

Felix Guillermo Reyes Reyes

organizador

UMAMI E GLUTAMATO

Aspectos químicos, biológicos e tecnológicos



UMAMI E GLUTAMATO

aspectos químicos, biológicos e tecnológicos

CONSELHO EDITORIAL

André Costa e Silva

Cecilia Consolo

Dijon de Moraes

Jarbas Vargas Nascimento

Luis Barbosa Cortez

Marco Aurélio Cremasco

Rogério Lerner

FELIX GUILLERMO REYES REYES
(organizador)

UMAMI E GLUTAMATO
aspectos químicos, biológicos e tecnológicos

2021

Umami e Glutamato: aspectos químicos, biológicos e tecnológicos

© 2021 Felix Guillermo Reyes Reyes
Editora Edgard Blücher Ltda.

Publisher Edgard Blücher

Editor Eduardo Blücher

Coordenação editorial Jonatas Eliakim

Produção editorial Kedma Marques

Diagramação e capa Laércio Flenic

Revisão de texto Samira Panini

Imagem da capa iStockphoto

Blucher

Rua Pedroso Alvarenga, 1245, 4º andar
04531-934 – São Paulo – SP – Brasil
Tel 55 11 3078-5366
contato@blucher.com.br
www.blucher.com.br

Segundo Novo Acordo Ortográfico, conforme 5. ed.
do Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa,
Academia Brasileira de Letras, março de 2009.

É proibida a reprodução total ou parcial por quaisquer
meios, sem autorização escrita da Editora.

Todos os direitos reservados pela Editora
Edgard Blücher Ltda.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Angélica Ilacqua CRB-8/7057

Umami e Glutamato: aspectos químicos, biológicos
e tecnológicos / Felix Guillermo Reyes Reyes. --
São Paulo : Blucher, 2021.
468p.

Bibliografia

ISBN 978-65-5550-098-1 (impresso)

ISBN 978-65-5550-096-7 (eletrônico)

Open Access

1. Nutrição 2. Bioquímica 3. Umami 4. Glutamato
monossódico I. Título

21-3737

CDD 613.1

Índices para catálogo sistemático:

1. Nutrição

PRÓLOGO

Em nossa época, em pleno século XXI, assistimos a uma verdadeira explosão de interesses pela área de nutrição como um todo, que abrange da ciência básica à alta gastronomia. Buscam-se cada vez mais alimentos saudáveis e saborosos. O estudo do gosto e do sabor é uma verdadeira ciência com fundamentos bem estabelecidos.

Nesse sentido, a obra *Umami e glutamato: aspectos químicos, biológicos e tecnológicos*, escrita em português e espanhol, sob a coordenação editorial do Professor Felix G. R. Reyes, da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, e com a cooperação de um ilustre conjunto de autores especialistas das mais prestigiosas universidades brasileiras e internacionais, vem, nesta segunda edição, em momento muito oportuno e feliz.

Os quatro gostos básicos identificados e conhecidos têm sido, há muito anos, o doce, o salgado, o ácido e o amargo. Atualmente, se reconhece a existência de um quinto gosto básico, o gosto umami, aceito universalmente como tal por ter receptores perfeitamente identificados e relacionados a aminoácidos e estar presente em diferentes alimentos.

O quinto gosto foi inicialmente estudado cientificamente pelo Dr. Kikunae Ikeda (1864-1936), Professor da Universidade Imperial de Tóquio, que pesquisando o caldo *dashi*, típico e tradicional da cozinha japonesa, preparado com a alga *kombu* (*Laminaria Japonica*) seca, identificou o ácido glutâmico livre e seus sais como responsáveis pelo gosto umami (em japonês, saboroso ou gostoso). Ele o chamou de “essência do sabor”. Este gosto básico é devido ao ácido glutâmico, aminoácido não essencial, e aos 5'-ribonucleotídeos inosina-5'-monofosfato (IMP) e guanosina-5'-monofosfato (GMP), encontrados em carnes, peixes, vegetais e laticínios.

O gosto umami está vinculado a outros temperos conhecidos como os molhos *worcestershire*, ketchup, e *zuppa de pesce* (sopa de peixe) salpicada com queijo parmesão ralado, todos eles de alguma forma vinculados ao bom gosto do *garum*, denominação no Império Romano para o gosto hoje reconhecido por umami.

O ser humano, entre as mais de dez mil papilas gustativas, possui receptores gustativos específicos para o ácido glutâmico e nucleotídeos.

O ácido glutâmico pode ser obtido por extração de fontes naturais, síntese química, fermentação ou catálise enzimática.

Em 1866, o químico alemão Ritthausen obteve o ácido glutâmico pela hidrólise ácida da gliadina do glúten.

Em 1909, obteve-se glutamato monossódico (MSG), o sal do ácido glutâmico, a partir da farinha de trigo. Atualmente, a obtenção do MSG é realizada através do método de fermentação, tendo como substratos o açúcar da cana-de-açúcar, milho e mandioca, com utilização da bactéria *Cornyobacterium glutamicum*, que produz ácido L-glutâmico (C₅H₉O₄N) a partir de carboidratos, oxigênio e amônia.

A quantidade de ácido glutâmico livre é elevada em verduras (por exemplo, tomate e milho). Nos tecidos animais, os teores de ácido L-glutâmico livre estão elevados no intestino delgado e cérebro. Ele é componente integral do leite materno e do plasma circulante.

O glutamato tem papel central no metabolismo de aminoácidos, sendo o único aminoácido sintetizado completamente a partir do amônio produzido por plantas e bactérias por aminação do α -cetoglutarato e também o único de rápida desaminação. Participa da produção de ureia no fígado e do ciclo do ácido cítrico. Participa das reações de transaminação na síntese de aminoácidos não essenciais, sendo precursor de glutamina, prolina, ornitina e ácido gama amino

butírico. A transformação do ácido glutâmico em glutamina se dá na célula mediante a ação da glutamina sintetase.

No sistema nervoso central, o glutamato tem função excitatória e participa das funções superiores e da consciência. Ele é sintetizado a partir da glicose e glutamina que atravessam a barreira hematoencefálica, e está contido em quatro grandes compartimentos, significando que todas as atividades cerebrais, direta ou indiretamente, têm a participação do glutamato.

Está bem estabelecido que a ingestão de alimentos contendo ácido glutâmico ou seus sais, não altera os níveis de glutamato no sangue, leite materno ou placenta, exceto em doses extremas. Sua metabolização é igualmente adequada em lactentes e adultos.

O MSG em pH fisiológico se dissocia no cátion Na^+ e no ânion glutamato, que é metabolizado de forma idêntica ao obtido de sua fonte natural, as proteínas. Conseqüentemente, não ingressa no cérebro, mesmo que se aumente sua concentração plasmática, devido à ação da barreira natural hematoencefálica.

Alguns pesquisadores associaram efeitos colaterais indesejáveis ao consumo de MSG, particularmente relacionando-o com sintomas neurológicos e digestivos, o qual foi denominado de “síndrome do restaurante chinês”. No entanto deve-se recordar que a culinária chinesa pode conter altas concentrações de gordura e sódio, substâncias que, em alta ingestão, podem ser prejudiciais ao organismo, independente da presença do MSG na dieta.

O *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA) da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) e da *World Health Organization* (WHO) consideram o MSG de uso seguro, como aditivo alimentar.

O *U.S. Food and Drug Administration* (U.S. FDA) considera o MSG como ingrediente alimentar, como o sal e o açúcar e, portanto, ele não deve ser usado em excesso. O MSG pode ser adicionado aos alimentos na proporção de 0,1 a 0,8%, segundo as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos. Se utilizado em excesso piora o sabor dos alimentos.

Mesmo que organizações mundiais regulatórias atestem a segurança do glutamato quando consumido em níveis recomendados, é aconselhável que organizações e profissionais envolvidos com nutrição e saúde tenham a responsabilidade de orientar a população sobre a melhor utilização desta substância, assim como de outros aditivos alimentares.

De leitura muito agradável e didática, os diferentes aspectos do umami e do glutamato são abordados por 30 autores em 20 capítulos, redigidos com

excelência e amparados em sólidas referências científicas. A obra abrange aspectos analíticos, bioquímicos, metabólicos, nutricionais, clínicos, toxicológicos e tecnológicos do glutamato, para se voltar aos mecanismos sensoriais, culinários e gastronômicos e finalizar com aspectos regulatórios e industriais.

Trata-se de contribuição importante e de leitura obrigatória para todos os interessados em alimentos e nutrição.

*Dan L. Waitzberg
Professor Associado
Faculdade de Medicina
Universidade de São Paulo
Diretor GANEP – Nutrição Humana*

COLABORADORES

Alexandra Cucufate Petrushina

Facultad de Ciencias de la Salud
Carrera de Nutrición y Dietética
Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas
Lima, Perú.

Ana San Gabriel

Secretariat and Science Advisor
International Glutamate Information Service
Tokyo, Japan.

André Schwambach Vieira

Departamento de Biologia Estrutural e Funcional
Instituto de Biologia
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Carolina Soares de Moura

Departamento de Ciências de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Carlos Silvera Almitrán

Facultad de Ingeniería y Tecnologías
Universidad Católica del Uruguay
Montevideo, Uruguay.

Cinthia Baú Betim Cazarin

Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Claudio Pagani

Department of Food Ingredients
Ajinomoto do Brasil
São Paulo, SP, Brasil.

Edmund T. Rolls

Oxford Centre for Computational Neuroscience
Oxford, United Kingdom.

Elba Sangronis

Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos
Universidad Simón Bolívar
Caracas, Venezuela.

Felix Guillermo Reyes Reyes

Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Flavia Pereira da Silva Airoidi

S Cosméticos do Bem
Campinas, SP, Brasil.

Helena Fernandes Martins Tavares

Regulatory and Scientific Affairs Manager
Ajinomoto do Brasil
São Paulo, SP, Brasil.

Helena Maria Andre Bolini

Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Hellen Dea Barros Maluly

Centro de Pós-graduação
Faculdades Oswaldo Cruz
São Paulo, SP, Brasil.

Jaime Amaya-Farfan

Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Joel Faintuch

Departamento de Gastroenterologia
Faculdade de Medicina
Universidade de São Paulo
São Paulo, SP, Brasil.

Jorge Herman Behrens

Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Kelen Bulos Caparello

Especialista em Segurança e Legislação de Alimentos
São Paulo, SP, Brasil.

Kumiko Ninomiya

Umami Information Center
Tokyo, Japan.

Leonardo R. Lareo (*in memoriam*)

Departamento de Nutrición y Bioquímica
Facultad de Ciencias
Pontificia Universidad Javeriana
Bogotá, Colombia.

Manuel E. Baldeón

Facultad de Ciencias Médicas, de la Salud y de la Vida
Escuela de Medicina
Universidad Internacional del Ecuador
Quito, Ecuador.

Maria Aparecida Pereira da Silva

Centro de Ciências Exatas e Tecnologia
Departamento de Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Sergipe
Aracaju, SE, Brasil.

Miguel Arcanjo Areas

Departamento de Biología Estructural e Funcional
Instituto de Biología
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Nancy Flores

Instituto de Investigaciones en Salud y Nutrición
Universidad San Francisco de Quito
Quito, Ecuador.

Priscila Neder Morato

Curso de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Unidade Naviraí
Naviraí, MS, Brasil.

Rosa Alejandra Longa López

Facultad de Administración Hotelera, Turismo y Gastronomía
Universidad San Ignacio de Loyola
Lima, Perú.

Silvia Mendoza (*in memoriam*)

Escuela de Química y Farmacia
Universidad de Chile
Santiago, Chile.

Sonia Luz Albarracín C

Departamento de Nutrición y Bioquímica
Facultad de Ciencias
Pontificia Universidad Javeriana
Bogotá, Colombia.

Susanne Rath

Departamento de Química Analítica
Instituto de Química
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Teresa Blanco de Alvarado-Ortiz

Asesora en Alimentación y Nutrición
Universidad San Ignacio de Loyola
Lima, Perú.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	19
<i>Felix G. R. Reyes</i>	
PARTE I – HISTÓRICO	23
1. O UMAMI NAS CULTURAS ANTIGAS	25
<i>Carlos Silvera Almitrán</i>	
<i>R. Alejandra Longa López</i>	
PARTE II – ASPECTOS QUÍMICOS E OCORRÊNCIAS EM ALIMENTOS	43
2. ASPECTOS ANALÍTICOS DO GLUTAMATO	45
<i>Susanne Rath</i>	
<i>Flavia Pereira da Silva Airoidi</i>	
3. PRESENÇA DE GLUTAMATO EM ALIMENTOS	71
<i>Cinthia Baú Betim Cazarin</i>	
<i>Carolina Soares de Moura</i>	
<i>Priscila Neder Morato</i>	
<i>Jaime Amaya-Farfan</i>	
PARTE III – ASPECTOS BIOLÓGICOS.....	91
4. GLUTAMATO: ASPECTOS BIOQUÍMICOS.....	93
<i>Teresa Blanco de Alvarado-Ortiz</i>	
<i>Alexandra Cucufate Petrushina</i>	
5. PAPEL NUTRICIONAL DOS GLUTAMATOS.....	137
<i>Joel Faintuch</i>	
6. ASPECTOS FISIOLÓGICOS DO GLUTAMATO: O GLUTAMATO NO LEITE MATERNO E NO DESENVOLVIMENTO DO INTESTINO DO LACTENTE	155
<i>Manuel E. Baldeón</i>	
<i>Nancy Flores</i>	

7. ASPECTOS ENDÓCRINOS DO GLUTAMATO	179
<i>Miguel Arcanjo Areas</i> <i>André Schwambach Vieira</i>	
8. GLUTAMATO: ASPECTOS NEURONAIS	191
<i>Sonia Luz Albarracín C.</i> <i>Leonardo R. Lareo</i>	
9. EFEITOS DO GLUTAMATO NO CÉREBRO	225
<i>Sonia Luz Albarracín C.</i> <i>Leonardo R. Lareo</i>	
10. ASPECTOS FISIOLÓGICOS DO GLUTAMATO RELACIONADOS À OBESIDADE.....	259
<i>Manuel E. Baldeón</i>	
11. INTOLERÂNCIAS E EFEITOS TÓXICOS DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO .	273
<i>Joel Faintuch</i>	
PARTE IV – ASPECTOS DE SEGURANÇA DE ALIMENTOS	283
12. GLUTAMATO MONOSSÓDICO: ASPECTOS TOXICOLÓGICOS.....	285
<i>Felix Guillermo Reyes Reyes</i> <i>Miguel Arcanjo Areas</i> <i>Hellen Dea Barros Maluly</i>	
PARTE V – ASPECTOS SENSORIAIS	307
13. GOSTO, SABOR E PERCEPÇÕES SENSORIAIS.....	309
<i>Helena Maria Andre Bolini</i> <i>Maria Aparecida Pereira da Silva</i>	
14. ASPECTOS SENSORIAIS DO UMAMI.....	321
<i>Elba Sangronis</i> <i>Helena Maria Andre Bolini</i>	
15. MECANISMO DE AÇÃO DO SABOR E DO GOSTO UMAMI NO CÉREBRO ...	345
<i>Edmund T. Rolls</i>	
16. UMAMI NO MUNDO DA GASTRONOMIA	369
<i>Kumiko Ninomiya</i> <i>Ana San Gabriel</i>	

PARTE VI – ASPECTOS TECNOLÓGICOS	389
17. ASPECTOS INDUSTRIAIS E APLICAÇÃO DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO EM ALIMENTOS	391
<i>Hellen Dea Barros Maluly</i>	
<i>Claudio Pagani</i>	
<i>Kelen Bulos Caparello</i>	
18. UMAMI EM DIFERENTES DIETAS	415
<i>Silvia Mendoza</i>	
<i>Jorge Herman Behrens</i>	
19. USO DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO NA PRODUÇÃO DE BATATAS FRITAS COM BAIXO TEOR DE ÓLEO	427
<i>Carlos Silvera Almitrán</i>	
PARTE VII – ASPECTOS REGULATÓRIOS	447
20. ASPECTOS REGULATÓRIOS DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO	449
<i>Elba Sangronis</i>	
<i>Helena Fernandes Martins Tavares</i>	

INTRODUÇÃO

Temos imensa satisfação em apresentar a segunda edição do livro *Umami e glutamato: aspectos químicos, biológicos e tecnológicos*, desta vez em formato de *e-Book Open Access* (Acesso Aberto) e, assim, disponível a todos os interessados no assunto. O lançamento deste livro é resultado de um esforço interativo e cooperativo de profissionais de várias áreas do conhecimento e de vários países, cujas atividades realizadas no decorrer do seu desenvolvimento, nos trouxeram valiosas contribuições. Os diferentes temas tratados nos capítulos foram desenvolvidos com o objetivo de servir aos interesses de alunos de graduação, pós-graduação, acadêmicos, bem como a profissionais que atuam nas áreas de saúde, ciência e tecnologia de alimentos, nutrição, gastronomia, culinária e de regulamentação.

Vale lembrar que nos primórdios da humanidade, o homem nômade consumia unicamente os alimentos que estavam disponíveis na natureza. Posteriormente, ao se tornar sedentário, o homem passou a produzir os próprios alimentos para consumo, o que contribuiu no desenvolvimento de suas preferências alimentares. Desde então, durante toda a história, a preferência por determinados tipos de alimentos teve influências culturais, geográficas, sociais e econômicas. Podemos citar, como exemplo, os tempos das grandes navegações e descobri-

mentos a partir do século XV, que deram início ao comércio internacional, influenciado pelo comércio das especiarias, tão apreciadas pelos povos devido ao seu agradável aroma e sabor.

Já estamos nos aproximando aos 8 bilhões de habitantes no planeta, com a expectativa de sermos 10 bilhões até o final deste século XXI. Assim sendo, é necessário produzir alimentos suficientes para alimentar toda essa população, levando-se em conta tanto a quantidade como a qualidade da produção. Em função disso, a indústria de alimentos desempenha um papel importante nesse processo de disponibilizar alimentos nutritivos e sensorialmente aceitáveis, de baixo custo e inócuos à saúde dos consumidores.

Sabemos que a aceitabilidade de um alimento é influenciada pela sua palatabilidade, sendo esta dependente do sabor, que por sua vez é influenciada especialmente pelos gostos básicos. Até o final do século XX, considerava-se unicamente a existência de quatro gostos básicos: doce, azedo, salgado e amargo. Somente, no início deste século é que o gosto umami foi reconhecido pela comunidade científica. Em 2000 foram estabelecidas as evidências científicas da existência do quinto gosto básico (umami), apesar da teoria da sua existência ter sido estabelecida em 1908, pelo professor Kikunae Ikeda, cientista da Universidade Imperial de Tóquio. O reconhecimento científico se deu quando pesquisadores da Universidade de Miami, EUA, publicaram na revista *Nature Neuroscience* um estudo comprovando a presença na língua de receptores específicos, que reconheciam o gosto umami.

Os principais compostos responsáveis pelo gosto umami são glutamato monossódico (MSG), inosina-5'-monofosfato (IMP), e guanosina-5'-monofosfato (GMP). Essas substâncias têm seu uso aprovado pelos órgãos regulamentadores, como aditivos alimentares com a função de realçadores de sabor, sendo o MSG o mais comumente utilizado em alimentos.

Aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenamento, transporte ou manipulação de um alimento. Ao agregar-se ao alimento, poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento.

Um dos princípios gerais para o uso de aditivos em alimentos é que estes somente sejam usados após ter sido avaliada a sua inocuidade de uso. O resultado da avaliação é o estabelecimento de níveis de ingestão diária aceitável (IDA). A IDA

é a quantidade de uma substância, expressa em mg/kg p.c., que pode ser ingerida diariamente na alimentação, inclusive por toda a vida, sem dano à saúde humana, com base em informações toxicológicas disponíveis na época da avaliação.

O principal órgão científico internacional que conduz as avaliações toxicológicas dos aditivos alimentares é o Comitê Conjunto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA), após a devida avaliação de todos os dados relevantes em animais e seres humanos. O JECFA estabeleceu para o MSG uma IDA “não especificada”. O termo IDA “não especificada” significa que, tomando como base os dados disponíveis (químicos, bioquímicos, toxicológicos etc.), a ingestão diária total da substância, que se deriva do seu uso para obter o efeito tecnológico desejado e de sua concentração natural nos alimentos, não representa um perigo para a saúde. Por esses motivos, e por outros mencionados nas avaliações, não se considera necessário o estabelecimento de uma IDA expressa em forma numérica.

Cabe destacar que o MSG é um dos aditivos alimentares que tem sido mais estudado, bem como objeto de grande número de avaliações quanto a sua inocuidade de uso como aditivo alimentar. O fato é que os dados científicos disponíveis demonstram que o MSG, como realçador de sabor dos alimentos, é seguro para o consumo humano, quando utilizado conforme as boas práticas de fabricação de alimentos.

Aqui cabe a seguinte pergunta: poderia, atualmente, a indústria de alimentos disponibilizar alimentos processados, da forma em que estão acessíveis nas prateleiras dos supermercados e demais estabelecimentos, sem o uso de aditivos alimentares? A resposta é simplesmente não. Eles exercem funções tecnológicas indispensáveis para o preparo, estabilidade e conservação dos alimentos, assim como para tornar o alimento atraente para consumo, entre outras finalidades. Em relação ao MSG, as evidências científicas comprovam que, em adição ao fato de ser um aditivo alimentar de uso seguro para exercer suas funções tecnológicas, ele também exerce funções nutritivas e fisiológicas essenciais ao nosso organismo, as quais contribuem com a melhora da qualidade de vida, em particular no caso dos idosos.

A melhora da palatabilidade exercida pelo MSG também contribui significativamente na ingestão de dietas restritivas (de sal, açúcar, gorduras etc.), promovendo maior aceitabilidade e satisfação de grupos populacionais com necessidades nutricionais comprometidas por enfermidades, estados psicológicos alterados, pacientes hospitalizados e outras populações que requerem cuidados específicos, relacionados a seu estado de saúde.

Cabe lembrar que o conhecimento que envolve os aspectos sensoriais relacionados aos alimentos é de extrema importância, não só para o desenvolvimento de alimentos agradáveis ao nosso paladar, mas também para incrementar o seu consumo, sob o aspecto nutricional. Nos últimos anos, esse conhecimento tem sido imprescindível para o desenvolvimento da gastronomia mundial.

Hoje, o hábito de frequentar restaurantes faz parte do cotidiano das pessoas, seja pela falta de tempo em preparar os alimentos nos lares, como também uma opção de lazer muito comum, junto de familiares e amigos. Em consequência, vemos aumentar significativamente o grau de exigência da população, relacionado ao preparo e sabor dos pratos servidos nos restaurantes.

Nesse sentido, sem dúvida alguma podemos afirmar que o descobrimento do quinto gosto básico (umami), por parte do Professor Kikunae Ikeda, foi um dos mais importantes fatores para o desenvolvimento da gastronomia e da culinária como a conhecemos hoje, o que se deu em consequência do desenvolvimento da ciência e tecnologia de alimentos, fortemente influenciado por essa descoberta. O fato é que nos últimos cem anos, o MSG passou a ser o aditivo alimentar mais utilizado no mundo no preparo de alimentos, pela sua função tecnológica de realçador de sabor.

Não poderíamos deixar de expressar nosso agradecimento a todos aqueles que colaboraram e nos concederam precioso apoio para a elaboração deste livro, tanto para a primeira como para esta segunda edição. Agradeço ao *Institute for Glutamate Sciences in South America* (IGSSA) por conceder o financiamento para que este livro pudesse ser disponibilizado, via *e-Book Open Access*, para todos os interessados em obter conhecimento sobre glutamato e umami. A todos, nosso “muito obrigado”.

Finalmente, caros leitores, gostaríamos de manifestar nosso interesse em receber sugestões, comentários, críticas e eventuais correções, relacionados a esta obra. Neste livro *Umami e glutamato: aspectos químicos, biológicos e tecnológicos*, nosso propósito é contribuir com a disseminação do conhecimento científico correlacionado ao gosto umami e ao uso do MSG como aditivo alimentar.

Felix G. R. Reyes

PARTE I HISTÓRICO

CAPÍTULO 1

O UMAMI NAS CULTURAS ANTIGAS

*Carlos Silvera Almitrán
R. Alejandra Longa López*

*Se alguém pode definir e medir com
precisão o que está sendo falado,
opiniões podem ser consideradas como acreditáveis;
se não, elas devem ser consideradas duvidosas.*

Lord Kelvin

1. DESDE O ALIMENTO CRU AO ENCONTRO DO SABOR

Os livros de história e antropologia sempre nos convidam a imaginar e viajar pelo tempo, pensando em como se alimentou e viveu o homem primitivo. Os de anatomia e fisiologia nos dão uma explicação científica sobre quais são os alimentos e a comida, em geral, que influenciaram diretamente sobre o desenvolvimento e evolução da humanidade.

Os primeiros hominídeos, ainda não os *Homo erectus*, não conheceram os alimentos cozidos. Consequentemente, satisfaziam sua fome com o que tinham ao seu redor. O fogo, conhecido pelo homem aproximadamente quinhentos mil anos antes de Cristo, por coincidência, permitiu que os neandertais o utilizassem não somente para se protegerem contra o frio e para espantar as feras (White & Browns, 1994), mas também, para melhorar o sabor do que ingeriam, porém, sobretudo, para socializar, estar em grupo e compartilhar. Os neandertais alcançaram uma forma de saúde coletiva melhor através da melhoria de seus alimentos pelo cozimento. Os alimentos cozidos são mais macios permitindo uma melhor mastigação e, consequentemente, digestão mais completa. Além disso, os alimentos submetidos ao processo de cocção são mais seguros devido à eliminação

de micro-organismos em função do uso de altas temperaturas. Carnes e vegetais cozidos eliminam ou reduzem a contaminação microbiana que atingiu os alimentos através de ferramentas sujas ou solos terrosos (Lévi-Strauss, 1968).

Esse processo, aparentemente simples, de esquentar, cozinhar e suavizar, fornece proteínas e carboidratos biodisponíveis para processos de absorção, digere fibras, libera vitaminas e minerais, aumenta o valor nutritivo e, sobretudo, torna comestíveis muitos alimentos. Então, a aquisição e ingestão de alimentos cozidos que contêm nutrientes permitiu a evolução do homem primitivo, ainda que este ignorasse esse benefício.

Pode-se presumir que a saúde melhorou através dos alimentos cozidos. Durante a pré-história, os homínídeos tinham uma taxa de sobrevivência de sua prole de até 70-80% e eram capazes de sobreviver além de sua idade de capacidade reprodutiva, evidenciando uma maior mudança adaptativa. As primeiras tribos nômades puderam gozar de boa saúde. Eram indivíduos robustos, corpulentos e possuíam uma boa dentição. Algumas evidências arqueológicas indicam que a maior causa de morte pode ter sido o traumatismo, que provocava a morte de quase a metade da população de forma violenta. Embora seja possível supor que algumas doenças consideradas hoje benignas, poderiam ter sido extremamente virulentas em outros tempos (Serrano, 2016).

O uso de técnicas biogeoquímicas, como a análise isotópica, nos dá evidências de como eram a alimentação e a vida na pré-história. Isótopos de carbono e nitrogênio no colágeno ósseo indicam o consumo de proteínas durante a vida da população paleolítica. Assim, estudos de Salazar-García (2016) demonstraram que as últimas sociedades caçadoras coletoras e as primeiras sociedades agricolopecuaristas se baseavam no consumo de recursos terrestres, mas também de recursos marinhos, que aumentaram no Mesolítico.

Não é difícil imaginar, então, que tal como faz uma criança, o homínídeo levasse à boca tudo o que encontrasse, sendo para ele muito importante a distribuição das papilas gustativas para selecionar ou recusar alguns alimentos. Se a distribuição dos receptores do gosto amargo estivesse preponderantemente na ponta da língua, talvez o homem morresse de inanição, recusando permanentemente todos os alimentos ante um primeiro contato desagradável. Pelo contrário, sendo essa também a zona receptora do doce, ele ampliou a possibilidade de ir descobrindo, pouco a pouco, novos e melhores alimentos. Contudo, a fome e a escassez devem ter fomentado o consumo de alguns alimentos prejudiciais e/ou tóxicos, o que deve ter influenciado em uma média de vida curta, associado a um estilo de vida fisicamente exigente, onde apenas os

mais fortes e mais habilidosos sobreviveriam à infância (Cuba Debate, 2013). A antropologia pré-histórica mostra como a hominização (processo evolutivo de milhões de anos, que abarca desde os primeiros expoentes do gênero *Homo* (*Homo habilis*, *erectus*, *neandertal*) até o homem atual (*Homo sapiens sapiens*) influenciou no surgimento da linguagem e da cultura, através dos processos de bipedização, manualização e erguimento do corpo, entre outros. Uma evolução que, dada a constante ampliação de seu universo de conhecimento e de risco-precaução, permitiu ao homem ir discriminando alguns alimentos e escolhendo outros (Morin, 1999).

Os quatro gostos básicos mais identificados e conhecidos têm sido, até muito poucos anos atrás, o doce, o salgado, o ácido e o amargo: as frutas maduras cheirosas e provocativas, doces; os alimentos adicionados de sal eram mais agradáveis; os cítricos, agradavelmente ácidos; porém, existiam alimentos desagradáveis, amargos, que provocavam repulsa, talvez uma forma inconsciente de autoproteção, já que a maioria das substâncias tóxicas geralmente é amarga. Porém, os hominídeos eram principalmente carnívoros; as carnes proporcionam maior e melhor biodisponibilidade de proteínas e, pela digestão, de aminoácidos. Essa predileção por alimentos que melhoraram sua fisiologia e permitiram sua evolução, não era ao acaso, nem se devia unicamente pela disposição do alimento de origem animal. O que principalmente provocava seu consumo era o gosto delicioso, saboroso e próprio das carnes. Hoje em dia, o saboroso está relacionado com a presença de aminoácidos e é o quinto gosto básico, o gosto umami, saboroso, aceito universalmente como tal por ter receptores perfeitamente identificados e estar presente em diferentes alimentos.

2. DO GOSTO AO SABOR

O gosto umami está integrado à história e à cultura alimentar dos povos em todas as civilizações que influenciaram, decisivamente, o desenvolvimento da humanidade. O desenvolvimento da indústria alimentícia, vinculado ao quinto gosto umami e aos sinergistas de sabor, associa-se a desenvolvimentos culturais tão diversos como Babilônia, China, Grécia e Roma, passando pelas civilizações indo-americanas incas, astecas e maias, até a moderna cozinha mediterrânea e aquelas receitas culinárias modernas, com raízes ancestrais, em assentamentos humanos nas montanhas e vales dos Pirineus, como a comida basca.

Os antigos iam retendo na memória o mais saboroso e, condicionando seus gostos a alimentos mais frescos, mais coloridos, os cozidos de melhores sabores, aroma e textura. A sabedoria do paladar, feita com muitos sabores e milhares de

aromas, como o disco de Newton do qual uma ampla gama de cores deriva de cores básicas, dos alimentos surge uma quantidade inimaginável e incontável de sabores, como um “disco de sabor”, a partir dos cinco gostos básicos (ácido, salgado, doce, amargo e umami), o que proporciona uma grande quantidade de variados e fascinantes sabores distintos. Cada um dos gostos básicos responde a um determinado tipo de substância química, dizia Zuker (Montaner, 2003): “... *razão evolutiva, via gustativa dos aminoácidos...*”; pode-se deduzir que as necessidades metabólicas dos tecidos, quanto a determinadas substâncias nutritivas, influenciaram na seleção dos alimentos. As preferências gustativas de um indivíduo puderam chegar a mudar de acordo com as demandas do seu organismo em situações diferentes.

O quinto gosto foi estudado cientificamente pelo Dr. Kikunae Ikeda (1864-1936), um dos grandes criadores do sistema industrial japonês. Dr. Ikeda identificou o ácido glutâmico livre e seus sais como responsáveis pelo gosto que ele denominou umami, dado que umami, em japonês, significa alimento saboroso ou gostoso.

Em suas investigações, o professor Ikeda quis caracterizar o gosto distinto dos aspargos, dos tomates, do queijo, da alga marinha laminaria e das carnes, até então desconhecido, que se diferenciava claramente dos gostos básicos: doce, amargo, ácido e salgado. O professor Ikeda sabia que o caldo de uma alga marinha, a laminaria, preparado de forma tradicional na cozinha japonesa, era rico nesse gosto específico e começou sua extração usando enormes quantidades deste caldo, ao ponto em que, escassamente, pôde obter 30 g de glutamato monossódico (MSG) a partir de 40 kg de algas (Ault, 2004). Finalmente, conseguiu purificar os cristais de MSG e se deu conta de que esse sal tinha um gosto distinto (Kasabian & Kasabian, 2005).

O professor Ikeda decidiu produzir um tempero a partir de seu recém-purificado glutamato. Porém, para poder ser utilizado como condimento, o glutamato teria que ter as mesmas propriedades físicas que, por exemplo, o sal e o açúcar: teria que se dissolver com facilidade em água, porém sem absorver umidade ou solidificar-se. Assim, o professor Ikeda inventou um método para obter cristais de MSG da forma mais pura possível que, além de tudo, se conservava muito bem em longo prazo e possuía um gosto diferencial característico. Devido ao MSG ser inodoro e não apresentar uma textura específica por si só, pode ser usado com facilidade em comidas distintas.

Agora sabemos bem que o gosto umami se deve à presença do glutamato, aminoácido não essencial, e aos 5'-ribonucleotídeos inosina-5'-monofosfato

(IMP), e guanosina-5'-monofosfato (GMP), presentes naturalmente nas carnes, peixes, vegetais e laticínios (Ninomiya & Rozin, 2007). Esse gosto sutil se harmoniza perfeitamente com outros gostos básicos, no sentido de uma sinergia que aumenta, prolonga e complementa o sabor original, contribuindo para a gama de sabores a que nos referimos anteriormente.

Ainda que o homem primitivo não tivesse noção desses conceitos científicos, ele obedecia a seu paladar e instinto e, através do tempo, sua evolução e seu desenvolvimento cultural o foram integrando em seus costumes alimentares, subsistindo e mantendo-se insubstituível até os dias de hoje.

3. DESDE O SAL, O AÇÚCAR E CONDIMENTOS ATÉ O UMAMI

O sal, composto químico formado por cloro e sódio, tem sido desde sempre essencial para a sobrevivência dos seres vivos. Entre suas funções está a de evitar a desidratação, mantendo o equilíbrio dos líquidos corpóreos. Assim, seu uso tem sido valorizado desde o início dos tempos: contos e lendas apontam para o sal como um aditivo insubstituível para a saúde e o sabor dos alimentos (ou dos diferentes pratos). Não é difícil, então, lhe dar conotação econômica, por exemplo, quando soldados romanos recebiam parte de seu salário com sal; religiosa, pelo vínculo de amizade dos homens com Deus através dele; fisiológica, pela necessidade para retenção de fluidos; e alimentar, tanto para o sabor quanto para conservar as carnes por sua facilidade para a desidratação (Trager, 1997).

A contrapartida do sal tem sido, desde sempre, o doce. Os antigos o obtiveram através do néctar das flores, do mel que as abelhas preparavam e, posteriormente, graças às técnicas dos chineses cantoneses, a partir do açúcar do caldo de cana. O livro de Su-Kung, autor do século VII, *História Natural*, menciona que: *O imperador Ti Hun enviou trabalhadores para aprender a arte de fazer açúcar em Lyu (Índia) e mais precisamente em Mo-Ki-To (Bengala)*. O que é certo é que o *Saccharum officinarum*, ou cana-de-açúcar, originária de Ganges, proporcionou ao mundo um gosto agradável e substituível somente pela abundância de frutas. Estas últimas, com suas cores atraentes, fragrância e doçura, aumentada muitas vezes quando desidratadas e consumidas como frutas secas (Tannahill, 1988).

Aos alimentos básicos iam sendo adicionados temperos com algumas ervas e especiarias, que já desde o Neolítico acompanhavam os primeiros preparados, potencializando o aroma, sabor, textura e, inclusive, aparência. As primeiras, mais acessíveis por sua abundância, foram as sementes, cascas, gemas, frutas,

raízes e até secreções, especiarias que deram novos sabores à comida. Quando tudo isso não foi suficiente, foram adicionados os condimentos que, embora possam ser fortes, salgados ou picantes, melhoram e tornam o sabor de uma refeição inigualável. Além disso, como sinal de diferença social, surgem os condimentos dos pobres, comuns e de fácil acesso, e os dos nobres, caros, difíceis de preparar, raros de obter e onerosos para o uso diário, como é o caso da pimenta, a canela e a cássia (Fernández-Armesto, 2004).

Assim, surgem novos condimentos, entre os quais se destacam o *silfium*, a *asafoetida* e o *garum*. Este último produto se fez indispensável na cozinha romana. Seu nome surge do *garo* ou cavala, peixe temperado com sal (incluindo as vísceras que liberavam as enzimas digestivas), que era colocado ao sol e sofria fermentação. Na época, o líquido emanado, chamado também *liquamen*, era filtrado, obtendo-se uma substância rica em sabor. O sólido ou resíduo constituía o *hallec*, conservado para ocasiões especiais, como condimento. Essa preparação parece ter uma origem oriental e foi objeto de uma grande indústria nas costas africana e europeia do Mar Mediterrâneo, onde foi preparada com atum. Embora o sabor dependesse do peixe com o qual era feito, seu uso não era somente para abrir o apetite e facilitar a digestão, mas também para substituir o sal na alta cozinha, como geralmente hoje se faz domesticamente, para realçar o sabor com glutamato monossódico (MSG). Costumava-se também misturá-lo com vinho, convertendo-o em *oenogarum*, com água em *hydrogarum*, com azeite em *oleogarum* ou com vinagre em *oxygarum*. Seu uso se estendeu durante nove séculos, também se empregando ânforas especiais para distinguir classes e marcas, com base pontiaguda e etiquetas que realçavam suas características.

Com o tempo, sobretudo pelas condições pouco higiênicas e insalubres nas quais se preparava, foi se esquecendo dessa técnica. Não obstante, algumas cozinhas orientais atualmente usam produtos cuja fabricação é praticamente idêntica ao *garum* romano: Japão e China, que usam o típico molho de soja fermentado, sendo o *ganjang* seu equivalente coreano, bem como as tradições culinárias das Filipinas, Vietnã ou Tailândia, que utilizam o *nouc-man* ou tempero tailandês, com a mesma função saborizante até nossos dias. De forma semelhante, inclusive a moda retrô, que também está ressurgindo na gastronomia, está utilizando restos de bonito desidratado, ou pescado fermentado, para realçar alguns adereços e preparações novas (Apicio, 1995).

Por outro lado, nas novas terras, na América que tinha sido descoberta, o sabor também havia sido indiscutível. Basta salientar a boa nutrição de que

gozaram culturas tão importantes como a Asteca ou a Inca. A cultura Inca gostava, por exemplo, de consumir peixe do mar. As grandes distâncias que separavam as principais cidades da zona costeira e a carência de veículos ou animais de transporte, como o cavalo e o camelo do velho continente, fizeram recorrer-se somente à força humana. Os *Chasquis* eram homens especializados em levar e trazer não somente informações através do império, mas também prover de gostos e caprichos a nobreza, liderada pelo imperador Inca. Uma forma de conservar esses peixes era com sal. Contudo, isso não implicava que o produto sempre chegava na mesma condição. Dependendo da velocidade do indivíduo, do trajeto acidentado dos Andes Sul-Americanos, da temperatura tão variada pelos diferentes níveis de altitude, poderia-se produzir uma fermentação inicial que alterava, melhorando, o sabor dos produtos do mar.

O mesmo aconteceu com as técnicas de conservação de outras carnes, como o *charque*, a *chalonga* ou *cecina*, tipos de carne seca que, até agora, se preparam e dão um sabor simplesmente delicioso aos pratos que os incluem como ingredientes. A batata e o milho também tiveram esse tipo de mudança de sabor. Estas são fontes indiscutíveis de amido, consistindo em carboidratos e excelentes fornecedoras de energia, porém totalmente carentes de sabor. Foram os antigos habitantes peruanos que encontraram uma forma eficaz de dar sabor a esses alimentos através da fermentação: eles os submetem à imersão em água por tempo prolongado e, graças à presença de micro-organismos, ocorre o processo fermentativo com formação de compostos que dão um sabor incomparável às preparações (Honório, 2007).

A bebida por excelência, conhecida como chicha em sua raiz nahual, mas denominada *aqha* ou *azua* no quíchua original, foi o resultado da fermentação do milho de “jora” (milho maltado), ou no caso da yuca (mandioca) da Amazônia, recebendo o nome de *masato*. Nos dois casos, a fermentação aprimora os sabores, não apenas da bebida, mas também das preparações que são feitas com ela. A recente publicação do livro “Perú + Umami” indica a concentração de umami nos insumos tradicionais peruanos, destacando a pimenta panca e mirasol desidratadas, mandioca branca, tomate e sachatomate, macambo e o tocosh (Ajinomoto del Perú, 2018).

Romperam à marcha três substanciosas taças de excelente caldo, devido à dissolução em água quente desses preciosos tabletes Liebig, preparados com as melhores carnes dos ruminantes dos Pampas...

Julio Verne, 1870; Redondezas de Luna.

4. O SABOR NA ERA CONTEMPORÂNEA

Em 1861, um engenheiro alemão residente na América do Sul, George Christian Giebert, propôs a um químico também alemão, Justus von Liebig, conhecido como o pai da Química Orgânica, a fabricação nestas terras do extrato de carne que Liebig havia desenvolvido para colocar no mercado, mas, sobretudo, para alimentar os exércitos com uma fonte proteica econômica, segura e nutritiva.

A iniciativa em tecnologia alimentar causou comoção no mercado, assim que se deu a instalação da *Giebert et Compagnie*, primeira fábrica de extrato de carne instalada na cidade de Fray Bentos, Uruguai, com capital belga. O produto do extrato de carne tornou-se famoso em todo o mundo e imediatamente houve demanda em quantidades que superavam a produção. O *extratum carnis Liebig* era envasado em recipientes cujas etiquetas levavam a própria assinatura do inventor. Dada a comodidade de uso do extrato concentrado, o qual permitia se fazer uma sopa para 130 soldados com somente 4 kg do produto, o *extratum carnis Liebig* tornou-se um alimento amplamente utilizado pelos exércitos das guerras europeias da época, assim como nas grandes expedições características do século XIX. Destaca-se a expedição de Stanley buscando Dr. David Livingstone na África, a expedição de Nansen no polo sul, Sir Edmund Percival Hillary escalando o Himalaya, entre outras (Boretto-Ovalle, 2000). Posteriormente, em 1908, Kikunae Ikeda, professor da Universidade Imperial de Tóquio, Japão, realizou suas pesquisas com o caldo *dashi*, para descobrir a substância que concedia o sabor tão especial ao extrato de carne concentrado.

Esses descobrimentos foram possíveis graças a uma técnica idealizada em 1903 pelo investigador Tswett, criador do cromatógrafo, um equipamento sem o qual a determinação do gosto teria ficado com um aspecto basicamente qualitativo e subjetivo. Tswett realizou suas investigações em vegetais, sob o título “Composição físico-química da partícula de clorofila”, investigação experimental e crítica que constituiu sua dissertação de mestrado, em 1901. Esse trabalho demonstrou que se podia decompor e identificar os compostos de uma substância (Barbas & Rupérez, 2003). O doutor Ikeda utilizou esta técnica a qual o ajudou a demonstrar as distintas percepções de sabor na cultura alimentar dos povos.

Em 1903, Julius Maggi, um fabricante suíço de farinha, descobriu que submetendo grãos de cereais a altas temperaturas se consegue um sabor parecido ao de carne. A carne era escassa e muito cara naquela época, e Julius Maggi inicia a produção de cubinhos para sopas nutritivas, muito populares até nossos dias. O Dr. Maggi aplicou o processo de escurecimento não enzimático ou Reação de

Maillard. Além disso, em muitas gastronomias, inclusive na refinada cozinha europeia, se usa o *caldo bouillon*, uma preparação semelhante ao caldo *dashi* do Japão, cuja função é enaltecer as comidas através do sabor da carne. Essa função também foi encontrada em vegetais maduros e saborosos que têm em comum sabores complexos como os aspargos e tomates, assim como no queijo e na carne.

Todos os alimentos descritos acima têm diferentes concentrações de glutamato, ou determinados nucleotídeos como inosinato e guanilato, que estimulam o gosto umami e despertam novas sensações de explosão de sabor nas comidas, quando todas elas estão contidas em uma porção de alimentos que é tomado de uma só vez, mordendo o que é comido. Este desenvolvimento, como se viu anteriormente, motivou a fundação de empresas de biotecnologia.

O termo “biotecnologia” foi cunhado em Yorkshire, Inglaterra, no início do século XX, e é surpreendente que, aproximadamente nesses mesmos anos, o Dr. Kikunae Ikeda desenvolveu, no Japão, o processo biotecnológico que deu origem à elaboração do glutamato monossódico. De fato, para o Dr. Ikeda eram familiares as palavras “química” e “fermentação”, porém desconhecia a palavra “biotecnologia”, ainda que o processo inventado por ele fosse claramente biotecnológico na mais moderna acepção do termo (Hulse, 2004). Citando o Dr. Hulse:

A história do processamento dos alimentos, em grande parte é a história da bioengenharia; a substituição gradual das mãos humanas e da energia, primeiro por animais, depois por máquinas. Os processos industriais de fracionamento e transformação, utilizados hoje, foram desenvolvidos há centenas de anos. O que começou como um trabalho artesanal, com uso intensivo de energia humana, foi progressivamente mecanizado. Além da produção de uma imensa diversidade de produtos alimentícios, as indústrias de alimentos reduziram progressivamente o esforço e a energia humana utilizados nas próprias fábricas, nos restaurantes e nos lares.

Os processos biotecnológicos antecedem por milênios o conceito moderno de biotecnologia, de tal forma que, por meio do empirismo, se desenvolveram produtos e processos que compartilhavam perfis de sabores e aromas que caracterizaram a preferência pela boa comida e boa alimentação de todas as culturas.

O empirismo abriu espaço ao conhecimento científico-tecnológico a partir da quantificação para o conhecimento dos processos cognitivos estabelecidos pelo físico britânico Lord Kelvin, que propôs a frase que inicia o presente capítulo.

O gosto umami está estreitamente vinculado aos mais importantes molhos e temperos que, enraizados nas entranhas das mais antigas civilizações, navegaram pela cultura alimentar, nutrindo os músculos e o intelecto da humanidade. Os

molhos *worcestershire* e ketchup, a *zuppa de pesce* (sopa de peixe) salpicada com queijo parmesão ou reggina-montano ralado, se vinculam ao bom sabor do *garum*, nome que no Império Romano davam ao perfil de gosto que hoje conhecemos como umami (Riley, 2009).

Um dos processos biotecnológicos mais interessantes se vincula ao molho de ketchup, de origem asiática, particularmente de onde, hoje, encontra-se a Malásia, para logo difundir-se para a China e o resto do Oriente. Logo se incorporou à cozinha ocidental pela colonização que se fez dessas terras pelos exploradores holandeses e ingleses. A “mancha vermelha” do ketchup se esparramou pelo mundo e, hoje, os molhos descendentes daquele original são conhecidos e identificados com a cozinha norte-americana por excelência e, em particular, por algumas empresas de cunho alimentar, como Heinz e McDonalds.

Segundo o dicionário da Real Academia Espanhola, a palavra ketchup provém de *kôechiap*, que significa molho de peixe em escabeche ou salmoura. A teoria mais difundida acerca da origem da palavra ketchup indica que provém de *ke-tsiap*, palavra do dialeto falado na ilha de Amoy, perto da China. Outras teorias coincidem em que, na realidade, a palavra maia *kechap* deu origem à palavra atual ketchup. Mais tarde, no final do século XVII, o nome ketchup, e talvez também algumas amostras do produto, chegou à Inglaterra, onde o termo apareceu publicado pela primeira vez em 1690, como *catchup*. Depois, em 1711, começou-se a utilizar ketchup. Ambos os nomes foram aplicados anos depois a distintos condimentos ingleses.

O tomate, hoje característico do molho de ketchup, não esteve na formulação e processo original, e não esteve por milênios. Desde o ponto de vista histórico e geográfico, é impensável que originalmente o molho o tivesse. O molho de peixe fermentado *ke-tsiap* se originou nas costas asiáticas dos mares que rodeavam as ilhas e populações do Pacífico, enquanto que o tomate teve sua origem na América e de lá se espalhou principalmente pela Europa, depois da conquista, no final do século XV e no começo do século XVI.

Os molhos de ketchup, à base de peixe fermentado e outros ingredientes, evoluíram até que alguém detectou que o princípio ativo, próprio do seu sabor especial, também estava presente no tomate triturado. Atualmente, sabemos que é devido ao alto teor de ácido glutâmico livre que esta fruta possui. Isso promoveu uma mudança radical nos processos de fabricação e na disponibilidade da “essência de sabor” para a elaboração do molho em questão. O oportunismo industrial e empresarial de Henry Heinz tirou vantagem de tal fato no final do século XIX e começo do século XX, quando o Dr. Ikeda ainda estava realizando

seus estudos na Universidade Imperial de Tóquio, Japão. Mais uma vez, a aplicação industrial precedeu a compreensão do fato científico.

Quem se interessa pela cultura alimentar, pelo comer bem e, sobretudo, pela boa alimentação, não pode deixar de se perguntar: qual é o fio condutor que vincula, passo a passo, a transformação de um molho de peixe fermentado em um molho basicamente de tomates, sem que praticamente mude de nome através da história, das migrações populacionais, sobrevivendo ainda ao auge e decadência de impérios e civilizações? A resposta é o gosto umami.

O fio condutor do gosto agradável está vinculado aos ingredientes do molho original, suas modificações intermediárias e o produto final que hoje conhecemos. Graças aos trabalhos do Dr. Kikunae Ikeda, podemos identificar esse fio condutor como sendo o ácido glutâmico livre e seus sais, assim como os 5'-ribonucleotídeos, também participantes tanto das propriedades de sinergismo de gosto como do gosto umami característico. Os 5'-ribonucleotídeos com maior impacto de sabor para os seres humanos são principalmente o guanosina-5'-monofosfato (GMP) e o inosina-5'-monofosfato (IMP) (Kuninaka *et al.*, 1964, Cagan, 1987).

O ketchup original não tinha outros ingredientes além de peixe fermentado para gerar ácido glutâmico livre e especiarias. O então molho condimentado, conhecido como “molho das Índias Orientais” pelos exploradores ingleses e holandeses, foi levado para a Europa e, logicamente, adaptado ao longo do tempo às matérias-primas, costumes alimentares e métodos de processamento que foram definitivamente arrasadores com o advento da Revolução Industrial do século XIX. Ingredientes e processos foram inovados com a adição de anchovas salgadas, melão de cana-de-açúcar, cogumelos e hortaliças secas, porém a “essência do sabor” radicada no umami continuou intacta, devido, principalmente, a de que todos os novos ingredientes mencionados são ricos em ácido glutâmico livre e 5'-ribonucleotídeos. Uma vez mais, umami sobreviveu às migrações, auges e quedas das civilizações.

Seguindo a linha histórica da cultura alimentar das diferentes civilizações, nas civilizações pré-românicas de origem árabe, que predominavam no mar Mediterrâneo e no Oceano Atlântico próximo, se desenvolveram técnicas especiais de artes pesqueiras, entre elas a *algarraba*, procedimento de captura do atum que logo era consumido tanto por sua carne como pela *mojama*, palavra derivada do árabe *musama* (seco). Tratava-se de capturar grandes atuns, de até 200 kg, para fatiar seus filés e secá-los em um processo de salga e arejamento. O produto, rico em ácido glutâmico livre, foi a essência e o sabor da cozinha mediterrânea nas

regiões que, hoje, na Espanha, são as comunidades de Murcia e Valência, assim como na costa atlântica Andaluz, as províncias de Cádiz e Huelva. *Mojama*, apresentado em fatias de lombo de atum seco, temperado a gosto e regado delicadamente com azeite de oliva, é um delicado prato que alegra os paladares e o coração da quente região onde os mouros e os cristãos fizeram um amálgama cultural por cima das diferenças raciais e religiosas.

As técnicas de captura de atum, de origem árabe pré-românica, se difundiram na cultura alimentar grega com o nome do peixe *garon*. Desse pescado, se usavam as partes menos nobres para obter um molho fermentado, e culminou já em pleno Império Romano com a já mencionada criação gastronômica denominada *garum*. *Garum* era um molho de peixe produzido por fermentação, ao qual se atribuíam propriedades afrodisíacas. Essas propriedades eram fundadas, provavelmente, em seu uso para temperar e condimentar os alimentos das grandes ocasiões festivas e em sua composição à base de vinho, vinagre, pimenta e azeite de oliva, além do ingrediente fermentado, todos eles ingredientes básicos da gastronomia mediterrânea da península itálica.

Tais princípios básicos de elaboração de molho foram utilizados em produtos que logo se fizeram famosos, tanto nas comidas regionais quanto nas internacionais. É o caso do molho *worcestershire*, que se utiliza como tempero saborizante e é feito com vinagre, melaço, xarope de milho, pimenta ou chili, páprica, tamarindo, anchovas, cebolas, cravo da Índia, alho e, eventualmente, outros condimentos. O uso mais frequente é para temperar carnes, para marinar carne suína, estando incluso no molho da *Cesar Salad*, tão popular nos dias de hoje. Em um contexto histórico, o molho *worcestershire* vem do amálgama da cultura culinária hindu com a dos conquistadores ingleses. Novamente, o quinto gosto umami tomou o melhor dos alimentos e os transportou com vantagem ao complexo sistema do sabor e aroma, que acompanha o simples ato de se alimentar.

O Dr. Gordon G. Birch, em seu trabalho *Structure, chirality, and solution properties of glutamates in relation to taste*, afirma que a origem do gosto umami e do glutamato monossódico poderia ser atribuída ao pai da química orgânica e alimentar, Justus Von Liebig, quem se deu conta de que as proteínas hidrolisadas tinham aroma de carne (Birch, 1987). Como afirma o Dr. Birch, o gosto umami e o glutamato monossódico, ainda não identificados como tais, estavam presentes nos trabalhos do químico alemão e seu impulso industrial deu lugar a uma próspera indústria que lançou as bases econômicas dos países da bacia do Rio da Prata.

Em 1865, foi fundada a *Liebig's Extract of Meat Company Ltd.* que com grande êxito comercializa o extrato de carne e amplia suas instalações com fábricas na Argentina, Uruguai e Paraguai. Cresce como uma grande multinacional da carne, sobretudo no primeiro desses países.

Em 1870, o extrato era conhecido em toda Europa. Em 1889, iniciou-se a fabricação de um produto que encontrou uma difusão ainda maior que o extrato: o *Corned Beef* (carne enlatada). Esta, era comercializada em embalagens de folha de flandres em forma tronco-piramidal, muito apropriadas para armazenamento, abertura rápida e acesso cômodo ao conteúdo. Assim, em 1903 a companhia adquire uma salgadeira para produzir carne seca na província de Entre Ríos, sobre a costa do rio Uruguai, entre as cidades de Colón e São José. Ali se instala a “Fábrica Colón”. Desde esse ano, a Liebig exporta variados produtos elaborados com carne argentina para todo o mundo. Para isso, então, já estavam postas em prática as soluções do francês Charles Tellier, autor de *La conservation de la viande par le froid* (A conservação da carne pelo frio), para a geração de frio mecânico em barcos mercantes, e se havia começado a exportar carne crua refrigerada e congelada, o que provocou uma reviravolta fundamental na incorporação de tecnologia para possibilitar a comercialização de carne, anteriormente só possível pelos métodos de salga ou embalados. O primeiro navio que transportou carne refrigerada à Europa saiu do Rio da Prata, dos portos de Montevideu e Buenos Aires, e demorou 105 dias para chegar ao destino. Na mesma época, Gustave Swift impôs o uso de vagões refrigerados para o transporte de carne por terra.

Durante a segunda década do século XX, a empresa Armour de Chicago se instala nas proximidades do Frigorífico Liebig's e, poucos anos mais tarde, este se transforma no Frigorífico Anglo, fechando um ciclo de grande conteúdo irônico, pois as tecnologias desenvolvidas na América do Sul por cientistas alemães foram o suporte fundamental para alimentar as tropas aliadas que combateram e venceram o III Reich.

Os campos de golf construídos pelos britânicos nos prédios próximos aos complexos industriais de transformação e conservação de carne ficam como testemunhas mudas daquelas tecnologias que alimentaram as tropas que respaldaram as políticas de reordenamento econômico, energético e territorial do século XX, nas guerras que redistribuíram o petróleo, o gás, as matérias-primas agropecuárias e as riquezas minerais (Silvera & Von Liebig, 2008).

A mencionada redistribuição de riqueza financiou o desenvolvimento da ciência básica e da tecnologia, desde o conhecimento gerado a partir da teoria

atômica e mecânica quântica na primeira metade do século XX e da biotecnologia, à genética e às comunicações na segunda metade. De forma similar, as riquezas da Ásia e, principalmente, Índia, África, assim como os metais preciosos da América financiaram a Revolução Industrial através do sistema bancário holandês dos séculos XIV e XVII, eclodindo no século XVIII.

Inicialmente, a campanha de Napoleão na Rússia inspirou Nicholas Appert, em 1810, à sua brilhante intuição de capturar os nutrientes em um recipiente de longa duração. Quarenta anos mais tarde, Louis Pasteur cimentou os princípios básicos da microbiologia mediante o processo de pasteurização. Posteriormente, foram realizados os trabalhos de Justus von Liebig em extrato de carne e os de Charles Tellier em refrigeração mecânica. Todos esses eventos deram as bases científicas e tecnológicas para que a carne, fonte de energia e proteína de alta qualidade, tivesse acesso aos mercados consumidores de todo o mundo.

As voltas da roda da história dos alimentos têm muitos raios de sustentação: a conservação de grãos em ânforas hermeticamente fechadas precursoras de nossos atuais silos; à descrição de Sêneca da conservação dos camarões pelo gelo que antecede a muitas de nossas tecnologias de conservação por baixas temperaturas; e a desidratação da batata pelos habitantes das terras altas andinas foram antecessoras dos que depois reinventaram a liofilização (*Freeze Drying*). A preservação pela salga, condimentação e calor, de carne picada, foram avanços da conservação em latas, garrafas e sacos, e a fermentação láctica praticada pelos babilônicos foi precursora de nossos atuais queijos e iogurtes.

5. UMAMI: ASSUMINDO A CATEGORIA DE GOSTO BÁSICO

No ano 2000, a revista *Nature Neuroscience* publicou um artigo do Dr. Charles Zuker, da Universidade da Califórnia em São Diego, membro do Instituto Médico Howard Hughes. O artigo relata o papel dos aminoácidos na dieta e demonstrou que o homem, tendo mais de dez mil papilas gustativas na língua, palato, e faringe e innervado pelos pares craniais VII, IX e X, possui um receptor gustativo específico para o glutamato monossódico e outros similares (Nelson *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2003). Este descobrimento é prova definitiva do que propunha o Dr. Ikeda: que o gosto umami era um quinto gosto básico, não resultante da combinação dos outros gostos conhecidos, mas independente e único. Assim, cada povo tem sabores típicos, sendo que o aroma, o gosto e a apresentação de um prato (o qual se deve à harmonia dos ingredientes), constituem-se na cultura culinária do seu país. Os membros de uma comunidade reconhecem e identificam seus aromas e sabores, e membros de outras culturas podem reproduzir os

sabores com esses insumos, ingredientes indispensáveis em comidas populares de todo o mundo.

Somente algumas poucas moléculas de importância biológica parecem ter tantos papéis na função do corpo como o ácido glutâmico. Nós, seres humanos, sabemos que o sabor é mais do que detectar os componentes químicos em uma comida ou bebida. Aroma, textura e sabor, unidos à temperatura, proporcionam uma sensação inigualável e inesquecível.

Já a cada vez melhor posicionada cozinha peruana, possui na região sul do país o famoso *mocontullo* ou osso do joelho, feito com o osso da “maçã” ou cabeça do fêmur da perna da vaca, que por tradição é usada para dar sabor às sopas tradicionais de Arequipa e são conservadas por longos períodos perto do fogão da casa.

Adicionar cereais, grãos andinos, legumes, carnes, peixes, mariscos, frangos, verduras ou legumes frescos a sopas, caldos ou guisados, identificam a cozinha típica de cada região. Porém, todos cumprem a mesma função: realçar e harmonizar os sabores das comidas e agradar o paladar de quem o consome (Maldonado, 2016).

Há, então, um segmento alimentar que cruza horizontalmente a todas as inovações precedentes, e evidencia um marco histórico na cultura alimentar de todas as culturas. Um ingrediente que faz com que um alimento seja simultaneamente saudável, saboroso e apropriado à logística de distribuição em todo o planeta: umami, o quinto gosto básico.

Este relato da cultura alimentar é finalizado com um argumento básico: é bem sabido que, nas viagens de Marco Polo se introduziram os “bem italianos espaguete” da remota China à Itália, pelo porto de Veneza. Alimento saboroso, saudável e nutritivo, fundamenta sua aceitação pela contribuição palatável do ácido glutâmico livre, proveniente do tomate de origem americana e do queijo parmesão... claro, com um toque de azeite de oliva e uma taça, à temperatura adequada, de vinho tinto proveniente das vinhas do interior da Itália.

Os feitos históricos, as verificações científicas, as medições biológicas, os trabalhos toxicológicos, a incorporação de tecnologia de ponta por parte das empresas líderes do setor vinculado à produção de alimentos, todos medidos com precisão no suceder das civilizações que construíram a cultura alimentar da humanidade, em total acordo com as palavras iniciais de Lord Kelvin, citadas no início deste capítulo, indicam, sem dúvida, que as propriedades sensoriais e nutricionais benéficas concedidas ao glutamato monossódico, devem ser consideradas válidas... e o são.

O Dr. Kikune Ikeda, gênio e figura da investigação aplicada na ciência dos alimentos, há 100 anos categorizou e sintetizou a história do empirismo alimentar e o transformou em conhecimento científico. Como pai reconhecido de tal conhecimento, teve o privilégio de batizar o gosto umami e o chamou de “essência do sabor”. Fio condutor da alimentação através de, pelo menos, seis mil anos da história gastronômica e nutricional da humanidade, pode-se aplicar estas palavras escritas no século III a.C. por Epicuro, filósofo hedônico:

*Sem dúvida, o todo sempre foi tal como é agora,
e sempre será igual.*

Epicuro, Carta a Heródoto

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJINOMOTO DEL PERÚ. *Perú + Umami*. Lima, Hirka S.A.C., 2018. Disponível em <https://www.behance.net/gallery/68146351/Peru-Umami>. Acesso em 8/12/2020.

APICIO, M. G. *Gastronomía en la antigua Roma imperial*. San Sebastian, R&B Ediciones, 1995. Disponível em <https://www.casadellibro.com/libro-gastronomia-en-la-antigua-roma-imperial/9788488947277/496927>. Acesso em 9/5/2020.

AULT, A. “The monosodium glutamate story: the commercial production of MSG and other amino acids”. *Journal of Chemical Education*, 81: 347-355, 2004.

BARBAS, C. & RUPÉREZ, F. J. “En memoria de Tswett. 100 años de cromatografía”. *Cromatografía y técnicas afines*. 24(1), 2003. Disponível em https://repositorioinstitucional.ceu.es/bitstream/10637/1051/1/p%2014_19.pdf. Acesso em 1/3/2020.

BIRCH, G. G. “Structure, chirality, and solution properties of glutamates in relation to taste”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: a basic taste. Physiology, biochemistry, nutrition, food science*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 173-184.

BORETTO-OVALLE, R. *Historiografía de la Ciudad de Fray Bentos Período 1857-1890*. CD del patrimonio de la ciudad de Fray Bentos, Uruguay, 2000.

CAGAN, R. H. “Allosteric regulation of glutamate taste receptor function”. In: KAWAMURA Y. & KARE M. R. (ed.). *Umami: a basic taste. Physiology, biochemistry, nutrition, food science*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp.155-172.

CUBA DEBATE. *La longevidad y su comportamiento histórico*. Disponível em <http://www.cubadebate.cu/noticias/2013/03/31/la-longevidad-y-su-comportamiento-historico/#.XI5GP6hKgdU>. Acesso em 3/3/2020.

FERNÁNDEZ-ARMESTO F. *Historia de la comida: alimentos, cocina y civilización*. Barcelona, Tusquets Editores S.A., 2004, pp. 234-235.

HONÓRIO, D. Z. *Conferencia: Sensaciones y flavor en tocosh de maíz y papa*. II SLANUT, Universidad de Ciencias Aplicadas; Lima, 2007.

HULSE, J. H. “Biotechnologies: past history, present state and future prospects”. *Trends Food Sci Technol*, 15(1): 3-18, 2004.

KASABIAN, D. & KASABIAN, A. *The fifth taste, cooking with umami*. New York, Universe Publishing, 2005.

KUNINAKA, A.; KIBI, M. & SAKAGUCHI, K. “History and development of flavor nucleotides”. *Food Technol*. 18: 287-93, 1964.

LÉVI-STRAUSS, C. *Mitológicas I: lo crudo y lo cocido*. México, Fondo de Cultura Económica de México, 1968.

MALDONADO, S. “Arequipeñismos y localismos em las tradiciones de Ricardo Palma”. *Aula Palma*. (13): 293-302, 2016.

MONTANER, J. “Los secretos del umami. Investigaciones recientes desvelan nuevas conexiones entre el glutamato monosódico y el umami, el llamado quinto gusto”. *Eroski Consumer*. 2/9/2003. Disponível em <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/los-secretos-del-umami.html>. Acesso em 28/2/2020.

MORIN, E. *Los siete saberes necesarios para la educación del futuro*. Bogotá, Cooperativa Editorial Magisterio, 1999. Disponível em https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000117740_spa. Acesso em 28/2/2020.

NELSON, G. *et al.* “An amino-acid taste receptor”. *Nature*. 416: 199-202, 2002.

NINOMIYA, K. & ROZIN, E. *The world Umami: the fifth taste of human being*. *Umami Books*. Londres, Cross Media Limited, 2007, p. 6.

RILEY, G. *The Oxford Companion to Italian Food*. Oxford, Oxford University Press, 2009.

SALAZAR-GARCÍA, D. “Repasao a la evidencia isotópica sobre alimentación en la prehistoria valenciana durante el Mesolítico y el Neolítico”. *Bilyana*. 2016, pp. 31-46. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/311102897_Repaso_a_la_evidencia_isotopica_sobre_alimentacion_en_la_prehistoria_valenciana_durante_el_Mesolitico_y_el_Neolitico. Acesso em 3/3/2020.

SERRANO, E. *Introducción a la antropología*. Museo Nacional de Antropología. Cédulas de Sala. Departamento de Promoción Cultural. Mexico, Conaculta Inah, 2016.

SILVERA, C. & VON LIEBIG, J. “El químico que innovó en la industria de la carne, la nutrición y la política de los siglos XIX y XX”. In: BLANCO, T. & ALVARADO-ORTIZ, C. *Alimentos – Bromatología*. 2. ed. Lima, Ajinomoto Foundation and the University of Applied Sciences (UPC), 2008.

TANNAHILL, R. *Food in History*. New York, Three Rivers Press, 1988, pp. 13-144.

TRAGER, J. *The food chronology: a food lover's compendium of events and anecdotes from prehistory to the present*. New York, Henry Holt and Company, 1997, p. 30.

WHITE, E. & BROWNS, D. *El primer hombre*. Barcelona, Ediciones Folio S.A., 1994.

ZHAO, G. Q. *et al.* “The receptors for mammalian sweet and umami taste”. *Cell*. 115(3): 255-266, 2003.

PARTE II
ASPECTOS QUÍMICOS E OCORRÊNCIAS
EM ALIMENTOS

ASPECTOS ANALÍTICOS DO GLUTAMATO

*Susanne Rath
Flavia Pereira da Silva Airoidi*

O glutamato monossódico é o sal de sódio do ácido glutâmico, aminoácido não essencial. O glutamato pode existir na forma ligada como parte da proteína, em conjunto a outros aminoácidos, ou ser encontrado na forma livre em tecidos de plantas e animais. No entanto, é o glutamato livre que desempenha papel importante no sabor e na palatabilidade dos alimentos.

O primeiro relato da obtenção do ácido glutâmico data de 1866, quando o químico alemão Ritthausen descreveu a obtenção desse composto puro a partir da hidrólise ácida da gliadina, um componente do glúten. No entanto, suas propriedades de realçar o sabor permaneceram desconhecidas até a primeira década do século XX, quando, em 1908, o Professor Kikunae Ikeda da Universidade Imperial de Tóquio descobriu que o ácido glutâmico é responsável pelo sabor distinto presente no caldo feito a partir de *kombu* (*Laminaria Japonica*), um tipo de alga usado através de séculos na culinária tradicional japonesa. Mediante um processo simples de extração com água quente, foi possível ao Professor Ikeda isolar 30 g de ácido L-glutâmico a partir de 40 kg de algas (Ault, 2004).

O processo de obtenção de glutamato monossódico (MSG) a partir de farinha de trigo foi patenteado em 1909 e o composto foi comercializado sob o nome comercial de Ajinomoto.

Em função de suas características de realçador de sabor, o MSG tem sido largamente empregado no mundo todo, sendo atribuído a ele o gosto umami, que é considerado o quinto gosto básico, distinto dos outros quatro gostos: doce, amargo, azedo e salgado. O MSG tem sido adicionado a alimentos preparados e processados, como alimentos congelados, mistura de temperos, sopas enlatadas e desidratadas, molhos, molhos para salada e produtos cárneos, como salsichas e presuntos. Naturalmente, ele está presente em alimentos proteicos como carnes, vegetais e leite.

O organismo humano também produz glutamato em larga escala. Músculos, cérebro e outros órgãos contêm glutamato na forma livre ou ligada a proteínas. Todavia, o L-glutamato livre é o aminoácido mais abundante no cérebro e um dos mais importantes neurotransmissores excitatórios no sistema nervoso central dos mamíferos. Quando a concentração de glutamato no cérebro é excessiva, este se torna tóxico aos neurônios que contêm receptores para glutamato (Blandini & Greenamyre, 1998).

Devido à importância do glutamato monossódico em nível biológico, assim como seu uso como ingrediente alimentar, muitas pesquisas têm sido realizadas sobre sua inocuidade e eficácia. Inúmeros estudos científicos continuam sendo realizados, focando, principalmente, sua utilidade na alimentação. Para tanto, é necessário que se tenha disponibilidade de métodos analíticos confiáveis, capazes de determinar o glutamato e ácido L-glutâmico em matrizes complexas, como alimentos e material biológico.

O presente capítulo tem como objetivo descrever as propriedades físico-químicas do glutamato e discorrer sobre os métodos analíticos desenvolvidos ao longo do tempo.

1. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO

O composto 2-amino-5-hidroxi-5-oxo-pentanoato de sódio, conhecido comumente como glutamato monossódico, ou MSG, existe em duas formas enantioméricas. Enquanto o isômero levógiro (L) é responsável pelo gosto umami, o isômero dextrógiro (D) não apresenta características organolépticas.

A estrutura química do MSG está apresentada na Figura 2.1.

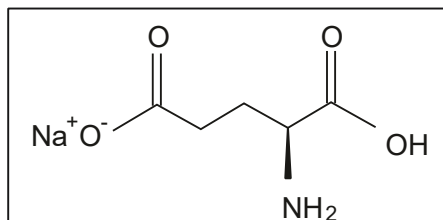


Figura 2.1 – Estrutura química do glutamato monossódico.

Fonte: figura preparada pelos autores.

O MSG está registrado no *Chemical Abstract Service* sob a identificação CAS 142-47-2. As propriedades físico-químicas estão sumarizadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Propriedades físico-químicas do glutamato monossódico.

Fórmula molecular	Massa molar	Aparência	Ponto de fusão	Solubilidade
$C_5H_8NO_4Na$	169,11	Pó cristalino branco	225 °C	Muito solúvel em água e pouco solúvel em etanol

O MSG não é higroscópico e é estável quando estocado à temperatura ambiente durante períodos prolongados. O pH de uma solução aquosa 1:20 (m/v) se situa entre 6,7 a 7,2 (CFCC, 2004).

Ainda, o MSG não sofre decomposição durante o processamento, ou seja, cozimento normal dos alimentos, mas em condições ácidas (pH 2,2 a 2,4) e altas temperaturas sofre conversão para 5-pirrolidona-2-carboxilato (Yamaguchi & Ninomiya, 1998).

De modo geral, o MSG é comercializado na sua forma hidratada (massa molar 187,13) e CAS 6106-04-3 (CFCC, 2004).

1.1. Produção

A produção industrial de MSG é realizada a partir do hidrocloreto do ácido L-glutâmico ou simplesmente do ácido L-glutâmico, o qual é dissolvido em água, neutralizado e convertido para o sal monossódico pela adição de hidróxido de sódio. Os cristais do MSG são obtidos após concentração da solução contendo MSG sob vácuo a 60 °C e centrifugação da mesma (Ault, 2004).

Por sua vez, o ácido glutâmico pode ser obtido a partir da sua extração de fontes naturais, síntese química, fermentação ou catálise enzimática. A obtenção

do ácido L-glutâmico por fermentação é atualmente o processo mais importante a ser considerado na produção do MSG. Esse processo foi estabelecido há mais de meio século, quando foi verificado que a *E. coli* é capaz de excretar aminoácidos e que o rendimento da reação é aumentado pela presença de sais de amônia no meio de cultura. As matérias-primas mais importantes para esse processo têm sido a cana-de-açúcar, o milho e a mandioca. Mais tarde, foi descoberta outra bactéria, a *Cornybacterium glutamicum*, que produz o ácido L-glutâmico (C₅H₉O₄N) a partir de carboidratos, oxigênio e amônia (Reação 1).



A vantagem da fermentação é a produção do isômero levógiro do ácido glutâmico, o qual na forma de sal de sódio apresenta as propriedades organolépticas desejadas de realçador de sabor. No processo de síntese se obtém uma mistura racêmica e a separação entantiomérica necessita ser realizada em uma etapa adicional.

2. MÉTODOS ANALÍTICOS

Um dos primeiros métodos descritos na literatura para determinação de glutamato foi proposto por Fernandez-Flores *et al.* (1969). O método se baseia na titulação do ácido glutâmico com hidróxido de sódio na presença de formaldeído, após separação prévia deste de uma matriz aquosa em uma coluna de troca iônica. Entretanto, esse método titrimétrico não apresenta detectabilidade e seletividade suficientes para quantificar o glutamato em alimentos na presença de outros aminoácidos. Para contornar essas limitações, modificações no método foram posteriormente propostas, tanto no preparo de amostras (separação e purificação), quanto artifícios para aumentar a detectabilidade do mesmo (Sporns, 1982).

Desde então, uma grande variedade de métodos tem sido descrita na literatura para a determinação de glutamato em matrizes diversas como alimentos e material biológico. Entre essas, titulações potenciométricas, métodos fluorimétricos, cromatografia em papel, cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência, eletroforese capilar e determinação por meio de analisadores de aminoácidos. Atualmente, a maioria dos métodos que visam à determinação de L-glutamato em matrizes biológicas, incluindo alimentos, envolve o emprego da

cromatografia líquida de alta eficiência, eletroforese capilar ou medidas amperométricas com uso de biossensores.

Embora a cromatografia em papel e a cromatografia a gás tenham sido empregadas na determinação de glutamato, a primeira carece de precisão e a segunda requer uma etapa prévia de derivatização. Os métodos que empregam a cromatografia líquida de alta eficiência ou analisador de aminoácidos associados a detectores UV ou fluorescência também demandam derivatização pós ou pré-coluna do ácido glutâmico. De modo geral, as técnicas cromatográficas requerem um preparo de amostra elaborado anterior à quantificação, visando à extração do analito da matriz, remoção de interferentes e concentração, o que demanda tempo e consumo de reagentes.

Nesse sentido, os métodos enzimáticos, utilizando biossensores, são uma alternativa interessante para os métodos cromatográficos, porque têm como característica seletividade e rapidez da resposta.

O método oficial proposto pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) baseia-se na quantificação do ácido glutâmico mediante titulação com hidróxido de sódio na presença de formaldeído, após extração e limpeza em coluna de troca iônica (AOAC, 2005). No entanto, esse método não é adequado para quantificar glutamato em alimentos e material biológico e não indica contaminação cruzada por outros aminoácidos (Lau & Mok, 1995).

A seguir, são apresentados e discutidos os principais métodos analíticos empregados para a determinação de glutamato em alimentos e matrizes biológicas.

2.1. Cromatografia líquida de alta eficiência

Os métodos cromatográficos têm sido largamente empregados nas mais diversas áreas, por suas inúmeras vantagens frente a outros métodos, principalmente no que concerne à separação, identificação e quantificação de compostos em matrizes complexas em uma única análise. A sensibilidade da técnica depende do sistema de detecção associado ao sistema cromatográfico. Devido ao glutamato não apresentar um cromóforo que resulte em uma absorção significativa de energia na região do ultravioleta ou visível do espectro eletromagnético, ou mesmo presente um grupo funcional com propriedades fluorescentes, reações de derivatização pré ou pós-coluna se fazem necessárias para permitir a quantificação do mesmo em matrizes biológicas. Como reagentes de derivatização, têm sido usados fenilisotiocianato (PITC), cloreto de dansila (DNS-Cl), o-ftaldialdeído (OPA), 9-fluorenilmetil cloroformato (FMOC), entre outros. No entanto, de

modo geral, as reações de derivatização são demoradas, os derivados formados carecem, muitas vezes, de estabilidade e os interferentes de matrizes biológicas não são totalmente eliminados, podendo afetar a seletividade do método (Zhang *et al.*, 2006).

O método mais conhecido para a determinação de aminoácidos por HPLC envolve a reação do analito com o *o*-ftaldialdeído (OPA) e 2-mercaptoetanol (2-ME) para produzir derivados isoindóis fluorescentes, que são separados na coluna cromatográfica e quantificados por intermédio de um detetor de fluorescência. No entanto, o método não permite a diferenciação dos entantiômeros. Para a análise enantioseletiva, o 2-ME necessita ser substituído por tióis quirais, como *N*-acetilcisteína, *N*-isobutil-L-cisteína (IBC) e outros (Grant *et al.*, 2006). A reação de derivatização de um aminoácido com OPA e IBC está representada na Figura 2.2.

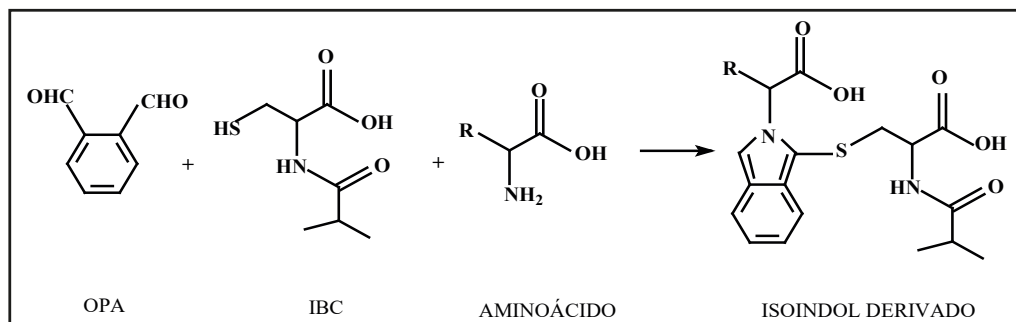


Figura 2.2 – Reação de derivatização de um aminoácido com *o*-ftaldialdeído (OPA) e *N*-isobutil-L-cisteína (IBC).

Fonte: figura preparada pelos autores.

A propriedade do cloreto de dansila em formar derivados fluorescentes com aminas primárias e secundárias também tem sido explorada para a quantificação de glutamato por HPLC. Neste caso, os derivados fluorescentes podem ser separados em uma fase estacionária octadecilsilano, utilizando uma fase móvel composta de metanol:água. Williams & Winfield (1982) empregam esse procedimento para a determinação de glutamato em amostras de sopas. Os comprimentos de onda de excitação e emissão do dispositivo de detecção foram ajustados em 245 nm e 328 nm, respectivamente, e o glutamato foi extraído das amostras com água.

Populin *et al.* (2007) determinaram aminoácidos, entre esses o ácido glutâmico e aminas biogênicas em alimentos (sopas prontas, molhos de saladas,

vegetais, carnes, proteínas vegetais hidrolisadas, entre outros), com e sem a presença de MSG, empregando a cromatografia líquida de alta eficiência associada ao detetor de fluorescência (HPLC-FL). Os aminoácidos foram derivatizados com OPA e a separação foi realizada em coluna octadecilsilano, empregando como fase móvel água:tampão fosfato pH 7,0 (370:90 v/v) + acetonitrila e eluição por gradiente. Para a detecção, foram empregados comprimentos de onda de excitação e emissão de 330 e 440 nm, respectivamente. O preparo de amostras consistiu basicamente na extração dos aminoácidos da matriz com água anterior à derivatização com OPA. As amostras líquidas (prontas para consumo) foram simplesmente diluídas com água antes da reação de derivatização e quantificação por HPLC. As amostras do tipo pós, granulados e pastas foram dissolvidas em água fervente e tratadas como amostras líquidas. No caso de amostras mais complexas, como sopas com pedaços de vegetais, molhos de saladas e temperos, uma quantidade representativa da amostra foi homogeneizada e adicionada de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹. A solução foi centrifugada e o sobrenadante filtrado anteriormente à etapa de derivatização. O maior teor de glutamato em alimentos que não foram adicionados de MSG foi verificado nos produtos contendo hidrolisados de proteínas (> 129 mg/100 g) e a maior porcentagem de alimentos que apresentaram MSG na sua composição foram as sopas e molhos para salada (76,8%-92,5%).

Harada *et al.* (2004) estudaram o efeito da linhagem e o meio de cultivo sobre a composição química de componentes responsáveis pelo sabor (açúcares solúveis e aminoácidos livres) em cogumelos *Hypsizygos marmoreus*. O preparo das amostras consistiu na extração dos analitos da amostra previamente liofilizada com uma solução água:etanol (20:80 v/v). A quantificação dos aminoácidos foi realizada por HPLC-FL.

Rotzoll *et al.* (2006) realizaram estudo para identificar compostos com propriedades organolépticas em cogumelos *Morchella deliciosa Fr*, entre esses o ácido L-glutâmico. Os cogumelos foram triturados, e os aminoácidos extraídos com água. O extrato foi filtrado e fracionado em ultracentrífuga. A fração de baixa massa molar (<1 kDa) foi liofilizada e, posteriormente, dissolvida em uma solução tampão 0,1 mol L⁻¹ contendo acetato de sódio, metanol, ácido fórmico, ácido acético e ácido octanóico anterior à quantificação, utilizando-se, para tanto, um analisador de aminoácidos.

Em substituição ao detetor de fluorescência, Lau & Mok (1995) desenvolveram um método para a determinação de glutamato em alimentos (sopas, molhos e alimentos infantis), empregando HPLC associada a um detetor de

condutividade. Como coluna analítica foi empregada uma coluna Econosil CN e como fase móvel água:acetonitrila:tetraidrofurano (77:22:3 v/v/v) adicionada de 1 mmol L⁻¹ de ácido perclórico. As amostras que não continham amido na sua composição foram previamente homogeneizadas e adicionadas de água e carvão ativo. Após filtração, o extrato foi limpo por intermédio de uma coluna de troca iônica (Dowex 50WX8 (H⁺), 100-200 mesh). Anteriormente à análise cromatográfica, os eluatos foram liofilizados para remoção do ácido clorídrico.

Um método simples e versátil, usando HPLC-FL, foi descrito por Grant *et al.* (2006) para a determinação de aminoácidos neuroativos no sistema glutamatérgico, entre esses, L-serina, L-glutamato, L-glutamina e glicina. Anteriormente à análise, os aminoácidos foram derivatizados com OPA e N-isobutil L-cisteína (IBC) em uma solução de metanol e tampão borato pH 10. O método foi aplicado na análise de plasma. Para tanto, as amostras foram previamente desproteinizadas, usando metanol e centrifugação. A separação cromatográfica foi realizada em coluna octadecilsilano e fase móvel composta de dois solventes: fosfato de sódio 0,04 mol L⁻¹:metanol (85:15 v/v) e fosfato de sódio 0,04 mol L⁻¹: metanol:tetraidrofurano (67:55,5:3 v/v/v), ambas fases ajustadas para pH 6,2. A eluição foi realizada por gradiente. Os derivados de aminoácidos foram monitorados nos comprimentos de onda de excitação e emissão de 260 nm e 455 nm, respectivamente. O método se mostrou linear no intervalo de 2,5 a 100 ng de L-glutamato.

Zhang *et al.* (2006) descreveram um método, usando HPLC-FL, para a determinação de glutamato e aspartato em retina de coelhos. Para tanto, combinaram a microextração em polímero monólito com derivatização dos analitos com 8-fenil-(4-oxi-ácido acético N-hidroxisuccinimida ester)-4,4difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-S-indaceno. O limite de detecção estabelecido para o glutamato foi de 0,53 nmol L⁻¹.

Nagata *et al.* (2006) relatam resultados obtidos na determinação de serina, alanina, prolina, aspartato e glutamato em saliva, empregando duas técnicas cromatográficas em série: cromatografia em camada delgada bidimensional e HPLC. As amostras de saliva livre de células foram tratadas com ácido tricloroacético 5%, para remoção de proteínas, e o extrato foi clarificado em coluna de troca iônica. O eluato foi concentrado e os aminoácidos derivatizados com 1-fluoro-2,4-dinitrofenil-5-L-alaninamida anterior à separação dos mesmos por cromatografia em camada delgada bidimensional. Após separação, os derivados foram removidos da placa e analisados por HPLC com detecção em 340 nm, mediante emprego de uma fase estacionária octadecil e fase móvel

composta por acetonitrila e tampão trietilamina- fosfato pH 3,5, usando gradiente de eluição.

Um método para a determinação de doze aminoácidos, entre esses, o glutamato, em tecido cerebral de ratos e plasma de coelhos foi proposto por Kang *et al.* (2006). Para tanto, o cérebro ou plasma foi homogeneizado em ácido perclórico, seguido de centrifugação para remoção de proteínas. Subsequentemente, os extratos foram transferidos para uma solução de bicarbonato de potássio-hidróxido de potássio 2 mol L^{-1} e os aminoácidos foram derivatizados com DNS-Cl em meio de acetonitrila. A reação foi processada por 30 min, no escuro, a $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Em seguida, a reação foi interrompida mediante adição de ácido acético, a mistura centrifugada e o sobrenadante injetado no sistema cromatográfico. A separação dos derivados foi realizada em coluna de fase reversa octadecilsilano e uma fase móvel composta de metanol:água adicionada de trietilamônia 1,5% e hidróxido de tetrabutilamônia 5 mmol L^{-1} , pH 2,5, sob eluição isocrática. A quantificação foi realizada na região do ultravioleta em 286 nm e os autores concluíram que, nas condições experimentais estabelecidas, o detetor UV apresentou maior sensibilidade do que o detetor de fluorescência. O limite de detecção, para um volume de injeção de $20 \text{ } \mu\text{L}$, foi de 38 ng para o glutamato.

A cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC) vem substituindo a cromatografia líquida de alta eficiência na última década nas mais diversas aplicações, pelas vantagens da alta eficiência das colunas analíticas de diâmetro de partículas menores do que $2 \text{ } \mu\text{m}$ aliadas a menores tempos de análise e consumo de solventes. González *et al.* (2011) empregaram a UHPLC associada a espectrometria de massas sequencial (UHPLC-MS/MS) para a determinação de neurotransmissores, incluindo o glutamato, em cérebro de ratos e Stragierowicz *et al.* (2017) reportaram um método para a determinação de neurotransmissores na mesma matriz usando a UHPLC com detector de fluorescência.

A vantagem do uso da UHPLC-MS/MS na determinação de glutamato e outros aminoácidos é a seletividade quando operado no modo de reações selecionadas e a não necessidade da adição de um agente de derivatização. Zheng *et al.* (2019) reportaram um método, usando a UHPLC-MS/MS para a determinação de aminoácidos, purinas em soro sanguíneo, incluindo glutamato. Para a quantificação foi monitorada a transição do íon precursor (m/z 148,2) para o íon produto (m/z 84,0). O preparo de amostra consistiu na precipitação das proteínas pela adição de metanol. Após centrifugação e separação das proteínas, o sobrenadante foi filtrado e analisado diretamente no UHPLC-MS/MS. A fonte de

electrospray foi operada no modo positivo. O limite de quantificação do método para a determinação de glutamato no soro foi de 0,8 ng mL⁻¹.

2.2. Cromatografia a gás

O emprego da cromatografia a gás para a resolução de aminoácidos opticamente ativos tem sido explorado por muitos pesquisadores. No caso da produção do MSG por fermentação, é importante que existam técnicas disponíveis que permitam a diferenciação dos dois enantiômeros, mesmo quando um estiver em concentração muito menor do que o outro. Nesse contexto, Curry *et al.* (1983) descreveram um método para a determinação de D-MSG e L-MSG por cromatografia a gás, usando coluna capilar quiral e um detetor de ionização por chama. A quantificação foi realizada após derivatização do glutamato com anidrido trifluoroacético e usando a L-fenilalanina como padrão interno. O método foi avaliado para amostras líquidas contendo de 30-40% de MSG em sua composição.

2.3. Eletroforese capilar

As técnicas eletroforéticas que se fundamentam na eletromigração de moléculas carregadas em solução sob a força de um campo elétrico têm sido amplamente empregadas em aplicações analíticas diversas, principalmente, no campo da bioquímica. Entre as técnicas eletroforéticas, a eletroforese capilar de zona ou solução livre (CZE) tem-se destacado nos últimos anos, principalmente devido a algumas vantagens frente aos demais métodos cromatográficos como: alta eficiência, requerimento de pequenos volumes de solventes e amostras, assim como rapidez de análise. Baseados na eletromigração e nos diferentes modos de separação, têm sido desenvolvidas técnicas, entre outras, como a cromatografia eletrocínética micelar (MEKC), eletroforese capilar de gel (CGE) e eletroforese capilar por focalização isoeletrica (CIEF). Uma das grandes versatilidades da eletroforese capilar é a possibilidade da associação de uma ampla variedade de detetores, como: absorção no UV-Vis, fluorescência, fluorescência induzida por laser, espectrometria de massas, condutividade, amperometria, radioatividade, índice de refração, dicroísmo circular e Raman.

No entanto, para a separação e determinação de aminoácidos tem se destacado o emprego da CZE e MECK, associadas a detectores de absorção no UV e/ou fluorescência induzida por laser (LIF).

Devido às propriedades físico-químicas do MSG, anterior à quantificação, procedimentos de derivatização são recomendados para melhorar a sensibilidade do método. Para a detecção usando LIF, têm sido empregados reagentes como 4-fluoro-7-nitrobenofurazano (NBD-F), naftalenodocarboxaldeído (NDA) e o-ftalaldeído (OPA) (Chen *et al.*, 2007, Wang *et al.*, 2006).

Pérez-Ruiz *et al.* (2000) descrevem um método para a determinação de glutamato em bebidas e alimentos usando a CZE com detecção por LID. O método apresentou linearidade na faixa de concentração de glutamato de 10^{-7} a 10^{-4} mol L⁻¹, com um limite de detecção de $5,4 \cdot 10^{-10}$ mol L⁻¹.

Um método, empregando a técnica MEKC para a separação de vinte aminoácidos, incluindo o ácido glutâmico, foi proposto por Chen *et al.* (2007). Os aminoácidos foram derivatizados com isotiocianato de fluoresceína (FITC) e quantificados com um detetor de fluorescência com excitação multifóton desenvolvido pelos próprios autores.

Bodor *et al.* (2001) empregaram a isotacoforese em um *chip* com detetor de condutividade para a separação e determinação de aditivos alimentares, entre esses, o benzoato, sorbato, ésteres do ácido p-hidroxibenzoico e glutamato. O método foi empregado na determinação de glutamato em alimentos.

Para a determinação de aminoácidos excitatórios, Wang *et al.* (2006) empregaram a eletroforese capilar associada a um detetor de fluorescência. Os aminoácidos foram derivatizados com naftaleno-2,3 dicarboxaldeído. A separação dos analitos foi obtida em capilar de sílica fundida com tampão borato 10 mmol L⁻¹, pH 9,3. O limite de detecção para o ácido glutâmico foi de $2,1 \cdot 10^{-8}$ mol L⁻¹ e o método foi utilizado para a determinação de ácido glutâmico e aspártico em fluidos biológicos (soro humano e fluido cefalorraquidiano). As amostras de soro e fluido cefalorraquidiano foram diluídas e agitadas com acetonitrila para precipitar as proteínas. A mistura foi deixada em banho de gelo por uma hora e centrifugada. Em seguida, foi adicionado o agente de derivatização.

Um novo método para a determinação da atividade da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase em fluidos biológicos, baseados na separação e quantificação de alanina, glutamato e aspartato por eletroforese capilar com detecção por eletroquimiluminescência, foi proposto por Li *et al.* (2006). A separação foi promovida em tampão fosfato 5 mmol L⁻¹, pH 2,1 e a detecção foi conduzida em um eletrodo de disco de platina (1,2 V vs Ag/AgCl) na presença de tris (2,2-bipiridil) rutênio (II) dissolvido em fosfato 80 mmol L⁻¹, pH 10,5. O método se mostrou adequado para aplicação na biologia celular e área clínica.

Tabela 2.2 – Métodos de separação empregados para a determinação de glutamato em alimentos e material biológico.

Técnica	Coluna	Fase móvel	Agente de derivatização	Faixa linear (LOD)	Matriz	Referência
HPLC-FLD	ODS	CH ₃ OH/H ₂ O	DNS-Cl	0 a 10 µg mL ⁻¹	Sopas	Williams & Winfield, 1982
GC-FID	Fase quiral	Hélio	Anidrido trifluoroacético	–	Amostras líquidas	Curry <i>et al.</i> , 1983
HPLC-CD	Ciano	H ₂ O/CH ₃ CN/THF/HClO ₄	–	0 a 500 µg mL ⁻¹	Sopas e molhos	Lau & Mok, 1995
TLC +	ODS	CH ₃ CN /tampão trietilamina-fosfato pH 3,5	1-Fluoro-2,4-dinitro fenil-5-L-alaninamida	–	Saliva	Nagata <i>et al.</i> , 2006
HPLC-FLD	ODS	Fosfato de sódio pH 6,2/CH ₃ OH e fosfato de sódio pH 6,2/CH ₃ OH/THF	OPA e IBC	2,5 a 100 ng	Plasma	Grant <i>et al.</i> , 2006
HPLC-FLD	ODS	CH ₃ OH / H ₂ O – trietilamina-hidróxido de tetrabutilamônia, pH 2,5	DNS-Cl	23 a 454 ng (38 ng)	Cérebro de rato e plasma de coelho	Kang <i>et al.</i> , 2006
CZE-EQ	ODS	PBS 5 mmol L ⁻¹ , pH 2,1	Naftaleno-2,3 dicarboxaldeído	(2,1 10 ³ mol L ⁻¹)	Material biológico	Li <i>et al.</i> , 2006
CZE-FLD	ODS	BBS 10 mmol L ⁻¹ , pH 9,3	FITC	10 ⁷ a 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ (5,4 10 ⁻¹⁰ mol L ⁻¹)	Fluidos biológicos	Wang <i>et al.</i> , 2006
CZE-FLD	ODS	Ácido [3-(ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propa-no sulfônico] 20 mmol L ⁻¹ , pH 9,0	OPA	–	Alimentos e bebidas	Pérez-Ruiz <i>et al.</i> , 2000
HPLC-FLD	ODS	H ₂ O-PBS pH 7,0/acetoneitrila	OPA	–	Sopas prontas, molhos de saladas, vegetais, carnes, proteínas vegetais hidrolisadas	Populin <i>et al.</i> , 2007
UHPLC-FLD	BEH C18	Tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0; CH ₃ OH	OPA	100 a 10.000 ng mL ⁻¹ (30 ng mL ⁻¹)	Cérebro de ratos	Stragierowicz <i>et al.</i> , 2017
UHPLC-UV	Fenil-hexil	N-metilmorfolina 50 mmol L ⁻¹ tampão acetato pH 7,4/12% CH ₃ CN	2,4-Dinitrofluorobenzeno	–	Tomates	Agius <i>et al.</i> , 2018
UHPLC-MS/MS	BEH C18	CH ₃ OH e ácido fórmico com adição de HFBA 1 mmol L ⁻¹	HFBA	1 a 200 µg L ⁻¹ (0,73 µg g ⁻¹)	Cérebro de ratos	González <i>et al.</i> , 2011
UHPLC-MS/MS	Nucleoshell HILIC	Formiato de amônio 25 mmol L ⁻¹ , pH 3,5 (ajustado com ácido fórmico) e CH ₃ CN	–	2,5 a 2.000 ng mL ⁻¹ (0,25 ng mL ⁻¹)	Córtex de ratos	Defaix <i>et al.</i> , 2018
UHPLC-MS/MS	BEH amida	Ácido fórmico 0,1% aquoso e CH ₃ CN adicionado de ácido fórmico 0,1%	–	0,099 a 9,9 µg mL ⁻¹ (0,2 µg mL ⁻¹)	Soro sanguíneo	Zheng <i>et al.</i> , 2019
MEKC-MPEF	–	BBS 25 mmol L ⁻¹ , SDS 100 mmol L ⁻¹ e 5% CH ₃ OH, pH 11,0	FITC	9,73 a 109 µmol L ⁻¹ (1,25 µmol L ⁻¹)	Suplementos nutricionais	Chen <i>et al.</i> , 2007

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência; UHPLC: cromatografia líquida de ultra-alta eficiência; FLD: detector de fluorescência; CD: detector de condutividade; UV: ultra-violeta; MS/MS: espectrometria de massas sequencial; TLC: cromatografia em camada delgada; CZE: eletroforese capilar de zona; MEKC: cromatografia eletrocromatográfica micelar; MPEF: fluorescência com excitação multifóton; EQ: eletroquimiluminescência; GC: cromatografia a gás; FID: ionização por chama; ODS: octadecilsilano; DNS-Cl: cloroeto de dansila; OPA: o-ftalaldeído; IBC: N-isobutiril L-cisteína; BBS: tampão borato; PBS: tampão fosfato; HFBA: ácido heptafluoro butírico.

Fonte: tabela elaborada pelos autores.

O emprego de detetores eletroquímicos oferece vantagem frente aos detetores óticos por não requer a derivatização do glutamato anterior à quantificação. Neste contexto se destacam os detetores por condutometria sem contato acoplados capacitivamente (C⁴D). Esses detetores embora sejam de baixo custo, simplicidade técnica e permitirem a detecção de multicompostos sofrem efeito da matriz, o que pode comprometer a seletividade e detectabilidade dos analitos.

Um método empregando eletroextração líquido-líquido (sistema aquoso bifásico) *on-line* à eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente foi desenvolvido por Campos *et al.* (2019) e empregado na determinação de ácido glutâmico em amostras de shoyu, que contêm alto teor de sódio.

As principais reações e condições empregadas para a determinação de glutamato por técnicas de separação estão sumarizadas na Tabela 2.2.

2.4. Métodos espectroanalíticos

Chapman & Zhou (1999) desenvolveram dois métodos fluorimétricos para a determinação de L-glutamato em amostras biológicas e alimentos. O primeiro, descreve o emprego de uma reação de reciclagem contínua do substrato catalisada pela L-glutamato oxidase (GLOD) e glutamato-piruvato-transaminase (GPT). O peróxido de hidrogênio formado na reação enzimática é determinado indiretamente na forma de Resorufin (derivado fluorescente) que se forma na reação de H₂O₂ com Amplex Red. O segundo método segue o princípio do primeiro, no entanto, emprega como enzimas a L-glutamato desidrogenase (GLDH) e GPT. Nesta reação, o glutamato é quantificado pelo NADH formado na reação enzimática mediante reação deste com resazurin na presença de diaforase. Do mesmo modo, nesta reação ocorre a formação do derivado fluorescente Resorufin. Os métodos foram aplicados na determinação de L-glutamato em sopas. O preparo de amostras consiste na centrifugação das amostras líquidas e diluição do sobrenadante em tampão Tris-HCl 100 mmol L⁻¹, pH 7,5. Os autores enfatizam que o método fluorimétrico com Amplex Red é 500 vezes mais sensível que o método espectrofotométrico convencional, que é decorrente da estratégia de reciclagem do substrato, assim como, do emprego do reagente de derivatização.

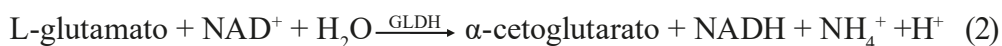
Baseado no mesmo princípio de reciclagem do substrato, Khampha *et al.* (2004) descreveram um método para a determinação de L-glutamato em alimentos, empregando como enzimas a GLDH e a D-fenilglicina aminotransferase (D-PhgAT). A GLDH transforma o glutamato em 2-oxoglutarato com redução concomitante do NAD⁺ para NADH. O oxoglutarato, por sua vez, é reciclado

para glutamato pela reação de transaminação catalisada pela enzima D-PhgAT, usando a D-hidroxifenilglicina como um doador de grupo amino. Nessa reação, a hidroxifenilglicina é convertida a 4-hidroxibenzoilformato que absorve fortemente em 340 nm. O limite de detecção é de 0,14 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

2.5. Biossensores

Os biossensores são dispositivos nos quais materiais de origem biológica (enzimas, anticorpos, organelas, ácidos nucleicos e outros) são imobilizados junto a um transdutor adequado. De acordo com o transdutor utilizado, o biossensor pode ser classificado como óptico (medida de fluorescência, luminescência etc.), eletroquímico (condutimétrico, potenciométrico e amperométrico) e detetor de massas. Existe um número elevado de artigos científicos publicados na literatura que descrevem métodos que empregam biossensores para aplicações analíticas em alimentos e material biológico, o que pode ser atribuído às suas características importantes, tais como, seletividade, resposta rápida, baixo custo e facilidade na construção, assim como possibilidades de miniaturização.

O primeiro biossensor eletroquímico para glutamato foi desenvolvido por Malinauskas & Kulys, em 1978, utilizando a enzima glutamato desidrogenase (GLDH) e a coenzima NAD^+ , imobilizadas em uma membrana semipermeável. Nesta Reação (2), ocorre a formação de NADH, que, geralmente, é a espécie monitorada para fins quantitativos.



No entanto, a oxidação direta do NADH em eletrodos não modificados requer um elevado sobrepotencial, devido ao processo lento de transferência de carga. Para contornar essa limitação, diversos mediadores redox têm sido incorporados na superfície de eletrodos, como: MnO_2 (Beyene *et al.*, 2003), tetrafulvaleno-tetracianoquinodimetano (Pauliukaite *et al.*, 2006), metassulfato de fenazina (Malinauskas & Kulys, 1978, Curulli *et al.*, 1997), entre outros. Os mediadores podem ser imobilizados por diferentes processos, como: quimiosorção, ligação covalente na superfície do eletrodo ou polímeros condutores, filmes poliméricos depositados eletroquimicamente sobre a superfície do eletrodo e em pasta de carbono (Curruli *et al.*, 1997). Ainda, foi verificado que nanotubos de carbono são capazes de reduzir o sobrepotencial para a oxidação do NADH (Chakraborty & Raj, 2007).

Além da enzima GLDH, a L-glutamato oxidase (GLOD), produzida pelo *Streptomyces sp*, tem sido amplamente empregada em biossensores para a determinação do glutamato. A GLOD oxida o L-glutamato para α -cetoglutarato com a formação de amônia e peróxido de hidrogênio (Reação 3).



A reação e a quantificação do glutamato podem ser monitoradas pela formação de peróxido de hidrogênio, usando método amperométrico. No entanto, igualmente ao NADH, a determinação de peróxido de hidrogênio através da sua oxidação requer um elevado sobrepotencial, o que pode vir a afetar a seletividade do método.

Nas medidas eletroquímicas usando biossensores, os eletrodos geralmente empregados são metais inertes e a enzima necessita ser incorporada na superfície dos mesmos. Para tanto, têm sido empregadas membranas poliméricas, Nafion, filmes de polifenildiaminas, entre outros (Pauliukaite *et al.*, 2006).

Alguns biossensores e suas aplicações na determinação de L-glutamato em amostras de alimentos e material biológico estão descritos a seguir e sumarizados na Tabela 2.3.

Kwong *et al.* (2000) desenvolveram um biossensor para a determinação de L-glutamato em molhos de soja. A enzima GLOD foi imobilizada usando um hidrogel de poli(carbamoil sulfonado) e a quantificação realizada por um detector eletroquímico. O sensor mostrou linearidade na faixa de 0,1 mmol L⁻¹ a 5 mmol L⁻¹ de L-glutamato, com um limite de detecção de 1,01 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Ainda, o sensor apresentou seletividade na presença da maioria de outros aminoácidos, com exceção de L-asparagina, L-glutamina, L-ácido aspártico e L-histidina.

A formação de amônia na reação enzimática foi empregada para a determinação de glutamato em alimentos, através de um sensor potenciométrico (Nikolelis, 1987). O método apresentou linearidade adequada para o glutamato na faixa de 1 10⁻⁵ mol L⁻¹ a 1 10⁻⁴ mol L⁻¹.

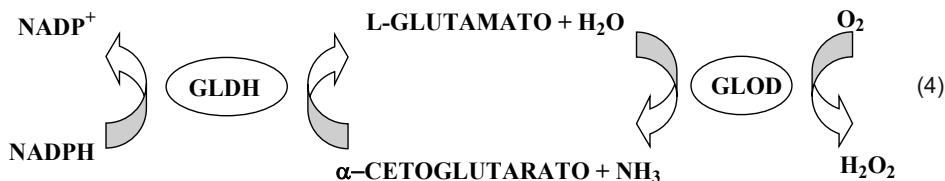
Tabela 2.3 – Biossensores empregados para a determinação de glutamato em alimentos e material biológico

Técnica/Potencial	Biossensor	Espécie Monitorada	Amostras	Eletrolito	Faixa Linear (LOD)	Referência
Potenciometria	GLDH	NH ₃	Sopas	Tris-HCl pH 8,5	1 10 ⁻⁴ a 1 10 ⁻³ mol L ⁻¹	Nikolelis, 1987
FIA-Amperometria/ 650 mV	Inosina monofosfato desidrogenase e NADH desidrogenase	H ₂ O ₂	Temperos	PBS 0,3 mol L ⁻¹ , pH 8,0	1,0 a 10,0 mmol L ⁻¹	Matsumoto <i>et al.</i> , 1998
FIA-Amperometria/ 400 mV	Pt/GLOD + Hidrogel poli(carbamoil sulfonato)	H ₂ O ₂	Temperos	PBS 67 mmol L ⁻¹ pH 6,86	0,1 a 5 mmol L ⁻¹ (1,01 μmol L ⁻¹)	Kwong <i>et al.</i> , 2000
FIA-Amperometria/ 50 mV	Azul da Prússia-Nafion®/GLOD	H ₂ O ₂	–	PBS 0,05 mol L ⁻¹ e KCl 0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0.	1 10 ⁻⁷ a 1 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ (1 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹)	Karyakin <i>et al.</i> , 2000
Amperometria/ 440 mV	Eletrodo de carbono impresso/filme de Nafion® + MnO ₂ + GLOD	H ₂ O ₂	Temperos	PBS 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,75	10 a 60 mg L ⁻¹ (1,7 mg L ⁻¹)	Beyene <i>et al.</i> , 2003
Potenciometria	Eletrodo de oxigênio/GLOD + GLDH + policarbonato	O ₂	Sopas e molhos	PBS 0,2 mol L ⁻¹ pH 7,0	0,02 a 1,2 mg L ⁻¹ (0,02 mg L ⁻¹)	Basu <i>et al.</i> , 2006
Fluorescência	Sol-gel de titânia imobilizado com carboxi seminaftorhodamina-1-dextran/ GLDH	Derivado fluorescente	Água e soro de albumina bovina	Tampão 1,3-bis[tris(hidroximetil)metilamino] propano, 2,5 mmol L ⁻¹ pH 9,0	0,02 a 10 mmol L ⁻¹ (6,7 μmol L ⁻¹)	Doong & Shih, 2006
Amperometria/ 200 mV	Poli(amidoamina) encapsuladas em nanopartículas de platina sobre nanotubos de carbono/ GLDH			PBS 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,4	0,2 a 250 μmol L ⁻¹ (10 nmol L ⁻¹)	Tang <i>et al.</i> , 2007
Amperometria/ 600 mV	Eletrodo de platina/ poli(m-fenilenediamina)/GLOD	H ₂ O ₂	Nervos cerebrais de ratos	Tampão HEPES 25 mmol L ⁻¹ pH 7,4	2 a 400 μmol L ⁻¹ (2 μmol L ⁻¹)	Borisova <i>et al.</i> , 2018

FIA: análise por injeção em fluxo; GLDH: glutamato desidrogenase; GLOD: glutamato desidrogenase; GLOD: glutamato oxidase; PBS: tampão fosfato; HEPES: ácido 2-[4-(2-hidroxietil)-piperazin-1-il]-etanosulfônico.

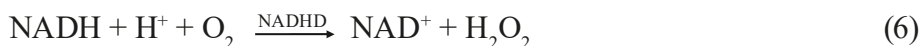
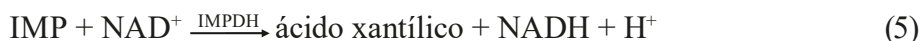
Fonte: tabela elaborada pelos autores.

Basu *et al.* (2006) desenvolveram um sensor para MSG por coimobilização de GLOD e GLDH, baseado na reciclagem do substrato. A reciclagem do substrato fornece uma amplificação da resposta do biossensor (Reação 4). Na presença de NADPH e MSG, ambas as atividades das enzimas são utilizadas e o MSG é regenerado. A quantificação do MSG foi feita através do consumo de oxigênio pelo sistema.



O biossensor desenvolvido apresentou linearidade na faixa de concentração de MSG de 0,02 a 1,2 mg L⁻¹ na presença de 10 mmol L⁻¹ de amônia. O pH ótimo foi de 7 ± 2 e o tempo de resposta de 2 min. O sensor foi empregado na determinação de MSG em molhos e sopas. O preparo de amostras consistiu simplesmente na centrifugação das amostras e diluição do sobrenadante em tampão fosfato pH 7,0 com adição de uma pequena quantidade de ácido clorídrico para prevenir a conversão do ácido glutâmico em ácido pirrolidonicarboxílico.

Matsumoto *et al.* (1998) desenvolveram um biossensor para a determinação simultânea de L-glutamato e inosina monofosfato (IMP) em alimentos. Para tanto, foram acoplados dois reatores enzimáticos em série e as medidas realizadas em fluxo. O interesse na determinação de IMP e MSG reside no fato de que ambos compostos utilizados como aditivos alimentares têm a propriedade de realçar o sabor de alimentos. Existe um efeito sinérgico do IMP e glutamato o que leva a aumentar a intensidade do gosto umami. No método proposto para a determinação de IMP, foram usadas as enzimas inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH), obtida do *Bacillus cereus*, e NADH desidrogenase (NADHD), obtida do *Bacillus licheniformis* (Reações 5 e 6). A quantificação do IMP é realizada através do monitoramento de peróxido de hidrogênio por um transdutor amperométrico.



Por sua vez, a quantificação do glutamato procede através da reação enzimática, usando-se a GLOD e monitoramento do peróxido de hidrogênio formado. O método apresentou uma faixa linear para o IMP e glutamato de 0,1 a 1,0 mmol L⁻¹ e 1,0 a 10,0 mmol L⁻¹, respectivamente. As amostras de temperos foram diluídas em água e filtradas anteriormente à análise. Inosina difosfato e inosina trifosfato foram identificados como interferentes em potencial.

Uma modificação de um biossensor amperométrico, para a determinação de glutamato, foi proposta por Karyakin *et al.* (2000), os quais imobilizaram a GLOD em um filme de Nafion sob a superfície de um eletrodo modificado com azul da Prússia. O glutamato foi determinado em sistema de análise por injeção em fluxo em tampão fosfato 0,05 mol L⁻¹ e KCl 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0. O potencial de detecção foi de -50 mV versus Ag/AgCl, KCl 0,1 mol L⁻¹. A faixa linear do método foi no intervalo de 1 10⁻⁷ a 1 10⁻⁴ mol L⁻¹ de glutamato.

Nos últimos anos, tem sido dada atenção especial para o desenvolvimento de membranas descartáveis, as quais permitem eliminar procedimentos de regeneração de superfície dos sensores após o uso. Nesse contexto, a tecnologia de *screen-printing*, mais conhecida como *silk-screen*, tem sido empregada com grande sucesso na fabricação de eletrodos nas últimas décadas. Ao mesmo tempo em que possibilita a produção em massa de eletrodos, a um custo extremamente baixo, é simples e pode ser praticada em qualquer laboratório. O eletrodo impresso é um filme depositado sobre um suporte inerte (Agnes & Nascimento, 1998). Fazendo uso desta tecnologia, Beyene *et al.* (2003) propuseram um biossensor amperométrico para glutamato usando eletrodo de carbono impresso modificado com MnO₂ e GLOD imobilizada em filme de Nafion®. O MnO₂ atua como mediador de elétrons, entre a enzima reduzida e o eletrodo. As medidas foram realizadas em sistema de análise por injeção em fluxo, usando como carregador tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,75 e um potencial de 440 mV versus Ag/AgCl. A curva analítica apresentou faixa linear de 10 a 160 mg L⁻¹, com um limite de detecção para glutamato de 1,7 mg L⁻¹. O biossensor foi aplicado na determinação de glutamato em temperos, onde as amostras foram dissolvidas em tampão fosfato e filtradas em membrana de 0,22 μm anteriormente à quantificação.

Nos últimos anos, materiais sol-gel têm despertado o interesse de pesquisadores pelas características propícias do material para imobilização de enzimas na construção de biossensores. Nesse contexto, Doong & Shih (2006) desenvolveram um biossensor óptico de sol-gel de titânia imobilizado com carboxi seminaftorhodamina-1-dextran (composto fluorescente) e a enzima GLDH para

aplicação na determinação de glutamato em água e material biológico (soro de albumina bovina). O comprimento de onda de excitação empregado foi de 488 nm e a emissão foi monitorada em 588 e 640 nm. Em material biológico, o sensor apresentou uma faixa linear para o glutamato de 0,02 a 10 mmol L⁻¹ e um limite de detecção de 6,7 µmol L⁻¹.

Tang *et al.* (2007) desenvolveram um biossensor amperométrico baseado na auto-organização de dendrímeros de poli(amidoamina) encapsuladas em nanopartículas de platina sobre nanotubos de carbono para imobilização de GLDH. O biossensor apresentou uma faixa linear para o glutamato de 0,2 a 250 µmol L⁻¹ com um tempo de resposta de 3 s. O limite de detecção foi de 10 nmol L⁻¹.

Borisova *et al.* (2018) descrevem um biossensor amperométrico para o monitoramento da liberação de glutamato em terminais nervosos do cérebro de ratos. Para tanto, os autores construíram um biossensor amperométrico imobilizando a enzima GLOD e desenvolveram um algoritmo para o monitoramento da cinética da liberação de glutamato tônico, excitatório e mediado por transporte de terminais nervosos isolados de cérebro de ratos. O limite de detecção do sensor foi de 2 µmol L⁻¹.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O glutamato monossódico tem despertado o interesse de pesquisadores há um século por suas propriedades de realçar o sabor dos alimentos. Discussões têm sido promovidas tanto para esclarecer sua inocuidade como sua eficácia. Todos esses estudos requerem métodos analíticos que sejam capazes de quantificar o glutamato em matrizes complexas como alimentos e material biológico em uma grande faixa de concentração. Enquanto o glutamato está presente em alimentos em concentrações de até 1 mg kg⁻¹, em material biológico, se encontra em nível de µg g⁻¹. Portanto, para análise de alimentos ou material biológico, os métodos analíticos requerem uma *performance* diferenciada.

Os primeiros métodos desenvolvidos para a determinação de glutamato em alimentos foram os titrimétricos, que hoje ainda são recomendados em métodos oficiais de análise. No entanto, os métodos cromatográficos suplantaram esses, principalmente por aliarem rapidez de análise com elevada seletividade e detectabilidade. Entre os métodos cromatográficos, a cromatografia líquida de alta eficiência tem sido a mais reportada, associada a detectores de absorção no ultravioleta e de fluorescência. Devido a que o glutamato não tem fluorescência nativa e não apresenta absorção significativa na região do UV, reações de derivatização

pré e pós-coluna têm sido amplamente empregadas. No entanto, com o desenvolvimento de colunas analíticas com partículas de diâmetro menores do que 2 µm, a cromatografia líquida de ultra-alta eficiência tem substituído a HPLC. As análises com uma elevada eficiência são mais rápidas e consomem menos solventes e quando associada a espectrometria de massas sequencial permite a confirmação de identidade do analito. Ainda, essa técnica não requer reações de derivatização para permitir a quantificação do glutamato e pode ser aplicada tanto para amostras de alimentos como material biológico.

O uso de métodos eletroforéticos também tem sido relatado na literatura, mas em menor extensão e estes, de modo geral, fazem uso dos mesmos detectores da cromatografia líquida. Os avanços consistem nos microdispositivos do tipo Lab-on-a-chip.

O uso da cromatografia a gás já não é uma tendência atual, uma vez que o glutamato apresenta um elevado ponto de ebulição e não pode ser determinado por essa técnica sem prévia derivatização para formação de derivados voláteis.

Indubitavelmente, o maior destaque para a determinação de glutamato nos últimos anos tem sido o desenvolvimento e uso de biossensores. Esses dispositivos são ferramentas que tem suplementado as técnicas já existentes, devido as suas características únicas, tais como: seletividade, relativo baixo custo de construção e estocagem, potencial para miniaturização, facilidade de automação e construção de equipamentos simples e portáteis. Muitos biossensores têm sido desenvolvidos e aplicados na determinação de glutamato em alimentos e material biológico, e a dificuldade inicial da elevada sobrevoltagem necessária para quantificar o peróxido de hidrogênio ou NADH formado nas reações enzimáticas, envolvendo a glutamato oxidase ou glutamato desidrogenase, foi contornada pela incorporação de mediadores nos sensores. Ainda, novos materiais têm tido destaque na confecção de biossensores, entre esses os eletrodos impressos, que são descartáveis, e os nanotubos de carbono. Assim, a associação de biossensores com medidas amperométricas tem representado o maior avanço em relação a métodos analíticos que visam à determinação de glutamato em alimentos e matizes biológicas e, por ser uma técnica de relativo baixo custo e por todas as demais vantagens relacionadas, pode ser empregada em vários segmentos da indústria e centros de pesquisa.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGIUS C. *et al.* “Quantification of glutamate and aspartate by ultra-high performance liquid chromatography”. *Molecules*. 23(6): 1389-1404, 2018.

AGNES, L. & NASCIMENTO, V. B. “Eletrodos fabricados por silk-screen”. *Química Nova*. 21: 614, 1998.

AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International. Official Method 970.37. “Monosodium Glutamate in Food”. *Potentiometric titration method*. 18. ed. Gaithersburg, AOAC International, 2005. AULT, A. “The monosodium glutamate story: the commercial production of MSG and other amino acids”. *Journal of Chemical Education*. 81: 347-355, 2004.

BASU, A. K. *et al.* “A biosensor based on co-immobilized l-glutamate oxidase and l-glutamate dehydrogenase for analysis of monosodium glutamate in food”. *Biosensors Bioelectronics*. 21: 1968-1972, 2006.

BEYENE, N. W.; MODEREGGER, H. & KAICHER, K. “A stable glutamate biosensor based on MnO₂ bulk modified screen-printed carbon electrode and Nafion® film immobilized glutamate oxidase”. *South African Journal of Chemistry*. 56: 54-59, 2003.

BLANDINI, F. & GREENAMYRE, J. T. “Prospects of glutamate antagonists in the therapy of Parkinson’s disease”. *Fundamentals of Clinical Pharmacology*. 4-12, 1998.

BODOR, R. *et al.* “Isotachopheresis and isotachopheresis-zone electrophoresis of food additives on a chip with column-coupling separation channels”. *Journal of Separation Science*. 24: 802-809, 2001.

BORISOVA, R. *et al.* “An amperometric glutamate biosensor for monitoring glutamate release from brain nerve terminals and in blood plasma”. *Analytica Chimica Acta*. 1022: 113-123, 2018.

CAMPOS C. D. M. *et al.* “On-line electroextraction in capillary electrophoresis: application on the determination of glutamic acid in soy sauces”. *Electrophoresis*. 40: 322-329, 2019.

CFCC. COMMITTEE ON FOOD CHEMICALS CODEX. *Food and Nutrition Board. Institute of Medicine on the National Academies*. 5. ed. Washington, The National Academies Press, 2004.

CHAKRABORTY, S. & RAJ, C. R. “Amperometric biosensing of glutamate using carbon nanotube based electrode”. *Electrochemistry Communications*. 9: 1323-1330, 2007.

CHAPMAN, J. & ZHOU, M. “Microplate-based fluorometric methods for the enzymatic determination of L-glutamate: application in measuring L-glutamate in food samples”. *Analytica Chimica Acta*. 402: 47-52, 1999.

CHEN, S. *et al.* “Separation and determination of amino acids by micellar electrokinetic chromatography coupling with novel multiphoton excited fluorescence detection”. *Journal of Chromatography A*. 1162: 149-153, 2007.

CURRY, K. K.; EVANS, J. W. & SCHWAB, G. “Determination of monosodium glutamate enantiomers by chiral phase capillary gas chromatography”. *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*. 6(9): 510-511, 1983.

CURULLI, A. *et al.* “Enzyme electrode probes obtained by electropolymerization of monomers with PMS and selected dehydrogenase enzymes”. *Talanta*. 44: 1659-1669, 1997.

DEFAIX, C. *et al.* “Rapid analysis of glutamate, glutamine and GABA in mice frontal cortex microdialysis samples using HPLC coupled to electrospray tandem mass spectrometry”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 152: 31-38, 2018.

DOONG, R. & SHIH, H. M. “Glutamate optical biosensor based on the immobilization of glutamate dehydrogenase in titanium dioxide sol-gel matrix”. *Biosensors Bioelectronics*. 22: 185-191, 2006.

FERNANDEZ-FLORES, E.; JOHNSON, A. R. & BLOMQUIST, V. H. “Estimation of monosodium glutamate in food products”. *Journal Association of Official Analytical Chemists*. 52: 744-746, 1969.

GONZÁLEZ, R. R. *et al.* “Development and validation of an ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass-spectrometry (UHPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of neurotransmitters in rat brain samples”. *Journal of Neuroscience Methods*. 198: 187-194, 2011.

GRANT, S. L. *et al.* “Determination of D-serine and related neuroactive aminoacids in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection”. *Journal of Chromatography B*. 804: 278-282, 2006.

HARADA, A. *et al.* “Effects of strain and cultivation medium on the chemical composition of the taste components in fruit-body of *Hypsizygus marmoreus*”. *Food Chemistry*. 84: 265-270, 2004.

KANG, X. *et al.* “Optimization of dansyl derivatization and chromatographic conditions in the determination of neuroactive amino acids of biological samples”. *Clinical Chimica Acta*. 366: 352-356, 2006.

KARYAKIN, A. A.; KARYAKINA, E. E. & GORTON, L. “Amperometric biosensor for glutamate using Prussian blue-based artificial peroxidase as a transducer for hydrogen peroxide”. *Analytical Chemistry*. 72: 1720-1723, 2000.

KHAMPHA, W.; MEEVOOTISOM, V. & WIYAKRUTTA, S. “Spectrophotometric enzymatic cycling method using L-glutamate dehydrogenase and d-phenylglycine aminotransferase for determination of L-glutamate in foods”. *Analytica Chimica Acta*. 520: 133-135, 2004.

KWONG, A. W. K. *et al.* “Comparative study of hydrogel-immobilized L-glutamate oxidases for a novel thick-film biosensor and its application in food samples”. *Biotechnology Letters*. 22: 267-272, 2000.

LAU, O. W. & MOK, C. S. “Indirect conductometric detection of amino acids after liquid chromatographic separation. Part II. determination of monosodium glutamate in foods”. *Analytica Chimica Acta*. 302(1): 45-52, 1995.

LI, T. *et al.* “Capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection for measurement of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities in biofluids”. *Journal of Chromatography A*. 1134: 311-316, 2006.

MALINAUSKAS, A. & KULYS, J. “Alcohol, lactate and glutamate sensors based on oxidoreductases with regeneration of nicotinamide adenine dinucleotide”. *Analytica Chimica Acta*. 98: 31-37, 1978.

MATSUMOTO, K.; ASADA, W. & MURAI, R. “Simultaneous biosensing of inosine monophosphate and glutamate by use of immobilized enzyme reactors”. *Analytica Chimica Acta*. 358: 127-136, 1998.

NAGATA, Y. *et al.* “The presence of high concentrations of free d-amino acids in human saliva”. *Life Sciences*. 78: 1677-1681, 2006.

NIKOLELIS, D. P. “Kinetic-potentiometric determination of monosodium glutamate in soups and soup bases and of glutamic dehydrogenase”. *Analyst*. 112: 763-765, 1987.

PAULIUKAITE, R. *et al.* “L-Glutamate biosensor for estimation of the taste of tomato specimens”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 386: 220-227, 2006.

PÉREZ-RUIZ, T. *et al.* “Analysis of glutamate in beverages and foodstuffs by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection”. *Chromatographia*. 52: 599-602, 2000.

POPULIN, T.; MORET, S. & TRUANT, S. “A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate”. *Food Chemistry*. 104: 1712-1717, 2007.

ROTZOLL, N.; DUNKEL, A. & HOFMANN, T. “Quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments on the key taste compounds in morel mushrooms (*Morchella deliciosa* Fr.)”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 2705-2711, 2006.

SPORNS, P. “Rapid high-performance liquid-chromatographic determination of monosodium glutamate in food”. *Journal Association of Official Analytical Chemists*. 65: 567-571, 1982.

STRAGIEROWICZ, J.; DARAGÓ, A. & KILANOWICZ, A. “Optimization of ultra-performance liquid chromatography (UPLC) with fluorescence detector (FLD) method for the quantitative determination of selected neurotransmitters in rat brain”. *Medycyna Pracy*. 68(5): 583-591 2017.

TANG, L. *et al.* “Amperometric glutamate biosensor based on self-assembling glutamate dehydrogenase and dendrimer-encapsulated platinum nanoparticles onto carbon nanotubes”. *Talanta*. 73: 438-443, 2007.

WANG, C. *et al.* “Determination of excitatory amino acids in biological fluids by capillary electrophoresis with optical fiber light-emitting diode induced fluorescence detection”. *Journal of Chromatography B*. 833: 129-134, 2006.

WILLIAMS, A. T. R. & WINFIELD, S. A. “Determination of monosodium glutamate in food using high-performance liquid chromatography and fluorescence detection”. *Analyst*. 167: 1092-1094, 1982.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “What is umami?”. *Food Reviews International*. 14: 123-138, 1998.

ZHANG, H. J. *et al.* “Determination of aspartate and glutamate in rabbit retina using polymer monolith microextraction coupled to high-performance liquid chromatography with fluorescence detection”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 386: 2035-2042, 2006.

ZHENG, Y. *et al.* “Simultaneous determination of amino acids, purines and derivatives in serum by ultrahigh-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry”. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 33: 81-88, 2019.

PRESENÇA DE GLUTAMATO EM ALIMENTOS

*Cynthia Baú Betim Cazarin
Carolina Soares de Moura
Priscila Neder Morato
Jaime Amaya-Farfan*

1. INTRODUÇÃO

Na primeira edição deste livro, foram utilizados os dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2002/2003), para calcular a contribuição dos alimentos adquiridos comercialmente no Brasil em termos de conteúdo de ácido glutâmico e glutamato monossódico. Daquela época até o presente, duas novas POF têm sido realizadas, sendo a última, de 2018, a que seria a mais adequada para a elaboração de uma nova estimativa, não apenas por ser a mais recente, mas também por ter sido projetada para medir o real consumo de alimentos, ainda não se encontra disponível para o público. Cientes das limitações da POF-2002/2003, da necessidade de se obter dados de composição mais atuais das antigas e de novas formulações, além da inacessibilidade da POF-2018, os autores optaram por manter os cálculos da POF-2002/2003. Seria recomendável, porém, que novos cálculos com base nas novas POF destaquem os conteúdos de glutamato monossódico – e talvez outros sais – separadamente do ácido glutâmico proteico e peptídico para aprimorar o quadro do consumo no Brasil.

Das poucas novidades ocorridas desde a primeira edição, talvez o principal acontecimento nesses últimos 10 anos tenha sido a opinião científica referente ao consumo de ácido glutâmico e glutamatos exarada pela Comissão em Fontes de Aditivos e Nutrientes (*Additives and Nutrient Sources – ANS*) da Autoridade Europeia de Segurança de Alimentos (EFSA, 2017). Na Opinião sobre exposição alimentar aos glutamatos (E620-E625), a Comissão observou que a população europeia consome glutamatos totais (o ácido e os glutamatos de sódio, potássio, cálcio, amônio e magnésio) em níveis que ultrapassam os limites aceitáveis para a ingestão de glutamatos livres adicionados à dieta, de 30 mg (de ácido)/kg p.c./dia, além de superar doses associadas a efeitos adversos em certos grupos populacionais, mesmo sem incluir o glutamato proveniente das proteínas e outros compostos naturais. Por essa razão, entende-se que existe uma preocupação com respeito à questão “segurança”, especialmente em relação à população infantil. Indo um passo além, é possível perceber que a ênfase é feita no consumo das formas livres dos sais e que há espaço para desenvolver mais pesquisa com relação ao tema “presença e consumo” dos glutamatos e sua relevância na saúde.

Um resultado da Opinião sobre os ingredientes contemplados nas E620-E625, entretanto, foi a pesquisa de consumo e composição de alimentos publicada por Tennant (2018), na qual o autor encontrou exposição alimentar em crianças pequenas devida ao consumo e digestão das proteínas que constituem uma dieta sem aditivos que pode alcançar 440 mg/kg p.c./dia de ácido glutâmico e glutamatos totais. Os cálculos mostraram uma larga faixa de consumo médio de glutamato livre nos países europeus, variando de 5,5 mg/kg p.c./dia em idosos austríacos, até 37 mg/kg p.c./dia em crianças de 1 ano de idade para acima na Bélgica. Os queijos curados nesse caso foram responsáveis por uma parcela significativa do consumo, seguidos de carnes curadas, leite, batata e tomates. Já na faixa de alto consumo, estavam crianças que ingeriam entre 56 e 82 mg/kg p.c./dia e a alta ingestão estava associada ao consumo de queijos.

Da sua pesquisa, Tennant (2018) estimou que, aplicando as ingestões aceitáveis, crianças de 1 ano ou mais poderiam ingerir algo entre 80 mg/kg p.c./dia, enquanto que, incluindo o consumo de ácido glutâmico proveniente das proteínas contidas nos alimentos, o total poderia alcançar até 400 mg/kg p.c./dia. Assim, o autor concluiu que a contribuição de glutamatos adicionados aos alimentos é muito pequena se comparada com a ingestão total de todas as formas ao longo do dia. Embora a afirmação de Tennant (2018) possua uma orientação primordial

voltada para o tema segurança do alimento, a nossa opinião é de que a conclusão se torna discutível porque as possíveis formas químicas do aminoácido: o ácido livre, o peptídico e os sais não são biologicamente equivalentes, cada uma com sítios específicos de ação e não deveriam ser consideradas num *pool* único, como se discute mais adiante.

Em todo tecido biológico, os aminoácidos livres se encontram em reduzida proporção em relação aos aminoácidos totais, variando de 0,1 a 5%. A soma-tória dos aminoácidos que compõem as proteínas (aminoácidos proteicos), dos aminoácidos que fazem parte de pequenos peptídeos e dos aminoácidos livres resulta no que se costuma ser denominado de aminoácidos totais. O aminoácido ácido L-glutâmico é um dos mais difundidos na natureza, quer se trate de vegetal, animal, alga ou micróbio. Ele pode estar presente na forma de aminoácido livre, combinado a outros aminoácidos, integrando alguns peptídeos, ou ainda sob a forma proteica, integrando a estrutura das proteínas encontradas nos organismos vivos, inclusive no homem, com suas mais de 22.500 distintas proteínas. Portanto, este aminoácido, na sua forma não combinada com outros componentes celulares, é passível de ser encontrado em quantidades variáveis em todos os alimentos.

Enquanto nas frutas o teor de ácido glutâmico livre é muito reduzido, nas verduras os teores são mais expressivos. Já nos tecidos animais, os teores de ácido L-glutâmico livre apresentam menor variabilidade e são mais elevados. Exemplos de tecidos nos quais os níveis de ácido L-glutâmico são expressivos são: o intestino delgado, onde a glutamina, derivado α -amidado do aminoácido, é a principal fonte de energia para o enterócito, e o cérebro, onde o ácido glutâmico é o mais abundante dos aminoácidos livres. A transformação do ácido glutâmico em glutamina se dá na célula mediante a ação da glutamina sintetase. No cérebro, a fonte do ácido glutâmico é a glutamina (Tapiero *et al.*, 2002).

Os produtos alimentícios encontrados no mercado podem conter ácido glutâmico, tanto como componente natural, quanto adicionado, sendo este último geralmente na forma de glutamato monossódico (MSG). O aditivo ou ingrediente é acrescentado ao alimento processado, em virtude das suas características ‘realçadoras’ do sabor, na forma pura (MSG) ou oculta – neste caso, como integrante, por exemplo, de um extrato de levedura. De modo geral, os alimentos podem conter teores consideráveis, especialmente alguns produtos industrializados, enquanto que, naqueles que não tiveram adição de MSG, o esperado é que possuam teores classificados como médios ou baixos.

2. ÁCIDO, SAL OU AMIDA?

Nos tecidos vivos, nos quais o pH prevalente é fisiológico, o ácido glutâmico livre não se encontrará na forma ácida propriamente dita e, sim, em equilíbrio com a forma de sal, ou seja, de glutamato (o aminoácido neutralizado com algum cátion monovalente ou divalente). As quantidades relativas das formas derivadas, como a glutamina livre e/ou peptídica, que possam estar presentes num determinado momento, serão dependentes das enzimas glutamina sintetase e glutaminase.

Desse conjunto de situações, conclui-se que em qualquer organismo sempre haverá um equilíbrio entre as três formas do ácido glutâmico livre. Por extensão, entende-se que os alimentos disponíveis para o homem possuam as três distintas formas do ácido glutâmico livre, além do que já se encontra na forma peptídica e proteica.

3. CONTEÚDO DE ÁCIDO GLUTÂMICO EM ALIMENTOS

Essa questão tem sido explorada desde a década de 1940, quando teve início o desenvolvimento de técnicas analíticas para a determinação de aminoácidos. Tal interesse decorre, provavelmente, do fato que, apesar de esse aminoácido não ser considerado nutricionalmente indispensável, já eram reconhecidas naquela época as suas propriedades sensoriais e funções neurológicas. Hoje, essa tendência natural do homem pela busca de sabores mais apurados poderia ser explicada de forma análoga àquela usada para esclarecer a procura pelo açúcar, o sal ou a gordura nos alimentos. Um dos trabalhos pioneiros foi o de Krebs *et al.* (1948), no qual foram determinados os valores de ácido glutâmico e glutamina em cerca de doze tecidos de ovelhas e pombas. Também nesse estudo foi constatado que as frutas possuem baixos teores de ácido glutâmico.

Os alimentos que se destacam pelos seus teores de ácido glutâmico livre naturalmente presentes são, justamente, aqueles utilizados pela culinária, em virtude da sua capacidade de conferir atributos sensoriais de sabor a pratos e preparações. Por essa razão, são frequentemente empregados na elaboração de molhos, contando-se entre eles o tomate, os cogumelos e os queijos (Giacometti, 1979; Yamaguchi & Ninomiya, 2000). De acordo com Yamaguchi & Ninomiya (2000), os teores de glutamato livre podem variar, por exemplo, entre 1 e 1.680 mg/100 g, para leite de vaca e o queijo *parmegiano reggiano*, respectivamente (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 – Distribuição de ácido glutâmico livre em alimentos de diversas origens, sem especificação da existência da adição de MSG

Tipo de alimento	Teor de ácido glutâmico livre (mg/100 g)	Tipo de alimento	Teor de ácido glutâmico livre (mg/100 g)
Carnes e Aves		Frutas	
Carne bovina	10	Abacate	18
Carne suína	9	Maçã	4
Frango	22	Uva (<i>V. labrusca</i>)	5
Frutos do mar		Kiwi	5
Escalope	140	Queijos	
Caranguejo branco	19	Emmental	308
Caranguejo azul	43	Parmesão reggiano	1.680
Caranguejo rei do Alaska	72	Cheddar	182
Camarão branco	20	Leites	
Alga marinha		Bovino	1
Alga comestível seca	1.378	Caprino	4
Kelp	1.608	Materno	19
Wakame (<i>U. pinnatifida</i>)	9	Molhos de peixe	
Verduras		China	828
Repolho	50	Japão	1.323
Espinafre	48	Molho shoyu	
Tomate	246	China	926
Aspargos verdes	49	Japão	782
Milho	106		
Ervilha verde	106		
Cebola	51		
Batata	10		
Cogumelo	42		
Cogumelo <i>Shiitake</i>	71		

Valores obtidos por método cromatográfico. Não se especifica se houve adição de MSG.

Fonte: tabela adaptada de Yamaguchi e Ninomiya, 2000.

Outro estudo (Baryłko-Pikielna & Kostyra, 2007), tendo como amostra preparações típicas polonesas, especialmente elaboradas para a pesquisa, revelou teores de ácido glutâmico e glutamina presentes num grupo de matrizes como caldo de frango, sopa de cogumelo, beterraba vermelha, sopa de aspargos e purê de batata. Os autores elaboraram suas preparações sem a adição de glutamato e observaram que os produtos podiam ser classificados em várias categorias, de

acordo com as concentrações de ácido glutâmico livre e glutamina. Por exemplo, bases de caldo de galinha podiam conter teores de glutamato semelhantes aos de bases de sopa de verduras e de beterraba roxa (entre 9,2 e 12,3 mg/100 g). Por sua vez, esses produtos continham teores inferiores aos de uma formulação à base de purê de batata (19,3 mg/100 g) ou uma sopa de ervilha (41,1 mg/100 g), ou uma base de aspargos (45,4 mg/100 g).

No mesmo estudo, os teores de glutamina presentes nos produtos beterraba roxa, sopa de verduras e purê de batata (21; 19,4 e 27,3 mg/100 g, respectivamente), foram aqueles que mais se destacaram. Nos demais produtos, os teores de glutamina oscilaram entre 2 e 10 mg/100 g. Para se ter uma ideia da ordem de grandeza das concentrações de ácido glutâmico, em relação aos demais aminoácidos livres, as somatórias totais dos aminoácidos livres em todas as preparações variaram de menos que 100, para o caldo de galinha, a 224 mg/100 g, para a sopa de ervilha verde. Isso nos dá uma indicação da importância relativa que o ácido glutâmico assume quando se considera o conjunto dos aminoácidos livres.

Por meio de levantamento realizado em alguns produtos nos Estados Unidos da América (EUA) e integrantes da União Europeia (UE) (Populin *et al.*, 2007), foi verificado que, dentre os alimentos que não continham glutamato monossódico adicionado, os níveis oscilavam entre 0,3 e 129 mg/100 g, enquanto que, dentre aqueles que tinham o aditivo, a variação era de 92,7 a 341 mg/100 g (Tabela 3.2). Assim, sendo esse um estudo abrangente e relativamente recente, é interessante notar que os molhos para saladas foram classificados entre os alimentos industrializados com conteúdos mais expressivos de glutamato (entre 266 e 753 mg/100 g). É certo, também, que os produtos com maiores teores de glutamato não são os alimentos classificados como básicos, ou seja, não participam da dieta como fonte principal de calorias. Este é o caso de molhos, caldos concentrados e similares, que possuem função acessória na culinária e não constituem a base da alimentação.

Nos países asiáticos os principais alimentos e produtos que contém glutamato são os frutos do mar secos e fermentados, molhos de peixe, feijões e grãos fermentados além de cogumelos e chá, sendo o Japão o país com a maior variedade de molhos de peixe, totalizando maior disponibilidade/oferta de ácido glutâmico. Para o preparo de pratos populares, na Tailândia é comum o uso do processo de fermentação para a obtenção do umami. A fermentação depende principalmente das glutaminases dos micro-organismos presentes nos ingredientes para aumentar o teor de ácido glutâmico livre (Hajeb & Jinap, 2015).

Tabela 3.2 – Conteúdo de glutamato livre em caldos, sopas e bases para sopas elaboradas nos EUA e UE

Produto	Ingredientes	Adição de MSG	GLU (mg/100 g de produto)	GLU (mg/porção)	Glu (% do total de aa livres)
Carne		Não	1,5 ~ 5,1	3,7 ~ 12,7	6,5 ~ 12,1
	Carne, hortaliças	Não	12,7 ~ 40,3	31,6 ~ 101,0	6,5 ~ 9,1
Caldo	Carne, hortaliças, extratos de levedura	Não	27,2 ~ 33,8	68,0 ~ 84,5	19,6 ~ 21,1
	Carne, extratos de levedura	Sim	118,0 ~ 162,0	295,0 ~ 405,0	65,3 ~ 71,6
Sopa	Carne, hortaliças, extratos de levedura, proteína vegetal hidrolisada	Sim	187,0 ~ 242,0	468,0 ~ 606,0	78,5 ~ 80,9
	Hortaliças, extratos de levedura	Não	29,2 ~ 45,5	73,0 ~ 114,0	12,9 ~ 15,8
	Hortaliças	Sim	176,0 ~ 284,0	439,0 ~ 710,0	47,0 ~ 61,1
	Hortaliças, extratos de levedura	Sim	208,0 ~ 221,0	521,0 ~ 554,0	49,4 ~ 59,7
	Carne e hortaliças	Sim	223,0	558,0	59,2
	Carne, hortaliças, extrato de levedura, proteína vegetal hidrolisada	Sim	267,0 ~ 341,0	667,0 ~ 853,0	50,6 ~ 86,6
	Hortaliças	Não	0,3	0,8	8,8
	Hortaliças, proteína vegetal hidrolisada	Não	129,0	322,0	47,7
	Hortaliças extratos de levedura	Não	7,8 ~ 46,5	14,5 ~ 116,0	24,6 ~ 30,3
	Hortaliças, extratos de levedura, proteína vegetal hidrolisada	Não	10,1 ~ 67,7	25,3 ~ 169,0	19,5 ~ 22,5
Base para sopas	Carne	Não	1,3 ~ 2,8	2,2 ~ 3,3	4,3 ~ 5,9
	Carne, extrato de levedura	Não	9,2	18,3	16,0
	Carne, hortaliças, proteína vegetal hidrolisada	Não	87,8	220,0	47,5
	Carne, hortaliças, extrato de levedura, proteína de carne hidrolisada	Não	19,0	38,0	34,9
	Hortaliças	Sim	146,0 ~ 178,0	291,0 ~ 445,0	77,4 ~ 91,6
	Hortaliças, extrato de levedura	Sim	92,7 ~ 339,0	232,0 ~ 848,0	81,1 ~ 87,9
	Hortaliças, extrato de levedura, proteína vegetal hidrolisada	Sim	115,0	288,0	92,7
	Carne, hortaliças, extrato de levedura	Sim	315,0 ~ 323,0	788,0 ~ 808,0	78,8 ~ 86,8

aa = aminoácidos.

Fonte: tabela adaptada de Populin *et al.*, 2007.

É importante perceber que um bom número de produtos alimentícios, sejam preparações artesanais ou industrializadas, ou mesmo ingredientes, os quais tenham sido submetidos a processos de germinação, fermentação ou hidrólise, poderão conter teores mais elevados de ácido glutâmico e glutamina livres. Isso se deve à liberação de enzimas proteolíticas produzidas durante o processo de fermentação. As enzimas liberadas se encarregam de digerir as proteínas e gerar as formas de baixa massa molecular que migram para o meio.

Com relação ao conteúdo de MSG em produtos disponíveis para a comercialização no Brasil, os dados são escassos, restringindo-se aos valores relativos aos cremes e sopas. Existe, ao menos, um estudo brasileiro que relata o conteúdo de MSG em cremes, sopas, sopões e canjões (industrializados), de marcas de amplo consumo, revelando que a variação é grande, podendo abranger teores de 1 até 12 g/100 g de produto (Guimarães & Lanfer-Marques, 2005). Não houve clara distinção entre os tipos de produtos no que tange os conteúdos, a não ser que as maiores concentrações médias se encontravam nas sopas, com 5,5 g/100 g, seguidas dos cremes (média de 4,0 g/100 g) e dos sopões e canjões (média de 2,4 g/100 g). As diferenças podem estar mais relacionadas com a marca do que com o tipo de produto.

No que diz respeito aos teores de ácido glutâmico total, é possível obter uma noção do conteúdo mediante o uso de tabelas de composição de alimentos. Na Tabela 3.3, são compilados os 400 alimentos mais consumidos no Brasil, extraídos de lista com mais de 5.000 itens (microdados da Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF; IBGE, 2002/2003), e seus correspondentes conteúdos de ácido glutâmico total, a qual serve para se ter uma ideia da ordem de grandeza dos conteúdos de ácido glutâmico encontrados nos alimentos mais comumente consumidos no Brasil.

Tabela 3.3 Quantidade de ácido glutâmico total (g/100 g) presente nos 400 produtos alimentícios com maiores conteúdos e mais consumidos no Brasil.

ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)	ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)
Abacate	0,287	Avelã	3,710
Abacaxi	0,079	Bacalhau	9,378
Abóbora moranga crua	0,184	Banana	0,152
Abobrinha verde	0,126	Banana frita com mel	0,170
Açafrão	3,699	Banana seca ou desidratada	0,399
Acelga	0,267	Batata congelada (semipronta)	0,399
Agrião	0,190	Batata doce	0,155
Água de coco	0,165	Bauru (sanduíche)	3,104
Aipo	0,090	Berinjela crua	0,186
Alcatra	2,901	Beterraba	0,428
Alface	0,182	Biscoito cream cracker	3,066
Alfavaca	0,277	Biscoito de maizena	1,618
Algas em conserva	0,199	Biscoito integral de água	2,804
Alho	0,805	Biscoito recheado	1,753
Amaciante de carne	8,668	Brócolis	0,542
Ameixa	0,035	Broto de bambu	0,248
Ameixa preta	0,114	Broto de feijão	0,640
Amêndoa	6,810	Bucho de boi	1,964
Amendoim (em grão) (<i>in natura</i>)	5,390	Cacau	2,948
Amendoim amanteigado	5,422	Cachorro quente	2,385
Amendoim salgado	4,949	Café	2,030
Americano (sanduíche)	3,104	Café de cevada	2,741
Amido de arroz	1,097	Café descafeinado	1,937
Amido de milho	0,053	Caldo de galinha	3,173
Angu de milho (semipronto)	1,754	Caldo de legumes	2,126
Apresuntado	1,934	Camarão	3,465
Apresuntado	1,934	Camarão cozido	3,566
Arroz especial (japonês)	0,029	Camarão em conserva	3,429
Arroz integral cru	1,528	Canela em pó	0,370
Arroz polido	1,288	Caqui	0,104
Arroz pré-cozido	1,466	Carambola	0,148
Arroz pronto	0,464	Caramelo (bala)	0,892
Aspargo em conserva	0,295	Caranguejo	3,155
Atum em conserva	3,961	Carcaça de porco	2,642
Aveia em flocos	3,712	Carne assada ou bife	4,113

ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)	ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)
Carne de boi em conserva	2,728	Couve	0,374
Carne de cavalo	3,116	Couve-flor	0,264
Carne de codorna	2,530	Creme de arroz	1,004
Carne de coelho	3,217	Creme de leite	0,620
Carne de frango	2,012	Creme de milho	0,741
Carne de frango em conserva	3,173	Crepe	1,627
Carne de hambúrguer	2,967	Croissant	2,300
Carne de pato	1,709	Cuscuz	1,367
Carne de peru	3,150	Damasco seco ou desidratado	0,188
Carne de porco defumada	3,327	Diet shake	0,713
Carne de porco em conserva	2,731	Doce à base de leite	0,618
Carne de porco salgada	0,693	Doce de abóbora em pasta	0,133
Carne de veado	3,336	Doce de batata doce	0,089
Carne moída (porco)	2,642	Doce dietético de pêssego	0,061
Carne seca	4,316	Eggsbúrguer	2,180
Carpaccio	4,052	Empada	0,779
Carré de porco	2,642	Ervilha	0,436
Castanha	0,210	Ervilha (em grão)	4,196
Castanha de caju	4,506	Ervilha (em vagem)	0,741
Castanha do pará	3,147	Ervilha e cenoura em conserva	0,307
Cebola	0,258	Espinafre	0,343
Cebola em conserva	0,131	Farinha de amendoim	10,908
Cebola em pó	1,445	Farinha de araruta	0,050
Cenoura	0,366	Farinha de aveia	2,830
Cenoura em conserva	0,233	Farinha de biju	1,300
Cereal matinal	1,370	Farinha de centeio	2,621
Cereja fresca	0,083	Farinha de mandioca	0,206
Cerveja	0,047	Farinha de milho enriquecida	1,754
Cevada em grão	2,741	Farinha de rosca	3,192
Chantilly	0,670	Farinha de soja	6,689
Cheesburguer	3,102	Farinha de trigo	3,479
Chuchu	0,125	Fava (em grão)	4,437
Coalhada	2,706	Feijão (vários tipos)	2,869
Cocada	0,775	Feijão amarelo	3,355
Coco	0,761	Feijão branco	3,561
Cogumelo em conserva	0,207	Feijão café	3,294
Cogumelo fresco	0,343		

ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)	ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)
Feijão carioca	3,595	Leite de búfala	0,477
Feijão mulatinho	3,294	Leite de cabra	0,626
Feijão preto	3,294	Leite de coco	0,524
Feijão rosinha	3,195	Leite de soja	0,487
Feijão roxo	3,862	Leite de soja em pó	0,487
Feijão verde	0,187	Leite desnatado	7,350
Feijão vermelho	3,436	Leite geleificado	0,681
Fermento biológico	1,235	Leite integral	5,512
Fibra de trigo	2,874	Leite semidesnatado	0,782
Fígado de boi	2,612	Leite vitaminado	0,779
Fígado de galinha ou frango	2,093	Lentilha em conserva	1,399
Figo	0,072	Língua de boi	2,053
Figo seco ou desidratado	0,295	Linguiça (varejo)	2,210
Flocos de arroz	1,212	Linguiça calabresa	2,117
Flocos de milho	1,647	Lula	2,208
Frango a passarinho	3,202	Maçã	0,025
Frango assado ou defumado	3,497	Maçã seca ou desidratada	0,137
Fubá de milho	1,300	Macadâmia/nozes	2,267
Gelatina	0,894	Macarrão instantâneo	4,596
Geleia de frutas	0,109	Mamão	0,033
Gemada	0,769	Mandioca	0,206
Gengibre	0,162	Manga	0,060
Gergelim	3,955	Manjericão	0,277
Goiaba	0,333	Manteiga com ou sem sal	0,178
Goiabada	0,042	Margarina com sal	0,179
Granola (flocos de cereal)	1,975	Marisco	1,618
Grão de bico cru	3,375	Massa de pão comum	1,730
Grapefruit branco	0,176	Massa de pão de queijo	1,751
Hortelã	0,358	Massa de quibe, croquete	2,514
Inhame	0,181	Massa de tomate	0,348
Iogurte de qualquer sabor	0,966	Massas prontas	1,832
Kani kama	1,438	Mel de abelha	0,018
ketchup	1,101	Melancia	0,063
Kiwi	0,184	Melão	0,209
Lagosta	3,207	Mexilhão	1,618
Laranja-pera	0,247	Milho (em grão)	1,768
Leite achocolatado	0,664	Milho branco em grão	1,768
Leite condensado	1,656	Milho verde (em espiga)	0,636

ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)	ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)
Milho verde em conserva	0,385	Pasta de amendoim	5,023
Mingau	1,102	Pastel	2,021
Minipizza	3,539	Patê	1,904
Misto quente ou frio (sanduíche)	3,104	Peito de galinha ou frango	3,458
Misturas industriais de pães	1,422	Peito de peru	2,786
Molho barbecue	0,067	Peixe acará	2,896
Molho de pimenta	0,171	Peixe albacora	3,489
Molho inglês	0,067	Peixe anchova	3,038
Morango	0,098	Peixe assado	3,654
Mortadela	2,619	Peixe atum	3,482
Mostarda (condimento)	4,979	Peixe bagre do mar	2,445
Muçarela light	5,677	Peixe bonito	3,284
Nabo	0,130	Peixe cação	3,131
Nata doce ou salgada	0,662	Peixe cavala	2,777
Nectarina	0,034	Peixe chicharro	3,028
Nêspira	0,061	Peixe corvina	2,654
Nuggets de frango	2,114	Peixe curimata	2,996
Ostra	0,711	Peixe de água doce (vários tipos)	2,815
Ovas de peixe	2,670	Peixe de mar (vários tipos)	2,751
Ovo cozido	1,644	Peixe dourado de mar	2,762
Ovo de codorna	1,662	Peixe frito	2,514
Ovo de galinha	1,676	Peixe garoupa	2,892
Ovo de pata	1,789	Peixe linguado	2,813
Ovo de perua	1,742	Peixe macaco	2,163
Palmito em conserva	0,296	Peixe moreia	2,753
Panetone	2,355	Peixe olho de boi	3,455
Panqueca	1,330	Peixe pacu	2,322
Pão de centeio	2,603	Peixe pampo	2,758
Pão de forma	2,920	Peixe pampaterra	2,734
Pão de mel	1,498	Peixe pargo	3,017
Pão de milho	1,625	Peixe pescada	2,903
Pão de queijo	1,022	Peixe sardinha	3,674
Pão diet (industrializado)	2,459	Peixe savelha	2,527
Pão doce	1,732	Peixe serra	2,956
Pão francês	3,287	Peixe tainha	2,889
Pão sírio	3,153	Peixe tilápia	3,213
Páprica	2,363	Peixe vermelho	3,061

ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)	ALIMENTO	Ácido glutâmico (g/100 g produto)
Peixe xerelete	2,996	Requeijão	1,714
Pepino	0,196	Risoto	0,545
Pêra	0,030	Risoto precozido	1,328
Pernil de porco assado	4,084	Rosquinha de coco	0,552
Peru assado ou defumado	4,785	Salada de maionese	0,387
Pêssego	0,056	Salame	1,929
Pêssego seco ou desidratado	0,548	Salgado tipo chips	1,243
Picles	0,095	Salsa	0,249
Pimenta	0,264	Salsicha	1,802
Pimenta malagueta em conserva	0,119	Sanduíche natural	2,440
Pimentão verde	0,194	Sangue de carneiro	2,120
Pipoca doce ou salgada	2,255	Semente de abóbora	4,315
Pistache	3,819	Semolina de trigo	4,571
Pizza	2,852	Shoyo	1,479
Pó de flan	0,618	Siri	3,080
Pó para <i>milk shake</i>	0,639	Soja (em grão)	7,874
Polenta frita	0,741	Sonho (doce)	1,865
Polvo	2,027	Tâmara seca ou desidratada	0,359
Proteína de soja	17,452	Tangerina	0,061
Purê de batata	0,353	Tapioca	0,029
Queijo camembert	4,187	Tempero misto industrializado	2,126
Queijo de soja	1,408	Tomate	0,431
Queijo gorgonzola	5,179	Tomate seco	5,202
Queijo minas	4,458	Toranja	0,197
Queijo muçarela	4,458	Torrada	1,999
Queijo parmesão	8,209	Torresmo	7,625
Queijo provolone	6,235	Torta doce	0,786
Queijo ricota	2,446	Torta Salgada	0,779
Queijo <i>roquefort</i>	3,670	Toucinho de porco defumado	1,707
Queijo suíço	5,704	Trigo (em grão)	4,743
Queijo tipo <i>gouda</i>	6,137	Uva rosada	0,131
Quiabo	0,271	Vieira	2,282
Rabanete	0,157	Vísceras de boi	1,983
Repolho	0,294	Vísceras de porco salgadas	1,983
Repolho em conserva	0,292	Vitamina de frutas	0,703

4. EXPOSIÇÃO DO CONSUMIDOR BRASILEIRO AO GLUTAMATO

Não foram encontradas novas informações relativas às quantidades de ácido glutâmico livre consumido na América Latina. Entretanto, volumes atualizados de glutamato monossódico, assim como os de outros sais, produzidos pelo setor industrial podem continuar a ser usados para obter estimativas indiretas sobre o consumo. Em 2006, a produção mundial de MSG alcançou um volume de aproximadamente 2 milhões de toneladas, das quais apenas uma pequena proporção foi destinada à alimentação animal. Tendo em vista que a China produziu 57% e consumiu 52% desse total, infere-se que a população da América Latina deva ter consumido ao redor de 10%, ou seja, duzentas mil toneladas ao ano (Yokose & Janshekar 2007).

Considerando que a população dos países da América Latina (América do Sul, América Central, México e Caribe) estava na época em de cerca de 679 milhões de pessoas e que 20% da população não tenha conseguido acesso a produtos industrializados, obteve-se uma estimativa de consumo de 368,19 ton/10⁶ habitantes/ano. Isso significa que na época, o consumo médio era de aproximadamente 1 tonelada de MSG por milhão de habitantes, por dia, ou seja, de aproximadamente 1 g/pessoa/dia. Não há dúvida de que o panorama mudou nos últimos 10 anos e é lógico que os perfis de consumo também tenham sofrido alteração.

No Brasil, igualmente nos demais países da América Latina, os dados de consumo de ácido glutâmico livre e seus sais, assim como a glutamina de origem alimentar, aparentemente continuam a ser pouco conhecidos. Entretanto, ao menos para o Brasil, o consumo na forma de ingrediente puro, sem considerar ingredientes do tipo extrato de levedura, poderá continuar a ser estimado utilizando-se os dados das POF, como foi feito com a POF 2002/2003, mas sempre que os teores do nutriente sejam também atualizados mediante análise.

Outra consideração que pode ser importante no futuro é a do estado químico ou físico-químico em que o nutriente se encontra no alimento na hora de ser consumido. Numa visão mais moderna com relação à saúde, o real impacto dos nutrientes acrescentados à dieta poderia ser mais bem avaliado se considerarmos a quantidade total do nutriente, consolidando todas as suas formas num valor único. Essa abordagem, porém, não parece ser aplicável às diversas formas dos glutamatos e o ácido encriptado nas proteínas haja vista a pouca equivalência entre algumas delas.

É evidente que, enquanto se calcula apenas o consumo do ácido glutâmico livre, se exclui automaticamente toda uma massa, nada desprezível, do aminoácido proteico. Embora essa massa seja liberada pelo processo digestivo em pouco mais de uma hora pós-ingestão, é necessário também reconhecer que existe uma separação temporal na utilização, além das diferenças em bioacessibilidade entre as diversas formas, especialmente entre as formas livres e a forma peptídica ou proteica. Conseqüentemente, do ponto de vista nutricional e fisiológico não é possível conceder valor biológico equivalente a todas as formas do aminoácido e, portanto, a quantificação das diversas formas deve ser realizada e relatada separadamente.

Seguindo essa lógica, o cálculo da exposição alimentar ao glutamato deveria ser elaborado considerando-se ao menos duas formas: o glutamato livre e o glutamato não livre. A dificuldade prática, no entanto, está em que os dados sobre composição, encontrados na literatura sobre composição de alimentos processados, nem sempre são apresentados com tal grau de detalhamento.

Apesar das considerações feitas anteriormente e, na ausência de novos dados, continuaremos a depender dos dados da Pesquisa de Orçamento Familiar – POF (IBGE, 2002/2003) que reuniu informações sobre aquisição de todo tipo de bens de consumo, incluindo os alimentos. Esta, constitui a melhor via para obtermos os dados de consumo dos sais do ácido glutâmico ou de qualquer nutriente pela população brasileira, mesmo que, como já dito, os dados do levantamento 2002/2003 não se refiram à ingestão global de alimentos pelas famílias e, sim, apenas aos alimentos que foram comprados e disponibilizados nos domicílios. Portanto, não se espera que os números encontrados utilizando essa base, revelem a real ingestão de sais do ácido glutâmico e seus congêneres, lembrando ainda que os alimentos consumidos fora do domicílio não foram incluídos na pesquisa.

Na Tabela 3.4 são apresentados os mesmos dados da primeira edição sobre consumo de ácido glutâmico total, ou seja, a soma do ácido glutâmico livre (que inclui o MSG) e o proteico, pela população brasileira, de acordo com a região, segundo a POF (IBGE, 2002/2003).

Tabela 3.4 – Valores médios per capita diários de ácido glutâmico total disponibilizado em domicílios brasileiros

Região	N	Disponibilidade média diária de proteína (g)	Disponibilidade média diária de energia (kcal)	Disponibilidade média diária de ácido glutâmico (g)
Norte	105.829	47,38-57,48	1.534,27-1.751,56	12,37
Nordeste	296.378	38,91-68,37	1.510,85-2.000,14	12,22
Sudeste	125.654	36,87-65,52	1.538,48-2.225,21	16,40
Sul	93.512	45,46-65,61	1.744,91-2.079,50	19,86
Centro-Oeste	93.734	35,99-53,83	1.549,70-1.740,00	15,82

Fonte: POF, 2002/2003.

5. BENEFÍCIOS OBTIDOS COM O USO DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO (MSG) NOS ALIMENTOS

O MSG é um aditivo bastante utilizado pela indústria de alimentos ao redor do mundo, assim como na cozinha gourmet e em preparações domésticas. Tal preferência é devida a sua característica de realçar o sabor. Iniciativas têm sido apresentadas na literatura científica com o objetivo de se utilizar o MSG também como substituto parcial do cloreto de sódio (Maluly *et al.*, 2017). Se a aplicação de estratégias, como a anterior, pudesse amenizar o consumo excessivo de sódio e açúcar, poderíamos ver que a lista de benefícios derivados deste aditivo crescerá e, com ela, também a ingestão.

Os benefícios associados ao MSG constituem uma evidência de que o sal monossódico pode ser considerado como um bioativo e, portanto, não é equivalente ao aminoácido proteico e deve ser determinado e relatado em separado. A justificativa biológica para se destacar o consumo do glutamato monossódico, do glutamato proteico ou total, em levantamentos futuros se fundamenta nas funções distintas desempenhadas e os diferentes sítios de ação no organismo que as duas formas do aminoácido possuem. Tal medida de precaução tem por base ao menos um caso já relatado na literatura sobre o desequilíbrio metabólico causado pela ingestão de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs) livres (Newgard *et al.*, 2009; Newgard, 2012). Os estudos metabolômicos desses autores mostraram que a ingestão de BCAAs livres estava associada à resistência à insulina e ao diabetes tipo 2 em animais e humanos. As questões suscitadas por esse e outros trabalhos que se seguiram ainda não foram resolvidas, mas devem ser consideradas para pautar novas pesquisas sobre a adição de aminoácidos livres aos alimentos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

São escassas as pesquisas realizadas na América Latina, e mais especificamente no Brasil, com relação ao consumo do glutamato monossódico (MSG). Com base na produção deste ingrediente, uma estimativa simples aponta para uma ingestão média pela população de, aproximadamente, de 1 g por habitante, por dia. Poucas têm sido as novidades sobre a ocorrência de MSG em produtos alimentícios desde a primeira edição deste capítulo. Interessou aos autores descobrir se as novas tendências do consumidor moderno teriam alterado de alguma forma a demanda por produtos contendo o ingrediente, mas não foi possível encontrar evidências de que a sua produção industrial tenha diminuído ou aumentado. Dessa forma, acreditamos que o consumo *per capita* continue sem muita alteração.

Os produtos alimentícios não modificados existentes no mercado possuem concentrações muito distintas e podem ser classificados como sendo de baixo, médio e alto teor. No primeiro grupo se encontram as frutas, em geral, enquanto integram o grupo de alto teor, cogumelos, alho, tomate, queijos, nozes, algumas carnes, algas marinhas e todos aqueles normalmente utilizados na preparação de molhos, justamente para aproveitar as suas características enriquecedoras do sabor. Classificados no grupo com teores intermediários estão muitas verduras, caranguejos e alguns peixes. Já os produtos industrializados e temperos desidratados são geralmente muito ricos em MSG.

Com o objetivo de expressar de forma mais realista o acesso de uma população ao glutamato alimentar, podia se adotar uma abordagem mais ampla, relatando tanto o glutamato livre, quanto o glutamato não livre, ou seja, o proteico, cujo conteúdo na dieta pode ser 10 vezes maior do que o livre. Entretanto, sendo as funções biológicas essencialmente diferentes para as diferentes formas químicas do aminoácido, não haveria justificativa lógica para relatar os dados sobre consumo de forma conjunta ou global. Este raciocínio parece se refletir no recente posicionamento da EFSA (2017) com relação ao uso de nutrientes como aditivos.

A extração futura de dados das mais recentes POF poderá confirmar ou modificar a tendência de distribuição do consumo do glutamato adicionado ao alimento, que fora detectada pela POF-2002/2003. Através da disponibilidade em lares brasileiros, a pesquisa identificava que nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, as famílias, de forma geral, consumiam mais glutamato adicionado aos alimentos, do que nas regiões Norte e Nordeste.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARYŁKO-PIKIELNA, N. & KOSTYRA, E. “Sensory interaction of umami substances with model food matrices and its hedonic effect”. *Food Qual Prefer.* 18(5): 751-758, 2007.

EFSA, EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. “Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives”. *EFSA Journal.* 15(7): 4910, 2017.

GIACOMETTI, T. “Free and bound glutamate in natural products”. In: FILER, L. J. *et al.* (ed.). *Glutamic acid: advances in biochemistry and physiology.* New York, Raven Press, 1979, pp. 25-34.

GUIMARÃES, C. P. & LANFER-MARQUES, U. M. “Estimativa do teor de fenilalanina em sopas desidratadas instantâneas: importância do nitrogênio de origem não-protéica”. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 41(3): 365-375, 2005.

HAJEB, P. & JINAP, S. “Umami taste components and their sources in asian foods”. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 55(6): 778-791, 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de orçamentos familiares no Brasil - POF, 2002/2003.* Rio de Janeiro, 2004.

KREBS, H. A.; EGGLESTON, L. V. & HEMS, R. “Distribution of glutamine and glutamic acid in animal tissues”. *Biochem J.* 44: 159-163, 1948.

MALULY, H. D. B.; ARISSETO-BRAGOTTO, A. P. & REYES, F. G. R. “Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: Technological and safety aspects”. *Food Sci Nutr.* 5(6): 1039-48, 2017.

NEWGARD, C. B. “Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance”. *Cell Metab.* 15: 606-614, 2012.

NEWGARD, C. B. *et al.* “A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance”. *Cell Metab.* 9: 311-326, 2009.

POPULIN, T. *et al.* “A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate”. *Food Chem.* 104: 1712-1717, 2007.

TENNANT, D. R. “Review of glutamate intake from both food additive and non-additive sources in the European Union”. *Ann Nutr Metab.* 73(suppl 5): 21-28, 2018.

TAPIERO, H. *et al.* “Glutamine and glutamate”. *Biomed Pharmacother.* 56: 446-457, 2002.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “Umami and food palatability”. *J Nutrit.* 130: 921S-926S, 2000.

YOKOSE, K. & JANSHEKAR, H. “Monosodium glutamate”. *SRI Consulting* [periódicos eletrônicos]. Jan. 2007. Disponível em: <http://www.sriconsulting.com/ceh/private/reports/543.6000>. Acesso em 19/4/2008.

PARTE III
ASPECTOS BIOLÓGICOS

GLUTAMATO

ASPECTOS BIOQUÍMICOS

*Teresa Blanco de Alvarado-Ortiz
Alexandra Cucufate Petrushina*

1. INTRODUÇÃO

A bioquímica é uma ciência relativamente nova. Fundamentada nos avanços gerados pela química e a biologia em meados do século XIX, nasce como ciência no século XX, e se desenvolve como uma atividade mais frutífera e útil por seus avanços em nutrição, medicina, farmácia, agricultura e indústria. Estuda os componentes químicos do ser vivo, em particular do homem, e as diferentes mudanças que sofrem em um esquema que chamamos de metabolismo. Este último, entendido como o conjunto de modificações que se produzem nos componentes químicos do ser vivo para garantir suas funções, crescimento, desenvolvimento, nutrição, reprodução, movimentação e outras. Por isso, escrever sobre a bioquímica do glutamato significa colocá-lo nesse esquema metabólico, com a importância que possui para garantir uma fisiologia sã e produtiva em qualquer ser vivo, desde uma bactéria até o homem.

O glutamato, por ser um aminoácido proteico, é incorporado no estudo das proteínas, moléculas que compartilham tanto um papel estrutural como constituintes de órgãos fundamentais (músculo, fígado, pele, tecido conectivo etc.), como um papel especial nas funções vitais, sendo componente de enzimas

digestivas e celulares, hormônios que regulam o metabolismo, anticorpos que nos defendem contra bactérias, vírus e outros.

Assim, o estudo das proteínas compreende áreas variadas como: o ciclo do nitrogênio; síntese de compostos orgânicos nitrogenados; síntese de enzimas digestivas proteolíticas; avaliação da quantidade e qualidade da proteína da dieta, determinação do balanço nitrogenado; substituição, vida média e valor biológico das proteínas; vias metabólicas envolvidas na utilização do esqueleto de carbono dos aminoácidos para produzir energia; mecanismos através dos quais os organismos liberam produtos tóxicos derivados do catabolismo do nitrogênio; transporte de aminoácidos; requerimentos proteicos; aminoácidos essenciais e não essenciais e a biossíntese deles. Tudo isso ajuda a entender o estudo da bioquímica do glutamato.

Sobre a qualidade dos 20 aminoácidos usuais da dieta, Rose (1938) estabeleceu o conceito de aminoácido essencial, ou indispensável, para 8 deles e não essencial para os 12 restantes. Essa classificação tem como base o fato de que o homem sintetiza os não essenciais através de vias metabólicas curtas, utilizando poucas enzimas, e a partir de restos ou resíduos de outros aminoácidos ou intermediários do metabolismo de hidrocarbonetos. Os aminoácidos essenciais, por requererem muitas enzimas e grandes vias metabólicas, não são sintetizados e devem ser consumidos diariamente.

Outros autores no campo da nutrição (Mataix & Navas, 2005; Byrd-Bredbenner *et al.*, 2009) apresentam a classificação que Rose (1938) estabeleceu como pouco afortunada, pois induz a uma investigação que enfoca muito mais aminoácidos essenciais, ao poder ser interpretada de que o “não essencial” é sinônimo de “pouco importante”. No entanto, a importância de cada um dos aminoácidos não essenciais pode ser resumida conforme a seguir:

- Alanina: intervém no metabolismo da glicose.
- Arginina: participa principalmente da conservação do equilíbrio de N_2 e de CO_2 , no ciclo da ureia, na produção do hormônio de crescimento e está envolvida no crescimento de tecidos, músculos, manutenção e reparação do sistema imunológico.
- Asparagina: comprometida com processos metabólicos do sistema nervoso central.
- Ácido aspártico: participa de processos desintoxicação hepática já que, com outros aminoácidos, forma moléculas capazes de absorver toxinas

da corrente sanguínea. Através de reações de transaminação com cetoácidos, forma aminoácidos para a síntese de proteínas.

- Cistina: participa de atividades desintoxicantes formando derivados mercaptúricos; participa também na conversão de cianetos em tiocianatos. Intervém na síntese da insulina.
- Cisteína: junto à L-cistina, trabalha na desintoxicação, como antagonista de radicais livres. Intervém para manter o cabelo saudável, por seu conteúdo em enxofre.
- Tirosina: é um neurotransmissor direto, trabalhando em combinação com outros aminoácidos.
- Prolina: determinante na formação de colágeno no tecido conjuntivo, na reparação e manutenção do sistema muscular e dos ossos.
- Glicina: componente de numerosos tecidos, estruturalmente o menor dos aminoácidos, por isso participa da formação de diversos compostos nitrogenados.
- Glutamina: intervém em numerosas reações, como prover de glicose as células do cérebro.
- Glutamato: é um nutriente estrutural na formação de centenas de proteínas; substrato doador de energia; é uma molécula excitatória e também participa como regulador enzimático.

Por isso, resulta apropriado que importantes textos como Champe *et al.* (2004) e Villavicencio (2007) valorizem os aminoácidos não essenciais. Mais ainda, Reeds *et al.* (1996), destacam que 12 dos 20 aminoácidos, justamente os não essenciais, são necessários, indispensáveis; conseqüentemente, o homem deve sintetizá-los a partir de precursores orgânicos e restos de outros aminoácidos, todos de indiscutível importância.

2. METABOLISMO DO GLUTAMATO: GENERALIDADES

Mathews & Van Holde (2000) escreveram em seu livro de Bioquímica:

[...] o glutamato é talvez o mais ativo de todos os aminoácidos quanto ao número de suas funções metabólicas.

Coincide com isso o expresso por Vernon & Ajami (2000):

[...] poucas moléculas de importância biológica parecem ter tantos papéis nas funções do corpo como o glutamato livre; é agente que dá sabor à comida, combustível

metabólico no trato gastrointestinal, aminoácido constituinte de proteínas, esqueleto de carbono que dá energia especialmente à placenta e ao enterócito, participante na desintoxicação da amônia hepática, neurotransmissor no cérebro, entre outras funções.

O glutamato é crucial pelos seguintes motivos:

- a) É uma molécula chave na geração da percepção do gosto umami em dezenas de alimentos industrializados, como sopas, caldos, linguiças, molho de tomate, conservas de peixe, biscoitos, temperos, alimentos preparados, visto que na forma de aminoácido livre é utilizado como aditivo alimentar, codificado de acordo com o *Codex alimentarius* (Codex, 1999) como E621. É obtido por biotecnologia, a partir da glicose obtida da hidrólise de sacarose da cana-de-açúcar, ou outras fontes vegetais ricas em amido. Estima-se que o consumo médio do aminoácido livre como aditivo na dieta possa variar entre 0,5 e 2 g por dia.
- b) É uma molécula chave na geração da percepção do gosto umami nos alimentos que contêm naturalmente o aminoácido na sua forma livre, ou que liberam glutamato por processos como a fermentação. Nesses casos, o glutamato aumenta em concentração, pois é o resultado da hidrólise de proteínas ocasionada por proteases de micro-organismos adicionados, como no queijo parmesão, molho de soja (*sillao*) ou de peixe (*garum*), *tocosh* de batata (alimento tradicional andino preparado a partir da polpa de batata fermentada), entre outros. Na Tabela 4.1 é apresentado o conteúdo de glutamato livre em alguns alimentos, de acordo com as tabelas de Composição Padrão de Alimentos Japoneses (*Science and Technology Agency of Japan*, 1986) e a Composição de Aminoácidos em Alimentos da FAO (1981).

Tabela 4.1 – Glutamato livre em alimentos (expresso em mg/100 g)

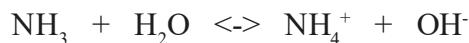
Alimento	Alimento	Alimento
Tomate maduro 246	Alho 99	Leite de vaca 2
Batata 180	Brócolis 30	Leite materno humano 22
Couve 50	Acelga 94	Queijo Cheddar 182
Alface 46	Aspargos 49	Carne de vaca 33
Couve-flor 46		Carne de porco 23

Fonte: *Science and Technology Agency of Japan* (1986); FAO (1981).

- c) Pode-se encontrar como aminoácido livre ao se consumir certos alimentos submetidos à degradação parcial de suas proteínas, assim como na maturação de alguns vegetais como tomate, lentilhas, brócolis, cogumelos, aspargos, batatas, alho e couve (Ninomiya, 1998).
- d) Como aminoácido que compõe a estrutura de proteínas da dieta. Segundo a FAO (1981), o consumo diário de proteínas deve variar entre 0,8 a 1 g/kg p.c. Essas proteínas são digeridas até liberar aminoácidos, sendo que o glutamato e o aspartato são os que estão em maior proporção na maioria dos alimentos.

No organismo, o glutamato cumpre um papel central no metabolismo de aminoácidos, sendo o único aminoácido sintetizado completamente a partir do íon amônio (NH_4^+) produzido por plantas e bactérias através da aminação do α -cetoglutarato, convertendo o N_2 de sua forma inorgânica (íon amônio) para uma forma orgânica (α -amino).

A amônia (NH_3) e o íon amônio (NH_4^+) são compostos nitrogenados diferentes, mas altamente inter-relacionados. O fator determinante na proporção de cada uma dessas espécies na água é o pH, embora a força iônica e a temperatura também influenciem. A equação química que orienta a relação entre amônia e íon amônio é apresentada a seguir:



Quando o pH está baixo, o equilíbrio da reação muda para a direita e quando o pH está alto, ele vai para a esquerda.

Além disso, o glutamato cumpre outras funções básicas, tais como:

- Ser o único aminoácido no homem e mamíferos que se desamina a uma velocidade considerável.
- Intervém na produção da ureia no fígado, cumprindo várias funções.
- Ser um participante obrigatoriamente das reações de transaminação na síntese de aminoácidos não essenciais.
- Ser precursor dos aminoácidos não essenciais proteicos: glutamina e prolina; e dos não proteicos: ornitina e ácido γ -amino butírico.
- Atuar como verdadeiro curinga na troca de energia entre os tecidos.
- Ser um verdadeiro elo entre os ciclos da ureia e do ácido cítrico.

Apesar de o glutamato ser consumido como aminoácido através das proteínas de muitos alimentos, em que justamente está em maior quantidade em relação aos outros aminoácidos, o homem o sintetiza para poder incorporá-lo em numerosos processos orgânicos. Exemplo desses processos são: a síntese de proteínas por ser um aminoácido proteico, o metabolismo anabólico em nível muscular, o transporte de nitrogênio entre os diferentes órgãos e por fornecer energia às células do estômago, intestino, pâncreas e baço, em até 80% a 90%. Além disso, o glutamato é precursor de outras moléculas de importância biológica como a glutatona, tripeptídeo com função antioxidante e transportador de aminoácidos; a prolina, aminoácido relacionado com a formação do colágeno; e o carboxiglutamato, um fator de coagulação sanguínea.

Nas últimas quatro décadas foram escritas três importantes publicações sobre o glutamato: a primeira, Filer *et al.* (1979), *Glutamic acid: Advances in Biochemistry and Physiology*. Essa publicação trata dos aspectos sensoriais do ácido glutâmico, suas funções metabólicas no corpo humano, seu papel como neurotransmissor no sistema nervoso central e a segurança de uso do glutamato monossódico como aditivo alimentar. A segunda, em 1998, corresponde ao *International Symposium on Glutamate* (ISG, 2000), realizado em Bergamo, Itália, com temas sobre o metabolismo do glutamato, componente chave na economia da energia e do nitrogênio de alguns órgãos, como a placenta, fígado, trato gastrointestinal e cérebro; e também sobre umami, gosto do glutamato com seus receptores na cavidade bucal e seu papel como neurotransmissor no sistema nervoso central. A terceira, Albarracín *et al.* (2016), *L-Glutamato: um aminoácido essencial para as funções sensoriais e metabólicas*, com temas de revisão e atualização do glutamato como molécula que gera o gosto umami, sua função no metabolismo celular dos diferentes sistemas e seu papel como neurotransmissor.

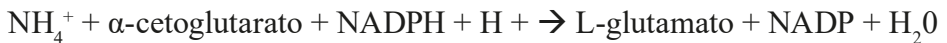
3. SÍNTESE DO GLUTAMATO A PARTIR DO NITROGÊNIO (N_2) DO MEIO AMBIENTE

No contexto do estudo do glutamato, dá-se importância especial para sua síntese a partir do nitrogênio do ambiente, sendo o único aminoácido sintetizado completamente a partir do íon amônio produzido por plantas e bactérias por aminação do α -cetoglutarato, convertendo o nitrogênio (N_2) de sua forma inorgânica (íon amônio), para a forma orgânica (α -amino). Para obter suas proteínas e outros compostos nitrogenados, homens e animais devem consumir alimentos vegetais porque eles convertem o nitrogênio (N_2) atmosférico em moléculas disponíveis para sua alimentação.

A fixação do nitrogênio (N_2) atmosférico – somado ao de nitritos e nitratos – é realizada por enzimas nitrogenases, próprias de algumas bactérias do solo. Exemplos dessas bactérias são: *Azobater*, *Klebsiella*, *Clostridium*, cianobactérias, especialmente aquelas do gênero *Rhizobium*, as quais vivem de forma simbiótica com raízes de alguns vegetais, como leguminosas tais como feijões, grãos-de-bico, favas, lentilhas, ervilhas, alfafa e soja; também em cereais como arroz, trigo, milho, aveia, centeio, trigo sarraceno; um pouco menos em alguns tubérculos e raízes como batata, batata-doce, mandioca; e em pequenas quantidades em mais de 200 vegetais, neles formando íons amônio. Esses vegetais, que ao serem consumidos diretamente pelo homem, ou indiretamente (através do consumo de alimentos como carne, ovo e leite, produzidos e/ou obtidos de animais que por sua vez se alimentaram com os vegetais), lhe fornecem proteínas.

As enzimas nitrogenases, das mencionadas bactérias, são as que fixam o nitrogênio, transformando-o em íon amônio, o qual, com um cetoglutarato, por ação da glutamato desidrogenase, com a coenzima NADPH, forma o L-glutamato, conforme equação a seguir:

Transformação de amônia em glutamato



Assim como o nitrogênio é o elemento mais abundante na natureza, é também um dos mais inertes. Assim, sua incorporação nas biomoléculas requer redução enzimática de N_2 (nitrogênio) a NH_3 (amônia) ou NH_4^+ (amônio), com um alto custo energético. Calcula-se que, para cada mol de N_2 reduzido a NH_3 , se gasta 16 moles de ATP.

O nitrogênio do ambiente, presente como nitrogênio (N_2), nitritos (NO_2^-) e nitratos (NO_3^-), é utilizado pelas bactérias anteriormente citadas e que geralmente são encontradas nas raízes de leguminosas e cereais, as quais transformam essas moléculas em aminoácidos, graças a um conjunto de enzimas detalhadas na Figura 4.1, formando finalmente proteínas.

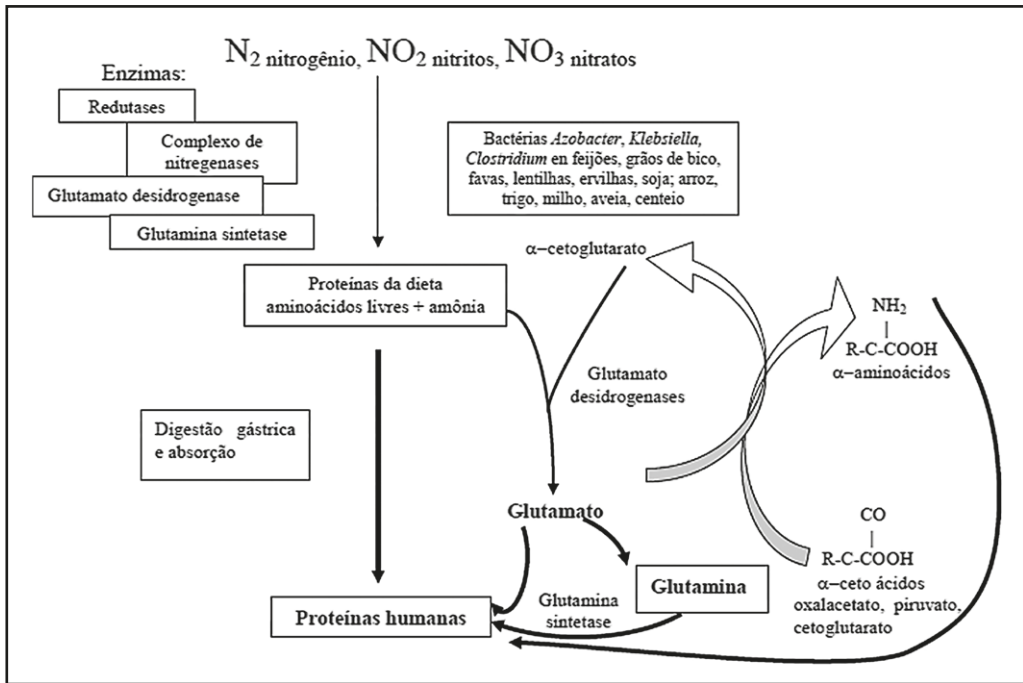


Figura 4.1 – Formação de aminoácidos e proteínas em vegetais a partir da fixação de nitrogênio do ambiente por micro-organismos.

Fonte: figura preparada pelos autores.

Todos os micro-organismos capazes de converter nitrogênio em amônia o fazem por meio do complexo enzimático da nitrogenase. Este complexo é composto por duas metaloproteínas, a ferroproteína (proteína-Fe) e a molibdoferroproteína (proteína-MoFe). A conversão de nitrogênio em amônia pelo complexo da enzima nitrogenase ocorre por meio de uma sucessão de reações de transferência de elétrons (Espinosa, 2017).

Além disso, a planta proporciona às bactérias ATP como fonte energética e uma fonte redutora com elétrons de alto potencial, ferredoxina, produzida nos cloroplastos, seguindo os seguintes passos:

1. A ferredoxina reduzida doa seus elétrons ao componente ferro-proteína.
2. O ATP se une à redutase, logo se hidrolisa e a redutase se dissocia.
3. Ocorre a fixação de nitrogênio pela nitrogenase, ocorrendo sua imediata redução.
4. A ferredoxina se regenera pela NADH-ferredoxina redutase ou desidrogenase pirúvica.

Todos os organismos assimilam amônia através de reações que principalmente levam a glutamato, glutamina e carbamoil fosfato. Desses compostos, o carbamoil fosfato serve unicamente para sintetizar arginina, ureia e os nucleotídeos de pirimidina. Não entanto, o glutamato e a glutamina se formam com a maioria do nitrogênio da amônia, derivando-se deles outros compostos nitrogenados através de duas reações: desaminação e transaminação.

4. METABOLISMO DO GLUTAMATO EM NÍVEL HEPÁTICO

Yang & Brunengraber (2000) qualificaram o glutamato como “uma janela do metabolismo intermediário”, baseados em experimentos com isótopos. Esse trabalho permitiu o bom rastreamento do glutamato desde que ingressou no organismo, como aminoácido livre, liberado por hidrólise proteica ou sintetizado pelo próprio organismo, segundo as necessidades fisiológicas. Os resultados indicaram que o glutamato participa em importantes processos metabólicos no fígado, tais como:

1. Reações de transaminação e desaminação;
2. Ciclo da ureia;
3. Atua como elo entre os ciclos de Krebs e da Ureia;

4.1. Reações de transaminação e desaminação

O glutamato sofre degradação oxidativa e entrega o nitrogênio do seu α -amino por duas vias enzimáticas: a transaminação e a desaminação.

A transaminação é o processo em que aminotransferases, enzimas que atuam em todos os aminoácidos exceto em treonina e lisina, transferem reversivelmente o grupo α -amino de um aminoácido para o grupo carbonila de um dos seguintes cetoácidos: cetoglutarato, oxaloacetato e piruvato. Os produtos da reação são o α -cetoácido do aminoácido correspondente e um dos três aminoácidos: glutâmico, aspártico e alanina, respectivamente. Por exemplo, o aminoácido glutamato transfere seu grupo α -amino a um cetoácido como pirúvico o transformando no aminoácido alanina e ficando como α -cetoglutarato (Figura 4.2).

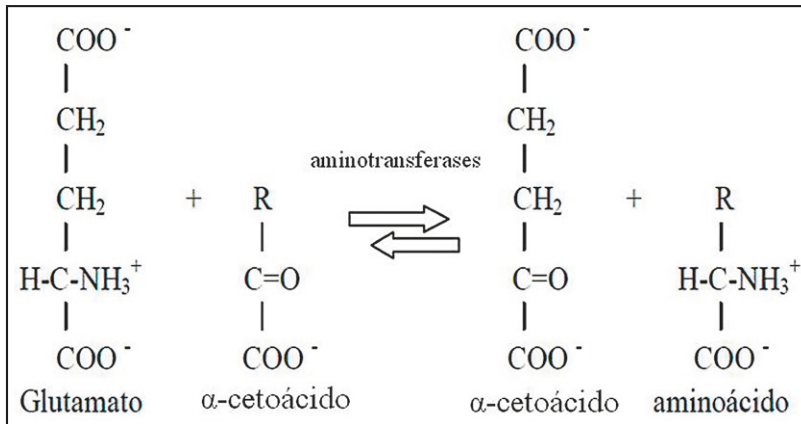
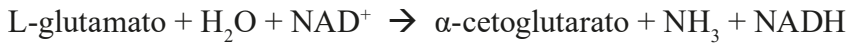


Figura 4.2 – Reação de transaminação entre um aminoácido e um α -cetoácido.

Fonte: figura adaptada de Ortiz Ureta, 2012.

As transaminases, em sua maioria, requerem o α -cetoglutarato, que é uma estrutura do Ciclo de Krebs com 5 carbonos, que recebe o grupo amino transferido. Essas enzimas são específicas para os substratos sobre os quais atuam. No homem, são de especial importância no soro, para fins de diagnóstico, a glutamato oxaloacetato aminotransferase sérica (GOT) e a glutamato piruvato aminotransferase sérica (SGPT). Outra transaminase, a alanina transaminase, atua no músculo, onde o piruvato é transaminado a alanina. Assim, uma nova rota é gerada para transportar o nitrogênio do músculo ao fígado, onde transfere o íon amônio ao α -cetoglutarato e regenera piruvato. O piruvato pode ser direcionado para a via da gliconeogênese. Esse processo é chamado de ciclo da alanina-glicose.

Para Villavicencio (2007) e Herrera (1993), graças às transaminases, os grupos α -amino de vários aminoácidos são recolhidos somente em um, o glutamato. Este aminoácido é o produto final da maioria das transaminações. Assim, o glutamato serve de doador específico dos grupos aminos para diversas reações que os convertem em produtos de excreção. No homem e demais mamíferos, a liberação dos grupos amino pelos aminoácidos ocorre no citosol, onde a aspartato transaminase forma glutamato que ingressa na mitocôndria por transporte específico da membrana mitocondrial. Posteriormente, o glutamato por desaminação oxidativa, graças à glutamato desidrogenase que utiliza nucleotídeos de pirimidina como coenzimas, é transformado em ácido α -iminoglutárico que, ao se hidratar, se transforma em α -cetoglutárico e amônia. Esta última será a fonte do primeiro nitrogênio da ureia. A reação é descrita a seguir.



A desaminação é o processo no qual o glutamato libera amônia, um composto tóxico, que finalmente é transformado em ureia, ácido úrico ou persiste como amônia, conforme a espécie. Em homens e mamíferos ureotélicos (os que eliminam ureia), o glutamato por desaminação doa seu grupo amino ao oxalacetato, molécula de quatro carbonos, formando aspartato e liberando 1 átomo de nitrogênio, o qual será o segundo nitrogênio da ureia.

4.2. Ciclo da Ureia

A ureia é um composto químico nitrogenado não tóxico formado através do Ciclo da Ureia. Esse conjunto de reações ocorre, principalmente, no fígado de onde a ureia é transportada pelo sangue aos rins. Nos rins, o sangue é filtrado e a ureia é depositada na urina e posteriormente excretada. O ciclo da ureia foi o primeiro ciclo metabólico estudado, em 1932, por Hans Krebs e Kurt Henseleit.

A ureia é o produto residual que elimina aproximadamente 95% do nitrogênio que sobra, principalmente da decomposição das proteínas do corpo e daquelas ingeridas através dos alimentos. Existe ureia nos excrementos de peixes e de outras espécies.

Um homem adulto elimina, pela urina, 20 a 28 g de ureia por dia, a qual se encontra em menor proporção no sangue, fígado, linfa e em fluidos serosos. A ureia se forma a partir da amônia que resulta da desaminação dos aminoácidos formados por hidrólise das proteínas corporais, ou ingeridas pela dieta. Os aminoácidos desaminados, livres do grupo amino, ficam como esqueletos de carbono que servem às necessidades energéticas do organismo.

A amônia, excretada na forma de íon amônio, mantém o pH da urina entre 4 e 8, e suas concentrações no soro normal estão na faixa de 20-40 mM. Um incremento da amônia circulante próximo a valores de 400 mM provoca alcalose e toxicidade.

Montgomery *et al.* (1992), Horton *et al.* (1997), Lozano (2001) e Fernández Velasco (2002) coincidem em que a formação da ureia no fígado ocorre através das seguintes etapas (Figura 4.3):

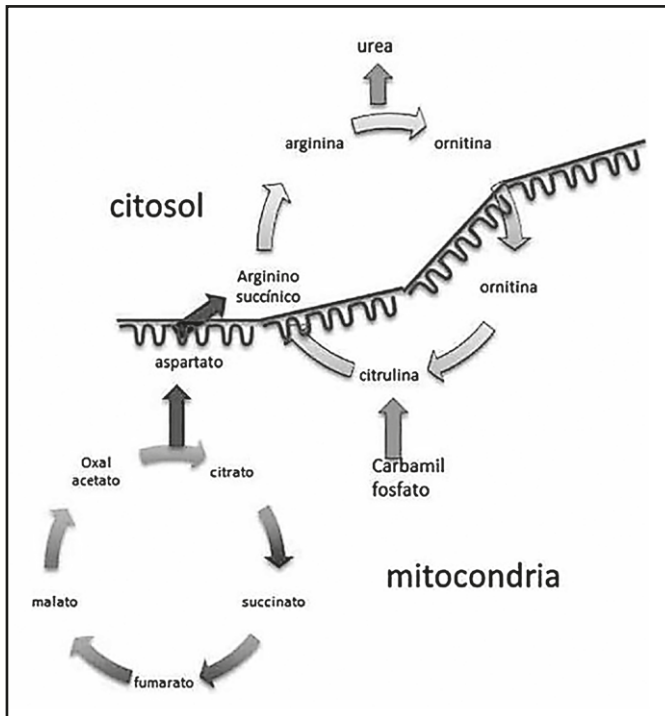


Figura 4.3 – Ciclo da ureia.

Fonte: figura preparada pelos autores.

1. O glutamato livre, ou o que se forma a partir de outros aminoácidos por transaminação, forma amônia (fonte de nitrogênio) através da reação de desaminação oxidativa catalisada pela glutamato desidrogenase. A amônia, altamente tóxica, é conduzido dos diferentes tecidos para o fígado através do sangue na forma de glutamina, graças à ação da glutamina sintase. No fígado, a glutamina é hidrolisada pela glutaminase liberando amônia. A molécula de amônia se une ao CO_2 proveniente do bicarbonato que é produzido pela respiração celular, com consumo de 2 ATP. Essa é uma reação essencialmente irreversível catalisada pela sintetase de carbamoilfosfato que leva à formação de carbamoil fosfato na matriz mitocondrial do hepatócito.
2. Formação de citrulina a partir da transferência do grupo carbamoil do carbamoil fosfato à ornitina através de uma reação catalisada pela enzima ornitina trans carbamoil. A ornitina é um aminoácido não proteico que se regenera em cada ciclo, uma vez liberada da ureia.

3. A citrulina, aminoácido não proteico, uma vez formada se transporta ao citoplasma, onde se une ao aspartato, que dará o segundo nitrogênio à ureia para formar o argininosuccinato. Essa é uma reação reversível catalisada pela arginina succinato sintase. O aspartato é produzido a partir do glutamato por transaminação com oxalacetato por meio da aminotransferase do aspartato.
4. O catabolismo do argininosuccinato, pela argininosuccinato liase, libera fumarato e arginina, precursor imediato da ureia.
5. A conversão de arginina em ornitina e ureia ocorre graças à arginase, reação que ocorre no citosol do hepatócito. Em seguida, a ureia se difunde ou sai do fígado ao sangue, e vai aos rins para ser eliminada pela urina. A ornitina volta para as mitocôndrias para se unir ao outro carbamoil fosfato e iniciar um novo ciclo da ureia.

Então, o ciclo da ureia sinteticamente pode ser descrito conforme a seguir:



Conforme apresentado na Figura 4.3, no ciclo da ureia o glutamato é precursor dos seguintes compostos:

1. N-acetilglutamato.
2. Ornitina, aminoácido não proteico.
3. Arginina.
4. Ácido aspártico.

4.2.1. Glutamato precursor de N-acetilglutamato

O N-acetil glutamato é sintetizado a partir de glutamato e acetil CoA, que ativa alostericamente a carbamoil fosfato sintase I para iniciar o ciclo da ureia. Ao aumentar a velocidade de degradação dos aminoácidos por transaminação, aumenta a concentração de glutamato e este estimula a síntese de N-acetilglutamato. O aumento de N-acetilglutamato se traduz em um incremento da velocidade de síntese da ureia o qual requer, por sua vez, um aumento na concentração de amônia, assumindo a cinética de Michaelis-Menten.

Nelson & Cox (2021) afirmam que o ciclo da ureia se regula pelo nível de carbamoil fosfato sintetase I e pela quantidade tanto das enzimas do ciclo, como das proteínas da dieta.

Onde o glutamato sintetiza N-acetilglutamato?

N-acetilglutamato é sintetizado nas mitocôndrias do hepatócito. O glutamato intramitocondrial livre e/ou o glutamato liberado da glutamina, graças à ação da glutaminase hepática, liga-se à acetil CoA, sintetizando N-acetilglutamato. Cabe mencionar que a enzima glutaminase hepática é ativada ao se elevar a concentração de amônia no fígado.

Berg *et al.* (2015) observa que a concentração de N-acetilglutamato pode mudar rapidamente para facilitar o fluxo através do ciclo da ureia. Essas variações estão reguladas tanto pela arginina que ativa a N-acetilglutamato sintetase, como pelo aumento de glutamato a partir da glutamina, ao se ativar a glutaminase hepática por seu próprio produto, a amônia.

O N-acetilglutamato e NADPH + H⁺ formam o γ -semialdeído, a partir do qual se forma diretamente a ornitina por transaminação do grupo aldeído. A ornitina participa no ciclo da ureia formando arginina e ureia.

4.2.2. Glutamato precursor da ornitina, aminoácido não proteico

A ornitina é um aminoácido não proteico de cinco carbonos e é muito importante no ciclo da ureia pelos seguintes motivos:

- O primeiro carbono está unido a uma carboxila e a um grupo amino, seguido de três metilenos, o último deles, unido a outro grupo amino.
- É sintetizada através da redução do grupo γ -carboxila do glutamato, gastando energia.
- Sofre uma descarboxilação para formar 1,4-diaminobutano, que recebeu o desagradável nome de putrescina, devido a que foi isolado pela primeira vez da carne decomposta.
- A putrescina é um composto muito similar à cadaverina, produto da descarboxilação da lisina e da histamina, produzida por sua vez por descarboxilação da histidina.

Como o glutamato forma ornitina?

De acordo com Jones (1985), um grupo carboxila do glutamato com o ATP forma acilfosfato, o qual é reduzido pelo NADPH para formar diretamente uma estrutura que está em equilíbrio com a δ -pirrolidina-5-carboxilato. Essa molécula produzirá por redução uma prolina, chamada glutamato γ -semialdeído, que é transaminado para formar ornitina em uma reação catalisada pela ornitina δ -aminotransferase. Ornitina que no ciclo da ureia se transformará em arginina.

4.2.3. Glutamato, precursor da arginina

A arginina é um aminoácido não essencial, importante pelos seguintes motivos:

- Sua estrutura leva na cadeia lateral o grupo guanidina, com três nitrogênios.
- Permite sintetizar óxido nítrico (NO), graças à enzima NO sintase. Esse composto se produz em áreas do encéfalo e se vincula com a função neurotransmissora do glutamato.
- Como precursora de óxido nítrico, poliaminas e outras moléculas de importância biológica, a arginina desempenha um papel crucial no metabolismo, sendo essencial para o desenvolvimento fetal e neonatal.
- Condicionalmente, a arginina é essencial para os adultos já que ajuda a manter a capacidade reprodutiva, as funções imunes, gastrointestinais, hepática, cardiovascular e pulmonar, assim como melhorar os processos de reparo de tecidos danificados.
- Em suplementação com arginina, aumenta o peso do timo e dos linfócitos, assim como as reações de hipersensibilidade retardada. Além disso, aumenta a capacidade linfoproliferativa dos linfócitos frente a agentes mutagênicos e a atividade das células *natural killer* (NK).
- A arginina pode sintetizar-se *de novo*, principalmente no fígado e, em menor proporção, nos rins e linfócitos.
- Uma dieta sem arginina diminui a taxa de crescimento longitudinal, aumenta os níveis de glucagon no sangue e incrementa a degeneração hepática em vários modelos animais.
- As soluções de nutrição parenteral isentas de arginina causam hiperamonemia, acidose metabólica e coma em crianças e adultos com função renal normal ou alterada.

- Os requerimentos de arginina são altos em condições de elevada degradação proteica, como sepsia e trauma. Por esse motivo, se for necessário, a arginina pode ser substituída, ao menos parcialmente, por ornitina, um de seus derivados metabólicos.
- Tanto a arginina como a ornitina são precursores de óxido nítrico (NO), o qual participa nas respostas adaptativas do intestino a fatores genéticos e ambientais.
- Melhora a função endotelial, cujo efeito está mediado pela síntese de NO catalisada pela enzima NO sintase e por reação direta da arginina com o peróxido de hidrogênio. Consequentemente, mantendo-se os níveis de arginina se pode limitar a aterogênese.
- Atua ativando a síntese de N-acetilglutamato, a partir do glutamato e da acetil-CoA.

Como o glutamato gera arginina?

1. O glutamato, ao acetilar seu grupo α -amino, forma N-acetilglutamato, como já indicado. Dessa forma, atua como precursor do γ -semialdeído do ácido glutâmico, responsável pela não ocorrência da reação de ciclização da arginina.
2. O N-acetilglutamato se transforma em ornitina por uma fosforilação, uma transaminação e uma desacetilação. Em mamíferos, a conversão de ornitina em arginina ocorre em quantidade insignificante. A causa desse fenômeno é a rápida ruptura da arginina, que ocorre no ciclo da ureia, onde a arginase libera ornitina e ureia, como afirmam Champe *et al.* (2004).

4.3. Transformação de prolina e arginina em glutamato no fígado

Dois dos três átomos de nitrogênio (N) do grupo guanidínico da arginina derivam do ácido glutâmico. O terceiro tem sua origem no carbamoil fosfato. Portanto, esse nitrogênio pode também derivar do glutamato pela ação da glutamato hidrogenase ou a partir da glutamina via glutaminase. Por esse motivo, a carbamoil fosfato resulta ser uma molécula importante para a síntese da arginina. As duas enzimas, carbamoil fosfato sintetase I e carbamoil fosfato sintetase II, principais catalisadoras da formação de arginina, se encontram no fígado dos mamíferos. Dessas, a primeira, carbamoil fosfato sintetase I, encontra-se na mitocôndria do hepatócito e aparentemente não está em outros

tecidos. Utiliza, unicamente, íon amônio como doador de nitrogênio e requer ácido N-acetil-L-glutâmico como um efetor alostérico positivo. Sua principal função é proporcionar carbamoil fosfato para a síntese da arginina. A regulação por retroalimentação da síntese de carbamoil fosfato se efetua porque a arginina atua como um efetor negativo para a formação do ácido acetil-glutâmico e este estimula a formação do carbamoil fosfato. A segunda enzima, carbamoil fosfato sintetase II, necessita de glutamina como doador de N, sendo independente do N-acetilglutamato.

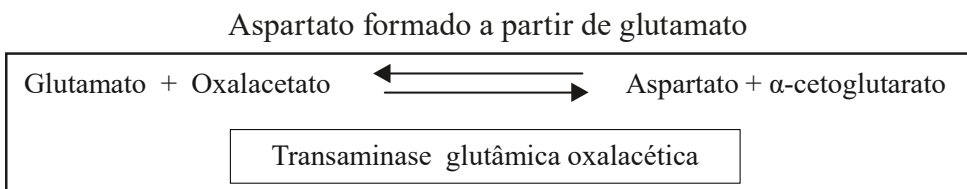
4.3.1. Glutamato, precursor do ácido aspártico

White *et al.* (1978) descreveram as características do ácido aspártico, as quais foram posteriormente confirmadas por Champe *et al.* (2004). Essas características são descritas a seguir:

- O ácido aspártico, aminoácido *não essencial*, é monoamino dicarboxílico de 4 carbonos.
- Possui um grupo carboxila num extremo de sua cadeia lateral.
- É sintetizado a partir do glutamato por transaminação com oxalacetato.
- Sintetiza asparagina, sua amida, graças à asparagina sintetase.
- Junto a outros aminoácidos, atua como componente de várias proteínas.
- Unido à citrulina, doa o segundo nitrogênio à ureia, via arginosuccinato e arginina.
- Por transaminação ou desaminação por aspartase, forma fumarato e amônia.

Como se forma aspartato a partir do glutamato?

O glutamato se une ao oxalacetato através da reação catalisada pela transaminase glutâmica oxalacética, formando aspartato e α -cetogluturato, como descrito a seguir:



O aspartato também é sintetizado a partir da asparagina por ação da asparaginase.

4.4. Glutamato, elo entre os ciclos de Krebs e da ureia

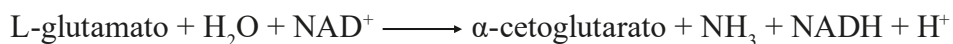
O glutamato atua como verdadeira conexão entre o ciclo do ácido cítrico ou de Krebs e o ciclo da ureia, fornecendo energia necessária para o metabolismo em determinados tecidos.

A função energética que cumpre o glutamato, a partir do metabolismo de seu esqueleto carbônico após trabalhar como aminoácido proteico, é a seguinte:

- Sintetizar aminoácidos não essenciais como a glutamina, prolina, aspartato, alanina e arginina.
- Sintetizar aminoácidos não proteicos como a ornitina e citrulina.
- Sintetizar diversas proteínas, hormônios peptídicos, enzimas, anticorpos, membranas, ao se unir com outros aminoácidos essenciais e não essenciais.

Logicamente, tal doação de energia é cumprida pelo glutamato à luz dos dois processos bioquímicos, já detalhados, dos quais participa ativamente: (i) a transaminação, na qual proporciona seu grupo amino por ação da glutamato transaminase ao oxalacetato do Ciclo de Krebs, convertendo-o em aspartato e formando α -cetoglutarato; e (ii) a desaminação oxidativa por ação da glutamato desidrogenase ou L-glutamato NAD⁺ óxido-reductase, utilizando NAD⁺ e NADP⁺ como coenzimas. Essas enzimas liberam o grupo amino do glutamato na forma do amônia, que iniciará o ciclo da ureia ao formar carbamoil fosfato e α -cetoglutarato o qual segue a rota do ácido cítrico.

Desaminação oxidativa do glutamato



O glutamato, através de seu esqueleto de carbono, doa energia por meio do ciclo de Krebs quando desaminado oxidativamente pela ação da glutamato desidrogenase, dando origem ao α -cetoglutarato que é um intermediário desse ciclo. Essa função também a cumprem os outros aminoácidos de cinco carbonos, glutamina, histidina, prolina e, arginina, quando se convertem em glutamato por diferentes vias metabólicas.

Por outro lado, conforme já descrito, a glutamina forma glutamato ao liberar NH₄⁺ por ação da glutaminase. Por sua vez, a histidina, tal como o triptofano, não sofre transaminação quando começa sua degradação. Em vez disso, mantendo seu anel, sofre a ação catalítica de uma *lise* específica que a fragmenta,

produzindo ácido urocânico. Esse composto, em dois passos seguintes, por uma redução, forma 4-imidazolona-5-propionato. A ligação amida se hidrolisa, formando ácido N-formimino glutâmico. Esta é uma substância útil porque oferece fragmentos de um carbono ativo, que transfere seu grupo formimino ao tetraidrofolato, formando 5-formimino tetraidrofolato e glutamato.

A função energética – já como glutamato – se cumpre em diferentes tecidos, principalmente no enterócito e na placenta, como será descrito mais adiante.

5. METABOLISMO DO GLUTAMATO EM NÍVEL RENAL

O rim dos mamíferos utiliza como combustível, para seus diversos processos metabólicos, os seguintes compostos:

- Ácido graxo palmitato, o qual proporciona de 60 a 80% do combustível;
- Metabólito lactato, o segundo doador de combustível já que, ainda que o palmitato retarde ou iniba seu emprego como energia, não evita sua captação pelo rim. A respeito disso, o lactato captado pelo rim, na presença de excesso de palmitato, se transforma em glicose graças à gliconeogênese;
- Glicose: seu emprego é pequeno, só ajuda em 2 a 6% do consumo;
- Glicerol;
- Corpos cetônicos, combustível utilizado em jejum prolongado, inanição e diabetes;
- Aminoácidos glutamato e glutamina.

Dos combustíveis mencionados, tem especial importância a glutamina, a qual é a amida do ácido glutâmico. Este é o aminoácido em que se transforma o glutamato para poder transportar a amônia tóxica formada no metabolismo das proteínas e, assim, eliminá-la através do ciclo da ureia. A glutamina é um aminoácido proteico não essencial de importância metabólica, uma vez que retorna grupos amino para a circulação sanguínea a maior velocidade do que a asparagina, que também possui dois grupos amino.

As principais características da glutamina são:

- É sintetizada em quantidade suficiente para suprir as necessidades do homem.
- É abundante no sangue; em concentrações basais alcança 650 μ moles/L.
- É o aminoácido de maior concentração no *pool* intracelular.

- Constitui 61% dos aminoácidos do músculo esquelético.
- Representa a metade do total de aminoácidos corporais.
- Regula a homeostase de aminoácidos, junto com a alanina.
- Transporta mais da metade do nitrogênio dos aminoácidos circulantes.
- É consumida avidamente por células que se replicam rapidamente como, por exemplo, os fibroblastos.
- Seu esqueleto de carbono oferece energia ao intestino delgado, tal como o glutamato.
- É liberada pelo músculo esquelético em estado pós-absortivo e em processo de estresse, catabolia, sepsia, estresse cirúrgico ou politraumatismo.
- Diminui a atrofia das vilosidades e a necrose intestinal, que poderiam levar à necessidade de suporte nutricional.
- No suporte nutricional entérico, como aminoácido livre, melhora a integridade da mucosa intestinal e o balanço nitrogenado.
- É precursor da putrina, já que seus átomos provêm do ácido aspártico e da glicina.
- Seu grupo amida substitui o grupo pirofostato unido ao C1 do 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), em uma reação catalizada pela glutamina PRPP amido transferase. Esta enzima pode ser inibida por AMP, GMP, IMP, controlando-se a velocidade de reação através da concentração intracelular dos substratos glutamina e PRPP.
- É precursor do anel pirimidina, já que os átomos desta molécula provêm da glutamina e do ácido aspártico, além de CO_2 . À diferença do anel de purina, o de pirimidina se sintetiza antes de se unir com a ribose-5-fosfato, doado pelo PRPP.

A síntese de glutamina depende, então, em grande parte do glutamato. A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), na tabela de Composição de Aminoácidos e Proteínas em Alimentos, mencionada anteriormente, não considera a presença deste composto nos alimentos. Somente apresenta, junto aos outros aminoácidos, a concentração de glutamato expressa em mg/100 g de proteína ou de N_2 dos alimentos.

Então. Como o glutamato sintetiza glutamina?

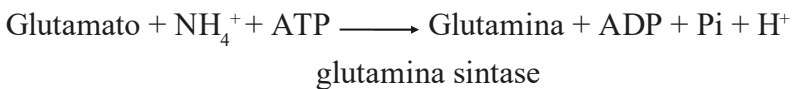
O glutamato é o principal doador de grupos amina em reações de transaminação, e sintetiza glutamina graças à enzima mitocondrial glutamina sintase.

Assim, consegue, fixar a amônia – tóxica – gerada pela degradação dos aminoácidos provenientes da digestão das proteínas da dieta. Dessa forma, se evita que a concentração de amônia chegue a níveis apreciáveis. A amônia é produzida nos tecidos, de onde passa rapidamente à circulação sanguínea em forma de glutamina até chegar ao fígado, onde se converte finalmente em ureia.

Então, a glutamina sintase, em altas concentrações no tecido renal, catalisa a síntese da ligação amida da glutamina às custas da hidrólise de um equivalente de ATP formando ADP e Pi. Isso faz com que a direção da reação esteja fortemente inclinada na direção da síntese da glutamina.

Logo, a reação de síntese de glutamina a partir do glutamato, catalisada pela glutamina sintase, mostra semelhanças e diferenças com a reação catalisada pela glutamato desidrogenase, enzima que favorece a síntese do glutamato por desaminação oxidativa. Embora ambas as enzimas fixem um nitrogênio inorgânico, a glutamato desidrogenase o faz para um grupo amino por oxidação de NADPH e a glutamina sintase para um grupo amida, acompanhada da hidrólise do ATP.

Síntese de glutamina a partir de glutamato



Depois, o metabolismo dos aminoácidos em nível renal, especialmente do glutamato e da glutamina, se traduz em um aumento da produção e excreção do íon amônio (NH_4^+) como resposta homeostática do rim à acidose metabólica. A formação de amônia aparece quando atua a enzima glutaminase (dependente de fosfato) que se encontra na membrana interna ou na matriz mitocondrial e que hidrolisa a molécula de glutamina produzindo glutamato e amônia. Em condições de acidose metabólica, os rins aumentam a captação de glutamina e a amônia produzida pela ação da glutaminase reage com átomos de hidrogênio formando o íon amônio, que é um composto não tóxico e de fácil difusão. Os íons amônio produzidos nos túbulos distais dos mamíferos são então excretados diretamente, sem a necessidade de irem ao fígado para a formação da ureia.

A partir daí, graças a um transporte próprio, sai a glutamina para ser convertida em amônia, que por ser tóxica, e devido a que o rim carece de enzimas para a formação da ureia, é levado pelo organismo através do sangue ao fígado, onde finalmente ocorre o ciclo da ureia.

6. METABOLISMO DO GLUTAMATO EM NÍVEL INTESTINAL

Young & Ajami (2000) avaliaram trabalhos sobre glutamato realizados por mais de 50 anos. Desses, destacam especial importância aqueles realizados por Neame & Wiseman (1958), que descreveram concentrações de alanina e cetoácidos no sangue mesentérico durante a absorção de ácido glutâmico no intestino delgado de cães, gatos e coelhos *in vivo*. Posteriormente, Munro (1979) publicou casos em que são discutidas concentrações de glutamato no sangue e fatores que afetam a relação glutamato/glutamina em uma dieta suplementada com glutamato. Os trabalhos realizados por Windmueller e Spaeth (1975) e Windmueller (1982), a respeito do metabolismo intestinal da glutamina, assim como os de Battezzati *et al.* (1995), coincidiram em que, em nível do tecido intestinal, ocorre um significativo metabolismo do glutamato e da glutamina ingeridos através dos alimentos, o que confirma que muito pouco ou nada do glutamato entra na corrente sanguínea portal ou sistêmica após o consumo de alimentos.

Dando continuação a esses trabalhos, Reeds *et al.* (1996) constataram, em suínos, concentrações de glutamato relativamente estáveis no plasma, tanto em períodos de jejum como de alimentação, ao longo das 24 h do dia. Esses resultados confirmam que o glutamato é o maior doador de energia na mucosa intestinal, com uma função adicional: sintetizar glutatona. Posteriormente, Reeds *et al.* (1997) relataram que em suínos recém-desmamados o glutamato no lúmen, mais do que a glutamina derivada do glutamato, foi a melhor fonte para sintetizar glutatona na mucosa intestinal. Dado que o esqueleto de carbono do glutamato é cetoglutarato, intermediário do ciclo de Krebs, após fosforilação oxidativa, fornece energia como ATP, água e CO₂. Vernon & Ajami (2000) afirmavam que, independentemente da sua origem, o glutamato já absorvido inicia seu metabolismo no enterócito, onde 80 a 90% do glutamato forma α -cetoglutarato por transaminação. O que não é metabolizado constitui o *pool* de aminoácidos, no qual cumpre funções como tal.

Por outro lado, o trabalho de Garattini (2000) relembra os conceitos postulados 20 anos antes sobre as funções do glutamato, ressaltando que é de importância especial pelo seu papel no metabolismo energético em nível enterocitário, assim como por participar da percepção do gosto umami e ser um aditivo alimentar de uso seguro, entre outros benefícios.

Fernstrom (2000) destacou o esmerado trabalho de Reeds *et al.* (2000), os quais trabalharam com suínos. Esses animais, além de serem mamíferos e terem metabolismo similar ao do homem, são suficientemente robustos, podem

sobreviver após uma cirurgia e ganhar rápido crescimento ao consumir uma dieta baseada em todas as proteínas e carboidratos do leite. Os resultados de Reeds *et al.* (2000) revelaram que 95% do glutamato dos alimentos é metabolizado na mucosa intestinal, e que, desta quantidade, 50% forma CO₂.

Brosnan *et al.* (2001) relatou que o glutamato, como cosubstrato em reações de transaminação e desaminação de outros aminoácidos, oferece esqueleto de carbono para gliconeogênese e para gerar ATP. Finalmente, os estudos de Nijijima (2000) mostraram a relação entre os receptores da mucosa bucal para o glutamato e seus sensores, possivelmente, receptores, como evidência neurofisiológica da habilidade do glutamato para estimular os sensores aferentes do nervo vago no intestino delgado. Tal estimulação induziria uma ativação reflexa das fibras aferentes desde o cérebro até o pâncreas, facilitando a digestão, absorção e distribuição de nutrientes. Assim, Fernstrom (2000) deixa claro que a proteína dos alimentos, depois do trabalho de enzimas proteolíticas do estômago, pâncreas e intestino delgado, é hidrolisada até aminoácidos livres e pequenos peptídeos, os quais, com transportadores específicos no lúmen, são absorvidos pelo intestino.

Wu (1998) se dedicou a estudar diversos aspectos metabólicos dos aminoácidos citrulina, prolina e arginina, e verificou que, para o epitélio intestinal, o glutamato e a alanina entérica serviam como importante fonte de energia. No entanto, pouco ou nada se sabia dos sítios responsáveis pela absorção e transporte dos produtos da proteína da dieta. Contudo, Prezioso & Scalera (1996), em estudos farmacológicos usando vesículas de membrana com microvilosidades, sugeriram a localização de um sistema de transporte dependente de sódio para o L-glutamato na parte apical das células, sem poder determinar o lugar exato na membrana para o transporte.

7. METABOLISMO DO GLUTAMATO NO TECIDO MUSCULAR, CONJUNTIVO E COLÁGENO

Sobre o metabolismo do glutamato, a maioria dos trabalhos é realizada nos tecidos hepáticos, renal, intestinal e cérebro, sendo poucos em outros tecidos, como é o caso do tecido muscular e conjuntivo. Por conta disso, torna-se importante de serem abordados neste capítulo.

7.1. Metabolismo do glutamato no músculo humano em repouso e em atividade

O músculo esquelético constitui a maior reserva proteica do homem e dos mamíferos; por conta disso, é a principal fonte de energia – não gordurosa – armazenada. Isso é evidenciado em adultos como perda de massa muscular após um jejum ou uma dieta pobre em calorias.

O glutamato é o centro de várias reações de transaminação que afetam a produção de aspartato, alanina e glutamina, assim como de vários intermediários do ciclo dos ácidos tricarboxílicos ou ciclo de Krebs. Por esse motivo, Mourtzakis & Graham (2002) estudaram os efeitos de tal aminoácido com o músculo em repouso e durante exercício, em indivíduos saudáveis, aos quais foram administrados glutamato monossódico e placebo. Como resultado, observou-se elevação dos níveis de glutamato, aspartato, glutamina e taurina no plasma, tanto em descanso como em exercício. Entretanto, os níveis dos outros aminoácidos não sofreram variações. Curiosamente, ao chegar ao máximo do exercício, o glutamato do músculo diminuiu e permaneceu assim durante o exercício, apesar de seu constante ingresso na circulação sanguínea por ingestão.

- a) Em exercício: frente ao aumento dos níveis de glutamina e alanina no músculo esquelético, os investigadores sugeriram que o glutamato tem um papel importante na transferência de grupos amino e no ciclo dos ácidos tricarboxílicos.
- b) Em repouso: como não houve mudanças nos níveis de alanina nem de amônia, argumentou-se que ao se ingerir glutamato, ainda que ele seja abundante no *pool* de aminoácidos tanto no músculo ativo quanto no músculo em descanso, há um aumento de sua disponibilidade. Porém, durante o exercício, se altera a distribuição de glutamato devido às reações de transaminação dentro do músculo ativo, tal como apontado por Meister (1990). Isso se traduz em um maior nível de alanina e uma redução de amônia.

O trabalho de Mourtzakis & Graham (2002) é interessante, já que o glutamato foi mais estudado no intestino e no fígado do que no músculo. Esse trabalho conclui que, ainda que o glutamato tenha um papel integral em diversos processos metabólicos, somente as concentrações de aspartato, taurina, alanina e glutamina no músculo, foram afetadas por sua ingestão. Esses aminoácidos são liberados em quantidades similares durante o exercício, porém ao se ter uma

maior disponibilidade de glutamato desde sua administração, se evidencia uma elevação dos transportadores para cada um deles, concluindo-se que o glutamato e a glutamina são aminoácidos com reações muito próximas durante o exercício.

Assim, o glutamato desempenha um papel mais determinante no metabolismo da alanina do que no da glutamina. A alanina é um aminoácido não essencial, com estrutura composta unicamente por três carbonos, o carbono alfa carboxila, um metileno unido à amina e a um metil, que é sua cadeia lateral. É um aminoácido glicogênico que, ao perder seu grupo amino, passa a formar piruvato. No ciclo glicose-alanina, trabalha como transportador de carbono desde o músculo ao fígado, para a gliconeogênese. O glutamato, ao ceder seu grupo amino ao ácido pirúvico – por uma reação de transaminação – contando com a coenzima piridoxal fosfato, forma alanina a partir do piruvato e α -cetogluturato a partir do glutamato.

O aspartato aumenta tanto durante o descanso como no exercício ao se aumentar o glutamato, em níveis que podem ser atribuídos à interrelação entre glutamato e aspartato. O contínuo aumento do aspartato no plasma é, provavelmente, devido à sua diminuição no fígado, assim como previamente foi sugerido para o glutamato. Conforme já descrito no metabolismo do ciclo da ureia, o glutamato é precursor do aspartato.

Por outro lado, a taurina – aminoácido não proteico – aumenta após a ingestão de glutamato durante o descanso e muito mais durante o exercício, o que poderia prevenir um aumento da glicose durante o exercício.

7.2. Glutamato, precursor de prolina, aminoácido não essencial, indispensável como constituinte do colágeno

A prolina é o único dos 20 aminoácidos proteicos considerado aminoácido *não essencial* que o homem sintetiza para fazer a maior parte do seu tecido conjuntivo, o colágeno, incorporando também a outros aminoácidos como a hidroxiprolina, lisina e glicina. O colágeno e a elastina constituem 30% e 11%, respectivamente, do tecido conjuntivo o qual é o que forma os tendões e articulações sob os epitélios.

O glutamato também pode ser utilizado na célula intestinal para a síntese de prolina. Inicialmente, o glutamato forma glutamato γ -semialdeído, o qual perde uma molécula de água, sem intervenção enzimática, e se cicliza formando pirrolina 5-carboxilato. Este composto, por ação de um NADPH^+H^+ libera NADP^+ oxidado e forma o aminoácido prolina (Figura 4.4).

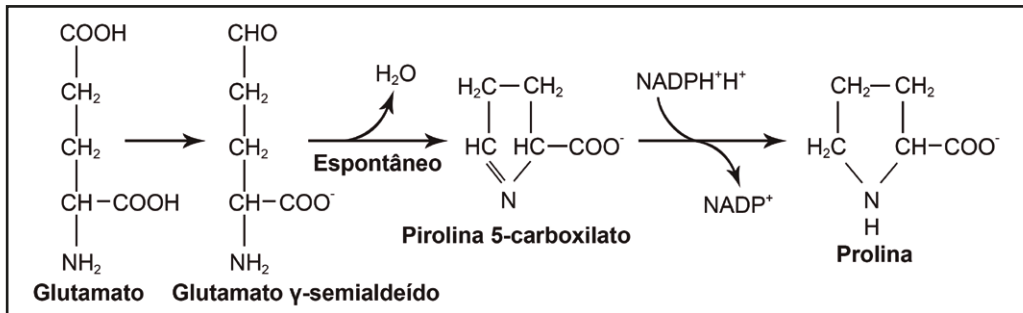


Figura 4.4 – Formação de prolina a partir de glutamato.

Fonte: figura adaptada de Ortiz Ureta, 2012.

Entender a importância da prolina faz lembrar o que é o colágeno, sua síntese e seu papel no tecido conjuntivo do homem.

O colágeno é uma molécula de proteína que forma fibras flexíveis que oferecem resistência à tração. Essas fibras estão presentes em todos os organismos multicelulares e são secretadas por células do tecido conjuntivo, fibroblastos e outros tipos de células.

O ponto de ruptura das fibras colágenas dos tendões humanos é alcançado com uma força de várias centenas de quilogramas por centímetro quadrado. Ao ferver tais fibras, ocorre desnaturação das proteínas, traduzida em abrandamento e facilidade de consumo. Logo, ao esfriar, sempre em solução aquosa, se converte em gelatina.

A síntese do colágeno se inicia justamente com sua proteína precursora, chamada tropocolágeno, que mede aproximadamente 300 nm (nanômetros) de comprimento e 1,4 nm de diâmetro. Essa molécula está formada por três cadeias polipeptídicas (cadeias alfa), cada uma com massa molecular de, aproximadamente, 100.000 Da (daltons) que estão organizadas em uma tripla hélice. As cadeias peptídicas são formadas predominantemente pelos aminoácidos, prolina, hidroxiprolina, lisina e glicina, fundamentais na formação da super-hélice.

Os aminoácidos prolina, glicina e lisina que conformam as cadeias do colágeno cumprem funções diferentes:

- Prolina: por sua estrutura anular rígida, estabiliza a forma helicoidal da cadeia alfa. Intervém na formação do segmento peptídico da hidroxiprolina do colágeno.
- Glicina: ocupa um lugar a cada três resíduos, localizando-se ao longo da região central, o que faz com muita facilidade por seu pequeno tamanho,

- favorecendo a acomodação das três cadeias α da super-hélice do colágeno. Assim, forma-se uma tripla hélice dextrógira com uma distância de 8,6 nm entre as voltas, unidas por pontes de hidrogênio que afetam a, aproximadamente, 2/3 de cada cadeia alfa.
- c) Lisina é o único aminoácido essencial do colágeno. Sua função é permitir que os tropocolágenos se unam entre si por ligações de algumas lisinas, chamadas *crosslinking* ou ligações cruzadas. Nos resíduos de nitrogênio dessas lisinas *crosslinking* atua a enzima lisina oxidase, transformando-os em aldeídos. Assim, a lisina passa a se chamar alisina, capaz de formar ligações covalentes com outras alisinas constituindo, assim, as fibras de colágeno.

Como o glutamato gera prolina?

É um processo metabólico que tem os seguintes passos:

3. O glutamato, através de seu grupo carboxila, com a energia de um ATP, forma δ -glutamilfosfato em reação catalisada pela γ -glutamil quinase. Essa enzima é regulada por inibição de feedback através dos níveis de prolina já formada.
4. O δ -glutamilfosfato, intermediário, se reduz a glutamato γ -semialdeído, que pode ser transaminado, formando ornitina ou prolina.
5. O glutamato γ -semialdeído se cicla automaticamente com a perda da água sem intermédio de enzimas, formando δ -1-pirrolina-5-carboxilato.
6. O δ -1-pirrolina-5-carboxilato é reduzido pela ação da enzima δ -1-pirrolina-5-carboxilato reductase, perdendo sua insaturação graças ao NADPH + $^+H^+$ e formando prolina.

O mecanismo de interconversão entre a δ -1-pirrolina-5-carboxilato e a prolina, pode atuar como mecanismo de transporte, transferindo equivalentes redutores provenientes da via da pentose fosfato nas mitocôndrias. A prolina também se sintetiza a partir da arginina da dieta, transformando-se, primeiramente, em ornitina, pela via da arginase.

Praticamente todas as proteínas contêm uma ou mais regiões com maior quantidade de quatro aminoácidos não essenciais, prolina, glutamato, serina e treonina, designando a cada um desses aminoácidos com as letras P para prolina, E para glutamato, S para serina e T para treonina. Cada uma dessas regiões com somente 12 a 60 resíduos no comprimento é conhecida como sequências

PEST. A prolina é um constituinte das proteínas com sequência PEST de vida curta. Segundo Mathews & Van Holde (2000), a maioria das proteínas de vida curta são aquelas que têm um tempo de vida entre $\frac{1}{2}$ e 2 h. Isso corrobora o apontado na extensa revisão sobre biossíntese de aminoácidos e suas funções precursoras realizada por Meister (1990). Nelson & Cox (2021) também reafirmam esses resultados. Em suas respectivas obras sobre Bioquímica os autores enfatizam que tais proteínas com sequências PEST se degradam rapidamente. Dentre os aminoácidos da sequência PEST, a prolina, sintetizada em mamíferos e outros seres vivos, pode tornar-se novamente em glutamato mediante a inversão das reações de seu catabolismo. Assim, a prolina se transforma em desidroxiprolina pela ação da prolina desidrogenase que incorpora uma molécula de água, resultando em glutamato γ -semialdeído. Posteriormente, por ação da glutamato semialdeído desidrogenase se forma o glutamato que é utilizado nas células para diversos fins.

8. METABOLISMO DO GLUTAMATO EM ERITRÓCITOS E NO PLASMA

Murray (2000) resume em 11 pontos os aspectos mais importantes do metabolismo dos eritrócitos. Os primeiros aspectos são todos relacionados com o metabolismo dos carboidratos: dependem da glicose como fonte de energia; a glicólise, ao produzir lactato, é a via de produção de ATP nos eritrócitos, por não possuir mitocôndrias, não há produção de ATP através da fosforilação oxidativa; têm transportadores que conseguem manter seu equilíbrio iônico e hídrico, entre outros. Em outros aspectos, o autor ressalta que a glutathiona reduzida (GSH) é muito importante no metabolismo do eritrócito por sua ação contra os peróxidos danosos. Quanto ao metabolismo dos aminoácidos, somente destaca o fato de que, quando o eritrócito chega ao fim de seu tempo de vida, a globina se degrada em aminoácidos que são utilizados pelo organismo para diversos fins; o grupo heme se degrada liberando ferro e tetrapirrol que passa a formar parte da billirrubina, a qual será secretada pela bile.

8.1. Glutamato no sangue, plasma e eritrócitos

A concentração de aminoácidos no sangue total, eritrócitos e plasma é muito variada em homens adultos durante as 24 h depois de ingerir uma dieta saudável, com uma variação rítmica já observada por Feigin *et al.* (1967). Posteriormente, Feigin *et al.* (1968) identificaram alguns fatores que afetam essa periodicidade circadiana dos aminoácidos estudados individualmente.

8.1.1. Glutamato em eritrócitos

Sobre a regulação dos níveis de glutamato nos eritrócitos, Stegink *et al.* (1982a) trabalhando com adultos alimentados com dietas ricas em proteínas, observaram que a concentração de glutamato no plasma aumentava 1-2 h após as refeições (almoço ou jantar), com ou sem adição de glutamato monossódico (MSG). Essa concentração diminui notoriamente ao longo de 24 h, sugerindo que o aminoácido se metaboliza rapidamente.

8.1.2. Glutamato no plasma e em eritrócitos ao administrar, além de glutamato, o edulcorante aspartame

Extensa bibliografia, entre os anos 1969 e 1980, evidencia os danos que provoca administrar (por via subcutânea ou oral) altas doses de aminoácidos dicarboxílicos, aspartato e glutamato a roedores neonatos, produzindo necrose neuronal hipotalâmica. Desses trabalhos, destacam-se o de Olney (1969) (via subcutânea) sobre lesões cerebrais, obesidade e outros distúrbios em ratos; e outro de Olney & Ho (1970) relatando dano cerebral em ratos jovens, ao consumir aspartato ou cisteína e glutamato, por via oral. Entretanto, o dano ao cérebro de primatas foi questionável. Assim, o demonstraram Stegink *et al.* (1982b), ao adicionar aspartame (edulcorante formado por ácido aspártico, fenilalanina e metanol) a refeições que continham considerável quantidade de glutamato monossódico (MSG). Encontraram, logicamente, um aumento de fenilalanina; porém, ao contrário do esperado, só verificaram um pequeno efeito nas concentrações de glutamato e de aspartato no plasma, que se mostraram um pouco maiores do que as observadas nas dietas sem agregar o aspartame. Esses resultados evidenciaram o rápido metabolismo dos dois aminoácidos dicarboxílicos nas células intestinais. A resposta foi razoável, já que o aspartame, que é o dipeptídeo L-aspartatil-fenilalanil-metil éster, é hidrolisado na mucosa intestinal até liberar seus dois aminoácidos aspartato e fenilalanina, mais metanol, deixando aberta a possibilidade de ocorrerem interações entre ambos os aminoácidos dicarboxílicos.

Tsai & Huang (2000) trabalharam com indivíduos adultos sãos, dando a eles uma dieta de 1,5 g de proteína e 40 kcal/kg p.c. diariamente. Uma semana depois, os indivíduos receberam a mesma dieta mais 100 mg de glutamato dividido em três vezes: 15, 40 e 45 mg/kg, no café da manhã, almoço e jantar, respectivamente. Analisando a concentração de aminoácidos no sangue total, plasma e eritrócitos, os autores observaram uma variação circadiana do glutamato no plasma, com altos níveis de glutamato nos eritrócitos após o almoço e jantar, os quais

diminuíam notavelmente no período matutino. Esses resultados demonstraram que o glutamato se metaboliza rapidamente. Todavia, ainda que não chegaram a definir a função do glutamato intracelular nos eritrócitos, verificaram que a concentração se modificava segundo sua presença na dieta.

Estudando as concentrações de glutamato em eritrócitos, Watford (2002) coincidindo com os trabalhos mencionados, argumentou o seguinte:

- A glutamina é o maior substrato para a síntese de glutamato no eritrócito. O glutamato que se encontra nas células em questão seria gerado principalmente através da reação da enzima glutamina aminotransferase sobre a amida nitrogenada mencionada anteriormente. Essa reação foi observada *in vivo* ao trabalhar com glutamina marcada com N_{15} , introduzida na circulação de uma ovelha. Os resultados mostraram acúmulo intracelular do glutamato marcado. Em homens, o glutamato marcado com N_{15} entrou nos eritrócitos muito lentamente, enquanto a entrada da glutamina marcada foi muito mais rápida. Não foi relatado se a infusão da glutamina marcada provocou aumento intracelular do glutamato marcado;
- A síntese de glutamato é o principal destino do metabolismo do glutamato intracelular;
- A maior quantidade do glutamato que entra na dieta diária é metabolizada dentro da mucosa intestinal. Porém, essa quantidade é pequena em comparação com a quantidade de glutamato necessária para o metabolismo de síntese de outros aminoácidos e influencia pouco no fluxo do glutamato extracelular;
- O glutamato predomina nos eritrócitos de 2 a 4 vezes mais do que no plasma e desempenha um papel no fluxo do glutamato interorgânico. Entretanto, essas concentrações de glutamato nos eritrócitos não mudaram no seu trajeto através dos tecidos;
- A função do glutamato no sangue é desconhecida; porém, sabe-se que sua concentração depende do glutamato da dieta. Assim, há duas vezes mais glutamato nos eritrócitos de ratos adaptados, por 10 dias, a dietas com pouca proteína (5%), do que naqueles consumindo dietas com suficiente proteína (20%). Efeito semelhante ocorre nos eritrócitos em humanos que recebem alimentação sem proteínas, como acontece em aqueles com má nutrição energético-proteica e com hipercapnia crônica. Nesses indivíduos, igualmente como observado em ratos, há maior concentração de glutamato nos eritrócitos.

Com base no esquema de Griffith & Meister (1979), que aponta possíveis caminhos do metabolismo do glutamato nos eritrócitos, verifica-se como o glutamato no sangue é utilizado para a síntese de outros aminoácidos e para a síntese de glutatona, quer seja o glutamato obtido diretamente da dieta ou formado pela desaminação da glutamina graças à glutaminase ou à glutamina amino transferase (Figura 4.5).

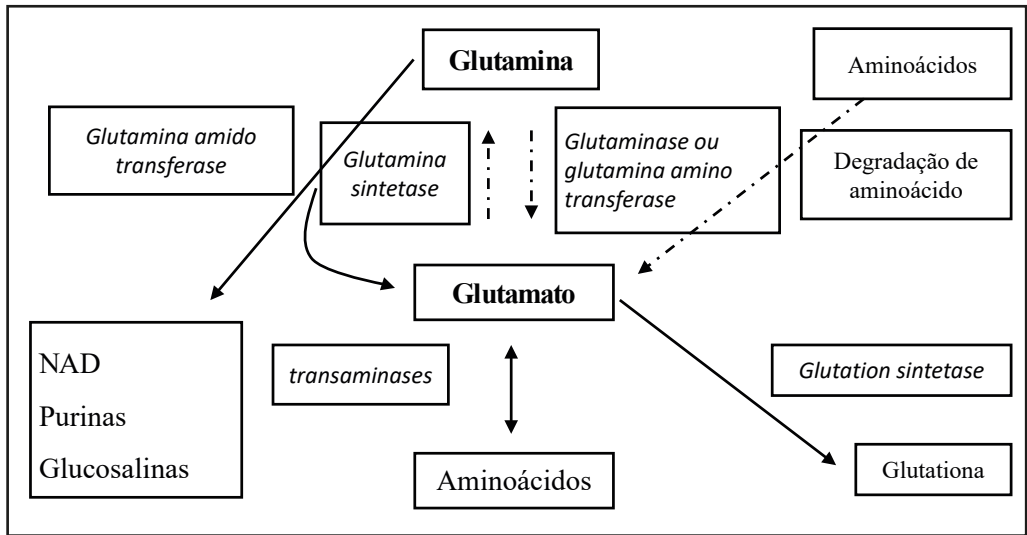


Figura 4.5 – Metabolismo do glutamato nos eritrócitos.

Fonte: figura adaptada de Griffith & Meister, 1979.

8.1.3. Glutamato no plasma, eritrócitos e músculo, em relação à insulina

Elwyn *et al.* (1972) estudaram a distribuição do glutamato entre eritrócitos e plasma (2-4:1 a favor dos eritrócitos), indicando que os eritrócitos poderiam ter um papel especial como transportadores desse aminoácido do intestino ao fígado e a outros tecidos periféricos. Aoki *et al.* (1972), reportaram que os eritrócitos são também importantes no transporte de glutamato para o músculo.

Divino Filho *et al.* (1997 e 1998), estudando distúrbios do metabolismo proteico, encontraram altos níveis de glutamato em eritrócitos e no plasma, sendo o único aminoácido com correlação inversa entre eritrócitos e músculo. Por exemplo, ao trabalhar com pacientes urêmicos, detectaram acúmulo de glutamato em eritrócitos, sem encontrar um regulador que ocasionasse tal acúmulo. À luz dos resultados em ambos os trabalhos, o glutamato em eritrócitos poderia ser um

melhor índice do metabolismo de proteínas do que o glutamato no plasma, conceito que ainda não foi confirmado. Além disso, verificar que a concentração de glutamato em eritrócitos – não no plasma – é inversamente correlacionada com os níveis do glutamato no músculo de pacientes com hemodiálise, poderia indicar que este aminoácido se acumula nos eritrócitos quando ingressa em baixa quantidade no músculo.

8.1.4. Glutamato, no plasma e em eritrócitos relacionado a carboidratos

Stegink *et al.* (1983), sempre estudando as concentrações de glutamato em eritrócitos, observaram um possível efeito dos carboidratos sobre os níveis de glutamato nessas células e no plasma em humanos que ingerem uma grande dose de glutamato monossódico na água, 50 mg/kg p.c. O estudo foi realizado quantificando as concentrações de glutamato e comparando-as com as de uma forma líquida (hidrolisado de milho), em vez de água.

O glutamato dissolvido somente em água resultou em um pico alto no plasma; por outro lado, ao se agregar carboidratos à solução, o pico diminuiu. O carboidrato poderia servir como fonte de piruvato para as células mucosas, facilitando a transaminação do glutamato, o que reduziria sua liberação à circulação periférica. Baixas concentrações de glutamato no plasma, depois de se ingerir diversos alimentos com glutamato, poderiam indicar que, nelas, há carboidratos. O processo aumentaria o catabolismo do glutamato na mucosa e a baixa liberação da glicose na circulação periférica. Há dados consistentes (Windmueller, 1982) que indicam que glutamato e glutamina são os substratos de maior energia para o intestino.

8.1.5. Glutamato como parte da glutationa

- A glutationa, segundo Kondo *et al.* (1984), é o tripeptídeo glutamil-cisteinil-glicina formado por três aminoácidos não essenciais: glutamato, cisteína e glicina (Glu-Cys-Gly).
- A molécula de glutationa é nitrogenada e contém enxofre, é intracelular e é a mais comum em toda célula viva, de 0,1 a 10 mM, em forma reduzida (GSH) e em forma oxidada (GSSG).
- Seu grupo tiol (SH) lhe outorga a estabilidade que lhe permite cumprir seu papel como antioxidante e limpador biológico (*scavenger*) importante, participando ainda da regulação de genes e nas reações redox.

- Em sua forma reduzida (GSH) atua como redutor, mantendo, em forma reduzida, o grupo sulfidril de algumas enzimas.
- Para a biossíntese da glutatona, o glutamato se condensa com o aminoácido cisteína em uma primeira reação catalisada pela enzima γ -glutamil-cisteína sintetase, formando γ -glutamil-cisteína. Esta última molécula, em combinação com a glicina, forma a glutatona (reduzida) graças à glutatona sintetase. Toda a síntese ocorre dentro da célula.
- A glutatona está presente em micro-organismos, em tecidos animais e vegetais;
- No homem, está presente no fígado, rins, pulmões, coração, intestinos e músculos;
- Dentro das células, está nas mitocôndrias, no retículo endoplasmático e núcleo das células. Neste último local, aumenta sua concentração na apoptose ou morte celular programada.
- Transporta e armazena a cisteína como γ -glutamil-cisteína no rim.
- Estabiliza as membranas dos eritrócitos.
- Participa na síntese de DNA e RNA, eicosanoides, leucotrienos e outras biomoléculas.
- Atua como antioxidante, desintoxicando xenobióticos eletrofílicos, como, por exemplo, ao reduzir o peróxido (H_2O_2) até água em uma simultânea oxidação de glutatona (GSH) a glutatona bissulfito (GSSG).
- Protege estruturas reativas de oxigênio, presentes na formação de vitaminas C e E, a partir de seus produtos oxidados.
- Participa na atividade antioxidante do selênio como cofator da glutatona peroxidase e da piridoxina.
- Sua insuficiência leva à deterioração da defesa antioxidante, ligada a diversas enfermidades. Associa-se à síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), hepatite, cirrose, diabetes, queimaduras e desnutrição energética proteica.
- Além disso, é transportador de aminoácidos em vários tipos de células.
- Protege as células da radiação e das toxinas do meio ambiente. É muito clara a formação de um derivado mercaptúrico a partir de um contaminante orgânico muito perigoso, como é o diclorobenzeno. Inicia-se com a atuação da glutatona sobre o diclorobenzeno, pela ação enzimática da GSH-S-transferase, a qual permite a eliminação de um HCl, formado

pelo H da glutatona reduzida e um cloro (Cl) do diclorobenzeno. Assim, fica a glutatona interligada à molécula do contaminante justamente na ligação da qual se liberou o cloro (Cl). Depois da ação da γ -glutamil transpeptidase, o glutamato se separa, seguido de uma reação similar que separa a glicina. Dessa forma, fica o anel unido somente à cisteína, momento em que, pela ação de uma N-acetilase, se desprende uma CoA gerando o ácido mercaptúrico, o qual não é tóxico.

Sobre a função da glutatona como transportador de aminoácidos, Meister (1988) descreve com detalhe essa função específica, motivo pelo qual, desde então, o processo bioquímico é conhecido com *Esquema de Alton Meister* (1988 e 1990) (Figura 4.6).

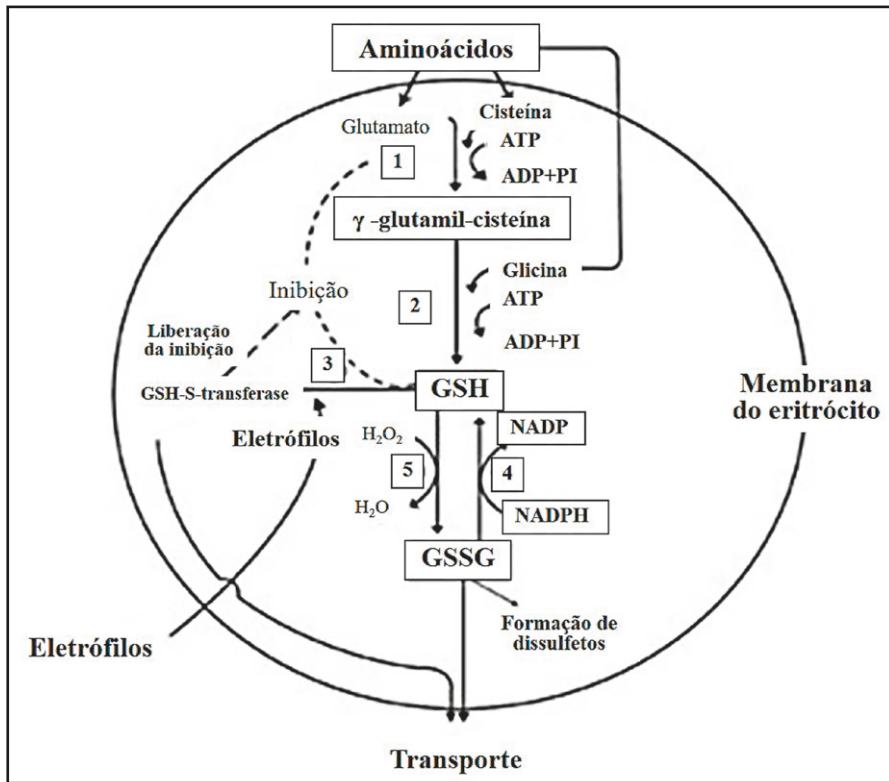


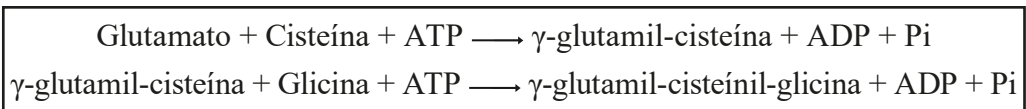
Figura 4.6 – Inter-relações metabólicas envolvidas na síntese de glutatona em eritrócitos humanos.

- (1) enzima GC sintetase; (2) enzima glutatona sintetase; (3) enzima GSH-S-transferase; (4) enzima glutatona reductase; (5) enzima glutatona peroxidase.

Fonte: figura baseada no ciclo γ -glutamil ou *Esquema de Alton Meister*, sobre o transporte de aminoácidos de fora para dentro da célula. Herrera, 1993.

Conforme o *Esquema de Alton Meister*, a síntese de glutatona ocorre quando o glutamato se une à cisteína e à glicina, dentro da célula, seguindo as seguintes etapas:

1. Primeiramente, tendo ATP como fonte de energia e pela ação da enzima γ -glutamil-cistenil sintetase, se forma o dipeptídeo glutamil-cisteína, ao unir-se o ácido glutâmico com a cisteína.
2. Depois, numa segunda reação pela enzima glutatona sintetase, o dipeptídeo glutamil-cisteína adiciona glicina, formando o tripeptídeo γ -glutamil-cisteína-glicina ou glutatona.



3. Uma vez sintetizada, a glutatona se hidrolisa ou se degrada a γ -glutamil para receber um novo aminoácido; com ele, atravessa a membrana celular, o libera no interior da célula e sai novamente para recompor o tripeptídeo.

Conseqüentemente, o transporte de aminoácidos – *via glutamil* – tem características muito próprias:

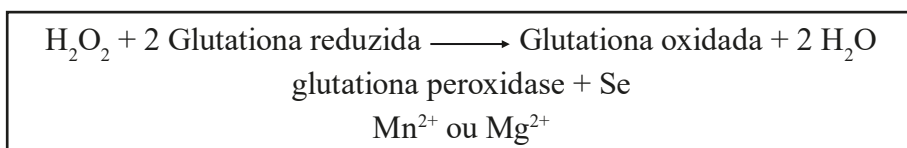
- É custoso do ponto de vista energético, devendo-se hidrolisar 3 ATP.
- Nenhuma enzima se ativa por íons Na^+ , como ocorre no transporte de aminoácidos.
- Os aminoácidos ingressam na célula seguindo um gradiente de Na^+ e, em seguida, esses íons são expulsos da célula por ATPase Na^+ e K^+ .
- A síntese ocorre por ações sequenciais da γ -glutamil-cisteína e a glutatona sintetase, em uma reação que é inibida por retroalimentação da glutatona reduzida.
- A interrupção de GSH se inicia pela ação da γ -glutamil transpeptidase, que catalisa a transferência do grupo γ -glutamil da glutatona por receptores de aminoácidos, dipeptídeos e H_2O .
- Desses aminoácidos, a cisteína é o receptor mais ativo, enquanto que a metionina e a glutamina são receptores menos ativos.
- A cisteinilglicina, formada na reação de transpeptidação, é degradada pela enzima dipeptidase em glicina e cisteína.

- Os aminoácidos γ -glutamil formados em transpeptidação são substratos da γ -glutamil ciclotransferase, que os converte em 5-oxoprolina e a ela, em glutamato.

9. AÇÃO ANTIOXIDANTE DA GLUTATIONA

Ainda que nem todos os livros de bioquímica aceitem o transporte de aminoácidos pela glutaciona, todos privilegiam sua função como parte importante do sistema de defesa antioxidante interna do corpo. Dessa forma, dão suporte à atividade das vitaminas antioxidantes C e E, reduzindo espécies reativas do oxigênio como o peróxido de hidrogênio, graças à enzima glutaciona peroxidase, conforme a seguinte reação:

Enzima glutaciona peroxidase transformando glutaciona reduzida em glutaciona oxidada:



A reação anterior requer selênio para formar glutaciona oxidada, que já não tem propriedades protetoras. Porém, pode regressar à sua forma reduzida pela enzima glutaciona redutase, empregando NADPH como fonte de elétrons. Os eritrócitos obtêm NADPH através da via das pentose fosfato.

Assim, o sistema da glutaciona peroxidase/glutaciona redutase se apresenta no organismo como um meio de defesa, combatendo os intermediários reativos do oxigênio, capazes de causar dano a órgãos e tecidos. A glutaciona redutase é uma enzima que catalisa a redução da glutaciona oxidada a glutaciona reduzida, a qual será utilizada pela glutaciona peroxidase para a redução do peróxido e de lipoperóxidos, espécies reativas do oxigênio.

A enzima glutaciona peroxidase tem um papel importante na defesa antioxidante. Devido à sua presença nos diferentes tecidos e órgãos, está envolvida na fisiopatologia de várias enfermidades, tais como câncer, diabetes mellitus, obesidade, úlcera péptica, mal de Parkinson, isquemia e envelhecimento.

Fica claro que a função fundamental da glutaciona é proteger a célula contra a ação de agentes oxidantes endógenos e exógenos, manter a estabilidade da membrana, contribuir na manutenção da estrutura da hemoglobina, participar na síntese de proteínas nos reticulócitos, assim como preservar algumas enzimas e proteínas da membrana (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Efeitos que podem ser esperados de um suplemento de glutatona

Previne cataratas	Estabiliza o nível de açúcar no sangue
Previne descolamento de retina	Protege o sistema digestivo
Previne o câncer	Melhora o sistema imunológico
Põe fim ao crescimento de tumores	Retarda o processo de envelhecimento
Desintoxica o fígado	Otimiza o resultado atlético
Desintoxica o sistema linfático	Reduz o dano cerebral por embolia
Retira as fleumas nos pulmões	Diminui o nível de colesterol
Previne doença cardíaca, artrite	Protege os eritrócitos
Previne diabetes	

A glutatona diminui com a idade, exercício violento e doenças como diabetes, fibrose cística, AIDS (*acquired immunodeficiency syndrome*), cirrose, infecções, má nutrição proteica e tratamentos quimioterápicos, entre outros.

Em um trabalho de Martínez *et al.* (2006), sobre conceitos atuais do metabolismo da glutatona e a utilização dos isótopos estáveis para a avaliação da sua homeostase, reafirma-se que o transporte estereoespecífico de aminoácidos livres da dieta e dos liberados na digestão ocorre, preferencialmente, no rim e no intestino. Cinco sistemas de transporte são detalhados a seguir, para o caso dos aminoácidos livres:

1. Aminoácidos de 2 e 3 carbonos (glicina e alanina) e aminoácidos neutros (valina leucina e isoleucina). Deve ser lembrado que os dois primeiros também são neutros.
2. Aminoácidos aromáticos: triptofano, fenilalanina, tirosina e aminoácidos neutros.
3. Aminoácidos básicos: lisina, arginina e histidina.
4. Aminoácidos neutros e aromáticos.
5. Para aminoácidos livres como transporte de dipeptídeos ou *Esquema de Alton Meister*.

9.1. Glutamato como precursor do carboxiglutamato na coagulação do sangue

O γ -carboxiglutamato (GLA) é a estrutura que permite a maturação dos fatores de coagulação II, VII, IX e X.

Como o glutamato forma γ -carboxiglutamato?

Champe *et al.* (2004) demonstraram como resíduos de glutamato com CO_2 , O_2 e a forma hidroquinona da vitamina K formam γ -carboxiglutamato (GLA). GLA é uma molécula que, por estar presente na protrombina, com sua ação quelante sobre íons Ca^{++} forma o complexo protrombina-cálcio que se une às plaquetas. Outros resíduos de γ -carboxiglutamato se encontram em outras proteínas, como a osteocalcina, sem se saber o papel que desempenham.

9.2. Glutamato em outros tecidos importantes

9.2.1. Glutamato no leite materno

O glutamato, segundo a Composição de Aminoácidos nos Alimentos da FAO (1981), é o aminoácido livre mais abundante do leite materno humano, 952 mg/g de N, o que poderia indicar que cumpre um papel determinante no desenvolvimento do intestino do bebê.

A respeito disso, Sarwar (1998) compilou trabalhos que ressaltam o papel do glutamato e da glutamina na síntese de proteínas e de ácidos graxos do leite de mamíferos. Verifica-se a presença de 1.339-2.157 $\mu\text{mol/L}$ de glutamato livre no leite humano, um pouco mais do que em leite de elefanta (1.332 $\mu\text{mol/L}$) e de égua (1.119 $\mu\text{mol/L}$) e muito mais do que no leite de vaca (349 $\mu\text{mol/L}$). O leite materno humano, rico em glutamato e glutamina, teria um papel protetor frente a enfermidades crônicas como as alergias. Por outro lado, a presença de outros aminoácidos livres como treonina e cisteína, participariam na síntese de glicoproteínas do muco intestinal, na síntese das proteínas produzidas pelas células imunes e na síntese de glutatona.

9.2.2. Glutamato no fígado fetal e na placenta

Battaglia (2000) estudou o glutamato na placenta onde, de maneira similar àquilo que ocorre no enterócito de adultos, é utilizado como fonte importante de energia, e faz isso em uma alta porcentagem (60% da disponibilidade de glutamato). O fígado do feto é o fornecedor dominante de glutamato, ainda que a placenta possa diretamente utilizar glutamato proveniente do sangue materno. Não se conhece o motivo dos intestinos dos adultos e a placenta consumir quantidades elevadas de glutamato para a geração de energia. O grupo amino do glutamato, ao sofrer desaminação, forma NH_4^+ , ficando seu esqueleto de carbono para obter energia quando há déficit. Tanto o transporte como o metabolismo

do glutamato e da glutamina durante o desenvolvimento fetal, de acordo com o estudado por Battaglia (2000), apresentam as seguintes características que enfatizam a interação desses aminoácidos entre a placenta e o fígado fetal:

- A glutamina é enviada à circulação fetal mais rapidamente do que outros aminoácidos.
- 45% dos carbonos da glutamina do feto participam da produção de glutamato; em vez disso, somente 6% de carbonos do glutamato são convertidos em glutamina na placenta. Os carbonos restantes do plasma fetal são convertidos em CO₂.
- A quantidade retirada de glutamato disponível no plasma materno para a placenta é maior do que 60%.
- Por outro lado, 90% do glutamato no plasma fetal são excretados pela placenta.
- O metabolismo do glutamato e da glutamina no feto tem sido pouco estudado.

Finalmente, a placenta e o intestino dos adultos utilizam glutamato como importante fonte de energia, até 60% do glutamato total fetal.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBARRACÍN, S. L. *et al.* “L-Glutamato: un aminoácido clave para las funciones sensoriales y metabólicas”. *Arch Latinoam Nutr.* 66(2): 2016.
- AOKI, T. T. *et al.* “Effect of insulin on muscle glutamate uptake. Whole blood versus plasma glutamate analysis”. *J Clin Invest.* 51(11): 2889-2894, 1972.
- BATTAGLIA, F. C. “Glutamine and glutamate exchange between the fetal liver and the placenta”. *J Nutr.* 130 (4S Suppl): 974S-977S, 2000.
- BATTEZZATI, A.; BRILLON, D. J. & MATTHEWS, D. E. “Oxidation of glutamic acid by the splanchnic bed in humans”. *Am J Physiol.* 269: E269-E276, 1995.
- BERG, J. *et al.* *Biochemistry.* 8. ed. New York, Freeman and Company, 2015.
- BROSNAN, J. T. *et al.* “Alanine metabolism in the perfused rat liver. Studies with (15)N”. *J Biol Chem.* 276(34): 31876-31882, 2001.
- BYRD-BREDBENNER, C. *et al.* *Perspectives in nutrition.* 8. ed. New York, Mc Graw Hill, 2009.

CHAMPE, P.; HARVEY, H. A. & FERRIER, D. S. “Aminoácidos: eliminación del nitrógeno”. In: CHAMPE, P.; HARVEY, H. A. & FERRIER, D. S. *Bioquímica*. 3. ed. México, McGraw-Hill Interamericana, 2004.

CODEX, CODEX ALIMENTARIUS. *Sistema Internacional de Numeração de Aditivos Alimentares. vol. 1A: Sección 5. Aditivos Alimentarios*. Roma, FAO 1999.

DIVINO FILHO, J. C. *et al.* “Free amino-acid levels simultaneously collected in plasma, muscle, and erythrocytes of uraemic patients”. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 12(11): 2339-2348, 1997.

DIVINO FILHO, J. C. *et al.* “Glutamate concentration in plasma, erythrocyte and muscle in relation to plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-1 and insulin in patients on haemodialysis”. *The Journal Of Endocrinology*. 156(3): 519-527, 1998.

ELWYN, D. H. *et al.* “Roles of plasma and erythrocytes in interorgan transport of amino acids in dogs”. *Am J Physiol*. 222(5): 1333-1342, 1972.

ESPINOSA, R. M. M. *Avances en el metabolismo del nitrógeno*. Editorial Club Universitario, San Vicente del Raspeig, Alicante, España, 2017.

FAO, ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. *Contenido en aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre las proteínas. Colección FAO: alimentación y nutrición n. 21*. 3. ed., Roma, 1981.

FEIGIN, R. D.; KLAINER, A. S. & BEISEL, W. R. “Circadian periodicity of blood amino acids in adult man”. *Nature*. 215: 512-514, 1967.

FEIGIN, R. D.; KLAINER, A. S. & BEISEL, W. R. “Factors affecting circadian periodicity of blood amino acids in man”. *Metabolism*. 17(9): 764-775, 1968.

FERNÁNDEZ VELASCO, D. A. “Estructura y propiedades de las proteínas”. In: LAGUNA, J. & PIÑA, E. *Bioquímica de Laguna*. 5. ed. México, Manual Moderno, 2002.

FERNSTROM, J. D. “Pituitary hormone secretion in normal male humans: Acute responses to a large, oral dose of monosodium glutamate”. *J Nutr*. 130(4S Suppl): 1053S-1057S, 2000.

- FILER L. J. *et al.* *Glutamic Acid: advances in biochemistry and physiology*. New York, Raven Press, 1979.
- GARATTINI, S. J. "Glutamic acid, twenty years later". *J Nutr.* 130(4S): 901S-909S, 2000.
- GRIFFITH, O. W. & MEISTER, A. "Glutathione: interorgan translocation, turnover, and metabolism". *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76(11): 5606-5610, 1979.
- HERRERA, E. *Elementos de bioquímica*. México, Interamericana McGraw-Hill, 1993.
- HORTON, H. R., *et al.* *Bioquímica*. México, Prentice Hispanoamericana, 1997.
- ISG, INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON GLUTAMATE. *The journal of nutrition: official publication of the american society for nutritional sciences*. October 1998. Bergamo, Rockville Pike, Bethesda, 130 (4 S), 2000.
- JONES, M. E. "Conversion of glutamate to ornithine and proline: pyrroline-5-carboxylate, a possible modulator of arginine requirements". *J Nutr.* 115: 509-515, 1985.
- KONDO, T.; TANIGUCHI, N. & KAWAKAMI, Y. "Significance of glutathione S-conjugate for glutathione metabolism in human erythrocytes". *Eur J Biochem.* 145(1): 131-136, 1984.
- LOZANO, J. *Bioquímica para ciencias de la salud*. 2. ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 2001.
- MARTÍNEZ, S. M. *et al.* "Conceptos actuales del metabolismo del glutatión". *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 40 (1): 45-51, 2006.
- MATAIX, J. & NAVAS, P. "Aminoácidos y otros componentes nitrogenados considerados nutrientes condicionalmente esenciales". In: MATAIX, J. *Nutrición y alimentación humana*, tomo II. Barcelona, Océano/Ergon, 2005.
- MATHEWS, C. K. & VAN HOLDE, K. E. *Metabolismo de los compuestos nitrogenados: principios de la biosíntesis, la utilización y el recambio bioquímica*. 2. ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 2000.
- MEISTER, A. "Glutathione metabolism and its selective modification". *J Biol Chem.* 263: 17205-17208, 1988.

- MEISTER, A. "On the transamination of enzymes". *Ann N Y Acad Sci.* 585: 13-31, 1990.
- MONTGOMERY, R.; CONWAY, T. & SPECTOR, A. *Bioquímica, casos y texto.* Madrid, Mosby-Year Book Wolfe Publishing, 1992.
- MOURTZAKIS, M. & GRAHAM, T. E. "Glutamate ingestion and its effects at rest and during exercise in humans". *J Appl Physiol.* 93: 1251-1259, 2002.
- MUNRO, H. N. "Factors in the regulation of glutamate metabolism". In: FILER, L. J. *et al.* (ed). *Glutamic acid: advances in biochemistry and physiology.* New York, Raven Press, 1979, pp. 55-68.
- MURRAY, R. K. "Eritrocitos y leucocitos". In: *Bioquímica de Harper.* 16. ed. México, Manual Moderno, 2000.
- NEAME, K. D. & WISEMAN, G. "The alanine and oxo acid concentrations in mesenteric blood during the absorption of L-glutamate acid by the small intestine in dog, cat and rabbit in vivo". *J Physiol.* 140: 148-155, 1958.
- NELSON, L. D. & COX, M. M. *Lehninger principles of biochemistry.* 3. ed. New York, Worth Publisher, 2000.
- NIIJIMA, A. "Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity". *J Nutr.* 130: 971S-973S, 2000.
- NINOMIYA, K. "Natural occurrence". *Food Rev Int.* 14 (2): 177-211, 1998.
- OLNEY, J. W. "Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate". *Science.* 164: 719-721, 1969.
- OLNEY, J. W. & HO, O. L. "Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartame or cysteine". *Nature.* 277: 609-611, 1970.
- ORTIZ URETA, C. A. *Repasando bioquímica y nutrición.* 2. ed. Lima, Universidad de San Martín de Porres, 2012, p. 536.
- PREZIOSO, G. & SCALERA, V. "Sequential ordered mechanism for the sodium-glutamate transport in intestinal brush border membrane vesicles". *Biochim Biophys Acta.* 1279(2): 144-148, 1996.
- REEDS, P. J. *et al.* "Enteral glutamate is almost completely metabolized in first pass by the gastrointestinal tract of infant pups". *Am J Physiol.* 270: E413-E418, 1996.

- REEDS P. J. *et al.* "Enteral glutamate is the preferential precursor for mucosal glutathione synthesis in the piglet". *Am J Physiol.* 273: E408-E415, 1997.
- REEDS, P. J. *et al.* "Intestinal glutamate metabolism". *J Nutr.* 130: 978S-982S, 2000.
- ROSE, W. C. "The nutritive significance of the amino acids". *Physiol. Rev.* 18:109-136, 1938.
- SARWAR, G. *et al.* "Free amino acids in milks of human subjects, other primates and non-primates". *Brit J Nutr.* 79: 129-31, 1998.
- Science and Technology Agency of Japan. *The standard tables of food composition in japan, amino acids.* Tokyo, Printing Bureau, Ministry of Finance, 1986.
- STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. "Plasma and erythrocyte amino acid levels in normal adult subjects fed a high protein meal with and without added monosodium glutamate". *J Nutr.* 112(10): 1953-1960, 1982a.
- STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. "Effect of aspartame plus monosodium L-glutamate ingestion on plasma and erythrocyte amino acid levels in normal adult subjects fed a high protein meal". *Am J Clin Nutr.* 36(6): 1145-1152, 1982b.
- STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. "Effect of carbohydrate on plasma and erythrocyte glutamate levels in humans ingesting large doses of monosodium L-glutamate in water". *Am J Clin Nutr.* 37(6): 961-968, 1983.
- TSAI, P. J. & HUANG, P. C. "Circadian variations in plasma and erythrocyte glutamate concentrations in adult men consuming a diet with and without added monosodium glutamate". *J Nutr.* 130(4S Suppl): 1002S-1004S, 2000.
- VERNON, R. Y. & AJAMI, A. M. "Glutamate: An Amino Acid of Particular Distinction". *J Nutrition.* 130: 892S-900S, 2000.
- VILLAVICENCIO, M. *Bioquímica*, tomo II. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2007, p. 410.
- WATFORD, M. Net interorgan transport of L-glutamate in rats occurs via the plasma, not via erythrocytes, *The Journal of Nutrition*, 132(5), 952-956, 2002.
- WHITE, A. *et al.* *Principles of biochemistry.* 6. ed. Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha, 1978.

WINDMUELLER, H. G. & SPAETH, A. E. "Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood". *Arch Biochem Biophys.* 171: 662-672, 1975.

WINDMUELLER, H. G. "Glutamine utilization by the small intestine". *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 53: 201-237, 1982.

WU, G. "Intestinal mucosal amino acid catabolism". *J Nutr.* 128: 1249-1252, 1998.

YANG, D. & BRUNENGRABER, H. "Glutamate, a window on liver intermediary metabolism". *J Nutr.* 130(4S Suppl): 991S-994S, 2000.

YOUNG, V. R. & AJAMI, A. M. "Glutamate: an amino acid of particular distinction". *J Nutr.* 130(4S Suppl): 892S-900S, 2000.

PAPEL NUTRICIONAL DOS GLUTAMATOS

Joel Faintuch

1. INTRODUÇÃO

O glutamato monossódico (MSG) é o sal sódico do ácido glutâmico, do qual se libera uma vez no interior do organismo. O ácido glutâmico, a exemplo da glutamina com a qual é relacionado, é um aminoácido de cinco carbonos não essencial presente em proteínas da dieta usual, assim como no plasma de crianças e adultos, como um integrante do aminograma normal.

O consumo do MSG é, usualmente, voluntário e com fins culinários, ou por vezes menos consciente em alimentos industrializados. O ácido glutâmico, por sua vez, comparece diariamente embutido em proteínas animais e vegetais de amplo consumo. Biologicamente, sua ingestão não é obrigatória, posto que, como outros aminoácidos não essenciais, pode ser sintetizado no fígado a partir de outras fontes. Não obstante, ao longo dos últimos 50 anos diversas funções nutricionais e metabólicas importantes foram associadas a esse composto, as quais serão passadas em revista neste capítulo (Tabela 5.1).

Tabela 5.1– Ações metabólicas do ácido glutâmico e glutamatos

Principais ações metabólicas do ácido glutâmico e glutamatos
Neoglicogênese
Síntese de proteína muscular
Balanço ácido-básico renal
Fonte de energia dos enterócitos
Ureagênese no gado
Produção de glutatona
Precursores de arginina (aminoácido imunomodulador)

2. SÍNTESE PROTEICA

Nas décadas de 1940 e 1950, logo após o término da II Guerra Mundial, Rose e colaboradores (Rose, 1968) subscreveram uma proposta revolucionária através de uma série de pesquisas. Nela postulou-se que alguns aminoácidos dietéticos eram imprescindíveis e, no seu conjunto, eram provavelmente suficientes para garantir a síntese proteica corporal. Todos os demais aminoácidos se comportariam como não essenciais.

Nasceram então os clássicos oito aminoácidos de Rose, que cerca de uma década mais tarde, serviram de substrato para a “dieta dos astronautas”. Essa dieta se metamorfoseou nas modernas misturas de preparações monoméricas e oligoméricas para suporte enteral, assim como para as soluções pioneiras de nutrição intravenosa, fundamentos da moderna alimentação parenteral (Faintuch, 1976).

Nas décadas seguintes, a experiência demonstrou que as ideias de Rose foram realmente notáveis e valiosas, especialmente para a época em que se realizaram, mesmo que incompletas. De fato, o conjunto de aminoácidos prioritários se enriqueceu de vários componentes semiessenciais, condicionalmente essenciais e recomendáveis para determinadas enfermidades e situações clínicas, pelo menos duplicando os oito protagonistas iniciais.

Além disso, percebeu-se que todos os aminoácidos não essenciais são, na realidade, desejáveis para uma reposição dietética balanceada e completa na maioria das circunstâncias. Prescindir deles, por exemplo do ácido glutâmico e da glutamina, provoca diversos inconvenientes (Tabela 5.2), sendo justificável apenas em determinados casos.

Tabela 5.2 – Vantagens da oferta de todos os aminoácidos não essenciais

Perfil mais fisiológico da alimentação
Aminograma plasmático mais próximo da normalidade
Menor custo metabólico para o fígado (desaminação, transaminação, transporte interórgãos de nitrogênio)

Sabe-se que o fígado é dotado de enzimas como desaminases, transaminases e outras capazes de elaborar todos os aminoácidos não essenciais a partir dos essenciais ou de outros substratos. Entretanto, não é menos verdadeiro que este é um processo consumidor de energia, sobrecarregando as vias metabólicas celulares. Além disso, por não ajustar-se ao padrão normal de ingestão alimentar, deve-se considerar a possibilidade de desequilíbrios nas concentrações de aminoácidos circulantes.

Ainda que os aminoácidos não essenciais pareçam ser mais consumidos no território visceral, especificamente no intestino, atingindo-se em alguns modelos mais de 90% de extração esplâncnica do glutamato, eles contribuem marcadamente para o equilíbrio do *pool* de aminoácidos e para a fabricação de proteínas no organismo (Van Goudoever *et al.*, 2006).

Nota-se que glutamatos estão envolvidos no anabolismo nitrogenado muscular e que, em doentes pulmonares crônicos com desnutrição e sarcopenia, há correlação entre teor de glutamatos séricos e massa corporal magra, concomitantemente a alterações dos aminoácidos de cadeia ramificada (Rutten *et al.*, 2006).

Essas verificações são compatíveis com dados anteriores da equipe sueca de Wernerman, de que em voluntários saudáveis, privados de alimentação, glutamato e alguns outros aminoácidos baixam proporcional e significativamente no interior da musculatura, retornando no mesmo ritmo com a retomada da alimentação (Hammarqvist *et al.*, 2005). Essas oscilações são opostas às concernentes aos aminoácidos de cadeia ramificada, os quais, na mesma situação, se elevam nas células musculares. A justificativa seria efluxo de glutamato e glutamina, já registrado em situações de trauma e sepse, contrastando com o catabolismo sem exportação dos aminoácidos de cadeia ramificada, que conseqüentemente tenderiam a se acumular (Hammarqvist *et al.*, 2005).

3. ABASTECIMENTO E REGULAÇÃO DO CICLO DE KREBS

O ciclo dos ácidos tricarbóxicos recebe acetil-CoA derivada dos carboidratos e de outros esqueletos carbônicos e gera CO₂ e energia. Embora teoricamente

autorregenerativo, na prática, para seu eficiente funcionamento, é necessário repor os intermediários aceptores de acetil-CoA. As moléculas mais apropriadas para essa finalidade são o próprio piruvato, glutamina/glutamato e alguns ácidos graxos, aminoácidos, além de corpos cetônicos de cinco carbonos. São as moléculas anapleróticas, em contraposição a algumas outras, catapleróticas, que depletam os intermediários do ciclo.

Na qualidade de agentes anapleróticos, os glutamatos asseguram uma eficiente oxidação aeróbia da glicose e produção de energia pelas mitocôndrias celulares, otimizando o desempenho celular. Sua contribuição, entretanto, não se limita a essa esfera. Os intermediários favorecem a neoglicogênese a partir de aminoácidos, lactato e piruvato, bem como a ureagênese, fenômenos importantes para a bioquímica corporal.

No cérebro, a anaplerose auxilia na remoção de excesso de nitrogênio em casos de hiperamoniemia; e há indícios de que nas células beta das ilhotas pancreáticas essas unidades químicas se envolveriam na produção de insulina.

A cataplerose, induzida em paralelo à anaplerose, não seria uma condição inteiramente negativa, posto que, concomitantemente, seria estimulada a exportação de NADPH e de acetil-coA, intermediários preciosos para outras reações metabólicas. Ressalte-se que a intervenção com glutamato nas síndromes isquêmicas coronarianas e outras é possivelmente mediada por suas propriedades anapleróticas (Brunengraber & Roe, 2006).

4. FUNÇÃO MITOCONDRIAL

As mitocôndrias são cito-organelas que durante o último século eram pouco mais lembradas que como sede da oxidação fosforilativa. Sua dimensão prática em nutrição e enfermidades era inexpressiva, ressalvadas raras mitocondriopatias hereditárias. Tampouco, em anos recentes, nenhuma clínica ou hospital passou a pesquisar ou avaliar rotineiramente disfunções celulares ou subcelulares nos pacientes.

Entretanto, tornou-se claro que as mitocôndrias desencadeiam fenômenos apreciáveis de agressão celular, contrariamente à sua proteção, e também comandam a morte celular (apoptose) em face de determinados estímulos nocivos.

Em que pesem os conhecimentos ainda limitados, os glutamatos não podem ser omitidos neste item, integrantes que são da família de carreadores mitocondriais (MCF) (Arco & Satrustegui, 2005). Os carreadores mitocondriais clássicos são, exclusivamente, os metabólitos, nucleotídeos e cofatores do ciclo

de ácidos tricarbóxicos e de outros ciclos da respiração celular; porém, outras moléculas, como os glutamatos, exercem um papel auxiliar nessa importante cadeia de transporte de elétrons e de geração de fosfatos de alta energia.

Informações atuais dão ciência de disfunção mitocondrial em entidades tão frequentes e graves como sepse, doenças cardiovasculares, choque, diabetes, hepatopatias, moléstias neurodegenerativas, quadros isquêmicos, hipóxicos e tóxicos (Muravchik & Levy, 2006).

O gatilho de tais transtornos seria uma perda de eficiência da oxidação fosforilativa, levando a menor fornecimento de energia e dano, principalmente, das células com requerimentos energéticos elevados. Outra consequência, ligada também ao mau desempenho das enzimas de oxidação celular, seria o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (radicais livres), que já ocorrem em mitocôndrias sadias e se fabricariam em maior quantidade nas organelas enfermas. O excesso desses radicais e sua contrapartida, o consumo de glutathione intracelular, são mecanismos sabidamente precipitantes da apoptose ou morte celular.

Existem reações protetoras em face de tais agressões, notadamente a elaboração das proteínas do choque térmico, cujo papel citoprotetor e antiapoptótico tem sido constantemente valorizado. A hipóxia, espécies reativas de oxigênio, choque, toxinas e citoquinas são todos indutores de proteínas do choque térmico, porém o resultado efetivo pode não ser suficiente para prevenir a morte mitocondrial (mitoptose) ou celular (apoptose) (Muravchik & Levy, 2006).

Distintos atributos dos glutamatos seriam úteis neste fenômeno de disfunção mitocondrial, hoje julgado crucial na sepse e na falência de múltiplos órgãos (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 – Interfaces entre glutamatos e função mitocondrial

Mecanismo	Efeito benéfico
Síntese de glutathione e remoção de radicais livres	Prevenção da mitoptose e apoptose
Aumento da produção de proteínas, no choque térmico	Prevenção da mitoptose e apoptose
Atenuação da produção de citoquinas	Prevenção da mitoptose e apoptose

5. TROFISMO INTESTINAL E CITOPROTEÇÃO

O intestino é um órgão vital sob mais de um aspecto. Sua capacidade de absorção é única e insubstituível, mediada por intenso trabalho celular lastreado em constante proliferação, migração, diferenciação e apoptose. Estima-se que de três em três dias o epitélio intestinal se renove – um ritmo frenético de troca

próprio de um órgão de choque, de uma verdadeira sentinela do organismo. A dimensão desse fenômeno é ainda maior do que se poderia imaginar, diante da superlativa área de contato com o meio exterior, ou pelo menos, com os alimentos e antígenos deglutidos desse meio – equivalente a de uma quadra oficial de tênis, quando se soma as superfícies celulares e subcelulares (borda em escova).

Não menos decisivo é seu trabalho de reconhecimento antigênico e defesa imunológica, na qualidade de maior estrutura imune do organismo. Um dos desdobramentos dessa característica é a interação com a flora bacteriana, estabelecendo um equilíbrio saudável e sustentável entre atividade comensal e capacidade invasiva e toxinogênica desses micróbios.

A premissa subjacente a todas essas rubricas é o trofismo intestinal, no qual determinados nutrientes, com ênfase na glutamina e glutamatos, não podem deixar de ser frisados. Com efeito, a glutamina é o principal combustível energético da mucosa do intestino delgado e o segundo do colo, sendo que os glutamatos reúnem várias de suas qualidades. Nesse sentido, é admitido que a maior parcela do MSG captado na alimentação é metabolizada localmente, exercendo seus efeitos energéticos no intestino delgado.

Vários protocolos têm sido desenhados, no sentido de averiguar o papel intestinal da glutamina *versus* outros nutrientes potencialmente vantajosos, como glutamato, arginina, nucleotídeos e outros (Ziegler *et al.*, 2003; Tuhacek *et al.*, 2004). A glutamina se sai honrosamente em todas as circunstâncias; porém, está bem demonstrado que, na ausência desta, e desde que não ocorra carência da enzima glutamina sintetase, constituinte usual da mucosa, o glutamato não se inferioriza perante aquele derivado (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Influência da glutamina sobre o trofismo intestinal (Ziegler *et al.*, 2003)

Proliferação e diferenciação do epitélio
Produção de glutatona
Elevação do fluxo esplâncnico
Maior absorção dos nutrientes intraluminares
Aumento da defesa imunológica e menor agressão e translocação bacteriana
Atenuação das citoquinas pró-inflamatórias
Maior produção de proteínas do choque térmico

Em modelos experimentais, a oxidação do glutamato no intestino é superior à da glicose e da própria glutamina, chegando a representar 95% da dose ingerida. Seu direcionamento acentuado para a síntese de glutatona também

chama a atenção, prestando-se, igualmente, como substrato para a biossíntese de arginina e prolina.

Vale ressaltar que a síntese mais eficiente de glutathione não se traduz apenas em impacto positivo para o combate sistêmico de radicais livres. Ela antagoniza diretamente a ação destes no epitélio intestinal, abrindo caminho à proliferação e integridade da mucosa, assegurando ainda a fluidez do muco secretado (Ziegler *et al.*, 2003).

6. APOPTOSE INTESTINAL

A morte celular programada é um fenômeno absolutamente fisiológico, com duração geneticamente programada para cada tecido, embora traduza, em muitas eventualidades, as consequências de lesões patológicas. Em condições fisiológicas, representa uma ferramenta ordeira para supressão de células infectadas, defeituosas ou envelhecidas. Seu aumento pode configurar uma perda da viabilidade do tecido, sucedendo também nas transformações malignas, como uma tentativa de eliminar também esses elementos indesejáveis.

Durante muito tempo, postulava-se como um fenômeno eminentemente do núcleo celular, na medida em que enzimas lá situadas que digerem DNA, as nucleases, previamente ativadas por enzimas proteolíticas, as caspases, dariam início à fragmentação dos cromossomas e, subsequentemente, ao colapso e destruição de toda a célula. Hoje, sabe-se que as mitocôndrias estão profundamente associadas a essa reação.

A glutamina retarda a apoptose na mucosa intestinal. Isso tem sido caracterizado seguidamente em contextos de ataque da mucosa por citocinas e outros agentes (Ziegler *et al.*, 2003; Neu & Li, 2007; Evans *et al.*, 2005), comprovando um desempenho positivo no tocante à regeneração das células danificadas.

7. SEPSE

A sepsé é uma entidade frequente e multivariada, reconhecendo diferentes agentes agressivos e mecanismos fisiopatológicos. Disfunções da oxidação celular, do fluxo de aminoácidos e do *turnover* proteico, comprometendo tanto a síntese como a degradação nitrogenada, além da disfunção mitocondrial já registrada, são reconhecidas de há muito.

O glutamato, juntamente com a taurina e o aspartato, parece reduzir-se sincronicamente no plasma em pacientes com trauma e sepsé, porém não no interior dos neutrófilos. Uma das justificativas seria o consumo de glutamato para

a síntese de taurina, bem como para atendimento de necessidades oxidativas, prioritárias para a defesa antibacteriana neste contexto (Engel *et al.*, 2006).

8. CORAÇÃO ISQUÊMICO

Tanto o glutamato como a glutamina são benéficos para a função cardíaca e para as condições hemodinâmicas após o estresse da isquemia e reperfusão, tal como sucede nas coronariopatias isquêmicas, intervenções cirúrgicas e infarto do miocárdio (Stottrup *et al.*, 2006). O efeito cardioprotetor se acompanha experimentalmente de elevação do glicogênio miocárdio.

Tais achados se coadunam com efeitos anti-isquêmicos do glutamato em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica. Efeitos iguais ou superiores são observados com a glutamina, sendo que a via de atuação postulada é a melhora do metabolismo dos carboidratos, com disponibilidade e captação da glicose mais eficientes (Svedjeholm *et al.*, 1996; Kristiansen *et al.*, 2003).

Mesmo em doses supra-fisiológicas, o glutamato e a glutamina não se mostram cardiotoxícos, e contribuem para uma evolução positiva através de diversos possíveis mecanismos (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 – Respostas metabólicas potencialmente cardioprotetoras

Reforço ao ciclo de Krebs (anaplerose)

Fornecimento de glutamato e piruvato para formação de alfa-cetoglutarato e alanina

Melhor utilização da glicose

Reoxidação da adenina dinucleotídeo (NAD) pela via do malatoaspartato

Proteção contra acúmulo de espécies reativas de oxigênio

Aumento da síntese de glicogênio cardíaco

Fonte: Stottrup *et al.*, 2006.

9. CÉREBRO

Desde a década de 1950 se suspeitava que o glutamato atuasse como neurotransmissor. Entretanto, somente na década de 1980 (Fonnum, 1984) tornou-se claro que este era o principal neurotransmissor excitatório. Ao mesmo tempo, configura-se como precursor do ácido gama-aminobutírico (GABA), um importante neurotransmissor inibitório.

Não obstante, seus efeitos não se esgotam na mediação do impulso nervoso e na modulação das atividades cerebrais, embora essas sejam atividades de

elevada hierarquia. Como medida de sua importância, sabe-se que a biossíntese *de novo* do glutamato cerebral (Figura 5.1) consubstancia-se em cerca de 20% dos requerimentos calóricos do sistema nervoso central.

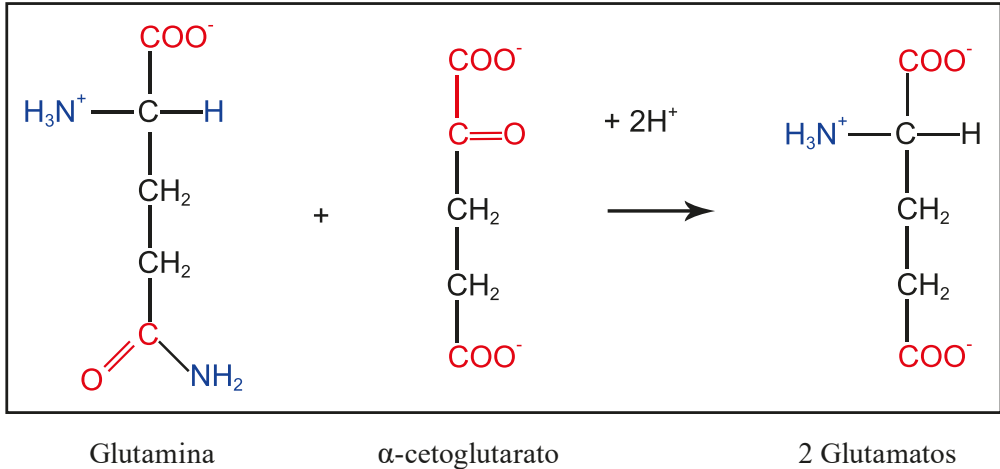


Figura 5.1 – Síntese do glutamato a partir do α-cetoglutarato
 Fonte: figura preparada pelo autor.

10. APRENDIZADO

O fenômeno de cristalização em longo prazo de informações absorvidas pelo sistema nervoso, base do processo de aprendizado e resultante, em última análise, de uma síntese proteica, está fortemente subordinado aos glutamatos. Estudos experimentais, e, somente esses, posto que investigações desta natureza em humanos são não somente inviáveis como até antiéticas, apontam para liberação de glutamato, tanto na etapa de treinamento quanto nos períodos subsequentes de perenização da mensagem (Hertz, 2006).

11. NEUROTRANSMISSÃO

O glutamato e a glutamina exercem numerosos papéis no cérebro, seja de estimulação, de depressão (através de GABA), de transmissão e regulação dos impulsos nervosos, mediante transportadores vesiculares especializados nos astrócitos, como ainda por liberação no modelo de neurotransmissores comuns, ou ainda por interferência em diversos outros processos. Dessa forma, em paralelo com um desempenho típico de neurotransmissor por parte dos glutamatos

e do GABA, outros impactos regulatórios sobre a fisiologia do sistema nervoso central os convertem em peças centrais para esse compartimento (Hertz, 2006; Waagepetersen *et al.*, 2005).

12. NEUROTROFISMO

O fenômeno da neurogênese não se reveste de suma importância apenas nos estágios embrionários da evolução, prosseguindo na idade adulta, a despeito de mais de um século de convicções e afirmações em contrário. De fato, demonstram-se, no adulto, células-tronco neurais nas zonas subventricular e subgranular do giro dentado hipocampal dentre outras regiões (Schlett, 2006), capazes de se diferenciar em neurônios de várias naturezas. Em face de estímulos nosológicos, isquêmicos ou traumáticos como os dos acidentes vasculares cerebrais, epilepsia e outras agressões, existe o potencial de regeneração tecidual a partir de tais matrizes, embora ainda se conheça pouco os mecanismos envolvidos ou como influenciá-los.

Um dos avanços recentes diz respeito ao glutamato. Células embrionárias neurais estão rodeadas de altas concentrações desse aminoácido no meio extracelular e, mediante um estímulo não sináptico, tal composto parece interferir na divisão dessas células progenitoras, seja através de ativação de receptores glutamatérgicos ionotrópicos ou metabotrópicos, ou ainda modulando a ação de células de vizinhança e de distintos estímulos neurais.

Essas descobertas abrem perspectivas promissoras para a manipulação de glutamatos cerebrais nas situações de enfermidade ou lesão, nas quais a restauração da integridade tecidual se revele prioritária (Schlett, 2006).

13. NEOGLICOGÊNESE

Os glutamatos, a exemplo de alguns outros aminoácidos glucogênicos, convertem-se facilmente, no fígado, em glicose, através do fenômeno da neoglicogênese. Embora taxada de potencialmente nociva nos pacientes sépticos e traumatizados, por depletar as proteínas corporais, a neoglicogênese é, na realidade, um processo fisiológico vantajoso e essencial à vida, tornando-se nocivo somente quando inapropriado ou exacerbado.

De fato, o padrão de alimentação dos humanos sadios, à semelhança daquele dos animais, não é nem deveria ser contínuo. Nesse sentido, são inevitáveis as oscilações no aporte de carboidratos e na taxa de glicemia, fenômeno esse que

poderia ameaçar a função de órgãos sensíveis dependentes de um fluxo contínuo de glicose, em particular o sistema nervoso central e periférico.

É a neoglicogênese que assegura a manutenção de uma glicemia estável no período interdigestivo, e em especial no pós-absortivo ou noturno, onde tipicamente o organismo permanece 12 h sem aporte energético. Graças aos sistemas enzimáticos especializados da glândula hepática, como o ciclo de Cori e outros, há uma eficiente geração de glicose endógena para atendimento das exigências energéticas de órgãos consumidores exclusivos, bem como para a prevenção da cetoacidose do jejum.

14. BIOSÍNTESE DE MACROMOLÉCULAS

A glicose é indispensável também para a síntese de fosfatos de alta energia, armazenadores da força motriz e do desempenho químico celular (ATP, NADPH), participando ainda da síntese de macromoléculas como fosfolípidos e ácidos nucleicos (DNA, RNA). Mediante a neoglicogênese, os glutamatos previnem possíveis interrupções nesse processo.

14. 1. Interações entre glutamato e glutamina

A glutamina é o aminoácido mais presente nos fluidos extracelulares, com concentração plasmática da ordem de 0,7 mMol/L, ao passo que o ácido glutâmico está, aqui, fracamente representado, em proporção dezenas de vezes menor (20 uMol/L). No interior das células, graças à ubiquidade da enzima glutaminase, grande parte da glutamina é convertida em glutamato, que passa a ser o aminoácido intracelular mais comum (2-20 mMol/L).

É amplamente comentado que os glutamatos não penetram facilmente no espaço intracelular, devido à sua carga elétrica fortemente ácida e à dificuldade de transporte transmembrana. Apenas ao nível da barreira hemoliquórica, graças à existência de receptores específicos glutaminérgicos, tal captação ocorreria diretamente para o encéfalo, porém, de forma altamente regrada e controlada.

Não obstante essa internalização dificultada, evidências clínicas são compatíveis com um papel não negligenciável desta molécula em vários contextos. O glutamato pode ser direcionado para a síntese de glutamina (Figura 5.2), em crianças e adultos, especialmente se precursores de carbono, como o alfa-cetoglutarato e outros aminoácidos, são administrados simultaneamente (Parimi & Kalhan, 2007).

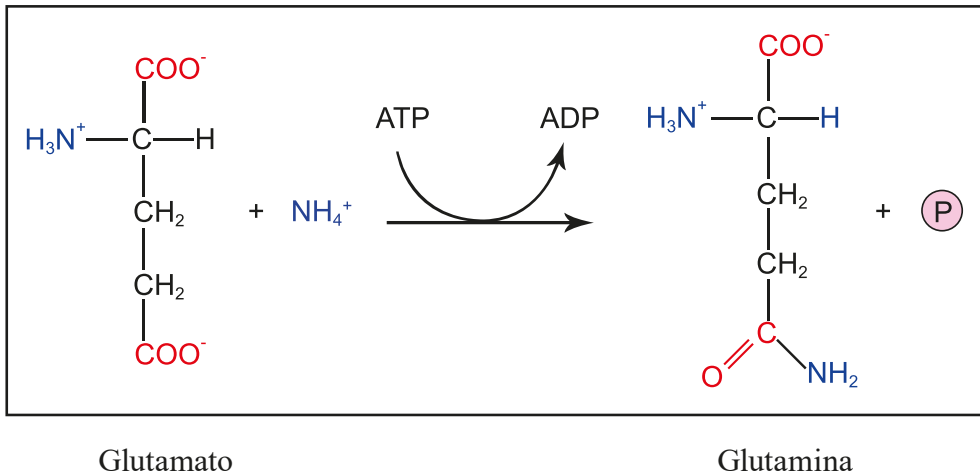


Figura 5.2 – Síntese da glutamina a partir do glutamato

Fonte: figura preparada pelo autor.

O papel da glutamina como nutriente trófico intestinal na prevenção da translocação bacteriana, como imunoestimulador na sepse, trauma e perioperatório, bem como na estimulação da síntese proteica, encontra-se consolidado por revisões sistemáticas e meta-análises.

Note-se que, à semelhança da glutamina, registram-se diferenças nos efeitos desses aminoácidos conforme a via de administração, seja oral ou parenteral, com impacto mais significativo sobre o epitélio intestinal e repercussões sistêmicas menos evidentes no primeiro caso, *versus* um perfil oposto na segunda hipótese. Tal se deve à compartimentalização da fisiologia desses aminoácidos, com destinações preferenciais ora para o segmento esplâncnico, ora para a grande circulação (Parimi & Kalhan, 2007).

15. COMBATE AOS RADICAIS LIVRES

A glutathiona (GSH) é o principal antioxidante do meio intracelular e o mais abundante “tiol” de baixa massa molecular do organismo, desempenhando tarefas cruciais na defesa antioxidante. Os “tiois”, como é sabido, são compostos sulfurados dotados do radical –SH e de grande eficiência na captura de espécies de oxigênio e outros agentes oxidantes. A glutathiona mostra-se ainda mais relevante por formar um sistema reversível dinâmico GSH/GSSG (glutathiona reduzida/oxidada), passível de consumo e regeneração, na dependência das flutuações e demandas do metabolismo.

Quimicamente, a glutatona é um tripéptido (gama-glutamil-cisteinil-glicina) construído, como o nome assinala, pelo glutamato, cisteína e glicina. Dos três aminoácidos referidos, o mais limitante costuma ser a cisteína, porém o glutamato merece destaque também e sua administração é útil para a síntese da molécula. Efetivamente, esse benefício é postulado com reposições usuais de ácido glutâmico e glutamatos, dentro dos padrões de consumo de alimentos usuais.

No rato, MSG em doses maciças, superiores às observadas em consumo humano, tem sido associado com aumento paradoxal do estresse oxidativo, possivelmente por elevar acentuadamente a ingestão alimentar, induzindo alguns componentes da síndrome metabólica, inclusive com anormalidades enzimáticas hepáticas. A adição de fibras neutraliza tal intercorrência, reforçando a hipótese de que se constitui numa resposta aberrante decorrente de consumo dietético não fisiológico e mal balanceado (Farombi & Onyema, 2006; Diniz *et al.*, 2005). Essa complicação nunca foi registrada em humanos.

16. EIXO ENTERO-CEREBRAL

É sabido que após uma refeição saudável, sente-se sonolência e menor disposição para qualquer trabalho, seja físico ou intelectual. Da mesma forma, a fome leva a certo grau de agitação e ansiedade, o que também afeta a capacidade psicomotora. Entretanto, essas pontes entre o trato digestivo e a atividade do sistema nervoso central sempre foram consideradas indiretas, subordinadas à taxa glicêmica ou ao aumento do pH arterial após o almoço (alcalose pós-prandial).

Pesquisas recentes indicam a existência de receptores gustativos no trato gastrointestinal, inclusive para o glutamato. A descoberta contradiz o preceito de que a gastronomia é um fenômeno estritamente oral, uma vez que, após a transposição da faringe, não há diferenças entre os sabores dos alimentos. Também foi demonstrado que a ingestão de MSG estimula localmente neurônios entéricos, que através do nervo vago atingem e ativam diferentes áreas do córtex cerebral e núcleos da base.

É claro que o cérebro monitora tudo o que passa pelas vísceras. Além disso, o glutamato é um sinalizador fisiológico para este eixo, possivelmente envolvido na regulação energética, dada a presença de receptores específicos e vias de transmissão desenvolvidas para o seu sinal (Kondoh *et al.*, 2009).

17. INTERFACE COM MEDIADORES BIOLÓGICOS GASOSOS

Na década de 1980, foram descobertas as funções do óxido nítrico (NO) no organismo. Um gás produzido por determinadas células, que promovia poderosos efeitos fisiológicos em outras células, principalmente relaxamento endotelial e vasodilatação (Ignarro & Gruetter, 1980; Ignarro *et al.*, 1980; Furchgott & Zawadzki, 1980). Esse mediador incomum causou grande sensação e foi citado, em 1992, pela revista *Science* como a molécula do ano (Koshland, 1992). Atualmente, vários outros gases com características comparáveis, mas atuando em outros territórios e funções, foram mapeados, em especial o sulfeto de hidrogênio (H₂S) e o monóxido de carbono (CO).

O denominador comum dessa família é sua produção a partir de vários aminoácidos da dieta, um dos quais é o glutamato. Seu espectro de ação é amplo: vasodilatação, relaxamento da musculatura lisa, regulação hemodinâmica, neurotransmissão, citoproteção e estimulação imunológica. Isso acrescenta outra confirmação do papel dos aminoácidos da dieta e do glutamato, não apenas no estado nutricional, mas também no desempenho de células e funções relevantes (Wu, 2010).

18. REGULAÇÃO DO APETITE E BALANÇO ENERGÉTICO

Um dos temas recorrentes no uso dietético do MSG é o seu impacto na ingestão calórica. Se o maior prazer na alimentação é um objetivo racional e desejável, a hiperfagia poderia ser uma repercussão adversa. Essa hipótese já foi abordada na literatura especializada.

Duas pesquisas recentes indicam a grande segurança no uso de MSG em diferentes contextos. Tomoe *et al.* (2009) adicionaram 0,5% de MSG à dieta padrão de idosos em instituições de acolhimento, por um período de três meses. Não houve alteração na ingestão de calorias ou de proteínas; no entanto, o comportamento dos comensais sentados à mesa era mais dinâmico e positivo. Foi interessante notar que, mesmo sem um aumento significativo no balanço calórico-proteico, um dos marcadores nutricionais relacionados à albumina aumentou, indicando um pequeno benefício nutricional.

O estudo de curto prazo de Carter *et al.* (2011) segue a mesma linha e complementa os resultados anteriores. Mulheres jovens e saudáveis foram submetidas a quatro sessões dietéticas, nas quais foram oferecidas quatro preparações de caldo de carne. Dois deles foram enriquecidos com MSG, na dose máxima de 2,4 g/dia. Novamente, o impacto sobre o total de calorias e proteínas das

participantes foi neutro. No entanto, demonstrou-se que, no intervalo das refeições, as mulheres do grupo do MSG sentiam menos fome ou vontade de petiscar (comer um pouco) do que as dos outros grupos, o que confirmou a maior satisfação com o caldo utilizado, sem qualquer ruptura do equilíbrio energético.

19. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os glutamatos são componentes naturais, sadios e valiosos da alimentação. Ademais de suas propriedades nutricionais não essenciais, porém de grande pertinência para a síntese proteica, agem como sinalizadores e mediadores de grande número de transformações metabólicas, algumas de inusitada relevância. A segurança e mesmo a conveniência de seu consumo rotineiro são embasadas por numerosos estudos, cabendo eventual questão apenas para o emprego de doses aberrantes, suprafisiológicas e capazes de comprometer acentuadamente o aminograma plasmático, que, além disso, se revelariam potencialmente deletérias para virtualmente todo e qualquer nutriente, seja ele aminoácido ou de outra natureza.

Newsholme *et al.* (2003) julgam a glutamina e os glutamatos tão básicos e convenientes para múltiplos órgãos e sistemas que, na sua ótica, apenas a glicose ocupa uma posição fisiológica tão central.

20. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARCO, A. D. & SATRUSTEGUI, J. “New mitochondrial carriers: an overview”. *Cell Mol Life Sci.* 62: 2204-2227, 2005.
- BRUNENGRABER, H. & ROE, C. R. “Anaplerotic molecules: current and future”. *J Inherit Metab Dis.* 29: 327-331, 2006.
- CARTER, B. E. *et al.* “Supplementing chicken broth with monosodium glutamate reduces hunger and desire to snack but does not affect energy intake in women”. *Br J Nutr.* 106: 1441-1448, 2011.
- DINIZ, Y. S. *et al.* “Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats”. *Nutrition.* 21: 49-55, 2005.
- ENGEL, J. M. *et al.* “Relationship of taurine and other amino acids in plasma and in neutrophils of septic trauma patients”. *Amino Acids.* 30: 87-94, 2006.

EVANS, M. E.; JONES, D. P. & ZIEGLER, T. R. “Glutamine inhibits cytokine-induced apoptosis in human colonic epithelial cells via the pyrimidine pathway”. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 289: G388-396, 2005.

FAINTUCH, J. “Bases para a utilização parenteral de aminoácidos”. In: FAINTUCH, J. *et al.* *Alimentação parenteral prolongada.* São Paulo, Manole, 1976, pp. 43-57.

FAROMBI, E. O. & ONYEMA, O. O. “Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin”. *Hum Exp Toxicol.* 25: 251-259, 2006.

FONNUM, F. “Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain”. *J Neurochem.* 42: 1-11, 1984.

FURCHGOTT, R. F. & ZAWADZKI, J. V. “The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine”. *Nature* 288: 373-376, 1980.

HAMMARQVIST, F. *et al.* “Free amino acid and glutathione concentrations in muscle during short-term starvation and refeeding”. *Clin Nutr.* 24: 236-243, 2005.

HERTZ, L. “Glutamate, a neurotransmitter-and so much more. A synopsis of Wierzbica III”. *Neurochem Int.* 48:416-425, 2006.

IGNARRO, L. J. & GRUETTER, C.A.”Requirement of thiols for activation of coronary arterial guanylyl cyclase by glyceryl trinitrate and sodium nitrite: possible involvement of S-nitrosothiols”. *Biochim Biophys Acta* 631: 221-231, 1980.

IGNARRO, L. J. *et al.* “Guanylyl cyclase activation by nitroprusside and nitrosoguanidine is related to formation of S-nitrosothiol intermediates”. *Biochem Biophys Res Commun* 94: 93-100, 1980.

KONDOH, T.; MALICK, H. N. & TORII, K. “Activation of the gut-brain axis by dietary glutamate and physiologic significance in energy homeostasis”. *Am J Clin Nutr.* 90: 832S-837S, 2009.

KOSHLAND, D. E. “The molecule of the year”. *Science.* 258: 1861, 1992.

KRISTIANSSEN, S. B. *et al.* “Effects of L-glutamate supplementation mimic effects of fasting in the ischemic heart”. *APMIS Suppl.* 3: 117-121, 2003.

- MURAVCHIK, S. & LEVY, R. J. “Clinical implications of mitochondrial dysfunction”. *Anesthesiol.* 105: 809-837, 2006.
- NEU, J. & LI, N. “Pathophysiology of glutamine and glutamate metabolism in premature infants”. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 10: 75-79, 2007.
- NEWSHOLME, P. *et al.* “Glutamine and glutamate as vital metabolites”. *Braz J Med Biol Res.* 36: 153-163, 2003.
- PARIMI, P. S. & KALHAN, S. C. “Glutamine supplementation in the newborn infant”. *Semin Fetal Neonatal Med.* 12: 19-25, 2007.
- ROSE, W. C. “The sequence of events leading to the establishment of the amino acid needs of man”. *A.J.P.H.* 58(11): 2020-2027, 1968.
- RUTTEN, E. P. *et al.* “Greater whole-body myofibrillar protein breakdown in cachectic patients with chronic obstructive pulmonary disease”. *Am J Clin Nutr.* 86: 829-834, 2006.
- SCHLETT, K. “Glutamate as a modulator of embryonic and adult neurogenesis”. *Curr Top Med Chem.* 6: 949-960, 2006.
- STOTTRUP, N. B.; KRISTIANSEN, S. B. & LOFGREN, B. “L-glutamate and glutamine improve haemodynamic function and restore myocardial glycogen content during postischaemic reperfusion: A radioactive tracer study in the rat isolated heart”. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 33: 1099-1103, 2006.
- SVEDJEHOLM, R. *et al.* “Metabolic and hemodynamic effects of intravenous glutamate infusion early after coronary operations”. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 112: 1468-1477, 1996.
- TOMOE, M. *et al.* “Clinical trial of glutamate for the improvement of nutrition and health in the elderly”. *Ann N Y Acad Sci.* 1170: 82-86, 2009.
- TUHACEK, L. M. *et al.* “Substitutes for glutamine in proliferation of rat intestinal epithelial cells”. *Nutrition.* 20: 292-297, 2004.
- VAN GOUDOEVER, J. B. *et al.* “Intestinal amino acid metabolism in neonates”. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 58: 95-102, 2006.
- WAAGEPETERSEN, H. S. *et al.* “Role of glutamine and neuronal glutamate uptake in glutamate homeostasis and synthesis during vesicular release in cultured glutamatergic neurons”. *Neurochem Int.* 47: 92-102, 2005.

WU, G. “Functional amino acids in growth, reproduction and health”. *Adv Nutr (Bethesda)*. 1: 31-37, 2010.

ZIEGLER, T. R. *et al.* “Trophic and cytoprotective nutrition for intestinal adaptation, mucosal repair and barrier function”. *Ann Rev Nutr*. 23: 229-261, 2003.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DO GLUTAMATO

O GLUTAMATO NO LEITE MATERNO E NO DESENVOLVIMENTO DO INTESTINO DO LACTENTE

*Manuel E. Baldeón
Nancy Flores*

1. INTRODUÇÃO

O leite materno é o alimento exclusivo e ideal para bebês até os seis meses de idade. Além dos componentes nutricionais necessários para o crescimento e desenvolvimento do lactente, contém muitos fatores bioativos que complementam os efeitos benéficos do leite materno (Castellote *et al.*, 2011). Organizações internacionais como a Organização Mundial da Saúde promovem a implementação de políticas locais, regionais e globais que favorecem a prática do aleitamento materno (OMS, 2003). A estratégia global que apoia o aleitamento materno está baseada em muitos estudos científicos de vários anos sobre este tema (OMS, 2003).

O leite materno fornece ao lactente alimento e proteção imunológica a baixo custo em ambiente seguro. A composição nutricional do leite materno (carboidratos, lipídios, proteínas, vitaminas, minerais e água) é feita para suprir as demandas nutricionais durante os primeiros meses de vida. A composição do leite em cada espécie é específica, o que significa que leites de outras espécies de mamíferos não são adequados para o consumo humano. O leite bovino, por exemplo, não é recomendado até que o bebê tenha um ano de idade.

O leite materno contém componentes imunomoduladores que não estão presentes em nenhuma das fórmulas infantis disponíveis atualmente. Os componentes imunes do leite materno protegem o bebê de infecções e modulam a resposta imune intestinal, limitando o processo inflamatório a “alimentos exógenos”, assim como também à microbiota intestinal (Riveron, 1995). Além disso, contém componentes humorais e celulares cuja função é proteger o lactente de micro-organismos externos: bactérias, vírus e parasitas (Riveron, 1995). O leite materno possui uma variedade de aminoácidos e fatores de crescimento que regulam o desenvolvimento da mucosa intestinal, sua função de barreira contra elementos externos e a resposta imune na mucosa do lactente (Lønnerdal, 2003). Assim, a alimentação do lactente durante os primeiros seis meses de vida com outro alimento diferente do leite materno o priva de sua apropriada nutrição e o põe em risco de desnutrição e infecções (Zinkernagel, 2001); ou seja, o aleitamento materno assegura o crescimento e desenvolvimento normal dos lactentes.

2. COMPOSIÇÃO DO LEITE MATERNO

As secreções que se produzem na glândula mamária têm uma composição que se modifica e se ajusta às necessidades do lactente durante seu crescimento nos primeiros meses de vida. O fluido que começa a ser produzido na proximidade do parto se denomina colostro e é produzido até os primeiros sete dias depois do nascimento. Depois desse período, esse fluido muda de consistência e composição e passa a ser denominado leite de transição, produzindo-se por aproximadamente quinze dias, tempo a partir do qual a glândula mamária produz leite maduro (Lawrence, 2007).

Nascimento				
Semanas	1	2	3	
	Colostro	Transição	Maduro	Desmame

O colostro é um fluido espesso e amarelado que fornece, aproximadamente, 67 Kcal/100 mL. A Tabela 6.1 resume as mudanças que ocorrem ao longo do tempo na composição das secreções mamárias, incluindo o colostro. O colostro tem altas concentrações de aminoácidos livres, proteínas e imunoglobulinas (Ig), é rico em vitaminas lipossolúveis como A e E, e seu conteúdo é pobre em lipídeos e lactose. O colostro facilita a expulsão do mecônio, fornece

à criança abundantes anticorpos e antioxidantes e inicia o estabelecimento da microbiota intestinal.

Tabela 6.1 – Composição e volume das secreções da glândula mamária no primeiro mês após o parto

Composição	Dias pós-parto						
	1	2	3	4	5	14	28
Proteínas (g/dL)	32	17	12	11	11	8	9
Lípidios (g/dL)	12	15	20	25	24	23	29
Carboidratos (lactose) (g/dL)	20	25	31	32	33	35	35
Volume (mL/dia)	50	190	400	625	700	1.100	1.250

Fonte: tabela modificada de Lawrence, 2007.

O leite materno de transição é produzido depois do colostro por aproximadamente duas semanas. Nesse leite, as concentrações de lactose, lipídios e vitaminas hidrossolúveis aumentam e os níveis de imunoglobulinas, proteínas e vitaminas lipossolúveis diminuem (Tabela 6.1). O leite que se produz depois desse período se chama leite maduro, aportando aproximadamente 75 Kcal/100 mL. Sua composição é bastante estável (Tabela 6.2).

Tabela 6.2 – Composição do leite materno maduro

	COMPONENTES	CONTEÚDO
Fase Aquosa		
Solução aquosa e soro	Ca, Mg, Na, K, Cl, fosfatos, citrato, caseína, α -lactoalbumina, lactoferrina, IgA, lisozimas, seroalbumina, lactose, oligossacarídeos, nitrogênio não proteico: glucosamina, ureia, glutamato, vitaminas do complexo B, ácido ascórbico	87%
Fase coloidal	Caseínas, Ca, fosfatos	0,30%
Emulsão: glóbulos de gordura	Triglicérides, ésteres do colesterol	4%
Interfase: membrana dos glóbulos de gordura	Proteínas, fosfolipídios, colesterol, enzimas, oligoelementos, vitaminas lipossolúveis	2%
Células	Macrófagos, neutrófilos, linfócitos, células epiteliais	1 x 10 ⁶ /mL
Macronutrientes (g/L)	Carboidratos	72
	Proteínas	10
	Lipídios	39

	COMPONENTES	CONTEÚDO
Micronutrientes (mg/L)	Cálcio	280
	Cloro	420
	Magnésio	35
	Fósforo	140
	Potássio	525
Elementos traço (µg/L)	Ferro	300
	Cobre	250
	Zinco	1.200
	Iodo	110
	Cromo	50
	Manganês	6
	Selênio	20
Vitaminas (mg/L)		
Lipossolúveis	A	670 ± 200 µg/L
	D	0,55 ± 0,10 µg/L
	E	2,3 ± 1,0 g/L
	K	2,1 ± 0,10 µg/L
Hidrossolúveis	B6	93 ± 8 g/L
	B12	0,97 µg/L
	Biotina	4 ± 1,0 µg/L
	B1	0,21 ± 0,03 g/L
	Riboflavina	0,35 ± 0,02 g/L
	B3	1.500 ± 0,20 g/L
	B5	1.800 ± 0,20 g/L
	Vitamina C	40 ± 10 g/L
Folato	85 ± 37 µg/L	
Outras Proteínas (mg/L)	IgA	50-100
	IgM	2
	IgG	1
	Lactoferrina	100-300
	Lisozimas	5,0-25,0
	Lactoalbumina	200-300
	Caseína	200-300

Fonte: tabela modificada de Lawrence, 2007; e Polin *et al.*, 2004.

No leite maduro, os carboidratos e os lipídeos fornecem a maioria da energia. O leite materno é rico em ácidos graxos essenciais, e ácidos linoleico e linolênico que têm um papel importante no desenvolvimento cerebral e do sistema imune

dos lactentes (Sherman, 2000). Por outro lado, as proteínas do leite são fonte de aminoácidos e contribuem para a digestão e absorção de outros nutrientes por ação de enzimas como amilase, lipase, lactoferrina, haptocorrina e β -caseína. A maioria das proteínas presentes no leite é sintetizada na glândula mamária e outras, como a albumina, são provenientes do sangue materno.

O conteúdo proteico do leite muda com o tempo; durante os primeiros períodos de aleitamento, a concentração de proteínas está entre 14-16 g/L, enquanto que, seis meses depois do nascimento, sua concentração é de 7-8 g/L. É interessante notar que nem todas as proteínas do leite são completamente digeridas no intestino do lactente; algumas são parcialmente processadas ou mantêm sua estrutura intacta devido às importantes funções que elas cumprem no crescimento e desenvolvimento intestinal, assim como também mantêm propriedades imunológicas, como é o caso da lactoferrina e da imunoglobulina A, IgA (Ward *et al.*, 2002).

3. COMPONENTES IMUNOLÓGICOS DO LEITE MATERNO

Além de suprir as necessidades nutricionais, o leite materno promove proteção imunológica ao lactente, propriedade que tem motivado muitas pesquisas nos últimos anos (Li *et al.*, 2019). São numerosas as células e os fatores imunológicos no leite materno que promovem proteção contra infecções (Tabela 6.3). Esses componentes produzem uma cascata de efeitos que ajudam o desenvolvimento e o funcionamento do sistema imunológico do lactente (Castellote *et al.*, 2011). Estima-se que o leite materno contenha aproximadamente 1×10^6 células/mL e a maioria de suas células são polimorfonucleares e macrófagos que fagocitam e matam micróbios como *Candida*, *Clostridium difficile* e *Klebsiella* (Li *et al.*, 2019).

O segundo grupo de células mais importantes são os linfócitos, produtores de imunoglobulinas, como os linfócitos B e T; estes últimos são os mais abundantes (Tabela 6.3). Os linfócitos T do leite são células de memória que podem ser facilmente ativadas. Por outro lado, os linfócitos B do leite produzem IgA, o qual protege diretamente o lactente. Outros peptídeos solúveis com atividade antimicrobiana e imunológica do leite incluem a lactoferrina, lactoperoxidase, lisozima e a N-acetil- β -D-glicosaminidase, citosinas, interferons, entre outros (Lønnerdal, 2003). O leite materno fornece agentes antimicrobianos, anti-inflamatórios e imunorreguladores que favorecem o crescimento e o desenvolvimento do recém-nascido e o protegem em longo prazo de doenças infecciosas durante a infância (Goldman, 2007).

Tabela 6.3 – Componentes imunes do leite materno

Componentes	Número aproximado ou concentrações
Células	1 x 10 ⁶ /mL
Macrófagos	75% de células mononucleadas
Linfócitos	25% de células mononucleadas
Linfócitos B: IgG, IgA, IgM	20% dos linfócitos
Linfócitos T	80% dos linfócitos
Citosinas	
Interleucinas	
IL-1b	1.130 pg/mL
IL-6	150 pg/mL
Interferons	
IFN- γ	400 ng/mL
Outros	
TNF- α	600 pg/mL

Fonte: tabela modificada de Baldeón & Gaskins, 2000.

O leite materno é o meio mais importante de imunidade passiva para o recém-nascido (Field, 2005). As proteínas do leite incrementam a função imune e inibem infecções causadas por vírus, bactérias e fungos. A IgA do leite, ao se ligar ao antígeno microbiano específico, bloqueia a sua adesão, produz fagocitose, ativa a resposta imune local e o elimina, sem afetar a colonização normal da microbiota intestinal (Castellote *et al.*, 2011). A IgA também inativa entero-toxinas e interfere com a absorção de antígenos potencialmente danosos dos alimentos, contribuindo para sua eliminação (Li *et al.*, 2019). Foram identificados IgAs no leite materno contra patógenos muito comuns, como *Haemophilus influenza*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Vibrio cholerae*.

Outra proteína com propriedades antimicrobianas de amplo espectro é a lactoferrina. Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram que a lactoferrina tem propriedades antimicrobianas contra *E. coli*, *Streptococcus*, *H. Pylori*, *S. aureus*, vírus da herpes, vírus da hepatite C, rotavírus e vírus da imunodeficiência humana (Newburg & Street, 1997). É importante considerar que a proteção imune conferida pelo leite materno ao lactente ocorre na ausência de inflamação, provavelmente devido à presença de fatores anti-inflamatórios e antioxidantes em sua composição.

As glândulas mamárias são consideradas parte do chamado tecido linfóide associado à mucosa (MALT, pela sua sigla em inglês). Semelhante a outros componentes do MALT, o epitélio da glândula mamária produz glicoproteínas e

peptídeos imunes que limitam o contato e regulam a composição da microbiota da glândula mamária (Liu & Newburg, 2013). Além disso, células-tronco epiteliais mamárias (hMSCs) foram recentemente descritas com a capacidade de dar origem a células produtoras de leite e, em teoria, provocar no lactente tolerância a antígenos maternos (Cacho & Lawrence, 2017). Atualmente, estão sendo realizados estudos para caracterizar esses hMSCs e determinar suas funções na dupla mãe-lactente.

Outro aspecto importante relacionado ao componente imune nas glândulas mamárias é a presença da microbiota da glândula. Nos últimos anos tem sido descrita a presença de bactérias anaeróbias facultativas (espécies de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterim*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*) e anaeróbias (espécies de *Bifidobacterium* e *Bacteroides*) (Gomez-Gallego *et al.*, 2016). Será importante determinar a origem da microbiota mamária, seu efeito no desenvolvimento de MALT local e a função fisiológica do lactente (ver seção 6). Esses dados demonstram que o leite materno promove várias formas de proteção imunológica ao lactente.

4. O GLUTAMATO NO LEITE MATERNO

Além dos nutrientes e dos fatores imunológicos que já foram indicados anteriormente, o leite materno contém uma proporção alta de substâncias que compreendem o chamado nitrogênio não proteico (NNP). O NNP do leite materno inclui aminoácidos livres, pequenos peptídeos, ureia, ácido úrico, íons amônio, creatina, creatinina, ácidos nucleicos, amino-açúcares, entre os mais importantes. Estudos demonstram que vários desses compostos influenciam no crescimento e desenvolvimento do intestino do lactente (Koletzko *et al.*, 1998). Estima-se que os aminoácidos livres constituem entre 3 e 5% dos aminoácidos totais do leite. A quantidade de aminoácidos no leite muda conforme o tempo: são mais abundantes no início do aleitamento, exceto o glutamato e a glutamina, cujas concentrações aumentam com o progresso da amamentação (Agostoni *et al.*, 2000a).

As concentrações de glutamato e glutamina aumentam durante o aleitamento, chegando a constituir, aproximadamente, 50% dos aminoácidos livres do leite nos três meses depois de iniciado o aleitamento (Agostoni *et al.*, 2000a). O glutamato, precursor da glutamina, é o aminoácido mais abundante do leite materno (Singh & Saxena, 2004; Spitzer, 1996). Portanto, o lactente é continuamente exposto a concentrações crescentes de glutamato e glutamina que podem ter um papel importante no desenvolvimento e manutenção do intestino e do

bem estar do bebê (Agostoni *et al.*, 2000a). As altas concentrações de glutamato e glutamina do leite materno poderiam ser benéficas para o bebê alimentado com leite materno, visto que tem um papel importante no desenvolvimento do intestino do bebê (Burrin & Stoll, 2002).

A análise de aminoácidos livres presentes no leite de humanos, outros primatas e não primatas demonstra que o glutamato é o aminoácido livre mais abundante: leite humano (1.339-2.157 $\mu\text{mol/L}$), primatas não humanos (423-2.528 $\mu\text{mol/L}$), elefantes (1.332 $\mu\text{mol/L}$), cavalos (1.119 $\mu\text{mol/L}$) e vacas (349 $\mu\text{mol/L}$) (Sarwar *et al.*, 1998). Os padrões únicos das concentrações de aminoácidos livres nas diferentes espécies de mamíferos poderiam indicar a importância relativa de alguns grupos desses compostos durante o aleitamento. As altas concentrações de ácido glutâmico livre no leite materno poderiam estar relacionadas com funções fisiológicas importantes no lactente (Neu, 2001).

Estudos dos anos 1980, delineados para determinar as concentrações de aminoácidos livres no leite de mães que haviam tido seus filhos prematuros e não prematuros, demonstraram que as concentrações de ácido glutâmico e taurina são os aminoácidos mais abundantes no leite materno (Pamblanco *et al.*, 1989). Esses estudos também indicam que o leite de mães com filhos prematuros apresenta concentrações mais altas de ácido glutâmico do que o leite de mães com filhos não prematuros. A alta concentração de glutamato tem sido, desde então, associada a importantes funções intestinais, como o metabolismo energético e maturação intestinal (Pamblanco *et al.*, 1989). Um estudo recente sobre o conteúdo de glutamina no leite materno demonstrou que esse aminoácido está presente em concentrações similares, tanto no leite de mães com filhos nascidos prematuramente quanto no leite de mães com filhos não prematuros, e isso se manteve durante todo o período de aleitamento, 4.960 vs. 5.000 $\mu\text{mol/L}$ de leite, respectivamente (Jochum *et al.*, 2006). No entanto, a concentração de glutamina livre foi aumentada no final da lactação, possivelmente para contribuir com o desenvolvimento intestinal através da disponibilidade contínua desse aminoácido (107 $\mu\text{mol/L}$ no leite de transição, para 291 $\mu\text{mol/L}$ no leite maduro). Os autores desse estudo estimaram que um recém-nascido de 3,5 kg de peso, que consuma 500 mL de leite por dia, consumiria 370 mg/dia de glutamina e a glutamina livre representa entre 5-7% da glutamina total do leite (Jochum *et al.*, 2006). Os mecanismos fisiológicos que regulam a síntese e secreção da glutamina na glândula mamária não foram, todavia, elucidados. Esse conhecimento será de muita utilidade para avaliar o impacto da glutamina na fisiologia e nos estados de doença intestinal.

Pesquisas realizadas na década de 1950 demonstraram a importância do ácido glutâmico e da glutamina na síntese das proteínas do leite (Barry, 1956). Com o uso de glutamina e glutamato radioativos, demonstrou-se que a glutamina e o glutamato presentes na caseína provinham da glutamina e do glutamato livres do plasma sanguíneo materno (Barry, 1956). Desde então, muitos estudos demonstraram que os aminoácidos do plasma materno são extraídos pela glândula mamária durante o aleitamento (Viña *et al.*, 1981). Os carbonos do glutamato e da glutamina extraídos do plasma materno são, então, utilizados para a síntese de ácidos graxos e proteínas do leite e alguns desses aminoácidos aparecem no leite como compostos livres (Viña *et al.*, 1981; Viña *et al.*, 1987; Viña & Williamson, 1981). É importante apontar que as concentrações de muitos aminoácidos livres presentes no leite materno diminuem depois de um jejum de aproximadamente 10 h (jejum durante o sono noturno), exceto as concentrações de tirosina, aspartato, asparagina, glutamato e glutamina (Viña *et al.*, 1987). Isso indicaria que, no jejum, a disponibilidade e transporte de aminoácidos livres na glândula mamária diminui, resultando em uma diminuição de aminoácidos livres no leite materno. No entanto, as concentrações de aminoácidos com funções fisiológicas importantes, como o glutamato e a glutamina, se mantêm. Isso indica que existem mecanismos locais que privilegiam a síntese e liberação de glutamato e glutamina no leite materno para não interromper a administração contínua dos mesmos ao lactente (Viña *et al.*, 1987).

Em um estudo realizado no Equador, que comparou a concentração de aminoácidos livres presentes no leite materno de mães adolescentes e adultas, verificou-se que as concentrações de glutamato, glutamina, alanina e serina livres aumentavam com o tempo de lactação nos dois grupos de estudo. As concentrações desses aminoácidos aos quatro meses de lactação tenderam a ser mais elevadas no leite de mães adultas, embora as diferenças não fossem estatisticamente significativas (Baldeón *et al.*, 2014). Da mesma forma, observou-se que a concentração de aminoácidos totais e aminoácidos não essenciais aumentam com o tempo de lactação e suas concentrações não estão relacionadas à idade das mães (Baldeón *et al.*, 2014). Os dados demonstram que a composição do leite materno não depende da idade da mãe. Um estudo recente que avaliou os níveis de aminoácidos livres totais e as concentrações de proteínas no leite materno durante os primeiros seis meses de aleitamento materno e sua possível associação com o gênero dos lactentes, constatou uma associação entre as lactentes meninas e concentrações mais elevadas de proteínas e aminoácidos totais durante os primeiros três meses de amamentação (van Sadelhoff *et al.*, 2018). Os autores concluíram que a composição dos aminoácidos no leite materno varia com o

gênero do bebê. Em um estudo de coorte realizado em mulheres equatorianas, em que foram estudadas as concentrações de aminoácidos livres no leite materno, foram verificadas concentrações significativamente mais altas de Glu 14,40 (1,35, 27,44), Gly 1,82 (0,24, 3,4), Cys 0,36 (0,03, 0,68) e Tyr 0,24 (0,02, 0,46) no leite destinado para crianças (Baldeón *et al.*, 2019). Os aminoácidos livres Glu, Gly, Cys e Tyr aumentaram com o tempo de amamentação. Nesse estudo, também foi observado que houve maiores concentrações de Glu 28,62 (1,78, 55,46) e Ala 7,16 (1,26, 13,06) no leite das crianças que tiveram um ganho de peso maior do que no leite das crianças que tiveram um menor ganho de peso. Os autores do estudo concluíram que existem diferenças nos níveis de aminoácidos livres no leite materno destinado às crianças e para aquelas que crescem mais rapidamente (Baldeón *et al.*, 2019). Mais estudos devem ser realizados sobre essa nova associação e as possíveis consequências fisiológicas dessas diferenças. Tem sido indicado que as concentrações de glutamato e glutamina ajudam no desenvolvimento das crianças após o nascimento durante o período de amamentação. Por outro lado, esses dados especificam que nem todos os leites maternos devem ser considerados iguais; portanto, o gerenciamento de bancos de leite que misturam o leite de mães jovens e adultas deve ser revisto.

Os substitutos do leite materno (fórmulas infantis) disponíveis no mercado são elaborados para imitar a composição do leite materno em seu conteúdo de macro e micronutrientes. Poucos estudos compararam a concentração de aminoácidos livres das fórmulas infantis comerciais com as concentrações desses aminoácidos no leite materno (Chuang *et al.*, 2005; Ferreira, 2003). Um desses estudos demonstrou que a concentração de aminoácidos livres do leite materno foi significativamente mais alta que a concentração desses aminoácidos em todas as fórmulas estudadas: 8.139 $\mu\text{mol/L}$ para o leite materno de bebês prematuros; 3.462 $\mu\text{mol/L}$ para o leite materno de bebês não prematuros; 720 $\mu\text{mol/L}$ para a fórmula A; 697 $\mu\text{mol/L}$ para a fórmula B; e 820 $\mu\text{mol/L}$ para a fórmula elaborada para bebês prematuros (Chuang *et al.*, 2005). Os aminoácidos essenciais e não essenciais estiveram em concentrações mais altas no leite materno do que nas fórmulas infantis (Chuang *et al.*, 2005). O estudo também demonstrou que, ainda que os aminoácidos mais abundantes no leite materno sejam o ácido glutâmico e a taurina, as concentrações desses aminoácidos nas fórmulas infantis não mantiveram esse padrão (Chuang *et al.*, 2005). A diferença na composição das fórmulas infantis, no conteúdo de aminoácidos livres como glutamato, glutamina e taurina em relação ao leite materno, poderia alterar a proteção da mucosa intestinal do lactente naqueles que se alimentam com as fórmulas infantis comerciais (Agostoni *et al.*, 2000b). Esses estudos indicam que, para que as fórmulas

infantis agora disponíveis tentem imitar a composição do leite materno, elas têm que ser reformuladas para representar melhor a composição dos aminoácidos livres presentes no leite materno. Por tanto, o leite materno é a melhor fonte de nutrição e proteção imune do lactente.

5. O GLUTAMATO DO LEITE MATERNO E O TRATO GASTROINTESTINAL DO LACTENTE

O glutamato cumpre um papel essencial no metabolismo humano (Melbourne *et al.*, 2001). É um dos aminoácidos não essenciais mais comuns existentes na natureza. É o principal componente de muitas proteínas e peptídeos da dieta e está presente basicamente em todos os tecidos do organismo. Como já discutido, também é um dos aminoácidos livres mais abundantes no leite materno. O glutamato mantém o crescimento celular, tem um papel importante no fluxo de energia entre tecidos, é um neurotransmissor excitatório no cérebro, contribui para a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico nos rins e faz parte do ciclo da ureia no fígado, é o precursor de ácidos nucleicos para a síntese do DNA, e, além disso, é o substrato mais importante para a produção de energia nas células epiteliais intestinais (Marante *et al.*, 2005; Reeds *et al.*, 2000; Albarracin *et al.*, 2016).

No intestino, o glutamato também é importante para a síntese local de aminoácidos essenciais como a prolina e arginina. Como parte da glutathione, o glutamato atua como agente antioxidante (Wu, 1998). Pelo descrito anteriormente, o glutamato é um aminoácido indispensável para o funcionamento normal do organismo.

No momento do nascimento, o trato gastrointestinal do ser humano deve estar capacitado para digerir e absorver os nutrientes do leite materno, proteger o hóspede de toxinas e patógenos microbianos e manter o equilíbrio hidroeletrólítico. O nascimento determina que a nutrição para a manutenção do bebê mude, drasticamente, do transporte de nutrientes através da placenta e do consumo de líquido amniótico para consumo oral de leite materno. Para isso, o estado estrutural e funcional do intestino deve estar suficientemente desenvolvido em um recém-nascido (Commare & Tappenden, 2007).

O crescimento e desenvolvimento do intestino no período fetal e neonatal estão finamente regulados. No período neonatal, a maturação e crescimento do aparato gastrointestinal estão influenciados por vários fatores fisiológicos e ambientais. O líquido amniótico e o leite materno provêm fatores tróficos

necessários para o intestino. Esses fatores incluem nutrientes, fatores de crescimento peptídico, hormônios peptídicos intestinais, esteroides, hormônios tireóideos e estímulos nervosos.

Outros compostos no leite que modulam o desenvolvimento intestinal são células imunes e seus produtos, oligossacarídeos não digeríveis que possibilitam o estabelecimento da microbiota intestinal (Burrin & Stoll, 2002; Perin *et al.*, 1995; Castellote *et al.*, 2011). A colonização microbiana do intestino, por exemplo, permite o desenvolvimento do tecido linfóide (também conhecido como tecido linfático) associado ao intestino, que é um componente importante do sistema imunológico do bebê (De La Cochetière *et al.*, 2007).

As células do mesênquima intestinal são também fonte de vários fatores de crescimento, como o fator de crescimento para os fibroblastos, fator de crescimento hepático, fator de crescimento queratinocítico, fator de crescimento similar à insulina (IGF-I). Da mesma forma, as células do mesênquima também produzem os componentes da matriz extracelular como o colágeno e os proteoglicanos, necessários para a manutenção e desenvolvimento do intestino. Os mecanismos pelos quais os fatores endógenos, como os hormônios, ou exógenos, como os componentes da dieta (leite materno), que regulam a maturação do intestino ao nascimento, têm sido uma área de ativa investigação (Gree, 2001; Commare & Tappenden, 2007).

Há ampla evidência que demonstra que os aminoácidos não essenciais, como o glutamato e a glutamina, contribuem para o funcionamento metabólico da mucosa intestinal. Esses aminoácidos, além de contribuírem para a geração de energia para o funcionamento celular, são precursores de várias vias metabólicas para a síntese de outros aminoácidos, nucleotídeos, amino-açúcares etc. (Reeds & Burrin, 2001). Nas células especializadas na absorção e secreção de substâncias e com o tempo de vida curto como o das células epiteliais intestinais, a geração de DNA e os produtos de suas secreções, como a mucina, obrigatoriamente, demandam compostos ou substratos que possam produzir energia e, ao mesmo tempo, fazer parte da geração de novas células e seus produtos, como é o caso do glutamato e da glutamina. É importante enfatizar que esses aminoácidos essenciais que são utilizados para a manutenção da mucosa intestinal são provenientes da dieta, do plasma sanguíneo e também podem ser gerados dentro das células da mucosa intestinal (Reeds *et al.*, 2000).

Os aminoácidos livres presentes no leite materno são facilmente utilizáveis no intestino porque podem ser absorvidos rapidamente no intestino dos lactentes. Os transportadores de glicose e aminoácidos nas células epiteliais intestinais

se formam no período fetal e ao nascimento são completamente funcionais. O transporte de glutamato no epitélio intestinal é sódio-dependente, o que indica que requer a presença de sódio para sua absorção. Isso é importante devido à alta demanda de energia do lactente no momento do nascimento. Se existem diferentes usos para os aminoácidos essenciais produzidos localmente e para aqueles que chegam pela dieta ou via sanguínea, isso ainda não foi estabelecido.

Uma das funções importantes do epitélio intestinal é servir de barreira entre o conteúdo da luz intestinal (grande número de micróbios e antígenos) e a lâmina própria da parede do tubo digestório (interior do organismo, incluindo as células imunes). Essa barreira está conformada por uma capa única de células epiteliais, as mesmas que estão unidas entre si por complexos proteicos que, em seu conjunto, se denominam *tight junctions*. A função de barreira é possível devido a que as células caliciformes do epitélio e as fortes uniões que ocorrem entre essas células epiteliais, *tight junctions*, secretam ativamente muco para a luz intestinal. O muco secretado limita a interação dos componentes do conteúdo intestinal, alimentos e micro-organismos com as células epiteliais, facilitando sua eliminação (Newburg & Walker, 2007). Considera-se que as *tight junctions* fazem parte do sistema imune não específico e servem para impedir o ingresso dos componentes intestinais para o interior do organismo. A glutamina tem um papel importante tanto para a produção de muco quanto para a manutenção das *tight junctions*, o que permite que o epitélio intestinal cumpra com sua função de barreira (Newburg & Walker, 2007; Li *et al.*, 2004). Na formação do muco, a glutamina é necessária para a síntese de aminoaçúcares, como N-acetilglucosamina e N-acetilgalactosamina, presentes na matriz extracelular e no muco intestinal.

Por outro lado, a glutamina é necessária para a expressão das proteínas que formam as *tight junctions* e que mantêm a estrutura do epitélio intestinal (Li *et al.*, 2004). Esses estudos indicam que os aminoácidos não essenciais como o glutamato e a glutamina, além de servir como fontes de energia, cumprem funções específicas na mucosa intestinal mantendo sua integridade (Li *et al.*, 2004).

Estudos de complementação, com glutamato ou glutamina no alimento de leitões normais, demonstram que a presença desses aminoácidos melhora o comportamento zootécnico nesses animais (Liu *et al.*, 2002). A presença do glutamato ou glutamina melhora a morfologia e função do intestino, favorecendo o crescimento. Devido às importantes funções atribuídas ao glutamato e à glutamina na fisiologia intestinal, vários estudos clínicos de complementação com esses aminoácidos têm sido realizados. No entanto, lamentavelmente, até o

momento, não existe um consenso no uso de glutamina sob essas circunstâncias, devido à falta de consistência dos resultados nesses estudos (Plauth *et al.*, 1999; Hall *et al.*, 2003).

6. O GLUTAMATO DO LEITE MATERNO, A MICROBIOTA E A RESPOSTA IMUNE INTESTINAL

Quando uma criança nasce, os componentes imunológicos do intestino já estão presentes (Newburg & Walker, 2007). Tradicionalmente, a resposta imune de defesa do organismo se divide em resposta imune inata e resposta imune adquirida (Mackay *et al.*, 2001). A resposta imune inata é constituída por barreiras físicas e químicas como o epitélio intestinal, o ácido clorídrico do estômago, a produção de criptidinas no intestino, assim como também fatores humorais como as proteínas plasmáticas do sistema complemento e proteínas de fase aguda, entre outras. Os elementos celulares da resposta imune inata incluem as células dendríticas, células *natural killer* (NK) e células fagocíticas como os polimorfonucleares e os macrófagos. Esse tipo de resposta é semelhante para todos os agentes patógenos e não consegue discriminar especificamente o agente agressor. Por outro lado, a resposta imune adquirida é mediada pelos linfócitos B e linfócitos T e seus produtos. Esta resposta imune é específica e pode criar uma resposta imune mais rápida e mais potente se o hospedeiro é infectado mais de uma vez pelo mesmo patógeno. Apesar de todos os componentes do sistema imune intestinal estar presentes ao nascimento, os recém-nascidos têm um maior risco de infecção que crianças maiores e adultos, o que indicaria uma aparente imaturidade da resposta imune intestinal ao momento do nascimento. Em outras espécies, como nos ratos, por exemplo, o sistema imune também completa seu desenvolvimento depois do nascimento. A imaturidade do sistema imune no nascimento colocaria o recém-nascido em risco de infecções. Entretanto, para compensar essa debilidade parcial, anticorpos da mãe (IgG) passam ao feto pela placenta, reforçando, dessa forma, o sistema imunológico do recém-nascido. Por outro lado, o leite materno garante uma imunidade passiva ao lactente por meio de células fagocíticas e proteínas com propriedades antimicrobianas de amplo espectro diminuindo, assim, o risco de infecção do lactente (Howie *et al.*, 1990; Chantry *et al.*, 2006). Daí a importância da alimentação com o leite materno.

Por outro lado, um dos componentes mais importantes do sistema imunológico é o denominado tecido linfóide associado ao intestino, comumente

chamado GALT por sua sigla em inglês (*gut-associated lymphoid tissue*). A superfície mucosa do intestino está exposta a uma grande quantidade de agentes externos como o alimento e micro-organismos que compõem a microbiota intestinal e, portanto, é um sítio potencialmente vulnerável à entrada de agentes infecciosos. Não é surpreendente, então, saber que a maioria dos agentes patógenos ingressa no organismo por superfícies mucosas, como a intestinal. O tecido linfóide do intestino deve então cumprir com uma especial função de defesa contra organismos patógenos, porém, ao mesmo tempo deve permitir/tolerar a presença de agentes externos como os alimentos e a microbiota intestinal que coexistem em simbiose com o hospedeiro. O GALT é composto por agregados linfáticos que estão sob o epitélio do intestino desde a boca até o ânus; exemplos desses agregados incluem as amídalas, as adenoides, o apêndice, nódulos linfáticos situados ao longo do intestino delgado e grosso, além das denominadas placas de Peyer.

As placas de Peyer são agregados de células imunes através das quais se induz (inicia) a resposta imune. As placas de Peyer estão cobertas com um epitélio especializado que as permite recolher constantemente amostras do conteúdo intestinal e, por interação com as células do sistema imune, estabelecem, ou não, uma resposta imunológica. Se o conteúdo intestinal não é uma ameaça para o organismo, este é “tolerado” e não se estabelece uma resposta imune. No entanto, se existir um agente infeccioso no intestino, é iniciada uma forte resposta imune intestinal que se expressa não somente no nível das placas de Peyer, como também ao longo do intestino por meio dos linfócitos e outras células imunológicas efectoras da própria lâmina. O GALT está encarregado de processar os antígenos que atuam na mucosa intestinal e disseminar a resposta imune.

Portanto, os alimentos que o lactente consome inicialmente em sua vida são fonte de antígenos, aos quais se deve “tolerar” e que, normalmente, estão no leite materno (Calder *et al.*, 2006). Entretanto, a alimentação inicial também deve prover fatores (incluindo nutrientes) que ajudem a modular a resposta imunológica e a favorecer o estabelecimento da microbiota intestinal. A microbiota intestinal, por sua vez, ajuda na maturação do sistema imune (Calder *et al.*, 2006). Por outro lado, a resposta imune do recém-nascido se complementa com a imunidade passiva que o lactente adquire pela passagem de IgG da mãe durante a fase fetal, e pelos componentes imunes presentes no leite materno no aleitamento (Gil & Rueda, 2002). Além disso, o leite materno também contém elementos que modulam a resposta frente a antígenos que não constituem um perigo para o hospedeiro e, dessa maneira, evita uma reação imune que

potencialmente pudesse causar dano ao intestino. Tanto o estabelecimento da microbiota intestinal quanto os fatores imunes moduladores do leite materno têm um papel crítico na maturação do intestino e de seu sistema imune (ver discussão posterior). O efeito modulador da resposta imune pelo leite materno, no início da vida, poderia explicar o efeito benéfico que esta tem em doenças autoimunes como a diabetes tipo 1, alergias, doenças crônicas não transmissíveis, que aparecem mais tarde na vida. Esses dados indicam que o leite materno, rico em glutamato e glutamina, tem um papel protetor frente ao desenvolvimento de doenças crônicas como as alergias (Calder *et al.*, 2006).

Outros componentes presentes no leite materno e que influenciam no GALT são os aminoácidos e as proteínas (Gil & Rueda, 2002). Assim, os aminoácidos livres (treonina, cisteína, glutamato e glutamina) são indispensáveis para a síntese de glicoproteínas (do muco intestinal), proteínas produzidas pelas células imunes, síntese de glutathione (ver seção 5). A glutathione é um tripeptídeo constituído por glutamato, glicina e cisteína que atua como transportador de aminoácidos e como antioxidante. Em situações de estresse, por exemplo, durante períodos de nutrição parenteral e presença de infecções, as concentrações de glutathione podem diminuir e a demanda de glutamato e glutamina aumentam. A administração desses aminoácidos em situações de estresse melhora o estado do GALT (Gil & Rueda, 2002). Foi demonstrado que a administração de glutamina previne a atrofia da mucosa intestinal que se observa na nutrição parenteral; da mesma forma, em um modelo animal de endotoxemia foi demonstrado que a administração oral de glutamina melhorou os níveis das células imunes intestinais (Li *et al.*, 1998; Manhart *et al.*, 1999). Esses estudos indicam que o leite materno, além de proporcionar imunidade passiva, contém nutrientes que modulam a resposta imune intestinal.

O estímulo mais importante para o desenvolvimento do sistema imune intestinal é a colonização microbiana do intestino (De La Cochetière *et al.*, 2007). No nascimento, o intestino do recém-nascido é estéril. Durante o processo do parto e posteriormente, os micro-organismos da mãe e do meio ambiente circundante colonizam o intestino até constituir o ecossistema microbiano chamado microbiota intestinal. Esse ecossistema microbiano é formado por, aproximadamente, 400 espécies bacterianas e, uma vez estabelecido, é muito estável em sua composição. A microbiota intestinal cumpre com funções fisiológicas, nutricionais e de defesa do organismo (Tabela 6.4). A microbiota ajuda na digestão de macronutrientes, produção de ácidos graxos de cadeia curta e na síntese de vitaminas; além disso, a microbiota é uma barreira de defesa

contra micro-organismos patógenos, limitando seu crescimento e melhorando a imunidade intestinal ao estimular o GALT.

Tabela 6.4 – Importância da microbiota intestinal

Favorece o desenvolvimento do sistema imune intestinal
Favorece o desenvolvimento do sistema nervoso intestinal
Compete com micro-organismos patógenos
Metaboliza macronutrientes que chegam ao intestino grosso
Produce ácidos graxos de cadeia curta
Degrada a mucina intestinal
Converte o urobilinogênio em urobilina
Converte o colesterol em coprostanol
Degrada a ureia
Permite a circulação entero-hepática de ácidos biliares, bilirrubina, entre outros
Pode gerar metabólitos carcinogênicos
Pode causar dano direto da mucosa em condições anormais

Existem vários fatores que modulam o estabelecimento da microbiota intestinal como o tipo de parto, a dieta, a carga genética do hospedeiro, o uso de medicamentos (antibióticos), entre outros (Vance *et al.*, 2001). O parto normal implica que a colonização inicial da boca e estômago do recém-nascido se faça pelas espécies microbianas presentes nas fezes e na microbiota vaginal da mãe (Mackie *et al.*, 1999). As crianças que nascem por cesariana se expõem à microbiota da mãe, mas também são expostas às bactérias presentes nos equipamentos cirúrgicos e nos profissionais da saúde presentes no momento do procedimento cirúrgico. Isso determina que a composição da microbiota intestinal seja distinta em crianças nascidas por parto normal ou por cesariana. Em termos gerais, o recém-nascido pela via vaginal é colonizado nos primeiros dias por *Enterobacteriaceae* e por cocos Gram positivos, os mesmos que criam um meio ambiente adequado para o estabelecimento de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Clostridium* (Vance *et al.*, 2001).

Por outro lado, o consumo de leite materno facilita a colonização intestinal principalmente por *Bifidobacterium* e também por *Lactobacillus* e *Streptococcus*, enquanto que em crianças alimentadas com fórmulas infantis, sua microbiota contém predominantemente coliformes e enterococos, *E. Coli* e *Klebsiella* (Harmsen *et al.*, 2000). O leite materno contém complexos de oligossacarídeos (frutanos, inulina) que não são suscetíveis à degradação pelas

amilases do lactente, mas que acabam atuando como prebióticos, facilitando a proliferação de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, abundantes na microbiota normal do bebê (De La Cochetière, 2007). Além disso, componentes da microbiota intestinal, como bifidobactérias e lactobacilos, podem produzir compostos biologicamente ativos a partir de aminoácidos da dieta. Esses aminoácidos são utilizados como substratos na geração de ácidos graxos de cadeia curta, histamina e GABA (Devaraj *et al.*, 2013). Os componentes do leite materno, incluindo aminoácidos livres, contribuem ativamente para o estabelecimento e manutenção da microbiota intestinal, bem como para o desenvolvimento do intestino do lactente.

A microbiota intestinal estimula o desenvolvimento normal da resposta imune intestinal (Cebra, 1999). Além disso, estimula a produção de muco, a síntese e secreção de IgA por parte dos linfócitos B e estimula também aos linfócitos T da lâmina própria intestinal. Tanto o muco quanto a IgA secretadas no lúmen do intestino cobrem e protegem a superfície intestinal contra patógenos intestinais (Field, 2005). Por outro lado, a microbiota intestinal e os componentes celulares e proteicos do leite materno modulam a resposta imune intestinal, limitando a inflamação e atingindo um equilíbrio na resposta mediada pelas células T auxiliares (*T-helper cells*) (Lönnerdal, 2003; Coëffier *et al.*, 2001). Alterações na resposta mediada pelas células T auxiliares no intestino estão associadas a doenças como alergias, doenças inflamatórias intestinais, entre outras.

Já foi indicado que componentes do nitrogênio não proteico do leite materno, como o glutamato e a glutamina, contribuem na defesa do intestino ao favorecer a manutenção da barreira intestinal, impossibilitando o ingresso de possíveis agentes patógenos. Falhas na barreira intestinal no período neonatal também têm sido associadas com atopia e alergias, doença inflamatória intestinal, doença celíaca, doenças autoimunes como o diabetes tipo 1 (Newburg & Walker, 2007). A administração de glutamina a pacientes com alterações da barreira intestinal, como as complicações de sepsia, doença inflamatória intestinal, melhora a resposta ao estresse metabólico e ao balanço nitrogenado (Fontana *et al.*, 2006).

Apesar do evidente efeito benéfico do leite materno na nutrição e desenvolvimento do lactente, os mecanismos moleculares desses efeitos não estão completamente estabelecidos. Assim, mais estudos são necessários para identificar os efeitos do glutamato no intestino da criança e no sistema imunológico.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento normal do recém-nascido está influenciado pelo consumo do colostro e do leite materno, particularmente evidente na maturação do aparato gastrointestinal e do sistema imune associado (GALT). Os componentes do leite materno proporcionam os compostos necessários para que essa maturação seja possível. Os aminoácidos livres como o glutamato e a glutamina, presentes em altas concentrações no leite materno, têm um papel importante nesses processos de maturação e manutenção do bebê e de seus sistemas imune e intestinal. A presença de um sistema específico de estimulação do glutamato em nível gástrico poderia ajudar a esclarecer como componentes únicos do leite materno (glutamato livre) contribuem na maturação e desenvolvimento do bebê.

8. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos membros do Centro de Investigación Biomédica da Universidad UTE, Quito, Equador, pelo apoio na elaboração deste capítulo.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTONI, C. *et al.* “Free glutamine and glutamic acid increase in human milk through a three-month lactation period”. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 31: 508-512, 2000a.
- AGOSTONI, C. *et al.* “Free amino acid content in standard infant formulas: comparison with human milk”. *J. Am. Coll. Nutr.* 4: 434-438, 2000b.
- ALBARRACIN, S. L. *et al.* “L-glutamate: a key amino acid for sensory and metabolic functions”. *Arch Latinoam Nutr.* 66: 101-112, 2016.
- BALDEÓN, M. E. & GASKINS, H. R. “Diabetes and immunity”. In: GERSHWIN, M. E.; GERMAN, B. & KEEN, C. L. *Nutrition and Immunology Principles and Practice*. Totowa, Humana Press, 2000, pp. 301-311.
- BALDEÓN, M. E. *et al.* “Free amino acid content in breast milk of adolescent and adult mothers in Ecuador”. *Springerplus.* 3: 104, 2014.
- BALDEÓN, M. E. *et al.* “Free Amino Acid Content in Human Milk is Associated with Infant Gender and Weight Gain during the First Four Months of Lactation”. *Nutrients.* 11(9): 2239, 2019.

BARRY, J. M. “The use of glutamine and glutamic acid by the mammary gland for casein synthesis”. *Biochem. J.* 63: 669-676, 1956.

BURRIN, D. G. & STOLL, D. “Key nutrients and growth factors for the neonatal gastrointestinal tract”. *Clin.Perinatol.* 29: 65-96, 2002.

CACHO, N. T. & LAWRENCE, R. M. “Innate Immunity and Breast Milk”. *Front Immunol.* 8: 584, 2017.

CALDER, P. C. *et al.* “Early nutrition and immunity - progress and perspectives”. *Br. J. Nutr.* 96: 774-790, 2006.

CASTELLOTE, C. *et al.* “Premature Delivery Influences the Immunological Composition of Colostrum and Transitional and Mature Human Milk”. *J. Nutr.* 141: 1181-1187, 2011.

CEBRA, J. “Influences of microbiota on intestinal immune system development”. *Am. J. Clin. Nutr.* 69(5): 1046S-1051S, 1999.

CHANTRY, C. J.; HOWARD, C. R. & AUINGER, P. “Full breast feeding duration and associated decrease in respiratory tract infection in US children”. *Pediatrics.* 117: 425-432, 2006.

CHUANG, C-K. *et al.* “Free amino acids in full-term and pre-term human milk and infant formula”. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 40: 496-500, 2005.

COËFFIER, M. *et al.* “Influence of glutamine on cytokine production by human gut in Vitro”. *Cytokine.* 13: 148-154, 2001.

COMMARE, C. E. & TAPPENDEN, K. A. “Development of the infant intestine: implications for nutrition support”. *Nutr. Clin. Pract.* 22(2): 159-173, 2007.

DE LA COCHETIÈRE, M. F. *et al.* “Intestinal microbiota in neonates and pre-term infants: a review”. *Curr. Pediatr. Rev.* 3: 21-34, 2007.

DEVARAJ, S.; HEMARAJATA, P. & VERSALOVIC, J. “The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes”. *Clin Chem.* 59: 617-628, 2013.

FERREIRA, I. M. “Quantification of non-protein nitrogen components of infant formulae and follow-up milks: comparison with cow’s and human milk”. *Br. J. Nutr.* 7: 1-23, 2003.

- FIELD, C. J. “The Immunological components of human milk and their effect on immune development in infants”. *J. Nutr.* 135:1-4, 2005.
- FONTANA, L. *et al.* “Compuestos nitrogenados de interés en nutrición clínica”. *Nutr. Hosp.* 21: 15-29, 2006.
- GIL, A. & RUEDA, R. “Interaction of early diet and the development of the immune system”. *Nutr. Res. Rev.* 15: 263-292, 2002.
- GOLDMAN, A. “The Immune System in Human Milk and the Developing Infant”. *Breastfeed Med.* 2(4): 195-204, 2007.
- GOMEZ-GALLEGO, C. *et al.* “The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity”. *Semin Fetal Neonatal Med.* 21: 400-405, 2016.
- GREE, F. R. “Feeding the premature infant in the 20th century”. *J. Nutr.* 131: 426S-430S, 2001.
- HALL, J. C. *et al.* “A prospective randomized trial of enteral glutamine in critical illness”. *Intensive Care Med.* 29: 1710-1716, 2003.
- HARMSSEN, H. J. *et al.* “Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods”. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 30(1): 61-67, 2000.
- HOWIE, P. W. *et al.* “Protective effect of breast feeding against infection”. *Br. Med. J.* 300: 11-16, 1990.
- JOCHUM, F. *et al.* “Total glutamine content in human milk is not influenced by gestational age”. *Acta Paediatrica.* 95(8): 985-990, 2006.
- KOLETZKO, B. *et al.* “Growth, development and differentiation: a functional food science approach”. *Br. J. Nutr.* 80(Suppl 1): S5-S45, 1998.
- LAWRENCE, R. *Lactancia Materna: Una Guía para la Profesión Médica.* 6. ed., Elsevier-Espana, 2007, p.111.
- LI, J. *et al.* “Glycyl-L-glutamine enriched total parenteral nutrition maintains small intestine gut associated lymphoid tissue and upper respiratory tract immunity”. *Journal of Parenteral and Enteral Nutr.* 22: 31-36, 1998.
- LI, N. *et al.* “Glutamine regulates Caco-2 tight junction protein”. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 287: G729-G733, 2004.

LI, S. *et al.* “Characterization of stem cells and immune cells in preterm and term mother’s milk”. *Journal of Human Lactation*. 35: 528-534, 2019.

LIU, B. & NEWBURG, D. S. “Human milk glycoproteins protect infants against human pathogens”. *Breastfeed Med*. 8: 354-362, 2013.

LIU, T. *et al.* “Effects of dietary glutamine and glutamate supplementation on small intestinal structure, active absorption and DNA, RNA concentration in skeletal muscle tissue of weaned piglets during d 28 to 42 of age”. *Asian-Aust J. Anim. Sci*. 15: 238-242, 2002.

LÖNNERDAL, B. “Nutricional and physiologic significance of human milk proteins”. *Am. J. Clin. Nutr*. 77(6): 1537S-1543S, 2003.

MACKAY, I. R.; ROSEN, F. S. & ZINKERNAGEL, R. M. “Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases”. *N. Engl. J. Med*. 345: 1331-1335, 2001.

MACKIE, R.; SGHIR, A. & GASKINS, H. R. “Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract”. *Am. J. Clin. Nutr*. 69S: 1035S-1045S, 1999.

MANHART, N. *et al.* “Effects of orally administered glutamine on lymphocyte subpopulations in Peyer’s patches in endotoxin boosted mice”. *Immunol. Lett*. 69: 25-33, 1999.

MARANTE, J. *et al.* “Usos de la glutamina en pediatría”. *MedUNAB*. 8(1 Supl. 1): S37-S42, 2005.

MELBOURNE, T. *et al.* “The glutamine/glutamate couplet and cellular function”. *News. Physiol. Sci*. 16: 157-160, 2001.

NEU, J. “Glutamine in the fetus and critically ill low birth weight neonate: metabolism and mechanism of action”. *J. Nutr*. 131(9 Sppl): 2585S-2589S, 2001.

NEWBURG, D. S. & STREET, J. M. “Bioactive materials in human milk, milk sugars sweeten the argument for breast-feeding”. *Nutr. Today*. 32: 191-201, 1997.

NEWBURG, D. S. & WALKER, W. A. “Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk”. *Pediatr. Res*. 61: 2-8, 2007.

OMS. Organización Mundial de la Salud. *Estrategia Mundial para la Alimentación del Lactante y del Niño pequeño*. Ginebra, 2003.

- PAMBLANCO, M. *et al.* “Free aminoacids in preterm and term milk from mothers delivering appropriate- or small-for-gestational-age infants”. *Am. J. Clin. Nutr.* 50: 778-781, 1989.
- PERIN, N. M.; CLANDININ, T. & THOMSON, B. R. “Importance of milk and diet on the ontogeny and adaptation of the intestine”. *J Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 24: 419-425, 1995.
- PLAUTH, M. *et al.* “Effects of vascular or luminal administration and of simultaneous glucose availability on glutamine utilization by isolated rat small intestine”. *Int. J. Colorect. Dis.* 14: 95-100, 1999.
- POLIN, R. A.; FOX, W. W. & ABMAN, S. H. *Fetal and Neonatal Physiology*. 3. ed., Philadelphia, Elsevier, 2004, p. 275.
- REEDS, P. J. *et al.* “Intestinal glutamate metabolism”. *J. Nutr.* 130: 978S-982S, 2000.
- REEDS, P. J. & BURRIN, D. G. “Glutamine and the Bowel”. *J. Nutr.* 131: 2505S-2508 S, 2001.
- RIVERON CORTEGUERA, R. “Valor inmunológico de la leche materna”. *Rev Cubana Pediatr.* 67(2), 1995.
- SARWAR, G. *et al.* “Free amino acids in milks of human subjects, other primates and non-primates”. *Brit. J. Nutr.* 79: 129-131, 1998.
- SHERMAN, M. P. “Human milk, fatty acids, and the immune response: a new glimpse”. *Am. J. Clin. Nutr.* 72(5): 1071-1072, 2000.
- SINGH, P. & SAXENA, S. K. “Free Glutamic acid content of milk in Indian Mothers”. *Indian J. Physiology Pharmacology.* 48: 365-369, 2004.
- SPITZER, A. R. *Intensive care of the fetus and neonate*. St. Louis, Mosby-yea, 1996, p. 843.
- VAN SADELHOFF, J. H. J. *et al.* “Longitudinal variation of amino acid levels in human milk and their associations with infant gender”. *Nutrients.* 10(9): 1233, 2018.
- VANCE, J.; MCCRACKEN, V. J. & LORENZ, R. G. “The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota”. *Cell. Microbiol.* 3: 1-11, 2001.

VIÑA, J. *et al.* “Involvement of gamma-glutamyltransferase in amino-acid uptake by the lactating mammary gland of the rat”. *Biochem. J.* 194: 99-102, 1981.

VIÑA, J. R. & WILLIAMSON, D. H. “Utilization of L-arginine and L-glutamine by lactating mammary gland of the rat”. *Biochem. J.* 196: 757-762, 1981.

VIÑA, J. R. *et al.* “Effect of fasting on amino acid metabolism by lactating mammary gland: studies in women and rats”. *J. Nutr.* 117: 533-538, 1987.

WARD, P. P.; URIBE-LUNA, S. & CONNEELY, O. M. “Lactoferrin and host defense”. *Biochem. Cell Biol.* 80: 95-102, 2002.

WU, G. “Intestinal mucosal amino acid catabolism”. *J. Nutr.* 128: 1249-1252, 1998.

ZINKERNAGEL, R. M. “Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases”. *N Engl. J. Med.* 345: 1331-1335, 2001.

ASPECTOS ENDÓCRINOS DO GLUTAMATO

*Miguel Arcanjo Areas
André Schwambach Vieira*

1. EFEITOS FISIOLÓGICOS

O glutamato monossódico (MSG) e todos os demais sais de ácido glutâmico dissociados em soluções aquosas são idênticos ao próprio ácido glutâmico (GLU), o qual é encontrado ligado a muitos alimentos proteicos, como também na sua forma livre, em determinados alimentos. O MSG é utilizado pela indústria alimentícia para realçar o sabor de alimentos como sopas, molhos, pizzas e condimentos consumidos, principalmente, pela população de países asiáticos, assim como para reduzir o teor de sódio nos alimentos (Maluly *et al.*, 2017).

Aproximadamente, 95% do GLU derivado do alimento (ligado ou adicionado) são utilizados como fonte energética pelo enterócito da mucosa intestinal. Em indivíduos adultos saudáveis, o GLU pode ser endogenamente sintetizado em quantidades adequadas e, assim, é considerado um aminoácido não essencial, sendo seu *turnover* diário de aproximadamente, 48 g (Świąch *et al.*, 2010). O GLU liberado dos alimentos proteicos tem sua cinética de absorção da luz intestinal influenciada pelo tempo de retenção no estômago e pela mistura com o quimo no intestino, além do intenso catabolismo dos aminoácidos não essenciais na mucosa intestinal (Burrin *et al.*, 2008).

O GLU é o substrato oxidativo mais importante para a mucosa intestinal, além de ser um precursor específico para os aminoácidos arginina e prolina, assim como elemento chave para neurotransmissores entéricos. Tal fato pode se constituir em potencial terapêutico para a melhoria da função intestinal de neonatos (Janeczko *et al.*, 2007). Dessa forma, pode-se inferir que o GLU da dieta seria um fator indispensável para a manutenção da integridade funcional da mucosa intestinal.

A absorção do GLU através da membrana do enterócito se dá por carreadores independentes do Na⁺, não havendo diferenças na captação luminal entre o GLU liberado de proteínas, GLU livre ou GLU como aditivo alimentar (Janeczko *et al.*, 2007). Por outro lado, a barreira placentária controla a transferência de glutamina para o feto em situações de elevada concentração plasmática materna, devido ao metabolismo placentário do GLU constituir-se em um fator fisiológico limitante, dose-dependente (Gao *et al.*, 1994).

De fato, estudo com fêmeas primatas não humanas demonstrou que somente uma pequena fração do GLU materno administrado intravenosamente foi transferido para a circulação fetal, porque a placenta é capaz de extrair GLU, tanto da circulação materna quanto fetal, para usar como importante fonte energética (Gao *et al.*, 1994). Para se saber a partir de que nível plasmático tal fato acontece, diferentes concentrações de MSG foram administradas, intravenosamente, em fêmeas de macacos *rhesus* grávidas, as quais apresentam placenta com características morfológicas e fisiológicas similares à humana, sendo observado que somente quando os animais foram expostos a uma alta concentração (0,40 g/kg p.c.) associada com um alto nível plasmático materno (2.800 µmol/L), valor muito acima da concentração basal (50 µmol/L), é que houve aumento do nível plasmático fetal superior a 440 µmol/L. Um nível plasmático materno entre 2.000 e 2.500 µmol/L foi identificado como barreira limitante para a transferência do GLU materno ao feto (Newman *et al.*, 1973).

Estudos eletrofisiológicos e comportamentais sugerem que o GLU é uma das moléculas responsáveis pelo quinto gosto básico (umami), diferente do doce, azedo, salgado e amargo ou da combinação desses gostos (Jinap & Hajeb, 2010). Estudos eletrofisiológicos realizados com fibras eferentes do nervo corda do tímpano, em cães, demonstraram a existência de células gustativas responsivas à aplicação de GLU na língua, independentemente da estimulação de receptores de sódio (Ninomiya *et al.*, 2000). Estudos em ratos identificaram um tipo de receptor para o gosto umami, com similaridades farmacológicas com o receptor metabotrópico para GLU subtipo-4 (mGLU-R4). Em humanos, a percepção e a

intensidade do gosto umami foram relacionadas para uma variedade de agonistas de receptores de GLU, provavelmente metabotrópico, similar ao mGLU-R4 (Shigemura *et al.*, 2009). Ainda, foram também detectados, em cães, receptores para MSG no interior do estômago os quais estavam associados ao aumento da motilidade pós-prandial e à aceleração do esvaziamento gástrico, sendo o sinal mediado pelo nervo vago (Toyomasu *et al.*, 2010). A administração de MSG no estômago, duodeno e veia porta ativa fibras nervosas aferentes vagais no estômago, intestino e fígado, sugerindo a existência de receptores sensíveis ao MSG associados à inervação vagal aferente, presente nessas estruturas (Kondoh & Torii, 2008b). De fato, receptores metabotrópicos para GLU (mGLUs) foram encontrados em células não neurais do estômago e intestino de ratos (Nakamura *et al.*, 2010). Tais receptores parecem ter participação crucial na sensibilidade do trato gastrointestinal à presença de nutrientes nos alimentos, sendo que sua ativação possui grande importância tanto na regulação local da motilidade e secreção, quanto na modulação da atividade de diferentes regiões do sistema nervoso (Torii *et al.*, 2013).

A adição de GLU melhora a palatabilidade e o sabor dos alimentos (Baryłko-Pikielna & Kostyra, 2007). Assim, sais de sódio ou cálcio de GLU aumentam a aceitabilidade de novos sabores na indústria alimentícia, contribuindo para manter a ingestão alimentar em indivíduos que apresentem redução da sensibilidade quimiossensorial, como geralmente acontece em pessoas idosas. De fato, a redução das sensações gustativas e olfativas pode diminuir o apetite, proporcionando uma ingestão alimentar inadequada, uma situação que ocorre, frequentemente, com o envelhecimento.

O tratamento sintomático dessa condição inclui a intensificação do sabor e do odor numa tentativa de compensar, em parte, a perda dessas sensações, utilizando-se de alimentos mais saborosos ou de aditivos alimentares que realcem o sabor, como, por exemplo, o MSG. O aumento da palatabilidade pode aumentar o fluxo salivar, permitindo maior ação da saliva na formação do bolo alimentar, no início da digestão oral de carboidratos e na atividade bactericida de componentes da saliva (lisozima) na cavidade oral, e, assim, contribuir com a aceitação do alimento (Bellisle, 2008). Além da produção de saliva, o gosto umami também estimula a produção de suco gástrico, a secreção exócrina pancreática e a secreção de insulina, participando, assim, de forma efetiva na função gastrointestinal (Khropycheva *et al.*, 2009; Nijijima, 2000).

Dessa forma, o MSG pode ser usado cautelosamente na dieta com o propósito de aumentar a palatabilidade, assim como por especialistas em nutrição,

para a formulação de dietas saudáveis a indivíduos que apresentem baixa ingestão alimentar ou problemas nas sensações olfativas e gustativas.

2. EFEITOS ADVERSOS

2.1. Sistema Respiratório

A partir da descrição inicial, em 1968, da síndrome do restaurante chinês (Kwok, 1968), tem-se discutido se a ingestão de MSG poderia ser responsável por diversos sintomas alérgicos tais como, asma, urticária e rinite. Em 1981, pesquisadores relacionaram casos de crise asmática à ingestão de 2,5 g de MSG, acrescentando tal sintoma àqueles atribuídos à síndrome do restaurante chinês (Allen *et al.*, 1987). Posteriormente, outros investigadores conduziram um experimento com um grupo de indivíduos asmáticos, acreditando que a adição de MSG na dieta seria a causa do problema respiratório (Yang *et al.*, 1997). Entretanto, foi realizado um estudo duplo-cego com indivíduos asmáticos, placebo controlado, com acompanhamento da função pulmonar, não sendo observados efeitos significativos do MSG sobre a função respiratória e nem broncoespasmo (Woods *et al.*, 1998). Além disso, foi avaliada a possibilidade da ingestão de MSG induzir broncoespasmo em 78 indivíduos asmáticos, sensíveis ou não ao MSG, não sendo observadas alterações significativas na função pulmonar desses indivíduos, independente da intolerância ou não ao MSG (Williams e Woessner, 2009). Dessa forma, enquanto há alguma evidência de que a ingestão de grandes quantidades de MSG (43 g) por indivíduos com estômago vazio, sem a concomitante ingestão de alimentos, poderia eliciar algumas das reações alérgicas anteriormente descritas, seria inadequado concluir que, nas condições recomendadas, o consumo de MSG poderia induzir tais sintomas.

Dessa forma, não há evidências consistentes de que o aumento plasmático de MSG possa desencadear crise asmática (Freeman, 2006).

2.2. Sistema Nervoso Central

A barreira hematoencefálica (BHE) restringe e regula o fluxo de substratos entre a circulação e o sistema nervoso central. Para atravessar essa barreira, as substâncias devem apresentar propriedades lipofílicas ou serem transportadas por carreadores específicos. O GLU é uma substância polar e, portanto, seu influxo passivo é limitado a menos que 1% daquele que ocorre nos vasos sanguíneos de outros tecidos. Embora a BHE tenha baixa permeabilidade ao MSG, a presença de transportadores com alta afinidade para o

glutamato, localizados na membrana luminal dos capilares da BHE, pode facilitar a captação do MSG e, assim, o seu transporte para o cérebro. No caso de lesões na BHE, o GLU do sangue pode, também, atravessá-la e causar efeitos tóxicos ao sistema nervoso central em concentração plasmática considerada fisiológica (Xiong *et al.*, 2009).

Como o trato gastrintestinal tem alta capacidade em metabolizar o GLU, a ingestão alimentar de GLU (livre ou ligado) tem pouco impacto sobre os níveis plasmáticos. Somente altas concentrações (550 $\mu\text{mol/L}$, por exemplo) podem provocar um aumento transitório no nível plasmático. Consequentemente, o GLU derivado de alimentos (incluindo MSG em quantidades normais menores que 1 g/dia) não aumentaria o risco de efeitos tóxicos ao sistema nervoso central nos casos de prejuízo da BHE, desde que a concentração plasmática não se encontre aumentada.

A glutamina atua no sistema nervoso central como um neurotransmissor excitatório. Portanto, o GLU deve ser mantido dentro das células, concomitantemente com baixas concentrações extracelulares, fato que se verifica pela rápida eliminação do GLU liberado no terminal sináptico pela ação dos astrócitos, células nervosas importantes para a nutrição dos neurônios, assim como pelo mecanismo de transporte ativo proporcionado pela BHE, garantindo, então, que o nível de GLU no fluido cerebrospinal seja ligeiramente inferior que a concentração plasmática (Xiong *et al.*, 2009).

2.3. Sistema Cardiovascular

Estudos realizados em ratos adultos, tratados com MSG no período neonatal, resultaram em redução da pressão arterial em resposta à injeção aguda de L-NAME (N(G)-nitro-L-arginina metil éster) (Tokarev & Jezová, 2000), substância inibidora da síntese endotelial de óxido nítrico (NO), que apresenta potente efeito vasodilatador (Hetrick & Schoenfisch, 2009). Pelo fato do NO endotelial ser um dos mais importantes moduladores do tônus do músculo liso vascular, o efeito do MSG pode estar relacionado tanto à alteração na síntese de NO endotelial quanto a anormalidades no tônus do músculo liso vascular. Outros estudos também demonstraram que a administração de MSG, em ratos, reduziu a resposta da pressão arterial à fenilefrina, agonista do receptor alfa-1-adrenérgico, e à angiotensina II, substância endógena de potente ação vasoconstritora, assim como reduziu a reatividade vascular à noradrenalina e à serotonina (Tokarev *et al.*, 1997). Tal fato pode ser atribuído a prováveis efeitos tóxicos causados pelas altas doses de MSG administrada, neste estudo, ao sistema nervoso

central, alterando, assim, o funcionamento normal da atividade simpática sobre o sistema cardiovascular (Tokarev *et al.*, 1997).

2.4. Sistema Endócrino

A leptina (do grego *leptos* = magro) é uma proteína secretada por adipócitos e que age no sistema nervoso central (SNC), promovendo menor ingestão alimentar e incrementando o metabolismo energético, além de afetar eixos hipotalâmico-hipofisários e regular mecanismos neuroendócrinos. A leptina é produzida no tecido adiposo branco e, em menor proporção, pelo tecido adiposo marrom, pelos folículos de Graaf e placenta. A ação da leptina no sistema nervoso central (hipotálamo) promove redução da ingestão de alimentos e o aumento do gasto energético, além de regular a função neuroendócrina e incrementar o metabolismo de glicose e de gorduras. Em seres humanos obesos, quanto maior a quantidade de tecido adiposo, maiores os níveis de leptina circulantes. Esse achado é paradoxal, já que níveis elevados de leptina deveriam diminuir o apetite e aumentar o gasto energético. Assim, de forma similar ao que ocorre em alguns indivíduos com *diabetes mellitus*, em que os níveis de insulina estão aumentados, é provável a ocorrência de um aumento da resistência periférica à leptina em seres humanos com obesidade. Esse paradoxo tem sido explicado por diversos mecanismos celulares, dentre eles um possível defeito no transporte da leptina através da barreira hematoencefálica, assim como uma menor expressão de receptores da leptina em indivíduos com obesidade associada à ingestão de dietas ricas em gorduras (González *et al.*, 2010; Jéquier, 2002).

Pesquisadores têm descrito um modelo experimental que se assemelha à situação clínica de síndrome metabólica, caracterizada como obesidade neuroendócrina. Essa obesidade pode ser obtida, em ratos, pela administração subcutânea de MSG. Assim, a ação do GLU em ratos no período neonatal, quando a BHE não está totalmente desenvolvida, resulta em efeitos tóxicos a neurônios do núcleo arqueado do hipotálamo, alterando, dessa forma, a cascata de sinalização da ação hipotalâmica da leptina, causando, conseqüentemente, hiperfagia, obesidade e hiperleptinemia (Iwase *et al.*, 1998). Além da obesidade, também têm sido observados parada do crescimento, deficit comportamental e alterações na glicemia plasmática, em consequência dos efeitos endócrinos induzidos pelo MSG em animais experimentais.

Entretanto, ao contrário dos efeitos da administração subcutânea, ratos jovens e adultos que ingeriram espontaneamente solução de MSG a 1% na

água de beber apresentaram redução do ganho de peso corpóreo e da massa de gordura abdominal, assim como dos níveis plasmáticos de leptina. Além disso, o comprimento naso-anal, massa magra, ingestão alimentar e calórica, pressão arterial e níveis plasmáticos de glicose, insulina, triacilgliceróis, colesterol total, albumina e GLU não foram influenciados pela ingestão da solução de MSG. Tais efeitos podem ter sido mediados através de receptores para GLU presentes no trato gastrointestinal, associados à inervação aferente vagal ou à inervação aferente sensorial da cavidade oral (Kondoh e Torii, 2008a).

Com relação ao hormônio do crescimento, a administração subcutânea de MSG (4 mg/kg p.c.) em ratos neonatais induziu alterações endócrinas caracterizadas pela redução do crescimento, obesidade, diminuição do peso da hipófise, enquanto os parâmetros tireoidianos permaneceram inalterados, indicando que os efeitos inibitórios do MSG sobre a produção de GH e à própria hipófise não se verificam em relação ao eixo hipófise-tireoide (Miśkowiak & Partyka, 1993). Quanto à prolactina (PR) e ao hormônio estimulante dos melanócitos (MSH), a administração de MSG a ratos neonatos, de ambos os sexos, não alterou as concentrações plasmáticas de PR e MSH (Bodnár *et al.*, 2001).

A ação do MSG no eixo hipotálamo-hipófise é exercida sobre uma complexa rede neuronal, envolvendo sistemas monoaminérgicos e peptidérgicos. Assim, a administração subcutânea de altas concentrações de glutamato monossódico em ratos neonatos reduziu em 40% o número de neurônios tuberoinfundibulares tirosina hidroxilase imunopositivos (TH), mas não alterou o número de células nervosas tuberoinfundibulares L-aminoácido aromático descarboxilase imunopositivas (AADC), indicando que esta redução ocorreu principalmente nas células TH-positivas. Por outro lado, MSG não alterou o número de neurônios TH e AADC imunorreativos dos sistemas dopaminérgicos periventricular hipofisário e túbero-hipofisário (Bodnár *et al.*, 2001).

Entretanto, estudos em humanos revelaram que a ingestão de MSG não modificou a secreção hormonal da hipófise anterior, permanecendo inalteradas as secreções de GH, TSH e LH, sugerindo que o glutamato derivado da dieta, de acordo com as recomendações nutricionais, não penetra nas regiões hipotalâmicas que controlam a função da adeno-hipófise (Fernstrom, 2000).

3. TOXICIDADE

De maneira geral, o GLU apresenta baixa toxicidade aguda sob condições normais, sendo que, em ratos e camundongos, a dose oral letal, para 50% dos animais estudados, (DL50) foi de 15.000-18.000 mg/kg p.c., respectivamente.

Toxicidade subcrônica e crônica (esta, com duração superior a dois anos), incluindo a fase reprodutiva, não revelaram nenhum efeito adverso específico em camundongos e ratos alimentados com dieta contendo 4% de MSG. Estudos teratológicos e sobre o sistema reprodutor, utilizando a administração oral materna de MSG, indicaram que o feto e neonato não foram expostos ao GLU, presente na dieta materna, através do transporte placentário (Allen *et al.*, 1987; Gao *et al.*, 1994).

Apesar desses resultados, obtidos experimentalmente, permitirem que organizações atestem sobre a segurança do GLU consumido nos níveis recomendados pela população em geral, é recomendável que as organizações e profissionais envolvidos com nutrição e saúde tenham a responsabilidade de orientar a população para os efeitos indesejáveis que, em altas doses, o GLU pode provocar.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, D.; DELOHERY, J. & BAKER, G. “Monosodium glutamate induced asthma”. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 80(4): 530-537, 1987.

BARYŁKO-PIKIELNA, N. & KOSTYRA, E. “Sensory interaction of umami substances with model food matrices and its hedonic effect”. *Food Quality and Preference*. 18(5): 751-758, 2007.

BELLISLE, F. “Experimental studies of food choices and palatability responses in european subjects exposed to the umami taste.” *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 17(Suppl 1): 376-379, 2008.

BODNÁR, I. *et al.* “Effect of neonatal treatment with monosodium glutamate on dopaminergic and L-DOPA-ergic neurons of the medial basal hypothalamus and on prolactin and MSH secretion of rats”. *Brain Research Bulletin*. 55(6): 767-774, 2001.

BURRIN, D. G.; MICHAEL, J. J. & STOLL, B. “Emerging aspects of dietary glutamate metabolism in the developing gut”. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 17(Suppl 1): 368-371, 2008.

FERNSTROM, J. D. “Pituitary hormone secretion in normal male humans: acute responses to a large, oral dose of monosodium glutamate. *The Journal of Nutrition*. 130(4S Suppl): 1053S-1057S, 2000.

FREEMAN, M. “Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review”. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*. 18(10): 482-486, 2006.

GAO, J. *et al.* “Transplacental neurotoxic effects of monosodium glutamate on structures and functions of specific brain areas of filial mice”. *Sheng Li Xue Bao*. 46(1): 44-51, 1994.

GONZÁLEZ J. E. *et al.* “Leptin: a peptide with therapeutic potential in the obese”. *Endocrinología y Nutrición*. 57(7): 322-327, 2010.

HETRICK, E. M. & SCHOENFISCH, M. H. “Analytical chemistry of nitric oxide”. *Annual Review of Analytical Chemistry*. 2: 409-433, 2009.

IWASE, M. *et al.* “Obesity induced by neonatal monosodium glutamate treatment in spontaneously hypertensive rats: an animal model of multiple risk factors”. *Hypertens Res*. 21(1): 1-6, 1998.

JANECZKO, M. J. *et al.* “Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs”. *The Journal of Nutrition*. 137(11): 2384-2390, 2007.

JÉQUIER, E. “Leptin signaling, adiposity, and energy balance”. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 967: 379-388, 2002.

JINAP, S. & HAJEB, P. “Glutamate. Its applications in food and contribution to health”. *Appetite*. 55(1): 1-10, 2010.

KHROPYCHEVA, R. *et al.* “Dietary monosodium glutamate enhances gastric secretion”. *The Journal of Medical Investigation*. 56 Suppl: 218-223, 2009.

KONDOH, T. & TORII, K. “MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male sprague-dawley rats”. *Physiology & Behavior*. 95(1-2): 135-144, 2008a.

KONDOH, T. & TORII, K. “Brain activation by umami substances via gustatory and visceral signaling pathways, and physiological significance”. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 31(10): 1827-1832, 2008b.

KWOK, R. H. “Chinese-restaurant syndrome”. *The New England Journal of Medicine*. 278(14): 796, 1968.

MALULY, H. D. B.; ARISSETO-BRAGOTTO, A. P. & REYES F. G. R. Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: Technological and safety aspects. *Food Sci. Nutr.* 5(6): 1039-1048, 2017.

MISKOWIAK, B. & PARTYKA, M. "Effects of neonatal treatment with MSG (monosodium glutamate) on hypothalamo-pituitary-thyroid axis in adult male rats". *Histology and Histopathology.* 8(4): 731-734, 1993.

NAKAMURA, E. *et al.* "New frontiers in gut nutrient sensor research: luminal glutamate-sensing cells in rat gastric mucosa". *Journal of Pharmacological Sciences.* 112(1): 13-18, 2010.

NEWMAN, A. J. *et al.* "The administration of monosodium L-glutamate to neonatal and pregnant rhesus monkeys". *Toxicology.* 1(3): 197-204, 1973.

NIIJIMA, A. "Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity". *The Journal of Nutrition.* 130(4S Suppl): 971S-973S, 2000.

NINOMIYA, Y. *et al.* "Responses to umami substances in taste bud cells innervated by the chorda tympani and glossopharyngeal nerves". *The Journal of Nutrition.* 130(4S Suppl): 950S-953S, 2000.

SHIGEMURA, N. *et al.* "Genetic and molecular basis of individual differences in human umami taste perception". *PLoS One.* 4(8): e6717, 2009.

ŚWIECICH, E. *et al.* "The effects of supplementing a low-protein threonine-deficient diet with different sources of non-essential amino acids on nitrogen retention and gut structure in young pigs". *Archives of Animal Nutrition.* 64(1): 22-35, 2010.

TOKAREV, D. *et al.* "Treatment of neonatal rats with monosodium glutamate attenuates the cardiovascular reactivity to phenylephrine and angiotensin II". *Physiol. Res.* 46(3): 165-171, 1997.

TOKAREV, D. & JEZOVÁ, D. "Effect of nitric oxide inhibition on blood pressure and corticosterone responses in adult rats neonatally treated with glutamate". *Physiol Res.* 49(Suppl 1): S87-S94, 2000.

TORII, K.; UNEYAMA, H. & NAKAMURA, E. "Physiological roles of dietary glutamate signaling via gut-brain axis due to efficient digestion and absorption." *Journal of Gastroenterology.* 48(4): 442-451, 2013.

TOYOMASU, Y. *et al.* “Intragastric monosodium L-glutamate stimulates motility of upper gut via vagus nerve in conscious dogs”. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 298(4): R1125-R1135, 2010.

WILLIAMS, A. N. & WOESSNER, K. M. “Monosodium glutamate ‘allergy’: menace or myth?”. *Clin Exp Allergy.* 39(5): 640-646, 2009.

WOODS, R. K. *et al.* “The effects of monosodium glutamate in adults with asthma who perceive themselves to be monosodium glutamate-intolerant”. *J Allergy Clin Immunol.* 101(6 Pt 1): 762-771, 1998.

XIONG J. S.; BRANIGAN D. & LI, M. “Deciphering the MSG controversy”. *Int J Clin Exp Med.* 2(4): 329-336, 2009.

YANG, W. *et al.* “The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study”. *J Allergy Clin Immunol.* 99(6, Part 1): 757-762, 1997.

GLUTAMATO

ASPECTOS NEURONAIS

*Sonia Luz Albarracín C.
Leonardo R. Lareo*

1. INTRODUÇÃO

Na natureza têm sido identificadas mais de 300 moléculas do tipo aminoácidos, nem todas elas codificadas geneticamente e, portanto, não associadas estruturalmente a proteínas. Ainda que na maioria dos organismos sejam reconhecidos 20 aminoácidos com codificação genética, em micro-organismos têm sido identificados até 22 aminoácidos geneticamente codificados. Assim, nas células eucarióticas têm sido isolados outros aminoácidos que são sintetizados a partir daqueles geneticamente codificados, podendo constituir parte de suas proteínas, enquanto que outros cumprem funções metabólicas específicas como precursores de moléculas nitrogenadas.

De todo esse conjunto molecular se destaca um aminoácido fundamental para os processos vitais que conhecemos. Ele tem um papel único na incorporação do nitrogênio nos esqueletos carbonados dos aminoácidos não essenciais e é fundamental nos processos de desaminação e de detoxificação por remoção dos íons amônio (NH_4^+). Esse aminoácido particular é o ácido glutâmico (Glu, E), o qual é uma das mais abundantes moléculas da natureza e, junto com o ácido aspártico (Asp, D), são moléculas consideradas aminoácidos dicarboxílicos. Em

sua forma fisiológica, o ácido glutâmico se encontra como glutamato e, devido à presença de três grupos atômicos com possibilidade de adquirir carga, tem o mesmo número de formas químicas além da sua forma como zwitterion. Isso lhe confere propriedades de adaptabilidade estrutural que permitem explicar sua abundância na matéria viva, em especial para seu enantiômero L-Glu. Dentro da ampla gama de funções deste aminoácido “sobressalente”, está a de ser essencial para o funcionamento do sistema nervoso central, o qual constitui o tema principal deste capítulo.

Antes de entrar no tema central é necessário fazer menção de que, recentemente, foi apresentada a proposta de que o glutamato é uma das moléculas responsáveis pela evolução do cérebro, desde os primatas até a hominização por si mesma (Burki & Kaessmann, 2004). Os autores demonstram como a evolução do cérebro, desde prossímios e primatas até o cérebro hominídeo, ocorre paralelamente com a evolução adaptativa dos genes de algumas enzimas responsáveis pelo metabolismo do glutamato, principalmente a glutamato desidrogenase mitocondrial e citosólica. Assim, se faz pertinente uma revisão, neste capítulo, a respeito dos processos metabólicos e fisiológicos do glutamato no sistema nervoso central.

2. O CÉREBRO HUMANO

No sistema nervoso central (SNC) residem todas as funções superiores do ser humano, tanto as cognitivas como as emocionais. O SNC é formado pelo encéfalo (constituído pelo cérebro, cerebelo e tronco encefálico) e a medula espinhal com os nervos periféricos. Está protegido em sua parte superior pelo crânio e, na parte inferior, pela coluna vertebral. Nos seres humanos, o cérebro é o órgão que tem uma massa entre 1,3 e 1,4 kg na idade adulta e entre 350 a 400 g nos recém-nascidos. Este peso representa 2% de um adulto masculino com média de 70 kg. Com respeito ao volume possui uma média de 1.700 mL, dos quais 80% correspondem à massa encefálica, 10% ao sangue e os 10% restantes ao líquido cérebro-espinhal (Rengachary & Ellenbogen, 2005).

O cérebro, como órgão, é constituído por dois tipos de células: os neurônios e a glia. O número de neurônios que constitui um cérebro é um dado sempre aproximado devido à própria variabilidade biológica e aos métodos empregados para fazer a estimativa. Entretanto, tem sido calculado que, em média, tem entre 100 bilhões a um trilhão, ou seja, entre 10^{11} e 10^{12} neurônios. As células gliais no SNC dos vertebrados são classificadas em macroglia e microglia (Lent *et al.*, 2012) e seu número estimado está entre 10 a 50 vezes o número de neurônios, o

que significa dizer que o cérebro completo está constituído por, aproximadamente, 1×10^{12} e 5×10^{13} células.

Por outro lado, uma das características mais relevantes do cérebro, como órgão, e de suas células, é a capacidade de conectividade entre elas para formar circuitos, mediados por sinapses neuronais, em média 10^{14} (Lent *et al.*, 2012). No entanto, nos últimos anos também tem sido descrito um nível de conectividade particular entre as células gliais, mediado pelo transporte iônico com funções regulatórias específicas.

3. A BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA

O cérebro está protegido da passagem de substâncias por uma estrutura dinâmica e complexa denominada barreira hematoencefálica (BBB nas siglas do nome em inglês, Brain Blood Barrier) (Abbott, 2013).

A barreira hematoencefálica limita o cérebro do influxo de substâncias químicas da corrente sanguínea e é um conjunto complexo de membranas intrinsecamente ligadas entre si. Estas incluem células endoteliais do sistema sanguíneo cerebral, células epiteliais do plexo coroide, membranas aracnoides e astrócitos. Todas essas estruturas formam uma camada conectada por junções estreitas. Essa barreira é praticamente impermeável, já que a maioria das substâncias tem uma difusão muito limitada. No entanto, a BBB conta com diversos mecanismos especializados de transporte que facilitam o influxo e o efluxo de algumas moléculas (Abbott, 2013). Por exemplo, no caso do glutamato, a BBB é praticamente impermeável a esse aminoácido, pois entra no cérebro por difusão simples em menos de 1% da concentração plasmática. Portanto, esse processo de difusão restrita é, aparentemente, independente de sua concentração plasmática (Price *et al.*, 1984).

Os sistemas de transporte para aminoácidos existentes na BBB foram agrupados em um sistema L1 que transporta aminoácidos neutros, um sistema Y⁺ que transporta os aminoácidos básicos, um sistema X⁻ que transporta os aminoácidos dicarboxílicos e um sistema T que transporta hormônios da tireoide (Sharif *et al.*, 2018).

O sistema X⁻ de alta afinidade, que transporta o glutamato do plasma para o cérebro, tem duas formas: uma dependente e outra independente de sódio, ambas de baixa capacidade, saturáveis e com competitividade entre o aspartato e o glutamato. Embora a molécula de proteína que transporta o glutamato ainda não tenha sido identificada, foi demonstrado que existe na membrana luminal capilar. Por outro lado, foi demonstrada a existência de um sistema que transporta glutamato

do cérebro para o plasma dependente de sódio e também saturável (Lee *et al.*, 1998). A capacidade transportadora do sistema X⁻ é significativamente menor do que a dos sistemas L1 e Y⁺. Um aspecto essencial do transporte de glutamato para o cérebro é que o sistema X⁻ se encontra 80% saturado em níveis plasmáticos normais, o que permite prever um influxo incipiente desse aminoácido do plasma para o cérebro (Hawkins *et al.*, 2006).

4. OS NEURÔNIOS

Os neurônios são as células funcionais do tecido nervoso, as quais se interconectam formando redes de comunicação que transmitem sinais por diferentes zonas do cérebro. Assim, as funções complexas do sistema nervoso são consequência da interação entre redes de neurônios, e não o resultado das características específicas de cada neurônio individual (Alvarez & Sabatini, 2007).

A forma e estrutura de cada neurônio se relacionam com sua função específica, como, por exemplo, receber sinais de receptores sensoriais, conduzir esses sinais como impulsos nervosos, ou transmitir os sinais a outros neurônios ou a células efetoras. Do ponto de vista celular, os neurônios são altamente polarizados e neles podem ser distinguidas duas zonas diferentes: o compartimento somato-dendrítico e os axônios. O primeiro é constituído pelo pericárdio ou soma, onde se situam o núcleo e as principais organelas e do qual saem os numerosos dendritos que aumentam a área da superfície celular disponível para receber informações. Os dendritos são prolongamentos protoplasmáticos ramificados que nascem do soma, aumentando a superfície de recepção dos estímulos do neurônio. Eles são caracterizados por apresentar pequenas protrusões de membrana, as espinhas dendríticas, que medem entre 0,5 e 2 μm de comprimento e abrigam os componentes moleculares pré e pós-sinápticos e algumas organelas. Existem entre 10 e 100 dendritos por μm^2 nos neurônios que recebem a maioria, na ordem de 90%, das sinapses excitatórias. Estima-se que o cérebro humano contenha, aproximadamente, 10^{13} dendritos (Nimchinsky *et al.*, 2002). O segundo, se caracteriza por apresentar uma ou várias prolongações ou terminais axonais, que permitem que o impulso nervoso de um neurônio seja transmitido a outros, ramificando-se em sua porção terminal (telodendro). O tamanho das células nervosas é altamente variável, mas seu corpo celular pode medir até 150 μm (Stiles & Jernigan, 2010).

As interações celulares e funcionais especializadas chamadas sinapses, são geradas entre dendritos ou nas proximidades dos botões terminais das ramificações do axônio ou do soma neuronal. As sinapses possibilitam a comunicação neuronal

que pode ser basicamente elétrica ou química. Neste capítulo serão abordadas as características do segundo tipo, que é mediado pela liberação de neurotransmissores do terminal pré-sináptico, os quais, quando interagem com as estruturas sinápticas no terminal pós-sináptico, geram uma série de processos de sinalização que serão discutidos posteriormente (Alvarez & Sabatini, 2007; Südhof, 2018).

5. A SINAPSE NEURONAL

As sinapses podem ser definidas como contatos funcionais que compreendem uma zona estreita formada por membranas opostas de duas estruturas neuronais. Assim, o terminal pré-sináptico apresenta a maquinaria molecular que favorece a síntese, armazenamento em vesículas e a liberação dos neurotransmissores durante o potencial de ação mediante fusão vesicular induzida por cálcio (Ca^{2+}). Além disso, são produzidas outras moléculas proteicas relevantes, como são os transportadores que recapturam do meio extracelular os neurotransmissores ao terminal pré-sináptico, os canais de cálcio dependentes de voltagem, e as moléculas de adesão (Alvarez & Sabatini, 2007).

O terminal pós-sináptico é rico em receptores, proteínas de sinalização, proteínas receptoras e densidades proteicas pós-sinápticas (DPS). Essas estruturas respondem à liberação do neurotransmissor, ativando diversas rotas de sinalização e gerando um novo potencial de ação.

Têm sido relatados vários grupos de proteínas de adesão localizadas nas sinapses que intermediam a organização bidirecional dos compartimentos pré e pós-sináptico. Entre elas se destacam as neurexinas, SynCAMs (*Synaptic cell adhesion molecules*), caderinas tipo I e II, efrinas e netrinas G1 e G2 que se expressam no terminal pré-sináptico e interagem como ligantes específicos no terminal pós-sináptico (Südhof, 2018). Assim, proteínas da família das efrinas, como a efrina B, têm sido relacionadas com a direcionalidade dos axônios. Essas proteínas de adesão interagem com diferentes proteínas estruturais e de citoesqueleto, como a espectrina, as densidades pós-sinápticas e outras proteínas que direta ou indiretamente interagem com o citoesqueleto, com enzimas e com proteínas de sinalização (Südhof, 2018).

6. OS NEUROTRANSMISSORES

Um neurotransmissor é uma molécula sintetizada, armazenada numa vesícula e liberada seletivamente de um terminal pré-sináptico por um mecanismo Ca^{2+} induzido, que interage com um receptor específico em um terminal

pós-sináptico, produzindo uma resposta fisiológica. Existem muitas moléculas que atuam como neurotransmissores e que podem ser classificadas segundo sua identidade química. Assim, dentre os denominados neurotransmissores clássicos pode ser mencionada a acetilcolina, que se libera nas sinapses neuromusculares e glandulares e em diferentes regiões do sistema nervoso central. Atua, principalmente, como um neurotransmissor excitatório, podendo também exercer ação inibitória. Dentro do grupo das aminas biogênicas se destacam a serotonina, cujas vias modulam os comportamentos, a alimentação e o sono; a dopamina que participa na coordenação de movimentos corporais, a motivação e os mecanismos de recompensa (Briguglio *et al.*, 2018); a epinefrina que se libera em diversas áreas do sistema nervoso central e do sistema nervoso autônomo e a norepinefrina, presente em várias áreas do sistema nervoso central e sistema nervoso autônomo, é excitatória ou inibitória, e regula efeitores simpáticos (Fuller, 1982).

Outro grupo de neurotransmissores clássicos são os aminoácidos. Entre eles, destaca-se o glutamato que é liberado por neurônios em todo o sistema nervoso central, sendo o neurotransmissor excitatório mais abundante. Mais de 60% das sinapses excitatórias do SNC são glutamatérgicas (aproximadamente, 10^{12} a 10^{13} , no cérebro humano) (Eyigor *et al.*, 2012). Embora os neurônios que liberam ácido γ -amino butírico (GABA) sejam na sua maioria interneurônios, eles podem modular a excitabilidade dos circuitos neuronais regulando os neurônios glutamatérgicos e prevenindo a hiperexcitação (Terunuma, 2018). Por outro lado, a glicina é considerada o neurotransmissor inibitório mais abundante que geralmente atua na medula espinhal. Outras moléculas pequenas, como o óxido nítrico, também atuam, potencialmente, como neurotransmissores.

7. COMPARTIMENTALIZAÇÃO DO GLUTAMATO NOS NEURÔNIOS

O cérebro contém grandes quantidades de glutamato, porém somente uma pequena fração se encontra normalmente no líquido extracelular. Ainda que dependa muito da região do cérebro que se esteja analisando, a concentração global de glutamato é da ordem de 5-15 mM por kg de peso fresco. A concentração no fluido extracelular, 10-20% do volume total do cérebro, é, aproximadamente, de 3 a 4 μ M e, no líquido cefalorraquidiano (LCE), chega a ser 10 μ M (Hamberger & Nystroöm, 1984).

Igualmente, o glutamato no parênquima intercelular não está distribuído homogeneamente e existem compartimentos de baixa concentração e outros onde o acúmulo do aminoácido é significativamente alto. Esses são os chamados

reservatórios de glutamato. Assim, podem-se distinguir dois reservatórios celulares que respondem a uma característica funcional diferente: a) um grande reservatório neural e b) um pequeno reservatório glial.

O reservatório metabólico neuronal está associado aos intermediários metabólicos do ciclo de Krebs, importantes na neurotransmissão devido a que são requeridos para a síntese de precursores de glutamato e ácido γ -amino butírico (GABA). Foi calculado que o reservatório de glutamato nos terminais sinápticos pode atingir 20 a 30% do total (Fonnum, 1985), enquanto que o reservatório de glutamato nos terminais GABAérgicos está entre 6-11 μ M. Nestes terminais, esse neurotransmissor está concentrado nas mitocôndrias e seu correspondente componente citosólico é relativamente baixo (Fonnum, 1985).

A função do neurotransmissor glutamato implica na existência de vesículas sinápticas que possibilitam manter uma alta concentração de moléculas nesse compartimento. Assim, verificou-se que a concentração de glutamato nas vesículas é muito superior à sua concentração no citosol, ou seja, pode chegar à ordem de 0,1 M (Omote *et al.*, 2011). De acordo com diferentes estudos de microscopia eletrônica, verificou-se que as vesículas sinápticas são organelas abundantes, relativamente pequenas, de tamanho uniforme, com um diâmetro de, aproximadamente, 40 nm. Estão constituídas por bicamadas de fosfolipídios associadas a proteínas e no lúmen se concentram diferentes tipos de neurotransmissores. Sob o microscópio eletrônico, por exemplo, verifica-se que o glutamato e acetilcolina estão armazenados em pequenas vesículas redondas claras (Omote *et al.*, 2011).

Visto que a síntese de glutamato é principalmente mitocondrial, é necessário que ele seja incorporado na vesícula usando um transportador dependente de gradiente eletroquímico de prótons gerados por uma ATPase vesicular ativada por Mg^{2+} (Christensen *et al.*, 1990). O glutamato armazenado nas vesículas sinápticas é reciclado com meia-vida na ordem de minutos, mesmo em condições fisiológicas de captura ativa. Esse mecanismo de captura é bem caracterizado, assim o Mg^{2+} ativa a ATPase responsável por gerar o gradiente de energia através da membrana da vesícula. A ATPase, como uma bomba de prótons, impulsiona os prótons para o lúmen vesicular, criando um gradiente de pH que acidifica o lúmen (Δ pH), assim como um potencial de membrana ($\Delta\Psi$) positivo no seu interior. Isso implica em um transporte de Cl^- acoplado ao influxo de glutamato. Esse mecanismo de captura vesicular do glutamato é altamente conservado nos vertebrados, tanto pela sua especificidade pelo substrato, quanto para os requisitos do substrato (Moriyama & Yamamoto, 1995).

8. GLUTAMATO NOS ASTRÓCITOS

Nas células da glia se encontra a menor concentração de glutamato relatada no tecido nervoso. Isso pode ser explicado pelo seu importante papel de inativar o glutamato durante a neurotransmissão com a produção de uma molécula não neuroativa, a glutamina. Assim, a concentração de glutamina é calculada na ordem de 22 mM e é estimada uma concentração de glutamato glial na ordem de 4-5 mM (Berl, 1965).

A remoção do glutamato do espaço extracelular (sináptico) é possibilitada por transportadores de glutamato nas membranas, tanto de astrócitos como de neurônios, e são essenciais para o bom funcionamento do sistema nervoso. São conhecidos pelo menos cinco tipos diferentes de transportadores EAAT1-EAAT5 (*Excitatory Acidic Amino Acid Transporter*), todos dependentes de sódio para o mecanismo de captura do aminoácido. Alguns transportadores como EAAT1 são expressos preferencialmente nas células da glia; enquanto que EAAT4 está associado a terminais pós-sinápticos (Storck *et al.*, 1992). Além disso, a expressão de EAAT2 pode ser encontrada relacionada a neurônios e em astrócitos protoplásmicos (Pines *et al.*, 1992).

Os mecanismos de transporte para esse grupo de moléculas são baseados nos gradientes transmembranares de sódio, potássio e pH. O transporte de glutamato é eletrogênico e estimulado pelo potencial de membrana negativo. Os mecanismos de recaptura de glutamato são finamente regulados por múltiplos fatores e sua desregulação parece ter uma forte influência no aparecimento e desenvolvimento de distúrbios neurodegenerativos, incluindo a doença de Alzheimer e a demência associada ao vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Para a inativação do glutamato é necessária a atividade de enzimas seletivamente localizadas tanto na glia (glutamina sintetase – GS) quanto nos neurônios (glutaminase, ativada por fosfatos – PAG) (Norenberg, 1979), favorecendo o ciclo glutamato-glutamina (Glu-Gln). Consistentemente, uma baixa concentração de glutamina foi encontrada nos terminais glutamatérgicos, indicando que, nessas estruturas, a glutamina é usada como precursor do glutamato. No entanto, outras enzimas que metabolizam esse neurotransmissor, como a glutamato desidrogenase (GDH), que favorecem o arranjo de esqueletos de carbono para a oxidação ou para a síntese de outras moléculas, são expressas tanto em neurônios como em astrócitos (Rothe *et al.*, 1994). Embora o gradiente de concentração favoreça o influxo de glutamato em direção ao astrócito, foi demonstrado que, em condições fisiológicas normais, também pode ser gerado um transporte reverso associado a correntes elevadas de K⁺ (Tasker *et al.*, 2012).

Portanto, nos astrócitos se sintetiza, acumula e libera ao meio extracelular uma grande variedade de moléculas que favorecem mecanismos de sinalização intracelular e regulam as sinapses glutamatérgicas e GABAérgicas. Essas moléculas são denominadas de gliotransmissores (Mayorquin, *et al.*, 2018). Em particular, para o caso do glutamato, essa liberação ou descarga pode ocorrer através de uma série de mecanismos bem identificados, como: a ação reversa dos transportadores (Tasker *et al.*, 2012), a abertura de canais iônicos (Kimelberg *et al.*, 1990), a exocitose dependente de Ca^{2+} (Papura *et al.*, 1994), a ação de transportadores cistina-glutamato (Warr *et al.*, 1999), os receptores purinérgicos ionotrópicos (Duan *et al.*, 2003) e as uniões estreitas ou conexões (Mayorquin *et al.*, 2018).

Os canais iônicos purinérgicos fornecem outra via para a descarga de glutamato ao meio extracelular. Esses receptores ativados por ATP têm sete subunidades diferentes que podem formar complexos homoméricos e heteroméricos, formando poros seletivos (North, 2002) e evidências foram encontradas de que o glutamato é liberado nesse transporte (Duan *et al.*, 2003; Mayorquin *et al.*, 2018). Os canais das junções estreitas formam poros entre as células adjacentes. Esses canais são constituídos por duas conexões ou hemicanais, constituídos por proteínas do tipo conexina. Foi relatado o transporte de íons, inositol fosfato e de glutamato através desses hemicanais ou conexões. Isso favorece o efeito da comunicação intracelular glial chamada gliotransmissão (Mayorquin *et al.*, 2018).

Esse processo está mediado pela descarga de glutamato através de um mecanismo de exocitose dependente de Ca^{2+} que requer um incremento da concentração intracelular do cátion nos astrócitos. Para tanto, os astrócitos possuem um mecanismo secretor que envolve um grande complexo de proteínas (Mayorquin *et al.*, 2018).

A liberação de glutamato nas vesículas é mediada pela exocitose, que envolve a fusão entre as membranas vesicular e plasmática. Isso pode ser monitorado em diversas células e na cultura primária de astócitos, medindo a capacitância da membrana (C_m), que é linearmente relacionada à área da membrana (Kreft *et al.*, 2004). Essa técnica foi usada para comprovar a hipótese de que um aumento na concentração de cálcio citosólico causa um aumento na C_m de células completas (Kreft *et al.*, 2004; Zorec *et al.*, 2016). Além disso, foi evidenciada a presença de proteínas vesiculares nos astrócitos, o que implica a liberação de glutamato por essa via. Essas vesículas astrocíticas exibem uma mobilidade semelhante à sináptica encontrada nos neurônios (Zorec *et al.*, 2016).

Outro importante mecanismo de compartimentação entre astrócitos e neurônios ocorre no SNC durante a síntese do tripéptido glutatona (GSH:

γ -L-glutamil-L-cisteína-glicina), molécula de alta relevância para proteger os neurônios do ataque por espécies reativas de oxigênio (ERO) produzidas durante diferentes reações metabólicas. Os astrócitos possuem maior concentração de GSH e maior capacidade de secretar GSH no espaço extracelular para neurônios e outras células cerebrais através da atividade da γ -glutamil transferase (γ -GT). No entanto, a síntese de GSH depende da disponibilidade de cisteína e a incorporação desse aminoácido ocorre nos neurônios através de um transportador de aminoácidos excitatórios (EAATs), enquanto nos astrócitos ocorre através do trocador de cistina/glutamato (sistema Xc⁻) (McBean, 2002).

Também têm sido relatados canais aniônicos permeáveis a pequenas moléculas orgânicas e inorgânicas (Mongin & Orlov, 2001). Esses canais são permeáveis a aminoácidos como taurina, aspartato e glutamato. Eles são particularmente ativos em condições de hipo-osmolaridade do astrócito, em que o glutamato pode ser liberado mesmo quando outras vias descritas anteriormente forem bloqueadas (Kimmelberg *et al.*, 1990).

9. SÍNTESE DO GLUTAMATO

Visto que não há captura líquida de glutamato do plasma, o mesmo deve ser sintetizado no cérebro a partir da glicose. Isso se deve não apenas ao seu importante papel como neurotransmissor, mas também porque está envolvido na síntese de aminoácidos, proteínas e peptídeos (Weil-Maleherbe, 1950), bem como de outros precursores e nos processos de detoxificação do amônio no cérebro.

No tecido cerebral ocorre uma interessante variação do ciclo do ácido nítrico. A acetilcoenzima-A e o oxaloacetato são condensados para formar o citrato. Depois, este é isomerizado em isocitrato que é oxidado para se obter α -cetoglutarato, precursor direto do glutamato por transaminação. O ácido γ -aminobutirato (GABA) é produzido a partir de glutamato por descarboxilação e pode ser catabolizado, via transaminação, a semialdeído succínico seguido por oxidação a succinato e oxaloacetato. Esse ciclo é denominado como “o desvio do γ -aminobutirato” e tem um importante papel na integralidade dos processos oxidativos no tecido cerebral (Chowdhury *et al.*, 2007). O γ -aminobutirato atua também como doador dos grupos amino. A Figura 8.1 apresenta um esquema desta rota metabólica.

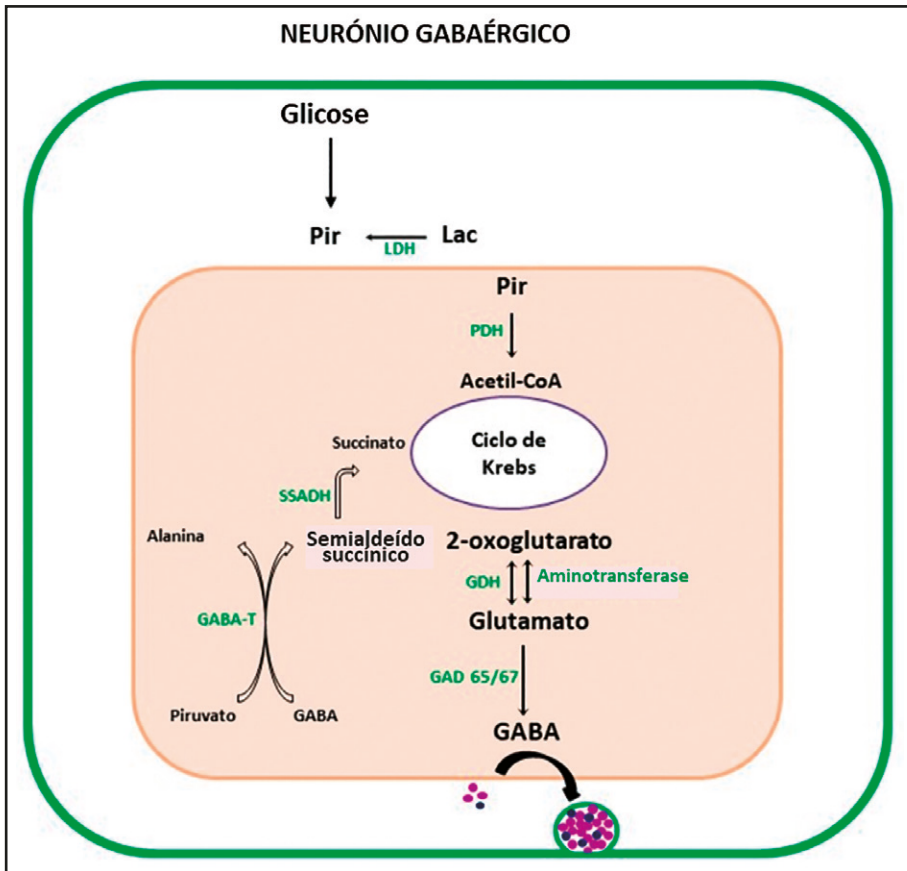


Figura 8.1 – Diagrama esquemático da via metabólica do transporte de γ -aminobutirato. São apresentados os principais metabólitos envolvidos nessa via neuronal.

Fonte: figura preparada pelos autores.

É aceito, atualmente, que o ciclo glutamato-glutamina (Glu-Gln) tem uma importante função no cérebro. Esse ciclo não funciona de uma forma estequiométrica exata, visto que o Glu e a Gln são capturados e metabolizados tanto pelos astrócitos como pelos neurônios (Chowdhury *et al.*, 2007).

A glutamina e o α -cetoglutarato derivado da glicose são considerados como os principais precursores do glutamato metabólico e neurotransmissor, tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Entretanto, parece que a glutamina é o substrato preferido para a síntese do glutamato como neurotransmissor (Yudkoff *et al.*, 1993). A enzima chave para essa reação é a glutaminase ativada por fosfato (PAG) ou glutamina amidoidrolase.

Muitas enzimas estão envolvidas no metabolismo do glutamato no cérebro: a glutamina sintetase (GS) já mencionada; a glutamato descarboxilase (GAD) que catalisa a formação do ácido γ -amino butírico (GABA) a partir do glutamato e que se encontra localizada nos neurônios GABAérgicos; a glutaminase ativada por fosfatos (PAG), que catalisa a geração de glutamato a partir de glutamina segundo a reação $\text{Gln} \rightarrow \text{Glu} + \text{NH}_4^+$; a aspartato aminotransferase, que catalisa a reação $\text{Asp} + \alpha\text{-cetoglutarato} \leftrightarrow \text{Gln} + \text{oxaloacetato}$; e a glutamato desidrogenase (GDH), que catalisa a reação $\text{Glu} + \text{NAD(P)} \leftrightarrow \alpha\text{-cetoglutarato} + \text{NAD(P)}\text{H} + \text{H}^+$ (Sonnewald & Schousboe, 2016).

As enzimas que catalisam reações específicas são apenas alguns exemplos do importante metabolismo do glutamato, a fim de garantir a concentração e a compartimentação que possibilitam o desenvolvimento de suas funções, como neurotransmissor e metabólito ativo nos processos energéticos e de desintoxicação dos neurônios.

10. O GLUTAMATO COMO NEUROTRANSMISSOR

A possibilidade de que o glutamato tivesse um significado especial na função cerebral foi pressuposta, inicialmente, por Weil-Malherbe (1950). Em 1956, Hayashi descobriu que os cachorros e macacos aos quais era aplicado glutamato por via intracerebroventricular ou intracarótida sofriam de convulsões (Hayashi, 1956). Posteriormente foram reportadas observações sobre a degradação da retina em ratos depois da administração sistêmica de glutamato, o que parecia implicar na excitotoxicidade como mecanismo de morte neuronal (Lucas & Newhouse, 1957). A demonstração no final da década de 1950, sobre as ações excitatórias e despolarizantes desse aminoácido em neurônios isolados do SNC, fizeram surgir esperanças sobre o descobrimento do mais importante neurotransmissor excitatório do SNC.

A completa aceitação do glutamato como neurotransmissor não foi alcançada senão 20 anos depois. Ainda em 1967, podiam-se ler afirmações como “As evidências do glutamato como neurotransmissor são extremamente escassas, razão pela qual somente é considerado brevemente” (Kravitz, 1967). Atualmente, o papel do L-glutamato como neurotransmissor excitatório no sistema nervoso dos mamíferos está estabelecido fora de qualquer dúvida razoável. Também é aceito com o mesmo papel em outros vertebrados e invertebrados. No entanto, são necessárias importantes peças de evidência para demonstrar que o glutamato se encontra concentrado em vesículas sinápticas.

Estudos com análogos do glutamato têm permitido elucidar os requerimentos estruturais gerais para a ativação de seus receptores. A característica de ser aminoácido di-carboxílico, com um segundo grupo carboxila nas posições β e γ , resultou ser essencial para a interação. Portanto, foi demonstrada que a ausência do grupo carboxila no glutamato ou no aspartato causa a perda de sua atividade excitatória. A remoção do α -carboxila resulta em moléculas de caráter inibitório, tal como ocorre com o ácido γ -amino butírico (GABA). Substituições do γ -carboxila do glutamato por um sulfonato (DL-homocisteato) resultam num composto que é mais potente que o aminoácido precursor. Esse mecanismo de interação proposto é conhecido pelo nome de “receptor de glutamato de três pontos”, sugerido por Curtis & Watkins (1960).

Muitas outras fontes de informações e conhecimento consolidaram o papel do glutamato como neurotransmissor. A título de exemplo, que os níveis desse aminoácido são relativamente altos nas raízes dorsais aferentes (Curtis & Johnston, 1974), bem como a evidência de que os neurônios de diferentes partes do SNC mostram variabilidade na sensibilidade ao L-glutamato e L-aspartato, como demonstrado no núcleo talâmico e nos cornos dorsal e ventral da medula espinhal (Duggan, 1974).

Por outro lado, a primeira relação entre o glutamato e o cálcio apareceu quando foi verificado que a liberação do aminoácido é parcialmente dependente da concentração extracelular de esse íon (Bradford *et al.*, 1973). Posteriormente, iniciaram-se os estudos para elucidar o papel dos agonistas e antagonistas sobre a transmissão sináptica. Esse tipo de informação e conhecimento tem sido possível na medida em que os químicos se interessaram pela neurofarmacologia e começaram a avaliar um amplo espectro de moléculas com atividades sobre os receptores de glutamato.

Ainda que inicialmente não se encontrassem antagonistas, as atividades promissoras foram alcançadas quando se avaliavam antagonistas similares ao glutamato. Uma das primeiras moléculas do L-glutâmico a ser sintetizada foi o N-metil-D-aspartato (NMDA) (Watkins, 1962). Também foram identificados os ácidos cáinico e quisquálico dentro de um grande espectro de substâncias obtidas de produtos naturais que mostraram atividade excitatória (Watkins *et al.*, 1966). Posteriormente, foi sintetizado um análogo do ácido ibotênico, o ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiónico (AMPA), que mostrou ser um poderoso excitador (Johnston *et al.*, 1968). Outros interessantes análogos avaliados na época foram o D- α -amino adipato (DAA), o γ -glutamil-aminometil-sulfonato (GAMS) e o glutamato dietilester (GDEE).

11. RECEPTORES DE NEUROTRANSMISSORES

Como discutido anteriormente, os neurotransmissores agem sobre moléculas proteicas de tipo receptor. Embora a ideia original de um receptor tenha sido proposta por Langley no século XIX, o mesmo autor cunhou o termo “substância receptiva” em 1905 (Langley, 1905). Ele propôs que a atividade dos ligantes depende de sua concentração e afinidade química. O primeiro tratamento quantitativo do problema receptor-ligante foi elaborado por Hill (1909), que derivou a equação que Langmuir também descobriria mais tarde e que leva seu nome. Até esse momento, essas observações não tinham nada a ver com a transmissão sináptica. Esse conhecimento se iniciou com o artigo clássico de Dale *et al.* (1936), quando foram realizados trabalhos sobre a acetilcolina e seus efeitos nas terminações nervosas.

Dessa forma, iniciaram-se os trabalhos que contribuíram para criar o cenário a partir do qual se iniciara o desenvolvimento que atualmente considera o glutamato como um neurotransmissor que interage com receptores específicos no sistema nervoso central.

12. RECEPTORES DE GLUTAMATO

A atuação do glutamato como principal neurotransmissor excitatório no SNC dos mamíferos é modulada por receptores de glutamato (GluRs), que se expressam praticamente em todas as células neuronais e em algumas glias. Essa família é constituída por receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) e os receptores ionotrópicos de glutamato (iGluR). Na Tabela 8.1 é apresentada a organização de todas as subunidades constituintes das subfamílias e famílias dos receptores de glutamato.

Tabela 8.1 – Subunidades constitutivas da família dos GluR

Receptores de glutamato (GluRs)					
Metabotrópicos (mGluRs)			Ionotrópicos (iGluRs)		
I	II	III	AMPA	KAIN	NMDA
Famílias			Subunidades		
mGluR1	mGluR2	mGluR4	GluR1	GluR5	NR1 (8 Isoformas)
mGluR5	mGluR3	mGluR6	GluR2	GluR6	NR2A
		mGluR7	GluR3	GluR7	NR2B
		mGluR8	GluR4	KA1	NR2C
				KA2	NR2D
					NR3A
					NR3B

Fonte: tabela preparada pelos autores.

Os receptores metabotrópicos participam dos processos de sinalização devido à interação com o neurotransmissor e são fundamentalmente acoplados à ativação das proteínas G que favorecem um aumento na concentração de segundos mensageiros, responsáveis por desencadear uma sequência de eventos bioquímicos. Atualmente são conhecidos 8 receptores desse tipo (mGluR1-8) (Nakanishi, 1992), que são divididos em três grupos (grupo I, II, III) de acordo com a homologia de sequência, perfil farmacológico e mecanismos de transdução de sinal (Ferraguti & Shigemoto, 2006). Análises de homologia revelam que os mGluRs mostram pouca ou nenhuma semelhança com outros receptores acoplados às proteínas G. Uma característica estrutural dos receptores da família mGluR é seu grande domínio extracelular e 21 resíduos de cisteína em posições conservadas (Tanabe *et al.*, 1992). A descrição dos grupos é apresentada na Tabela 8.1.

Os receptores do grupo I são acoplados à ativação da fosfolipase C (PLC) e são encontrados principalmente em regiões pós-sinápticas, onde aumentam a excitabilidade neural e são ativados de forma potente pelo quisqualato (Kinoshita *et al.*, 1996). Enquanto que os receptores II e III estão associados à inibição da adenilato ciclase (CA), os do grupo I estão localizados principalmente nos terminais pré-sinápticos e funcionam como inibidores automáticos e heteroreceptores. Eles são insensíveis ao quisqualato, porém são poderosamente ativados por (2S, 1'R, 2'R, 3'R) -2- (2, 3-dicarboxiciclo-propil) glicina (DCG-IV) e pelo ácido L-2-amino-4-fosfonobutanoico (L-AP4) (Thomsen *et al.*, 1992). O grupo III é o maior grupo de mGluRs, porém o menos caracterizado, provavelmente

devido à falta de agentes farmacológicos seletivos. Embora os ligantes alostéricos seletivos para os subtipos mGluR do grupo III tenham sido descobertos muito recentemente, isso tem permitido esclarecer o papel desses receptores no funcionamento normal do SNC e nos modelos de distúrbios neurológicos e psiquiátricos (Ferraguti & Shigemoto, 2006; Palazzo *et al.*, 2016).

13. RECEPTORES IONOTRÓPICOS DE GLUTAMATO

Os complexos proteicos que atuam como receptores e em sua estrutura quaternária têm poros que funcionam como canais iônicos associados, são conhecidos como receptores ionotrópicos.

Os iGluR foram classificados em três populações diferentes, cada uma definida pela ativação seletiva com diferentes análogos estruturais do glutamato (Flores-Soto *et al.*, 2012). Assim, a família iGluR fica constituída por receptores ativados por N-metil-D-aspartato (NMDA), por α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato (AMPA) e por ácido cáinico (KAIN). As duas últimas categorias são conhecidas, coletivamente, como receptores não-NMDA (Gasic & Heinemann, 1991). A complexidade de todos os arranjos potenciais dos canais funcionais indica que a presente classificação não é absoluta e pode chegar a ser inadequada para descrever as atividades observadas *in vivo* (Flores-Soto *et al.*, 2012).

Os receptores iGluR neuronais têm associados a eles canais catiônicos seletivos, principalmente Ca^{2+} e Na^+ que entram na célula, enquanto o K^+ eflui através do mesmo canal. Da subfamília dos receptores não-NMDA, os ativados por AMPA mostram uma cinética de rápida ativação e dessensibilização. A maioria dos neurônios apresenta uma alta permeabilidade ao Na^+/K^+ e uma baixa permeabilidade ao Ca^{2+} . Os receptores de AMPA são constituídos por quatro tipos, denominados GluR1 a GluR4 (ou GluR-A a GluR-D). Todos os tipos são caracterizados por sua alta afinidade ao AMPA, e apresentam valores de K_d da ordem nanomolar e uma baixa afinidade ao KAIN. Todos os tipos apresentam a existência de isoformas devido ao *splicing* alternativo de seus genes (Bettler *et al.*, 1990). Existe um grupo especial de receptores, denominados KA-1 e KA-2 com baixa similaridade estrutural com os GluR-1 a 4 e alta afinidade pelo KAIN. Esses dois receptores não constituem canais funcionais. Além desses, existe um novo grupo constituído pelos δ -1 y δ -2, às vezes conhecidos como receptores órfãos, para os quais ainda não é conhecida sua função. Duas formas truncadas, ou proteínas incompletas, chamadas KBP-c e KBP-f, presentes em frango e rã, respectivamente, fecham o grupo de moléculas desse tipo (Seeburg, 1993).

A subfamília dos iGluR ativados por NMDA (iGluR-NMDA) é caracterizada por uma alta velocidade de disparo e lento decaimento, com alta permeabilidade ao Ca^{2+} . São canais dependentes de voltagem, regulados pelo Mg^{2+} , o qual atua como bloqueador de canal. Além disso, requer a atividade da glicina e de outros homólogos como coagonistas (McBain & Mayer, 1994). Estes iGluR-NMDA produzem correntes excitatórias pós-sinápticas (EPSC) duradouras.

14. IGLUR-NMDA

Os iGluR-NMDA são um complexo macromolecular heteromultimérico, constituído por três tipos diferentes de subunidades designadas como NR1, NR2 e NR3 nos receptores funcionais do SNC (Schüler *et al.*, 2008). Todas essas subunidades foram clonadas (Ciabarra *et al.*, 1995), a maioria delas entre 1992 e 1995, embora algumas somente tenham sido clonadas mais recentemente. Está bem documentado que a atividade do complexo depende da composição de suas subunidades constituintes, particularmente no que diz respeito às propriedades farmacológicas e fisiológicas e, em muitos casos, à sensibilidade e especificidade (Honer *et al.*, 1998).

Assim, para o tipo de subunidades NR1 foram identificadas, por *splicing* alternativo, 8 isoformas de um mesmo gene. A subfamília NR2 é composta por 4 subunidades individuais, cada uma derivada de um gene, chamadas NR2A a NR2D (Erreger *et al.*, 2005). Cinco novas variantes foram identificadas por *splicing* alternativo da NR2B no tecido cerebral de murinos (subfamília de roedores da família Muridae) (Tabish & Ticku, 2004). A subfamília NR3 consiste em 2 subunidades, cada uma derivada de um gene, conhecidas como NR3A e NR3B (Erreger *et al.*, 2005). As subunidades NR2 são consideravelmente maiores do que as NR1 e possuem um baixo nível de homologia (Ishii *et al.*, 1993). A subunidade tipo NR2C foi a primeira à qual a estrutura de seu gene foi determinada (Suchanek *et al.*, 1995). A subfamília NR3 consiste em apenas duas subunidades, cada uma delas codificada por seu próprio gene, a NR3A e a NR3B.

Alguns trabalhos têm evidenciado que os iGluRs formam tetrâmeros em arranjos dímero-dímero, com subunidades individuais dispostas em três camadas principais: o domínio amino-terminal distal (ATD) na parte superior, o domínio de ligação ao ligante (LBD) intercalado na parte média e o domínio transmembrana (TMD), que abriga o canal iônico, ao “fundo”. Os grandes domínios extracelulares mostram uma característica inesperada: um arranjo de subunidades não equivalentes dos ATD e LBD, que em conjunto são compostas por quatro módulos semelhantes a moluscos (Sobolevsky *et al.*, 2009).

Na camada ATD, as subunidades A/B e C/D estão acopladas como dímeros locais, enquanto que na camada LBD são as subunidades A/D e B/C que estão acopladas como dímeros locais, um entrelaçamento de subunidades que é realizado pelo intercâmbio de interações subunidade-subunidade entre as camadas ATD e LBD (Sobolevsky *et al.*, 2009). Como consequência desse intercâmbio de subunidades, os arranjos A/C e B/D, inclusive nos receptores de AMPA homoméricos, adotam duas conformações distintas. Por alguns anos, foi proposto que a estrutura quaternária do iGluR-NMDA pudesse ser tri, tetra, penta e até heptamérica (Rosenmund *et al.*, 1998). Isso devido a terem sido identificados conjuntos heteromultiméricos das subunidades distribuídas diferencialmente por todo o SNC (Kashiwagi *et al.*, 1997). No entanto, apenas nos últimos anos as estruturas cristalinas do iGluR-NMDA (GluN1/GluN2B) foram elucidadas por dois grupos de pesquisa diferentes e determinadas por raios-X em complexos com agonistas, um modulador alostérico e um bloqueador de canais iônicos (Karakas & Furukawa, 2014; Lee *et al.*, 2014). Possivelmente esta é a razão pela qual poucas estruturas macromoleculares exibem atividades em uma ampla gama de processos bioquímicos, fisiológicos, psicológicos, farmacológicos e patológicos como o receptor ionotrópico de glutamato ativado pelo N-metil-D-aspartato (iGluR-NMDA) (Lee *et al.*, 2003).

15. PROCESSOS DOS QUAIS O GLUTAMATO PARTICIPA ATRAVÉS DO IGLUR-NMDA

Os receptores iGluR-NMDA têm múltiplos e importantes papéis em processos fisiológicos no SNC. Devido à complexidade e diversidade dos arranjos de suas estruturas macromoleculares, não necessariamente sempre no papel primordial, porém podem estar regulando as atividades relacionadas com eventos associados a outras estruturas macromoleculares.

Foi demonstrado que o glutamato e os diferentes complexos que constituem os iGluR-NMDA participam de diversos processos funcionais, como a aprendizagem (Tang *et al.*, 1999), e também na consolidação da memória (Pláteník *et al.*, 2000; Jourdain *et al.*, 2018; Nakazawa *et al.*, 2004). Portanto, pode-se afirmar que sem o glutamato e o complexo iGluR-NMDA não existiriam esses dois processos fundamentais para a vida como a conhecemos.

Além disso, a participação essencial do glutamato e do iGluR-NMDA foi demonstrada, em maior ou menor grau, em uma multiplicidade de funções que dependem de eventos neurofisiológicos e neurofarmacológicos que mostram a importância desse complexo macromolecular e de seu principal agonista natural. Esses processos regulam várias atividades em nível molecular, celular e

sistêmico. A Tabela 8.2 lista algumas das funções com as quais o iGluR-NMDA tem sido relacionado no SNC.

Tabela 8.2 – Algumas funções relacionadas à atividade do iGLUR-NMDA ou de suas moléculas associadas.

Funções do iGluR-NMDA no SNC	Referências
Plasticidade neural	Yang <i>et al.</i> , 2014
Migração neural	Wang <i>et al.</i> , 2007
Sinaptogênese	Washbourne <i>et al.</i> , 2002
Neuroproteção	Jourdain <i>et al.</i> , 2018
Ritmos circadianos	Song <i>et al.</i> , 2017
Controle da ingestão de alimentos	Zeni <i>et al.</i> , 2000; Sasaki <i>et al.</i> , 2016
Formação da consciência	Lareo & Corredor, 2004; Lareo & Corredor, 2006; Lareo, 2006
Potencialização a longo prazo	Pláteník <i>et al.</i> , 2000; Jourdain <i>et al.</i> , 2018; Bliim <i>et al.</i> , 2019
Depressão a longo prazo	O’Riordan <i>et al.</i> , 2018
Envelhecimento	Billard, 2018; Evans <i>et al.</i> , 2019

Fonte: tabela preparada pelos autores.

16. IGLUR-NMDA E GLUTAMATO EM APRENDIZAGEM E MEMÓRIA

O papel do glutamato, mediado pelos iGluR-NMDA nos processos de aprendizagem e memória, estudado desde meados dos anos 80, foi solidamente consolidado com os resultados obtidos com o rato geneticamente modificado *Doogie*, gerados no final dos anos 1990 por J. Tsien e seu grupo na Universidade de Princeton (Tang *et al.*, 1999). Esses ratos, nos quais foi obtida uma superexpressão do receptor completo e dentro destes, da subunidade NR2B, revelaram processos de aprendizagem acelerados e com períodos de memória maiores em comparação a seus congêneres.

Atualmente, é amplamente aceito que, para a formação da memória de longo prazo, é necessária a expressão gênica neuronal, síntese de proteínas e remodelação dos contatos sinápticos, ou seja, da chamada plasticidade sináptica. O fenômeno conhecido como potencialização em longo prazo foi proposto como mecanismo básico para a formação da memória e, como esperado, esse processo está altamente relacionado com a função do iGluR-NMDA (Pláteník *et al.*, 2000; Jourdain *et al.*, 2018; Escobar & Bermudez-Rattoni, 2000). Esse fenômeno se desenvolve principalmente nos espinhos dendríticos.

Os espinhos dendríticos são minúsculas protruções nos neurônios que abrigam receptores sinápticos de conexões excitatórias. Na membrana pós-sináptica da maioria dos espinhos dendríticos, há uma região densa de elétrons que abriga receptores de glutamato e outros complexos de proteínas, ou seja, uma densidade pós-sináptica (DPS) (Pláteník *et al.*, 2000). Demonstrou-se que a área da DPS se correlaciona com o volume da coluna dendrítica e o volume da cabeça do espinho dendrítico. Além disso, sabe-se que a plasticidade estrutural dos espinhos dendríticos é a base da formação da memória, em parte devido à sua forma e tamanho, o que é considerado proporcional ao tamanho do seu DPS, ao número de receptores de glutamato e a força sináptica. Durante a potencialização química de longo prazo dependente do receptor NMDA (NMDAR-cLTP), os espinhos dendríticos e seus DPS não apenas crescem, mas também aumentam a proporção do volume DPS e volume DPS-núcleo no espinho dendrítico. No entanto, isso é modificado e ajustado durante a plasticidade sináptica e é regulado pela atividade do retículo endoplasmático rugoso (Borczyk *et al.*, 2019). Também tem sido demonstrado que a cascata de sinalização cAMP/PKA/CREB, ativada pelo iGluR-NMDA, é essencial para a formação da memória de longo prazo (Waltereit & Weller, 2003).

Esse processo de aprendizado e memória, que é característico e fundamental da vida como a conhecemos, mediado pelo glutamato e seus receptores, em particular o iGluR-NMDA, coloca em evidência irrefutável a essencialidade desse aminoácido para todos os processos vitais e neurais que caracterizam o desenvolvimento superior dos seres humanos: o glutamato é essencial para a vida como a conhecemos.

17. PAPEL DO GLUTAMATO E SEUS RECEPTORES EM EXCITOTOXICIDADE E NEURODEGENERAÇÃO

Em contrapartida, visto que o iGluR-NMDA está associado a tantas e diversas funções, é suscetível que em alguns eventos se tornem desregulados e possam gerar disfunções em diferentes níveis. Na Tabela 8.3 apresentam-se alguns exemplos de efeitos deletérios no SNC quando ocorrem mutações, alterações na expressão, diminuição ou aumento do receptor.

Tabela 8.3 – Patologias associadas ao mau funcionamento do iGLUR-NMDA ou de alguma de suas moléculas associadas

Alterações do iGluR-NMDA no SNC	Referências
Desordens do estado de ânimo e psiquiátrico	Peyrovian <i>et al.</i> , 2019
Ansiedade	Gafford & Ressler, 2015
Depressão	Raguett <i>et al.</i> , 2019; Farber, 2018
Catalepsia	Medeiros <i>et al.</i> , 2014; Lacopucci <i>et al.</i> , 2012
Psicose	Jézéquel <i>et al.</i> , 2018
Dor	Yuan & Burrell, 2019
Demência associada ao HIV	Self <i>et al.</i> , 2004
Atrofia do hipocampo	Wang <i>et al.</i> , 2018
Doença de Huntington	Ambroziak <i>et al.</i> , 2018
Doença de Alzheimer	Wang & Reddy, 2017
Epilepsia	Marwick <i>et al.</i> , 2019
Esquizofrenia	Errico <i>et al.</i> , 2018
Desordem bipolar	Clinton & Meador-Woodruff, 2004
Dor neuropática	Sun <i>et al.</i> , 2004
Doença de Parkinson	Kim <i>et al.</i> , 2018
Esclerose lateral amiotrófica	Paul & de Belleruche, 2014

HIV: vírus da imunodeficiência humana. Fonte: tabela preparada pelos autores.

As alterações da homeostase do Ca^{2+} nos neurônios é o mecanismo central na neurotoxicidade por aminoácidos excitatórios ou excitotoxicidade. Existem muitas evidências que sugerem que o aumento do cálcio citosólico é responsável pela degradação neuronal precoce e a posterior neurodegradação (Tehse & Taghibiglou, 2018). O acúmulo intracelular de cálcio tem sido atribuído ao influxo incrementado do cátion através dos iGluR-NMDA e, em menor proporção, aos outros receptores ionotrópicos, AMPA e KAIN (Frandsen & Schousboe, 1993; Lambuk *et al.*, 2019).

Muitos estudos têm falhado ao tentar estabelecer uma relação entre o excesso de Ca^{2+} e a superativação dos receptores pelo glutamato. Foram encontradas relações entre os níveis de cálcio livre intracelular e a neurotoxicidade (Albarra-cín & Lareo, 2005; Albarracín & Lareo, 2007).

A contribuição da neurotoxicidade para a fisiopatologia das doenças crônicas neurodegenerativas é cada vez mais aceita. Entretanto, não existem evidências contundentes de incrementos na concentração extracelular de glutamato. Têm sido feitas tentativas de explicar o desenvolvimento dessas patologias com base

na presença de outras excitotoxinas, tais como o ácido quinolínico ou o ácido homocisteico, ou a ausência de inibidores endógenos dos iGluR-NMDA. Porém, dessas teorias não têm sido obtidas demonstrações claras (Beal *et al.*, 1990).

Foi estabelecido, então, o termo excitotoxicidade débil ou lenta (Albin & Greenamyre, 1992), baseado no conceito de que algumas mudanças patológicas podem aumentar a vulnerabilidade de certas populações celulares às atividades do glutamato, ainda que na ausência de valores elevados do mesmo. As modificações genéticas (polimorfismos) nos genes das moléculas dos receptores que levam a mudanças conformacionais nas proteínas que as codificam e, como consequência, a mudanças em suas funções, poderiam ser os gatilhos reais dessas patologias. Existem muitas evidências de relações entre polimorfismo dos genes que codificam para as subunidades dos iGluR-NMDA e diversas dessas patologias neurodegenerativas, inclusive algumas neuropsiquiátricas, tais como a esquizofrenia e a depressão (Ragguett *et al.*, 2019; Farber, 2018; Errico *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2007; Villegas *et al.*, 2006).

Essas demonstrações permitem sugerir que a neurotoxicidade atribuída ao glutamato não se deve por si só a esse neurotransmissor. Mas devido a que sua função pode ser modificada da condição normal, por defeitos nos efetores biológicos, como receptores, transportadores e/ou enzimas. Isso leva a que os neurônios e astrócitos que dependem da atividade do glutamato diminuam (ou também modifiquem) sua atividade fisiológica.

18. PAPEL DO GLUTAMATO E SEUS RECEPTORES NA FORMAÇÃO DA CONSCIÊNCIA NEURAL

Sem dúvida, o ápice da evolução do sistema nervoso e a mais evidente e, por sua vez a mais complexa das funções cerebrais, é a consciência. Recentemente, foi proposto que o iGluR-NMDA e, conseqüentemente, seu ativador endógeno, o glutamato, são as moléculas chave para a formação da consciência. Essa proposta foi denominada de “Correlato Molecular da Consciência (CMC)” (Lareo & Corredor, 2004; Lareo, 2006; Lareo & Corredor, 2006). Os detalhes dessa proposta ultrapassam os limites deste capítulo, porém vale a pena ressaltar que é o glutamato, então, a molécula que não só cobre os aspectos essenciais da vida neuronal dos organismos superiores como também pode explicar a mais elevada capacidade humana: a consciência de ser consciente.

19. GLUTAMATO E GLUTAMATO MONOSSÓDICO

Até agora, neste capítulo, tem sido feita referência exclusiva às atividades do glutamato livre de origem natural que pode ser sintetizado em todas as células do sistema nervoso, em todos os seres vivos e de maneira abundante. Agora, serão realizadas considerações a respeito do glutamato produzido por processos biotecnológicos, graças à atividade de bactérias fermentadoras (o glutamato monossódico ou MSG), em particular quanto à possibilidade de efeitos neuronais adversos serem causados pelo MSG.

O MSG, como seu nome o indica, é um dos possíveis sais nos quais pode participar o ânion glutamato. Este, em pH fisiológico, ou seja, entre 6,8 e 7,4, se dissocia no ânion glutamato e no cátion Na^+ . Nessas condições, o glutamato desempenha seu papel exatamente como quando é sintetizado pelas células a partir de diferentes intermediários metabólicos ou da hidrólise de proteínas. Consequentemente, seu metabolismo mais importante é realizado nas células entéricas (Albarracin *et al.*, 2016). Por conseguinte, não se espera que a concentração plasmática de glutamato seja aumentada após a absorção de nutrientes. Conforme discutido anteriormente, a barreira hematoencefálica é uma barreira natural eficiente ao glutamato presente na dieta, quer esteja naturalmente presente nos alimentos ou como aditivo alimentar na forma de MSG (Albarracin *et al.*, 2016). Não há evidência conclusiva de que o MSG se comporte de uma maneira diferente quimicamente e bioquimicamente; não teria nenhum sentido em fazê-lo. Bogdanov *et al.* (1996) demonstraram em ratos que, ainda em níveis de exposição de 2 g/kg p.c., não surgiram mudanças nos níveis de glutamato no núcleo arqueado, indicando que não há razão para prever um potencial neurotóxico a partir do consumo de MSG. Rutten *et al.* (2006), aumentando a ingestão de glutamato em idosos para níveis de 30 mg/kg p.c., a cada 20 minutos, na forma de bebidas, alcançaram aumentos significativos no plasma, assim como consequentes benefícios na qualidade de vida dos idosos, sem gerar nenhum efeito neurológico adverso.

20. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O atual nível de desenvolvimento do sistema nervoso tem sistemas de regulação extremamente finos para manter os níveis de glutamato nos patamares fisiológicos normais dentro do cérebro, seja mediante a barreira física e bioquímica chamada barreira hematoencefálica, seja através dos mecanismos de recaptura do glutamato do meio extracelular, mediante a regulação das funções

de seus receptores, ou pelo balanço da atividade de todas as enzimas envolvidas em seu metabolismo. As disfunções detectadas não se devem ao glutamato, nem mesmo a alterações das funções de algum dos mecanismos que o regulam. Adicionalmente, pelo menos no que se refere às fontes de ingestão de glutamato (naturalmente presente nos alimentos ou como aditivo alimentar), não existem razões químicas nem bioquímicas que permitam prever ações diferenciais para elas, nem existe evidência contundente na literatura científica séria de que isso ocorra em algum caso.

O glutamato, independentemente de sua origem, não é um dos aminoácidos nutricionalmente classificados como essenciais, já que temos mecanismos bioquímicos para sintetizá-lo, porém é essencial para a vida como a conhecemos e, em especial, para a função neuronal e cerebral em condições funcionais que promovam a saúde no sistema nervoso central.

21. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, N. J. “Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery”. *J Inherit Metab Dis.* 36(3): 437-449, 2013.

ALBARRACIN, S. L. *et al.* “L-glutamate: a key amino acid for sensory and metabolic functions”. *Arch Latinoam Nutr.* 66(2): 101-112, 2016.

ALBARRACÍN, S. L. & LAREO, L. R. “Modelo para simular la homeóstasis neuronal durante un influjo incrementado de calcio a través del canal asociado al receptor ionotrópico de glutamato activado por N-metil-D-aspartato”. *Universitas Scientiarum.* 10: 51-55, 2005.

ALBARRACÍN, S. L. & LAREO, L. R. “Modelo integrador para las rutas de señalización diferencial del receptor ionotrópico de glutamato activado por el N-metil-D-aspartato”. *Revista Ciencias de la Salud.* 5: 92-105, 2007.

ALBIN, R. L. & GREENAMYRE, J. T. “Alternative excitotoxic hypotheses”. *Neurology.* 42: 733-738, 1992.

ALVAREZ, V. A. & SABATINI, B. L. “Anatomical and physiological plasticity of dendritic spines”. *Annu Rev Neurosci.* 30: 79-97, 2007.

AMBROZIAK, W.; FOURIE, C. & MONTGOMERY, J. M. “SAP97-mediated rescue of NMDA receptor surface distribution in a neuronal model of Huntington’s disease”. *Hippocampus.* 28(10): 707-723, 2018.

- BEAL, M. F. *et al.* “Kynurenine pathway measurements in Huntington’s disease striatum: Evidence for reduced formation of kynurenic acid”. *J Neurochem.* 55: 1327-1339, 1990.
- BERL, S. “Compartmentation of glutamic acid metabolism in developing cerebral cortex”. *J Biol Chem.* 240: 2047-2054, 1965.
- BETTLER, B. *et al.* “Cloning of a novel glutamate receptor subunit, GluR5: expression in the nervous system during development”. *Neuron.* 5: 583-595, 1990.
- BILLARD, J. M. “Changes in serine racemase-dependent modulation of NMDA receptor: impact on physiological and pathological brain aging”. *Front Mol Biosci.* 5: 106, 2018.
- BLIIM, N. *et al.* “Early transcriptome changes in response to chemical long-term potentiation induced via activation of synaptic NMDA receptors in mouse hippocampal neurons”. *Genomics.* 111(6): 1676-1686, 2019.
- BOGDANOV, M. B.; TJURMINA, O. A. & WURTMAN, R. J. “Consumption of a high dietary dose of monosodium glutamate fails to affect extracellular glutamate levels in the hypothalamic arcuate nucleus of adult rats”. *Brain Res.* 736: 76-81, 1996.
- BORCZYK, M. *et al.* “Neuronal plasticity affects correlation between the size of dendritic spine and its postsynaptic density”. *Sci Rep.* 9(1): 1693, 2019.
- BRADFORD, H. F.; BENNETT, G. W. & THOMAS, A. J. “Depolarizing stimuli and the release of physiologically active amino acids from the suspensions of mammalian synaptosomes”. *J Neurochem.* 21: 495-505, 1973.
- BRIGUGLIO, M. *et al.* “Dietary neurotransmitters: A narrative review on current knowledge”. *Nutrients.* 10(5): 591, 2018.
- BURKI, F. & KAESSMANN, H. “Birth and adaptive evolution of a hominoid gene that supports high neurotransmitter flux”. *Nature Genet.* 36: 1061-1063, 2004.
- CHOWDHURY, G. M. *et al.* “Glutamatergic and GABAergic neurotransmitter cycling and energy metabolism in rat cerebral cortex during postnatal development”. *J Cereb Blood Flow Metab.* 27(12): 1895-1907, 2007.
- CHRISTENSEN, H.; FYKSE, E. M. & FONNUM, F. “Uptake of glycine into synaptic vesicles isolated from rat spinal cord”. *J Neurochem.* 54: 1142-1147, 1990.

CIABARRA, A. M. *et al.* “Cloning and characterization of chi-1: A new developmentally regulated member of a novel class of the ionotropic glutamate receptor family”. *J Neurosci.* 15: 6498-6508, 1995.

CLINTON, S. M. & MEADOR-WOODRUFF, J. H. “Abnormalities of the NMDA receptor and associated intracellular molecules in the thalamus in schizophrenia and bipolar disorder”. *Neuropsychopharmacology.* 29: 1353-1362, 2004.

CURTIS, D. R. & JOHNSTON, A. R. “Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system”. *Ergeb Physiol.* 69: 97-188, 1974.

CURTIS, D. R. & WATKINS, J. C. “The excitation and depression of spinal neurons by structurally related amino acids”. *J Neurochem.* 6: 117-141, 1960.

DALE, H. H.; FELDBERG, W. & VOGT, M. “Release of acetylcholine at voluntary motor nerve ending”. *J Physiol.* 86: 353-380, 1936.

DUAN, S. *et al.* “P2X7 receptor-mediated release of excitatory amino acids from astrocytes”. *J Neurosci.* 23(4): 1320-1328, 2003.

DUGGAN, A. W. “The differential sensitivity to L-glutamate and L-aspartate of spinal interneurons and Renshaw cells”. *Exp Brain Res.* 19(5): 522-528, 1974.

ERREGER, K. *et al.* “Subunitspecific gating controls rat NR1/NR2A and NR1/NR2B NMDA channel kinetics and synaptic signalling profiles”. *J Physiol.* 563: 345-358, 2005.

ERRICO, F. *et al.* “The emerging role of altered D-aspartate metabolism in schizophrenia: new insights from preclinical models and human studies”. *Front Psychiatry.* 9: 559, 2018.

ESCOBAR, M. L. & BERMÚDEZ-RATTONI, F. “Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention”. *Brain Res.* 852: 208-212, 2000.

EVANS, C. E. *et al.* “Selective reduction of APP-BACE1 activity improves memory via NMDA-NR2B receptor-mediated mechanisms in aged PDAPP mice”. *Neurobiol Aging.* 75: 136-149, 2019.

EYIGOR, O.; MINBAY, Z. & KAFA, I. M. “Glutamate and orexin neurons”. *Vitam Horm.* 89: 209-222, 2012.

- FARBER, N. B. "NMDA Antagonists for treatment-resistant depression". *Handb Exp Pharmacol.* 250: 287-305, 2018.
- FERRAGUTI, F. & SHIGEMOTO, R. "Metabotropic glutamate receptors". *Cell Tissue Res.* 326(2): 483-504, 2006.
- FLORES-SOTO, M. E. *et al.* "Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits". *Neurologia.* 27: 301-310, 2012.
- FONNUM, F. "Determination of transmitter amino acid turnover". *Neuromethods.* 3: 201-209, 1985.
- FRANDSEN, A. & SCHOUSBOE, A. "Excitatory amino acid-mediated cytotoxicity and calcium homeostasis in cultured neurons". *J Cereb Blood Flow Metab.* 12: 638-645, 1993.
- FULLER, R. W. "Pharmacology of brain epinephrine neurons". *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 22: 31-55, 1982.
- GAFFORD, G. M. & RESSLER, K. J. "GABA and NMDA receptors in CRF neurons have opposing effects in fear acquisition and anxiety in central amygdala vs. bed nucleus of the stria terminalis". *Horm Behav.* 76: 136-142, 2015.
- GASIC, G. P. & HEINEMANN, S. "Receptors coupled to ionic channels: the glutamate receptor family". *Curr Opin Neurobiol.* 1: 20-26, 1991.
- HAMBERGER, A. & NYSTROÖM, B. "Extra- and intracellular amino acids in the hippocampus during development of hepatic encephalopathy". *Neurochem. Res.* 9: 1181-1192, 1984.
- HAWKINS, R. A. *et al.* "Structure of the blood-brain barrier and its role in the transport of amino acids". *J Nutr.* 136: 218S-226S, 2006.
- HAYASHI, T. *Chemical physiology of excitation in muscle and nerve.* Tokyo, Nakayama-Shoten, 1956.
- HILL, A. V. "The mode of action of nicotine and curare determined by the form of the concentration curve and the method of temperature coefficients". *J Physiol.* 39: 361-373, 1909.
- HONER, M. *et al.* "Differentiation of glycine antagonist sites of N-methyl-D-aspartate receptor subtypes". *J Biol Chem.* 273: 11158-11163, 1998.

ISHII, T. *et al.* “Molecular characterization of the family of the N-methyl-D-aspartate receptor subunits”. *J Biol Chem.* 268: 2836-2843, 1993.

JÉZÉQUEL, J. *et al.* “Pathogenicity of antibodies against NMDA receptor: Molecular insights into autoimmune psychosis”. *Trends Neurosci.* 41(8): 502-511, 2018.

JOHNSTON, G. A. R. *et al.* “Central actions of ibotenic acid and muscimol”. *Biochem Pharmacol.* 17: 2488-2489, 1968.

JOURDAIN, P. *et al.* “Dual action of L-Lactate on the activity of NR2B-containing NMDA receptors: from potentiation to neuroprotection”. *Sci Rep.* 8: 13472, 2018.

KARAKAS, E. & FURUKAWA, H. “Crystal structure of a heteromeric NMDA receptor ion channel”. *Science.* 344: 992-997, 2014.

KASHIWAGI, K. *et al.* “Block and modulation of N-methyl-D-aspartate receptors by polyamines and protons: Role of amino acid residues in the transmembrane and pore-forming regions of NR1 and NR2 subunits”. *Mol Pharm.* 52: 701-713, 1997.

KIM, I. Y. *et al.* “Interaction between caffeine and polymorphisms of glutamate ionotropic NMDA type subunit 2A (GRIN2A) and cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) on Parkinson’s disease risk”. *Mov Disord.* 33(3): 414-420, 2018.

KIMELBERG, H. K. *et al.* “Swelling-induced release of glutamate, aspartate, and taurine from astrocyte cultures”. *J Neurosci.* 10: 1583-1591, 1990.

KINOSHITA, A. *et al.* “Presynaptic localization of a metabotropic glutamate receptor, mGluR8, in the rhinencephalic areas: a light and electron microscope study in the rat”. *Neurosci Lett.* 207: 61-64, 1996.

KRAVITZ, E. A. “Acetylcholine, g-aminobutyric acid, and glutamic acid: Physiological and chemical studies related to their roles as neurotransmitter agents”. In: QUARTON, G. C.; MELNECHUK, T. & SCHMITT, F. O. (ed.). *The neurosciences: a study program.* New York, The Rockefeller University Press, 1967, pp. 433-444.

KREFT, M. *et al.* “Properties of Ca(2+)-dependent exocytosis in cultured astrocytes”. *Glia.* 46(4): 437-445, 2004.

- LACOPUCCI, A. P. *et al.* “L-NOARG-induced catalepsy can be influenced by glutamatergic neurotransmission mediated by NMDA receptors in the inferior colliculus”. *Behav Brain Res.* 234(2): 149-154, 2012.
- LAMBUK, L. *et al.* “Antiapoptotic effect of taurine against NMDA-induced retinal excitotoxicity in rats”. *Neurotoxicology.* 70: 62-71, 2019.
- LANGLEY, J. N. “On the reactions of cells and nerve-endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle to nicotine and curare”. *J Physiol.* 33: 374-413, 1905.
- LAREO, L. R. & CORREDOR, C. “Ionotropic glutamate receptor activated by N-methyl-D-aspartate: a key molecule of conscious life”. *Med Hypotheses.* 63(2): 245-249, 2004.
- LAREO, L. R. & CORREDOR, C. “Molecular Correlate of Consciousness”. In: TURRINI, S. K. (ed.). *Consciousness and learning research.* New York, Nova Pubs, 2006, p. 97.
- LAREO, L. R. “El receptor ionotrópico de glutamato activado por N-metil-D-aspartato, molécula clave de la conciencia”. *Universitas Scientiarum.* 11: 13-33, 2006.
- LEE, C. H. *et al.* “NMDA receptor structures reveal subunit arrangement and pore architecture”. *Nature.* 511: 191-197, 2014.
- LEE, K. Y. *et al.* “NMDA receptors offer more than one functionality”. *Anesth. Analg.* 96: 1533-1534, 2003.
- LEE, W. J. *et al.* “Glutamine transport by the blood-brain barrier: a possible mechanism for nitrogen removal”. *Am J Physiol.* 274(4): C1101-C1107, 1998.
- LENT, R. *et al.* “How many neurons do you have? Some dogmas of quantitative neuroscience under revision”. *Eur J Neurosci.* 35: 1-9, 2012.
- LIU, M. *et al.* “An association study between GRIN1, BDNF genes and bipolar disorder”. *Yi Chuan.* 29(1): 41-46, 2007.
- LUCAS, D. R. & NEWHOUSE, J. P. “The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina”. *Arch Ophthalmol.* 58: 193-214, 1957.
- MARWICK, K. F. M. *et al.* “Functional assessment of triheteromeric NMDA receptors containing a human variant associated with epilepsy”. *J Physiol.* 597(6): 1691-1704, 2019.

- MAYORQUIN, L. C. *et al.* “Connexin-mediated functional and metabolic coupling between astrocytes and neurons”. *Front Mol Neurosci.* 11: 118, 2018.
- MCBAIN, C. J. & MAYER, M. L. “N-Methyl-D-Aspartic acid receptor structure and function”. *Physiol Rev.* 74: 723-760, 1994.
- MCBEAN, G. J. “Cerebral cystine uptake: a tale of two transporters”. *Trends Pharmacol Sci.* 23(7): 299-302, 2002.
- MEDEIROS, P. *et al.* “Glutamatergic neurotransmission in the inferior colliculus influences intrastriatal haloperidol-induced catalepsy”. *Behav Brain Res.* 268: 8-13. 2014.
- MONGIN, A. A. & ORLOV, S. N. “Mechanisms of cell volume regulation and possible nature of the cell volume sensor”. *Pathophysiology.* 8: 77-88, 2001.
- MORIYAMA, Y. & YAMAMOTO, A. “Vesicular L-glutamate transporter in microvesicles from bovine pineal glands”. *J Biol Chem.* 270(38): 22314-22320, 1995.
- NAKANISHI, S. “Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function”. *Science.* 258(5082): 597-603, 1992.
- NAKAZAWA, K. *et al.* “NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory”. *Nat Rev Neurosci.* 5(5): 361-372, 2004.
- NIMCHINSKY, E. A.; SABATINI, B. L. & SVOBODA, K. “Structure and function of dendritic spines”. *Annu Rev Physiol.* 64: 313-353, 2002.
- NORENBERG, M. D. “Distribution of glutamine synthetase in the rat central nervous system”. *J Histochem Cytochem.* 27: 756-762, 1979.
- NORTH, R. A. “Molecular physiology of P2X receptors”. *Physiol Rev.* 82: 1013-1067, 2002.
- OMOTE, H. *et al.* “Vesicular neurotransmitter transporter: bioenergetics and regulation of glutamate transport”. *Biochemistry.* 50: 5558-5565, 2011.
- O’RIORDAN, K. J.; HU, N. W. & ROWAN, M. J. “Physiological activation of mGlu5 receptors supports the ion channel function of NMDA receptors in hippocampal LTD induction in vivo”. *Sci Rep.* 8: 4391, 2018.
- PALAZZO, E. *et al.* “Metabotropic glutamate receptor 7: From synaptic function to therapeutic implications”. *Curr Neuropharmacol.* 14(5): 504-513, 2016.

- PARPURA, V. *et al.* “Glutamate-mediated astrocyte-neuron signaling”. *Nature*. 369: 744-747, 1994.
- PAUL, P. & DE BELLEROCHE, J. “The role of D-serine and glycine as co-agonists of NMDA receptors in motor neuron degeneration and amyotrophic lateral sclerosis (ALS)”. *Front Synaptic Neurosci*. 6: 10, 2014.
- PEYROVIAN, B. *et al.* “The glycine site of NMDA receptors: A target for cognitive enhancement in psychiatric disorders”. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 92: 387-404, 2019.
- PINES, G. *et al.* “Cloning and expression of a rat brain L-glutamate transporter”. *Nature*. 360: 464-467, 1992.
- PLÁTENÍK, J.; KURAMOTO, N. & YONEDA, Y. “Molecular mechanisms associated with long-term consolidation of the NMDA signals”. *Life Sci*. 67: 335-364, 2000.
- PRICE, M. T. *et al.* “Uptake of exogenous aspartate into circumventricular organs but not other regions of adult mouse brain”. *J Neurochem*. 42: 740-744, 1984.
- RAGGUETT, R. M. *et al.* “Rapastinel - an investigational NMDA-R modulator for major depressive disorder: evidence to date”. *Expert Opin Investig Drugs*. 28(2): 113-119, 2019.
- RENGACHARY, S. S. & ELLENBOGEN, R. G. (ed.). *Principles of neurosurgery*. Edinburgh, Elsevier Mosby, 2005.
- ROSENMUND, C.; STERN-BACH, Y. & STEVENS, C. F. “The tetrameric structure of a glutamate receptor channel”. *Science*. 280: 1596-1599, 1998.
- ROTHER, F.; BROSZ, M. & STORM-MATHISEN, J. “Quantitative ultrastructural localization of glutamate deshydrogenase in rat cerebellar cortex”. *Neuroscience*. 64: 1133-1146, 1994.
- RUTTEN, E. P. A. *et al.* “Effect of glutamate ingestion on whole-body glutamate turnover in healthy elderly and patients with chronic obstructive pulmonary disease”. *Nutrition*. 22: 496-503, 2006.
- SASAKI, T.; MATSUI, S. & KITAMURA, T. “Control of appetite and food preference by NMDA receptor and its co-agonist d-serine”. *Int J Mol Sci*. 17(7): 1081, 2016.

SCHÜLER, T. *et al.* “Formation of NR1/NR2 and NR1/NR3 heterodimers constitutes the initial step in N-methyl-D-aspartate receptor assembly”. *J Biol Chem.* 283: 37-46, 2008.

SEEBURG, P. H. “The TiPS/TINS lecture: the molecular biology of mammalian glutamate receptor channels”. *Trends Pharmacol Sci.* 14: 297-303, 1993.

SELF, R. L. *et al.* “The human immunodeficiency virus type-1 transcription factor Tat produces elevations in intracellular Ca²⁺ that require function of an N-methyl-D-aspartate receptor polyamine-sensitive site”. *Brain Res.* 995: 39-45, 2004.

SHARIF, Y. *et al.* “Blood brain barrier: A review of its anatomy and physiology in health and disease”. *Clin Anat.* 31(6): 812-823, 2018.

SOBOLEVSKY, A. I.; ROSCONI, M. P. & GOUAUX, E. “X-ray structure, symmetry and mechanism of an AMPA-subtype glutamate receptor”. *Nature.* 462: 745-756, 2009.

SONG, Q. *et al.* “NMDA receptor-mediated Ca²⁺ influx in the absence of Mg²⁺ block disrupts rest: activity rhythms in drosophila”. *Sleep.* 40(12), 2017.

SONNEWALD, U. & SCHOUSBOE, A. “Introduction to the glutamate-glutamine cycle”. *Adv Neurobiol.* 13:1-7, 2016.

STILES, J. & JERNIGAN, T. L. “The basics of brain development”. *Neuropsychol Rev.* 20(4): 327-348, 2010.

STORCK, T. *et al.* “Structure, expression and functional analysis of Na⁺-dependent glutamate/aspartate transporter from rat brain”. *Proc Natl Acad Sci.* 89: 10955-10959, 1992.

SUCHANEK, B.; SEEBURG, P. H. & SPRENGEL, R. “Gene structure of the murine N-methyl D-aspartate receptor subunit NR2C”. *J Biol Chem.* 270: 41-44, 1995.

SÜDHOF, T. C. “Towards an Understanding of Synapse Formation”. *Neuron.* 100(2): 276-293, 2018.

SUN, R. Q. *et al.* “Suppression of neuropathic pain by peripheral electrical stimulation in rats: mu-opioid receptor and NMDA receptor implicated”. *Exp Neurol.* 187: 23-29, 2004.

- TABISH, M. & TICKU, M. K. "Alternate splice variants of mouse NR2B gene". *Neurochem Int.* 44: 339-343, 2004.
- TANABE, Y. *et al.* "A family of metabotropic glutamate receptors". *Neuron.* 8: 169-179, 1992.
- TANG, Y-P. *et al.* "Genetic enhancement of learning and memory in mice". *Nature.* 401: 63-69, 1999.
- TASKER, J. G. *et al.* "Glial regulation of neuronal function: from synapse to systems physiology". *J Neuroendocrinol.* 24: 566-576, 2012.
- TEHSE, J. & TAGHIBIGLOU, C. "The overlooked aspect of excitotoxicity: Glutamate-independent excitotoxicity in traumatic brain injuries". *Eur J Neurosci.* 49(9): 1157-1170, 2018.
- TERUNUMA, M. "Diversity of structure and function of GABAB receptors: a complexity of GABAB-mediated signaling". *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 94(10): 390-411, 2018.
- THOMSEN, C. *et al.* "L-2-amino-4-phosphonobutyrate (L-AP4) is an agonist at the type IV metabotropic glutamate receptor which is negatively coupled to adenylate cyclase". *Eur J Pharmacol.* 227: 361-362, 1992.
- VILLEGAS, V. E.; ZARANTE, I. & LAREO, L. R. "Estudio preliminar de los polimorfismos del gen GRIN-1 del receptor NMDA en una población sana colombiana". *Universitas Scientiarum.* 11: 49-21, 2006.
- WALTEREIT, R. & WELLER, M. "Signaling from cAMP/PKA to MAPK and synaptic plasticity". *Mol Neurobiol.* 27: 99-106, 2003.
- WANG, H. *et al.* "Protective role of NMDAR for microwave-induced synaptic plasticity injuries in primary hippocampal neurons". *Cell Physiol Biochem.* 51(1): 97-112, 2018.
- WANG, J. Q.; FIBUCH, E. E. & MAO, L. "Regulation of mitogen-activated protein kinases by glutamate receptors". *J Neurochem.* 100: 1-11, 2007.
- WANG, R. & REDDY, P. H. "Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer's disease". *J Alzheimers Dis.* 57(4): 1041-1048, 2017.

WARR, O.; TAKAHASHI, M. & ATTWELL, D. “Modulation of extracellular glutamate concentration in rat brain slices by cystine–glutamate exchange”. *J Physiol*. 514: 783-793, 1999.

WASHBOURNE, P.; BENNETT, J. E. & MCALLISTER, A. K. “Rapid recruitment of NMDA receptor transport packets to nascent synapses”. *Nat Neurosci*. 5: 751-759, 2002.

WATKINS, J. C. “The synthesis of some acidic amino acids possessing neuropharmacological activity”. *J Med Pharm Chem*. 5: 1187-1199, 1962.

WATKINS, J. C.; CURTIS, D. R. & BISCOE, T. J. “Central effects of beta-N-oxalyl-alpha, beta-diaminopropionic acid and other lathyrus factors”. *Nature*. 211(5049): 637, 1966.

WEIL-MALEHERBE, H. “Significance of glutamic acid for the metabolism of the nervous tissue”. *Physiol Rev*. 30: 549-545, 1950.

YANG, J. *et al.* “Lactate promotes plasticity gene expression by potentiating NMDA signaling in neurons”. *PNAS*. 111(33): 12228-12233, 2014.

YUAN, S. & BURRELL, B. D. “Interaction between NMDA receptor- and endocannabinoid-mediated modulation of nociceptive synapses”. *Sci Rep*. 9(1): 1373, 2019.

YUDKOFF, M. *et al.* “Brain glutamate metabolism: neuronal-astroglial relationships”. *Dev Neurosci*. 15: 343-350, 1993.

ZENI, L. A. *et al.* “Glutamatergic control of food intake in pigeons: effects of central injections of glutamate, NMDA, and AMPA receptor agonists and antagonists”. *Pharmacol Biochem Behav*. 65: 67-74, 2000.

ZOREC, R. *et al.* “Astrocytic vesicles and gliotransmitters: Slowness of vesicular release and synaptobrevin2-laden vesicle nanoarchitecture”. *Neuroscience*. 323: 67-75. 2016.

EFEITOS DO GLUTAMATO NO CÉREBRO

*Sonia Luz Albarracín C.
Leonardo R. Lareo*

1. INTRODUÇÃO

A neurotransmissão no sistema nervoso central (SNC) é mediada por uma estreita interação entre os neurônios e a glia, especialmente, nas sinapses excitatórias nas quais o L-glutamato é o neurotransmissor predominante (Volterra & Meldolesi, 2005). Assim, o glutamato está envolvido nas principais funções do cérebro, como são os processos cognitivos de aprendizagem, a consolidação da memória e o desenvolvimento da plasticidade sináptica, apesar da desregulação da homeostase do glutamato estar associada a diferentes distúrbios patológicos como a depressão, a esquizofrenia e algumas doenças neurodegenerativas, por provocar um desequilíbrio entre o glutamato sináptico e o glial (Billard, 2018; Bliim *et al.*, 2019).

O glutamato, como neurotransmissor, é originado metabolicamente dos esqueletos de carbono da glicose e da glutamina que atravessam a barreira hemoencefálica (BBB). Portanto, requerem um permanente suprimento glial. Assim, tanto neurônios como astrócitos e oligodendrócitos manifestam uma “dependência” de substratos, os quais são sintetizados, capturados ou liberados nestes tipos de células. Esse mecanismo é conhecido como “compartimentalização celular”,

que neste contexto, favorece a funcionalidade de todos os processos associados à comunicação sináptica. Um exemplo disso constitui a glutamina que está presente tanto no plasma (500-750 μM) como no líquido cefalorraquidiano (LCR) (Stanley & Prusiner, 1981), sendo considerado um metabólito importante, visto que favorece a síntese de aminoácidos e, portanto, de proteínas. Adicionalmente, pode ser usada para a síntese de ATP e para aumentar o reservatório de precursores para a síntese de neurotransmissores como o aspartato, o glutamato e o ácido γ -amino butírico (GABA). Em contraste, o glutamato é menos abundante extracelularmente e a relação de concentrações de glutamato-glutamina, no plasma, é de 1/50.

A concentração aproximada de glutamato no cérebro é da ordem de 5 a 10 mM (Arrubla *et al.*, 2017) e a da glutamina é de 7 mM, embora possa ser maior nos somas ou pericarions dos mesmos neurônios em que a concentração é da ordem de 38 mM, de acordo com estudos neuroquímicos e quantitativos ultraestruturais (Christensen & Fonnum, 1991a). Essa diferença destaca a relação dinâmica entre a produção de glutamato a partir da glutamina como mecanismo fundamental para a fisiologia celular o qual é conhecido como ciclo glutamato-GABA-glutamina, sendo que no cérebro constitui um paradigma fundamental para entender o mecanismo de compartimentalização entre os neurônios e a glia (Welbourne *et al.*, 2001; Simão *et al.*, 2016).

A manutenção do reservatório de glutamato no cérebro constitui um ponto do qual dependem delicados mecanismos em nível celular e molecular. Assim, o glutamato pode ser submetido a diferentes processos metabólicos para síntese ou a degradação em diversas reações de transaminação e de desaminação oxidativa que favorecem a incorporação de esqueletos de carbono para a produção de ATP (Welbourne *et al.*, 2001). Isso dá origem, no SNC, a uma grande variedade de metabólitos que incluem o α -cetogluturato, piroglutamato, ácido γ -amino butírico (GABA) e γ -glutamil peptídeos. Entretanto, a conversão de glutamina para a produção de glutamato é funcionalmente uma das mais importantes (Stanley & Prusiner, 1981).

Assim, o glutamato contido no cérebro pode ser encontrado em quatro compartimentos diferentes: a) nos terminais glutamatérgicos (40%); b) nos terminais GABAérgicos (10%) onde é necessário como precursor do GABA; c) em astrócitos para a síntese de glutamina (30%); e d) em um compartimento multicelular no qual é usado para metabolismo energético (20%). Uma diminuição no glutamato disponível para manter a função das sinapses glutamatérgicas ou GABAérgicas poderia resultar em danos ao acoplamento de excitação/inibição, isto

é, no balanço glutamato/GABA. De maneira semelhante, uma perda da função astrocítica que impeça a capacidade de metabolizar o reservatório extracelular de glutamato pode diminuir a capacidade de detoxificação de íons amônio (NH_4^+) (Cooper, 1993). Esses dois cenários demonstram que deve existir um delicado equilíbrio na dinâmica da atividade metabólica em cada um desses compartimentos que garanta a funcionalidade de cada sistema, visto que, se perturbado, pode desencadear inúmeras alterações e estados patológicos.

Assim sendo, o metabolismo do glutamato no cérebro considera dois aspectos fundamentais: o primeiro está relacionado ao controle da concentração extracelular do neurotransmissor no espaço sináptico, devido a que a hiperestimulação dos receptores ionotrópicos, especialmente do tipo NMDA (N-metil-D-aspartato), produz eventualmente dano neuronal, fenômeno conhecido como excitotoxicidade (Tanović & Alfaro, 2006). O segundo aspecto vincula-se com o delicado balanço na produção de íons amônio (NH_4^+), cujos excessos também resultam em efeitos deletérios no SNC. Para manter esse fino mecanismo em condições ótimas, existem duas estratégias principais que permitem que o cérebro reduza esses riscos e previna o dano neural. A primeira é mediada pela barreira função seletiva da hematoencefálica (BBB), que limita o transporte de glutamato do sangue ao cérebro e a segunda, é a estratégia de compartimentalização metabólica entre os neurônios e a glia. O presente capítulo aborda as principais características do mecanismo de compartimentalização celular.

2. TERMINAIS GLUTAMATÉRGICOS

A transmissão glutamatérgica tem sido descrita em diversas regiões do sistema nervoso, que incluem: conexões córtico-corticais ipsilaterais e contralaterais, projeções corticais até a amígdala, tubérculo olfatório, o putâmen, núcleo caudado, tálamo, colículo superior e inferior, área tegmental, substância negra (ou substância *nigra*), núcleo vermelho e medula espinal. Adicionalmente, o córtex entorrinal o qual participa na neurobiologia do hipocampo, e em conexões que incluem o septum, subiculum, corpo mamilar e hipotálamo, assim como também o córtex visual, retina e cerebelo (Billard, 2018; Bliim *et al.*, 2019). Sua escala de ação se encontra na ordem de milissegundos e a ativação dos receptores de glutamato desempenha um papel importante nas mudanças duradouras que envolvem o fenótipo neuronal e o desenvolvimento dos receptores no SNC. Visto que os padrões de atividade sináptica excitatória são requeridos para o controle delicado das conexões sinápticas e a geração de mapas topográficos nas redes neurais (Kalb & Fox, 1997).

Metabolicamente, o glutamato é proveniente da glicose, da glutamina e do lactato. A glicose e a glutamina atravessam a BBB e são utilizados por neurônios e astrócitos. Devido à grande demanda de energia, os neurônios oxidam totalmente à glicose, inicialmente no citosol com a produção de piruvato, posteriormente, este α -ceto-ácido é transportado à matriz mitocondrial onde é descarboxilado e oxidado até acetil-coenzima A (Acetil-CoA) pela ação do complexo piruvato desidrogenase. Posteriormente, a Acetil-CoA e o oxaloacetato se condensam para iniciar o ciclo dos ácidos tricarboxílicos (CAT). Uma vez no ciclo, são formados diferentes intermediários, como citrato, α -cetoglutarato, succinato, fumarato e malato, até que, finalmente, se regenera uma molécula de oxaloacetato. No fim, são produzidos 2 CO_2 e 1 ATP, 3 NADH^+H^+ e 1 FADH_2 por cada Acetil-CoA que entra no ciclo (Magistretti & Allaman, 2018).

No entanto, sob condições de alta atividade neuronal, foi demonstrado o papel do lactato derivado do glicogênio dos astrócitos e seu transporte para os neurônios onde é usado como substrato metabólico (Cali *et al.*, 2019; Magistretti & Allaman, 2018). Alguns estudos indicam que durante os processos de potenciação em longo prazo (PLP), responsáveis pelo aprendizado e formação da memória, nessas condições, o lactato é o metabólito energético preferido, mais do que a glicose (Magistretti & Allaman, 2018).

Como neurotransmissor, o glutamato é acumulado em vesículas que contêm altas concentrações (100 mM) e é liberado do terminal pré-sináptico por exocitose dependente de Ca^{+2} . No terminal pós-sináptico os receptores de glutamato (GluR) são expressos em praticamente todas as células neuronais e interagem com o neurotransmissor. Essa família é composta por receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) e receptores ionotrópicos de glutamato (iGluR). Os iGluRs foram classificados em três populações diferentes, cada uma definida pela ativação seletiva com diferentes análogos estruturais do glutamato. Assim, a família iGluR é composta por receptores ativados pelo N-metil-D-aspartato (NMDA) dos quais a estrutura quaternária é conhecida, e os receptores ativados pelo α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionato (AMPA) e pelo ácido kaínico (KAIN). Os receptores iGluR neuronais possuem canais catiônicos seletivos associados, que permitem aumentar as correntes de influxo de Ca^{2+} e Na^+ , enquanto o K^+ eflui através do mesmo canal (Billard, 2018; Bliim *et al.*, 2019; Chen & Gouaux, 2019).

3. TERMINAIS GABAÉRGICOS

A enzima glutamato descarboxilase (GAD) (E.C. 4.1.1.15), converte o glutamato em GABA (ácido γ -amino butírico), o neurotransmissor cerebral com

maior atividade inibitória. Os circuitos inibitórios são diversos, embora os aspectos da biologia celular envolvidos em sua operação não sejam totalmente compreendidos. Nesse sentido, a caracterização funcional de diferentes subtipos de neurônios inibitórios não tem sido suficiente para explicar como a neurotransmissão GABAérgica regula a atividade sináptica de maneira tão relevante. Vários mecanismos emergentes modulam a neurotransmissão GABAérgica dinamicamente a partir do terminal pré-sináptico ou do pós-sináptico. Nesse sentido, essas sinapses contribuem para o desenvolvimento e amadurecimento dos circuitos até atingir o equilíbrio de excitação/inibição. Além disso, as interações entre as vias celulares, a difusão lateral de proteínas entre sinapses e o transportador de cloreto funcionam nas sinapses excitatórias e inibitórias e facilitam as adaptações inibitórias das sinapses (Maffei *et al.*, 2017).

Pesquisas em nível farmacológico, molecular e genético mostram que as sinapses GABAérgicas são fundamentais no desenvolvimento do cérebro e mediam processos de plasticidade sináptica (Fazzari *et al.*, 2010). Foram descritas múltiplas funções durante o desenvolvimento das sinapses GABAérgicas, entre as quais se destacam: a modulação do posicionamento dos neurônios no tecido para conseguir a diferenciação das células, o estabelecimento da morfologia e a forma dos contatos sinápticos com outros neurônios, assim como, participar no refinamento das conexões para fazer parte da complexa rede de neurotransmissão.

Curiosamente, nos últimos anos tem sido relatado que neurônios na área tegmental ventral (ATV) e na habenula coliberam glutamato e GABA de maneira conjunta. Isso sugere um papel complexo na regulação desses neurônios durante a neurotransmissão nessas regiões específicas (Yoo *et al.*, 2016; Zimmermann *et al.*, 2015). Esses achados não são mais recentes, demonstram a importância de manter o acoplamento de excitação/inibição, o que demonstra que essas duas atividades interdependentes favorecem o equilíbrio do qual dependem tanto a funcionalidade celular como a dos circuitos neuronais prevenindo os mecanismos de excitotoxicidade (Fazzari *et al.*, 2010).

4. COMPARTIMENTO GLIAL

As células gliais do SNC (astrócitos tipo I e II e oligodendrócitos) cumprem funções essenciais, como a manutenção da homeostase iônica (especialmente de potássio), compartimentalização metabólica, regulação da inflamação, secreção de moléculas tróficas e servir de guia e apoio à migração de neurônios durante o desenvolvimento do sistema nervoso. Além disso, exercem uma atividade

moduladora sobre a comunicação neuronal ao eliminar neurotransmissores, prover seus precursores e manter concentrações no meio extracelular, permitindo a proteção dos neurônios contra a neurotoxicidade pelo excesso de glutamato e amônio (NH_4^+) (Albrecht *et al.*, 2007).

As células gliais, durante muito tempo, foram consideradas células não excitáveis e, portanto, de papel secundário nos processos de neurotransmissão. No entanto, vários estudos realizados desde os anos 2000 motivaram o reconhecimento de seu papel principal na funcionalidade do SNC. Assim, novos conceitos como “gliotransmissão” foram cunhados, um processo no qual moléculas são liberadas dos astrócitos para as células vizinhas, sendo induzidos sinais intra e extracelulares. Nesse sentido, se relatam também como “gliotransmissores” as moléculas envolvidas. Entretanto, os astrócitos não podem gerar potenciais de ação; o mecanismo excitatório está estabelecido quimicamente e é evidenciado por câmbios nas concentrações intracelulares de Ca^{+2} , que são conhecidas como “oscilações de Ca^{+2} ”, as quais se propagam de célula a célula, modulando a neurotransmissão (Bezzi & Volterra, 2001; Volterra & Meldolesi, 2005; Orellana & Stehberg, 2014).

Recentemente, foi constatado que em diferentes sinapses, tanto no SNC como no sistema nervoso periférico (SNP), diversos neurotransmissores como glutamato, GABA, noradrenalina, acetilcolina, dopamina e adenosina estão implicados na ativação sináptica glial durante a neurotransmissão (Orellana & Stehberg, 2014). Assim, por exemplo, os astrócitos do hipocampo expressam receptores específicos para glutamato, os quais, por mecanismos de sinalização mediados por hidrólise de fosfolipídios de membrana, geram inositol 1,4,5-trisfosfato ($\text{Ins}1,4,5\text{P}_3$), favorecendo a elevação intracelular da concentração de Ca^{+2} , e provocando “oscilações de Ca^{+2} ” que se dispersam célula a célula através de uniões estreitas (Figura 9.1) (Mayorquin *et al.*, 2018). A propagação dessas “ondas de Ca^{+2} ” põe em evidência um mecanismo de sinalização glial que favorece as atividades de neuromodulação (Bezzi & Volterra, 2001). Durante o disparo neuronal intenso, a liberação de neurotransmissores como glutamato e GABA induz elevações da concentração intracelular de cálcio [Ca^{2+}]_i nas células gliais, que por sua vez, provoca a liberação de moléculas que impactam a excitabilidade neuronal, a transmissão sináptica e a plasticidade (Bazargani & Attwell, 2016). Adicionalmente, produto de outros tipos de sinais, a glia pode produzir “gliotransmissores” como NO, ATP, glutamato, prostaglandinas, entre outros, ou pode exercer funções de neuromodulação, como a liberação de moléculas como D-serina (Volterra & Meldolesi, 2005).

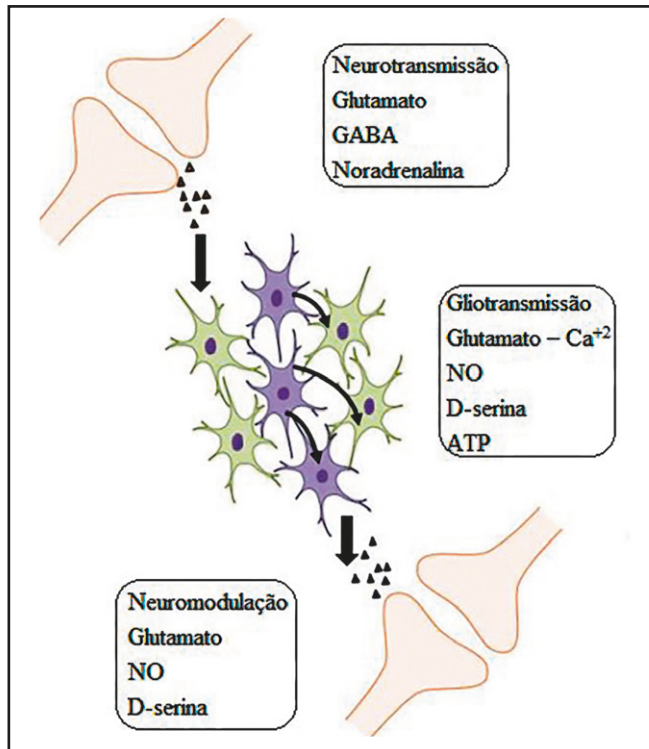


Figura 9.1 – Efeito neuromodulador de gliotransmissores por meio da sinalização mediada por ondas de cálcio através de uniões estreitas.

Fonte: figura adaptada de ppt-toolkit-Neuroscience:
<https://www.motifolio.com/neuroscience-all.html>.

É assim que o mecanismo de gliotransmissão pode coordenar redes de neurônios e sinapses de uma região para outra. Devido a que os sinais de Ca^{2+} astrocíticos evocados localmente por sinapses ativas podem se expandir intracelularmente de sua fonte original para células diferentes, isso implica que o sinal viaja ao longo de processos astrocíticos e desencadeia a liberação de gliotransmissores em áreas distantes, regulando outras sinapses e circuitos distantes (Araque *et al.*, 2014; Sahlender *et al.*, 2014).

Tem sido relatado que os astrócitos envolvidos no mesmo circuito podem liberar diferentes tipos de gliotransmissores e, assim, modular a transmissão sináptica de múltiplas formas. No entanto, identificar o contexto dessas ações regulatórias e suas múltiplas respostas é um desafio na pesquisa em neurociência para tentar entender como elas operam sob condições fisiológicas (Araque *et al.*, 2014).

5. SINAPSE TRIPARTITE

Nos últimos anos, foi estabelecido o conceito de “sinapse tripartite”, devido às múltiplas evidências que relatam a existência de uma regulação dinâmica e bidirecional da comunicação neuronal pelos astrócitos. O conceito representa uma visão funcional integrativa da fisiologia sináptica e considera os astrócitos como protagonistas ativos que regulam a transferência de informações entre os neurônios. De fato, o termo “sinapse tripartite” foi cunhado para enfatizar a modulação do espaço extracelular em torno das sinapses por astrócitos, independentemente da modulação ocorrer através da depuração dos transmissores sinápticos ou da entrega de compostos de sinalização para os *loci* sinápticos, extrasinápticos ou perisinápticos. Isso produz um mecanismo de retroalimentação, uma modulação homosináptica ou uma ação heterosináptica avançada, que poderia impactar os circuitos neurais (Araque *et al.*, 2014; Farhy-Tselnicker & Allen, 2018).

Nesse sentido, esse novo elemento da neurotransmissão favorece a modulação da comunicação entre os neurônios. Porém, a eficiência desse processo depende de dois fatores: a) da rápida liberação do neurotransmissor do neurônio pré-sináptico; e b) das baixas concentrações de neurotransmissores na sinapse. Isso significa que estão envolvidos processos de síntese, liberação e recaptura do neurotransmissor para manter a eficiência do processo (Daikhin & Yudkoff, 2000).

Tem sido relatado que a concentração do glutamato na sinapse é da ordem de 2-5 $\mu\text{mol/L}$ e pode se elevar depois da despolarização a um nível de 50-100 $\mu\text{mol/L}$. Assim, o glutamato deve ser removido rapidamente da sinapse empregando-se três sistemas: a) sequestro por neurônios pós-sinápticos; b) sequestro por neurônios pré-sinápticos; e c) remoção por astrócitos na “sinapse tripartite” (Daikhin & Yudkoff, 2000). Esses três sistemas englobam mecanismos de compartimentalização metabólica para o glutamato que evidenciam a participação ativa de uma grande família de transportadores de alta afinidade para neurotransmissores excitatórios (EAAT). EAAT-1 e EAAT-2 expressam-se em astrócitos em grandes áreas do cérebro como lóbulo frontal, córtex e hipocampo. Ou seja, essas zonas particularmente ativas em sinapses glutamatérgicas contam com um efetivo sistema de remoção de glutamato. EAAT-3 se expressa em terminais nervosos, porém não é considerado um mecanismo importante de transporte de glutamato. EAAT-4 é um transportador neuronal limitado a células de purkinje e EAAT-5 se expressa na retina (Hayashi, 2018).

Da mesma forma e através do mecanismo de compartimentação nas sinapses inibitórias, o GABA é capturado e metabolizado em astrócitos, graças à presença de transportadores eficientes de alta afinidade (Sellstrom & Hamberger, 1977; Ramaharobandro *et al.*, 1982). Nesse sentido, foram descritos quatro transportadores de alta afinidade para o GABA: GAT-1, GAT-3, GAT-B e XT1, todos dependentes de Na^+/Cl^- , associados às terminações nervosas do SNC ou associados às células gliais (Mestikawy *et al.*, 1994). Sob condições normais, a concentração intraglial de GABA é de, aproximadamente, 1 mM enquanto que a concentração extracelular é de 1 μM . Isso significa que essas células retiram ativamente o excesso de GABA (Sellstrom & Hamberger, 1977). Parece ser que a afinidade do transportador do GABA depende da maturação do cérebro, tanto nos neurônios quanto na glia. O valor da constante de afinidade (K_M) do transportador do GABA é de 5,5 μM em neurônios e 13 μM em astrócitos (González, 1985).

Embora se pensasse que o transportador neuronal do GABA estivesse localizado exclusivamente nas terminações axonais, foi demonstrado que esse transportador também é encontrado no pericário neuronal. Tanto nos neurônios como nos astrócitos, o aumento das concentrações extracelulares de potássio estimula a liberação de GABA ao meio, o que estabelece um modelo bidirecional para o transportador de GABA. A absorção ideal de GABA requer concentrações intra e extracelulares de sódio e potássio as quais dependem do potencial de membrana (Sellstrom & Hamberger, 1977; Christensen & Fonnum, 1991b).

6. CICLO GLUTAMATO-GABA-GLUTAMINA NO CÉREBRO

Neste paradigma de sinapse tripartite, o ciclo glutamato-GABA-glutamina se torna importante. Esse ciclo promove a remoção rápida de glutamato e GABA das sinapses, mantendo uma baixa concentração de neurotransmissores e transformando essas moléculas em um substrato não neuroativo, a glutamina. (Sidoryk-Wegrzynowicz & Aschner, 2013; Simão *et al.*, 2016; Hertz & Rothman, 2017; Hayashi, 2018). Ou seja, os astrócitos servem como “transportadores” de glutamato e GABA de volta aos neurônios. Além disso, a glutamina pode ser usada como combustível ou precursor de outras moléculas. Por esse motivo no cérebro, a troca de glutamato, GABA e glutamina é fundamental para a manutenção metabólica e o reservatório de neurotransmissores. O glutamato é liberado pelos neurônios em um processo dependente de Ca^{+2} que envolve a fusão de vesículas, e seu excesso pode ser tomado pelos astrócitos em um processo

dependente de Na^+ e convertido em glutamina ou em α -cetoglutarato (Simão *et al.*, 2016; Hertz & Rothman, 2017; Hayashi, 2018).

Essa atividade metabólica compartimentalizada entre neurônios e astrócitos também é importante, pois inativa os íons NH_4^+ , que são um produto normal do metabolismo desses neurotransmissores (Figura 9.2). No entanto, no SNC, eles são um importante agente neurotóxico, sendo necessário removê-los das sinapses. Nos tecidos, os sais de amônio e a amônia livre (NH_3) estão em equilíbrio, sendo que em pH 7,4 predomina (98,3%) a forma protonada (NH_4^+ , ou cátion amônio). No entanto, o termo “amônio” designa ambas as formas, a livre e a protonada. Sob condições fisiológicas, a forma não protonada atravessa por difusão as membranas, incluindo a barreira hematoencefálica (BBB) (Cooper, 1993).

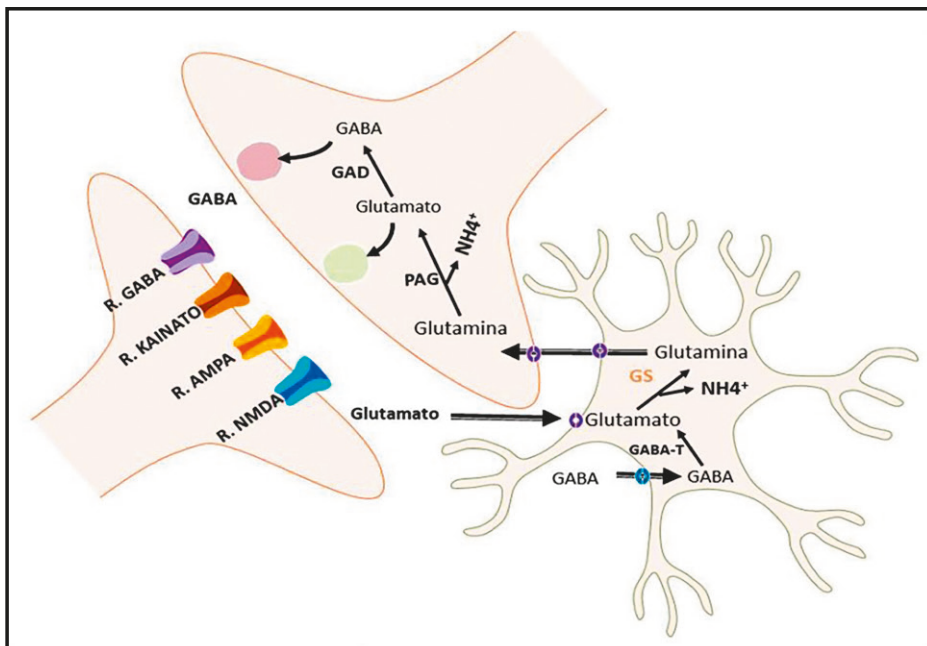


Figura 9.2 – Ciclo glutamato-GABA-glutamina na sinapse tripartite. A compartimentação metabólica dos neurotransmissores é evidenciada para manter a concentração extracelular diminuída e a eliminação dos íons amônio de maneira eficiente.

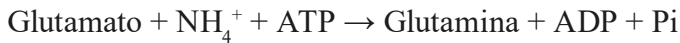
Fonte: figura adaptada de ppt- toolkit-Neuroscience;
<https://www.motifolio.com/neuroscience-all.html>.

Nesse sentido, o ciclo glutamato-GABA-glutamina também pode ser entendido como um movimento do amônio do terminal sináptico para os astrócitos, operado enzimaticamente e mantido por três mecanismos de transporte de NH_4^+ : a) difusão de NH_4^+ ; b) antiporte acoplado a um sistema de lançadeira de

aminoácidos ramificados e a cetoácidos ramificados; e c) antiporte acoplado à lançadeira alanina-lactato (Maciejewski & Rothman, 2008).

6.1 Principais enzimas do ciclo glutamato-GABA-glutamina

A conversão de glutamato em glutamina ocorre na presença de ATP e NH_4^+ proveniente do sangue ou do metabolismo no cérebro. Essa reação é catalisada pela enzima glutamina sintetase (GS), conforme a seguir:



A glutamina sintetase (GS) (E.C. 6.3.1.2) é uma enzima presente em todas as espécies e em quase todos os tecidos e catalisa a conversão de glutamato em glutamina na presença de ATP (Meister, 1985; Daikhin & Yudkoff, 2000). A GS está envolvida no balanço metabólico e na reciclagem de aminoácidos para o normal funcionamento do cérebro. Classicamente, esta enzima foi relatada exclusivamente em astrócitos (Svenneby & Torgner, 1987) e a atividade da GS está relacionada com a maturação dessas células (Caldani *et al.*, 1982).

No adulto, a imunorreatividade da GS está associada a processos astrocíticos em torno das sinapses excitatórias (Derouiche & Frotscher, 1991; Miyake & Kitamura, 1992). Foi sugerido que os níveis extracelulares de glutamato podem regular a distribuição da GS. Isso mostra a grande importância desses mecanismos de compartimentalização metabólica (Derouiche & Frotscher, 1991). A meia-vida da enzima é relativamente curta (13-22 h) e os níveis de GS são altamente regulados. A expressão e atividade de GS são moduladas por hormônios como insulina, hormônio tireoidiano e hormônios corticosteroides (Suárez *et al.*, 2002).

A formação de glutamina nos astrócitos a partir do glutamato liberado nas sinapses é a base do ciclo da glutamina (Figura 9.3). A compartimentalização da GS nos astrócitos é consistente com a missão de reciclar glutamato, mantendo o tráfego funcional, e a ausência de GS nos neurônios é consistente com a neurotransmissão excitatória em condições normais (Maciejewski & Rothman, 2008). No entanto, em condições patológicas como a doença de Alzheimer (DA), por exemplo, essa enzima foi encontrada em neurônios piramidais das camadas 5 e 6 (Walton & Dodd, 2007). Essa expressão alterada em condições patológicas mostra que a reciclagem de neurotransmissores na sinapse é fundamental para manter a baixa concentração de glutamato e, portanto, poderia funcionar como

um mecanismo de proteção contra a estimulação excessiva de receptores, o que gera excitotoxicidade nessas condições.

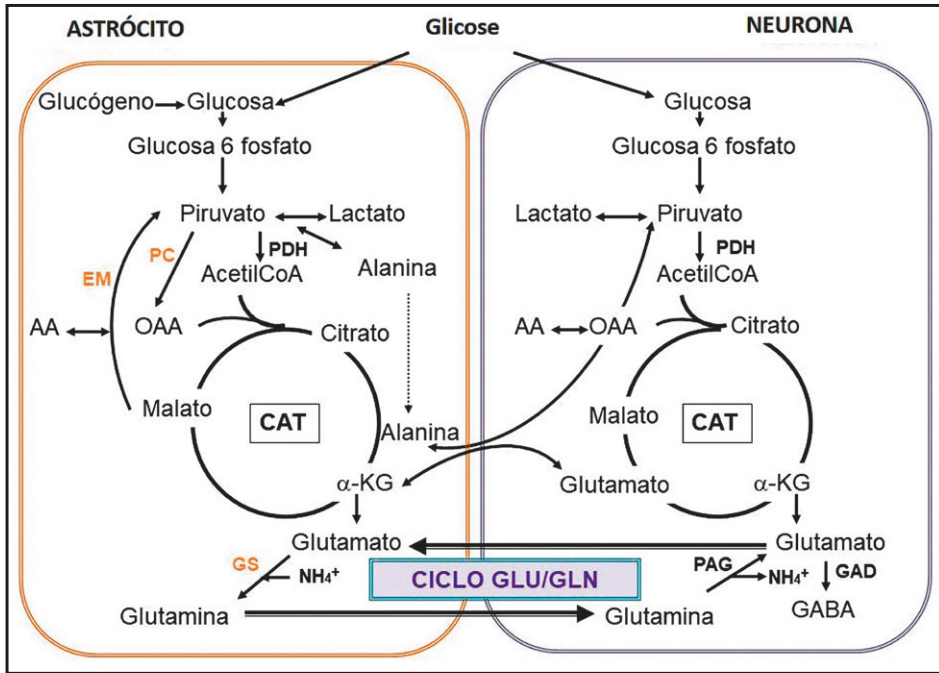
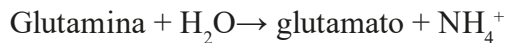


Figura 9.3 – Compartimentação metabólica entre neurônios e astrócitos. Destacam-se as principais vias metabólicas nessas células e o ciclo glutamato-GABA-Glutamina.

Fonte: figura adaptada de ppt- toolkit-Neuroscience;
<https://www.motifolio.com/neuroscience-all.html>.

Considerando outro elemento do compartimento multicelular para o ciclo glutamato-GABA-glutamina, tem-se que nos neurônios se expressam outras enzimas como a glutaminase ativada pelo fosfato (PAG) (E.C. 3.5.1.2), enzima mitocondrial que catalisa a reação não reversível, descrita a seguir:



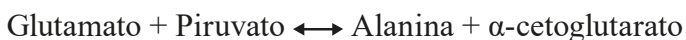
O fosfato inorgânico é derivado da hidrólise de ATP e o K_M característico da enzima é muito baixo para seu substrato, o que confere uma alta afinidade pela glutamina. A PAG também inicia o catabolismo da glutamina, o qual é muito importante para os processos biológicos celulares (Kovacevic & McGivan, 1983).

A glutamina é transportada ao neurônio mediante dois mecanismos: um Na^+ dependente e outro Na^+ independente (Daikhin & Yudkoff, 2000). A enzima é ativada por fosfato e por ácidos carboxílicos e inibida por glutamato, amônio e prótons. A PAG está presente tanto em astrócitos como em neurônios, porém é principalmente ativa em neurônios, o que favorece a síntese em terminais pré-sinápticos e é consistente com a compartimentalização em condições normais (Maciejewski & Rothman, 2008). Assim, a PAG produz glutamato e NH_4^+ em neurônios e a GS utiliza glutamato e NH_4^+ em astrócitos.

O transporte de glutamato dos terminais sinápticos e o transporte de glutamina do astrócito são processos dependentes de ATP. Somado a isso, as reações catalisadas por GS e PAG também são ATP dependentes; por conta disso, o balanço energético celular acaba sendo crítico no acoplamento do ciclo glutamato-glutamina com os substratos necessários para sua manutenção, os quais, no cérebro, são dependentes de glicose (Maciejewski & Rothman, 2008).

A circulação de glutamato nas sinapses para a neurotransmissão é fundamental para o funcionamento do cérebro, devido à grande maioria de sinapses serem glutamatérgicas e mediarem funções vitais como a aprendizagem, a formação de memória, reconhecimento espacial e funções superiores da consciência. Adicionalmente, tanto neurônios como astrócitos podem utilizar, oxidativamente, o glutamato pela ação da glutamato desidrogenase NAD(P)^+ (E.C. 1.4.1.2-4), rota potencialmente importante para a entrada de esqueletos de carbono no ciclo dos ácidos tricarboxílicos (CAT). Em astrócitos ácidos como citrato e malato, gerados no CAT ou pela atividade da enzima málica (EC 1.1.1.40), poderiam ser exportados para serem utilizados, principalmente, pelos neurônios como esqueletos de carbono precursores de glutamato e permitir, assim, a manutenção do ciclo glutamato/glutamina (Maciejewski & Rothman, 2008). Devido a que no cérebro não procede a aminação redutiva do α -cetoglutarato para produzir glutamato, exceto sob condições de hiperamonemia (Cooper *et al.*, 1979), a formação de glutamato pode ocorrer por transaminação com aminoácidos como a alanina, reação catalisada pela alanina aminotransferase (EC 2.6.1.2).

A alanina também pode ser produzida nos astrócitos a partir de piruvato, por transaminação, ou por oxidação parcial de glicose na glicólise, como foi demonstrado no cultivo de neurônios (Peng, Schousboe & Hertz, 1991) e no cérebro *in vivo* (Bakkelund *et al.*, 1993).



A formação de alanina a partir de piruvato por transaminação com glutamato, está em equilíbrio pela transaminação entre alanina e α -cetoglutarato para produzir piruvato, que é oxidado no CAT, e glutamato (Peng *et al.*, 1994). O doador de grupos amino para as transaminações com α -cetoglutarato pode ser também um aminoácido ramificado como valina, leucina ou isoleucina; todos eles aminoácidos essenciais que atravessam facilmente a BBB (Smith *et al.*, 1987).

O destino do glutamato não é só o de aumentar o reservatório de neurotransmissores na célula pré-sináptica; a conversão de glutamato a α -cetoglutarato é uma transaminação na qual intervém também aspartato aminotransferase (EC 2.6.1.1), reação que favorece o equilíbrio para a formação de aspartato (Ercinska *et al.*, 1990).



Por desaminação redutiva, catalisada pela glutamato desidrogenase NAD(P)^+ , é favorecida a utilização de esqueletos de carbonos provenientes do glutamato com produção de α -cetoglutarato como combustível via CAT (McKenna *et al.*, 1996).



Também é importante a ação da enzima piruvato carboxilase (EC 6.4.1.1) (enzima glial) a qual favorece a carboxilação do piruvato nos astrócitos com produção de oxalacetato. Isso aumenta a concentração de intermediários do CAT e, portanto, a concentração de α -cetoglutarato que, por transaminação com alanina, leva à produção de glutamato (Figura 9.3). Dessa forma, os intermediários do ciclo são precursores para a síntese de neurotransmissores, neste caso o glutamato, assim como para a oxidação e produção de ATP (Hertz *et al.*, 1999).

Todas essas reações favorecem a incorporação dos esqueletos de carbono, provenientes do glutamato, ao CAT na forma de α -cetoglutarato o qual, por ação do complexo multienzimático α -cetoglutarato desidrogenase, produz succinil coenzima A (succinil-CoA) (Hertz *et al.*, 1999). Foi verificado que o glutamato convertido em α -cetoglutarato pode ser completamente oxidado a CO_2 e água nos astrócitos (Schousboe *et al.*, 1993) e no cérebro intacto de ratos (Pascual *et al.*, 1998). O α -cetoglutarato pode abandonar a matriz mitocondrial, por meio de sua conversão em malato no CAT, através de um transportador de dicarboxilato que se expressa na membrana interna mitocondrial e, uma vez no citossol, é

convertido em piruvato numa reação catalisada pela enzima málica que se encontra expressa somente na glia. O piruvato pode ser reintroduzido ao CAT para sua completa oxidação até CO_2 e água (McKenna *et al.*, 1996; Simão *et al.*, 2016; Magistretti & Allaman, 2018).

6.2. Regulação do ciclo glutamato-GABA-glutamina

Este ciclo requer um metabolismo altamente regulado, a fim de que tanto a síntese da glutamina como sua degradação não se convertam em um ciclo inútil. Devido ao fato de a síntese de glutamina catalisada por GS ser dependente de ATP, a regulação do consumo energético acaba sendo também vital para a célula, assim como a inter-relação dos processos. Entretanto, é pouco o que se conhece dos mecanismos regulatórios em mamíferos e, particularmente, no SNC; porém, existe ampla informação em sistemas bacterianos.

Procariontes e eucariontes expressam formas diferentes de GS. Os procariontes expressam GS tipo I (GSI), enquanto que eucariontes expressam GS tipo II (GSII). A GS bacteriana consiste num complexo enzimático de 12 subunidades, enquanto que para as GS eucarióticas foram reportados complexos de 8 a 10 subunidades organizadas em dois tetrâmeros ou pentâmeros, respectivamente. Pesquisas sobre GS têm sido realizadas nos seguintes tecidos: fígado de rato e músculo esquelético de rato e coelho (Meister, 1985), cérebro de porco (Jaenicke & Berson, 1977), cérebro de ovelha (Maurizi *et al.*, 1987) e cérebro humano (Tumani *et al.*, 1999; Boksha *et al.*, 2002).

Em relação à regulação da atividade enzimática, existem relatos da inibição de GSII por APD no músculo esquelético de rato, enquanto que no cérebro e fígado não há esse tipo de regulação (Meister, 1985). Os sítios de interação alostérica de GSII foram propostos para arsenato, glutamato e dois íons Mn^{+2} por subunidade. Outros íons que afetam a atividade de GSII são o íon Cl^- e, para a GS do cérebro de ovelha foram reportados quatro Mn^{+2} , unidos fortemente por octâmero (Sidoryk-Wegrzynowicz & Aschner, 2013), em contraste com GS de cérebro de bovino, no qual foram reportados 16 Mn^{+2} por octâmero, porém não fortemente unidos (Maurizi *et al.*, 1987). Nesse sentido, foi demonstrado que a exposição ao Mn^{+2} causa transporte aberrante de glutamato nos astrócitos, levando a altas concentrações de glutamato extracelular. Além disso, o Mn^{+2} provoca uma regulação negativa da expressão e atividade da GS. Essas alterações podem desencadear o esgotamento da síntese de glutamina na glia com a diminuição e, portanto, o desequilíbrio do ciclo afetando as sinapses glutamatérgicas e GABAérgicas (Sidoryk-Wegrzynowicz & Aschner, 2013).

Por outro lado, todas as GSII perderam a sequência de adenilação e não exibem esse mecanismo regulatório, como é o caso das GSI, e não se inibem pelo acúmulo de produtos finais (Eisenberg *et al.*, 2000). Quanto à regulação da expressão gênica da GS, foi reportado que está determinada por hormônios como insulina e hidrocortisona, que podem induzir mudanças nas taxas de biosíntese da enzima (Meister, 1985).

7. GLUTAMINA E METABOLISMO OXIDATIVO NO CÉREBRO

O metabolismo energético do cérebro depende exclusivamente do uso da glicose e da oxidação completa dessa molécula nas mitocôndrias, tornando o cérebro especialmente suscetível a danos oxidativos devido à alta produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), à presença de ácidos graxos poli-insaturados nas membranas celulares, assim como ao fato do cérebro ter, relativamente, baixa defesa antioxidante. As ERO participam no dano provocado, entre outros, pelos processos neurodegenerativos, incluindo morte celular, desordens motoras e lesões. Por outro lado, as disfunções por deficiências na defesa antioxidante têm sido associadas a quase todas as doenças neurodegenerativas (Matés *et al.*, 1999).

A glutamina tem um papel importante no controle antioxidante e na resposta celular redox. Na doença de Alzheimer (DA), o peptídeo beta amiloide (PBA) e a apolipoproteína E (APOE) contribuem em potencializar os eventos de estresse oxidativo que disparam apoptose (Fadeel *et al.*, 1999). A glutamina, como precursora de glutathione, ajuda a elevar os níveis que protegem contra os efeitos deletérios das ERO (Amores-Sánchez & Médina, 1999).

O radical óxido nítrico (NO), por exemplo, é uma ERO produzida em organismos superiores pela oxidação de um dos nitrogênios do guanidino terminal da L-arginina, pela óxido nítrico sintase. Dependendo do microambiente, o NO pode ser convertido em outras espécies reativas de nitrogênio (ERN), como são o cátion nitroso (NO⁺), dióxido de nitrogênio (NO₂) ou o peroxinitrito (ONOO⁻) (Droge, 2002; Belzer & Hanani, 2019).

Vários trabalhos demonstraram que o NO funciona como um neurotransmissor envolvido na regulação neuroendócrina (Belzer & Hanani, 2019). Assim, neurônios que sintetizam NO estão presentes nos núcleos hipotalâmicos estreitamente associados com neurônios produtores de hormônios hipotalâmicos liberadores de hormônios hipofisários, como o hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH), o hormônio liberador do hormônio do crescimento (GH-RH) e de hormônios adenoipofisários como a prolactina (PRL) (Aguan *et al.*, 1996).

O óxido nítrico é sintetizado por uma família de enzimas conhecidas como óxido nítrico sintase (NOS), das quais se conhecem três isoformas. Uma delas neuronal (nNOS ou NOS1), de onde originalmente foi clonada, ainda que também esteja presente no rim e músculo esquelético (Droge, 2002). NOS1 tem um papel fisiológico importante, em nível neuronal, na liberação de neurotransmissores, no desenvolvimento neuronal, na regeneração, na plasticidade sináptica e na regulação da expressão de genes. No entanto, a desregulação desta enzima tem sido relacionada a uma ampla variedade de distúrbios como a doença de Alzheimer (DA) e a doença de Parkinson (DP), em que a produção excessiva de NO é evidenciada em lesões cerebrais, onde se comporta como mediador de neurotoxicidade (Droge, 2002).

Adicionalmente, no cérebro, a GS é modulada por NMDA e NO. Assim, o bloqueio dos receptores ou da atividade de NOS *in vivo* aumenta a atividade de GS e o conteúdo de glutamina no cérebro, indicando que uma ativação dos receptores NMDA e NOS mantém uma inibição da GS. Isso é devido a que a ativação de NOS é mediada pelos receptores NMDA, sendo responsáveis apenas em parte pela inibição da enzima. Outras fontes de NO podem contribuir para a inibição da GS por efeito de modificações covalentes reversíveis na enzima, como a nitração de resíduos de tirosina, o que torna a enzima menos eficiente (Rodrigo & Felipo, 2007).

8. PATOLOGIAS ASSOCIADAS AO DESBALANÇO DO CICLO GLUTAMATO-GABA-GLUTAMINA

O conhecimento de que as atividades cerebrais envolvem uma grande interação entre os neurônios e a glia, inicia todo um universo de entendimento de diferentes patologias. Alterações na glia disparam ou potencializam um grande impacto nas atividades nas redes neurais e, em muitos casos, poderiam favorecer as primeiras manifestações celulares e bioquímicas que, posteriormente, levam a processos de neurodegeneração. Sabe-se que processos inflamatórios e de ativação glial “astrocitose” produzem profundas alterações estruturais entre as interações neurônio-astrocítico (Pekny & Nilsson, 2005; Maragakis & Rothstein, 2006).

Somado a isso, as funções normais do cérebro requerem um balanço entre a energia requerida para as atividades e o fornecimento de nutrientes o qual, no SNC, é principalmente dependente de glicose. Dados recentes indicam que esses dois processos estão altamente acoplados e que a reciclagem de glutamato pelos astrócitos resulta em um processo crucial neste acoplamento. Assim, a utilização

de glicose pelos astrócitos é principalmente através da glicólise, o que conduz à produção de lactato o qual, posteriormente, é exportado aos neurônios onde é utilizado para o metabolismo oxidativo ou para a síntese de neurotransmissores (Poitry *et al.*, 2000). Em contraste, o glutamato liberado dos neurônios é captado pelos astrócitos e incluído no ciclo glutamato-GABA-glutamina.

Com essas observações, é proposto um modelo no qual se expõe que o consumo de glicose do astrócito está acoplado à captura de glutamato nos astrócitos. O modelo implica que o consumo de energia glia-neurônio está potencializado em função da atividade sináptica (Pellerin & Magistretti, 1994; Pellerin & Magistretti, 2012). Estudos de ressonância magnética nuclear ^{13}C NMR em córtex de ratos e humanos confirmam uma relação estequiométrica 1:1 de consumo de glicose e a reciclagem de glutamato (Shen *et al.*, 1999).

O exposto anteriormente implica que, em condições de insuficiência energética, se espera encontrar alterações no nível do ciclo glutamato-GABA-glutamina. Nesse sentido, a modulação da atividade de GS e de outras enzimas no cérebro resulta ser importante e qualquer alteração ou saturação resulta em consequências potencialmente patológicas. As patologias a seguir mostram algumas evidências que apoiam essa afirmação.

8.1 Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é a causa de demência mais frequente na população idosa, representando entre 50 e 80% do total das demências. Sua forma de apresentação se caracteriza pela aparição de transtornos mentais, tais como ideias de perseguição, alteração da memória, desorientação tempo-espacial, problemas de compreensão de linguagem, diminuição da memória e conversação desconexa (Villemagne *et al.*, 2013). Em geral, aparece depois dos 50 anos de idade e nem sempre acompanha sintomas tais como alteração no andar, coordenação de movimentos ou alterações nos reflexos. Em nível molecular, se reconhece que, nos estados avançados de DA, são encontrados acúmulos do peptídeo β -amiloide (PBA), o qual é derivado por clivagens sequenciais de uma glicoproteína precursora transmembrânica. O PBA é um peptídeo de 42 aminoácidos e constitui o núcleo das placas neuríticas (placas de Alzheimer ou placas senis) (Querfurth & Laferla, 2010). As alterações em seu processamento metabólico e o seu posterior acúmulo são algumas das características nos estados avançados da DA.

Durante anos, prevaleceu a hipótese de que o glutamato é o principal responsável pelo processo de patogênese, devido a terem sido encontradas elevadas

concentrações desse neurotransmissor no meio extracelular em pacientes diagnosticados com DA (Le Prince *et al.*, 1995). Um estudo com pacientes que apresentavam comprometimento cognitivo ou possível DA verificou que os níveis de glutamato e glutamina aumentam no líquido cefalorraquidiano (LCR) (ou fluido cérebro espinhal), de modo que podem ser considerados biomarcadores adicionais no comprometimento cognitivo pré-clínico, ou nos estágios iniciais da demência (Madeira *et al.*, 2018). Outro estudo comparou os níveis de glutamato, glutamina e GABA em jovens e idosos saudáveis, verificando que eles podem diminuir simultaneamente com a idade, embora esses níveis diminuam predominantemente na doença em pacientes que apresentam comprometimento cognitivo e pacientes com diagnóstico de DA. Esses estudos sugerem que o equilíbrio de excitação/inibição pode ser afetado na DA, o que poderia contribuir para a patogênese (Huang *et al.*, 2017).

Devido a que o aumento extracelular de glutamato provoca efeito tóxico sobre os neurônios, dado principalmente por superestimulação dos receptores de glutamato, particularmente os NMDA, desencadeiam-se uma série de eventos que são disparados por um aumento intracelular de Ca^{+2} e que geram morte celular. Esse mecanismo é conhecido como “excitotoxicidade por glutamato” (Boksha, 2004). Apesar de todo esse conhecimento, ainda não é claro quais componentes do sistema glutamatérgico se encontram alterados. Adicionalmente, o excesso de glutamato não só tem efeitos sobre os neurônios, visto que os astrócitos, abundantes nos terminais glutamatérgicos, também se veem afetados, já que o aumento da concentração do glutamato provoca turgor e, finalmente, lise celular (Chen *et al.*, 2000).

O rápido aumento extracelular de glutamato provoca excitotoxicidade em poucos minutos. Assim, a súbita perda de suprimento de energia devido ao desligamento do fluxo sanguíneo ao cérebro leva a um colapso dos potenciais de membrana neuronal e astrogliar, uma vez que a manutenção destes depende de energia. Nos neurônios, a despolarização subsequente da membrana leva à liberação vesicular de glutamato. Além da depleção de energia e a interrupção da homeostase iônica, a atividade dos EAAT também é inibida nos astrócitos e, inclusive, pode-se até induzir uma reversão em sua ação, levando à liberação de glutamato não vesicular (Lewerenz & Maher, 2015).

Sob esse contexto, espera-se que as patologias no SNC resultem das mudanças no sistema glutamatérgico, principalmente, em dois níveis diferentes: a) na distribuição e expressão de diferentes transportadores, receptores e enzimas, o que leva a diferenças na regulação; e b) impacto nas rotas implicadas no

metabolismo do glutamato para a síntese ou inativação. Tem havido relatos sobre diversas enzimas, como PAG e GS, estarem alteradas na DA. Em particular, foi encontrada drasticamente diminuída a expressão de PAG em neurônios corticais de pacientes com DA, além da queda no número de neurônios que expressam outras enzimas, como glutamato desidrogenase (Akiyama *et al.*, 1989). Nesse mesmo sentido, foi detectada uma baixa atividade dos transportadores para glutamato tipo GLT1 (Procter *et al.*, 1988). Outros estudos histológicos *post-mortem* de pacientes com DA revelaram um decréscimo na expressão e na atividade da GS (Le Prince *et al.*, 1995). Essas observações são consistentes com que alterações em diferentes componentes do sistema glutamatérgico levem a mudanças deletérias no contexto funcional e, como consequência, conduziriam ao cenário perfeito para disparar eventos moleculares que levam à neurodegeneração típica dessas patologias.

Adicionalmente, tem sido relatado que a perda da atividade da GS pode estar relacionada com a formação de radicais livres ou por suscetibilidade da enzima à presença dos mesmos, sugerindo um dano estrutural que seria responsável pela perda de atividade da GS. A sensibilidade da GS à inativação por agentes oxidantes, que geralmente modificam sua atividade, tem sido usada como uma medida do dano no tecido cerebral (Aksenov *et al.*, 1997). Resultados usando um modelo de camundongo triplo-transgênico (3xTg-AD) indicam que a diminuição na expressão da GS pode estar subjacente a uma diminuição gradual na via vital de conversão de glutamato a glutamina dependente de astrócitos, que por sua vez pode comprometer a homeostase do glutamato, levando a falhas na conectividade sináptica, cognição e falta de memória (Kulijewicz-Nawrot *et al.*, 2013).

A manutenção do nível de glutamato depende da compatibilização dos processos de captura e transporte, em contraposição com os mecanismos metabólicos de produção e interconversão. Nesse sentido, as observações evidenciam um decréscimo da expressão da GS em astrócitos e uma expressão alterada em neurônios piramidais em todos os casos de pacientes estudados (Robinson, 2001; Walton & Dodd, 2007; Fernandes *et al.*, 2011), o que indica alteração no ciclo glutamato/glutamina em pacientes com DA. A expressão alterada da enzima poderia obedecer a um mecanismo de compensação do sistema para contrastar o efeito adverso, a fim de “inativar” intracelularmente o glutamato em um compartimento diferente e operar parcialmente o sistema.

Adicionalmente, usando-se modelos *in vitro*, foi demonstrada a interação de GS com o fragmento PBA 1-40 e o fragmento PBA 25-35, resultando na

ativação oxidativa da GS e num incremento da formação de radicais com o aumento da neurotoxicidade, em consequência do peptídeo (Butterfield *et al.*, 1997; Canevari *et al.*, 2004). Essas observações sugerem que existe uma relação entre a interação da enzima com PBA e a formação da placa amiloide, que poderia ser evidenciada com o compromisso na toxicidade por glutamato e amônio. Foi reportado também que os PBA facilitam a formação de radicais livres reativos (Butterfield *et al.*, 1997; Butterfield *et al.*, 2007) e foi proposto que esses radicais livres derivados de PBA podem causar dano às proteínas celulares, ao provocar modificações por oxidação. Uma explicação para esse efeito neurotóxico dos PBA é a potencialização do estresse oxidativo, além de alterações na atividade de enzimas do metabolismo intermediário e disfunção mitocondrial (Atamna & Frey, 2007). Existem relatos de outros estudos *in vitro*, nos quais foi colocado em evidência que os PBA 1-40 sintéticos interagem com a GS e a inativam, induzindo oxidação na enzima pura (Butterfield *et al.*, 2007).

Outros trabalhos mostram que, em condições normais como o envelhecimento, há uma diminuição da atividade de GS com incremento nas concentrações de amônio e glutamato extracelular (Huang *et al.*, 2017). Pacientes com DA mostram níveis ainda mais baixos de atividade da enzima, especialmente nas vizinhanças das placas senis e nos depósitos amiloides característicos da doença, nos quais predomina a presença de PBA. Adicionalmente, foi observada a expressão neural da enzima (Robinson, 2001). Todas essas alterações intracelulares precoces poderiam ser um indicativo de dano tissular. Além disso, a GS foi relatada estar presente no fluido cérebro espinal (FCE), o que sugere mudanças na compartimentalização, na expressão da GS e metabolismo alterado ou disfuncional do glutamato (Tumani *et al.*, 1999).

8.2 Doença de Huntington

A doença de Huntington (DH) (ou coreia de Huntington) é um transtorno progressivo que ocasiona degeneração das células nervosas no cérebro e foi descrita inicialmente em 1872 por George Huntington, um médico norte-americano. Nela, se apresenta perda progressiva da função mental, mudanças de personalidade e perda das funções cognitivas como o juízo e linguagem. Também se desenvolvem movimentos faciais e corporais espasmódicos rápidos e anormais. O termo coreia indica “dança” e se refere aos movimentos atípicos que se desenvolvem durante a enfermidade. Nas formas juvenis da enfermidade, os pacientes apresentam distonia e sinais que evidenciam efeitos adversos da função cognitiva e psiquiátrica (Chesselet, 2001). Uma característica dessa patologia é a presença

de agregados de uma proteína de 350 kDa denominada huntingtina que apresenta uma expansão de poliglutaminas na região N-terminal (mais de 37 glutaminas). Esse fragmento determina o acúmulo da proteína no núcleo, afetando a regulação da transcrição e o desencadeamento da neuropatologia (Havel *et al.*, 2009).

Na DH, ainda que os mecanismos patogênicos até agora não tenham sido bem entendidos, o denominador comum parece ser uma alteração no ciclo glutamato-GABA-glutamina. Em estudos da doença com ratos transgênicos e com camundongos R6/2, foi identificado que o mecanismo de excitotoxicidade se encontra associado a essa entidade neurodegenerativa e, nesse caso, compromete a atividade dos transportadores de glutamato. Relatos da literatura apoiam a opinião de que na DH existe uma redistribuição dos receptores de NMDA, especialmente a subunidade NR2B, que poderiam superativar vias de sinalização que promovam a neurodegeneração. Contudo, não há evidências consistentes de que os níveis extracelulares de glutamato cerebral aumentem consideravelmente na doença (Lewerenz & Maher, 2015). Da mesma forma, foi observado um aumento nos níveis extracelulares de glutamina, resultante da diminuição da atividade da GS nas células gliais ou de decréscimo da capacidade de captura do neurotransmissor pelas células neuronais. Ainda que a utilização de glutamina possa estar alterada devido a uma deficiência na atividade da PAG, nesse estudo não foi encontrada mudança na expressão (Behrens *et al.*, 2002). Porém, sabe-se que em pacientes com DH foi verificada reduzida atividade da PGA (Butterworth *et al.*, 1985).

A atividade da GS foi medida em áreas de cérebro *post-mortem* em pacientes com DH, encontrando-se reduzida no córtex frontal, córtex temporal, putâmen e cerebelo. Esses resultados sugerem que, nas áreas onde se apresenta redução, existe um déficit funcional (Carter, 1982).

Em um estudo usando modelos de camundongos específicos para neurônios, astrócitos ou ambas as populações do circuito dos gânglios da base, foi expresso um fragmento de huntingtina. Assim, foi demonstrado que os astrócitos são menos afetados pela huntingtina em comparação aos neurônios, particularmente no que diz respeito à agregação. Além disso, foi observada uma contribuição mais indireta dos astrócitos em comparação com os neurônios em vários mecanismos fisiopatológicos, como a astrogliose e a disfunção neuronal (Meunier *et al.*, 2016).

8.3 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) (ou mal de Parkinson) foi descrita, inicialmente, pelo médico James Parkinson, em 1817, a quem se deve o nome dessa

enfermidade. No início, o Dr. Parkinson a chamou *Paralysis Agitans*, o que define os sintomas da doença, ou seja, a associação de lentidão com movimentos anormais. A DP é uma desordem do sistema nervoso central, na qual se apresentam perda do controle motor, tremor, bradiquinésia, rigidez muscular e instabilidade postural (Hayes, 2019). A DP pode se iniciar desde a segunda década da vida até o final da mesma, com um pico máximo de prevalência entre a quinta e a sexta década da vida. Pode-se dizer que é um mito que a DP seja exclusiva da velhice, dado que pode haver DP juvenil e infantil. A característica mais importante, do ponto de vista da patogenia, é a perda seletiva de neurônios dopaminérgicos na substância *nigra* (*nigra pars compacta*), pela formação de inclusões anormais de proteína conhecidas como corpos de Lewy, compostos principalmente de α -sinucleína e da proteína parkinina (Hayes, 2019).

A DP está associada com morte de neurônios, especialmente dopaminérgicos, ainda que os mecanismos que causem essa degeneração ainda não sejam totalmente compreendidos. Existe evidência indireta que sugere que os mecanismos da atividade excitatória do glutamato poderiam regular a patogênese da DP (Meredith *et al.*, 2009, Zhang *et al.*, 2016). A superestimulação dos neurônios glutamatérgicos e o efeito benéfico observado com substâncias antiglutamatérgicas, em modelos animais, sugerem que o excesso de glutamato pode contribuir na patofisiologia da DP. Adicionalmente, foi encontrada reduzida a atividade da GS em pacientes com DP, em relação a pacientes-controles de mesmas idades. Esses resultados implicam numa desregulação no ciclo glutamato/glutamina, manifestada na alteração da enzima em pacientes com DP (Meredith *et al.*, 2009).

Conforme mencionado anteriormente, a neurotransmissão excitatória consome importantes quantidades de ATP, principalmente para os sistemas de transporte. Estudos que utilizam cultivos de neurônios dopaminérgicos de humanos e ratos, que são submetidos a concentrações altas de glutamato, indicam que a ativação da glutamato desidrogenase (GDH) é favorecida com a produção de α -cetoglutarato. Assim, ele pode ser usado para manter as demandas de energia próprias dos mecanismos de transporte de glutamato, da atividade da GS e da PAG, todos eles ATP dependentes. Na patogênese da DP, a atividade da GDH neuronal poderia constituir uma fonte adicional de energia metabólica (Plaitakis & Shashidharan, 2000).

No entanto, outros estudos têm evidenciado que a diminuição da expressão dos EAAT na substância *nigra*, ou a administração de inibidores, causam os efeitos neurodegenerativos da doença. Esta é uma evidência sólida que confirma

que a diminuição da expressão de EAAT contribui com o processo de patogênese na DP. Da mesma forma, tem sido demonstrado que os fármacos ou tratamentos que promovem a expressão e a função das EAAT atenuam a morte de neurônios dopaminérgicos na substância *nigra* e o estriado, melhorando as características do distúrbio em termos de características comportamentais e habilidades cognitivas em modelos animais com DP (Assous *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2016).

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O glutamato no sistema nervoso central é o aminoácido excitatório mais importante e participa nas principais funções superiores e da consciência. Metabolicamente, provém da glicose e da glutamina que atravessam a barreira hematoencefálica (BBB). Porém, devido a sua importância na fisiologia do cérebro, pode ser considerado que se encontra em quatro grandes compartimentos: a) nas sinapses glutamatérgicas; b) nas sinapses GABAérgicas; c) no compartimento glial; e d) em um reservatório multicelular no qual participam diferentes tipos de enzimas. Isso significa que o glutamato participa, direta ou indiretamente, em todas as atividades cerebrais. Além disso, se houver alterações em nível estrutural ou funcional, em qualquer ponto desses quatro compartimentos, podem ser gerados distúrbios que levam a processos que potencializam o cenário para que, em nível molecular, ocorram manifestações patológicas.

Particularmente, nas doenças neurodegenerativas existem evidências que confirmam que alterações no ciclo glutamato-GABA-glutamina geradas por mudanças relacionadas à expressão gênica devido ao envelhecimento, podem potencializar os mecanismos de excitotoxicidade característicos dessas entidades patológicas. É por isso que, nos últimos anos, a comunidade de neurocientistas tem se dedicado a entender como o glutamato participa nas atividades metabólicas, de sinalização e transporte, sob diferentes condições. O desafio é entender em que situações podem ocorrer mudanças que alterem o metabolismo normal do glutamato no cérebro, a fim de procurar alternativas terapêuticas para responder a essas alterações, antes que os efeitos se tornem irreversíveis.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUAN, K. *et al.* “Evidence for a physiological role for nitric oxide in the regulation of the LH surge: effect of central administration of antisense oligonucleotides to nitric oxide synthase”. *Neuroendocrinol.* 64(6): 449-455, 1996.

- AKIYAMA, H. *et al.* “Loss of glutaminase-positive cortical neurons in Alzheimer’s disease”. *Neurochem Res.* 14(4): 353-358, 1989.
- AKSENOV, M. *et al.* “Oxidative modification of glutamine synthetase by amyloide beta peptide”. *Free Rad Res.* 27(3): 267-281, 1997.
- ALBRECHT, J. *et al.* “Glutamine in the central nervous system: function and dysfunction”. *Front Biosci.* 12: 332-343, 2007.
- AMORES-SÁNCHEZ, M. I. & MEDINA, M. A. “Glutamine, as a precursor of glutathione, and oxidative stress”. *Mol Genet Metab.* 67(2): 100-105, 1999.
- ARAQUE, A. *et al.* “Gliotransmitters travel in time and space”. *Neuron.* 81(4): 728-39, 2014.
- ARRUBLA, J. *et al.* “Microstructural and functional correlates of glutamate concentration in the posterior cingulate cortex”. *J Neurosci Res.* 95(9): 1796-1808, 2017.
- ASSOUS, M. *et al.* “Progressive Parkinsonism by acute dysfunction of excitatory amino acid transporters in the rat substantia nigra”. *Neurobiol Dis.* 65: 69-81, 2014.
- ATAMNA, H. & FREY, W. “Mechanisms of mitochondrial dysfunction and energy deficiency in Alzheimer’s disease”. *Mitochondrion.* 7(5): 297-310, 2007.
- BAKKELUND, A. H.; FONNUM, F. & PAULSEN, R. E. “Evidence using in vivo microdialysis that aminotransferase activities are important in the regulation of the pools of transmitter amino acids”. *Neurochem Res.* 18: 411-415, 1993.
- BAZARGANI, N. & ATTWELL, D. “Astrocyte calcium signaling: the third wave”. *Nat Neurosci.* 19(2): 182-189, 2016.
- BEHRENS, P. F. *et al.* “Impaired glutamate transport and glutamate–glutamine cycling: downstream effects of the Huntington mutation”. *Brain.* 125(8): 1908-1922, 2002.
- BELZER, V. & HANANI, M. “Nitric oxide as a messenger between neurons and satellite glial cells in dorsal root ganglia”. *Glia.* 67(7): 1296-1307, 2019.
- BEZZI, P. & VOLTERRA, A. “A neuron–glia signalling network in the active brain”. *Curr Opin Neurobiol.* 11(3): 387-394, 2001.

BILLARD, J. M. “Changes in serine racemase-dependent modulation of NMDA receptor: impact on physiological and pathological brain aging”. *Front Mol Biosci.* 5:106, 2018.

BLIIM, N. *et al.* “Early transcriptome changes in response to chemical long-term potentiation induced via activation of synaptic NMDA receptors in mouse hippocampal neurons”. *Genomics.* 111(6):1676-1686, 2019.

BOKSHA I. S. “Coupling between neuronal and glial cells via glutamate metabolism in brain of healthy persons and patients with mental disorders”. *Biochemistry (Mosc).* 69(7): 705-719, 2004.

BOKSHA, I. S. *et al.* “Glutamine synthetase isolated from human brain: octameric structure and homology of partial primary structure with human liver glutamine synthetase”. *Biochemistry (Mosc).* 67(9): 1012-1020, 2002.

BUTTERFIELD, D. A. *et al.* “Oxidatively induced structural alteration of glutamine synthetase assessed by analysis of spin label incorporation kinetics: relevance to Alzheimer’s disease”. *J Neurochem.* 68(6): 2451-2457, 1997.

BUTTERFIELD, D. A. *et al.* “Roles of amyloid beta-peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment”. *Free Radic Biol Med.* 43(5): 658-677, 2007.

BUTTERWORTH, J.; YATES, C. M. & REYNOLDS, G. P. “Distribution of phosphate-activated glutaminase, succinic dehydrogenase, pyruvate dehydrogenase and gamma-glutamyl transpeptidase in post-mortem brain from Huntington’s disease and agonal cases”. *J Neurol Sci.* 67(2):161-171, 1985.

CALDANI, M. *et al.* “Glutamine synthetase activity during mouse brain development. *Experientia*”. 38(10):1199-202, 1982.

CALÌ, C.; TUFFENBERGER, A. & MAGISTRETTI, P. “The strategic location of glycogen and lactate: from body energy reserve to brain plasticity”. *Front Cell Neurosci.* 13: 82, 2019.

CANEVARI, L.; ABRAMOV, A. & DUCHEN, M. “Toxicity of amyloid beta peptide: tales of calcium, mitochondria, and oxidative stress”. *Neurochem Res.* 29(3): 637-650, 2004.

CARTER, C. J. “Glutamine synthetase activity in Huntington’s disease”. *Life Sci.* 31(11): 1151-1159, 1982.

- CHEN, S. & GOUAUX, E. "Structure and mechanism of AMPA receptor - auxiliary protein complexes". *Curr Opin Struct Biol.* 54: 104-111.
- CHEN, C. J.; LIAO, S. L. & KUO, J. S. "Gliotoxic action of glutamate on cultured astrocytes". *J Neurochem.* 75(4): 1557-1565, 2000.
- CHESSSELET, M. (ed.). *Molecular mechanism of neurodegenerative disease.* New Jersey, Humana Press, 2001, p. 410.
- CHRISTENSEN, H. & FONNUM, F. "Uptake of glycine, GABA and glutamate by synaptic vesicles isolated from different regions of rat CNS". *Neurosci Lett.* 129(2): 217-220, 1991a.
- CHRISTENSEN, H. & FONNUM, F. "The ontogeny of the uptake systems for glycine, GABA and glutamate in synaptic vesicles isolated from rat spinal cord-medulla". *Brain Res Dev Brain Res.* 64(1-2): 155-159, 1991b.
- COOPER, A. J. *et al.* "The metabolic fate of ¹³N-labeled ammonia in rat brain". *J Biol Chem.* 254(12): 4982-4992, 1979.
- COOPER, A. J. "Ammonia metabolism in mammals: interorgan relationships". *Adv Exp Med Biol.* 341: 21-37, 1993.
- DAIKHIN, E. T. & YUDKOFF, M. "Compartmentation of Brain Glutamate Metabolism in Neurons and Glia". *J Nutr.* 130 (4S Suppl):1026S-1031S, 2000.
- DEROUICHE, A. & FROTSCHER, M. "Astroglial processes around identified glutamatergic synapses contain glutamine synthetase: evidence for transmitter degradation". *Brain Res.* 552(2): 346-350, 1991.
- DROGE, W. "Free radicals in the physiological control of cell function". *Physiol Rev.* 82(1): 47-95, 2002.
- EISENBERG, D. *et al.* "Structure-function relationships of glutamine synthetases". *Biochim Biophys Acta.* 1477(1-2): 122-145, 2000.
- ERECINSKA, M. *et al.* "Neuronal glutamine utilization: glutamine/glutamate homeostasis in synaptosomes". *J Neurochem.* 54(6): 2057-2069, 1990.
- FADEEL, B.; ZHIVOTOVSKY, B. & ORRENIUS, S. "All along the watchtower: on the regulation of apoptosis regulators". *FASEB J.* 13(13): 1647-1657, 1999.

FARHY-TSELNICKER, I. & ALLEN, N. J. “Astrocytes, neurons, synapses: a tripartite view on cortical circuit development”. *Neural Dev.* 13(1): 7, 2018.

FAZZARI, P. *et al.* “Control of cortical GABA circuitry development by Nrg1 and ErbB4 signalling”. *Nature.* 464(7293): 1376-1380, 2010.

FERNANDES, S. P. *et al.* “Inactivation of astrocytic glutamine synthetase by hydrogen peroxide requires iron”. *Neurosci Lett.* 490: 27-30, 2011.

GONZÁLEZ, M. “Ciclo del GABA en el cerebro: su misión en la transmisión nerviosa”. In: *Curso monográfico sobre Neuroquímica.* Madrid, Editorial de la Universidad Complutense, 1985, pp. 251-273.

HAVEL, L. S.; LI, S. & LI, XJ. “Nuclear accumulation of polyglutamine disease proteins and neuropathology”. *Mol Brain.* 2: 21, 2009.

HAYASHI, M. K. “Structure-function relationship of transporters in the glutamate-glutamine cycle of the central nervous system”. *Int J Mol Sci.* 19(4): 1177, 2018.

HAYES, M. T. “Parkinson’s Disease and Parkinsonism”. *Am J Med.* 132(7): 802-807, 2019.

HERTZ, L. *et al.* “Astrocytes: glutamate producers for neurons”. *J Neurosci Res.* 57(4): 417-428, 1999.

HERTZ, L. & ROTHMAN, D. L. “Glutamine-glutamate cycle flux is similar in cultured astrocytes and brain and both glutamate production and oxidation are mainly catalyzed by aspartate aminotransferase”. *Biology (Basel).* 6(1): 17, 2017.

HUANG, D. *et al.* “Glutamate-glutamine and GABA in brain of normal aged and patients with cognitive impairment”. *Eur Radiol.* 27(7): 2698-2705, 2017.

JAENICKE, L. & BERSON, W. “Glutamine synthetase from pig brain: binding of adenosine triphosphate”. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 358(7): 883-889, 1977.

KALB, R. & FOX, A. “Synchronized overproduction of AMPA, kainate, and NMDA glutamate receptors during human spinal cord development”. *J Comp Neurol.* 384(2): 200-210, 1997.

KOVACEVIC, Z. & MCGIVAN, J. D. “Mitochondrial metabolism of glutamine and glutamate and its physiological significance”. *Physiol Rev.* 63(2): 547-605, 1983.

- KULIJEWICZ-NAWROT, M. *et al.* “Astrocytes and glutamate homeostasis in Alzheimer’s disease: a decrease in glutamine synthetase, but not in glutamate transporter-1, in the prefrontal cortex”. *ASN Neuro.* 5(4): 273-282, 2013.
- LE PRINCE, G. *et al.* “Glutamine synthetase (GS) expression is reduced in senile dementia of the Alzheimer type”. *Neurochem Res.* 20: 859-862, 1995.
- LEWERENZ, J. & MAHER, P. “Chronic glutamate toxicity in neurodegenerative diseases-what is the evidence?”. *Front Neurosci.* 9: 469, 2015.
- MACIEJEWSKI, P. K. & ROTHMAN, D. L. “Proposed cycles for functional glutamate trafficking in synaptic neurotransmission”. *Neurochem Int.* 52: 809-825, 2008.
- MADEIRA, C. *et al.* “Elevated glutamate and glutamine levels in the cerebrospinal fluid of patients with probable Alzheimer’s disease and depression”. *Front Psychiatry.* 9: 561, 2018.
- MAFFEI, A. *et al.* “Emerging Mechanisms Underlying Dynamics of GABAergic Synapses”. *J Neurosci.* 37(45): 10792-10799, 2017.
- MAGISTRETTI, P. J. & ALLAMAN, I. “Lactate in the brain: from metabolic end-product to signalling molecule”. *Nat Rev Neurosci.* 19(4): 235-249, 2018.
- MARAGAKIS, N. J. & ROTHSTEIN, J. D. “Mechanisms of disease: astrocytes in neurodegenerative disease”. *Nat Clin Pract Neurol.* 2(12): 679-689, 2006.
- MATÉS, J. M.; PÉREZ-GÓMEZ, C. & NÚÑEZ DE CASTRO, I. “Antioxidant enzymes and human diseases”. *Clin. Biochem.* 32(8): 595-603, 1999.
- MAURIZI, M. R.; PINKOFSKY, H. B. & GINSBURG, A. “ADP, chloride ion, and metal ion binding to bovine brain glutamine synthetase”. *Biochemistry.* 26(16): 5023-5031, 1987.
- MAYORQUIN, L. C. *et al.* “Connexin-mediated functional and metabolic coupling between astrocytes and neurons”. *Front Mol Neurosci.* 11:118, 2018.
- MCKENNA, M. *et al.* “Exogenous glutamate concentration regulates the metabolic fate of glutamate in astrocytes”. *J.Neurochem.* 66(1): 386-393, 1996.
- MEISTER, A. “Glutamine synthetase from mammalian tissues”. *Methods Enzymol.* 113: 185-199, 1985.

MEREDITH, G. E. *et al.* “Impaired glutamate homeostasis and programmed cell death in a chronic MPTP mouse model of Parkinson’s disease”. *Exp Neurol.* 219(1): 334-40, 2009.

MESTIKAWY, S. *et al.* “Characterization of an atypical member of the Na⁺/Cl⁻-dependent transporter family: chromosomal localization and distribution in GABAergic and glutamatergic neurons in the rat brain”. *J Neurochem.* 62: 445-455, 1994.

MEUNIER, C. *et al.* “Astrocytes are key but indirect contributors to the development of the symptomatology and pathophysiology of Huntington’s disease”. *Glia.* 64(11): 1841-56, 2016.

MIYAKE, T. & KITAMURA, T. “Glutamine synthetase immunoreactivity in two types of mouse brain glial cells”. *Brain Res.* 586(1): 53-60, 1992.

ORELLANA, J. A. & STEHBERG, J. “Hemichannels: new roles in astroglial function”. *Front Physiol.* 5: 193, 2014.

PASCUAL, J. M. *et al.* “Glutamate, glutamine, and GABA as substrates for the neuronal and glial compartments after focal cerebral ischemia in rats”. *Stroke.* 29(5): 1048-1056, 1998.

PEKNY, M. & NILSSON, M. “Astrocyte activation and reactive gliosis”. *Glia.* 50(4): 427-434, 2005.

PELLERIN, L. & MAGISTRETTI, P. J. “Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization”. *Proc Natl Acad Sci.* 91(22):10625-10629, 1994.

PELLERIN, L. & MAGISTRETTI, P. J. “Sweet sixteen for ANLS”. *J Cereb Blood Flow Metab.* 32(7): 1152-1166, 2012.

PENG, L.; SCHOUSBOE, A. & HERTZ, L. “Utilization of α -ketoglutarate as a precursor for transmitter glutamate in cultured cerebellar granule cells”. *Neurochem Res.* 16(1): 29-34, 1991.

PENG, L.; ZHANG, X. & HERTZ, L. “High extracellular potassium concentrations stimulate oxidative metabolism in a glutamatergic neuronal culture and glycolysis in cultured astrocytes, but have no stimulatory effect in GABAergic neuronal culture”. *Brain Res.* 663(1): 168-172, 1994.

- PLAITAKIS, A. & SHASHIDHARAN, P. "Glutamate transport and metabolism in dopaminergic neurons of substantia nigra: implications for the pathogenesis of Parkinson's disease". *J Neurol.* 247(Suppl 2): 1125-1135, 2000.
- POITRY, S. *et al.* "Mechanisms of glutamate metabolic signaling in retinal glial Muller cells". *J Neurosci.* 20(5): 1809-1821, 2000.
- PROCTER, A. W. *et al.* "Evidence of glutamatergic denervation and possible abnormal metabolism in Alzheimer's disease". *J Neurochem.* 50(3): 790-802, 1988.
- QUERFURTH, H. W. & LAFERLA, F. M. "Alzheimer's disease". *N Engl J Med.* 362: 329-344, 2010.
- RAMAHAROBANDRO, N. *et al.* "Glutamine and glutamate transport in cultured neuronal and glial cells". *Brain Res.* 244(1): 113-121, 1982.
- ROBINSON, S. R. "Changes in the cellular distribution of glutamine synthetase in Alzheimer's disease". *J Neurosci Res.* 66(5): 972-980, 2001.
- RODRIGO, R. & FELIPO, V. "Control of brain glutamine synthesis by NMDA receptors". *Frontiers in Bioscience.* 12: 883-890, 2007.
- SAHLENDER, D. A.; SAVTCHOUK, I. & VOLTERRA, A. "What do we know about gliotransmitter release from astrocytes?". *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 369(1654): 20130592, 2014.
- SCHOUSBOE, A. *et al.* "Glutamate and glutamine metabolism and compartmentation in astrocytes". *Dev Neurosci.* 15 (3-5): 359-366, 1993.
- SHABEL, J. *et al.* "GABA/glutamate co-release controls habenula output and is modified by antidepressant treatment". *Science.* 345(6203): 1494-1498, 2014.
- SELLSTROM, A. & HAMBERGER, A. "Potassium-stimulated g-aminobutyric acid release from neurons and glia". *Brain Res.* 119: 189-198, 1977.
- SHEN, J. *et al.* "Determination of the rate of the glutamate/glutamine cycle in the human brain by in vivo ¹³C NMR". *Proc Natl Acad Sci.* 96(14): 8235-8240, 1999.
- SIDORYK-WEGRZYNOWICZ, M. & ASCHNER, M. "Manganese toxicity in the central nervous system: the glutamine/glutamate- γ -aminobutyric acid cycle". *J Intern Med.* 273(5): 466-477, 2013.

- SIMÃO, D. *et al.* “Functional metabolic interactions of human neuron-astrocyte 3D in vitro networks”. *Sci Rep.* 6: 33285, 2016.
- SMITH, Q. R. *et al.* “Kinetics of neutral amino acid transport across the blood-brain-barrier”. *J. Neurochem.* 49(5): 1651-1658, 1987.
- STANLEY, B. & PRUSINER, M. D. “Disorders of glutamate: metabolism and neurological dysfunction”. *Ann Rew Med.* 32: 521-542, 1981.
- SUÁREZ, I. *et al.* “Reduced glial fibrillary acidic protein and glutamine synthetase expression in astrocytes and Bergmann glial cells in the rat cerebellum caused by delta(9)-tetrahydrocannabinol administration during development”. *Dev Neurosci.* 24(4): 300-312, 2002.
- SVENNEBY, G. & TORGNER, I. A. “Localization and function of glutamine synthetase and glutaminase”. *Biochem Soc Trans.* 15(2): 213-215, 1987.
- TANOVIĆ, A. & ALFARO, A. “Glutamate-related excitotoxicity neuroprotection with memantine, an uncompetitive antagonist of NMDA-glutamate receptor, in Alzheimer’s disease and vascular dementia”. *Rev Neurol.* 42(10): 607-616, 2006.
- TUMANI, H. *et al.* “Glutamine synthetase in cerebrospinal fluid, serum, and brain: a diagnostic marker for Alzheimer disease?”. *Arch. Neurol.* 56: 1241-1246, 1999.
- VILLEMAGNE, V. L. *et al.* “Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer’s disease: a prospective cohort study”. *Lancet Neurol.* 2(4): 357-367, 2013.
- VOLTERRA, A. & MELDOLESI, J. “Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues”. *Nat Rev Neurosci.* 6(8): 626-640, 2005.
- WALTON, H. S. & DODD, P. R. “Glutamate–glutamine cycling in Alzheimer’s disease”. *Neurochem Int.* 50(7-8): 1052-1066, 2007.
- WELBOURNE, T. *et al.* “The glutamine/glutamate couplet and cellular function”. *News Physiol Sci.* 16: 157-160, 2001.
- YOO, J. H. *et al.* “Ventral tegmental area glutamate neurons co-release GABA and promote positive reinforcement”. *Nat Commun.* 7: 13697, 2016.

ZHANG, Y. *et al.* “Recent advance in the relationship between excitatory amino acid transporters and Parkinson’s disease”. *Neural Plast.* 2016: 8941327, 2016.

ZIMMERMANN, J.; HERMAN, M. A. & ROSENMUND, C. “Co-release of glutamate and GABA from single vesicles in GABAergic neurons exogenously expressing VGLUT3”. *Front Synaptic Neurosci.* 7: 16, 2015.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DO GLUTAMATO RELACIONADOS À OBESIDADE

Manuel E. Baldeón

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como síndrome metabólica e obesidade são problemas de saúde pública (López-Jaramillo *et al.*, 2018; Cuevas *et al.*, 2011). Estima-se que essas doenças aumentem acentuadamente em todo o mundo, mas principalmente nos países em desenvolvimento. A obesidade é um problema presente tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento (Smyth & Heron, 2006) e afeta indivíduos de todas as idades e estratos socioeconômicos (Prabhakaran *et al.*, 2017; Smyth & Heron, 2006). Nas últimas décadas, o número de indivíduos com excesso de peso, sobrepeso e obesidade aumentou drasticamente na maioria das sociedades do mundo. Em vista disso, a partir 1997, a obesidade tem sido considerada um problema de saúde pública com características de epidemia (James, 2004). Nos Estados Unidos, por exemplo, o aumento de sobrepeso e obesidade tem sido muito acentuado desde a década de 70 e, no início da década de 2010, 30% dos cidadãos americanos tinham obesidade e 64,5% sobrepeso, tanto em homens quanto em mulheres em todos os grupos étnicos estudados (Ogden *et al.*, 2002). Outros estudos indicam que, em 2004, 17,1% das crianças e adolescentes americanos tinham sobrepeso, enquanto que 66,3% dos adultos tinham sobrepeso e 32,2% tinham obesidade (Ogden *et al.*, 2006). Dados mais recentes também indicam uma associação linear positiva

entre excesso de peso e outras doenças crônicas, como hipertensão (Ryu *et al.*, 2019). No início da década de 2010, em países da América Latina como Argentina, Colômbia, México, Paraguai, Peru e Uruguai, estimou-se que aproximadamente 50% da população tinha sobrepeso e 15% obesidade (Eberwine, 2002). Nesse sentido, um estudo na população de adolescentes do Equador mostrou que 21,2% tinham excesso de peso, 13,7% tinham sobrepeso e 7,5% obesidade (Yepez *et al.*, 2008). Dados da última pesquisa nacional de saúde e nutrição no Equador indicam que a prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças entre 5 e 11 anos foi de 29,9%, enquanto a prevalência em adultos foi de 62,8% (Freire *et al.*, 2014). Em um estudo recente de uma coorte de 2.000 adultos entre 35 e 70 anos de idade da província de Pichincha, no Equador, verificou-se que 45% das pessoas estavam com sobrepeso, 33% obesas e 69% com obesidade abdominal (Felix *et al.*, 2020). Esses dados indicam que o número de pessoas com excesso de peso está aumentando e que este é um problema generalizado.

O excesso de peso, sobrepeso e obesidade estão associados às chamadas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como hipertensão arterial, diabetes mellitus, câncer, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, que são as principais causas de enfermidade e morte no mundo (Batal *et al.*, 2018; WHO, 2004). Estima-se que aproximadamente 18 milhões de pessoas morrem a cada ano por problemas cardiovasculares (Hossain *et al.*, 2007). O custo econômico e social do excesso de peso para o indivíduo e para a sociedade é, portanto, muito elevado. Em países desenvolvidos, 2 a 7% de todo o cuidado médico é dedicado exclusivamente para o tratamento da obesidade. Em 2001, nos Estados Unidos foram gastos aproximadamente US\$123 bilhões de dólares para tratar a obesidade e problemas relacionados (Hossain *et al.*, 2007). Os enormes custos para o tratamento dessa enfermidade e as patologias associadas poderiam rapidamente oprimir as fracas economias dos países em desenvolvimento que ainda têm que cobrir altos custos gerados pela desnutrição e as doenças infecciosas (Batal *et al.*, 2018; Hossain *et al.*, 2007; Yach *et al.*, 2006).

É necessário indicar que obesidade e sobrepeso são termos frequentemente usados como sinônimos, embora esses termos definam duas entidades clínicas diferentes. A obesidade é definida como um transtorno metabólico que conduz a um acúmulo excessivo de energia na forma de gordura corporal. Por outro lado, o sobrepeso se manifesta como um maior peso corporal em relação ao valor esperado de acordo com a idade, gênero, e a relação peso/altura ou índice de massa corpórea [IMC = massa corporal (kg)/altura (metros)²] (Pi-Sunyer, 2000).

O estudo do IMC, portanto, permite identificar indivíduos com sobrepeso ou obesidade. O IMC é útil porque serve também para estabelecer riscos de hipertensão, diabetes tipo 2, doença cardiovascular e é utilizado também como guia para o tratamento de obesidade. Para classificar as pessoas com sobrepeso e obesidade, a Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2000) considera os seguintes pontos de corte:

Pontos de corte	IMC (kg/m²)
Baixo peso	Menor de 18,5
Peso normal	Entre 18,5 e 24,9
Sobrepeso	Entre 25 e 29,9
Obesidade grau I	Entre 30 e 34,9
Obesidade grau II (severa)	Entre 35 e 39,9
Obesidade grau III (mórbida)	Acima de 40

O problema da obesidade e suas patologias associadas é um fenômeno mais ou menos recente que tem aumentado nos últimos 40 anos. Este fato obriga à pergunta: “Por quê? Quais são as razões para este aumento? O que aconteceu com os seres humanos nesses anos para que essas doenças sejam agora tão comuns?”. Para tentar responder a estas perguntas, a seguir são discutidos os possíveis fatores que contribuem para o desenvolvimento do sobrepeso e da obesidade.

Vários fatores determinam o desenvolvimento da obesidade: um deles é o resultado de um desequilíbrio entre o que o indivíduo consome de alimentos (energia consumida) e o que esse indivíduo utiliza dessa energia para viver (gasto de energia). Em condições de normalidade para um adulto, o consumo individual de energia é gasto no funcionamento das células do organismo quando o indivíduo está em repouso ou quando realiza qualquer atividade física. Neste caso, o consumo de energia é igual ao gasto energético. Se o balanço entre o consumo e o gasto de energia é eliminado, como no caso em que o consumo de energia é menor do que ele precisa para viver, o indivíduo pode sofrer de desnutrição. Por outro lado, se a energia que esse indivíduo consome é maior do que ele precisa para viver, essa pessoa pode, eventualmente, chegar a ter obesidade, em razão de que o excesso de energia consumida é armazenado como gordura no corpo. Portanto, o aumento do consumo de energia (excesso de alimentos) e/ou o uso limitado dessa energia (falta de atividade física) podem resultar em condições de obesidade devido ao desequilíbrio energético. No entanto, outros fatores, como a microbiota intestinal presente

em cada indivíduo, também podem desempenhar um papel relevante no desenvolvimento da obesidade (Bouter *et al.*, 2017).

A evidência científica atual demonstra que fatores genéticos e ambientais (hábitos alimentares e atividade física) afetam o balanço energético, atuando sobre o funcionamento das células (fisiologia de cada indivíduo) e o comportamento das pessoas (Wood *et al.*, 2018; Speakman, 2004).

O peso de um adulto se mantém relativamente constante ao longo do tempo. Isso implica que a energia consumida pelo organismo é utilizada totalmente e, desta forma, a massa corporal é mantida. Para que isso ocorra, o organismo possui um complexo sistema fisiológico que regula o balanço energético e o armazenamento de energia (Barsh *et al.*, 2000). A seguir, são apresentados os componentes que determinam o balanço energético, especificamente o consumo, o gasto e o armazenamento de energia.

Em termos gerais, o consumo de energia depende da relação que existe entre a sensação de fome em contraste com a sensação de saciedade. Os centros de controle (grupos de neurônios) da fome e da saciedade se encontram na base do cérebro, no hipotálamo lateral e no hipotálamo ventromedial, respectivamente. Além disso, existem centros moduladores das sensações de fome e saciedade na amígdala temporal (Woods *et al.*, 1998). Atualmente há um grande interesse em identificar os sinais que regulam esses centros neuronais que controlam o balanço energético, visto que a identificação desses sinais que estimulam ou inibem esses centros seria de grande utilidade para combater a epidemia de obesidade.

Existem muitos fatores que servem de sinal para os centros hipotalâmicos de controle energético, entre os quais podemos citar fatores não biológicos (externos) como fatores sociais e disponibilidade de alimentos, entre outros. Essas variáveis são distintas para cada pessoa, a qual pode enfrentar diferentes circunstâncias de um dia para o outro, o que representaria que a quantidade de energia que cada pessoa consome (ingere) é variável com o tempo. Entretanto, apesar da variabilidade da quantidade de energia que é consumida pelo organismo, a massa corporal se mantém constante ao longo do tempo, devido à existência de um sistema que regula o balanço energético que controla a quantidade de energia que é armazenada na forma de gordura. Têm sido propostos diversos reguladores biológicos (internos) que estimulariam diretamente os centros da fome e da saciedade, como as concentrações sanguíneas de glicose, triacilgliceróis, ácidos graxos não esterificados e corpos cetônicos que estão presentes depois do consumo de alimentos e durante o jejum (Woods *et al.*, 1998). Assim, após a ingestão de alimentos o consequente aumento na concentração de glicose seria um sinal

de estímulo para a saciedade. Por outro lado, durante o jejum, o consequente aumento de corpos cetônicos estimularia o centro da fome. As concentrações sanguíneas dos metabólitos antes citados estão, por sua vez, reguladas pelo sistema endócrino, principalmente pelas concentrações de hormônios (insulina, glucagon, leptina e peptídeos intestinais). A ação desses peptídeos e hormônios em nível sistêmico mantém o controle do consumo de alimentos e sua utilização cada vez que uma pessoa consome um alimento (controle imediato) e também ao longo do tempo (controle mediato).

O controle hormonal do balanço energético é complexo. Por exemplo, durante o consumo de alimentos e imediatamente ao final do mesmo, a presença de alimentos no intestino e sua absorção estimulam a liberação de peptídeos intestinais como a colecistoquinina, peptídeo similar ao glucagon 1, glucagon, bombesina, leptina e insulina que circulam pela corrente sanguínea até o sistema nervoso central (SNC) para limitar o consumo de alimentos (Schwartz *et al.*, 2000). No SNC, particularmente no hipotálamo, estes hormônios atuam em grupos neuronais específicos, mediados por seus receptores, que determinam uma modificação de comportamento do indivíduo e este, para de comer. Essencial no modelo hormonal de controle energético é a ação do hormônio (peptídeo) leptina. A leptina é produzida principalmente no tecido adiposo e em menor quantidade no estômago e placenta (Friedman & Halaas, 1998).

A quantidade de leptina que é produzida por um indivíduo está relacionada com a quantidade de gordura armazenada. Assim, o armazenamento de energia na forma de gordura nos adipócitos provoca um aumento da síntese e liberação de leptina no sangue. Os níveis elevados de leptina, que indicam armazenamento de energia, são transmitidos ao SNC. No SNC, o estímulo de grupos neuronais específicos, os quais determinam que estes neurônios enviem sinais adrenérgicos para aumentar a utilização de energia armazenada, aumentando o metabolismo basal e a atividade física e, por outro lado, enviem sinais que comuniquem ao indivíduo a parar de se alimentar (Bates & Myers, 2003). Inversamente, quando há perda de peso por diminuição de gordura armazenada a concentração de leptina diminui, o hipotálamo não é estimulado por este hormônio e o SNC deixa de enviar sinais adrenérgicos, diminuindo o gasto energético. A queda de leptina também é um estímulo para que o indivíduo consuma alimentos e desta forma se restabeleça a reserva energética (Friedman & Halaas, 1998). Outro hormônio com funções semelhantes à leptina, associado ao controle do balanço energético, é a insulina. A leptina facilita a síntese e liberação de insulina. Pelo exposto, verifica-se que o controle do balanço energético é complexo.

Para complementar esta discussão sobre o controle do balanço energético e a manutenção da massa corporal, a seguir iremos nos referir ao gasto energético. O gasto, ou consumo, de energia pelo organismo pode ser dividido em três componentes: (1) taxa metabólica basal (TMB); (2) a geração de calor pela digestão dos alimentos; e (3) a atividade física. A TMB é responsável por dois terços do gasto energético total, e esta é a energia necessária para manter o funcionamento de todas as células do organismo, quando o indivíduo se encontra em descanso físico e mental, em um ambiente confortável, pelo menos 12 h após a ingestão de alimentos (De Girolami, 2003). O segundo componente representa apenas 10% do gasto energético total de um indivíduo e é a energia que se utiliza para digerir o alimento que ingressa no organismo para que este possa ser utilizado. Finalmente, a atividade física (que poderia incluir o exercício físico), representa entre 15-30% do gasto energético total (De Girolami, 2003). A atividade física de cada pessoa será distinta de acordo com as necessidades da mesma. Cada indivíduo controla voluntariamente esse gasto de energia que pode chegar a representar até 50% do gasto energético total. Isso indica que o uso de energia pela atividade física possui um papel importante na manutenção da massa corporal.

Tem sido demonstrado que o ambiente afeta o balanço energético, atuando sobre o funcionamento celular e o comportamento dos indivíduos. Nas últimas décadas, as modificações no ambiente, espelhadas na falta de atividade física e no consumo de alimentos ricos em energia, resultaram em um aumento no número de indivíduos com excesso de massa corpórea em todo o mundo. Neste ambiente “obesogênico”, os indivíduos realizam um mínimo de atividade física e consomem alimentos ricos em energia, como na situação em que assistem televisão por várias horas (WHO, 2004). As modificações das últimas décadas no ambiente têm sido associadas à urbanização, à globalização, ao desenvolvimento socioeconômico e ao avanço da tecnologia. Pela importância que representa a atividade física no balanço energético e, portanto, na massa corpórea, a OMS recomenda que todo indivíduo realize ao menos 30 minutos de atividade física diária, de intensidade moderada, para assim reduzir o risco de DCNT (WHO, 2004).

Pelo exposto, pode-se indicar que as causas do prevalente excesso de peso que afeta um grande número de pessoas ao redor do mundo são variadas. Fatores ambientais e genéticos estão envolvidos no desenvolvimento do sobrepeso e da obesidade e nas patologias associadas, como diabetes, hipertensão e câncer. No entanto, não existe um fator causal único que seja responsável por esta epidemia que afeta atualmente todos os países do mundo. Porém, é importante ressaltar

que o excesso de consumo de energia em relação ao seu uso é a principal causa do ganho de peso. Além disso, a qualidade dos componentes dos alimentos e seus derivados também pode afetar o balanço energético, estimulando os sistemas reguladores hormonais, neuronais e do sistema imunológico, como é o caso das leguminosas (Muñoz *et al.*, 2018). Outros elementos relacionados ao excesso de peso são a falta de atividade física, a disponibilidade de alimentos (com alto ou baixo conteúdo energético), urbanização e o tabagismo (Romieu *et al.*, 2017).

GLUTAMATO E O CONTROLE DO BALANÇO ENERGÉTICO

Existe controvérsia sobre o papel do glutamato monossódico (MSG) no desenvolvimento da obesidade. A maioria dos estudos que relacionam o consumo de MSG e a obesidade têm sido realizados em modelos animais de experimentação, utilizando concentrações suprafisiológicas de MSG, por via parenteral (Bhattacharya *et al.*, 2011; Elfers *et al.*, 2011). Estudos epidemiológicos nos quais tem sido observada a associação entre o consumo de MSG e o excesso de peso não são conclusivos, e alguns deles apresentam problemas metodológicos (He *et al.*, 2008; Shi *et al.*, 2010; Bursley *et al.*, 2011). Por outro lado, estudos recentes têm demonstrado que o consumo de MSG poderia diminuir o desenvolvimento da obesidade, mas são necessários mais estudos para determinar os efeitos do MSG no controle do balanço energético.

Como indicado, um dos fatores ambientais que afetam o desenvolvimento da obesidade é a dieta. A maioria dos estudos que relacionam a dieta ao desenvolvimento da obesidade tradicionalmente se referem ao consumo excessivo de energia. No entanto, é importante considerar que os componentes da dieta também podem ter efeitos favoráveis que limitem o desenvolvimento de excesso de peso e patologias associadas (Teas *et al.*, 2009; Muñoz *et al.*, 2018). Nesse sentido, é importante observar que existem dados que demonstram que o consumo de proteínas, principalmente proteínas vegetais, diminui os problemas associados às DCNT, como o diabetes (Dove *et al.*, 2011; Baldeón *et al.*, 2012). Nos últimos anos, estudos sobre o reconhecimento no nível intestinal do aminoácido livre mais abundante tanto nas proteínas animais (incluindo o leite materno) como as de origem vegetal, o glutamato, estão contribuindo para a compreensão do papel desse aminoácido na regulação do balanço energético. Esse aminoácido livre, portanto, funciona como nutriente e também como mensageiro de informações no trato gastrointestinal (Uneyama, 2011). O papel do glutamato no quinto gosto básico (umami), após a estimulação de receptores específicos desse aminoácido nas papilas gustativas da língua, já está bem estabelecido. Em trabalho recente

com modelo animal, também foi descrito um sistema de reconhecimento gástrico e estimulação do nervo vago pelo glutamato da dieta (Uneyama *et al.*, 2006). Em complemento a esse trabalho, a expressão do receptor de glutamato, mGluR1, foi identificada na região apical das principais células do estômago. Nesse estudo, a estimulação com uma dieta contendo 1% de MSG resultou na modificação da expressão do pepsinogênio em nível gástrico (San Gabriel *et al.*, 2007). Os autores dessa pesquisa concluíram que o mGluR1 estaria envolvido na regulação da fase gástrica na digestão de proteínas. Por outro lado, em um elegante estudo projetado para determinar o efeito do consumo espontâneo de MSG na quantidade de ingestão e peso de ratos *Sprague-Dawley*, com diferentes dietas no conteúdo calórico, mostrou que os animais que consumiram glutamato apresentaram menor ganho de peso, menor acúmulo de gordura visceral e subcutânea e menores níveis de leptina do que os ratos controle, que não consumiram glutamato. Esses resultados foram evidentes tanto em ratos adultos como em ratos no período de desmame. Os autores desse estudo concluíram que os efeitos do glutamato poderiam estar mediados pelos receptores gástricos de glutamato que estariam funcionalmente associados a ramos do nervo vago. Também indicaram que é provável que as alterações observadas sejam devidas a um aumento do gasto energético e não a uma redução da ingestão de energia, ou a um atraso no desenvolvimento dos animais (Kondoh & Torii, 2008).

Por outro lado, estudos clínicos com população pediátrica e adulta também têm demonstrado o papel do glutamato no controle do balanço energético. Assim, em um estudo em que lactentes com menos de 4 meses de idade foram incluídos, foi testado se altas concentrações de glutamato nas fórmulas infantis poderiam proporcionar saciedade. Aos lactentes que participaram do estudo foi administrada uma de três tipos de fórmulas infantis isocalóricas: (1) fórmula baseada no leite de vaca (CMF – possui baixo conteúdo de aminoácidos livres); (2) fórmula com alto conteúdo de proteína hidrolisada (ePHF – possui alto conteúdo de aminoácidos livres); e (3) CMF suplementada com glutamato para concentrações aproximadas em ePHF (CMF+glu). Quando os bebês sinalizaram estar novamente com fome, eles foram alimentados com uma segunda refeição de CMF. Os resultados do estudo mostraram que nas primeiras refeições os bebês consumiram menos ePHF e CMF+glu do que CMF. Os bebês também mostraram maiores níveis de saciedade após o consumo de ePHF e CMF+glu do que para CMF; além disso, a relação de saciedade das crianças que consumiram ePHF e CMF+glu foram maiores do que para o CMF. Os autores sugeriram que, nos lactentes, o glutamato livre nas fórmulas infantis desempenha uma função importante na regulação da ingestão da fórmula e fazem um alerta para a alegação

de que a alimentação com fórmulas infantis prejudica a capacidade dos bebês de autorregular a ingestão de energia (Ventura *et al.*, 2012).

Em outro estudo clínico em que adultos com peso normal foram incluídos, foi testado se o consumo de MSG e inosinato-monofosfato (IMP) afetava o apetite, o consumo de energia e a seleção de alimentos. Os participantes receberam três tipos de caldos em três dias diferentes por 3 semanas consecutivas (200 mL): (1) caldo de galinha com baixa quantidade de energia; (2) caldo de galinha mais MSG; e (3) caldo de galinha mais MSG + inosinato. Após 15 minutos dos participantes terem recebido o caldo, foi lhes oferecida uma refeição/Bufferet composta por 16 lanches de diferentes sabores e conteúdos de gordura. Verificou-se que, após consumir os caldos com MSG ou MSG + inosinato, os voluntários consumiram menos quilocalorias tanto de lanches doces como de salgados, em comparação com aqueles que consumiram só o caldo. Os autores concluíram que o consumo de glutamato, em um caldo, por exemplo, poderia afetar o consumo subsequente de energia (Imada *et al.*, 2014).

Em um estudo complementar ao de Imada *et al.* (2014), foram avaliados os potenciais mecanismos neurocognitivos associados às observações do estudo descrito anteriormente. Nesse estudo, as variações foram avaliadas após a ingestão de um caldo de galinha com ou sem MSG adicionado (MSG+/MSG-). A ingestão do MSG+ foi associada a parâmetros de inibição comportamental associado ao consumo de alimentos em excesso e ao ganho de peso, a uma diminuição no consumo de gordura durante a refeição/buffet, a diminuição da fixação em pratos de comida e a maior ativação da região do córtex pré-frontal relacionada ao autocontrole. Os autores sugeriram que o MSG apresenta efeitos que facilitam processos cognitivos relacionados à alimentação saudável (Magerowski *et al.*, 2018).

Esses estudos apoiam a proposta da existência de um sistema de controle do balanço energético mediado pelo consumo de proteína/glutamato. Indicamos anteriormente que o consumo de calorias (carboidratos e gordura) pode resultar no acúmulo de tecido adiposo e na subsequente liberação de mediadores hormonais, como a leptina, que estimulam centros nervosos (saciedade) para que os indivíduos parem de comer e consumam a energia armazenada. Além disso, esse fenômeno de regulação por parte da leptina é evidenciado por uma diminuição no armazenamento de triacilgliceróis no tecido adiposo e uma diminuição na produção de leptina. Alguns autores chamam esse sistema de “lipostato” que regula o acúmulo de gordura e, portanto, o balanço energético (Speakman, 2004).

Com base nos estudos indicados anteriormente sobre o glutamato e seus efeitos a nível intestinal e orgânico em geral, gostaríamos de propor a existência de um “proteostato” para o controle do balanço energético. Assim, o glutamato livre dos alimentos e o liberado das proteínas da dieta no estômago estimularia o receptor mGluR1 nas células principais do estômago, resultando na estimulação eventual de fibras nervosas aferentes do nervo vago. Estas, estimulariam os centros nervosos centrais encarregados do controle e geração de calor, o que resultaria em um incremento no gasto de energia e na subsequente regulação do balanço energético, refletido no peso do indivíduo.

Com essa hipótese, se poderia explicar por que os lactentes que consomem leite materno (rico em glutamato livre) têm menos ganho de peso do que os bebês amamentados com fórmula. Igualmente, essa hipótese poderia explicar o efeito benéfico de dietas saudáveis, como a chamada dieta mediterrânea, rica em glutamato. Esses estudos são muito importantes à luz da atual epidemia de sobrepeso e obesidade no mundo. No entanto, são necessários mais estudos para estabelecer especificamente o efeito benéfico do glutamato na dieta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDEÓN, M. E. *et al.* “Hypoglycemic effect of cooked lupinus mutabilis and its purified alkaloids in subjects with type-2 diabetes”. *Nutr Hosp.* 27(4): 1261-1266, 2012.
- BARSH, G. S.; FAROOQI, S. & O’RAHILLY, S. “Genetics of body-weight regulation”. *Nature.* 404(6778): 644-651, 2000.
- BATAL, M.; STEINHOUSE, L. & DELISLE, H. “The nutrition transition and the double burden of malnutrition”. *Med Sante Trop.* 28(4): 345-350, 2018.
- BATES, S. H. & MYERS, M. G. Jr. “The role of leptin receptor signaling in feeding and neuroendocrine function”. *Trends Endocrinol Metab.* 14(10): 447-452, 2003.
- BHATTACHARYA, T.; BHAKTA, A. & GHOSH, S. K. “Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure”. *Nepal Med Coll J.* 13(1): 11-16, 2011.
- BOUTER, K. E. *et al.* “Role of the Gut Microbiome in the Pathogenesis of Obesity and Obesity-Related Metabolic Dysfunction”. *Gastroenterology.* 152(7): 1671-1678, 2017.

BURSEY, R. G.; WATSON, L. & SMRIGA, M. “A lack of epidemiologic evidence to link consumption of monosodium L-glutamate and obesity in China”. *Am J Clin Nutr.* 94(3): 958-960, 2011.

CUEVAS, A.; ALVAREZ, V. & CARRASCO, F. “Epidemic of metabolic syndrome in Latin America”. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 18(2): 134-138, 2011.

DE GIROLAMI, D. “Balances Nutricionales”. In: *Fundamentos de valoración nutricional y composición corporal*. Buenos Aires, El Ateneo, 2003, pp. 11-17.

DOVE, E. R. *et al.* “Lupin and soya reduce glycaemia acutely in type 2 diabetes”. *Br J Nutr.* 106 (7): 1045-1051, 2011.

EBERWINE, D. “Perspectivas de salud, Globesidad: una epidemia en apogeo”. *Rev Org Panam Sal.* 7(3), 2002.

ELFERS, C.; RALSTON, M. & ROTH, C. L. “Studies of different female rat models of hypothalamic obesity”. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 24(3-4): 131-137, 2011.

FELIX, C. *et al.* “Low levels of awareness, treatment, and control of hypertension in Andean communities of Ecuador”. *J. Clin. Hypertens.* 22: 1530-1537, 2020.

FREIRE, W. B. *et al.* *Tomo I: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de la población ecuatoriana de cero a 59 años. ENSANUT-ECU 2012*. Quito, Ministerio de Salud Pública/Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2014.

FRIEDMAN, J. M. & HALAAS, J. L. “Leptin and the regulation of body weight in mammals”. *Nature.* 395: 763-770, 1998.

HE, K. *et al.* “Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP Study”. *Obesity.* 16(8): 1875-1880, 2008.

HOSSAIN, P.; KAWAR, B. & EL NAHAS, M. “Obesity and diabetes in the developing world-a growing challenge”. *N Engl J Med.* 356: 213-215, 2007.

IMADA, T. *et al.* “Supplementing chicken broth with monosodium glutamate reduces energy intake from high fat and sweet snacks in middle-aged healthy women”. *Appetite.* 79: 158-165, 2014.

JAMES, P. T. “Obesity: the worldwide epidemic”. *Clin Dermatol.* 22(4): 276-280, 2004.

KONDOH, T. & TORII, K. “MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague-Dawley rats”. *Physiol Behav.* 95(1-2): 135-144, 2008.

LÓPEZ-JARAMILLO, P. *et al.* “Reevaluating nutrition as a risk factor for cardio-metabolic diseases”. *Colomb Med.* 49(2): 175-181, 2018.

MAGEROWSKI, G. *et al.* “Neurocognitive effects of umami: association with eating behavior and food choice”. *Neuropsychopharmacology.* 43(10): 2009-2016, 2018.

MUÑOZ, E. B. *et al.* “Gamma-conglutin peptides from Andean lupin legume (*Lupinus mutabilis* Sweet) enhanced glucose uptake and reduced gluconeogenesis *in vitro*”. *Journal of Functional Foods.* 45: 339-347, 2018.

OGDEN, C. L. *et al.* “Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000”. *JAMA.* 288(14): 1728-3212, 2002.

OGDEN, C. L. *et al.* “Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004”. *JAMA.* 295(13):1549-1555, 2006.

PRABHAKARAN, D. *et al.* “Cardiovascular, respiratory, and related disorders: key messages and essential interventions to address their burden in low- and middle-income countries”. In: PRABHAKARAN, D, *et al.* (ed.). *Cardiovascular, respiratory, and related disorders.* 3. ed. Washington (DC), The International Bank for Reconstruction and Development/The World Bank, 2017.

PI-SUNYER, F. X. “Obesity: criteria and classification”. *Proc Nutr Soc.* 59(4): 505-509, 2000.

ROMIEU, I. *et al.* “Energy balance and obesity: what are the main drivers?”. *Cancer Causes Control.* 28(3): 247-258, 2017.

RYU, S. *et al.* “Secular trends in the association between obesity and hypertension among adults in the United States, 1999-2014”. *Eur J Intern Med.* 62: 37-42, 2019.

SAN GABRIEL, A. M. *et al.* “mGluR1 in the fundic glands of rat stomach”. *FEBS Lett.* 581(6): 1119-1123, 2007.

SCHWARTZ, M. W. *et al.* “Central nervous system control of food intake”. *Nature*. 404: 661-671, 2000.

SHI, Z. *et al.* “Monosodium glutamate is not associated with obesity or a greater prevalence of weight gain over 5 years: findings from the Jiangsu Nutrition Study Chinese adults”. *Br J Nutr*. 104(3): 457-463, 2010.

SMYTH, S. & HERON, A. “Diabetes and obesity: the twin epidemics”. *Nat Med*. 12(1): 75-80, 2006.

SPEAKMAN, J. R. “Obesity: The integrated roles of environment and genetics”. *J Nutr*. 134(8): 2090S-2105S, 2004.

TEAS, J. *et al.* “Could dietary seaweed reverse the metabolic syndrome?”. *Asia Pac J Clin Nutr*. 18(2): 145-154, 2009.

UNEYAMA, H. “Nutritional and physiological significance of luminal glutamate-sensing in the gastrointestinal functions”. *Yakugaku Zasshi*. 131(12): 1699-1709, 2011.

UNEYAMA, H. *et al.* “Luminal amino acid sensing in the rat gastric mucosa”. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 291(6): G1163-1170, 2006.

VENTURA, A. K.; BEAUCHAMP, G. K. & MENNELLA, J. A. “Infant regulation of intake: the effect of free glutamate content in infant formulas”. *Am J Clin Nutr*. 95(4): 875-881, 2012.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. “Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO convention, Geneva, 1999”. *WHO Technical Report Series 894*, Geneva, 2000.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. “Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health. Fifty-seventh World Health Assembly, Resolution WHA57.17”. 2004. Disponível em https://www.who.int/dietphysicalactivity/strategy/eb11344/strategy_english_web.pdf. Acesso em 2/3/2020.

WOOD, A. C. “Gene-environment interplay in child eating behaviors: what the role of ‘nature’ means for the effects of ‘nurture’”. *Curr Nutr Rep*. 7(4): 294-302, 2018.

WOODS, S. C. *et al.* “Signals that regulate food intake and energy homeostasis”. *Science*. 280(5368): 1378-1383, 1998.

YACH, D.; STUCKLER, D. & BROWNELL, K. D. “Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes”. *Nat Med.* 12(1): 62-66, 2006.

YÉPEZ, R.; CARRASCO, F. & BALDEÓN, M. E. “Prevalencia de sobrepeso y obesidad en estudiantes adolescentes ecuatorianos del área urbana”. *ALAN.* 58(2): 139-143, 2008.

INTOLERÂNCIAS E EFEITOS TÓXICOS DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO

Joel Faintuch

1. INTRODUÇÃO

Amplamente utilizado em todas as partes do mundo desde a primeira metade do século XX, o glutamato monossódico (MSG) tem sido associado com variadas queixas e suspeitas. O marco histórico foi, provavelmente, a publicação, no *New England Journal of Medicine*, em 1968, do artigo de Kwok (1968), intitulado *Chinese restaurant syndrome*, no qual sintomas transitórios e inespecíficos, porém incômodos, com mal estar, entorpecimento e palpitações, eram desencadeados pela cozinha oriental.

Ao longo do tempo, essa síndrome se popularizou e passou a abranger praticamente toda manifestação aguda após o consumo de alimentos contendo qualquer quantidade de MSG, desde hiperemia facial (*flushing*), cefaleia, dor na nuca e nas costas até manifestações sistêmicas como sudorese, taquicardia, tontura e síncope.

Em décadas mais recentes, um acirrado debate tem sido travado sobre o possível papel do MSG na deflagração da enxaqueca, das alergias em crianças e adultos, além de outras reações indesejáveis. A polêmica mais recente diz respeito à possível toxicidade neurológica dos glutamatos no lactente, e suas possíveis

consequências para o advento de sequelas a longo prazo, tais como hiposecreção de hormônio do crescimento e obesidade. Todos esses aspectos serão revisados no presente capítulo.

2. ENXAQUECA

Cerca de 46% da população mundial padecem de algum tipo de dor de cabeça, sendo 11% vítimas de enxaqueca (Stovner *et al.*, 2007). Mulheres em idade fértil são particularmente suscetíveis, e as crises podem ser incapacitantes. Ainda que se trate de entidade com quadro clínico consistente, seus fatores precipitantes são diversificados e incompletamente compreendidos.

Fenômenos vasomotores certamente contribuem para a sensação de latejamento característica dessa entidade, principalmente no sistema trigeminovascular. Métodos de imagem aplicados ao tronco cerebral assinalam transtornos na modulação sensorial, de tal sorte que alguns propõem a reclassificação desta moléstia como uma dismodulação sensorial (Goadsby, 2007).

As associações clínicas são numerosas e abrangem de tensão pré-menstrual e uso de contraceptivos, até exercício, de contingências físicas como frio e grandes altitudes, ou ainda de transtornos hemodinâmicos como persistência do forâmen oval, até problemas articulares como artrose têmporo-mandibular, e mesmo estresse psicológico apenas.

Alimentos e bebidas não poderiam faltar nessa miscelânea, em especial os que contêm aminas vasomotoras. Também, indivíduos que se categorizam como intolerantes ao MSG apontam cefaleia entre seus desconfortos.

No seu conjunto, tais gatilhos abrangem queijos, principalmente aqueles longamente processados ou curados e contendo tiramina, chocolate (fatores incriminados: fenil etilamina, teobromina), enlatados e frios industrializados com nitritos ou nitratos, além dos já consignados alimentos industrializados ou temperados com MSG. Não estão isentos os laticínios e iogurtes, bem como os sorvetes. Corantes e aditivos em geral (ácido benzoico, amarelo tartrazina) são julgados suspeitos, porém alimentos não processados, como frutas cítricas, nozes e condimentos naturais, já foram igualmente acusados.

Comidas gordurosas e frituras estão no rol dos suspeitos e no âmbito das bebidas, ao lado do clássico vinho tinto; não escapam cerveja, café, chá e refrigerantes do grupo “cola” (Hämäläinen, 2006).

Protocolos bem desenhados não evidenciam benefícios da exclusão sistemática de MSG ou outros alimentos questionáveis nos portadores de enxaqueca.

Em crianças, a utilização de uma dieta restrita em aminas vasomotoras não foi mais benéfica que a recomendação de ingerir mais fibras durante as refeições (Hämäläinen, 2006).

Uma norma oficial recente da *American Academy of Allergy, Asthma and Immunology* e do *American College of Allergy, Asthma and Immunology* (Chapman *et al.*, 2006) não descarta a possibilidade de situações individuais em que reações do tipo cefaleia ocorram. Entretanto, deixa claro que autodiagnósticos ou meras impressões clínicas não são substitutos para um levantamento científico das queixas. Testes padronizados, tanto de supressão como de reintrodução dos nutrientes em questão, são referendados, preferentemente de forma mascarada (utilização cega) e com aferição dos sintomas mediante fichas validadas de dor e sintomatologia geral.

3. SÍNDROME DO RESTAURANTE CHINÊS

Quanto à complexa e quase lendária síndrome, há poucas provas de que o MSG seja de fato responsável. Freeman (2006) lista perto de duas dezenas de estudos, ao longo de três décadas, que visaram reproduzir e elucidar a citada reação. A maioria utilizou metodologia inadequada ou casuísticas modestas, e os de melhor qualidade revelaram-se negativos.

O estudo mais notável foi conduzido em 2000 por pesquisadores de quatro das mais renomadas instituições universitárias norte-americanas, a saber *Harvard Medical School*, *Boston University*, *University of California Los Angeles (UCLA)* e *Northwestern University*. O protocolo era duplo-cego, controlado por placebo, e envolvia testes com doses crescentes de MSG. Apenas indivíduos com antecedentes positivos para intolerância ao MSG foram arrolados, e o questionário cobria cefaleia, rubor (*flushing*), queimação, desconforto muscular e fraqueza generalizada. Uma dose alta de MSG era fornecida no primeiro protocolo (5 g), seguida de doses menores, gradualmente incrementadas até alcançar novamente 5 g. Dentre 130 indivíduos randomizados, não mais que 2 (1,5%), se mostraram consistentes nas suas respostas, bem menos que o justificado pelo acaso (Geha *et al.*, 2000).

Não se pode negligenciar, tampouco, o fato de que certos alimentos chineses, assim como alguns orientais de outras procedências, podem ser ricos em sódio ou gordurosos e são, com frequência, acompanhados de quantidades apreciáveis de bebidas alcoólicas, o que poderia justificar vários dos sintomas. Em síntese, conclui-se pela inexistência de fundamentos confiáveis a favor dessa complicação (Freeman, 2006; Geha *et al.*, 2000).

4. REAÇÕES ALÉRGICAS

São muitos os efeitos adversos atribuídos, em crianças e adultos de todas as partes do globo, a respostas de carácter imunoalérgico, abrangendo de queixas relativamente modestas orais e gastrointestinais a catástrofes como choque anafilático e parada cardiorrespiratória. Os agressores mais comuns, talvez, sejam os ácaros e outras partículas microscópicas de poeira doméstica, porém, a exemplo do que foi enunciado para as cefaleias, dúzias de outros agentes já foram incriminados, de respostas ao frio e ao exercício a drogas, poluentes, cosméticos e objetos de uso pessoal ou industrial.

É sabido que o organismo pode se hiperssensibilizar a antígenos mediante ingestão, inalação, contato cutâneo, injeção parenteral e até mesmo por transfusão sanguínea. Os alimentos mais realçados, neste contexto, são leite de vaca, ovo, crustáceos e outros frutos do mar, chocolate e amendoim, além dos suspeitos habituais, que são os conservantes, corantes e aditivos dos alimentos condimentados ou industrializados. No entanto, as compilações são tão vastas que se afirma, sem muito exagero, que apenas a água nunca esteve envolvida.

Em relação ao MSG, as atenções costumam se dirigir para anormalidades cutâneas (urticária, angioedema) e respiratórias (asma, broncoespasmo). A *American Academy of Allergy* e o *American College of Allergy, Asthma and Immunology* salientam que, embora casos individuais de urticária, angioedema e asma sejam relatados na literatura, estudos sistemáticos controlados com placebo foram incapazes de demonstrar reativação de urticária crônica, ou deflagração de crises de asma, durante suplementação de tal preparado (Chapman *et al.*, 2006).

É representativa a investigação de Woods *et al.* (1998), onde doses de 1 g e de 5 g de MSG foram administradas a indivíduos declaradamente sofredores de crises asmáticas induzidas por tal composto. Nenhum dos casos testados apresentou redução da FEV1 (volume expiratório forçado de um minuto), marcador clássico de espasmo, secreção e outras disfunções bronquiolares utilizado na aferição do desempenho respiratório (Woods *et al.*, 1998).

5. TOXICIDADE NEUROLÓGICA

Não há dúvidas de que animais recém-nascidos submetidos a doses muito elevadas de MSG sofrem danos permanentes no sistema nervoso central, concentrados principalmente no núcleo arqueado, mas também no núcleo ventromedial, no hipocampo, no estriado e no córtex. Aumento da reatividade das células da glia é também registrado, e efeitos semelhantes no conceito seguem-se à

suplementação de MSG para ratas grávidas, porém as doses necessitam ser ainda mais elevadas.

A suscetibilidade do cérebro de animais no início da vida ao glutamato em ofertas farmacológicas é conhecida desde 1969 (Olney & Sharpe, 1969), tendo dado origem à teoria da lesão neuronal excitotóxica. De forma simplificada, trata-se da possibilidade dos mesmos mediadores que excitam os neurônios, em condições fisiológicas habituais, infligirem destruição dos receptores quando fornecidos em quantidades suprafisiológicas. Entretanto, trata-se de princípio mais amplo, válido para diversos outros neurotransmissores e não apenas para o glutamato.

O glutamato, como já se aludiu em outros capítulos, é mediador essencial e dotado de múltiplas ações no sistema nervoso, e também fora dele. Um exagero no seu aporte, em espécies suscetíveis e desenhos experimentais particulares, seria nocivo e justificaria consequências das mais variadas. Tais desdobramentos podem incluir obesidade hipotalâmica, em alguns modelos, progredindo para diabetes, degeneração da retina, aumento da resposta inflamatória em certos órgãos, à custa do fator de necrose tumoral alfa e aumento do estresse oxidativo, com redução de glutathione em mais alguns órgãos (Farombi & Onyema, 2006; Racz *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2005), embora se saiba que a barreira hematoencefálica é altamente seletiva para a passagem de aminoácidos, não havendo migração pura e simples do plasma para o líquido cefalorraquidiano.

O maior equívoco atribuído ao MSG nos últimos anos seria a responsabilidade pela eclosão da epidemia de obesidade mundial, com base numa somatória de dados epidemiológicos e achados experimentais. Em roedores tratados com doses de 2,5 até 5 g de MSG por dia (equivalente a 6,3-12,5 g/kg p.c., ou em números redondos, 450-900 g por dia de MSG para um adulto de 70 kg), detecta-se voracidade, obesidade e queda do hormônio do crescimento, que reduz o crescimento ósseo. Ao mesmo tempo, a população de alguns países exibe altos níveis de obesidade e, pelo menos em alguns levantamentos epidemiológicos, a obesidade grave se associa à estatura abaixo da média. A dedução lógica, portanto, seria de que a causa da epidemia internacional seria o consumo crônico de MSG presente em muitos alimentos industrializados (Hermanussen *et al.*, 2006).

Embora criativa, esta hipótese se ressentir de algumas falhas cruciais. Nunca se demonstrou voracidade, obesidade ou queda do hormônio do crescimento em humanos de qualquer idade, ingerindo MSG sob a forma de alimentos industrializados ou recebendo glutamatos na dieta enteral ou parenteral, em qualquer dos volumes e regimes de oferta disponíveis.

Estima-se que um adulto médio incorpore, por dia, em torno de 12 g de glutamatos, posto que o ácido glutâmico está bem representado em alimentos centrais da dieta, como leite (20% da proteína) e carne (16%). Suas fontes seriam, portanto: glutamato estrutural das proteínas da alimentação (10 g); glutamato livre – presente em queijos maturados, vegetais e outros (1 g); e tempero MSG, industrializado com os alimentos ou adicionado durante a refeição (0,4 g) (Beyreuther *et al.*, 2007).

A ingestão diária de MSG, conseqüentemente, costuma ser modesta em valor absoluto, e ainda menos significativa se diluída no conjunto total de glutamatos consumidos, o que equivale a menos de 5%. Não há como comparar tal ganho com as proporções de 450 g ou 900 g diárias necessárias para transpor ao ser humano as condições experimentais citadas anteriormente (Hermanussen *et al.*, 2006).

Outrossim, se há uma região no planeta onde o MSG é usado secularmente e de forma quase obrigatória nas refeições, esta é o Extremo Oriente, que se caracteriza exatamente por exibir um dos menores índices de obesidade populacional.

6. TOXICOLOGIA CLÍNICA

O Comitê Conjunto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA) possui critérios bem padronizados para estabelecer a ingestão segura de qualquer nutriente ou aditivo. No seu cerne, estes se baseiam nos níveis máximos da substância em exame que não geram efeitos adversos observáveis (*no observed adverse effect level/NOAEL*).

Para o MSG, tais valores foram estipulados em 16.000 mg/kg p.c., por via oral, ou 500-1.000 mg/kg p.c., em forma injetável. Trata-se de patamares incomparavelmente acima dos moldes dietéticos humanos, mesmo considerando-se os chamados “grandes consumidores” de temperos e alimentos industrializados contendo MSG (Beyreuther *et al.*, 2007).

Em estudos relativamente antigos, voluntários receberam até 147 g de glutamato por dia, durante 30 dias ou mais, sem efeitos adversos perceptíveis (Bazzano *et al.*, 1970). No plano experimental, 6.000 até 7.000 mg/kg p.c./dia foram ofertados para camundongos, durante várias gerações consecutivas, sem que qualquer anormalidade nas sucessivas ninhadas pudesse ser constatada (Anantharaman, 1979).

Caberiam ressalvas para indivíduos com barreira hemoliquórica alterada, conduzindo a uma permeabilidade cerebral excessiva aos glutamatos ingeridos. Tal alteração tipicamente sucede na insuficiência hepática avançada (coma

hepático), na anestesia geral com drogas que afetam o desempenho da barreira e em determinados pacientes neurocirúrgicos. O risco de indução ou agravamento de edema cerebral já foi aqui consignado. Cabe lembrar que temos, aqui doentes graves, em algumas circunstâncias hospitalizados ou mesmo em unidades de cuidados intensivos, de modo que as normas alimentícias do MSG para consumo geral dificilmente se aplicariam (Stover & Kempfski, 1999).

Relata-se aumento da passagem de moléculas grandes para o cérebro em doenças menos dramáticas e de grande distribuição populacional, como diabetes, hipertensão arterial e no envelhecimento, com ou sem doença de Alzheimer (Moody, 2006). Ainda assim, repercussões nocivas para o consumo de MSG dentro dos padrões conhecidos não se encontram registradas na literatura.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo das últimas décadas, o MSG passou pelo crivo das mais importantes entidades profissionais, científicas e regulatórias mundiais, incluindo a Federação das Sociedades Americanas de Biologia Experimental (FASEB), a Administração Federal de Drogas dos Estados Unidos da América (FDA), o Comitê Internacional do Codex Alimentarius (Organização das Nações Unidas), bem como o Comitê Conjunto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA), o Comitê dos *Dietary Reference Intakes* da Academia Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América, bem como numerosas agências públicas de saúde de todas as partes do globo.

Em todas essas oportunidades, ficou caracterizado que o alimento, seja na forma de ácido glutâmico ou dos sais monossódico, potássico, cálcico ou de amônio, não alterava os níveis de glutamato no sangue, leite materno ou placenta, exceto em doses extremas. Sua metabolização era igualmente adequada em lactentes e adultos, até porque se trata de componente integrante do leite materno e do plasma circulante.

Efeitos carcinogênicos, teratológicos, sobre fertilidade ou reprodução não ocorreram em diversas espécies testadas. O camundongo recém-nascido e, em menor grau, outras espécies, se revelaram sensíveis à lesão neurológica, porém as doses plasmáticas requeridas eram tão elevadas que, mesmo com ofertas orais humanas de 10 g de MSG, elas não eram atingidas (Freeman 2006; Beyreuther *et al.*, 2007; Walker & Lupien, 2000).

A síndrome do restaurante chinês e respostas alérgicas ou idiossincráticas ocasionalmente percebidas durante o uso de MSG não ficaram estabelecidas em

estudos prospectivos e controlados. Tal fato não significa que não possam existir casos sensíveis a esse nutriente, porém, não de modo a interferir no excelente perfil de segurança para a população em geral, tanto infantil quanto adulta.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANANTHARAMAN, K. “In utero and dietary administration of monosodium L-glutamate to mice: Reproductive performance and development in a multigeneration study”. In: FILER, L. J. *et al.* (ed.). *Glutamic Acid: Advances in Biochemistry and Physiology*. New York, Raven Press, 1979, pp. 231-253.

BAZZANO, G.; D’ELIA, J. A. & OLSON, R. E. “Monosodium glutamate: feeding of large amounts in man and gerbils”. *Science*. 169(3951): 1208-1209, 1970.

BEYREUTHER, K. *et al.* “Consensus meeting: monosodium glutamate - an update”. *Eur J Clin Nutr*. 61(3): 304-313, 2007.

CHAPMAN, J. A. *et al.* (eds). “Food allergy: a practice parameter”. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 96(3 Suppl2): S1-S68. 2006.

FAROMBI, E. O. & ONYEMA, O. O. “Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin”. *Hum Exp Toxicol*. 25(5): 251-259, 2006.

FREEMAN, M. “Reconsidering the effects of monosodium glutamate: A literature review”. *J Amer Acad Nurse Pract*. 18(10): 482-486, 2006.

GEHA, R. S. *et al.* “Multicenter, double-blind, placebo-controlled, multiple-challenge evaluation of reported reactions to monosodium glutamate”. *J Allergy Clin Immunol*. 106(5): 973-980, 2000.

GOADSBY, P. J. “Recent advances in understanding migraine mechanisms, molecules and therapeutics”. *Trends Mol Med*. 13(1): 39-44, 2007.

HÄMÄLÄINEN, M. L. “Migraine in children and adolescents: a guide to drug treatment”. *CNS Drugs*. 20(10): 813-820, 2006.

HERMANUSSEN, M. *et al.* “Obesity, voracity, and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite”. *Eur J Clin Nutr*. 60(1): 25-31, 2006.

KWOK, R. H. M. “Chinese-restaurant syndrome”. *New Eng J Med*. 278: 796, 1968.

MOODY, D. M. “The blood-brain barrier and blood-cerebral spinal fluid barrier”. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 10(2): 128-131, 2006.

OLNEY, J. W. & SHARPE, L. G. “Brain lesions in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate”. *Science.* 166(3903): 386-388, 1969.

RACZ, B. *et al.* “The neuroprotective effects of PACAP in monosodium glutamate-induced retinal lesion involve inhibition of proapoptotic signaling pathways”. *Regul Pept.* 137(1-2): 20-26, 2006.

STOVER, J. F. & KEMPSKI, O. S. “Glutamate-containing parenteral nutrition doubles plasma glutamate: a risk factor in neurosurgical patients with blood brain-barrier damage?”. *Crit Care Med.* 27(10): 2252-2256, 1999.

STOVNER, L. J. *et al.* “The global burden of headache: a documentation of headache prevalence and disability worldwide”. *Cephalalgia.* 27(3): 193-210, 2007.

WALKER, R. & LUPIEN, J. R. “The safety evaluation of monosodium glutamate”. *J Nutr.* 130(4S Suppl):1049S-52S, 2000.

WOODS, R. K. *et al.* “The effects of monosodium glutamate in adults with asthma who perceive themselves to be monosodium glutamate-intolerant”. *J Allergy Clin Immunol.* 101(6 Pt 1): 762-771, 1998.

XU, L. *et al.* “Effect of glutamate on inflammatory responses of intestine and brain after focal cerebral ischemia”. *World J Gastroenterol.* 11(5): 733-736, 2005.

PARTE IV
ASPECTOS DE SEGURANÇA
DE ALIMENTOS

GLUTAMATO MONOSSÓDICO ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

*Felix Guillermo Reyes Reyes
Miguel Arcanjo Areas
Hellen Dea Barros Maluly*

1. INTRODUÇÃO

O glutamato monossódico, também identificado pelas siglas GMS ou MSG (*monosodium glutamate*, em inglês), é o sal sódico do aminoácido ácido glutâmico, cujas estruturas estão apresentadas na Figura 12.1.

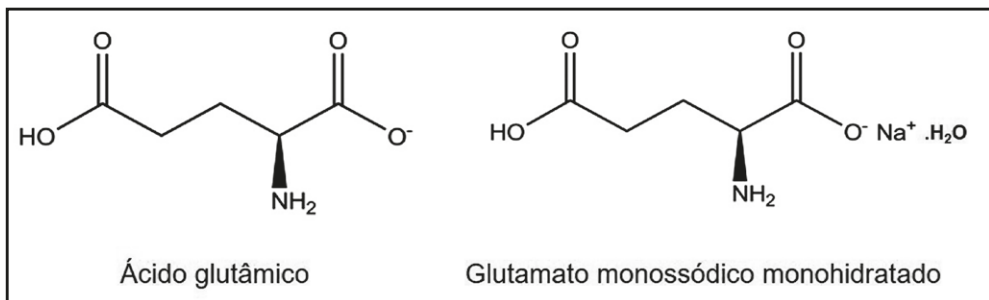


Figura 12.1 – Estruturas moleculares do ácido glutâmico e do glutamato monossódico mono-hidratado

Fonte: figura elaborada pelos autores.

O ácido glutâmico (ou glutamato na sua forma dissociada) é o principal composto responsável pelo chamado quinto gosto básico ou gosto umami, palavra japonesa, que pode ser traduzida como “delicioso” ou “saboroso”. Além do glutamato, outras moléculas podem induzir o gosto umami, tais como os nucleotídeos inosina-5'-monofosfato e guanosina-5'-monofosfato (Blonde & Spector, 2017).

O glutamato livre, que não faz parte da estrutura de proteínas, pode estar naturalmente presente na composição de alimentos como, por exemplo, tomates, aspargos, milho, ervilha, peixes e frutos do mar e carnes em geral. Pode também estar presente em produtos processados e/ou fermentados como os queijos curados, presunto cru, salame ou ter sido adicionado, como aditivo alimentar na forma de MSG, em produtos processados como sopas prontas, molho de soja, molhos para salada e snacks, entre outros (Maluly *et al.*, 2017; Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

O MSG tem sido alvo de pesquisas científicas em diversas áreas, tanto nas relacionadas à tecnologia de alimentos quanto às que envolvem a saúde humana. Esse composto tem um uso amplamente disseminado na indústria de alimentos, assim como desempenha muitas funções fisiológicas no corpo humano. Além disso, é importante mencionar que foi confirmada a presença de receptores específicos para o glutamato na língua, estômago e intestino (Kurihara, 2015).

Entretanto, a segurança do uso do MSG se tornou controversa a partir de publicações que implicavam em efeitos adversos à saúde humana, quando esse composto era adicionado a refeições ou produtos processados na forma de aditivo alimentar. Dentre os efeitos adversos podemos citar o “Complexo de Sintomas Relacionados à Ingestão de Glutamato Monossódico” (conhecido como “Síndrome do Restaurante Chinês”) e “Obesidade Hipotalâmica” (Hermanussen *et al.*, 2006; Kwok, 1968; Monno *et al.*, 1995). Por esses motivos, a utilização do MSG como aditivo alimentar tem sido objeto de avaliações quanto a sua segurança de uso por parte de diferentes Comitês Científicos e/ou Agências de Regulamentação, como o Comitê Conjunto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA), a Autoridade Europeia para Segurança de Alimentos (EFS), a Administração Federal de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos da América (FDA) e a Federação das Sociedades Americanas para Biologia Experimental (FASEB).

Em 1970, na 14ª reunião, o JECFA avaliou diferentes sais do ácido glutâmico. O Comitê estabeleceu uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 0-120 mg/kg p.c. (expressos como ácido L-glutâmico), concluindo ainda que essa IDA não se aplicava a crianças menores de 12 semanas de idade (JECFA, 1971). Entretanto,

em 1973, na 17ª reunião, a restrição de uso para os alimentos infantis foi retirada, após a verificação de que os efeitos adversos não eram observados em animais neonatos nos níveis recomendados para o uso de sais do ácido glutâmico como aditivo alimentar, mantendo-se o valor de IDA (JECFA, 1974). No entanto, em avaliação posterior, realizada em 1987, o Comitê estabeleceu para o MSG uma IDA “não especificada”. A denominação IDA “não especificada” significa que, tomando como base os dados disponíveis (químicos, bioquímicos, toxicológicos etc.), a ingestão diária total da substância, que se deriva de seu uso para alcançar os efeitos tecnológicos desejados e de sua concentração natural nos alimentos, não representa um risco para a saúde. Por esta razão, e pelas enunciadas em cada uma das avaliações, não se considerou necessário o estabelecimento de uma IDA expressa de forma numérica. Desta maneira, o JECFA concluiu que o MSG não apresenta risco à saúde, quando usado como aditivo alimentar (JECFA, 1988).

De forma similar ao JECFA, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA) também estabelece uma IDA “não especificada” para o MSG (BRASIL, 2001). Já nos Estados Unidos da América, em 1958, a FDA classificou o MSG como ingrediente Geralmente Reconhecido como Seguro (GRAS-*Generally Recognized as Safe*). Esta classificação foi mantida em reavaliação dos dados disponíveis sobre MSG, realizada em 1978 (FDA, 2018). Na década de 1980, trabalhos publicados indicaram a indução de efeitos adversos relacionados ao MSG como aditivo alimentar, principalmente em alimentos infantis (Airoldi *et al.*, 1979; Arbogast & Voogt, 1990). Consequentemente, a FDA recomendou que estudos adicionais fossem realizados para identificar a relação entre os efeitos adversos e o uso do MSG na alimentação de recém-nascidos e crianças (Anderson & Raiten, 1992). Assim, a FASEB, que é um grupo de cientistas independentes, por solicitação da FDA, realizou uma revisão completa sobre os dados científicos relacionados à segurança do MSG, tendo concluído, em 1995, que o MSG é seguro quando consumido como aditivo alimentar nos níveis tecnológicos recomendados (0,1%-0,8% no alimento) (Beyreuther *et al.*, 2007; Raiten *et al.*, 1995).

O Parlamento Europeu publicou em 1995 uma diretiva que estabelece um limite de uso para o MSG de 10 g/kg de alimento, quando utilizado como aditivo alimentar, individualmente ou em combinação com ácido glutâmico e seus sais (potássio, cálcio, amônia e magnésio), conforme as boas práticas de fabricação (EC, 1995). A última regulamentação publicada pelo parlamento foi em 2008, a qual manteve as recomendações da diretiva de 1995 (EC, 2008). Entretanto, em consequência da reavaliação da segurança de uso dos aditivos alimentares,

o Setor sobre Aditivos Alimentares e Fontes de Nutrientes Adicionados aos Alimentos (ANS) da EFSA recomendou, em 2017, para o ácido glutâmico e seus sais uma IDA de grupo no valor de 30 mg/kg p.c., expressa como ácido glutâmico, o que não é compatível com o próprio consumo de glutamato intrínseco na dieta (Mortensen *et al.*, 2017). Assim sendo, até 2020 essa recomendação não tinha sido aceita nem adotada pelos órgãos regulamentadores de todos os países.

Recentemente, Zanfirescu *et al.* (2019) relataram que muitos dos efeitos negativos para a saúde associados ao MSG têm pouca relevância em humanos, em relação à exposição crônica, e que são pouco informativos pois se baseiam em doses de exposição elevada que não atende aos níveis normalmente consumidos através dos alimentos. Os autores concluíram que estudos clínicos e epidemiológicos adicionais são necessários, com protocolo (desenho experimental) apropriado, levando em conta o MSG naturalmente presente nos alimentos e aquele adicionado como aditivo alimentar.

Este capítulo apresenta uma revisão dos dados biológicos, aspectos bioquímicos relacionados à cinética e metabolismo, assim como estudos especiais (transporte transplacentário, barreira hematoencefálica). Também são analisados os estudos de toxicidade (toxicidade aguda, subcrônica, crônica, teratogenicidade e carcinogenicidade), utilizados pelos diferentes Comitês e/ou Agências de Regulamentação para estabelecer o uso seguro do MSG como aditivo alimentar.

2. ESTUDOS DE CINÉTICA E METABOLISMO

2.1. Comportamento do glutamato no trato gastrointestinal

O glutamato é extensivamente metabolizado no trato gastrointestinal (Figura 12.2). O estudo de Reeds *et al.* (2000) demonstrou que no intestino de suínos [lactentes (até 20 kg) e jovens (de 20 a 60 kg)], assim como em humanos adultos, o MSG ou glutamato da dieta é metabolizado em até 95% pelo efeito de primeira passagem. Posteriormente, o mesmo grupo de pesquisadores verificou que a absorção do glutamato no estômago é maior do que no intestino (Janeczko *et al.*, 2007).

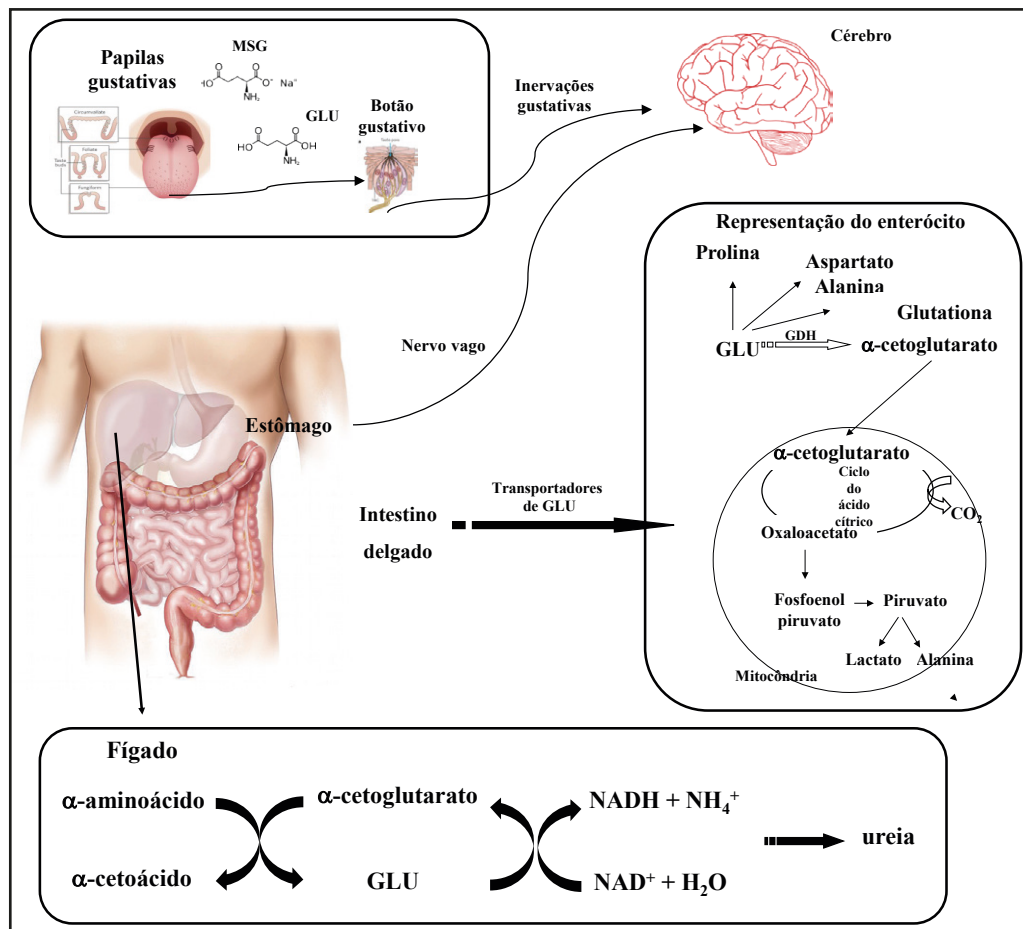


Figura 12.2 – Rota metabólica do MSG no organismo (MSG: glutamato monossódico; GLU: ácido glutâmico; GDH: glutamato desidrogenase; CO₂: dióxido de carbono; ATP: adenosina trifosfato; NAD: nicotinamida adenina dinucleotídeo; NH₄⁺: amônio)

Fonte: figura adaptada de Chandrashekar, 2006, e 3B Scientific/
<https://www.3bscientific.com.br/index.html>.

A metabolização do glutamato começa pelo seu transporte por parte das células do estômago e do intestino, através do transportador de glutamato-aspartato 1 (GLAST-1), do transportador do glutamato (GLT-1), dos carregadores de aminoácidos excitatórios 1 (EAAC-1) e dos transportadores de aminoácidos excitatórios 4 e 5. Os EAAC-1 são os transportadores mais abundantes de glutamato no intestino delgado, mas não no estômago e intestino grosso. Já o GLAST-1 e o GLT-1 são expressos, na sua maior parte, no estômago. Quando o glutamato é absorvido pelas células do trato gastrointestinal, ele começa a ser catabolizado

no citossol e na mitocôndria pela reação de transaminação, com atividade das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, aminotransferases de cadeia ramificada e glutamato desidrogenase (GDH), presentes no estômago, intestino e colo. O glutamato é metabolizado a α -cetoglutarato, o qual pode entrar no ciclo do ácido tricarboxílico com produção de energia (ATP) e liberação de dióxido de carbono (Iwanaga *et al.*, 2005).

Os átomos de carbono do glutamato que não sofreram oxidação até a formação de dióxido de carbono são convertidos em lactato, alanina, prolina, citrulina, ornitina e arginina, que então entram na circulação portal. O nitrogênio derivado do metabolismo do glutamato é transformado em amônia e em outros aminoácidos, incluindo a citrulina, ornitina, prolina e arginina. Grande parte do nitrogênio destes compostos é convertida em ureia pelas células hepáticas, a qual é eliminada pela urina (Burrin & Stoll, 2009).

Essa é a rota pela qual ocorre a metabolização do glutamato consumido normalmente pela população, incluindo o MSG utilizado como aditivo alimentar. Ainda, em um estudo realizado em suínos lactentes foi verificado que, mesmo em doses de MSG quatro vezes maiores daquelas normalmente utilizadas como aditivo alimentar (até 0,8%), o glutamato livre não foi detectado no plasma (Haÿs *et al.*, 2007).

2.2. Metabolismo hepático do glutamato

As rotas metabólicas do glutamato são complexas (Figura 12.2). Conforme mencionado anteriormente, o glutamato é extensivamente metabolizado no trato gastrointestinal em dióxido de carbono, lactato, glutationa, glutamina, alanina e vários outros tipos de aminoácidos. O glutamato ingerido, que não é utilizado no trato gastrointestinal, entra na circulação porta-hepática sendo, então, metabolizado no fígado. O esqueleto carbônico do glutamato pode ser oxidado através do ciclo de Krebs para gerar energia, e seu nitrogênio pode ser convertido em ureia, que é excretada na urina (Brosnan, 2000).

Sempre que o metabolismo dos aminoácidos é discutido, devem-se separar as vias relacionadas ao nitrogênio das vias dos esqueletos carbônicos. O metabolismo do nitrogênio é comum para muitos aminoácidos, porém, para o esqueleto carbônico geralmente é distinto. O fato mais importante do metabolismo do nitrogênio é a sua detoxificação na forma de ureia. O metabolismo de quase todos os aminoácidos se inicia pela ação de aminotransferases, sendo que o glutamato e o α -cetoglutarato fazem parte dessa reação. A desaminação do glutamato promove a formação de α -cetoglutarato e amônia, pela enzima glutamato desi-

drogenase. A amônia produzida fornece um dos dois nitrogênios da ureia, pela carbamoil fosfato sintetase 1. A aspartato aminotransferase transfere o grupo amino do glutamato para oxaloacetato para produzir ácido aspártico, que pode então introduzir o segundo nitrogênio no ciclo da ureia pela argininosuccinato sintetase. Um dos aspectos desse processo é que as enzimas aminotransferase e glutamato desidrogenase (GDH) são reversíveis, o que permite que o fígado ajuste a produção de amônia e ácido aspártico, de acordo com as necessidades do ciclo da ureia. Assim, o glutamato além de produzir energia pela formação de α -cetoglutarato, com posterior entrada no ciclo de Krebs, também possui um papel importante na regulação do ciclo da ureia (Brosnan & Brosnan, 2009).

2.3. Estudos da cinética

As etapas da cinética do glutamato dependem da forma como ele se encontra no organismo (livre ou ligado às proteínas). Também há influência dos componentes da dieta, que dependem das concentrações de macronutrientes, principalmente de proteínas na dieta (Imada *et al.*, 2014; Iwanaga *et al.*, 2005; Luscombe-Marsh *et al.*, 2009).

Em consequência do rápido metabolismo do glutamato livre nas células da mucosa intestinal e no fígado, os seus níveis plasmáticos sistêmicos são baixos, mesmo após a ingestão de elevadas quantidades de proteína na dieta. Todavia, a administração oral de doses elevadas de glutamato livre pode resultar na sua elevação nos níveis plasmáticos. Assim, o pico de concentração plasmática de glutamato irá depender da quantidade ingerida (Stegink *et al.*, 1979). A administração, por gavagem, de uma dose de MSG de 1,0 g/kg p.c., em solução aquosa, resultou em um aumento significativo do glutamato plasmático em várias espécies estudadas. Os picos plasmáticos máximos de glutamato foram menores em macacos adultos e maiores em camundongos. Diferenças relacionadas à idade entre neonatos e adultos foram verificadas em camundongos e ratos, sendo que os picos plasmáticos e a área sob a curva foram maiores nos animais recém-nascidos do que nos adultos, pois recém-nascidos não possuem integridade gastrointestinal (Airoldi *et al.*, 1979; Ohara & Naim, 1977; Stegink *et al.*, 1975).

Estudos sobre os efeitos dos componentes da dieta na absorção do glutamato têm sido realizados em animais de experimentação. Quando camundongos jovens receberam o MSG adicionado a fórmulas (alimentos) infantis, ou quando os humanos adultos receberam MSG com *consomé* através de intubação gástrica, os níveis máximos de glutamato no plasma foram significativamente menores, e o tempo para atingir o pico plasmático foi maior do que quando a mesma dose

foi administrada com água (Ohara & Naim, 1977; Stegink *et al.*, 1985). De forma semelhante, em camundogos, a alimentação *ad libitum* de uma dieta contendo MSG, origina apenas ligeira elevação plasmática de glutamato acima dos níveis basais (Heywood *et al.*, 1977).

Resultados similares da absorção de glutamato e dos níveis plasmáticos também foram verificados em humanos. Os dados mostraram apenas um leve aumento nos níveis plasmáticos de MSG, quando uma dose de 0,150 g/kg p.c. foi ingerida com as refeições (Tung & Tung, 1980). Como mencionado anteriormente, a ingestão de doses elevadas de MSG junto com refeições, provocou níveis plasmáticos de glutamato menores quando em comparação com água. Em geral, os alimentos que fornecem carboidratos metabolizáveis aumentam o metabolismo do glutamato e leva à redução dos seus níveis plasmáticos. Os carboidratos fornecem piruvato como substrato para transaminação com o glutamato nas células da mucosa, de modo que mais alanina é formada e menos glutamato atinge a circulação portal (Stegink *et al.*, 1983). Cabe mencionar, ainda, que crianças, inclusive bebês prematuros, têm a mesma capacidade de metabolizar doses semelhantes de MSG administradas em fórmula infantil (Tung & Tung, 1980).

A FASEB revisou trinta e quatro estudos realizados em roedores, onde o MSG foi administrado por via enteral, sendo que em quatorze o MSG foi administrado por gavagem ou intubação intragástrica, treze na dieta ou água, quatro por ambos os métodos e em três, não foi especificada a rota de administração (Anderson & Raiten, 1992). Em nove estudos, as concentrações de ácido glutâmico no plasma foram determinadas e em cinco foram avaliados os picos de concentração plasmática (dois em ratos e três em camundongos). Os pesquisadores concluíram que as lesões produzidas no núcleo arqueado do hipotálamo, quando o MSG era administrado por via enteral, foram devido ao fato dos estudos terem sido realizados em animais jovens, cuja barreira hematoencefálica está em formação, e com doses elevadas, o que não reflete o consumo como aditivo alimentar. A menor dose em que algum tipo de lesão foi observada foi de 0,5 g/kg p.c. em animais com oito dias de idade (Daabees *et al.*, 1985).

3. ESTUDOS DE TOXICIDADE

3.1. Exposição aguda por via oral

Os ensaios de toxicidade aguda visam demonstrar a ocorrência de efeito adverso em curto período de tempo. Geralmente, os ensaios tratam da administração de uma dose única ou exposições múltiplas em 24 h. Considera-se também

o aparecimento de um efeito num período de até 14 dias, após a administração da substância estudada (Barlow *et al.*, 2002). Estudos para a determinação do valor da dose letal mediana (DL_{50}), nos quais o MSG foi administrado por via oral, foram realizados em diferentes espécies sendo, na sua maioria, publicados nas décadas de 1960 e 1970 (JECFA, 1988). Esses trabalhos mostraram valores variáveis de DL_{50} em camundongos (13-19,2 g/kg p.c.), em ratos (10-19,9 g/kg p.c.), e em coelhos (níveis maiores que 2,3 g/kg p.c.) (JECFA, 1988). Esses dados demonstram que os valores de DL_{50} são muito elevados indicando que o MSG possui baixo potencial de toxicidade aguda, e também não correspondem aos níveis de consumo de MSG, quando utilizado como aditivo alimentar.

Os efeitos tóxicos tais como lesão no núcleo arqueado do hipotálamo e alterações hipotalâmicas, com consequências neuroendócrinas em roedores neonatos, têm sido associados à exposição aguda ao MSG. Esses efeitos ocorreram após administração de doses elevadas por via parenteral. Verificaram-se também efeitos neuronais, após algumas horas da exposição, quando o MSG foi administrado por via oral, em altas doses, em camundongos neonatos, sem a presença de alimentos. No entanto, em outras espécies, nenhum efeito adverso foi observado (Dawson, 1983; Hermanussen *et al.*, 2006; Olney, 1971).

3.2. Exposição subcrônica (curta duração), por via oral

A toxicidade subcrônica (de curta duração) geralmente envolve o estudo de efeitos adversos decorrentes da exposição a múltiplas doses do agente tóxico, durante períodos que não excedem 10% da vida média do animal, com o objetivo de obter informações que revelem possíveis efeitos tóxicos, em um período suficiente em que não haja modificações relativas à idade, como alterações morfológicas e funcionais dos tecidos (Barlow *et al.*, 2002).

Doses elevadas de MSG, administradas por via enteral, podem desenvolver lesões em duas áreas do cérebro (hipotálamo e hipocampo) que são particularmente suscetíveis ao glutamato, quando este promove efeitos excitatórios exacerbados. Para verificar esses efeitos, ratos adultos foram submetidos à administração oral de doses relativamente elevadas de MSG (4,0 g/kg p.c.). Foi avaliada a ingestão única de MSG por gavagem e de doses repetidas durante 21 dias, nas quais o MSG foi administrado na dieta. Os níveis de glutamato no plasma e no cérebro também foram determinados. Foram realizadas análises histológicas de tecidos cerebrais para avaliar a ocorrência de possíveis alterações neuropatológicas. No estudo de ingestão aguda, verificou-se um aumento significativo de glutamato no plasma e nos níveis extracelulares no hipocampo

e no hipotálamo, em comparação os ratos do grupo controle. Entretanto, nenhuma alteração nos níveis de glutamato foi verificada no estudo de 21 dias em comparação aos ratos que receberam dieta controle. A avaliação histológica não revelou nenhuma alteração associada à administração do MSG, tanto aguda como subcrônica (Monno *et al.*, 1995).

Na reavaliação da segurança de uso do MSG realizada pela ANS/EFSA (Mortensen *et al.*, 2017) foram considerados estudos de curta duração (28 dias) realizados em ratos de ambos os sexos (fêmeas doses de 4,8 e 4,9 g/kg p.c. e machos doses de 5,1 e 5,3 g/kg p.c.), não tendo sido observados efeitos adversos. Em cachorros beagle (doses de 0,15, 0,5 e 5 g/kg p.c. administradas pela dieta) foram observados efeitos clínicos, tais como vômito e diarreia, porém não foram considerados relevantes ou foram apenas transitórios. Assim, lesões inespecíficas, que não foram consideradas como efeitos adversos, ocorreram no peso do timo de fêmeas que foram submetidas às doses mais elevadas. Ensaio subcrônicos realizados em cães foram realizados para verificar possíveis efeitos adversos no trato urinário, foram relatados apenas efeitos como aumento do volume urinário e secreção de sódio, após 2 anos de estudo. Este efeito foi observado na dose de administração mais elevada de MSG (2,5 g/kg p.c.).

3.3. Toxicidade crônica (longo prazo) e carcinogenicidade

Os estudos de toxicidade crônica e carcinogenicidade são realizados num período correspondente à vida média do animal. O principal objetivo dos estudos é avaliar os mecanismos para possíveis lesões neoplásicas consequentes da exposição à substância, em várias doses, por uma rota apropriada de administração (para aditivos, via oral) (Barlow *et al.*, 2002).

Owen *et al.* (1978) relataram que a ingestão de MSG causava hiperplasia de bexiga e da pélvis renal em ratos. Posteriormente foi verificado que esse efeito não era provocado pela ingestão de MSG e sim devido à presença de bicarbonato de potássio (KHCO₃) na dieta administrada aos animais, o qual tinha um efeito alcalinizante na urina (pH aumentava até 8), durante o período de maior consumo de alimento (de Groot *et al.*, 1988).

Shibata *et al.* (1995), realizaram ensaio em ratos, os quais foram alimentados com dietas contendo 0, 0,6, 1,25, 2,5 e 5,0% de MSG, por um período de 2 anos. Os animais que receberam dieta com 5,0% de MSG tendiam ao retardo do crescimento. Ocorreu aumento do pH e do sódio urinário e diminuição do potássio em ratos de ambos os sexos que receberam dieta com 2,5 e 5,0%. Todavia, nenhum desenvolvimento de lesão proliferativa ou neoplásica foi observado no trato urinário.

3.4. Estudos de reprodução e teratogenicidade

Nos estudos de reprodução e teratogenicidade são avaliados os efeitos adversos da substância no sistema de reprodução de animais de experimentação e as possíveis consequências na sua prole. Assim, ensaios para avaliação dos efeitos adversos do MSG sobre o sistema reprodutivo de animais de experimentação e suas possíveis consequências na sua prole. Foram utilizadas doses de MSG de 2,5 e 4,0 g/kg p.c., por via oral, em camundongos na fase final de gestação. Foi avaliado o comportamento da mãe e da prole. O acasalamento dos machos tratados com as fêmeas tratadas resultou em gestações e filhos normais, indicando que a administração de MSG não afeta a capacidade reprodutiva da prole numa fase tardia da gravidez (Yu *et al.*, 1997).

Estudos de reprodução e teratogenicidade com administração de MSG por via oral foram avaliados pelo JECFA (JECFA, 1988). A monografia relata que os animais expostos não apresentaram efeitos adversos, nem mesmo quando as fêmeas eram alimentadas com altas doses de glutamato, indicando que o feto e o neonato (lactentes) não foram expostos a níveis tóxicos pela dieta materna, por transferência transplacentária ou pelo leite das lactantes. Esse fato está de acordo com os relatos de que os níveis de glutamato no sangue fetal não aumentam paralelamente com o aumento dos níveis de glutamato no sangue materno. Por exemplo, as ratas que receberam, por via oral, doses de 8,0 g/kg p.c. ao final do período de gestação, tiveram aumento dos níveis plasmáticos de 100 para 1.650 nmol/mL, porém não houve aumento significativo nos níveis plasmáticos dos fetos. Do mesmo modo, em fêmeas prenhas de macacos Rhesus, a infusão de 1,0 g de MSG/h levou a um aumento de 10 a 20 vezes nos níveis de glutamato no plasma materno, mas não ocorreu nenhuma mudança nos níveis plasmáticos dos fetos. Também em ratos e macacos, a ingestão oral de elevadas doses de MSG não levou à detecção de qualquer aumento nos níveis do ácido glutâmico no leite materno.

Outros estudos avaliaram a passagem de diferentes aminoácidos através da placenta de ovinos e concluíram que o glutamato é o aminoácido que possui menor passagem para circulação uterina, pois é metabolizado em α -cetoglutarato na própria parede uterina (Cetin, 2001; Holzman *et al.*, 1979).

3.5. Mutagenicidade

Na década de 1970, foram realizados estudos para avaliar o potencial de mutagenicidade do MSG. Assim, células de tecidos de ratos foram expostas a

uma dose de 0,1% de MSG, em solução, e observadas durante 72 h. Nenhum efeito tóxico foi observado (FDA, 1969). Outro estudo utilizou camundongos machos e administrou MSG por gavagem em diferentes níveis (0, 2,7 e 5,4 g/kg p.c.). Os animais tratados acasalaram com fêmeas não tratadas a cada seis semanas consecutivas. As fêmeas foram sacrificadas na metade da gravidez e o útero foi examinado para avaliação de sinais de morte embrionária precoce e efeitos mutagênicos. Não foram verificadas diferenças com relação à implantação, reabsorção e deficiência embrionária, entre as fêmeas que acasalaram com animais tratados e não tratados (JECFA, 1988).

3.6. Neurotoxicidade

Efeitos neurotóxicos associados à exposição ao MSG foram inicialmente relatados nas décadas de 1960 e 1970. Os principais relatos sobre as lesões neuronais relacionadas à administração de MSG foram realizados por Olney (1971), que administrou doses de 0,5-4,0 g/kg p.c. de MSG, por via parenteral, em camundongos com 2 a 9 dias de idade. Os animais foram sacrificados decorridos 30 minutos ou 48 h após a administração da substância. Foram observadas lesões no núcleo arqueado do hipotálamo. As mesmas lesões também foram detectadas após a administração de 5,0-7,0 g/kg p.c. em camundongos adultos.

Outros pesquisadores também têm utilizado como modelo o animal tratado com doses elevadas de MSG, administradas por via parenteral ou oral. Os estudos indicaram que a elevação dos níveis de glutamato no plasma podem aumentar a circulação de glutamato no cérebro e provocar lesão no núcleo arqueado do hipotálamo e, como consequência, obesidade e diabetes (Hermanussen *et al.*, 2006; Nagata *et al.*, 2006). Nesses experimentos, a barreira hematoencefálica de roedores foi lesionada de forma focada. Em animais que tinham recebido uma injeção contínua de MSG, o conteúdo de água no cérebro aumentou de forma significativa, provocando edema. A duplicação da concentração de glutamato no plasma foi suficiente para causar este efeito, no qual o edema cerebral piorou apenas nestes animais. Provavelmente, o edema pode ter ocorrido pela absorção de glutamato nas células da glia, o que reduz o glutamato extracelular juntamente com íons sódio, forçando a entrada de água no cérebro.

Verificou-se também que as concentrações de glutamato no plasma, em condições normais, podem chegar a 100 $\mu\text{mol/L}$ e no cérebro até 12.000 $\mu\text{mol/L}$, mas apenas 0,5-2,0 $\mu\text{mol/L}$ chega até o fluido extracelular. Além disso, a barreira hematoencefálica é quase impermeável à passagem de glutamato, mesmo em altas concentrações, exceto em algumas áreas pequenas com capilares

fenestrados, pois o glutamato é um composto polar e, portanto, o influxo passivo é limitado a menos de 1% daquele que ocorre nas veias sanguíneas de outros tecidos (Hawkins, 2009).

4. O MSG E A SÍNDROME DO RESTAURANTE CHINÊS

A Síndrome do Restaurante Chinês (ou Complexo de Sintomas relacionados ao MSG) foi descrita primeiramente por Kwok, em 1968, que relatou um conjunto de sinais e sintomas, como por exemplo, dores no pescoço ou na cabeça, fraqueza e palpitações. Além disso, outros sintomas têm sido relacionados à ingestão de MSG, como asma, dermatite atópica, urticária, dificuldades respiratórias e taquicardia, através do consumo de comida chinesa, ou mais precisamente, através de alimentos que continham MSG (Allen *et al.*, 1987; Ratner *et al.*, 1984; Van Bever *et al.*, 1989).

Geha *et al.* (2000) realizaram um estudo sobre essa síndrome utilizando um desenho experimental do tipo duplo-cego, placebo-controlado. O estudo avaliou frequência cardíaca, pressão sanguínea, taxa respiratória e temperatura para verificar as respostas que eram consideradas como positivas a reações adversas descritas após o consumo de MSG (fraqueza geral, tensão e contração muscular, rubor, suor, sensação de queimação, dor de cabeça, enxaqueca, dor no peito, palpitações, dormência e formigamento). Os resultados eram considerados positivos se o indivíduo apresentava 2 ou mais desses sintomas. O desenho experimental consistiu em quatro ensaios sequenciais (A-D), sendo que os dois primeiros foram idênticos a um estudo realizado no Canadá, em 1997 (Yang *et al.*, 1997). Nos ensaios A-C, o MSG foi administrado sem alimentos. O ensaio A foi realizado com indivíduos (n=130) que diziam ter reações após o consumo de MSG. Os participantes receberam cápsulas de placebo ou cápsulas com 5,0 g de MSG em dias alternados. Tanto placebo como MSG foram administrados junto com líquido com sabor cítrico para evitar que sentissem o sabor da substância do teste. As reações foram registradas durante 2 h. Os indivíduos considerados positivos passaram para o ensaio B, cujo objetivo foi analisar se as respostas dos indivíduos eram consistentes e se eram dependentes da dose. Para isso, várias concentrações de MSG [0 (placebo), 1,25, 2,5 ou 5 g]/200 mL da mesma solução cítrica foram administradas em dias diferentes. Os resultados mostraram que os sintomas apareceram com mais frequência conforme a dose de MSG aumentava. Os indivíduos que responderam a 5 mg de MSG e não ao placebo nos ensaios A e B (n=12) passaram para o ensaio C, cujo objetivo foi confirmar a reprodutibilidade dos resultados obtidos nos experi-

mentos anteriores. Apenas 2 indivíduos responderam a 5 g de MSG, mas não ao placebo, os quais foram escolhidos para o ensaio D. O protocolo do ensaio D consistiu na avaliação das características clínicas das reações ao MSG *versus* placebo quando ingeridos com alimentos. Assim, os 2 indivíduos ingeriram placebo (3 vezes) ou 5 g de MSG (3 vezes) na presença de alimentos (leite e cereais). Ambos os indivíduos responderam a apenas 1 das 3 administrações de MSG. Além disso, os sintomas descritos foram diferentes dos relatados nos ensaios anteriores (A-C). Geha *et al.* (2000) concluíram que quando um grupo de indivíduos autoidentificados sensíveis ao MSG é solicitado a mostrar reprodutibilidade dos diferentes sintomas que eles mesmos relatavam, nenhum consegue fazê-lo.

Nas suas conclusões da avaliação sobre a segurança do MSG, a FASEB e FDA não consideraram a existência de uma subpopulação sensível e concordaram com a avaliação de segurança do JECFA e do Comitê Científico para Alimentos da Comissão da Comunidade Europeia (SCF) (Walker & Lupien, 2000).

Williams & Woessner (2009) realizaram uma revisão da literatura disponível sobre a provável participação do MSG em reações alérgicas mais comuns (asma, urticária e rinite), que fazem parte do “complexo de sintomas atribuídos ao MSG”. Os pesquisadores concluíram que, no caso específico da asma, a análise crítica dos métodos e das propostas experimentais apresentam limitações que impossibilitam concluir a existência dessa relação. Além disso, estudos com maior rigor científico (como aqueles que envolvem testes duplo-cego-placebo-controlado) demonstraram ser improvável que o consumo de MSG tenha papel participativo na asma, mesmo nos indivíduos identificados como sensíveis a esta substância.

Em contrapartida, muitos estudos que examinaram o provável papel da ingestão alimentar de MSG como agente causador de urticária (edema geralmente pruriginoso) e angioedema (inchaço localizado na derme ou submucosa), sugeriram a possibilidade de um caso raro, que provavelmente representa menos de 3% dos casos já relatados na literatura (Bush & Montalbano, 2014). Entretanto, a qualidade da evidência que sustenta essa relação está longe da ideal. A evidência de que o MSG é agente causador de rinite está limitada a dois relatos na literatura científica. Resumindo, é essencial mencionar que a evidência científica atual não indica que o MSG participe do aparecimento de asma, urticária, angioedema ou rinite (Williams & Woessner, 2009).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O MSG é um sal do ácido glutâmico e é utilizado mundialmente como aditivo alimentar pela indústria alimentícia, com a finalidade de realçar o sabor e auxiliar na redução de sódio em alimentos. Todos os sais deste aminoácido se dissociam em solução aquosa. Portanto, o glutamato presente nas soluções é o mesmo glutamato livre presente naturalmente nos alimentos (como queijos, carnes, tomates etc.).

No corpo humano, o glutamato proveniente da dieta, tanto na sua forma natural (encontrado nos alimentos) quanto adicionado como aditivo alimentar é, na sua maior parte, metabolizado no próprio trato gastrointestinal. O glutamato possui toxicidade aguda muito baixa. Quando administrado por via oral, a DL_{50} (dose letal para 50% dos animais testados) em ratos e camundongos é de, aproximadamente, 13-19 g/kg p.c.

Estudos de toxicidade subcrônica e crônica, com duração de até dois anos em ratos e camundongos, incluindo a fase reprodutiva, não revelaram nenhum efeito adverso específico quando o MSG foi administrado na dieta em até 4,0%. Pesquisas de dois anos em cães, com 10% de MSG na dieta, não revelaram nenhum efeito no ganho de peso, peso dos órgãos, alterações clínicas, mortalidade ou comportamento em geral. Na avaliação de segurança realizada pelo JECFA, o Comitê concluiu que a ingestão dietética total de sais de ácido glutâmico, decorrentes do seu uso como aditivo alimentar em níveis necessários para atingir o efeito tecnológico desejado e de sua aceitabilidade em alimentos, não representa um risco para a saúde. Portanto, a expressão de um valor numérico para IDA não foi considerada necessária e, assim, foi atribuído para sais de ácido glutâmico (sais de monossódio, potássio, cálcio e amônio) uma IDA “não especificada”. O JECFA também verificou que não haveria necessidade de restrições para mulheres grávidas e crianças, mas mantiveram a posição colocada nas outras avaliações realizadas, que aditivos alimentares, em geral, não devem ser consumidos por neonatos, antes de doze semanas de idade.

O SCF, em 1991, chegou à mesma conclusão do JECFA, atribuindo para sais de ácido glutâmico uma IDA “não especificada” (Walker & Lupien, 2000). Todavia, em 1995, uma diretiva da Comunidade Europeia (EC, 95) sobre aditivos alimentares fixou um limite de uso de 10 g/kg para L-glutamato, individualmente ou em combinação com ácido glutâmico e seus sais presentes nos produtos alimentícios, com exceção de alimentos não processados, alimentos para bebês (para os quais, o uso do glutamato e seus sais não é permitido) e temperos e

especiarias, fato que foi mantido na Resolução 1.333/2008 (EC, 2008). Além disso, em 2017, como resultado da reavaliação do uso seguro do glutamato e seus sais, como aditivos alimentares, a ANS/EFSA recomendou uma IDA de grupo de 30 mg/kg p.c., expressa como ácido glutâmico (Mortensen *et al.*, 2017).

A FASEB publicou, em 1995, a avaliação realizada sobre reações adversas ao MSG e concluiu que, embora haja evidências científicas comprovadas de efeitos adversos em alguns indivíduos sensíveis a doses elevadas de glutamato, não há documentação suficiente para indicar que existe um subgrupo de indivíduos saudáveis que apresentam reações adversas ao MSG. O subgrupo que responde às manifestações do conjunto de sintomas relacionados ao MSG, geralmente responde dentro de 1 hora de exposição, quando exposto a uma dose oral de 3,0 g de MSG na ausência de alimento (Anderson & Raiten, 1992).

O FDA adotou as conclusões da FASEB com relação ao complexo de sintomas, salientando que há diferenças em testes onde o MSG é administrado em cápsulas ou em soluções, na ausência ou na presença de alimentos. O FDA também concluiu que não há evidência de que o glutamato livre, presente naturalmente em alimentos ou adicionado a dieta, cause danos degenerativos a células nervosas em longo prazo. O FDA também considerou as conclusões do relatório da FASEB coerentes com as avaliações de segurança feitas por outras organizações competentes (incluindo o JECFA e SCF), que afirmaram a segurança do MSG nos níveis normalmente consumidos pela população em geral. Assim, o FDA considera o MSG como um ingrediente alimentar, como o sal e o açúcar. Tal como esses ingredientes, o MSG também não pode ser usado em excesso, pois seu uso é autolimitante. Se utilizado em excesso, não melhora o sabor dos alimentos e, ao contrário, o piora (Beyreuther *et al.*, 2007; Jinap & Hajeb, 2010).

Assim, considerando todas as avaliações realizadas por comitês científicos, órgãos e agências de regulamentação, pode-se concluir que o uso do MSG como aditivo alimentar é seguro, se utilizado na quantidade necessária para obter efeito tecnológico desejado e conforme as boas práticas de produção de alimentos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIROLDI, L. *et al.* "Glutamic acid and sodium levels in the nucleus arcuatus of the hypothalamus of adult and infant rats after oral monosodium glutamate". *Toxicology Letters*. 3(3): 121-126, 1979.

ALLEN, D. H.; DELOHERY, J. & BAKER, G. “Monosodium L-glutamate-induced asthma”. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 80(4): 530-537, 1987.

ANDERSON, S. A. & RAITEN, D. J. (ed.). *Safety of amino acids used as dietary supplements*. Bethesda, FASEB, 1992. Disponível em https://www.faseb.org/Portals/2/PDFs/LSRO_Legacy_Reports/1992_Safety_Amino_Acids_Used_As_Dietary_Supplmnts.pdf. Acesso em 15/1/2020.

ARBOGAST, L. A. & VOOGT, J. L. “Sex-related alterations in hypothalamic tyrosine hydroxylase after neonatal monosodium glutamate treatment”. *Neuroendocrinology*. 52(5): 460-467, 1990.

BARLOW, S. *et al.* “Hazard identification by methods of animal-based toxicology”. *Food and Chemical Toxicology*. 40(2-3): 145-191, 2002.

BEYREUTHER, K. *et al.* “Consensus meeting: monosodium glutamate - an update”. *European Journal of Clinical Nutrition*. 61(3): 304-313, 2007.

BLONDE, G. D. & SPECTOR, A. C. “An examination of the role of L-glutamate and inosine 5'-monophosphate in hedonic taste-guided behavior by mice lacking the T1R1 + T1R3 receptor”. *Chemical Senses*. 42(5): 393-404, 2017.

BRASIL. “Resolução - RDC n.1, de 2 de janeiro de 2001. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico que aprova o uso de aditivos com a função de realçadores de sabor, estabelecendo seus limites máximos para os alimentos”. *Diário Oficial da União*. 2001. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolucao_RDC_n1_de_02_de_janeiro_de_2001.pdf/f3ce5586-b054-4a0a-8762-10d7db6d1789. Acesso em 2/2/2020.

BROSNAN, J. T. “Glutamate, at the interface between amino acid and carbohydrate metabolism”. *The Journal of Nutrition*. 130(4): 988S-990S, 2000.

BROSNAN, M. E. & BROSNAN, J. T. “Hepatic glutamate metabolism: a tale of 2 hepatocytes”. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 90(3): 857S-861S, 2009.

BURRIN, D. G. & STOLL, B. “Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut”. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 90(3): 850S-856S, 2009.

BUSH, R. K. & MONTALBANO, M. “Asthma and food additives. Chapter 27”. In: METCALFE, D. D. *et al.* (ed.). *Food allergy: adverse reactions to foods and food additives*. Fifth Edition, Chichester, John Wiley & Sons Ltd., 2014, pp. 341-345.

CETIN, I. “Amino acid interconversions in the fetal-placental unit: the animal model and human studies *in vivo*”. *Pediatric Research*. 49(2): 148-154, 2001.

CHANDRASHEKAR, J. *et al.* “The receptors and cells for mammalian taste”. *Nature*. 444 (7117): 288-294, 2006.

DAABEES, T. T. *et al.* “Correlation of glutamate plus aspartate dose, plasma amino acid concentration and neuronal necrosis in infant mice”. *Food and Chemical Toxicology*. 23(10): 887-893, 1985.

DAWSON, R. “Acute and long lasting neurochemical effects of monosodium glutamate administration to mice”. *Neuropharmacology*. 22(12A): 1417-1419, 1983.

DE GROOT, A. P.; FERON, V. J. & IMMEL, H. R. “Induction of hyperplasia in the bladder epithelium of rats by a dietary excess of acid or base: implications for toxicity/carcinogenicity testing”. *Food and Chemical Toxicology*. 26(5): 425-434, 1988.

EC. “European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners”. 1995. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1995L0002:20060815:EN:PDF>. Acesso em 2/2/2020.

EC. “Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. 2008”. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&from=EN>. Acesso em 2/2/2020.

FDA, Food and Drug Administration. “Report on monosodium glutamate for review by Food Protection Committee, NAS/NRC”. In: Apud - JECFA - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1988). “L-glutamic acid and its ammonium, calcium, monosodium and potassium salts”. WHO - World Health Organization (ed.). 1969. Disponível em <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v22je12.htm>. Acesso em 2/2/2020.

FDA, Food and Drug Administration. “GRAS Substances (SCOGS) Database”. 2018. Disponível em <https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/scogs/default.htm>. Acesso em 2/2/2020.

GEHA, R. S. *et al.* “Multicenter, double-blind, placebo-controlled, multiple-challenge evaluation of reported reactions to monosodium glutamate”. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 106(5): 973-980, 2000.

HAWKINS, R. A. “The blood-brain barrier and glutamate”. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 90(3): 867S-874S, 2009.

HAŮS, S. P. *et al.* “Dietary glutamate is almost entirely removed in its first pass through the splanchnic bed in premature infants”. *Pediatric Research*. 62(3): 353-356, 2007.

HERMANUSSEN, M. *et al.* “Obesity, voracity and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite”. *European Journal of Clinical Nutrition*. 60(1): 25-31, 2006.

HEYWOOD, R.; JAMES, R. W. & WORDEN, A. N. “The *ad libitum* feeding of monosodium glutamate to weanling mice”. *Toxicol. Lett.* 1(3): 151-155, 1977.

HOLZMAN, I. R. *et al.* “Uterine uptake of amino acids and placental glutamine--glutamate balance in the pregnant ewe”. *Journal of Developmental Physiology*. 1(2): 137-149, 1979.

IMADA, T. *et al.* “Supplementing chicken broth with monosodium glutamate reduces energy intake from high fat and sweet snacks in middle-aged healthy women”. *Appetite*. 79: 158-165, 2014.

IWANAGA, T.; GOTO, M. & WATANABE, M. “Cellular distribution of glutamate transporters in the gastrointestinal tract of mice: an immunohistochemical and in situ hybridization approach”. *Biomedical Research*. 26(6): 271-278, 2005.

JANECZKO, M. J. *et al.* “Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs”. *The Journal of Nutrition*. 137(11): 2384-2390, 2007.

JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. “Evaluation of food additives: specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some extraction solvents and certain other substances; and a review of the technological efficacy of some antimicrobial

agents”. *Fourteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Geneva, 1971. Disponível em https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40848/WHO_TRS_462.pdf;jsessionid=8A7F9685E9E-54180C3AFE5B97D88676E?sequence=1. Acesso em 2/2/2020.

JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. “Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications”. *Seventeenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Geneva, 1974. Disponível em https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41072/WHO_TRS_539.pdf?sequence=1. Acesso em 2/2/2020.

JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. “L-glutamic acid and its ammonium, calcium, monosodium and potassium salts”. In: *WHO - World Health Organization* (ed.). 22nd ed. New York, Cambridge University Press, 1988. pp. 97-161. Disponível em <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v22je01.htm>. Acesso em 2/2/2020.

JINAP, S. & HAJEB, P. “Glutamate. Its applications in food and contribution to health”. *Appetite*. 55(1): 1-10, 2010.

KURIHARA, K. “Umami the fifth basic taste: history of studies on receptor mechanisms and role as a food flavor”. *BioMed Research International*. 2015:189402, 2015.

KWOK, R. H. “Chinese-restaurant syndrome”. *The New England Journal of Medicine*. 278(14): 796, 1968.

LUSCOMBE-MARSH, N. D.; SMEETS, A. J. P. G. & WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. “The addition of monosodium glutamate and inosine monophosphate-5 to high-protein meals: effects on satiety, and energy and macronutrient intakes”. *British Journal of Nutrition*. 102(06): 929, 2009.

MALULY, H. D. B.; ARISSETO-BRAGOTTO, A. P. & REYES, F. G. R. “Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: Technological and safety aspects”. *Food Sci. Nutr*. 5(6): 1039-1048, 2017.

MONNO, A. *et al.* “Extracellular glutamate levels in the hypothalamus and hippocampus of rats after acute or chronic oral intake of monosodium glutamate”. *Neuroscience Letters*. 193(1): 45-48, 1995.

MORTENSEN, A. *et al.* “Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives”. *EFSA Journal*. 15(7), 2017.

NAGATA, M. *et al.* “Type 2 diabetes mellitus in obese mouse model induced by monosodium glutamate”. *Experimental Animals*. 55(2): 109-115, 2006.

OHARA, I. & NAIM, M. “Effects of monosodium glutamate on eating and drinking behavior in rats”. *Physiology & Behavior*. 19(5): 627-634, 1977.

OLNEY, J. W. “Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus. An electron microscopic study”. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 30(1): 75-90, 1971.

OWEN, G. *et al.* “The feeding of diets containing up to 4% monosodium glutamate to rats for 2 years”. *Toxicology Letters*. 1: 221-226, 1978.

RAITEN, D. J.; TALBOT, J. M. & FISHER, K. D. (ed.). “Executive summary from the report: analysis of adverse reactions to monosodium glutamate (MSG)”. *The Journal of Nutrition*. 125(11): 2891S-2906S, 1995. Disponível em <https://doi.org/10.1093/jn/125.11.2891S>. Acesso em 26/3/2020.

RATNER, D.; ESHEL, E. & SHOSHANI, E. “Adverse effects of monosodium glutamate: a diagnostic problem”. *Israel Journal of Medical Sciences*. 20(3): 252-253, 1984.

REEDS, P. J. *et al.* “Intestinal glutamate metabolism”. *The Journal of Nutrition*. 130(4): 978S-982S, 2000.

SHIBATA, M. A. *et al.* “Lack of carcinogenicity of monosodium l-glutamate in Fischer 344 rats”. *Food and Chemical Toxicology*. 33(5): 383-391, 1995.

STEGINK, L. D. *et al.* “Comparative metabolism of glutamate in the mouse, monkey and man”. In: FILER, L. J. *et al.* (ed.). *Glutamic acid: Advances in Biochemistry and Physiology*. New York, Raven Press, 1979, pp. 5-102.

STEGINK, L. D. *et al.* “Monosodium glutamate metabolism in the neonatal monkey”. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 229(1): 246-250, 1975.

STEGINK, L. D.; FILER, L. J. & BAKER, G. L. “Plasma amino acid concentrations in normal adults fed meals with added monosodium L-glutamate and aspartame”. *The Journal of Nutrition*. 113(9): 1851-1860, 1983.

STEGINK, L. D.; FILER, L. J. & BAKER, G. L. "Plasma glutamate concentrations in adult subjects ingesting monosodium L-glutamate in consommé". *The American Journal of Clinical Nutrition*. 42(2): 220-225, 1985.

TUNG, T.C. & TUNG, K. S. "Serum free amino acid levels after oral glutamate intake in infant and adult humans". *Nutr Rep Int*. 22: 431-443, 1980.

VAN BEVER, H. P.; DOCX, M. & STEVENS, W. J. "Food and food additives in severe atopic dermatitis". *Allergy*. 44(8): 588-594, 1989.

WALKER, R. & LUPIEN, J. R. "The safety evaluation of monosodium glutamate". *The Journal of Nutrition*. 130(4): 1049S-1052S, 2000.

WILLIAMS, A. N. & WOESSNER, K. M. "Monosodium glutamate 'allergy': menace or myth?". *Clinical & Experimental Allergy*. 39(5): 640-646, 2009.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. "Umami and food palatability". *The Journal of Nutrition*. 130(4S Suppl): 921S-926, 2000.

YANG, W. H. *et al.* "The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study". *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 99(6 Pt 1): 757-762, 1997.

YU, T. *et al.* "Effects of maternal oral administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy on developing mouse fetal brain". *Brain Research*. 747(2): 195-206, 1997.

ZANFIRESCU, A. *et al.* "A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate". *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 18(4): 1111-1134, 2019.

PARTE V
ASPECTOS SENSORIAIS

GOSTO, SABOR E PERCEPÇÕES SENSORIAIS

*Helena Maria Andre Bolini
Maria Aparecida Pereira da Silva*

Conceitualmente, gosto e sabor são percepções distintas, sendo incorreto utilizá-las como palavras sinônimas. O gosto origina-se nos receptores específicos da gustação (os quais são quimiorreceptores) nos quais a percepção de gosto é originada, estando presentes nas células gustativas que juntamente com células de suporte formam uma estrutura denominada botão gustativo, o qual por sua vez fica inserido nas papilas gustativas localizadas na língua.

Ao contato de moléculas químicas dotadas de gosto com as células gustativas (quimiorreceptoras) são produzidos impulsos nervosos interpretados pelo cérebro como gosto (Thibodeau & Patton, 2012).

Existem quatro tipos de papilas gustativas na superfície da língua: as circunvaladas, as folhadas, as fungiformes e as filiformes.

As papilas circunvaladas, folhadas e fungiformes contêm botões gustativos com células gustativas as quais são estimuladas pelos compostos químicos dissolvidos na saliva, enquanto as filiformes possuem a função de auxiliar a movimentação e distinguir a textura dos alimentos no interior bucal durante o consumo (Thibodeau & Patton, 2012).

A sensibilidade às substâncias químicas que estimulam os receptores do gosto é determinada por fatores genéticos e pela exposição de indivíduos às substâncias existentes em sua dieta diária. Por essa razão, é relevante a participação dos pais na introdução de grande variedade de alimentos e experiências alimentares ricas e saudáveis para possibilitar a exposição e, conseqüentemente, construir a aceitação ao consumo de dietas saudáveis (Schwartz *et al.*, 2018).

Definindo e pontuando, a diferença entre gosto e sabor é possível de ser sintetizada da seguinte forma: gosto é a sensação originada pela presença de determinados compostos químicos dissolvidos na saliva, em contato com receptores específicos, localizados em estruturas altamente especializadas presentes no órgão da gustação, a língua. Até o presente momento, os gostos cientificamente reconhecidos são cinco: doce, salgado, amargo, ácido e umami. Já o sabor é a resposta complexa provocada pela percepção resultante da associação de três sensações simultâneas:

1. Gosto resultante do estímulo dos receptores gustativos a partir de compostos químicos presentes nos alimentos, dissolvidos na saliva.
2. Olfato resultante do estímulo das células olfativas pelos compostos voláteis presentes nos alimentos, via retronasal (por exemplo: frutal, amadeirado, floral, alcoólico, cítrico).
3. Sensações táteis de origem química (quimестese) que estimulam diretamente receptores de dor, tato e receptores térmicos da pele ou mucosas – no caso oral, nasal e dos olhos – por exemplo: o gelado provocado pelo mentol ou o ardor da capsaicina e/ou de natureza mecânica (somestese) que estimulam receptores sensoriais durante a movimentação dos músculos da língua e face em função da posição e movimento originados em função da textura do alimento, como por exemplo viscosidade e maciez (ASTM, 2019). As sensações táteis citadas também são denominadas por alguns autores como sensações trigeminais (Da Silva & Costa, 2007; Kandel *et al.*, 2000; Nelson & Cox, 2000; Lawless & Heymann, 1999), devido a que todos os receptores envolvidos são terminações nervosas do quinto par de nervos cranianos, denominado trigêmeo (Netter, 2015).

Além das sensações mencionadas, é importante citar a sensação de adstringência, uma vez que é propriedade amplamente encontrada nos alimentos que contêm compostos fenólicos os quais provocam a percepção dessa característica sensorial.

Alguns compostos fenólicos, provenientes de ingredientes ou vegetais, podem estar presentes em preparações com glutamato monossódico (MSG); por essa razão é relevante mencionar que a adstringência pode ser considerada resultante de quimестese e somestese, simultaneamente: a quimестese em razão do fenômeno da complexação e precipitação dos compostos fenólicos em contato com as proteínas ricas em prolina presentes na saliva, e a somestese em razão da estimulação dos receptores táteis, pelos precipitados formados, bem como pela aspereza e *secura* resultante da redução da água da saliva (Jiang *et al.*, 2014). Os sinais nervosos originados tanto em quimестese como em somestese são transmitidos ao cérebro através do quinto par de nervos cranianos (Engelen & Van Der Bilt, 2008), enquanto as sensações de gosto são transmitidas pelos nervos corda do tímpano e glossofaríngeo que são o sétimo e nono par de nervos cranianos, respectivamente.

O gosto faz parte do sentido do paladar, possuindo importância na vida e evolução humana, pois em razão da aceitação ou rejeição aos alimentos e em razão das concentrações de certas substâncias é possível escolher e consumir, ou não, certos alimentos, prevenindo a ingestão de prováveis substâncias tóxicas (como alcaloides extremamente amargos), ou rejeitar alimentos com concentrações inadequadas de ingredientes.

O gosto doce é uma característica intrínseca de alimentos ricos em açúcares, dos quais provém energia essencial ao organismo; o gosto umami é característico de nucleotídeos e aminoácidos; o gosto salgado assegura o balanço eletrolítico de nossa dieta; e os gostos ácido e amargo, de acordo com alguns autores (Chandrashekar *et al.*, 2006; Reed *et al.*, 2006; Herness & Gilbertson, 1999), podem ser sinais de alerta sobre a presença de compostos que podem ser perigosos ao organismo humano.

Os eventos iniciais da percepção do gosto ocorrem junto aos receptores sensoriais conhecidos por células gustativas ou células do gosto (*taste cells*). As células gustativas situam-se em estruturas especializadas conhecidas como botões gustativos, que apresentam a forma arredondada (Figura 13.1c). Cada botão gustativo contém entre 50 e 100 células gustativas, agrupadas em uma estrutura com diâmetro aproximado entre 20 e 40 μm e comprimento entre 40 e 60 μm . O sistema de classificação atual reconhece a existência de quatro tipos de células gustativas. Somente as células do tipo I, II e III são consideradas receptores sensoriais do gosto, sendo que as células do tipo IV são consideradas células basais que não interagem com os estímulos químicos dissolvidos na saliva. Embora as células gustativas apresentem diferenças entre si, alta similaridade existe entre

os botões gustativos (Herness & Gilbertson, 1999). Por sua vez, os botões gustativos podem ser encontrados nas papilas fungiformes, foliadas e circunvaladas da língua, e também no palato mole e epiglote.

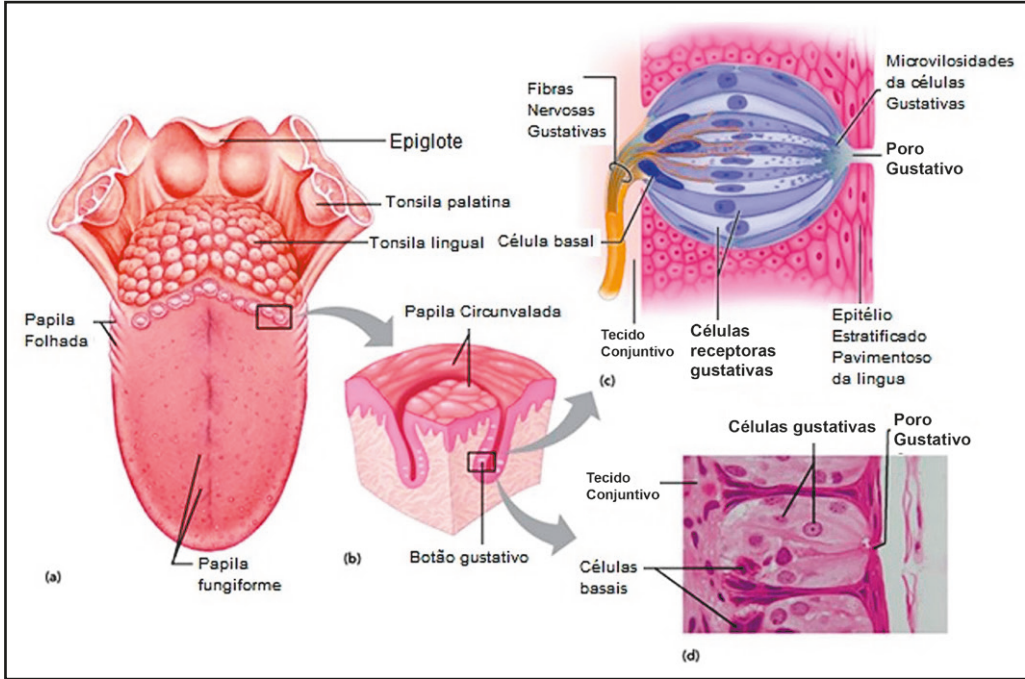


Figura 13.1 – Localização das papilas e estrutura dos botões gustativos na língua.

(a) papilas fungiformes, folhadas e circunvaladas, que são projeções na mucosa nas quais ficam localizados os botões gustativos. (b) papila circunvalada seccionada evidenciando a posição dos botões gustativos em suas paredes laterais. (c) detalhe em maior aumento de um botão gustativo ilustrando as células gustativas (receptoras do gosto) e basal. (d) fotomicrografia de um botão gustativo.

Fonte: Marieb & Hoehn, 2009.

Segundo Herness & Gilbertson (1999), 2/3 dos botões gustativos localizam-se nas papilas gustativas e 1/3 no palato mole e epiglote. As papilas filiformes, mais numerosas na língua humana, não contêm botões gustativos (Chandrashekar *et al.*, 2006; Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999; Guyton & Hall, 2015).

Um grande número de botões gustativos pode ser encontrado nas paredes das depressões que envolvem as papilas circunvaladas, que formam um “V” na parte posterior da língua (Figura 13.1a). Um número moderado de botões gustativos é encontrado nas papilas foliadas, localizadas nas dobras ao longo

das superfícies laterais da parte posterior língua. Finalmente, as papilas fungiformes, que possuem forma arredondada e situam-se na parte frontal da língua, contêm poucos botões gustativos (Chandrashekar *et al.*, 2006; Smith & Margolskee, 2001; Guyton & Hall, 2015).

Cada célula gustativa contém projeções similares a pequenos dedos, chamadas microvilosidades, que se projetam para fora do botão gustativo através de uma abertura chamada poro gustativo, a qual possui um diâmetro entre 5 e 7 μ (Marieb & Hoehn, 2009).

O sabor influencia o fator hedônico em relação a um alimento de forma extremamente importante. Portanto, é possível afirmar que a língua é uma estrutura fundamental na percepção sensorial dos alimentos, uma vez que nela se encontram os receptores dos gostos (quimiorreceptores) e de estímulos táteis (químio e mecanorreceptores), bem como faz parte da via pela qual os compostos voláteis chegam aos receptores olfatórios de forma retronasal.

A língua apresenta estruturas altamente especializadas para transformar estímulos químicos provenientes dos alimentos em respostas sensoriais. Essas estruturas são denominadas papilas gustativas, nas quais se encontram inseridos todos os botões gustativos. Conforme descrito anteriormente, existem quatro tipos de papilas gustativas: filiformes, fungiformes, circunvaladas e folhadas (Netter, 2015).

As papilas filiformes estão situadas em todas as regiões da parte superior da língua. Esse tipo de papila é o único que não apresenta botões gustativos, tendo função mecânica para movimentação do alimento durante o consumo. As papilas fungiformes são estruturas arredondadas e estão presentes na ponta e região média da língua e apresentam de nenhum até cinco botões gustativos. As papilas folhadas estão presentes nas laterais da língua e aparentam o formato de sulcos posicionados verticalmente como dobras em folhas. As papilas circunvaladas (ou valadas) se localizam na zona posterior da língua e são estruturas proeminentemente dispostas em forma de V (Figura 13.1).

A percepção do gosto inicia-se quando compostos químicos liberados do alimento, por intermédio da mastigação, dissolvem-se na saliva e entram em contato com as células gustativas. Assim, compostos químicos dissolvidos na saliva, como sacarose, cafeína etc., interagem com receptores específicos localizados nas células gustativas, desencadeando uma série de processos químicos e bioquímicos na célula, os quais, ao final, resultam em impulsos elétricos que são conduzidos até o cérebro, via rede de neurônios.

Cada um dos cinco gostos básicos é gerado através de um mecanismo bioquímico específico (Chandrashekar *et al.*, 2006; Reed *et al.*, 2006; Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999; Guyton & Hall, 2015), sendo que mamíferos podem reconhecer e responder a um grande número de compostos químicos como, por exemplo, açúcares, sais, ácidos, aminoácidos e ampla variedade de substâncias amargas, que podem ser tóxicas ou não.

É importante mencionar que durante muito tempo foi propagada a ideia de que a língua era dividida em regiões quanto à percepção gustativa (Tracy, 2018). Testes neurológicos foram desenvolvidos baseados na falsa premissa de que botões gustativos específicos para determinados sabores se concentravam em certas regiões da língua. No entanto, estudos comprovam que botões gustativos com células gustativas contendo os cinco tipos de receptores gustativos (doce, salgado, ácido, amargo e umami) encontram-se localizados aleatoriamente pelo dorso da língua e pelo palato, e se apresentam em menor número em outras regiões (Smith & Margolskee, 2001).

Neurotransmissores podem ser considerados como “mediadores químicos” utilizados por neurônios para comunicarem-se entre si. Neurônios vizinhos à célula do gosto recebem a “mensagem” transmitida e a transmitem para o cérebro através de uma cadeia de neurônios. Após a liberação dos neurotransmissores, as células do gosto liberam K^+ através de seus canais iônicos, retornando ao seu potencial inicial, próximo a -70 mV (Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999).

A Figura 13.2 ilustra a morfologia de uma célula do gosto, mostrando, em maior detalhe, as microvilosidades, os canais iônicos por onde Na^+ , K^+ e Ca^{++} entram e saem da célula, além da região sináptica da célula. É na região sináptica que a célula do gosto libera seus neurotransmissores que estimulam as fibras nervosas vizinhas.

A percepção do gosto salgado se inicia quando, durante a mastigação, por dissociação do cloreto de sódio ($NaCl$) na saliva, o íon sódio (Na^+) liberado entra na célula do gosto através dos canais iônicos seletivos (por tamanho e carga do íon) presentes nas microvilosidades (Herness & Gilbertson, 1999). Quando a célula do gosto não está estimulada, a diferença de potencial entre seu interior e exterior é aproximadamente igual a -70 mV. O acúmulo de Na^+ dentro da célula causa uma alteração eletroquímica na mesma, elevando essa diferença até a aproximadamente $+40$ mV, quando ocorre a chamada “despolarização” da membrana da célula. A despolarização leva à entrada de Ca^{++} na célula, o que, por sua vez, faz com que a célula libere neurotransmissores armazenados em vesículas (Figura 13.2c).

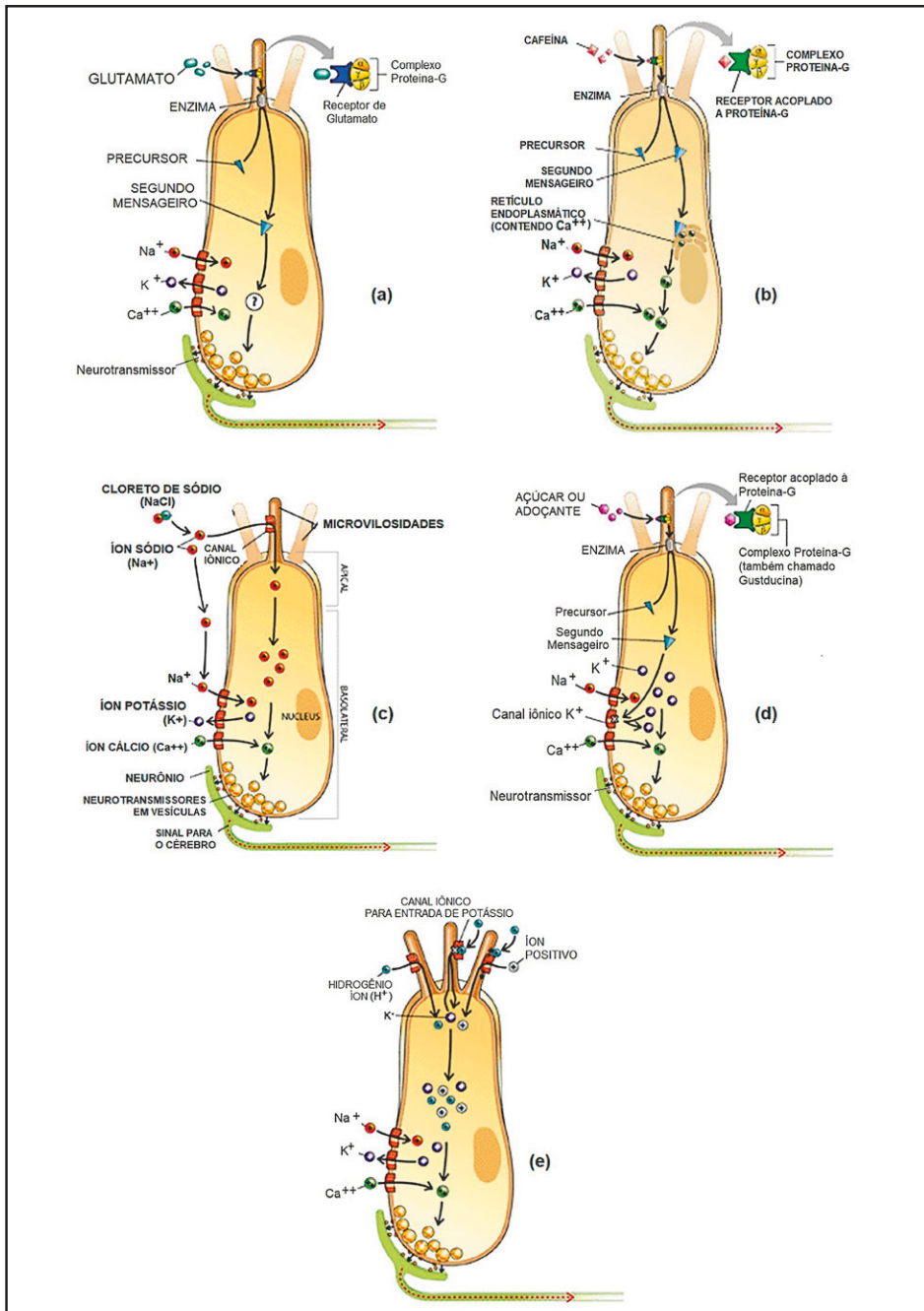


Figura 13.2 – Esquema ilustrativo de células gustativas evidenciando os receptores gustativos (a) umami, (b) amargo, (c) salgado, (d) doce e (e) ácido presentes em alimentos, dissolvidos na saliva.

Fonte: Smith & Margolskee, 2001.

A percepção do gosto ácido é provocada pelos íons H^+ liberados durante a mastigação dos ácidos presentes nos alimentos. Esses íons interagem com a célula do gosto de três formas distintas: i) entrando diretamente na célula do gosto através dos canais iônicos; ii) bloqueando os canais iônicos de K^+ situados nas microvilosidades e impedindo a saída desse íon; e iii) ligando-se e abrindo canais iônicos das microvilosidades, permitindo, assim, a entrada de íons positivos dentro da célula do gosto. Os três mecanismos mencionados aumentam a carga positiva da célula, levando-a a despolarização, liberação de neurotransmissores e transmissão dos “sinais” provocados pelo estímulo ácido até o cérebro (Figura 13.2e) (Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999).

O gosto doce decorre de um mecanismo ligeiramente diferente do anterior e, dado que por serem muito grandes, as moléculas de açúcares e outros edulcorantes não conseguem entrar na célula do gosto. Assim, açúcares e adoçantes artificiais dissolvidos na saliva durante a mastigação dos alimentos ligam-se a receptores específicos localizados nas microvilosidades da célula do gosto (Figura 13.2d). Esses receptores estão associados a proteínas G e, quando a molécula responsável pelo gosto doce se liga ao receptor, a subunidade alfa da proteína G dissocia-se do complexo, ativando dentro da célula uma enzima, a qual, então, transforma um precursor em um segundo mensageiro que, por sua vez, bloqueia os canais de potássio, impedindo a saída desse íon da célula do gosto. Isso aumenta a carga positiva da célula, levando-a à despolarização, liberação de neurotransmissores e transmissão dos “sinais” provocados pelo estímulo até o cérebro. O nome proteína G deriva-se do fato que a atividade dessas proteínas é regulada pela guanosina trifosfato (GTP). Em 1992, um grupo de pesquisadores identificou proteínas G em sítios receptores da célula do gosto e lhe atribuíram o nome de *Gustducin* (Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999).

Mecanismo similar ao descrito anteriormente para o gosto doce, ocorre para o gosto amargo. A diferença é que quando substâncias como cafeína, quinino etc. dissolvidas na saliva interagem com a proteína G do receptor da célula do gosto, o segundo mensageiro provoca a liberação de íons cálcio do retículo endoplasmático da célula. Isso aumenta a carga positiva da célula, levando-a à despolarização, liberação de neurotransmissores e transmissão dos “sinais” provocados pelo estímulo ácido até o cérebro (13.2b).

De acordo com Van den Oord & Van Wasenaar (1997), o gosto umami é uma sensação induzida por L-glutamato (MSG) e ribonucleotídeos monossódicos: inosina-5'-monofosfato (IMP) e guanosina-5'-monofosfato (GMP). Esse gosto é

descrito como “agradável, saboroso” e as moléculas de umami são usadas como realçadores de sabor dos alimentos.

Estudos realizados por Wang *et al.* (2015) evidenciam que os aminoácidos acídicos, bem como alguns oligopéptidos contendo resíduos ácidos, também apresentam o gosto umami. Quando alguns aminoácidos, como o glutamato, associados ao gosto umami ligam-se à proteína G dos receptores da célula do gosto, o segundo mensageiro é ativado (Figura 13.2a). Porém, as etapas intermediárias que levam à liberação dos neurotransmissores ainda precisam ser totalmente elucidadas.

Em mamíferos, a percepção dos gostos colabora de forma importante na avaliação e no consumo de nutrientes, evitando substâncias tóxicas e materiais indigestos. Tipos distintos de células que expressam receptores únicos detectam cada um dos cinco sabores básicos: salgado, ácido, amargo, doce e umami. Os últimos três gostos mencionados são detectados por duas famílias distintas de receptores acoplados à proteína G: T2Rs e T1Rs. Esses receptores gustativos foram encontrados em outros tecidos além da língua, como no sistema digestivo, no sistema respiratório, no cérebro, testículos e espermatozoides. Todavia, as implicações funcionais dos receptores gustativos distribuídos pelo corpo são desconhecidas.

As informações mais recentes sobre mecanismo de percepção de gosto umami são relatados por Dang *et al.* (2019) que citam que existem interações sinérgicas entre peptídeos que desencadeiam a percepção do gosto umami e o MSG, não havendo ainda a elucidação sobre os mecanismos de interpretação dessas interações. Os autores concluíram que houve efeito sinérgico e consequente aumento da intensidade para 36 peptídeos que apresentavam gosto umami, na presença de MSG, quando entravam em contato com o receptor gustativo T1R1/T1R3. Os autores utilizaram um novo modelo bivariado para o acoplamento molecular e simulação cinética com T1R1/T1R3, tendo sido verificados resultados com a mesma tendência quando realizados em “língua eletrônica”. Através da análise de uma modelagem de homologia de T1R1/T1R3 por *Discovery Studio* (DS, version 2.1), foi possível esclarecer a relação entre a estrutura e a intensidade dos peptídeos umami e fornecer uma referência teórica para as interações dos receptores gustativos e alimentos com compostos que apresentam gosto umami (Dang *et al.*, 2019).

Na natureza, até agora são conhecidas três substâncias que evocam o gosto umami: glutamato monossódico (MSG), guanosina-5'-monofosfato (GMP) e inosina-5'-monofosfato (IMP) (Kurihara & Kashiwayanagi, 2000). No homem,

grande sinergismo ocorre entre MSG e IMP ou GMP. Por exemplo: uma solução contendo 0,5 mmol/L de GMP ou uma solução contendo 1,5 mmol/L de MSG, praticamente não possuem nenhum gosto umami; entretanto, ao misturarem-se essas duas soluções, obtêm-se uma solução com forte gosto umami (Kuninaka, 1967; Kurihara & Kashiwayanagi, 2000).

Há muitos anos os cientistas alternam opiniões entre duas teorias que explicam a percepção dos diferentes gostos básicos: a do “código específico” (*specificity coding*, ou *labeled line coding*) e a do “padrão de atividade entre neurônios” (*across-fiber patterning*). Segundo a teoria do “código específico”, existem fibras nervosas ou neurônios “sintonizados” para responder a somente uma única classe de substâncias (edulcorantes, sais, ácidos etc.) e, assim, apresentam atividade para somente um tipo de gosto (doce, salgado, ácido etc.). A segunda teoria, intitulada “padrão de atividade entre neurônios”, a mais amplamente aceita nas últimas décadas, propõe que todos os neurônios respondem a todas as substâncias que promovem gosto (açúcares, ácidos etc.); entretanto, alguns neurônios respondem mais fortemente a certa classe de substâncias, como por exemplo, açúcares, e mais fracamente a outras, como por exemplo, ácidos. Assim, pela teoria do “padrão de atividade entre neurônios”, cada substância gera um padrão de ativação neuronal distinto, permitindo ao cérebro, por exemplo, diferenciar o gosto doce associado a diferentes substâncias, bem como os diferentes tipos de gosto associados a diferentes substâncias (Chandrashekar *et al.*, 2006; Reed *et al.*, 2006; Erickson, 2000; Smith & St. John, 1999; Herness & Gilbertson, 1999; Goldstein, 1989).

Uma informação enganosa, mas infelizmente muito citada em livros textos, refere-se ao “Mapa da Língua”, que propõe existir na língua regiões que apresentam grandes diferenças entre si, com relação à sensibilidade aos gostos básicos. Há muitos anos os cientistas sabem que esse conceito é errado. Embora alguns experimentos tenham demonstrado ligeiras diferenças de sensibilidade ao longo da língua e palato, especialmente em roedores, nenhum demonstrou as grandes diferenças de sensibilidade proposta pelo “Mapa da Língua”. De fato, os cinco gostos básicos podem ser percebidos em todas as regiões da língua que possuem botões gustativos, inclusive o palato mole (Chandrashekar *et al.*, 2006; Reed *et al.*, 2006; Smith & Margolskee, 2001). Essa importante informação evidencia que um indivíduo, ao realizar uma análise sensorial ou mesmo a experimentação de um alimento deve permitir o contato do mesmo por toda superfície bucal para, assim, possibilitar uma experiência de maior abrangência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM. “E253-19 Standard terminology relating to sensory evaluation of materials and products”. West Conshohocken, 2019.
- CHANDRASHEKAR, J. *et al.* “The receptors and cells for mammalian taste”. *Nature*. 444(16): 288-94, 2006.
- DA SILVA, M. A. A. P. & COSTA, F. “Sensory: Human biology and physiology”. In: NOLLET, L. M. L. *Handbook of meat poultry and seafood quality*. Oxford, Blackwell Publishing, 2007, p. 45-59.
- DANG, Y. *et al.* “Molecular docking and simulation of the synergistic effect between umami peptides, monosodium glutamate and taste receptor T1R1/T1R3”. *Food Chemistry*. 271: 697-706, 2019.
- ENGELEN, L. & VAN DER BILT, A. “Oral physiology and texture perception of semisolids”. *Journal of Texture Studies*. 39: 83-113, 2008.
- ERICKSON, R. P. “The evolution of neural coding ideas in the chemical senses”. *Physiol Behav*. 69(1-2): 3-13, 2000.
- GOLDSTEIN, E. B. *Sensation and perception*. Belmont, Wadsworth Publishing Company, 1989, p. 496-525.
- GUYTON, A. & HALL, J. *Tratado de fisiologia médica*. Tradução da 13. ed. Rio de Janeiro, Elsevier Editora Ltda, 2015, p. 1264.
- HERNESS, M. S. & GILBERTSON, T. A. “Cellular mechanisms of taste transduction”. *Annu Rev Physiol*. 61: 873-900, 1999.
- JIANG, Y.; GONG, N. N. & MATSUNAMI, H. “Astringency: a more stringent definition”. *Chem. Senses*. 39(6): 467-469, 2014.
- KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H. & JESSELL, T. M. “Smell and taste: The chemical senses”. *Principles of neural science*. New York, McGraw-Hill, 2000, pp. 625-647.
- KURIHARA, K. & KASHIWAYANAGI, M. “Physiological studies on umami taste”. *J Nutrit*. 130(Supl4S): 931-934, 2000.

KUNINAKA, A. "A flavor potentiator". In: SCHULTS, H. W.; DAY, E. A. & LIBBEY, L. M. *The chemistry and physiology of flavors*. Westport, AVI Publication, 1967, pp. 517-535.

LAWLESS, H. & HEYMANN, H. *Sensory evaluation of food: principles and practices*. New York, Springer, 1999, p. 596.

MARIEB, E. & HOEHN, K. *Anatomia e fisiologia*. 3. ed. Porto Alegre, Artmed, 2009, p. 1072.

NELSON, D. L. & COX, M. M. "Biosignaling". In: LEHNINGER, A. L. *Principles of biochemistry*. 3. ed. New York, Worth Publishers, 2000, pp. 437-483.

NETTER, F. *Atlas de fisiologia humana*. 6. ed. Rio de Janeiro, Elsevier Editora Ltda., 2015, p. 564.

REED, D. R.; TANAKA, T. & MCDANIEL, A. H. "Diverse tastes: genetics of sweet and bitter perception". *Psychol Behav*. 88(3): 215-226, 2006.

SCHWARTZ, C. *et al.* "Behavioral and physiological determinants of food choice and consumption at sensitive periods of the life span, a focus on infants and elderly". *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 46: 91-106, 2018.

SMITH, D. V. & ST JOHN, S. J. "Neural coding of gustatory information". *Curr Opin Neurobiol*. 9(4): 427-435, 1999.

SMITH, D. V. & MARGOLSKEE, R. F. "Making sense of taste". *Science American*. 284(3): 32-39, 2001.

THIBODEAU, G. A. & PATTON, K. T. *Structure and function of the body*. 14. ed. St Louis, Elsevier Mosby, 2012.

TRACY, S. E. "Delicious molecules: big food science, the chemosenses, and umami". *The Senses and Society*. 13(1): 89-107, 2018.

VAN DEN OORD, A. H. A. & VAN WASSENAAR, P. D. "Umami peptides: assessment of their alleged taste properties". *Lebensm Unters Forsch*. 205: 125-130, 1997.

WANG, L. *et al.* "Enhancement of umami taste of hydrolyzed protein from wheat gluten by β -cyclodextrin". *Journal of Science and Food Agriculture*. 96: 4499-4504, 2015.

ASPECTOS SENSORIAIS DO UMAMI

*Elba Sangronis
Helena Maria Andre Bolini*

1. INTRODUÇÃO

Os fatores que influenciam a escolha dos alimentos em humanos são inúmeros, sendo o sabor um dos fatores determinantes por desencadear a complexa sensação de prazer (fator hedônico) durante o consumo dos mesmos.

Os aspectos psicológicos, sociais, econômicos e sensoriais desempenham fator decisivo na escolha dos alimentos (Bellisle, 2009).

Autores relatam que a escolha de um alimento em detrimento a outro está intimamente relacionada às características sensoriais (Mela, 2001).

O conhecimento de tais determinantes do consumo alimentar é uma ferramenta importante para a prevenção e mudança de comportamentos de risco bem como para direcionamento de escolhas e hábitos alimentares saudáveis (Bellisle, 2009; Kessler *et al.*, 2019).

A língua dos mamíferos contém receptores gustativos para cada um dos cinco gostos básicos, propulsionando direcionamentos hedônicos que foram formados durante a evolução humana para informar o que deve ser ou não ingerido (Chikazoe *et al.*, 2019).

As preferências e as aversões alimentares, desenvolvidas durante a infância e adolescência, são determinadas pelas características sensoriais dos alimentos (Sclafani, 2004), e estão relacionadas às escolhas alimentares durante toda a vida (Bellisle, 2009; Mikkilä *et al.*, 2004, Bauer & Reisch, 2019).

A análise sensorial é mundialmente aplicada em estudos para obter informações sobre percepção e comportamento humano, e também como instrumento de medida de sensibilidade gustativa para analisar o comportamento alimentar em diversos estados fisiológicos e patológicos, podendo ser citados estudos realizados com portadores de doença celíaca (Alencar *et al.*, 2012), tabagistas e não tabagistas (Voorpostel *et al.*, 2014), diabéticos (Mello *et al.*, 2010) e atletas antes e após o exercício físico (Steinle *et al.*, 2005).

Na percepção dos alimentos estão envolvidos os cinco sentidos, e a gustação tem importância determinante na aceitação, escolhas e aceitação de alimentos, sendo, portanto, fundamental para a manutenção do equilíbrio do organismo saudável.

O ácido glutâmico e os 5'-ribonucleotídeos, especificamente o inosina-5'-monofosfato ou inosinato (IMP) e o guanosina-5'-monofosfato ou guanilato (GMP) estão presentes naturalmente ou são adicionados aos alimentos e na forma de sais, glutamato monossódico (MSG), inosinato e guanilato dissódico (IMP e GMP, respectivamente); estes acentuam seu sabor e intervêm de maneira muito importante em sua palatabilidade.

Esta percepção diferente, existente na presença dos compostos citados, foi descrita pelo Dr. Ikeda, em 1908, o qual a denominou umami, um termo japonês cuja tradução mais próxima quer dizer “saboroso”. Por essa razão umami é a palavra utilizada internacionalmente para se referir ao gosto dos compostos MSG, IMP ou GMP.

Por sua origem, tal termo é único e se associa a um sabor oriental que é muito familiar para os integrantes de tal cultura. O Dr. Ikeda o qualificou como uma percepção difícil de descrever com uma palavra.

Tanto os pesquisadores do mundo oriental como os do ocidental investigaram intensamente o umami e, no início do ano 2000, foi determinada a presença do primeiro receptor específico para o MSG e substâncias similares, localizado nos botões gustativos, o que consistiu em uma prova definitiva de que o umami é o quinto gosto básico, sendo os outros quatro os tradicionalmente conhecidos como salgado, ácido, doce e amargo. Tal descoberta revolucionou o mundo científico e também a indústria de alimentos, bem como a gastronomia e a enologia. Essa palavra de origem japonesa já é conhecida e utilizada pela comunidade

científica de todos os países. Entretanto, continuam as investigações para encontrar respostas para explicar outros aspectos relativos ao umami.

2. ASPECTOS SENSORIAIS DO UMAMI

Ao comentar os aspectos sensoriais relativos ao umami é necessário falar do sentido do gosto e seus receptores, dos limiares de percepção das substâncias que o estimulam e de como este pode mudar em presença de outros constituintes dos alimentos como o sal, as proteínas e os lipídios (Maga, 1987). Também é interessante comentar o efeito sinérgico observado em numerosos estudos que indicam a efetividade da adição de MSG, conjuntamente ao IMP e o GMP.

O umami, como conceito, é relativamente novo no mundo ocidental. Porém, essa propriedade, proveniente de alimentos, existe desde os tempos antigos e pode ser encontrada em caldos-base da cozinha europeia ou de molhos, nas apreciadas pizzas italianas, sopas japonesas ou sopas de ostras, entre inúmeros exemplos.

Os ocidentais descrevem essa sensação como saborosa, plena de sensações bucais ou simplesmente como um realçador de sabores.

O glutamato foi a primeira substância isolada da alga marinha *kombu* (*Laminaria japonica*), responsável pelo umami, o qual logo se produziu comercialmente como um tempero de comidas para torná-las mais apetitosas e saborosas, e que além de tudo torna a sensação bucal do alimento mais harmônica e completa.

Em 1913, o Dr. Kodama (Kodama, 1913) determinou que no peixe bonito também haviam outras substâncias responsáveis pelo umami; elas eram a inosina-5'-monofosfato (IMP) e depois determinou essa propriedade para outra substância, a guanosina-5'-monofosfato (GMP). Além disso, quando o MSG e os 5'-ribonucleotídeos se combinam são obtidos efeitos potencializados do gosto umami.

O fato de que uma substância ou uma mistura de substâncias ao ser adicionada a um alimento altera suas características sensoriais, por uma modificação na percepção dos sentidos, tem sido o alvo de muitas pesquisas científicas. Nesse sentido, a qualidade de uma percepção sensorial e sua duração ao longo do tempo têm sido estudadas. Assim, Yamaguchi & Kobori (1993) demonstraram que a percepção do gosto umami, na presença de MSG e IMP, é prolongada por mais tempo depois de se engolir o alimento que os contém, mesmo quando tais substâncias estão presentes em concentrações muito baixas.

O gosto residual pode ser parte do prazer de ingerir algum alimento, e as evidências provam que o umami é um gerador de gosto residual, não havendo

dúvida de que tanto o MSG como os 5'-ribonucleotídeos participam em proporcionar o prazer completo de uma refeição saborosa (Maga, 1987).

A sensibilidade das substâncias químicas que estimulam os receptores do gosto é determinada por fatores genéticos e pela exposição de indivíduos às substâncias existentes em sua dieta diária. Por essa razão é relevante a participação dos pais na introdução de grande variedade de alimentos e experiências alimentares ricas e saudáveis para possibilitar a exposição e conseqüentemente construir a aceitação ao consumo de dietas saudáveis (Schwartz, 2018).

Kobayashi & Kennedy (2002) divulgaram que os japoneses deveriam ser capazes de detectar a presença de MSG mais facilmente que um grupo de americanos e/ou europeus expostos ao MSG bem como outro grupo de indivíduos não expostos ao estímulo. Tal informação parece ser consistente uma vez que existe um mecanismo associado à habilidade para identificar o gosto umami como resultado da exposição desse composto na dieta, incluindo períodos curtos de exposição e a baixas concentrações de MSG. Ele explica que os indivíduos orientais são capazes de detectar umami a concentrações muito baixas. Entretanto, o mecanismo para explicar esse fato não está completamente claro. Portanto, é possível indicar que são necessários estudos com maior aprofundamento em áreas integradas como fisiologia, biologia molecular e ciência sensorial para que sejam elucidados esses mecanismos e que sejam obtidas essas respostas.

Há diferenças de sensibilidade entre indivíduos ante o MSG e os 5'-ribonucleotídeos. Lugaz *et al.* (2002) determinaram uma ageusia, ou seja, uma ausência de percepção ao L-glutamato em um grupo de indivíduos. Por razões genéticas, indivíduos podem perceber ou não o gosto. Uma sensação duradoura depois do consumo dos alimentos que contém glutamato também foi observada, corroborando estudos prévios (Maga, 1987).

Em 1985, no Primeiro Simpósio Sobre Umami (Ninomiya, 2002), foi relatado que, para que um gosto seja considerado básico, deve cumprir com certas características. Este deve ser claramente diferenciado de outros que já se conhecem, a qualidade desse gosto deve ser universal em todos os alimentos e deve ser verificável pela neurofisiologia como um gosto diferente dos existentes. Foi provado que o umami cumpre com essas premissas, pelo que se considera um gosto básico independente; foram estudados o comportamento e a eletrofisiologia em animais de experimentação e, para o glutamato, já se sabe que há um receptor proteico nos botões gustativos, o que indica haver um mecanismo de percepção em separado (Chaudhari *et al.*, 1996; Chaudhari *et al.*, 2000; Lindeman, 2001).

3. DIFERENÇAS ENTRE GOSTO E SABOR

Antes que o umami fosse reconhecido como um gosto básico, foram utilizados muitos termos para descrever a percepção, quando se dizia que o glutamato aumentava a amplitude ou que a sensação bucal era mais harmônica e que era um potencializador. Todos os termos usados eram uma expressão relacionada com o sabor, porém, não como um gosto básico.

Outros pesquisadores opinaram que o umami era a combinação de outros gostos básicos, porém, posteriormente, foi demonstrado que ele estava fora do tetraedro formado pelo gosto doce, amargo, ácido e salgado (Yamaguchi, 1987). Até então, não se havia demonstrado a existência de um mecanismo à parte na recepção do estímulo em estruturas celulares presentes nos botões gustativos e o umami não havia sido qualificado como um gosto nem como sabor (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). Entretanto, em muitos textos e literaturas encontram-se indistintamente citações do umami como o quinto sabor básico ou como quinto gosto básico. O correto é o segundo. Para entender melhor essa afirmação, é necessário recordar aspectos básicos de anatomia e fisiologia dos sentidos químicos, os quais são descritos a seguir.

4. PERCEPÇÃO DO SABOR

O sabor influencia aproximadamente 75% do fator hedônico de um alimento. Em sendo o sabor resultante da percepção simultânea do gosto, aroma e estímulos táteis, é possível afirmar que a língua é uma estrutura fundamental na percepção sensorial dos alimentos, uma vez que nela encontram-se os receptores dos gostos (quimiorreceptores) e de estímulos táteis (químico e mecanorreceptores) além de fazer parte da estrutura que serve de passagem para os compostos voláteis dos alimentos chegarem aos receptores olfatórios em via retro nasal.

A língua está situada entre as arcadas gengivo-dentárias, sob a região do palatino, sobre o piso bucal da região infra-hioidea e se insere no osso hioide, na mandíbula, no palato e na apófise estiloides. Mediante numerosos músculos, há uma grande mobilidade, que a permite interferir na mastigação, na deglutição e na fonação (Rouviere, 1999; Netter, 2014).

A língua é irregularmente ovalada, com simetria bilateral, alta em sua extremidade posterior, plana na sua face superior e inferior. Sua face dorsal, suas laterais, seu vértice e sua parte anterior da face inferior estão revestidos por um epitélio estratificado que contém projeções denominadas papilas gustativas.

Existem quatro tipos de papilas gustativas: filiformes, fungiformes, circunvaladas e folhadas (Netter, 2014).

As papilas filiformes estão situadas em todas as regiões da parte superior da língua. Esse tipo de papila é o único que não apresenta botões gustativos, tendo função mecânica para movimentação do alimento durante o consumo.

As papilas fungiformes são estruturas arredondadas e estão presentes na ponta e região média da língua e apresentam desde nenhum até cinco botões gustativos.

As papilas folhadas estão presentes nas laterais da língua, e aparentam o formato de sulcos posicionados verticalmente como dobras em folhas.

As papilas circunvaladas (ou valadas) se localizam na zona posterior da língua e são estruturas proeminentemente dispostas em forma de “V”. As papilas contêm os botões gustativos, estruturas encarregadas da percepção do gosto, os quais estão inervados por cerca de 50 fibras nervosas (Guyton & Hall, 2014).

O número de botões gustativos por papila é variável. Nas fungiformes podem existir até 5 botões, localizados na parte superior da mesma. As circunvaladas, que são maiores, podem conter até 100 botões gustativos. As pequenas papilas filiformes cônicas que cobrem o dorso da língua, não contêm botões gustativos. Estima-se um total aproximado de 10.000 botões gustativos (Rouviere, 1999; Marieb & Hoehn, 2009).

Cada botão gustativo é formado por até 4 tipos de células: células basais, células tipo 1 e 2, que são de sustentação, e células tipo 3, que são as células receptoras gustativas que estabelecem as conexões sinápticas com as fibras nervosas sensoriais. As células tipo 3 têm microvilosidades que se projetam no poro gustativo, que é uma abertura que as coloca diretamente em contato com a saliva e, portanto, com os elementos químicos dos alimentos. As bordas das células sustentaculares e das células gustativas estão conectadas entre si e com as células epiteliais circundantes mediante uniões fechadas. Isso resulta que a única parte das células receptoras gustativas que se expõem aos líquidos da cavidade bucal são suas microvilosidades.

As células receptoras do gosto, denominadas TRCs (sigla em inglês para *Taste receptor cells*), se encarregam de detectar substâncias químicas dos alimentos e enviam essas informações sensoriais ao cérebro através da ativação de sinapses específicas nas fibras nervosas do gosto (Bigiani, 2005). Porém, para que se produza essa sensação gustativa, é necessário que tais substâncias se dissolvam na saliva e entrem em contato com as microvilosidades das células

gustativas pertencentes aos botões gustativos. As sensações de gosto se agrupam em cinco categorias gerais, denominadas sensações primárias do gosto. Estas são: salgado, ácido, doce, amargo e umami. Os cinco gostos são sentidos em toda a língua. Também há sensibilidade para os 5 gostos básicos na faringe, palato e epiglote, pela presença de TRCs nessas áreas (Bigiani, 2005).

É amplamente aceito que a composição da saliva pode influenciar nas sensações do gosto. Os constituintes orgânicos e inorgânicos da saliva interagem de uma maneira pouco compreendida com os cinco gostos básicos. Foi determinado que a concentração de sódio, na saliva, altera a resposta a uma solução salina e também pode alterar a resposta de prazer produzida pela presença de MSG (Scinska-Bienkowska *et al.*, 2006).

Em síntese: gosto é a resposta de percepção sensorial que é originada pela presença de substâncias químicas dissolvidas na saliva, as quais, em contato com os receptores químicos ou canais iônicos, específicos de cada um dos cinco gostos (localizados nas células gustativas que formam os botões gustativos) presente na língua, provocando liberação do mediador químico (acetilcolina) na fenda sináptica, despolarizando a membrana do neurônio e levando o sinal eletroquímico até a área cerebral da decodificação do gosto, transformando-o na sensação gustativa.

Já o sabor, é a resposta complexa provocada pela percepção resultante da associação de três sensações simultâneas: 1) gosto resultante do estímulo dos receptores gustativos a partir de compostos químicos presentes nos alimentos, dissolvidos na saliva; 2) olfato resultante do estímulo das células olfativas pelos compostos voláteis presentes nos alimentos, via retronasal; e 3) sensações táteis de origem química (quimестese) que estimulam diretamente receptores de dor, tato e receptores térmicos da pele ou das mucosas – no caso, oral, nasal e ocular. Exemplificando: o gelado provocado pelo mentol ou o ardor da capsaicina e/ou de natureza mecânica (somestese) que estimulam receptores sensoriais durante a movimentação dos músculos da língua e face em função da posição e movimento originados em razão da textura do alimento, como a viscosidade e maciez (ASTM, 2018).

Muitos alimentos contêm compostos fenólicos que causam a percepção de adstringência podem estar presentes em preparações com MSG. Por essa razão, é importante mencionar que a adstringência pode ser considerada resultante tanto de quimестese como somestese. A quimестese, em razão do fenômeno da complexação e precipitação dos compostos fenólicos em contato com as proteínas ricas em prolina presentes na saliva (Jiang *et al.*, 2014), e a somestese, em

razão da estimulação dos receptores táteis, pelos precipitados formados, bem como pela aspereza resultante da redução da água da saliva.

Os sinais nervosos originados tanto em quimiestese como em somestese são transmitidos ao cérebro através do quinto par de nervos cranianos, denominado trigêmeo (Engelen & van der Bilt, 2008), enquanto as sensações de gosto são transmitidas pelos nervos corda do tímpano e glossofaríngeo, que são o sétimo e nono par de nervos cranianos, respectivamente.

5. RECEPTORES DO GOSTO UMAMI

Em estudos recentes, mediante a aplicação de técnicas de clonagem molecular, foi possível identificar os receptores para o glutamato. Eles incluem dois tipos pertencentes à família dos receptores acoplados à proteína G, denominados GPCRs (sigla em inglês para *G protein-coupled receptors*), “gosto-mGluR4” e os “heterômeros T1R1/T1R3” (Bigiani, 2005; Temussi, 2009).

Os receptores de glutamato foram classificados principalmente em dois grupos: receptores ionotrópicos e metabotrópicos. Nos primeiros, a união do glutamato e seu receptor resulta numa mudança conformacional que permite a passagem de cátions de cálcio e sódio através de um poro. Os receptores metabotrópicos, por outro lado, não são permeáveis a íons e estão acoplados a segundos mensageiros intracelulares por meio da proteína G. A seguir, se apresenta uma breve descrição dos receptores para os quais foi demonstrado que intervêm na percepção do umami.

5.1. Receptores gustativos-mGluR4

Antes da aplicação dos métodos moleculares, estudos eletrofisiológicos e de condução sugeriram que os receptores para o glutamato poderiam estar relacionados de alguma forma aos receptores de glutamato presentes no cérebro. As investigações em tecidos da língua de ratos conduziram a determinar a presença de receptores de glutamato denominados mGluR4 e que respondem à presença de MSG e dos 5'-ribonucleotídeos. Sua descoberta representou a prova para o mundo ocidental de que existe o gosto básico umami (Chaudhari *et al.*, 1996; Chaudhari *et al.*, 2000; Lindeman, 2001).

Além disso, foi determinado que vários receptores de glutamato ionotrópicos, como os iGluRs (receptores sinápticos do umami localizados na membrana das células receptoras gustativas) e os metabotrópicos (GPCRs), se encontravam presentes nos tecidos da língua em ratos. Os receptores metabotrópicos

são receptores acoplados à proteína G, cuja função é modular a produção de mensageiros secundários intracelulares, ou seja, que promovem a mediação em efeitos lentos do glutamato.

Diferente dos receptores ionotrópicos, a união de glutamato aos receptores metabotrópicos não ativa a abertura de um canal intrínseco e, sim, regula a transmissão sináptica e a excitabilidade neuronal através da ativação ou inibição de vários sistemas efetores acoplados à proteína G.

Estudos revelam que existem, ao menos, oito subtipos de receptores metabotrópicos de glutamato e estes, por sua vez, foram classificados em três grupos distintos, baseados em sua homologia de sequência, farmacologia e acoplamento a mecanismos de sinalização intracelular. Em sendo assim, é possível constatar que o primeiro grupo é composto pelo subtipo mGluR1 e mGluR5, o qual ativa uma fosfolipase C; enquanto que os membros do segundo (mGluR2 e mGluR3) e do terceiro grupo (mGluR4, mGluR7 e mGluR8) estão acoplados negativamente à adenilciclase (GMPC), o receptor mGluR6 está acoplado à ativação da GMPC fosfodiesterase.

Os receptores mGluR1 estão localizados, principalmente, na região pós-sináptica e nos limites das densidades pós-sinápticas, desde onde se regulam a atividade dos receptores de NMDA (N-metil-D-aspartato) e AMPA (ácido-alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-isoxosol-4-propiónico) e a excitabilidade do neurônio pós-sináptico. Os mGluR2 e mGluR3 estão localizados pré e pós-sinápticamente. Já os mGluR3 são encontrados também nas células gliais. O terceiro grupo é encontrado nas células ON bipolares, funcionando como autorreceptores pré-sinápticos.

Entretanto, foi demonstrado que só um receptor metabotrópico de glutamato, mGluR4, se expressa mediante as células receptoras nas papilas foliadas e circunvaladas. É importante destacar que no cérebro, o mGluR4 tem sensibilidade para o L-glutamato que é mais compatível com um receptor neurotransmissor, como um receptor de umami.

Através da clonagem do mGluR4 de tecidos do palato, foi possível conhecer a diferença substancial que existe entre o receptor mGluR4 localizado no cérebro e os mGluR4 localizados nas papilas, os quais são denominados mGluR4 gustativos para diferenciá-lo (Bigiani, 2005). Conforme mencionado anteriormente, conforme pesquisas iniciais realizadas em ratos, o receptor gustativo mGluR4 é encontrado nas terminações apicais das TRCs, nas papilas foliadas e circunvaladas. Observações imunocitoquímicas confirmaram que, nos botões gustativos de ratos, o mGluR4 gustativo é localizado exclusivamente no poro gustativo, ou

seja, onde se encontra a membrana de TRCs, o que dá suporte à hipótese de que o mGluR4 gustativo atua como um receptor de umami.

Os receptores metabotrópicos do glutamato (mGluR) tipo I e II também originam sensação em humanos (Bigiani, 2005).

5.2. Receptores T1R1/T1R3

Estudos moleculares mais recentes evidenciam a presença de outro tipo de receptores, envoltos na detecção do umami. São receptores de aminoácidos pertencentes à família dos T1R's dos G, que constituem um pequeno grupo dos GPCRs (*G protein-coupled receptors*) (Zhao *et al.*, 2003).

Os TR1s definem duas populações de células do gosto na língua e palato, formadas pelos subgrupos T1R1, T1R2 e T1R3 que se combinam para gerar os heterômeros denominados T1R1/T1R3 e T1R2/T1R3 (também chamados T1R1+3 e T1R2+3), os quais constituem os receptores dos gostos umami e doce, respectivamente.

Os receptores T1R1/T1R3 interagem com os componentes químicos presentes nos alimentos e iniciam transmissões em cascata, culminando em uma liberação de neurotransmissores em que fibras de nervos aferentes do nervo gânglio cranial posteriormente liberam esse sinal através do tálamo aos centros do gosto corticais nos quais são realizados o processamento e integração da informação. Somente a combinação de T1R1 com T1R3, e não as unidades separadamente, funciona como um L-amino receptor (Adler *et al.*, 2000).

Em estudos realizados por Raliou *et al.* (2009), foram observadas as subunidades T1R1 e T1R3, com a função de controlar a maioria das respostas fisiológicas e de comportamento ao L-glutamato. À diferença do mGluR1, os T1R1/T1R3 são consistentemente detectados nas papilas gustativas fungiformes e suas proteínas correspondentes encontram-se localizadas nos botões gustativos (Figuras 14.1 e 14.2).

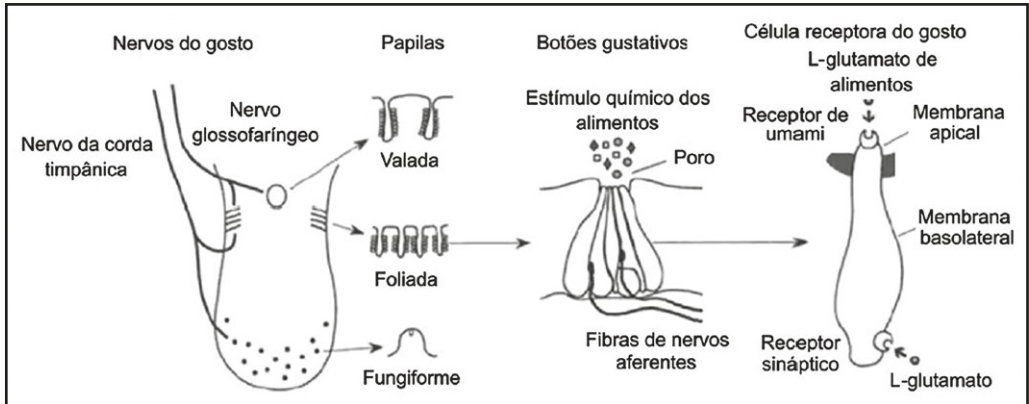


Figura 14.1 – Localização e estimulação dos receptores do L-glutamato T1R1/T1R3.

Fonte: Bigiani, 2005.

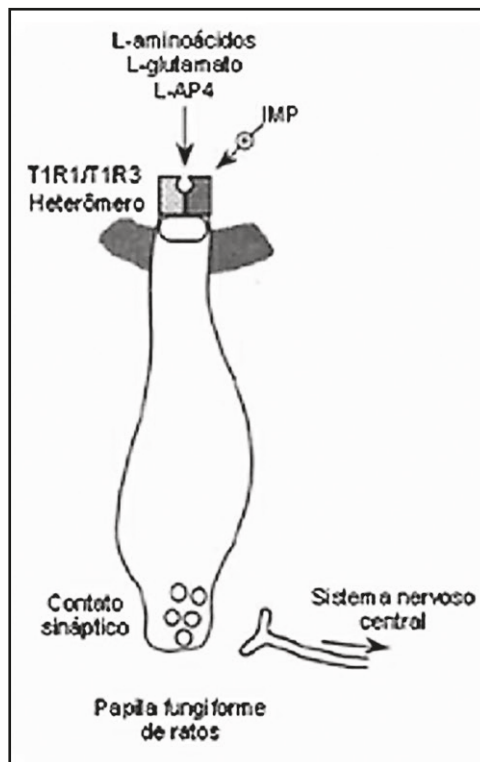


Figura 14.2 – Localização dos heterólogos.

Fonte: Bigiani, 2005.

As subunidades (T1R1 e T1R3) são ativadas seletivamente pelo glutamato e esses estímulos são potencializados, porém, não diretamente ativados pelos 5'-ribonucleotídeos (Raliou *et al.*, 2009). Segundo Zucker (1999), os aminoácidos são as unidades mais óbvias para a fabricação das proteínas, compostos de grande valor metabólico nos seres humanos e, além de precursores biossintéticos de uma grande quantidade de moléculas de grande importância na bioquímica do organismo, também são combustíveis metabólicos para nosso organismo. Por esses motivos, existem receptores para aminoácidos, os quais respondem a substâncias químicas que tornam o alimento mais saboroso e, portanto, de maior aceitação, por prováveis razões evolutivas dos seres humanos.

6. RESPOSTA DO SENTIDO DO GOSTO

O gosto salgado responde à presença de íons sódio e de outros sais ionizados. No entanto, somente o cloreto de sódio é unicamente salgado (Smith & Margolskee, 2006). Existem canais iônicos seletivos em relação ao tamanho e carga que permitem a entrada específica do íon sódio, liberado na dissociação do cloreto de sódio.

O gosto ácido é desencadeado pela presença de íons hidrogênio liberados por dissociação de ácidos orgânicos e inorgânicos. Da mesma forma que no desencadeamento da percepção do gosto salgado, para o gosto ácido, existem canais iônicos seletivos que permitem a entrada específica do íon hidrogênio.

O gosto doce é originado por diversas substâncias orgânicas como glicose e outros açúcares, álcoois, aldeídos, cetonas, amidas, ésteres, aminoácidos, algumas proteínas pequenas, ácidos sulfônicos, ácidos halogenados e sais inorgânicos de chumbo e berílio. A maior parte dessas substâncias é composto orgânico. No entanto, é de grande importância citar que compostos de diferentes classes químicas desencadeiam a percepção de intenso gosto doce, como aspartame, sucralose, estévia (especialmente rebaudiosídeo A), ciclamato, sacarina, neotame e outros.

A estimulação do gosto amargo é feita pelos compostos nitrogenados e compostos alcaloides, geralmente associados a substâncias tóxicas, plantas venenosas e fármacos. Quando um alimento é muito amargo pode provocar aversão e também vômito como mecanismo de defesa do organismo.

O gosto umami é produzido pela presença de glutamato e dos 5'-ribonucleotídeos. Um fato interessante observado é que alguns aminoácidos são doces e agradáveis, outros são amargos e desagradáveis e alguns provocam uma resposta

ao umami no ser humano, o que indica que os diversos aminoácidos podem interagir com diversos receptores do sentido do gosto (Zucker, 1999).

Uma vez que a substância química se dissolve na saliva e entra em contato com as células receptoras presentes nas papilas gustativas, ocorre uma série de eventos bioquímicos os quais são sinais eletroquímicos enviados ao cérebro, que são específicos para cada um dos gostos. Uma vez que o sinal chega ao cérebro, este o julga e interpreta usando a informação que armazenou, incluindo memória de sensações anteriores e se desencadeia uma reação ante o estímulo recebido. A frequência com que se repetem os impulsos indica a intensidade do gosto (Roper, 1989).

6.1. Vias cerebrais

Os impulsos provenientes dos dois terços anteriores da língua (gerados nas papilas fungiformes) são transmitidos por estimulação do quinto par de nervos cranianos, denominado corda do tímpano (*chorda tympani*). Já as papilas circunvaladas e foliadas transmitem sinais através do nono par de nervos cranianos, denominado glossofaríngeo (Bartoshuk *et al.*, 1998; Roper, 2013; Yarmolinsky *et al.*, 2009).

Alguns sinais gustativos são transmitidos ao trato solitário desde a base da língua e outras partes da região faríngea, por intermédio do nervo vago. Todas as células gustativas fazem sinapse nos núcleos do trato solitário e enviam a informação a neurônios, de acordo com a ordem, em uma área pequena do núcleo ventroposteriomédial do tálamo, de onde partem para neurônios de terceira ordem até o extremo inferior da circunvolução pós-central no córtex cerebral, onde se curvam profundamente na *sulcus lateralis* (também chamada de fissura de Sylvius e fissura lateral) e também na área operculoinsular adjacente (Roper, 1989).

Existem fatores que afetam a sensibilidade dos receptores gustativos ao serem estimulados. Alguns são inerentes ao alimento e outros ao indivíduo que o consome. A temperatura dos alimentos não deve ser muito diferente da do corpo humano, de modo que, se está muito baixa, é mais difícil haver a apreciação do gosto e se, por outro lado, está muito alta, os receptores se irritam e, conseqüentemente, sua sensibilidade também diminui.

Às vezes, os gostos de um mesmo alimento podem ser modificados, potencializados ou suprimidos, bem como a sensibilidade dos receptores gustativos para detectar os gostos individuais em função da temperatura do alimento. Desta

forma, por exemplo, o açúcar pode mascarar a percepção do amargor do café ou a acidez de uma limonada.

As papilas gustativas têm a capacidade de adaptação a uma substância, uma vez que esta permaneça certo tempo na boca, pelo que se perde a sensibilidade a outras substâncias, alterando as concentrações que se detectam. Existe uma sensibilidade inata em muitas pessoas para detectar os gostos básicos, mas nem todas as pessoas possuem a capacidade de percebê-los nos alimentos. Diversas patologias podem afetar a capacidade dos indivíduos de detectar algum dos gostos básicos, como a denominada ageusia. Foram reportados casos de ageusia para o MSG (Lugaz *et al.*, 2002).

7. O UMAMI, NOSSO PRIMEIRO GOSTO

No leite materno há 20 aminoácidos livres e o ácido glutâmico é mais abundante, restando aproximadamente 50% do total do conteúdo de aminoácidos. Steiner (1987) conduziu uma série de experimentos nos quais a expressão facial dos recém-nascidos, como resposta à estimulação de diferentes gostos, foi estudada. Os bebês receberam água e as expressões faciais permaneceram inalteradas, enquanto que, com solução ácida, franziram a testa e enrugaram o nariz; com a solução amarga agitaram a cabeça, fecharam os olhos e mostraram a língua. Com soluções doces sugaram mais rápido, com movimentos de sua língua que são expressões de agrado. Quando foi administrado caldo de vegetais sem tempero, a expressão facial foi similar à da solução ácida. Com o caldo temperado com glutamato, a expressão facial foi parecida com a da solução doce. Apenas uma solução de glutamato não foi prazerosa para os bebês, mas quando foi adicionada ao caldo, ficou mais agradável. Concluiu-se que é possível que a presença de glutamato no leite materno contribua para sua aceitação pelos recém-nascidos (Beauchamp & Pearson, 1991).

8. O UMAMI COMO POTENCIALIZADOR DO SABOR E PALATABILIDADE

Ao contrário do que se sucede com o gosto, a percepção de sabor de um alimento é mais complexa, já que se integra toda a informação sensitiva recebida na boca. Os compostos voláteis presentes no alimento são responsáveis por seu aroma e percebidos com o olfato; as substâncias químicas estimulam os botões gustativos e, além da textura e temperatura do alimento, estimulam receptores do trato presente na cavidade bucal. Depois, vem a detecção e identificação do estímulo e ocorre uma interpretação da informação total recebida conhecida como

palatabilidade, a qual é de sumo interesse já que determina a eleição ou a preferência por algum alimento, a quantidade que se consome e também sua digestão. Os cinco sentidos estão envolvidos na percepção da palatabilidade, porém, o gosto é que tem o papel mais importante. Substâncias como o glutamato e os 5'-ribonucleotídeos são de suma importância para a palatabilidade e aceitabilidade dos alimentos (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). O prazer da cozinha oriental está associado ao uso de caldos preparados com a alga *kombu* (*Laminaria japonica*) ou com o peixe bonito, ambos ricos em substâncias que modernamente são denominadas realçadores ou potencializadores do sabor, como são os MSG, o IMP e GMP. A presença do *kombu* e do peixe bonito na preparação dos pratos da cozinha oriental os torna mais apetecíveis.

9. RESPOSTA HEDÔNICA AO UMAMI

A resposta hedônica aos alimentos se refere ao grau de aceitabilidade ou de prazer que nos proporciona sua ingestão. A resposta hedônica do umami, comparada com a dos outros gostos básicos, tem sido estudada (Yamaguchi & Takahashi, 1984a).

Utilizou-se sacarose, cloreto de sódio (NaCl), ácido tartárico, cafeína e MSG, substâncias químicas que representam os cinco gostos. As respostas de cada gosto básico ou em combinações de forma binária foram examinadas individualmente. Foram utilizadas, em primeiro lugar, soluções aquosas simples, depois soluções com sabor e, por último, em alimentos, com vários níveis de concentração. Foi registrada a resposta hedônica de 20 e 40 indivíduos, segundo o experimento, usando uma escala de 9 pontos, onde o máximo valor significava extremamente agradável e 0 para extremamente desagradável. A pontuação padrão de agrado foi estabelecida em zero. Quando foram avaliadas as soluções dos gostos básicos, somente a sacarose (doçura) mostrou uma pontuação excepcional de agrado. O MSG e outras substâncias básicas do gosto foram considerados como neutros ou desagradáveis. Nas soluções binárias de 2 gostos, a combinação de MSG e ácido tartárico, e a de MSG e NaCl deram pontuações positivas de agrado, porém somente quando as concentrações foram baixas. Os resultados para as soluções com sabor e para os alimentos foram muito diferentes. Foi verificado que a presença de MSG aumentou a pontuação hedônica tanto das soluções com sabor quanto dos alimentos.

Outro exemplo que ilustra a influência da resposta hedônica pela presença do umami se observou com arroz cozido, o qual se caracteriza por ser insípido. Quando o arroz foi cozinhado com MSG adicionado, não houve mudança

na pontuação usada para expressar o agrado dos degustadores, nem quando foi adicionado 0,7% de NaCl. Entretanto, quando se adicionou MSG, NaCl e, posteriormente, o arroz foi cozinhado, a pontuação aumentou significativamente. A mesma resposta foi observada quando, além de NaCl, foi adicionada uma pequena quantidade de molho de soja, depois de cozinhado.

Os resultados desses estudos indicam que não se pode prever pela resposta hedônica o efeito das substâncias que modificam o gosto em um sistema modelo de soluções aquosas simples, mas que se deve estudá-las em soluções com sabor ou, melhor ainda, nos alimentos como tais (Yamaguchi & Takahashi, 1984a; Yamaguchi, 1987).

10. UMAMI E OUTROS GOSTOS BÁSICOS

Foi investigada a influência que pode ter a presença de umami nos alimentos, na percepção dos outros quatro gostos básicos (Kawamura & Kare, 1987). Ao detectar os limiares em substâncias para os cinco gostos básicos em soluções aquosas simples contendo 5 mM MSG (0,094%) ou IMP (0,26%) (Tabela 14.1), se observa que a presença de MSG e IMP não diminuiu os limiares da sacarose e do NaCl, ainda que o IMP aumentasse a do sulfato de quinina, enquanto que o MSG e o IMP incrementaram a do ácido tartárico. Ressalte-se que o IMP diminuiu, notavelmente, o limiar do MSG em mais de 50 vezes.

De maneira contrária, quando a detecção de limiares do MSG foi feita nas soluções que continham os quatro gostos básicos (Tabela 14.2), o limiar do MSG não foi afetado. Tais resultados sugerem que o umami não afeta a percepção dos outros gostos básicos e que o efeito sinérgico somente se observa entre os dois tipos de substâncias umami.

Tabela 14.1 – Limiares de detecção de substâncias características dos cinco gostos básicos na presença de MSG e IMP (g/100 mL)

Solvente	Sacarose	NaCl	Ácido tartárico	Sulfato de Quinina	MSG
Água	0,086	0,0037	0,00094	0,000049	0,012
MSG sol. (5mmol/L)	0,086	0,0037	0,00190	0,000049	-
IMP sol. (5mmol/L)	0,086	0,0037	0,03	0,0002	0,00019

MSG: glutamato monossódico; IMP: inosina-5'-monofosfato. Fonte: Yamaguchi & Ninomiya, 2000.

Tabela 14.2 – Detecção de limiares de MSG em soluções de gostos básicos

Solução	Concentração (g/dL)	Intensidade (I) ^a	Limiar de MSG (g/dL)
Água		0	0,012
Sacarose	8,83	50	0,023
	22,27	70	0,094
NaCl	0,88	50	0,012
	2,16	70	0,012
Ácido tartárico	0,030	50	0,012
	0,085	70	0,012
Sacarose	8,83	50	0,023
NaCl	0,88	50	0,023
Ácido tartárico	0,030	50	0,023

^a Em termos da escala de intensidade do gosto, empregando painelistas treinados; MSG: glutamato monossódico. Fonte: Yamaguchi, 1987.

Em muitos alimentos, as substâncias do umami são adicionadas como sal. Se forem considerados os riscos à saúde pelo consumo excessivo de sódio, é particularmente importante definir a concentração de sal a usar, sem reduzir a palatabilidade dos alimentos. Yamaguchi & Takahashi (1984b) examinaram a relação funcional entre MSG e o NaCl em sopas e seu efeito na salubridade e palatabilidade, pelo método de superfície de resposta, utilizando 9 sopas com diferentes níveis de MSG e NaCl, avaliadas com um painel e uma escala de 7 pontos para mediar a intensidade de salubridade e palatabilidade da sopa clarificada, a qual foi descrita pelo seguinte modelo matemático:

$$Y = M - \alpha(X_1 - A)^2 - \beta(X_2 - B)^2 - \gamma(X_1 - A)(X_2 - B) \quad (1)$$

Nesse modelo, Y significa a pontuação de palatabilidade, M é a máxima pontuação da palatabilidade, A é o nível ótimo de MSG, B é o nível ótimo de NaCl, e α , β , γ são constantes positivas; X_1 é a concentração de MSG adicionado e X_2 é a concentração de NaCl adicionado. A pontuação da palatabilidade é expressa como um ponto na superfície de uma parábola elíptica, típica desse modelo matemático. O estudo demonstrou que, quando a quantidade total de sódio foi reduzida em 30% do ótimo, sem mudanças no nível de MSG, a pontuação de palatabilidade diminuiu em 0,17 a -0,19. Uma redução de NaCl a mais de 30% diminuiu a pontuação de palatabilidade (Tabela 14.3).

Tabela 14.3 – Efeito da concentração de Na⁺ [proveniente do MSG e do NaCl (g/100 g)] na palatabilidade de uma sopa

Total de Na ⁺ agregado	MSG	NaCl	Pontuação de palatabilidade
0,363% (Ótimo)	0,379	0,806	0,17
0,327% (10% < Ótimo)	0,378	0,714	0,13
0,290% (20% < Ótimo)	0,377	0,620	0,01
0,254% (30% < Ótimo)	0,377	0,529	-0,19
0,218% (40% < Ótimo)	0,376	0,438	-0,47
0,362% (Sem MSG)	0	0,922	-0,56

Fonte: tabela modificada de Yamaguchi, 1987.

Para confirmar essas conclusões, foi elaborado outro experimento, porém com dois tipos de cardápio típico japonês. Utilizaram-se 150 degustadores. Também nesse caso, observou-se que a redução de cerca de 30% (ou >30%) na adição de sal, sem a adição das substâncias umami, definitivamente diminuíram todas as pontuações de salubridade, umami e palatabilidade. Essa queda foi claramente neutralizada pela adição de substâncias umami. A sensação de satisfação pelas comidas oferecidas foi incrementada com a adição de substâncias umami a todos os níveis de NaCl estudados.

Dos fatos descritos anteriormente, pode-se concluir que, se é usada uma quantidade apropriada de substâncias umami, o consumo de sódio pode ser reduzido em 30% sem diminuir a palatabilidade do alimento ou minimizar o nível de satisfação das comidas. Finalmente, se deve enfatizar que somente 0,5% ou 0,6% das substâncias umami incrementam substancialmente a sensação de satisfação da comida (Yamaguchi, 1987).

11. SINERGISMO ENTRE SUBSTÂNCIAS UMAMI

Quando o ácido glutâmico e os nucleotídeos (na forma livre ou de sais) coexistem, o umami se incrementa drasticamente. Esse fenômeno, melhor conhecido como o efeito sinérgico do umami, foi amplamente investigado (Kuninaka, 1960; Yamaguchi, 1967; Yamaguchi *et al.*, 1971). O efeito sinérgico em uma série de soluções aquosas simples e em alimentos foi estudado; os limiares informados de MSG e IMP para os degustadores foram de 0,03% e 0,025%, respectivamente. Porém, quando se determinou a presença do umami nos alimentos que o contém, os limiares de percepção de MSG e IMP, ou ambos, foram definitivamente inferiores. Especialmente naqueles alimentos com altas

concentrações relativas de ácido glutâmico, tais como os produtos marinhos ou tomates, o limiar de IMP foi marcadamente inferior. Por outro lado, naquelas amostras que continham uma alta concentração de 5'-ribonucleotídeos, tais como a de vitelo e de bonito desidratado, o limiar de glutamato foi claramente inferior, não para o IMP. Muitos dos alimentos que contém glutamato e 5'-ribonucleotídeos, ainda que em pequenas quantidades, são usados comumente na cozinha para incrementar a palatabilidade dos alimentos, havendo um efeito sinérgico das substâncias umami contidas nas matrizes alimentares (Yamaguchi, 1987). É importante enfatizar que são muitos os alimentos que contêm de forma natural substâncias umami, em quantidades supra e sublimiar e essas quantidades são suficientes para afetar a percepção de maneira agradável (Maga, 1983; Maga, 1987). Gutiérrez & Sangronis (2006) notaram mudanças na intensidade da palatabilidade e da reposta hedônica em uma sopa do tipo creme de frango e vegetais, ao se fazer combinações de MSG e dos 5'-ribonucleotídeos, aproveitando-se o efeito sinérgico entre eles.

12. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mais de um século após a descoberta do gosto umami pelo Dr. Ikeda continuam estudos para entendimento dos mecanismos de atuação, aplicações, possibilidades de uso, entendimento sobre a percepção e potencialização de sabores, bem como sinérgismos e interações com outros compostos químicos.

Com fundamentação nos resultados de muitos estudos que comprovam a potencialização dos sabores em alimentos que contém compostos químicos capazes de conferir gosto umami, essa premissa pode ser vista como relevante para aplicação em alimentos direcionados a público que apresentem diminuição ou supressão na percepção de sabores, bem como com propósito de redução de sal para promoção de alimentação saudável.

A realização de estudos com esse enfoque deve ser estimulada para que o aumento do fator hedônico possa ter papel importante em dietas especiais, contribuir para a melhoria da qualidade da ingestão de alimentos e, consequentemente, promover a nutrição adequada para grupos de indivíduos que necessitam de estímulos sensoriais e o aumento da aceitação de alimentos com finalidades dietéticas especiais.

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADLER, E. *et al.* “A novel family of mammalian taste receptors”. *Cell*. 100(6): 693-702, 2000.
- ALENCAR, M. L. *et al.* “Prevalence of celiac disease among blood donors in São Paulo: the most populated city in Brazil”. *Clinics*. 67(9): 1013-1018, 2012.
- ASTM. “E253 – 18a. Standard terminology relating to sensory evaluation of materials and products”. West Conshohocken, 2018, p. 7.
- BARTOSHUK, L. M. *et al.* “PROP (6-n-Propylthiouracil) supertasters and the saltiness of NaCl”. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 855(1): 793-796, 1998.
- BAUER, J. & REISCH, L. “Behavioural insights and (un)healthy dietary choices: a review of current evidence”. *Journal of Consumer Policy*. 42(1): 3-45, 2019.
- BEAUCHAMP, G. K. & PEARSON, P. “Human development and *umami* taste”. *Physiol Behav*. 49(5): 1009-1012, 1991.
- BELLISLE, F. “How and why should we study ingestive behaviors in humans?”. *Food Quality and Preference*. 20(8): 539-544, 2009.
- BIGIANI, A. “Glutamate receptors in taste receptor cells”. Chapter 7. *In*: GRILL, S. & PULIDO, O. *Glutamate receptors in peripheral tissue*. New York, Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2005, pp. 129-143.
- CHAUDHARI, N.; LANDIN, A. M. & ROPER, S. D. “A metabotropic glutamate receptor variant function as a taste receptor”. *Nat Neurosci*. 3(2): 113-119, 2000.
- CHAUDHARI, N. *et al.* “The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds”. *J Neurosci*. 16(12): 3817-3826, 1996.
- CHIKAZOE, J. *et al.* “Distinct representations of basic taste qualities in human gustatory cortex”. *Nature Communications*. 10: 1-8, 2019.
- ENGELLEN, L. & VAN DER BILT, A. “Oral physiology and texture perception of semisolids”. *J. Texture Stud*. 39(1): 83-113, 2008.
- GUTIÉRREZ, C. & SANGRONIS, E. “Efecto sinérgico y cuantificación de los 5'-ribonucleótidos en una sopa de pollo”. *Arch Latinoamer Nutr*. 56(3): 26-32, 2006.

- GUYTON, A. & HALL, J. *Tratado de fisiologia médica*. 13. ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2014.
- JIANG, Y.; GONG, N. N. & MATSUNAMI, H. “Astringency: a more stringent definition”. *Chem. Senses*. 39(6): 467-469, 2014.
- KAWAMURA, Y. & KARE, M. *Umami: a basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987.
- KESSLER, F. *et al.* “Consumer perception of snack sausages enriched with umami-tasting meat protein hydrolysates”. *Meat Science*. 150: 65-76, 2019.
- KOBAYASHI, C. & KENNEDY, L. “Experience induced changes in taste identification of monosodium glutamate”. *Physiol Behav*. 75(1-2): 57-63, 2002.
- KODAMA, D. “On a procedure for separating inosinic acid”. *J Tokyo Chem Soc*. 34: 487-492, 1913.
- KUNINAKA, A. “Studies on taste of ribonucleic acid derivatives”. *J Agric Chem Soc Jpn*. 34(6): 489-492, 1960.
- LINDEMAN, B. “Receptors and transduction in taste”. *Nature*. 413: 219-225, 2001.
- LUGAZ, O.; PILLAS, A. M. & FAURION, A. “A new specific ageusia: some humans cannot taste L-Glutamate”. *Chem Senses*. 27(2): 105-115, 2002.
- MAGA, J. “Organoleptic properties of *umami* substances”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. *Umami: a basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 255-269.
- MAGA, J. “Flavor potentiators”. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 18(3): 231-312, 1983.
- MARIEB, E. & HOEHN, K. *Anatomia e fisiologia*. 3. ed. Porto Alegre, Artmed, 2009, p. 1072.
- MELA, D. J. “Why do we like what we like?”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81(1): 10-16, 2001.
- MELLO, L. L. M. *et al.* “Expectations and acceptability of diabetic and reduced calorie milk chocolates among non-diabetics and diabetics in the USA”. *Journal of Sensory Studies*. 25(s1): 133-152, 2010.

MIKKILÄ, V. *et al.* “Longitudinal changes in diet from childhood into adulthood with respect to risk of cardiovascular diseases: the cardiovascular risk in young finns study”. *European Journal of Clinical Nutrition*. 58(7): 1038-1045, 2004.

NETTER, F. H. *Atlas de anatomia humana*. 6. ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2014.

NINOMIYA, K. “Umami: a universal taste”. *Food Rev Int*. 18(1): 23-38, 2002.

RALIOU, M. *et al.* “Tas1R1-Tas1R3 taste receptor variants in human fungiform papillae”. *Neurosci Lett*. 451(3): 217-221, 2009.

ROPER, S. D. “The cell biology of vertebrate taste receptors”. *Annu. Rev. Neurosci*. 12:329-353, 1989.

ROPER, S. D. “Taste buds as peripheral chemosensory processors”. *Semin. Cell Dev. Biol*. 24(1): 71-79, 2013.

ROUVIERE, H. *Anatomía humana*, tomo I. 10. ed. Barcelona, Editorial Masson, 1999, pp. 400-404.

SCHWARTZ, J. “Health decision making”. *Consumer Psychology Review*. 1(1): 107-122. 2018.

SCINSKA-BIENKOWSKA, A. *et al.* “Glutamate concentration in whole saliva and taste responses to monosodium glutamate in humans”. *Nutr Neurosci*. 9(1-2): 25-31, 2006.

SCLAFANI, A. “Oral and postoral determinants of food reward”. *Physiology & Behavior*. 81(5): 773-779, 2004.

SMITH, D. V. & MARGOLSKEE, R. F. “Making sense of taste”. *Scientific American Special Edition*. 16(3): 84-92, 2006.

STEINER, J. “What the human neonate can tell us about *umami*”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. *Umami: a basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 97-123.

STEINLE, S. R. *et al.* “Avaliação da aceitação de chá mate adoçado com aspartame, extrato de estévia [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni] e sacarose, antes e após exercício físico”. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. 23(1): 221-227, 2005.

- TEMUSSI, P. “Sweet, bitter and *umami* receptors: a complex relationship”. *Trends Biochem Sci.* 40(10): 1-7, 2009.
- VOORPOSTEL, C. R.; DUTRA, M. L. B. & BOLINI, H. M. A. “Sensory profile and drivers of liking for grape nectar among smokers and nonsmokers consumers”. *Ciência e Tecnologia de Alimentos.* 34(1): 164-173, 2014.
- YAMAGUCHI, S. “Fundamental properties of *umami* in human taste sensation”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: a basic taste, physiology, biochemistry, nutrition, food science.* New York, Marcel Dekker, 1987. pp. 41-73.
- YAMAGUCHI, S. “The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate”. *J Food Sci.* 32: 473- 478, 1967.
- YAMAGUCHI, S. & KOBORI, I. “Subtleness and exquisiteness of *umami* taste in humans”. *J Food Qual Pref.* 4(1-2): 82, 1993.
- YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “*Umami* and food palatability”. *J Nutr.* 130(4S): 921S- 926S, 2000.
- YAMAGUCHI, S. & TAKAHASHI, C. “Hedonic function of monosodium glutamate and four basic taste substances used at various concentration levels in simple and complex systems”. *Agric. Biol. Chem.* 1984a; 48: 1077-1081.
- YAMAGUCHI, S. & TAKASHASHI, C. “Interactions of monosodium glutamate and sodium chloride on saltiness and palatability of clear soup”. *J Food Sci.* 49(1): 82-85, 1984b.
- YAMAGUCHI, S. *et al.* “Measurement of the relative taste intensity of some α -amino acid and 5'-nucleotides”. *J. Food Sci.* 36(6): 846-849, 1971.
- YARMOLINSKY, D. A.; ZUKER, C. S. & RYBA, N. J. P. “Common sense about taste: from mammals to insects”. *Cell.* 139: 234-244, 2009.
- ZHAO, G. Q. *et al.* “The receptors for mammalian sweet and *umami* taste”. *Cell.* 115(3): 255-266, 2003.
- ZUCKER, C. S. “Putative mammalian taste receptors: a class of taste – specific GPCRs with distinct topographic selectivity”. *Cell.* 96: 541-551, 1999.

MECANISMO DE AÇÃO DO SABOR E DO GOSTO UMAMI NO CÉREBRO

Edmund T. Rolls

RESUMO

O mecanismo de ação do umami no córtex revela o que o torna agradável e apetitoso. O caráter agradável do umami reflete e está relacionado ao mecanismo de ação no córtex gustativo secundário (córtex orbitofrontal) e córtex gustativo terciário (córtex cingulado anterior), enquanto o mecanismo do córtex primário (insular) gustativo reflete propriedades físicas como a intensidade. Entretanto, somente o contato com o glutamato (aminoácido não essencial) como estímulo gustativo não é altamente prazeroso, e não atua sinergicamente com outros gostos (doce, salgado, amargo e azedo). Quando o glutamato é dado em combinação com um aroma saboroso harmônico (vegetal), o gosto resultante, formado pela convergência dos caminhos do paladar e do olfato no córtex orbitofrontal, pode se tornar muito mais agradável. Essa agradabilidade reflete em uma maior ativação do córtex orbitofrontal médio e córtex cingulado pregenual do que a soma das ativações pelos componentes do paladar e olfato apresentados separadamente. Além disso, ativações nessas regiões do cérebro foram correlacionadas com a característica agradável e de plenitude do gosto, com a harmonia entre os elementos do paladar e do olfato. Esse conceito proposto é o de que o umami pode ser pensado como um sabor rico e delicioso que é produzido pela combinação do gosto do glutamato em combinação com um aroma saboroso harmônico. Glutamato é, portanto, um realçador de sabor porque ele consegue combinar supralinearmente aromas harmônicos em áreas corticais onde os caminhos do gosto e do sabor convergem para além dos receptores. A modulação cognitiva

e de atenção no córtex orbitofrontal também contribui para o valor agradável e apetitoso do umami.

1. INTRODUÇÃO

O gosto denominado umami, em japonês, passou a ser reconhecido como “quinto gosto” (Kawamura & Kare, 1987; Rolls, 2000). Além do doce, salgado, amargo e azedo, o umami traduz o que, às vezes, é descrito como o gosto de proteína. Na realidade, métodos de escala multidimensional em humanos (Yamaguchi & Kimizuka, 1979) mostraram que o gosto do glutamato (tal como seu sal de sódio, glutamato monossódico/MSG) não pode ser comparado a nenhum dos quatro gostos básicos. Assim, receptores específicos de gosto para o glutamato foram relatados por diversos autores (Chaudhari *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2003; Maruyama *et al.*, 2006). O gosto umami é encontrado em uma diversidade de alimentos ricos em glutamato, tais como peixe, carne, leite, tomates e alguns vegetais, e é potencializado por alguns ribonucleotídeos (inclusos inosina e guanosina) (Yamaguchi, 1967; Rifkin & Bartoshuk, 1980), os quais estão presentes, por exemplo, em carnes e alguns peixes (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). A mistura desses componentes é que está por trás do sabor delicioso característico de muitos alimentos.

Neste capítulo, são resumidas as descobertas sobre como o gosto umami é representado pelos neurônios admiravelmente sintonizados, encontrados nas áreas corticais do gosto em macacos e, então, conjecturar nesses estudos para examinar a representação do gosto umami no cérebro humano. Um tema subjacente é: o que torna umami agradável? Parte da importância de entender isso é que o umami é um indicador sensorial essencial de alimentos que contêm proteínas e, portanto, um sinal fundamental de alimentos que ajudam a manter uma dieta nutricionalmente adequada.

2. ESTUDOS NEURONAIS EM MACACOS

Para entender como os estímulos do apetite e ingestão alimentar são controlados pelo cérebro humano, e também as desordens, foram investigados os mecanismos neuronais envolvidos em primatas, tal como o foram em humanos (Rolls, 2005; Rolls, 2007a; Rolls, 2007b; Rolls, 2008a; Rolls & Grabenhorst, 2008). A razão para realizar alguns desses experimentos com primatas é a de que seu paladar pode ser organizado de maneira diferente, anatomicamente ou mesmo fisiologicamente, do paladar dos não primatas (Norgren, 1984; Rolls &

Scott, 2003; Rolls, 2009). Por exemplo: diferente dos roedores, não existe nos macacos um conjunto de sinalizações subcorticiais a partir do bulbo e, ao invés disso, há uma conexão obrigatória do núcleo do trato solitário do tálamo gustativo ao córtex gustativo (Norgren, 1984; Rolls & Scott, 2003). Isso torna o paladar dos primatas mais fácil de analisar, ainda mais do que o dos humanos, no que diz respeito a como funciona o processamento do gosto no córtex gustativo primário e, depois desse, para outras áreas (Figura 15.1), já que em roedores existem saídas da área gustativa do bulbo para o sistema subcortical. Além disso, a saciedade da alimentação reduz o grau de resposta dos neurônios gustativos no córtex gustativo (orbitofrontal) secundário, porém, não no córtex gustativo (insular) primário, onde os efeitos da saciedade no processamento do gosto são encontrados até no núcleo do trato solitário de roedores (Rolls & Scott, 2003), tornando o paladar de roedores mais complexo de se analisar.

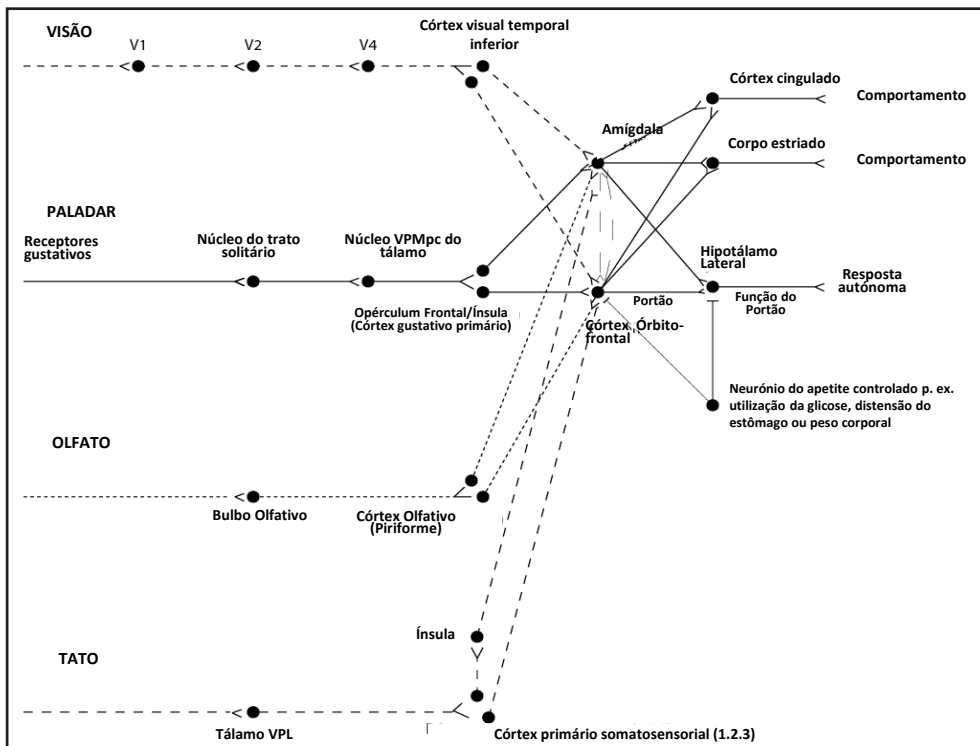


Figura 15.1 – Diagrama esquemático das rotas olfativas e gustativas nos primatas, incluindo humanos, mostrando a convergência num mesmo espaço e a confluência com as rotas visuais. A fome modula a resposta das representações no córtex orbitofrontal do gosto, aroma, textura e visão do alimento (indicado pela função porta), e o córtex orbitofrontal onde a palatabilidade e o prazer do alimento são representados. VPMpc – núcleos talâmicos ventroposteromedial; V1, V2, V4 – áreas corticais visuais (tasolfpaths2.eps).

Foi demonstrado que, no córtex orbitofrontal de primatas, há uma região do córtex gustativo secundário que se conecta com o córtex gustativo primário na ínsula e no opérculo frontal adjacente (Scott *et al.*, 1986; Yaxley *et al.*, 1990; Baylis *et al.*, 1995; Scott & Plata-Salaman, 1999), nos quais os neurônios são ativados pelo sabor do alimento (Rolls *et al.*, 1990; Rolls, 2008a) (Figura 15.1). Esses neurônios gustativos do córtex orbitofrontal podem ser ajustados satisfatoriamente ao estímulo gustativo (Rolls *et al.*, 1990). Além disso, sua atividade está relacionada à recompensa do alimento, na qual aqueles que respondem ao gosto do alimento somente o fazem se o macaco está com fome (Rolls *et al.*, 1989). Esses neurônios mostram efeitos de saciedade sensorial-específica, um importante mecanismo no controle da alimentação, o qual possui implicações importantes no controle do apetite e da ingestão alimentar (Rolls *et al.*, 1989; Critchley & Rolls, 1996b; Rolls, 2005; Rolls, 2007b). O córtex orbitofrontal está envolvido no controle da alimentação; por isso, é a primeira parte do sistema gustativo de primatas, no qual a resposta neuronal ao gosto do alimento ocorre durante a fome, mas não depois da saciedade (Rolls *et al.*, 1988; Yaxley *et al.*, 1988; Rolls *et al.*, 1989; Critchley & Rolls, 1996b; Rolls, 2007b).

3. NEURÔNIOS ESPECIFICAMENTE REGULADOS PELO GLUTAMATO

Para investigar se o gosto umami opera através de canais de informação no sistema gustativo de primatas, os quais são separados dos outros gostos (doce, salgado, amargo e azedo), Baylis & Rolls (1991) analisaram as respostas de 190 neurônios gustativos no córtex gustativo primário e na área adjacente do córtex orbitofrontal em macacos em vigília. Neurônios que foram encontrados estavam ajustados para responder melhor ao glutamato (MSG) (gosto umami), assim como foram encontradas outras células que respondiam melhor à glicose (doce), cloreto de sódio (NaCl) (salgado), ácido clorídrico (HCl) (ácido), e hidrocloreto de quinino (Q-HCl) (amargo). Dentro da população de neurônios, a capacidade de resposta ao glutamato foi insuficiente quando relacionada com a capacidade de resposta ao NaCl, de modo que o perfil do glutamato mostrou ser claramente diferente daquele do NaCl. Além disso, o perfil do glutamato se mostrou muito diferente dos outros quatro gostos, assim como o são entre eles mesmos, como demonstrados por medição multidimensional e análise de grupo. Baylis & Rolls (1991) concluíram que, nas áreas corticais gustativas de primatas, o glutamato, que produz o gosto umami em humanos, é aproximadamente tão bem representado quanto o são os gostos produzidos pela glicose (doce), NaCl (salgado), HCl (ácido) e Q-HCl (amargo).

4. NEURÔNIOS QUE RESPONDEM AO GOSTO DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO TAMBÉM RESPONDEM AO GOSTO DO ÁCIDO GLUTÂMICO

Para avaliar o papel do íon glutamato no perfil do gosto umami, Rolls *et al.* (1996a) realizaram uma investigação neurofisiológica na qual foram feitos registros das respostas neuronais do córtex orbitofrontal de macacos usando estímulos com ácido glutâmico. Demonstrou-se que alguns neurônios tiveram amplas respostas para a sensação gustativa do ácido glutâmico 0,05 M e que células que respondiam ao ácido glutâmico também respondiam ao MSG. Não entanto, esses neurônios não necessariamente tiveram ampla resposta ao HCl 0,01M (o pH do ácido glutâmico é 2,1). A correlação entre as respostas destas populações de neurônios tanto ao MSG como ao ácido glutâmico foi 0,75. Esta similaridade foi maior do que a maioria das outras correlações entre os outros estímulos gustativos. Esses dados reforçam a evidência de que, no cérebro dos primatas, o gosto umami está representado separadamente das representações equivalentes aos outros quatro gostos básicos.

5. NEURÔNIOS QUE RESPONDEM AO GOSTO DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO TAMBÉM RESPONDEM AO GOSTO DA INOSINA MONOFOSFATO

Dado que na boca, inosina 5'-monofostato (IMP) produz o gosto umami em humanos, e que age sinergeticamente com o MSG, seus efeitos neurofisiológicos foram investigados em primatas (Rolls *et al.*, 1996b). O conjunto de estímulos gustativos [glicose 1,0 M (G), NaCl 0,1 M (N), HCl 0,01 M (H), Q-HCl 0,001 M (Q), MSG 0,1 M (MSG) e IMP 0,0001 M (IMP)] foi avaliado em uma sequência aleatória. Ainda que a concentração de IMP seja considerada baixa, foi escolhida já que, em estudos preliminares em macacos, produziu respostas neuronais satisfatórias. Em humanos, essa concentração está abaixo do limiar de detecção do IMP puro (Yamaguchi, 1967). Entretanto, essa é uma concentração que aparentemente é capaz de afetar o sistema gustativo humano visto que, em humanos, está na faixa de concentração que tem efeito sinérgico com o MSG. Foi demonstrado que os neurônios do córtex orbitofrontal de primatas respondem a concentrações tão baixas quanto 0,0001 M de IMP, e que, tipicamente, esses mesmos neurônios também respondem ao MSG. De fato, em toda a população de neurônios, o IMP produziu respostas que foram mais parecidas com as induzidas pelo MSG do que as produzidas por qualquer um dos outros gostos avaliados (Rolls *et al.*, 1996b).

6. SACIEDADE

Em experimentos com macacos foram demonstrados que alimentá-los até a saciedade diminui a resposta dos neurônios do córtex gustativo orbitofrontal aos alimentos com os quais tenham sido alimentados até atingir a saciedade (Rolls *et al.*, 1989; Critchley & Rolls, 1996b). Essa modulação das respostas gustativas pela fome não tem sido encontrada no córtex gustativo primário. Além disso, a redução do grau de resposta neuronal no córtex gustativo secundário é, ao menos em parte, específica ao alimento com o qual o macaco tenha sido alimentado até a saciedade. Isto é, considerado como uma diminuição sensorial-específica do grau de resposta (Rolls, 2007b). Foi investigado se a saciedade induzida pela alimentação com solução de MSG afetaria a resposta dos neurônios gustativos do córtex orbitofrontal responsivas ao gosto do MSG e, caso acontecesse, se essa resposta é sensorialmente-específica. A modulação da capacidade de resposta pela fome implicaria que os neurônios estivessem em um sistema de resposta motivacional ao alimento. A demonstração da saciedade sensorial-específica adicionaria mais evidências para a existência de um mecanismo neural separado para a percepção do gosto umami.

As células que responderam ao gosto do MSG, ou que responderam à visão do alimento (Rolls & Baylis, 1994), foram avaliadas antes, durante e depois de alimentar um macaco com MSG 0,1 M até que o comportamento do animal evidenciou saciedade. Rolls *et al.* (1996a) realizaram experimentos para verificar o efeito da saciedade nas respostas gustativas ao glutamato em 5 neurônios (Rolls *et al.*, 1996b). Foi constatado que alguns desses neurônios mostraram uma pequena resposta ao gosto do glutamato depois que foi ingerido até a saciedade. Porém, os mesmos neurônios mantiveram sua capacidade de resposta aos outros gostos. Dessa forma, o valor de recompensa e o prazer do gosto umami se encontram representados no córtex orbitofrontal (Rolls, 2001; Rolls, 2003).

Esses trabalhos e outras investigações relacionadas têm fornecido as bases fundamentais para a compreensão, a nível neuronal, do mecanismo gustativo, olfativo, táctil (textura e temperatura oral) e visual envolvidos na análise sensorial dos alimentos. Esses estudos, também tem contribuído para promover o valor de recompensa explícito nas representações da atividade neuronal, como mostrado pelos efeitos da alimentação até a saciedade e, portanto, revelam o papel importante que desempenha a atividade neuronal no apetite e no controle da ingestão de alimentos (Kadohisa *et al.*, 2005; Rolls, 2005; Rolls, 2007b; Grabenhorst *et al.*, 2008b; Rolls, 2008a; Rolls, 2009). Pesquisas em humanos, usando

neuroimagem funcional, são necessárias de serem realizadas para a construção desse conhecimento.

7. REPRESENTAÇÃO DO GOSTO UMAMI NO CÓRTEX HUMANO

Usando imagens de ressonância magnética funcional, fMRI (Small *et al.*, 1999; O'Doherty *et al.*, 2001), de Araujo *et al.* (2003a) investigaram se as áreas corticais, que previamente mostraram ser ativadas em humanos pelos outros gostos, eram também ativadas pelo gosto umami, e se a ativação dessas áreas específicas refletia o sinergismo entre o MSG e a IMP. Nessa investigação realizada sobre o gosto foi utilizada uma solução controle sem gosto (KCl 25 mM + NaHCO₃ 2.5 mM) para comparar a resposta produzida pelo estímulo gustativo. Ao utilizar essa diferença, é possível mensurar os efeitos promovidos pelo gosto, assim como os efeitos somatossensoriais da solução controle sem gosto. Também podem ser mensurados os movimentos necessários para engolir a solução ao final de cada período do teste gustativo. Respostas corticais ao estímulo umami foram pesquisadas em 10 indivíduos, e avaliadas com soluções contendo glicose (1 M, como localizador), MSG (0,05M), IMP (0,005M) ou MSG+IMP (misturado nas mesmas concentrações) (de Araujo *et al.*, 2003a). O protocolo experimental consistiu em um esquema de provas intercaladas nas quais, no início de um período aleatório variável de 12-20 segundos, um dos quatro estímulos gustativos foi posto na boca do indivíduo em alíquotas de 0,75 mL; e ingeridos após 10 segundos. Então, no início do seguinte período, foi administrada a solução controle sem gosto. Isso foi seguido pela administração dos outros estímulos gustativos, em uma sequência pseudoaleatória. O ciclo de provas foi repetido 12 vezes. Os resultados mostraram claramente ativações significativas no córtex orbitofrontal (Wilson *et al.*, 2002; de Araujo *et al.*, 2003a).

Os efeitos do gosto umami na ativação do córtex foram demonstrados em diferentes grupos com diferentes estímulos prototípicos, a saber: ativação cortical produzida pelo estímulo representativo do gosto doce utilizando glicose (1 M) (Figura 15.2, linha 1); ativação produzida pelo IMP (0,0005 M) (Figura 15.2, linha 2); e a ativação com MSG (0,05 M) (Figura 15.2, linha 3). Para todos os estímulos sensoriais, foi detectada ativação do córtex orbitofrontal e do córtex gustativo insular-opercular, o qual é, supostamente, o córtex gustativo primário em humanos. A ativação produzida pelo IMP comprova que o umami, mesmo quando a solução administrada não contém íons sódio, promove ativação dessas áreas do córtex cerebral. Para analisar se há áreas de sobreposição das ativações produzidas pelo estímulo umami e pela glicose usadas como estímulo gustativo prototípico na Figura

15.2, linha 5, é apresentada a conjunção dos efeitos produzidos por MSG, IMP, MSG+IMP, e glicose. Esses resultados (de Araujo *et al.*, 2003a) proporcionaram evidências de que quando MSG e IMP, que produzem gosto umami, são colocados na boca, também são ativadas áreas corticais conhecidas por serem ativadas por outras substâncias que produzem estímulo de gosto (glicose).

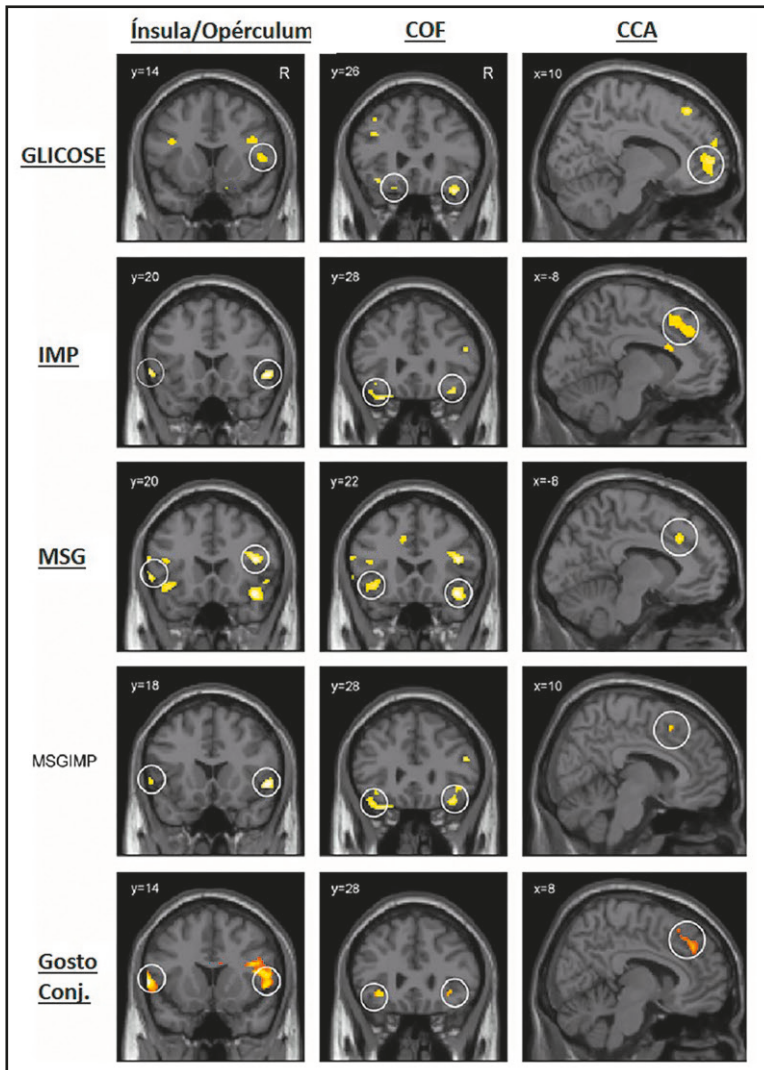


Figura 15.2 – Ativações produzidas no ínsula/opérculum rostral, no córtex orbitofrontal (COF) e no córtex cingulado anterior (CCA) pela glicose (1 M), inosina-5'-monofosfato (IMP) (0,005M), glutamato monossódico (MSG) (0,05 M), pela combinação entre MSG e IMP (MSGIMP), e pela conjunção de todas as provas (Gosto Conj.).

Fonte: de Araujo *et al.*, 2003a (umami2.eps).

Dada a evidência de que IMP (ou seu equivalente guanosina-5'-monofosfato) e MSG podem apresentar sinergismo psicofisiológico (Rifkin & Bartoshuk, 1980), foi de considerável interesse o estudo em que de Araujo *et al.* (2003a) comprovaram que o córtex orbitofrontal lateral anterior, região esquerda (x,y,z=-44,34,-18), apresenta efeito aditivo supralinear com a combinação MSG+IMP, isto é, houve significativamente maior ativação para a combinação MSG+IMP do que pela soma dos efeitos de MSG e IMP considerados separadamente (Figura 15.2). A real interação entre MSG e IMP pode ser expressa, em parte, nos próprios receptores gustativos, ou pode ser que haja alguns receptores diferentes para os diferentes degustadores do umami (Chaudhari *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2003; Maruyama *et al.*, 2006). Porém, de qualquer maneira, os resultados relatados por de Araujo *et al.* (2003a), mostram que, na espécie humana, há uma parte do córtex orbitofrontal anterior na qual o efeito aditivo supralinear é mostrado fortemente na análise estatística. O fato de que essa parte da região do córtex orbitofrontal humano reflete, estatisticamente, efeitos supra-aditivos entre os degustadores do umami, evidentes no sinal BOLD (sinal dependente do nível de oxigenação do sangue), indica a probabilidade de que a atividade nessa região do córtex orbitofrontal seja especialmente relevante para a sensação perceptível do gosto umami, e para a manifestação comportamental de preferência por esse gosto. O papel especial dessa parte do córtex cerebral humano, com relação ao gosto umami, pode ser importante, já que é capaz de proporcionar uma amplificação não linear dos estímulos do MSG e IMP já combinados nos receptores do gosto, ou pode ser que essa região do córtex seja capaz de combinar a informação a partir de vias umami parcialmente separadas para produzir uma ampla gama de respostas à combinação de MSG e IMP. Esse é um assunto interessante para ser estudado em futuras pesquisas.

8. UMAMI: UM DELICIOSO SABOR FORMADO PELA CONVERGÊNCIA DAS VIAS DO GOSTO E DO OLFATO NO CÉREBRO HUMANO

O glutamato não atua sinergeticamente com outros gostos (doce, salgado, amargo e azedo) (Yamaguchi & Kimizuka, 1979). Além disso, quando o glutamato é apresentado puro, como um estímulo ao paladar, não tem gosto muito agradável (Beauchamp & Pearson, 1991). A questão que surge a respeito é: como é que o glutamato contribui com a agradável palatabilidade dos alimentos?

McCabe & Rolls (2007) demonstraram que quando glutamato é oferecido em combinação com um aroma (vegetal) harmônico e saboroso, o sabor resultante

pode ser muito mais agradável. Os autores, então, investigaram os mecanismos cerebrais por detrás disso, tendo em conta que sabor é definido como a combinação de gosto e aroma. Para que a combinação entre gosto e aroma seja efetiva, os sinais gustativos e olfativos devem ser transmitidos juntos. Com base em estudos em primatas não humanos, é sabido que o córtex gustativo primário na ínsula anterior contém neurônios que respondem ao gosto e textura daquilo que está na boca, porém, não ao aroma (Verhagen *et al.*, 2004). Ambos, o córtex gustativo primário e o córtex piriforme (olfatório), se projetam em direção ao córtex orbitofrontal, e é aí que neurônios bimodais olfatórios e gustativos são encontrados (Rolls & Baylis, 1994). Esses neurônios receptores do sabor são desenvolvidos pelo aprendizado da associação entre olfato e gosto (Critchley & Rolls, 1996a; Rolls *et al.*, 1996a). Áreas olfativas têm sido identificadas no córtex piriforme e no córtex orbitofrontal (Zatorre *et al.*, 1992; Rolls *et al.*, 2003). Estudos sobre a região em que a sensação gustativa e olfativa são associadas no cérebro humano (Small & Prescott, 2005) demonstraram que existem áreas no córtex orbitofrontal e na ínsula anterior (agranular), que podem ser ativadas tanto pelo gosto da sacarose como pelo aroma do morango (de Araujo *et al.*, 2003b).

McCabe & Rolls (2007) utilizaram um conjunto de estímulos planejados com o propósito de permitir que o gosto umami (produzido por MSG 0,1 M e IMP 0,005 M) pudesse ser testado sozinho ou em combinação com um aroma saboroso de hortaliças. Isso permitiu que os efeitos da combinação (MSGV na Tabela 15.1) pudessem ser comparados com os efeitos dos componentes gustativos (MSG na Tabela 15.1) ou olfativos (tIV), fornecidos separadamente. Para se ter um estímulo de comparação, a fim de medir se os componentes gustativos e olfativos eram complementares entre si, o gosto umami também foi fornecido em combinação com um aroma dissonante (rum). Os estímulos foram ofertados oralmente em uma solução insípida. Outra parte do projeto foi utilizada para fazer anotações psicofísicas dos sujeitos participantes de cada uma das provas, a fim de realizar a classificação, psicologicamente subjetiva, dos graus de prazer, harmonia e plenitude de sabor durante os experimentos de fMRI. Dessa forma, foi possível correlacionar os efeitos subjetivos dos estímulos, em termos de prazer, com os sinais BOLD, medidos em cada um dos testes.

Tabela 15.1 – Estímulos e abreviações usadas nas pesquisas de McCabe & Rolls (2007) sobre o prazer do sabor umami produzido pela convergência do gosto do glutamato monossódico e um aroma harmônico

MSG	0,1 M MSG + 0,005 M inosina 5' monofosfato
MSGV	0,1 M MSG + 0,005 M inosina 5' monofosfato + 0,4% aroma vegetal
NaCl	0,1 M NaCl
NaClV	0,1 M NaCl + 0,4% aroma vegetal
MSGR	0,1 M MSG + 0,005 M inosina 5' monofosfato + 2% aroma de rum
tl	25 mM KCl + 2,5 mM NaHCO ₃ (controle insípido)
tlV	25 mM KCl + 2,5 mM NaHCO ₃ + 0,4% aroma vegetal

Fonte: McCabe & Rolls, 2007.

Os níveis de prazer, harmonia e satisfação de um sabor são mostrados na Figura 15.3. A combinação de MSG e o aroma vegetal foi classificada como significativamente mais agradável do que MSG puro ($p < 0,015$). A combinação de MSG e aroma vegetal foi apresentada como mais agradável que a combinação entre NaCl e aroma vegetal (Figura 15.3). No teste ANOVA de duas vias ($F[1,11] = 22,05$, $p < 0,001$), foi demonstrado que o aumento no nível de prazer foi maior quando o MSG era adicionado ao aroma vegetal, mais do que quando o NaCl era adicionado. De fato, com NaCl o nível de prazer diminuía (Figura 15.3). A adição de NaCl causou efeitos de interação semelhantes aos que ocorreram ao adicionar o aroma vegetal ao MSG, em relação à harmonia ($F [1,11] = 12,03$ $p < 0,005$), e à plenitude de sabor ($F [1,11] = 5,92$, $p < 0,03$).

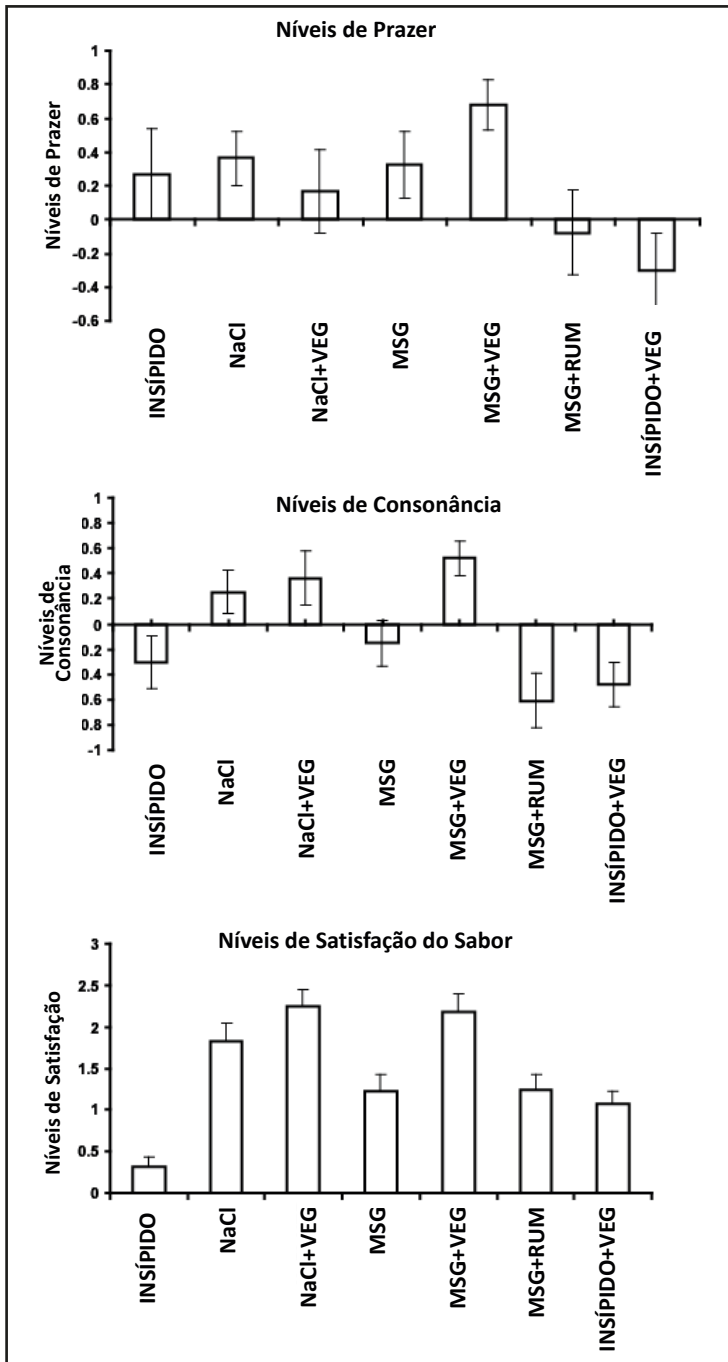


Figura 15.3 – Níveis de prazer, consonância (harmonia) e plenitude de sabor (média ± DP) na pesquisa sobre o prazer do sabor umami, produzido pela convergência do gosto do glutamato monossódico e um aroma harmonioso.

Fonte: McCabe & Rolls, 2007. (umratings2.eps).

Um dos focos principais das pesquisas de McCabe & Rolls foi sobre a possibilidade de que a combinação do gosto do MSG com um aroma vegetal harmônico, provocasse uma ativação seletiva de algumas regiões do cérebro. Neste caso, hortalizas foram usados como um aroma vegetal harmonioso. Para testar esta hipótese, o contraste entre os efeitos da mistura de MSG e vegetais (GMSV), e a soma das ativações para MSG e vegetais apresentados separadamente, foi determinado por fMRI (Figura 15.4). Esse contraste, então, é de efeito aditivo supralinear, usado como indicador da interação entre os componentes gustativos e olfativos, o qual revela um efeito altamente significativo no córtex orbitofrontal medial centrado em $[-6\ 52\ -14]$ $Z=3,96$, fator de correção $p=0,002$, que se estende até o córtex cingulado pregenual. Além disso, uma parte do estriatum ventral/tubérculo olfatório, que recebe sinais do córtex orbitofrontal, mostrou uma ativação supralinear significativa. É notável de que não houve evidência dessa supralinearidade na ínsula gustativa, nem na ínsula agranular. Os efeitos supralineares foram muito menos (significativamente menores) evidentes para o cloreto de sódio e o aroma vegetal. Além disso, a ativação nessas regiões do cérebro foi correlacionada com o caráter agradável e de satisfação do sabor, e com a harmonia dos componentes gustativos e olfativos (McCabe & Rolls, 2007).

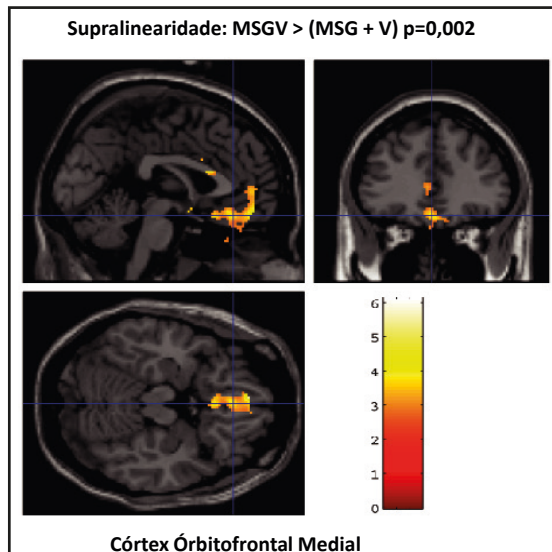


Figura 15.4 – Grau de adição entre MSG e um aroma vegetal harmonioso. É apresentado o contraste da mistura de MSG e aroma vegetal (MSGV), com a soma das ativações do MSG e o aroma vegetal apresentada separadamente. Isso revela um efeito altamente significativo no córtex orbitofrontal centrado em $[-6\ 52\ -14]$ $fc\ p=0,002$, o qual com a ativação se estendeu ao córtex cingulado pregenual.

Fonte: McCabe e Rolls, 2007. (SLMSGVofc2.eps).

Foi então proposto que o glutamato atua via efeitos não lineares em regiões multimodais de convergência cortical entre gosto e aroma, quando em combinação com um aroma harmônico. Assim, surge a ideia de que a nível conceitual o umami pode ser pensado como um rico e delicioso sabor que é produzido pela combinação do gosto do glutamato e um aroma agradável e harmônico. Glutamato é, então, um realçador de sabor, devido à maneira pela qual ele pode se combinar supralinearmente com aromas harmônicos em áreas corticais, onde as vias gustativas e olfativas convergem para além dos receptores, e onde o prazer do sabor é representado.

9. MODULAÇÃO COGNITIVA DAS RESPOSTAS EMOCIONAIS AO SABOR E GOSTO UMAMI

Foi relatado anteriormente que um fator importante na palatabilidade do umami é a combinação do gosto do glutamato com um aroma harmônico. Outro fator importante em tornar o umami agradável é a rotulagem cognitiva ou descrição relacionada ao gosto do glutamato ou ao sabor umami, como mostrado por Grabenhorst *et al.* (2008a). O estímulo gustativo do MSG (0,1 M) com IMP (0,005 M), que produz o gosto umami, foi rotulado à partir de um estímulo visual, e o classificaram como “gosto rico e delicioso” (MSG-rico) ou como “glutamato monossódico” qualificado como básico (MSG-básico). De forma semelhante, foi rotulado o estímulo do sabor produzido pela combinação do MSG com um aroma vegetal como “sabor rico e delicioso” (MSGV-rico), em contraste com a “água de hortalizas fervidas” (MSGV-básico). No início dos testes, os indivíduos não foram informados exatamente a respeito de qual estímulo gustativo ou de sabor estavam colocado na boca. A Figura 15.5 mostra que o MSG foi classificado como significativamente mais agradável quando foi rotulado como “gosto rico e delicioso” do que quando rotulado como “glutamato monossódico” ($p=0,002$). De maneira similar, o MSGV foi considerado como significativamente mais agradável quando rotulado como “sabor rico e delicioso” do que quando rotulado como “água de hortalizas fervidas” ($p=0,003$). Adicionalmente, os rótulos não produziram diferenças significativas na classificação da intensidade das medições do MSG.

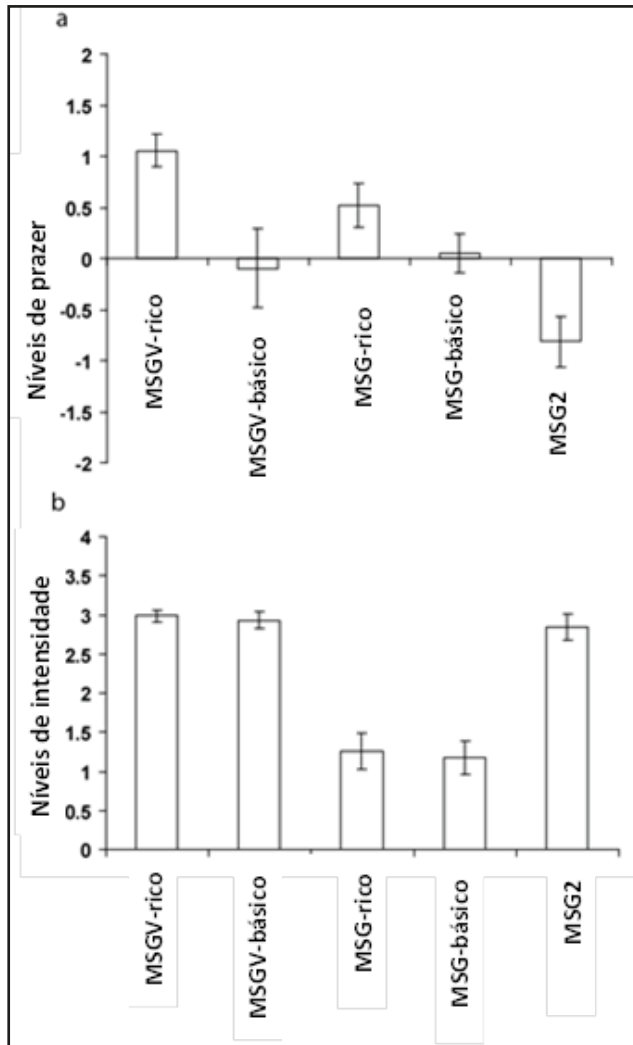


Figura 15.5 – Classificação do prazer (a) e intensidade (b) do gosto umami e do estímulo do sabor (média \pm DP). O estímulo do gosto do MSG foi classificado como significativamente mais agradável quando rotulado como “gosto rico e delicioso” do que quando rotulado “glutamato monossódico”. Similarmente, o estímulo do sabor do MSGV foi classificado como significativamente mais agradável quando rotulado como “sabor rico e delicioso” do que quando rotulado como “água de hortaliças fervidas”. Em contraste aos efeitos nos níveis de prazer, os rótulos não produziram diferenças significativas nos níveis de intensidade do gosto e no estímulo do sabor. Esses achados fornecem uma clara evidência de que os rótulos cognitivos modulam a percepção do prazer, mas não a intensidade do gosto e sabor. O estímulo gustativo do MSG mais concentrado (MSG2,) foi classificado como significativamente menos agradável e mais intenso do que o estímulo gustativo rotulado idênticamente como MSG-básico. Neste caso, os rótulos eram idênticos (“glutamato monossódico”), e isso nos traz evidência de que o gosto percebido também refletia as propriedades do estímulo (concentração baixa *versus* alta).

Fonte: Grabenhorst *et al.* (2008a). (Ratingsreview.eps.).

A comparação MSGV-rico *versus* MSGV-básico mostrou efeitos significativos no córtex orbitofrontal medial. Essa região foi mais fortemente ativada quando o estímulo gustativo foi rotulado como “sabor rico e delicioso” do que quando foi rotulado como “água de hortaliças fervidas” (em [-8 28 -20] Figura 15.6a, o sinal BOLD, para as duas condições, é mostrado na Figura 15.6b, e os picos foram significativamente diferentes, como mostrado na Figura 15.6c). Dessa forma, as palavras no rótulo influenciaram as ativações produzidas pelo sabor umami nessa área. Além disso, as ativações no córtex orbitofrontal medial refletiram o prazer do estímulo, conforme mostrado pela correlação com os níveis subjetivos de prazer provocado pelo estímulo do rótulo (MSGV-rico, MSGV-básico, MSG-rico e MSG-básico) (Figura 15.6d, mostra os sinais BOLD em função das classificações). Dessa forma, no córtex orbitofrontal, as ativações geradas pelos estímulos gustativos e de sabor foram moduladas pelos escritos nos rótulos. Essa modulação cognitiva foi realizada através das ativações relacionadas ao prazer gerado por esses estímulos. Ativações relacionadas ao gosto do glutamato, promovidas e influenciadas pela terminologia usada no rótulo, foram moduladas numa região que recebe sinais do córtex orbitofrontal (o córtex cingulado pregenual), enquanto as do gosto do glutamato como sabor umami foram moduladas numa outra região que recebe sinais do córtex orbitofrontal (*estriatum ventral*). Em uma pesquisa relacionada, foi demonstrado que os efeitos de rótulos cognitivos *top-down* (de cima para baixo) registrados somente nessas áreas eram relativamente fracos, e que os grandes efeitos eram registrados quando havia interação entre os estímulos recebidos (de Araujo *et al.*, 2005). Então, pode-se entender que o mecanismo influencia na competição tendenciosa da concorrência de cima para baixo, similar àquela envolvida na atenção de cima para baixo (Rolls & Deco, 2002; Deco & Rolls, 2003; Deco & Rolls 2005; Rolls, 2008b). Modulações cognitivas relacionadas à emoção não foram encontradas no córtex gustativo insular (primário), onde a intensidade, mas não o prazer do gosto, era representado. Grabenhorst *et al.* (2008) e Grabenhorst *et al.* (2008a) concluíram que os efeitos cognitivos no nível de linguagem *top-down* alcançam níveis muito baixos nas áreas corticais que representam o valor apetitivo do gosto e do sabor. Isso é uma importante maneira pela qual a cognição influencia os mecanismos neurais que controlam o prazer do gosto do glutamato e do umami e, dessa forma, o apetite.

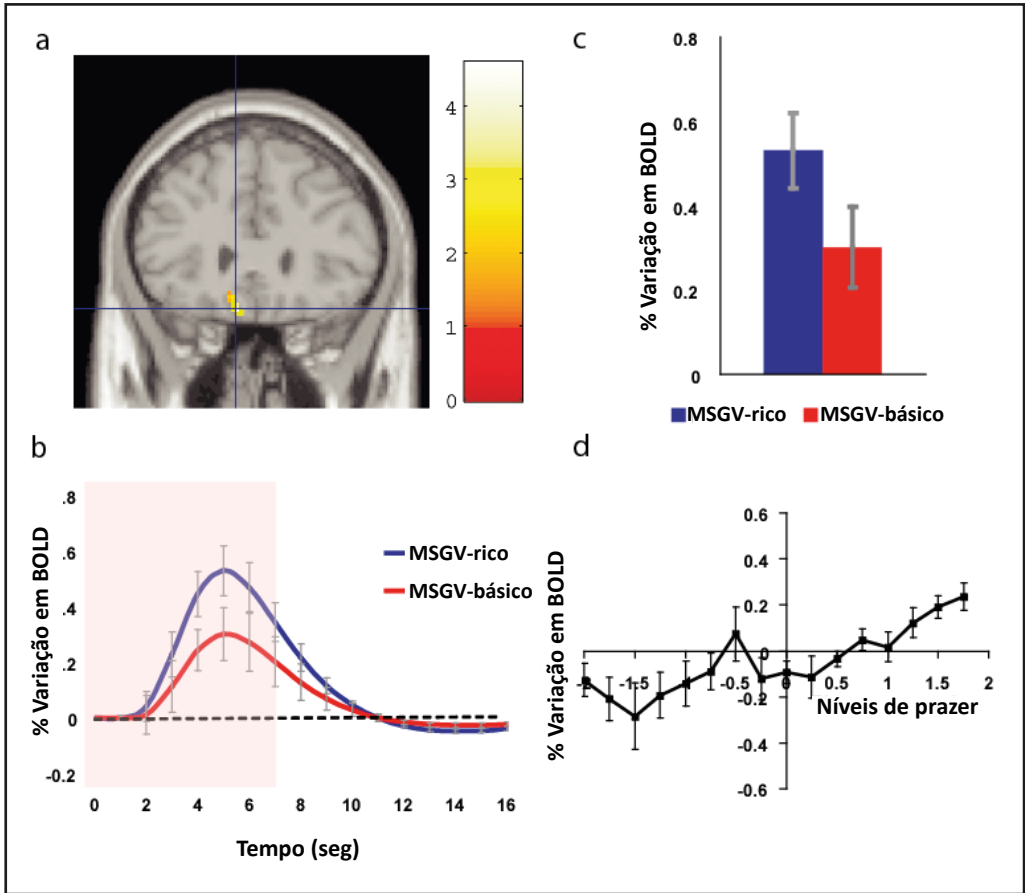


Figura 15.6 – (a) O córtex orbitofrontal medial foi mais fortemente ativado quando o estímulo gustativo foi rotulado como “sabor rico e delicioso” (MSGV-rico) do que quando foi rotulado como “água de hortaliças ferveridas” (MSGV-básico) ([-8 28 -20]); (b) variação dos sinais BOLD em função do tempo para as duas condições estudadas; (c) valores máximos do sinal BOLD (média entre indivíduos \pm DP) foram significativamente diferentes ($t=3.06$, $df=11$, $p=0,01$); (d) sinal BOLD no córtex orbitofrontal medial correlacionado com os níveis subjetivos de prazer do gosto e do sabor (média entre indivíduos \pm DP, $r=0,86$, $p<0,001$).

Fonte: Grabenhorst *et al.*, 2008a. (mOFC_Fig3review3.eps.).

10. INFLUÊNCIA DAS PERCEÇÕES NO PROCESSAMENTO DO ESTÍMULO UMAMI

Como as emoções influenciam no processamento do umami? Grabenhorst & Rolls (2008) demonstraram que, ao prestar atenção ao prazer do gosto ou sabor umami (em experimentos em que a cada participante foi solicitado, no início do teste, que classificasse o nível de prazer causado pelos estímulos), o processamento em regiões do cérebro, tais como o córtex orbitofrontal e córtex

gustativo insular primário, é potencializado. Além disso, o prazer subjetivo do gosto umami foi correlacionado com ativações relacionadas ao gosto no córtex orbitofrontal, enquanto que a intensidade subjetiva do gosto umami foi correlacionada com ativações no córtex gustativo primário (Grabenhorst & Rolls, 2008). Dessa forma, dependendo do contexto no qual os gostos são apresentados e se o impacto emocional é relevante, o cérebro responde ao estímulo gustativo de forma diferente. Essa influência diferencial nas regiões do cérebro envolvidas no processamento de um estímulo sensorial, dependendo de como é a demanda cognitiva para eventos relativos às emoções *versus* o processamento de eventos relativos às sensações, pode ser um importante aspecto de cognição e atenção. Isso tem muitas implicações para a investigação e compreensão, tanto desde uma abordagem psicológica quanto neurológica, dos efeitos do gosto, assim como também de outros estímulos sensoriais, incluindo o estímulo olfatório (aromas) (Rolls *et al.*, 2008). Além disso, destaca-se o valor da atenção seletiva visto que, quando se avalia o estímulo umami, pode ser muito importante levar em consideração a emoção como um todo, ao se prestar atenção às propriedades físicas dos estímulos (como a intensidade), ou ao valor afetivo dos estímulos (tal como o prazer). Além disso, os sistemas cerebrais participam de maneiras diferentes, em função da direção desses dois tipos de atenção.

11. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nível neuronal, há representações do gosto do glutamato diferentes das representações de outros estímulos gustativos, tanto no córtex gustativo primário como no córtex orbitofrontal. Também, alguns neurônios combinam o gosto do glutamato com estímulos olfatórios, visuais, e de textura e temperatura oral, e o valor de recompensa do gosto do glutamato é representado por neurônios no córtex orbitofrontal. Em humanos, o glutamato ativa os córtices gustativos primário (insular), secundário (orbitofrontal) e pregenual cingulado (terciário), e a sensação de prazer do umami é produzida pela combinação do gosto do glutamato com um aroma harmônico em áreas muito além dos receptores do gosto umami, no córtex orbitofrontal e nos córtices cingulados e pregenuais. Também, os efeitos cognitivos atingem profundamente o córtex orbitofrontal, para influenciar o prazer do sabor e do gosto umami. Se a atenção for direcionada às propriedades físicas do umami ou ao seu valor emocional, haverá efeitos moduladores do tipo *top-down* em diferentes sistemas de processamento cortical ativados pelo umami. De modo geral, o processamento cortical é importante para o sabor umami, e por sua vez permite entender como funciona o umami

para promover um rico e delicioso sabor nos alimentos. Por sua vez, isso tem implicações importantes para a compreensão do uso do sabor umami para promover uma boa nutrição.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAYLIS, L. L. & ROLLS, E. T. “Responses of neurons in the primate taste cortex to glutamate”. *Physiol Behav.* 49(5): 973-979, 1991.
- BAYLIS, L. L.; ROLLS, E. T. & BAYLIS, G. C. “Afferent connections of the orbitofrontal cortex taste area of the primate”. *Neuroscience.* 64(3): 801-812, 1995.
- BEAUCHAMP, G. K. & PEARSON, P. “Human development and umami taste”. *Physiol Behav.* 49(5): 1009-1012, 1991.
- CHAUDHARI, N.; LANDIN, A. M. & ROPER, S. D. “A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor”. *Nat Neurosci.* 3(2): 113-119, 2000.
- CRITCHLEY, H. D. & ROLLS, E. T. “Olfactory neuronal responses in the primate orbitofrontal cortex: analysis in an olfactory discrimination task”. *J Neurophysiol.* 75(4):1659-1672, 1996a.
- CRITCHLEY, H. D. & ROLLS, E. T. “Hunger and satiety modify the responses of olfactory and visual neurons in the primate orbitofrontal cortex”. *J Neurophysiol.* 75(4): 1673-1686, 1996b.
- DE ARAUJO, I. E. T. *et al.* “Representation of umami taste in the human brain”. *J Neurophysiol.* 90(1): 313-319, 2003a.
- DE ARAUJO, I. E. T. *et al.* “Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain”. *Eur J Neurosci.* 18(7): 2059-2068, 2003b.
- DE ARAUJO, I. E. T. *et al.* “Cognitive modulation of olfactory processing”. *Neuron.* 46(4): 671-679, 2005.
- DECO, G. & ROLLS, E. T. “Attention and working memory: a dynamical model of neuronal activity in the prefrontal cortex”. *Eur J Neurosci.* 18(8): 2374-2390, 2003.
- DECO, G. & ROLLS, E. T. “Neurodynamics of biased competition and co-operation for attention: a model with spiking neurons”. *J Neurophysiol.* 94(1): 295-313, 2005.

GRABENHORST, F. & ROLLS, E. T. “Selective attention to affective value alters how the brain processes taste stimuli”. *Eur J Neurosci.* 27(3): 723-729, 2008.

GRABENHORST, F.; ROLLS, E. T. & BILDERBECK, A. “How cognition modulates affective responses to taste and flavor: top-down influences on the orbitofrontal and pregenual cingulate cortices”. *Cereb Cortex.* 18(7): 1549-1559, 2008a.

GRABENHORST, F.; ROLLS, E. T. & PARRIS, B. A. “From affective value to decision-making in the prefrontal cortex”. *Eur J Neurosci.* 28: 1930-1939, 2008b.

KADOHISA, M.; ROLLS, E. T. & VERHAGEN, J. V. “Neuronal representations of stimuli in the mouth: the primate insular taste cortex, orbitofrontal cortex, and amygdale”. *Chem Senses.* 30(5): 401-419, 2005.

KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. *Umami: a basic taste.* New York, Dekker, 1987.

MARUYAMA, Y. *et al.* “Umami responses in mouse taste cells indicates more than one receptor”. *J Neurosci.* 26(8): 2227-2234, 2006.

MCCABE, C. & ROLLS, E. T. “Umami: a delicious flavor formed by convergence of taste and olfactory pathways in the human brain”. *Eur J Neurosci.* 25(6):1855-1864, 2007.

NORGREN, R. “Central neural mechanisms of taste”. *In: DARIEN-SMITH, I. Handbook of physiology - The nervous system III. Sensory processes I.* Washington, American Physiological Society, 1984, pp. 1087-1128.

O'DOHERTY, J. *et al.* “The representation of pleasant and aversive taste in the human brain”. *J Neurophysiol.* 85(3): 1315-1321, 2001.

RIFKIN, B. & BARTOSHUK, L. M. “Taste synergism between monosodium glutamate and disodium 5'-guanylate”. *Physiol Behav.* 24(6): 1169-1172, 1980.

ROLLS, E. T. “The representation of umami taste in the taste cortex”. *J Nutrit.* 130(4S Suppl): S960-S965, 2000.

ROLLS, E. T. “The representation of umami taste in the human and macaque cortex”. *Sensory Neuron.* 3(3): 227-242, 2001.

ROLLS, E. T. “Brain mechanisms that analyse umami taste and their relation to the control of feeding”. *In: ELMADFA, I.; ANKLAM, E. & KONIG, J. S.*

Forums in nutrition 56: Modern aspects of nutrition - Present knowledge and future perspectives. Basel, Karger, 2003, pp. 84-87.

ROLLS, E. T. *Emotion explained*. Oxford, Oxford University Press, 2005.

ROLLS, E. T. “Understanding the mechanisms of food intake and obesity”. *Obes Rev*. 8(Suppl 1): 67-72, 2007a.

ROLLS, E. T. “Sensory processing in the brain related to the control of food intake”. *Proc Nutr Soc*. 66(1): 96-112, 2007b.

ROLLS, E. T. “Functions of the orbitofrontal and pregenual cingulate cortex in taste, olfaction, appetite and emotion”. *Acta Physiol Hung*. 95(2): 131-164, 2008a.

ROLLS, E. T. *Memory, attention, and decision-making: a unifying computational neuroscience approach*. Oxford, Oxford University Press, 2008b.

ROLLS, E. T. “From reward value to decision-making: neuronal and computational principles”. In: DREHER, J. C. & TREMBLAY, L. (ed.). *Reward and decision-making*. Amsterdam, Elsevier, 2009.

ROLLS, E. T. & BAYLIS, L. L. “Gustatory, olfactory, and visual convergence within the primate orbitofrontal cortex”. *J Neurosci*. 14(9): 5437-5452, 1994.

ROLLS, E. T. & DECO, G. *Computational neuroscience of vision*. Oxford, Oxford University Press, 2002.

ROLLS, E. T. & SCOTT, T. R. “Central taste anatomy and neurophysiology”. In: DOTY, R. L. (ed.). *Handbook of olfaction and gustation*. 2. ed. New York, Dekker, 2003, pp. 679-705.

ROLLS, E. T. & GRABENHORST, F. “The orbitofrontal cortex and beyond: from affect to decision-making”. *Progress in Neurobiology*. 86(3): 216-244, 2008.

ROLLS, E. T.; SIENKIEWICZ, Z. J. & YAXLEY, S. “Hunger modulates the responses to gustatory stimuli of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey”. *Eur J Neurosci*. 1(1): 53-60, 1989.

ROLLS, E. T.; YAXLEY, S. & SIENKIEWICZ, Z. J. “Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey”. *J Neurophysiol*. 64: 1055-1066, 1990.

ROLLS, E. T.; KRINGELBACH, M. L. & DE ARAUJO, I. E. T. “Different representations of pleasant and unpleasant odors in the human brain”. *Eur J Neurosci.* 18(3): 695-703, 2003.

ROLLS, E. T. *et al.* “The responsiveness of neurones in the frontal opercular gustatory cortex of the macaque monkey is independent of hunger”. *J Physiol.* 397: 1-12, 1988.

ROLLS, E. T. *et al.* “Orbitofrontal cortex neurons: role in olfactory and visual association learning”. *J Neurophysiol.* 75(5): 1970-1981, 1996a.

ROLLS, E. T. *et al.* “Responses of neurons in the primate taste cortex to the glutamate ion and to inosine 5'-monophosphate”. *Physiol Behav.* 59(4-5): 991-1000, 1996b.

ROLLS, E. T. *et al.* “Selective attention to affective value alters how the brain processes olfactory stimuli”. *J Cogn Neurosci.* 20(10): 1815-1826, 2008.

SCOTT, T. R. & PLATA-SALAMAN, C. R. “Taste in the monkey cortex”. *Physiol Behav.* 67(4): 489-511, 1999.

SCOTT, T. R. *et al.* “Gustatory responses in the frontal opercular cortex of the alert cynomolgus monkey”. *J Neurophysiol.* 56(3): 876-890, 1986.

SMALL, D. M. & PRESCOTT, J. “Odor/taste integration and the perception of flavor”. *Exp Brain Res.* 166(3-4): 345-357, 2005.

SMALL, D. M. *et al.* “Human cortical gustatory areas: a review of functional neuroimaging data”. *Neuro Report.* 10(1): 7-14, 1999.

VERHAGEN, J. V.; KADOHISA, M. & ROLLS, E. T. “The primate insular/opercular taste cortex: neuronal representations of the viscosity, fat texture, grittiness, temperature and taste of foods”. *J Neurophysiol.* 92(3): 1685-1699, 2004.

WILSON, J. L. *et al.* “Fast, fully automated global and local magnetic field optimisation for fMRI of the human brain”. *Neuroimage.* 17(2): 967-976, 2002.

YAMAGUCHI, S. “The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate”. *J Food Sci.* 32(4): 473-478, 1967.

YAMAGUCHI, S. & KIMIZUKA, A. “Psychometric studies on the taste of monosodium glutamate”. In: FILER, L. J. *et al.* *Glutamic Acid: Advances in Biochemistry and Physiology.* New York, Raven Press, 1979, pp. 35-54.

- YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “Umami and food palatability”. *J Nutrit.* 130(4S Suppl): 921S-926S, 2000.
- YAXLEY, S.; ROLLS, E. T. & SIENKIEWICZ, Z. J. “The responsiveness of neurons in the insular gustatory cortex of the macaque monkey is independent of hunger”. *Physiol Behav.* 42(3): 223-229, 1988.
- YAXLEY, S.; ROLLS, E. T. & SIENKIEWICZ, Z. J. “Gustatory responses of single neurons in the insula of the macaque monkey”. *J Neurophysiol.* 63(4):689-700, 1990.
- ZATORRE, R. J. *et al.* “Functional localization of human olfactory cortex”. *Nature.* 360(6402): 339-340, 1992.
- ZHAO, G. Q. *et al.* “The receptors for mammalian sweet and umami taste”. *Cell.* 115(3): 255-266, 2003.

UMAMI NO MUNDO DA GASTRONOMIA

*Kumiko Ninomiya
Ana San Gabriel*

1. QUAL COMPONENTE TORNA O SABOR DOS ALIMENTOS APETITOSO?

Existe uma grande variedade de culturas culinárias no mundo, as quais refletem as formas de vida e condições climáticas locais. A cultura culinária e os hábitos alimentares incorporam alguns dos fatores que determinam o padrão básico a partir do qual uma gastronomia considera um sabor agradável ou repulsivo. Na hora de comer, usamos a visão e o olfato, assim como as sensações sutis de sabor ou toque dentro da boca para julgar se os alimentos que desejamos ingerir são frescos ou ricos em nutrientes ou, pelo contrário, estão em mau estado. Após essa discriminação inicial, se a experiência de provar esses alimentos for prazerosa, continuaremos a comê-los e concluiremos que o sabor é agradável. Dessa forma, se a impressão sobre algo que comemos pela primeira vez é positiva, da próxima vez que o encontrarmos, quereremos comê-lo novamente, na expectativa de que vai satisfazer nosso desejo. Por outro lado, se depois da ingestão desse alimento em particular como, por exemplo, acontece com os moluscos crus, ficarmos doentes com diarreia ou febre, certamente na próxima vez que nos oferecerem moluscos não nos apetecerá. Esse tipo de resposta é um mecanismo de defesa do organismo que se conhece como aversão condicionada. Através

de nossos hábitos alimentares diários, armazenamos na memória as texturas, aromas e sabores dos alimentos. Essa informação gustativa, olfativa e visual é transmitida ao cérebro através do sistema nervoso, que a compara com experiências passadas e decide se determinado alimento é desejável.

Existe uma grande variedade de fatores que determinam se um alimento é mais ou menos apetitoso. É difícil se sentir satisfeito, por exemplo, ao comer quando o ambiente é tenso ou quando não nos sentimos bem (fatores psicológicos e de saúde). Se mudarmos para uma área ou ambiente diferente daquele em que crescemos, pode acontecer de perdermos o apetite devido aos alimentos ou hábitos alimentares não nos serem familiares. Também é natural que alguém goste de comer e ache a comida saborosa numa mesa com sua família ou cercado por bons amigos (ambiente de alimentação). Além desses fatores indiretos, outros elementos relacionados ao próprio alimento, tais como cor, brilho ou forma, também influenciam o apetite e a percepção de como ele é delicioso. Apetece-nos comer pratos quentes recém-feitos no fogo ou no forno, ou frios, os que são consumidos frios. Também é importante, na apreciação da boa comida, sentir o alimento macio ao contato com a língua, ou que se quebra na boca, ou que faz um ruído quando mastigado. Mas, embora existam diversos fatores que determinam se um alimento é saboroso ou agradável ao paladar, um dos mais importantes é o gosto, ou seja, a apreciação dos cinco gostos básicos: doce, ácido, salgado, amargo e umami. Umami é essencial para o sabor gostoso dos alimentos. O fato de a comida ter um sabor bom para nós resulta de uma avaliação exaustiva, mas ao mesmo tempo subjetiva, de elementos como gosto, aroma, textura e temperatura; além de outros fatores como aparência, cor e forma, assim como nossa condição física, o ambiente ao nosso redor, cultura e nossas experiências anteriores (Figura 16.1).

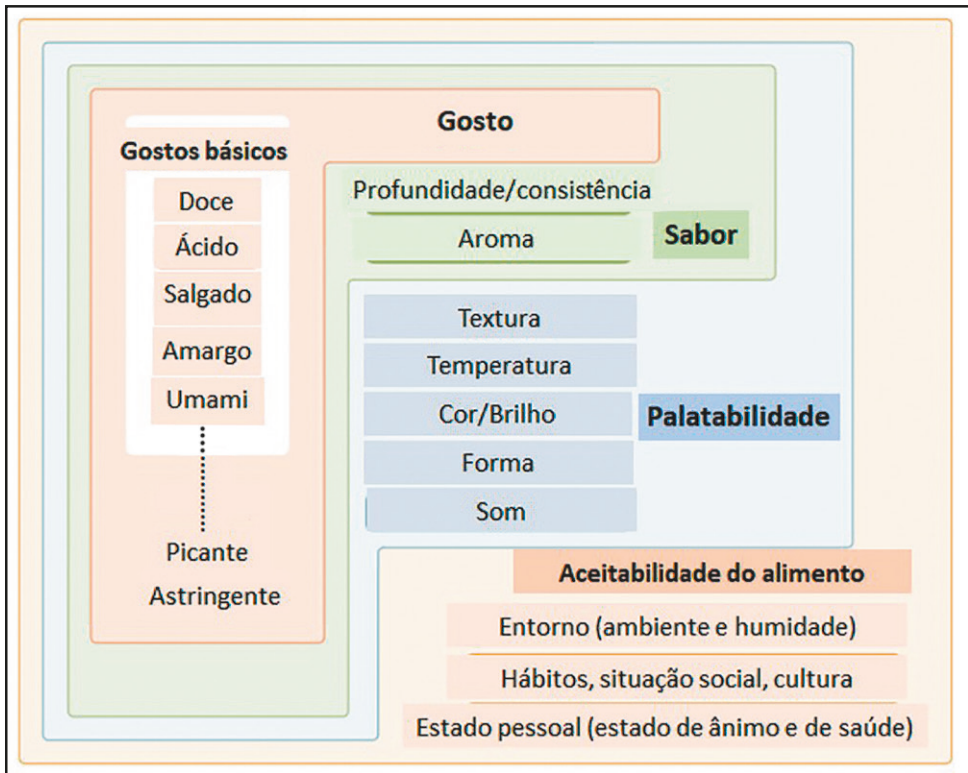


Figura 16.1 – Como experimentamos os alimentos.
 Fonte: *Umami Information Center*, <https://www.umamiinfo.com/>.

No ocidente, os cientistas têm reconhecido tradicionalmente quatro gostos básicos: doce, ácido, salgado e amargo. Ao contrário do que acontece com os sabores, os quais exigem sensações múltiplas e concomitantes, o gosto envolve somente uma única sensação. Por muitos anos, o indescritível quinto gosto, ou umami, foi rejeitado pelos cientistas, enquanto chefs ao redor do mundo o adotaram. Umami é geralmente descrito como “saboroso”, “típico de caldo de galinha” ou “relacionado com o sabor de carne”, e deriva da palavra japonesa *umai* que significa ‘delicioso’. Brillat-Savarin no seu clássico tratado de 1825, *A Fisiologia do Gosto*, propôs o nome *osmazome* para identificar a “essência do sabor” típico de carne (Brillat-Savarin & Fisher, 1978); no entanto, não conseguiu isolar a substância chave. Apesar de existir há milhares de anos, foi no final do século XIX que um químico alemão conseguiu isolar o ácido glutâmico a partir do glúten do trigo. E somente em 1908, o professor japonês, Kikunae Ikeda, da Universidade Imperial de Tóquio, se dedicou ao estudo do glutamato usando ingredientes da cozinha japonesa tradicional, que continham

o sabor delicioso de seus pratos tradicionais. A partir de caldos preparados com a alga *Kombu* desidratada, Ikeda isolou o glutamato e descobriu que este era responsável pelo gosto umami quando se encontrava na forma de sal e não como ácido glutâmico (Ikeda, 1909).

A estrutura do ácido glutâmico já havia sido descrita por Ritthausen em 1866 (Vickery, 1931) e por Fisher (Fisher, 1906), o qual posteriormente observou que tinha um gosto levemente ácido e insípido. Dessa forma, Fischer não percebeu que o glutamato produz um gosto único, diferente dos quatro gostos básicos clássicos. Vale a pena destacar que, na maioria dos alimentos, o pH se aproxima da neutralidade e, nestas condições, o glutamato está presente quase exclusivamente na forma de sal. Apesar de que Ikeda isolou o ácido glutâmico, em seus estudos ele o preparou e provou na forma de sal. Hoje, se sabe que vários dos sais de glutamato solúveis: com Na (sódio), K (potássio) ou Ca (cálcio) são responsáveis pelo gosto umami (Kurihara, 2009).

Desde os anos 1980, estudos sobre o umami têm sido realizados em uma grande variedade de especialidades, incluindo a ciência dos alimentos, fisiologia da nutrição e do gosto, neurociência e psicofísica, graças aos quais o umami é hoje reconhecido como um dos cinco gostos básicos.

No ano 2000, pesquisadores nos Estados Unidos verificaram a existência de um receptor (receptor metabotrópico do glutamato, variante tipo 4) candidato para o umami (glutamato) na língua de ratos (Chaudhari *et al.*, 2000). Desde então, outros pesquisadores identificaram vários receptores do gosto umami, seus mecanismos de recepção, bem como o efeito sinérgico entre o glutamato e os ribonucleotídeos (Zhang *et al.*, 2008; Beauchamp, 2009; San Gabriel *et al.*, 2009; Mouritsen & Khandelia, 2012). Como consequência, estudos científicos interdisciplinares, com vistas para um maior entendimento dos mecanismos cognitivos do umami no cérebro, por exemplo, têm se intensificado nos últimos anos, com o interesse de estabelecer a importância fisiológica e nutricional de substâncias gustativas, tais como o ácido glutâmico.

O glutamato monossódico (MSG), ingrediente de condimentos e realçador do sabor, é altamente solúvel, estável e de fácil conservação. Em todo o mundo são usados, por ano, cerca de 2 milhões de toneladas. A descoberta do umami pelo químico Ikeda não foi simplesmente o trabalho acadêmico de um cientista, já que mudou significativamente o curso da história da indústria alimentícia, assim que o condimento umami se tornou comercialmente disponível. Kikunae Ikeda foi selecionado pela *Japan Patent Office* como um dos “Dez Grandes Inventores Japoneses” (<http://www.batfa.com/greatjapanese.html>).

Pode-se dizer, sem dúvida, que ao redor do mundo começou a ser reconhecido, a partir de diferentes experiências das pessoas, que o gosto umami do glutamato (enraizado na cultura alimentar japonesa) potencializa eficientemente o sabor básico dos alimentos.

2. DASHI, O CALDO UMAMI NO JAPÃO

As substâncias que mais estimulam o gosto umami são glutamato, inosina-5'-monofosfato (IMP) e guanosina-5'-monofosfato (GMP). Visto que essas substâncias foram descobertas por cientistas japoneses, não há dúvida de que a cultura alimentar do Japão foi um fator determinante para a descoberta do quinto gosto básico. No Japão, o *dashi* é uma importante base gastronômica, como um caldo para todas as ocasiões, e é geralmente preparado a partir do *kombu* (alga marinha desidratada), *katsuobushi* (lascas de peixe bonito desidratado) e cogumelos *shiitake* desidratados. *Dashi*, que literalmente significa “extrato fervido”, tem o gosto umami muito simples quando comparado com o gosto do consomê de países ocidentais e da China. Na falta de carne, que é uma rica fonte de umami, os japoneses aprenderam a extrair umami de algas marinhas, peixes e vegetais desidratados.

Umami, às vezes, é descrito em inglês como um “gosto típico de caldo” (gosto de caldo de carne ou de galinha), mas ao se comparar caldos com um conteúdo variado de aminoácidos livres e IMP, o caldo japonês *dashi* destaca-se como caldo incomum, não apenas pelo alto conteúdo de aminoácidos umami, como glutamato e aspartato, mas pela ausência de outros aminoácidos que não são umami. A intensidade do gosto umami do aspartato é em torno de um décimo daquela do glutamato. E não é exagero dizer que o *kombu dashi* ou *ichiban dashi*, preparado com *kombu* e bonito desidratado, é um caldo com gosto umami natural. Por outro lado, os caldos ocidentais e o *tang* da cozinha chinesa são ricos não só em glutamato, mas também em outros aminoácidos. Nessa mistura complexa de tantos aminoácidos livres, é difícil discernir o umami (Figuras 16.2 e 16.3). As substâncias umami são encontradas em muitos alimentos, como tomates e queijos, assim como no *kombu* e bonito desidratados, porém, normalmente não sentimos o umami por si só, embora seja um componente comum a todos eles. Ao invés disso, apreciamos o sabor característico de cada alimento, o sabor do tomate no caso dos tomates e o sabor característico de queijo, no caso dos queijos.

Os tabletes de caldo foram primeiramente comercializados no final do século XIX pelo moleiro suíço Julius Maggi (Heer, 1991), que desenvolveu um

produto de preparo rápido, as sopas desidratadas e tabletes em forma de cubo. Desta forma, as pessoas sem recursos financeiros para comprar carne podiam conseguir uma nutrição suficiente de baixo custo. Um dos ingredientes-chave dos cubos era proteína vegetal hidrolisada e esses hidrolisados produziam o sabor típico de carne. Até então, não se sabia que um importante ingrediente desses vegetais hidrolisados à base de proteína vegetal era o glutamato; mas os tabletes de caldo revolucionaram a indústria alimentícia ocidental. O “sabor de carne” que os europeus obtiveram ao dissolver as proteínas vegetais em água, certamente satisfez o seu paladar. O lançamento de tabletes de caldo no ocidente e o tempero umami no Japão, sem dúvida, refletem as diferenças evidentes entre ambas as culturas culinárias tradicionais, a do Japão e a do Ocidente.

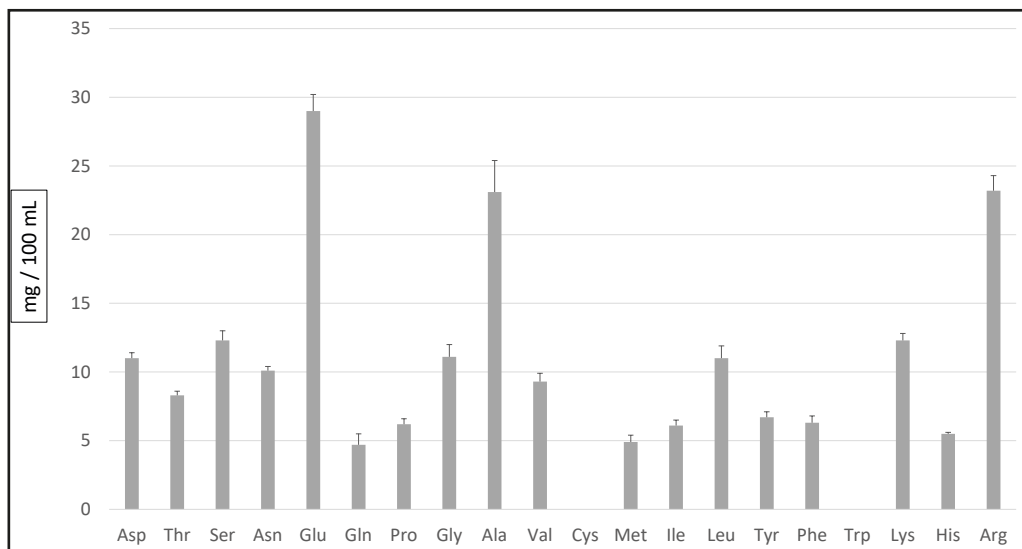


Figura 16.2 – Concentração de aminoácidos livres em um caldo padrão.

Fonte: figura adaptada de Ninomiya *et al.*, 2010.

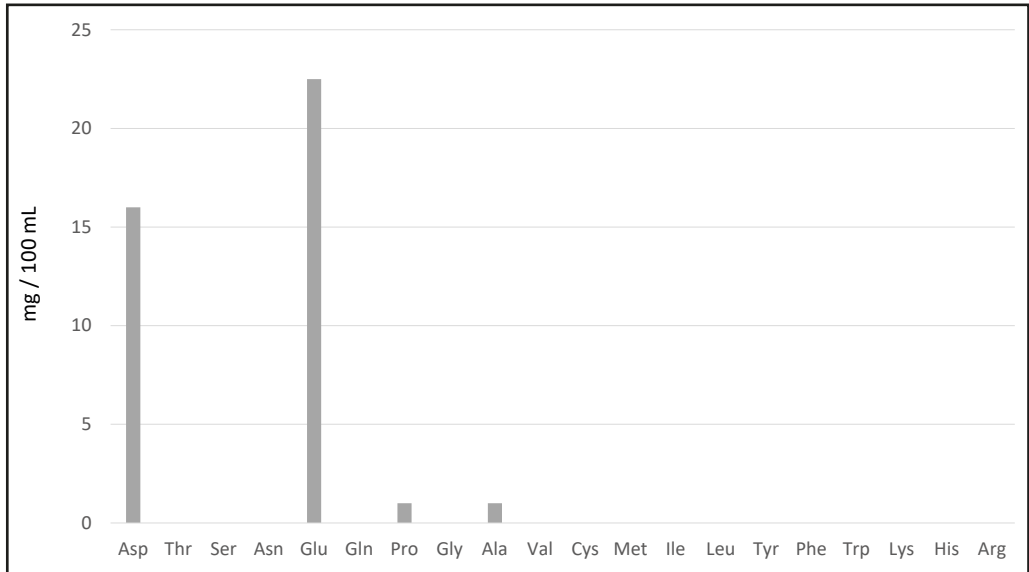


Figura 16.3 – Concentração de aminoácidos livres em *kombu dashi*.

Fonte: Kurihara, 2009.

3. ALIMENTOS RICOS EM UMAMI NA ARTE CULINÁRIA

É interessante notar que, muito antes de o umami ser oficialmente identificado como um gosto básico, muitas civilizações já usavam alimentos e ingredientes ricos em glutamato. A humanidade tem desenvolvido formas diferentes para melhorar o sabor da carne, peixe, leite, soja etc. através da fermentação, maturação ou cura. Durante esses processos, a quantidade de ácido glutâmico aumenta à medida que a proteína libera os aminoácidos que a constitui. Geralmente, a quantidade de ácido glutâmico na proteína animal e vegetal é de 20-40%. Isso significa que, como resultado da fermentação, maturação ou cura, os alimentos têm gosto umami. Além disso, ao ferver em água ou aquecer em fogo lento carnes, peixes ou vegetais, também é liberado glutamato dos tecidos destes alimentos. Entretanto, deve-se notar que a temperatura normal de cozimento, em torno de 100 ou 150 °C, não promove a hidrólise da proteína. A questão é como conseguir que o glutamato que não está ligado às proteínas e se encontra naturalmente presente em muitos alimentos, passe a se tornar parte das sopas ou molhos que preparamos. Existe uma longa tradição na combinação de ingredientes para o cozimento de caldos, que pode responder a uma combinação específica de glutamato e 5'-ribonucleotídeos para potencializar o gosto umami. De fato, é de conhecimento no Japão que algas e bonito tornam as sopas mais saborosas; na

França, que a carne ou peixe e vegetais tornam os ensopados mais apetitosos; e, na Itália, que o queijo e o tomate cozidos com carne ou frutos do mar produzem pratos mais saborosos.

3.1. Fermentação

Embora os receptores gustativos para o umami tenham sido identificados somente no início da década dos anos 2000 (Chaudhari *et al.*, 2000, Li *et al.*, 2002), do ponto de vista culinário o gosto umami não é novidade. Os molhos de peixe fermentado e extratos concentrados de carne e vegetais têm sido valorizados por seu sabor e aroma na gastronomia mundial por mais de 2000 anos (Ninomiya, 2002), como, por exemplo, o *garum* romano ou *liquamen*, um dos condimentos mais antigos, o *nam pla* tailandês, *nuoc mam tom cha* vietnamita, *terasi* indonésio, *ngapi* birmanês, *bagoong* filipino e o *beef tea* britânico.

Em 1825, o gastrônomo francês Brillat-Savarin, em sua obra *A Fisiologia do Gosto*, descreveu o sabor de carne como *osmazome* e previu que o “futuro da gastronomia pertence à química” (Brillat-Savarin & Fisher, 1978). Esta descrição de *osmazome* é similar à interpretação japonesa do umami. É a química dos alimentos com glutamato que ajuda a criar essa percepção do umami. Vários tipos de alimentos fermentados no mundo são o melhor exemplo de que várias civilizações têm experimentado o umami desde os tempos antigos. O *garum* pode ter sido a base do umami na tradição culinária italiana. A receita do *garum*, esquecida há muito tempo, consistia essencialmente em uma marinada composta de peixes tais como sardinha, cavala, carapau e atum. Onipresente em todos os pratos da cozinha romana, seu alto teor de glutamato tornava-o um tempero ideal. Entretanto, no século III d.C. o *garum* desapareceu da cozinha italiana e hoje, os únicos traços dessa tradição culinária antiga se encontram nas anchovas salgadas que acompanham alguns dos pratos italianos contemporâneos. Há molho fermentado de anchova, típico de Cetara, na costa de Amalfi no sul da Itália, similar ao molho de peixe *garum*, produzido pelos antigos romanos. O molho é um produto derivado do processo de cura de anchovas em camadas de sal marinho. O líquido avermelhado e salgado que pinga das anchovas era usado na Roma antiga como um tempero rico em umami ou como uma saborosa alternativa ao sal. Apicius atestou em seu livro de receitas romano que o *garum* produzido principalmente na Itália, Turquia e Espanha, era um tempero indispensável usado frequentemente na Roma antiga e Grécia. De acordo com esse livro de receitas, o *garum* era usado em mais de 80% das receitas (Milham, 1969). Além disso, o perfil de aminoácidos livres

(que não fazem parte da estrutura das proteínas) de vários molhos de peixe dos países do sudeste da Ásia é relativamente similar ao do *garum* que atualmente é produzido na Itália (Yoshida, 1998).

3.2. Tomate

O amadurecimento de vegetais geralmente os torna mais saborosos. Por exemplo, o aumento progressivo de aminoácidos livres, ácidos orgânicos e açúcares tem sido relacionado ao sabor de tomates maduros (Inaba *et al.*, 1980; Kader *et al.*, 1977). O ácido glutâmico é o aminoácido livre predominante no fruto e aumenta progressivamente em quantidade com o avanço da maturação (Tabela 16.1) (Inaba *et al.*, 1980). O chef britânico e proprietário do restaurante *The Fat Duck* com três estrelas Michelin, Heston Blumenthal, e sua equipe investigaram, com cientistas da Universidade de Reading, qual é a parte do tomate que possui mais umami (Oruna-Concha *et al.*, 2007). Segundo esse estudo, diferentes variedades e formas de cultivo contribuem para a variabilidade no nível de componentes gustativos. A concentração média de ácido glutâmico no tecido carnoso sob a pele do tomate (mesocarpo e endocarpo) foi menor do que a da polpa interna, em particular a porção gelatinosa que contém as sementes do tomate (lóculo com polpa). Em algumas variedades, a diferença de concentração de ácido glutâmico entre o tecido carnoso e a polpa resultou ser maior de seis vezes. Assim, durante o preparo de pratos contendo tomate, foi verificado que a parte interna do tomate (placenta do fruto e a polpa circundante) possui maior característica de gosto umami do que a região de tecido carnoso periférico (mesocarpo e endocarpo). De fato, a parte central do tomate que é frequentemente descartada nas cozinhas ou em produtos industrializados, contém mais aminoácidos livres do que a parte carnosa externa. Com base nos resultados dessa pesquisa, Blumenthal desenvolveu novas receitas para aproveitar a parte gelatinosa dos tomates e propôs usos viáveis da polpa do tomate em produtos derivados do fruto. Tradicionalmente, tomates são incluídos em pratos de carnes para potencializar seu gosto umami característico. Acredita-se que as substâncias umami, como o MSG, o AMP (5'-adenosina monofosfato) e o 5'-GMP dos tomates, atuam sinergicamente junto ao 5'-GMP das carnes.

Tabela 16.1 – Conteúdo de aminoácidos livres (mg/100 mL) na cavidade locular (cavidade de consistência gelatinosa que contém as sementes) do fruto de tomate, em diferentes etapas da maturação

Aminoácido	Tomate verde	Tomate verde maduro	Tomate mudança de cor	Tomate cor rosa	Tomate vermelho	Tomate maduro	Tomate sobre maduro
Asp	54,9	25,5	22,1	26,1	39,1	51,5	63,9
Ser	109,1	81,9	75,3	59,9	48,8	53,8	52,2
Glu	20	20,7	29,7	74	143,3	175	262,7
Gly	3,2	2,5	1,8	1,6	1,5	1,8	1,8
Ala	1,3	6,1	5	4,2	4,6	7,4	10
Val	7,6	10,5	6,4	1,6	1,3	1,4	1,8
Met	1,2	0,9	1	1,3	1,6	1,4	22
Ile	8,4	6,7	5,3	2,5	2,1	2,6	3,4
Leu	3,7	3,1	3,0	3,3	4,0	4,2	5,0
Tyr	11,9	10,0	9,7	6,3	3,6	5,8	6,1
Phe	22,7	16,9	15,2	16,6	13,0	20,6	18,8
Lys	11,3	9,1	8,0	7,8	9,4	8,8	11,6
His	5,2	2,7	3,2	3,6	5,2	4,2	6,7
Arg	4,2	5,4	4,5	4,2	5,4	6,0	8,8

Ser: Inclui treonina, glutamina e asparagina.

Fonte: Inaba *et al.*, 1980.

Tomates secos contêm maior quantidade de glutamato e de 5'-GMP e devido a isso, apresentam um inigualável e intenso gosto umami. O típico molho de tomate é a maneira mais simples de adicionar um item saboroso e salgado a uma variedade de pratos. A solução clara de tomates, obtida através da filtração de tomates macerados, tem se tornado popular entre profissionais da gastronomia. Embora a coloração da solução seja clara, seu gosto umami é intenso devido à alta quantidade de glutamato e aspartato. Essa solução geralmente é usada para fazer gelatina transparente ou *jelée* em demonstrações culinárias.

3.3. Cogumelos comestíveis

Vários tipos de cogumelos são uma fonte de gosto umami no preparo de molhos, assim como tomates e queijos. O 5'-GMP e o glutamato são encontrados em quantidades suficientes em diversas variedades de cogumelos para conferirem o gosto umami (Tabela 16.2). Na China e no Japão os cogumelos *shii-take* secos são importantes no preparo de caldos. Entre cogumelos secos, o *shiitake* contém 5'-GMP em abundância. No Japão, se comercializa uma grande

variedade de cogumelos *shiitake* secos. Essas variedades são avaliadas de acordo com o tamanho, espessura, a forma, dos chapéus e teor de umidade. No processo de secagem, não apenas o produto é mais bem preservado, mas também se intensifica o gosto umami dos cogumelos. Os cogumelos secos, conhecidos como *porcini*, são usados na Itália como tempero e como base de muitas sopas e caldos.

Tabela 16.2 – Conteúdo de aminoácidos livres e de guanosina-5'-monofosfato (5'-GMP) em variedades de cogumelos

Compostos	Porcini seco	Cogumelos do cardo	Morel seco	Shiitake fresco	Shiitake seco	Enoki fresco	Hon-shimeji fresco	Champignon fresco
5'-GMP	10	10	40	0	150	0	0	0
Asp	106	85	28	8	70	7	90	11
Thr	116	38	59	49	100	33	30	25
Ser	194	91	99	39	80	27	39	19
Glu	77	314	311	71	1.060	86	143	42
Pro	67	46	26	12	30	25	16	16
Gly	189	26	20	38	40	28	20	16
Ala	354	253	181	44	90	118	148	146
Val	73	36	29	26	40	36	28	23
Cys	11	7	0	15	20	44	10	17
Met	51	5	2	3	30	3	6	5
Ile	46	21	11	17	20	30	26	20
Leu	64	31	10	28	30	46	42	35
Tyr	25	58	37	15	70	55	20	12
Phe	38	41	10	21	50	91	32	30
Trp	27	8	4	11	20	15	7	19
Lys	62	21	100	33	140	84	49	19
His	27	13	46	21	120	51	35	21
Arg	188	14	1.000	64	230	45	126	7

Fonte: Ninomiya, 1998.

3.4. Queijo

O queijo italiano, especialmente o queijo parmesão, é bem conhecido em muitos países e pode ser encontrado em supermercados no mundo todo. Os queijos italianos são muito diversos, da tenra e cremosa muçarela ao queijo duro parmesão, considerado como o protótipo de umami (Ninomiya, 1998). A produção do queijo parmesão demanda muito trabalho e tempo. Este queijo

requer, no mínimo, um ano para maturar. Durante esse período, a quantidade de glutamato no queijo vai aumentando. A intensidade do gosto umami no queijo parmesão o torna o acompanhamento ideal para um considerável número de pratos, incluindo a joia das massas italianas: o espaguete à carbonara. Um interessante artigo de S. L. Drake e colaboradores, focado especificamente no gosto umami, mostra os componentes responsáveis pelo gosto em quatro queijos cheddar e quatro queijos suíços (Drake *et al.*, 2007). Neste artigo foram quantificados sete compostos diferentes e uma análise sensorial revelou que, tanto nos queijos cheddar como nos queijos suíços, o glutamato tinha o papel mais importante no gosto umami. Drake *et al.* (2007) relataram que esse conhecimento permite potencializar a formação do gosto umami em queijos. A função deste gosto no queijo emmental foi verificada por pesquisadores europeus (Warmke *et al.*, 1996). Os componentes do queijo emmental foram agrupados em quatro categorias, de acordo com cada tipo de gosto: doce (pela prolina, alanina, glicina, treonina e serina); ácido e salgado (pelo ácido láctico, ácido succínico, Na, K, Mg, Ca, Cl, fosfato e amônia); amargo (pela valina, leucina, isoleucina, fenolftaleína, tirosina, histidina e lisina); gosto de caldo (pelo glutamato); e sensação de queimação (pela tiramina e histamina). O perfil que incluiu a mistura dos gostos ácido, salgado, amargo e de caldo foi o mais consistente com o sabor do queijo emmental. O estudo sugeriu que os ácidos acético, láctico, succínico e glutâmico são moléculas potentes para dar sabor e que o ácido glutâmico é o único componente no queijo emmental que promove o gosto típico de caldo, o umami.

4. A DESCOBERTA DO UMAMI PELOS PROFISSIONAIS DE COZINHA

Comer é uma atividade fundamental para manter nosso corpo saudável. Nos países desenvolvidos, onde vem se adquirindo cada vez mais consciência sobre a saúde, tornou-se popular uma culinária que minimiza o uso de gordura animal, como manteiga e nata. O famoso chef Heston Blumenthal, cujas receitas tiram vantagem do umami no *kombu dashi* e no *chiban dashi*, é inovador nesse tipo de cozinha saudável. Na verdade, estamos falando de um chef altamente refinado, que se aproxima da arte culinária com uma perspectiva científica.

Quando o apresentador britânico Stefan Gates, que dirige um programa de TV para a BBC sobre ciência e cozinha, participou de um simpósio no Reino Unido organizado pela *Umami Information Center* (<https://www.umamiinfo.com/>), em 2005, disse o seguinte:

Eu entendo, pela literatura, que o umami é um gosto básico e está presente em tomates e queijos, porém eu não consigo entendê-lo como uma sensação de gosto em minha própria boca. Para ser sincero, eu não sei se eu realmente já senti o umami.

Esse simpósio foi um dos eventos do maior festival científico do Reino Unido, e contou com a presença de cerca de 250 pessoas interessadas em umami, inclusive jornalistas, chefs de cozinha e outros interessados na química dos alimentos ou na indústria alimentícia, com uma visão similar à de Stefan Gates. Realmente, o umami tem sido um gosto difícil para os ocidentais. Durante o simpósio, foram distribuídos *kits Bentô* contendo balas de *kombu*, tomates secos e queijo parmesão, entre outros ingredientes, a todos os participantes. Todos os interessados em umami, pesquisadores, chefs etc., trocaram opiniões baseados na experiência de cada um, enquanto provavam esses alimentos e tentavam identificar um gosto comum entre eles. No fechamento do simpósio, Gates comentou ter percebido o umami como um gosto residual, que permanecia na língua, inclusive após ter comido o tomate e o queijo, e por fim entendeu que o umami também estava no *kombu dashi*.

O Centro de Informações Umami (*Umami Information Center*, <https://www.umamiinfo.com/>) trata de relacionar o que os participantes ouviram em relação ao umami no simpósio com a experiência da sensação real do gosto umami, experimentando comidas e bebidas ricas em umami, tais como chá verde, *kombu* e *dashi*. Isso os motivou a sentir a sensação do umami pela primeira vez. Dessa forma, apesar de nunca terem ouvido falar do umami, os participantes puderam entender a sensação a que a palavra umami se refere e, por dedução, o papel significativo desse quinto gosto na arte culinária. O chef francês, Pascal Barbot, dono de restaurante “Paris” de três estrelas pelo guia Michelin, enfatizou as melhores qualidades dos ingredientes umami num seminário em Paris, em 2007. Ele começou explicando que quando ouviu falar de umami pela primeira vez, não entendeu do que se tratava. No entanto, continuou dizendo, ao entender melhor se tornou um aspecto extremamente importante na sua cozinha. Agora, quando o chef tem uma nova ideia para cozinhar, ele considera o papel do umami para otimizar e aproveitar os sabores envolvidos. Barbot explicou a importância de avaliar a quantidade de umami de qualquer prato, dentro do contexto de salgado, doce, picante etc. Segundo o chef inglês Heston Blumenthal:

Algumas pessoas não conseguem detectar o umami se não forem previamente ensinadas ou conscientizadas de sua existência e, para isso, provar o dashi puro é importante para entender a sensação real do gosto umami, porque é muito sutil e delicado.

Outro chef conhecido, Wylie Dufrense, proprietário de um restaurante em Nova Iorque, afirmou que o umami era um gosto indispensável para harmonizar os outros gostos. Embora o umami não seja um gosto destacado como o doce, ácido, salgado ou amargo, este quinto gosto realça o sabor dos alimentos, tornando-os mais intensos e apetitosos.

No Congresso Nacional de Gastronomia, realizado no Brasil em 2007 (CONAG 2007), a professora Mara Salles, da Universidade Anhembi-Morumbi, proprietária e chef do restaurante brasileiro “Tordesilhas”, apresentou seu prato brasileiro de umami, original, o qual denominou *Aparecidinho*, o contrário de *Escondidinho*, prato típico do estado de Pernambuco. O *Escondidinho* pernambucano serviu de inspiração a Mara Salles para a criação do *Aparecidinho*, que esconde sua carne seca desfiada, rica em umami, em um purê de mandioca e uma cobertura de queijo gratinado. Mara explicou que quando ela foi convidada a preparar um prato brasileiro rico em umami, no Primeiro Simpósio sobre Umami ocorrido em São Paulo (I Simpósio Umami no Brasil, 2006), ela começou a pesquisar sobre esse quinto gosto e descobriu sua verdadeira significância. O surpreendente para ela foi descobrir que estava familiarizada com esse quinto gosto desde a infância, desde os tomates no ensopado de sua mãe até os palmitos frescos da fazenda do seu pai onde ela nasceu. Mara contou que, como sua mãe não tinha dinheiro para comprar carne todos os dias, recriava o saboroso umami com berinjela coberta com tomate e queijo.

Em 1912, o Prof. Kikunae Ikeda, descobridor do umami em 1908, apresentou um trabalho intitulado “Sobre o Gosto do Sal do Ácido Glutâmico”, no 8º Congresso Internacional de Química Aplicada (Ikeda, 1912). No conteúdo de sua apresentação afirmou que:

As pessoas que experimentam com especial atenção ao que comem, perceberão nos complexos sabores dos aspargos, tomates, queijos e carnes, um gosto único e comum que não pode ser associado a nenhum dos quatro gostos básicos. Por se tratar de gosto fraco, é fácil para outros gostos mais fortes escondê-lo, tornando difícil identificá-lo sem prestar atenção a ele. Se não houvesse nada mais doce que uma cenoura ou leite, provavelmente não seria possível saber claramente o que é o gosto doce. Da mesma forma, seria igualmente impossível perceber claramente o que é o gosto único conhecido como umami, somente com aspargos e tomates. Assim como o mel e o açúcar nos mostram o que é o gosto doce, o sal do ácido glutâmico nos dá uma clara noção do que é o gosto umami.

Como explica o Prof. Ikeda, se estivermos muito atentos ao sabor do que comemos, seremos capazes de identificar o gosto de vários alimentos, como tomates, queijo, ou caldo *dashi*. Entretanto, Prof. Ikeda, que foi capaz de identificar

a sensação sutil do gosto singular do umami em sua língua, sem dúvida tinha uma sensibilidade excepcional que lhe permitia identificar a sensação sutil em sua língua como sendo um gosto único. Yamaguchi & Kobori (1994) verificaram que a percepção gustativa tem uma dimensão temporal. O rastreamento da intensidade de um gosto específico, através do tempo, revela qualidades únicas sobre o composto que fornece esse gosto. O monitoramento temporal da intensidade do sabor de MSG, IMP, NaCl e ácido tartárico é mostrado na Figura 16.4. Nesse experimento, os participantes foram convidados a beber 10 mL de uma das soluções correspondentes a cada gosto, durante 20 segundos. A intensidade do gosto foi avaliada após a solução ser expelida, até 100 segundos depois. O gosto azedo do ácido tartárico diminuiu rapidamente após o descarte, tal como seu gosto residual. A salinidade do NaCl deixou um gosto residual na boca mais forte do que a acidez do ácido tartárico. Por outro lado, a intensidade do gosto residual das substâncias umami MSG e IMP aumentou após o descarte da solução. Além disso, o gosto residual do umami foi mais forte do que o dos outros gostos.

Resultados semelhantes foram obtidos quando se solicitou aos participantes que engolissem as soluções. Após descartar as soluções (em níveis limiares) de MSG, IMP e GMP, foram encontradas diferenças qualitativas consideráveis entre o gosto imediato e o residual (Horio & Kawamura, 1990). As descrições sobre a qualidade do gosto imediato dessas substâncias umami foram muito variadas entre os indivíduos, mas foram semelhantes com respeito ao gosto residual (Kawamura, 1993). Um gosto residual agradável é um fator importante para que, em geral, uma refeição agrade. Por conta de suas características únicas relacionadas a tempo e gosto, as substâncias umami podem desempenhar um papel importante e pouco comum no desenvolvimento do gosto residual de uma refeição e, portanto, serem determinantes da satisfação geral.

O Prof. Ikeda publicou na Revista da Sociedade Química do Japão (*Nippon Kagakukai*) uma tese na qual explicou que o gosto adstringente era uma sensação tátil e, por isso, o removia do grupo dos gostos básicos. Na publicação, ele acrescentou que o umami podia ser sentido particularmente forte em ensopados que contêm *kombu* ou *katsuobushi* fervidos (Ikeda, 1909). Mais uma vez prestamos deferência à percepção aguçada do Dr. Ikeda.

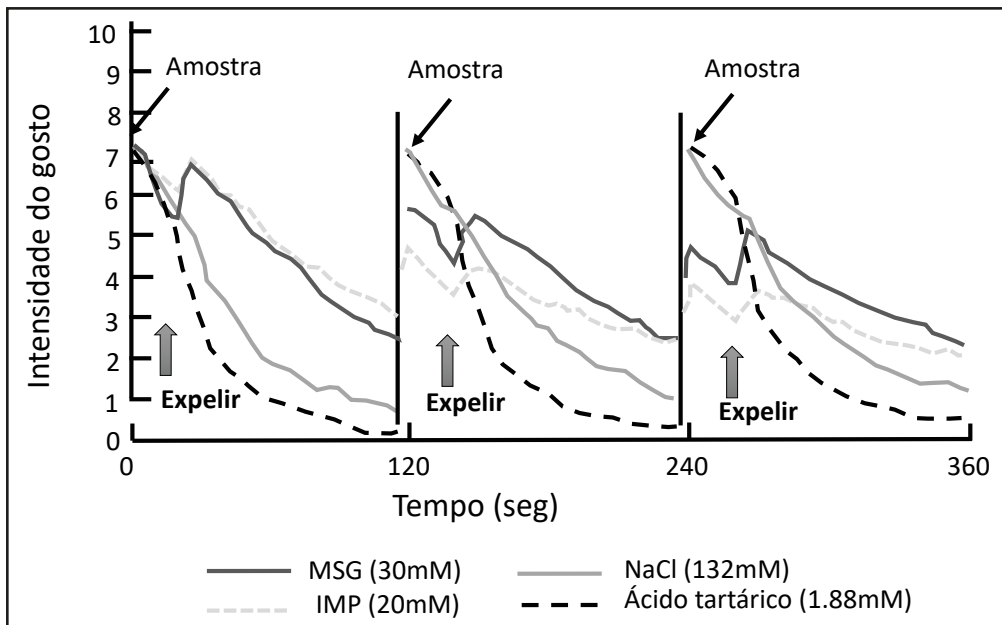


Figura 16.4 – Monitoramento temporário da intensidade do gosto do glutamato monossódico (MSG), inosina-5'-monofosfato (IMP), cloreto de sódio (NaCl) e ácido tartárico.

Fonte: Yamaguchi & Kobori, 1994.

5. O UMAMI CONQUISTA ESPAÇO AO REDOR DO MUNDO

Um longo artigo sobre o umami, intitulado “Um Gosto de Sensação Nova”, foi publicado em 8 de dezembro de 2007 no *The Wall Street Journal*. Nesse artigo, pesquisadores e outras pessoas envolvidas na indústria alimentícia discorrem sobre o umami. O artigo afirma que, embora o umami tenha sido descoberto por um japonês há um século, ele permaneceu como um conceito vago por muito tempo. De fato, parece que o gosto umami é muito difícil de ser entendido nos Estados Unidos. O artigo explica que, quando as pessoas imaginam o sabor do queijo parmesão, anchovas, sopa de galinha ou pizza de pepperoni e muçarela, elas podem sentir um “gosto agradável” ou “uma sensação que recobre a língua”, porém não se dão conta de que esse é o gosto umami. Como apontado por Brillat-Savarin & Fisher (1978), “a descoberta de um novo prato tem mais significado para a felicidade da humanidade do que a descoberta de uma estrela”. Assim, a descoberta do umami tem contribuído para o prazer dos alimentos em restaurantes ao redor do planeta. Com o uso adequado das substâncias umami, pode-se melhorar ainda mais a palatabilidade dos alimentos (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

Nos últimos anos, com o boom global da culinária japonesa, o umami se espalhou naturalmente pelo mundo. No entanto, não apenas o *dashi* contém umami, mas também outros alimentos e condimentos espalhados por todo o mundo, que são ricos nos componentes básicos do gosto umami. Não é de surpreender que, junto com o doce, o quinto gosto básico esteja associado a alimentos vitais para a sobrevivência e seja um dos mais apreciados pela espécie humana. É um gosto saboroso de baixa caloria que satisfaz.

A culinária japonesa é uma grande fonte de inspiração para a criação de um novo modelo de alimentação saudável. Os elementos básicos da culinária japonesa são o *dashi* e o umami e atualmente muitos chefs jovens, mundialmente conhecidos, tentam introduzir novos estilos de *dashi*. Trata-se de uma semir-revolução dietética. Usar o tomate para fazer o *dashi* é uma ideia inovadora de fazer um *dashi* claro, para dar um toque de frescor a vários pratos. Um jovem chef do Peru, Pedro Miguel Schiaffino, criou um *dashi* peruano feito com vegetais secos do país, incluindo sacha tomate (ou tomate de árvore, um tipo de fruta andina semelhante ao tomate), ervilhas e pimenta. Os ingredientes foram selecionados pelo seu conteúdo em umami, que dava um saboroso *dashi*, rico em gosto umami. Outra jovem chef do Brasil, Helena Rizzo, preparou uma sopa única à base do molho tradicional brasileiro chamado ‘tucupi’, que é feito com o sumo extraído da mandioca. O sabor desta sopa inovadora lembra um perfeito *dashi* japonês. Do Japão, outro jovem chef, Koji Shimomura, criou um ensopado moderno à base de alimentos ricos em umami, entre os quais escolheu cogumelos porcini, alcachofra e suco de trufa, todos misturados com creme desnatado em vez de manteiga e nata tradicionais; a ingestão calórica nesse novo tipo de sopa é quase um terço das calorias de um ensopado tradicional. Na Dinamarca, um dos 50 chefs mais famosos do mundo, René Redzepi, colaborou com cientistas para investigar o gosto umami das algas nórdicas. Descobriu-se que as algas dinamarquesas, como *sugar kelp* e *dulse*, poderiam ser usadas para a elaboração do *dashi*, e verificou-se que a alga *dulse* tem um alto teor de glutamato livre (Mouritsen *et al.*, 2012). Todas essas atividades em andamento, desenvolvidas por renomados chefs de cozinha, recomendam o uso de umami para preparar pratos deliciosos e saudáveis.

Nossa missão é promover o conhecimento científico da umami, a fim de contribuir para a criação de uma rede global de comunicação entre chefs e cientistas, para beneficiar a saúde e o bem-estar humano.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEAUCHAMP, G. K. “Sensory and receptor responses to umami: an overview of pioneering work”. *Am. J. Clin. Nutr.* 90(suppl): 723S-727S, 2009.
- BRILLAT-SAVARIN, J. A. & FISHER, M. F. K. *The Physiology of Taste*. New York, Harcourt Brace Jovanovich, 1978.
- CHAUDHARI, N.; LANDIN, A. M. & ROPER, S. D. “A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor”. *Nature Neurosci.* 3(2): 113-119, 2000.
- CONAG 2007. *I Congresso Nacional de Gastronomia*. Recife, 8-11/10/2007.
- DRAKE, S. L. *et al.* “Sources of umami taste in cheddar and Swiss cheese”. *J. Food Sci.* 72(6): S360-366, 2007.
- FISCHER, E. “Einleitung” [Introduction]. *Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine* [Studies on amino acids, polypeptides, and protein] (1899-1906). Berlin, Julius Springer Verlag, 1906.
- HEER, J. *Nestlé 125 Years, 1866-1991*. Vevey, Nestlé SA, 1991. pp. 1-525.
- HORIO, T. & KAWAMURA, Y. “Studies on after-taste of various stimuli in humans”. *Chem. Senses.* 15(3): 271-280, 1990.
- IKEDA, K. “Shin Choumi-ryou ni tsuite” [On a New Seasoning]. *Tokyo Kagaku-shi* (Journal of the Tokyo Society of Chemistry). 30: 820-836, 1909.
- IKEDA, K. “On the taste of the salt of glutamic acid”. *Eighth international congress of applied chemistry*. New York City, Abstract, 1912, p. 147.
- INABA, A. *et al.* “Changes in the concentration of free amino acids and soluble nucleotides in attached and detached tomato fruits during ripening”. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science.* 49(3): 435-441, 1980.
- KADER, A. A. *et al.* “Amino acid composition and flavor of fresh market tomatoes as influenced by fruit ripeness when harvested”. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 103: 541-544, 1977.
- KAWAMURA, Y. “Significance and history of research on umami (in Japanese)”. In: KAWAMURA, Y. *et al.* (ed). *Umami*. Tokyo, Kyoritsu Shuppan, 1993, pp. 1-16.

KURIHARA, K. "Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami)". *Am. J. Clin. Nutr.* 90 (suppl): 719S-722S, 2009.

LI, X. *et al.* "Human receptors for sweet and umami taste". *PNAS.* 99(7): 4692-4696, 2002.

MILHAM, M. E. *Apici decem libri qui dicuntur de re conquinaria et excerpta a Vinidario conscripta.* Leipzig, Teubner Verlagsgesellschaft, 1969.

MOURITSEN, O. G. & KHANDELIA, H. "Molecular mechanism of the allosteric enhancement of the umami taste sensation". *FEBS J.* 279(17): 3112-3120, 2012.

MOURITSEN, O. G. *et al.* "Seaweeds for umami flavour in the new nordic cuisine". *Flavour.* 1(4): 1-12, 2012.

NINOMIYA, K. "Natural occurrence". *Food Rev. Int.* 14(2-3): 177-212, 1998.

NINOMIYA, K. "Umami: A universal taste". *Food Rev. Int.* 18(1): 23-38, 2002.

NINOMIYA, K. *et al.* "Changes in free amino acids during heating bouillon prepared at different temperatures". *J. Home Economics of Japan.* 61(12): 765-773, 2010.

ORUNA-CONCHA, M. *et al.* "Differences in glutamic acid and 5'-ribonucleotide contents between flesh and pulp of tomatoes and the relationship with umami taste". *J. Agric. Food Chem.* 55(14): 5776-5780, 2007.

SAN GABRIEL, A. *et al.* "Metabotropic Glutamate receptor type 1 in taste tissue". *Am. J. Clin. Nutr.* 90(Suppl): 743S-746S, 2009.

I SIMPÓSIO UMAMI NO BRASIL. Centro de Gastronomia, Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, 6/11/2006.

VICKERY, H. B. & SCHMIDT, C. L. A. "The history of the discovery of the amino acids". *Chem. Rev.* 9: 169-318, 1931.

WARMKE, R.; BELITZ, H. & GROSCH, W. "Evaluation of taste compounds of Swiss cheese (Emmentaler)". *Lebensm Unters Forsch.* 203: 230-235, 1996.

YAMAGUCHI, S. & KOBORI, I. "Humans and appreciation of the umami taste". In: KURIHARA, K.; SUZUKI, H. & OGAWA, H. (ed.). *Olfaction and Taste XI.* Tokyo, Springer, 1994, pp. 353-356.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “Umami and food palatability”. *J. Nutr.* 130(4S Suppl): 921S-926S, 2000.

YOSHIDA, Y. “Umami taste in traditional seasonings”. *Food Rev. Int.* 14(2-3): 213-246, 1998.

ZHANG, F. *et al.* “Molecular mechanism for the umami taste synergism”. *PNAS.* 105(52): 20930-20934, 2008.

PARTE VI
ASPECTOS TECNOLÓGICOS

ASPECTOS INDUSTRIAIS E APLICAÇÃO DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO EM ALIMENTOS

*Hellen Dea Barros Maluly
Claudio Pagani
Kelen Bulos Caparello*

1. INTRODUÇÃO

A Tecnologia de Alimentos é definida como a aplicação da ciência dos alimentos para a seleção, preservação, processamento, embalagem, distribuição e segurança para o consumo dos alimentos (IFT, 2019). As principais razões para o uso da tecnologia no processamento de alimentos se referem à sua transformação em produtos comestíveis, e que se mantenham seguros, com a vida de prateleira estendida e com qualidade nutricional, quando possível (EUFIC, 2017). Para que a tecnologia seja aplicada, devem-se levar em consideração as tendências da população para escolha de alimentos, das quais envolvem: 1. Sensorialidade e prazer; 2. Saudabilidade e bem-estar; 3. Conveniência e Praticidade; 4. Confiabilidade e qualidade; 5. Sustentabilidade e ética (FIESP/ITAL, 2010).

Para atender esta primeira exigência, sensorialidade e prazer, que está diretamente relacionada ao sabor, pesquisas realizadas pelo químico Kikunae Ikeda, em 1908, na Universidade de Tóquio, foram empregadas na descoberta da produção de substâncias umami que hoje são utilizados em larga escala pela indústria alimentícia. Ikeda partiu do princípio da utilização de vários alimentos ricos em aminoácidos e proteínas, utilizados em preparações culinárias por muitos séculos,

por diversas culturas, e que aumentava a qualidade sensorial desses alimentos. A partir de um caldo japonês feito com alga marinha *kombu* (*Laminaria japonica*) e peixe bonito seco, Ikeda desvendou um gosto peculiar, chamado umami, hoje reconhecido pela comunidade científica como o quinto gosto básico (Chaudhari *et al.*, 1996; Chaudhari *et al.*, 2000). Após essa descoberta, Ikeda verificou que havia uma substância naquela alga que estava presente em altas concentrações, o aminoácido ácido glutâmico (ou glutamato na sua forma ionizada) e logo obteve a patente para sua produção em escala industrial. Seu conhecimento em química o ajudou a desvendar diversos aspectos para a produção desse aminoácido, que começou em 1909 junto com o empreendedor Saburosuke Suzuke (Sano, 2009).

O início do processo de produção se deu com o método de extração desse aminoácido, no qual proteínas vegetais eram tratadas com ácido clorídrico para hidrolisar as ligações peptídicas (hidrólise ácida). A proteína hidrolisada era filtrada para eliminação dos resíduos de reações entre aminoácidos e carboidratos. Após essa etapa, o concentrado era estocado até obtenção do aminoácido cristalizado, o qual era neutralizado com adição de bicarbonato de sódio até pH neutro e purificado para obtenção do glutamato monossódico (MSG) na forma de cristais. Esse processo era limitado por causa de diversos inconvenientes técnicos que envolviam a corrosão de materiais pelo ácido clorídrico, entre outros (Sano, 2009).

Já em 1956, foi introduzido o método de fermentação direta para a produção do glutamato, aumentando sua produção em larga escala com redução de custos e também de resíduos de processamento. No entanto, entre 1962 e 1973 foi utilizado o método de produção por síntese direta, no qual a acrilonitrila era utilizada como matéria-prima e por resolução óptica se alcançava a melhor cristalização do ácido DL-glutâmico. Todavia, atualmente, utiliza-se o método fermentativo utilizando como matéria-prima o açúcar proveniente da cana-de-açúcar, da beterraba, da mandioca ou outras fontes de glicose, sendo que a produção de MSG pode chegar a 2 milhões de toneladas por ano (mercado mundial estimado em US\$ 3,8 bilhões para 2020). Estima-se que 94% da produção de MSG sejam realizadas na Ásia, em países como China, Indonésia, Vietnã, Tailândia e Taiwan, sendo a China um dos maiores consumidores do produto (IHS-Markit, 2019).

Além do glutamato, outras substâncias têm o potencial de proporcionar o gosto umami: são os 5'-ribonucleotídeos (inosina-5'-monofosfato e guanosina-5'-monofosfato). Sais destas substâncias: inosinato dissódico (IMP) e guanilato dissódico (GMP) também são produzidos pelo método de fermentação semelhante ao desenvolvido para produção de MSG, utilizando amido da mandioca.

As substâncias umami (MSG, IMP e GMP) são utilizadas na manufatura de diversos produtos como sopas, caldos, queijos, produtos cárneos e molhos. Essas podem agir de forma sinérgica para aumentar o impacto, continuidade e complexidade do sabor desses alimentos (Ledesma-Amaro *et al.*, 2013).

2. UMAMI NA NATUREZA

O glutamato e os nucleotídeos, que são as principais substâncias responsáveis pelo gosto umami, estão amplamente distribuídos na natureza. O glutamato está presente naturalmente nos alimentos de duas formas distintas: ligado a proteínas ou na forma livre. Para proporcionar o gosto umami, o glutamato deve estar na forma livre, para que, conseqüentemente, desempenhe um papel importante na palatabilidade e na aceitabilidade dos alimentos (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). O glutamato livre está presente, naturalmente, na maioria dos alimentos, como vegetais, carnes e frutos do mar (Tabela 17.1).

Tabela 17.1 – Ácido glutâmico livre em alimentos.

Ingrediente	Ácido glutâmico (mg/100 g)	Ingrediente	Ácido glutâmico (mg/100 g)
Algas		Frutos, tubérculos e vegetais	
<i>Rausu kombu</i>	2.290-3.380	Tomate	150-250
<i>Ma kombu</i>	1.610-3.200	Tomate seco	650- 1.140
<i>Rishiri kombu</i>	1.490-1.980	Batata	30-100
<i>Hidaka kombu</i>	1.260-1.340	Batata doce	60
<i>Naga kombu</i>	240-1.400	Cenoura	40-80
<i>Nori</i>	550-1350	Repolho	30-50
<i>Wakame</i>	2-50	Brócolis	30-60
Grãos		Espinafre	50-70
Ervilha	110	Aspargus	30-50
Milho	70-110	Cogumelos	
Soja	70-80	<i>Shiitake seco</i>	1.060
Favas	60-80	<i>Shiitake</i>	70
Temperos e especiarias		<i>Shimeji</i>	140
Alho	100	Cogumelo comum	40-110
Cebola	20-50	Trufas	60-80
Salsão	20-30	Carnes e ovos	
Gengibre	20	Ovos de galinha	20
Peixes e Frutos do mar		Carne de frango	20-50
Vieiras	140	Carne bovina	10
Camarões	120	Carne suína	10
Lula	20-30	Produtos lácteos	
Polvo	20-30	Queijo parmesão	1.200-1.680
Sardinha	10-20	Queijo emmental	310
Atum	1-10	Queijo cheddar	180
Bacalhau	5-10		
Ostra	40-150		

Fonte: tabela adaptada de UIC, 2019.

Os nucleotídeos também estão presentes em muitos alimentos. O inosinato é encontrado principalmente em carnes, enquanto o guanilato é encontrado, principalmente, em cogumelos (Tabela 17.2).

Tabela 17.2 – 5'-ribonucleotídeos em alimentos

Categoria de Alimento	IMP	GMP	AMP
	(mg/100 g)		
Bovino	70	4	8
Suíno	200	2	9
Galinha	201	5	13
Lula	ND	ND	184
Atum	286	ND	6
Caranguejo	5	4	32
Vieira	ND	ND	172
Tomate	ND	ND	21
Ervilha	ND	ND	2
<i>Shiitake</i> (desidratado)	ND	150	NA
<i>Fungi</i> (desidratado)	ND	10	NA
Ostra (desidratada)	ND	10	NA
Morácea (desidratada)	ND	40	NA

ND = não detectada; NA = não analisado; IMP = inosina-5'-monofosfato;
GMP = guanosina-5'-monofosfato; AMP = adenosina-5'-monofosfato.

Fonte: tabela adaptada de Ninomiya, 1998.

3. UMAMI EM ALIMENTOS PROCESSADOS

Alguns produtos industrializados, consumidos no mundo há séculos, apresentam uma característica comum entre eles: o alto teor de glutamato livre, presente naturalmente. Nesta categoria de produtos estão aqueles que sofrem o processo de maturação, dos quais podemos destacar o presunto, os diferentes tipos de queijos e os molhos fermentados (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

3.1. Presunto curado

O processo de maturação ou cura é uma tecnologia utilizada na indústria alimentícia com o objetivo de preservação e padronização do sabor (Toldrá, 2004). O presunto curado é obtido a partir do amadurecimento do biceps femoral (pernil) de suínos. O processo de amadurecimento pode levar de 8 a 24 meses e, durante esse tempo, uma população de micro-organismos cresce na superfície da carne. Esses micro-organismos contribuem para proteólise (hidrólise de ligações peptídicas) de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas do músculo, que é um processo complexo, envolvendo uma série de reações bioquímicas que proporcionam as características típicas desse produto. Os micro-organismos dominantes na superfície de diferentes tipos de presuntos

crus, pelos mais diferentes tempos de amadurecimento, são fungos, leveduras e cocos Gram-positivos, catalase positivos, sendo que as bactérias mais citadas são caracterizadas pelos gêneros *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.* e os fungos mais comuns são *Penicillium commune*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *P. aurantiogriseum*, *Eurotium repens*, *E. herbariorum*, *Debaryomyces hansenii* e *D. marama* (Rodríguez *et al.*, 1998).

A proteólise resulta em uma grande quantidade de peptídeos e aminoácidos livres. As enzimas responsáveis por esse processo são proteinases (catepsinas B, D, H e L e, em menor grau, as calpaínas) e exopeptidases (peptidases e aminopeptidases). Os músculos e os lipídeos do tecido adiposo também estão sujeitos à intensa lipólise, gerando ácidos graxos livres por ação de lipases que, num segundo estágio, são transformados em compostos voláteis como resultado da oxidação. As propriedades sensoriais do presunto curado são fortemente afetadas por essas reações enzimáticas. Além disso, o nível de atividade enzimática muscular depende das propriedades da carne, tais como idade e raça, bem como as condições do processo tais como temperatura, tempo, atividade de água, potencial redox e concentração de sal. Portanto, o controle do sistema enzimático, principalmente das proteases e lipases, é essencial para padronização do processo e/ou elevação da qualidade do presunto curado (Petrova *et al.*, 2015; Toldrá & Flores, 1998).

Córdoba *et al.* (1994) verificaram que em diferentes fases do processo de maturação ocorre elevação da concentração de aminoácidos livres, principalmente ácido glutâmico, alanina, leucina e glicina. A elevada concentração de ácido glutâmico no produto final pode caracterizar a presença intensa do gosto umami. Martín *et al.* (2001) também identificaram a presença de aminoácidos livres e compostos não voláteis no músculo bíceps femoral de suínos (pernil), em diferentes fases do processo de amadurecimento do presunto curado. Os autores verificaram também que quanto maior o tempo de processamento, maior a concentração desses compostos e concluíram que essa determinação pode fornecer um índice de maturação de presunto. Na Tabela 17.3 é apresentada a evolução da concentração de aminoácidos livres durante a maturação do presunto.

Além do tempo, a temperatura e pH também podem influenciar no bom funcionamento das proteinases e aminopeptidases, que são cruciais para determinação das concentrações de aminoácidos liberados no produto final. Verificou-se também que as concentrações de glutamato no presunto Ibérico, que passou por 24 meses de maturação, possuía uma concentração de 1.142 mg/100 g de produto, enquanto o presunto Parma, que passou por uma maturação de 12

meses, continha 737 mg/100 g (Petrova *et al.*, 2015). Assim, pode-se constatar, mais uma vez, a importância da presença do gosto umami sendo consumido através de diferentes produtos tradicionais, característicos de cada país.

Tabela 17.3 – Evolução da concentração de aminoácidos livres durante a maturação de presunto curado.

Estágio de Maturação*	G	S	PS1	PS2	D	HR	FR
Período de Maturação		15 dias	60 dias	45 dias	45 dias	6 meses	6 meses
Umidade (%)	71,43	69,26	67,76	64,92	63,74	54,66	48,44
NaCl (g/100 g)		1,68	3,23	3,57	4,76	5,35	5,85
Aminoácidos Livres (mg/100 g)							
Glu	5,83	11,08	34,57	45,78	142,23	206,82	337,42
Pro	3,44	4,50	18,51	27,63	41,20	84,46	116,52
Gly	2,62	2,97	5,04	7,42	38,03	52,15	106,80
Ala	6,45	7,85	16,18	25,88	56,84	145,36	209,16
Val	1,69	2,42	14,14	29,34	69,58	99,86	131,97
Met	1,50	2,49	5,85	7,55	30,76	41,88	73,07
Ile	1,56	2,38	4,84	14,56	68,28	114,51	147,98
Leu	2,53	3,60	4,71	16,96	73,04	127,73	219,41
Tyr	1,73	2,23	8,86	14,86	61,23	105,52	151,89
Phe	1,95	3,36	10,07	17,62	42,52	97,01	119,11
Trp	0,06	0,21	0,64	4,35	15,77	55,98	95,96
Lys	2,04	3,93	13,96	21,01	83,23	149,54	226,40
His	2,46	3,30	10,41	12,08	12,70	13,44	19,08
Arg	2,57	3,16	12,05	17,80	35,49	54,09	83,95

* G: Estágio inicial. Os presuntos foram mantidos por 48 h de 0 a 4 °C, após o abate.

S: Adição de sal. Os presuntos foram cuidadosamente “massageados” com sal contendo 1% de nitrato de potássio e colocados em pilhas, alternando camadas de presuntos e sal por 15 dias, a 4 °C.

PS1: Pós-adição de sal. Foi retirado o excesso de sal da superfície dos presuntos e estes foram mantidos de 0 a 4 °C e 90% de umidade relativa por 60 dias.

PS2: Pós-adição de sal. Os presuntos foram deixados por 45 dias em uma câmara com aumento semanal de temperatura de 2 a 3 °C e umidade relativa decrescendo, semanalmente, de 1 a 2%.

D: Secagem. Durante o verão, os presuntos foram mantidos nas condições normais, por 45 dias, em salas de secagem.

HR/FR: Meio-maturado/Totalmente maturado. Os presuntos foram armazenados em uma espécie de adega, para maturação, por 12 meses adicionais. O período HR é o dos primeiros seis meses de maturação. O período FR é até o final da maturação.

Fonte: tabela adaptada de Ninomiya, 1998.

3.2. Queijos

O gosto umami desempenha um papel extremamente importante no sabor de uma grande variedade de queijos, principalmente os que passam pelo processo de maturação (ou cura), assim como os presuntos. A maturação de queijos é um complexo processo em que ocorrem muitas alterações físico-químicas, envolvendo fermentações realizadas por diferentes tipos de micro-organismos, os quais utilizam o ácido láctico ou proteínas do leite para produzir diferentes compostos que proporcionam as distinções entre o gosto e o aroma de cada categoria de queijo. Além disso, a proteólise progressiva das proteínas em polipeptídios e o gradual acúmulo de aminoácidos livres, entre eles o glutamato, além dos nucleotídeos e ácidos orgânicos, contribuem para o intenso gosto umami dos queijos (Picon *et al.*, 2010).

O queijo Parmegiano reggiano (produzido em Parma, Itália) é utilizado na culinária italiana e mundial em larga escala e apresenta uma alta concentração de glutamato livre, em torno de 1.680 mg/100 g de produto (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

O ácido glutâmico livre também foi encontrado em diferentes concentrações em queijos tipo Cheddar. Assim, verificou-se que a intensidade do umami aumenta durante o processo de maturação do queijo e que ocorrem modificações no conteúdo de ácido glutâmico livre que variam de 10,50 mg/100 g no primeiro mês, para 77,81 mg/100 g no quarto mês e 182,2 mg/100 g no oitavo mês de maturação (Tabela 17.4) (Ninomiya, 1998; Weaver *et al.*, 1978). Verificou-se também que a concentração de aminoácidos do queijo tipo Cheddar se elevava após oito meses de maturação, onde o ácido glutâmico, junto com a valina, tirosina, fenilalanina, leucina e lisina, mostraram um aumento de até 80% em todos os estágios de maturação (Weaver *et al.*, 1978). Além disso, o tipo de maturação também pode influenciar na composição de glutamato, que aumenta durante a maturação, independente da cepa utilizada (Csapó *et al.*, 2007).

Tabela 17.4 – Evolução de aminoácidos livres durante o processo de maturação do queijo Cheddar (mg/100 g)

	Tempo de maturação (meses)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Asp	3,27	5,77	8,79	13,83	16,56	26,7	31,38	35,21	42,77
Glu	10,5	21,86	35,59	54,13	77,81	111,65	121,08	160,41	182,23
Pro	6,09	7,37	9,02	14,27	13,63	34,12	29,02	22,77	33,94
Gly	0,23	1,06	1,92	4,25	4,85	10,5	12	14,41	18,98
Ala	2,16	4,63	6,73	9,7	12,66	17,02	21	25,72	29,01
Val	1,65	4,84	10,44	19,65	23,73	42,1	51,7	58,6	74,16
Met	0,34	3,01	9,4	12,87	13,95	20,43	24,35	28	33,97
Ile	0,23	1,05	2,69	4,34	7,14	12,36	18,46	16,71	23,82
Leu	2,32	12,98	29,22	52,31	77,4	109,97	128,91	170,03	195,94
Tyr	3,81	5,53	7,54	11,7	15,7	26,24	29,56	35,8	45,55
Phe	2,69	9,71	20,9	34,63	48,03	64,18	75,53	91,83	104,22
Lys	11,61	20,54	35,03	65,88	67,15	111,38	114,25	138,92	155,37
His	2,68	3,03	3,39	5,64	4,61	11,98	12,54	12,02	20,28
Arg	0,43	0,94	2,33	7,67	10,26	17,31	18,07	26,09	41,09

Fonte: tabela adaptada de Ninomiya, 1998.

O queijo tipo Suíço, por sua vez, possui diferenças no aroma e sabor, quando comparado com o queijo Cheddar. Bactérias produtoras de ácido propiônico são usadas na etapa de fermentação secundária para converter ácido láctico em ácido propiônico e acético e dióxido de carbono, para proporcionar diferenças no sabor e na forma dos “olhos” ou “buracos” dos queijos. Outro fato interessante é que o sal não é adicionado diretamente à coalhada nos queijos suíços, mas passa por um tratamento breve de salmoura. Portanto, concluiu-se que a principal característica deste queijo não é o gosto salgado, e sim o gosto umami, principalmente pela alta concentração de ácido glutâmico livre (Drake *et al.*, 2007; Warmke *et al.*, 1996).

3.3. Molho de soja (shoyu)

O molho de soja é um produto feito com soja fermentada, consumido como tempero ou condimento por salgar e proporcionar o sabor agradável aos diversos alimentos consumidos pela população oriental (na maioria, japoneses e chineses), como o arroz, macarrão tipo *noodle*, frutos do mar e outros. Este tipo de molho também vem sendo consumido em países do ocidente por causa da imigração e também devido à popularização da culinária oriental (Lioe *et al.*, 2010).

Existem diferenças entre os molhos japoneses e chineses (Tabela 17.5). O molho japonês é produzido com uma mistura de soja e trigo e o chinês produzido apenas com soja, o que caracteriza algumas modificações no sabor. As substâncias que proporcionam o sabor agradável é uma mistura de compostos de baixa massa molecular e outros voláteis, além do gosto umami, caracterizado por certa concentração de L-glutamato e peptídeos, naturalmente presentes após o processo de fermentação natural.

No Japão existem até cinco tipos de molho de soja (*koikuchi-shoyu*, *usukuchi-shoyu*, *tamari-shoyu*, *saishikomi-shoyu* e *shiro-shoyu*), cada um com suas características de intensidade de sabor e também de cor, por causa das diferentes condições da fermentação. Os micro-organismos comumente utilizados no processo de fermentação da soja e trigo são *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae* e *Aspergillus tamarii*. Nesse processo, ocorre a produção de enzimas extracelulares, processo que consiste em proteases e carboidrases que hidrolisam as proteínas e carboidratos em peptídeos de baixa massa molecular, aminoácidos (principalmente glutamina e ácido glutâmico) e açúcares. A salga é feita após o processo de fermentação. O ácido glutâmico é o maior componente da proteína da soja e do trigo, o que caracteriza o intenso gosto umami dos molhos. Além disso, essas enzimas podem converter a glutamina em ácido glutâmico, elevando ainda mais o gosto umami desse produto (Lioe *et al.*, 2010).

Tabela 17.5 – Glutamato livre em diferentes molhos de soja

Molho de soja	Glutamato (mg/100 g)
China	926
Japão	782
Coreia	1264
Filipinas	412

Fonte: tabela adaptada de Yamaguchi & Ninomiya, 2000.

4. A INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA E AS SUBSTÂNCIAS UMAMI

4.1. O processo de fermentação e a produção de substâncias umami

O método de fermentação para produção de alimentos possui características especiais, principalmente em queijos, vinhos, iogurtes, carnes e outros produtos fermentados, como o shoyu e o *natto* (alimento típico japonês, feito com soja fermentada). Através de micro-organismos específicos, são produzidas diversas substâncias características de cada alimento.

Em 1956 foi desenvolvida a tecnologia pioneira para o desenvolvimento do método de fermentação para a produção industrial do L-glutamato, utilizando micro-organismos dos gêneros *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Micobacterium* e *Micrococcus*, especialmente *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium lactofermentum* e *Brevibacterium flavum*. Também se obtém ácido glutâmico por várias bactérias esporuladas (*B. circulans* e *B. megatherium*). Em pequena quantidade, o ácido glutâmico é ainda obtido por meio de certos fungos como *Aspergillus terreus rindieron*, *Ustilado maidis* etc. As bactérias produtoras de L-glutamato são todas bactérias corineformes, Gram-positivas, não esporuladas, não móveis e não patogênicas (Kinoshita *et al.*, 2004; Sano, 2009).

Para o desenvolvimento do método de fermentação para a produção de aminoácidos específicos, um micro-organismo é selecionado em uma cultura e é cultivado com carboidratos e amônio para liberação da forma L de aminoácidos no meio de cultura. O precursor-chave do ácido glutâmico é o α -cetoglutarato, que se forma no ciclo de Krebs via citrato e isocitrato, e logo se converte em ácido L-glutâmico por aminação reductiva com íons NH_4^+ livres. Essa última etapa é catalisada pela NADP dependente de glutamato desidrogenase. A produção e a secreção de quantidades em excesso de ácido glutâmico dependem da permeabilidade da célula (Hasegawa *et al.*, 2008; Sato, 2001).

Para a produção em larga escala de L-glutamato por *Corynebacterium glutamicum*, pesquisadores enfrentaram dificuldades, pois a bactéria requer biotina para o crescimento. A presença de biotina em concentrações superiores a 5 μg resulta em elevado conteúdo de fosfolipídios na parede celular, incapacitando a célula de excretar o ácido glutâmico. Por outro lado, a deficiência de biotina no meio reduz a síntese de fosfolipídios e o ácido glutâmico intracelular pode ser excretado. A concentração ótima de biotina é dependente da fonte de carbono usada. Este fato se tornou limitante. Entretanto, com o avanço tecnológico iniciou-se o uso de surfactantes (detergentes), adição de quantidades subletais de penicilina ou o uso de micro-organismos auxotróficos (que requerem glicerol ou oleato para o crescimento) para permitir a produção sem que haja a limitação por biotina (Sano, 2009).

No entanto, mesmo os pesquisadores enfrentando todas as dificuldades citadas acima, ainda não haviam descoberto o mecanismo exato para a superprodução de L-glutamato por *Corynebacterium glutamicum*. Hipóteses recentes identificaram uma proteína de membrana que exporta o glutamato para fora da célula bacteriana. O gene identificado foi o *yggB* (NCg11221) (Nakamura *et al.*,

2007). Após esta etapa, há um processo de purificação dos cristais de L-ácido glutâmico e, para aprimorar o grau de pureza do MSG, novos métodos foram desenvolvidos, os quais utilizaram a recristalização da forma β do cristal e subsequente conversão em MSG. Em seguida, o L-glutamato passa por processos de neutralização para adição de íons, que no caso do MSG é o íon sódio. O líquido mãe proveniente do processo de cristalização é então concentrado e usado como fertilizante (após o ajuste de pH com amônia) (Figura 17.1) (Sano, 2009).

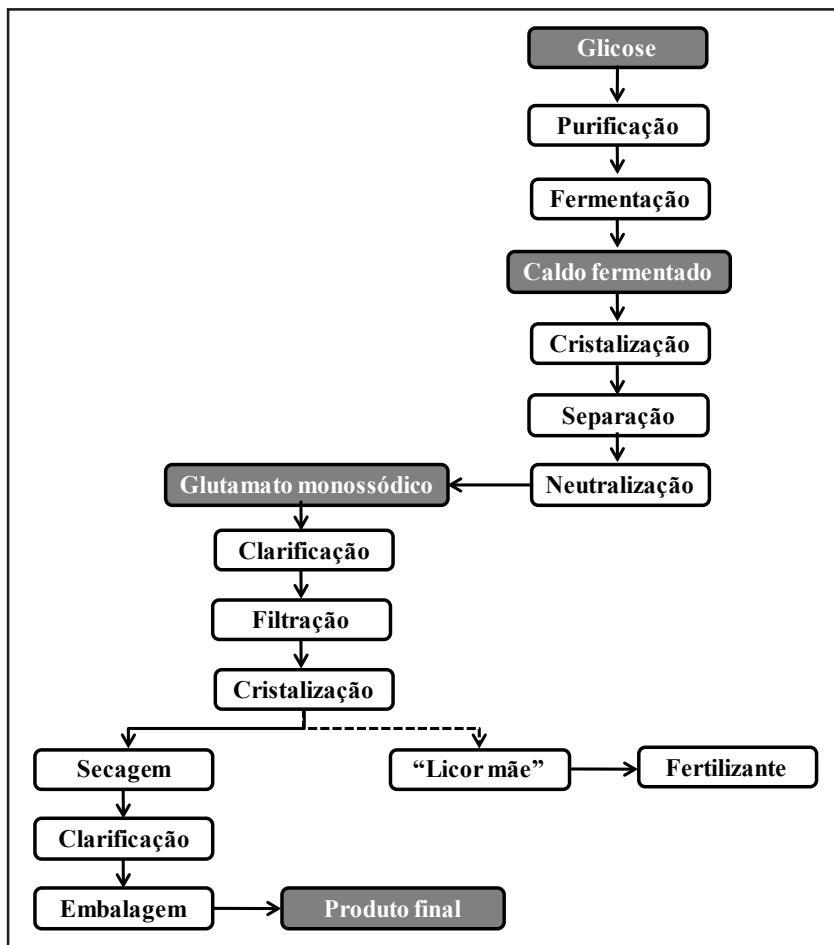


Figura 17.1 – Fluxograma de produção de glutamato monossódico.

Fonte: figura adaptada de Ajinomoto Co.

A qualidade do resultado do processo de produção de substâncias umami por fermentação é constantemente avaliada através de métodos físico-químicos e microbiológicos, pré-estabelecidos por agências de certificação. Após os

testes de qualidade, verifica-se se as substâncias umami possuem alta estabilidade e alta solubilidade em diferentes faixas de temperaturas e pH, tanto em alimentos ácidos quanto em alcalinos. Os cristais de MSG e 5'-ribonucleotídeos permanecem estáveis durante longos períodos de armazenamento, apresentando baixa absorção de umidade, mantendo a granulometria original. Em relação à estabilidade durante o preparo dos alimentos, verificou-se que a quantidade remanescente de MSG em amostras de sopa com pH 5,0, após cozimento durante 30 min a uma temperatura de 124 °C, foi de 94%, enquanto que para o IMP e IMP+GMP, em diferentes alimentos com pH 5,6, após uma hora de tratamento a 100 °C, a quantidade remanescente foi de 94,9% e 92,1%, respectivamente (dados fornecidos pela Ajinomoto Co.).

Atualmente, o método de fermentação é utilizado não só para produção de L-glutamato, mas para outros aminoácidos não essenciais e essenciais, além dos 5'-ribonucleotídeos. Todas as substâncias produzidas por esse método são utilizadas em larga escala pela indústria alimentícia. Também são utilizadas para proporcionar o enriquecimento de rações animais e na indústria farmacêutica, pois os aminoácidos são constituintes essenciais para melhoria das funções vitais.

4.2. Utilização de substâncias umami na indústria alimentícia

As substâncias umami possuem a incrível capacidade de resgatar e ressaltar o sabor original de muitos alimentos, por conferir o quinto gosto que muitas vezes pode se perder durante o processo industrial. Além disso, permitem uma percepção mais rica e complexa de diferentes matrizes de sabor (Jinap & Hajeb, 2010).

A ampla gama de sabores existentes em molhos, por exemplo, é harmonizada pelo MSG. Culturas antigas, como a chinesa e a japonesa, criaram uma definição para esse gosto básico e o denominaram *Xian-Wei* (na China) e umami (no Japão). De fato, o umami já foi integrado às culinárias no mundo todo e está presente em molhos de peixe do sudeste da Ásia, em sopas europeias, no caldo *Dashi* japonês, nos cogumelos com molho de ostra na China e na pizza italiana, com seu molho de tomate e coberturas à base de queijos maturados, todos, por sua vez, com alta concentração de glutamato (UIC, 2019).

Na culinária, as substâncias umami, principalmente o MSG, podem ser usadas em uma grande variedade de pratos, como carnes, peixes, aves, legumes cozidos, sopas, caldos e temperos, para realçar o sabor global dos mesmos (Jinap & Hajeb, 2010; Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

A indústria alimentícia busca os benefícios tecnológicos das substâncias umami, principalmente porque, além de conferirem o gosto umami e harmonizarem o sabor dos alimentos, os tornam mais complexos, com aumento do impacto e continuidade na papila gustativa (Chaudhari & Roper, 2010). Ainda, essas substâncias possuem excelente estabilidade, mesmo se submetidas a altas temperaturas e longos períodos de armazenamento. Não há interferência na cor, aparência e textura do produto. O MSG também é utilizado em alimentos processados e industrializados que requerem uma grande quantidade de sabor concentrado em pequenos volumes, como pratos congelados, pratos prontos, molhos picantes, sopas desidratadas ou enlatadas, molhos para salada, molhos de tomate e produtos feitos à base de carne, como salsicha, presunto, linguiça, apresuntado e mortadela (Maluly *et al.*, 2017; UIC, 2019).

Exemplos clássicos da utilização do MSG e 5'-ribonucleotídeos são:

- Caldos e sopas: intensificam e melhoram o sabor, conferindo-lhes uma grande intensidade em pequenos volumes, e proporcionando o máximo rendimento na percepção do mesmo.
- Produtos cárneos: realçam o sabor natural da carne, perdido muitas vezes em etapas de processo como congelamento ou aquecimento, e diminuem o residual amargo conferido pelas proteínas vegetais, largamente utilizadas nesses tipos de produtos.
- Condimentos e temperos: intensificam o sabor global e proporcionam impacto, continuidade e complexidade gustativa, fundamentais nesses tipos de produtos.
- Molhos e conservas vegetais: melhoram o sabor global dos produtos, além de suavizarem e refinarem os gostos exageradamente ácidos, amargos e salgados.
- *Snacks*: intensificam o sabor dos ingredientes utilizados na “condimentação” de *snacks* e salgadinhos em geral, além de realçarem o aroma adicionado ao produto.

Na Tabela 17.6 são apresentadas recomendações de uso de glutamato monossódico, para diferentes categorias de produtos.

Tabela 17.6 – Recomendações de uso

Produtos	Recomendação de uso pela quantidade de produto
Produtos cárneos	a partir de 0,3%
Caldos	0,4 a 0,6%
Sopas	0,5 a 0,7%
Condimentos/Temperos	
até 10% de sal	50 a 70%
com alto conteúdo de sal	8 a 10%
para macarrão instantâneo (tipo lamen)	10 a 17%
<i>Snacks</i>	0,6 a 0,75%
Derivados de tomate	0,6 a 1,0%
Catchup	a partir de 1,0%
Conservas vegetais	0,15 a 0,25%
Derivados de peixe	a partir de 0,3%
Alimentos congelados	a partir de 0,3%
Biscoitos	a partir de 0,3%
Molhos	0,3 a 0,6%
Mostarda	0,6 a 1,0%
Maionese/ <i>dressings</i>	0,4 a 0,6%
Massas	a partir de 0,3%

Fonte: dados fornecidos por Ajinomoto Co.

4.3. Interação do umami com os outros gostos básicos

A interação do umami com os outros gostos básicos (doce, salgado, amargo e azedo) foi o tema pesquisado por Yamaguchi & Kumizuka (1979). Os pesquisadores concluíram que o limiar de detecção para o MSG foi baixo o suficiente para ser usado como tempero, mas não tão baixo quanto o limiar do ácido tartárico ou do sulfato de quinino. No entanto, o limiar de detecção do MSG é marcadamente reduzido na presença de IMP, como consequência do efeito sinérgico entre essas duas substâncias.

Assim, verifica-se que o gosto umami possui efeito tecnológico relacionado aos outros gostos básicos. Com relação ao gosto doce, o MSG geralmente não é utilizado e não pode substituir o açúcar, mas acentua o gosto doce quando o açúcar está presente em baixas concentrações. Para o gosto salgado, em alimentos cuja quantidade de sal (NaCl) adicionado esteja na faixa entre 0,1 a 1%, a adição de 0,1 a 1% de MSG resalta o gosto salgado, principalmente na faixa entre 0,1% a 0,2%. O MSG ameniza o gosto ácido do molho de tomate, picles, ketchup e

molhos tipo *dressing*. Também pode reduzir o gosto amargo e o gosto residual em alguns vegetais, especialmente espinafre, mas esse efeito não é generalizado. O gosto amargo está associado a outros fatores, como o gosto metálico. O gosto característico amargo-metálico da solução de ferro é mascarado pela adição de 0,1 a 0,2% de MSG. No entanto, o gosto atribuído ao íon cobre não é significativamente alterado pela adição de MSG. O sabor de alimentos que apresentam o gosto metálico, especialmente espinafre, produtos à base de fígado e produtos enlatados, é geralmente melhorado pela adição de MSG (Jinap & Hajeb, 2010; Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

Essas características encontradas para o gosto umami para a interação com os outros gostos básicos é muito utilizada pela indústria alimentícia, principalmente para incrementar a palatabilidade de um alimento através da redução de características indesejadas, especialmente os gostos ácidos e amargos. Como exemplo, podemos citar a utilização de glutamato em produtos cárneos, visando reduzir o residual amargo causado por alguns tipos de proteínas de soja. A percepção do gosto ácido em molhos à base de tomate também é reduzida pela adição das substâncias umami. Efeito semelhante se obtém na aplicação do glutamato em conservas vegetais. No entanto, não se pode generalizar no sentido de que o glutamato suprime seletivamente os gostos desagradáveis e realce os agradáveis (Jinap & Hajeb, 2010).

4.4. Produção de alimentos com teor reduzido de sódio

O sódio é um elemento essencial e vital para o organismo, porém deve ser utilizado em quantidades que não excedam 2,0 g/dia (ou 5,0 g de NaCl), pois o consumo elevado pode levar a distúrbios relacionados à hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e renais. Nos últimos tempos, a comunidade científica tem alertado a população quanto ao consumo de altos teores de sódio, que no caso do Brasil excede em até duas vezes o teor recomendado (Sarno *et al.*, 2013). A maioria dos excessos é proveniente de sal adicionado aos alimentos ou alimentos industrializados prontos para consumo. Para evitar maiores problemas de saúde pública e melhorar a qualidade dos alimentos, o Ministério da Saúde do Brasil formalizou, junto a associações de indústrias alimentícias, um acordo para redução de sódio em alimentos, que demonstrou no ano de 2017 uma diminuição de 17 mil toneladas do mineral nos alimentos industrializados (Brasil, 2017).

O NaCl é extensivamente utilizado pela indústria, pois além de ser um produto de baixo custo, possui diversas características que envolvem os processos tecnológicos para produção de alimentos. Além de ser um excelente conservante,

é utilizado em produtos cárneos no processo de cura junto com nitritos para proporcionar cores e sabores específicos. Os mecanismos que prevalecem para sua função são a extração e solubilização das proteínas miofibrilares, o que proporciona coesão e textura adequadas durante o processo de secagem, diminuição da atividade de água e aumento da pressão osmótica, inibindo o crescimento microbiano e a deterioração do produto (Damodaran *et al.*, 2010; Martín *et al.*, 2001; Toldrá, 2004).

Entretanto, a redução de sódio em alimentos depende de diversos fatores, que incluem modificação na formulação dos alimentos processados e desenvolvimento de novas pesquisas para a retirada de NaCl e inclusão de novas substâncias aos alimentos, as quais devem ser seguras e agradáveis ao paladar da população.

O principal substituto encontrado para NaCl é o cloreto de potássio (KCl), pois possui propriedades tecnológicas interessantes. No entanto, ele proporciona certo residual amargo e metálico. Por esses motivos, encontrou-se nos realçadores de sabor uma opção para tornar o produto mais agradável e com teores baixos de sódio.

O MSG é um dos realçadores de sabor mais utilizados pela indústria alimentícia com o propósito de reduzir o teor de sódio e, ao mesmo tempo, proporcionar agradabilidade a esses tipos de produtos. A molécula do MSG ($C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$) possui uma quantidade de sódio de 12,3%, o que, quando comparado com NaCl (que possui 39,34% de sódio) corresponde à aproximadamente 1/3 da proporção dessa substância. Todavia, o MSG não exerce as mesmas funções do NaCl e, além disso, é autolimitante, pois a recomendação tecnológica para sua adição é de 0,1 a 0,8% do total do produto (Beyreuther *et al.*, 2007; Jinap & Hajeb, 2010; Maluly *et al.*, 2017).

Para verificar se a redução de NaCl não afetaria a palatabilidade, realizou-se um teste sensorial através de sopas japonesas do tipo *sumashi-jiru*, feita com peixe bonito seco, contendo diferentes concentrações de NaCl e MSG. Cada amostra possuía uma escala que variava em sete pontos para a quantidade de sal e palatabilidade: extremamente forte ou aceitável (+3) para extremamente fraco ou não aceitável (-3). Cada provador avaliou aleatoriamente nove amostras e, após cada prova, limpava a boca com água para eliminar os gostos residuais. O nível considerado ideal pelos provadores foi de 0,4% de MSG e 0,8% de NaCl. Foi verificado também que é possível reduzir a concentração de NaCl para 0,4%, adicionando MSG na mesma concentração. Dessa forma, foi possível reduzir a concentração de sódio em 34%, mantendo a aceitabilidade (Yamaguchi & Takahashi, 1984; Maluly *et al.*, 2017).

A quantidade adequada de cada substância umami depende da qualidade da matéria-prima utilizada, do perfil de sabor desejado para cada categoria de produto no qual elas são aplicadas, além das preferências regionais e das quantidades de outros condimentos utilizados em cada formulação. Para reduzir o sódio dos alimentos, primeiramente é necessário o estabelecimento de novos hábitos sensoriais pela população, acostumada a ingerir grandes quantidades de sal, bem como de um processo de educação continuada e modificação da rotina alimentar. Além disso, o grande desafio da indústria alimentícia é a busca de novas tecnologias para reduzir o sódio, sem que haja grandes impactos nos custos dos alimentos (Maluly *et al.*, 2017).

4.5. Sinergismo entre as substâncias umami

Entre as substâncias que proporcionam o gosto umami, o glutamato tem o maior destaque, pois está presente em uma grande variedade de alimentos e, além disso, toneladas de MSG são produzidas com baixo custo. Porém, os 5'-ribonucleotídeos (inosina-5'-monofosfato e guanosina-5'-monofosfato) têm seu papel de destaque, por estarem presentes em outros alimentos e intensificarem o gosto umami pelo notável efeito sinérgico que exercem ao interagirem com o glutamato.

Há séculos, países como a França, Japão e China já experimentavam o gosto umami proveniente dessas interações, as quais estavam presentes em caldos típicos destas regiões, como o *bouillon*, *dashi* e o *Jiang*, respectivamente. Esses caldos são feitos com ingredientes umami, pois, por exemplo, o caldo *bouillon* é rico em vegetais e carne bovina, de aves e pescado (UIC, 2019).

O efeito sinérgico pode ser definido como a interação entre duas substâncias em que o resultado final é maior do que a somatória dos mesmos. Assim, a relação entre a proporção de IMP em uma mistura de MSG e IMP e a intensidade do gosto da mistura é apresentada na Figura 17.2, sendo que o efeito sinérgico entre MSG e IMP pode ser matematicamente expresso pela Fórmula 1.

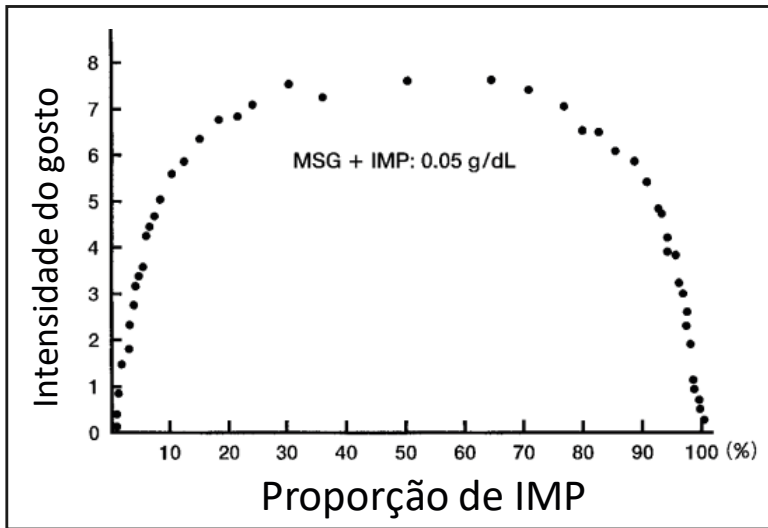


Figura 17.2 – Relação entre a proporção de mistura de MSG (glutamato monossódico) e IMP (inosinato dissódico) e a intensidade do gosto.

Fonte: Yamaguchi & Ninomiya, 2000.

$$Y = u + \delta v \quad (\text{Fórmula 1})$$

Em que: u e v são as concentrações (g/dL) de MSG e IMP na mistura, respectivamente; δ é uma constante, 1218, e Y é a concentração (g/dL) de MSG que, sozinho, conferiria a mesma intensidade do gosto umami equivalente ao da mistura (Yamaguchi & Kumizuka, 1979).

Embora a intensidade do gosto do IMP por si só seja fraco, um forte gosto umami é induzido na presença de MSG. A esse respeito, é interessante notar que, devido à saliva humana normalmente conter uma pequena concentração de glutamato (1,5 $\mu\text{g/mL}$ equivalentes de MSG), o aparente gosto umami atribuído ao IMP sozinho pode realmente ser o resultado da interação do IMP com o glutamato presente na saliva. Isto é, o IMP pode não ter gosto umami intrínseco, mas simplesmente ressaltar o gosto umami do glutamato normalmente presente na cavidade bucal (Yamaguchi 1967; Yamaguchi & Ninomiya, 2000). Outras substâncias umami que também exercem efeito sinérgico foram comparadas com a mistura entre IMP e MSG. Verificou-se que a intensidade do gosto dessa mistura era 5 vezes maior do que a mistura entre AMP (adenosina-5'-monofosfato) e MSG e, em contrapartida, 2 ou 3 vezes menor que a mistura entre GMP e MSG (Yamaguchi *et al.*, 1971).

As recomendações de uso não variam de acordo com a categoria de produtos, mas dependem diretamente do tipo de nucleotídeo que está sendo usado. No caso do IMP recomenda-se de 5-7% sobre a porcentagem de MSG que está sendo utilizado. Para a mistura de IMP + GMP, o nível de uso seria entre 3-5% sobre o nível de MSG sugerido.

O efeito sinérgico entre o glutamato e os nucleotídeos não provoca apenas um incremento quantitativo, mas também, uma melhoria qualitativa significativa do gosto umami, resultando em um alimento com um sabor suave, rico e encorpado. Este fato vem sendo explorado por chefs reconhecidos internacionalmente, que exploram o umami naturalmente presente nos alimentos que utilizam e, através de diversas combinações de ingredientes, satisfazem ao paladar mais refinado dos que experimentam a delicadeza desse gosto.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para uma boa nutrição, uma alimentação adequada é essencial. Através da tecnologia de alimentos, foi possível desenvolver diferentes métodos e técnicas de preparo, armazenamento e melhoria das características sensoriais como cor, aroma, textura e, principalmente, o sabor.

Após a identificação do gosto umami, as diferentes populações puderam, através de sua cultura culinária, criar diversos pratos saborosos que vem contribuindo para aprimorar seu estado nutricional e de saúde.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJINOMOTO CO, Ajinomoto do Brasil Ind. e Com. de Alimentos Ltda. São Paulo. Disponível em <https://www.ajinomoto.com.br/>. Acesso em 10/3/2020.

BEYREUTHER, K. *et al.* “Consensus meeting: monosodium glutamate - an update”. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(3): 304-313, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. “Acordo com a indústria reduziu 17 mil toneladas de sódio dos alimentos”. 2017. Disponível em <http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/28730-acordo-com-a-industria-reduziu-17-mil-toneladas-de-sodio-dos-alimentos>. Acesso em 3/9/2019.

CHAUDHARI, N.; LANDIN, A. M. & ROPER, S. D. “A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor”. *Nature Neuroscience*, 3(2): 113-119, 2000.

- CHAUDHARI, N. & ROPER, S. D. “The cell biology of taste”. *J Cell Biol.* 190(3): 285-296, 2010.
- CHAUDHARI, N. *et al.* “The Taste of Monosodium Glutamate: Membrane Receptors in Taste Buds”. *The Journal of Neuroscience*, 16(12): 3817-3826, 1996.
- CÓRDOBA, J. J. *et al.* “Evolution of free amino acids and amines during ripening of Iberian cured ham”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(10): 2296-2301, 1994.
- CSAPÓ, J. *et al.* “The influence of manufacture on the free D-amino acid content of cheddar cheese”. *Amino Acids*, 32(1): 39-43, 2007.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. & FENNEMA, O. R. *Química de alimentos de Fennema*. 4. ed. Porto Alegre, Artmed, 2010.
- DRAKE, S. L. *et al.* “Sources of umami taste in cheddar and swiss cheeses”. *Journal of Food Science*. 72(6): S360-S366, 2007.
- EUFIC, The European Food Information Council. “Processed food: what is the purpose of food processing?”. 2017. Disponível em <https://www.eufic.org/en/food-production/article/processed-food-qa>. Acesso em 2/9/2019.
- FIESP/ITAL. “Brasil Food Trends 2020”. 2010. Disponível em <http://www.brazilfoodtrends.com.br/>. Acesso em 2/9/2019.
- HASEGAWA, T. *et al.* “Changes in enzyme activities at the pyruvate node in glutamate-overproducing *Corynebacterium glutamicum*”. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 105(1): 12-19, 2008.
- IFT, Institute of Food Technologist. “About Food Science and Technology”. 2019. Disponível em <http://www.ift.org/knowledge-center/learn-about-food-science/food-facts/about-fs-and-t.aspx>. Acesso em 2/9/2019.
- IHS-MARKIT. “Monosodium glutamate”. 2019. Disponível em <https://ihsmarkit.com/products/monosodium-glutamate-chemical-economics-handbook.html>. Acesso em 29/12/2019.
- JINAP, S. & HAJEB, P. “Glutamate. Its applications in food and contribution to health”. *Appetite*, 55(1): 1-10, 2010.

KINOSHITA, S.; UDAKA, S. & SHIMONO, M. “Studies on the amino acid fermentation. Part 1. Production of L-glutamic acid by various microorganisms”. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 50(6): 331-343, 2004.

LEDESMA-AMARO, R. *et al.* “Biotechnological production of feed nucleotides by microbial strain improvement”. *Process Biochemistry*. 48(9): 1263-1270, 2013.

LIOE, H. N.; SELAMAT, J. & YASUDA, M. “Soy sauce and its umami taste: a link from the past to current situation”. *Journal of Food Science*. 75(3): R71-R76, 2010.

MALULY, HELLEN D. B.; ARISSETO-BRAGOTTO, A. P. & REYES, F. G. R. “Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: Technological and safety aspects”. *Food Science and Nutrition*. 5(6): 1039-1048, 2017.

MARTÍN, L. *et al.* “Free amino acids and other non-volatile compounds formed during processing of Iberian ham”. *Meat Science*. 59(4): 363-368, 2001.

NAKAMURA, J. *et al.* “Mutations of the *Corynebacterium glutamicum* NCg11221 Gene, Encoding a Mechanosensitive Channel Homolog, Induce L-Glutamic Acid Production”. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(14): 4491-4498, 2007.

NINOMIYA, K. “Natural occurrence”. *Food Reviews International*. 14(2-3): 177-211, 1998.

PETROVA, I. *et al.* “Manufacture of dry-cured ham: a review. Part 1. Biochemical changes during the technological process”. *European Food Research and Technology*, 241(5): 587-599, 2015.

PICON, A. *et al.* “Proteolysis, lipolysis, volatile compounds, texture, and flavor of Hispánico cheese made using frozen ewe milk curds pressed for different times”. *Journal of Dairy Science*. 93(7): 2896-2905, 2010.

RODRÍGUEZ, M. *et al.* “Evaluation of proteolytic activity of micro-organisms isolated from dry cured ham”. *Journal of Applied Microbiology*. 85(5): 905-912, 1998.

SANO, C. “History of glutamate production”. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(3): 728S-732S, 2009.

SARNO, F. *et al.* “Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2008-2009”. *Revista de Saúde Pública*. 47(3): 571-578, 2013.

SATO, S. “Produção de aminoácidos”. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E. & BORZANI, W. (ed.). *Biotecnologia industrial*. 1. ed. São Paulo, Edgard Blücher Ltda., 2001.

TOLDRÁ, F. *Dry-cured meat products*. New Jersey, Wiley-Blackwell, 2004.

TOLDRÁ, FIDEL. & FLORES, M. “The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham”. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 38(4): 331-352, 1998.

UIC, Umami Information Center. “Umami Information Center”. 2019. Disponível em <https://www.umamiinfo.com/>. Acesso em 3/9/2019.

WARMKE, R.; BELITZ, H.-D. & GROSCHE, W. “Evaluation of taste compounds of Swiss cheese (Emmentaler)”. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 203(3): 230-235, 1996.

WEAVER, J. C.; KROGER, M. & THOMPSON, M. P. “Free amino acid and rheological measurements on hydrolyzed lactose cheddar cheese during ripening”. *Journal of Food Science*. 43(2): 579-583, 1978.

YAMAGUCHI, S. “The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate”. *Journal of Food Science*. 32(4): 473-478, 1967.

YAMAGUCHI, S. & KUMIZUKA, A. “Psychometric studies on the taste of monosodium glutamate”. In: FILER, L. J. *et al.* (ed.). *Glutamic acid: Advances in biochemistry and physiology*. New York, Raven Press, 1979.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “Umami and food palatability”. *The Journal of Nutrition*. 130(4): 921S-926S, 2000.

YAMAGUCHI, S. & TAKAHASHI, C. “Interactions of monosodium glutamate and sodium chloride on saltiness and palatability of a clear soup”. *Journal of Food Science*. 49(1): 82-85, 1984.

YAMAGUCHI, S. *et al.* “Measurement of the relative taste intensity of some l- α -amino acids and 5'-nucleotides”. *Journal of Food Science*. 36(6): 846-849, 1971.

UMAMI EM DIFERENTES DIETAS

*Silvia Mendoza
Jorge Herman Behrens*

1. INTRODUÇÃO

Nossas escolhas alimentares são bastante complexas e envolvem questões fisiológicas, culturais, econômicas e sociais. Porém, o sabor dos alimentos é o principal fator e resulta da interação dos sentidos do olfato e do gosto (Lawless & Heymann, 2010).

Tradicionalmente, quatro dimensões básicas de gosto eram descritas, a saber: doce, ácido, amargo e salgado. Em 1908, Kikunae Ikeda isolou de uma alga marinha o sal sódico do aminoácido L-glutamato e descreveu seu gosto como algo completamente diferente dos gostos tradicionais. Ele ainda argumentou que a função desse novo gosto seria permitir que o organismo detectasse fontes de proteína de forma análoga ao gosto doce, que sinaliza a presença de carboidratos (Beauchamp, 2009; Martin & Issanchou, 2019). Esse novo gosto foi chamado de umami e seu reconhecimento pela comunidade científica deu-se por volta do ano 2000 (Trivedi, 2012).

Umami é uma palavra japonesa, formada por *umai*, que significa delicioso, e *mi* que significa gosto. Assim, umami foi traduzida para as línguas ocidentais

principalmente como saboroso, rico e delicioso (Yamaguchi & Ninomiya, 2000; Ninomiya, 2002; Hartley *et al.*, 2019).

A principal substância responsável pelo gosto umami é o ânion do ácido glutâmico, L-glutamato, notadamente proveniente do sal monossódico (glutamato monossódico-MSG), muito utilizado na indústria de alimentos. Há sais dissódicos de ácidos 5' ribonucleicos que atuam de forma sinérgica com o MSG, especificamente, a inosina monofosfato (IMP) e a guanosina monofosfato (GMP) (Kasabian & Kasabian, 2006; Beauchamp, 2009). É interessante notar que, isoladas, IMP e GMP produzem gosto umami muito fraco, provavelmente pela interação com o L-glutamato presente na saliva humana; porém, com concentrações supraliminares de MSG, potencializam a sensação do umami (Hartley *et al.*, 2019).

Ao final do século XX o umami foi objeto de intensa pesquisa até que, no início dos anos 2000, pesquisadores da Universidade de Miami relataram ter identificado um receptor acoplado à proteína G na língua de ratos, o qual chamaram *taste-mGLUR4*. Os receptores do gosto umami marcados com proteínas T1R1 e T1R3 respondem fortemente ao glutamato, porém, também o fazem diante de outros aminoácidos, em diferentes magnitudes (Trivedi, 2012). Assim, considerou-se que o umami representa o gosto de muitos aminoácidos, sejam eles essenciais ou não, reforçando a teoria de sua função como indicador de fontes proteicas.

O L-glutamato está naturalmente presente em vários alimentos como o tomate, cogumelos, algas marinhas, peixes e frutos do mar, além de alimentos que passam por processos fermentativos ou de cura como o molho de peixe, o molho de soja, queijos e produtos cárneos (Curtis, 2009; Hartley *et al.*, 2019). Yamaguchi & Ninomiya (2000) publicaram uma lista de 39 substâncias que, de acordo com eles, promovem o gosto umami. São também incluídos outros aminoácidos, como os ácidos ibotérico e tricolômico, ambos encontrados em alguns cogumelos; o ácido succínico encontrado no saquê, nos mariscos e no vinho; a teharina, no chá, e um octopeptídeo composto de oito aminoácidos encontrado no caldo de carne. O MSG é, portanto, o composto de gosto umami mais reconhecido, porém a pesquisa continua almejando obter um conhecimento mais completo desse gosto (Kasabian & Kasabian, 2006).

A indústria vem utilizando MSG, IMP e GMP como aditivos realçadores de sabor em alimentos processados, especialmente os salgados como molhos para saladas, *snacks*, sopas, produtos cárneos, pratos congelados etc. (Martin & Issanchou, 2019). De fato, estudos demonstram a relação entre os gostos salgado

e umami e os sais de L-glutamato (sódico ou potássico), bem como extratos de alimentos fontes do umami são ingredientes alternativos para redução de sódio em produtos alimentícios.

Nos últimos anos, vários trabalhos foram publicados sobre interações do umami com os demais gostos básicos, além de sua contribuição para a palatabilidade dos alimentos, uma questão essencial para a sobrevivência do ponto de vista da evolução humana (Prescott, 2012). Nesse sentido, as substâncias de gosto umami têm sido avaliadas como ingredientes em dietas para crianças com distúrbios alimentares, para pessoas debilitadas, para idosos mal nutridos, em dietas para hipertensos, para pessoas diabéticas e para aquelas com sobrepeso em dietas com baixo teor de gordura. Indubitavelmente, esses estudos trazem informações muito relevantes para cientistas e tecnólogos de alimentos e nutricionistas, mas o gosto umami sempre esteve presente nos alimentos e na culinária dos povos de todo o mundo.

2. UMAMI NAS PRIMEIRAS FASES DA VIDA

Os receptores gustativos começam a operar ainda na fase uterina. As células gustativas começam a se formar entre sete e oito semanas de gestação e por volta de 17 semanas elas são consideradas funcionalmente maduras. A sucção gestacional não nutritiva começa a partir da semana 18, e a sucção e as ações de deglutição são coordenadas por volta 35 a 40 semanas de gestação. No final da gestação, o feto engole e inala quantidades significativas de líquido amniótico levando às primeiras experiências sensoriais e a aprendizagem do sabor. Apto a detectar gostos, o bebê prepara-se para vida pós-natal e a frequência de deglutição aumenta em resposta à introdução de substâncias doces (nutrientes) no líquido amniótico e diminui em resposta à introdução de substâncias amargas (perigo potencial) (Lipchock *et al.*, 2011). Um padrão de resposta semelhante é visto logo após o nascimento: dentro de horas e dias o recém-nascido reage, como seria de esperar, a estímulos gustativos prazerosos e desagradáveis (Prescott, 2012).

Steiner (1987) realizou experimentos em bebês recém-nascidos: colocou na língua do recém-nascido água ou uma solução doce, ácida, amarga ou sopa de verduras com e sem MSG (0,5%) e registrou as reações faciais dos bebês aos estímulos gustativos. Especificamente quanto ao gosto umami, foi possível demonstrar que a sopa com MSG teve expressões de agrado quando colocada na língua dos bebês semelhante às apresentadas com a solução doce. Os sinais foram: relaxamento dos músculos da face, lambidas dos lábios e gesticular positivo. Os resultados sugerem que a resposta represente uma habilidade inata.

Beauchamp *et al.* (1987) realizaram um estudo com bebês desnutridos de 2 a 24 meses de idade. Um grupo de 34 bebês recebeu uma sopa-base de vegetais com e sem a adição de 1% de hidrolisado de caseína fortificado com L-triptofano, L-tirosina e L-cisteína. Outro grupo de 24 bebês recebeu a mesma sopa-base, porém adicionada de 0,4% de MSG. Outros dois grupos controle de bebês saudáveis receberam separadamente cada tipo de sopa. Os bebês desnutridos consumiram maior quantidade de sopa com hidrolisado de caseína, enquanto os bebês normais consumiram maior quantidade da sopa-base, sem caseína. Quanto à sopa adicionada de MSG, os dois grupos de bebês reagiram de maneira semelhante, consumindo ambos uma maior quantidade dessa sopa. Conclui-se que o maior consumo de sopa fortificada com aminoácidos e hidrolisado de caseína refletiu a carência nutricional dos bebês. Já o maior consumo de sopa com 0,4% de MSG se deveu a seu melhor sabor, ou seja, palatabilidade.

3. UMAMI E PALATABILIDADE

Embora a detecção do gosto umami seja considerada como sinalizadora da presença de proteínas (Beauchamp *et al.*, 1987; Yamaguchi & Ninomiya, 2000; Martin & Issanchou, 2019), estudos mais recentes relacionam o umami mais à palatabilidade dos alimentos. A palatabilidade promove a seleção, ingestão, absorção e digestão de alimentos e, embora todos os sentidos estejam envolvidos na determinação, a palatabilidade dos alimentos, o gosto, desempenha um papel importante (Prescott, 2012).

É reconhecida a relação entre os gostos salgado e umami (Martin & Issanchou, 2019; Hartley *et al.*, 2019). Em combinação com o sal (NaCl) as substâncias de gosto umami podem melhorar a palatabilidade de muitos alimentos e, agregando-se uma porcentagem de MSG a alguns alimentos, é possível reduzir o conteúdo de sódio sem diminuir a aceitabilidade (Schiffman, 1993). Para ilustrar esse conceito, Yamaguchi & Takahashi (1984) usaram um modelo de sopa japonesa como base, em que a palatabilidade foi mantida com a adição de 0,38% de MSG, mesmo com a quantidade de sal diminuída. Resultados similares foram obtidos usando caldo de galinha (Chi & Chen, 1992). Altug & Demirag (1993) obtiveram resultados similares com sopas adicionadas de 0,6% a 0,8% de glutamato, com redução de 40% de sal, sem afetar a palatabilidade. Os autores também confirmaram que o prazer de tomar a sopa com baixo conteúdo de sal e adição de MSG foi mantido depois de repetidas apresentações. Quando a mesma sopa sem MSG foi apresentada, a aceitação diminuiu. Cabe mencionar que, em uma série de estudos realizados com diferentes menus, Yamaguchi (1987) verificou

que a diminuição de 30% de sal sem a adição de substâncias umami afetava negativamente a aceitação.

4. UMAMI E DIETA

O processo de envelhecimento é complexo e reflete modificações em células, tecidos e órgãos. Com a idade, ocorre decréscimo natural da acuidade gustativa, influenciada também pelo uso de medicamentos, a perda dos dentes, atrofia do tecido ósseo maxilar e alteração da saliva (Schiffman & Warnick, 1993). Essas modificações do paladar podem levar à redução no consumo de alimentos, ou mesmo à anorexia, o que traz, como consequência, alterações nutricionais gerais ou específicas (Morley & Silver, 1998).

Em diferentes países, estudos com idosos têm sido realizados para avaliar: 1) se o uso de MSG e nucleotídeos como realçadores de sabor adicionados à dieta podem compensar a perda do paladar e do olfato nos idosos; 2) se o MSG agregado como realçador de sabor na dieta de idosos hospitalizados ajuda a melhorar a ingestão de alimentos; 3) se a adição de MSG aos menus permite fazer uma reorientação alimentar para indivíduos com casos de transtorno metabólico (diabetes ou sobrepeso); e 4) se dietas adicionadas de MSG e administradas a idosos desnutridos durante alguns meses poderiam produzir melhoria do estado nutricional (Schiffman, 1998, Schiffman & Warnick, 1993).

Murphy (1987) realizou um estudo no qual se propôs a investigar a relação entre o estado nutricional de jovens e idosos, considerando sua preferência por aminoácidos na dieta. O grupo A foi formado por sete jovens universitários de 18 a 26 anos de idade; e o grupo B, por 21 idosos saudáveis, com uma média de idade de 79 anos. O estado nutricional de cada grupo foi determinado por exames bioquímicos (proteínas séricas totais, albumina e ureia no sangue). O experimento consistia em ministrar uma sopa-base à qual foi adicionado glutamato nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% peso/volume. A aceitação das sopas foi medida por uma escala hedônica linear. Os resultados dos exames bioquímicos realizados nos idosos foram significativamente inferiores ($p < 0,05$), o que refletia em um estado nutricional pior. Mais da metade dos idosos preferiu as concentrações mais altas de glutamato; entretanto, os indivíduos mais jovens, com estado nutricional melhor, avaliaram as concentrações mais baixas de glutamato como as mais agradáveis. Conclui-se que é favorável a adição de realçadores de sabor em dietas para idosos, já que, à medida que avança a idade, as pessoas vão perdendo sensibilidade gustativa.

Bellisle (1998) estudou o efeito do umami na alimentação de pessoas que viviam em um lar de idosos. Para uma amostra de 65 idosos com idade média de 84 anos, foram providos, no almoço, sopa e vegetais adicionados de 0,6% de MSG. Os resultados mostraram que os participantes da pesquisa consumiam maior quantidade dos alimentos que continham MSG; por outro lado, o consumo de outros alimentos como sobremesas foi menor, de tal modo que, ao final, a ingestão calórica total permaneceu constante. O experimento mostrou que o glutamato pode facilitar a seleção de certos alimentos e a redução do consumo de outros, estratégia que poderia ser utilizada por nutricionistas para preparar dietas adequadas a populações com transtornos alimentares.

Um estudo do efeito do MSG adicionado à dieta de idosos com precária condição nutricional foi realizado na Venezuela por Meertens & Solano (2002). Foram avaliados 54 adultos com mais de 60 anos de idade, residentes em um lar geriátrico. Os idosos que aceitaram participar se dividiram em dois grupos. O grupo A (n=26) recebeu alimentos preparados com 0,6% de MSG em duas preparações de almoço, de segunda a sexta-feira, durante três meses. O grupo B (n=28) recebeu os mesmos alimentos e quantidades durante igual período, porém sem adição de glutamato. Foram medidos o índice de massa corporal (IMC) e indicadores bioquímicos e imunológicos. No grupo A, 19,2% dos idosos apresentavam déficit nutricional, porcentagem que diminuiu a 11,5% ao final do período experimental. No mesmo grupo, 65,3% estavam hipoalbuminêmicos no início do estudo e, ao final, este índice reduziu-se a 34,6%. A prevalência de alterações nas subpopulações linfocitárias também diminuiu, em especial para CD3 (*Cluster of Differentiation 3* – marcador utilizado na identificação de células T, estando presente em leucemias e linfomas das células T, e que serve como marcador de diferenciação entre as leucemias/linfomas do tipo B). No grupo B, as mudanças foram menores. Os autores concluíram que a adição de MSG na dieta afetou positiva e significativamente no estado nutricional e condição imunológica dos participantes.

Bellisle *et al.* (1996) argumentam que a adição de MSG favorece o consumo dos alimentos, sem modificar o tamanho da refeição. Essa consideração é importante em pessoas com doenças metabólicas como *Diabetes mellitus*, já que elas poderiam selecionar maior quantidade de alimentos adicionados de MSG e com índice glicêmico baixo.

Um estudo com pacientes diabéticos insulino-dependentes e com diabéticos não dependentes da insulina, que estavam acima do peso e precisavam melhorar a escolha de seus alimentos, foi realizado por Bellisle *et al.* (1991). Os 62 pa-

cientes diabéticos foram divididos em 31 pares de acordo com a idade, índice de massa corporal (IMC), gênero, tipo e duração do diabetes. Foram selecionados para os participantes dois cardápios tradicionais e de palatabilidade média, que incluíam dois pratos teste contendo 0,6% de MSG (sopa e prato de vegetais). Os menus foram apresentados 6 vezes cada, 3 sem adição de MSG e 3 com os pratos de teste contendo MSG. Todas as porções foram pesadas no começo e ao final do almoço. Metade dos pacientes exibiu aumento da ingestão dos alimentos aos quais foram adicionados 0,6% de glutamato. A ingestão posterior de outros alimentos diminuiu, porém o total da ingestão calórica permaneceu constante. Assim, tal como no estudo realizado com idosos, a adição de MSG pode reorientar a escolha dos alimentos no almoço, sem induzir a hiperfagia.

A maioria das pesquisas sobre o efeito do gosto umami sobre o consumo de alimentos utilizou quantidades de MSG ao redor de 0,6%. Uma adição maior de MSG (1,2%) também fez aumentar a ingestão na primeira semana; porém, depois não foi obtido maior efeito (Bellisle *et al.*, 1989).

5. UMAMI E A REDUÇÃO DE GORDURA NOS ALIMENTOS

Nas últimas décadas, a prevalência do sobrepeso e obesidade, tanto em crianças como em adultos, vem aumentando em todo o mundo, tornando-se uma epidemia. O consumo exagerado de alimentos processados ricos em gordura e em açúcar tem sido apontado como principal causa (Seidell, 1998).

Os alimentos com elevado teor de gordura são muito palatáveis, além de altamente energéticos, e por isso tendem a ser consumidos em grandes quantidades, levando um aporte energético maior do que o indivíduo necessita. Prescott (2012) propõe, inclusive, que a fome em sociedades urbanas e afluentes adquire um caráter fortemente hedônico, ou seja, alguns indivíduos preferem alimentos densamente calóricos, ricos em gordura e carboidratos, justamente pelo grande apelo ao paladar. A redução de gordura nos alimentos diminuiu, portanto, a palatabilidade e, para contornar esse efeito, postula-se que o uso apropriado de MSG em certos alimentos poderia ajudar a manter a palatabilidade e aceitação destes, nos quais o conteúdo de gordura for reduzido.

O MSG demonstrou aumentar a saciedade em adultos saudáveis com sobrepeso. Miyake *et al.* (2016) estudaram o efeito do MSG em uma sopa de legumes sobre ingestões de calorias subsequentes, bem como a seleção de alimentos por mulheres adultas (n=68) sem transtornos alimentares, porém com sobrepeso ou obesas. Uma porção fixa (200 mL) de uma sopa de legumes controle, ou a mesma

sopa com adição de MSG (0,5 g/100 mL), foi fornecida 10 minutos antes de um almoço *ad libitum* e um lanche *ad libitum* no meio da tarde. A sopa-controle tinha a mesma quantidade equivalente à sopa adicionada de MSG. O consumo da sopa com MSG resultou em ingesta significativamente menor de calorias no almoço. A adição de MSG na sopa também reduziu a ingestão de energia a partir de alimentos salgados com alto teor de gordura. Com relação ao lanche da tarde, também houve redução de calorias, porém sem diferença significativa. Os autores concluíram que utilizar o MSG como condimento em um prato que sirva como entrada de uma refeição pode ser uma estratégia para diminuir a ingestão de energia subsequente em indivíduos com sobrepeso que não tenham transtornos alimentares.

Martin & Issanchou (2019) não encontraram correlações significativas entre o conteúdo de gordura e o gosto umami, considerando diferentes tipos de alimentos. Há necessidade de mais pesquisas sobre o efeito da adição de substâncias de gosto umami em alimentos reduzidos em gordura, sobretudo os processados, uma vez que por sua complexidade (ingredientes, aditivos, efeitos do processamento etc.), não é clara a relação entre a percepção de gostos (e sua sinergia) e a sinalização de nutrientes.

6. UMAMI E CULINÁRIA

Talvez a principal representação social do umami esteja associada à gastronomia oriental, seja pela própria origem linguística do termo, como pelos ingredientes e alimentos característicos da culinária asiática. Contudo, vários alimentos ricos em compostos de gosto umami sempre fizeram parte dos hábitos alimentares de populações do mundo inteiro, mesmo que não haja no Ocidente uma palavra específica para ele.

Vários alimentos *in natura* consumidos mundialmente apresentam quantidade apreciável de substâncias de gosto umami (ácido glutâmico e 5'-ribonucleotídeos) como, por exemplo, cenoura, tomate, cogumelos, repolho, aspargo, ervilhas, cebola, uva e maçã, além de carnes branca e vermelha e frutos do mar (Curtis, 2009).

Os processos naturais de maturação, dessecação e cura liberam ácido glutâmico e aumentam a intensidade do umami. Um tomate maduro tem 10 vezes mais glutamato do que um tomate verde; os cogumelos *shiitake* secos contêm 1.060 mg de glutamato/100 g, em contraste com os 71 mg/100 g dos frescos (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). Durante os processos de cura, salga ou fermentação de

produtos proteicos, são liberados nucleotídeos, assim como uma ampla variedade de aminoácidos livres pela hidrólise de proteínas. A carne bovina maturada tem mais glutamato do que a fresca. Nos queijos maturados, como o parmegiano reggiano e o ementhal, quanto maior for o conteúdo de glutamato, mais pronunciado o seu sabor. Alimentos que passam por processos fermentativos se destacam pelas grandes quantidades de L-glutamato, como os molhos de peixe (621-1.383 mg/100 g) e de soja (412-1.264 mg/100 g).

Registros históricos mostram que os romanos possuíam quatro diferentes tipos de molhos de peixes: *garum*, *liquamen*, *allec* e *muria*. *Garum* era o molho primário produzido pela hidrólise de pequenos peixes, particularmente anchovas, sardinhas e cavala, em infusão com ervas, especiarias e vinho. Pesos eram usados para pressionar a mistura dentro de jarros fechados expostos ao sol por vários meses. Ao final, separava-se o líquido (*garum*) que era envasado em ânforas de terracota. O material que restava da produção de *garum* era chamado *allec*. *Muria* era a solução salgada resultante da osmose durante a salga de peixe inteiro ou eviscerado (*salsamentum*). A natureza precisa do *liquamen* permanece obscura. Mas, baseado em paralelos modernos, parece ter sido o resultado de lavagens subsequentes do *allec* com solução salina. Assim, o *liquamen* estava intimamente relacionado com o *garum* e seu processo de produção semelhante sugere que no final da Antiguidade o termo *liquamen* efetivamente substituiu o *garum* para designar molho de peixe. Em geral, essa descrição, embora esparsa, se assemelha com os processos modernos de produção de molho de peixe no sudeste da Ásia (Curtis, 2009).

A carne vermelha é muito presente na alimentação ocidental e a cozinha europeia tradicional utiliza o cozimento prolongado de carnes, ossos e gordura bovina como base para caldos, como o *bouillon* (do francês, “fervido”) e o *Bovril*, de origem inglesa, para temperar diversos alimentos (Marcus, 2005).

A cozinha asiática, por sua vez, está fundamentada em ingredientes tradicionais ricos em umami como o *dashi*, caldo típico do Japão feito a partir da alga marinha seca (*kombu*), peixe bonito seco (*katsuobushi*) ou cogumelos *shiitake* secos. *Dashi* significa “extrato fervido”, similar ao *bouillon* dos franceses.

De acordo com o chef norte-americano Mark Millar:

[...] os ocidentais têm um paladar linear, acostumado aos gostos doce e salgado, com poucos contrapontos e harmonias. Na cozinha asiática se usam todos os gostos ao mesmo tempo, se come circularmente. Deve-se acostumar a mente e ir atrás das características do sabor e buscar sabores em diferentes partes da boca (Labensky & Hause, 1995).

A globalização trouxe oportunidade para unir as cozinhas e filosofias do Oriente e Ocidente. Heston Blumenthal, em seu livro *Na busca da perfeição*, faz uma revisão dos pratos mais populares do mundo e dá uma perspectiva única sobre eles. O umami é seu gosto predileto devido à profundidade e força que ele imprime ao sabor de uma comida. Segundo Blumenthal:

[...] a combinação de umami (glutamato, inosinato, guanilato e adenilato) tem um efeito magnífico, o que é comprovado na prática agregando ketchup a um filete de carne; tomate e carne moída no molho à bolonhesa; ou ao agregar queijo parmesão a uma pizza Margarita. Essas combinações são verdadeiras explosões do gosto pelo efeito sinérgico de glutamato e ribonucleotídeos (IGIS, <http://www.glutamate.org>).

Pelo exposto, a gastronomia atual une arte e ciência, e o umami, mesmo sendo um conceito recente no ocidente, desponta como um gosto que enriquece o sabor dos alimentos proporcionando novas e mais complexas experiências sensoriais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTUG, T. & DEMIRAG, K. "Influence of MSG on flavour acceptability and on the reduction of sodium chloride in some ready-made soups". *Chemical Mikrobiol Technol.* 15: 161-164, 1993.

BEAUCHAMP, G. K.; VASQUEZ DE VAQUERA, M. & PEARSON, P. B. "Dietary status of human infants and their sensory responses to amino acid flavor". In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: A Basic Taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 125-138.

BEAUCHAMP, G. K. "Sensory and receptor response to umami: an overview of pioneering work". *Am J Clin Nutr.* 90(3): 723S-727S, 2009.

BELLISLE, F. "Nutritional effects of umami in the human diet". *Food Rev Int.* 14(2-3): 309-319, 1998.

BELLISLE, F. *et al.* "Monosodium glutamate affects mealtime food selection in diabetic patients". *Appetite.* 26(3): 267-275, 1996.

BELLISLE, F. *et al.* "Monosodium glutamate as a palatability enhancer in the european diet". *Physiol Behav.* 49(5): 869-873, 1991.

BELLISLE, F.; TOURNIER, A. & LOUIS-SYLVESTRE, J. "Monosodium glutamate and the acquisition of food preferences in a european context". *Food Qual Prefer.* 1(3):103-108, 1989.

- CHI, S. P. & CHEN, T. C. “Predicting optimum monosodium glutamate and sodium chloride concentrations in chicken broth as affected by spice addition”. *J. Food Process Preserv.* 16: 313-326, 1992.
- CURTIS, R. I. “Umami and the foods of classical antiquity”. *Am J Clin Nutr.* 90(3): 712S-718S, 2009.
- HARTLEY, I. E.; LIEM, D. G. & KEAST, R. “Umami as an “alimentary” taste. A new perspective on taste classification”. *Nutrients.* 11(1): 182, 2019.
- KASABIAN, D. & KASABIAN, A. *The fifth taste: cooking with umami.* New York, Universe Publishing: International Publications Inc., 2006.
- LABENSKY, S. R. L. & HAUSE, A. M. *On cooking: a text book of culinary fundamentals.* 2. ed. New Jersey, Prentice Hall, 1995.
- LAWLESS, H. T. & HEYMANN, H. *Sensory evaluation of food: principles and practices.* 2. ed. New York, Springer, 2010, p. 596.
- LIPCHOCK, S. V.; REED, D. R. & MENELLA, J. A. “The gustatory and olfactory systems during infancy: implications for development of feeding behaviors in the high risk neonate”. *Clin Perinatol.* 38(4): 627-641, 2011.
- MARCUS, J. B. “Culinary applications of umami”. *Food Technology.* 59(5): 24-30, 2005.
- MARTIN, C. & ISSANCHOU, S. “Nutrient sensing: What can we learn from different tastes about the nutrient contents in today’s foods?”. *Food Quality and Preference.* 71: 185-196, 2019.
- MEERTENS, L. & SOLANO, L. “Índice de masa corporal, variables bioquímicas inmunológicas de adultos mayores institucionalizados que recibieron dieta con glutamato monosódico”. *Anales Venezolanos de Nutrición.* 15(2): 105-110, 2002.
- MIYAKE, T. *et al.* “Monossodium L-glutamate in soups reduces subsequent energy intake from high-fat savoury food in overweight and obese women”. *British Journal of Nutrition.* 115: 176-184, 2016.
- MORLEY, J. E. & SILVER, A. J. “Anorexia in the elderly”. *Neurobiol of Aging.* 9: 9-16, 1998.

MURPHY, C. “Flavor preference for monosodium glutamate and casein hydrolysate in young and elderly persons”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: A basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp.139-151.

NINOMIYA, K. “Umami: a universal taste”. *Food Rev. Int.* 18(1): 23-28, 2002.

PRESCOTT, J. *Taste matters: Why we like the foods we do?* London, Reaktion Books Grantham Book Services, 2012.

SCHIFFMAN, S. “Perception of taste and smell in elderly persons”. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33(1): 17-26, 1993.

SCHIFFMAN, S. “Sensory enhancement of foods for the elderly with MSG and flavors”. *Food Rev. Int.* 14(2-3): 321-333, 1998.

SCHIFFMAN, S. & WARNICK, Z. S. “Effect of flavor enhancement of foods for the elderly on nutritional status: food intake, biochemical indices and anthropometric measures”. *Physiol. Behav.* 53(2): 395-402, 1993.

SEIDELL, J. C. “Dietary fat and obesity: an epidemiologic perspective”. *Am. J. Clin. Nutr.* 67(3 Suppl): 546S-550S, 1998.

STEINER, J. “What a neonate can tell us about Umami”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: A basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 97-124.

TRIVEDI, B. “Gustatory system: The finer points of taste”. *Nature.* 486 (7403): S2-S3, 2012.

YAMAGUCHI, S. “Fundamental properties of umami in human taste sensation”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. *Umami: a basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 41-93.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “Umami and food palatability”. *Journal of Nutrition.* 130: 921S-926S, 2000.

YAMAGUCHI, S. & TAKAHASHI, C. “Interactions of monosodium glutamate and sodium chloride on saltiness and palatability of a clear soup”. *J. Food Sci.* 49: 82-85, 1984.

USO DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO NA PRODUÇÃO DE BATATAS FRITAS COM BAIXO TEOR DE ÓLEO

Carlos Silvera Almitrán

1. INTRODUÇÃO

Podemos afirmar que as modificações nos hábitos alimentares do homem determinaram as sucessivas mudanças na sua imagem corporal ao longo da história. Tais mudanças fazem parte das consequências no nível social e cultural que, inevitavelmente, ocorrem na evolução da humanidade em geral e nos grandes feitos históricos em particular.

Naturalmente, o desenvolvimento das civilizações, desde a pré-história, está ligado à tecnologia de alimentos: desde a primeira manifestação conhecida do domínio do fogo, às muitas e incríveis melhorias da tecnologia alimentar de nossos dias, com toda sua gama de possibilidades.

Essa evolução contribuiu para a introdução de mudanças na alimentação, ampliando seu espectro e, portanto, fornecendo, permanentemente, novas opções de alimentos. Isso nos mostra que as possibilidades alimentares se renovam constantemente e que o estudo da alimentação humana, e seus ramos, como a Nutrição, não só se modifica permanentemente, mas é uma área de estudo e descobrimento permanente e inesgotável (Silvera, 2006).

O glutamato monossódico (MSG) é conhecido como composto químico já há 140 anos, mas suas propriedades sensoriais e nutricionais começaram a ser valorizadas com crescente importância, a partir de 1908. Foi nesse ano que o Dr. Kikunae Ikeda obteve o primeiro elemento isolado da alga laminaria e o identificou como responsável pelo gosto umami, ao mesmo tempo em que se descobriam suas propriedades únicas de sinergia do sabor.

Ainda que este capítulo seja dedicado, principalmente, a destacar algumas novas aplicações alimentares dessa interessante molécula, é necessário enfatizar, tal como já foi destacado por outros cientistas, que o glutamato é o aminoácido mais abundante nas proteínas e que, em uma dieta normal e variada que inclua hortaliças, queijo, peixes, e outros produtos do mar, fungos, carnes e cereais (milho, trigo etc.), se consome, aproximadamente, 20 g diários de glutamato (Walker & Lupien, 2000).

Outro aspecto a destacar é que a demanda biológica de glutamato pelos seres humanos é importante a tal ponto que nosso organismo sintetiza todo o glutamato necessário para cobrir eventuais carências do mesmo na alimentação, atendendo às necessidades tanto do ponto de vista energético quanto estrutural. Um fato não menos importante é que esse aminoácido é classificado como não essencial. Em termos científicos, implica que a natureza considera tão importante sua participação nos processos metabólicos relacionados à vida, que não deixa livre a circunstâncias externas e, portanto, aleatórias, o fornecimento do mesmo para o reservatório denominado *pool* de aminoácidos. Um fato bem conhecido, porém, não por isso menos importante, é o alto teor de ácido glutâmico livre no leite materno da raça humana, em comparação com outras fontes exógenas de leite. Este aminoácido dá o agradável sabor necessário para tornar o leite atrativo ao lactente e, por essa via, nutri-lo (Reeds *et al.*, 2000).

Vários pesquisadores têm considerado interessante procurar novas aplicações industriais e nutricionais para o MSG, por se tratar de uma molécula com propriedades únicas dentro do conjunto de ingredientes disponíveis para processamento de alimentos e por ser considerada segura pelas regulamentações nacionais e internacionais. Dentre essas aplicações, destacam-se algumas relacionadas aos estudos de porosidade de hortaliças com vínculos à obtenção de batatas fritas à francesa, com menor teor de óleo, e à elaboração de películas flexíveis comestíveis, entendidas como biopolímeros de aplicação na indústria de alimentos.

A vida útil de um alimento é determinada por numerosas interações dentro do mesmo, assim como com o ambiente. Muitas vezes, essas interações

conformam um complexo ecossistema. Por exemplo, a transferência de umidade em alimentos frequentemente resulta na deterioração da qualidade dos mesmos e se traduz em uma variação da atividade da água e do conteúdo de água do produto em função do tempo (Donhowe & Fennema, 1992). Portanto, a interação entre a umidade e o alimento é crítica.

Por outro lado, muitas das propriedades funcionais de um filme de cobertura comestível estão relacionadas com a resistência ao transporte de gases, vapores e solutos. A esse transporte se associam os conceitos de transferência de massa, difusão e permeabilidade, sobre os quais será dada ênfase neste trabalho.

A permeabilidade do oxigênio e da água, tanto no estado líquido quanto no de vapor, podem afetar na estabilidade biológica do alimento, porque se facilita a atividade enzimática, bem como o crescimento microbiano e sua consequente atividade metabólica. Em alimentos desidratados, que implicam em condições de estresse para os fungos contaminantes, a atividade metabólica pode gerar micotoxinas e graves consequências de saúde pública.

Com relação a todas as propriedades e características anteriores, se estabelece uma associação com a porosidade dos alimentos. A inclusão de moléculas de MSG nas estruturas porosas dos alimentos a serem fritos, permite diminuir a incorporação de gordura nos produtos finais, como por exemplo, as batatas fritas à francesa. Nesse sentido, o estudo da porosidade da batata e dos mecanismos de incorporação do óleo durante o processo de fritura aportam interessantes orientações para o uso de glutamato monossódico na fabricação de batatas fritas à francesa com menor conteúdo de óleo.

2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS, NUTRICIONAIS E TECNOLÓGICOS DO CONSUMO DE BATATAS PELOS SERES HUMANOS

Conta uma velha lenda andina que os homens cultivadores da quinua dominaram durante muitos anos os povos das terras altas e, a fim de deixá-los morrer lentamente, foram diminuindo a porção de alimentos para eles e seus filhos.

Já à beira da morte, os pobres clamaram ao céu e Deus lhes entregou umas sementes carnosas e arredondadas, as quais, depois de plantadas, se converteram em charmosas matas que tingiram de roxo as gélidas punas com suas flores.

Desconsolados e moribundos de fome, os vencidos pediram outra vez clemência ao céu e uma voz lhes disse das alturas: Removam a terra e colham os frutos, que ali os escondi para burlar os homens maus e enaltecer os bons.

E assim foi; debaixo do solo estavam as charmosas batatas, que foram recolhidas e guardadas em estrito segredo. Cada manhã, os homens das punas adicionavam à sua

dieta empobrecida uma porção de batatas e, rapidamente, se restabeleceram, uniram forças e atacaram os invasores que, vendo-se vencidos, fugiram para não voltar jamais a perturbar a paz das montanhas (Graves, 2006).

A mitologia e a história se unem às mais modernas tecnologias à luz de trabalhos científicos que buscam as raízes culturais andinas e se projetam para o futuro, melhorando a cada dia as variedades genéticas da batata, adequadas às atuais necessidades industriais. A história e a tecnologia de alimentos são realimentadas pelo esforço de estudiosos que abreviam as fontes do conhecimento ancestral para projetar-se no futuro.

Nos Andes existia uma verdadeira preocupação com a subsistência, para a qual se valeram de diversas tecnologias. O meio ambiente difícil, no meio do qual se desenvolveram as culturas andinas, criou uma necessidade e uma permanente angústia para possuir e armazenar alimentos.

Se os meios de conservação falhavam ou se o número de alimentos era reduzido, aparecia o espectro da fome e poderia ocorrer o colapso da reciprocidade. Em outras palavras, em consequência, um desabastecimento podia trazer a desintegração do Estado ou de uma macroetnia.

Devido a esta urgência, o homem andino inventou diversos métodos necessários para a manutenção da sua subsistência, secando ou desidratando os produtos.

As carnes eram secas ao sol e, com elas, se preparava o charque, quer fosse de lhama ou de veado. Também desidratavam as carnes de aves como perdizes e pombas, além das de rãs. O camarão era seco por meio de pedras ou areia quente. Esse produto era conhecido como anuka e era embalado em cestos ou cantis de totora chamadas chipa.

O peixe seco e salgado era uma importante fonte alimentícia dos costeiros e, especialmente, dos serranos, e era matéria de troca entre ambos. Outros produtos do mar foram diversos moluscos que podiam ser secos, como as amêijoas, ou que podiam ser usados para preparar uma geleia incorruptível que se usava na preparação de guisados ou sopas.

Tem-se estudado detalhadamente o uso do cochayuyo, ou erva aquática”, na alimentação do Peru moderno e também antigo, no qual se incluem as algas de água doce, porém, principalmente, as de água do mar. Distintas variedades de algas foram usadas nas comidas, e a mais ocorrente foi a Porphyra.

Atualmente, o cochayuyo é comido fresco na costa, com ceviche, picantes e as sopas, e também seco solto ou em plantas nos centros urbanos da serra.

*Os tubérculos também se preservaram de diversas formas. As ocas (*Oxalis tuberosa*) e a machua (*Tropaeolum tuberosa*) eram secas ao sol, ficavam doces e, então, eram chamadas cahui. Entretanto, o tubérculo que pode se conservar por períodos indefinidos é a batata (*Solanum tuberosa*), a qual se submetia a um complicado processo de desidratação. Usava-se preferencialmente a variedade amarga e a tarefa era realizado a 4 mil metros acima do nível do mar.*

As diversas variedades de fécula variam segundo as qualidades de batata e os métodos empregados (o processo dura, em geral, várias semanas). Entre os produtos

obtidos a partir da batata, destaca-se a moraya (da língua quéchua), que é obtido a partir de um processo de secagem de uma variedade de batatas amargas (*S. juzepczukii* e *S. curtilobum*), ricas em glicoalcalóides, típicas do altiplano andino. As batatas de variedade doce se acomodam pelo tamanho sobre uma superfície plana, e logo se expõem à intempérie durante quatro a cinco noites, com seus dias passando pelo frio noturno e o ardente sol do meio dia. Depois, são pisadas com cuidado pelas mulheres para tirar a casca e extrair a umidade restante. Isso era repetido até terminar de secar (Gianella, 2004; Rostworowski, 2010a; 2010b).

Uma leitura cuidadosa do texto anterior nos introduz à antiga tecnologia pré-colombiana, na qual estão presentes distintos métodos de conservação de alimentos por desidratação, incluindo processos muito similares à da secagem por congelamento (*freeze drying*), utilizando a natureza como fonte alternativa de energia, passando “pelo frio noturno e o ardente sol do meio dia”.

Essas civilizações antigas não apenas desenvolveram tecnologias de processamento; como também possuíam um profundo conhecimento dos alimentos e suas propriedades nutricionais e sensoriais. A seleção dos alimentos mencionados é resgatada em documentos históricos: “a carne de lhama ou de veado era seca ao sol”, “o peixe seco e salgado era uma importante fonte alimentícia para costeiros e serranos”, “faziam-se sopas com moluscos secos”, “o emprego de algas marinhas secas para a alimentação”. Contam-nos sobre uma marcante preferência por alimentos que hoje conhecemos como ricos em ácido glutâmico livre, seus derivados e os 5'-ribonucleotídeos.

Por outro lado, as batatas fritas são muito mais recentes. Embora os belgas reivindicem para si a invenção das batatas fritas, há referências às mesmas, incluindo o *soufflé* de batatas, durante as guerras napoleônicas. No entanto, pode-se aceitar como verdadeiro que os belgas foram os primeiros a explorar a produção comercial e industrial desse apetitoso prato. Também, crônicas da Primeira Guerra Mundial contam que as tropas americanas e inglesas acampadas, ou atravessando a Bélgica, provaram as batatas fritas e as denominaram *French Fries*, motivados pelo feito de que os provedores, belgas, falavam em francês. O que é realmente relevante é que o mercado foi aberto para um produto de grande popularidade e que, hoje em dia, incide no comércio mundial com valores que rondam os 100 bilhões de dólares anuais.

Hoje se pode observar que as batatas fritas, o sal e o ketchup tiveram histórias convergentes ao gosto umami. Todas as comidas rápidas (*fast food*) contemporâneas servem essas três espécies alimentares em conjunto, mesmo que tenham histórias separadas pelo tempo e pela geografia.

Como vimos anteriormente, as batatas têm sua origem em terras andinas da América pré-colombiana, com pelo menos três mil anos de história. Os cultivos e a sociedade formavam uma estrutura cultural ligada à consolidação e à evolução desses povos que olhavam para o mar e o cosmos, com as costas solidamente assentadas na cordilheira.

Quanto à origem do ketchup, a teoria mais difundida indica que tal palavra provém de *ke-tsiap*, do dialeto falado na ilha de Amoy, perto da China, onde se aplicava para denominar um condimento à base de peixe em salmoura. Outras teorias coincidem em que, na realidade, a palavra maia *kechap* deu origem a ketchup ou *catshup*. Mais tarde, em fins do século XVII, o nome ketchup, e talvez também algumas amostras do produto, chegaram à Inglaterra, onde apareceu publicado pela primeira vez, em 1690, como *catchup* (Planet Ketchup Heinz, 2019).

O primeiro tratado de farmacologia conhecido, *Peng-tzao-kanmu*, escrito na China há aproximadamente 5.000 anos, fala de 40 tipos de sal. Esse composto faz parte da alimentação humana desde tempos imemoriáveis e cumpriu funções nutricionais e comerciais, gerando verdadeiros nós de trânsito de mercadores, tanto no oriente quanto no ocidente. As minas de Salzburgo, como indica seu nome, deram notoriedade e importância estratégica a essa zona austríaca (Salazar, 2010).

Portanto, batatas, sal e ketchup são ingredientes de um dos pratos mais populares dos tempos modernos, com contribuições históricas na América, Europa e Ásia. Esses ingredientes datam de milênios e confluem na sabedoria ancestral de promover a geração de glutamato livre, tanto no peixe desidratado em salmoura como no molho de tomates, ambos ricos nesse promotor do gosto umami e da sinergia dos melhores perfis de sabor e aroma da batata.

Também é certo e merecedor da mais respeitosa atenção o fato de que, para muitos nutricionistas, as batatas fritas estão catalogadas dentro do que se chama *junk foods* (comida “porcaria” ou de “baixa qualidade nutritiva”). Entretanto, em contraste a essa qualificação, é inegável que se trata de um alimento preferido por muitos consumidores, sobretudo em países, regiões e cidades de alto padrão de vida, segundo os padrões da cultura ocidental. As objeções mais incisivas a respeito do consumo de batatas fritas estão vinculadas ao seu alto conteúdo calórico, à presença de gorduras “trans” e à formação de acrilamidas no processo de fritura em alta temperatura.

Estudar as formas de superar essas inconveniências constitui-se num desafio para a comunidade científica vinculada à ciência e tecnologia de alimentos. Muitas são as propostas e, certamente, o conhecimento acumulado, que gerará

soluções para tranquilidade e satisfação culinária dos consumidores. Estas, também teriam que satisfazer a supervisão cuidadosa das organizações que regulam e regulamentam o comércio e a elaboração de alimentos, tais como Codex Alimentarius (FAO/WHO), Agência Reguladora de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos da América (FDA) e muitas outras organizações nacionais e internacionais.

3. AS BATATAS E SUAS PROPRIEDADES FÍSICAS

3.1. Estudo da porosidade

O processo de fritura de batatas é essencialmente complexo, porque o número de variáveis que interagem é muito grande. O conceito “batata” por si só implica em diferenciar centenas de variedades, com distintos graus de maturação, conteúdo de umidade, amido, açúcares redutores, densidades, porosidades e muitas outras características que incidem na qualidade do produto final. Além disso, haveria de se observar as variáveis do processo, como temperatura do óleo, tempo de fritura, tipo de gordura ou óleo de fritura, procedimentos industriais ou culinários e outras, como o branqueamento, desidratação (em ar ou por congelamento), impregnação por osmose ou a vácuo e recobrimento com filmes comestíveis.

Quando falamos de propriedades físicas das batatas nos referimos, na realidade, a dois conceitos vinculados com o êxito de um processo comercial de fritura das batatas: a qualidade agrônômica e as propriedades físicas e microestruturais.

Por um lado, estão as propriedades relacionadas à qualidade agrônômica ligada a aspectos físicos, porém de grande impacto na qualidade comercial, tais como dimensões axiais, esfericidade, ângulo de repouso, densidade real, densidade aparente e porosidade a granel (ver Glossário ao final do texto). Também são relevantes as propriedades mecânicas ou estruturais intrínsecas, como resistência à compressão, ao corte, à punção e coeficiente de fricção.

Por outro lado, encontram-se as propriedades físicas e microestruturais relacionadas ao efeito que tem o processamento industrial e as características que afetam diretamente a qualidade do produto final: o conteúdo de amido, açúcares redutores, porosidade da matriz vegetal dos tubérculos individuais, conteúdo de umidade etc.

Esses aspectos influenciam diretamente sobre os parâmetros de qualidade e no rendimento comercial das batatas fritas. Como exemplo, consideremos que a quantidade de açúcares redutores está diretamente vinculada à densidade real do

tubérculo. Por outro lado, esse é um fator de escurecimento por oxidação devido ao aumento das reações de Maillard, indesejáveis nesse produto. A quantidade de amido, livre após o processo de corte das batatas em palitos ou *chips* (“fatia ou lasca de batata”), é um fator primordial de deterioração prematura do óleo de fritura. Deve-se ressaltar também que a geometria do tubérculo incide claramente no rendimento comercial das batatas fritas, pois as formas irregulares implicam que haja um maior desperdício por lascas e pedaços de descarte, assim como pela diferença de tamanho de corte de palitos ou *chips*.

As propriedades reológicas das batatas incidem claramente na qualidade do corte e aquelas estão intimamente ligadas com a forma dos palitos. No processo de corte dos palitos, a batata sofre dois tipos de “estresse”: o normal que produz deformação por compressão, o de cisalhamento que produz deformação por arraste, *strain*. Isso dependerá da variedade e maturação da batata, do fio das lâminas de corte e, fundamentalmente, do desenho da máquina de corte, como por exemplo, pressão normal ou tangencial ao corte.

4. A IMPREGNAÇÃO A VÁCUO

As primeiras experiências foram disseminadas por artesãos altamente qualificados da indústria alemã de charcutaria, em um artigo de inegável praticidade e valor histórico. A primeira informação remonta à década de 1970, na Alemanha, e se refere à impregnação a vácuo de produtos cárneos, embora também sejam relatadas aplicações na cura de madeiras.

Os charcuteiros alemães iniciaram suas experiências com base, primeiramente, no conhecimento do conceito de “vácuo” e suas implicações tecnológicas. O objetivo era conhecer a maneira pela qual o ajuste do vácuo promove a entrada de sal, obtendo produtos similares em qualidade aos salgados pelos métodos convencionais, tanto a seco como por via úmida.

O acondicionamento em um recipiente hermético com pressão negativa facilita a difusão de moléculas de sal, diminuindo radicalmente o tempo de impregnação e permitindo uma distribuição mais homogênea. Como será visto mais adiante, com exemplos em materiais vegetais, a impregnação a vácuo permite a oclusão de poros, fraturas e interstícios com moléculas de sal, promovendo a retenção de aroma, cor e suculência. Nas últimas décadas, todos esses conceitos têm levado os cientistas do setor alimentício a prestar atenção direta à aplicação dessa tecnologia.

4.1. O ensaio com salame (Dauerwurst)



Salame (Dauerwurst)

Efetivamente, hoje em dia o procedimento tem relevância científica e a cada dia encontram-se novas aplicações em prestigiosos centros de pesquisa onde este tema é trabalhado.

É assim que se desenvolveram tecnologias vinculadas à impregnação a vácuo com aplicação, além das originais nas carnes e produtos derivados, em frutas e em hortaliças (Vidales & Alzamora, 1999; Paes *et al.*, 2007; Fito *et al.*, 2001a) em queijos tipo manchego (Chiralt & Fito, 1997; Andrés *et al.*, 1997), em queijos tipo suíço em pesquisas de apoio à indústria (Crosa *et al.*, 2005) e muitos outros.



Queijo tipo suíço

O sistema de impregnação a vácuo (SIV) se baseia em um mecanismo de transferência de massa pela aplicação de pressões subatmosféricas,

frequentemente utilizando pulsos nos quais se alternam vácuos residuais da ordem de 40 mmHg – 80 mmHg com pressão atmosférica. Este procedimento possibilita a impregnação de um sistema alimentício poroso com soluções, por exemplo, salinas, dando lugar a processos de salga de alimentos de maneira mais rápida, eficiente e homogênea.

A penetração em poros e capilares está vinculada à fração volumétrica da peça de alimento que é suscetível ao preenchimento com líquido externo (X) e é função da pressão capilar p_c , e à pressão do sistema (p) e da porosidade efetiva do produto (ϵ) (Fito, 1994; Fito *et al.*, 2001b). A partir da equação seguinte, deduz-se que a penetração capilar aumenta com a diminuição da pressão no sistema, ou seja, com o aumento do vácuo na câmara de impregnação.

$$X = \epsilon \cdot \left[\frac{p_c}{p + p_c} \right] \quad (1)$$

Ao completar-se cada pulso de pressão atmosférica – vácuo – pressão atmosférica na câmara de impregnação, toma lugar um mecanismo hidrodinâmico que favorece a penetração do líquido no alimento (Fito *et al.*, 1996; Salvatori *et al.*, 1998). Os modelos matemáticos que permitem prever a fração volumétrica do líquido de impregnação têm sido desenvolvidos amplamente na bibliografia citada.

Esse procedimento não só é compatível com a inovação tecnológica associada à menor incorporação do óleo nas batatas fritas e ao eventual procedimento de fritura a temperaturas sensivelmente menores do que os tradicionais 180 °C, como também abre um interessante leque de possibilidades para o desenvolvimento de novos produtos por incorporação de sabores especiais às batatas no momento da impregnação ou em etapas posteriores à fritura. O MSG ocluído nos poros e capilares do tecido vegetal poderá liberar-se oportunamente na mastigação, exercendo sua capacidade sinérgica milenar sobre os sabores próprios da batata frita ou dos condimentos adicionados e o delicado quinto gosto.

5. INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE FRITURA NA FORMAÇÃO DE ACRILAMIDAS E NO CONTEÚDO DE GORDURA DAS BATATAS FRITAS

5.1. Tempo, temperatura, tipo de óleo. Formação de acrilamidas. Uso de MSG para diminuir a temperatura de fritura

A pesquisa de diversos grupos especializados em ciência e tecnologia de alimentos revela que a formação de acrilamidas durante o processo de fabricação de batatas fritas está diretamente relacionada com o fator tempo-temperatura de fritura. É frequente o uso de temperaturas de fritura de aproximadamente 180-185 °C, ainda que algumas regulamentações nacionais já estejam recomendando o uso de temperaturas mais baixas, justamente para diminuir a formação de compostos indesejáveis.

No passado, a aplicação da Física e dos princípios clássicos da Engenharia Química, combinados com certa dose de empirismo, eram suficientes para explicar os fenômenos do processo de alimentos em nível macro. Entretanto, esta aproximação macro tem levado a uma contribuição limitada para (entender) os princípios fundamentais da engenharia dos produtos alimentícios, algumas vezes justificada pela “complexidade” dos materiais alimentícios, a escala reduzida das análises e a dificuldade em gerar dados em nível “micro” (Quevedo & Aguilera, 2000).

A partir da análise do texto, surge que a microestrutura foi, no passado, a variável mais importante não levada em conta pelos engenheiros e cientistas alimentares. Embora nos últimos anos a comunidade científica tenha dado maior ênfase a esses estudos, segue sendo totalmente certo que, para avançar na compreensão das propriedades e oportunidades dos alimentos, precisamos aprofundar os detalhes no nível dos tecidos, células e moléculas envolvidas nos processos de elaboração de alimentos. Dessa forma, seria possível melhorar a qualidade da fritura das batatas na fabricação industrial ou na preparação culinária em restaurantes e residências. Também é necessário levar em consideração a visualização das modificações que se produzem no alimento, se possível em tempo real e por métodos não destrutivos.

A fritura, por outro lado, é uma operação única cujo resultado nas batatas fritas é medido na qualidade final do produto, verificando tanto as propriedades sensoriais como as nutricionais. Entre outras coisas, o uso de temperaturas “altas” como as mencionadas anteriormente tem várias conveniências do ponto de vista sensorial, como, por exemplo, a formação de uma camada crocante (*crust*) muito apreciada pelos consumidores, com um centro tenro. Isso, com temperaturas da ordem de 180-185 °C, é obtido nas primeiras etapas da fritura.

Por outro lado, em condições normais, o uso de temperaturas mais baixas teria como efeito uma menor e mais lenta formação da camada crocante. Os principais problemas tecnológicos associados à diminuição da temperatura de fritura estão vinculados ao aumento da incorporação de óleo devido a uma estrutura microporosa mais aberta, aumento do tempo de fritura, obtenção de colorações indesejadas, aumento do conteúdo de umidade e diluição de sabores.

Durante o processo de fritura das batatas fritas, quer seja em palitos ou em *chips*, a batata sofre transformações que determinam os atributos de qualidade do produto final, como, por exemplo, o conteúdo de óleo, crocância, rugosidade, porosidade, maciez, cor e teor de umidade.

A fritura em imersão profunda é o processo de elaboração mais comumente utilizado na indústria, com uma complexidade intrínseca que envolve a transferência de calor e massa, com complexas modificações da estrutura tissular do palito ou *chip* (Figura 19.1).

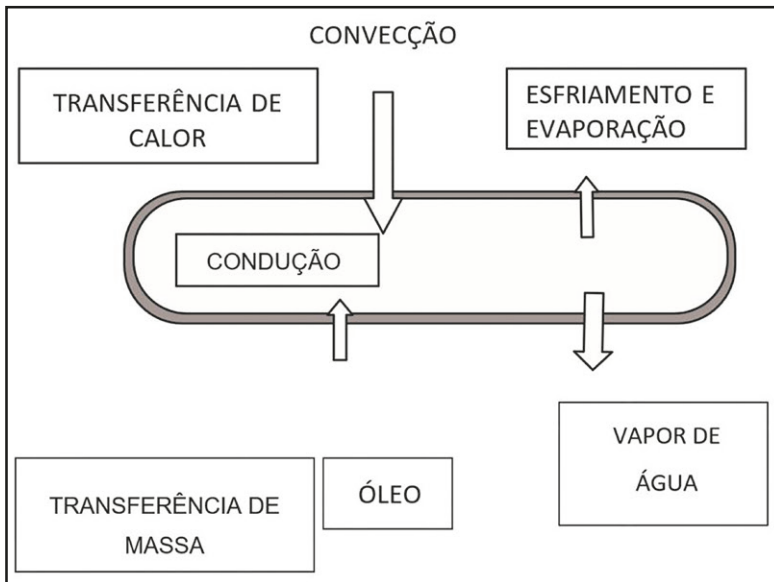


Figura 19.1 – Transferência de calor e massa em um bastão de batata. A compreensão dos processos de transferência induz o desenvolvimento de novas tecnologias.

Fonte: Pulgar, 2006.

Seguindo as tendências marcadas pelas recomendações nutricionais, é importante que os engenheiros alimentares orientem suas pesquisas para a obtenção de produtos que permitam reduzir a ingestão de óleos, porém respeitando

os fatores culturais e as preferências gastronômicas dos consumidores. Por esse motivo, dedicar esforços à elaboração das batatas fritas, um dos pratos preferidos e popularmente aceitos, é uma oportunidade de grande valor tanto do ponto de vista tecnológico como comercial.

Os trabalhos levados a cabo na Pontifícia Universidade Católica do Chile por Pulgar (2006) e por Schuten *et al.* (2004) induzem a duas conclusões que podem ser consideradas como orientadoras para a busca de novos desenvolvimentos que permitam obter batatas fritas com boas características sensoriais, menor conteúdo de óleo e menor formação de acrilamidas (Figura 19.1).

O primeiro dos trabalhos mencionados conclui que o principal mecanismo para a incorporação de óleo parece ser o fluxo hidráulico do mesmo. Esse fluxo é consequência do vácuo gerado nos poros da batata pela evaporação repentina de água em alta temperatura de fritura, tendo menor importância quantitativa a incorporação por difusão simples.

No segundo trabalho, conclui-se que, embora o teor de óleo das batatas fritas aumente com o tempo de fritura, não há aumento no teor de óleo (em base seca) devido à variação da temperatura do óleo, se mantido o tempo constante. Definitivamente, de acordo com esses trabalhos, conclui-se que se os tempos de fritura são constantes, e a incorporação de óleo é determinada pelo conteúdo de umidade do tubérculo. Trabalhos de diferentes orientações científicas e tecnológicas apresentam uma harmoniosa cadeia de conclusões, consideradas de grande utilidade para o desenho de novas alternativas de processamento.

O MSG pode ser um componente chave para a obtenção de batatas fritas com aquelas características desejadas. Para a compreensão da ideia central desse processo, deve-se considerar os seguintes fatores:

1. O MSG é um componente comum, de aplicação em alimentos como batatas fritas ou *snacks*.
2. Não tem limitações de uso, seu *status* regulamentário no FDA é de composto geralmente reconhecido como seguro (GRAS), estando também classificado como aditivo alimentar de uso seguro pelo Codex Alimentarius.
3. Diferentemente do sal, cujo gosto aumenta com sua concentração no alimento, o MSG tem sua máxima potência de sinergismo de sabor em valores próximos a 0,3% em produtos como os considerados neste trabalho. Além disso, não tem maior capacidade de potencializar sabores se houver um aumento de sua concentração.

A ideia central para esse desenvolvimento passa pela impregnação em condições de vácuo SIV (*sous-vide*, termo de origem francesa que significa “sob vácuo”) de batatas em palitos com uma solução de cloreto de sódio e MSG. Como consequência desse tratamento, produz-se a transferência de massa por impregnação do tecido da batata com os solutos e a saída de água dos poros, preenchendo-se parcialmente com sal e MSG.

As condições de trabalho para esses ensaios orientadores foram em dois pulsos, com as seguintes características:

Primeiro pulso: Tempo de vácuo, 5 min; 40 mmHg de pressão residual; tempo em pressão atmosférica, 20 min.

Segundo pulso: Tempo de vácuo, 5 min; 40 mmHg de pressão residual; tempo em pressão atmosférica, 15 h.

As soluções de impregnação foram seis (Tabela 19.1).

Tabela 19.1 – Dados experimentais

Nº	NaCl (%)	MSG (%)
1	0,5	0
2	0,5	0,03
3	0,5	0,3
4	0,5	3
5	0	0,3
6	0	0

Foi realizada uma observação das mudanças de peso dos palitos de batata em seguida ao processo de impregnação, verificando-se que a melhor mudança de peso correspondeu à solução número 4 com uma perda de peso de 19%. Este resultado implica em um claro efeito de diminuição do peso dos palitos com o aumento da porcentagem de MSG.

As batatas em palitos, após serem escorridas durante 30 min à temperatura ambiente, foram submetidas ao processo de pré-fritura a uma temperatura de 180 °C durante 90 segundos e posterior escorrimento do óleo (Figura 19.2).

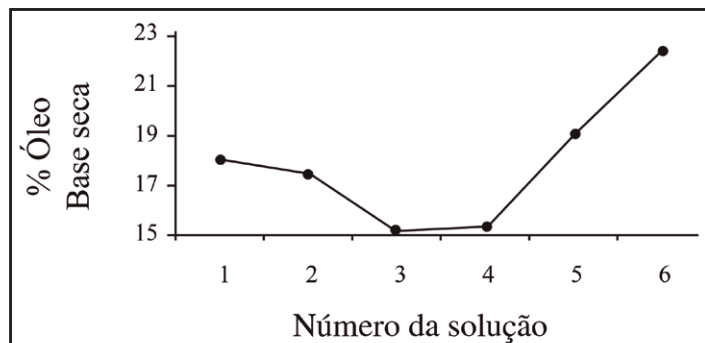


Figura 19.2 – Batatas impregnadas com MSG e sal.

A menor incorporação de óleo com a presença das duas moléculas, tanto de sal (massa molecular 58,5 u) como de MSG (massa molecular 187,13 u), indica a possibilidade de que o ingresso dos dois sais, substituindo parcialmente a água durante o processo de impregnação, diminui notoriamente as bolhas de evaporação de água dentro dos poros do tecido dos palitos e, portanto, o fluxo hidráulico do óleo dentro deles.

Outro aspecto a considerar é relacionado ao tempo de fritura e suas consequências sobre a diminuição da formação de acrilamidas. Esses compostos são indesejáveis do ponto de vista de saúde pública e da formação da camada crocante, porém são desejáveis do ponto de vista sensorial.

Os ensaios preliminares sobre o processo de pré-fritura apontam interessantes perspectivas. As batatas para fritar, com 19% a menos de água, consomem notoriamente menor quantidade de calor latente para a mudança de estado, vaporizando água e maior quantidade de calor sensível para atuar sobre a matéria seca. Portanto, favorece um menor ingresso de óleo, porém uma formação mais rápida de crocância a menor temperatura, o que é compatível com uma menor formação de acrilamidas. Esses resultados estão de acordo com o descrito extensamente pela literatura.

A avaliação sensorial, comparando batatas em palito fritas a 165 °C e a 180 °C, realizada em ensaios triangulares e de preferência, indicou que não há diferenças significativas em cor e textura de crosta. Essa última, medida como satisfação na mordida.

Definitivamente, os grandes conceitos associados à inovação em novas aplicações se vinculam à moderação da temperatura de fritura, para a qual se recomenda o artigo de Haase *et al.* (2003). Esse trabalho trata sobre a estrutura porosa do alimento, as dimensões das moléculas utilizadas para substituir a água

nos poros da batata, as mudanças estruturais do amido durante a fritura e o equipamento de impregnação a vácuo.

Não é o objetivo deste capítulo oferecer resultados conclusivos que levem em conta análises microestruturais, e sim, fazer um aporte a pesquisadores especialistas na área para buscar oportunidade de novas aplicações para uma molécula que tem demonstrado, por 100 anos de história, cumprir com as mais exigentes regulamentações relativas à segurança de alimentos, enquanto proporciona surpreendentes possibilidades tecnológicas.

6. GLOSSÁRIO (BUITRAGO *ET AL.*, 2004)

- Ângulo de repouso: quando um determinado material, ao esvaziá-lo sobre uma superfície horizontal, flui formando uma pilha, sendo essa uma característica dele mesmo. O ângulo mais íngreme do material em relação ao plano horizontal que se forma sem ocorrer deslizamento é o que é chamado ângulo de repouso.
- Densidade e porosidade: a densidade dos sólidos se define como a massa do sólido dividida pelo volume do sólido. A porosidade, ou porcentagem de espaços vazios de materiais não consolidados, é de grande utilidade em diversos processos, como a passagem de ar para sua secagem, armazenamento, desenho de silos, separação de elementos indesejáveis etc.
- Dimensões axiais: a forma e o tamanho são inseparáveis em um objeto físico e o conhecimento das dimensões axiais é necessário para que um objeto seja descrito satisfatoriamente.
- Esfericidade: o fundamento geométrico do conceito de esfericidade repousa na igualdade isoperimétrica de uma esfera.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRÉS, A. *et al.* “Distribution of salt in Manchego type cheese after brining”. In: JOWITT R. *Engineering and Food at ICEF 7*. Brighton, Sheffield Academic Press, 1997, pp. 133-136.

BUITRAGO, G. V. *et al.* “Determinación de las características físicas y propiedades mecánicas de papa cultivada en Colombia”. *Rev bras Eng Agric Ambient.* 8(1): 102-110. 2004.

CHIRALT, A. & FITO, P. “Salting of manchego-type cheese by vacuum impregnation”. *Conference Proceedings*. 1997. Disponível em [10.1007/978-1-4615-6057-9_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6057-9_12). Acesso em 13/1/2020.

CROSA, M. *et al.* “Desarrollo de una línea de salado por impregnación al vacío de quesos para una PYME Láctea”. In: Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos, INNOVA. Montevideo, 2005. Disponível em https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=983. Acesso em 13/1/2020.

DONHOWE, I. G. & FENNEMA, O. “The effect of relative humidity gradient on water vapor permeance of lipid and lipid-hidrocolloid bilayer films”. *Journal of the American Oil chemists’ Society*. 69(11): 1081-1087, 1992.

FITO, A. *et al.* “Acoplamiento de mecanismos hidrodinámico y los fenómenos de deformación-relajación durante los tratamientos de vacío en los sistemas sólidos porosos líquido de alimentos”. *Revista de Ingeniería de Alimentos*. 27(3): 229-240, 1996.

FITO, P. “Modeling of vacuum osmotic dehydration of food”. *Journal of Food Eng.* 22(1-4): 313-328, 1994.

FITO, P. *et al.* “Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: Application in functional fresh food development”. *J Food Engineering*. 49(2-3): 175-183. 2001a.

FITO, P. *et al.* (ed.). *Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation*. Lancaster, Technomics Publishing Co., 2001b.

GIANELLA, T. “Chuño blanco, ‘tunta’ o ‘moraya’: un proceso natural de conservación”. *LEISA Revista de Agroecología*. 20(3), 2004. Disponível em <http://www.leisa-al.org/web/index.php/volumen-20-numero-3/2094-chuno-blanco-tunta-o-moraya-un-proceso-natural-de-conservacion>. Acesso 13/1/2020.

GRAVES, C. (ed.). *La papa tesoro de los Andes: de la agricultura a la cultura*. 2. ed. Lima, Centro Internacional de la Papa, 2006. Disponível em http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/05/la_papa_tesoro_de_los_andess.pdf. Acesso em 13/1/2020.

HAASE, U. N.; MATTHAUS, B. & VOSMANN, K. “Acrylamide formation in foodstuffs - Minimising strategies for potato crisps”. *Deutsche Lebensm. Rund.* 99(3): 87-90, 2003.

PAES, S.; STRINGARI, G. & LAURINDO, J. “Effect of vacuum and relaxation periods and solution concentration on the osmotic dehydration of apples”. *International J Food Sci Technol*. 42(4): 441-447, 2007.

PLANET KETCHUP HEINZ. *Historia del Ketchup*. 2019. Disponível em <https://www.heinzbrasil.com.br/sobre>. Acesso em 13/1/2020.

PULGAR, C. E. C. *Estudio de la distribución del aceite en rodajas de papa frita*. Santiago, Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, 2006 (Memoria para optar al título de Ingeniero de Alimentos). Disponível em http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2006/cocio_c/sources/cocio_c.pdf. Acesso em 13/1/2020.

QUEVEDO, R. & AGUILERA, J. M. “Caracterización de la Topografía de Superficies en Biomateriales”. 2000. Disponível em <https://smbb.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/magistrales/M-7.pdf>. Acesso em 13/2/2020.

REEDS, P. J. *et al.* “Intestinal glutamate metabolism”. *J Nutrit*. 130(4S Suppl): 978S-982S, 2000.

ROSTWOROWSKI, M. D. C. 1. *La historia de los incas. Incas*. ISBN 978-612-4069-47-5. Lima, Producciones Cantabria, 2010a, pp. 17-25.

ROSTWOROWSKI, M. D. C. 2. *La ocupación del Cusco. Incas*. ISBN 978-612-4069-47-5. Lima, Producciones Cantabria, 2010b, pp. 26-35.

SALAZAR, E. “Historia de la sal en el Ecuador Precolombino y Colonial”. *Antropología Cuadernos de investigación*. 10: 13-29, 2010. Disponível em <https://doi.org/10.26807/ant.v0i10.46>. Acesso em 13/1/2020.

SALVATORI, D. *et al.* “The Response of Some Properties of Fruits to Vacuum Impregnation”. *Journal of Food Process Eng*. 21(1): 59-73, 1998.

SCHUTEN, H. G.; GIJSSEL, J. & SLOTBOOM, E. “Effect of frying conditions on the fat content of French fries: final report”. 2004. Disponível em <https://edepot.wur.nl/35103#:~:text=Longer%20frying%20times%20results%20in%20higher%20fat%20content.&text=Higher%20temperatures%20result%20in%20higher,in%20a%20lower%20fat%20content>. Acesso em 13/1/2020.

SILVERA, P. *La imagen corporal desde la Edad Media hasta nuestros días*. Universidad Católica del Uruguay, 2006 (Trabajo especial de Licenciatura de Nutrición).

VIDALES, S. & ALZAMORA, S. “Impregnación a vacío de frutilla entera: influencia sobre textura, aw, sólidos solubles e integridad celular”. *In: VIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, Rafaela (Santa Fe), 13-16/5/1999.

WALKER, R. & LUPIEN, J. R. “The Safety Evaluation of Monosodium Glutamate”. *The Journal of Nutrition*. 130(4): 1049S-1052S, 2000.

PARTE VII

ASPECTOS REGULATÓRIOS

ASPECTOS REGULATÓRIOS DO GLUTAMATO MONOSSÓDICO

*Elba Sangronis
Helena Fernandes Martins Tavares*

1. ASPECTOS GERAIS

O glutamato, uma das principais substâncias que proporcionam o gosto umami, é um aminoácido multifuncional envolvido desde a percepção do gosto, até funções nutricionais e fisiológicas, incluindo o sistema gastrointestinal, o metabolismo celular e de neurotransmissão. Por ser um aminoácido não essencial, o próprio corpo humano é capaz de produzir até, aproximadamente, 50 g de glutamato livre diariamente (Sasaki, 2017).

O glutamato ocorre em muitos alimentos que são consumidos em uma dieta normal e também é um componente do leite materno. O corpo trata o glutamato exatamente da mesma maneira, seja proveniente desses alimentos, seja adicionado como ingrediente à comida, como o glutamato monossódico (MSG) (Raiten, 1995; IGIS, 2020).

O glutamato pode existir na forma ligada como parte da proteína, em conjunto a outros aminoácidos, ou ser encontrado na forma livre em tecidos de plantas e animais. A ingestão de glutamato pode ser derivada da sua ocorrência natural como constituinte de proteínas, de sua presença como glutamato livre em certos alimentos (muitos deles fermentados), e da adição de ácido glutâmico

e glutamatos a alimentos como aditivos realçadores de sabor (Tennant, 2018). Segundo o autor, a ingestão potencial de glutamato na dieta têm sido avaliada nos seguintes possíveis cenários: (i) consumo do glutamato livre que ocorre naturalmente nos alimentos; (ii) consumo do glutamato oriundo das proteínas dietéticas; (iii) consumo total de glutamato natural proveniente de proteínas e livre nos alimentos; (iv) consumo de glutamato livre oriundo do uso de aditivos alimentares; (v) consumo de glutamato livre do uso de aditivos alimentares e glutamato livre que ocorre naturalmente nos alimentos; e (vi) consumo total de glutamato na dieta de todas as fontes combinadas.

Questões metodológicas afetam a confiabilidade das análises para o glutamato nos alimentos, pois não é possível discriminar entre glutamato natural livre, glutamato derivado de glutamina (pré-hidrólise ácida, normalmente faz com que a glutamina nas proteínas seja determinada como glutamato), glutamato em proteínas ou o glutamato adicionado como um aditivo alimentar ou nutriente. Portanto, a seleção cuidadosa de amostras com origem conhecida e composição podem ajudar a reduzir as incertezas, agrupando alimentos conhecidos por terem altos níveis de glutamato livre, alimentos com altos níveis de proteína e alimentos onde o glutamato seria de adição para melhoria de sabor ou nutrição pode ser apropriado (Tennant, 2018).

O glutamato livre ocorre naturalmente em vários alimentos, como tomates, queijo parmesão, carnes, ervilhas, milho, cogumelos, aspargos, entre outros (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

Sugimoto *et al.* (2019) verificaram a ingestão de glutamato livre na população americana a partir de alimentos. Utilizando dados de consumo de alimentos do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 2009-2014, o estudo revelou que o consumo médio de glutamato livre foi de 258 mg/dia para crianças e de 322 mg/dia para adultos. As principais fontes alimentares de glutamato livre foram os pratos mistos, tanto entre crianças e adultos. Outros alimentos contribuintes importantes de glutamato livre, tanto para o público infantil quanto adultos, foram os leites e derivados, alimentos proteicos (carnes, frutos do mar), frutas, condimentos e molhos e legumes. De acordo com os autores, um estudo anterior usando os dados do *Nurse's Health Study* estimaram a ingestão de glutamato total (não a ingestão de glutamato livre) entre adultos dos EUA como 7,27 g/dia pelo método de sequenciamento genético e 14,46 g/dia pelo método bioquímico convencional. Essa diferença substancial entre os estudos é, ainda segundo os autores, devido à diferença da substância alvo. O estudo anterior avaliou a ingestão total de glutamato, incluindo não apenas o

glutamato livre, mas também o glutamato ligado à proteína, enquanto o estudo de Sugimoto *et al.* (2019) se concentrou apenas no glutamato livre. A proporção de glutamato livre é muito menor do que a do glutamato presente nas proteínas, e sua concentração não possui relação com o teor de proteína do alimento.

Tennant (2018) revisou e consolidou os maiores níveis de ingestão de glutamato por faixa etária observados em países da Europa (Figura 20.1).

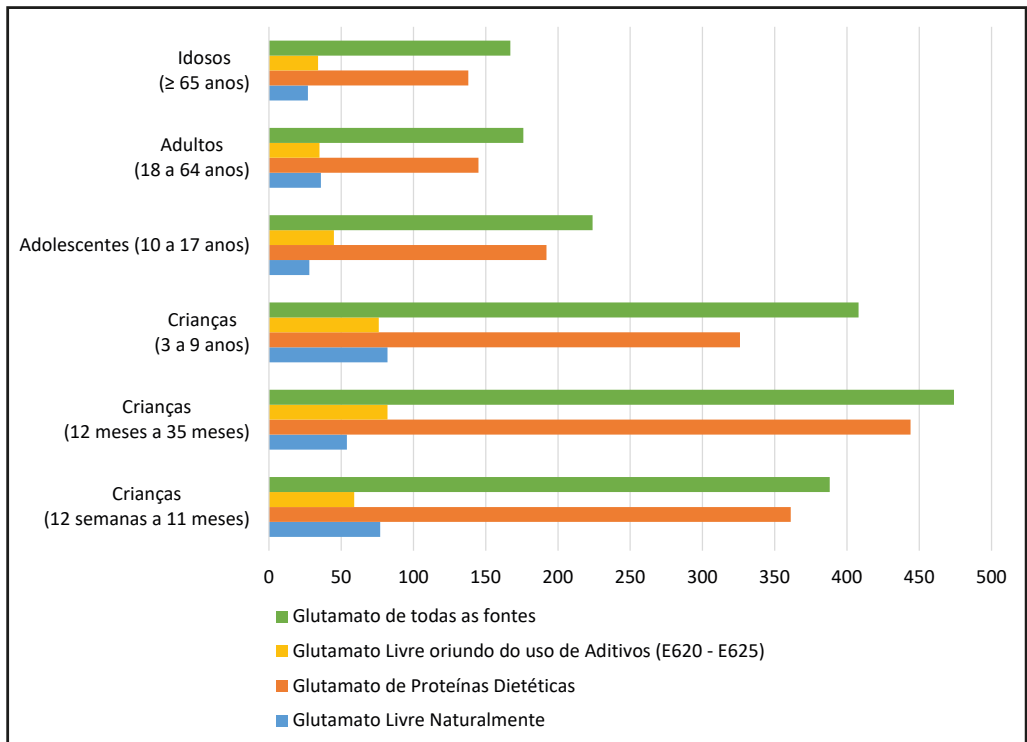


Figura 20.1 – Maiores níveis de ingestão de glutamato observados por faixa etária em países da Europa (mg ácido glutâmico/kg p.c./dia).

Fonte: figura adaptada de Tennant, 2018.

Como já observado anteriormente, o glutamato livre também pode ser encontrado em alimentos processados em resultado do uso de MSG como um realçador de sabor (Maluly *et al.*, 2017).

O MSG é o sal sódico do aminoácido denominado ácido glutâmico em sua forma de glutamato. Em pH fisiológico, o MSG se dissocia no cátion Na^+ e no ânion glutamato, que é metabolizado de forma idêntica ao obtido de sua fonte natural, as proteínas. Ele é produzido através da fermentação, assim como os

molhos de soja ou os iogurtes, a partir de fontes ricas em carboidratos como, o melão e xarope da cana-de-açúcar, beterraba ou mandioca. Essa fermentação ocorre em um ambiente controlado utilizando micro-organismos (*Corynebacterium glutamicum*) e logo em seguida filtrado, purificado e cristalizado até a obtenção do glutamato monossódico refinado.

O uso do MSG como um ingrediente é permitido em uma ampla variedade de produtos alimentícios, sendo regulamentado por normas nacionais e internacionais. Assim como outras substâncias responsáveis pelo gosto umami, como o inosina-5'-monofosfato (IMP) e o guanosina-5'-monofosfato (GMP), essas substâncias têm seu uso aprovado pelos órgãos regulamentadores, como aditivos alimentares com função de realçadores de sabor, sendo o MSG o mais comumente utilizado em alimentos.

O Comitê Conjunto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA*) considera seguro o uso do MSG como aditivo alimentar. Por ser um aditivo para o qual foi estabelecida uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) “não especificada”, o MSG pode ser adicionado aos alimentos segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF).

Importante ressaltar que o seu uso em excesso não contribui para a aceitação em geral da preparação culinária ou do produto alimentício. Dessa forma, o MSG geralmente é adicionado aos alimentos na proporção de 0,1 a 0,8% o que corresponde à quantidade de L-glutamato livre presente naturalmente em tomate ou queijo parmesão (Maluly *et al.*, 2017). Assim, embora não exista uma IDA numérica por sua reconhecida inocuidade, o aditivo é autolimitante, pois existe um limite sensorial cuja adição em pequenas quantidades já cumpre o efeito tecnológico desejado.

2. SEGURANÇA NO USO DO MSG E CENÁRIO REGULATÓRIO

Desde a sua primeira comercialização no Japão datada em 1909, o MSG tem sido usado com segurança e eficácia na elaboração de alimentos. Centenas de estudos científicos foram conduzidos sobre o glutamato com o foco em seu uso como ingrediente alimentar. Essa extensa pesquisa, conduzida e revisada por cientistas e agências reguladoras em todo o mundo, combinada com sua longa história de uso, demonstra que o MSG é seguro (IGIS, 2020).

Do ponto de vista regulatório, o MSG é aprovado por governos de todo o mundo, incluindo os Estados Unidos, Europa, Japão e outros países asiáticos, América, África, Austrália e Nova Zelândia (IGIS, 2020).

Importantes comitês e agências regulamentadoras e de saúde como o *Food and Drug Administration (FDA)*, *World Health Organization (WHO)*, *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)* e o *Codex Alimentarius*, há anos incluíram em suas pautas o estudo e usos do MSG. Atualmente, esses órgãos consideram tanto o MSG quanto os 5'-ribonucleotídeos como ingredientes e/ou aditivos alimentares seguros. Entretanto, para alcançar essa qualificação e mantê-la ao longo do tempo, periodicamente são revisadas evidências científicas sobre o tema, da mesma maneira como adotado para outras substâncias.

Estados Unidos

FASEB - *Federation of American Societies for Experimental Biology*

FDA - *Food and Drug Administration*

Em 1958, sob o *Food Additives Amendment to the Federal Food, Drug and Cosmetics Act (21 USC 321[s])*, o MSG foi considerado um ingrediente GRAS (pela sua sigla em inglês, *Generally Recognized As Safe*) como resultado do seu histórico de uso comum em alimentos até essa data. Mesmo após muitos anos de estudos e avaliações, o status GRAS do MSG permanece até os dias atuais e este se encontra no *Code of Federal Regulations (21 CFR 182.1)*, sendo considerado um ingrediente alimentar comum, como sal, fermento e pimenta (Raiten, 1995; FDA, 2019).

O histórico de avaliações referentes à segurança no consumo do MSG nos Estados Unidos é longo e inicia-se já em 1969, quando o presidente Nixon, durante a *White House Conference on Food, Nutrition and Health*, solicita ao *Food and Drug Administration (FDA)* a reavaliação da segurança de todas as substâncias GRAS. O *Selected Committee on GRAS Substances (SCOGS)*, convocou a *Life Sciences Research Office (LSRO/FASEB)* em 1972, sob um contrato com a FDA, a realizar uma revisão independente dos aspectos de saúde relacionados ao MSG e de outros glutamatos. Baseado nos dados científicos da época, mesmo com alguns graus de incertezas e necessidades de mais estudos, o SCOGS concluiu que o MSG continuava GRAS. O SCOGS também observou que o MSG foi removido de alimentos infantis pela própria indústria e, então, também concluiu que seu uso em alimentos infantis não seria considerado GRAS. Após receber este *Report* em 1978, o FDA solicitou ao SCOGS para reavaliar suas conclusões à luz de novas informações submetidas

pelos produtores. O informe, entregue em 1978, reafirmou a condição GRAS do MSG no nível de uso atual, contendo ainda as mesmas limitações para seu uso em alimentos infantis (Raiten, 1995).

Com o objetivo de tornar a rotulagem de alimentos mais prática para os consumidores, o Congresso promulgou, em 1990, o *Nutrition Labeling and Education Act* (NLEA). Consequentemente, o FDA desenvolveu uma série de propostas de regulamentações referentes à rotulagem de alimentos para implementar a NLEA. Especificamente à rotulagem do MSG, a 21 CFR 101.22 determina que “*Any monosodium glutamate used as an ingredient in food shall be declared by its common or usual name monosodium glutamate*”. Portanto, o FDA exige que alimentos contendo MSG adicionado, o listem na lista de ingredientes da embalagem como glutamato monossódico. No entanto, o glutamato ocorre naturalmente em ingredientes como proteína vegetal hidrolisada, levedura autolisada, levedura hidrolisada, extrato de levedura, extrato de soja e proteína isolada, bem como em tomates e queijos. Embora a FDA exija que esses produtos sejam listados no painel de ingredientes, a agência não exige que o rótulo especifique também que eles contêm glutamato naturalmente. No entanto, alimentos com qualquer ingrediente que contenha naturalmente glutamato não podem declarar “Sem MSG” ou “Sem adição de MSG” em suas embalagens (FDA, 2019).

Com o passar dos anos, a FDA recebeu relatos de sintomas, como dor de cabeça e náusea, depois de ingeridos alimentos contendo MSG. Apesar de a FDA receber esses informes de efeitos adversos, esses não possuíam evidências científicas documentadas atribuídos ao MSG. Foram observadas inconsistências nos casos apresentados: algumas vezes, era difícil fazer a conexão entre a reação específica apresentada e a presença de MSG no alimento. Em muitos casos, não era dada a informação sobre as condições de consumo do MSG, o perfil das pessoas afetadas, a quantidade de MSG consumida, dentre outros.

Esses relatos de eventos adversos conduziram o FDA solicitar novamente ao grupo científico independente, a *Federation of American Societies for Experimental Biology* (FASEB), para examinarem a segurança do MSG na década de 1990. Em 1992, o *Center for Food Safety and Applied Nutrition* (CFSAN), solicitou ao LSRO/FASEB para preparar uma análise científica do estado da arte da segurança do MSG endereçando principalmente os pontos (1 a 5) detalhados abaixo. Com o decorrer do estudo, o FDA refinou o contexto abrindo esses temas em 18 perguntas a serem respondidas pela FASEB em seu relatório final (Raiten, 1995).

1. Determinar se o MSG como utilizado na cadeia de alimentos americana (incluindo o seu uso como um componente de produtos de hidrólise de proteínas) contribui para a apresentação do conjunto de sintomas (referenciado à época como “Síndrome do Restaurante Chinês”) após a ingestão oral de teores ≥ 5 g, por ocasião do consumo de alimentos e/ou provocar outras reações, incluindo reações adversas mais graves (dispneia, arritmia e asma) que foram reportadas após a ingestão de MSG em níveis entre 25-100 mg/ocasião de consumo de alimentos;
2. Determinar se o MSG como utilizado na cadeia de alimentos americana (incluindo o seu uso como um componente de produtos de hidrólise de proteínas) possui potencial em mediar lesão cerebral e neurotoxicidade em primatas neonatos e adultos e qualquer risco identificado no consumo de MSG por humanos;
3. Verificar quais hormônios são liberados pelas glândulas pituitárias em primatas após a ingestão de alimentos contendo MSG e o levantamento de qualquer risco comparável para humanos decorrente da ingestão de alimentos contendo MSG;
4. Definição das bases metabólicas que justificariam as reações adversas;
5. Preparação de um relatório com as conclusões desta revisão e avaliação.

Em seu relatório final, em 1995, a FASEB (Raiten, 1995) concluiu que o MSG é seguro e identificou que, baseado nas evidências científicas verificadas, existe um subgrupo de pessoas presumidamente saudáveis que podem responder com sintomas de curto prazo, transitórios e geralmente leves (como dor de cabeça, dormência, rubor, formigamento, palpitações e sonolência) após a ingestão oral de 3 g ou mais de MSG na ausência de alimentos. No entanto, uma porção típica de um alimento com adição de MSG contém menos de 0,5 g de MSG. Esse nível de ingestão pontual de MSG (≥ 3 g) na ausência de alimentos é bastante improvável no cenário real de consumo (FDA, 2019; Raiten, 1995). Além disso, pode haver um pequeno subgrupo de asmáticos instáveis, previamente diagnosticados, que também podem responder a doses elevadas de MSG em condições específicas de uso. No entanto, os mecanismos dessas reações foram considerados, na época, como desconhecidos (Raiten, 1995). Embora algumas pessoas se identifiquem como sensíveis ao MSG, estudos com o objetivo de verificar essa sensibilidade (utilizando indivíduos autointitulados “sensíveis” que receberam MSG ou um placebo), não foram capazes de reproduzir as reações de forma consistente (FDA, 2019). Por fim, a FASEB afirmou em seu relatório que não

existe nenhuma evidência para apoiar a capacidade do glutamato de produzir, quando ingerido, efeitos adversos em humanos, em particular efeitos neurotóxicos (Raiten, 1995).

Organização Mundial da Saúde

JECFA - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

O MSG foi extensamente estudado pelo JECFA nos anos de 1971 (*Fourteenth Report of the Expert Committee*) e 1974 (*Seventeenth Report of the Expert Committee*). Em 1987 o JECFA confirmou que o uso do MSG, como aditivo alimentar, é seguro. Nessa revisão dos dados toxicológicos foram avaliados o ácido glutâmico e seus sais de amônio, cálcio, magnésio, monossódico e de potássio. Contrariando a monografia anterior, que estabelecia uma IDA de 0-120 mg/kg p.c. (como ácido glutâmico), o Comitê concluiu que não era necessário estabelecer um valor numérico de IDA (WHO, 1987).

Nessa última revisão (WHO, 1987), o Comitê considerou informações obtidas após a reunião de 1974, incluindo uma extensa gama de estudos metabólicos relacionados à dosagem de ácido glutâmico no plasma com efeitos endocrinológicos e neurotóxicos, e estudos de intolerância ao MSG. O Comitê concluiu, baseado em análises dos níveis de ácido glutâmico no sangue de indivíduos, que os picos de níveis plasmáticos eram dependentes do veículo (matriz alimentar) nos quais a substância estava incorporada e que bebês metabolizam o MSG de maneira similar aos adultos. À luz de toda a literatura existente na época, o Comitê estabeleceu uma IDA “não especificada” ao MSG quando incorporado aos alimentos, ou utilizado como um aditivo. A IDA “não especificada” aplica-se a todos os glutamatos, utilizados de forma isolada ou em combinação (WHO, 1987). O Comitê recomendou maior cautela na ingestão de MSG quando consumido em dose única elevada, do que quando dividido entre diversas refeições. Em sua avaliação anterior (WHO, 1974), o Comitê concluiu ser prudente não aplicar a IDA do glutamato para bebês abaixo de 12 semanas de idade. Todavia, na avaliação realizada em 1987, considerando que crianças metabolizam o MSG de uma forma similar quando comparada aos adultos, nenhuma consideração adicional para o público infantil foi indicada. No entanto, o Comitê expressou que o uso de qualquer aditivo alimentar em crianças deve ser considerado com precaução.

Substâncias que possuem IDA “não especificada”, como os sais de glutamato, por exemplo, são consideradas de baixa toxicidade. Com base nos dados

disponibilizados (químicos, bioquímicos, toxicológicos, outros), a ingestão diária total de glutamatos, oriunda dos níveis utilizados que são necessários para alcançar a função tecnológica desejada e também oriunda dos próprios alimentos não representam, na opinião do Comitê, um risco à saúde. Por essa razão, o estabelecimento de uma ingestão diária aceitável, expressa numericamente, não é considerado necessário. O Comitê reiterou o princípio geral de que a quantidade de um aditivo alimentar utilizada nos alimentos deve ser a mínima necessária para alcançar o efeito tecnológico desejado (WHO, 1987).

Na última avaliação realizada pelo JECFA, em 2006, referente à segurança de aminoácidos e substâncias relacionadas sob o contexto e aplicação de aditivos alimentares, a IDA de grupo “não especificada” para ácido glutâmico e seus sais foi mantida (WHO, 2006).

Comunidade Europeia

Commission of European Communities

SCF - *Scientific Committee for Foods*

EFSA - *European Food Safety Authority*

Na Europa, em 1991, o Comitê Científico para os Alimentos (*Scientific Committee for Foods – SCF*) da Comunidade Europeia, no documento *Reports of the Scientific Committee for Foods: 25th series*, afirmou que o ácido glutâmico é um componente de proteínas animais e vegetais que é liberado durante o processo de digestão e absorvido de maneira lenta. O documento reafirmou que bebês, incluindo os prematuros, metabolizam o glutamato de maneira tão eficiente quanto adultos e não demonstram nenhuma especial susceptibilidade a ingestões orais elevadas de glutamato. O documento ressaltou que estudos de toxicidade aguda, subcrônica e crônica em camundongos, ratos e cães não demonstraram efeitos tóxicos à exposição ao MSG. Adicionalmente, afirmou não existir evidências de potencial carcinogênico ou genotóxico para essa substância. Considerou numerosos estudos de reprodução e teratogênicos em camundongos, ratos, coelhos e macacos, os quais não revelaram a existência de efeito adverso na descendência. Ainda, de acordo com o relatório, alguns pesquisadores observaram certa vulnerabilidade do sistema nervoso central, de ratos e camundongos em desenvolvimento, a elevadas doses de glutamato isolado ou em combinação com outros aminoácidos, após administração de doses elevadas. Todavia, nenhuma lesão cerebral foi observada em numerosos estudos com camundongos, ratos ou hamsters ingerindo altas doses de MSG pela dieta (SCF, 1991).

Algumas das reações agudas que foram relatadas em humanos, após a ingestão maior do que 3 g de glutamato por pessoa, também foram observadas quando alimentos que não continham glutamatos foram ingeridos. Nenhuma mensuração clínica objetiva foi associada com a ampla variedade de sintomas descritos (SCF, 1991). Portanto, com base nos dados avaliados e considerando a ampla ingestão de glutamato oriundo da dieta normal, o Comitê estabeleceu uma IDA de Grupo “não especificada” (SCF, 1991).

Em 1995, o Parlamento Europeu estabeleceu a Diretiva N° 95/2/EC que contempla a autorização e limites de usos de aditivos alimentares (com exceção dos corantes e edulcorantes). Nessa regulamentação o ácido glutâmico e seus sais, incluindo o MSG, foram contemplados para uso na maioria das categorias de alimentos. Seu limite de uso foi, na época, considerado *quantum satis* para condimentos e temperos. Para outras categorias de alimentos, foi recomendado o limite de uso de 10 g de MSG/kg de alimento (EC, 1995).

Em 2008, foi publicada a Regulamentação EC N° 1.333/2008 referente a aditivos alimentares. Essa regulamentação reavaliou e estabeleceu as regras relativas aos aditivos alimentares utilizados nos alimentos, com o objetivo de assegurar o funcionamento eficaz do mercado e a proteção da saúde humana. O regulamento prevê: (a) listas de aditivos alimentares aprovados, conforme Anexos II e III; (b) condições de utilização de aditivos alimentares nos alimentos; e (c) regras relativas à rotulagem dos aditivos alimentares vendidos como tal (EC, 2008).

Finalmente, em 2011 a Regulamentação EC N° 1.129/2011 complementou o Anexo II da Regulamentação EC N° 1.333/2008 e estabeleceu a lista de aditivos alimentares permitidos na União Europeia. Atualmente, o ácido glutâmico e seus sais (E620 – E625), incluindo o MSG, possuem limite de uso de 10 g/kg de alimento, individualmente ou em combinação, expressados como ácido glutâmico (EC, 2011). Complementarmente, os critérios de pureza foram estabelecidos no Regulamento EC N° 231/2012.

O longo histórico de uso de glutamatos em alimentos, assim como as conclusões de numerosas avaliações de risco na Europa, incluindo a já citada *European Community's Scientific Committee for Food* (EC – SCF) e a própria *European Food Safety Authority* (EFSA), que avaliou este grupo de substâncias em 1987, estabeleceram uma IDA de Grupo “não especificada”. Entretanto, como parte do processo regulatório de reavaliação periódica de aditivos alimentares, em 2017 o *Scientific Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food* (ANS) da EFSA publicou sua reavaliação da segurança para o ácido glutâmico (E 620),

glutamato monossódico (E 621), glutamato monopotássico (E 622), diglutamato de cálcio (E 623), glutamato de monoamônio (E 624) e diglutamato de magnésio (E 626), quando usados como aditivos alimentares (EFSA, 2017). De acordo com o seu parecer, o Painel não recebeu nenhum novo dossiê, tendo, portanto, baseado sua avaliação em estudos e revisões prévias, literatura científica adicional que se tornou disponível após a última avaliação, além de dados disponíveis após uma chamada pública de dados. O Painel ressaltou que, em 2015, foi avaliado um novo método de produção para o ácido L-glutâmico como aditivo alimentar e também concluiu que não houve motivo de preocupação quanto à segurança, em relação à mudança no método de produção desse aditivo alimentar.

De fato, o Painel em 2017 reforçou pontos importantes quanto à segurança dos glutamatos:

- i. O glutamato é absorvido no intestino e metabolizado de forma pressistêmica na parede intestinal.
- ii. O processo de metabolização é idêntico, independente dos glutamatos estarem presentes naturalmente nos alimentos ou adicionados na forma de aditivo alimentar.
- iii. A evidência foi considerada limitada para o aumento da concentração de glutamato no cérebro, mesmo com altas doses de ingestão de MSG (10 g) administrados por via oral (dieta).
- iv. O ácido glutâmico e seus sais tiveram baixa toxicidade aguda. Estudos de curto prazo e subcrônicos não mostraram efeitos do tratamento com MSG até doses de, aproximadamente, 5.000 mg/kg p.c./dia; 5.250 mg/kg p.c./dia em um teste de dose limite; e 2.700 mg/kg p.c./dia num estudo realizado seguindo a Diretriz 408 da *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD). Em estudos com protocolos de acordo com a OECD, para cumprir os requisitos regulatórios, foi observado aumento do peso dos rins e do baço em estudos de toxicidade crônica e de toxicidade reprodutiva, com doses de 939 mg/kg p.c./dia em machos e 1.039 mg/kg de p.c./dia em fêmeas. No entanto, o aumento de peso desses órgãos não foi acompanhado por efeitos histopatológicos adversos. Assim, o Painel não considerou o aumento do peso do rim e do baço como efeitos adversos.
- v. O Painel considerou o conjunto de dados de genotoxicidade suficientemente robusto para avaliar a genotoxicidade MSG e estender a conclusão para o ácido glutâmico e os outros sais, devido aos dados limitados ou

ausentes. Nessa base, o Painel considerou que o ácido glutâmico (E 620), o glutamato monossódico (E 621), o glutamato monopotássico (E 622), o diglutamato de cálcio (E 623), o glutamato monoamônio (E 624) e magnésio diglutamato (E 625) não são motivo de preocupação com relação à genotoxicidade, quando utilizados como aditivo alimentar.

- vi. Em três estudos de toxicidade crônica durante 2 anos em ratos, não foi observada taxa tumoral aumentada até as doses mais elevadas testadas.
- vii. Não houve indicação de carcinogenicidade.
- viii. Nenhum efeito adverso foi observado em estudos de toxicidade reprodutiva e de desenvolvimento.

Todavia, de maneira diversa de outras autoridades científicas, o Painel recomendou à União Europeia a revisão do limite de uso dos glutamatos nas categorias de alimentos mediante a adoção de uma IDA de grupo de 30 mg/kg p.c./dia, expressa em ácido glutâmico (EFSA, 2017). Porém, no contexto regulatório, apesar do Painel Científico (ANS) da EFSA ter recomendado a adoção de uma IDA de Grupo numérica, essa recomendação ainda precisa ser decidida pela Comissão Europeia, envolvendo a análise e concordância de todas as agências sanitárias e reguladoras dos Estados Membros da União Europeia.

Austrália e Nova Zelândia

FSANZ – Food Standards Australia and New Zealand

Em 2003, a Agência Reguladora de alimentos da Austrália e Nova Zelândia realizou a revisão da segurança de uso e análise de risco do MSG. A revisão da Agência se baseou, principalmente, nos dados do JECFA e FASEB. Assim como as demais agências, o MSG foi considerado seguro (FSANZ, 2003). Em 2017, a FSANZ declarou sua ciência quanto ao parecer científico publicado pela EFSA (2017), tendo destacado que esse parecer não levantou novas questões que possam comprometer a segurança de uso do MSG (FSANZ, 2017).

Codex Alimentarius

O Codex Alimentarius é um programa conjunto da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS), criado em 1963, com o objetivo de estabelecer normas

internacionais na área de alimentos, incluindo padrões, diretrizes e guias sobre Boas Práticas e de Avaliação de Segurança e Eficácia. Seus principais objetivos são proteger a saúde dos consumidores e garantir práticas leais de comércio entre os países. Atualmente, participam do Codex Alimentarius 189 membros, sendo 188 Estados Membros e uma Organização Membro (União Europeia), além de 226 observadores (56 organizações intergovernamentais, 154 organizações não governamentais e 16 organizações das Nações Unidas). Apesar de os documentos do Codex Alimentarius serem de aplicação voluntária pelos membros, eles são utilizados em muitos casos como referências para estabelecer a legislação nacional dos países. A Resolução das Nações Unidas 39/248, de 1985, recomenda que os governos adotem, sempre que possível, as normas e diretrizes do Codex Alimentarius, ao formular políticas e planos nacionais relacionados a alimentos (ANVISA, 2019).

Assim, embora as normas, diretrizes e recomendações adotadas pelo Codex não sejam vinculantes no contexto das legislações alimentares nacionais, os membros da Organização Mundial do Comércio (OMC) são incentivados a harmonizar suas legislações nacionais com as normas Codex. Além disso, essas normas podem ser usadas como referência para a dissolução de controvérsias em disputas do comércio de alimentos (ANVISA, 2019).

O Codex Alimentarius, em sua Norma Geral para os Aditivos Alimentares (CODEX STAN 192-1995), estabelece em seu preâmbulo que somente serão listados na mesma os aditivos alimentares que tenham passado por avaliação de segurança por parte do JECFA e que também tenham sido designados pelo *International Numbering System* (INS) do Codex Alimentarius (2019).

De acordo com o CODEX STAN 192-1995, entende-se por aditivo alimentar qualquer substância que, enquanto tal, não se consuma normalmente como alimento, nem mesmo se use como ingrediente básico em alimentos, tenha ou não valor nutritivo, e cuja adição intencional ao alimento com fins tecnológicos (inclusos os organolépticos), em suas fases de fabricação, elaboração, preparação, tratamento, embalagem, empacotamento, transporte ou armazenamento, resulte ou possa prever-se razoavelmente que resulte (direta ou indiretamente), por si mesma ou seus subprodutos, em um componente desse alimento ou um elemento que afete suas características. Esta definição não inclui “contaminantes” ou substâncias adicionadas ao alimento para manter ou melhorar suas qualidades nutricionais (Codex Alimentarius, 2019).

Também se relaciona o uso de aditivos com as BPF, sendo que todos os aqueles aditivos alimentares regulados pelas disposições dessa Norma serão empregados conforme as condições da BPF, o que inclui o seguinte:

- i. A quantidade de um aditivo que se adiciona ao alimento se limitará àquela mínima necessária para obter o efeito tecnológico desejado.
- ii. A quantidade de um aditivo que passe a fazer parte do alimento, como consequência do seu uso na fabricação, elaboração ou embalagem e que não tenha por objetivo obter efeito físico ou técnico nesse mesmo alimento, será reduzida à menor quantidade que seja razoavelmente possível.
- iii. O aditivo será de uma qualidade alimentar apropriada e se preparará e manipulará da mesma forma que um ingrediente alimentar.

O ácido glutâmico e seus sais, incluindo o MSG, constam no CODEX STAN 192-1995 em uma ampla variedade de alimentos como aditivos realçadores de sabor, e a quantidade estabelecida é segundo as BPF, sem o estabelecimento de limites máximos de uso (Codex Alimentarius, 2019).

MERCOSUL

O MERCOSUL, ou Mercado Comum do Sul, ao qual pertencem Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai, possui um regulamento técnico sobre aditivos alimentares a serem empregados segundo as BPF. Em sua resolução MERCOSUR/GMC/RES. N° 31/92, foi aprovada a definição de ingrediente, aditivo, coadjuvante de elaboração, contaminante e os princípios fundamentais mais recentes, referentes ao emprego de aditivos alimentares. Segundo essa resolução:

- Um ingrediente é qualquer substância, incluindo-se os aditivos alimentares, empregada na fabricação ou preparação de um alimento e que permanece no produto final, ainda que de maneira modificada.
- Um aditivo é qualquer ingrediente agregado intencionalmente aos alimentos, sem o propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento. Ao ser agregado, também poderá resultar na conversão do aditivo e seus derivados em um componente de tal alimento. Essa definição não inclui os conta-

minantes ou substâncias nutritivas que se incorporam ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutritivas.

Também se estabelecem princípios fundamentais quanto à segurança do uso que deve ser proporcionada pelos aditivos, os quais deverão submeter-se a uma adequada avaliação toxicológica na qual se considera, entre outros aspectos, qualquer efeito acumulativo, sinérgico ou de proteção produzida por seu uso. Os aditivos alimentares deverão manter-se em observação e serem reavaliados quando necessário, se forem modificadas as condições de uso, sendo que as informações científicas sobre o tema devem estar atualizadas. O uso dos aditivos deverá limitar-se a alimentos específicos, em condições específicas e no nível mínimo para alcançar o efeito desejado. A necessidade tecnológica do uso de um aditivo somente se justificará quando proporcionar vantagens de ordem tecnológica e não quando essas possam ser alcançadas por operações de fabricação mais adequadas ou por maiores precauções de ordem higiênica ou operacional. O emprego de aditivos se justifica somente por razões tecnológicas, sanitárias, nutritivas ou psicossensoriais e se empregam aditivos autorizados em concentrações tais que sua ingestão diária não supere os valores considerados seguros do ponto de vista toxicológico e que, além disso, atenda às exigências de pureza estabelecidas pela FAO/ WHO ou pelo CODEX.

Na resolução MERCOSUL/GMC/res. n° 52/98, no regulamento técnico “Critérios para designar funções de aditivos, aditivos e sua concentração máxima a todas as categorias de alimentos”, se estabelece que somente possam ser empregados os aditivos incluídos na “Lista Geral Harmonizada de Aditivos MERCOSUL” (Resolução GMC n° 19/93, revogada pela Resolução GMC n° 11/2006). Nessa lista se inclui o MSG com o número INS Codex 621, sendo classificado na função de realçador de sabor, não tendo sido estabelecidas limitações quantitativas em seu uso (uso *quantum satis*), desde que cumprida a sua função tecnológica de acordo com as BPF (http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/rtm_alimentos.asp).

Apesar de a Argentina ser um dos países membros do MERCOSUL, o Código Alimentar Argentino, em seu Capítulo I (Disposições gerais), diz o seguinte: Um aditivo alimentar é definido como qualquer substância ou mistura de substâncias que direta ou indiretamente modifiquem as características físicas, químicas ou biológicas de um alimento, por efeito de sua melhora, preservação ou estabilização, sempre que:

- a) Sejam inócuos por si mesmos ou através de sua ação como aditivos nas condições de uso.
- b) Seu emprego se justifique por razões tecnológicas, sanitárias, nutricionais ou psicossensoriais necessárias.
- c) Atendam às exigências de designação e de pureza que estabeleça este Código.

O MSG é qualificado como realçador de sabor e pode ser usado em quantidades *quantum satis*, ou seja, na quantidade adequada segundo o uso. Deve-se consultar a norma para cada produto em particular, já que, em alguns casos há limitações na quantidade de uso, como por exemplo, nas azeitonas recheadas, onde a quantidade máxima de MSG por peso das azeitonas, incluindo a salmoura, deve ser de 5 g/kg (Código Alimentario Argentino, Ley 18.284).

Países da América Latina

Atualmente, na Venezuela as normas que regem o uso de ingredientes e aditivos são as denominadas “Normas Covenin”. A Norma Geral sobre aditivos alimentares estabelecida em 2000, e que está atualmente em revisão, permite o uso do MSG e dos 5'-ribonucleotídeos como realçadores de sabor, sendo o uso recomendado conforme as BPF.

O Regulamento Sanitário dos Alimentos do Chile foi modificado em 2008, sendo permitido o uso do MSG e dos 5'-ribonucleotídeos, segundo as BPF. Antes de tal modificação, se estabeleciam limites de uso (Ministerio de Salud de la República de Chile, 2008).

No México, o glutamato aparece na lista de aditivos permitidos em quantidades de uso conforme as BPF. Entretanto, há limites para seu uso em alguns alimentos. Por exemplo, no projeto de Norma Oficial Mexicana, PROY-NOM-217-SSA1-2002, Produtos e Serviços, Produtos de Confeitaria, é estabelecido o limite máximo de 1,0 g de MSG/kg em produtos de confeitaria, e não se permite seu uso em gomas de mascar (http://www.economia-montevideo.gob.mx/Diario_Oficial/2003/15ago03.pdf). Também na carne de caranguejo o limite de uso é de 0,5 g/kg (<http://www.cofemermir.gob.mx/uploadtests/11199.59.59.1.version%20final%20proy-nom-pesca%20mar-06.doc>).

3. ROTULAGEM DE ALIMENTOS E MSG

Atualmente é observada uma tendência de declaração voluntária no rótulo, por parte de algumas empresas de alimentos, da informação “Sem MSG” como uma maneira de promover o marketing de alimentos como “mais naturais” ou “mais saudáveis”.

A FDA afirma que essa declaração de “Sem MSG” ou “Sem adição de MSG” pode ser enganosa, em particular quando se emprega um ingrediente contendo glutamato livre, como é o caso dos hidrolisados proteicos. Além disso, muitos alimentos, em sua forma natural, contêm glutamato livre, o qual é muito difícil de diferenciar através dos métodos analíticos existentes. Portanto, ao comunicar “Sem MSG” ou “Sem adição de MSG”, pode-se estar oferecendo ao consumidor uma informação incorreta.

O FDA exige que alimentos contendo MSG adicionado, o listem no painel de ingredientes da embalagem como glutamato monossódico. No entanto, o glutamato ocorre naturalmente em ingredientes como proteína vegetal hidrolisada, levedura autolisada, levedura hidrolisada, extrato de levedura, extrato de soja e isolado proteico, assim como em tomates e queijos. Assim, embora o FDA exija que esses produtos sejam listados na lista de ingredientes, a agência não exige que o rótulo especifique também que eles contêm glutamato. No entanto, para alimentos com qualquer ingrediente que contenha naturalmente glutamato não se pode alegar “Sem MSG” ou “Sem adição de MSG” em suas embalagens (FDA, 2019).

De maneira similar, a *Health Canada* (Agência Regulatória Canadense), determina que quando o MSG for adicionado a alimentos, este deve ser declarado na lista de ingredientes dos rótulos dos alimentos, mesmo quando for um componente de preparações aromatizantes, misturas de especiarias, preparações intensificadoras de sabor de alimentos e outras preparações ou misturas (Health Canada, 2019). As alegações relativas à ausência ou não de glutamato monossódico como “não contém MSG”, “sem MSG adicionado” e “sem adição de MSG” são consideradas enganosas quando outras fontes adicionais de glutamato livre estão presentes (por exemplo, proteína vegetal hidrolisada, proteína de soja hidrolisada, molho de soja ou extratos de levedura autolisados). Há também uma série de ingredientes alimentares comuns que contêm altos níveis de glutamato livre, incluindo tomate e suco de tomate, uvas e suco de uva, outros sucos de frutas, queijos como parmesão e roquefort e cogumelos. Não há requisitos de rotulagem para glutamatos livres de ocorrência natural (Health Canada, 2019).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. 2019. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/foruns-internacionais>. Acesso em 26/3/2020.

CODEX ALIMENTARIUS. *General Standard for Food Additives CODEX STAN 192-1995. Adopted in 1995. Revision 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019*. 2019. Disponível em <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>. Acesso em 26/3/2020.

EC. “European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners”. *Official Journal of the European Communities*. 1995. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A31995L0002>. Acesso em 26/3/2020.

EC. “Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives”. *Official Journal of the European Union*. 2008. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:en:PDF>. Acesso em 26/3/2020.

EC. “Comission Regulation (EU) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives”. *Official Journal of the European Union*. 2011. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32011R1129>. Acesso em 26/3/2020.

EFSA, EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. “Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives”. *EFSA Journal*. 15(7): 4910, 2017. Disponível em <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4910>. Acesso em 26/3/2020.

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. “Questions and Answers on Monosodium glutamate (MSG)”. 2019. Disponível em <https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/questions-and-answers-monosodium-glutamate-msg>. Acesso em 26/3/2020.

FSANZ, FOOD STANDARDS AUSTRALIAN NEW ZEALAND. *Monosodium glutamate. A safety assessment. Technical report series No 20*. 2003. Disponível em <https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/MSG%20Technical%20Report.pdf>. Acesso em 26/3/2020.

FSANZ, FOOD STANDARDS AUSTRALIAN NEW ZEALAND. “MSG in food”. 2017. Disponível em <https://www.foodstandards.gov.au/consumer/additives/msg/Pages/default.aspx>. Acesso em 26/3/2020.

HEALTH CANADA. “Monosodium glutamate (MSG) - questions and answers”. *Government of Canada*, 2019. Disponível em <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/food-additives/monosodium-glutamate-questions-answers.html>. Acesso em 26/3/2020.

IGIS, INTERNATIONAL GLUTAMATE INFORMATION SERVICE. 2020. Disponível em <https://glutamate.org/>. Acesso em 26/3/2020.

MALULY, H. D. B.; ARISSETO-BRAGOTTO, A. P. & REYES, F. G. R. “Monosodium glutamate as a tool to reduce sodium in foodstuffs: Technological and safety aspects”. *Food Sci Nutr*. 5(6): 1039-1048, 2017.

RAITEN, D. J.; TALBOT, J. M. & FISHER, K. D. (ed.). “Executive summary from the report: analysis of adverse reactions to monosodium glutamate (MSG)”. *The Journal of Nutrition*. 125(11): 2891S-2906S, 1995. Disponível em <https://doi.org/10.1093/jn/125.11.2891S>. Acesso em 26/3/2020.

SASAKI, A. (org.). *Umami: The Science and Lore of Healthy Eating*. Chicago, Academy of Nutrition and Dietetics, 2017. Disponível em https://www.andean.org/vault/2440/web/Umami_Science_and_Lore_of_Health_Eating_201708.pdf. Acesso em 26/3/2020.

SCF, SCIENTIFIC COMMITTEE FOR FOODS OF THE COMMISSION OF EUROPEAN COMMUNITIES. “Report of the Scientific Committee for food. First series of food additives of various technological functions”. *Food Science and Techniques* (25th Series). Brussels, Commission of the European Communities, 1991. Disponível em http://aei.pitt.edu/40834/1/25th_food.pdf. Acesso em 26/3/2020.

SUGIMOTO, M. *et al.* “Dietary free glutamate comes from a variety of food products in the US”. *Nutrition Research*. 67: 67-77, 2019.

TENNANT, D. R. “Review of glutamate intake from both food additive and non-additive sources in the European Union”. *Ann Nutr Metab.* 73 (suppl 5): 21-28, 2018.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications / Seventeenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series.* 539: 23, 1974. Disponível em https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41072/WHO_TRS_539.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em 26/3/2020.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Evaluation of certain food additives and contaminants / Thirty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series.* 759: 29-31, 1987. Disponível em https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39108/WHO_TRS_759.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em 26/3/2020.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Safety evaluation of certain food additives / prepared by the sixty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JEFCA). WHO Food Additives Series:* 54, 2006. Disponível em [file:///C:/Users/labtox/Downloads/9241660546_eng%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/labtox/Downloads/9241660546_eng%20(1).pdf). Acesso em 26/3/2020.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “The Use and Utility of Glutamates as Flavoring Agents in Food”. *J. Nutr.* 130 (4S Suppl): 921S-926S, 2000.



Esta obra aborda a descoberta do gosto umami, as evidências científicas da sua existência e os compostos químicos responsáveis por este gosto, em especial o glutamato monossódico (MSG), seu papel no metabolismo dos aminoácidos e seu uso como aditivo alimentar. Também é tratada a associação do MSG com dietas, sua influência na aceitabilidade de alimentos e aspectos químicos, biológicos e sensoriais envolvidos neste processo. São abordados aspectos de segurança alimentar e tecnológicos do MSG, principais órgãos regulatórios e comitês científicos relacionados.

A obra é resultado da colaboração de especialistas acadêmicos e da indústria e, assim, amparada em sólidas referências científicas. Seu conteúdo é voltado para alunos de graduação e pós-graduação, acadêmicos e profissionais atuando nas áreas de saúde, ciência e tecnologia de alimentos, nutrição, gastronomia, culinária e regulamentação.



openaccess.blucher.com.br



Blucher Open Access