

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 redutiva 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).

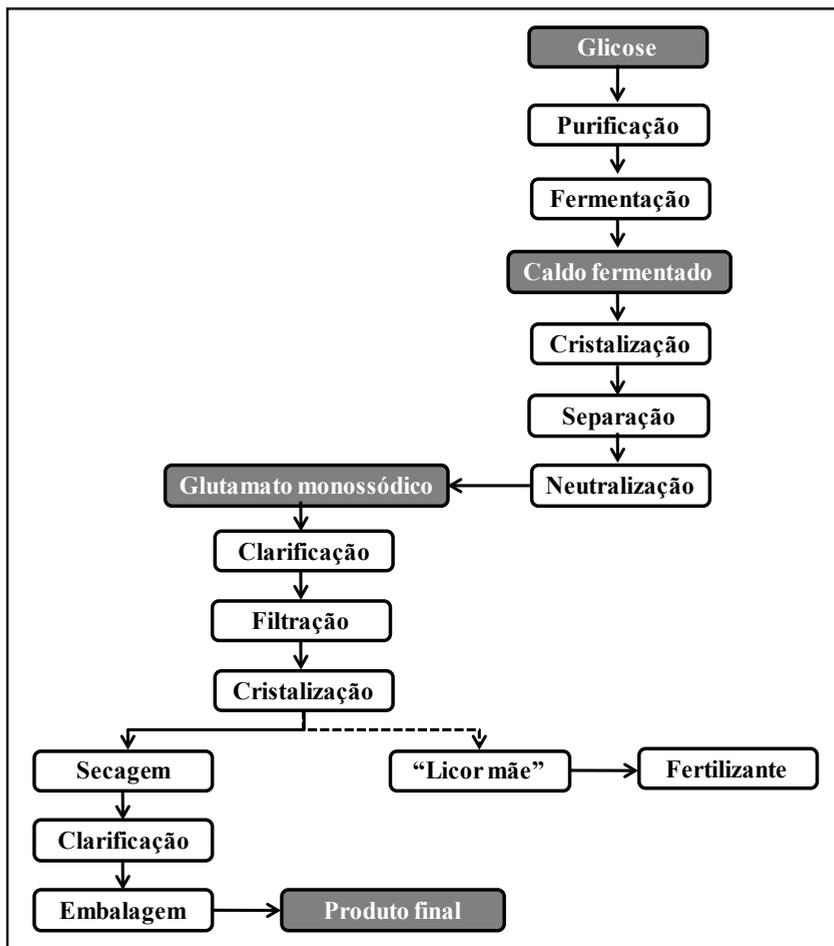


Figura 17.1 – Fluxograma de produção de glutamato monossódico.

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 suprima 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.

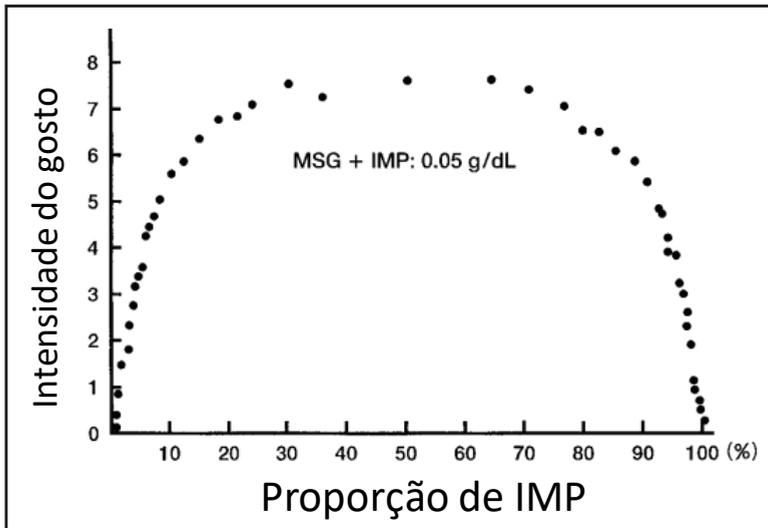


Figura 17.2 – Relação entre a proporção de mistura de MSG (glutamato monossódico) e IMP (inosinato dissódico) e a intensidade do gosto.

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.

