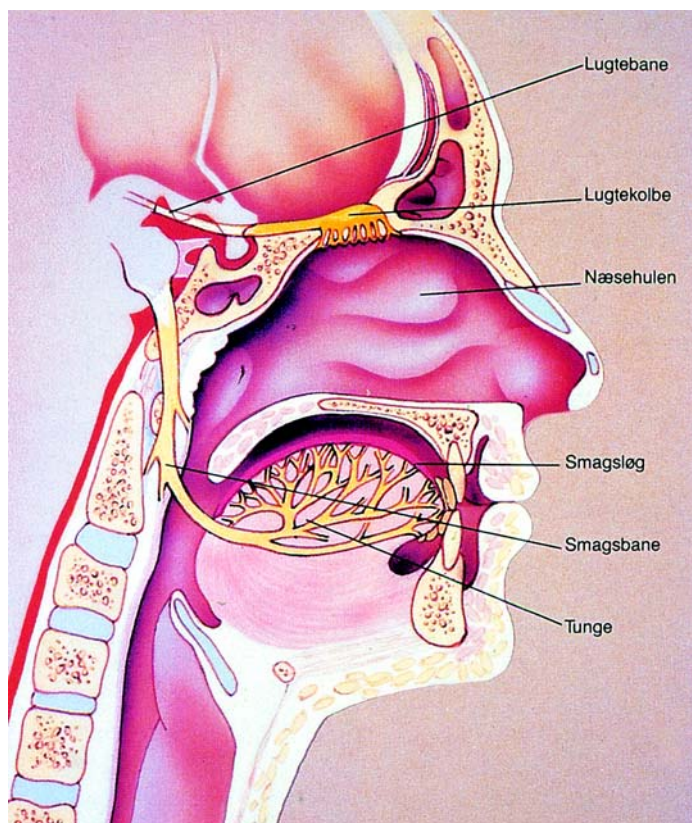


Flavour – kemisk set (II)

Ordet flavour står for den sammensatte følelse af smag, lugt og »mundfølelse« i det forskningsfelt, der handler om sansningen i forbindelse med indtagelsen af mad og drikke (kaldet »sensorikken«). Flavour er altså udtryk for en integration af de tre primære sansninger og foregår i hjernen. I den første artikel omtaltes smagen, denne handler om lugtesansen

Af Thorvald Pedersen, Kemisk Institut, Københavns Universitet, thp@kiku.dk



Figur 1. Lugtepitelet i næsehulen.

The pleasant sensations in eating come more from odour than from taste.
H. Charlie og C. Weaver i »Foods«

Lugtesansen

Lugtesansen regnes, som det var tilfældet med smagssansen, til de »kemiske sanser«, som igen anses for at være nogle af de tidligst udviklede sanser. Der er mange lighedspunkter mellem smagssansen og lugtesansen i måden sansningen foregår på. I boks 1 i den tidligere artikel blev cellers signalering diskuteret lidt nærmere, og det viser sig nu, at signaleringsproceduren for lugtesansen og smagssansen for så vidt angår de organiske stoffer (sødt, bittert og umami) er den samme, den vil derfor

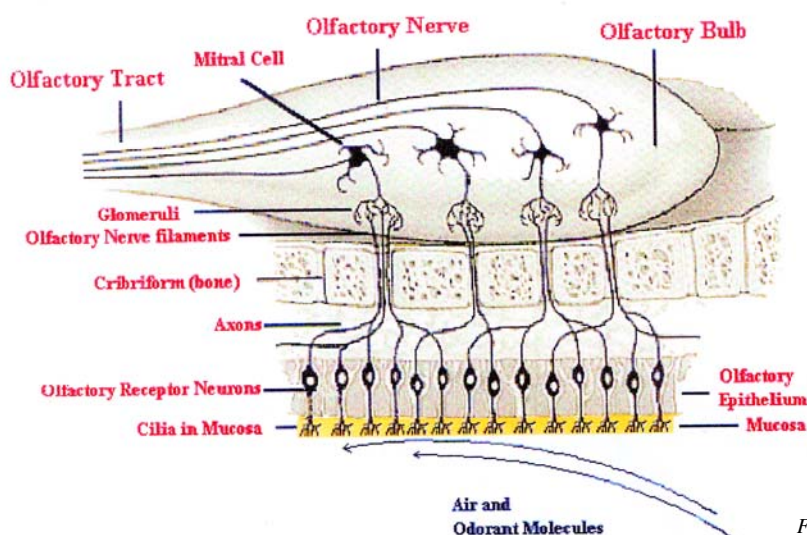
ikke blive berørt i denne artikel. Men mere om selve receptorerne nedenfor.

Mens smagsstofferne er vandopløselige, så fremtræder duftstofferne som oftest som hydrofobe (lipofile); pyrazinderivater udgør en vigtig undtagelse, mere om dette nedenfor. Der er ikke fundet duftstoffer med molvægte større end ca. 350 (moskus).

Denne artikel er altovervejende baseret på fire oversigtsartikler/monografier om lugtesansen forfattet af Graham A. Bell [1], Carolyn Fischer og Thomas Scott [2], Günther Ohloff [3] og John C. Leffingwell [4].

Lugtesansens anatomi – OBP og ODE

Man må jo nok se menneskets næse som en noget degenereret udgave af lavere skabningers lugteorganer, i den forstand at to



Figur 2. Bulbus olfactorius (BO) m.m.

næsebor og to separate lugtepiteler (s.n.) kan ses som reminiscenser af insekternes to følehorn. Følehorn lugter bl.a. pheromoner »sex attractants«, som er beregnet til at lokke et insekt af samme art og modsat køn til. Det insekt, der ønsker at tiltrække en mage, udskiller pheromonet, og takket være følehornene kan »modtageren« finde ud af, i hvilken retning det skal flyve for at træffe selvsamme. Når indtrykket er lige kraftigt på begge følehorn, er flyveretningen nemlig korrekt – på nær 180°, »frem eller tilbage?« afklares ved at finde den retning, hvor duftintensiteten vokser, mens man flyver. Menneskers næsebor sidder nok for tæt til, at vi kan finde vores mage på længere afstand, (og så hører vi desuden til de »microsmatiske« pattedyr, hvor kaniner og rotter hører til de »macrosmatiske«, der er udstyret med 10 gange flere lugteceller, mennesket har ca. 10 mio.). Så mon ikke synssansen har overtaget lugtesansens rolle, hvad magesøgning angår?

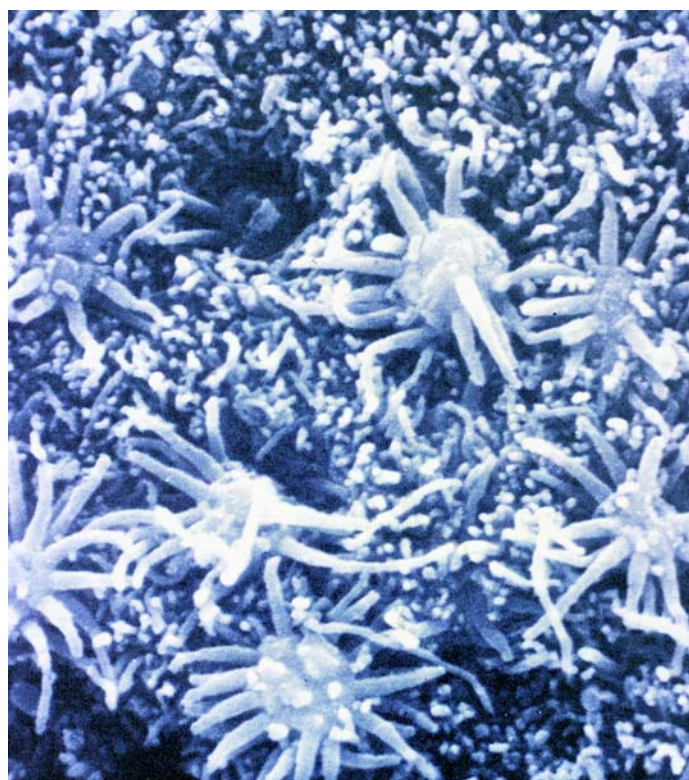
I figur 1 ses det sted i næsehulen, hvor man finder lugtepitellet. Dette udgør to adskilte områder, hver dækkende ca. 2,5 cm² og beliggende stort set under (ikke bag) hvert øje. Lugten har sin egen kranienerve – den olfaktoriske nerve, (som for resten kaldes »Kranienerve nummer 1« – i erkendelse af dens »primære« natur). Nerven munder først ud i Bulbus olfactorius (BO), der er en del af hjernen, som udgøres af to koglelignende legemer og som ligger ovenpå »sibenet« (cribriform bone), en perforeret knogle i næsens loft (figur 2) [4]. BO har foruden en forstærkerfunktion, som kommer i stand ved at mange axoners indtryk samles på nogle legemer kaldet »glomeroli«, en bearbejdningsfunktion som sker gennem de »mitrale celler«, hvorfra den bearbejdede lugtinformation sendes videre op i den limbiske cortex i den del af hjernen, der kaldes det »limbiske system«. Det limbiske system rummer desuden også de elementære følelser (aggression, glæde m.m.) [6]. I mere end én forstand er dufte og følelser derfor tæt sammenknyttede, som også betragtningerne om pheromonerne ovenfor lader formode.

I modsætning til smagscellerne så er lugtecellerne selv nerveceller. Dvs. den synapse, der forbandt smagscellen med de relevante nervebaner, mangler her. Lugtecellerne, der er ca. 5 µm store, ender i den ydre ende i en kvast af cilier, hvorpå selve receptorerne sidder. I figur 3 vises et nærbillede af cilierne. Der er 8-20 cilier på hver receptorcelle. (Cilier findes rundt omkring i organismen, bl.a. i lufrøret, hvor de er i en stadig bevægelse, der skal føre fremmedlegemer opad, eller hos spermatozoer der bruger dem til at bevæge sig med, lugteorganets cilier er dog ikke bevægelige).

Cilierne er indlejret i en ca. 30 µm tyk slimhinde, hvis slim udskilles af de »Bowmanske kirtler« og stadig fornys. Slimen består af ca. 95% vand, de resterende ca. 5% består af glycoproteiner (slimdannerne), polyaminoglycaner og nogle særlige »Odour-Binding Proteins« (OBP), som menes at assistere med transporten af duftstofferne [7] (mere om det nedenfor). Lignende proteiner kendes fra vore tårer, hvor de kaldes lipocaliner. Faktisk klassificeres OBP som en slags lipocaliner. For ganske nylig har Vincent m.fl. optaget en Røntgenstruktur af et OBP fra svin [8], den vises i figur 4.

Endelig findes der i slimlaget nogle »odour destroying enzymes«, ODE, hvis funktion menes at være at medvirke til at rydde duftstoffer af vejen, så de ikke blokerer for nye lugtindtryk.

Man kunne med nogen ret spørge, om det er smart først at bade cilierne i en slim, som er vandbaseret (og derfor må formodes at virke som en barriere mod hydrofobe duftstoffer, og mange duftstoffer er ret hydrofobe, specielt selvfølgelig carbonhydrider som terpenerne), og dernæst etablere et transportsystem for de samme hydrofobe molekyler, så de kan komme frem til receptorerne. Det forekommer, at det havde



Figur 3. Lugtecellerne ender i en kvast af cilier.

været enklere simpelthen at udelade slimen i lugteapparatet, så cilierne stak direkte ud i gasfasen.

Men stik mod intuitionen (i hvert fald denne forfatters) så viser det sig, at det for en lang række centrale duftstoffer gælder, at *koncentrationsforholdet* (Henrykonstanten $H = C_{\text{gas}}/C_{\text{vand}}$) faktisk ligger til *gunst for vandfasen*, det gælder i særlig grad pyrazinerne (hvoraf flere findes i lugten af kartofler). Ved ligevægt er pyraziner 10⁵ gange rigeligere til stede i vandfasen end i gasfasen. Selv stoffer som geraniol og nerol (to isomere duftstoffer der findes i citrongræs) med 10 C og 1 OH-gruppe er ca. 500 gange rigeligere og ω-pentadecalacton (duftstof i kvanrod) med 15 C og 1 estergruppe er 10 gange rigeligere. For alle disse stoffer gælder det altså, at vandfasen faktisk *forstærker* signalet, og at de fortrinsvis transporteres ved simpel diffusion gennem slimhinden.

Der er også andre hensyn at tilgodese: foruden at medvirke til at rense receptorerne for tidligere indtryk, så modvirker slimen den udtørring, som et organ, der stikker direkte ud i luften, ville være udsat for: i stedet for at kompensere for



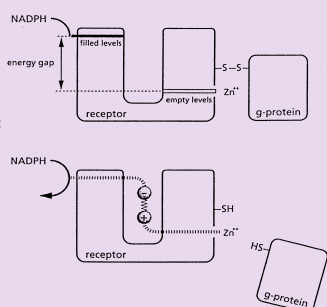
Figur 4. Røntgenstruktur af »Odour-Binding Proteins« OBP i svin.

Boks 3: En vibronisk teori om lugteprocessen

I 1996 publicerede Luca Turin en teori om selve hjertet i lugteprocessen, nemlig om hvad der sker, når duftstoffet har lagt an til receptorproteinet [24]. Allerede i 1938 fremsatte Dyson en teori om, at vibrationelle kvanter var involveret i »signaltransduktionen« (der henvises til Turins artikel for videre referencer), en teori der blev elaboreret af Wright i 1977. De blev i det store og hele glemt, fordi de ikke kunne forklare, at enantiomere havde forskellig duft – enantiomere har jo identiske IR-spektre.

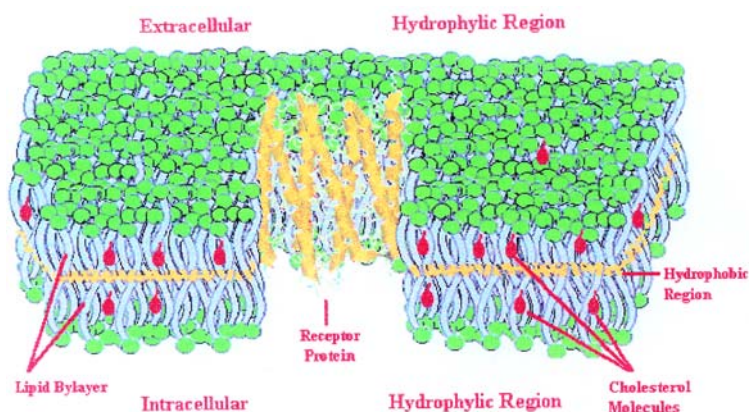
Turin tager afsæt i disse tidlige arbejder, men han indfører en sofistikeret mekanisme, som involverer en elektronoverførsel, der er koblet til en vibrationel excitation. Den vises skematisk i figuren. Der indgår, som det fremgår af figuren, et passende bundet zinkatom (ion) i mekanismen, og Turin sammenligner en række receptorproteiners primære strukturer med insulins for at finde sekvenser af aminosyrer, der kan minde om den sekvens i insulin, hvor bindingen til zink foregår (CysGlySerHisLeu). De

Figuren er lånt fra: Luca Turin, *A Spectroscopic Mechanism for Primary Olfactory Reception*, 1996, 21, 773-791. På tilsvarende vis lånte vi til den første artikel i serien (dansk kemi, 10, 30-36, figur 1, 3 og 9 fra: N. Froloft et. al, *Multiple Human Taste receptor Sites; A Molecular Modeling Approach*, 1996, 21, 425-445 med venlig tilladelse fra Oxford University Press.



viser sig alle at have enten den samme eller tæt beslægtede sekvenser. At zink er essentiel for lugtesansen ved man, fordi man kan fremkalde øjeblikkelig (midlertidig) »anosmi« (manglende lugtesans) med et præparat, der fjerner zink – f.eks. histidin.

Turin kommer vidt omkring i sit spændende arbejde. Lad det være nok at nævne, at han har en god forklaring på, at ferrocen og nikkelocen har meget forskellig lugt, men næsten identiske strukturer, en kraftig antydning af at »strukturen« ikke er den ultimative determinant for et stofs duft. Han forklarer også, at acetophenon og perdeuteroacetophenon lugter forskelligt.



Figur 6. Belysning af »7 transmembran domæner«.

vandtab fra cilierne ved en indre cirkulation, så bades de nu i en (slags) vandfase som til stadighed fornyes.

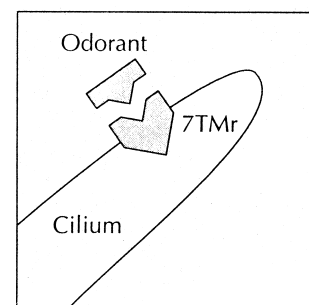
Under de omtalte omstændigheder må man derfor spørge, om OBP spiller en mere aktiv rolle end blot at agere simpel færgemand. Og sådan er alle vist enige om, at det forholder sig, der er nemlig fundet forskellige slags OBP, som er specialiserede i hver deres klasse af duftstoffer. I artiklen »Subtypes of Odorant-Binding Proteins. Heterologous Expression and Ligand Binding« beskriver Löbel m.fl. [9] således to OBP'er (fra rotter): OBP1 og OBP2, hvoraf OBP1 specifikt binder 2-isobutyl-3-methoxypyrazin (et meget potent duftstof der bl.a. findes i peberfrugt), mens OBP2 ikke binder dette stof. Derimod bindes 1-anilinonaphthalen-8-sulfonsyre (1,8-ANS) specifikt til OBP2.

Ideen med at benytte 1,8-ANS – der ikke selv er et duftstof – er, at det er en fluorescenschromofor, som man efterfølgende kan benytte til at konstatere om et andet (duft)stof senere kan fortrænge det (og dermed indikere at det bindes stærkere), fordi dets forsvinden fra proteinet kan følges spektrofotometrisk. 1,8-ANS lod sig for det første fortrænge af fede syrer med kædelængder på 14, 16 og 18 C, men for det andet kunne egentlige duftstoffer, som »lilial« (p-tert-butyl- α -methyldihydrokanelaldehyd) og »citralva« (3,7-dimethyl-2,6-octadiennitril), fortrænge 1,8-ANS. Derimod kunne pyrazinderivater inkl. det ovenfor omtalte, ikke fortrænge 1,8-ANS. De to OBP'er har altså forskellige evner og derfor formentlig forskellige funktioner.

Det gode spørgsmål er imidlertid, om OBP'ernes funktion er at transportere odoranter til eller fra receptorerne. Overvejelser over diffusionstider for OBP-ligandkomplekser fører til tider, der forekommer helt urealistiske (minutter) og som heller ikke stemmer med målinger af den neurale aktivitet, der efterfølger en påvirkning med et duftstof [10,11]. Det betyder, at rollen som transportør til receptorerne er mindre sandsynlig, at OBP's rolle måske snarere er at fjerne odoranter fra receptorerne. Dette synspunkt diskuteres da også af Vincent m.fl. [12]. Derfor taler også at OBP1 i ovennævnte arbejde binder et pyrazinderivat, som er meget hydrofilt og derfor ikke har problemer med at diffundere ned til cilierne, og som derfor heller ikke har brug for en OBP-transportør. En tredje ide, der har været bragt frem, er, at OBP skal virke som en buffer, der skal beskytte receptorerne mod at blive mættede [13]. Den hypotese forklarer i hvert fald, hvad meningen er med, at det ovennævnte OBP1 binder pyraziner, der som nævnt er meget potente duftstoffer.

Lugtreceptorerne

I figur 5 [1] vises en receptor på en cilie, 7TMr betyder »7 transmembran domæner«, et begreb der belyses i figur 6 [14] (Dette er en model ikke en faktisk konstateret udgave af en receptor). Ser man i boks 1 i min første artikel, vil man ikke genkende til betegnelserne α , β og γ fra det såkaldte G-protein, der sørger for afgivelsen af cellens signal, når det aktiveres gennem receptoren. 7-tallet (i 7TMr) hentyder til de 7 helixer, som udgør receptoren, og hvori odoranten indlejres, når lugten sanses. I det omfang denne model holder



Figur 5. Receptor på en cilie.

Kassesuccesser fra Delfi

Få mere
information på
www.delfi.dk



Axiohm A794 bonprinter

Overlegen mht. brugervenlighed og stabilitet. Den unikke Clamshell™ 1-2-3 papirføder sikrer lynhurtige papirskift. En enkel, hurtig og stille bonprinter.

- 203 dpi / 130 mm pr. sekund
- Selvslibende keramisk kniv

Axiohm Color POS A795 bonprinter

2-farve bonprinter

- 180 mm monokrom print
- 100 mm farveprint
- ... ellers som Axiohm 794

Axiohm Del Sol strejkodeprinter

Avanceret og økonomisk Thermal Transfer og Direct Thermal Transfer strejkodeprinter.

- 203 dpi / 75 mm pr. sekund
- Indbyggede strejkodefonte
- Stor flashmemory
- Inkl. labelview XLT

CITIZEN CLP-6001/6401 etiketprinter

Printer etiketter med strejkoder, grafik og tekst.

- 203/400 dpi / 173 mm pr. sekund
- Thermal Transfer og Direct Thermal Transfer
- Alsidig og robust printer



PSC QuickScan laserhåndscanner

QuickScan 6000+ laserhåndscanner til detailhandlen.

- 10-50 cm læseafstand
- Sluttes direkte til kassen
- Læser alle gængse strejkodesymboler
- Vægt: 136 gram
- Priser fra 3.195 kr. ekskl. moms.



PREH POS keyboard

Højkvalitets keyboard, der kan leveres med indbygget magnetkortlæser. Leveres også med 102 tasters dansk keyboard. Ideelt til:

- Point-of-Sales applikationer med elektronisk kassestyring
- Banker og forsikringselskaber
- Aflæsning af sygesikringskort



Kasseskuffe 35-423

- RS232/Printer interface
- 430 x 407 x 97 mm
- Nylon eller stål kuglejer
- Sort eller hvid
- Priser fra 815 kr. ekskl. moms



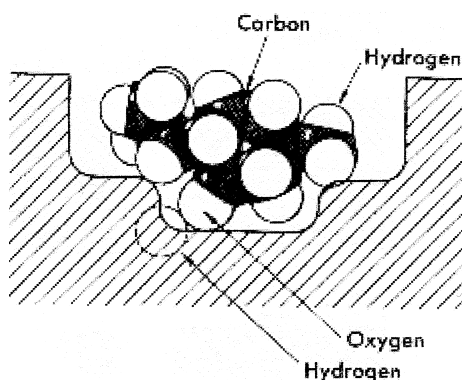
PSC V5800 rundstrålescanner

Lille scanner med stor ydeevne. Scanner alle strejkoder - store som små, ja selv vanskelige koder.

- Scan hastighed 1.500 linier/sek.
- Ideel til kiosker, apoteker, tankstationer, mm.

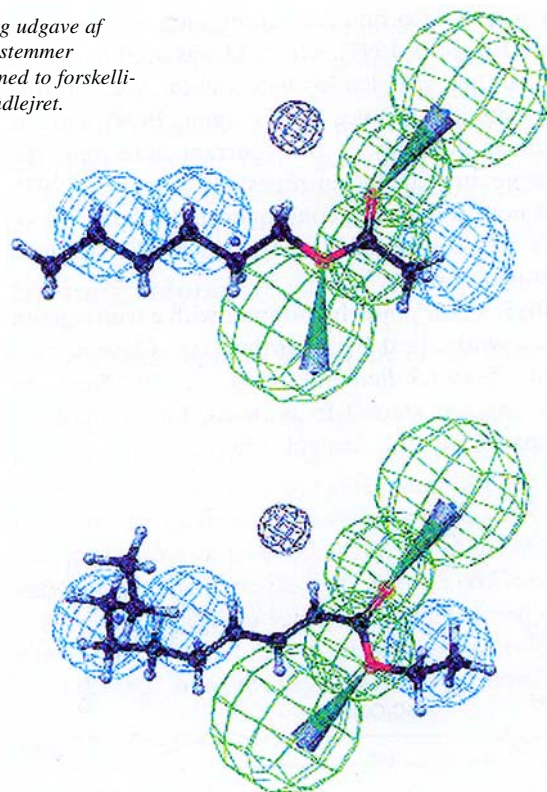
Delfi TECHNOLOGIES

Delfi Technologies A/S - Handels- & Ingeniørfirma
Åmarken 2 - DK-4623 Lille Skensved
Tel. +45 70 222 555 - Fax +45 70 222 666
E-mail info@delfi.dk - Internet www.delfi.dk



Figur 7. Traditionel afbildning af den »façon« der bestemmer duftindtrykket.

Figur 8. Nutidig udgave af »façon« der bestemmer »pærelugten« med to forskellige molekyler indlejret.



stik, så er det klart, at de syv helixer næppe vil kunne give anledning til et specifikt site. Mange molekyler med lignende strukturer må kunne »omklamres« af disse fangarme om end ikke i samme grad.

Man har ikke tal på, hvor mange forskellige receptorproteiner der findes, men det skønnes, at der er 500–1000 gener som koder for receptorproteiner [15], så et lignende antal forskellige receptorproteiner er sandsynligt. Hvis vi holder fast i billedet med de syv helixer, så må vi forestille os, at forskellene ville være forskelle i udgangskonformationer samt i omklamringspotentiale. Dette potentiale vil være bestemt af de svage bindinger, det aktuelle site kan knytte til duftstoffet.

Som det var tilfældet for smagen af de organiske stoffer, så er der ved at være enighed om, at den type dataprocesering, der blev omtalt i boks 2 i den første artikel, er den samme for lugtesansens vedkommende [16]. På den måde kan man også forstå, at 1000 forskellige receptorproteiner kan rapportere om 10.000 forskellige dufte.

Den gældende anskuelse er, at det er strukturen af duftstoffet, dets facon, der primært bestemmer duftindtrykket [17,18,19]. Figur 7 viser en traditionel afbildning af en sådan »façon«, mens en nutidig udgave vises i figur 8 [20] (Kraft). Det følger naturligt af disse forestillinger, at duftmolekylernes stereokemi – herunder deres eventuelle chiralitet, spiller ind. Ohloff [21] giver en række eksempler herpå. I tabellen nedenfor gengives nogle få heraf med de beskrivelser, som Ohloff giver af duftene.

Forudsigelse af dufte

Ohloff er ansat i det schweiziske firma Firmenich, der fremstiller alle arter af duftstoffer til parfumeindustri, levnedsmiddelindustri m.v., mens J. C. Leffingwell er tilknyttet det konkurrerende amerikanske firma »Leffingwell and Associates«. Det er klart, at man på sådanne steder har en interesse i at kunne designe duftstoffer. Efter det samme princip, som omtaltes i artiklen om smag, forsøger man at karakterisere og sammenligne strukturer med henblik på at opnå en ønsket duft. Ohloff

Nogle chirale molekyler dufte

Odorant	Descriptor
<i>R</i> -Linalool	Woody lavender note
<i>S</i> -do.	Sweet lavender note, petitgrain
<i>S</i> -Citronellol	Geranium-type
<i>R</i> -do.	Citronella type
<i>S</i> -Limonen	Turpentine
<i>R</i> -do.	Orange
<i>S</i> -Carvon	Mint
<i>R</i> -do.	Caraway (kommen)
<i>S</i> -Neroloxid	Green, Spicy, geranium
<i>R</i> -do.	Green floral

nævner anvendelsen af mønstergenkendelsesteknikker (Pattern Recognition Techniques) til at forudsige dufte med moskuskarakter. Ved at analysere 60 molekyler med moskuslugt og 240 beslægtede, som savner den lugt, kom man frem til nogle såkaldte »geometrical osmophores«, som er analoge med de »binding motifs«, der blev omtalt i den første artikel. Ideen er blevet udviklet i senere arbejder: P. Kraft m.fl. har skrevet et review om anvendelsen af ideen ved design af parfumestoffer, figur 8 stammer fra dette arbejde. Og moskusarbejdet er blevet fortsat af C. Ham m.fl. [23].

Den sidste del af flavour, mundfølelsen, beskrives i dansk kemi nr. 12.

Referencer:

1. G. A. Bell i: »Trends in Food Science and Technology« 7(12), 1996, 386-458.
2. C. Fisher og T. R. Scott, »Food Flavours – Biology and Chemistry« RSC Paperbacks 1997.
3. G. Ohloff, »Scent and Fragrances«; Springer Verlag 1994.
4. J.C. Leffingwell på webstedet: www.leffingwell.com/olfaction.htm
5. G. Ohloff, »Scent and Fragrances«; Springer Verlag 1994.
6. Jens Bøgeskov m.fl. i: »Hjernen – fra neuron til bevidsthed«, Nucleus 1997.
7. T.V. Getchel og M.V. Getchel, Chem. Senses; 15, 223-231, 1990.
8. F. Vincent m.fl., J. Mol. Biol. (2000) 300, 127-139.
9. D. Löbel m.fl.; Eur. J. Biochem. 254, 318-324, (1998)
10. G. A. Bell i: »Trends in Food Science and Technology« 7(12), 1996, 386-458.
11. T.V. Getchel og M.V. Getchel, Chem. Senses; 15, 223-231, 1990.
12. F. Vincent m.fl., J. Mol. Biol. (2000) 300, 127-139.
13. G. Ohloff, »Scent and Fragrances«; Springer Verlag 1994.
14. www.leffingwell.com/olfact3.htm
15. www.leffingwell.com/olfaction.htm
16. B. Malnic m.fl., Cell 96(5), 713-723, 1999
17. H. Charley og C. Weaver, »Food – a Scientific Approach«, Merrill 1998.
18. J. E. Amoore m.fl., Sci. Amer. 210,(2), 42-49, 1964
19. G. Ohloff, »Scent and Fragrances«; Springer Verlag 1994.
20. P. Kraft m.fl., Angew. Chem. Int. Ed. 39(17), 2980-3010, 2000.
21. G. Ohloff, »Scent and Fragrances«; Springer Verlag 1994.
22. P. Kraft m.fl., Angew. Chem. Int. Ed. 39(17), 2980-3010, 2000.
23. C. Ham m.fl., Chem. Senses 10(4), 491-505 (1986).
24. L. Turin, Chem. Senses 21; 773-791, 1996