



Giovanna Speranza^a, Lucia Bagnasco^a, Marco Biagiotti^a,
M. Elisabetta Cosulich^b, Pierangelo Francescato^a,
Carlo F. Morelli^a, Valeria M. Pappalardo^a,
Marco Rabuffetti^a, Daniela Ubiali^c

^aDipartimento di Chimica, Università di Milano

^bDipartimento di Biologia e Biotecnologie
"Lazzaro Spallanzani", Università di Pavia

^cDipartimento di Scienze del Farmaco,
Università di Pavia

giovanna.speranza@unimi.it

CHIMICA DEI NUOVI SAPORI: COMPOSTI UMAMI E KOKUMI

L'importanza applicativa delle sostanze umami e kokumi non è dovuta tanto al contributo che esse forniscono al gusto complessivo di un cibo, quanto piuttosto alla capacità di aumentare notevolmente gli effetti sensoriali di altre componenti aromatiche, di agire cioè da flavor enhancer.

Il sistema gustativo è in grado di distinguere cinque sapori: dolce, amaro, salato, acido o aspro e umami [1, 2]. Mentre i primi quattro gusti sono noti a tutti e comunemente accettati da tempo, il quinto gusto, umami, è stato ufficialmente riconosciuto come tale solo a partire dal 2000, quando sono stati identificati nelle cellule gustative recettori specifici per il glutammato, che di questo gusto è la sostanza più rappresentativa [2, 3].

Se umami è una parola sconosciuta alla maggior parte dei consumatori, certamente non lo sono le peculiari sensazioni di sapidità tipiche degli alimenti ricchi di sostanze umami che da sempre fanno parte della nostra alimentazione quotidiana, ad esempio il pomodoro o il parmigiano reggiano. Noi consumatori abbiamo cioè grande familiarità con il gusto umami ma non con il termine che lo descrive, importato dal giapponese in tutte le lingue occidentali [1, 4].

L'umami è stato scoperto nel 1908 da Kikunae Ikeda, professore dell'Imperial University di Tokyo. Egli percepì un gusto mai identificato prima e distinto da qualsiasi combinazione degli altri quattro in

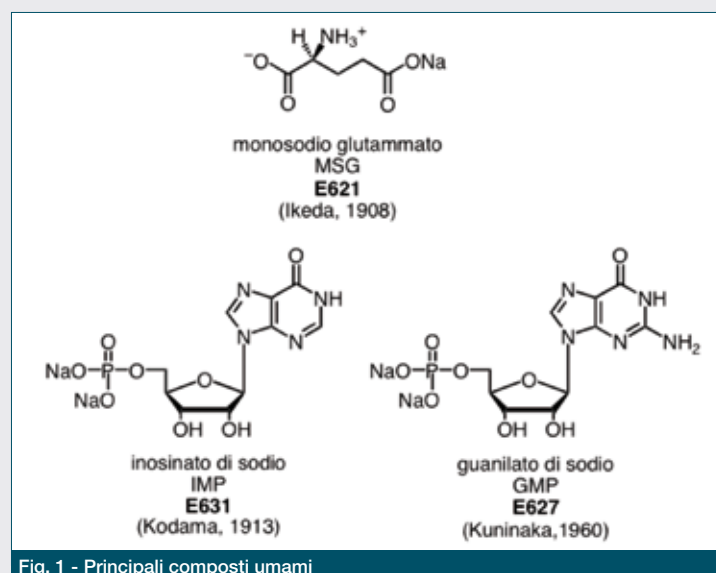


Fig. 1 - Principali composti umami

CHIMICA & ALIMENTI

alcuni tipici cibi giapponesi, in particolare nel brodo preparato con tonno essiccato (*katsuobushi*) e con alghe marine (*kombu*). Definì questa nuova sensazione gustativa il “quinto sapore”, chiamandolo *umami*, termine derivato dalla parola giapponese *umai* che significa saporito (in inglese *brothy*, *meaty* e *savory*) e si pose subito l'obiettivo di isolare le sostanze che ne erano responsabili [5, 6].

La prima sostanza umami identificata, da parte dello stesso Ikeda, fu il glutammato monosodico (MSG); seguirono alcuni 5'-ribonucleotidi, in particolare l'inosina-5'-monofosfato (IMP), nel 1913 da parte di Kodama, un allievo di Ikeda e, molto più recentemente, nel 1960, la guanosina-5'-monofosfato (GMP) da parte di Kuninaka [7] (Fig. 1).

I composti umami, e in particolare il MSG, sono dotati di un proprio gusto caratteristico che di per sé non è particolarmente piacevole e che peraltro poche persone conoscono. Tuttavia hanno una caratteristica che è alla base della loro importanza applicativa: anche al di sotto della soglia di percezione, senza quindi conferire al cibo un gusto specifico, sono in grado di potenziare gli effetti sensoriali (*flavor*) di altre componenti dell'alimento, con conseguente aumento dell'appetibilità e del gradimento del cibo stesso. Da qui la denominazione di “esaltatore (o potenziatore) di aroma” attribuita all'MSG e ad altri composti dotati di analoghe proprietà organolettiche [7-9]. In effetti, fino agli anni Settanta queste sostanze erano conosciute in Oriente come composti umami e in Occidente come *flavor enhancer*, cioè condimenti per esaltare o migliorare il gusto complessivo di un alimento. Secondo la definizione di Kuninaka, umami è quindi “il sapore di un esaltatore di aroma a una concentrazione superiore alla soglia di percezione” [10].

La proprietà più interessante di MSG e dei 5'-ribonucleotidi è senza dubbio la loro capacità di interagire sinergicamente. È stato infatti osservato che la soglia di percezione di MSG è marcatamente ridotta in presenza di IMP o GMP e viceversa (Tab. 1).

Ad esempio, se valutata in una soluzione di IMP allo 0,25%, essa risulta 100 volte più bassa che in acqua. E, analogamente, la soglia di percezione di una miscela 1:1 di IMP e GMP in una soluzione acquosa di MSG allo 0,8% è circa 100 volte più bassa di quella valutata in acqua. Ciò comporta che l'effetto umami prodotto dall'impiego congiunto di MSG e di uno o entrambi i ribonucleotidi risulta di gran lunga maggiore di quello atteso come somma degli effetti dei singoli composti umami, vale a dire la presenza di entrambi i tipi di sostanze in un cibo produce un aumento più che additivo del sapore [11, 12].

Questo fenomeno di sinergismo è di estrema rilevanza pratica perché consente di diminuire sensibilmente le concentrazioni di esaltatori di sapore da aggiungere ai cibi per ottenere l'effetto desiderato, con una sostanziale riduzione (25-30%) dei costi di produzione e senza conseguenze sulle proprietà organolettiche dell'alimento. Per cui nei prodotti commerciali, MSG e uno o entrambi i ribonucleotidi sono generalmente usati in combinazione. Per esempio, 100 g di MSG possono essere ridotti a 17 g in presenza di 0,9 grammi di una miscela 1:1 di IMP e GMP [13].

	soglia di percezione (g/dl)
MSG	1.2×10^{-2}
IMP	2.5×10^{-2}
GMP	1.25×10^{-2}
MSG in 0.25% IMP	1.5×10^{-4}
IMP + GMP (1 : 1)	6.3×10^{-3}
IMP + GMP (1 : 1) in 0.8% MSG	1.3×10^{-5}

Tab. 1 - Sinergismo tra MSG e 5'-ribonucleotidi in soluzione acquosa [11, 12]

Alimento	Nucleotidi			
	MSG	IMP	GMP	AMP
Carne bovina	33	90	4	8
Carne di pollo	44	115	2,2	13,1
Carne suina	23	200	2,5	9
Prosciutto crudo	340	-	-	-
Anguilla	10	165	-	20,1
Cappasanta	140	-	-	172
Ostrica	265	-	-	-
Riccio di mare	300-400	2	2	-
Sardina	288	188	-	0,8
Sgombro	40-60	150-190	-	6,4
Tonno Bonito essiccato	268	630-1310	-	tracce
Tonno pinna gialla	4-9	286	-	5,9
Vongola	150-250	-	-	12
Latte materno	22	-	-	-
Latte vaccino	1,9	-	-	-
Formaggio Cheddar	182	-	-	-
Formaggio Emmental	308	-	-	-
Parmigiano Reggiano	1680	-	-	-

Tab. 2 - Composti umami in alimenti di origine animale (mg/100 g) [11, 12, 15]

Alimento	Nucleotidi			
	MSG	IMP	GMP	AMP
Asparagi	106	-	tracce	4
Broccoli	30	-	-	-
Carote	33	-	1,5	-
Cavolfiore	46	-	-	-
Cipolle	102	tracce	-	1
Fagioli	39	-	-	-
Mais dolce	100	-	-	-
Melanzane	1-2	-	3	-
Patate	180	-	2,3	-
Piselli	106	-	-	2
Pomodoro	256	-	10	21
Sedano	51	-	4-5	-
Spinaci	48	-	-	-
Verza	50	-	-	-
Zucchine	16	-	7,5	-
Alga Nori	1608	-	13	-
Funghi Shiitake	1060	-	216	321
Porcini essiccati	77	-	10	-

Tab. 3 - Composti umami in alimenti di origine vegetale (mg/100 g) [11, 12, 15]

Il cambiamento delle abitudini alimentari, sempre più rivolte al consumo di piatti pronti, ha contribuito alla crescita della produzione di MSG e IMP/GMP registrata negli ultimi anni e stimata, rispettivamente, in 2,1 milioni e 22 mila tonnellate nel 2010 [1]. Leader del mercato è Ajinomoto Co., Inc. l'azienda giapponese che per prima, nel 1909, commercializzò il glutammato con il nome di "essenza del sapore" e che successivamente ne assunse il nome. "Creare condimenti buoni ed economici per trasformare un piatto semplice e nutriente in una prelibatezza" fu la motivazione che spinse Ikeda a mettere in commercio il monosodio glutammato ed è ancora oggi l'"aspiration" di Ajinomoto [14].

Poiché l'umami è prodotto da un insieme di sostanze che interagiscono sinergicamente, per capire se, e in che quantità, l'umami è presente nei cibi è necessario esaminare i livelli sia di MSG, sia di IMP e GMP. Mentre l'acido inosinico si trova essenzialmente negli alimenti di origine animale, l'acido guanilico è molto abbondante nei vegetali. Un altro ribonucleotide molto diffuso nei cibi è l'acido adenilico (adenosina 5'-monofosfato, AMP) che però ha un'attività umami molto meno intensa di IMP e GMP.

Prodotti particolarmente umami sono le carni, il prosciutto, il riccio di mare, lo sgombero, il tonno essiccato, le vongole (Tab. 2). I livelli di glutammato e in generale degli amminoacidi liberi aumentano notevolmente in seguito alla maturazione o alla stagionatura degli alimenti come conseguenza dell'idrolisi delle proteine. Ad esempio, nel parmigiano reggiano, uno dei formaggi a più lunga stagionatura, il contenuto di glutammato è particolarmente alto.

Nel latte materno il contenuto di MSG risulta fino a 10 volte superiore a quello del latte bovino (Tab. 2). Tra gli alimenti di origine vegetale, il contenuto di acido glutammico libero è elevato negli asparagi, nelle patate e nei piselli, ma soprattutto nel pomodoro, che può essere considerato il vegetale più umami della dieta mediterranea (Tab. 3) [11, 12, 15].

A partire dalla scoperta di Ikeda presero il via numerose ricerche che, almeno inizialmente, rimasero confinate in Giappone, e che erano volte sia all'identificazione di nuovi composti umami, sia alla definizione del meccanismo di percezione di questo gusto. Le ricerche di nuovi composti umami si sono particolarmente intensificate in questi ultimi anni anche in considerazione dell'aura negativa che circonda il MSG, ritenuto (a torto) responsabile di una serie di reazioni allergiche e intolleranze collettivamente note come "sindrome da ristorante cinese", nonostante l'assoluta mancanza di dati scientifici che supportino questa ipotesi [1, 16].

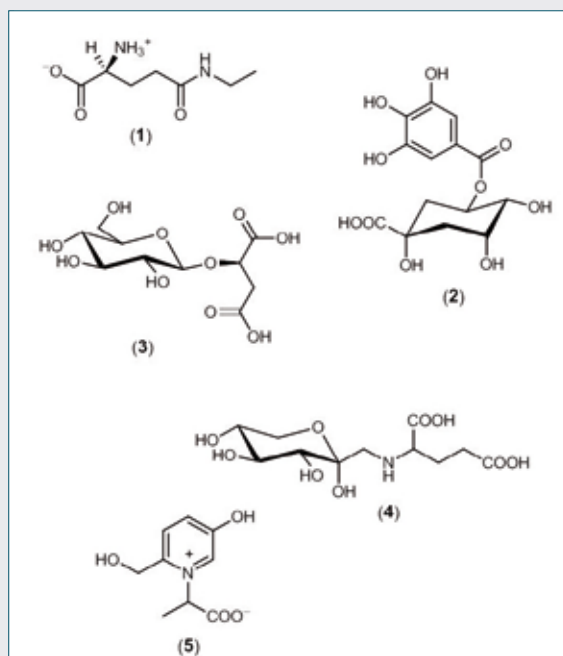


Fig. 2 - Composti umami recentemente identificati [15, 16]

cosiddetto "mat-cha", un tè verde giapponese; l'(S)-morelide (3), rivelatosi un composto chiave nella definizione del profilo aromatico dei funghi morchella; l'acido *N*-(1-deossi-D-fructo-1-il)-L-glutammico (4), presente nei pomodori essiccati in quantità significative (fino all'1,5% in peso) e prodotto dalla reazione di Maillard tra acido L-glutammico e glucosio nel corso dell'essiccamento, oppure l'alapiridaina (5), un sale di piridinio prodotto dalla reazione di Maillard tra L-alanina e glucosio (Fig. 2) [15, 16].

Anche numerosi peptidi quali, ad esempio, alcuni di- e tri-peptidi contenenti acido glutammico (Glu-Asp, Glu-Ser, Glu-Glu, Glu-Thr e Asp-Glu-Ser, Glu-Asp-Asn, Glu-Gly-Ser, Glu-Gln-Gln, Ser-Glu-Glu) oppure acido piroglutammico (pGlu-Pro-Ser, pGlu-Pro, pGlu-Pro-Glu, pGlu-Pro-Gln), sono caratterizzati da attività umami più o meno intensa che viene significativamente incrementata in presenza di IMP e/o GMP [15-18].

Alcuni di questi peptidi sono stati isolati da lisati di proteine animali (per esempio di pollo o di pesce), ma la maggior parte deriva dai cosiddetti idrolizzati di proteine vegetali, comunemente indicati con

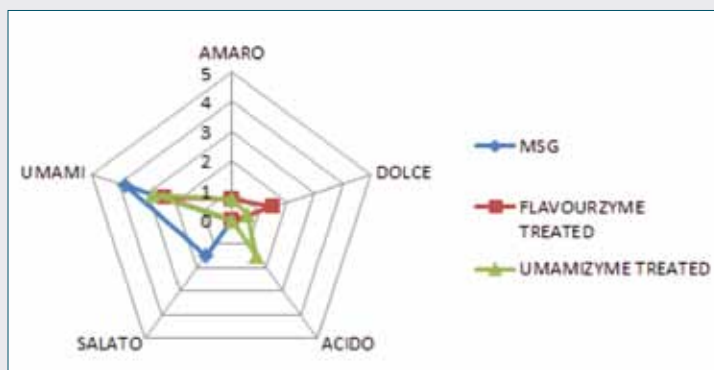


Fig. 3 - Profilo sensoriale di idrolizzati proteici ottenuti da farinaccio di riso [19]

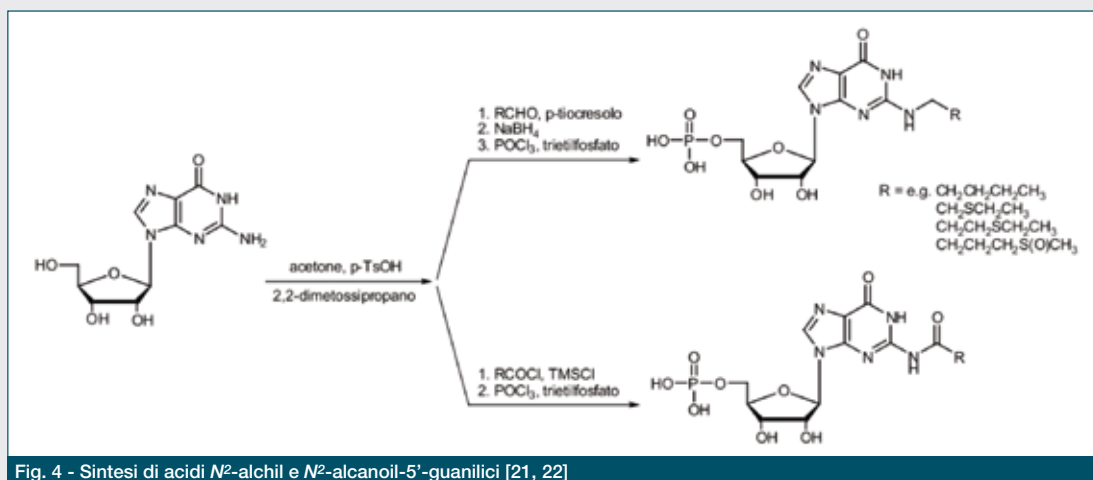


Fig. 4 - Sintesi di acidi *N*²-alchil e *N*²-alcanoil-5'-guanilici [21, 22]

l'acronimo HVP (*Hydrolyzed Vegetable Proteins*). Gli HVP, che si ottengono per idrolisi chimica e/o enzimatica di materie prime di origine vegetale ricche in proteine, quali grano, mais, soia, arachidi, girasole, sono sempre più frequentemente utilizzati al posto del glutammato (o in associazione ad esso) come *flavor enhancer* nell'industria alimentare poiché hanno frequentemente il sapore umami tipico di MSG e la capacità di esaltare il *flavor* dei cibi a base salata. L'uso di HVP in preparazioni alimentari proviene dalla tradizione culinaria orientale che si avvale da secoli di questi prodotti come principi aromatizzanti e condimenti in una dieta essenzialmente vegetariana. La loro nota aromatica fondamentale, infatti, è quella di carne con sfumature variabili tra il bollito e l'arrosto, a seconda dell'origine del materiale di partenza e del modo di preparazione dell'idrolizzato [18].

Umami è la nota aromatica prevalente delle miscele di peptidi che abbiamo ottenuto per idrolisi enzimatica del cosiddetto farinaccio di riso [19], un materiale di scarto della lavorazione del riso che viene in genere utilizzato per l'alimentazione del bestiame.

L'analisi sensoriale riportata in Fig. 3 si riferisce agli idrolizzati ottenuti dopo 24 ore di incubazione con due miscele di eso- ed endo-peptidasi (Umamizyme® e Flavourzyme®) considerate *safe* per applicazioni in campo alimentare. Il lavoro sul riso è parte di una ricerca più ampia che ha come obiettivo la valorizzazione di materiale di scarto a elevato contenuto proteico, come i panelli derivanti dalla spremitura dei semi oleaginosi. In questo ambito si colloca il progetto "VeLiCa" [20] che si propone di studiare la possibile reintroduzione di colture tradizionali, quali canapa e lino, sul territorio italiano (in particolare in Lombardia), rendendone nuovamente remunerativa la coltiva-

zione attraverso l'uso razionale di tutti i bioprodotto ottenibili dalle varie parti della pianta, in accordo con il moderno concetto di bioraffineria. Tra i nucleotidi naturali, IMP e GMP rimangono attualmente gli unici composti prodotti industrialmente e utilizzati come additivi alimentari. Approfonditi studi SAR volti a indagare l'attività sinergica di nucleotidi modificati sono stati realizzati negli anni Settanta da ricercatori giapponesi e molto più recentemente dal nostro gruppo [12, 21, 22]. In particolare è stata sottoposta ad analisi sensoriale una serie di derivati *N*²-sostituiti dell'acido 5'-guanilico preparati mediante alchilazione e acilazione del gruppo amminico esociclico della guanosina e successiva fosforilazione in posizione 5' dell'unità di ribosio (Fig. 4). Usando un *panel* di assaggiatori addestrati e il metodo Probit per rendere le risposte degli assaggiatori statisticamente significative è stata valutata quantitativamente la capacità di incrementare l'intensità di gusto del MSG di ogni ribonucleotide sintetizzato.

È stato osservato che l'effetto sinergico è correlato alla lunghezza della catena del sostituito in posizione 2 del nucleo purinico e dipende sia dalla presenza e posizione di un atomo di zolfo lungo la catena, sia dal suo stato di ossidazione [21, 22]. Studi recenti hanno confermato le nostre osservazioni, dimostrando inoltre la forte influenza della stereochimica del sostituito legato al gruppo amminico esociclico sull'attività di *flavor enhancer* di derivati *N*²-sostituiti

della guanosina 5'-monofosfato ottenuti mediante reazione di Maillard [23, 24].

In combinazione con il *flavor enhancement* proprio delle sostanze umami, è stato evidenziato un altro effetto sensoriale il cui nome, kokumi, corrisponde al vocabolo inglese *yummy* (*nice to eat*). Le sostanze kokumi contribuiscono alla formazione del *flavor* generando in bocca sensazioni di pienezza, rotondità, persistenza del sapore d'impatto e, più in generale, di prolungamento della percezione gustativa [25, 26]. Per questo motivo sono particolarmente apprezzate dall'industria alimentare.

La sostanza più rappresentativa di queste sensazioni gustative è il glutatone (γ-glutamilmisteinilglicina, GSH), presente in grande quantità negli estrat-

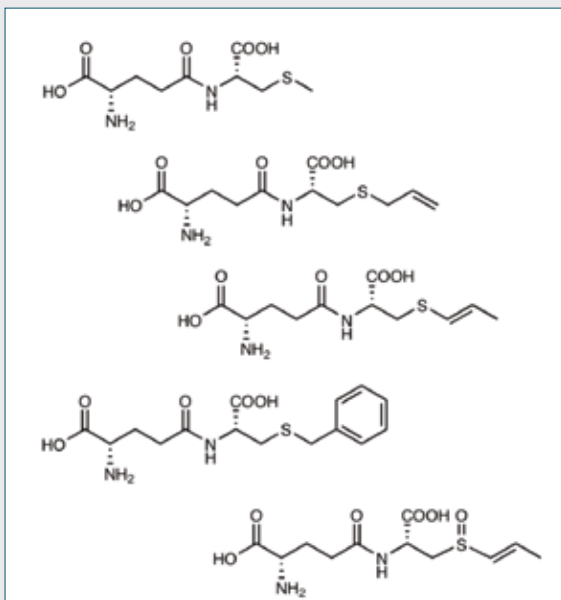


Fig. 5 - Composti kokumi in *Allium* spp. [29]

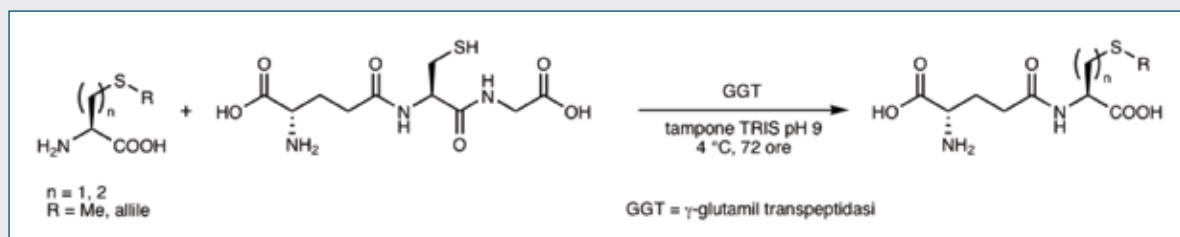


Fig. 6 - Sintesi chemoenzimatica di composti kokumi presenti in piante del genere *Allium* [30]

ti di lievito utilizzati come agenti aromatizzanti a uso alimentare, e la maggior parte delle sostanze kokumi finora individuate sono γ -glutammi derivati di ammino acidi (o ammino acidi modificati) e γ -glutammi peptidi. Caratteristica comune dei composti kokumi è di essere per lo più insapori di per sé, ma di avere la capacità di esaltare enormemente il sapore dei cibi in cui sono presenti, di agire cioè da *flavor enhancer* [26].

A differenza dell'umami, il kokumi non è considerato un gusto base e i meccanismi fisiologici che ne determinano la percezione non sono stati ancora chiariti [26], sebbene sia stato recentemente evidenziato il coinvolgimento di un recettore extracellulare del calcio (CaSR) [27].

dovuta alla presenza di una serie di γ -glutammi derivati di S-alchil- e S-alchenilcisteine e/o dei corrispondenti S-ossidi (Fig. 5) [29]. In considerazione del potenziale interesse applicativo di questi composti come *flavor enhancer* e della difficoltà di reperimento da fonti naturali, abbiamo messo a punto una sintesi chemoenzimatica dei composti kokumi dell'aglio basata sull'uso dell'enzima γ -glutamyltranspeptidasi (GGT) come catalizzatore per il trasferimento del gruppo γ -glutamile dal glutathione a cisteine S-sostituite (Fig. 6) [30]. L'utilizzo di una GGT di origine microbica recentemente isolata da *Bacillus subtilis*, microrganismo classificato GRAS (*Generally Regarded As Safe*), ne garantisce l'idoneità per applicazioni in campo alimentare.

Bibliografia

- [1] R. Wyers, *World Food Ingredients*, 2010, 30.
- [2] F. Zhang *et al.*, *PNAS*, 2008, **105**, 20930.
- [3] N. Chaudari *et al.*, *Nat. Neurosci.*, 2000, **3**, 113.
- [4] J.B. Marcus, *Food Technol.*, 2009, **63**, 23.
- [5] K. Ikeda, 1908, Japanese Patent 14805.
- [6] K. Ikeda, *Chem. Senses*, 2002, **27**, 847
(translated from *J. Tokyo Chem. Soc.*, 1909, **30**, 820).
- [7] S. Yamaguchi, K. Ninomiya, *J. Nutr.*, 2000, **130**, 921S
- [8] S. Yamaguchi, *Food Rev. Int.*, 1998, **14**, 139.
- [9] S. Yamaguchi, K. Ninomiya, *Food Rev. Int.*, 1998, **14**, 123.
- [10] A. Kuninaka *et al.*, *Agric. Biol. Chem.*, 1980, **44**, 1437.
- [11] Y-H. Sugita, in *Food Science and Technology*, Marcel Dekker, New York, 2002, 409.
- [12] A. Kuninaka, in *Flavor Research-Recent Advances*, Marcel Dekker, New York, 1981, 305.
- [13] J. Löliger, *J. Nutr.*, 2000, **130**, 915S.
- [14] www.ajinomoto.com/en/aboutus/principles/#page
- [15] M. Behrens *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, **50**, 2220, e riferimenti in esso contenuti.
- [16] C. Winkel *et al.*, *Chem. Biodiversity*, 2008, **5**, 1195.
- [17] R. Schlichtherle-Cerny, J. Amadò, *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 1515.
- [18] T.W. Nagodawithana, *Savory Flavors*, Esteekey Associates, Milwaukee, 1995, 225.
- [19] L. Bagnasco *et al.*, *Food. Res. Int.*, 2013, **50**, 420.
- [20] www.velica.org
- [21] P. Cairolì *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 1043.
- [22] C.F. Morelli, P. Manitto, G. Speranza, *Flav. Fragr. J.*, 2011, **26**, 279.
- [23] D. Festrìng, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 665.
- [24] D. Festrìng *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 8875.
- [25] S. Toelstede, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.*, 2009, **57**, 3738.
- [26] T. Yamamoto *et al.*, *Chem. Senses*, 2009, **34**, 809.
- [27] T. Ohsu *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2010, **285**, 1016.
- [28] A. Dunkel, J. Köster, T. Hofmann, *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 6712.
- [29] Y. Ueda *et al.*, *Agric. Biol. Chem.*, 1990, **54**, 163.
- [30] G. Speranza, C.F. Morelli, *J. Mol. Catal. B, Enzymatic*, 2012, **84**, 65.

ABSTRACT

Taste-active Components in Foods: Umami and Kokumi Compounds

Umami taste is imparted by monosodium L-glutamate (MSG) and disodium salts of 5'-ribonucleotides such as inosine 5'-monophosphate (IMP) and guanosine 5'-monophosphate (GMP). Peculiar characteristics of the umami substances are their ability to enhance the flavor of savory dishes and their mutual taste synergism. Kokumi, which is distinct from the five basic tastes and is typically represented by glutathione (GSH), refers to mouthfulness, thickness and increasing continuity of food taste perception.