



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA INDUSTRIALE

PRODUZIONE INDUSTRIALE DEL GLUTAMMATO MONOSODICO (MSG)

Relatore: Prof.ssa Elisabetta Schievano

Laureando/a: Andrea Bonato
1173867

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

Indice	1
1. Introduzione	3
1.1 Cos'è l'Umami: il quinto gusto, MSG e altre molecole	3
1.2 MSG: struttura, formula, proprietà	5
1.3 Scoperta dell'acido glutammico e del MSG	6
2. Produzione industriale	9
2.1 Estrazione	9
2.2 Sintesi chimica	12
2.3 Fermentazione	13
3. MSG oggi	19
3.1 Concentrazione negli alimenti e metodi analitici	19
3.2 Recettori e sinergismo MSG con i 5-nucleotidi	21
3.3 Nocività	23
3.4 Regolamentazione	24
4. Conclusioni	25
5. Bibliografia	26

1. Introduzione

In questo studio viene preso in esame il glutammato monosodico (MSG) come additivo utilizzato nell'industria alimentare per esaltare la sapidità dei prodotti.

Ho deciso di prendere in considerazione una molecola alimentare perché mi appassionano i processi industriali di prodotti gastronomici; inoltre, ho scelto il MSG perché è il principale componente del gusto umami e, da appassionato di barbecue, è il gusto più ricercato.

Nella prima parte dell'elaborato viene presentato l'umami, gusto per eccellenza della carnosità, e viene analizzata la molecola di MSG dal punto di vista chimico. Successivamente viene illustrata la storia del glutammato e dell'acido glutammico.

Nel secondo capitolo vengono presentati i tre processi utilizzati industrialmente per la produzione alimentare del glutammato monosodico. Si inizia dal metodo di estrazione, il primo utilizzato, per passare alla sintesi e alla fermentazione, principale processo ancora in uso.

Infine, viene trattato il composto dal punto di vista alimentare, con degli accenni ai recettori nel corpo umano, alla nocività e alla legislazione riguardante gli additivi in generale.

1.1 Cos'è l'umami

I gusti di base riconosciuti ufficialmente dalla comunità scientifica sono cinque: dolce, salato, amaro, acido e umami. Il meno conosciuto tra quelli riportati è sicuramente l'umami, un termine inusuale sentita poche volte, del quale non si comprende subito il significato e che, probabilmente, solo i più giovani o le persone che lavorano nell'ambito della gastronomia comprendono, eppure in molti lo ricercano.

Questo gusto è stato accettato dal mondo scientifico solo recentemente, molto tempo dopo la sua scoperta e questa decisione è ancora molto discussa.

Il termine umami deriva dalla lingua giapponese e significa "saporito", ed è forse per tale ragione che è il gusto più ricercato dalla cucina nipponica e non solo, perché dà quella sensazione di gradevolezza, appetibilità, carnosità.

L'umami era già conosciuto 2000 anni fa. I romani godevano di numerosi cibi che oggi vengono identificati come contenenti quantità significative di sostanze naturali umami: ad esempio, il Garum, cioè una salsa a base di pesce.

Il Garum veniva usato come condimento per le pietanze, aveva un gusto leggermente sapido e creava una sinergia con altri cibi che portavano al gusto dell'umami. Grazie al ritrovamento in diversi siti archeologici di contenitori usati per stoccare il cibo è stato possibile analizzare il Garum. Nell'antichità, la salsa di pesce veniva realizzata mediante la fermentazione del pescato con l'aggiunta di sale. Attraverso analisi chimiche si è scoperto che il Garum romano è molto simile alle salse di pesce prodotte attualmente nell'area meridionale dell'Asia. [1]

Il primo testo in cui viene descritta un'essenza dal gusto carnoso è "Fisiologia del Gusto" scritto da Brillat-Savarin nel 1825. L'autore definisce questa percezione come osmazoma e lo descrive così: *"Il maggior servizio che la chimica abbia reso alla scienza degli alimenti è la scoperta o piuttosto la determinazione dell'osmazoma. L'osmazoma è quella parte eminentemente saporosa della carne che è solubile nell'acqua fredda. [...] Il merito delle buone minestre è tutto nell'osmazoma"*. [2]

Si può intuire a cosa fa riferimento Brillat-Savarin, ma, a quel tempo, non si comprese subito quali erano i componenti essenziali che facevano essere così saporiti i brodi. Si dovrà attendere l'inizio del XX secolo per identificare la provenienza del gusto umami.

Il merito va tutto al professore e ricercatore giapponese di chimica Kikunae Ikeda dell'università di Tokyo.

Nel 1908 Ikeda identificò L-glutammato monosodico (MSG) come la molecola che generava il quinto gusto e fu lui a dargli il nome di umami. [3]

Negli anni successivi vennero scoperte altre molecole umami. Nel 1913, Shintaro Kodama, ricercatore associato a Ikeda, scoprì il 5-inosinato disodico (IMP). Negli anni Sessanta, il Dr. Akira Kuninaka scoprì che anche il 5-guanilato disodico (GMP) è un esaltatore del gusto, caratteristica tipica del glutammato. [4]

In anni più recenti si sono scoperte altre molecole che generano l'umami [5], ma le più utilizzate nell'industria alimentare rimangono MSG, IMP e GMP.

1.2 Scoperta acido glutammico e MSG

All'inizio del XX secolo, il professor Kikunae Ikeda intraprese lo studio riguardante ciò che conferiva il particolare gusto al dashi, un brodo di pesce tipico della cucina giapponese. Scopri che il gusto da lui conosciuto fin dall'infanzia, era dovuto alla presenza dell'alga Konbu, *Laminaria Japonica*.

Ikeda iniziò la ricerca di estrazione della molecola, da cui derivava il nuovo gusto da lui scoperto, partendo da alghe Konbu essiccate.

Il professore iniziò con un'estrazione a base d'acqua e notò che dopo la rimozione del cloruro di sodio e del mannitolo mediante cristallizzazione, il gusto umami si trovava ancora in soluzione. Da qui, Ikeda intuì che la molecola ricercata doveva essere un sale di un acido organico. Il problema nell'estrarre il sale dell'acido organico è l'alta solubilità in acqua. Per ovviare a questo problema, Ikeda utilizzò il nitrito di piombo, con il quale riuscì a produrre un sale di piombo in grado di precipitare facilmente. Successivamente, convertì il sale di piombo in sale di bario attraverso l'utilizzo di carbonato di bario e solfuro di idrogeno, così il piombo precipita sotto forma di solfuro di piombo. Il sale di bario è solubile in acqua ed è possibile rimuovere il bario con l'aggiunta di acido solforico, ottenendo, infine, l'acido organico.

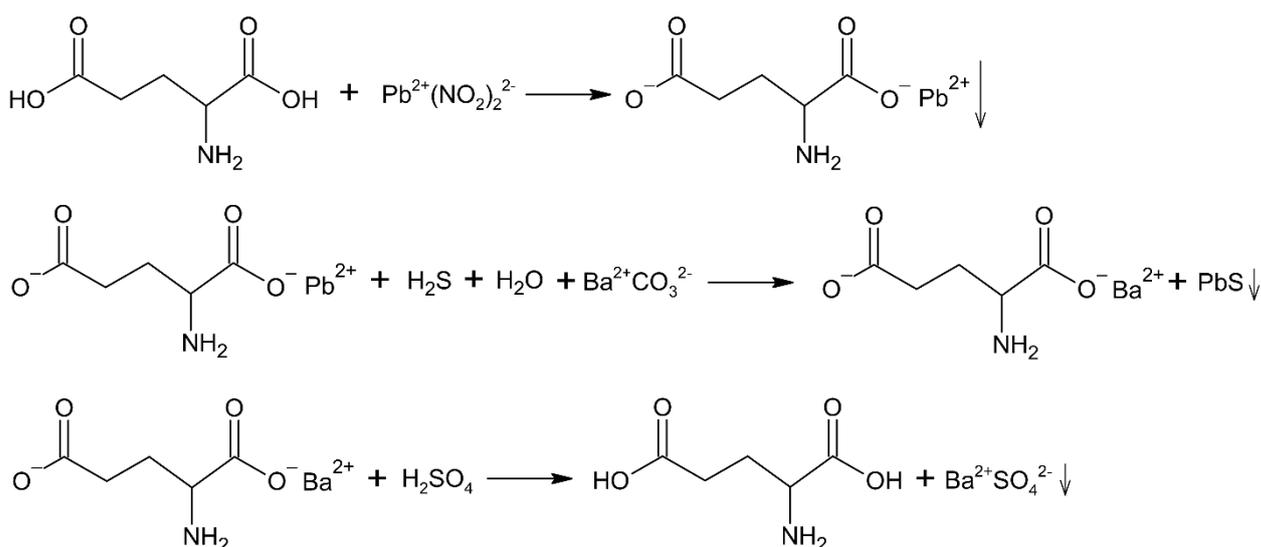


Figura 1 - Schema di isolamento dell'acido glutammico

Attraverso la cristallizzazione, Ikeda rimosse l'argento e ottenne i cristalli di un acido organico neutralizzando la soluzione. Solamente dopo tutti questi passaggi, Ikeda

riuscì a isolare il sale dell'acido organico che dava il gusto al dashi e, di conseguenza, creava l'umami.

Attraverso un'analisi elementare e grazie al peso molecolare scoprì che la molecola da lui individuata era il sale disodico dell'acido glutammico.

L'acido glutammico era già noto alla scienza perché descritto da Ritthausen e, in seguito da Fisher alla fine del XIX secolo. Fisher lo descrive come una sostanza dal gusto aspro e insipido.

Il gusto umami deriva dal glutammato e non dall'acido glutammico ed è per questo che Fisher non associò la sostanza acida al gusto carnoso che ha l'umami. [3]

Le altre due molecole umami, il sale del 5-inosinato e 5-guanilato, sono state scoperte in due differenti cibi. Il primo fu trovato in grande quantità da Shintaro all'interno del katsuobushi, fiocchi di pesce essiccato, mentre il 5-guanilato fu scoperto dall'analisi di lieviti. Solo successivamente fu trovato, in alte concentrazioni, nei funghi shiitake essiccati.

1.3 MSG: struttura, formula e proprietà

Il glutammato monosodico è il sale sodico dell'acido glutammico, commercialmente viene chiamato MSG, oppure E621, codice per identificare gli additivi alimentari. Il numero CAS, un codice univoco per le sostanze chimiche, del MSG è 142-47-2.

Per la nomenclatura IUPAC, il MSG si chiama sale monosodico dell'acido 2-ammino-1,5-pentandioico monoidrato, la formula empirica è $C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$ ed ha un peso molecolare pari a 187,13 g/mol.

In fase di cristallizzazione il MSG forma un cristallo di colore bianco con una struttura ortorombica. Non è un composto igroscopico e non si decompone durante i processi classici di lavorazione degli alimenti o durante la cottura. [6][7]

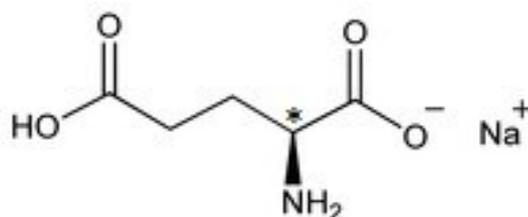


Figura 2 - Struttura del glutammato monosodico, segnata con l'asterisco la presenza del centro chirale [8]

L'acido glutammico è uno dei 20 amminoacidi naturali, è un AA non essenziale, questo vuol dire che il corpo umano è in grado di produrlo autonomamente.

Come si può notare in *figura 2*, l'acido glutammico ha un centro chirale nel carbonio alfa, segnalato con un asterisco e, grazie a questo, è possibile avere due configurazioni denominate L e D come si può osservare nella *figura 3*. Si possono distinguere le due differenti strutture utilizzando la configurazione di Fisher, nella quali si osserva il gruppo amminico del carbonio chirale rispetto alla catena centrale. Se il gruppo funzionale in questione si trova a sinistra la molecola è classificata L, mentre se si trova a destra della catena il composto è classificato D. Tutti gli L amminoacidi, ad esclusione della prolina, hanno configurazione S (*figura 4*).

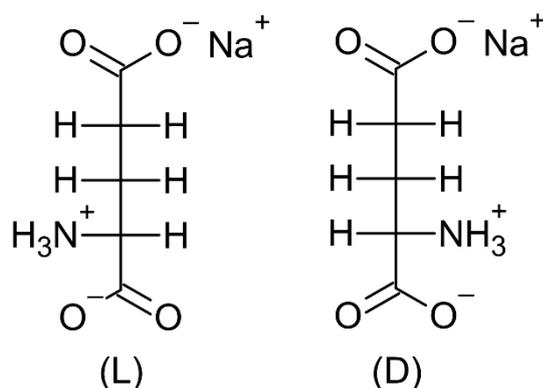


Figura 3 - Configurazione di Fisher del MSG

L'acido glutammico che si trova in natura ha configurazione L. La configurazione opposta, la D, non genera il gusto umami.

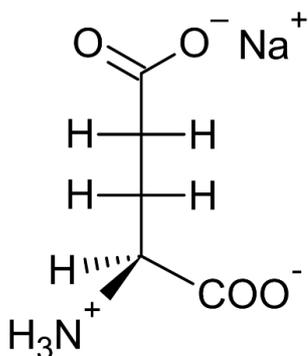


Figura 4 - Struttura MSG, in evidenza il centro chirale al carbonio α che porta la configurazione S

In soluzione acquosa, l'acido glutammico si trova in forma dissociata e ha un valore del punto isoelettrico pI pari a 3,22. Questo valore si presenta più basso degli aminoacidi neutri dissociati perché nella struttura è presente un gruppo carbonilico nella catena R. In *figura 5* è possibile vedere la distribuzione delle cariche dell'acido glutammico e la causa del basso valore del pI . [9]

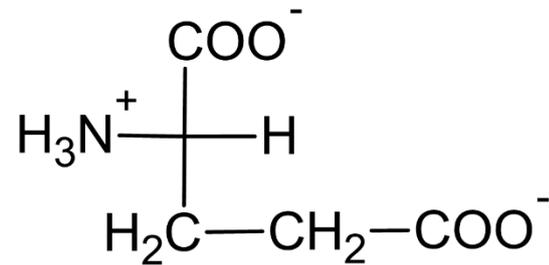


Figura 5 – Dissociazione cariche dell'acido glutammico al pI

2. Produzione industriale

La produzione industriale odierna del glutammato monosodico si aggira attorno a due milioni di tonnellate all'anno e si prevede che in futuro la richiesta aumenti e di conseguenza aumenti anche la sua produzione. L'industria di MSG attuale si basa quasi esclusivamente sul processo di fermentazione, tuttavia, a partire dal 1909 esso è stato prodotto attraverso differenti processi industriali: fino agli anni '60 grazie all'estrazione da fonti naturali, poi per mezzo di sintesi chimica e dalla fermentazione. Quest'ultimo processo è l'unico ancora in uso, in quanto più economico e garantisce una resa maggiore.

Tutti e tre i metodi prevedono la produzione iniziale di acido L-glutammico e, in un secondo momento, la sua salificazione a MSG con l'utilizzo di idrossido di sodio o bicarbonato di sodio. Successivamente si effettua una decolorazione con l'utilizzo di carbone attivo, se necessario, infine la soluzione viene concentrata in sottovuoto a 60°C.

Come ultimo passaggio si effettua una cristallizzazione con successiva centrifugazione per isolare i cristalli che vengono essiccati.

La salificazione e purificazione è comune a tutti e tre i metodi di produzione; quindi, non verrà affrontata nelle spiegazioni seguenti dei tre processi.

2.1 Estrazione

Il primo processo di produzione a livello industriale venne creato da Ikeda nel 1909. Ikeda, insieme a Saburosuke Suzuki, un imprenditore locale, depose il primo brevetto della storia per quanto riguarda il metodo di estrazione del glutammato di sodio. [10]

La fonte primaria per l'estrazione era il glutine presente nel grano, il quale contiene il 25% in peso di acido glutammico.

Il primo passaggio prevedeva la separazione del glutine dalla farina di grano attraverso lavaggi in cui veniva asportato l'amido. Il glutine ottenuto veniva idrolizzato con acido cloridrico acquoso e messo a riscaldare per venti ore in contenitori di ceramica. Trascorse le venti ore di reazione, si otteneva un idrolizzato proteico che veniva lavato per eliminare l'humus, un residuo di colore nero derivante dalla reazione dei carboidrati con gli amminoacidi. Per separare dalla soluzione proteica l'acido L-

glutammico veniva fatto cristallizzare come cloridrato e successivamente filtrato. Questo passaggio è efficace per il processo di estrazione perché il cloridrato dell'acido glutammico ha una solubilità molto bassa in HCl concentrato e molto minore rispetto ai sali di cloro degli altri amminoacidi. Per arrivare alla cristallizzazione del cloridrato dell'acido glutammico è necessario portare la soluzione ad un pH di 0,45 in modo tale che la solubilità si abbassi notevolmente come si può osservare dalla *figura 6*.

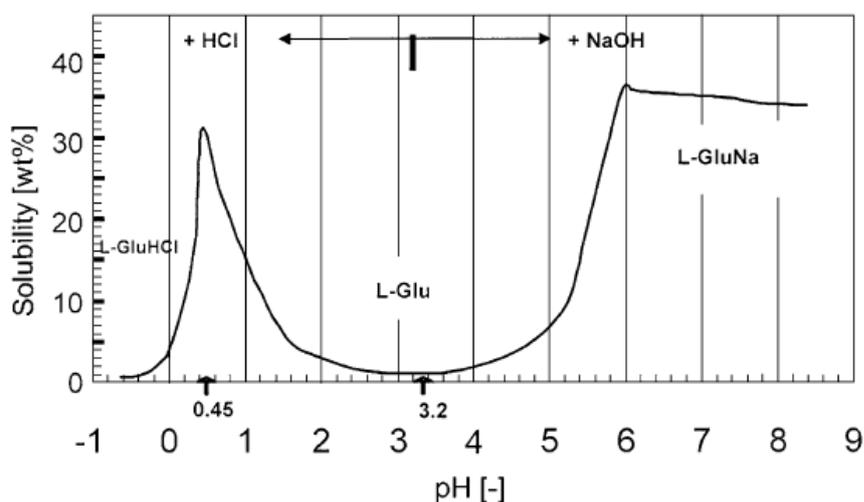


Figura 6 - Solubilità delle forme cristalline di L-Glu a differenti valori di pH a 35°C. È possibile notare la bassa solubilità a pH minori di 0,45 del sale cloridrato. Inoltre, è evidenziata la bassa solubilità dell'acido L-glutammico al pI, pari a 3,22. [11]

Dopo aver estratto il cloridrato dell'acido glutammico, si procedeva con la fase di isolamento. I cristalli erano ridisciolti in acqua e veniva aggiunto idrossido di sodio per regolare il pH al punto isoelettrico dell'acido L-glutammico (pH 3,22) perché a questo pH l'acido glutammico ha una solubilità molto bassa, pari a 0,864 g su 100 mL di acqua a 25 °C ed è un buon requisito per la purificazione, condizione visibile in *figura 6*. La soluzione ottenuta si faceva cristallizzare e successivamente si effettuava la salificazione come descritto precedentemente.

La fase di isolamento serviva anche per aumentare la purezza del composto perché i cristalli dell'acido L-glutammico hanno due strutture polimorfe: una forma α e una forma β .

La forma α dell'acido glutammico è preferita perché granulare e stabile; a pH 3,2 il polimorfo α prevale rispetto alla forma β e durante la formazione del cristallo questa forma riesce ad incorporare selettivamente l'acido L-glutammico.

La forma β del cristallo si ottiene quando la cristallizzazione avviene in modo lento. È possibile in questi casi che il polimorfo α si converta in β .

Oltre alla farina di frumento, sono state trovate altre materie prime per estrarre l'acido glutammico, come ad esempio il filtrato di Steffen o i fiocchi di soia disoleati.

Il filtrato di Steffen è un sottoprodotto del processo Steffen dell'estrazione dello zucchero dalla barbabietola da zucchero. L'acido glutammico, nella barbabietola, si trova sottoforma di glutammina, che, durante il processo di lavorazione dello zucchero, ciclizza ad acido piroglutammico, come mostrato in *figura 7*. L'equilibrio idrolitico tra l'acido piroglutammico e l'acido glutammico, in soluzione neutra è spostato verso la forma ciclica, mentre in soluzione fortemente acida o basica, l'equilibrio è spostato verso la forma aperta dell'acido glutammico, come è possibile vedere nella *figura 8*. [11][12]

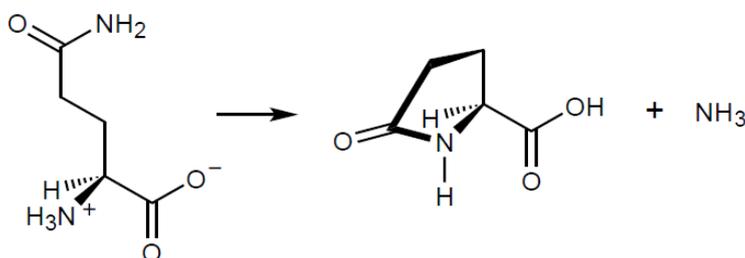


Figura 7 - Ciclizzazione L-glutammina in acido piroglutammico [12]

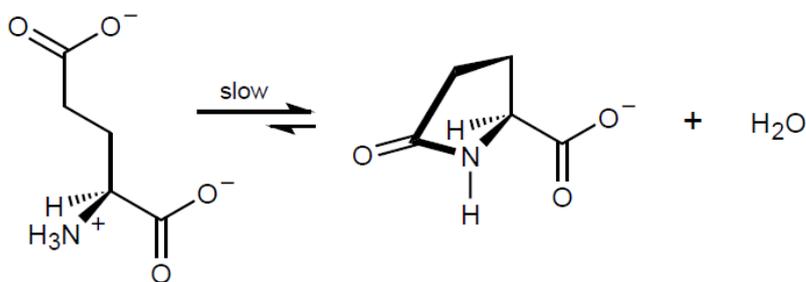


Figura 8 - Equilibrio in soluzione neutra tra acido glutammico e acido piroglutammico [12]

2.2 Sintesi chimica

Il processo di sintesi del glutammato venne sviluppato all'inizio degli anni '50, con la scoperta della reazione d'idroformilazione (processo oxo) da parte di Otto Roelen, che, partendo da un alchene e con l'aggiunta di monossido di carbonio e idrogeno, arrivò alla formazione di un'aldeide.

Per produrre il MSG si parte dall'acrilonitrile C_3H_3N e utilizzando come gas di sintesi CO_2 e H_2 (processo oxo) si ottiene la 3-cianopropanaldeide C_3H_4NO .

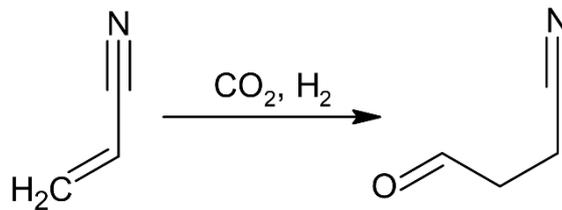


Figura 9 - Reazione d'idroformilazione dell'acrilonitrile

Successivamente si fa reagire l'aldeide ottenuta con il cianuro d'ammonio $NH_4^+CN^-$ per ottenere il 2-amminopentadinitrile $C_5H_7N_3$. Attraverso la sintesi di Strecker si riesce ad ottenere un aminoacido facendo reagire un'aldeide, ammoniaca e cianuro di idrogeno. Nel processo di produzione del MSG questa sintesi viene utilizzata per passare dalla 3-cianopropanaldeide all' α -aminodinitrile.

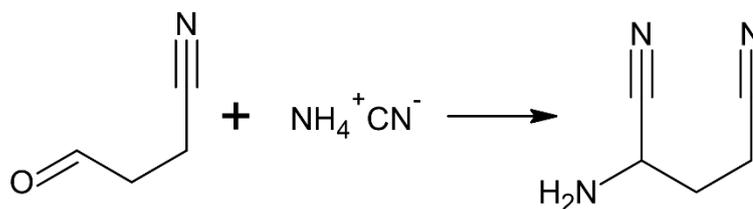


Figura 10 - Sintesi di Strecker: formazione dell'intermedio α -aminodinitrile

Per ottenere l'acido glutammico si idrolizza l'intermedio della sintesi di Strecker, l' α -aminodinitrile, con idrossido di sodio $NaOH$ e acqua H_2O . Da tutto il processo di sintesi si ottengono due equivalenti di ammoniaca NH_3 che possono essere utilizzati per la produzione del cianuro di ammonio.

La produzione industriale odierna di glutammato monosodico si basa quasi interamente sul processo di fermentazione perché è economicamente vantaggioso e si ottiene direttamente l'enantiomero S dell'acido glutammico, quello desiderato, con una resa del 60% circa.

Nel 1956, il Dr. Udaka, ricercatore della Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd., riuscì a scoprire un batterio produttore di glutammato, il *Corynebacterium glutamicum*. Con lo sviluppo delle ricerche sono stati indentificati successivamente anche altri batteri in grado di produrre glutammato, come il *Brevibacterium lactofermentum*, il *Brevibacterium flavum*, *Corynebacterium lilium*.

Negli ultimi vent'anni sono stati isolati nuovi batteri che sono stati denominati *Corynebacterium efficiens*. Il vantaggio di questi ultimi microrganismi è la capacità di crescita a 45°C, quindi, a temperature più alte rispetto agli altri batteri.

Dato che le principali industrie produttrici di glutammato si trovano in zone tropicali, l'utilizzo di batteri termofili è conveniente per abbassare i costi di raffreddamento del reattore. È anche stato possibile modificare le vie metaboliche di alcuni batteri per far sì che producessero glutammato, un esempio è dato dall'*Escherichia coli*.

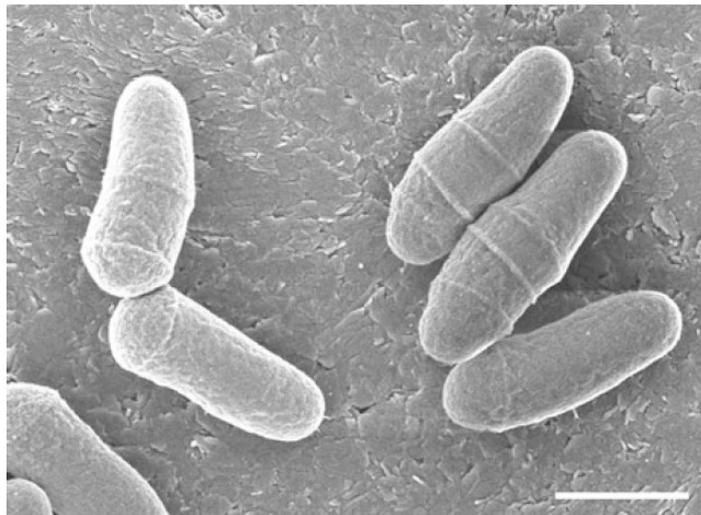


Figura 12 - Corynebacterium glutamicum visti al microscopio elettronico a scansione, scala 1 μ m [13]

La fonte principale di carbonio per i *C. glutamicum* è influenzata dalla posizione geografica dell'impianto industriale. In Europa viene utilizzata principalmente la

melassa di barbabietola o di canna, in nord America si sfrutta maggiormente l'idrolizzato di mais, mentre quello di manioca è usato come fonte primaria in Asia.

Sono stati fatti alcuni studi per riuscire a diversificare le fonti di carbonio e utilizzare ad esempio la paraffina, i n-alcani o alcoli. I ricercatori hanno analizzato differenti tipi di batteri che potessero produrre il glutammato a partire da queste fonti energetiche. Inoltre, si è studiata la produzione di glutammato per via fotosintetica in alcune alghe utilizzando come fonte di carbonio la CO₂.

Le condizioni operative fondamentali che devono essere controllate per la coltura di questo tipo di batterio sono: la concentrazione di ossigeno, il pH, la temperatura e la concentrazione di biotina. Il batterio *C. glutamicum* lavora in modo aerobico; è dunque necessario apportare una sufficiente quantità di ossigeno al reattore; in caso di insufficienza, il batterio produce acido lattico e/o acido succinico.

Il secondo parametro è il pH, il quale dev'essere mantenuto un pH poco sopra alla neutralità.

La temperatura deve essere controllata e mantenuta costante a circa 30°C.

Infine, il problema maggiore riguarda la biotina: i *C. glutamicum* sono auxotrofi della biotina, molecola che serve loro per la crescita e la formazione della membrana cellulare. In presenza di essa avviene una bassa produzione di glutammato perché non ne permette il rilascio, quindi, per avere una sovrapproduzione di glutammato è necessario operare in limitazione di biotina. Per ovviare a ciò si possono utilizzare alcuni tensioattivi come il Tween 40 (poliossietilene sorbitano monopalmitato) o il Tween 60 (poliossietilene sorbitano monostearato), oppure degli antibiotici come la penicillina, che influenzano le strutture della superficie cellulare del batterio per la fuoriuscita dell'amminoacido.

Inizialmente si riteneva che il *C. glutamicum* avesse vie biosintetiche specifiche per la produzione del glutammato, si scoprì invece che il loro metabolismo legato alla sintesi del glutammato è simile a quello di altri microrganismi. La sintesi del L-glutammato è una fissazione riduttiva ed ha come reagenti il 2-ossoglutarato e l'ammoniaca che viene catalizzata dalla glutammato deidrogenasi (GDH) con il NADPH come riducente.

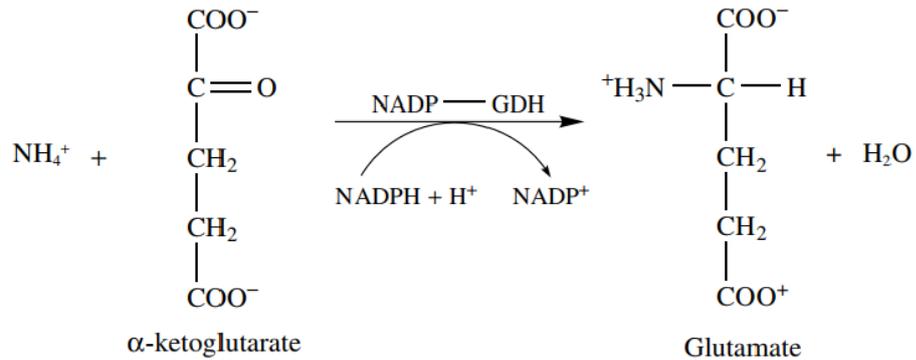


Figura 13 - Reazione di sintesi del L-glutammato a partire dal α -chetoglutarato [14]

Il 2-ossoglutarato, o α -chetoglutarato, è un intermedio all'interno del ciclo di Krebs e viene prodotto a partire dal isocitrato, per poi essere convertito a succinil-CoA. Questa conversione è catalizzata dall'ODHC, 2-ossoglutarato deidrogenasi. Alcuni studi hanno scoperto che durante la sintesi del glutammato, l'attività dell'ODHC diminuisce. Questo fattore è necessario per la produzione del glutammato, perché l'ODHC si trova tra il ciclo di Krebs e la sintesi del glutammato, osservabile in figura 14, e la diminuzione della sua attività fa accumulare il 2-ossoglutarato, precursore del glutammato.

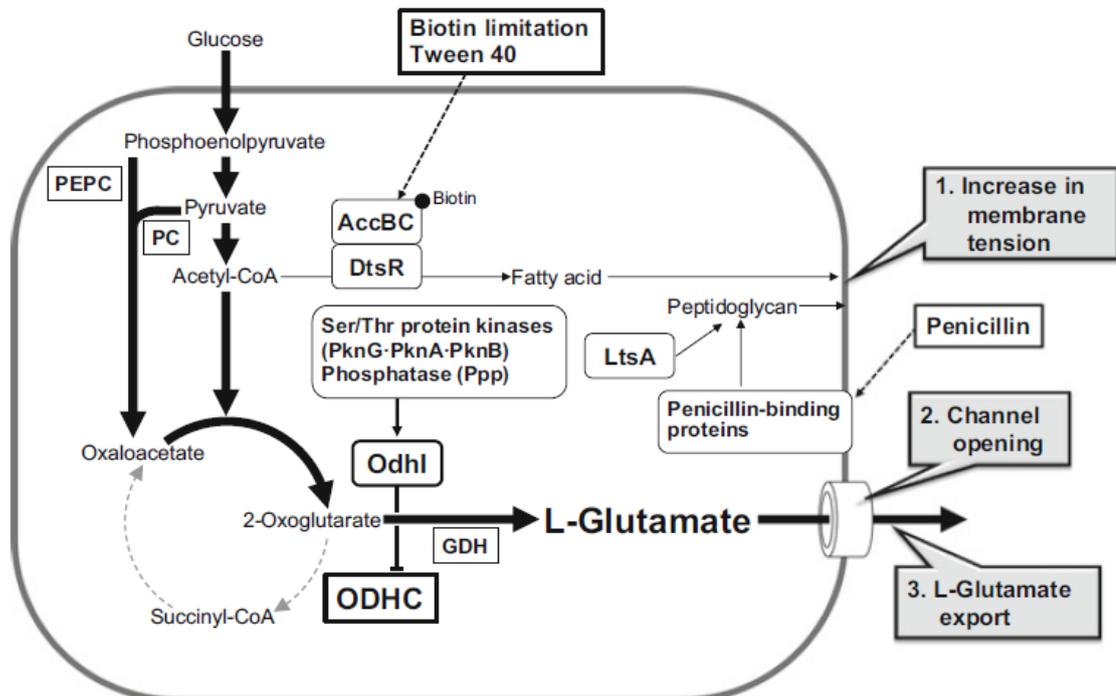


Figura 14 - Schema della sintesi del L-glutammato in *Corynebacterium glutamicum* [13]

Il meccanismo di uscita del glutammato dal batterio non è ancora del tutto compreso. Ad ora ci sono due modelli:

1. Il primo ha come ipotesi la permeabilità della membrana cellulare che viene modificata da parte della limitazione di biotina e dalla presenza dei tensioattivi o antibiotici. Questa tesi però non è molto accreditata perché alcuni studi hanno dimostrato che la perdita di glutammato avviene anche contro gradiente ed è specifica per questo amminoacido e ciò avvalorava la seconda tesi.
2. Il secondo prevede la presenza di una proteina con un canale meccano-sensibile, denominato NCgl1221, che compie un trasporto attivo attraverso la membrana cellulare; la variazione della tensione di membrana dovuta all'accumulo di L-glutammato farebbe attivare questo canale meccano-sensibile per l'esportazione dell'amminoacido.

La produzione di L-glutammato per via fermentativa può avvenire con tre modalità di fermentatori differenti: discontinuo (FC), in continuo (CC) oppure in continuo con riciclo (CRCC), come è possibile vedere nella *figura 15*.

La modalità discontinua (FC) prevede l'inserimento dei batteri e dell'alimentazione nel reattore e solo a sintesi avvenuta è possibile estrarre il glutammato: si ottiene così una resa di circa il 25%. Il vantaggio di questo metodo è il controllo della concentrazione di zucchero immesso perché è possibile tenere valori bassi ed evitare sottoprodotti indesiderati. Inoltre, si ha un miglior controllo dell'aerazione in modo tale da evitare eventuali crescite eccessive dei batteri che potrebbero superare la capacità del reattore e di conseguenza abbassare la resa.

Attraverso la fermentazione in continuo (CC) si ha la possibilità di produrre glutammato introducendo l'alimentazione ed estraendo il prodotto senza fermare il processo. Con questo tipo di coltura si ottengono rese del 55%, molto superiori al processo discontinuo, ed è possibile far lavorare la fermentazione per un tempo maggiore con la conseguenza di un aumento di produttività.

Per aumentare la resa e il tempo di rendimento si può optare per il processo in continuo con riciclo (CRCC). In questo metodo è possibile estrarre il brodo di coltura e mediante centrifugazione si possono separare il prodotto dai batteri che poi vengono riciclati nel fermentatore.

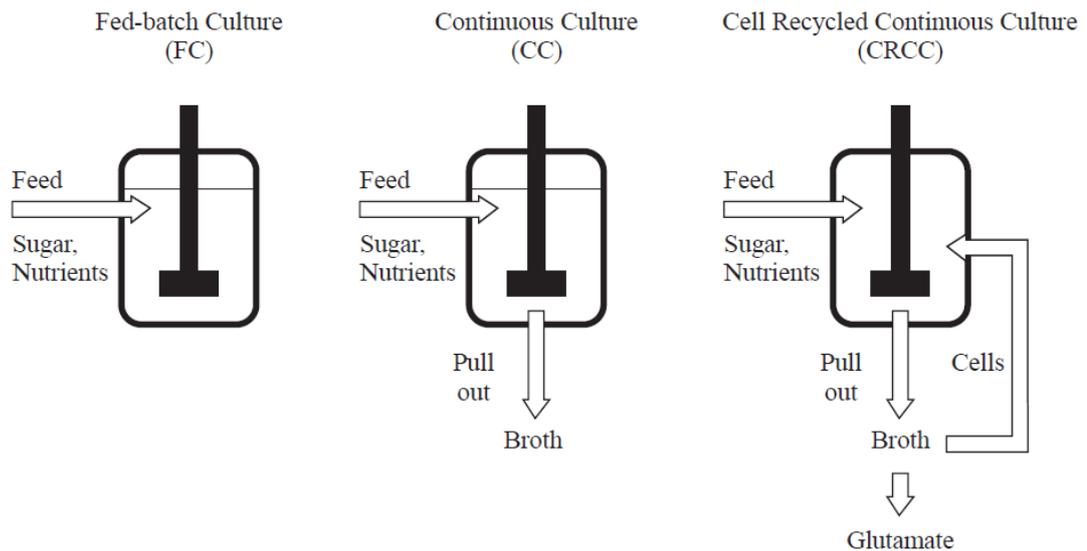


Figura 15 - Tipologie di fermentatori utilizzati per la produzione del glutammato [15]

Successivamente alla sintesi, per tutti e tre i processi sopra riportati, viene estratto il brodo di coltura per poi ricavarne il glutammato. Si esegue per prima una filtrazione e centrifugazione, poi si effettuano alcuni trattamenti con resine a scambio ionico ed infine si esegue una cristallizzazione regolando il pH al punto isoelettrico in modo tale da far precipitare l'acido glutammico. Come ultimo passaggio avviene la salificazione come precedentemente spiegato nell'introduzione del capitolo 2.

La ricerca riguardante la produzione da parte di batteri del L-glutammato e sul loro meccanismo di sovrapproduzione è tuttora in fase di studio. Ad esempio, attraverso la determinazione della sequenza del genoma si sta cercando di introdurre mutazioni in nuovi ceppi di batteri in modo da aumentarne la produttività abbassando i costi e migliorandone la crescita. [11][12][13][15][16]

3. **MSG oggi**

3.1 **Concentrazione negli alimenti e metodi analitici**

Per preparare un piatto con un forte gusto di umami è possibile aggiungere il glutammato utilizzando alimenti che lo contengono in modo naturale oppure è possibile aggiungerlo sotto forma di cristalli.

Il MSG è presente in natura sia in forma legata nelle proteine sia in forma libera ed è presente sia in alimenti vegetali che in quelli animali, per esempio l'alga konbu, il pomodoro, il parmigiano, le sardine, la salsa di soia e il latte materno. Invece, è possibile trovare l'inosinato solo in alimenti di origine animale, come cavallo, maiale, manzo, pollo, tonno, sgombro, mentre si trova il guanilato nei vegetali e principalmente nei funghi.

Il contenuto di glutammato varia molto con il tipo di conservazione e la stagionatura, il latte di mucca contiene solamente 1 mg/100g di glutammato libero, mentre il parmigiano reggiano ne contiene 1680 mg/100g. Valori elevati si ottengono anche con la maturazione degli ortaggi e con la fermentazione, un pomodoro maturo avrà un sapore umami più alto di un pomodoro ancora acerbo.

Alti valori di 5-inosinato si trovano solamente dopo circa 10 ore dalla morte del pesce perché deve avvenire la decomposizione dell'ATP in AMP e successivamente ad inosinato. Il 5-guanilato deriva dalla decomposizione dell'acido ribonucleico che avviene solamente dopo la morte delle cellule ed entra in azione l'enzima ribonucleasi; quindi, la concentrazione più alta viene trovata nei funghi essiccati rispetto a quelli freschi. In media l'inosinato si trova negli alimenti con una concentrazione tra i 100 e i 300 mg/100g, mentre il guanilato ha valori di 10 – 150 mg/100g di prodotto.

Nella *Tabella 1* sotto riportata è possibile osservare le concentrazioni di queste tre molecole in vari alimenti, mentre in *Tabella 2* sono riportati valori percentuali di MSG, IMP, GMP aggiunti a cibi processati industrialmente.

Tabella 1 – Concentrazione percentuale di acido glutammico, IMP e GMP in alimenti naturali [7]

Food	Free glutamic acid (%)	IMP (%)	GMP (%)
Bonito, dehydrated		0.630-1.310	0
Cow's milk	0.002	0.115-0.326	0.002-0.005
Cheeses	0.390-1.200		
Fish		0.100-0.421	0
Meat	0.023-0.044	0.020-0.200	0.002-0.005
Shiitake		0	0.045-0.103
Shiitake, dehydrated		0	0.126
Vegetables	0.047-0.246	0.000-0.001	0.000-0.001

Tabella 2 - Contenuto di MSG, IMP, GMP in alimenti processati industrialmente [7]

Food	Usage level (%)			
	MSG	IMP	GMP	IMP/GMP
Cheese, processed	0.40-0.50			0.005-0.010
Dressings	0.30-0.40			0.010-0.150
Hamburgers, frozen	0.10-0.15	0.002-0.004	0.001-0.002	0.001-0.002
Ketchup	0.15-0.30			0.010-0.020
Mayonnaise	0.40-0.60			0.012-0.018
Meat and fish products, canned	0.07-0.30	0.010-0.015	0.004-0.007	0.001-0.010
Snacks	0.10-0.50	0.005-0.010	0.002-0.004	0.003-0.007
Soups and sauces, canned	0.12-0.18	0.004-0.005	0.002	0.002-0.003
Soups and sauces, dehydrated	5.00-8.00	0.200-0.260	0.090-0.110	0.100-0.200

La variazione nella quantità di glutammato nei prodotti alimentari dipende anche dalla metodologia di analisi eseguita. Negli anni sono stati sviluppati diversi metodi per la ricerca del MSG. Esistono procedimenti spettrofotometrici, cromatografici, elettrochimici e fluorimetrici. Per la separazione del MSG dalla matrice, la tecnica più

utilizzata è la FIA, iniezione di flusso, per via enzimatica o con HPLC, mentre per la rivelazione si sfrutta la spettrometria o l'elettrochimica.

La difficoltà di analisi su matrici alimentari è la presenza di composti che interferiscono nelle misure, per questo motivo si impiegano metodi enzimatici che hanno una selettività migliore nei confronti del MSG e un più rapido pretrattamento del campione. Il reattore enzimatico viene inserito in un'analisi a flusso dove è presente un carrier liquido che serve al trasporto dell'analita. Il MSG reagisce con l'enzima per dare un prodotto che viene successivamente rivelato. Gli enzimi che vengono adoperati sono ancorati ad elettrodi a membrana o a perle di vetro e ad esempio sono il L-glutammato ossidasi (GIOD), L-glutammato decarbossilasi (GLAD) e il L-glutammato deidrogenasi (GIDH).

Altri metodi che vengono usati sono per via HPLC a fase inversa, però, hanno alcuni svantaggi operativi rispetto all'analisi enzimatica. Per riuscire ad aumentare la sensibilità al rivelatore, le molecole di MSG si devono derivatizzare, prima o dopo la colonna, e questo implica trattamenti complicati e dispendio di risorse. Tipicamente si utilizza una colonna C18.

La derivatizzazione viene eseguita con o-ftalaldeide, fenil isotiocianato o fluoroenilmetilcloroformiato. La loro rilevazione avviene in fluorescenza o in UV, le lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione variano in base al tipo di derivato usato, per l'eccitazione il valore di lambda varia da 250 a 265 nm circa e per l'emissione a 340 nm. Inoltre, è necessario lavorare in eluizione isocratica per avere una migliore separazione degli analiti presenti. Mediamente come carrier vengono utilizzati tamponi a fosfato o a sodio citrato, metanolo e acetonitrile.
[3][4][17][18][19][20]

3.2 Recettori e sinergismo MSG con i 5-nucleotidi

L'umami è stato supportato nell'accettazione come quinto gusto in occidente solamente all'inizio degli anni duemila in seguito alla scoperta di differenti recettori nelle papille gustative. Un recettore di gusto è una molecola che viene stimolata da

un'altra specifica per poi inviare un segnale nervoso al cervello che farà percepire un determinato sapore.

I ricercatori hanno identificato tre recettori responsabili per il gusto umami nell'uomo, i quali sono T1R1+T1R3, mGluR4 e mGluR1. Questi recettori sono appartenenti alla famiglia C dei GPCR, recettori accoppiati alla proteina G.

T1R1+T1R3 è considerato il recettore principale per rilevare il gusto umami. È un eterodimero, nel quale è presente una parte extracellulare chiamata modulo acchiappamosche di Venere. Questa zona è composta da un sito in cui si va a legare il glutammato stabilizzando la conformazione attiva del recettore.

La conformazione attiva del recettore può essere ulteriormente stabilizzata dalla presenza dei 5-nucleotidi, come il IMP o il GMP, questo porta a un aumento della sensazione dell'umami, come è possibile vedere nella *figura 16* sottostante. Il 5-inosinato e il 5-guanilato non generano gusto umami e sono insapori, mentre si crea una forte sinergia assieme al MSG. La presenza dei 5-nucleotidi può aumentare la sensazione di umami fino a sei o otto volte rispetto alla percezione del solo glutammato. Questa sinergia viene sfruttata efficacemente in ambito gastronomico, ad esempio nel ragù dove avviene l'unione della carne bovina che contiene 5-inosinato con verdure contenenti glutammato come cipolla, carota, sedano e pomodoro.

La soglia gustativa del MSG è decisamente inferiore a quella del sale o del saccarosio che sono rispettivamente 0,3 g/L, 2 g/L e 5 g/L. Questo valore molto basso fa sì che serva anche un quantitativo minimo di glutammato per avere un buon gusto umami.

[3][4][5][17][22]

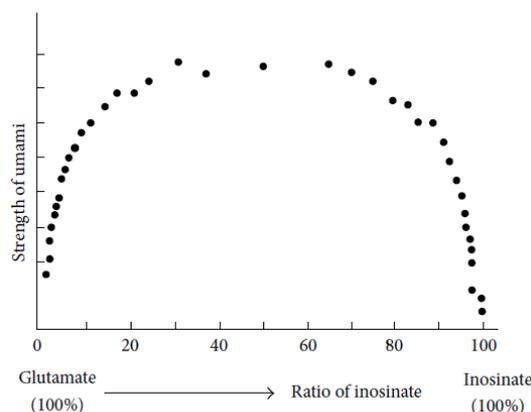


Figura 16 - Effetti sull'intensità dell'umami con l'aggiunta dell'IMP al glutammato [17]

3.3 Nocività

Il glutammato di sodio viene associato soprattutto alla CRS, sindrome da ristorante cinese. Verso gli anni '60, negli USA, ci fu una crescita esponenziale di ristoranti cinesi, i quali utilizzavano grandi quantità di MSG.

I frequentatori di questi ristoranti hanno iniziato in quel periodo a denunciare i medesimi poiché, secondo loro, l'uso di MSG in cucina portava alla nascita di patologie cliniche. I sintomi più caratteristici che venivano citati erano mal di testa, vertigini, nausea, sudorazione, bruciore agli arti, eruzioni cutanee, asma.

Negli anni successivi vennero intensificati gli studi riguardanti la nocività del glutammato, ma nessuno di questi, nemmeno quelli in doppio ceco controllati con placebo, portarono a una vera correlazione tra i sintomi riportati e l'assunzione di MSG.

Alcuni degli studi eseguiti hanno portato alla correlazione di alcuni effetti da parte del glutammato nei confronti del metabolismo, del peso corporeo e del sistema nervoso, però non possono essere presi in considerazione perché le dosi utilizzate, tra 0,5 e 1,5 g/Kg di peso corporeo, non sono confrontabili con l'assunzione regolare giornaliera di MSG aggiunto che è di circa 0,3 - 3 g/giorno.

Altri studi sulle cavie hanno rilevato danni al sistema celebrale, nervoso e riproduttivo, ma nemmeno questi dati sono accettabili nei confronti dell'apporto alimentare umano perché il tipo di somministrazione e le dosi eseguite per gli esperimenti sono stati effettuati per via sottocutanea, endovenosa o direttamente nel sistema encefalico, molto differente dall'assunzione abituale di tipo orale. Nonostante gli studi non generino una consistente relazione tra l'assunzione di MSG e i sintomi, alcuni sintomi sono possibili a breve termine per individui sensibili con un consumo costante superiore a 3 g di MSG al giorno.

Durante l'analisi della nocività del glutammato monosodico bisogna anche considerare che il corpo umano lo produce autonomamente in grandi quantità, circa 50 g al giorno, che viene utilizzato nel cervello come neurotrasmettitore, nei muscoli, nel fegato, e nei reni.

La maggior parte del glutammato ingerito, sia quello libero sia quello presente nelle proteine, viene utilizzato come fonte di energia o come precursore per la sintesi di altri

aminoacidi, solo una minima parte entra in circolazione, ma mai nel sistema encefalico. Il cervello auto sintetizza il glutammato che gli è necessario ed è impermeabile a quello che viene assunto ed entra in circolazione nel corpo. Un'eccessiva concentrazione di MSG nel cervello porterebbe a gravi sintomi neurologici come emicrania, convulsioni, deficit dell'attenzione e differenti morbi come quello di Parkinson e Alzheimer. [22][23][24]

3.3 Regolamentazione

Il MSG viene ritenuto sicuro da differenti agenzie governative di regolamentazione della sicurezza alimentare.

L'EFSA, European Food Safe Authority, nel 2017 ha pubblicato una rivalutazione della sicurezza dell'acido glutammico e dei suoi sali codificati E620-E624, ritenendone l'ingestione alimentare sicura e ha stabilito un'assunzione giornaliera accettabile, espressa come acido glutammico, di 30 mg/Kg di peso corporeo.

La FDA, Food and Drug Administration degli Stati Uniti, ha inserito il glutammato nella lista GRAS, lista che definisce le sostanze generalmente riconosciute come sicure. Nonostante la sicurezza del prodotto, molte agenzie governative come quella europea, statunitense o australiana richiedono che nella lista degli ingredienti presente nell'etichetta alimentare si debba specificare l'aggiunta di MSG o la presenza di alimenti che lo contengono naturalmente, come proteine idrolizzate o lieviti idrolizzati. [22][25]

4. Conclusioni

Il gusto umami è ufficialmente riconosciuto come quinto gusto di base, un sapore molto ricercato dalla cucina asiatica e che sta venendo scoperto anche da quella occidentale.

Questo gusto deriva dalla presenza del glutammato monosodico e da altre molecole, come il 5-inosinato disodico e il 5-guanilato disodico, presenti naturalmente negli alimenti, sia animali che vegetali. Nell'industria alimentare queste molecole vengono sfruttate per migliorare il gusto dei prodotti e per aumentarne l'appetibilità.

La ricerca continua a svilupparsi nel campo alimentare per studiarne e migliorarne la produzione in larga scala. Si sta approfondendo la sintesi del glutammato da parte dei batteri ed i meccanismi per migliorarne l'efficienza e la resa.

A oggi non si conoscono ancora con certezza i recettori che percepiscono il gusto umami nel corpo umano, quando questi verranno caratterizzati sarà possibile sviluppare nuove molecole generatrici del ricercato quinto gusto.

Negli ultimi anni l'attenzione è stata rivolta anche a nuovi metodi di produzione che fossero più eco sostenibili, data la grave crisi climatica che affligge il pianeta, e che fossero in grado di garantire una resa migliore [26][27]. I ricercatori stanno continuando gli studi riguardo la nocività di queste molecole per la salvaguardia delle persone e per capirne gli effetti a lungo termine.

Nonostante il MSG, a volte, venga visto come una sostanza da evitare, utilizzata per coprire il gusto di alimenti sgradevoli, esso viene utilizzato per esaltare la presenza di molecole che la maggior parte delle volte sono già naturalmente presenti negli alimenti e dare così al piatto risultante un gusto molto ricercato e gradevole sia al palato che al nostro cervello.

5. Bibliografia

- [1] Curtis, R.; "Umami and the foods of classical antiquity"; *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(3), **2009**, pp 712S–718S; <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462C>
- [2] Brillat-Savarin, J.A. *La Fisiologia del gusto*; 1825, 81
- [3] Kurihara, K.; "Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami)"; *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(3), **2009**, pp 719S–722S; <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462D>
- [4] Yamaguchi, S.; Ninomiya, K.; "Umami and Food Palatability"; *The Journal of Nutrition*, 130(4), **2000**, pp 921S–926S; <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.921S>
- [5] Zhang, Y.; Venkitasamy, C.; Pan, Z.; Liu, W.; Zhao, L.; "Novel Umami Ingredients: Umami Peptides and Their Taste"; *Journal of Food Science*, 82, **2017**, pp 16-23; <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13576>
- [6] Sano, C.; Nagashima, N.; Kawajita, T.; Iitaka, Y.; "Crystal and Molecular Structures of Monosodium L-Glutamate Monohydrate"; *Analytical Sciences*, 5(1), **1989**, pp 121-122; <https://doi.org/10.2116/analsci.5.121>
- [7] Preston, H.D.; van Croonenborgh, R.F.; Marsden, W.J.N.; Matheis, G.; Gerard, D.; Quirin, K.-W.; "Raw Materials for Flavourings: Non-flavouring Ingredients" In *Flavourings*; H. Ziegler (Ed.), 2007, pp 353-362; <https://doi.org/10.1002/9783527611454.ch3c>
- [8] <https://www.sigmaaldrich.com/IT/it/product/aldrich/49621>
- [9] <http://www.scienze.uniroma2.it/wp-content/uploads/2009/10/02-AAPeptidi.pdf>; accesso in rete 04/11/2009
- [10] Ikeda, K.; Suzuki, S.; "Nutritive and flavoring substance and process of making same"; US Patent US1,035,591A, 1912
- [11] Sano, C.; "History of glutamate production"; *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(3), **2009**, pp 728S–732S; <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462F>
- [12] Ault, A.; "The Monosodium Glutamate Story: The Commercial Production of MSG and Other Amino Acids"; *Journal of Chemical Education*, 81, 3, **2004**, pp347; <https://doi.org/10.1021/ed081p347>
- [13] Hirasawa, T., Wachi, M. "Glutamate Fermentation-2: Mechanism of L-Glutamate Overproduction in *Corynebacterium glutamicum*" In *Amino Acid Fermentation. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 159; Yokota, A., Ikeda, M. (Eds.), Springer, Tokyo, 2016. https://doi.org/10.1007/10_2016_26

- [14] https://elearning.unite.it/pluginfile.php/230247/mod_resource/content/2/16-Metabolismo%20azotato%20nei%20lieviti.pdf accesso in rete 06/04/2022
- [15] Kimura, E.; “L-Glutamate Production” In *Handbook of Corynebacterium glutamicum*; Eggeling, L.; Bott, M. (Eds.), CRC Press, Boca Raton, 2005, pp 439-463; <https://doi.org/10.1201/9781420039696>
- [16] Hashimoto, Si.; “Discovery and History of Amino Acid Fermentation” In *Amino Acid Fermentation. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 159; Yokota, A., Ikeda, M. (Eds.), Springer, Tokyo, 2016, pp 15-34. https://doi.org/10.1007/10_2016_24
- [17] Kurihara, K.; “Umami the Fifth Basic Taste: History of Studies on Receptor Mechanisms and Role as a Food Flavor”; *BioMed research international*, **2015**, 189402; <https://doi.org/10.1155/2015/189402>
- [18] Baldini, M; Fabietti, F.; Giammarioli, S.; Onori, R.; Orefice, L.; Stacchini, A.; *Metodi di analisi utilizzati per il controllo chimico degli alimenti*; Istituto Superiore di Sanita; 1996, Rapporti ISTISAN 96/34
- [19] C. Acebal, C.; G. Lista, A.; “Determination of Monosodium Glutamate” In *Flow Injection Analysis of Food Additives*; Ruiz-Capillas, C.; Nollet, L.M.L.; (Eds.), CRC Press, Boca Raton, 2015, pp 513-527; <https://doi.org/10.1201/b19644>
- [20] Populin, T.; Moret, S.; Truant, S.; S. Conte, L.; “A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate”; *Food Chemistry*, 104(4), **2007**, pp 1712-1717; <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.034>
- [21] Zhang, Y.; Venkitasamy, C.; Pan, Z.; Liu, W.; Zhao, L.; “Novel Umami Ingredients: Umami Peptides and Their Taste”; *Journal of food science*, 82(1), **2017**, pp 16–23. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13576>
- [22] Helen Nonye Henry-Unaeze; “Chapter 17 - Monosodium glutamate in foods and its biological importance” In *Ensuring Global Food Safety (Second Edition)*; Martinović, A.; Oh, S.; Lelieveld, H. (Eds.), Academic Press, 2022, pp 341-357; <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816011-4.00022-7>
- [23] Freeman, M.; “Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review”; *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*, 18(10), **2006**, pp 482–486; <https://doi.org/10.1111/j.1745-7599.2006.00160.x>
- [24] Morselli, P.; Garattini, S.; “Monosodium Glutamate and the Chinese Restaurant Syndrome”; *Nature*, **1970**, 227, pp 611–612; <https://doi.org/10.1038/227611a0>

- [25] EFSA Journal 2017;15(7):4910 <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4910>
- [26] Dong, L.; Li, Y.; Wang, P.; Feng, Z.; Ding, N.; “Cleaner production of monosodium glutamate in China”; *Journal of Cleaner Production*, 190, **2018**, pp 452-461; <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.04.098>
- [27] Ding, J.; Hu, X.; Feng, Z.; Dong, L.; “Environmental life cycle assessment of monosodium glutamate production in China: Based on the progress of cleaner production in recent ten years”; *Science of The Total Environment*, 818, **2022**; <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151706>