς επίσης λυσίνη, θρεονίνη, τρυπτοφάνη.
- Οι πρωτεΐνες του ορού στο πρόβειο γάλα είναι περισσότερες (14g / l) από ότι στο αγελαδινό γάλα (6g / l).



β-Γαλακτογλοβουλίνη (β-Lg) 1/3



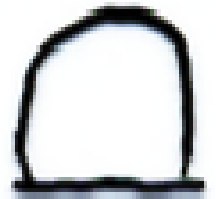
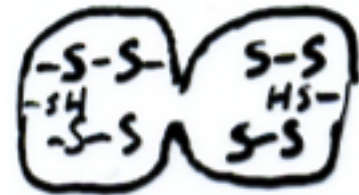
- Είναι πολύ υδρόφοβη πρωτεΐνη με σφαιρική δομή και με διάμετρο περίπου 3,6 nm.





β-Γαλακτογλοβουλίνη (β-Lg) 2/3

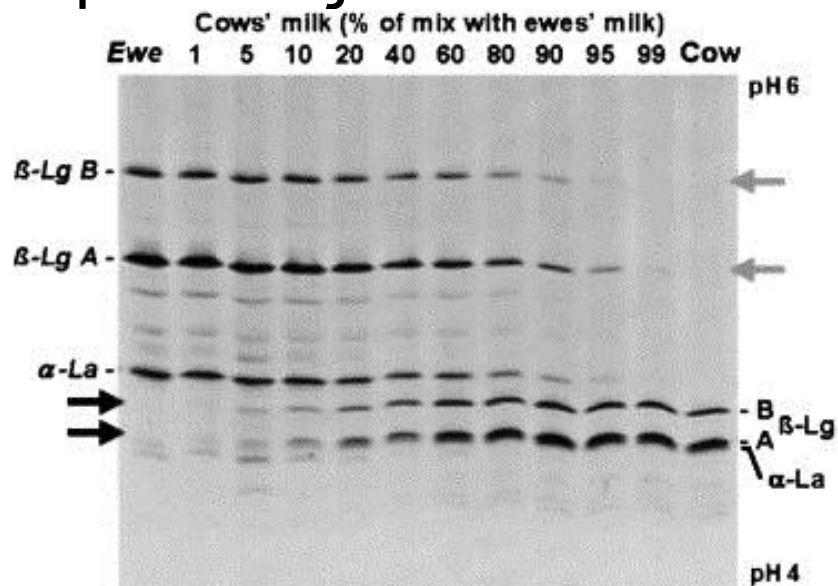
- Απαντά σε διάφορες δομές ανάλογα με τη θερμοκρασία και το pH.
 - Ως διμερές στο pH του γάλακτος και θερμοκρασία δωματίου αλλά και σε pH 5-7, με M.B. ~36.000
 - Ως μονομερές, λόγω διάσπαση του διμερούς σε υψηλή θερμοκρασία ή pH < 3,5 και σε pH > 7,5 και με M.B. ~18.000
 - Ως οκταμερές σε pH 4,5 και θερμοκρασία χαμηλή ~0°C και με M.B. ~ 144.000





β-Γαλακτογλοβουλίνη (β-Lg) 3/3

- Σχηματίζει σύμπλοκο με την κ-καζεΐνη, το οποίο είναι πιο σταθερό στη θέρμανση από τα συστατικά του.
- Χρησιμοποιείται η β-γαλακτογλοβουλίνη (β-Lg) για τη διαπίστωση της ανάμιξης ή μη διαφόρων ειδών γάλακτος.

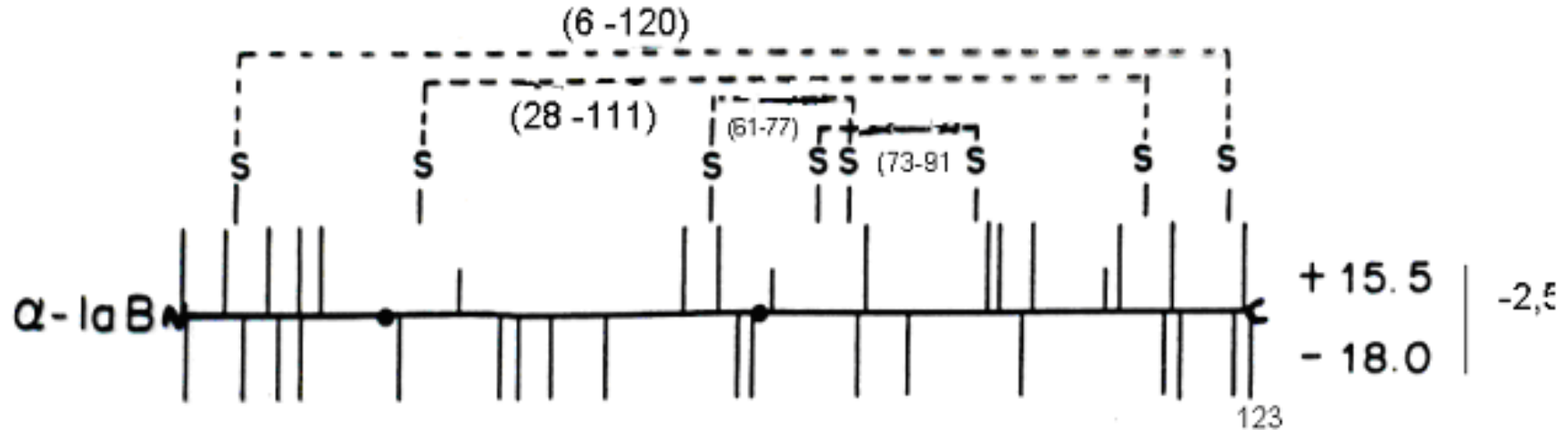


Σχήμα: Ισοηλεκτρικός εστιασμός (IEF) των πρωτεϊνών του ορού του πρόβειου γάλακτος, των πρότυπων μιγμάτων και του αγελαδινού γάλακτος.

Δρ. Καμινारीδης Στέλιος



α-Γαλακτογλοβουλίνη (α-La) 1/2



- Είναι μικρό σφαιρικό μόριο.
- Δεν έχει την τάση να σχηματίζει διμερή ή πολυμερή.
- Αποτελεί τμήμα της συνθέτασης της λακτόζης.



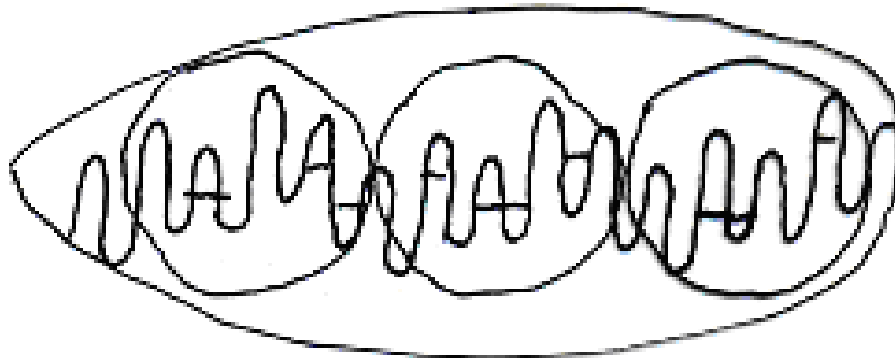
α-Γαλακτογλοβουλίνη (α-La) 2/2

- Είναι ασβεσομεταλλο-πρωτεΐνη (1 mole Ca / mole πρωτεΐνης).
- Μοιάζει με τη λυσοζύμη από άποψη χημική και σειράς των αμινοξέων στο μόριό της, αλλά δεν παρουσιάζει αντιβακτηριδιακή δράση.



Οροαλβουμίνη (Sa) 1/2

- Η δομή του μορίου της πρωτεΐνης είναι ωοειδής με διαστάσεις περίπου 3x12 nm.



- Είναι η μεγαλύτερη μονομερής πρωτεΐνη του ορού με M.B.=66267 D.
- Έχει 582 υπολείμματα αμινοξέων.



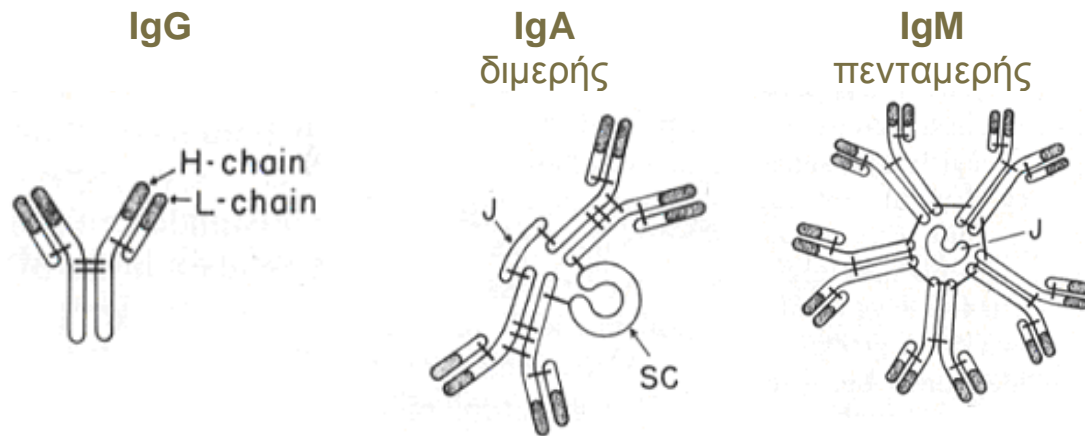
Οροαλβουμίνη (Sa) 2/2

- Έχει στο μόριο της 35 υπολείμματα κυστεΐνης που ενώνονται ανά δυο σχηματίζοντας 17 δισουλφυδικούς δεσμούς. Φέρει στο μόριό της μια ελεύθερη σουλφυδριλική ομάδα.
- Έχει τις ίδιες ιδιότητες με την αλβουμίνη του ορού του αίματος, γιατί προέρχεται από το αίμα των γαλακτοφόρων ζώων.



Ανοσοσφαιρίνες ή Ανοσογλοβουλίνες (Immunoglobulins –Ig-) 1/2

- Παρουσιάζουν ετερογένεια και διακρίνονται κυρίως σε IgG1, IgG2, IgA, IgM.



- Έχουν σημαντικές ανοσοβιολογικές ιδιότητες.



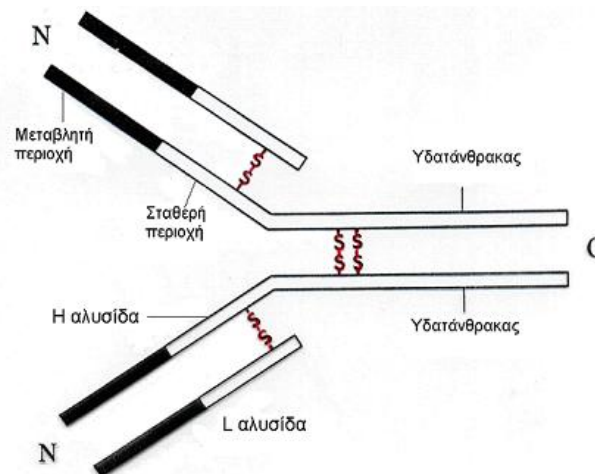
Ανοσοσφαιρίνες ή Ανοσογλοβουλίνες (Immunoglobulins –Ig-) 2/2

- Έχουν μεγάλο μοριακό βάρος που κυμαίνεται από 70.000-900.000 D, ανάλογα με το είδος τους.
- Είναι πολυμερή γλυκοπεπτίδια που η βασική μονάδα τους αποτελείται από δυο είδη πολυπεπτιδικών αλυσίδων (από δύο ελαφριές και δύο βαριές αλυσίδες).
- Είναι πάρα πολύ ευαίσθητες στη θέρμανση.
- Το πρωτόγαλα και το μαστιτικό γάλα είναι πλούσιο σε ανοσογλοβουλίνες.



IgG1 (1/3)

- Αποτελεί το κύριο μέρος των ανοσογλοβουλινών και βρίσκεται σε μεγαλύτερη αναλογία στο γάλα.
- Αποτελείται από δυο βαριές (Heavy) και δυο ελαφριές (Light) πολυπεπτιδικές αλυσίδες που συνδέονται με δισουλφυδικούς δεσμούς (-S-S-) και έχει στο μόριο της υδατάνθρακες:





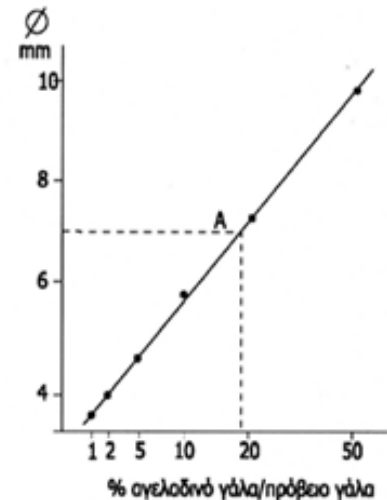
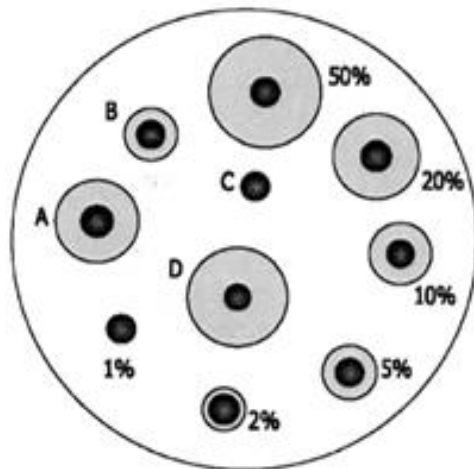
IgG1 (2/3)

- Έχει μοριακό βάρος ~150.000 D. Η κάθε βαριά αλυσίδα έχει μοριακό βάρος 52.000 D και η κάθε ελαφριά αλυσίδα έχει μοριακό βάρος 23.000 D
- Έχει ίδια σύσταση με τη γλοβουλίνη του αίματος.
- Το αντιγόνο της IgG1 του αγελαδινού γάλακτος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση του αγελαδινού γάλακτος σε πρόβειο ή γίδινο γάλα σύμφωνα με την τεχνική της ακτινωτής ανοσοδιάχυσης που είχε αναγνωρισθεί σαν επίσημη μέθοδος από την ΕΟΚ στις 2.6.1979 με τον κανονισμό (J.O. /79).



IgG1 (3/3)

- Η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε νωπό γάλα και προσδιορίζεται νοθεία μέχρι της τάξης του 1%. Η τεχνική αυτή εμφανίζεται με την εμπορική ονομασία CV TEST II.

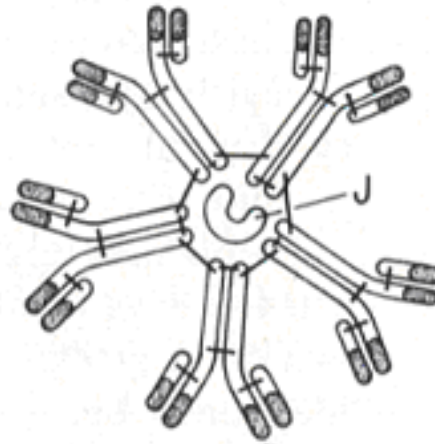


Ανίχνευση αγελαδινού γάλακτος σε αίγιο με τη μέθοδο της ακτινωτής ανοσοδιάχυσης. A=16% αγελαδινό, B= 9% αγελαδινό, C= Μάρτυρας 100% αίγιο, D= 45% αγελαδινό.



IgM 1/2

- Είναι πενταμερής ανοσογλοβουλίνη με 5 βασικές μονάδες που ενώνονται κυκλικά με δισουλφιδικούς δεσμούς και με μια J αλυσίδα.



- Το μοριακό της βάρος είναι εξαιρετικά μεγάλο (~900.000).
- Έχει ιδιαίτερη αντιμικροβιακή δράση.



IgM 2/2

- Τα αντισώματα αυτά θεωρούνται και ως συγκολλητικά (agglutinins), επειδή προκαλούν διόγκωση και συγκόλληση (agglutination) ξένων σωματιδίων και κυττάρων όπως είναι οι ιοί και τα βακτήρια αφού προσκολληθούν στους πολυσακχαρίτες των κυτταρικών τοιχωμάτων.
- Στις IgM του γάλακτος περιλαμβάνονται και οι λακτενίνες L1 και L3, οι οποίες είναι αντισώματα έναντι μερικών στελεχών του *Lactococcus lactis* και μία κρυογλοβουλίνη, που εμπλέκεται στη συσσωμάτωση των λιποσφαιρίων, η οποία αδρανοποιείται κατά τη θέρμανση και την ομογενοποίηση.



Πρωτεοζες- Πεπτόνες (P-p) 1/3

- Είναι θερμοανθεκτικές. Σε αντίθεση με τις υπόλοιπες πρωτεΐνες του ορού οι πρωτεόζες-πεπτόνες δεν αλλοδομούνται κατά τη θέρμανσή τους σε υψηλές θερμοκρασίες.
- Τα 3 συστατικά (8 ταχύ, 8 βραδύ και 5) περιέχουν στο μόριό τους φώσφορο και το συστατικό PP3 περιέχει σάκχαρα.
- Είναι ετερογενείς πρωτεΐνες με μοριακό βάρος που κυμαίνεται από 4.100-40.800 D, ανάλογα με το είδος τους.



Πρωτεοζες- Πεπτόνες (P-p) 2/3

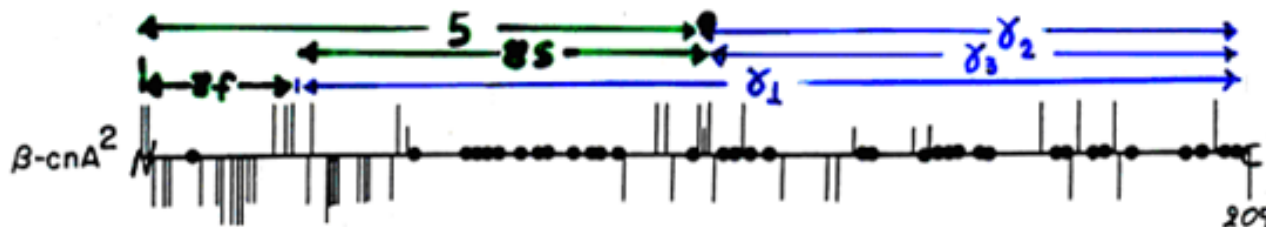
- Διακρίνονται σε τέσσερα συστατικά.
- Το συστατικό PP3 είναι γλυκοπρωτεΐνη της μεμβράνης των λιποσφαιρίων
- Τα συστατικά 8 ταχύ, 8 βραδύ και 5 προέρχονται από την δράση του ενζύμου πλασμίνη επί της πολυπεπτιδικής αλυσίδας της β-καζεΐνης και είναι τα τμήματα 1-28, 29-105 ή 107, και 1-105 ή 107 της β-καζεΐνης που είναι συμπληρωματικά των αμινοξικών ακολουθιών των γ-καζεϊνών.



Πρωτεοζες- Πεπτόνες (P-p) 3/3

- Τα χαρακτηριστικά των συστατικών των πρωτεοζών- πεπτονών αναφέρονται στον παρακάτω

Χαρακτηριστικά	Συστατικά των πρωτεοζών- πεπτονών			
	3	8 ταχύ,	8 βραδύ	5
Μοριακό βάρος	40.800	4.100	9.900	14.300
P (%)	0,5	2,4	2,0	1,0
Φορτίο σε pH 6,6		-10,5	-4,1	-14,4
Υδατάνθρακες (%)	16,2	-	-	-
Παρατήρηση	Γλυκοπρωτεΐνη	φωσφοπρωτεΐνες		





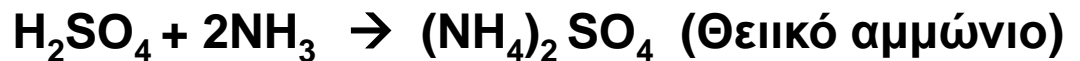
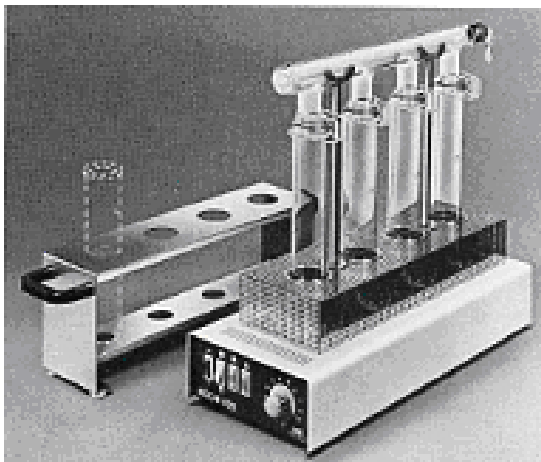
Προσδιορισμός Πρωτεϊνών 1/4

- Προσδιορισμός του ολικού αζώτου / πρωτεΐνης με τη μέθοδο Kjeldahl.

Αρχή της μεθόδου

- Η μέθοδος Kjeldahl περιλαμβάνει τρία στάδια: την καύση του δείγματος, την απόσταξη και την τιτλοδότηση.

1ο στάδιο: Καύση δείγματος

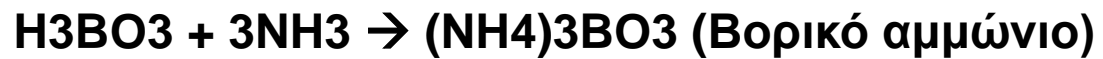


Σχήμα 11.9.1. Μονάδα καύσης της συσκευής Kjeldahl



Προσδιορισμός Πρωτεϊνών 2/4

2ο στάδιο: Απόσταξη



Σχήμα 11.9.1. Μονάδα καύσης της συσκευής Kjeldahl

3ο στάδιο: Τιτλοδότηση



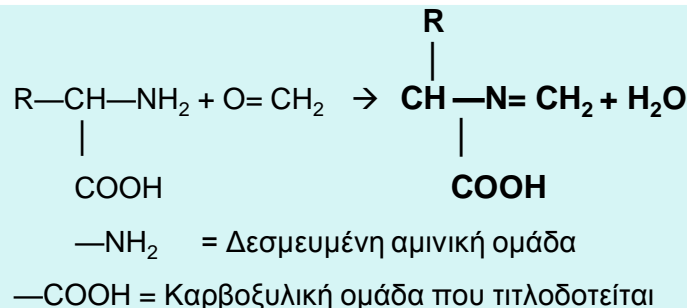


Προσδιορισμός Πρωτεϊνών 3/4

- Προσδιορισμός πρωτεϊνών με τη μέθοδο της φορμαλδεΐδης.

Αρχή της μεθόδου

- Όταν σε εξουδετερωμένο γάλα προστεθεί εξουδετερωμένη φορμαλδεΐδη τα λευκώματα αποκτούν όξινη αντίδραση γιατί η φορμαλδεΐδη δεσμεύει την αμινική ομάδα και σχηματίζονται **όξινες μεθυλοενώσεις** σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



- Η όξινη αντίδραση εξουδετερώνεται με καυστικό νάτριο το οποίο δίδει έμμεσα την περιεκτικότητά του σε λευκώματα που μπορούν να ογκομετρηθούν με το καυστικό νάτριο.

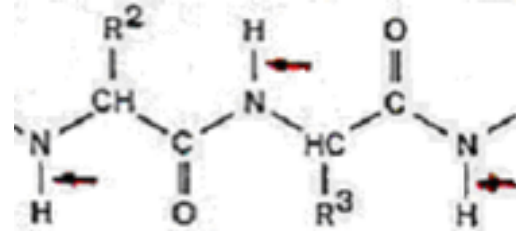


Προσδιορισμός Πρωτεϊνών 4/4

- Προσδιορισμός πρωτεϊνών με αυτοματοποιημένη μέθοδο της υπέρυθρης φασματοσκοπίας.

Αρχή της μεθόδου

- Οι πρωτεΐνες απορροφούν ενέργεια σε μήκος κύματος $6,4\mu\text{m}$ της υπέρυθρης ακτινοβολίας στο δεσμό N-H του πεπτιδικού δεσμού (σχήμα 11.9.5).



Σχήμα 11.9.5. Υπέρυθρος αναλυτής και το σημείο του δεσμού όπου οι πρωτεΐνες απορροφούν σε μήκος κύματος $6,4\mu\text{m}$.



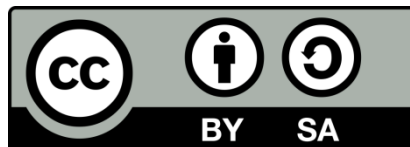
Βιβλιογραφία

- Ανυφαντάκης, Εμ. Χημεία και Ανάλυση του Γάλακτος Εκδόσεις Καραμπερόπουλος, Αθήνα, 1986.
- Καμιναρίδης, Στ. και Μοάτσου, Γ., Γαλακτοκομία, Εκδόσεις Έμβρυο, Αθήνα, 2009.
- Park Y.W.& Haenlein G.F.W., Milk and Dairy Products in Human Nutrition. Wiley-Blackwell, UK, 2013.
- Tetra Pak. Dairy processing handbook, pp. 191-205. Applied Science Publishers Ltd, London, 1995.
- Walstra, P. & Jenness, R. Dairy Chemistry and Physics. John Wiley & Sons, New York, 1983
- Walstra, p., Wouters, J.T.M. & Geurts, T. J., Dairy Science and Technology. Second Edition. CRC- Taylor & Francis, New York, 2006.



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδεια χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



Σημείωμα Αναφοράς

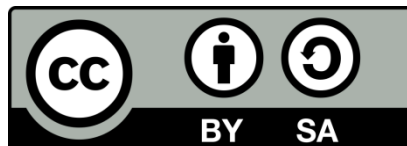
Copyright Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών 2015. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Καμιναρίδης Στέλιος/ Μοάτσου Γκόλφω, «Γαλακτοκομία». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<https://mediasrv.aua.gr/eclass/courses/OCDFSHN102/>



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων, π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Η άδεια αυτή ανήκει στις άδειες που ακολουθούν τις προδιαγραφές του Ορισμού Ανοικτής Γνώσης [2], είναι ανοικτό πολιτιστικό έργο [3] και για το λόγο αυτό αποτελεί ανοικτό περιεχόμενο [4].

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

[2] <http://opendefinition.org/okd/ellinika/>

[3] <http://freedomdefined.org/Definition/EI>

[4] <http://opendefinition.org/buttons/>



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
 - το Σημείωμα Αδειοδότησης
 - τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
 - το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)
- μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.