

## PŘÍRODNÍ LÁTKY KYSELÉ CHUTI

OLDŘICH LAPČÍK<sup>a</sup>, ZDENĚK WIMMER<sup>a,b</sup>,  
LUBOMÍR OPLETAL<sup>c</sup>, JITKA MORAVCOVÁ<sup>a</sup>,  
JANA ČOPÍKOVÁ<sup>d</sup> a PAVEL DRAŠAR<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav chemie přírodních látek, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6, <sup>b</sup> Ústav experimentální botaniky AV ČR, Izotopová laboratoř, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, <sup>c</sup> Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, <sup>d</sup> Ústav chemie a technologie sacharidů, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6  
Pavel.Drasar@vscht.cz

Došlo 15.2.15, přijato 17.4.15.

Klíčová slova: přírodní látka, kyselá chuť, doplněk stravy, obnovitelné zdroje

### Obsah

1. Úvod
2. Mechanismus účinku
3. Látky kyselé chuti v potravinách
4. Kyselé komponenty vína
5. Látky ovlivňující vnímání kyselosti
6. Závěr

### 1. Úvod

V tomto článku, který tvoří další díl naší skládky přírodních látek<sup>1–11</sup>, se věnujeme látkám vyvolávajícím kyselou chuť. Vnímání různých chutí slouží od nepaměti všem živočichům jako signál o bezpečnosti potravy. Sladká chuť naznačuje zdroj energie, hořká varuje před nebezpečím a slaná napomáhá dodávat organismu sůl, protože „soli je zapotřebí“, jak se říká v jedné známé pohádce. Kyselá chuť naznačuje, že potrava není zcela zralá nebo že může být nahnílá. Ovšem u lidí a možná i u některých zvířat přiměřená konzumace kyselých potravin vyvolává i příjemné pocity a navíc kyselá látka jsou důležité pro dobrou kondici organismu.

Do potravin se přidávají pro zlepšení chuti a vůně, pro inhibici mikrobiální kontaminace a neenzymového hnědnutí a také na zlepšení gelotvorných vlastností, viskozity nebo teploty tání. Jako přídatná látka se v potravinách komerčně využívá např. kyselina octová, adipová, citronová, mléčná, jantarová, fumarová, vinná nebo jablečná.

### 2. Mechanismus účinku

Ačkoliv se snahy rozpoznat, co způsobuje kyselou chuť (kyselost, angl. sourness), datují již od konce 19. století, kdy byla poprvé spojována se stupněm disociace kyselin, a tedy přímo s účinkem vodíkových iontů<sup>12</sup>, stále ještě není její mechanismus zcela objasněný.

Testování kyselé chuti pufrů složených z kyseliny octové a octanu sodného s různým pH a různou celkovou aciditou pro dané pH publikované v roce 1920 ukázalo, že kyselost závisí na obou proměnných. Tedy, že je důležitá jako koncentrace vodíkových iontů, tak koncentrace volné kyseliny<sup>13</sup>. První práce popisující kyselou chuť ve vztahu ke koncentraci kyseliny byla publikována<sup>14</sup> v roce 1935. Autoři ukázali, že různě koncentrované roztoky kyselin chloroctové, octové, mravenčí, vinné a jablečné, které měly stejně kyselou chuť jako 0,0025 M kyselina chlorovodíková, spotřebují stejné množství fosfátového pufru o pH 6,9 na dosažení pH 4,5. Odtud odvodili, že relativní kyselost ekvimolárních roztoků kyselin je nezávislá na koncentraci. Z těchto a dalších prací se traduje jakási kyselostní řada, ve které má zředěná kyselina chlorovodíková index kyselosti 1. Pro srovnání, kyselina vinná má kyselostní index 0,7, kyselina citronová 0,46 a kyselina uhličitá 0,06 (cit.<sup>15</sup>). Jiné řazení může být podle klesajícího pocitu kyselosti: kyselina sírová, dusičná, chlorovodíková, chloroctová, fosforečná, dihydroxyvinná, vinná, citronová, mravenčí, mléčná, jablečná, octová, tartronová (hydroxypropandiová), D-galaktouronová, fumarová, propionová, uhličitá.

Vjem kyselosti je úměrný koncentraci protonů v případě anorganických kyselin, které jsou ve vodném roztoku plně disociované, ale pro organické kyseliny to pravda není, což ukazuje i na vliv aniontu. Proto se řada dalších prací věnovala objasnění vlivu aniontu či nedisociované formě organické kyseliny. Kyselá chuť organických kyselin byla dávána do souvislosti např. s jejich hydrofobicitou, která by mohla napomáhat snadnějšímu průchodu kyseliny přes buněčnou membránu receptoru<sup>16</sup>. Již dříve bylo totiž zjištěno, že zavedení polárních funkčních skupin do molekuly organické kyseliny její kyselost sníží<sup>17</sup>. Ovšem jiné práce tuto teorii nepotvrdily<sup>18,19</sup>.

Výsledky řady publikací vedly v roce 1996 k navržení chemické podstaty kyselé chuti jako analogii neutralizační reakce mezi kyselinou a bází, kde receptor slouží jako báze<sup>20</sup>.

Už jenom z tohoto krátkého přehledu je jasné, že závěry jednotlivých studií nejsou konzistentní, i když kyselost je považována za „jednoduchou“ základní chuť, protože její vnímání nevyžaduje stereoselektivní interakci složité molekuly s chuťovými receptory. Důvodů rozdílných výsledků může být několik. Předně je to různý způsob nastavení testů. Kyselost látek je testována buď na

dobrovolnicích, zvířatech nebo izolovaných buňkách. Existují zásadní rozdíly ve vnímání kyselé chuti mezi druhy i uvnitř jednoho druhu<sup>21</sup>. Kyselou chuť významně ovlivňují i takové vlastnosti slin, jako je obsah iontů a pufrovací kapacita<sup>22,23</sup>. Mechanismus účinku silných a slabých kyselin je různý a problém je dále komplikován i tím, že receptorem jsou polarizované epitelové buňky s apikálními a bazolaterálními membránami různých vlastností. Ještě složitější je pak předpovědět a modifikovat kyselou chuť potravin a nápojů obsahujících často směs organických kyselin<sup>24</sup>.

Pravděpodobný buněčný mechanismus vzniku kyselé chuti na chuťových buňkách zahrnuje především účinek protonů, které mohou přímo blokovat apikální hyperpolarizující  $K^+$  kanály, otevírat  $Ca^{2+}$  kanály nebo pronikat do buňky přes apikální  $Na^+$  kanály blokovatelné amiloridem. Ve všech těchto případech dochází k depolarizaci buněčné membrány, a chuťové buňky tak dávají signál k uvolnění neurotransmiterů a mozek vnímá kyselou chuť. Předpokládá se také, že slabé organické kyseliny mohou v neionizované podobě prostoupit buněčnou membránou, následně v intracelulárním prostoru disociovat, a tím vyvolat změnu elektrického potenciálu. Práci zaměřených na buněčný princip vnímání kyselé chuti je publikováno hodně, proto odkazujeme zájemce na referátové články<sup>21,24,25</sup>.

Nicméně ani po sto letech studia vnímání kyselé chuti nebylo jasno, zda existuje v chuťovém pohárku nějaký speciální protein fungující jako senzor kyselé chuti, ačkoliv jeho hledání bylo vynaloženo velké úsilí. Až v roce 2006 byly zveřejněny dva průlomové články o identifikaci proteinů PKD2L1 a PKD1L3 jako kandidátů na tuto funkci. Experimenty s myšimi buňkami exprimujícími tyto proteiny ukázaly, že reagují specificky na přítomnost kyseliny chlorovodíkové a citronové uvolňováním  $Ca^{2+}$  iontů, přičemž při stejné hodnotě pH byla odezva na kyselinu citronovou silnější<sup>26</sup>. Ve druhé práci byly k pokusům *in vivo* použity geneticky modifikované myši, které neexprimovaly protein PKD2L1 na chuťových buňkách<sup>27</sup>. Tyto myši vesele konzumovaly okyselenou potravu, kterou normální myši po ochutnání okamžitě odmítly. Buňky exprimující protein PKD2L1 byly překvapivě nalezeny i v míše a autoři předpokládají, že by mohly monitorovat hladinu protonů v nervovém systému. Od roku 2006 bylo publikováno mnoho dalších článků, které v podstatě potvrzují předchozí závěry.

### 3. Látky kyselé chuti v potravinách

Nejběžnější potraviny, které obsahují přirozeně kyselé složky, jsou ovoce, jako je citron, jablko, višně, broskev, hrozny, pomeranč, tamarind, jahody, hrozno, mango a někdy meloun. Víno může mít také kyselý nádech a chuť, pokud není správně skladováno, podobně jako zkyslé mléko. Bylo popsáno, že děti v USA mají větší požitek z kyselých chutí než dospělí<sup>28</sup>, přičemž většina potravinářských výrobků kyselé chuti pro děti obsahuje kyselinu citronovou. Nejběžnějšími kyselinami z ovoce

jsou jablečná, citronová, vinná a fumarová.

Mezi prostředky okyselování potravin patří nejčastěji kyseliny fosforečná, octová, adipová, citronová, fumarová, mléčná, jablečná, jantarová, vinná, fosforečná, a glukono- $\delta$ -laktón. Jejich kyselost klesá v řadě fosforečná > fumarová > vinná > jablečná > octová > citronová > mléčná > glukonová<sup>29</sup>. Potravinaři hodnotí i perzistenci kyselé chuti na jazyku a to např. v řadě od nejdelsí: fumarová, mléčná, jablečná, citronová a vinná<sup>30</sup>.

Merckův Index uvádí jako sloučeninu sladkokyselou chuť kyselinu cyklohexansulfamovou, svíravě kyselou sloučeninu  $H_2Fe_4O_{22}S_5$ , označovanou jako subsulfát železitý, bromovodík, jehož páry chutnají kysele, a inosin-5-fosfát s příjemnou kyselou chuť<sup>31</sup>.

### 4. Kyselé komponenty vína

Hlavními komponentami vína, které přispívají k jeho kyselé chuti (aspektu), jsou kyseliny vinná, octová, jantarová, jablečná, citronová, mléčná a galaktouronová<sup>32</sup>. Kyseliny dávají vínům jejich charakteristickou svěžít, lehce nakyslou chuť, ale přispívají i k trpkosti, hořkosti, slanosti, ovocnému tónu a některé i k vůni. Alkohol, cukry, minerální látky a další komponenty mohou zmírnit kyselost kyselin a dát vínům rovnováhu. Některé kyseliny jsou přirozeně přítomné v základních složkách vína (vinná, jablečná a citronová), zatímco jiné jsou vedlejšími produkty kvašení (kyselina mléčná, jantarová a octová). Vína s malým obsahem kyselin bývají chuťově chudá a plochá.

Nejdůležitější role kyselin v potravinách a tím i ve víně tkví v jejich schopnosti zastavit, nebo alespoň zpomalovat růst mnoha potenciálně škodlivých mikroorganismů, které by chuť vína zhoršily. Druhou důležitou vlastností je schopnost účasti spektra kyselin na transesterifikacích.

Kyselina vinná se v ovoci, kromě vína často nevyskytuje. U vína je však kyselinou převládající. To je důležité, protože je to nejsilnější a chuťově nejvýraznější kyselina přítomná u révových vín a se svými draselnými a vápenatými solemi do značné míry řídí (pufruje) efektivní kyselost (pH) těchto vín. Její kvantitativní nedostatek může tak přispět k mnoha problémům vína.

Kyselina jablečná je jedním z nejrozšířenějších kyselin v ovoci a zelenině, ze kterých jsou vyrobena různá vína. V teplejších klimatech je kyselina jablečná méně zastoupena ve zralých plodech než v chladnějších klimatických podmínkách, ale v obou podnebných pásmech se její koncentrace se zráním zmenšuje. Vyšší koncentrace kyseliny jablečné má tendenci přispět k chuti ostrou kyselostí, takže snížení její koncentrace je často hlavním faktorem při „mírnění“ nebo „vyhlazení“ příliš kyselé chuti moštu. Jeden způsob, jak to udělat, je nechat mošt déle kvasit, neboť 20–30 % původního množství kyseliny jablečné je vydýcháno během fermentace. V případě, že fermentovaná kapalina stále obsahuje příliš mnoho kyseliny jablečné, je třeba podpořit jablečno-mléčné kvašení, kterým se kyselina jablečná převede na slabší kyselinu mléčnou. Vysoký obsah kyseliny mléčné ale může být na škodu, protože při

kvašení může podpořit procesy, které produkují zápach zkaženého mléka nebo kysaného zelí.

Kyselina citronová se v hroznech vyskytuje méně, ale je hlavní v mnoha dalších druzích ovoce a často se přidává do vína ke zvýšení kyselosti, doplnění specifické chuti nebo k zabránění kovové pachuti. U hroznového vína ale zmizí během kvašení v podstatě stejným způsobem, jako kyselina jablečná. Pokud se přidá do téměř hotového vína ke zvýšení kyselosti, kyselina citronová sice dává vínu svěžší chuť, která se však zdá být umělá.

Kyselina octová je těkává a detegovatelná čichem. Jedná se o přirozenou součást většiny vín ve velmi malých množstvích, ale může být i sekundárně tvořena některými bakteriemi ve styku se vzduchem.

Kyselina jantarová je produktem kvašení a bývá ve stopových množstvích ve všech vínech. Chuť, kterou dodává, je směs kyselé, slané a hořké. Co je ale považováno za významné, je to, že lépe než ostatní kyseliny ve víně má schopnost produkovat bohaté, svěží estery transesterifikací během procesu stárnutí.

Kyseliny askorbová, máselná, sorbová, jantarová, citramalová ((2*R*)-2-hydroxy-2-methyljantarová), dimethylglycerová, galakturonová, glukuronová, glukonová, ketoglutarová, slizová, šřavelová a hroznová jsou také přítomny v hroznovém moštu ve stopových množstvích a přispívají k celkové kyselosti či různým vadám vína ale, co je významné, rozšiřují paletu transesterifikací<sup>33</sup>, při kterých se zvolna navozuje rovnováha mezi směsí esterů, volných kyselin a alkoholů a solí kyselin.

## 5. Látky ovlivňující vnímání kyselosti

Je zajímavé, že slané a kyselé součásti potravy zvyšují navzájem pocit slanosti a kyselosti při nízkých koncentracích, ale mají opačný efekt při vyšších koncentracích. Podobně hořké a kyselé látky mohou buď zvýšit, nebo potlačit druhou chuť v závislosti na koncentraci<sup>34</sup>.

Kyselý vjem snižuje i extrakt droždí, obsahující více než 20 % rozvětvených aminokyselin, jako leucin, isoleucin a valin z celkového obsahu aminokyselin, a méně než 3 % mononukleotidů<sup>35</sup>.

Ovšem zcela unikátní sloučeninou potlačující kyselou chuť je protein mirakulin obsažený v červených bobulích keře *Richadella dulcifica*, synonymum *Synsepalum dulcificum*, jehož vlastní je západní Afrika. Protein sám není sladký, ale je schopný kyselou chuť převést na sladkou, např. žvýkání bobule změni kyselou chuť citronu na sladkou chuť pomeranče<sup>36</sup>. A nejen to. Mirakulin způsobí, že i různé kyseliny (chlorovodíková, šřavelová, mléčná, mravenčí, octová a citronová) chutnají sladce a síla vjemu závisí na kyselosti a pH roztoku kyseliny<sup>37</sup>. Mirakulin je glykoprotein složený ze 191 aminokyselin a obsahuje dva oligosacharidové epitopy navázané na Asn-42 a Asn-186; molekulová hmotnost je 42,6 kDa (cit.<sup>38,39</sup>). Pravděpodobný mechanismus účinku mirakulinu spočívá v jeho navázání na membránu chuťového receptoru v těsném sousedství receptoru pro sladkou chuť. V kyselém prostředí se změni

konformace proteinu tak, že může druhým ligandovým místem interagovat s receptorem pro sladkou chuť. Tato hypotéza je podložena pozorováním, že vjemy slanosti, hořkosti či sladkosti nejsou ovlivněny po vypláchnutí úst roztokem mirakulinu<sup>37</sup>.

## 6. Závěr

Mohlo by se zdát, že objasnění vzniku kyselé chuti, která je vyvolávána tak malou molekulou, jako je oxoniový kation vznikající disociací kyselin, je jednoduché. Jak ale ukazuje tento článek, přesný mechanismus není detailně rozluštěn ani dnes.

Přehled přírodních látek kyselé chuti ukazuje zajímavost této skupiny obnovitelných materiálů, přispívá k poznání biodiverzity sekundárních metabolitů a může přispět k inspiraci, například potravinářských a farmaceutických chemiků při hledání nových možností využití takových látek v praxi.

*Autoři tímto děkují MŠMT za podporu v rámci výzkumného záměru č. MSM6046137305 a grantu NAZV č. QI111A166.*

## LITERATURA

- Čopíková J., Lapčík O., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 100, 778 (2006).
- Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 99, 802 (2006).
- Čopíková J., Wimmer Z., Lapčík O., Cahlíková L., Opletal L., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 108, 1053 (2014).
- Cejpek K.: Chem. Listy 108, 426 (2014).
- Čopíková J., Moravcová J., Wimmer Z., Opletal L., Lapčík O., Drašar P.: Chem. Listy 107, 867 (2013).
- Čížková H., Ševčík R., Rajchl A., Pivoňka J., Voldřich M.: Chem. Listy 106, 903 (2012).
- Jelínek L., Karabín M., Kinčl T., Hudcová T., Kotlíková B., Dostálek P.: Chem. Listy 107, 209 (2013).
- Krejzová E., Bělohav Z.: Chem. Listy 108, 17 (2014).
- Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 101, 44 (2007).
- Moravcová J., Opletal L., Lapčík O., Čopíková J., Uher M., Drašar P.: Chem. Listy 101, 1002 (2007).
- Opletal L., Čopíková J., Uher M., Lapčík O., Moravcová J., Drašar P.: Chem. Listy 101, 895 (2007).
- Richards T. W.: J. Am. Chem. Soc. 20, 121 (1898).
- Harvey R. B.: J. Am. Chem. Soc. 42, 712 (1920).
- Beatty R. M., Cragg L. H.: J. Am. Chem. Soc. 57, 2347 (1935).
- McLaughlin S., Margolskee R.F.: American Scientist 82, 538 (1994).
- Gardner R. J.: Chem. Senses Flav. 5, 185 (1980).
- Chauncey H. H., Feller R. P., Shannon I. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 917 (1963).
- Noble A. C., Philbrick K. C., Boulton R. B. J.: Sens.

- Stud. 1, 1 (1986).
19. Norris M. B., Noble A. C., Pangborn R. M.: *Physiol. Behav.* 32, 237 (1984).
  20. Shallenberger R. S.: *Food Chem.* 56, 209 (1996).
  21. DeSimone J. A., Lyall V., Heck G. L., Feldman G. M.: *Resp. Physiol.* 129, 231 (2001).
  22. Lugaz O., Pillias A. M., Boireau-Ducept N., Faurion A.: *Chem. Senses* 30, 89 (2005).
  23. Heinzerling C. I., Stieger M., Bult J. H. F., Smit G.: *Chem. Percept.* 4, 145 (2011).
  24. Da Conceicao Neta E. R., Johanningsmeier S. D., Drake M. A., McFeeters R. F.: *J. Food Sci.* 72, 352 (2007).
  25. Kinnamon S. C.: *Ciba Found. Symp.* 179, (Issue: Mol. Basis Smell Taste Transduct.) 201 (1993). *SciFinder Acc. No.* 1994:601336.
  26. Ishimaru Y., Inada H., Kubota M., Zhuang H., Tomi-naga M., Matsunami H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 12569 (2006).
  27. Huang A. L., Chen X., Hoon M. A., Chandrashekar J., Guo W., Tränkner D., Ryba N. J. P., Zuker C. S.: *Nature* 442, 934 (2006).
  28. Liem D. G., Mennella J. A.: *Chem. Senses* 28, 173 (2003).
  29. Berry S. K.: *J. Food Sci. Technol.-Mysore* 38, 93 (2001).
  30. Jarrett T. N.: *The Manufacturing Confectioner March*, 58 (2012).
  31. *The Merck Index*, 13th Ed., Merck & Co. Inc., White-house Station, 2001, electronic version by CambridgeSoft, Cambridge.
  32. Wolf L. K.: *Chem. Ing. News*, Sept. 22, 28 (2014).
  33. Keller J.: *Winemaking home page*; <http://winemaking.jackkeller.net/> staženo 27/10 2014.
  34. Breslin P. A. S.: *Trends Food Sci. Technol.* 7, 390 (1996).
  35. Shimokawa H., Tanisawa J.: JP 2014200212 (2014).
  36. Kurihara K., Beidler L. M.: *Science* 161, 1241 (1968).
  37. Kurihara K., Beidler L. M.: *Nature* 222, 1176 (1969).
  38. Theerasilp S., Kurihara Y. J.: *Biol. Chem.* 263, 11536 (1988).
  39. Theerasilp S., Hitotsuya H., Nakajo S., Nakaya K., Nakamura Y., Kurihara Y. J.: *Biol. Chem.* 264, 6655 (1989).

**O. Lapčík<sup>a</sup>, Z. Wimmer<sup>a,b</sup>, L. Opletal<sup>c</sup>, J. Morav-cová<sup>a</sup>, J. Čopíková<sup>d</sup>, and P. Drašar<sup>a</sup>** (<sup>a</sup> *Isotope Laboratory, Department of Chemistry of Natural Compounds, University of Chemistry and Technology, Prague*, <sup>b</sup> *Isotope Laboratory, Institute of Experimental Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, <sup>c</sup> *Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Králové*, <sup>d</sup> *Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Natural Taste-Sour Substances**

A brief survey of naturally occurring sour compounds is given. It can contribute to the knowledge of the biodiversity of secondary metabolites which can be utilized among others, in food, cosmetic and pharmaceutical industry. The beauty and biodiversity of this group of mostly secondary metabolites are illustrated. The review is also aimed at teachers and students.

## VÝZVA

Obracíme se na všechny, kteří mají nějakou osobní vzpomínku na prof. Vacíka, prof. Brdičku, prof. Zýku, prof. Koštíře, aby se o ni podělili s Knihovnou chemie na PřF UK. Rádi bychom na podzim 2015 uskutečnili výstavu "Víte koho čtete" o prof. Vacíkovi a následně i o dalších profesorech. Pokud o nich něco zajímavého víte, obraťte se prosím na Knihovnu chemie, Hlavova 8, Praha 2, tel: 221 951 214 nebo 221 951 213, e-mail: knihchem@natur.cuni.cz