



Kandidaatintutkielma

# Makeutusaineet ja maistamisen kemotransduktio

Aliina Laitinen

# Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet

Sisällys

1. Makeutusaineet	3
1.1 Sokereista	4
1.1.1 Makean maun teoriat	5
2. Makeutusaineiden kemiaa	6
2.1 Synteettisten makeutusaineiden rakenteista	6
2.2 Luonnollisten makeutusaineiden rakenteista	7
3. Makuaineiden vaiheet elimistössä	8
3.1 Maistaminen	8
3.1.1 Makean maistamisen reseptori	12
3.1.1.1 Rakenne	12
3.1.1.2 Reseptorin aktivoituminen ja makean transduktio	15
3.2 Metabolia	16
4. Makeutusaineiden seuraukset ihmiselimistössä	18
4.1 Hyödyt	19
4.2 Haitat	20
5. Makeutusaineiden suunnittelu	21
Kirjallisuusviitteet	23

## Käytetyt lyhenteet

ADI-arvot	Acceptable Daily Intake (-value)
CALHM1	kalsiumin homeostaasin modulaattori 1 (calcium homeostasis modulator 1)
cAMP	syklinen adenosiinimonofosfaatti
CRD	runsaskysteiniininen domeeni (cysteine-rich domain)
DAG	diasyyliglyseroli
GIP	mahan inhibitorinen peptidi
GLP-1	glukagonin kaltainen peptidi
GLUT	glukoosinkuljettaja (glucose transporter)
GPCR	G-proteiinikytkentäinen reseptori (G-protein coupled receptor)
IP3	1,4,5-inositolitrifosfaatti
mGluR	metabotrooppinen glutamaattireseptori
PIP2	fosfatidyyl-inositoli-4,5-bisfosfaatti
PKU	fenyylketonuria
PLC $\beta$	fosfolipaasi C:n $\beta$ -isotyyppi
T1R	tyypin 1 makureseptori (taste receptor type 1)
TMD	transmembraaninen domeeni
TRPM5	Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 5
VFTD	venus flytrap -domeeni

## 1. Makeutusaineet

Makeutusaineet ovat sokerin korvikkeita, joita on ryhdytty valmistamaan terveellisemmäksi vaihtoehdoksi. Suomen elintarvikelain (1995/361 § 48) mukaan makeutusaineiksi lasketaan aineet, jotka antavat elintarvikkeelle makean maun olematta mono- tai disakkarideja. Nämä aineet ovat siis laaja ryhmä elintarvikkeiden lisäaineita. Verrattuna sakkaroosiin muut makeuttajat antavat vastaavan tai moninkertaisen makeuden, mutta ne sisältävät vähemmän energiaa. Pienemmän energiasisällön myötä makeutusaineet nähdään parempana vaihtoehtona muun muassa painonpudottajille, diabetesta sairastaville sekä suun terveyden, erityisesti hampaiden, kannalta. (Das & Chakraborty, 2018)

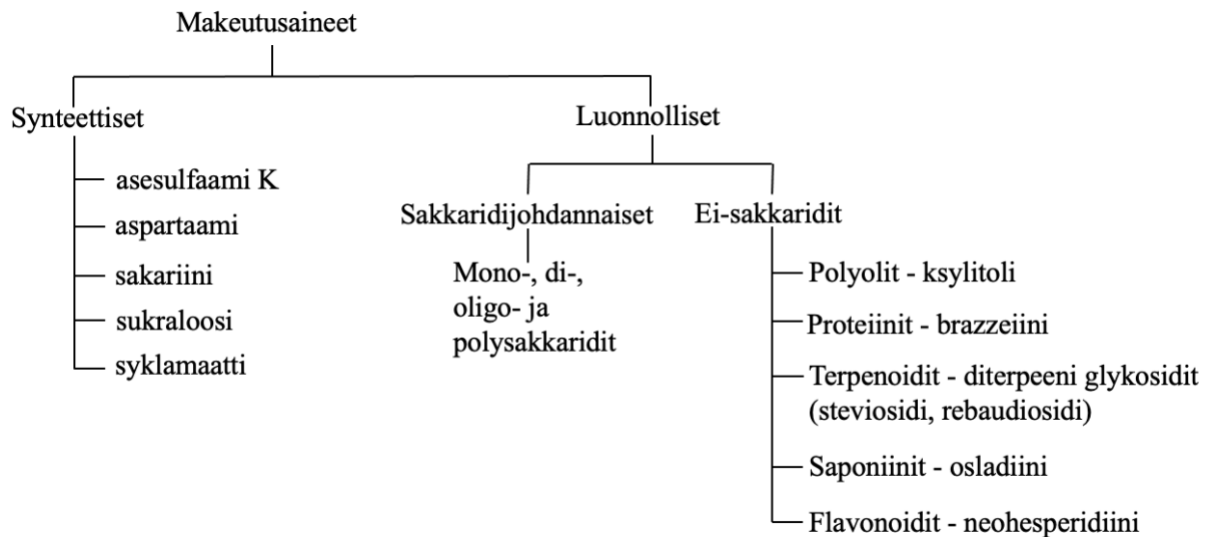
Nämä aineet voidaan jakaa luonnollisiin ja synteettisiin sen mukaan, mikä niiden alkuperä on. Kuten nimestä voi päätellä ovat luonnolliset makeutusaineet peräisin luonnosta, mistä niitä valjastetaan elintarvike käyttöön. Näistä useita valmistetaan nykyään myös keinotekoisesti, sillä niiden saatavuus luonnosta on vähäistä. Synteettiset eli keinotekoiset makeutusaineet puolestaan valmistetaan kemiallisesti syntetisoimalla erilaisten kemiallisten reittien kautta. Reitit ovat kullekin makeutusaineelle spesifiset. Näitä on joko löydetty vahingossa tai sitten johdettu niitä luonnollisista yhdisteistä. Jos kaikki makean maun antavat aineet otetaan huomioon, voidaan luonnolliset makeutusaineet jakaa edelleen sakkaridijohdannaisiin sekä ei-sakkarideihin. Tämä jaottelu poikkeaa Suomen elintarvikelain jaottelusta siinä, että lain mukaan sakkarideja ei mielletä makeutusaineiksi. (Bicas et al., 2016)

Makeutusaineet voidaan jakaa myös muuten kuin tuotantotavan mukaan. Esimerkiksi energiapitoisuuden mukaan jako voi tapahtua kalorittomiin tai vähäkalorisiin. Sekä luonnollisissa että synteettisissä makeutusaineissa löytyy sekä energiaa sisältäviä että kalorittomia vaihtoehtoja. (Bicas et al., 2016)

On myös ryhmä sokereita, joita kutsutaan ”harvinaisiksi sokereiksi”. Tähän ryhmään kuuluu erityisesti monosakkarideja ja niiden johdannaisia, joita löytyy luonnosta, mutta hyvin merkityksettömiä määriä. Näitä sokereita elimistö ei metaboloiki ollenkaan tai metaboloiki hyvin vähän, jolloin vastaavasti niiden energiapitoisuus on olematon tai hyvin pieni. Harvinaisilla sokereilla saattaa olla myös mahdollisia terveyshyötyjä tai -vaikutuksia. (Chattopadhyay et al., 2014)

Makeutusaineet ovat siis laaja ryhmä ja niiden jaottelu ei ole yksiselitteistä. Pääpiirteittäinen makeutusaineiden jaottelu on esitetty kuvassa 1. Makeutusaineisiin, ja erityisesti niiden

metaboliatuotteisiin, liittyy myös paljon mahdollisia haittavaikutuksia. Tämän takia tutkijoilla ei ole yhteistä mielipidettä siitä, ovatko makeutusaineet sen parempi vaihtoehto kuin sokeri (Tandel, 2011).



Kuva 1. Kaaviokuvaan valitut esimerkit synteettisistä makeutusaineista ovat Suomessa myyntiin sallittuja makeutusaineita. Makeutusaineiden lista on pitkä ja alati kasvava. Kaaviokuva mukailtu lähteestä (Bicas et al., 2016)

## 1.1 Sokereista

Sokerit voidaan jakaa sakkaridijohdannaisiin sekä ei-sakkarideihin. Sakkaridit voidaan edelleen jakaa mono-, di-, oligo- ja polysakkarideihin. Tavalliseksi sokeriksi mielletty valkoinen pöytäsookeri on sakkaroosia, joka on disakkaridi koostuen glukoosi- ja fruktoosiyksiköistä. Sakkaroosia saadaan luonnosta sokerijuurikkaasta tai sokeriruo'osta, eli se on niin sanottu luonnollinen makeutusaine olematta kuitenkaan lisäaine.

Sakkaroosi on makea sokeri, mutta on myös sokereita, joita ei mielletä makeiksi, sillä niiden suhteellinen makeus sakkaroosiin verrattuna on pieni. Esimerkiksi tietyt disakkaridit eivät itsessään ole makeita suhteessa sakkaroosiin, mutta niiden metaboliatuotteina esiintyvät monosakkaridit puolestaan voivat olla jopa makeampia. Sakkaroosin makeutta pidetään yleisesti makeuden vertailuarvona. Sakkaroosin makeus on siis skaalattu olemaan 1, ja taulukosta I voidaan nähdä valittujen makeutusaineiden suhteellisia makeuksia. Joidenkin makeutusaineiden kohdalla suhteellisen makeuden vaihteluväli on suuri, sillä makeus on subjektiivista ja nämä arvot ovat viitteellisiä. Vaihteluväli on myös lähderiippuvaista, sillä osa

makeutusaineiden arvoista on saatettu saada vertaamalla erilaisiin sakkaroosin pitoisuuksiin. Makeuteen vaikuttavat myös lämpötila, pH sekä makeutusaineen konsentraatio. (Colonna et al., 2006)

Taulukko I Erilaisten luonnollisten ja synteettisten makeutusaineiden sekä sokerien suhteellisia makeuksia.

<b>Makeutusaine</b>	<b>Suhteellinen makeus</b>
<b>Sakkaroosi</b>	1
<b>Laktoosi</b>	0,15–0,30
<b>Fruktoosi</b>	1,2–1,8
<b>Glukoosi</b>	0,60
<b>Galaktoosi</b>	0,32
<b>Asesulfaami K</b>	200
<b>Aspartaami</b>	160–220
<b>Sakariini</b>	300
<b>Syklamaatti</b>	30
<b>Ksylitoli</b>	1,7
<b>Brazzeiini</b>	500
<b>Steviosidi/rebaudiosidi</b>	300/400
<b>Osladiini</b>	3000
<b>Neohesperidiini</b>	250–2000

Lähteinä (Colonna et al., 2006; Sardesai & Waldshan, 1991)

### ***1.1.1 Makean maun teorit***

Makean maun aistimisen välittäjänä ovat makeareseptorit, ja näihin reseptoreihin kiinnittyvät molekyylit aiheuttavat makean maun aistimuksen. Tämän tiedon lisäksi on kuitenkin yritetty myös selvittää molekulaarista ominaisuutta, joka makean maun tuottavilla molekyyleillä olisi yhteistä. Makeaksi tunnettujen sokereiden (monosakkaridit) kemiallinen suhdekaava on  $C_n(H_2O)_n$ , poikkeukset pois lukien. Tämän kaavan omaavien sokereiden lisäksi on silti otettava huomioon myös kaikki muut makealta maistuvat molekyylit. (Colonna et al., 2006)

Vaikka sokereiden rakenteesta pääsääntöisesti löytyy hydroksyyli ryhmä (-OH), ja tämän onkin oletettu olevan osallisena näiden molekyylin makeuteen, ei ole mahdollista, että tämä ainoastaan olisi makean maun taustalla. On muistettava, että kaikilla makeilla makuaineilla ei välttämättä ole hydroksyyli ryhmää ja tämän myötä on myös luotu muita makean maun teorioita.

Vuonna 1967 Shallenberger ja Acree ehdottivat niin sanottua AH-B teoriaa. Tämän mukaan makeassa yhdisteessä tulisi olla elektronegatiiviset A ja B atomit, joiden etäisyys toisistaan on  $\sim 3\text{\AA}$ , ja H on vetyatomi, joka kiinnittyy kovalenttisesti toiseen näistä elektronegatiivista atomeista. Yleisesti on tiedetty, että AH on protonin luovuttaja ja puolestaan B on protonin vastaanottaja. Riippuen molekyylistä A ja B voivat vaihdella, ja teorian mukaan molekyylin ei siis tarvitse sisältää hydroksyyliiryhmää. Makeuteen vaikuttaa atomien lisäksi myös se, miten nämä ovat avaruudellisesti suuntautuneet. Tästä kaikesta voidaan todeta, että atomien suuntautuminen ja etäisyydet tulevat olla sellaisia, että yhdiste istuu mahdollisimman hyvin makeareseptorin sitoutumiskohtaan. (Shallenberger & Acree, 1967) Mitä vahvemmat sidokset, sitä makeampi yhdiste. Tätä on perustellut Bruni työtovereineen (2018) tutkimalla eri makeuttajien muodostamien vetysidoksien pituuksia ympäröiviin vesimolekyyleihin. Tämän on ajateltu korreloivan makeuttajan ja reseptorin välisiin sidoksiin, joista tiedetään, että mitä tiiviimpi sidos, sitä makeampi yhdiste. (Bruni et al., 2018)

Sittemmin Kier (1972) on täydentänyt AH-B-teoriaa lisäämällä siihen vielä yhden jäsenen;  $\gamma$ -jäsen. Tämä kolmas jäsen muodostaisi hydrofobisen sitoutumiskohdan, ja mahdollisesti muodostaisi sidoksia dispersiovoimien kautta. (Kier, 1972)

Edellisestä päästäänkin uuteen teoriaan, jonka mukaan reseptorilla olisi useita kiinnittymiskohtia. Tämän monipaikkaisen kiinnittymisteorian (engl. multipoint attachment theory) mukaan makean maun intensiteetti olisi riippuvainen siitä, kuinka moneen kohtaan ja mihin kohtiin makuaine reseptorissa sitoutuu. Makean maun reseptoria ei olla pystytty eristämään, minkä takia ei ole varmuutta, miten molekyylit reseptoriin sitoutuvat, ja mikä molekyylissä makeuden aiheuttaa. Sen takia ovat nämä kaikki teoriat, joiden taustalla vaikuttaa edelleen Shallenbergerin ja Acreen teoria. (Nofre & Tinti, 1996)

## **2. Makeutusaineiden kemiaa**

### **2.1 Synteettisten makeutusaineiden rakenteista**

Kyseisille keinotekoisille makeutusaineille on yhteistä niiden rengasrakenteet, sekä niiden löytyminen vahingossa. Ensimmäinen tuotettu keinotekoinen makeutusaine on ollut sakariini, joka löydettiin vahingossa jo 1800-luvulla. Sakariini sisältää N-sulfonyyliamidi-rakenteen, jota on tavattu myös muilla makeilla aineilla. Tutkijat ovat yhtä mieltä siitä, että sakariinin kohdalla

sen imiini-ryhmä toimii protonin luovuttajana (AH) ja sulfoksidiryhmä vastaanottajana (B), jolloin näiden substituutiosta seuraa makeuden menetys. (Alonso et al., 2019)

Syklamaatti on ollut sakariinin jälkeen seuraava markkinoille tullut keinotekoinen makeutusaine. Nimellä syklamaatti kuvataan sekä syklamaattia että syklaamihapon natrium- ja kalsiumsuoloja, jotka ovat natriumsyklamaatti ja kalsiumsyklamaatti. Tämän makeutusaineen suhteen ei ole varmuutta, miten se rakenteensa puolesta aiheuttaa makean aistimuksen. Se on rengasrakenteinen, kuten muutkin tässä mainitut, ja siltä löytyy samoja funktionaalisia ryhmiä kuin muiltakin, mutta tutkimusta tarvitaan vielä. (Leban et al., 2007) Sama pätee myös asesulfaami K:lle sekä sukraloosille. Myös näiden uskotaan sisältävän AH-B-teorian mukaiset rakenteet, mutta niistä ei olla vielä saatu varmuutta. (Mathlouthi & Kanters, 1993)

Aspartaami on asparagiinihapon ja fenyylialaniinin muodostaman dipeptidin metyyliesteri. Aspartaamin kohdalla sen aminoryhmä toimii protonin luovuttajana (AH) ja karboksyyli-ryhmä vastaanottajana (B). (Suami & Hough, 1993)

## **2.2 Luonnollisten makeutusaineiden rakenteista**

Tavallisille kuluttajille tutuimmat polyolit ovat niin sanottuja luonnollisia makeutusaineita, joita kuitenkin valmistetaan synteettisesti. Näiden luonnosta löytyvien polyolien lisäksi on myös muita polyoleja, joita ei luonnosta löydy ollenkaan. Polyolit tuotetaan pelkistämällä karbonyyli-ryhmä hydroksyyli-ryhmäksi (OH-ryhmä); esimerkiksi ksylitoli valmistetaan hydraamalla ksyloosia. Tämä karbonyyli-ryhmän muuttuminen OH-ryhmäksi on polyolien ominaisuuksien taustalla, sillä OH-ryhmän takia polyolien sulattaminen ja imeytyminen hidastuu. Polyolien runkona on hiilihydraatti, ja ne sitoutuvat makeareseptoreihin, jolloin ne mielletään makeiksi. Niiden suhteellinen makeus on pääasiassa kuitenkin pienempi kuin sakkaroosin. Käyttö makeutusaineena on seurausta hiilihydraattirakenteen muokkaamisesta niin, että niistä saadaan vähemmän energiaa kuin varsinaisista hiilihydraateista. (Livesey, Geoffrey, 2003)

Makeilla proteiineilla ei ole muuta yhteistä, kuin että ne ovat proteiineja ja ne tuottavat makean maun aistimuksen, sekä kaikki tunnetut makeat proteiinit ovat peräisin trooppisista kasveista. Niiden rakenteissa ei siis ole rakenteellisia tai sekvenssien välisiä yhtäläisyyksiä. Makeat proteiinit voidaan jakaa varsinaisiin makeutusaineisiin ja makua muuttaviin proteiineihin. Makeutusaineista on esimerkkinä brazzeiini, joka koostuu 54 aminohappotähteestä ja



muodostaa kolme vastakkaissuuntaista  $\beta$ -levyä sekä yhden  $\alpha$ -heliksin. Brazzeiini sisältää lisäksi disulfididisidoksia, joiden ansiosta se on hyvin stabiili, ja näin ollen soveltuu hyvin elintarvikekäyttöön. Makua muuttavista proteiineista on puolestaan esimerkkinä mirakuliini, joka koostuu 191 aminohappotähteestä ja jonka kolmiulotteista rakennetta ei ole saatavilla. Mirakuliini toimii agonistina sitoutumalla makeareseptoriin, jolloin hapan makuaine muuttuu suussa makean makuiseksi. Puolestaan suun pH:n palautuessa neutraaliksi, se toimii antagonistina, jolloin se estää reseptorin aktivoitumisen muita makeita aineita nautittaessa. Kuten myöhemmin esitellään, makeat proteiinit eivät sitoudu makeareseptoriin, kuten muut makean aistimuksen tuottavat molekyylit, jolloin niillä ei tarvitse olla rakennehomologiaa. (Misaka, 2013; Picone & Temussi, 2012)

Stevioliglykosidit ovat luonnosta saatavia diterpenoideja. Makeutusaineina merkittävimpiä tämän ryhmän molekyylejä ovat steviosidi ja rebaudiosidit. Näiden molekyylien rakenteissa makeuden kannalta merkittävintä on se, että 19. hiilessä tulisi olla joko sokeri- tai karboksyyli-ryhmä, ja 13. hiilessä tulisi olla sokeri- tai hydroksyyli-ryhmä. (Brandle & Telmer, 2007)

### **3. Makuaineiden vaiheet elimistössä**

#### **3.1 Maistaminen**

Makuaistimusta pidetään yhtenä vanhimmista aisteista, sillä sen hyödyntämää kemoreseptiota tavataan myös bakteereilla ja muilla mikro-organismeilla. Makuaistimuksen tuottavat makuaineet voidaan jakaa viiteen perusmakuun. Näistä perusmaista makea, karvas ja umami aistitaan G-proteiinikytkentäisten reseptorien (engl. G-protein coupled receptor, GPCR) kautta aktivoituvan toisiolähetin välityksellä tapahtuvien depolarisaatiomuutosten vaikutusten seurauksena. Suolaisen ja happaman maun puolestaan aiheutuvat suoraan liuenneiden ionien depolarisoivista vaikutuksista. (Stanfield, 2017)

Kielessä on makunystyjä, joissa edelleen makusilmuja. Nystyjä, jotka sisältävät makusilmuja, voidaan erottaa kolmea erilaista tyyppiä, joita ovat sieni-, lehti- ja vallinystyt. Nämä eroavat sisältämiensä makusilmujen määrän perusteella. Makusilmuissa sijaitsevat makureseptorisolut, joita kuitenkin on kielen lisäksi myös muualla suussa. Reseptorisolujen (tyyppi 2) lisäksi makusilmuista voidaan erottaa myös muita solutyyppisiä, joita ovat ainakin tyyppin 1 ja tyyppin 3 solut. Tyyppin 1 soluihin viitataan hermotukisolujen tyyppisinä soluina, jotka ylläpitävät

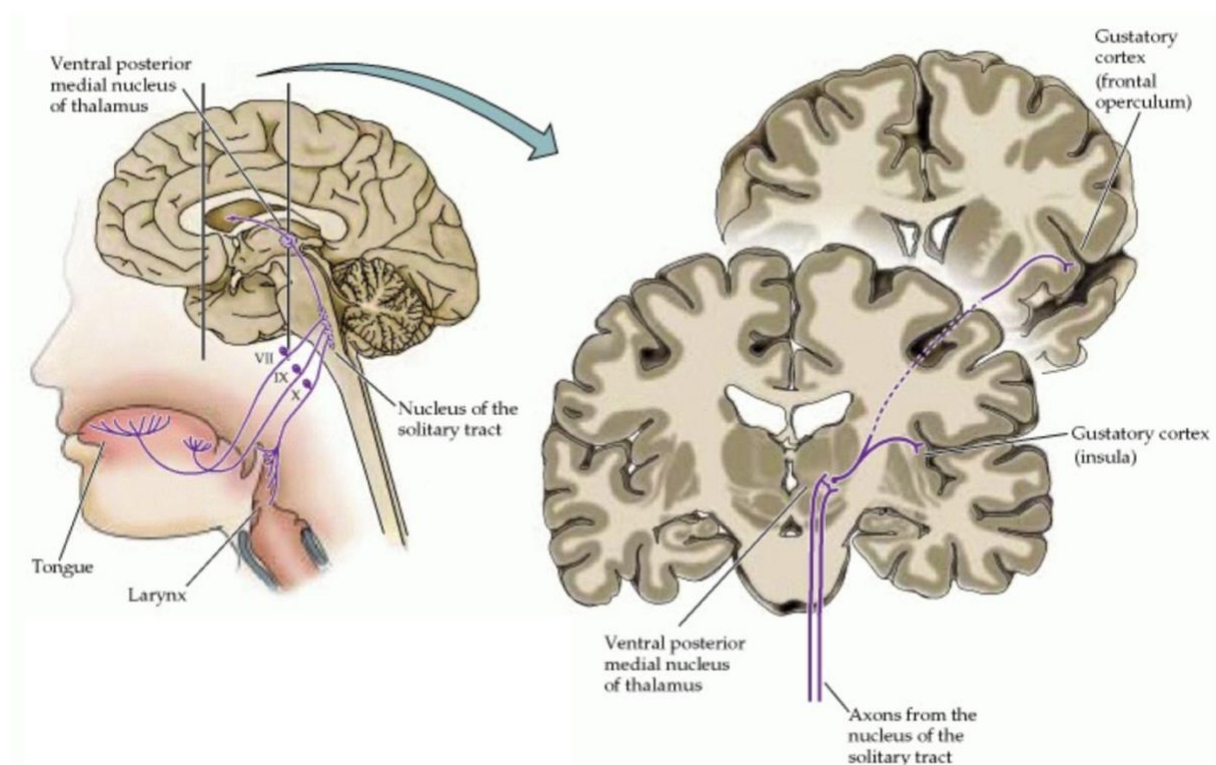
homeostaasia ja tukevat muita makusilmun soluja. Itse reseptorisolut ilmentävät G-proteiinikytkentäisiä reseptoreja, joiden kautta makea, karvas ja umami aistitaan. Tyypin 3 soluja puolestaan kutsutaan presynaptisiksi soluiksi, joiden kautta aistitaan hapan maku. Lisäksi osittain presynaptisten solujen kautta informaatio tyypin 2 soluista siirtyy signaalireitin ensimmäiseen neuroniiin. Suolaisen maun kohdalla ei ole täyttä varmuutta, mikä näistä solutyypeistä muuntaa natriumionien aiheuttaman kemiallisen vasteen elektrokemialliseksi signaaliksi. (Gravina et al., 2013; Roper, 2013)

Reseptorisolujen solukalvolla sylkeen lienneet makuaineet sitoutuvat makureseptoreihin. Jokaisen makunystyrän pinnalla on huokonen, jonka kautta makuaineet pääsevät kosketuksiin reseptorisoluista ulkonevien mikrovillusten kanssa, joissa makureseptorit pääasiassa sijaitsevat. Makunystyrän pohjalla on basaalisoluja, jotka toimivat paikallisina kantasoluina, joista uudet makuaistinsolut kehittyvät. (Information, National Center for Biotechnology et al., 2016)

Sensorisen informaation transduktio alkaa reseptorisolun apikaalipäästä, josta makuaineiden reseptoriin kiinnittymisen seurauksena aiheutuva signaalireitti alkaa. Depolarisaation vaikutuksesta koko solun matkalla, sekä apikaali- että basaalipäässä, sijaitsevat ionikanavat aukeavat, jolloin kaliumioneja ( $K^+$ ) virtaa soluun samalla kun natriumioneja ( $Na^+$ ) puolestaan pois solusta. Kalsiumioneja ( $Ca^{2+}$ ) alkaa virrata basaalipään kalsiumionikanavasta muuttuneen kalvopotentiaalisen seurauksena soluun. Solun  $Ca^{2+}$ -pitoisuus kasvaa sekä solun ulkopuolelta virtaavan kalsiumvuon että endoplasmisesta kalvostosta vapautuvien ionien aiheuttamana (tämä makureseptorisoluissa, joissa transduktion aktivaatio aiheutuu G-proteiinivälitteisesti toimivasta ligandista). Tämän seurauksena neurotransmitteri, joita makureseptorisolujen tapauksessa toimii useita erilaisia, vapautuu synapsirakoon ja kiinnittyy primaarisen sensorisen neuronin reseptoriin. (Purves et al., 2001b; Roper, 2013)

Sensorisesta solusta vapautunut neurotransmitteri aiheuttaa primaarisessa sensorisessa neuronissa aktipotentiaalisen. Tämän neuronin aksonin (yhteen aksoniin synapsoi useita makureseptorisoluja) kuljettamat hermoimpulssit kulkevat kolmea eri aivohermoa pitkin, tai oikeastaan näiden tiettyjä haaraumia pitkin. Kasvohermon (aivohermo VII), kieli-kitahermon (aivohermo IX) ja kiertäjähhermon (aivohermo X) haaraumat tuovat kukin informaatiota suun eri osasta. Hermot kulkevat aivorungon ydinjatkeessa olevan erillistumakkeen (engl. solitary nucleus) tumakkeiden (tässä tapauksessa erityisesti makutumakkeen, engl. gustatory nucleus) kautta pidemmälle aivoihin. Tumakkeista viesti kulkee toisen asteen neuroneja pitkin edelleen talamukseen tumakkeeseen (engl. ventral posterior medial nucleus), josta se päättyy kolmannen

asteen neuroneja pitkin korteksin eri alueille, erityisesti primaariselle makuaivokuorelle (engl. gustatory cortex). Primaarinen makuaivokuori koostuu kahdesta eri alueesta, joista toinen sijaitsee temporaalilohkon aivosaaressa (engl. insula) ja toinen frontaalilohkon operculumin alueella. Toisaalta joskus aivosaaari luetaan omaksi aivolohkoksi (engl. insular lobe). Primaarisen makuaivokuoren lisäksi voidaan erottaa sekundaarinen makualue, joka löytyy etuotsalohkosta (orbitofrontaalikorteksi). Sekundaarisella alueella risteää neuroneja eri aisteista, jotka yhdistävät informaatiota visuaalisista, somatosensorisista sekä hajua- ja makuärsykkeistä, ja näin saadaan muodostettua kokonaiskuva tietystä ärsykkeestä. Nämä reitit ovat esitettyinä kuvassa 2. (Purves et al., 2001a)



Kuva 2. Makuaistimuksen syntyyn sisältyvät hermoradat. Suun alueelta lähtevät aivohermot, jotka kuljettavat informaation aivorungon ydinjatkeen ja edelleen talamuksen kautta korteksin eri alueille. Kuva lähteestä (Purves et al., 2001)

Aivorungon makutumakkeesta lähtee signaaleja (talamuksen lisäksi) myös aivosillan kautta amygdalaan ja hypotalamukseen. Näiden rakenteiden tiedetään olevan merkittävässä osassa elimistön homeostaasin säätelyä, johon ravinnonsaanti vaikuttaa suuresti. Makuaistin informaatiota kuljettavien hermojen lisäksi useat muut hermot ja niiden haaraumat kulkevat samojen tumakeryppäiden kautta, jolloin näiden hermojen välittämät informaatiot risteävät.

Tämä edesauttaa makuaistinreseptorista lähtöisin olevan informaation integroitumisen muiden signaalien ja näiden signaalien kohteiden kanssa. Tästä hyvänä esimerkkinä viskeraalisen sensorisen systeemin neuronit, jotka hermottavat mahalaukun ja suoliston motiliteettia. Nämä neuronit kulkevat omien tumakkeidensa kautta, jotka kuitenkin ovat osana samaa tumakerypystä, kuin makureseptoreista lähtevien neuronien kohteena ovat tumakkeet. Eri tumakkeiden väliset interneuronit yhdistävät eri kohteista tulevien hermojen tuoman informaation ja aiheuttavat vuorovaikutuksen näiden toimintojen välille, jolloin ravinnon suuhun ottaminen ja nieleminen valmistelee muuta ruoansulatuskanavaa ravinnon saapumiseen. (Purves et al., 2001)

Makuaistimuksen topografinen kuvaus on yhä epävarmaa. Tiedetään, että kaikki aistit ovat järjestäytyneet topografisesti aivoissa, mutta makuaistimuksen suhteen on ehdotettu kahta eri vaihtoehtoista järjestäytymisen tapaa erityisesti ääreishermoston alueella. Ajatellaan, että makureseptorisolujen ja niihin yhteyksissä olevien neuronien välistä vuorovaikutusta voidaan kuvata joko ”merkityn linjan” mallilla (engl. labelled line model) tai ”poikkikuitukuvio”-mallilla (engl. across-fibre pattern). Merkityn linjan mallissa jokainen yksittäinen makureseptorisolu reagoi vain yhteen makuaineeseen, ja tämä informaatio siirtyy omaa erillistä afferenttia neuronit pitkin aivoihin. Poikkikuitukuvio-mallissa puolestaan yksittäinen makureseptorisolu reagoi useaan makuaineeseen ja afferentit neuronit, joilla on osittain päällekkäiset vastealueet, vievät viestin aivoihin. (Simon et al., 2006)

Chen työtovereineen (2011) kertovat, että ensisijaisesti ollaan sitä mieltä, että jokainen makureseptorisolu ilmentää reseptoreja vain yhdelle makuaineelle, ja primarisella makuaivokuorella näiden eri makujen aistiminen on avaruudellisesti organisoitunut omiksi erillisiksi alueikseen; gustotooppiseksi kartaksi (engl. gustotopic map). Ei voida kuitenkaan sulkea pois sitä mahdollisuutta, että olisi myös reseptorisoluja, jotka reagoisivat useampaan eri makuaineeseen ja yhdistäisivät näiden aineiden tuottamia vasteita. Aivoissa samanlaiset vasteprofiilit ovat ryhmittyneet omaksi alueekseen primariselle makuaivokuorelle, ja tämä siis eroaa muista aisteista siinä, että toisaalla ääreishermoston sensorisilta alueilta keskushermoston aivokuorelle asti tietyt signaalit pysyvät koko ajan omalla reitillään ja aivoissa ne muodostavat tarkan järjestyksen ja kuvan sensorisista reseptoreista. Perusmakujen aistimisen lisäksi makuaivokuorella on alueita, jotka reagoivat useampaan makuun, ja näin ollen yhdistävät makuaistimuksia. Tämän lisäksi näiden alueiden ajatellaan myös olevan multisensorisia, joissa makuaistimus integroituu muiden aistien kanssa. (Chen et al., 2011)

Makuaistimuksen syntymisen taustalla on siis hyvin monimutkainen järjestelmä, ja moni eri rakenne osallistuu aistimuksen ja muiden makuaineiden aiheuttamien aktivoitumisten syntyyn. Kielestä löytyy myös mekanoreseptoreja, jotka välittävät informaatiota ruoan koostumuksesta, painosta ja lämpötilasta. Gustatorinen systeemi on multisensorinen, johon liittyy makuaistimuksen lisäksi myös somatosensorisia ja viskeraalisia hermoyhteyksiä. (Simon et al., 2006)

### ***3.1.1 Makean maistamisen reseptori***

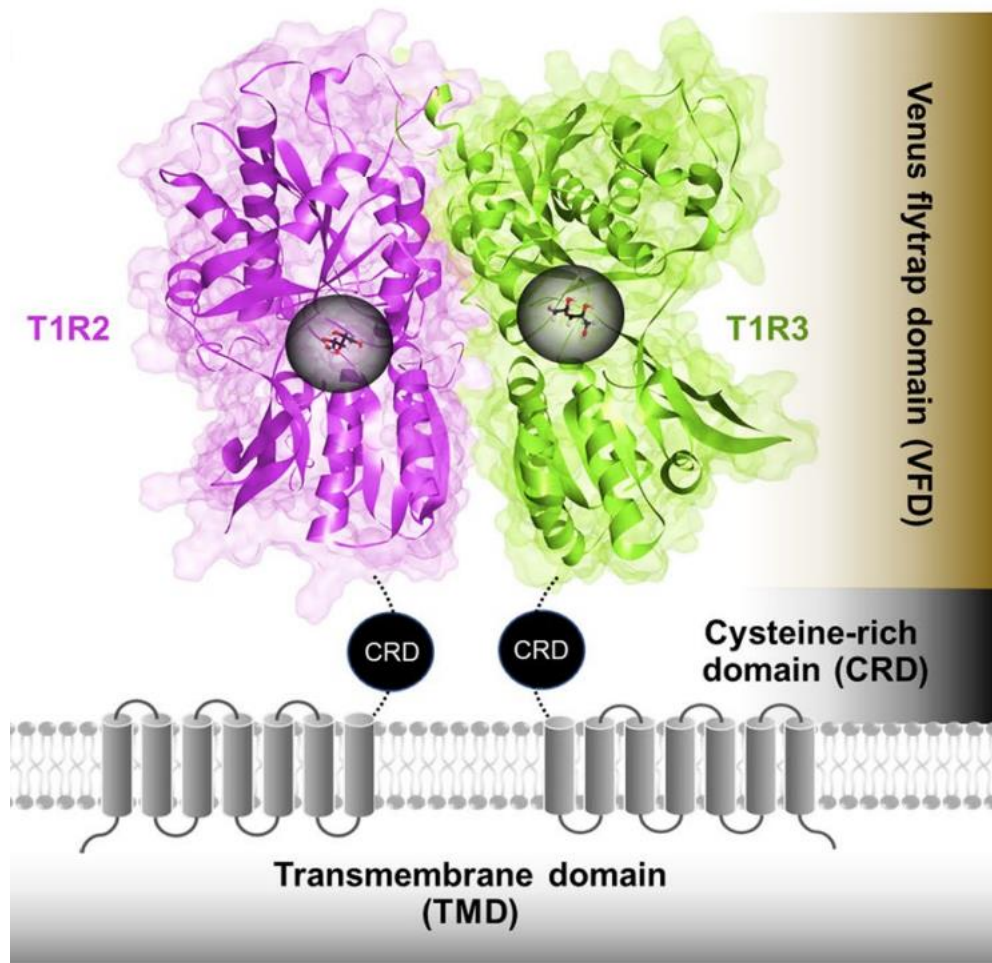
#### *3.1.1.1 Rakenne*

Makeareseptori kuuluu G-proteiinikytkentäisten reseptorien C-luokkaan, kuten muutkin makureseptorit. GPCR:t on siis jaettu viiteen eri perheeseen perustuen niiden sekvenssien ja toiminnallisuuden samankaltaisuuteen. Luokkaan C lukeutuvia makureseptoreja on sekä T1R-että T2R-perheissä (engl. taste receptor type 1, T1R). Edelleen tyypin 1 makureseptorit voidaan jakaa eri jäseniin; näiden erilaisista kombinaatioista muodostuvat eri makuja aistivat reseptorit. Makeareseptori on heterodimeeri, joka koostuu kahdesta tyypin 1 makureseptorin jäsenestä, T1R2- ja T1R3 -jäsenistä. Jokaista T1R-perheen jäsentä koodaa oma TAS1R-geeni, ja nämä kaikki sijaitsevat kromosomin 1 lyhyessä käsivarressa (1p.36). TAS1R-geenien suhteen on paljon polymorfiaa, joka vaikuttaa ihmisten erilaiseen tapaan maistaa makuaineita, erityisesti makeaa. (Bachmanov & Beauchamp, 2007)

Yleisesti yhteistä kaikkien eri GPCR:ien rakenteille on niiden seitsemän kertaa solukalvon läpäisevät  $\alpha$ -kierteet (engl. transmembrane domain, TMD). Tämän rakenteen lisäksi lähes kaikki luokan C reseptorit omaavat N-terminaalissa ison ekstrasellulaarisen rakenteen, joka sisältää sekä venus flytrap -domeenin (VFTD) että runsaskysteiinisen domeenin (engl. cysteine-rich domain, CRD). CRD yhdistää TM-domeenin ja VFT-domeenin toisiinsa, ja VFT-domeeni sisältää reseptorin sitoutumiskohdat, joiden kautta ligandit pääsevät vaikuttamaan, kuten kuvasta 3. voi nähdä. Oletetaan, että ligandit sitoutuvat erityisesti VFTD-rakenteisiin, mutta on kuitenkin havaittu, että ligandeja kiinnittyy myös muihin reseptorin allosteerisiin kohtiin. C-terminaalissa puolestaan on vaihteleva intrasellulaarinen domeeni. (Perez-Aguilar et al., 2019)

Makeareseptorin kiderakennetta ei ole vielä pystytty selvittämään, mutta pitkän yrittämisen jälkeen muita luokan C reseptoreja on päästy tutkimaan lähemmin, ja nämä kiderakenteet antavat hyvin osviittaa makeareseptorin rakenteesta. Erityisesti laskennalliset mallit samaan

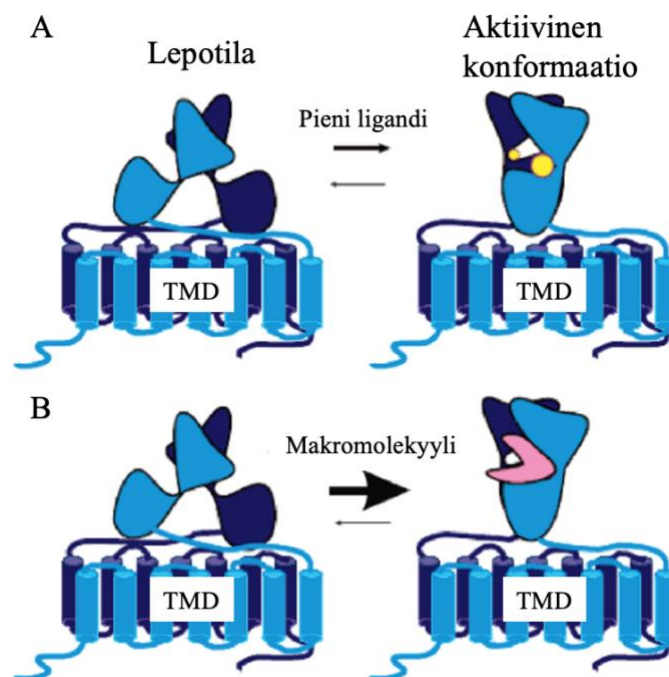
GPCR-perheeseen kuuluvan mGlu-reseptorin (metabotrooppinen glutamaattireseptori) kiderakenteen pohjalta ovat olleet hyödyllisiä. (Chéron et al., 2017)



Kuva 3. T1R2- ja T1R3-monomeerit, jotka muodostavat makeareseptorina toimivan heterodimeerin. Monomeerien rakenteista erottuvat VFT-, CR- sekä TM-domeenit, ja VFD:n keskellä mustalla ympyröitynä ovat ligandien pääasialliset sitoutumiskohdat. Kuva lähteestä (Mahalapbutr et al., 2019)

VFTD:n rakenne on heterodimeerinen ja näiden kahden monomeerin väliin jäävästä lovesta löytyy sitoutumiskohta ligandille. Heterodimeeri on normaalitilanteessa niin kutsutussa ”auki”-konformaatioissa ja ligandin kiinnittyessä reseptorin konformaatio muuttuu, ja heterodimeeri menee ”kiinni”. mGluR:in tiedetään näyttäytyvän kolmessa eri konformaatioissa, joista yksi on ligandiin sitoutunut muoto ja kaksi ovat ligandiin sitoutumattomia muotoja. Sitoutumattomat muodot jaetaan vapaaseen muotoon I, jossa molemmat reseptorin VFT-domeenit ovat ”auki”-muodossa (resting state) ja vapaaseen muotoon II, jossa toinen VFTD on auki ja toinen kiinni

(active state). Koska T1- ja mGlu-reseptorien yhteneväisyys on hyvin suuri, on ajateltu myös makeareseptorin esiintyvän kolmessa eri muodossa. (Morini et al., 2005; Temussi, 2007) Ligandin kiinnittyessä konformaatiomuutosten seurauksena T1R2:n ja T1R3:n VFT-domeenit siirtyvät lähemmäksi toisiaan. Temussi (2002) havaitsi, että pienemmät molekyylit sitoutuvat reseptoriin eri tavoin kuin suuremmat molekyylit. Pienemmät molekyylit sitoutuvat joko T1R2:n kiinni olevaan muotoon tai T1R3:n avoimena olevaan muotoon, ja suuremmat molekyylit puolestaan voivat kiinnittyä reseptorin vapaan muodon II-pinnan sekundaariseen sitoutumispaikkaan stabiloiden reseptoria. Suurempien molekyyliä, esimerkiksi makeiden proteiinien kiinnittyessä pinnalla olevaan kuoppaan ne aktivoivat pidempikestoisen signaalitransduktion. Tätä makeiden proteiinien kiinnittymistä makeareseptoriin kuvataan niin sanotulla ”wedge mallilla”. Tällä mallilla on pystytty selittämään sitä, miksi makeilla proteiineilla ei ole tarvetta rakennehomologiaan, sillä proteiinien tulee vain sopia reseptorin pinnan sekundaariseen laaja-alaiseen sitoutumiskohtaan. Pienempien ja isompien molekyyliä kiinnittyminen reseptoriin voidaan nähdä kuvasta 4. (Temussi, 2002)



Kuva 4. Konformaation muutos lepotilasta aktiiviseen muotoon ligandin kiinnittyessä reseptorin VFTD:ssä sijaitsevaan sitoutumiskohtaan. Pienen makean ligandin kiinnittyminen (A) aiheuttaa lyhytkestoisemman vasteen verrattuna isompikokoiseen ligandiin, kuten makeaan proteiiniin (B). Kuva muokattu lähteestä (Morini et al., 2005)

Konformaation muutos siirtyy CRD:n kautta TM-domeeniin, joka edelleen aktivoi toisiolähetin, joka tässä tapauksessa on G-proteiinivälitteisesti aktivoituva. CRD:ssä on yhdeksän konservoitunutta kysteinitähdettä, joiden välille muodostuu domeeninsisäisiä disulfididoksia sekä sidoksia, jotka liittävät VFTD:n ja CRD:n yhteen. Tämä rakenne antaa tarvittavaa jäykkyyttä, jotta konformaatiomuutokset voivat siirtyä VFTD:stä TMD:hen, ja tämän lisäksi CRD voi mahdollisesti toimia myös allosteerisena kiinnittymiskohtana tietuille makeutusaineille, esimerkiksi brazzeiinille. Myös TM-domeeneihin on mahdollista tiettyjen ligandien kiinnittyä allosteerisesti, ja nämä voivat olla joko aktivaattoreita tai inhibiittoreita. CRD:hen ja TMD:hen kiinnittyvät ligandit sitoutuvat erityisesti T1R3-monomeeriin. (Cui et al., 2006)

Makean aistimuksen synnyttäviä molekyyliä on useissa eri yhdisteryhmissä, ja aistimuksen synnyttävät molekyylit, jotka kiinnittymällä reseptoriin aiheuttavat toisiolähetin välittämän signaaliketjun. Makeutusaineiden makeus on yleensä moninkertainen verrattuna sokereihin. Koettu makeus riippuu makeutusaineesta ja tähän vaikuttaa reseptorin kohta, johon aine kiinnittyy. Ligandin ja reseptorin väliset sidokset ovat suuressa merkityksessä, ja sopivimmat ja vahvemmat sidokset korreloivat voimakkaampaan makean aistimukseen. Sitoutumisaffiniteetilla ei kuitenkaan voida täysin selittää makeuttajan makeutusvoimaa. (Karl et al., 2020)

Tutkimuksen myötä on havaittu, että makeareseptoreja sijaitsee kielen lisäksi myös muualla elimistössä. Muun muassa aivoissa (hypotalamus) ja ruuansulatuskanavassa nämä reseptorit osallistuvat ravinteiden havaitsemiseen sekä aineenvaihdunta- ja käyttäytymisreaktioihin energiahomöostasian ylläpitämiseksi. (Lee & Owyang, 2017)

### *3.1.1.2 Reseptorin aktivoituminen ja makean transduktio*

Ligandin kiinnittyessä reseptoriin aiheutuu reseptorin konformaatiomuutosten seurauksena G-proteiinin aktivoituminen. G-proteiinin aktivoituttua sen  $\alpha$ -osa,  $\alpha$ -gustducin irtoaa  $G_{\beta_1\gamma_{13}}$ -osasta. Dissosioitunut  $G_{\beta_3\gamma_{13}}$ -osa aktivoi fosfolipaasi C:n  $\beta_2$ -isotyypin (PLC $\beta_2$ ), joka johtaa fosfatidyli-inositoli-4,5-bisfosfaatin (PIP2) hajoamiseen 1,4,5-inositolitrisfosfaatiksi (IP3) ja diasyyglyseroliksi (DAG). IP3 edelleen aiheuttaa  $Ca^{2+}$ -ionien vapautumisen endoplasmisesta kalvostosta, ja solunsisäisen  $Ca^{2+}$ -pitoisuuden kasvun myötä TRPM5-kanavat (engl. transient



receptor potential cation channel subfamily M member 5) aktivoituvat, jolloin Na<sup>+</sup>-ionit virtaavat soluun. Natriumionien sisään virtauksen myötä solu depolarisoituu ja ATP-välittäjäaine vapautuu CALHM1-kanavien (kalsiumin homeostaasin modulaattori 1) kautta. Tämä siis tapahtuu tyypin 2 soluissa (reseptorisolut), ja edelleen tyypin 2 soluista vapautunut ATP voi kiinnittyä tyypin 3 solujen (presynaptiset solut) pinnan P2Y-reseptoreihin. Kiinnittynyt ATP aktivoi tyypin 3 soluja, jolloin signaalireitin päätteeksi näistä vapautuu 5-HT:ta (serotoniini). 5-HT:n on huomattu inhiboivan ATP:n eritystä, ja mahdollisesti myös aktivoivan afferentteja neuroneja. Tyypin 3 soluihin kiinnittymisen lisäksi ATP siis aktivoi myös afferenttia neuronaa kiinnittyen sen purinergisiin P2X2- ja P2X3-reseptoreihin. (Finger & Kinnamon, 2013; Zhang et al., 2010)

On myös toinen reitti, jonka mukaan  $G_{\alpha-gus}$ -osa aktivoi adenylaattisyklaasin, jonka seurauksena syklisen adenosinimonofosfaatin (cAMP) määrä solussa nousee. Tämä toisilähetti edelleen aktivoi proteiinikinaasi A:ta (PKA), jonka seurauksena kaliumkanavat fosforyloituvat ja sulkeutuvat. Myös PIP2:n hajoamisen seurauksena muodostunut DAG aktivoi PKA:ta, joka toimii kuten mainittu. Nämä molemmat mainitut reitit voivat toimia ja toimivatkin solussa yhtäaikaaisesti. (Purves et al., 2001)

Hiiritutkimuksien avulla on myös tutkittu vaihtoehtoista reittiä makean aistimiselle. Tutkimuksessa on pystytty näyttämään, että makeareseptorin tai signalointireitin muiden osien puuttuminen ei vaikuta hiirien kykyyn tuottaa vastetta sokereille. Poikkeavasti makeutusaineille vastetta ei muodostu. Tämä reitti voisi toimia aineenvaihdunnan sensorina ja energiatasapainon säätelijänä. Reitit on nähty perustuvan siihen, että tyypin 2 solujen GLUT-transportterit (engl. glucose transporter) ja natrium-glukoosikuljettajat (SGLT1, engl. sodium-dependent glucose transporter) havaitsevat glukoosia. Edelleen näiden transporttereiden yhtäaikaainen toiminta makeareseptorin kanssa voisi lisätä makuhermosolujen herkkyyttä makeille yhdisteille. Tämä reitti olisi lisänä ravinnon energiasäätelyn havainnoimisessa, joka edesauttaa elimistön valmistautumista ruoansulatusta varten. (von Molitor et al., 2020)

### 3.2 Metabolia

Riippuen siitä, ovatko eri makeuttajat luonnollisia vai synteettisiä, voi niiden metaboloitumisessa olla suuriakin eroja. On makeuttajia, jotka eivät metaboloitu elimistössä ollenkaan ja on esimerkiksi sakkariidijohdannaisia, jotka metaboloituvat täysin ja ne hyödynnetään energiaksi.

Ensin sakkaroosin, pääasiassa fruktoosin ja glukoosin, metaboloitumisesta. Sakkaroosi hydrolysoituu sakkaraasi-isomaltaasin katalysoimana glukoosiksi ja fruktoosiksi. Glukoosi imeytyy ohutsuolen mikrovillusten enterosyytteihin nopeasti SGLT1-transportterin välityksellä, kun taas fruktoosi imeytyy hitaammin GLUT5-transportterin avustamalla diffuusiolla. Enterosyyteistä nämä molemmat pääsevät GLUT2-transporttereiden kautta verenkiertoon. Glukoosin ja fruktoosin imeytymisen seurauksena vapautunut insuliini aiheuttaa GLUT-transporttereiden siirtymisen solukalvolle ja soluihin päästyään nämä lopulta metaboloituvat energiaksi (tai varastoon). Fruktoosin metaboloituminen vaatii erilaisia entsyymejä kuin glukoosin metaboloituminen ja maksasoluista löytyvät nämä kaikki entsyymit. Maksasoluissa on myös GLUT5-transportterit, joiden kautta fruktoosi kulkee soluun ja siksi fruktoosi metaboloituu pääasiassa maksasoluissa. Glukoosi puolestaan on paremmin kaikkien solujen käytettävissä. (Keim & Havel, 2013; Murray et al., 2012) Sakkaridit hyödynnetään energiaksi ja niiden imeytyminen sekä metaboloituminen onkin hyvin monimutkainen prosessi. Tilanne on kuitenkin eri synteettisten sekä energiattomaan makeutukseen käytettävien luonnollisten makeutusaineiden kohdalla.

Kuvassa 1. esitellyistä synteettisistä makeutusaineista on näiden välillä eroavaisuuksia metaboliassa. Sukraloosi ja syklimaatti eivät absorboitu juuri ollenkaan ja se vähä mitä absorboituu, erittyy muuttumattomana virtsaan. Sukraloosi ei siis metaboloitu, mutta syklimaatin kohdalla on huomattu, että joidenkin yksilöiden elimistössä syklimaatti voi metaboloitua ruoansulatuskanavassa sykloheksyyliamiiniksi. Absorboitunut sykloheksyyliamiini kuitenkin erittyy myös muuttumattomana virtsaan. (Collings, 1989)

Asesulfaami K ja sakariini absorboituvat, mutta kumpikaan näistä ei metaboloitu, vaan ne erittyvät muuttumattomana virtsaan. Aspartaami on näistä synteettisistä aineista ainoa, joka metaboloituu ja sen metaboliatuotteita ovat fenyylialaniini, asparagiinihappo, ja metanoli. Metaboliatuotteet absorboituvat, mutta itse aspartaami ei oikeastaan absorboitu. Nämä tuotteet edelleen metaboloituvat elimistössä, kuten ne metaboloituisivat muutenkin, olipa lähteenä luonnolliset tai synteettiset ravinnonlähteet. (Magnuson et al., 2016)

Luonnollisista makeutusaineista (muut kuin sakkariidijohdannaiset) stevioliglykosidit eivät absorboitu. Suoliston mikrobit hydrolysoivat stevioliglykosidit stevioliksi ja steviolit absorboituvat. Steviolien reitti kulkee maksaan, jossa ne läpikäyvät glukuronidaation ja edelleen muodostuneet stevioliglukuronidit erittyvät munuaisten kautta. (Magnuson et al., 2016)

Polyolien metabolia on polyolikohtaista ja tämä riippuu hyvin paljon polyolin koosta. Pienempi koko edesauttaa nopeampaa imeytymistä, sillä polyolit absorboituvat pääasiassa diffuusiolla. (Livesey, G., 2014) Osa absorboituu, mutta ei metaboloidu, kuten erytritoli ja mannitoli. Nämä siis erittyvät muuttumattomana virtsaan. Ksylitoli puolestaan absorboituu vähissä määrin, ja imeytynyt osuus muokataan maksassa polyolidehydrogenaasien välityksellä ksyluloosiksi. Ksyluloosi voidaan sitten metaboloida edelleen ksyluloosi-5-fosfaatiksi, jota tavataan pentoosifosfaattireitin välituotteena ja tätä kautta se voidaan muokata glukoosiksi. (Livesey, 2003)

Sorbitolia tavataan elimistössä muutenkin esimerkiksi sorbitolireitin välituotteena ja tämän elimistö pystyy muokkaamaan polyolidehydrogenaasin kautta fruktoosiksi. Makeutukseen käytetään myös disakkaridipolyoleja tai isompiakin seoksia. Esimerkiksi maltitoli on disakkaridipolyoli, joka koostuu glukoosista ja sorbitolista, ja laktitoli puolestaan galaktoosista ja sorbitolista. Isomalti on kookkaampi seos, joka hydrolysoituu elimistössä glukoosiksi, sorbitoliksi ja mannitoliksi. (Livesey, 2003)

Makeat proteiinit metaboloidaan kuten proteiinit yleensäkin elimistössä eli pilkotaan aminohapoiksi. Niiden käyttö makeutusaineena ei kuitenkaan juuri nosta energiansaantia, sillä niiden makeus on moninkertainen verrattuna sakkaroosiin, jolloin niitä käytetään hyvin pieniä määriä. Proteiineista pilkotut aminohapot imeytyvät erilaisten transporttereiden kautta. Makeutusaineiden joukossa on siis useita eri absorboitumis-, metaboloitumis- ja erittymisreittejä, ja nämä on hyvä tuntea, kun valitaan sopivaa makeutusainetta ja kehitellään uusia makeuttajia.

#### **4. Makeutusaineiden seuraukset ihmiselimistössä**

Kaikille makeutusaineille on määritelty ADI-arvot (engl. Acceptable Daily Intake). Tämä arvo kertoo arvioidun päivittäisen määrän, joka on hyväksyttävää kuluttaa kyseistä makeutusainetta periaatteessa koko yksilön elämän ajan ilman terveydellisiä haittavaikutuksia. ADI-arvot ilmoitetaan yleensä milligrammana henkilön painokiloa ja vuorokautta kohden, ja ne on yleensä määrätty yhdeksi prosentiksi siitä maksimimäärästä, mikä ei ole aiheuttanut eläinkokeissa haittoja. ADI-arvot ovat kuitenkin vain suuntaa antavia. (Kroger et al., 2006)

Seurauksia ajatellen voidaan makeutusaineet jakaa bulkkimakeutusaineisiin (engl. bulk sweeteners) ja intensiivisiin makeutusaineisiin. Pääsääntöisesti bulkit aineet ovat yhtä makeita

kuin sokerit ja vievät saman tilavuuden, ja siis sisältävät pääsääntöisesti energiaa. Intensiiviset aineet puolestaan eivät pääsääntöisesti metaboloitu ja näin ollen eivät sisällä energiaa. Näiden kahden ryhmän välillä on hyödyissä ja haitoissa eroja, ja siksi nämä on hyvä eritellä. (Kroger et al., 2006) On kuitenkin muistettava, että kaikilla makeutusaineilla on oma yksilöllinen rakenteensa, jolloin myös vaikutukset elimistöön ovat yksilölliset. Myös suurin osa makeutusaineiden aiheuttamista seurauksista on väittelyn kohteena, sillä harvoista vaikutuksista ollaan yhtä mieltä siitä ovatko ne hyviä vai huonoja. Erilaisiin vaikutuksiin vaikuttaa myös se, mihin reseptoreihin kyseiset makeutusaineet kiinnittyvät; makeareseptoreitahan on löydetty suun lisäksi myös muun muassa ruoansulatuskanavasta sekä aivoista.

#### **4.1 Hyödyt**

Bulkkimakeutusaineisiin lukeutuvat suurin osa, ellei kaikki polyolit. Edelleen polyoleihin lukeutuu ksylitoli, jonka käytön tiedetään edesauttavan suun ja erityisesti hampaiden terveyttä. Polyoleista siis erityisesti ksylitoli ei aiheuta kariuksen syntymistä, kun taas sokereiden kanssa tilanne ei ole sama. Ensimmäisiä ksylitolin ja suun terveyden yhdistäviä tutkimuksia olivat niin kutsutut ”Turku Sugar Studies”-tutkimukset, jotka toteutettiin Suomessa. Muiden polyolien kohdalla ei olla saatu täyttä varmuutta siitä edesauttavatko vai eivätkö nämä kariuksen muodostumista. (Livesey, 2003)

Polyolit, kuten myös energiattomat tai vähäenergiset makeutusaineet, eivät juuri vaikuta veren glukoosipitoisuuteen tai vaikuttavat merkittävästi vähemmän kuin sokerit. Kuten sanottu, polyolien metaboloituminen ja imeytyminen on epätäydellistä ja energiattomat makeutusaineet eivät pääsääntöisesti metaboloitu tai imeydy ollenkaan. Energiattomuudesta voi olla hyötyä erityisesti ylipainoisille ja glykeemisen indeksin alhaisuudesta diabetespotilaille. (Livesey, 2003)

Makeat proteiinit on nähty hyvinä vaihtoehtoina niiden luonnollisuuden takia. Kuten edellä mainittua, makeat proteiinit metaboloituvat, kuten proteiinit yleensäkin. Kasviproteiineina niiden metabolia ei toisinaan ole kuitenkaan täydellistä. Tähän mennessä enemmän tutkitut ja markkinoille päässeet proteiinit ovat myös sopivia elintarvikekäyttöön, sillä ne ovat stabiileja erilaisissa lämpötiloissa sekä happamuuksissa. (Kant, 2005)

Myös makeutusaineiden niin sanotuista hyödyistä ollaan montaa mieltä, tutkimusta on tehty paljon, mutta tulokset ovat olleet vaihtelevia. Toisaalta ollaan sitä mieltä, että ainakin lyhytaikaiset vaikutukset esimerkiksi painonhallintaan ovat positiivisia, mutta pitkäaikaista näyttöä aiheesta ei ole tarpeeksi.

#### **4.2 Haitat**

Polyolien merkittävin haitta on niiden aiheuttamat laksatiiviset vaikutukset. Niiden epätäydellinen imeytyminen aiheuttaa osmoottisen kuormituksen, jonka seurauksena vettä pidättäytyy suoleen ja tämä aiheuttaa ruoansulatuskanavan haittoja. Kuten aiemmin on jo mainittu, määrätään makeutusaineille ADI-arvot, joten niin kuin kaiken muunkin suhteen, määrä tekee myrkyt eli tässä tapauksessa haitan. (Kroger et al., 2006)

On myös useita makeutusaineita, joiden haitaksi voidaan laskea sivu- ja jälkimakuhaitat. Pääasiassa näiden ajatellaan aiheutuvan siitä, että nämä makeutusaineet aktivoivat makeareseptorin lisäksi myös muita reseptoreja tai signaaliketjuja. Makea-, umami- ja karvasreseptorit ovat rakenteeltaan samankaltaisia ja usein samankaltaiset molekyylit voivat aiheuttaa vasteen molempien kautta. (Acevedo & Temussi, 2018)

Neurologisia vaikutuksia on muiden lisäksi tutkittu paljon. Muun muassa makeutusaineiden vaikutusta ruokahuonon on tutkittu sekä niiden mahdollista normaalien neurologisten ja fysiologisten tapahtumien häiritsemistä. (Pepino, 2015) Makean aistimus aivoissa koetaan eri tavalla riippuen makeuttajasta. Sakkaroosi vaikuttaa aivoissa laajemmin kuin puolestaan tietyt keinotekoiset makeutusaineet. Keinotekoisien makeutusaineiden kulutus aktivoi spesifisemmin tiettyjä aivojen alueita ja vaikuttaa aivojen alueiden yhteyteen, josta voidaan tulkita näiden aiheuttavan tehokkaamman aivovasteen. Eri alueiden aktivoituminen on mahdollisesti osoitus siitä, että aivot pystyvät erottamaan kaloripitoisen ja kalorittoman välillä. Tämä kyky erotella makeus ja energiapitoisuus voi olla haitallinen energian sisäänoton näkökulmasta, sillä jos makea energiaton ravinto ei tyydytä, niin voi olla, että loppujen lopuksi ravinnon kulutus kasvaa ja näin ollen makeutusaineiden hyödyt jäävät saamatta. (Hunter et al., 2019)

Makeutusaineiden mahdolliset vaikutukset normaaliflooraan on omiaan aiheuttamaan monitahoisia haittavaikutuksia. Erityisesti makeutusaineet, jotka päätyvät ruoansulatuskanavassa muuttumattomana paksusuoleen asti, voivat mahdollisesti muokata mikrobiston koostumusta ja monimuotoisuutta. Paksusuoleessa ne pääsevät vaikuttamaan

mikrobiston tiettyjen lajien kasvuun, ja edelleen tietyillä mikrobeilla ja niiden välittämällä signaaleilla voi olla vaikutusta ruokahaluun. Normaaliflooran lisäksi ruokahaluun vaikuttavat muun muassa eri metaboliset hormonit (muun muassa insuliini, glukagonin kaltainen peptidi (GLP-1), mahan inhibitorinen peptidi (GIP), greliini ja leptiini) ja näiden on nähty vapautuvan makeutusaineiden kulutuksen myötä vastaavasti kuin sokereiden kohdalla, vaikkakin makeutusaineet eivät metaboloitu elimistössä samalla tavalla. Tämä viittaa siihen, että makeareseptoriin sitoutumalla tietyt signaalireitit ja hormonien erityis aktivoituu. Näiden hormonien erityis voi häiritä glukoosihomeostaasia, sillä hiilihydraatteja ei välttämättä olekaan tulossa, jolloin hormonit erittyvät niin sanotusti turhaan. (Hunter et al., 2019)

Aspartaamin kohdalla erityinen haittavaikutus on sen metaboloituminen fenyylialaniiniksi. Fenyylialaniini aiheuttaa fenyyliketonuriaa (PKU) sairastavilla henkilöillä vakavia oireita, ja tämän takia aspartaamia sisältävissä tuotteissa on oltava merkintä, joka kertoo tuotteen sisältävän fenyylialaniinin lähteen. (Sardesai & Waldshan, 1991)

Haittavaikutukset (ja hyödyt) ovatkin siis pääsääntöisesti makeutusainekohtaisia ja on tärkeää muistaa lähdekriittisyys. Tutkimustuloksiin vaikuttaa tietysti myös, onko koe ollut esimerkiksi havaintotutkimus vai satunnaistettu kontrolloitu tutkimus. Makeutusaineiden vaikutuksia on ollut vaikea tutkia ja perustella, sillä esimerkiksi syöväen syntyyn vaikuttavat useat asiat ja näin ollen yhden asian osallisuutta on vaikea tutkia ja todistaa. Haittavaikutukset ovat myös yksilökohtaisia, sillä makeutusaineiden metaboloituminen vaihtelee yksilöiden välillä. Joidenkin makeutusaineiden kohdalla itse makeutusaine ei välttämättä ole toksinen, mutta tämän metaboliatuote tai -tuotteet voivat olla, erityisesti suurissa määrin. Hyödyt helposti vertautuvat sokereiden käyttöön, mutta sokereiden hyötyjä tai haittoja ei puolestaan tässä oteta sen enempää esille. (Lohner et al., 2017)

## **5. Makeutusaineiden suunnittelu**

Uusien makeutusaineiden suunnittelu ja kehittäminen on haastavaa, sillä makean aistimuksen syntymisessä on vielä paljon selvitettävää. Kuten aiemmin on jo mainittu, makeareseptoria ei ole pystytty vielä eristämään, joten jo optimaalisen molekyylin rakenteesta lähtien puhumattakaan makeutusaineen metaboliasta ja vaikutuksista elimistöön, on moni asia auki. Makeutusaineen metabolia tulisi siis tuntea etukäteen tai sen tulisi erittyä metaboloitumatta.

Aistimuksen tulisi olla makea ja nopeasti aistittava ilman sivu- tai jälkimakua. (Bassoli & Merlini, 2003)

On myös otettava huomioon makeutusaineen käyttökohteet; makeutusaineen tulisi olla hyvin stabiili riippumatta lämpötilasta tai pH:sta. Jotkin makeutusaineet osoittavat synergistisiä ominaisuuksia käytettäessä yhdessä muiden makeutusaineiden kanssa. Tämä on myös positiivinen ja hyödynnettävissä oleva ominaisuus, sillä yhdistelemällä useampaa ainetta voidaan päästä lähemmäs sakkaroosin tuottamaa aistimusta. (Bassoli & Merlini, 2003)

Mahdollisia uusia kaupallisia makeutusaineita on vuosien varrella löydetty, mutta edellisten lisäksi ongelmana on voinut olla myös makeutusaineen tehokas tuottaminen. Jos makeuttaja on synteettinen, tulisi sen puhtaus olla taattua ja luonnollisten makeuttajien kohdalla tulisi näiden hankintalähteiden olla taattuja. Tuottamisen tulisi olla helppoa ja edullista. (Bassoli & Merlini, 2003)

Pääasiassa makeutusaineiden suunnittelu onkin ollut sitä, että ensin on löydetty makealta maistuva yhdiste ikään kuin vahingossa ja tätä on sitten lähdetty tutkimaan ja jalostamaan. Nykyaikana kuitenkin on paremmin mahdollisuuksia, ja pystytään hyödyntämään virtuaalista mallintamista, jonka avulla voidaan tutkia molekyyliarakenteiden yhteensopivuutta sitoutumiskohtien homologimallien kanssa. (Bassoli & Merlini, 2003; Ben Shoshan-Galeczki & Niv, 2020)

On pystytty päättelemään, että makeuttajat sitoutuvat pääasiassa makeareseptorin VFT-domeeniin, joten tämän domeenin mallintaminen ja hyödyntäminen uusien makeiden molekyylien löytämisessä on tärkeässä asemassa. Ben Shoshan-Galeczki & Niv (2020) ovat hyödyntäneet mallintamista ja pystyneet huomaamaan, että rakenteeseen perustuvia menetelmiä voidaan käyttää makeiden yhdisteiden löytämiseen. He käyttivät VFT-domeenin mallia ja tutkivat miten mallinnus pystyy erottamaan makeaksi tiedetyt ja ei-makeat yhdisteet toisistaan. Heidän mallinuksensa hyödynsi erityisesti makeiden yhdisteiden telakoitumista reseptorin domeeniin. (Ben Shoshan-Galeczki & Niv, 2020)

## Kirjallisuusviitteet

- Acevedo, W., & Temussi, P. A. (2018). The Origin of Unpleasant Aftertastes in Synthetic Sweeteners: A Hypothesis. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 5, 119. 10.3389/fmolb.2018.00119
- Alonso, E. R., León, I., Kolesníková, L., & Alonso, J. L. (2019). Rotational Spectrum of Saccharin: Structure and Sweetness. *The Journal of Physical Chemistry A*, 123(13), 2756-2761. 10.1021/acs.jpca.8b12211
- Bachmanov, A. A., & Beauchamp, G. K. (2007). Taste Receptor Genes. *Annual Review of Nutrition*, 27, 389-414. 10.1146/annurev.nutr.26.061505.111329
- Bassoli, A., & Merlini, L. (2003). SWEETENERS | Intensive. In B. Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)* (pp. 5688-5695). Academic Press.
- Ben Shoshan-Galeczki, Y., & Niv, M. Y. (2020). Structure-based screening for discovery of sweet compounds. *Food Chemistry*, 315, 126286. 10.1016/j.foodchem.2020.126286
- Bicas, J. L., Maróstica Jr., M. R., & Pastore, G. M. (2016). *Biotechnological Production of Natural Ingredients for Food Industry*. Bentham Science Publishers Ltd.
- Brandle, J. E., & Telmer, P. G. (2007). Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*, 68(14), 1855-1863. 10.1016/j.phytochem.2007.02.010



- Bruni, F., Di Mino, C., Imberti, S., McLain, S. E., Rhys, N. H., & Ricci, M. A. (2018). Hydrogen Bond Length as a Key To Understanding Sweetness. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 9(13), 3667-3672. 10.1021/acs.jpcclett.8b01280
- Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2014). Artificial sweeteners – a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(4), 611-621. 10.1007/s13197-011-0571-1
- Chen, X., Gabito, M., Peng, Y., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2011). A Gustotopic Map of Taste Qualities in the Mammalian Brain. *Science (New York, N.Y.)*, 333(6047), 1262-1266. 10.1126/science.1204076
- Chéron, J., Golebiowski, J., Antonczak, S., & Fiorucci, S. (2017). The anatomy of mammalian sweet taste receptors. *Proteins*, 85(2), 332-341. 10.1002/prot.25228
- Collings, A. J. (1989). Metabolism of cyclamate and its conversion to cyclohexylamine. *Diabetes Care*, 12(1), 50-82. 10.2337/diacare.12.1.50
- Colonna, W. J., Samaraweera, U., Clarke, M. A., Cleary, M., Godshall, M. A., & White, J. S. (2006). Sugar. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (). American Cancer Society.
- Cui, M., Jiang, P., Maillet, E., Max, M., Margolskee, R. F., & Osman, R. (2006). The heterodimeric sweet taste receptor has multiple potential ligand binding sites. *Current Pharmaceutical Design*, 12(35), 4591-4600. 10.2174/138161206779010350
- Das, A., & Chakraborty, R. (2018). An Introduction to Sweeteners. In R. K. Mérillon JM. (Ed.), *Sweeteners. Reference Series in Phytochemistry*. (pp. 1-13). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-27027-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-27027-2_1)

- Finger, T. E., & Kinnamon, S. C. (2013). A taste for ATP: neurotransmission in taste buds. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 710.3389/fncel.2013.00264
- Gravina, S. A., Yep, G. L., & Khan, M. (2013). Human Biology of Taste. *Annals of Saudi Medicine*, 33(3), 217-222. 10.5144/0256-4947.2013.217
- Hunter, S. R., Reister, E. J., Cheon, E., & Mattes, R. D. (2019). Low Calorie Sweeteners Differ in Their Physiological Effects in Humans. *Nutrients*, 11(11)10.3390/nu11112717
- Information, National Center for Biotechnology, Pike, U. S. National Library of Medicine 8600 Rockville, MD, B., & Usa, 2. (2016). *How does our sense of taste work?*. Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG).
- Kant, R. (2005). Sweet proteins--potential replacement for artificial low calorie sweeteners. *Nutrition Journal*, 4, 5. 10.1186/1475-2891-4-5
- Karl, C. M., Wendelin, M., Lutsch, D., Schleining, G., Dürrschmid, K., Ley, J. P., Krammer, G. E., & Lieder, B. (2020). Structure-dependent effects of sweet and sweet taste affecting compounds on their sensorial properties. *Food Chemistry: X*, 7, 100100. 10.1016/j.fochx.2020.100100
- Keim, N. L., & Havel, P. J. (2013). Fructose: Absorption and Metabolism. In B. Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Human Nutrition (Third Edition)* (pp. 361-365). Academic Press.
- Kier, L. B. (1972). A molecular theory of sweet taste. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61(9), 1394-1397. 10.1002/jps.2600610910

- Kroger, M., Meister, K., & Kava, R. (2006). Low-calorie Sweeteners and Other Sugar Substitutes: A Review of the Safety Issues. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(2), 35-47. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00081.x>
- Leban, I., Rudan-Tasič, D., Lah, N., & Klofutar, C. (2007). Structures of artificial sweeteners – cyclamic acid and sodium cyclamate with other cyclamates. *Acta Crystallographica Section B*, 63(3), 418-425. <https://doi.org/10.1107/S0108768107013961>
- Lee, A. A., & Owyang, C. (2017). Sugars, Sweet Taste Receptors, and Brain Responses. *Nutrients*, 9(7)10.3390/nu9070653
- Livesey, G. (2014). Carbohydrate Digestion, Absorption, and Fiber. *Reference Module in Biomedical Sciences* (). Elsevier.
- Livesey, G. (2003). Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. *Nutrition Research Reviews*, 16(2), 163-191. 10.1079/NRR200371
- Lohner, S., Toews, I., & Meerpohl, J. J. (2017). Health outcomes of non-nutritive sweeteners: analysis of the research landscape. *Nutrition Journal*, 16(1), 55. 10.1186/s12937-017-0278-x
- Magnuson, B. A., Carakostas, M. C., Moore, N. H., Poulos, S. P., & Renwick, A. G. (2016). Biological fate of low-calorie sweeteners. *Nutrition Reviews*, 74(11), 670-689. 10.1093/nutrit/nuw032
- Mahalapbutr, P., Darai, N., Panman, W., Opasmahakul, A., Kungwan, N., Hannongbua, S., & Rungrotmongkol, T. (2019). Atomistic mechanisms underlying the activation of the G protein-coupled sweet receptor heterodimer by sugar alcohol recognition. *Scientific Reports*, 9(1), 1-11. 10.1038/s41598-019-46668-w

- Mathlouthi, M., & Kanters, J. A. (1993). In Birch G. G. (Ed.), *Sweet Taste Chemoreception*. Elsevier Appl. Science.
- Misaka, T. (2013). Molecular mechanisms of the action of miraculin, a taste-modifying protein. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 24(3), 222-225. 10.1016/j.semcdb.2013.02.008
- Morini, G., Bassoli, A., & Temussi, P. A. (2005). From small sweeteners to sweet proteins: anatomy of the binding sites of the human T1R2\_T1R3 receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(17), 5520-5529. 10.1021/jm0503345
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., & Weil, P. A. (2012). Nutrition, Digestion, & Absorption. *Harper's illustrated biochemistry* (29th ed., pp. 518). New York : McGraw-Hill Medical, ©2012.
- Nofre, C., & Tinti, J. (1996). Sweetness reception in man: the multipoint attachment theory. *Food Chemistry*, 56(3), 263-274. 10.1016/0308-8146(96)00023-4
- Pepino, M. Y. (2015). METABOLIC EFFECTS OF NON-NUTRITIVE SWEETENERS. *Physiology & Behavior*, 152(0 0), 450-455. 10.1016/j.physbeh.2015.06.024
- Perez-Aguilar, J. M., Kang, S., Zhang, L., & Zhou, R. (2019). Modeling and Structural Characterization of the Sweet Taste Receptor Heterodimer. *ACS Chemical Neuroscience*, 10(11), 4579-4592. 10.1021/acschemneuro.9b00438
- Picone, D., & Temussi, P. A. (2012). Dissimilar sweet proteins from plants: oddities or normal components? *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 195, 135-142. 10.1016/j.plantsci.2012.07.001

- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (2001a). The Organization of the Taste System. *Neuroscience. 2nd Edition*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11018/>
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (2001b). Taste Receptors and the Transduction of Taste Signals. *Neuroscience. 2nd Edition*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11148/>
- Roper, S. D. (2013). Taste buds as peripheral chemosensory processors. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 24(1), 71-79. 10.1016/j.semcdb.2012.12.002
- Sardesai, V. M., & Waldshan, T. H. (1991). Natural and synthetic intense sweeteners. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2(5), 236-244. 10.1016/0955-2863(91)90081-F
- Shallenberger, R. S., & Acree, T. E. (1967). Molecular Theory of Sweet Taste. *Nature*, 216(5114), 480-482. 10.1038/216480a0
- Simon, S. A., de Araujo, I. E., Gutierrez, R., & Nicolelis, M. A. L. (2006). The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code. *Nature Reviews. Neuroscience*, 7(11), 890-901. 10.1038/nrn2006
- Stanfield, C. L. (2017). *Principles of Human Physiology* (6th ed.). Pearson Education.
- Suami, T., & Hough, L. (1993). Molecular mechanisms of sweet taste 3: aspartame and its non-sweet isomers. *Food Chemistry*, 46(3), 235-238. 10.1016/0308-8146(93)90112-S
- Tandel, K. R. (2011). Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 2(4), 236-243. 10.4103/0976-500X.85936

- Temussi, P. (2007). The sweet taste receptor: a single receptor with multiple sites and modes of interaction. *Advances in Food and Nutrition Research*, 53, 199-239. 10.1016/S1043-4526(07)53006-8
- Temussi, P. (2002). Why are sweet proteins sweet? Interaction of brazzein, monellin and thaumatin with the T1R2-T1R3 receptor. *FEBS Letters*, 526(1-3), 1-4. 10.1016/s0014-5793(02)03155-1
- von Molitor, E., Riedel, K., Krohn, M., Rudolf, R., Hafner, M., & Cesetti, T. (2020). An alternative pathway for sweet sensation: possible mechanisms and physiological relevance. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 10.1007/s00424-020-02467-1
- Zhang, F., Klebansky, B., Fine, R. M., Liu, H., Xu, H., Servant, G., Zoller, M., Tachdjian, C., & Li, X. (2010). Molecular mechanism of the sweet taste enhancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(10), 4752-4757.