

ASPECTOS INDUSTRIALES Y APLICACIÓN DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO EN ALIMENTOS

*Hellen Dea Barros Maluly
Claudio Pagani
Kelen Bulos Caparello*

1. INTRODUCCIÓN

La Tecnología de Alimentos es definida como la aplicación de la ciencia de los alimentos para la selección, conservación, procesamiento, envasado, distribución y seguridad para el consumo de alimentos (IFT, 2019). Las principales razones del uso de la tecnología en el procesamiento de alimentos se refieren a su transformación en productos comestibles, y que se mantengan seguros, con una vida útil más larga y con calidad nutricional, cuando sea posible (EUFIC, 2017). Para que la tecnología sea aplicada, se deben tomar en cuenta las tendencias de la población al elegir alimentos, entre las cuales se encuentran: 1. Sensorialidad y placer; 2. Salubridad y bienestar; 3. Conveniencia y practicidad; 4. Confiabilidad y calidad; 5. Sustentabilidad y ética (FIESP/ITAL, 2010).

Para cumplir con el primer requisito, la sensorialidad y el placer, que están directamente relacionados con el sabor, la investigación realizada por el químico Kikunae Ikeda, en 1908, en la Universidad de Tokio, fue la base del descubrimiento de la producción de sustancias umami que hoy son utilizadas por la industria alimentaria para la producción a gran escala. Ikeda partió del principio de utilización de varios alimentos ricos en aminoácidos y proteínas, empleados

en preparaciones culinarias durante muchos siglos, por diferentes culturas, y que aumentaban la calidad sensorial de estos alimentos. A partir de un caldo japonés elaborado con algas marinas *kombu* (*Laminaria japonica*) y pescado bonito seco, Ikeda descubrió un sabor peculiar, llamado umami, ahora reconocido por la comunidad científica como el quinto gusto básico (Chaudhari *et al.*, 1996; Chaudhari *et al.*, 2000). Luego de este descubrimiento, Ikeda verificó que había una sustancia en esa alga que estaba presente en altas concentraciones, el aminoácido ácido glutámico (o glutamato en su forma ionizada) y muy rápido obtuvo la patente para su producción a escala industrial. Sus conocimientos en química le ayudaron a desvelar varios aspectos para la producción de este aminoácido, que inició en 1909 junto al empresario Saburosuke Suzuke (Sano, 2009).

El proceso de producción se inició con el método de extracción de este aminoácido, en el que se trataron proteínas vegetales con ácido clorhídrico para hidrolizar enlaces peptídicos (hidrólisis ácida). La proteína hidrolizada se filtró para eliminar los residuos de las reacciones entre los aminoácidos y los carbohidratos. Luego de esta etapa, el concentrado se almacenó hasta obtener el aminoácido cristalizado, el cual se neutralizó con la adición de bicarbonato de sodio hasta pH neutro y se purificó para obtener el glutamato monosódico (GMS) en forma de cristales. Este proceso se vio limitado por varios inconvenientes técnicos que involucraron la corrosión de materiales por ácido clorhídrico, entre otros (Sano, 2009).

En 1956 se introdujo el método de fermentación directa para la producción de glutamato, aumentando su producción a gran escala con reducción tanto de los costos como de los residuos de procesamiento. Sin embargo, entre 1962 y 1973 se utilizó el método de producción por síntesis directa, en el cual fue empleado acrilonitrilo como materia prima y por resolución óptica se logró la mejor cristalización del ácido DL-glutámico. Sin embargo, actualmente se utiliza el método fermentativo utilizando azúcar de caña de azúcar, remolacha, mandioca u otras fuentes de glucosa como materia prima. La producción de glutamato monosódico llega a 2 millones de toneladas anuales (mercado mundial estimado en US\$ 3800 millones para 2020). Se estima que el 94% de la producción de GMS se realiza en Asia, en países como China, Indonesia, Vietnam, Tailandia y Taiwán, siendo China uno de los mayores consumidores del producto (IHS-Markit, 2019).

Además del glutamato, otras sustancias tienen el potencial de proporcionar el gusto umami: son los 5'-ribonucleótidos (inosina-5'-monofosfato y guanosina-5'-monofosfato). Las sales de estas sustancias: inosinato disódico (IMP) y

guanilato disódico (GMP) también se producen mediante el método de fermentación similar al desarrollado para la producción de GMS, utilizando almidón de yuca. Las sustancias umami (GMS, IMP y GMP) se utilizan en la fabricación de diversos productos como sopas, caldos, quesos, productos cárnicos y salsas. Estos pueden actuar de forma sinérgica para incrementar el impacto, la continuidad y la complejidad del sabor de estos alimentos (Ledesma-Amaro *et al.*, 2013).

2. UMAMI EN LA NATURALEZA

El glutamato y los nucleótidos, principales sustancias responsables por el gusto umami, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. El glutamato está presente, naturalmente, en los alimentos de dos formas distintas: enlazado con proteínas, unido a otros aminoácidos, o en forma libre. Para proporcionar el gusto umami, el glutamato debe estar en la forma libre, para que, consecuentemente, desempeñe un papel importante en la palatabilidad y en la aceptabilidad de los alimentos (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). El glutamato libre está presente, naturalmente, en la mayoría de los alimentos, como vegetales, carnes y frutos del mar (Tabla 17.1).

Tabla 17.1 – Ácido glutámico libre en alimentos.

Ingrediente	Ácido glutámico (mg/100g)	Ingrediente	Ácido glutámico (mg/100g)
Algas		Frutas, tubérculos y hortalizas	
<i>Rausu kombu</i>	2290-3380	Tomate	150-250
<i>Ma kombu</i>	1610-3200	Tomate seco	650- 1140
<i>Rishiri kombu</i>	1490-1980	Papa	30-100
<i>Hidaka kombu</i>	1260-1340	Boniato	60
<i>Naga kombu</i>	240-1400	Zanahoria	40-80
<i>Nori</i>	550-1350	Repollo	30-50
<i>Wakame</i>	2-50	Brócoli	30-60
Granos		Espinaca	50-70
Guisante	110	Aspargus	30-50
Maíz	70-110	Hongos	
Soya	70-80	<i>Shiitake</i> seco	1060
Frijoles	60-80	<i>Shiitake</i>	70
Condimentos y especias		<i>Shimeji</i>	140
Ajo	100	Champiñón común	40-110
Cebolla	20-50	Trufas	60-80
Apio	20-30	Carnes y huevos	
Jengibre	20	Huevos de gallina	20
Pescados y mariscos		Carne de pollo	20-50
Vieiras	140	Carne bovina	10
Camarones	120	Carne porcina	10
Calamares	20-30	Productos lácteos	
Pulpo	20-30	Queso <i>parmesano</i>	1200-1680
Sardina	10-20	Queso <i>emmental</i>	310
Atún	1-10	Queso <i>cheddar</i>	180
Bacalao	5-10		
Ostra	40-150		

Fuente: tabla adaptada de UIC, 2019.

Los nucleótidos también están presentes en muchos alimentos. El inosinato se encuentra principalmente en las carnes, mientras que el guanilato está fundamentalmente, en hongos comestibles (Tabla 17.2).

Tabla 17.2 – 5'-ribonucleótidos en alimentos.

Categoría de Alimento	IMP	GMP	AMP
	(mg/100 g)		
Bovino	70	4	8
Porcino	200	2	9
Gallina	201	5	13
Camarón	ND	ND	184
Atún	286	ND	6
Cangrejo	5	4	32
Vieira	ND	ND	172
Tomate	ND	ND	21
Guisante	ND	ND	2
<i>Shiitake</i> (deshidratado)	ND	150	NA
Hongo (deshidratado)	ND	10	NA
Ostra (deshidratada)	ND	10	NA
Moracea (deshidratada)	ND	40	NA

ND= no detectada; NA= no analizado; IMP= inosina-5'-monofosfato; GMP= guanosina-5'-monofosfato; AMP= adenosina-5'-monofosfato.

Fuente: tabla adaptada de Ninomiya, 1998.

3. UMAMI EN ALIMENTOS PROCESADOS

Algunos productos industrializados, consumidos en el mundo desde hace siglos, presentan una característica común entre ellos: el alto contenido de glutamato libre presente naturalmente. En esta categoría de productos están aquellos que sufren el proceso de maduración, entre los cuales se destacan el jamón, los diferentes tipos de quesos y las salsas fermentadas (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

3.1. Jamón curado

El proceso de maduración o cura del jamón es una tecnología utilizada en la industria alimentaria con el objetivo de preservar y estandarizar el sabor (Toldrá, 2004). El jamón curado se obtiene a partir de la maduración del bíceps femoral (pernil) del cerdo. El proceso de maduración puede tardar de 8 a 24 meses y, durante ese tiempo, crece una población de microorganismos en la superficie de la carne. Estos microorganismos contribuyen a la proteólisis (hidrólisis de enlaces peptídicos) de las proteínas musculares miofibrilares y sarcoplasmáticas. Este es un proceso complejo que implica una serie de reacciones bioquímicas que confieren las características típicas de este producto. Los microorganismos dominantes en la superficie de los diferentes tipos de jamón crudo, en los más

diversos tiempos de maduración, son hongos, levaduras y bacterias del tipo cocos Gram-positivos, catalasa positivos. Las bacterias más frecuentemente mencionadas pertenecen a los géneros *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.* y los hongos más comunes son *Penicillium commune*, *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *P. aurantiogriseum*, *Eurotium repens*, *E. herbariorum*, *Debaryomyces hansenii* y *D. marama* (Rodríguez *et al.*, 1998).

Como resultado de la proteólisis se obtiene gran cantidad de péptidos y aminoácidos libres. Las enzimas responsables de este proceso son las proteinasas (catepsinas B, D, H y L y, en menor medida, calpaínas) y exopeptidasas (peptidasas y aminopeptidasas). Los músculos y lípidos del tejido adiposo también están sujetos a una intensa lipólisis, generando ácidos grasos libres por la acción de las lipasas que, en una segunda etapa, se transforman en compuestos volátiles como resultado de la oxidación. Las propiedades sensoriales del jamón curado se ven fuertemente afectadas por estas reacciones enzimáticas. Además, el nivel de actividad de las enzimas musculares depende de las propiedades de la carne, como la edad y la raza, así como de las condiciones del proceso como la temperatura, el tiempo, la actividad del agua, el potencial redox y la concentración de sal. Por tanto, el control del sistema enzimático, principalmente de proteasas y lipasas, es fundamental para la estandarización del proceso y/o elevación de la calidad del jamón curado (Petrova *et al.*, 2015; Toldrá & Flores, 1998).

Córdoba *et al.* (1994) verificaron que, en diferentes fases del proceso de maduración ocurre un aumento de la concentración de aminoácidos libres, principalmente ácido glutámico, alanina, leucina y glicina. La elevada concentración de ácido glutámico en el producto final puede caracterizar la presencia intensa del gusto umami. Martín *et al.* (2001) también identificaron la presencia de aminoácidos libres y compuestos no-volátiles en el músculo bíceps femoral de porcinos (pernil), en diferentes fases del proceso de maduración del jamón curado. Verificaron, además, que mientras mayor el tiempo de procesamiento, mayor la cantidad de estos compuestos. Concluyeron que esta determinación puede indicar un índice de maduración del jamón. La Tabla 17.3 presenta la evolución de la concentración de aminoácidos libres durante la maduración del jamón.

Además del tiempo, la temperatura y el pH también pueden influir en el buen funcionamiento de las proteinasas y aminopeptidasas, que son cruciales para determinar las concentraciones de aminoácidos liberados en el producto final. También se encontró que las concentraciones de glutamato en el jamón ibérico, que pasó por 24 meses de maduración, eran de 1142 mg/100 g de producto, mientras que el jamón de Parma, que tuvo una maduración de 12 meses, contenía

737 mg/100 g (Petrova *et al.*, 2015). Así, se puede apreciar, una vez más, la importancia de la presencia del gusto umami una vez consumido a través de diferentes productos tradicionales, característicos de cada país.

Tabla 17.3 – Evolución de la concentración de aminoácidos libres durante la maduración del jamón curado.

Periodo de Maduración*	G	S	PS1	PS2	D	HR	FR
Periodo de Maduración		15 días	60 días	45 días	45 días	6 meses	6 meses
Humedad (%)	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 Libres (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: etapa inicial. Los jamones se mantuvieron durante 48 horas de 0 a 4 °C, después del sacrificio.

S: Añadiendo sal. Los jamones se “masajearon” cuidadosamente con sal al 1% de nitrato de potasio y se colocaron en montones, alternando capas de jamones y sal durante 15 días, a 4 °C.

PS1: Posadición de sal. Se eliminó el exceso de sal de la superficie de los jamones y se mantuvieron entre 0 y 4 °C y 90% de humedad relativa durante 60 días.

PS2: Posadición de sal. Los jamones se dejaron durante 45 días en una cámara con un aumento de temperatura semanal de 2 a 3 °C y una disminución de la humedad relativa, semanalmente, de 1 a 2%.

D: Secado. Durante el verano, los jamones se mantuvieron en condiciones normales durante 45 días en secaderos.

HR/FR: semicurado/completamente maduro. Los jamones se almacenaron en una especie de bodega, para su maduración, durante 12 meses más. El periodo de HR es el de los primeros seis meses de maduración. El periodo de FR es hasta el final de la maduración.

Fuente: tabla adaptada de Ninomiya, 1998.

3.2. Quesos

El gusto umami desempeña un papel especialmente importante en el sabor de una gran variedad de quesos, principalmente en aquellos que pasan por el proceso de maduración (o cura), así como ocurre en los jamones. La maduración de los quesos es un proceso complejo que involucra muchas alteraciones físico-químicas. En este proceso ocurre la fermentación por diferentes tipos de microorganismos, los cuales utilizan el ácido láctico o proteínas de la leche para producir diversos productos que proporcionan las diferencias entre el gusto y el aroma de cada categoría de queso. Además, la proteólisis progresiva de las proteínas en polipéptidos y el gradual acúmulo de aminoácidos libres, entre ellos el glutamato, además de los nucleótidos y ácidos orgánicos, contribuyen para el intenso gusto umami de los quesos (Picon *et al.*, 2010).

El queso *Parmegiano reggiano* – producido en Parma, Italia –, utilizado en gran escala en la culinaria italiana y mundial, presenta alta concentración de glutamato libre, alrededor de 1600 mg/100 g de producto (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

El ácido glutámico libre también ha sido encontrado en diferentes concentraciones en quesos tipo *Cheddar*. Ha quedado de manifiesto que la intensidad del umami aumenta durante el proceso de maduración del queso *Cheddar* y que ocurren modificaciones en el contenido de ácido glutámico libre que varían de 10,50 mg/100 g en el primer mes, para 77,81 mg/100 g en el cuarto mes y 182,2 mg/100 g en el octavo mes de maduración (Tabla 17.4) (Ninomiya, 1998; Weaver *et al.*, 1978). Se verificó también que la concentración de aminoácidos del queso tipo *Cheddar* aumentaba después de ocho meses de maduración. En este contexto, el ácido glutámico, así como la valina, tirosina, fenilalanina, leucina y lisina, mostraron un aumento de hasta 80% en todas las fases de maduración (Weaver *et al.*, 1978). Además, el tiempo de maduración puede influir en la composición de glutamato, que aumenta con la maduración, independientemente de la cepa utilizada (Csapó *et al.*, 2007).

Tabla 17.4 – Evolución de aminoácidos libres durante el proceso de maduración del queso *Cheddar* (mg/100 g).

	Tiempo de maduración (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

Fuente: tabla adaptada de Ninomiya, 1998.

El queso tipo *suizo*, a su vez, posee diferencias en el aroma y sabor cuando es comparado con el queso *cheddar*. Bacterias productoras de ácido propiónico son usadas en la etapa de fermentación secundaria para convertir ácido láctico en ácido propiónico. También son usados el ácido acético y el dióxido de carbono para proporcionar diferencias en el sabor y en la forma de los “ojos” u “hoyos” característicos de estos quesos. Otro hecho interesante es que, en los quesos *suizos*, la sal no es adicionada directamente a la cuajada, pues pasa por un breve tratamiento de salmuera. Por lo tanto, se concluye que la principal característica de este queso no es el gusto salado, sino el umami, principalmente por la gran concentración de ácido glutámico libre (Drake *et al.*, 2007; Warmke *et al.*, 1996).

3.3. Salsa de soya (shoyu)

La salsa de soya es un producto hecho con soya fermentada y consumido como aliño o condimento por sazonar y proporcionar el sabor agradable a diversos alimentos consumidos por la población oriental (la mayoría japonesa y china), como el arroz, las pastas tipo *noodle*, los frutos del mar, etc. Este tipo de salsa también se consume en países de Occidente debido a la inmigración y difusión de la culinaria oriental (Lioe *et al.*, 2010).

Existen diferencias entre las salsas japonesas, chinas y coreanas (Tabla 17.5). La salsa japonesa es producida con una mezcla de soya y trigo, y la china apenas con soya, lo que caracteriza algunas modificaciones en el sabor. Las sustancias que proporcionan el sabor agradable son una mezcla de compuestos de baja masa molecular y otros volátiles, además del gusto umami, caracterizado por una cierta concentración de L-glutamato y péptidos, naturalmente presentes después del proceso de fermentación natural.

En Japón existen hasta cinco tipos de salsa de soya (*koikuchi-shoyu*, *usukuchi-shoyu*, *tamari-shoyu*, *saishikomi-shoyu* y *shiro-shoyu*), cada una con sus características de intensidad de sabor y también de color, debido a diferentes condiciones de fermentación. Los microorganismos comúnmente utilizados en el proceso de fermentación de la soya y trigo son *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae* y *Aspergillus tamarii*. En este proceso, ocurre la producción de enzimas extracelulares que consisten en proteasas y glucosidasas que metabolizan las proteínas y carbohidratos en péptidos de baja masa molecular, aminoácidos (principalmente glutamina y ácido glutámico) y azúcares simples. La salazón es hecha después del proceso de fermentación. El ácido glutámico es el mayor componente de la proteína de la soya y del trigo, lo que caracteriza el intenso gusto umami de las salsas. Además, estas enzimas pueden convertir la glutamina producida en ácido glutámico, elevando aún más el gusto umami de este producto (Lioe *et al.*, 2010).

Tabla 17.5 – Glutamato libre en diferentes salsas de soya.

Salsa de soya	Glutamato (mg/100 g)
China	926
Japón	782
Corea	1264
Filipinas	412

Fuente: tabla adaptada de Yamaguchi & Ninomiya, 2000.

4. LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y LAS SUSTANCIAS UMAMI

4.1. El proceso de fermentación y la producción de sustancias umami

El método de fermentación para producción de alimentos posee características especiales, principalmente en quesos, vinos, yogur, carnes y otros productos fermentados como el *shoyu* y el *natto* (alimento típico japonés hecho con soya

fermentada). Diversas sustancias específicas y características de cada alimento son producidas, a través de microorganismos específicos.

En 1956, fue desarrollada la tecnología pionera para el desarrollo del método de fermentación industrial del L-glutamato, utilizando microorganismos de los géneros *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Micobacterium* y *Micrococcus*, especialmente *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium lactofermentum* y *Brevibacterium flavum*. También se obtiene ácido glutámico por varias bacterias esporuladas (*B. circulans* y *B. megatherium*). En pequeña cantidad, el ácido glutámico es aún obtenido por medio de ciertos hongos como *Aspergillus terreus*, *Ustilago maydis*, etc. Las bacterias productoras de L-glutamato son todas bacterias corineformes, Gram-positivas, no esporuladas, no móviles y no patógenas (Kinoshita *et al.*, 2004; Sano, 2009).

Para el desarrollo del método de fermentación para la producción de aminoácidos específicos, un microorganismo es seleccionado en un cultivo. Posteriormente, se inocula en un medio de cultivo conteniendo carbohidratos y amonio para liberación de la forma L de los aminoácidos al propio medio de crecimiento. El precursor clave del ácido glutámico es el α -cetoglutarato, que se forma en el ciclo de Krebs vía citrato e isocitrato, y que luego se convierte en ácido L-glutámico por aminación reductora con iones NH_4^+ libres. Esa última etapa es catalizada por la glutamato deshidrogenasa NADP-dependiente. La producción y la secreción de cantidades de ácido glutámico en exceso dependen de la permeabilidad de la célula (Hasegawa *et al.*, 2008; Sato, 2001).

La producción en gran escala del L-glutamato por *Corynebacterium glutamicum* ha significado un reto para los investigadores, puesto que la bacteria requiere biotina para su crecimiento. La presencia de biotina en concentraciones superiores a 5 μg resulta en un elevado contenido de fosfolípidos en la pared celular, incapacitando la célula de excretar el ácido glutámico. Por otro lado, la deficiencia de biotina en el medio reduce la síntesis de fosfolípidos y el ácido glutámico intracelular puede ser excretado. La concentración óptima de biotina es dependiente de la fuente de carbono usada. Este hecho se convirtió en un factor limitante. Sin embargo, con el desarrollo tecnológico, comenzó el uso de tensioactivos (detergentes), la adición de cantidades sub-letales de penicilina o el uso de microorganismos auxotróficos (que requieren glicerol u oleato para el crecimiento) para permitir la producción sin que existiera el factor limitante por biotina (Sano, 2009).

No obstante, pese a haber sorteado todas las dificultades citadas, los investigadores aún no han descubierto el mecanismo exacto para la superproducción

de L-glutamato por *Corynebacterium glutamicum*. Hipótesis recientes han identificado una proteína de membrana que exporta el glutamato hacia el exterior de la célula bacteriana. Esta proteína es codificada por el gen bacteriano *yggB* (NCg11221) (Nakamura *et al.*, 2007). Después de esta etapa, sigue un proceso de purificación de los cristales del ácido L- glutámico para mejorar el grado de pureza del GMS. También se han desarrollado nuevos métodos que utilizan la recristalización de la forma β del cristal y la subsecuente conversión en GMS. En seguida, el L-glutamato pasa por procesos de neutralización para adición de iones, que en el caso del GMS es el ion sodio. De esta forma, el líquido madre proveniente del proceso de cristalización es concentrado y usado como fertilizante (tras el ajuste de pH con amoníaco) (Figura 17.1) (Sano, 2009).

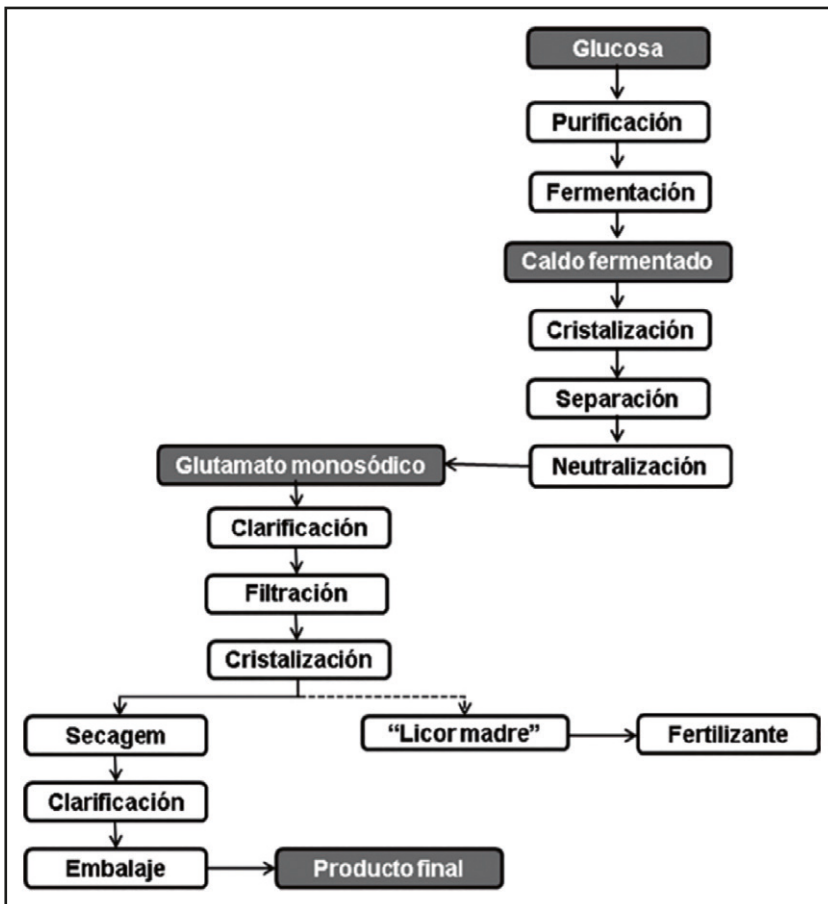


Figura 17.1 – Diagrama de flujo de producción de glutamato monosódico.

Fuente: figura adaptada de Ajinomoto Co.

La calidad del resultado del proceso de producción de sustancias umami por fermentación es constantemente verificada a través de métodos físico-químicos y microbiológicos preestablecidos por agencias de certificación. Después de los testes de calidad, se confirma que las sustancias umami poseen alta estabilidad y alta solubilidad en diferentes rangos de temperaturas y pH, tanto en alimentos ácidos como alcalinos. Los cristales de GMS y 5'-ribonucleótidos permanecen estables durante largos periodos de almacenamiento, presentando baja absorción de humedad y manteniendo la granulometría original. En cuanto a la estabilidad durante la preparación de alimentos, se encontró que la cantidad remanente de GMS en muestras de sopa con pH 5,0, después de la cocción por 30 min a una temperatura de 124 °C, fue del 94%, mientras que para el IMP e IMP+GMP, en diferentes alimentos con pH 5,6, luego de una hora de tratamiento a 100 °C, la cantidad restante fue 94,9% y 92,1%, respectivamente (datos proporcionados por Ajinomoto Co.).

Actualmente, el método de fermentación es utilizado no solo para la producción de L-glutamato, sino también para otros aminoácidos no esenciales y esenciales, además de los 5'-ribonucleótidos. Todos los productos producidos por este método son utilizados en gran escala por la industria alimentaria, para mejorar el sabor de los alimentos. Ellos son utilizados también para proporcionar el enriquecimiento de raciones animales y perfeccionar la industria farmacéutica, puesto que los aminoácidos son constituyentes esenciales para la mejoría de las funciones vitales.

4.2. Utilización de sustancias umami en la industria alimentaria

Las sustancias umami poseen la increíble capacidad de rescatar y resaltar el sabor original de muchos alimentos, por conferir el quinto gusto que muchas veces puede perderse durante el proceso industrial. Además, permiten una percepción más rica y compleja de diferentes matices del sabor (Jinap & Hajeb, 2010).

La amplia gama de sabores en las salsas, por ejemplo, está armonizada por el GMS. Culturas antiguas, como la china y la japonesa, crearon una denominación para ese gusto básico y lo llamaron *XianWei* (en China) y umami (en Japón). De hecho, el umami ya ha sido integrado a la culinaria en el mundo entero y se encuentra presente en salsas de pescado del sureste de Asia, en sopas europeas, en el caldo “*Dashi*” japonés, en los hongos con salsa de ostra en China y en la pizza italiana, con su salsa de tomate y coberturas a base de quesos madurados, todos, a su vez, con alta concentración de glutamato (UIC, 2019).

En la culinaria, las sustancias umami, principalmente el GMS, pueden ser usadas en una gran variedad de platos, como carnes, pescados, aves y verduras cocidas, sopas, caldos y condimentos, para acentuar el sabor global de los mismos (Jinap & Hajeb, 2010; Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

La industria alimentaria busca los beneficios tecnológicos de las sustancias umami, principalmente porque, además de conferirles el gusto umami y armonizar el sabor de los alimentos, los hacen más complejos debido al aumento del impacto y continuidad en la papila gustativa (Chaudhari & Roper, 2010). Aún más, esas sustancias, poseen excelente estabilidad; incluso cuando sometidas a altas temperaturas y largos periodos de almacenamiento. No hay interferencia en el color, apariencia y textura del producto. El GMS también es utilizado en alimentos procesados e industrializados que requieren una gran cantidad de sabor concentrado en pequeños volúmenes: como platos congelados, platos preparados o precocinados; salsas picantes, deshidratadas o en conserva (enlatadas); aderezos para ensalada; salsas de tomate; y productos hechos a base de carne, salchicha, jamón, embutidos tipo jamón, chorizo y mortadela (Maluly *et al.*, 2017; UIC, 2019).

Ejemplos clásicos de la utilización del GMS y 5'-ribonucleótidos:

- Caldos y sopas: intensifican y mejoran el sabor, concentrando una gran cantidad de sabor en pequeños volúmenes, proporcionando el máximo de rendimiento en la percepción sensorial.
- Productos cárnicos: realzan el sabor natural de la carne, que muchas veces se ha perdido en etapas de proceso como congelamiento o calentamiento. También disminuyen el residuo amargo que confieren las proteínas vegetales, ampliamente utilizadas en estos tipos de productos.
- Condimentos y aderezos: intensifican el sabor global, proporcionando impacto, continuidad y complejidad gustativa, fundamentales en estos tipos de productos.
- Salsas y conservas vegetales: mejoran el sabor global de los productos, además de suavizar y refinar los gustos exageradamente ácidos, amargos y salados.
- *Snacks*: intensifican el sabor de los ingredientes utilizados en la “condimentación” de *snacks* y productos de aperitivo fritos y salados; además, realzan el aroma adicionado al producto.

En la Tabla 17.6, se presentan recomendaciones de uso del glutamato monosódico para diferentes categorías de productos:

Tabla 17.6 – Recomendaciones de uso del glutamato monosódico para diferentes categorías de productos.

Productos	Recomendación de uso por la cantidad de producto
Productos cárnicos	a partir de 0,3%
Caldos	0,4 a 0,6%
Sopas	0,5 a 0,7%
Condimentos/Aderezos	
Hasta 10% de sal	50 a 70%
con alto contenido de sal	8 a 10%
para fideos instantáneos (tipo lamen)	10 a 17%
<i>Snacks</i>	0,6 a 0,75%
Derivados de tomate	0,6 a 1,0%
Catchup (<i>Kétchup</i>)	a partir de 1,0%
Conservas vegetales	0,15 a 0,25%
Derivados de pescado	a partir de 0,3%
Alimentos congelados	a partir de 0,3%
Galletas	a partir de 0,3%
Salsa	0,3 a 0,6%
Mostaza	0,6 a 1,0%
Mayonesa/ <i>dressings</i>	0,4 a 0,6%
Pastas	a partir de 0,3%

Fuente: datos proporcionados por Ajinomoto Co.

4.3. Interacción del umami con los otros gustos básicos

La interacción del umami con los otros gustos básicos (dulce, salado, amargo y ácido) fue investigada por Yamaguchi & Kimizuka (1979). Los investigadores utilizaron soluciones de GMS (para el gusto umami), sacarosa (para el gusto dulce), cloruro de sodio (para el gusto salado), sulfato de quinina (para el gusto amargo) y el ácido tartárico (para el gusto ácido). Concluyeron que el umbral de detección para el GMS fue suficientemente bajo para ser usado como condimento, pero no tan bajo para ser utilizado junto con el ácido tartárico o sulfato de quinina. Sin embargo, cabe destacar que el umbral de detección de GMS es reducido de forma notoria en presencia de IMP, como consecuencia del efecto sinérgico entre esas dos sustancias.

De esta forma, se ha establecido que el gusto umami posee un efecto tecnológico relacionado a los otros gustos básicos. Con relación al gusto dulce, el GMS generalmente no es utilizado y no puede sustituir al azúcar, pero acentúa el gusto dulce cuando el azúcar está presente en bajas concentraciones. Para el gusto salado, en alimentos cuya cantidad de sal (NaCl) adicionada en el rango entre 0,1 a 1%, la adición de 0,1 a 1% de GMS lo resalta, principalmente en el rango entre 0,1% a 0,2%. El GMS ameniza el gusto ácido en salsa de tomate, pepinillos, *ketchups*, otros productos a base de tomate y salsas tipo aderezos (*dressing*). También puede reducir el gusto amargo y el gusto residual en algunos vegetales, especialmente en la espinaca, aunque este efecto no es generalizado. El gusto amargo está asociado con otros factores, como por ejemplo, el gusto metálico. La característica amargo-metálica de la solución de hierro es enmascarada por la adición de 0,1 a 0,2% de GMS. No obstante, el gusto atribuido al ion cobre no es significativamente alterado por la adición de GMS. El sabor de alimentos que presentan un gusto metálico, especialmente la espinaca, productos a base de hígado y productos enlatados, es generalmente mejorado por la adición de GMS (Jinap & Hajeb, 2010; Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

Esta característica del gusto umami, de interactuar con los otros gustos básicos, es muy utilizada actualmente por la industria alimentaria, principalmente con el objetivo de aumentar la palatabilidad de un alimento a través de la reducción de características indeseadas, especialmente con relación a los gustos ácidos y amargos. Como ejemplo, podemos citar el uso del glutamato en productos cárnicos, con miras a disminuir el gusto amargo residual causado por algunos tipos de proteínas de soya. La percepción del gusto ácido en salsas a base de tomate también es reducida por la adición de las sustancias umami. Efecto semejante se obtiene con la aplicación del glutamato en conservas de vegetales. No obstante, no podemos generalizar, en el sentido de que el glutamato pueda suprimir selectivamente los gustos desagradables y realzar los agradables (Jinap & Hajeb, 2010).

4.4. Producción de alimentos con contenido reducido de sodio

El sodio es un elemento esencial y vital para el organismo, pero debe ser utilizado en cantidades que no excedan 2,0 g/día (o 5,0 g de NaCl), pues el consumo elevado propicia disturbios relacionados con la hipertensión, enfermedades cardiovasculares y renales. Recientemente, la comunidad científica ha alertado a la población en relación al consumo de altas concentraciones de sodio, lo que en el caso de Brasil excede hasta dos veces más de lo recomendado (Sarno *et al.*,

2013). En este país, se debe a la adición de sal (NaCl) a los alimentos en la mesa, durante las comidas y a la presencia de este compuesto en los alimentos industrializados listos para el consumo. Para evitar mayores problemas de salud pública y mejorar la calidad de los alimentos, el Ministerio de la Salud de Brasil formalizó, junto con Asociaciones de Industrias Alimentarias, un acuerdo para la reducción de sodio en alimentos, que demostró en 2017 una disminución de 17 mil toneladas del mineral en alimentos procesados (Brasil, 2017).

El NaCl es ampliamente utilizado por la industria, puesto que, además de ser un producto de bajo costo, posee diversas características para el desarrollo de procesos tecnológicos para la producción de alimentos. Además de ser un excelente conservante, se emplea en productos cárnicos, en el proceso de cura junto con nitritos, a fin de proporcionar color y sabor específicos. Los mecanismos que prevalecen para su función son extracción y solubilización de las proteínas miofibrilares, proporcionando cohesión y textura adecuadas durante el proceso de secado, disminución de la actividad de agua y aumento de la presión osmótica, lo que inhibe el crecimiento microbiano y el deterioro del producto (Damodaran *et al.*, 2010; Martín *et al.*, 2001; Toldrá, 2004).

No obstante, la reducción de sodio en alimentos depende de diversos factores que incluyen modificación en la formulación de los alimentos procesados y desarrollo de nuevas investigaciones para retirar el NaCl e incluir nuevas sustancias en los alimentos, las cuales deben ser seguras y agradables al paladar de la población.

El principal sustituto encontrado para el NaCl es el cloruro de potasio (KCl), ya que posee interesantes propiedades tecnológicas. Sin embargo, proporciona un residuo amargo y metálico. Por estas razones, se ha descubierto que los potenciadores del sabor son una opción para hacer que el producto sea más agradable y con niveles bajos de sodio.

El GMS es uno de los potenciadores de sabor más utilizados por la industria alimentaria, puesto que puede reducir el contenido de sodio y al mismo tiempo realzar el sabor de los alimentos. La molécula del GMS ($C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$) posee una cantidad de sodio de 12,3%, y la de NaCl 39,34%, lo que corresponde a aproximadamente a 1/3 de dicha sustancia. Sin embargo, el GMS no ejerce las mismas funciones del NaCl y es autolimitante, aunque, tecnológicamente, se recomienda la adición de 0,1 a 0,8% del total del producto (Beyreuther *et al.*, 2007; Jinap & Hajeb, 2010; Maluly *et al.*, 2017).

Para verificar si la reducción de NaCl no afecta la palatabilidad, se realizó un test sensorial en sopas japonesas del tipo *sumashi-jiru*, hecha con pescado bonito

seco, con diferentes concentraciones de NaCl y GMS. Cada muestra poseía una escala que variaba en siete puntos para la cantidad de sal y palatabilidad: de extremadamente fuerte o aceptable (+3) a extremadamente débil o no aceptable (-3). Cada probador evaluó nueve muestras aleatoriamente, enjuagándose la boca con agua a cada prueba para eliminar los gustos residuales. El nivel considerado ideal por los probadores fue de 0,4 % de GMS y 0,8% de NaCl. Fue verificado también que es posible reducir la concentración de NaCl para 0,4%, adicionando GMS en la misma concentración. De este modo se confirmó que es viable reducir la concentración de sodio en 34%, manteniendo la aceptabilidad (Yamaguchi & Takahashi, 1984).

La cantidad adecuada de cada sustancia umami depende de la calidad de la materia prima utilizada, del perfil del sabor deseado para cada categoría del producto en el cual ellas son aplicadas, además de las preferencias regionales y de las cantidades de otros condimentos utilizados en cada formulación. Para que se reduzca el sodio de los alimentos, en primer lugar, hay necesidad de que la población adquiera nuevos hábitos sensoriales, puesto que está acostumbrada a ingerir grandes cantidades de sal. Además, es necesario un proceso de educación continua y modificación de la rutina alimentaria. Aún más, el gran desafío de la industria alimentaria es la búsqueda de nuevas tecnologías para reducir el sodio sin que haya grandes impactos en los costos de los alimentos (Maluly *et al.*, 2017).

4.5. Sinergismo entre las sustancias umami

Entre las sustancias que proporcionan el gusto umami, el glutamato es el que más se destaca, pues está presente en una gran variedad de alimentos y, además, toneladas de GMS son producidas a bajo costo. Sin embargo, los 5'-ribonucleótidos (inosina-5'-monofosfato e guanosina-5'-monofosfato) tienen también un papel preponderante por estar presentes en otros alimentos e intensificar el gusto umami por el efecto sinérgico que ejercen al interactuar con el glutamato. Hace siglos, países como Francia, Japón y China ya experimentaban el gusto umami proveniente de estas interacciones, las cuales estaban presentes en caldos típicos de estas regiones como el *bouillon*, *dashi* y el *jiang*, respectivamente. Estos caldos son hechos con ingredientes umami ya que el caldo *bouillon*, por ejemplo, es rico en vegetales, carne bovina, aves y pescado (UIC, 2019).

El efecto sinérgico puede ser definido como la interacción entre dos sustancias, en la que el resultado final es mayor que la sumatoria del resultado de las dos sustancias individualmente. Así, la relación entre la proporción de IMP en

una mezcla de GMS e IMP y la intensidad del sabor de la mezcla se muestra en la Figura 17.2. El efecto sinérgico entre GMS e IMP se puede expresar matemáticamente mediante la Fórmula 1.

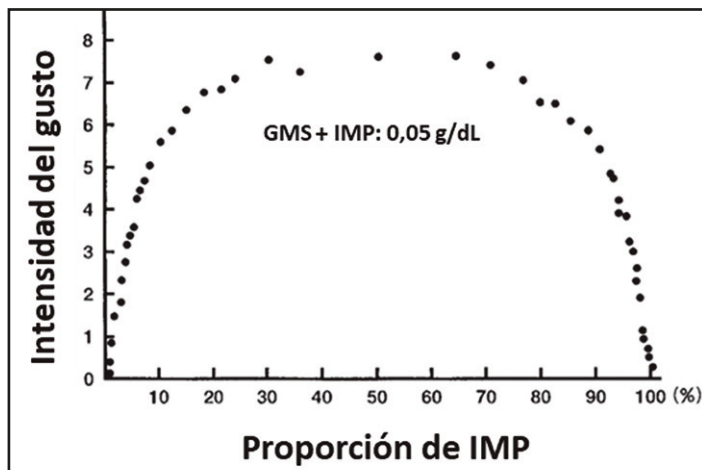


Figura 17.2 – Relación entre la proporción de mezcla de GMS (glutamato monosódico) e IMP (inosinato disódico) y la intensidad del gusto.

Fuente: Yamaguchi & Ninomiya, 2000.

$$Y = u + \delta v \quad (\text{Fórmula 1})$$

En la que: u y v son las respectivas concentraciones (g/dL) de GMS e IMP en la mezcla, y δ es una constante positiva, 1218, e Y representa la concentración (g/dL) de GMS que, aisladamente, confiere la misma intensidad del gusto umami de la mezcla (Yamaguchi & Kumizuka, 1979).

Aunque la intensidad del gusto de IMP por sí sola es débil, se induce un gusto umami fuerte en presencia de GMS. En este sentido, es interesante notar que, debido a que la saliva humana normalmente contiene una pequeña concentración de glutamato (1,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ equivalente de GMS), el aparente gusto umami atribuido al IMP puro, puede ser el resultado de la interacción del IMP con el glutamato presente en la saliva. Es decir, el IMP puede no tener un gusto umami intrínseco, sino simplemente resaltar el gusto umami del glutamato presente normalmente en la cavidad bucal (Yamaguchi, 1967; Yamaguchi & Ninomiya, 2000). Se han comparado otras sustancias umami que también tienen un efecto sinérgico con la mezcla entre IMP y GMS. Se encontró que la intensidad del gusto de esta mezcla era 5 veces mayor que la mezcla entre

AMP (adenosina-5'-monofosfato) y GMS y, en contraste, 2 o 3 veces menor que la mezcla entre GMP y GMS (Yamaguchi *et al.*, 1971).

Las recomendaciones de uso no varían de acuerdo con la categoría de productos, sino que dependen directamente del tipo de nucleótidos que está siendo usado. En el caso del IMP, se recomienda de 5-7% sobre el porcentaje de GMS que está siendo utilizado. Para la mezcla de IMP + GMP, el nivel de uso sería entre 3-5% sobre el nivel de GMS sugerido.

El efecto sinérgico entre el glutamato y los nucleótidos no provoca solo un aumento cuantitativo, sino también, una mejoría cualitativa significativa del gusto umami, lo que resulta en un alimento con un sabor suave, rico y espeso. Este hecho ha sido explotado por *chefs* reconocidos internacionalmente que reconocen el umami en los alimentos que utilizan y que, mediante diversas combinaciones de ingredientes, satisfacen el paladar más refinado de los que prueban la delicadeza de este gusto.

5. CONSIDERACIONES FINALES

Para una buena nutrición, es esencial una alimentación saludable y sabrosa. A través de la tecnología de alimentos, fue posible desarrollar diferentes métodos y técnicas de preparación, almacenamiento y mejoría de las características sensoriales como color, aroma, textura y, principalmente, sabor.

Después de la identificación del gusto umami, diferentes poblaciones han podido, a través de su cultura culinaria, crear diversos platos ricos y sabrosos que contribuyen en la mejoría de su estado nutricional y de salud.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJINOMOTO CO, Ajinomoto do Brasil Ind. e Com. de Alimentos Ltda. São Paulo. Disponible en <<https://www.ajinomoto.com.br/>>. Acceso el 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. Disponible en <<http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/28730-acordo-com-a-industria-reduziu-17-mil-toneladas-de-sodio-dos-alimentos>>. Acceso el 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. Disponible en <<https://www.eufic.org/en/food-production/article/processed-food-qa>>. Acceso el 2/9/2019.

FIESP/ITAL. “Brasil Food Trends 2020”. 2010. Disponible en <<http://www.brasilfoodtrends.com.br/>>. Acceso el 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. Disponible en <<http://www.ift.org/knowledge-center/learn-about-food-science/food-facts/about-fs-and-t.aspx>>. Acceso el 2/9/2019.

IHS-MARKIT. “Monosodium glutamate”. 2019. Disponible en <<https://ihs-markit.com/products/monosodium-glutamate-chemical-economics-handbook.html>>. Acceso el 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* NCgl1221 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. Disponible en <<https://www.umamiinfo.com/>>. Acceso el 3/9/2019.

WARMKE, R.; BELITZ, H.-D. & GROSCH, 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.