

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE INOSINATO E GUANILATO DE SÓDIO EM REALÇADORES DE SABOR *

Walkyria H. LARA **
Helena Y. YABIKU **

RIALA6/435

LARA, W.H. & YABIKU, H.Y. — Determinação espectrofotométrica de inosinato e guanilato de sódio em realçadores de sabor. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:37-45, 1977.

RESUMO: É apresentado um método simples e rápido para controle analítico de composições contendo 5'ribonucleotídeos em realçadores de sabor dos alimentos. Este é baseado nas diferenças de absorção na região do ultravioleta que essas substâncias apresentam. O estudo dos espectros obtidos, para uma série de amostras preparadas nas proporções geralmente usadas em realçadores de sabor de alimentos, mostra a validade do método proposto.

DESCRITORES: realçadores de sabor, guanilato de sódio e inosinato de sódio em glutamato de sódio; alimentos, realçadores de sabor.

INTRODUÇÃO

Para alcançar e manter as características de sabor dos produtos, o processamento de alimentos tem tido à disposição um grande número de óleos essenciais naturais e aromas que, selecionados e misturados, podem simular o sabor dos produtos naturais. Relativamente, poucos compostos puros têm sido utilizados para tal; recomendados como temperadores ou realçadores de sabor, tais compostos contribuem mais por sua habilidade para matizar e modificar outras características de sabor do que propriamente pela adição de um novo sabor.

Glutamato monossódico (MSG) é um excelente exemplo de um composto empregado da maneira acima descrita. Sua habilidade é largamente reconhecida e aplicada em indústrias do mundo todo, principalmente no Japão⁵.

Outros compostos como o 5' ribonucleotídeos também são capazes de modificar e realçar o sabor e por isso oferecem à indústria alimentícia novas oportunidades nesse sentido.

A história, desenvolvimento e aplicação destes compostos foi discutida por KUNINAKA *et alii*⁴ e SHIMAZONO⁶.

O conhecimento da relação entre ribonucleotídeos e sabor deve-se a Kodama (1913) que descobriu ser o sal histidínico do ácido inosínico o principal componente do sabor do peixe "bonito" seco. Trabalhos mais recentes da literatura japonesa reconhecem o ânion inosinato como a parte ativa da molécula.

Kuninaka *et alii* (1959), Kuninaka (1960, 1961), Sakaguchi (1959) e Sakaguchi *et alii* (1960) comunicaram que fosforilação na posição 5' da ribose é essencial para realçadores de sabor. Isômeros com o grupo fosfórico nas posições 2' e 3' são inativos. Kuninaka (1960) também verificou que, a fim de ter atividade de sabor, o anel purina precisa possuir um grupo hidroxila na posição 6.

Como resultado dessas observações, o uso de 5'ribonucleotídeos em alimentos cresceu rapidamente no Japão, estendendo-se aos demais países, entre eles o Brasil. Estudos têm sido feitos da ocorrência natural destes com-

* Realizado na Seção de Aditivos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

postos, sua bioquímica, suas propriedades de condimento e sua aplicação^{3,7,10}. Muita atenção tem sido dada à sua habilidade de intensificar sabores e também à sua interação com aminoácidos para tal finalidade⁴.

A concentração mínima de glutamato monossódico (MSG), inosinato dissódico (IMP), guanilato dissódico (GMP) em solução, na qual o gosto é perceptível, é chamada "nível de reconhecimento". O limite de nível de reconhecimento destes 5' ribonucleotídeos foi estudado por vários autores¹¹, sendo da ordem de 0,01%.

Quando MSG é usado em combinação com IMP e GMP, a concentração do gosto ultrapassa aquela causada isoladamente e pode ser detectada mesmo abaixo de cada nível de reconhecimento. A tabela 2 mostra as combinações mais usadas.

STIER *et alii*¹² em seus trabalhos mostraram que a mistura IMP e GMP é mais eficiente como realçador de sabor do que o IMP sozinho.

Vários métodos analíticos para determinação qualitativa e/ou quantitativa de ribonucleotídeos foram realizados.

MACY & BAILEY⁹ introduziram um método rápido de separação e determinação quantitativa de nucleotídeos por cromatografia de troca iônica e leitura posterior das frações coletadas na região do ultravioleta, a 254 nm. Por outro lado, CERLETTI² conseguiu uma boa separação de ribonucleotídeos de adenosina e inosina, utilizando a técnica de cromatografia em papel. O solvente usado foi solução de bicarbonato de amônia a 16%, e as manchas, reveladas sob luz ultravioleta.

Em 1966, SHUTO *et alii*⁹ conseguiram diferenciar e analisar mistura de 5' fosfato de inosina e 5' fosfato de guanosina por meio de uma reação de bromação.

BOCK & LING¹ estudaram a absorção no ultravioleta de 5' trifosfato de adenosina e 5' ribonucleotídeos em várias soluções e condições de pH, estabelecendo as condições para determinação de 5' ribonucleotídeos nas misturas com glutamato monossódico. Aproveitamos as observações de Bock & Ling (pH=2, HCl=0,01 N) para uma análise espectrofotométrica das misturas mais utilizadas em alimentos. Disto resultou um método simples e rápido para análise destas misturas.

MATERIAL E MÉTODO

Material

Béqueres de 5 ml
Balões volumétricos de 10 ml
Espectrofotômetro *
Registrador **

Reagentes

Solução de HCl 0,01 N (pH=2)
Glutamato monossódico, pureza de 99%
Inosinato dissódico, pureza de 99%
Guanilato dissódico, pureza de 99%

Preparação das soluções padrões de MSG, IMP e GMP a 0,1%, com HCl 0,01 N

Foram feitas misturas de MSG e IMP nas proporções conforme mostram as tabelas 1 e 2. As misturas da tabela 1 são soluções a 0,1% em HCl, 0,01 N e as da tabela 2 são soluções a 0,01% em HCl, 0,01 N.

Soluções das misturas de MSG e GMP e suas proporções são mostradas na tabela 3.

Soluções das misturas dos três sais, MSG, IMP e GMP a 0,1% em HCl 0,01 N, também foram preparadas conforme a tabela 4. Soluções das misturas destes três sais a 0,01%, com proporções diferentes, também foram preparadas conforme tabela 5.

TABELA 1

Soluções das misturas de MSG e IMP a 0,1% em HCl 0,01 N

Solução n.º	MSG:IMP
1	99,8:0,2
2	99,5:0,5
3	99,0:1,0
4	98,5:1,5
5	98,0:2,0

TABELA 2

Soluções das misturas de MSG e IMP a 0,01% em HCl 0,01 N

Solução n.º	MSG:IMP
1	96,0:4,0
2	92,0:8,0
3	88,0:12,0

* Varian modelo 635

** Varian modelo A-35

TABELA 3

Soluções das misturas de MSG e GMP
a 0,1% em HCl 0,01 N

Solução n.º	MSG:GMP
1	99,8:0,2
2	99,5:0,5
3	99,0:1,0
4	98,5:1,5
5	98,0:2,0

TABELA 4

Soluções das misturas de MSG, IMP e GMP
a 0,1% em HCl 0,01 N

Solução n.º	MSG:IMP:GMP
1	99,8:0,10:0,10
2	99,7:0,15:0,15
3	99,5:0,25:0,25
4	99,0:0,50:0,50
5	98,5:0,75:0,75
6	98,0:1,00:1,00

TABELA 5

Solução de MSG, IMP e GMP
a 0,01% em HCl 0,01 N

MSG:IMP:GMP
95,0:2,5:2,5

Procedimento

Foram registrados os espectros de absorção na região do ultravioleta das soluções padrões de MSG, IMP e GMP, e das misturas das tabelas 1, 2, 3, 4 e 5, com as seguintes especificações:

intervalo de onda, 200 a 320 nm
fenda equivalente a 0,5 nm
células de quartzo de 1 cm de espessura
velocidade do papel equivalente a 25 nm/min

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como vemos na fig. 1, o espectro de absorção da substância padrão — glutamato monossódico — na região do ultravioleta compreendida entre 200 e 300 nm, não apresenta nenhuma absorção. Este fato possibilita a identificação de 5'ribonucleotídeos (guanilato dissódico e inosinato dissódico) quando adicionados ao sal glutamato, pois o espectro do sal inosinato dissódico apresenta absorção máxima a 250 ± 2 nm, e o sal guanilato dissódico, a 256 ± 2 nm; este último, porém, é melhor caracterizado pela sua absorção específica na região compreendida entre 270-280 nm. Dessa maneira, podemos identificar a presença de IMP e GMP adicionados ao sal glutamato.

A fig. 2 mostra curvas de absorção de misturas entre glutamato monossódico e inosinato dissódico nas proporções relatadas conforme a tabela 1. Como vemos nessa figura, a concentração de 2 µg/ml de inosinato em HCl 0,01 N, adicionado ao glutamato, pode ser detectada pela sua absorção na região de 250 nm.

Assim como o sal inosinato, o guanilato dissódico, quando adicionado ao sal glutamato (tabela 3) é facilmente reconhecido pelas suas absorções nas regiões onde o sal glutamato não mostra nenhuma absorção, conforme vemos na figura 3.

A adição destes dois sais — inosinato e guanilato dissódicos — ao realçador de sabor — glutamato, nas diversas proporções da tabela 4, é mostrada na fig. 4.

Devido ao seu perfil espectral, o GMP é facilmente identificado quando na mistura de MSG, GMP e IMP, o que não acontece com o sal IMP nesta mesma mistura, pois a absorção máxima do IMP pode ser mesclada, uma vez que o sal GMP também mostra absorção neste comprimento de onda.

Para sua caracterização na mistura, pode-se recorrer aos métodos de identificação já citados, como reação de bromação⁶.

Algumas misturas comerciais utilizam o sal inosinato, adicionado ao sal glutamato monossódico, nas proporções da tabela 2; as curvas das misturas são vistas na figura 5. Porém, a mistura comercial mais empregada, segundo a literatura, é a dos sais MSG, IMP e GMP, nas proporções de 95,0:2,5:2,5, cujo perfil espectral é mostrado na fig. 6 (tabela 5).

Assim, por uma simples verificação do espectro de absorção na região do ultravioleta nas condições descritas, pode-se distinguir qual a mistura de realçadores de sabor em análise.

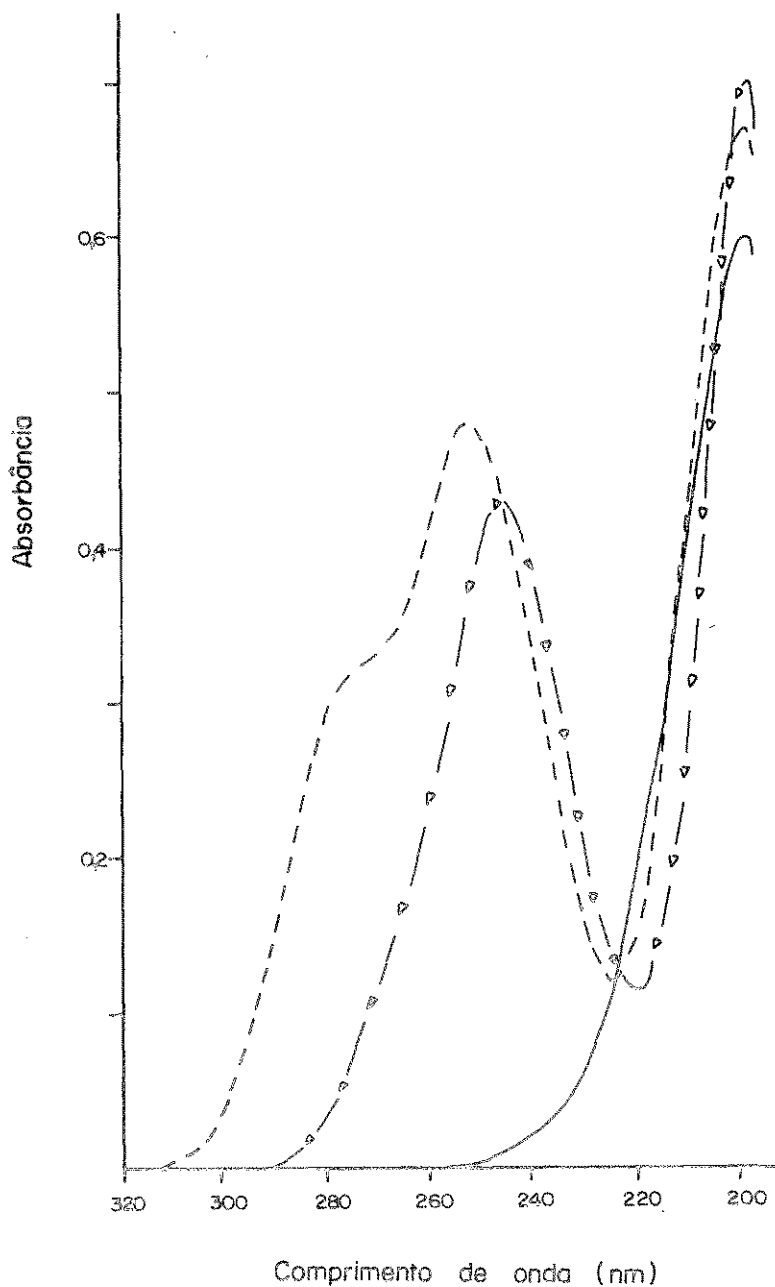


Fig. 1 — Espectros de absorção na região do ultravioleta das substâncias padrões glutamato monossódico, inosinato dissódico e guanilato dissódico, na concentração de 0,1%, p/v.

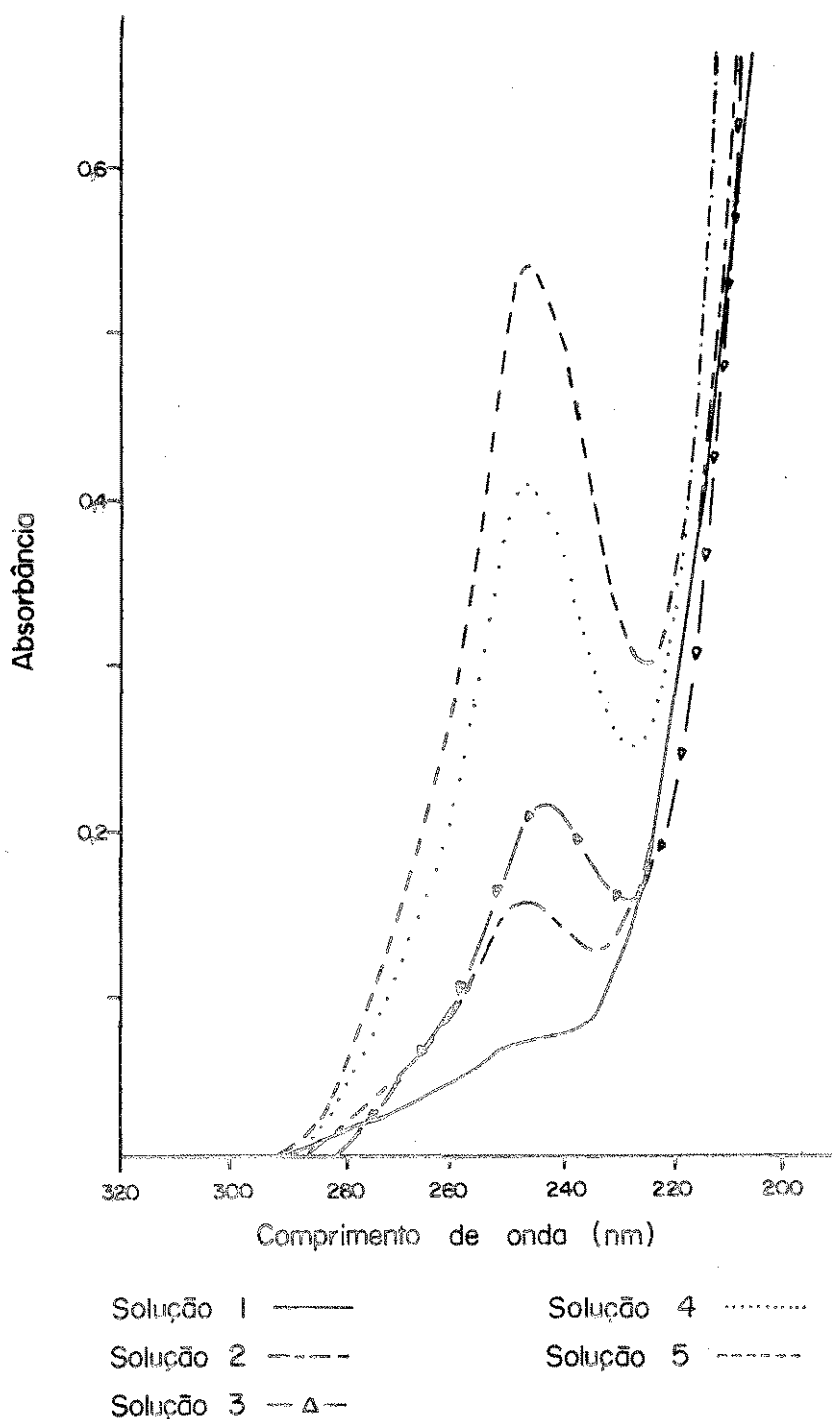


Fig. 2 — Curvas de absorção no ultravioleta de misturas de glutamato monossódico e inosinato dissódico.

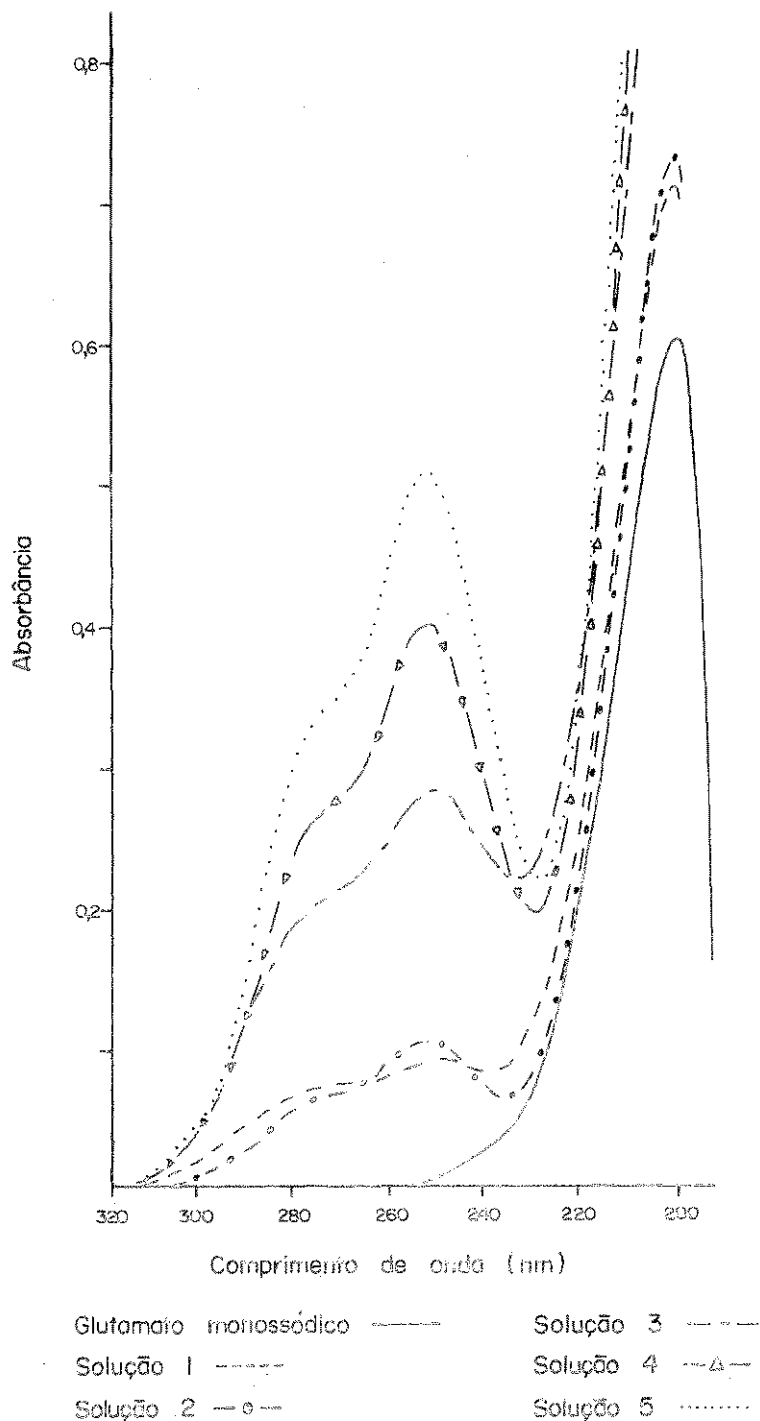


Fig. 3 — Curvas de absorção no ultravioleta de misturas de glutamato monossódico e guanilato dissódico.



Fig. 4 — Curvas de absorção no ultravioleta de misturas de glutamato monossódico, inosinato dissódico e guanilato dissódico.

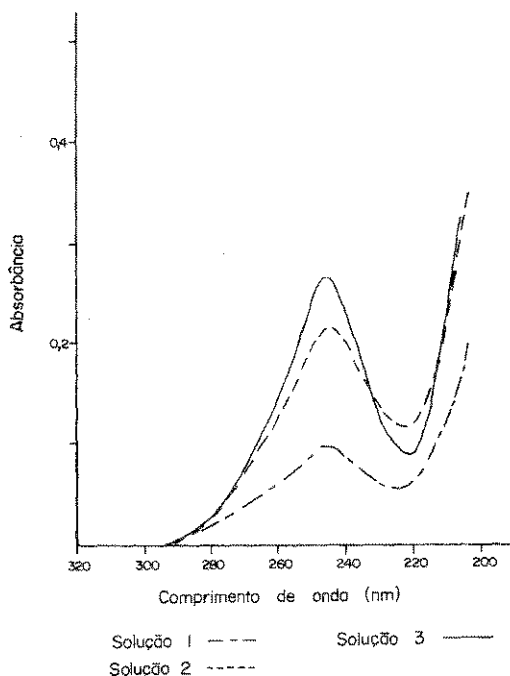


Fig. 5 — Curvas de absorção no ultravioleta de misturas comerciais de realçadores de sabor.

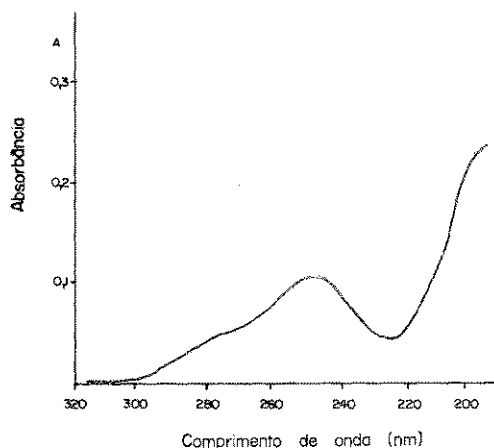


Fig. 6 — Curvas de absorção no ultravioleta da mistura comercial mais empregada — glutamato monossódico, inosinato dissódico e guanilato dissódico — nas proporções 95,0:2,5:2,5, respectivamente.

RIALAS/435

LARA, W.H. & YABIKU, H.Y. — Spectrophotometric determination of sodium inosinate and sodium guanilate in food flavor enhancers. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37:37-45, 1977.

SUMMARY: A simple and rapid method for analytical control of mixtures containing 5' ribonucleotides in food flavor enhancers is presented. This method is based upon differences in absorption in the ultraviolet region that these substances show. A series of samples prepared with concentrations usually employed in food flavor enhancers yielded spectra showing the usefulness of the method proposed.

DESCRIPTORS: food flavor enhancers, sodium inosinate and sodium guanilate in glutamate; flavor enhancers in foods.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOCK, R.M. & LING, N.S. — Ultraviolet absorption spectra of adenosine-5' triphosphate and related 5' ribonucleotides. *Archs Biochem. Biophys.*, 62: 253-64 1956.
2. CERLETTI, P. — Separation of inosine and adenosine polyphosphate nucleotides by paper chromatography. *Anal. Abstr.*, 8: 2017, 1961.
3. HASHIDA, W.; MOURI, T. & SHIGA, I. — Application of 5 ribonucleotides to canned sea-foods. *Fd Technol. (London)*, 22(11): 102-7, 1968.

4. KUNINAKA, A.; KIBI, M. & SAKAGUCHI, K. — History & development of flavor nucleotides. *Fd. Technol.* (London), 18 (3): 29-35, 1964.
5. KURTZMAN, C.H. & SJOSTRÖN, L.B. — The flavor-modifying properties of disodium inosinate. *Fd Technol.* (London), 18(9): 221-3, 1964.
6. MACY, R.L., Jr. & BAILEY, M.E. — Modified method for rapid determination of individual mononucleotides. *Fd. Technol.* (London), 20(3): 114-6, 1966.
7. PICKETT, J.A. — Estimation of nucleotides in beers and their effect on flavor. *Anal. Abstr.*, 27: 1020, 1974.
8. SHIMAZONO, H. — Distribution of 5'-ribonucleotides in foods and their application to foods. *Fd. Technol.* (London), 18(3): 36-45, 1964.
9. SHUTO, K.; MATSUO, K. & TSUBOI, M. — Rapid analysis of 5'-inosinic acid (inosine 5'-phosphate and 5'-guanylic acid (guanosine 5' phosphate) in their mixture by mean of a bromination reaction. *Anal. Abstr.*, 14: 7700, 1967.
10. SJOSTRÖN, L.B. & CROCKER, E.C. — The role of monosodium glutamate in the seasoning of certain vegetables. *Fd Technol.* (London), 2(4): 317-21, 1948.
11. STIER, E.F.; SAWYER, F.M. & FERGUSON, P.E. — A comparison of methodology used in determining the flavor effect of 5'-ribonucleotides on processed foods. *Fd. Technol.* (London), 21(12): 88-6, 1967.
12. WAGNER, J.R.; TITUS, D.S. & SCHADE, J.E. — New opportunities for flavor modification. *Fd. Technol.* (London), 17(6): 52-7, 1963.

Recebido para publicação em 24 de novembro de 1976.

