

Corso: Chimica delle Trasformazioni Alimentari

Docente: Prof. Marcello Mascini
mmascini@unite.it

3 Unità didattica (3CFU = 24 ore)

Le principali classi di composti organici e le loro proprietà nelle trasformazioni alimentari. Chimica delle proteine, carboidrati, acidi grassi, trigliceridi e composti bioattivi nelle trasformazioni alimentari.

PROTEINE

- Proteine costituite da Aminoacidi (AA) e struttura generale di un AA
- Variabilità catena laterale degli AA comporta proteine con diverse proprietà biochimiche
- Caratteristiche strutturali e chimiche degli AA
- Struttura primaria, secondaria terziaria e quaternaria
- Struttura del gruppo peptidico
- Descrizione struttura secondaria ad α -elica e foglietto β
- Proteine di interesse alimentare

- Tutte le proteine, sia nei batteri, sia nelle forme di vita più complesse, sono costituite dallo stesso gruppo di **20 aminoacidi legati in modo covalente**, in caratteristiche sequenze lineari
- **Otto di questi aminoacidi** sono essenziali in quanto. Tali aminoacidi (leucina, isoleucina, lisina, metionina, valina, treonina, fenilalanina, triptofano) devono pertanto essere **introdotti con gli alimenti**, onde evitare specifiche carenze nutrizionali. Nei primi due anni di vita diventano essenziali altri due aminoacidi, chiamati rispettivamente arginina e istidina.
- Ogni aminoacido ha una caratteristica catena laterale (gruppo R) da cui dipendono le sue proprietà chimiche
- ogni proteina ha proprietà ed attività diverse, in quanto è composta da aminoacidi in combinazioni ed in sequenze diverse.

Il contenuto proteico % degli alimenti è molto variabile

Farina di frumento tipo 00	11,0 %
Pane di tipo integrale	7,5 %
Pasta di semola cruda	10,9 %
Fagioli freschi crudi	10,2 %
Lenticchie secche crude	22,7 %
Soia secca	36,9 %
Patate bollite	1,8 %
Carne bovina filetto	20,5 %
Carne di pollo petto	23,3 %
Prosciutto crudo disossato	26,9 %
Salame Milano	26,7 %
Cefalo muggine	15,8 %
Merluzzo o nasello fresco	17,0 %
Latte vaccino intero	3,3 %
Formaggio grana	33,9 %

Classificazione delle proteine

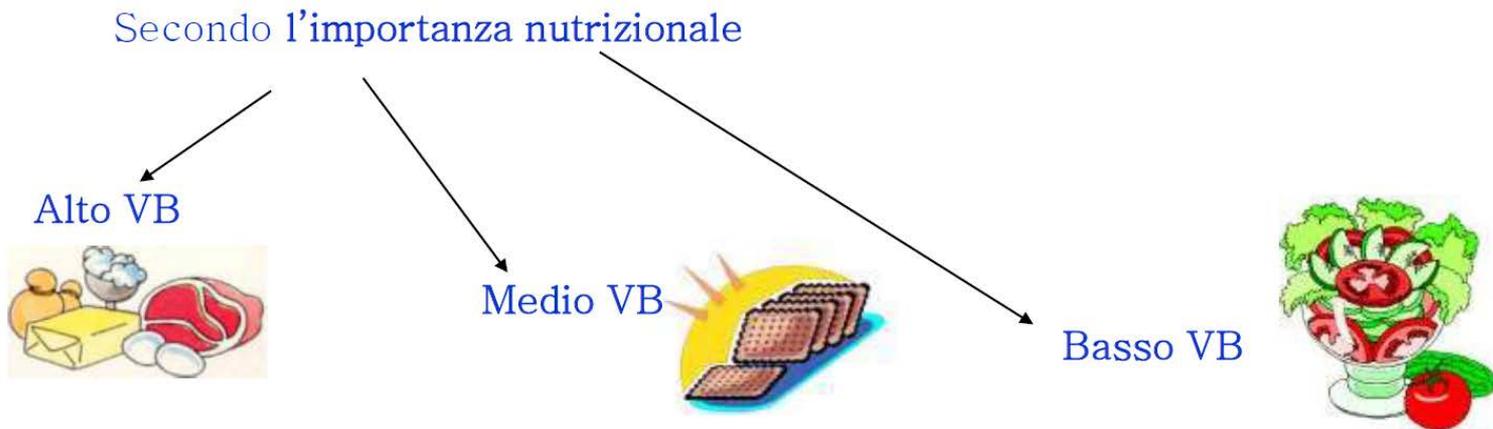
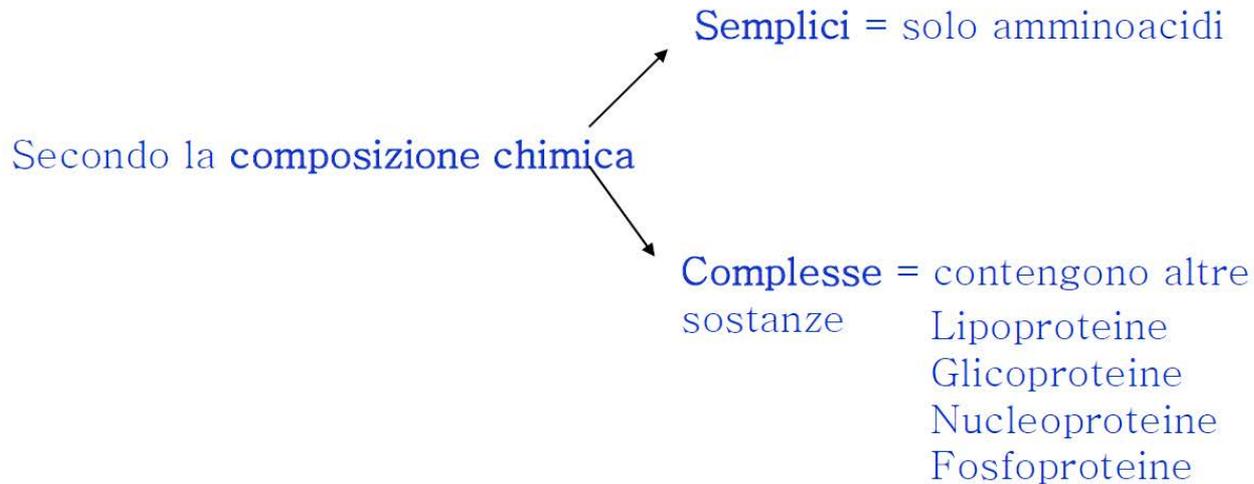


Table 1.8. Adult requirement for essential amino acids and their occurrence in various food

Amino acid	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Isoleucine	10–11	3.5	4.0	4.6	3.9	3.6	3.4	5.0	3.5
Leucine	11–14	4.2	5.3	7.1	4.3	5.1	6.5	8.2	5.4
Lysine	9–12	3.5	3.7	4.9	3.6	4.4	2.0	3.6	5.4
Methionine + Cystine	11–14	4.2	3.2	2.6	1.9	2.1	3.8	3.4	1.9
Methionine		2.0	1.9	1.9	1.2	0.9	1.4	2.2	0.8
Phenylalanine + Tyrosine	13–14	4.5	6.1	7.2	5.8	5.5	6.7	8.9	6.0
Phenylalanine		2.4	3.5	3.5	3.1	3.3	4.6	4.7	2.5
Threonine	6–7	2.2	2.9	3.3	2.9	2.7	2.5	3.7	3.8
Tryptophan	3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Valine	11–14	4.2	4.3	5.6	3.6	3.3	3.8	6.4	4.1
Tryptophan ^a			1.7	1.4	1.4	1.5	1.1	1.0	1.3

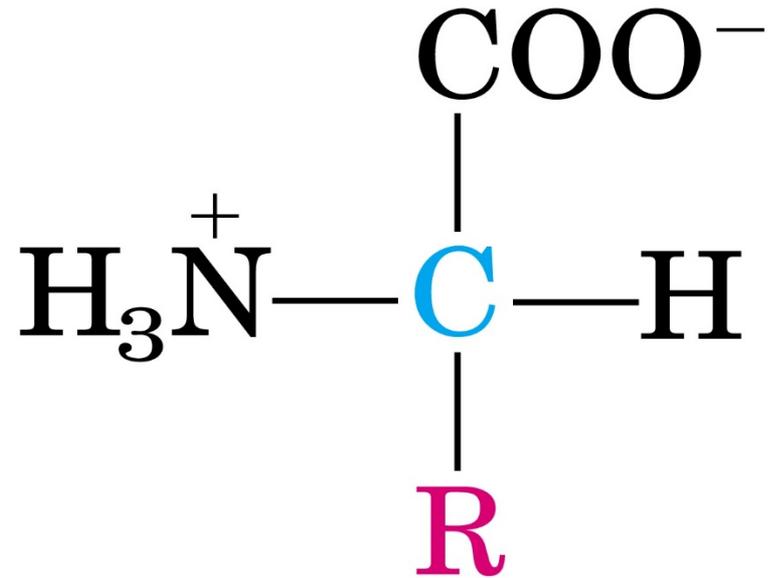
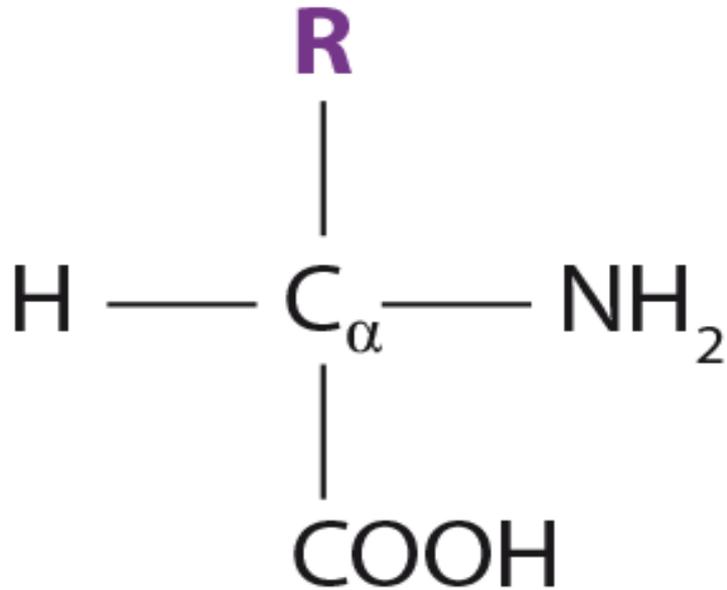
1: Daily requirement in mg/kg body weight.

2–8: Relative value related to Trp = 1 (pattern).

2: Daily requirements, 3: eggs, 4: bovine milk, 5: potato, 6: soya, 7: wheat flour, 8: rice, and 9: *Torula*-yeast.

^a Tryptophan (%) in raw protein.

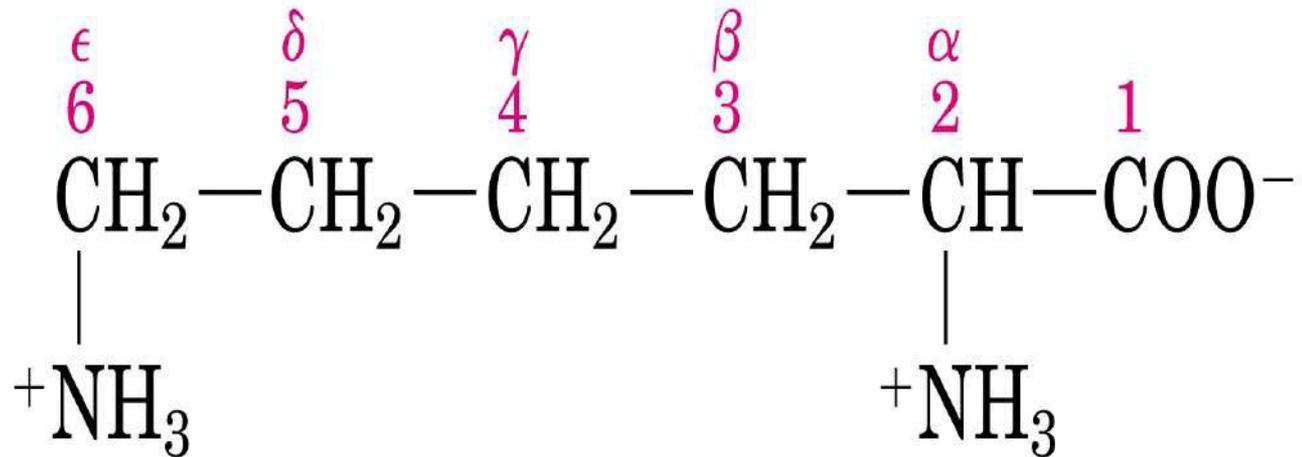
STRUTTURA GENERALE DI UN AMMINOACIDO



FORMA ZWITTERIONICA

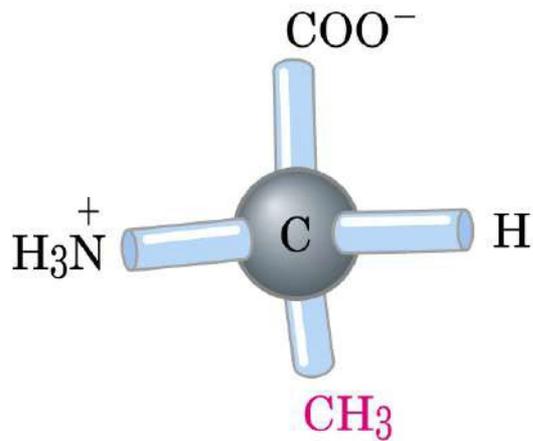
Proprietà a.a : alti p.f., solubilità in acqua,
proprietà acido base perché classificabili come
anfoteri

LA STRUTTURA DI UN AMMINOACIDO

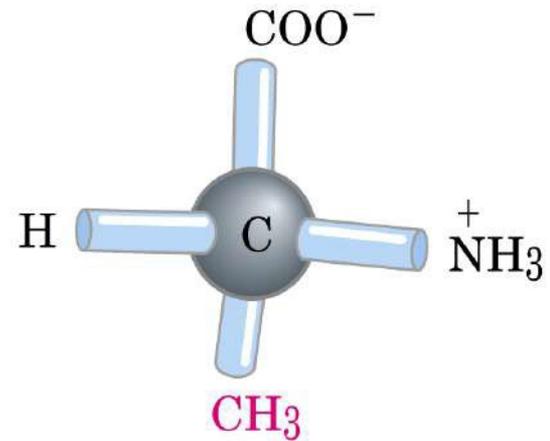


Lysine

- Tutti gli amminoacidi (esclusa la glicina) hanno il carbonio α (alfa) legato a quattro gruppi sostituenti diversi,
- il **carbonio α** è quindi un **centro chirale**.



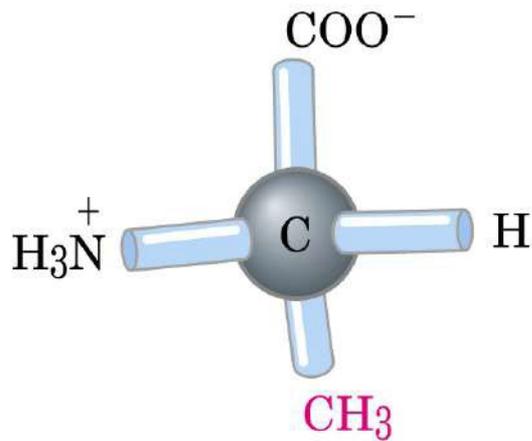
L-Alanine



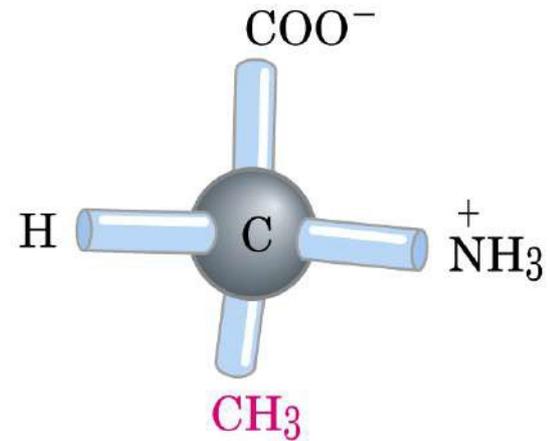
D-Alanine

(a)

- Tutti gli amminoacidi (esclusa la glicina) hanno il carbonio α (alfa) legato a quattro gruppi sostituenti diversi,
- il **carbonio α** è quindi un **centro chirale**.



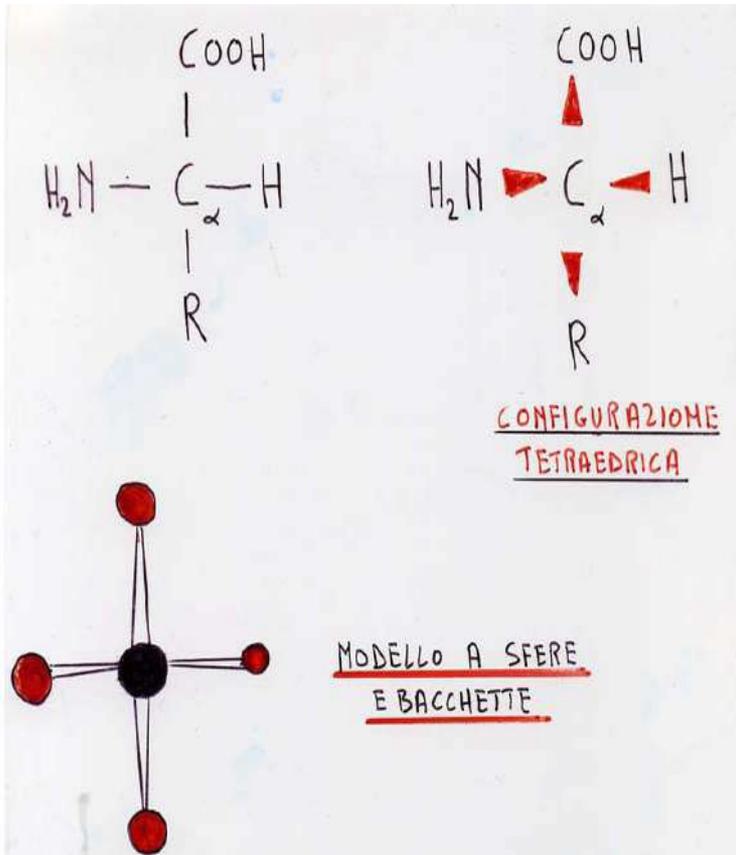
L-Alanine



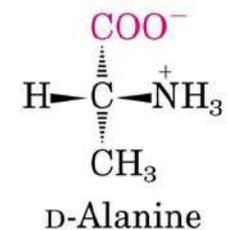
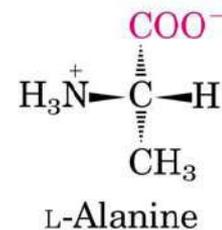
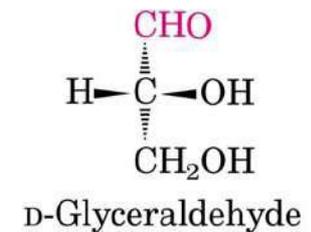
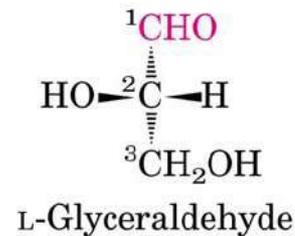
D-Alanine

(a)

GLI ENANTIOMERI

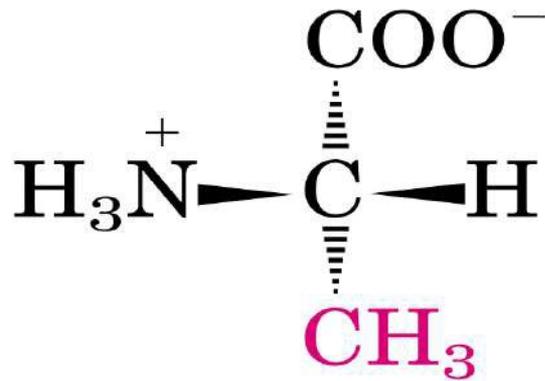


I quattro gruppi sostituenti diversi di ciascun amminoacido possono disporsi nello spazio in **due modi diversi**, che sono le immagini speculari non sovrapponibili l'uno dell'altro (forme **L** e **D**).

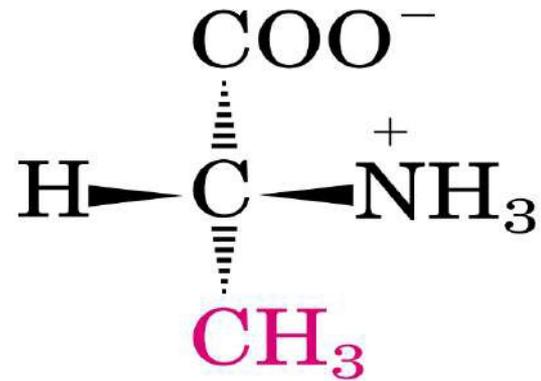


GLI ENANTIOMERI

I 20 amminoacidi standard sono nella forma L-



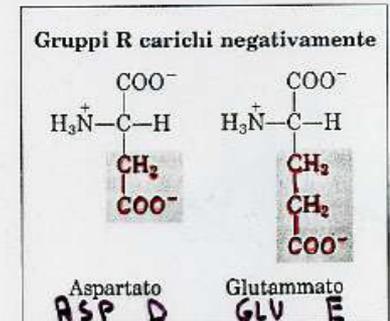
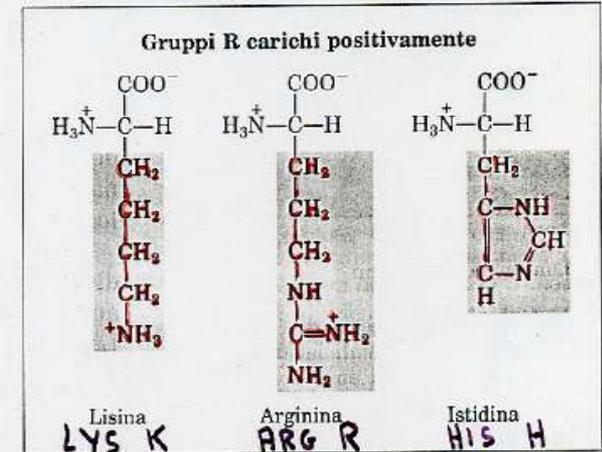
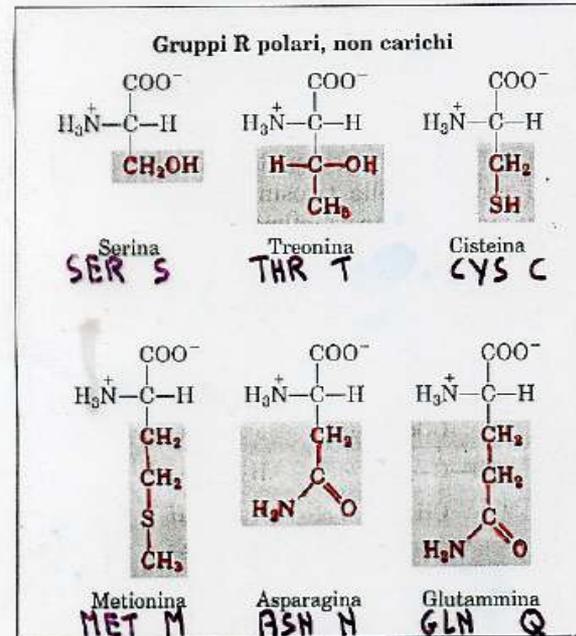
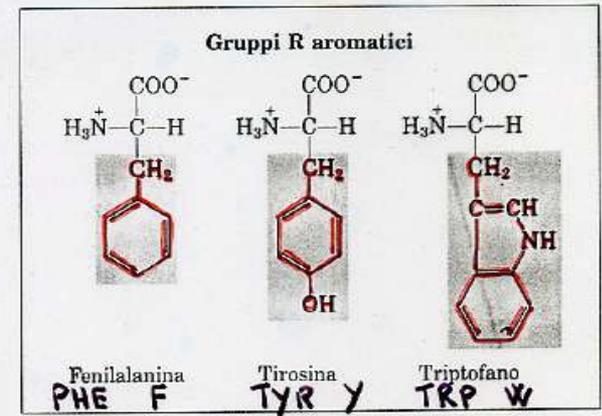
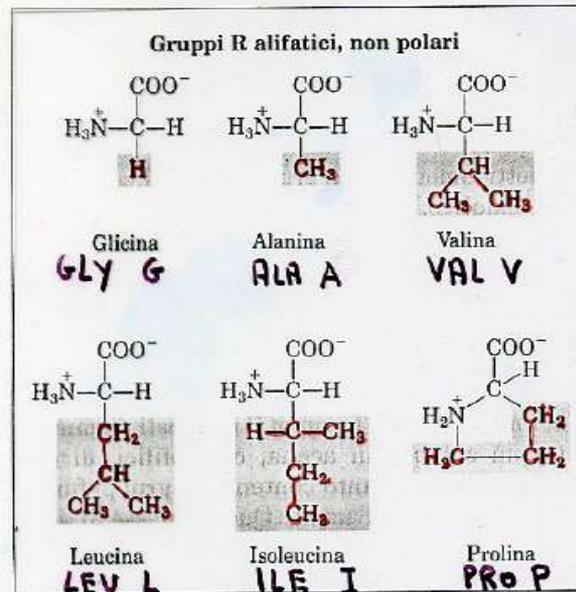
L-Alanine



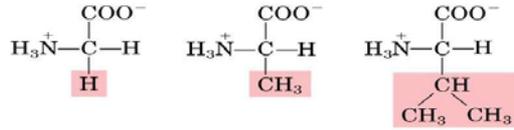
D-Alanine

(b)

LE FAMIGLIE degli AMMINOACIDI



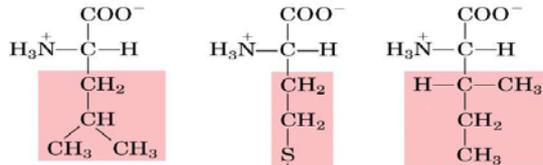
Nonpolar, aliphatic R groups



Glycine

Alanine

Valine

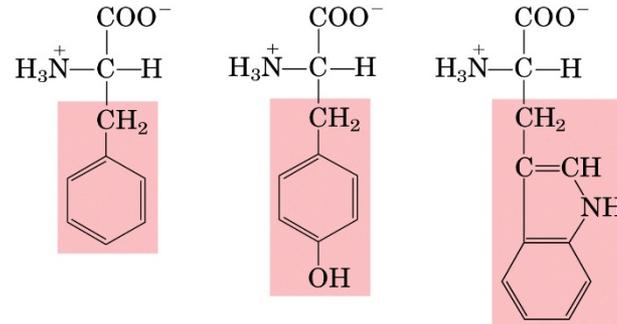


Leucine

Methionine

Isoleucine

Aromatic R groups

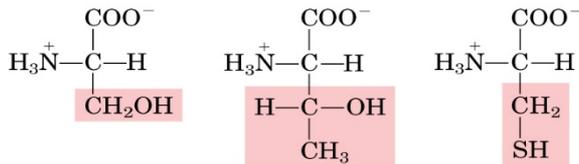


Phenylalanine

Tyrosine

Tryptophan

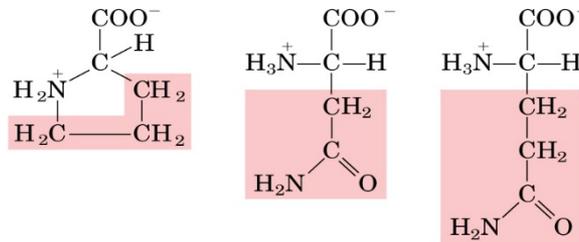
Polar, uncharged R groups



Serine

Threonine

Cysteine

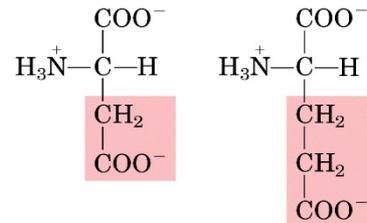


Proline

Asparagine

Glutamine

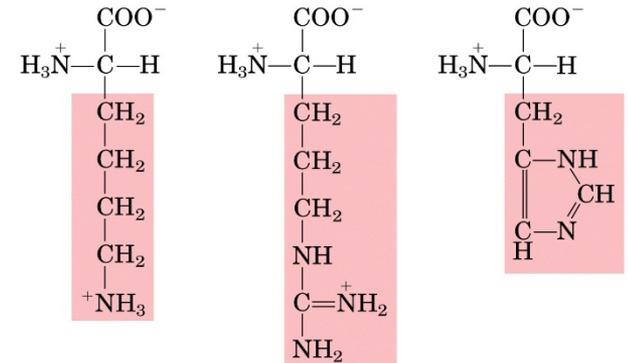
Negatively charged R groups



Aspartate

Glutamate

Positively charged R groups



Lysine

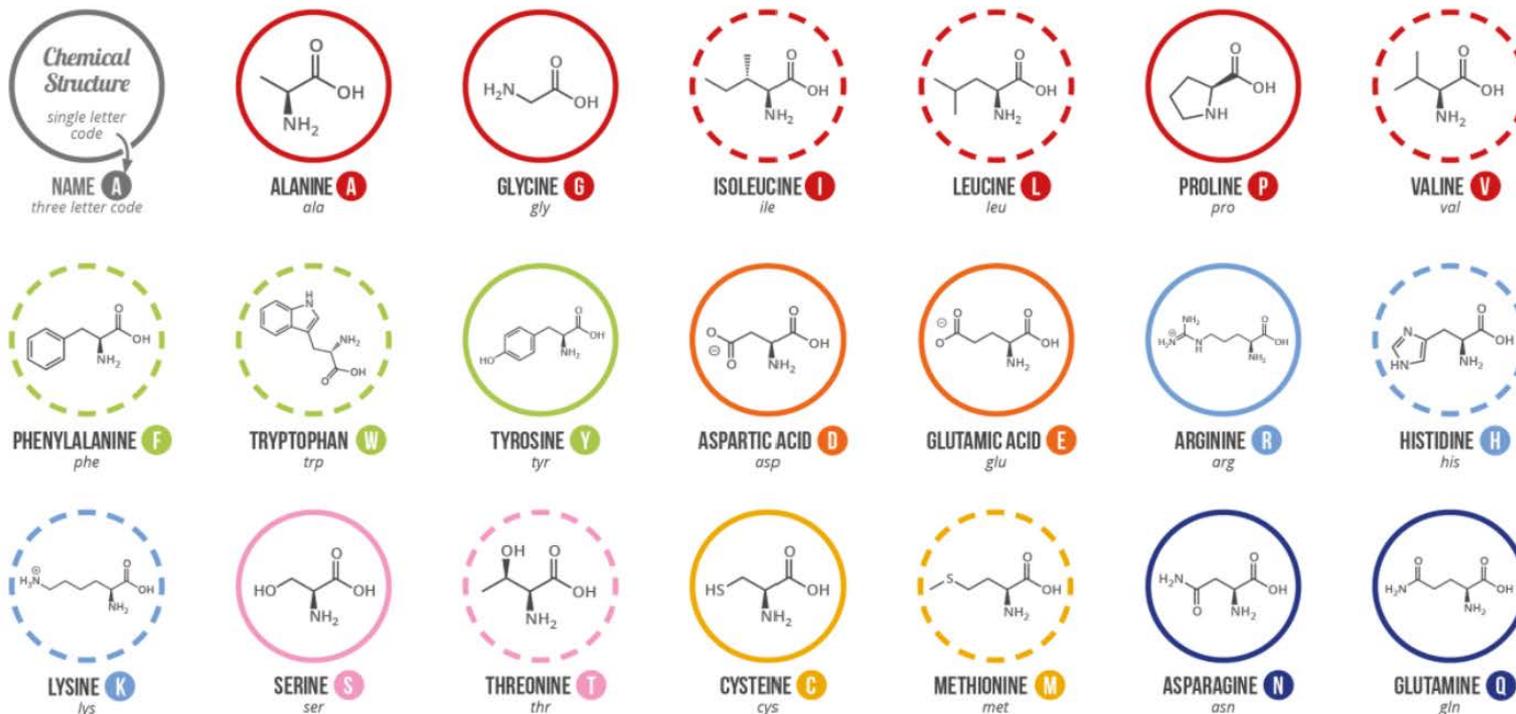
Arginine

Histidine

A GUIDE TO THE TWENTY COMMON AMINO ACIDS

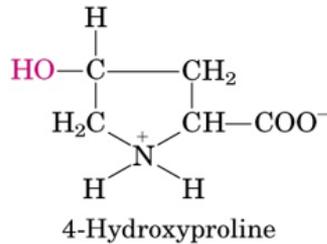
AMINO ACIDS ARE THE BUILDING BLOCKS OF PROTEINS IN LIVING ORGANISMS. THERE ARE OVER 500 AMINO ACIDS FOUND IN NATURE - HOWEVER, THE HUMAN GENETIC CODE ONLY DIRECTLY ENCODES 20. 'ESSENTIAL' AMINO ACIDS MUST BE OBTAINED FROM THE DIET, WHILST NON-ESSENTIAL AMINO ACIDS CAN BE SYNTHESISED IN THE BODY.

Chart Key: ● ALIPHATIC ● AROMATIC ● ACIDIC ● BASIC ● HYDROXYLIC ● SULFUR-CONTAINING ● AMIDIC ○ NON-ESSENTIAL ○ ESSENTIAL

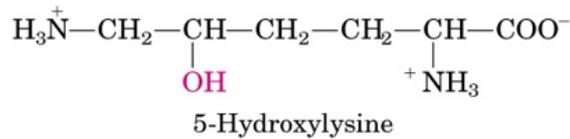


Note: This chart only shows those amino acids for which the human genetic code directly codes for. Selenocysteine is often referred to as the 21st amino acid, but is encoded in a special manner. In some cases, distinguishing between asparagine/aspartic acid and glutamine/glutamic acid is difficult. In these cases, the codes asx (B) and glx (Z) are respectively used.

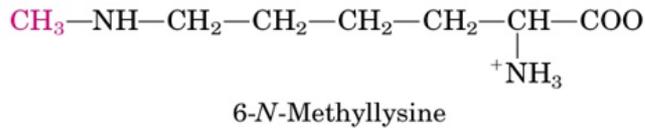
Alcuni amminoacidi vengono modificati quando fanno già parte della catena proteica



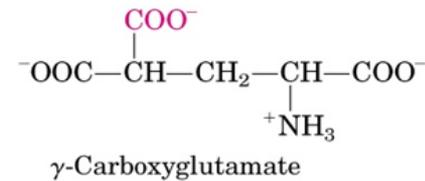
Nella parete cellule vegetali



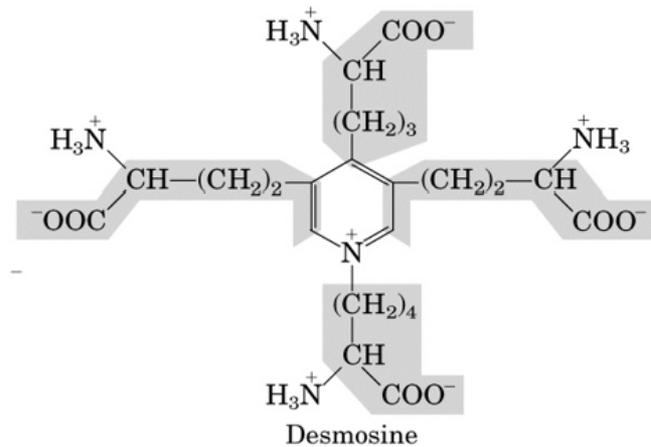
Nel collagene



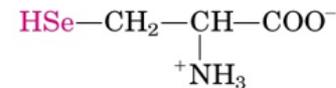
Nella miosina



Nella protrombina



Nella elastina



Selenocysteine

Nella glutatione perossidasi

table 5–1

Properties and Conventions Associated with the Standard Amino Acids

Amino acid	Abbreviated names		M_r	pK_a values			pI	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%)
				pK_1 (–COOH)	pK_2 (–NH ₃ ⁺)	pK_R (R group)			
Nonpolar, aliphatic R groups									
Glycine	Gly	G	75	2.34	9.60		5.97	–0.4	7.2
Alanine	Ala	A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Valine	Val	V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu	L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile	I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met	M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
Aromatic R groups									
Phenylalanine	Phe	F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr	Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	–1.3	3.2
Tryptophan	Trp	W	204	2.38	9.39		5.89	–0.9	1.4
Polar, uncharged R groups									
Serine	Ser	S	105	2.21	9.15		5.68	–0.8	6.8
Proline	Pro	P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2
Threonine	Thr	T	119	2.11	9.62		5.87	–0.7	5.9
Cysteine	Cys	C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn	N	132	2.02	8.80		5.41	–3.5	4.3
Glutamine	Gln	Q	146	2.17	9.13		5.65	–3.5	4.2
Positively charged R groups									
Lysine	Lys	K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	–3.9	5.9
Histidine	His	H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	–3.2	2.3
Arginine	Arg	R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	–4.5	5.1
Negatively charged R groups									
Aspartate	Asp	D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	–3.5	5.3
Glutamate	Glu	E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	–3.5	6.3

*A scale combining hydrophobicity and hydrophilicity of R groups; it can be used to measure the tendency of an amino acid to seek an aqueous environment (– values) or a hydrophobic environment (+ values). See Chapter 12. From Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) *J. Mol. Biol.* **157**, 105–132.

†Average occurrence in over 1150 proteins. From Doolittle, R.F. (1989) Redundancies in protein sequences. In *Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation* (Fasman, G.D., ed) Plenum Press, NY, pp. 599–623.

TABELLA 2-4. Nutrienti essenziali per l'uomo

Aminoacidi	Acidi grassi	Vitamine	Minerali	Altri
		<i>Solubili in acqua</i>	<i>Abbondanti</i>	
Fenilalanina	Linoleico	Tiamina (B ₁)	Sodio	Acqua
Valina	Linolenico	Riboflavina (B ₂)	Potassio	Energia
Treonina		Niacina	Fosforo	
Triptofano		Piridossina (B ₆)	Magnesio	
Isoleucina		Pantotenato	Calcio	
Metionina		Folato	Cloro	
Istidina*		Cobalamina (B ₁₂)		
Arginina†		Ascorbato (C)	<i>Presenti in tracce</i>	
Leucina		Biotina‡	Cromo	
Lisina		Mioinositolo‡	Cobalto‡	
			Rame	
			Iodio	
		<i>Solubili nei grassi</i>	Ferro	
		A	Molibdeno	
		D	Selenio	
		E	Zinco	
		K	Fluoro§	

* Essenziale per i bambini.

† Il fabbisogno per l'organismo umano non è stata ancora stabilito.

‡ Come vitamina B₁₂.

§ Fortifica ossa e denti, non è stata definito come essenziale.

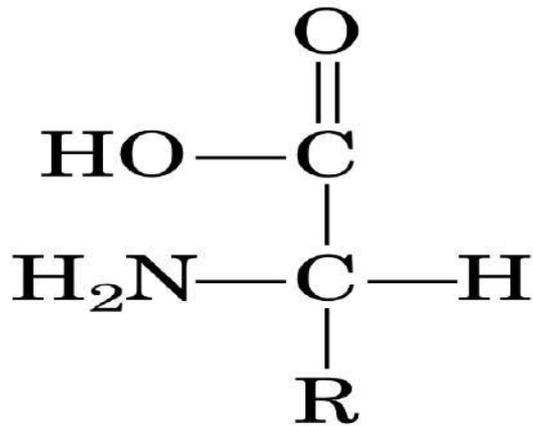
Table 1.12. Taste of amino acids in aqueous solution at pH 6–7 sw – sweet, bi – bitter, neu – neutral

Amino acid	Taste			
	L-Compound		D-Compound	
	Quality	Intensity ^a	Quality	Intensity ^a
Alanine	sw	12–18	sw	12–18
Arginine	bi		neu	
Asparagine	neu		sw	3–6
Aspartic acid	neu		neu	
Cystine	neu		neu	
Glutamine	neu		sw	
Glutamic acid	meat broth like (3.0)		neu	
Glycine ^b	sw	25–35		
Histidine	bi	45–50	sw	2–4
Isoleucine	bi	10–12	sw	8–12
Leucine	bi	11–13	sw	2–5
Lysine	sw		sw	
Methionine	sulphurous		sulphurous	
			sw	4–7
Phenylalanine	bi	5–7	sw	1–3
Proline	sw	25–40	neu	
	bi	25–27		
Serine	sw	25–35	sw	30–40
Threonine	sw	35–45	sw	40–50
Tryptophan	bi	4–6	sw	0.2–0.4
Tyrosine	bi	4–6	sw	1–3
1-Aminocycloalkane-1-carboxylic acid ^b				
Cyclobutane derivative	sw	20–30		
Cyclopentane derivative	sw	3–6		
	bi	95–100		
Cyclohexane derivative	sw	1–3		
	bi	45–50		
Cyclooctane derivative	sw	2–4		
	bi	2–5		
Caffeine	bi	1–1.2		
Saccharose	sw	10–12		

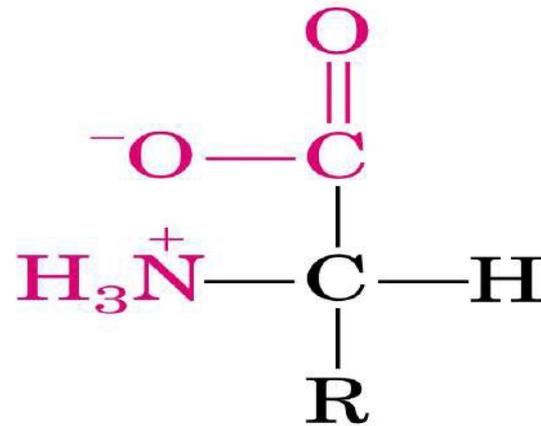
^a Recognition threshold value (mmol/l).^b Compounds not optically active.

IL COMPORTAMENTO ACIDO-BASE DEGLI AMMINOACIDI

NELLE SOLUZIONI ACQUOSE VICINE ALLA NEUTRALITA' (pH 6-7), GLI AMMINOACIDI SI IONIZZANO.



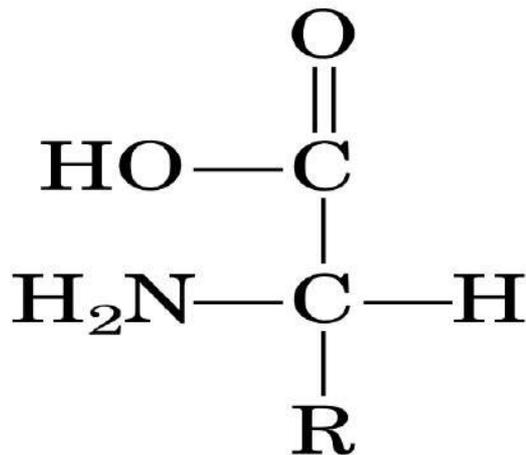
Nonionic
form



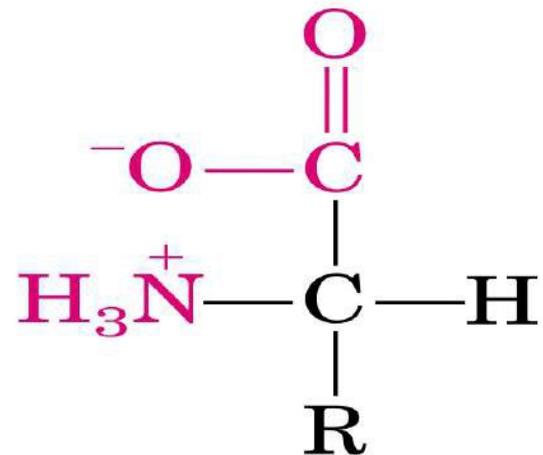
Zwitterionic
form

IL COMPORTAMENTO ACIDO-BASE DEGLI AMMINOACIDI

LO SWITTERIONE: è una forma ionica dipolare di un amminoacido che si forma in seguito alla cessione di uno ione H^+ dal gruppo α carbossilico al gruppo α amminico. Essendo presenti entrambe le cariche, **la carica netta è zero.**



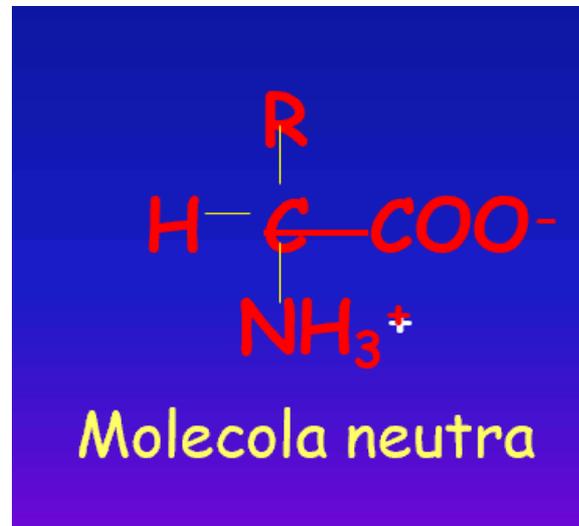
Nonionic
form



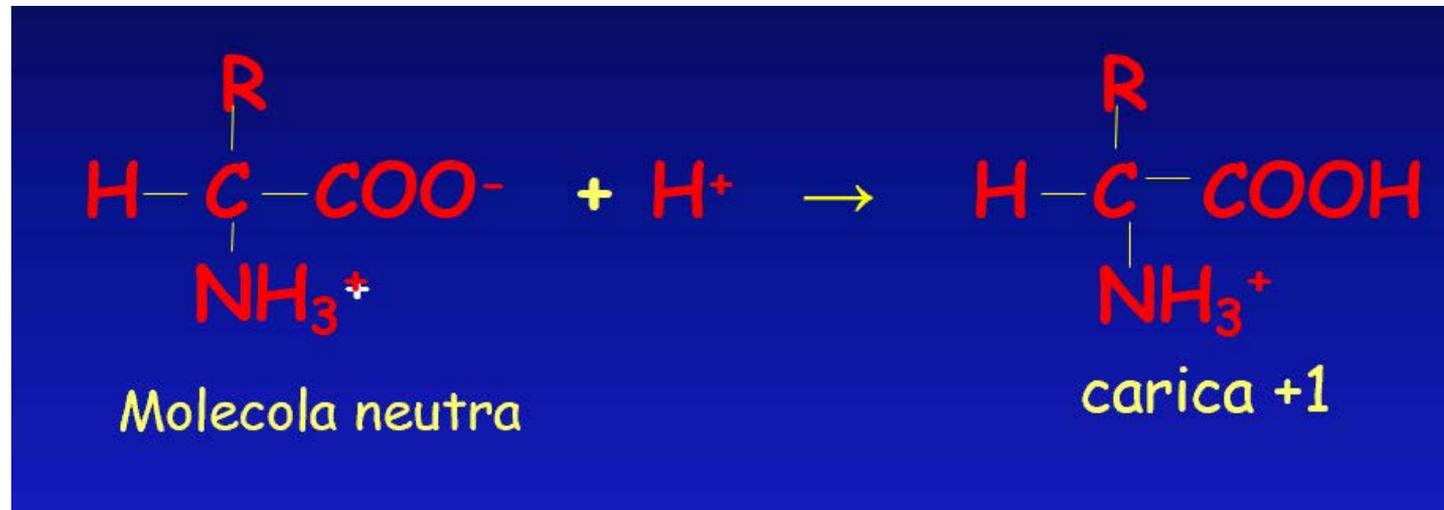
Zwitterionic
form

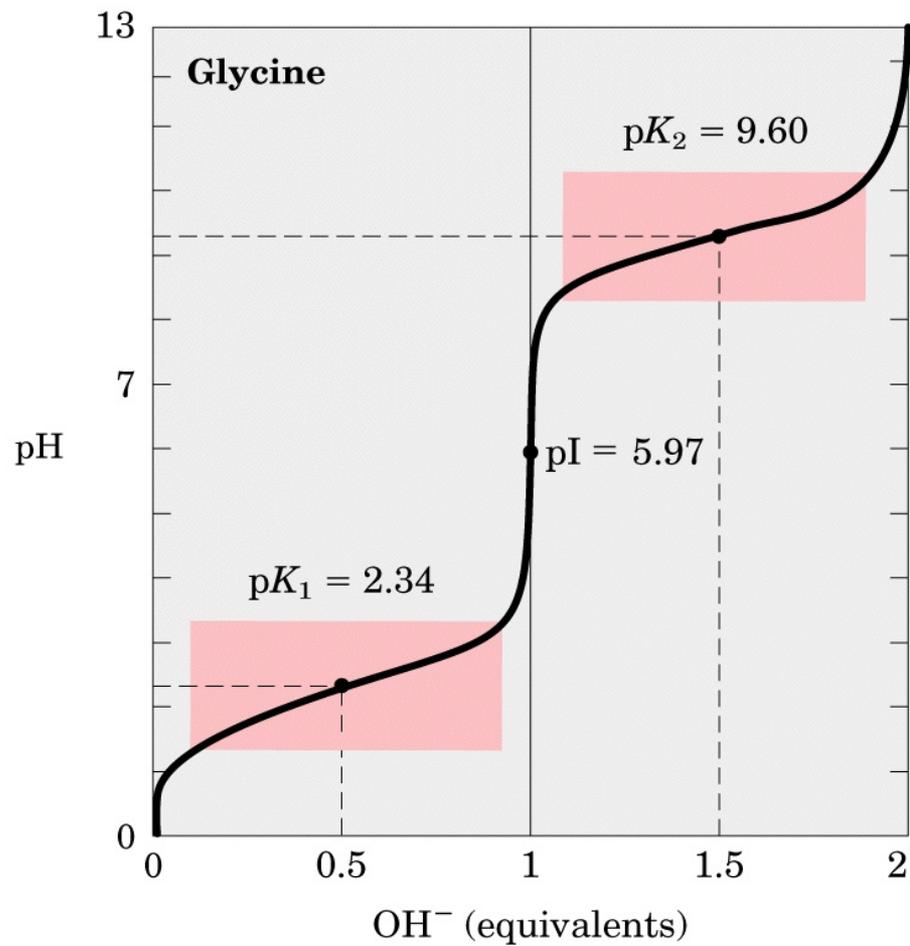
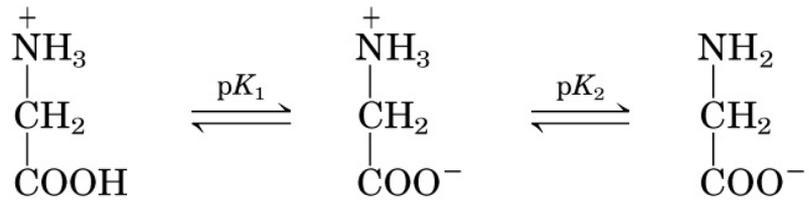
Gli amminoacidi sono molecole anfotere:
possono agire sia da acidi, sia da basi

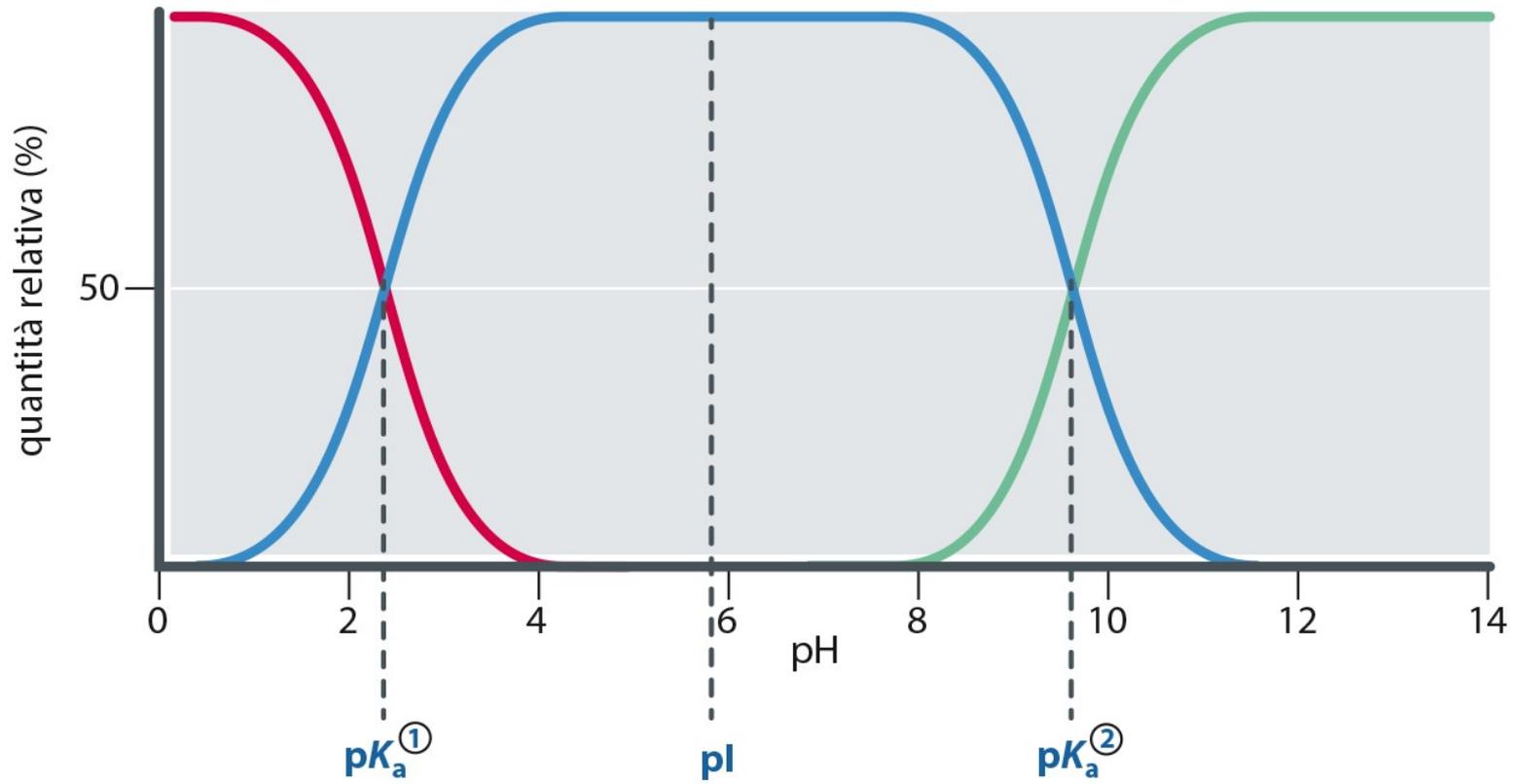
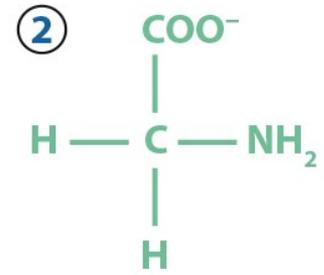
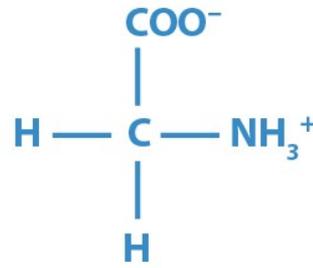
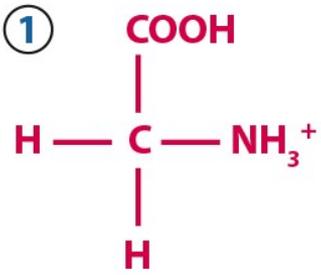
In soluzioni acquose attorno a **pH 6-7**,
la maggior parte degli amminoacidi sono **ioni dipolari
neutri**:



In una soluzione acida, il gruppo carbossilato accetta uno ione idrogeno e la carica elettrica dell'amminoacido passa da 0 a +1

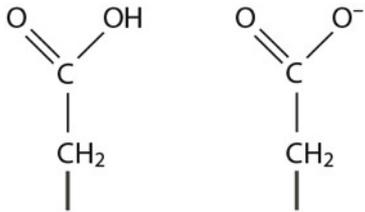




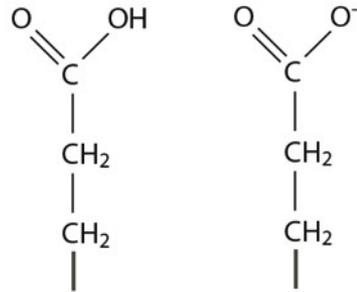


basico a pH 7,4

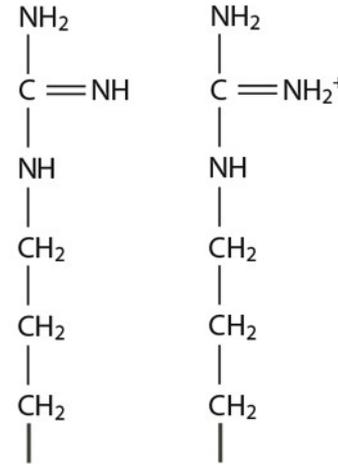
acido a pH 7,4



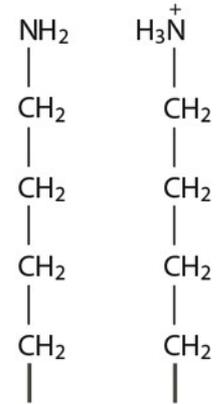
acido aspartico



acido glutammico

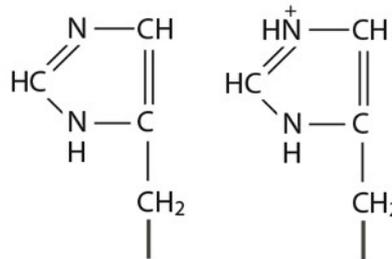


arginina



lisina

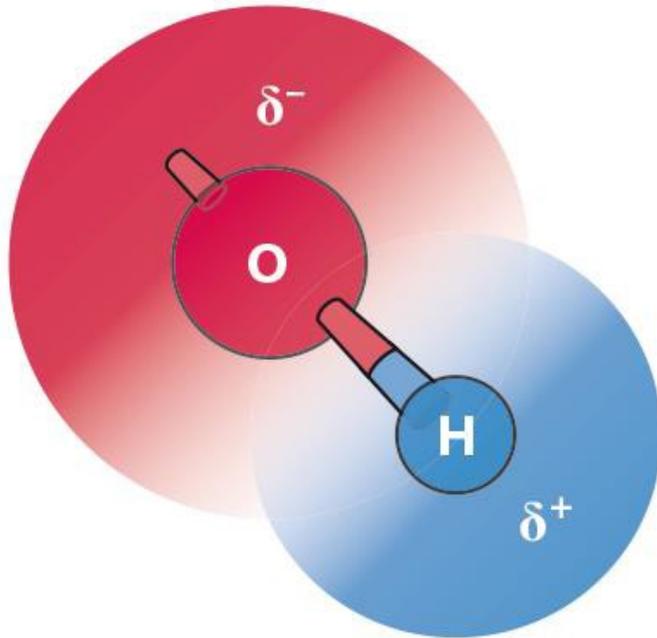
miscela delle forme ionizzata e non ionizzata a pH 7,4



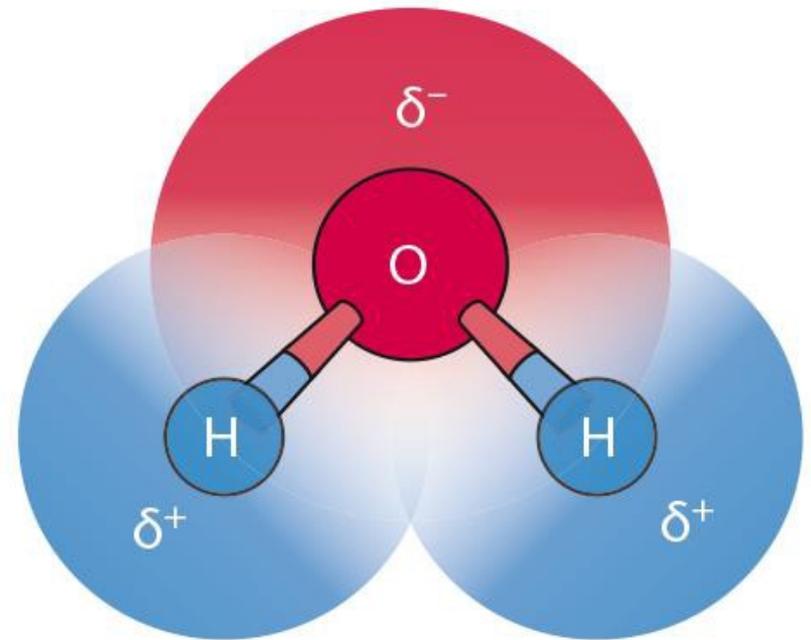
istidina

POLARITA' DI UN GRUPPO OSSIDRILE E UNA MOLECOLA D'ACQUA

(A) gruppo ossidrile



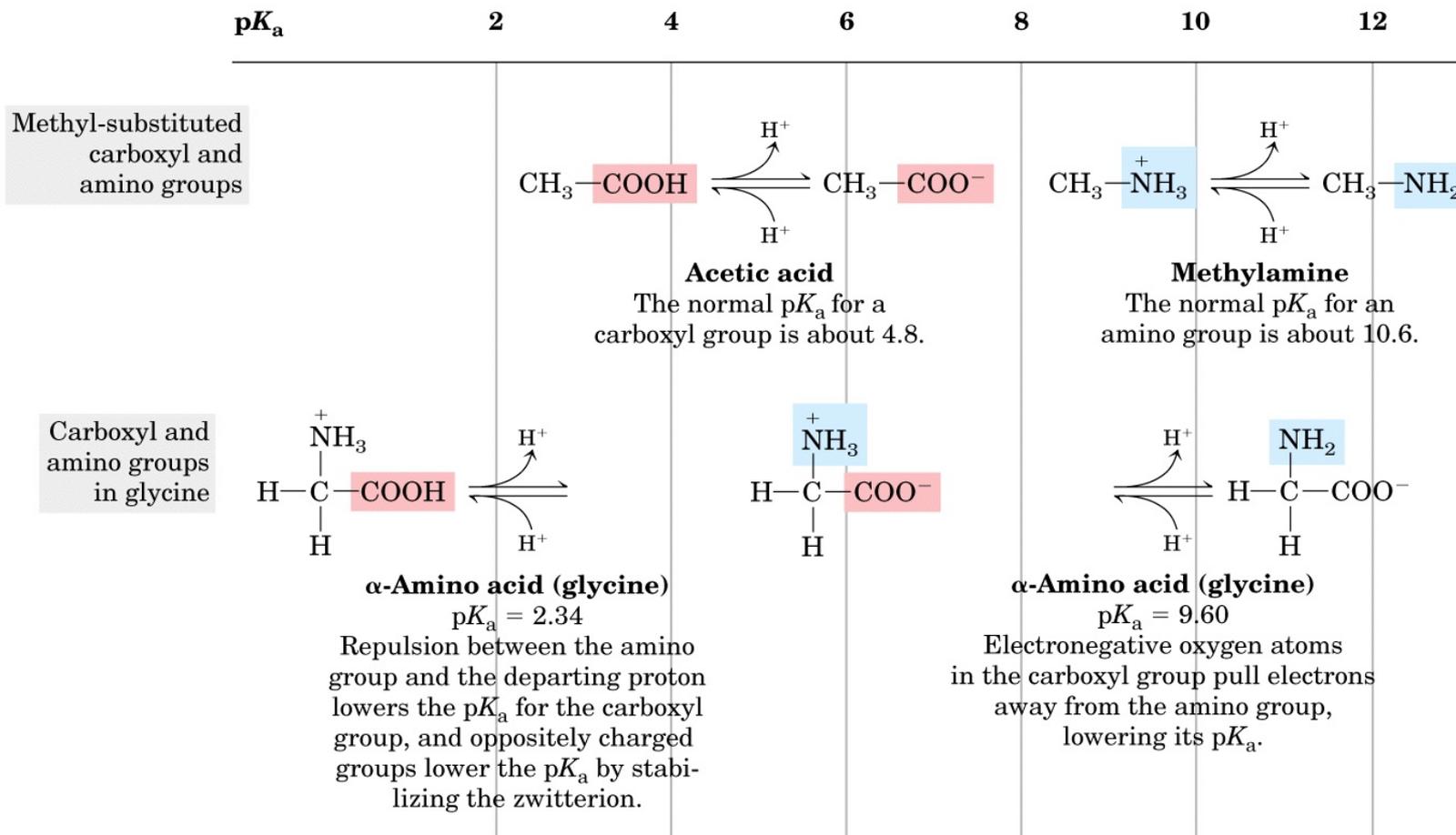
(B) molecola d'acqua

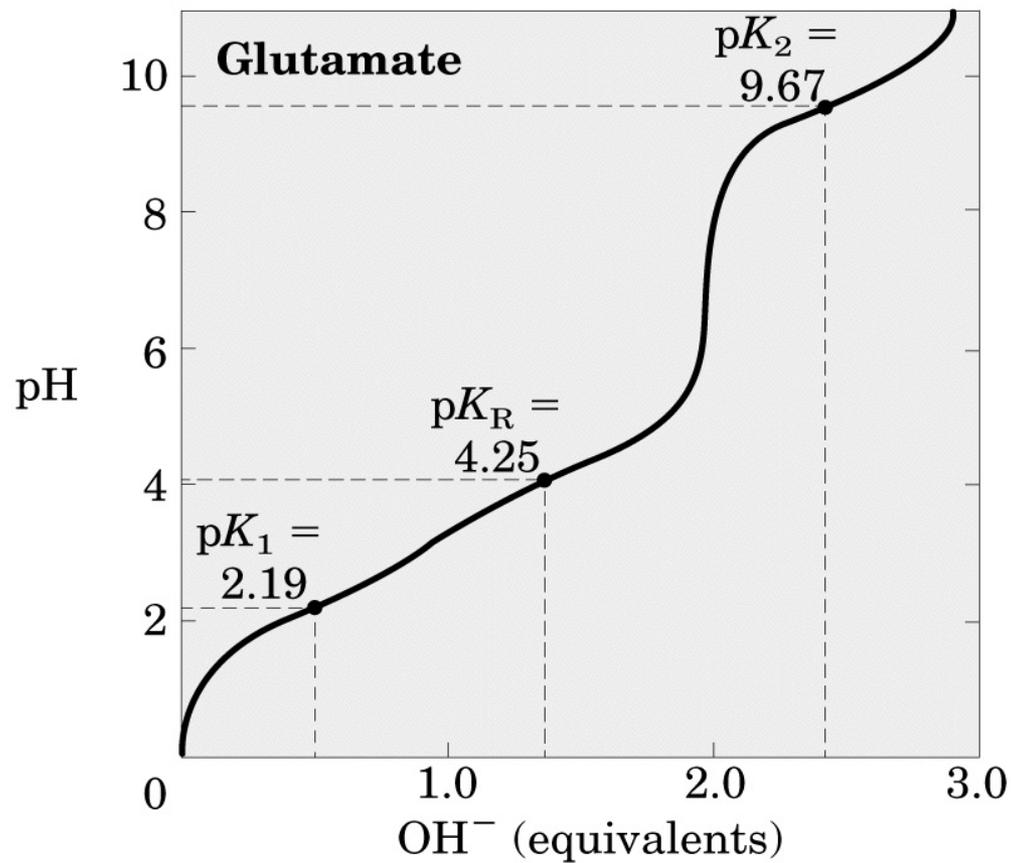
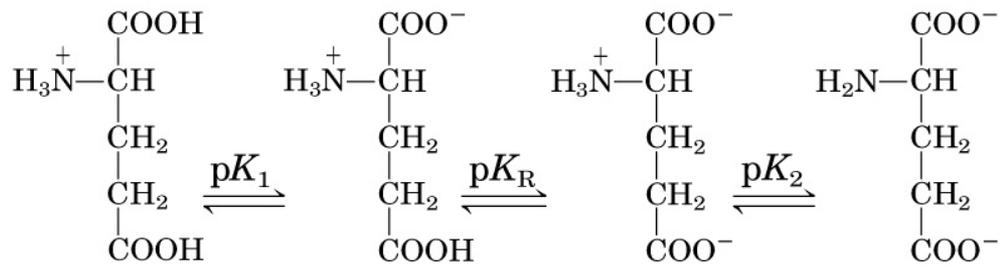


AA polari idrofili (serina, treonina, cisteina, asparagina e glutammina) con gruppi $-OH$, $-SH$ e $-CONH_2$;

AA apolari idrofobi (alanina, glicina, fenilalanina, isoleucina,, leucina, metionina, prolina, triptofano, tirosina e valina).

In un a.a. acido o basico ci sono 3 pKa, il PI negli acidi è tra pK₁ e pK₂, nei basici tra pK₂ e pK₃



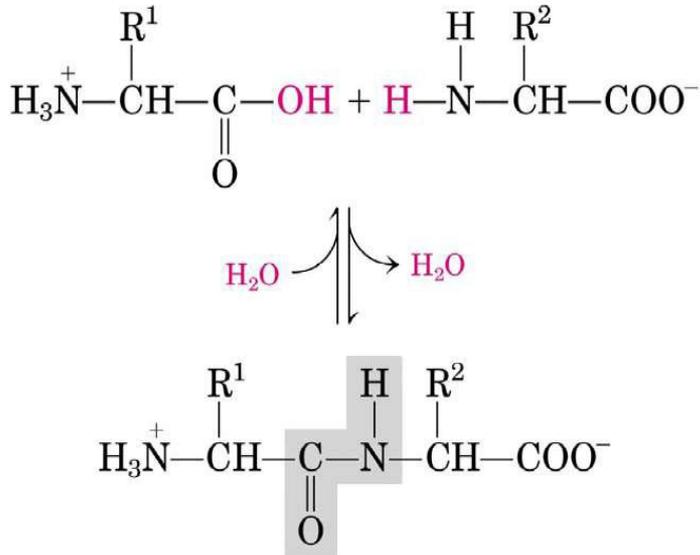


(a)

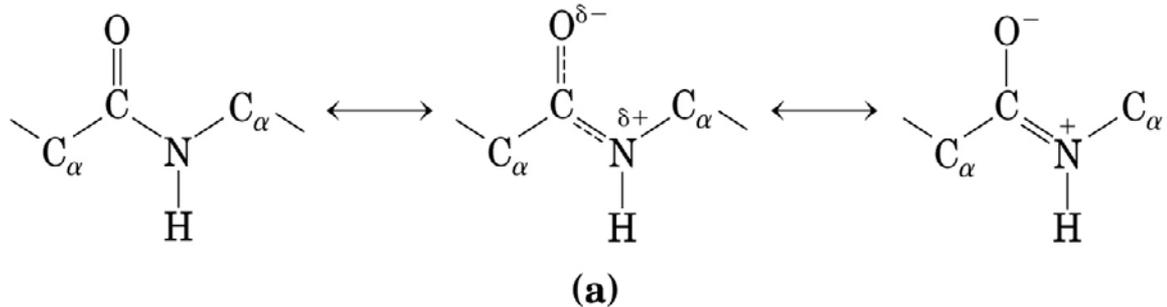
IL LEGAME PEPTIDICO

LA FORMAZIONE DEL LEGAME PEPTIDICO E' ENDOERGONICA.

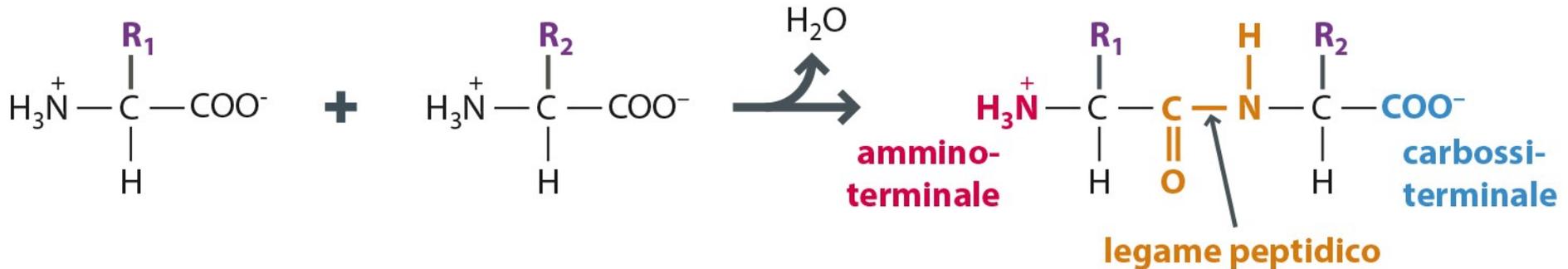
$$\delta G = 21 \text{ KJ/Mole}$$



The carbonyl oxygen has a partial negative charge and the amide nitrogen a partial positive charge, setting up a small electric dipole. Virtually all peptide bonds in proteins occur in this trans configuration; an exception is noted in Figure 6-8b.



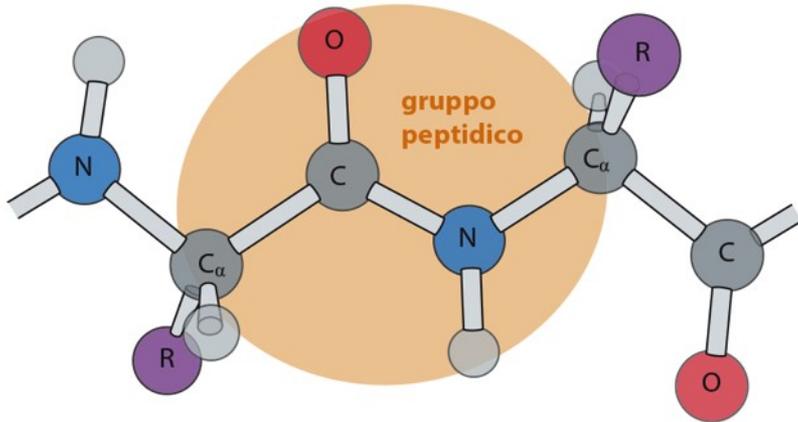
REAZIONE CHIMICA FRA DUE AA PER FORMARE UN LEGAME PEPTIDICO



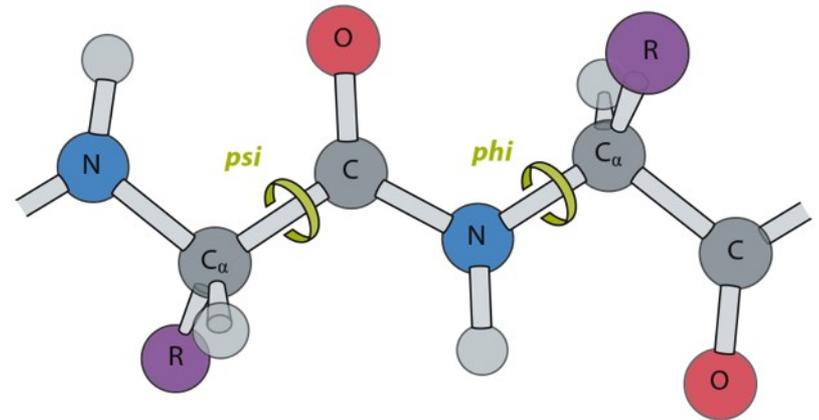
Reazione di condensazione con eliminazione di una molecola di H₂O

CARATTERISTICHE DEL LEGAME PEPTIDICO

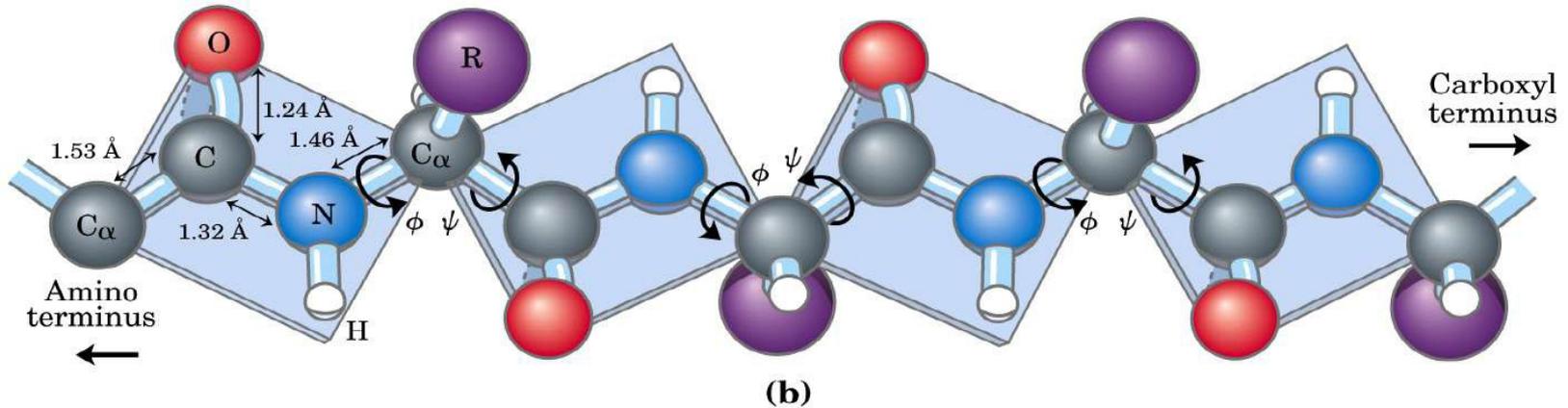
(A) il gruppo peptidico ha una struttura planare



(B) gli angoli *psi* e *phi*



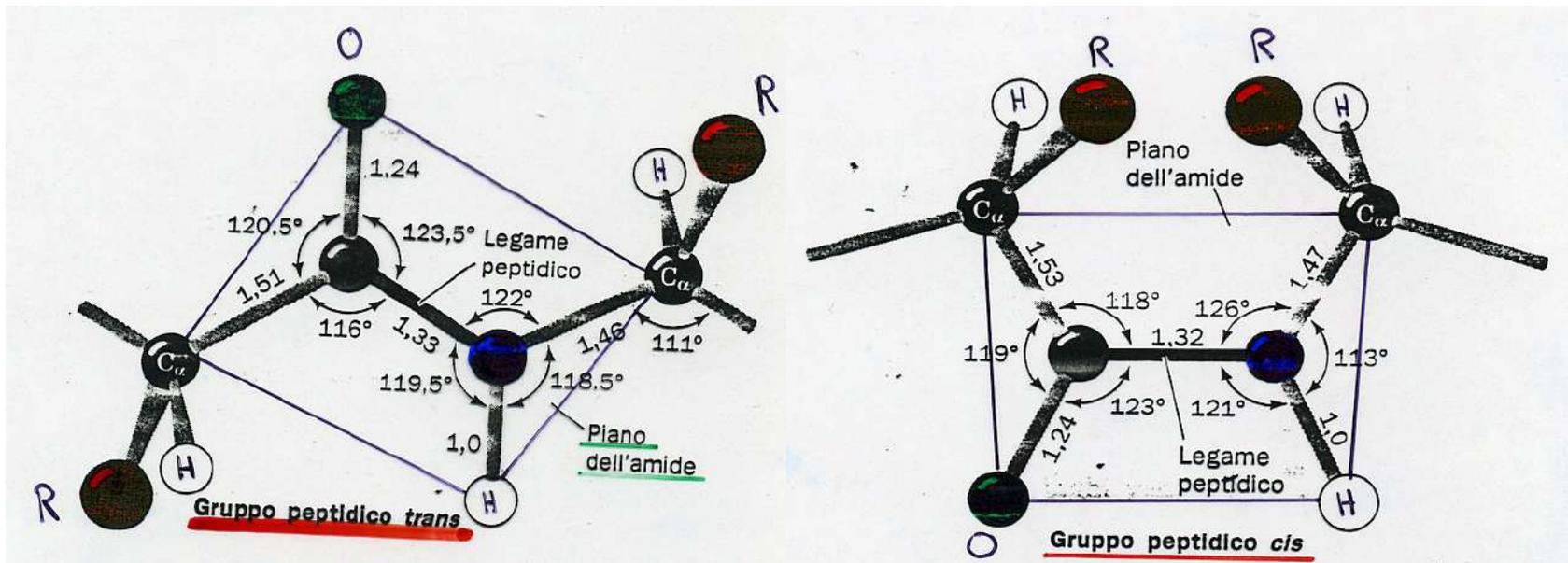
I GRUPPI PEPTIDICI SONO PLANARI E RIGIDI



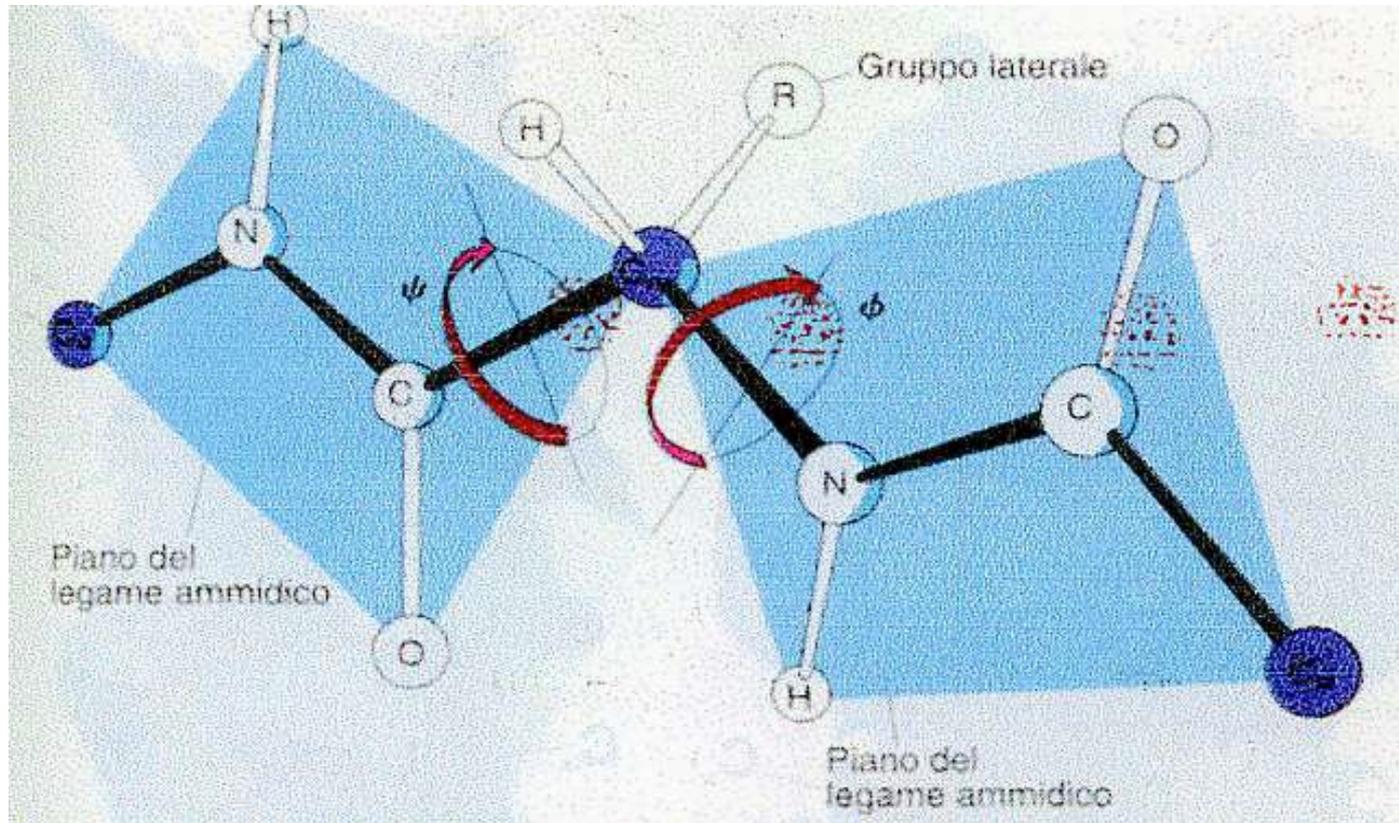
- LA RISONANZA CONFERISCE AL LEGAME PEPTIDICO IL CARATTERE DI **PARZIALE DOPPIO LEGAME**.
- GLI ATOMI DI $C\alpha$ SONO AI LATI OPPOSTI DEL LEGAME PEPTIDICO CHE LI TIENE UNITI (GRUPPO PEPTIDICO TRANS).
- $C-N = 1.49 \text{ \AA}$
- $C=N = 1.27 \text{ \AA}$

IL LEGAME PEPTIDICO

Il gruppo peptidico **trans** é piú stabile del gruppo peptidico **cis** (non presente nelle proteine), che sarebbe causa di interferenze steriche.

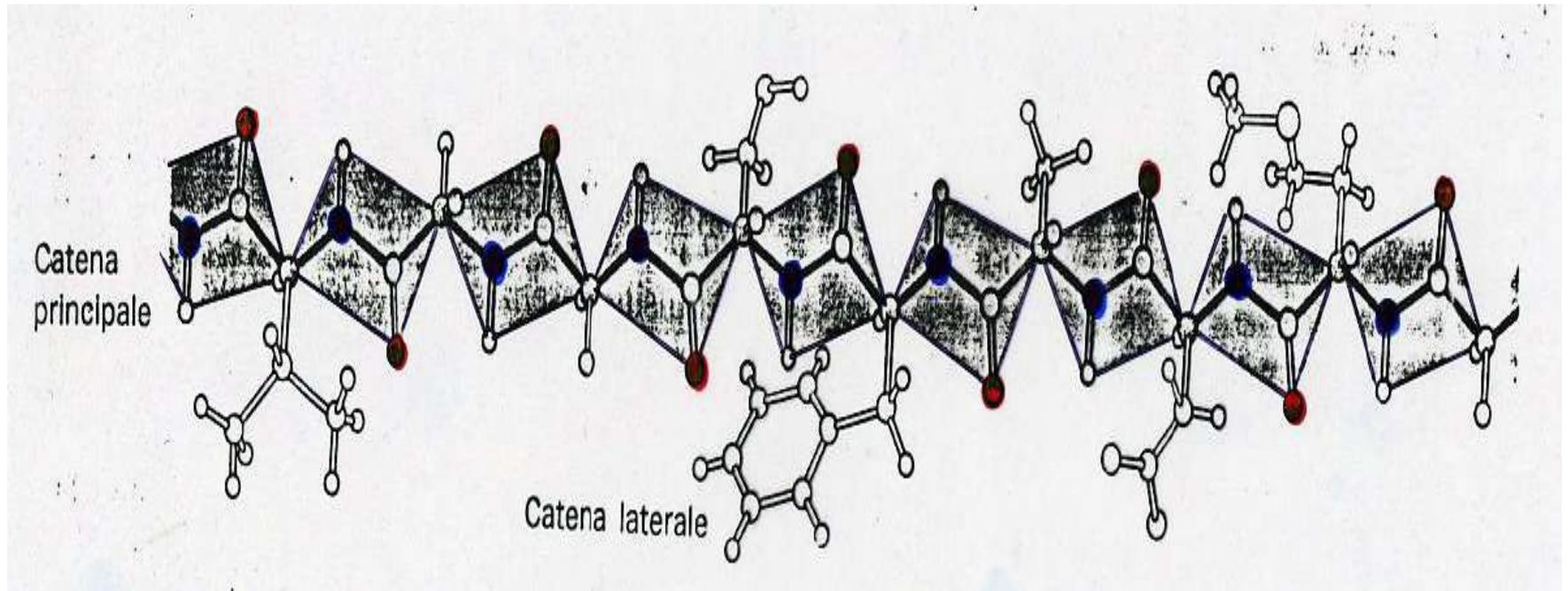


LA ROTAZIONE ATTORNO AI LEGAMI DI UNA CATENA POLIPEPTIDICA



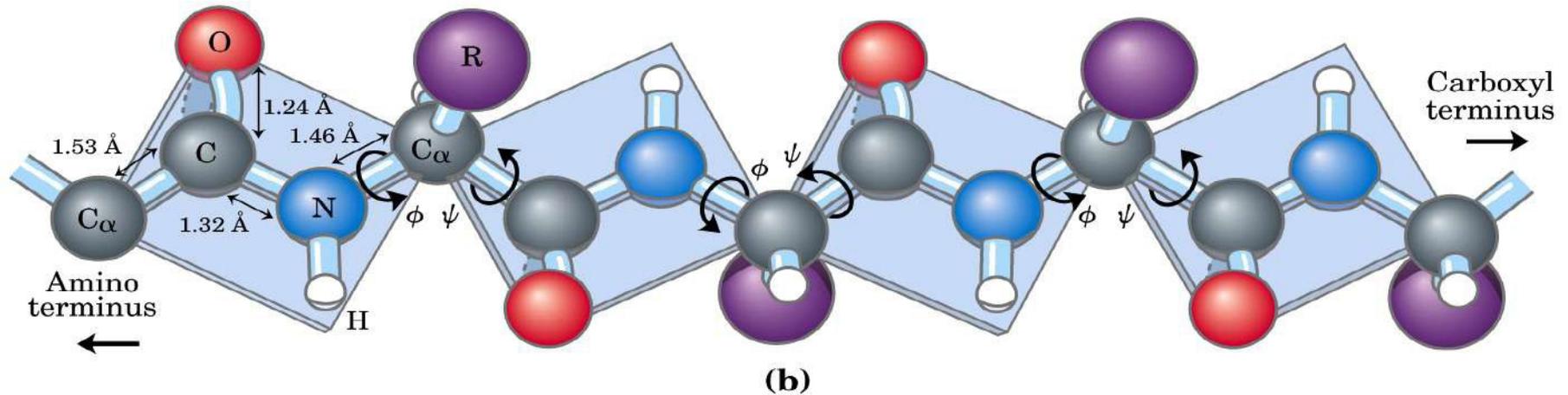
Non c'è possibilità di rotazione tra carbonio carbonilico ed azoto.

LA CATENA POLIPEPTIDICA



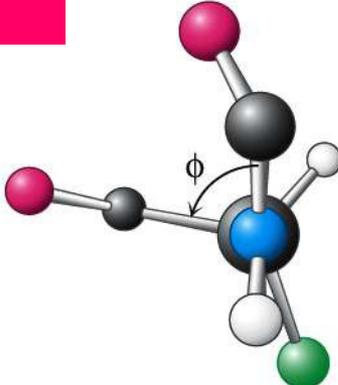
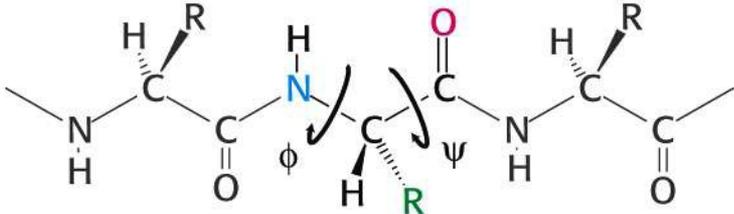
Essa é una sequenza di gruppi peptidici **planari e rigidi**.

GLI ANGOLI DI TORSIONE DELLO SCHELETRO POLIPEPTIDICO

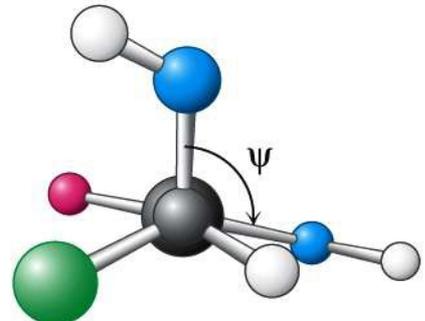


- Φ (FI) = ANGOLO DI ROTAZIONE INTORNO AL LEGAME C α -N
- Ψ (PSI) = ANGOLO DI ROTAZIONE INTORNO AL LEGAME C α -C

GLI ANGOLI Φ (FI) E Ψ (PSI) DETERMINANO LA STRUTTURA SECONDARIA

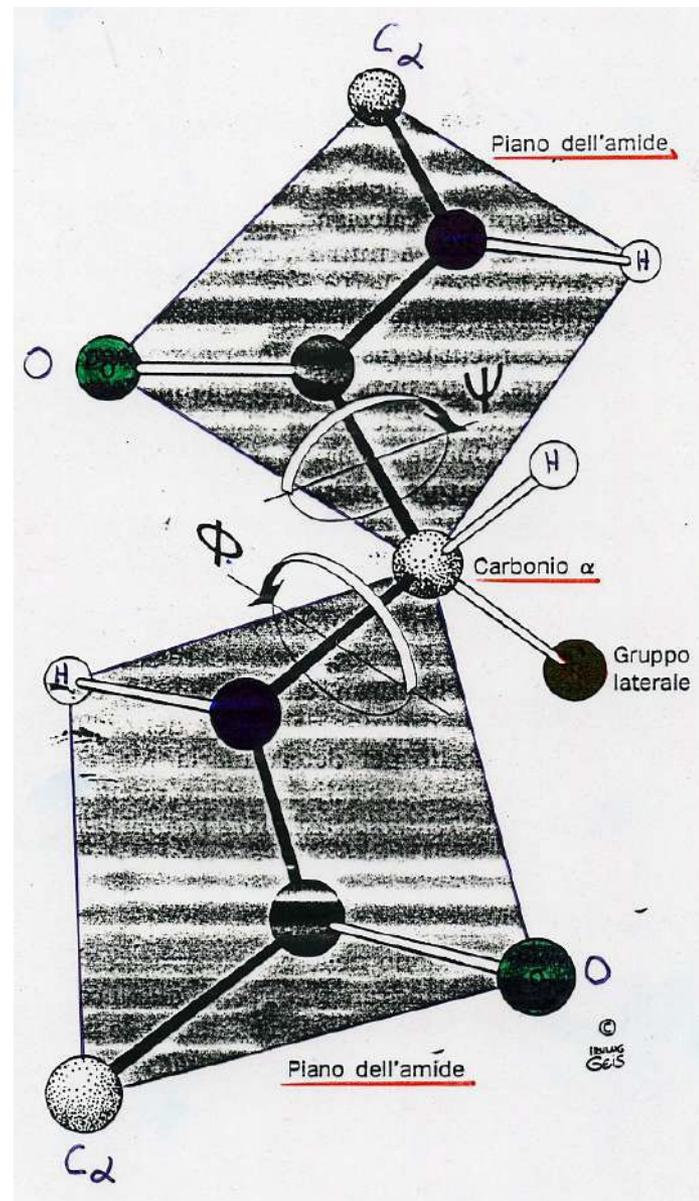


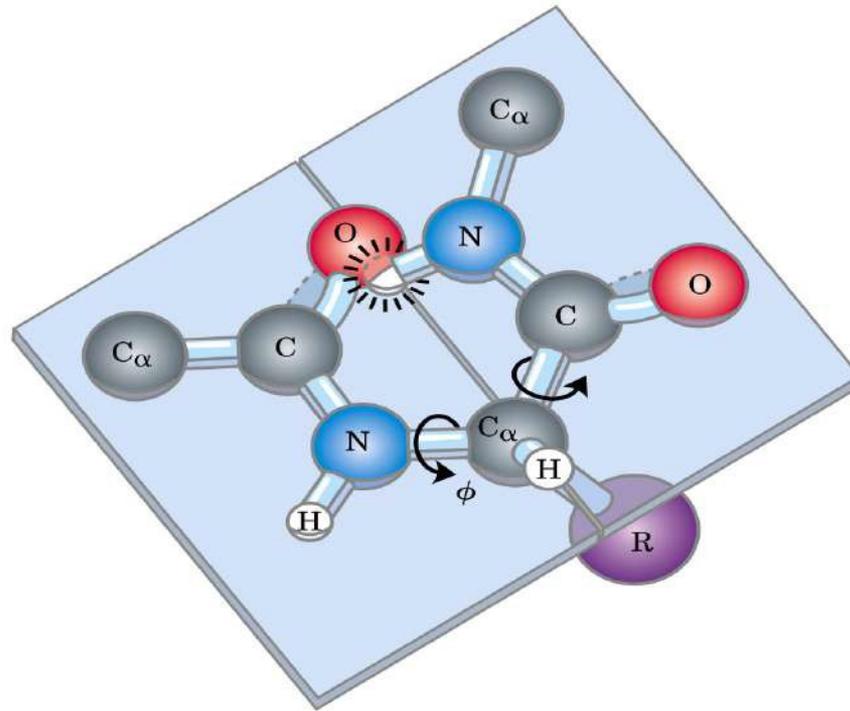
$\phi = -80^\circ$



$\psi = +85^\circ$

GLI ANGOLI DI TORSIONE DELLO SCHELETRO POLIPEPTIDICO

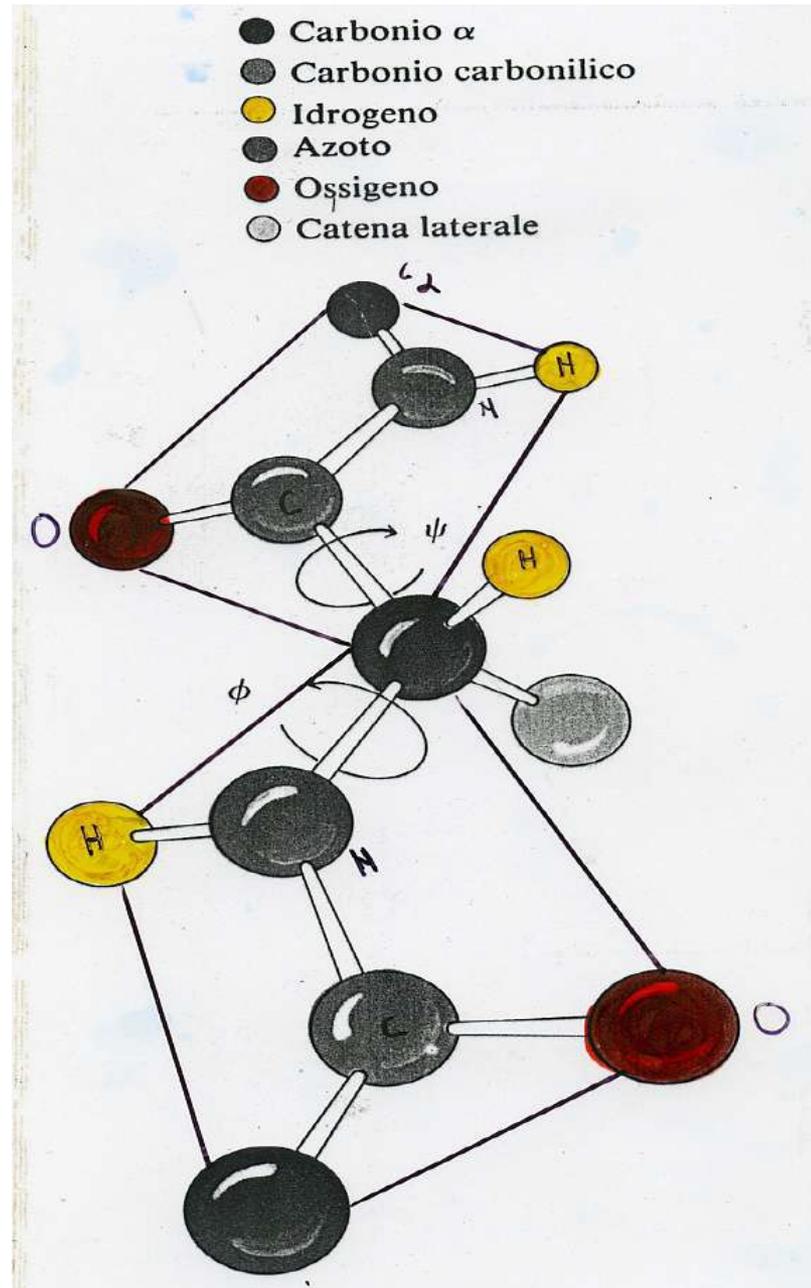




(c)

- PER CONVENZIONE GLI ANGOLI ϕ (fi) E ψ (psi) SONO DEFINITI PARI A 0° , QUANDO I DUE LEGAMI PEPTIDICI CHE FIANCHEGGIANO UN ATOMO DI $C\alpha$ SONO SULLO STESSO PIANO.
- QUESTA CONFORMAZIONE E' PROIBITA DA SOVRAPPOSIZIONI STERICHE, QUINDI E' PURAMENTE TEORICA.

GLI ANGOLI DI TORSIONE DELLO SCHELETRO POLIPEPTIDICO

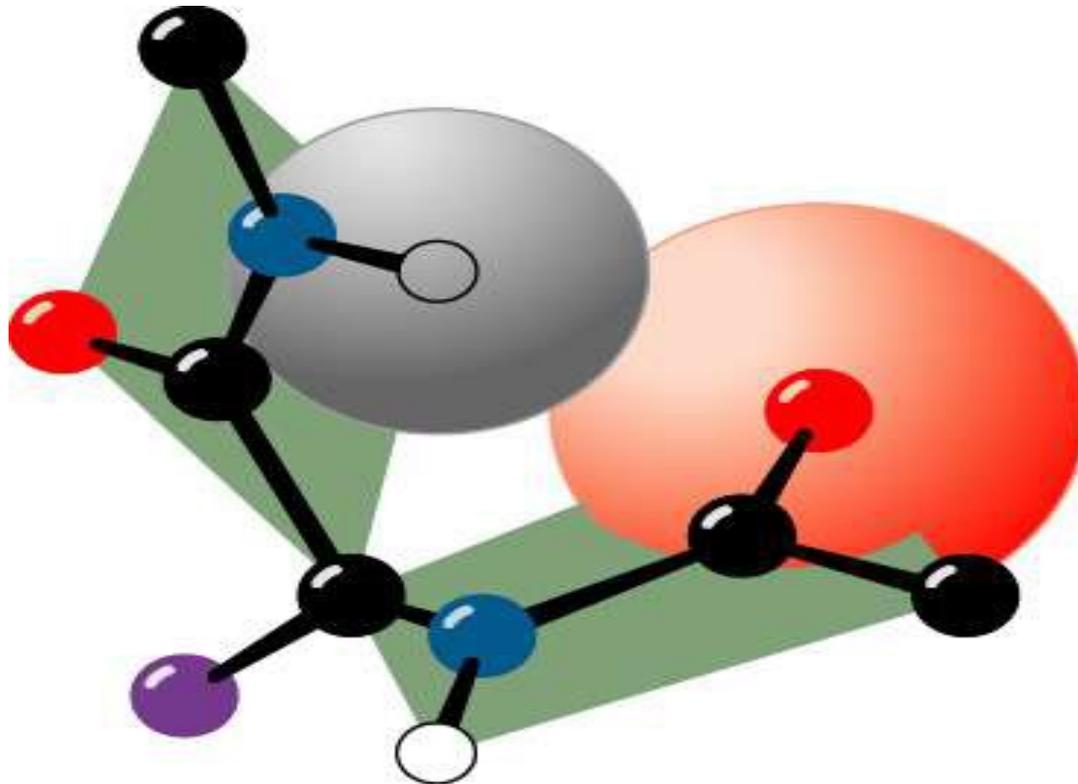


LE INTERFERENZE STERICHE

LE CONFORMAZIONI STERICAMENTE IMPOSSIBILI HANNO LE DISTANZE INTERATOMICHE, TRA ATOMI NON DIRETTAMENTE IMPEGNATI IN LEGAMI FRA LORO, **INFERIORI** A QUELLE DELLE CORRISPONDENTI DISTANZE DI VAN DER WAALS.

<i>Tipo di contatto</i>	<i>Permesso (Å)</i>	<i>Fuori limite (Å)</i>
H···H	2,0	1,9
H···O	2,4	2,2
H···N	2,4	2,2
H···C	2,4	2,2
O···O	2,7	2,6
O···N	2,7	2,6
O···C	2,8	2,7
N···N	2,7	2,6
N···C	2,9	2,8
C···C	3,0	2,9
C···CH ₂	3,2	3,0
CH ₂ ···CH ₂	3,2	3,0

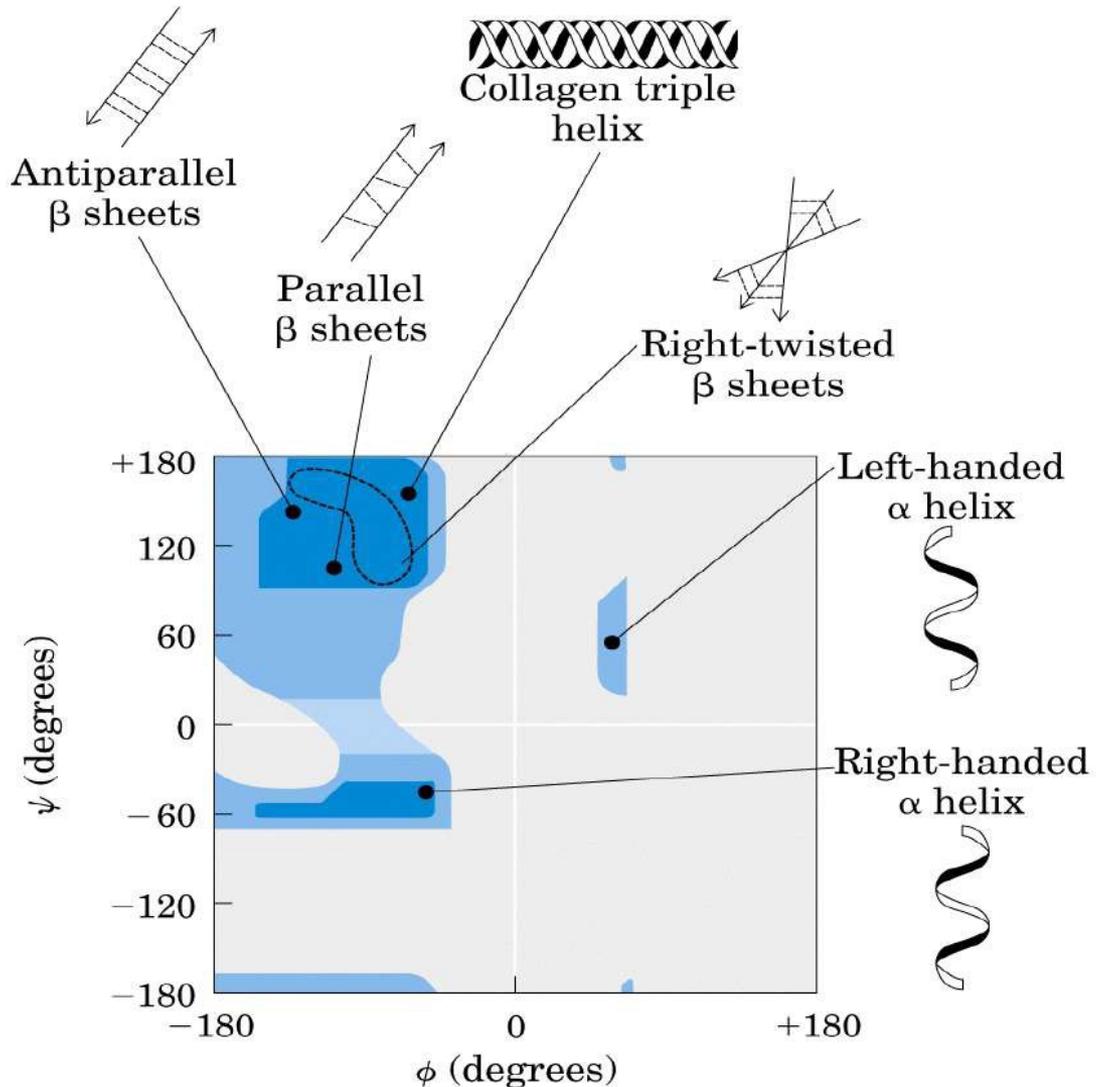
L'INTERFERENZA STERICA TRA L'OSSIGENO CARBONILICO E L'IDROGENO AMMIDICO DEL RESIDUO ADIACENTE



IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN

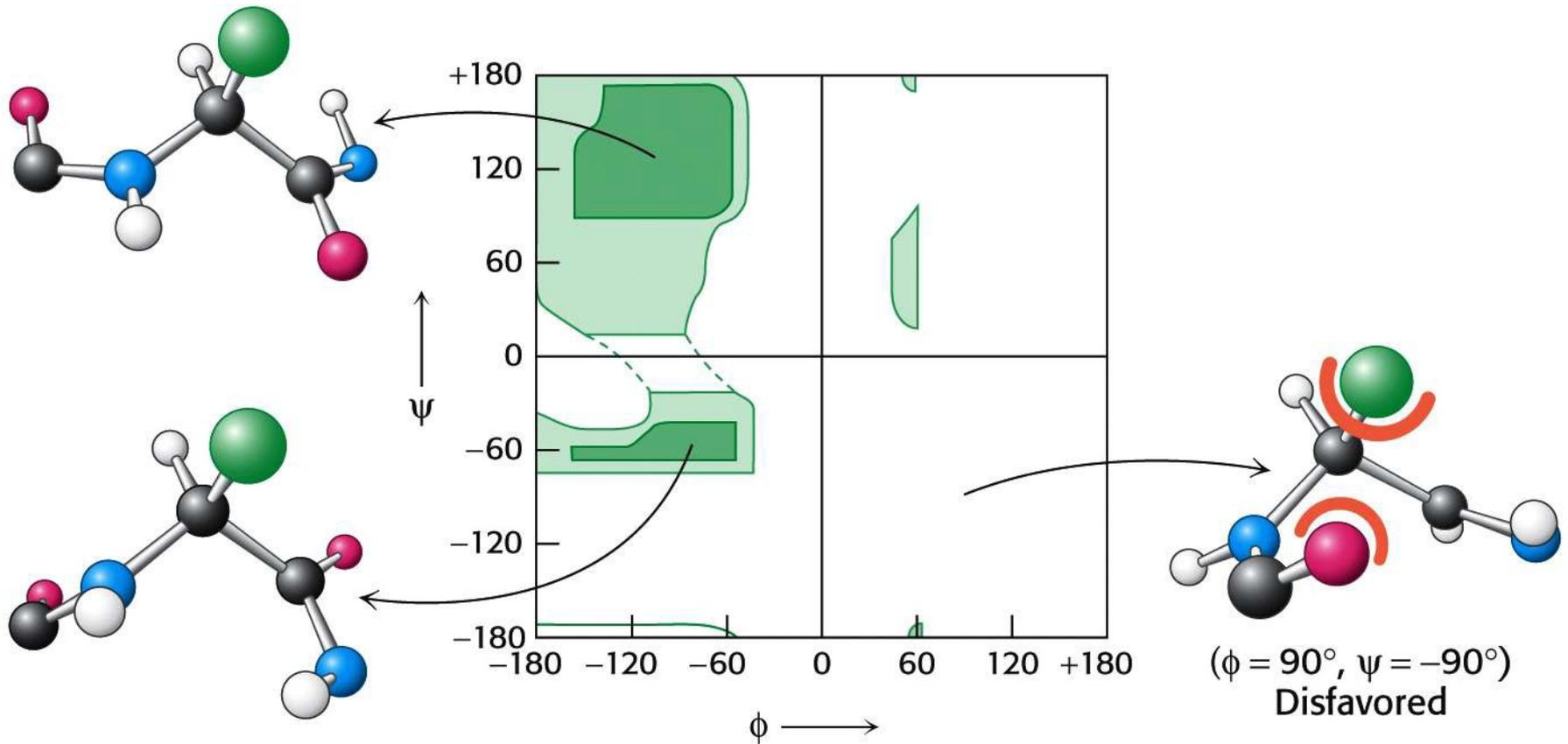
biochimico indiano
Ramachandran ipotizzò che
la conformazione di una
catena polipeptidica potesse
essere completamente
descritta riportando i valori
di ϕ (fi) e ψ (psi) per
ciascun residuo
amminoacidico, in un grafico
bidimensionale.

- Ψ psi (C-C α)
- Φ fi (N-C α)

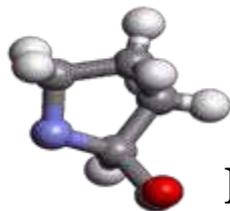


(a)

IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN



Eccezioni:



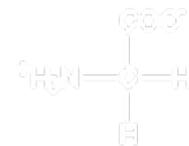
Pro

$-35^\circ < \phi < -85^\circ$



Gly

Minori limitazioni

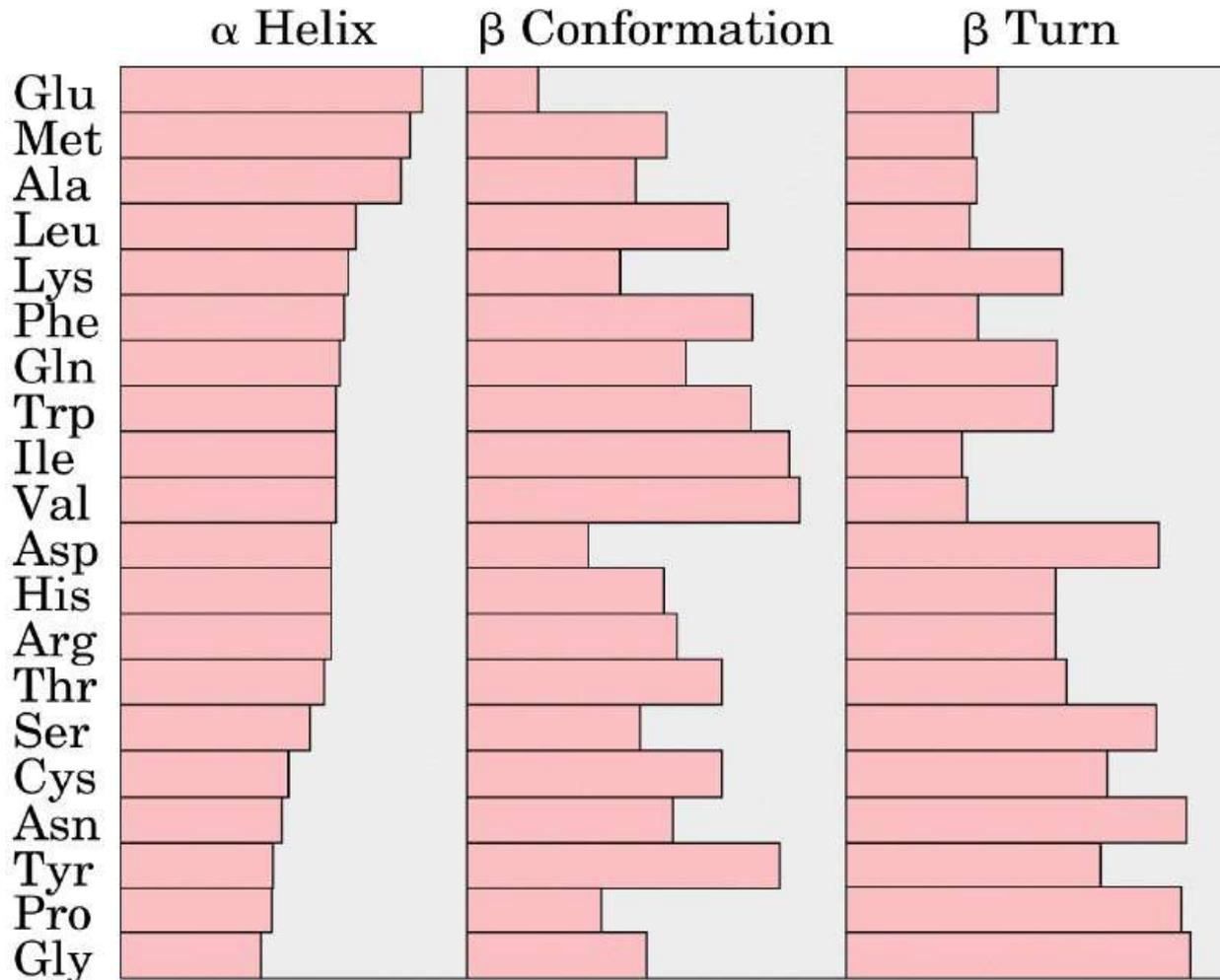


IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN

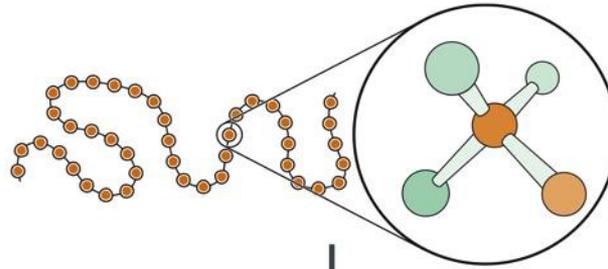
In conclusione,

indipendentemente dal tipo di proteina, i valori degli angoli ϕ e ψ di **tutti** gli amminoacidi tendono ad occupare le aree del grafico **più stabili**, nelle quali le distanze interatomiche tra atomi non direttamente impegnati in legami fra loro siano **superiori** ai rispettivi raggi atomici, così da **non** creare **interferenze steriche**.

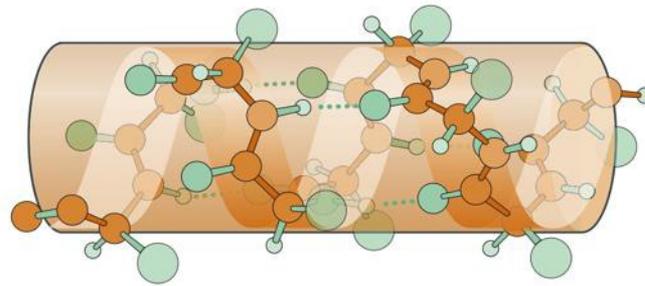
LE PROBABILITÀ RELATIVE DELLA PRESENZA DI UN DATO AMMINOACIDO NEI TRE TIPI PIÙ COMUNI DI STRUTTURA SECONDARIA



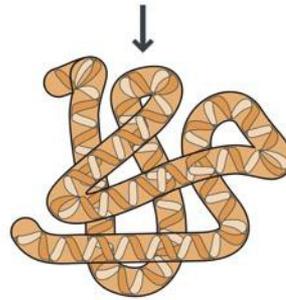
**I QUATTRO
LIVELLI
GERARCHICI
DELLA
STRUTTURA
DELLE
PROTEINE**



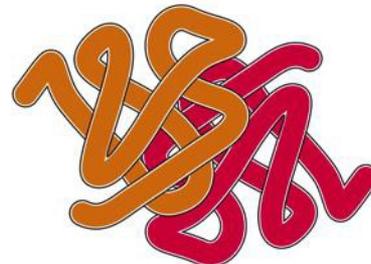
struttura primaria
sequenza degli
amminoacidi



struttura secondaria
conformazione assunta
da brevi tratti della
catena polipeptidica



struttura terziaria
la catena polipeptidica
si ripiega in una
conformazione
tridimensionale
complessiva



struttura quaternaria
associazione di due o più
catene polipeptidiche
a formare una proteina
con più subunità

LA CONFORMAZIONE PROTEICA

E' L'ORGANIZZAZIONE SPAZIALE DEGLI ATOMI DI UNA PROTEINA,

E' LA CONFORMAZIONE PIU' STABILE ED A PIU' BASSA ENERGIA E QUINDI **PREDOMINA** FRA LE ALTRE,

E' CHIAMATA **CONFORMAZIONE NATIVA** E CORRISPONDE ALLA CONFORMAZIONE FUNZIONALE DI OGNI PROTEINA,

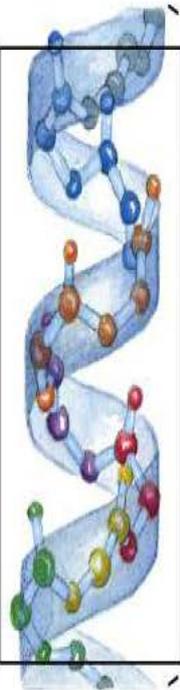
ESSA E' STABILIZZATA DA LEGAMI DEBOLI.

Primary structure



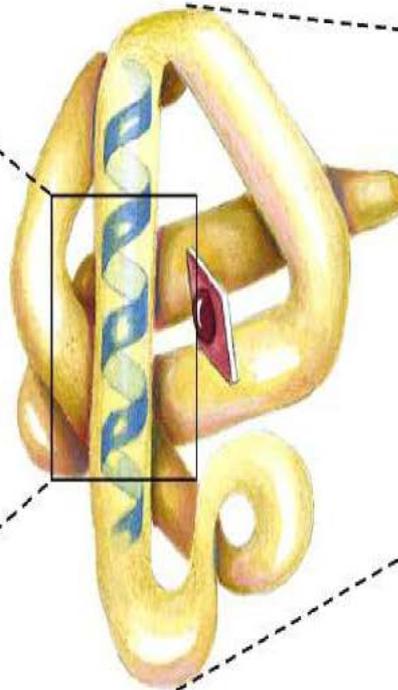
Amino acid residues

Secondary structure



α Helix

Tertiary structure



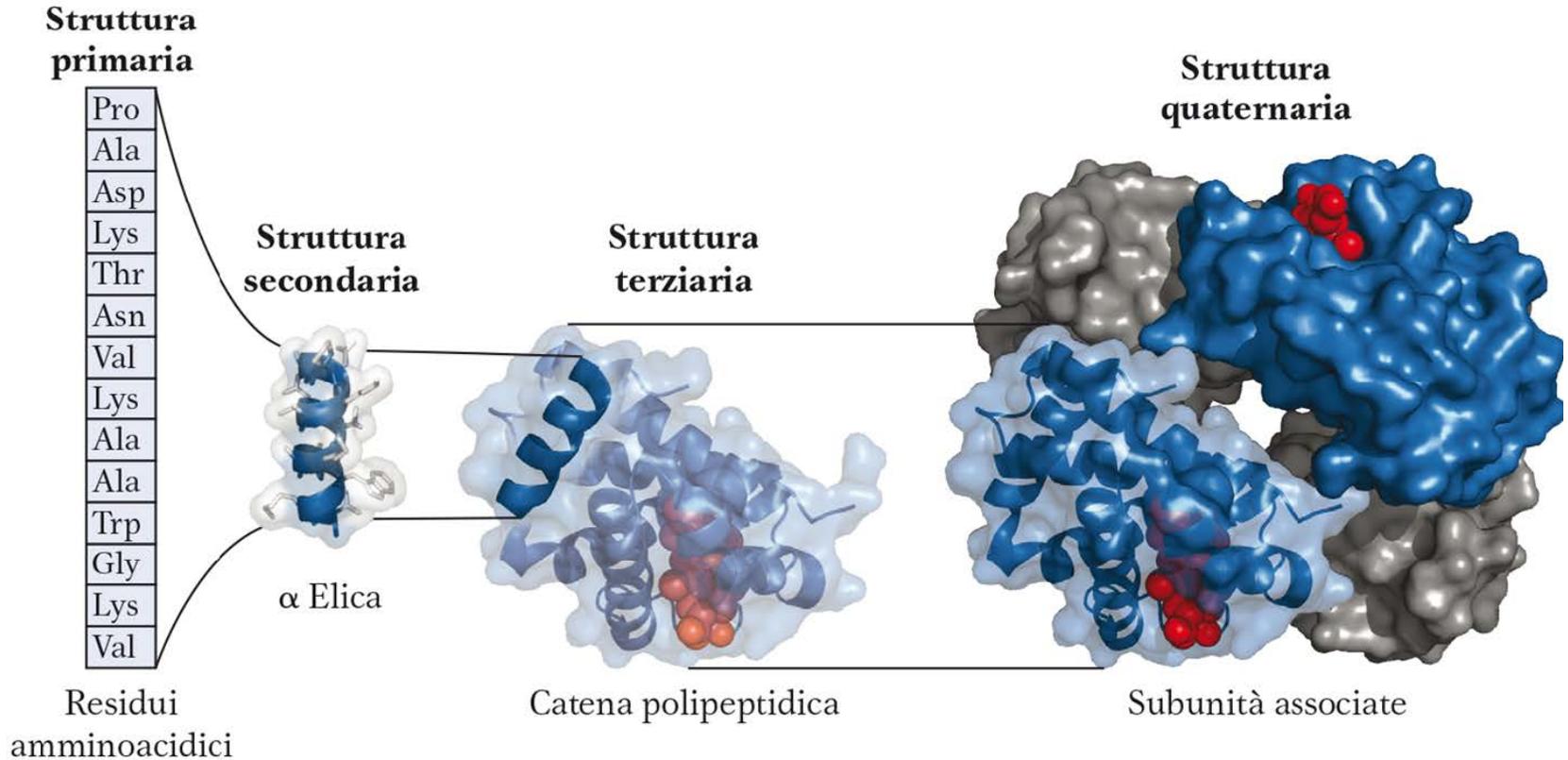
Polypeptide chain

Quaternary structure



Assembled subunits

Livelli di struttura delle proteine



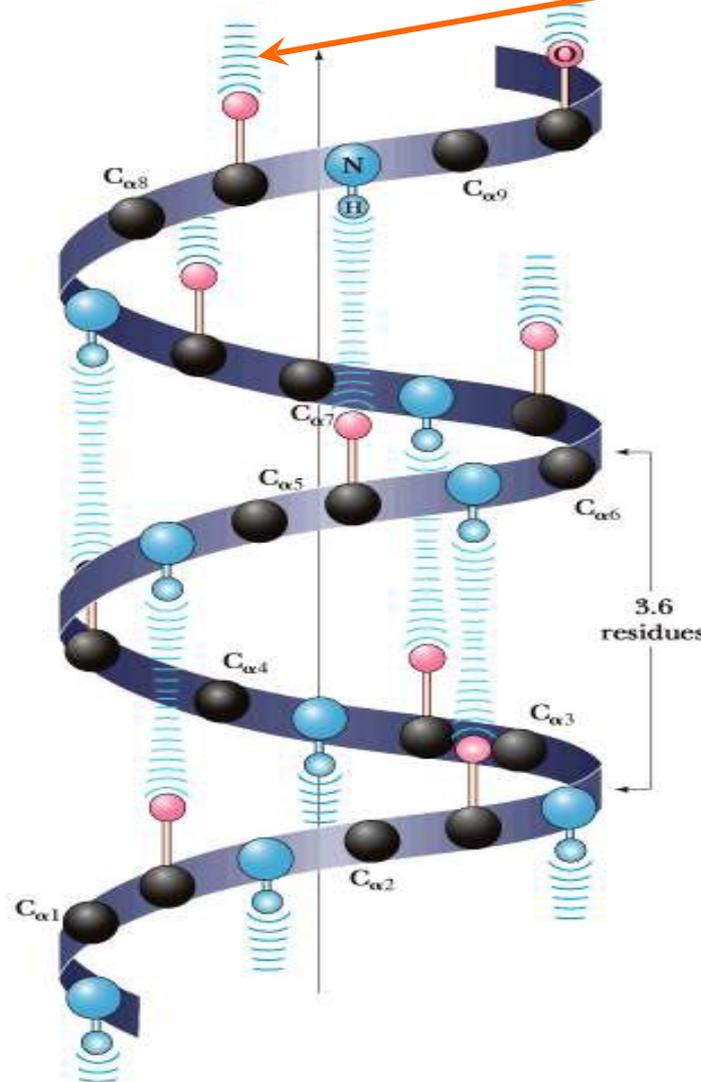
Struttura primaria:

è data dalla sequenza amminoacidica nella catena polipeptidica.



Struttura secondaria α -elica

Legame H

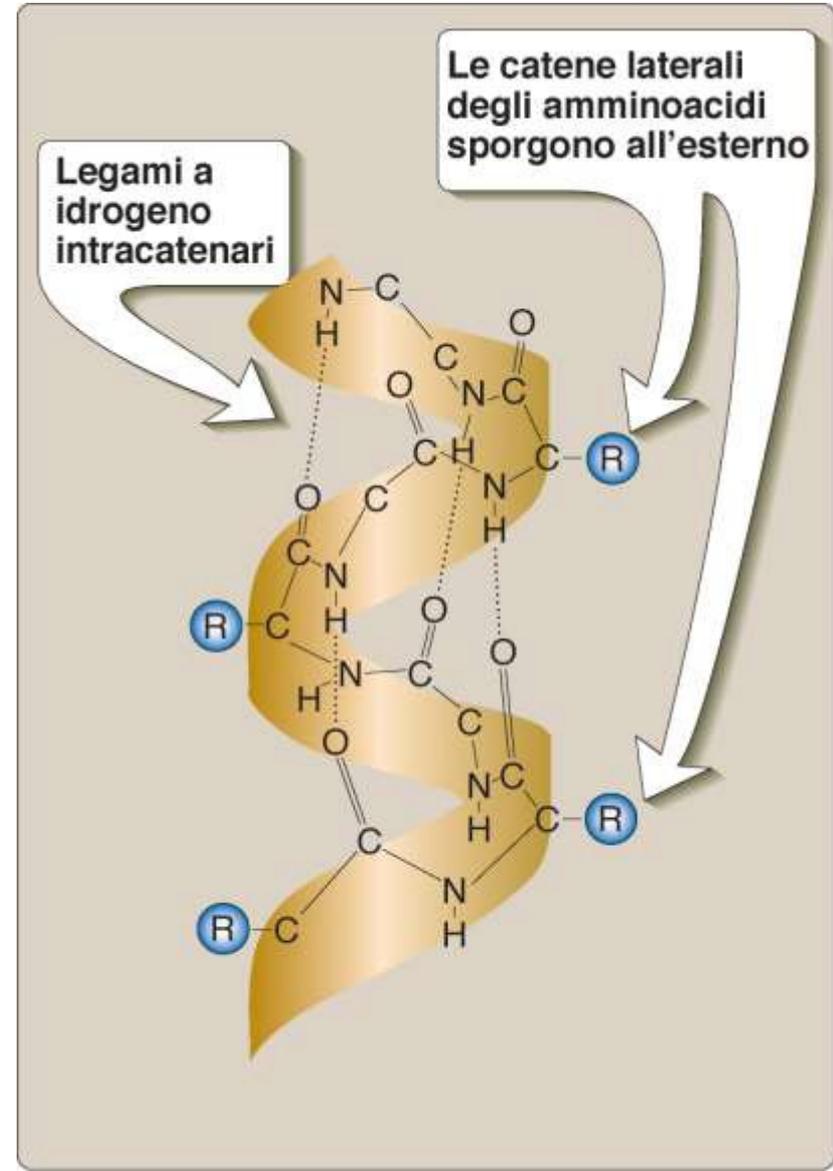


α -elica

- ponte-H ogni 3,6 aminoacidi
- Il legame H si instaura tra l'H dell'azoto amidico e l'O del gruppo carbonilico

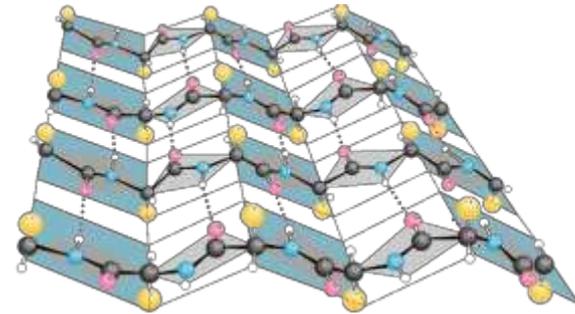
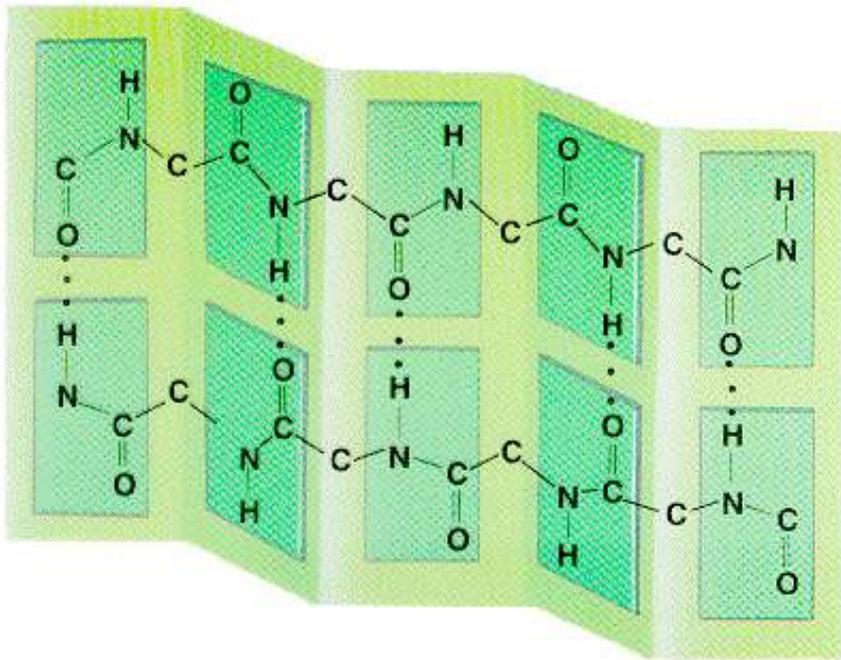
Struttura secondaria α -elica

- **Legami ad idrogeno co-lineari col 4° aminoacido sopra e sotto nella stessa catena**
 - Niente legami ad idrogeno con l'esterno
- Gruppi R proiettati in fuori ortogonalmente
- Sempre destrogira
- Alcuni aminoacidi (prolina) rompono l' α - elica causando un piegamento della catena
- Non sono presenti AA polari carichi



Struttura secondaria β a pieghe

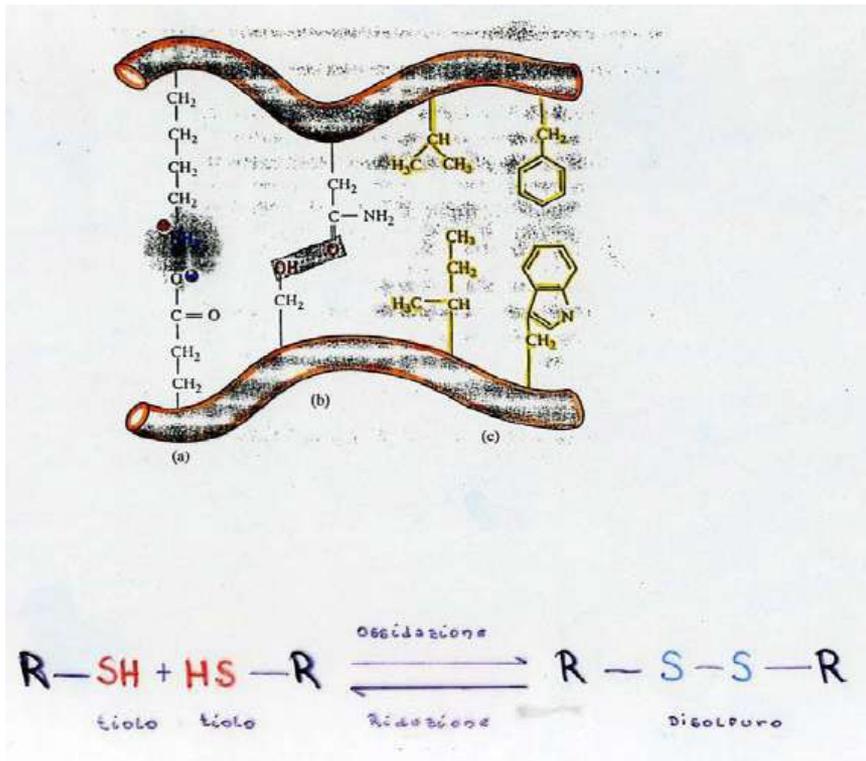
- Legami ad idrogeno fra aminoacidi di catene diverse o aminoacidi remoti della stessa catena



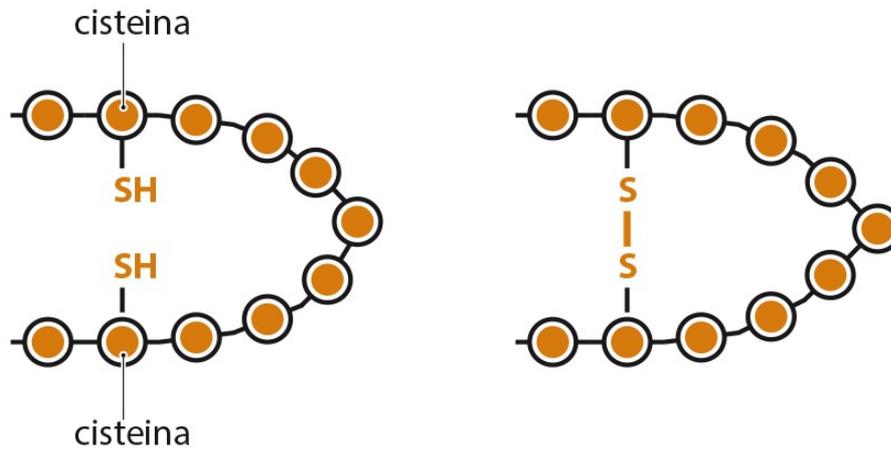
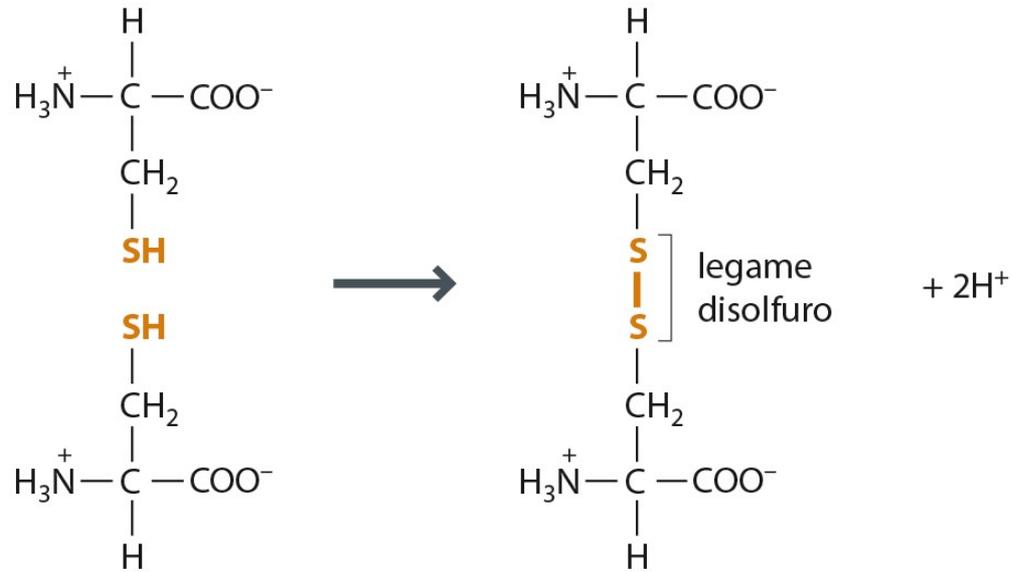
Nel foglietto beta diversi segmenti della catena polipeptidica, che hanno una disposizione distesa sono **paralleli tra loro (con decorso antiparallelo)**. La struttura è stabilizzata da legami idrogeno tra i gruppi NH e CO di segmenti adiacenti. L'affiancamento di diversi segmenti della catena polipeptidica dà origine a strutture indicate con il termine di foglietti beta (beta sheet) ondolati a causa degli angoli di legame.

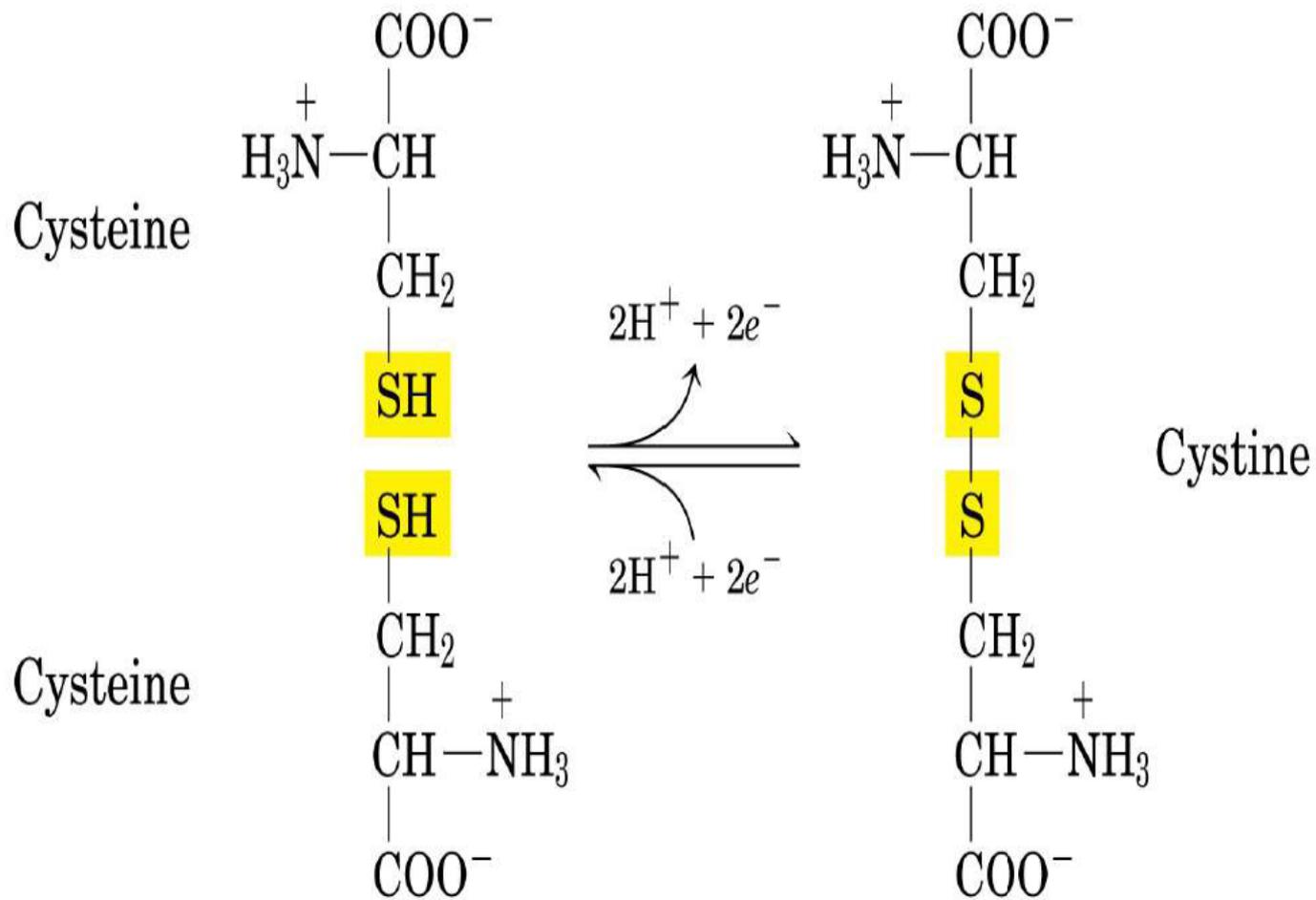
Le catene adiacenti sono antiparallele

LE FORZE RESPONSABILI DELLA STRUTTURA TERZIARIA

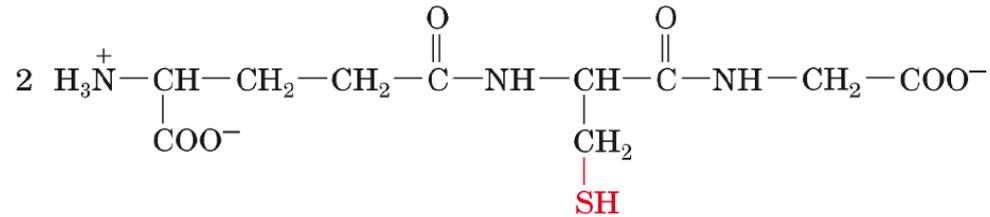


Tipo di legame idrogeno		Distanza fra atomo donatore e atomo accettore (nm)
Ossidrile-ossidrile	$-O-H \cdots O-$ H	0,28
Ossidrile-carbonile	$-O-H \cdots O=C$	0,28
Ammide-carbonile	$N-H \cdots O=C$	0,29
Ammide-ossidrile	$N-H \cdots O-$ H	0,30
Ammide-azoto imidazolico	$N-H \cdots N$ (in imidazole ring)	0,31
Ammide-zolfo	$N-H \cdots S$	0,37

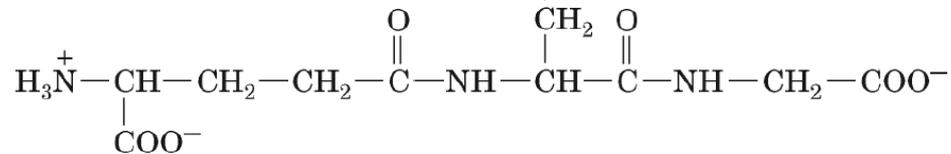
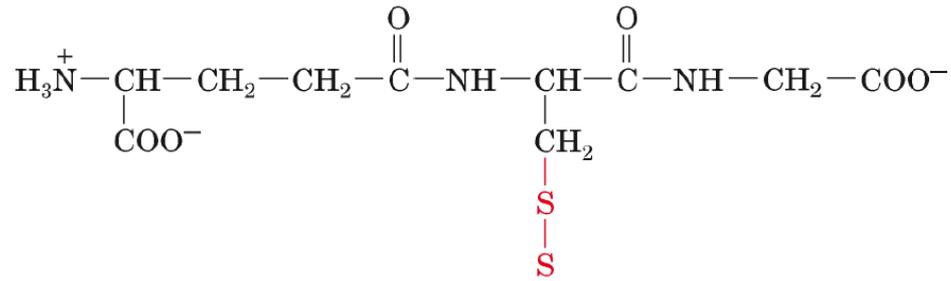
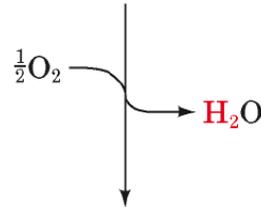




Dimerizzazione del glutatione

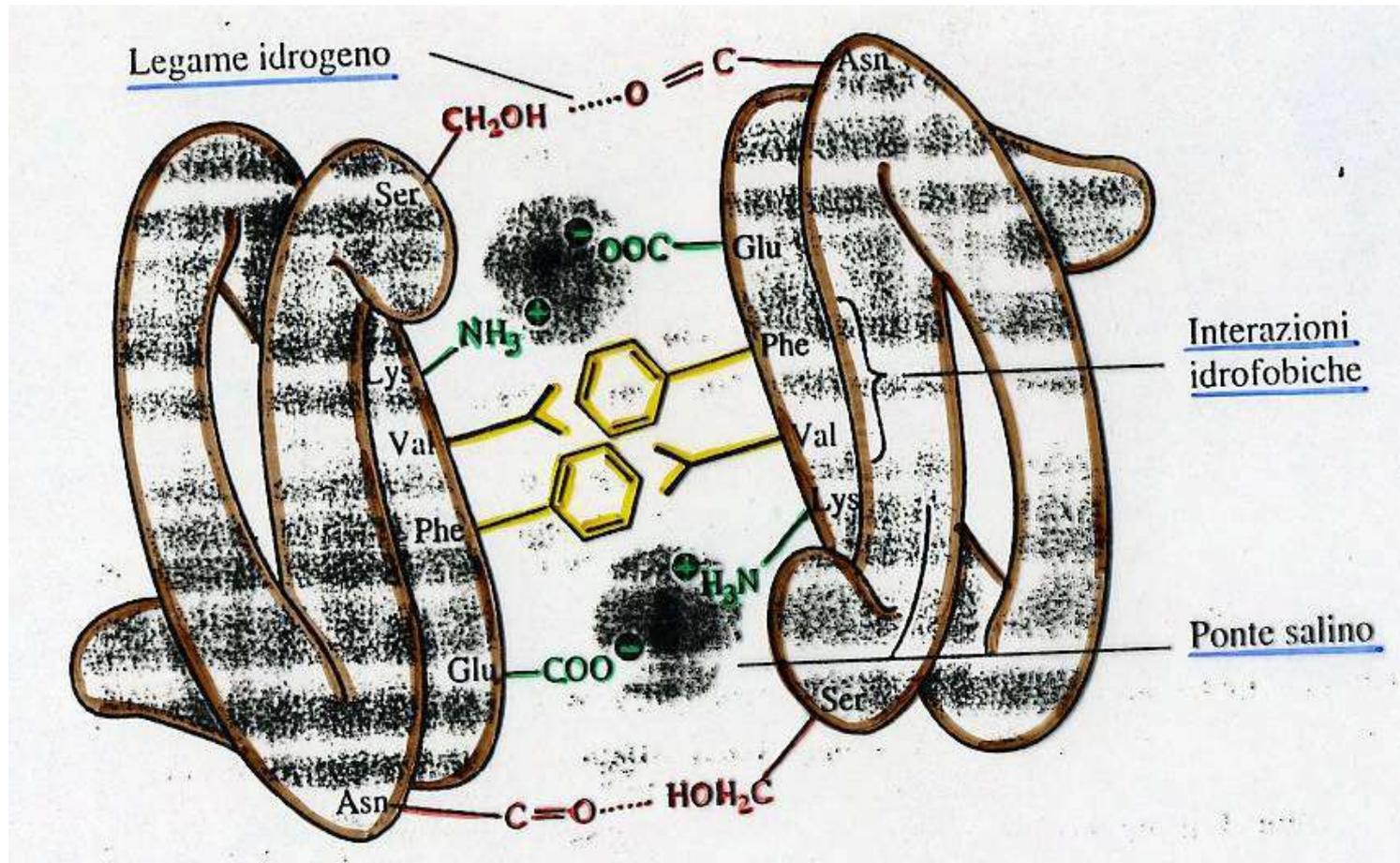


Glutatione (GSH)
(γ -Glutamilmilcisteinilglicina)



Glutatione disolfuro (GSSG)

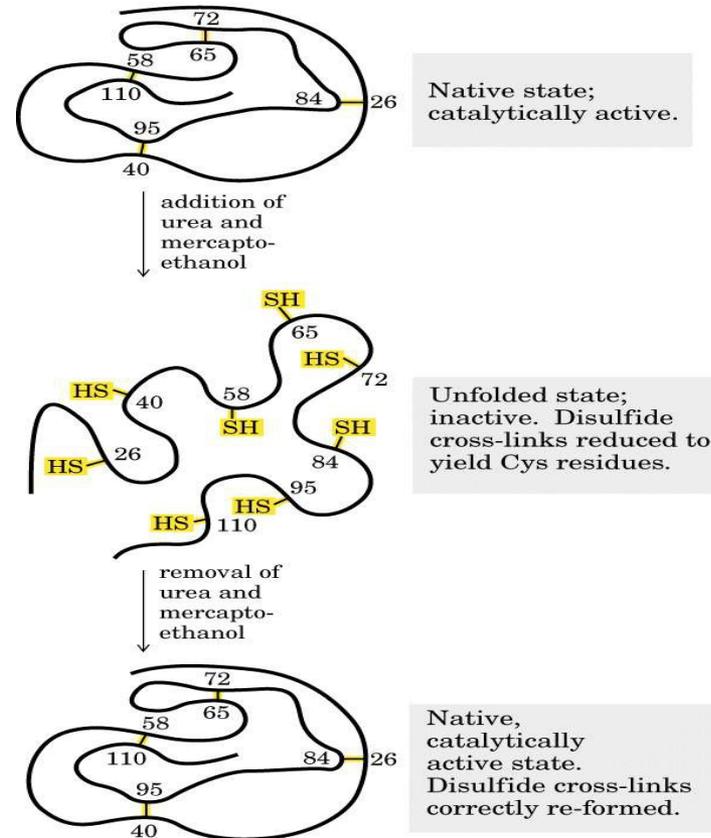
LE FORZE RESPONSABILI DELLA STRUTTURA QUATERNARIA



LA DENATURAZIONE

E' LA PERDITA DELLA CONFORMAZIONE NATIVA E DELLA FUNZIONE DI UNA PROTEINA, CON L'ASSUNZIONE DI UNA ORGANIZZAZIONE SPAZIALE TOTALMENTE APERTA.

SI HA LA ROTTURA DEI LEGAMI DEBOLI E DEI PONTI DISOLFURO.



LE DIMENSIONI DELLE PROTEINE

SOLITAMENTE, LE CATENE
POLIPEPTIDICHE PIU' COMUNI
HANNO MENO DI 2000 RESIDUI
AMMINOACIDICI.

QUESTI LIMITI SONO IMPOSTI:

Molecular Data on Some Proteins

	Molecular weight	Number of residues	Number of polypeptide chains
Cytochrome <i>c</i> (human)	13,000	104	1
Ribonuclease A (bovine pancreas)	13,700	124	1
Lysozyme (egg white)	13,930	129	1
Myoglobin (equine heart)	16,890	153	1
Chymotrypsin (bovine pancreas)	21,600	241	3
Chymotrypsinogen (bovine)	22,000	245	1
Hemoglobin (human)	64,500	574	4
Serum albumin (human)	68,500	609	1
Hexokinase (yeast)	102,000	972	2
RNA polymerase (<i>E. coli</i>)	450,000	4,158	5
Apolipoprotein B (human)	513,000	4,536	1
Glutamine synthetase (<i>E. coli</i>)	619,000	5,628	12
Titin (human)	2,993,000	26,926	1

1) DALLA CAPACITA' DEGLI ACIDI NUCLEICI DI OPERARE DA CODICE GENETICO

2) DALLA ACCURATEZZA DEL PROCESSO DI BIOSINTESI DELLE PROTEINE.

LA MASSA PROTEICA

LA MASSA MOLECOLARE DI UNA PROTEINA VARIA DA **10000** DALTON A VALORI SUPERIORI A **10⁶** DALTON.

$$\text{NUM. APPROSSIMATIVO} = \frac{\text{MASSA PROTEICA}}{\text{RESIDUI A.A.}} \quad 110$$

110 = MASSA MEDIA DI UN RESIDUO A.A.

Classificazione delle proteine

-In base alla funzione (enzimatica, ormonale, di trasporto etc.)

-In base a caratteristiche fisiche e funzionali:

Proteine fibrose di forma allungata, fisicamente resistenti, insolubili in acqua

Proteine globulari di forma sferica, compatte, con interno idrofobico ed esterno idrofilo

-In base alla composizione chimica

Proteine semplici (comp. elementare costante 50%
C, 23% O, 16% N, 7% H, max 3% S)

Proteine coniugate (glicoproteine, lipoproteine,
nucleoproteine, flavoproteine)

LE PROTEINE SEMPLICI E CONIUGATE

- LE **PROTEINE SEMPLICI** SONO COSTITUTE ESCLUSIVAMENTE DA AMMINOACIDI,
- LE **PROTEINE CONIUGATE** PRESENTANO ANCHE UN GRUPPO PROSTETICO, CHE HA UN RUOLO DETERMINANTE NELLA LORO FUNZIONE BIOLOGICA.

LE PROTEINE CONIUGATE

CLASSE	GRUPPO PROSTETICO	ESEMPIO
• LIPOPROTEINE	LIPIDI	β ₁ - LIPOPROTEINA DEL SANGUE
• GLICOPROTEINE	CARBOIDRATI	
• FOSFOPROTEINE	GR. FOSFORICI	CASEINA (LATTE)
• EMOPROTEINE	EME	EMOGLOBINA
• FLOVOPROTEINE	NUCLEOTIDI	SUCC. DEIDROG.
	FLAVINICI	
METALLOPROT.	FERRO	FERRITINA

table 5-4

Conjugated Proteins

Class	Prosthetic group(s)	Example
Lipoproteins	Lipids	β_1 -Lipoprotein of blood
Glycoproteins	Carbohydrates	Immunoglobulin G
Phosphoproteins	Phosphate groups	Casein of milk
Hemoproteins	Heme (iron porphyrin)	Hemoglobin
Flavoproteins	Flavin nucleotides	Succinate dehydrogenase
Metalloproteins	Iron	Ferritin
	Zinc	Alcohol dehydrogenase
	Calcium	Calmodulin
	Molybdenum	Dinitrogenase
	Copper	Plastocyanin

LE CLASSI DI PROTEINE (IN BASE A FORMA E SOLUBILITÀ)

➤ LE PROTEINE FIBROSE

In esse, la catena polipeptidica è disposta in lunghi filamenti o foglietti,

hanno funzione strutturale,
danno protezione esterna,
supporto meccanico,
forma alla molecola;

sono generalmente insolubili,

sono costituite da un solo tipo di struttura secondaria.

➤ **LE PROTEINE GLOBULARI**

la catena polipeptidica è avvolta su se stessa, fino a raggiungere una forma sferica o globulare,

sono presenti in molti enzimi, ormoni,

anticorpi e proteine di trasporto;

sono formate da tipi diversi di strutture secondarie, generalmente sono

solubili nel citosol o nella fase lipidica delle
membrane.

LE PROTEINE GLOBULARI: STRUTTURA TERZIARIA E DIVERSITÀ FUNZIONALE

Le proteine globulari non solo possiedono una struttura secondaria, ma sono anche **ripiegate** in una struttura terziaria compatta,

la struttura terziaria ha origine da interazioni di gruppi che possono essere anche molto **lontani** nella struttura primaria,

la struttura primaria **determina** le strutture secondarie e terziaria.

SEQUENZA AMINOACIDICA → STRUTTURA TRIDIMENSIONALE → FUNZIONE

ne consegue che

l'informazione che determina la struttura **tridimensionale** è contenuta interamente nella sequenza aminoacidica (**struttura primaria**) della proteina,

ciò può essere dimostrato attraverso esperimenti di **denaturazione**, in cui viene distrutta la struttura nativa.

LE PROPRIETA' COMUNI DELLE PROTEINE GLOBULARI

Le proteine globulari hanno una parte **interna** ed una parte **esterna** definite,

si osserva invariabilmente che i **residui idrofobici** si localizzano principalmente all'interno (**nucleo idrofobico**),

mentre i **residui idrofilici** sono sulla superficie a contatto con il solvente.

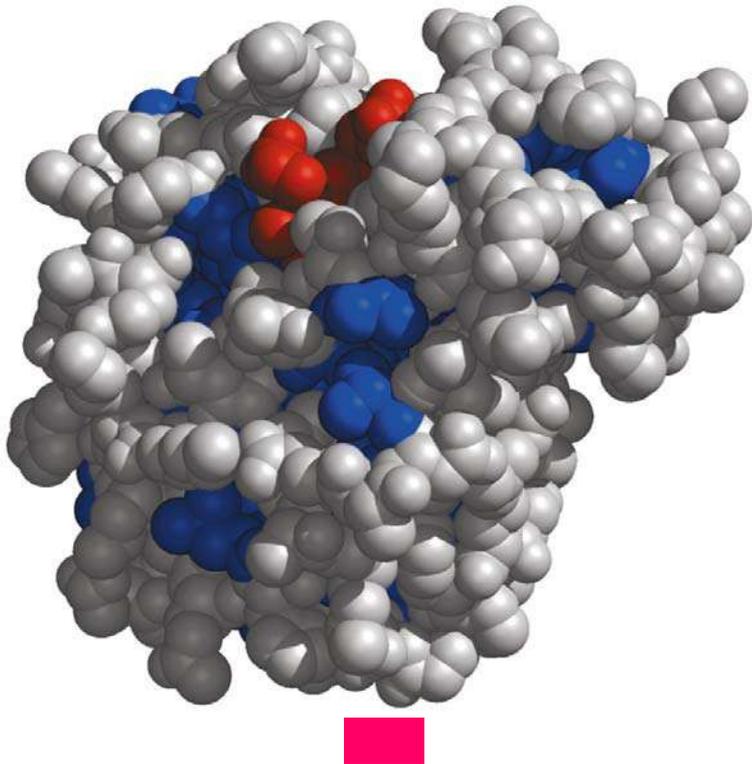
LE PROPRIETA' COMUNI DELLE PROTEINE GLOBULARI

- I **residui idrofobici** (es. val. leu. ile. phe.) devono essere immersi nell'interno della proteina, lontani dal contatto con l'acqua,
- l'**interno** della proteina è un nucleo molto denso di catene idrofobiche,
- le **interazioni idrofobiche** sono estremamente importanti per la stabilizzazione della proteina.

LE PROPRIETA' COMUNI DELLE PROTEINE GLOBULARI

- I **residui polari non carichi** (es. ser. thr. asn. gln.) si trovano normalmente sulla superficie, ma frequentemente si riscontrano anche all'interno, dove formano legami H fra loro; infatti, ogni gruppo polare non carico senza controparte all'interno di una proteina é destabilizzante,
- i **residui polari carichi** (es. arg. his. lys. asp. glu.) sono localizzati quasi costantemente sulla superficie, in contatto con il solvente acquoso.

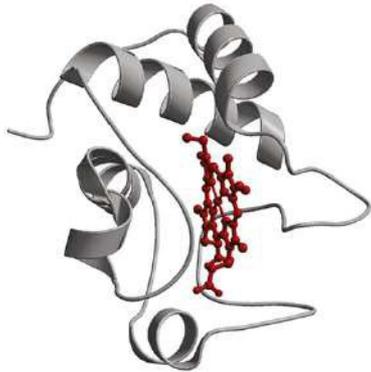
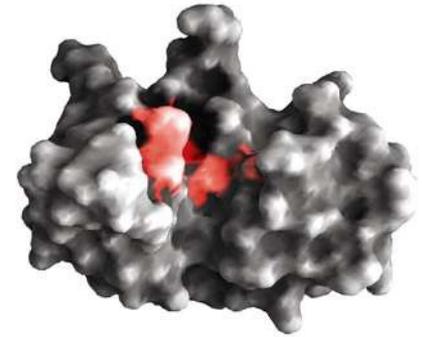
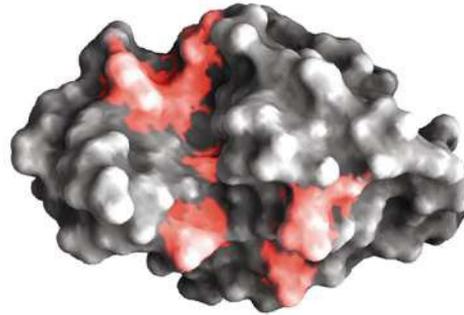
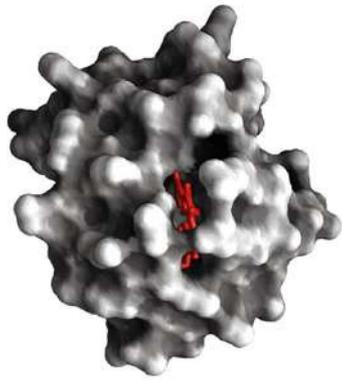
LE PROTEINE GLOBULARI



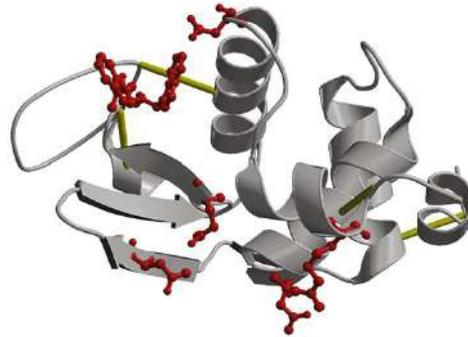
La localizzazione degli amminoacidi dipende dalle loro catene laterali.

LE PROTEINE GLOBULARI

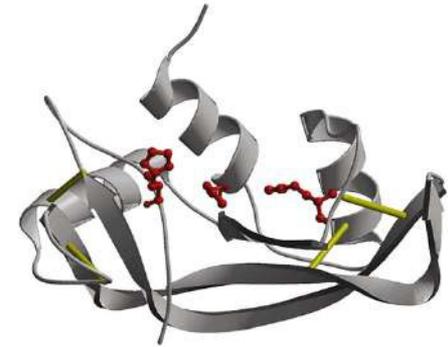
Modelli spaziali e modelli a nastro



Cytochrome c



Lysozyme



Ribonuclease

LE PROTEINE GLOBULARI

table 6-2

Approximate Amounts of α Helix and β Conformation in Some Single-Chain Proteins*

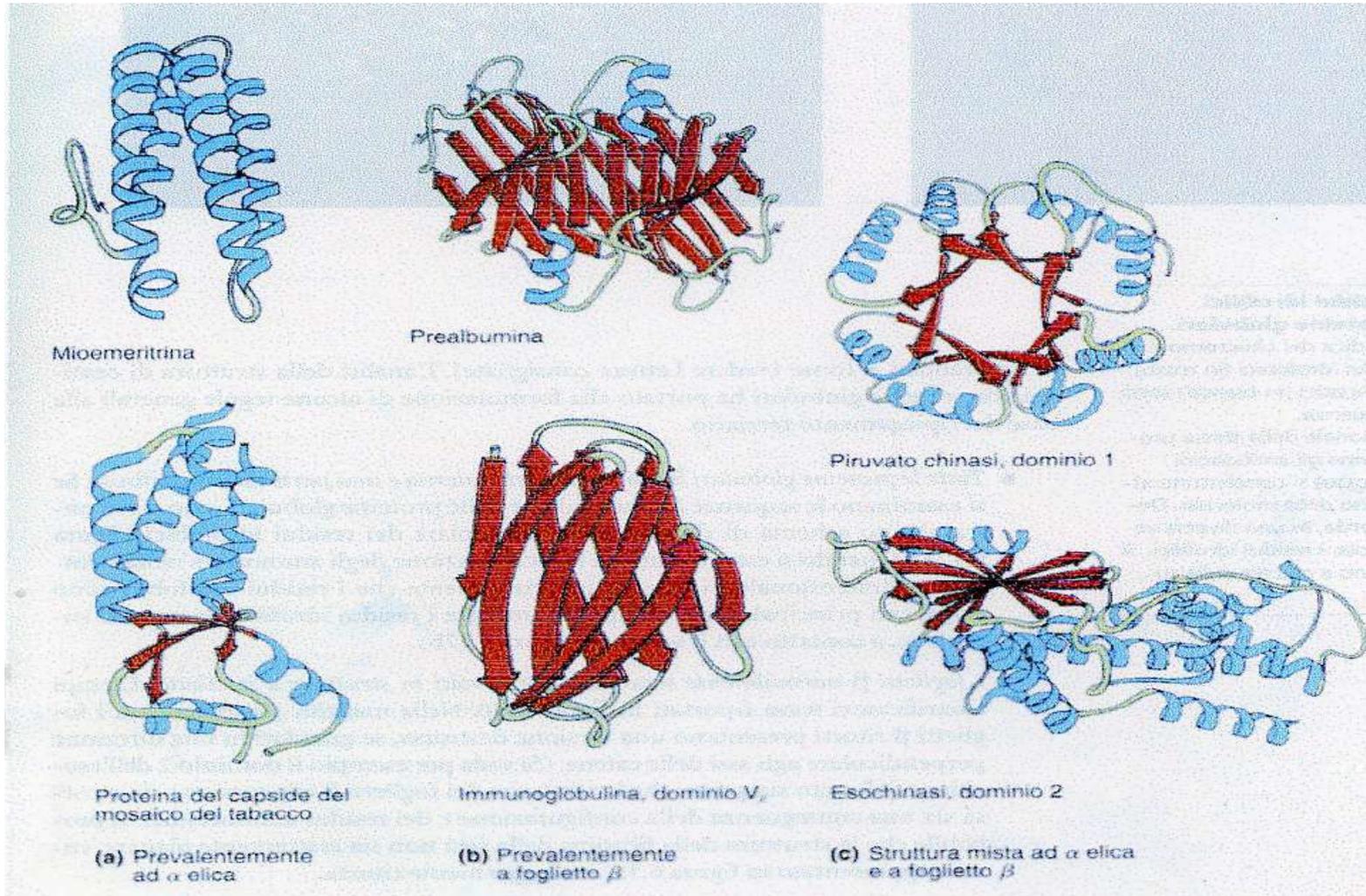
Protein (total residues)	Residues (%)	
	α Helix	β Conformation
Chymotrypsin (247)	14	45
Ribonuclease (124)	26	35
Carboxypeptidase (307)	38	17
Cytochrome c (104)	39	0
Lysozyme (129)	40	12
Myoglobin (153)	78	0

Source: Data from Cantor, C.R. & Schimmel, P.R. (1980) *Biophysical Chemistry*, Part I: *The Conformation of Biological Macromolecules*, p. 100, W.H. Freeman and Company, New York.

*Portions of the polypeptide chains that are not accounted for by α helix or β conformation consist of bends and irregularly coiled or extended stretches. Segments of α helix and β conformation sometimes deviate slightly from their normal dimensions and geometry.

- La restante parte delle proteine é sotto forma di:
- ripiegamenti,
- inversioni di direzione,
- avvolgimenti irregolari,
- segmenti estesi.

LE STRUTTURE β FORMANO MOLTO SPESSO I NUCLEI CENTRALI DELLE PROTEINE



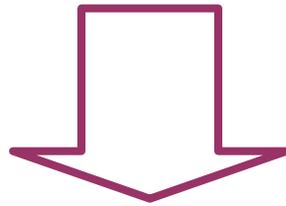
LA STRUTTURA TRIDIMENSIONALE DI UNA PROTEINA E' CRITICA PER LA SUA FUNZIONE

La temperatura di fusione della proteina ($T_m < 100^\circ\text{C}$) é la temperatura alla quale essa perde metà della sua struttura tridimensionale,

la proteina si srotola in **modo cooperativo**, infatti, raggiunta la T_m , si destabilizza anche la parte restante.

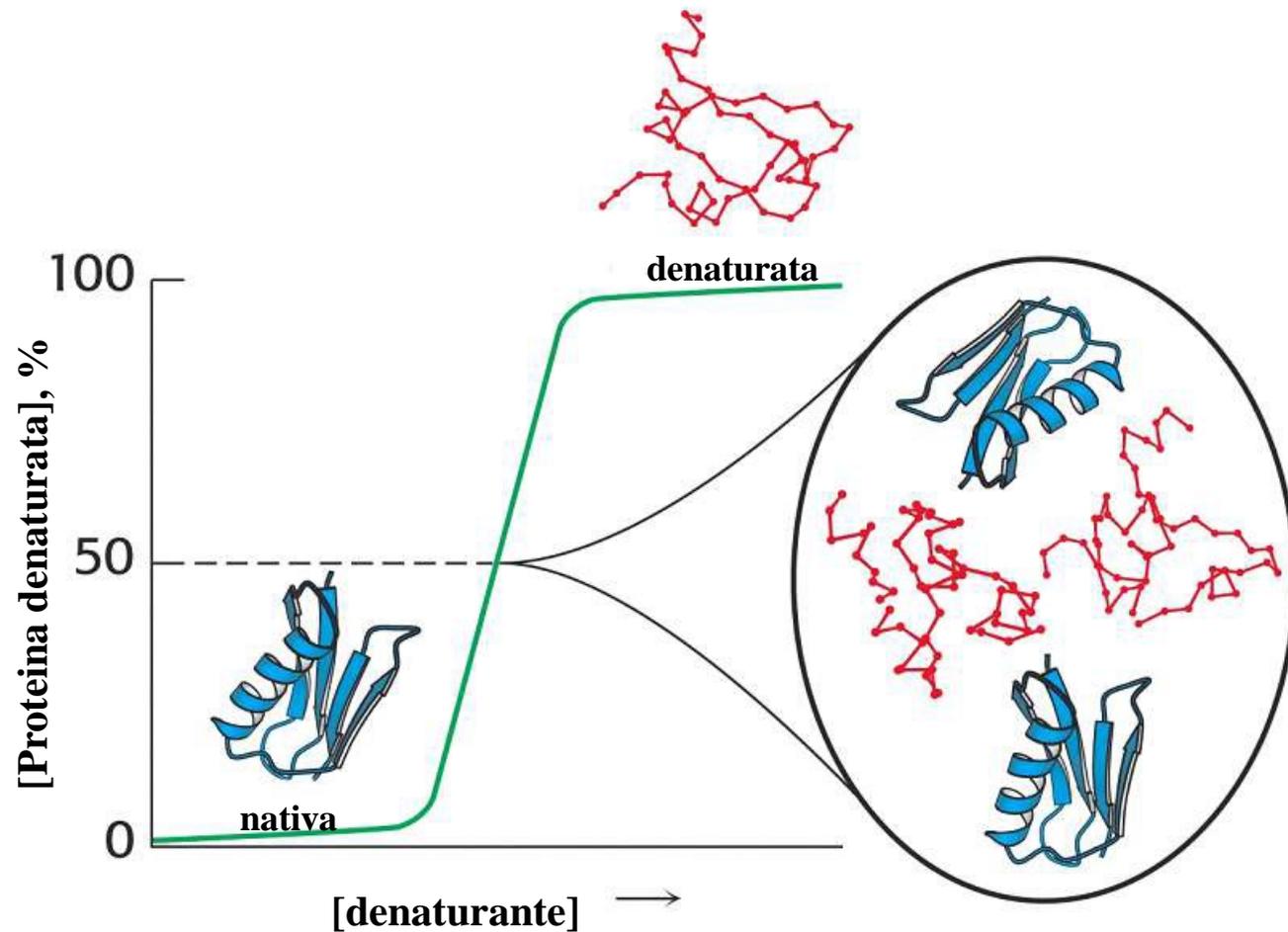
LE PROTEINE PERDONO LA LORO STRUTTURA NATIVA IN SEGUITO A DENATURAZIONE

LA DENATURAZIONE



é la perdita totale dell'organizzazione tridimensionale, con l'assunzione di strutture casuali.

LA DENATURAZIONE PROTEICA



GLI AGENTI DENATURANTI

Il calore rompe le interazioni deboli,

la variazione del pH modifica le cariche,

i solventi organici (es. alcol, acetone) disturbano le interazioni idrofobiche,

gli ioni (I^- , Li^+ , Mg^+ , Ca^+ , Ba^{2+} ecc.) rompono le interazioni idrofobiche, aumentando la solubilità in acqua delle sostanze non polari.

SOLITAMENTE LA DENATURAZIONE E'
UN PROCESSO REVERSIBILE
(DIPENDE DAL TIPO DI PROTEINA),

LA RINATURAZIONE E' DETERMINATA
DALLA SEQUENZA AMMINOACIDICA.

Proprietà nutrizionali delle proteine

Forniscono all'organismo amminoacidi essenziali e non, che hanno funzioni:

- Plastica per la costruzione di proteine umane
- Regolatrice come precursori di ormoni, neurotrasmettitori etc.
- Energetica mediante ossidazione nel ciclo di Krebs o conversione a glucosio nella gluco-genesi

Le proteine alimentari si trovano in quasi tutti gli alimenti, ne sono privi oli, zucchero e bevande alcoliche.

Sono nutrizionalmente importanti proteine di masse muscolari (carne e pesce) per il 40% costituite da actina e miosina e quelle di deposito (uovo, latte, cereali e legumi).

Valore proteico degli alimenti

Alimenti di origine animale \Rightarrow proteine di alta qualità con composizione di a.a. vicina a proteine umane (ad alto valore biologico), maggiore digeribilità per proteine globulari che fibrose.

Cereali e legumi \Rightarrow proteine meno disponibili perché legate a polisaccaridi o in presenza di fattori antinutrizionali (moderato valore biologico). Cereali scarsi in lisina e legumi in metionina

Frutta e ortaggi \Rightarrow a basso tenore proteico (3%) con composizione in a.a. essenziali deficitaria. Anche se in eccesso rispetto ai fabbisogni calorici, non riescono a coprire quelli proteici

AMINOACIDI ESSENZIALI (Circa il 40% delle proteine umane)

Tipo Chimico	Fonte Alim. Princ.	Funzioni (o precursori)
RAMIFICATI		
Isoleucina Leucina Valina	LEGUMI, CARNI	Regioni idrofobiche di proteine
AROMATICI		
Fenilalanina Tirosina* Tryptofano	UOVA, LATTE, VEGETALI	Epinefrina, Tiroxina Serotonina, Ac. Nicotinico
BASICI		
Istidina Lisina	CARNI, PESCI, LEGUMI	Struttura terziaria Collagene ed Elastina
NEUTRI		
Treonina	CARNI, PESCI, LEGUMI	?
SOLFORATI		
Cisteina* Metionina	UOVA, CEREALI	Struttura terziaria proteine Ponti disolfuro Cheratina e altre proteine strutturali

* semiessenziali

Table 1.6. Mutagenic compounds from pyrolysates of amino acids and proteins

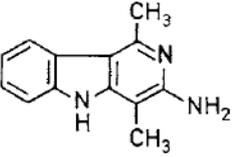
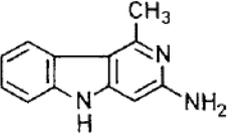
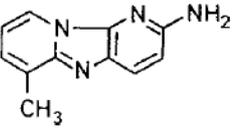
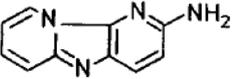
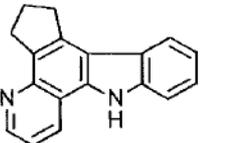
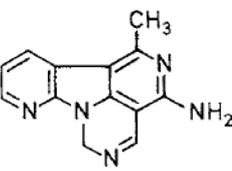
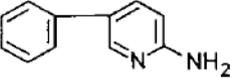
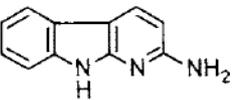
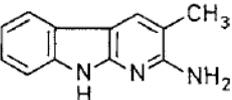
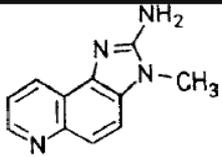
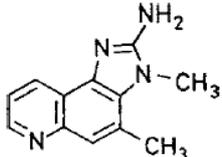
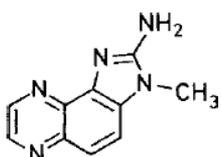
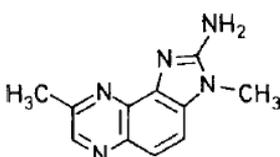
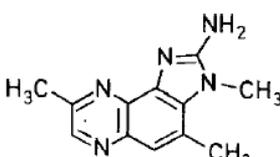
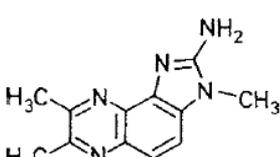
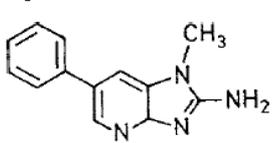
Mutagenic compound	Short form	Pyrolyzed compound	Structure
3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	Trp-P-1	Tryptophan	
3-Amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	Trp-P-2	Tryptophan	
2-Amino-6-methyldipyrido[1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i>]imidazole	Glu-P-1	Glutamic acid	
2-Aminodipyrido[1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i>]imidazole	Glu-P-2	Glutamic acid	
3,4-Cyclopentenopyrido[3,2- <i>a</i>]carbazole	Lys-P-1	Lysine	
4-Amino-6-methyl-1H-2,5,10,10 <i>b</i> -tetraazafluoranthene	Orn-P-1	Ornithine	
2-Amino-5-phenylpyridine	Phe-P-1	Phenylalanine	
2-Amino-9H-pyrido[2,3- <i>b</i>]indole	AαC	Soya globulin	
2-Amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3- <i>b</i>]indole	MeAαC	Soya globulin	

Table 1.7. Mutagenic compounds from various heated foods and from model systems

Mutagenic compound	Short form	Food Model system ^a	Structure
2-Amino-3-methylimidazo-[4,5- <i>f</i>]quinoline	IQ	1,2,3	
2-Amino-3,4-dimethylimidazo-[4,5- <i>f</i>]quinoline	MeIQ	3	
2-Amino-3-methylimidazo-[4,5- <i>f</i>]quinoxaline	IQx	2	
2-Amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5- <i>f</i>]quinoxaline	MeIQ2x	2,3	
2-Amino-3,4,8-trimethylimidazo-[4,5- <i>f</i>]quinoxaline	4,8-Di MeIQx	2,3,5,6	
2-Amino-3,7,8-trimethylimidazo-[4,5- <i>f</i>]quinoxaline	7,8-Di MeIQx	4	
2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- <i>b</i>]pyridine	PhIP	2	

^a 1: Meat extract; 2: Grilled meat; 3: Grilled fish; 4: Model mixture of creatinine, glycine, glucose;

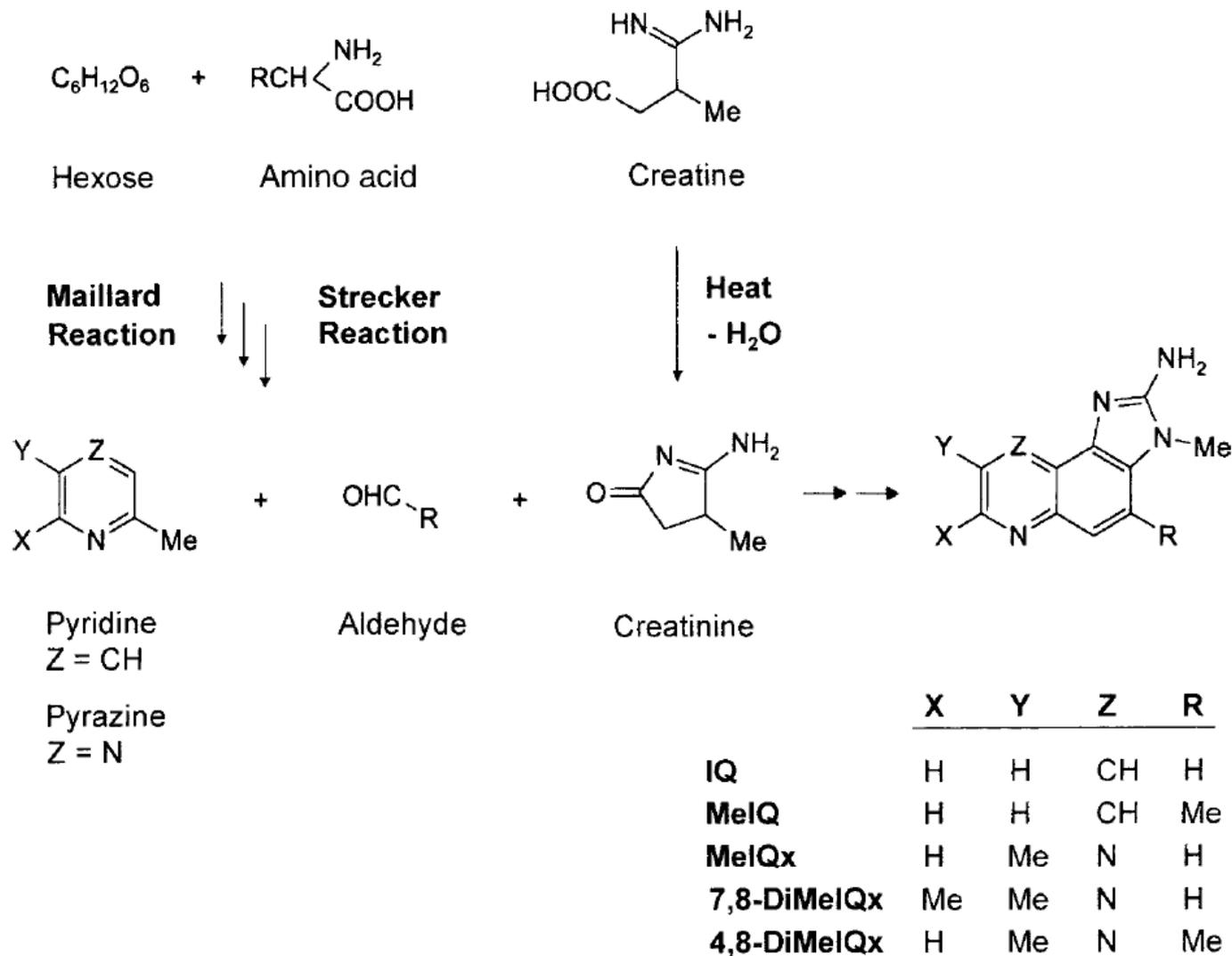


Fig. 1.8. Formation of heterocyclic amines by heating a model system of creatine, glucose and an amino acid mixture corresponding to the concentrations in beef (according to *Arvidsson et al., 1997*). For abbreviations, see Table 1.7

Table 1.8. Adult requirement for essential amino acids and their occurrence in various food

Amino acid	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Isoleucine	10–11	3.5	4.0	4.6	3.9	3.6	3.4	5.0	3.5
Leucine	11–14	4.2	5.3	7.1	4.3	5.1	6.5	8.2	5.4
Lysine	9–12	3.5	3.7	4.9	3.6	4.4	2.0	3.6	5.4
Methionine									
+ Cystine	11–14	4.2	3.2	2.6	1.9	2.1	3.8	3.4	1.9
Methionine		2.0	1.9	1.9	1.2	0.9	1.4	2.2	0.8
Phenylalanine									
+ Tyrosine	13–14	4.5	6.1	7.2	5.8	5.5	6.7	8.9	6.0
Phenylalanine		2.4	3.5	3.5	3.1	3.3	4.6	4.7	2.5
Threonine	6–7	2.2	2.9	3.3	2.9	2.7	2.5	3.7	3.8
Tryptophan	3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Valine	11–14	4.2	4.3	5.6	3.6	3.3	3.8	6.4	4.1
Tryptophan ^a			1.7	1.4	1.4	1.5	1.1	1.0	1.3

1: Daily requirement in mg/kg body weight.

2–8: Relative value related to Trp = 1 (pattern).

2: Daily requirements, 3: eggs, 4: bovine milk, 5: potato, 6: soya, 7: wheat flour, 8: rice, and 9: *Torula*-yeast.

^a Tryptophan (%) in raw protein.

Table 1.37. Emulsifying property of various proteins^a

Protein	Emulsifying Activity Index (m ² × g ⁻¹)	
	pH 6.5	pH 8.0
Yeast protein (88%) succinylated	322	341
Yeast protein (62%) succinylated	262	332
Sodium dodecyl sulfate (0.1%)	251	212
Bovine serum albumin	–	197
Sodium caseinate	149	166
β-Lactoglobulin	–	153
Whey protein powder A	119	142
Yeast protein (24%) succinylated	110	204
Whey protein powder B	102	101
Soya protein isolate A	41	92
Hemoglobin	–	75
Soya protein isolate B	26	66
Yeast protein (unmodified)	8	59
Lysozyme	–	50
Egg albumin	–	49

^a Protein concentration: 0.5% in phosphate buffer of pH 6.5.

Table 2.20. Examples for the use of microbial enzymes in food processing

EC Number	Enzyme ^a	Biological Origin	Application ^b
Oxidoreductases			
1.1.1.39	Malate dehydrogenase (decarboxylating)	<i>Leuconostoc oenos</i>	10
1.1.3.4	Glucose oxidase	<i>Aspergillus niger</i>	7, 10, 16
1.11.1.6	Catalase	<i>Micrococcus lysodeicticus</i> <i>Aspergillus niger</i>	1, 2, 7, 10, 16
Transferases			
2.7.2.4	Transglutaminase	<i>Streptovorticillium</i>	5, 8
Hydrolases			
3.1.1.1	Carboxylesterase	<i>Mucor miehei</i>	2, 3
3.1.1.3	Triacylglycerol lipase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Candida lipolytica</i> , <i>Mucor javanicus</i> , <i>M. miehei</i> , <i>Rhizopus arrhizus</i> , <i>R. niveus</i>	2, 3
3.1.1.11	Pectinesterase	<i>Aspergillus niger</i>	9, 10, 17
3.1.1.20	Tannase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i>	10
3.2.1.1	α -Amylase	<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus delemar</i> , <i>R. oryzae</i>	3, 8, 9, 10, 12, 14, 15 8, 9, 10, 12, 14, 15
3.2.1.2	β -Amylase	<i>Bacillus cereus</i> , <i>B. magatherium</i> , <i>B. subtilis</i>	8, 10 3, 9, 10, 12, 14 15, 18
3.2.1.3	Glucan-1,4- α -D-glucosidase (glucoamylase)	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus arrhizus</i> , <i>R. delemar</i> , <i>R. niveus</i> , <i>R. oryzae</i> , <i>Trichoderma reesei</i>	9, 10, 12, 14, 15, 18
3.2.1.4	Cellulase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Rhizopus delemar</i> , <i>R. oryzae</i> , <i>Sporotrichum dimorphosporum</i> , <i>Thielavia terrestris</i> , <i>Trichoderma reesei</i>	9, 10, 18
3.2.1.6	Endo-1,3(4)- β -D-glucanase	<i>Bacillus circulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Penicillium emersonii</i> , <i>Rhizopus delemar</i> , <i>R. oryzae</i>	10
3.2.1.7	Inulinase	<i>Kluyveromyces fragilis</i>	12
3.2.1.11	Dextranase	<i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Penicillium funiculosum</i> , <i>P. lilacinum</i>	12
3.2.1.15	Polygalacturonase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium simplicissimum</i> , <i>Trichoderma reesei</i> <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i>	3, 9, 10, 17 3, 9, 10 9, 10, 17

Table 2.20. (continued)

EC Number	Enzyme ^a	Biological Origin	Application ^b
3.2.1.20	α -D-Glucosidase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Rhizopus oryzae</i>	8
3.2.1.21	β -D-Glucosidase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichoderma reesei</i>	9
3.2.1.22	α -D-Galactosidase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Mortierella vinacea</i> <i>sp.</i> , <i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	12
3.2.1.23	β -D-Galactosidase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Kluyveromyces fragilis</i> , <i>K. lactis</i>	1, 2, 4, 18
3.2.1.26	β -D-Fructofuranosidase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> , <i>S. cerevisiae</i>	14
3.2.1.32	Xylan endo-1,3- β -D-xylosidase	<i>Streptomyces sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Sporotrichum dimorphosporum</i>	8, 10, 13
3.2.1.41	α -Dextrin endo-1,6- α -glucosidase (pullulanase)	<i>Bacillus acidopullulyticus</i>	8, 10, 12, 14, 15
3.2.1.55	α -L-Arabinofuranosidase	<i>Klebsiella aerogenes</i>	8, 10, 12
3.2.1.58	Glucan-1,3- β -D-glucosidase	<i>Aspergillus niger</i>	9, 10, 17
3.2.1.68	Isoamylase	<i>Trichoderma harzianum</i>	10
3.2.1.78	Mannan endo-1,4- β -D-mannanase	<i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Rhizopus delemar</i> , <i>R. oryzae</i> , <i>Sporotrichum dimorphosporum</i> , <i>Trichoderma reesei</i> <i>Aspergillus niger</i>	8, 10 13 13, 17
3.5.1.2	Glutaminase	<i>Bacillus subtilis</i>	5
3.4.21.14	Serine endopeptidase ^c	<i>Bacillus licheniformis</i>	5, 6, 10, 11
3.4.23.6	Aspartic acid endopeptidase	<i>Aspergillus melleus</i> , <i>Endothia parasitica</i> , <i>Mucor miehei</i> , <i>M. pusillus</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	2 2, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 15, 18 10, 15
3.4.24.4	Metalloendopeptidase	<i>Bacillus cereus</i> , <i>B. subtilis</i>	10, 15
Lyases			
4.2.2.10	Pectin lyase	<i>Aspergillus niger</i>	9, 10, 17
Isomerases			
5.3.1.5	Xylose isomerase ^d	<i>Streptomyces murinus</i> <i>S. olivaceus</i> , <i>S. olivochromogenes</i> , <i>S. rubiginosus</i>	8, 9, 10, 12

^a Principal activity.^b 1) Milk, 2) Cheese, 3) Fats and oils, 4) Ice cream, 5) Meat, 6) Fish, 7) Egg, 8) Cereal and starch, 9) Fruit and vegetables, 10) Beverages (soft drinks, beer, wine), 11) Soups and broths, 12) Sugar and honey, 13) Cacao, chocolate, coffee, tea, 14) Confectionery, 15) Bakery, 16) Salads, 17) Spices and flavors, 18) Diet food.^c Similar to Subtilisin.^d Some enzymes also convert D-glucose to D-fructose, cf. 2.7.2.3.