

Felix Guillermo Reyes Reyes

organizador

UMAMI Y GLUTAMATO

Aspectos químicos, biológicos y tecnológicos



UMAMI Y GLUTAMATO

aspectos químicos, biológicos y tecnológicos

CONSEJO EDITORIAL

André Costa e Silva

Cecilia Consolo

Dijon de Moraes

Jarbas Vargas Nascimento

Luis Barbosa Cortez

Marco Aurélio Cremasco

Rogério Lerner

FELIX GUILLERMO REYES REYES
(organizador)

UMAMI Y GLUTAMATO
aspectos químicos, biológicos y tecnológicos

2021

Umami y Glutamato: aspectos químicos, biológicos y tecnológicos

© 2021 Felix Guillermo Reyes Reyes
Editora Edgard Blücher Ltda.

Publisher Edgard Blücher

Editor Eduardo Blücher

Coordinación editorial Jonatas Eliakim

Producción editorial Kedma Marques

Diseño y portada Laércio Flenic

Revisión de texto Samira Panini

Imagen de portada istockphoto

Blucher

Rua Pedroso Alvarenga, 1245, 4º andar
04531-934 – São Paulo – SP – Brasil
Tel 55 11 3078-5366
contato@blucher.com.br
www.blucher.com.br

Versión en español: Según la nueva "Ortografía de la lengua española" de la Real Academia Española y de la Asociación de Academias de la Lengua Española, diciembre de 2010.

Está prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio, sin autorización escrita de la Editora.

Todos los derechos reservados por la Editora Edgard Blucher Ltda.

Datos Internacionales de Catalogación en la Publicación (CIP)
Angélica Ilacqua CRB-8/7057

Umami y Glutamato: aspectos químicos, biológicos y tecnológicos / Felix Guillermo Reyes Reyes. -- São Paulo : Blucher, 2021.
472p.

Bibliografía

ISBN 978-65-5550-099-8 (impreso)

ISBN 978-65-5550-095-0 (electrónico)

Open Access

1. Nutrición 2. Bioquímica 3. Umami 4. Glutamato monossódico I. Título

21-3736

CDD 613.1

Índices para catálogo sistemático:

1. Nutrición

PRÓLOGO

En nuestra época, en el siglo XXI, vemos una verdadera explosión de interés en el área de nutrición, en un enfoque global, abarcando en su conjunto desde la ciencia básica hasta la alta gastronomía. Se buscan cada vez más alimentos saludables y sabrosos y el estudio del gusto y del sabor se ha convertido en una verdadera ciencia con fundamentos bien establecidos.

En este sentido, la obra **Umami y glutamato: aspectos químicos, biológicos y tecnológicos**, escrita en portugués y español, bajo la coordinación editorial del Profesor Felix G. R. Reyes de la Facultad de Ingeniería de Alimentos de la Universidad Estatal de Campinas, Brasil, con la cooperación de un ilustre grupo de autores especialistas de las más prestigiosas universidades brasileñas e internacionales, llega en un momento muy oportuno y auspicioso.

Por muchos años, los cuatro gustos básicos identificados y conocidos fueron el dulce, el salado, el ácido y el amargo. Actualmente, se reconoce la existencia de un quinto gusto básico, el gusto umami, sabroso y universalmente aceptado como tal por tener receptores perfectamente identificados, relacionados con aminoácidos y por estar presente en diferentes alimentos.

El “quinto gusto” fue inicialmente estudiado científicamente por el Dr. Kikunae Ikeda (1864-1936), profesor de la Universidad Imperial de Tokio. Al investigar el caldo *dashi*, típico y tradicional de la cocina japonesa, preparado con alga *kombu* (*Laminaria japonica*) seca, Ikeda identificó el ácido glutámico libre y sus sales como los responsables del gusto umami (en japonés, sabroso o gustoso) al cual denominó “esencia del sabor”. Este gusto básico se debe a la presencia del ácido glutámico, aminoácido no esencial, y a los 5'-ribonucleótidos inosina-5'-monofosfato (IMP) y guanosina-5'-monofosfato (GMP), encontrados en carnes, pescados, vegetales y lácteos.

El gusto umami está vinculado a otras especias conocidas como salsas *worcestershire*, *ketchup* y *zuppa de pesce* (sopa de pescado) espolvoreadas con queso parmesano rallado, todas ellas de alguna manera vinculadas al buen gusto del *garum*, una denominación en el Imperio Romano para el gusto hoy reconocido por umami.

Entre las más de diez mil papilas gustativas, el ser humano posee receptores gustativos específicos para el ácido glutámico y para los 5'-ribonucleótidos (IMP y GMP).

El ácido glutámico puede obtenerse mediante su extracción de fuentes naturales, por síntesis química, fermentación o catálisis enzimática.

En 1866, el químico alemán Ritthausen obtuvo el ácido glutámico por medio de la hidrólisis ácida de la gliadina del gluten.

En 1909, a partir de la harina de trigo se obtuvo el compuesto denominado glutamato monosódico (GMS), la sal del ácido glutámico. Actualmente, la obtención del GMS se realiza mediante el método de fermentación, teniendo como sustratos la caña de azúcar, el maíz y la yuca (mandioca). En este proceso, se utiliza la bacteria *Corynebacterium glutamicum*, que produce ácido L-glutámico (C₅H₉O₄N) a partir de carbohidratos, oxígeno y amoníaco.

La cantidad de ácido glutámico libre en las verduras es alta (por ejemplo, tomate y maíz). En los tejidos animales, los niveles de ácido L-glutámico libre son elevados en el intestino delgado y en el cerebro. También es un componente integral de la leche materna y del plasma circulante.

El glutamato tiene un papel central en el metabolismo de los aminoácidos, y es el único aminoácido completamente sintetizado a partir del amonio producido por plantas y bacterias, por medio de aminación del α -cetoglutarato, y también el único de rápida desaminación. Este compuesto participa en la producción de urea en el hígado y en el ciclo del ácido cítrico, así como también en las reacciones

de transaminación en la síntesis de aminoácidos no esenciales. En este sentido, es un precursor de la glutamina, prolina, ornitina y del ácido gamma amino butírico. La transformación del ácido glutámico en glutamina ocurre en la célula a través de la acción de la glutamina sintetasa.

En el sistema nervioso central, el glutamato tiene función excitatoria y participa en las funciones cerebrales superiores y de la conciencia. Es sintetizado a partir de la glucosa y de la glutamina que cruzan la barrera hematoencefálica y figura en cuatro grandes compartimientos del cerebro, lo que significa que todas las actividades cerebrales, directa o indirectamente, cuentan con la participación del glutamato.

Está bien establecido que la ingesta de alimentos que contienen ácido glutámico o sus sales, no altera los niveles de glutamato en la sangre, en la leche materna o en la placenta, excepto en dosis extremas. Su metabolización es igualmente adecuada en lactantes y adultos.

El GMS, en el pH fisiológico, se disocia en el catión Na^+ y en el anión glutamato, que se metaboliza de forma idéntica al obtenido desde su fuente natural, las proteínas. En consecuencia, debido a la acción de la barrera natural hematoencefálica, el GMS no entra al cerebro, aunque se aumente su concentración plasmática.

Algunos investigadores asociaron efectos secundarios indeseables al consumo de GMS, relacionándolo, en particular, con síntomas neurológicos y digestivos, a lo cual se le llamó “síndrome del restaurante chino”. Sin embargo, debe recordarse que la cocina china puede contener altas concentraciones de grasa y de sodio, sustancias que, en alta ingesta, pueden ser perjudiciales para el organismo, independientemente de la presencia del GMS en la dieta.

El *Joint Expert Committee on Food Additives and Contaminants* (JECFA) de la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) y la World Health Organization (WHO) sostienen que el GMS es seguro como aditivo alimentario.

La *U.S. Food and Drug Administration* (U.S. FDA) considera el GMS como un ingrediente alimentario análogo a la sal y al azúcar y, por lo tanto, no debe utilizarse en exceso. El GMS puede añadirse a los alimentos en la proporción de 0,1 a 0,8%, de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación de Alimentos. Utilizado en exceso, empeora el gusto de los alimentos.

Aunque las organizaciones mundiales reguladoras avalen la seguridad del glutamato consumido en cantidades recomendadas, es aconsejable que las or-

ganizaciones y profesionales relacionados con la nutrición y la salud tengan la responsabilidad de orientar a la población sobre el mejor uso de esta sustancia, así como de otros aditivos alimentarios.

De forma muy placentera y didáctica, los diferentes aspectos del umami y del glutamato son abordados por 30 autores en 20 capítulos, redactados con excelencia y amparados por referencias bibliográficas abundantes y actuales. La obra abarca aspectos analíticos, bioquímicos, metabólicos, nutricionales, toxicológicos y tecnológicos del glutamato, luego trata de los mecanismos sensoriales, culinarios y gastronómicos y termina con aspectos de reglamentación e industriales.

Esta obra es una contribución importante y de lectura obligatoria para todos aquellos interesados en alimentos y nutrición.

*Dan L. Waitzberg
Professor Associado
Faculdade de Medicina
Universidade de São Paulo
Diretor GANEP – Nutrição Humana*

COLABORADORES

Alexandra Cucufate Petrushina

Facultad de Ciencias de la Salud
Carrera de Nutrición y Dietética
Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas
Lima, Perú.

Ana San Gabriel

Secretariat and Science Advisor
International Glutamate Information Service
Tokyo, Japan.

André Schwambach Vieira

Departamento de Biologia Estrutural e Funcional
Instituto de Biologia
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Carolina Soares de Moura

Departamento de Ciências de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Carlos Silvera Almirán

Facultad de Ingeniería y Tecnologías
Universidad Católica del Uruguay
Montevideo, Uruguay.

Cinthia Baú Betim Cazarin

Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Claudio Pagani

Department of Food Ingredients
Ajinomoto do Brasil
São Paulo, SP, Brasil.

Edmund T. Rolls

Oxford Centre for Computational Neuroscience
Oxford, United Kingdom.

Elba Sangronis

Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos
Universidad Simón Bolívar
Caracas, Venezuela.

Felix Guillermo Reyes Reyes

Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Flavia Pereira da Silva Airoidi

S Cosméticos do Bem
Campinas, SP, Brasil.

Helena Fernandes Martins Tavares

Regulatory and Scientific Affairs Manager
Ajinomoto do Brasil
São Paulo, SP, Brasil.

Helena Maria Andre Bolini

Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Hellen Dea Barros Maluly

Centro de Pós-graduação
Faculdades Oswaldo Cruz
São Paulo, SP, Brasil.

Jaime Amaya-Farfan

Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Joel Faintuch

Departamento de Gastroenterologia
Faculdade de Medicina
Universidade de São Paulo
São Paulo, SP, Brasil.

Jorge Herman Behrens

Departamento de Ciência de Alimentos e Nutrição
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Kelen Bulos Caparello

Especialista em Segurança e Legislação de Alimentos
São Paulo, SP, Brasil.

Kumiko Ninomiya

Umami Information Center
Tokyo, Japan.

Leonardo R. Lareo (*in memoriam*)

Departamento de Nutrición y Bioquímica
Facultad de Ciencias
Pontificia Universidad Javeriana
Bogotá, Colombia.

Manuel E. Baldeón

Facultad de Ciencias Médicas, de la Salud y de la Vida
Escuela de Medicina
Universidad Internacional del Ecuador
Quito, Ecuador.

Maria Aparecida Pereira da Silva

Centro de Ciências Exatas e Tecnologia
Departamento de Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Sergipe
Aracaju, SE, Brasil.

Miguel Arcanjo Areas

Departamento de Biología Estructural e Funcional
Instituto de Biología
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Nancy Flores

Instituto de Investigaciones en Salud y Nutrición
Universidad San Francisco de Quito
Quito, Ecuador.

Priscila Neder Morato

Curso de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Unidade Naviraí
Naviraí, MS, Brasil.

Rosa Alejandra Longa López

Facultad de Administración Hotelera, Turismo y Gastronomía
Universidad San Ignacio de Loyola
Lima, Perú.

Silvia Mendoza (*in memoriam*)

Escuela de Química y Farmacia
Universidad de Chile
Santiago, Chile.

Sonia Luz Albarracín C

Departamento de Nutrición y Bioquímica
Facultad de Ciencias
Pontificia Universidad Javeriana
Bogotá, Colombia.

Susanne Rath

Departamento de Química Analítica
Instituto de Química
Universidade Estadual de Campinas
Campinas, SP, Brasil.

Teresa Blanco de Alvarado-Ortiz

Asesora en Alimentación y Nutrición
Universidad San Ignacio de Loyola
Lima, Perú.

INTRODUCCIÓN	19
<i>Felix G. R. Reyes</i>	
PARTE I – HISTÓRICO	23
1. EL UMAMI EN LAS CULTURAS ANCESTRALES.....	25
<i>Carlos Silvera Almitrán</i> <i>R. Alejandra Longa López</i>	
PARTE II – ASPECTOS QUÍMICOS Y PRESENCIA EN ALIMENTOS	43
2. ASPECTOS ANALÍTICOS DEL GLUTAMATO.....	45
<i>Susanne Rath</i> <i>Flavia Pereira da Silva Airoidi</i>	
3. PRESENCIA DEL GLUTAMATO EN ALIMENTOS.....	71
<i>Cinthia Baú Betim Cazarin</i> <i>Carolina Soares de Moura</i> <i>Priscila Neder Morato</i> <i>Jaime Amaya-Farfan</i>	
PARTE III – ASPECTOS BIOLÓGICOS.....	91
4. GLUTAMATO: ASPECTOS BIOQUÍMICOS.....	93
<i>Teresa Blanco de Alvarado-Ortiz</i> <i>Alexandra Cucufate Petrushina</i>	
5. PAPEL NUTRICIONAL DE LOS GLUTAMATOS.....	137
<i>Joel Faintuch</i>	
6. ASPECTOS FISIOLÓGICOS DEL GLUTAMATO: EL GLUTAMATO EN LA LECHE MATERNA Y EN EL DESARROLLO DEL INTESTINO DEL LACTANTE.....	155
<i>Manuel E. Baldeón</i> <i>Nancy Flores</i>	

7. ASPECTOS ENDOCRINOS DEL GLUTAMATO.....	179
<i>Miguel Arcanjo Areas</i> <i>André Schwambach Vieira</i>	
8. GLUTAMATO: ASPECTOS NEURONALES.....	191
<i>Sonia Luz Albarracín C.</i> <i>Leonardo R. Lareo</i>	
9. EFECTOS DEL GLUTAMATO EN EL CEREBRO	225
<i>Sonia Luz Albarracín C.</i> <i>Leonardo R. Lareo</i>	
10. ASPECTOS FISIOLÓGICOS DEL GLUTAMATO RELACIONADOS CON LA OBESIDAD.....	259
<i>Manuel E. Baldeón</i>	
11. INTOLERANCIAS Y EFECTOS TÓXICOS DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO..	273
<i>Joel Faintuch</i>	
PARTE IV – ASPECTOS DE SEGURIDAD ALIMENTARIA.....	283
12. GLUTAMATO MONOSÓDICO: ASPECTOS TOXICOLÓGICOS.....	285
<i>Felix Guillermo Reyes Reyes</i> <i>Miguel Arcanjo Areas</i> <i>Hellen Dea Barros Maluly</i>	
PARTE V – ASPECTOS SENSORIALES	309
13. GUSTO, SABOR Y PERCEPCIONES SENSORIALES.....	311
<i>Helena Maria Andre Bolini</i> <i>Maria Aparecida Pereira da Silva</i>	
14. ASPECTOS SENSORIALES DEL UMAMI.....	325
<i>Elba Sangronis</i> <i>Helena Maria Andre Bolini</i>	
15. MECANISMO DE ACCIÓN DEL SABOR Y DEL GUSTO UMAMI EN EL CEREBRO.....	349
<i>Edmund T. Rolls</i>	
16. UMAMI EN EL MUNDO DE LA GASTRONOMÍA.....	373
<i>Kumiko Ninomiya</i> <i>Ana San Gabriel</i>	

PARTE VI – ASPECTOS TECNOLÓGICOS	393
17. ASPECTOS INDUSTRIALES Y APLICACIÓN DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO EN ALIMENTOS.....	395
<i>Hellen Dea Barros Maluly</i>	
<i>Claudio Pagani</i>	
<i>Kelen Bulos Caparello</i>	
18. UMAMI EN DIFERENTES DIETAS.....	419
<i>Silvia Mendoza</i>	
<i>Jorge Herman Behrens</i>	
19. USO DE GLUTAMATO MONOSÓDICO EN LA PRODUCCIÓN DE PAPAS FRITAS CON BAJO CONTENIDO DE ACEITE.....	431
<i>Carlos Silvera Almitrán</i>	
PARTE VII – ASPECTOS REGULATORIOS.....	451
20. ASPECTOS REGULATORIOS DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO.....	453
<i>Elba Sangronis</i>	
<i>Helena Fernandes Martins Tavares</i>	

INTRODUCCIÓN

Tenemos la inmensa satisfacción de presentar la segunda edición del libro *Umami y glutamato: aspectos químicos, biológicos y tecnológicos*, esta vez en formato de *e-Book Open Access* (Acceso Abierto) y, por tanto, disponible para todos los interesados en el tema. El lanzamiento de esta obra es el resultado de un esfuerzo interactivo y de cooperación entre profesionales de diversos campos del conocimiento y de varios países. Las actividades realizadas, a lo largo del desarrollo de este trabajo, nos aportaron valiosas contribuciones. Los distintos temas abordados en los capítulos fueron desarrollados con el objetivo de servir a los intereses de los estudiantes de pregrado, posgrado y académicos, así como también a profesionales que trabajan en las áreas de la salud, ciencia y tecnología de alimentos, nutrición, gastronomía, culinaria y en el área de legislación.

Cabe recordar que, en los inicios de la humanidad, el hombre nómada consumía únicamente los alimentos que estaban disponibles en la naturaleza. Más tarde, al convertirse en un ser sedentario, comenzó a producir sus propios alimentos para el consumo, lo que contribuyó al desarrollo de sus preferencias alimentarias. Desde entonces, a lo largo de la historia, la preferencia por ciertos tipos de alimentos ha tenido influencias culturales, geográficas, sociales y económicas. Podemos citar, como ejemplo, los tiempos de las grandes navegaciones

y descubrimientos a partir del siglo XV, que dieron inicio el comercio internacional de mercancías como las especias, tan apreciadas por los pueblos debido a su agradable aroma y sabor.

Estamos aproximándonos a los 8 mil millones de personas en el planeta, con la expectativa de ser 10 mil millones a finales de este siglo XXI. Por lo tanto, es necesario producir alimentos suficientes para alimentar a toda esta población, teniendo en cuenta tanto la cantidad como la calidad de la producción. En consecuencia, la industria alimentaria desempeña un papel importante en el proceso de suministro de alimentos de bajo costo, nutritivos, sensorialmente aceptables e inocuos para la salud de los consumidores.

Sabemos que la aceptabilidad de un alimento está influenciada por su palatabilidad, y esta depende del sabor, que, a su vez, está influenciado especialmente por los gustos básicos. Hasta el final del siglo XX, se consideraba la existencia de solamente cuatro gustos básicos: dulce, ácido, salado y amargo. Fue a principios de este siglo, que el gusto umami fue reconocido por la comunidad científica. En el año 2000, fueron consolidadas las pruebas científicas de la existencia del quinto gusto básico (umami), a pesar de que la teoría de su existencia se haya establecido en 1908, por el profesor Kikunae Ikeda, científico de la Universidad Imperial de Tokio. El reconocimiento científico llegó cuando los investigadores de la Universidad de Miami, Estados Unidos, publicaron un estudio en la revista *Nature Neuroscience*, demostrando la presencia de receptores específicos en la lengua, que reconocían el gusto umami.

Los principales compuestos responsables por el gusto umami son glutamato monosódico (GMS), inosina-5'-monofosfato (IMP) y guanosina-5'-monofosfato (GMP). Estas sustancias han sido aprobadas por los organismos reguladores como aditivos alimentarios, con la función de potenciadores del sabor, de los cuales el GMS es el más comúnmente usado en alimentos.

Un aditivo alimentario es cualquier ingrediente añadido intencionalmente a los alimentos, sin el propósito de nutrir, con el objetivo de modificar las características físicas, químicas, biológicas o sensoriales, durante su fabricación, procesamiento, preparación, tratamiento, envasado, acondicionamiento, almacenamiento, transporte o manipulación. El acto de añadir el aditivo al alimento, podrá resultar en que el propio aditivo o sus derivados se conviertan en un componente de tal alimento.

Uno de los principios generales para el uso de aditivos en los alimentos es que estos solo se utilicen después de que se evalúe su seguridad de uso. El resultado de la evaluación es el establecimiento de niveles de ingesta diaria aceptables

(IDA). La IDA es la cantidad de una sustancia expresada en mg/kg p.c., que puede ser ingerida diariamente en la dieta, incluso durante toda la vida y sin daño para la salud humana. La IDA es establecida con base en informaciones toxicológicas disponibles en el momento de la evaluación.

El principal organismo científico internacional que realiza evaluaciones toxicológicas de aditivos alimentarios es el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), que emite su parecer después de una debida evaluación de todos los datos relevantes tanto en animales como en seres humanos. El JECFA estableció para el GMS una IDA “no especificada”. La denominación IDA “no especificada” significa que, sobre la base de los datos disponibles (químicos, bioquímicos, toxicológicos, etc.), la ingesta diaria total de la sustancia, que se deriva de su uso para conseguir el efecto tecnológico deseado y su concentración natural en los alimentos, no representa un peligro para la salud. Por estas razones y otras mencionadas en las evaluaciones, no se considera necesario establecer una IDA expresada de forma numérica.

Es importante mencionar que el GMS es uno de los aditivos alimentarios que ha sido más estudiado y objeto de un gran número de evaluaciones relacionadas a su inocuidad en cuanto a su uso como un aditivo alimentario. El hecho es que los datos científicos disponibles demuestran que el GMS, como potenciador del sabor de los alimentos, es seguro para el consumo humano cuando se utiliza de acuerdo con las buenas prácticas de fabricación de alimentos.

Cabe aquí hacer la siguiente pregunta: ¿sería viable que la industria de alimentos colocara a disposición alimentos procesados, sin el uso de aditivos alimentarios, de forma análoga a la que hoy se ofrece en las estanterías de los supermercados y otros establecimientos comerciales del ramo? La respuesta es simplemente, no. Los aditivos tienen funciones tecnológicas esenciales para la preparación, estabilidad y preservación de alimentos, así como otras finalidades, entre ellas la de hacerlos también atractivos para el consumidor. En relación al GMS, evidencias científicas demuestran que además de sus funciones tecnológicas, ejerce también funciones nutricionales y fisiológicas esenciales para nuestro cuerpo, las cuales contribuyen al aumento de la calidad de vida, especialmente en el caso de los ancianos.

La mejoría de la palatabilidad proporcionada por el GMS, también contribuye significativamente en la ingestión de dietas restrictivas (de sal, azúcar, grasa, etc.). De hecho, este aditivo promueve una satisfacción mayor y un aumento de la aceptabilidad de los alimentos en las poblaciones con necesidades nutricionales comprometidas por enfermedades, estados psicológicos alterados, pacientes

hospitalizados y otros grupos que requieren atención específica relacionada con su estado de salud.

Vale resaltar que el conocimiento de los aspectos sensoriales relacionados con los alimentos es de suma importancia, no solo para el desarrollo de alimentos agradables a nuestro paladar, sino también para aumentar su consumo considerando el aspecto nutricional. En los últimos años, este conocimiento ha sido esencial para el desarrollo de la gastronomía mundial.

Hoy, la costumbre de frecuentar restaurantes es parte de la vida cotidiana de las personas, sea por falta de tiempo para preparar los alimentos en los hogares, o porque es una opción de ocio muy común, junto a familiares y amigos. Como resultado, vemos aumentar significativamente el grado de exigencia de la población, en cuanto a la preparación y al sabor de los platos servidos en los restaurantes.

En este sentido, podemos afirmar, sin lugar a dudas, que el descubrimiento del quinto gusto básico (umami), por parte del profesor Kikunae Ikeda, fue uno de los factores más importantes para el desarrollo de la gastronomía y de la culinaria tal como la conocemos hoy. Esto ha sido posible gracias al desarrollo de la ciencia y de la tecnología de alimentos fuertemente influenciada por el descubrimiento del quinto gusto. El hecho es que, en los últimos cien años, el GMS se ha convertido en el aditivo alimentario más utilizado en el mundo para la preparación de alimentos, por su función tecnológica de potenciador del sabor.

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a todos aquellos que colaboraron y nos cedieron su precioso apoyo para la elaboración de este libro, tanto para la primera como para esta segunda edición. Agradezco al *Institute for Glutamate Sciences in South America* (IGSSA) por proporcionar los fondos necesarios para que este libro esté disponible, vía *e-Book Open Access* (Acceso Abierto), a todos aquellos interesados en adquirir conocimientos sobre glutamato y umami. También deseo expresar mis agradecimientos a la Dra. Odalys García Cabrera por su importante colaboración en la traducción de los textos del portugués al español y revisión técnica de todos los capítulos. A todos, nuestras “muchas gracias”.

Finalmente, estimados lectores, nos gustaría manifestar nuestro interés en recibir sugerencias, comentarios, críticas y eventuales correcciones, relacionadas con este trabajo. En este libro *Umami y glutamato: aspectos químicos, biológicos y tecnológicos*, nuestro propósito es contribuir a la difusión del conocimiento científico relacionado al gusto umami y al uso del glutamato monosódico como aditivo alimentario.

Felix G. R. Reyes



PARTE I HISTÓRICO

EL UMAMI EN LAS CULTURAS ANCESTRALES

*Carlos Silvera Almitrán
R. Alejandra Longa López*

*Si uno puede definir y medir con
precisión aquello de lo que se habla,
las opiniones pueden ser consideradas como
creíbles; si no, deben ser consideradas como dudosas.*
Lord Kelvin

1. DEL CRUDO AL SABOR

Los libros de historia y antropología siempre invitan a imaginar y viajar en el tiempo pensando cómo se alimentó y vivió el hombre primitivo. Los de anatomía y fisiología nos dan una explicación científica sobre cuáles son los alimentos, y la comida en general, que influyeron directamente sobre el desarrollo y evolución de la humanidad.

Los primeros homínidos aún no son *Homo erectus*, no conocen los alimentos cocidos. En consecuencia, satisfacen su hambre con lo que tienen a su alrededor. El fuego, conocido por el hombre aproximadamente quinientos mil años antes de Cristo, tal vez de casualidad, permitió a los neandertales utilizarlo no sólo para protegerse contra el frío y alejar a las fieras (White & Browns, 1994) sino también para mejorar el sabor de lo que ingerían, pero, sobre todo, para socializar, estar en grupo y compartir. Los neandertales alcanzaron una mejor salud colectiva a través de sus alimentos mejorados por la cocción. Los alimentos cocidos son más blandos permitiendo una mejor masticación, deglución y consecuentemente, una digestión más completa. Además, los alimentos sometidos al proceso de cocción son más seguros debido a la eliminación de microorganismos

mediante el uso de altas temperaturas. Carnes y vegetales cocidos eliminan o disminuyen la contaminación microbiana que ha llegado al alimento a través de herramientas sucias o suelos terrosos (Lévi-Strauss, 1968).

Este proceso, aparentemente simple, de calentar, cocer y ablandar los alimentos, proporciona proteínas y carbohidratos disponibles para los procesos de absorción, digiere fibras, libera vitaminas y minerales, aumenta el valor nutritivo y, sobre todo, hace comestible muchos alimentos. Entonces, la adquisición e ingestión de los alimentos cocidos que contienen nutrientes permitió la evolución del hombre primitivo, aunque él ignoraba este beneficio.

Puede presumirse entonces que la salud mejoró a través de los alimentos cocidos. Durante la prehistoria, los homínidos tenían una supervivencia de sus crías de hasta un 70-80% y eran capaces de sobrevivir más allá de su edad de capacidad reproductiva, lo que evidenció un mayor cambio adaptativo humano. Las primeras tribus nómadas pudieron gozar de buena salud. Eran sujetos robustos, corpulentos y poseían una buena dentadura. Algunas evidencias arqueológicas indican que la mayor causa de mortalidad pudo haber sido el traumatismo que provocaba la muerte de casi la mitad de la población de forma violenta. A pesar de que es posible suponer que algunas enfermedades que hoy son consideradas benignas, pudieron haber sido extremadamente virulentas en otros tiempos (Serrano, 2016).

El uso de técnicas biogeoquímicas como el análisis isotópico, nos da evidencias de como era la alimentación y la vida en la prehistoria. Isótopos de carbono y nitrógeno sobre colágeno óseo indican el consumo de proteínas durante la vida del poblador paleolítico. Así, estudios de Salazar-García (2016) demostraron que las últimas sociedades cazadoras-recolectoras y las primeras sociedades agrícola-ganaderas se basaron en el consumo de recursos terrestres, aunque también de recursos marinos, los que aumentaron en el Mesolítico.

No es difícil imaginar entonces que, al igual que lo hace un niño, el homínido se llevaba todo lo que encontraba a la boca, y fue para él muy importante la distribución de las papilas gustativas para escoger o rechazar algunos alimentos. Si la distribución de los receptores del sabor amargo hubiese estado preponderantemente en la punta de la lengua, tal vez el hombre se hubiese muerto de inanición, rechazando permanentemente casi todos los alimentos ante un primer contacto desagradable. Por el contrario, como esta zona de la lengua es también receptora del dulce, amplió las posibilidades de ir descubriendo poco a poco nuevos y mejores alimentos. Sin embargo, el hambre y la escasez debieron haber fomentado el consumo de algunos alimentos perjudiciales y/o tóxicos

influyendo probablemente en el promedio corto de vida, aunado a un estilo de vida físicamente exigente donde solo los más fuertes y hábiles sobrevivían a la infancia (Cuba Debate, 2013). La antropología prehistórica muestra cómo la hominización, proceso evolutivo de millones de años que abarca desde los primeros exponentes del género *Homo* (*Homo habilis*, *erectus*, *neandertal*) hasta el hombre actual (*Homo sapiens sapiens*), influyó en el surgimiento del lenguaje y la cultura, mediante los procesos de bipedización, manualización y erección del cuerpo, entre otros. Una evolución que en el bucle del conocimiento y de riesgo-precaución le permitió al hombre ir discriminando algunos alimentos y escogiendo otros (Morin, 1999).

Los cuatro gustos básicos más identificados y conocidos han sido hasta hace muy pocos años, el dulce, salado, ácido y amargo: las frutas maduras olorosas y provocativas, dulces; los alimentos que al agregarle sal eran más agradables; los cítricos, agradablemente ácidos; no obstante, existían alimentos desagradables, amargos, que provocaban el rechazo, tal vez una forma inconsciente de autoprotección ya que la mayoría de las sustancias tóxicas son fundamentalmente amargas. Sin embargo, los homínidos eran principalmente carnívoros. Las carnes proporcionan la mayor y mejor biodisponibilidad de proteínas por digestión de aminoácidos. La predilección por estos alimentos, que mejoraron su fisiología y permitieron su evolución, no era al azar ni se debía únicamente a la disponibilidad del alimento cárnico. La razón que principalmente provocaba su consumo era el sabor delicioso, sabroso y propio de las carnes. Hoy en día, lo sabroso está relacionado a la presencia de aminoácidos, y es el quinto gusto básico, el gusto umami, sabroso, aceptado universalmente como tal por cumplir con tener receptores perfectamente identificados y estar presente en diferentes alimentos.

2. DEL GUSTO AL SABOR

El gusto umami está integrado a la historia y a la cultura alimentaria de los pueblos en todas las civilizaciones que han influido, de forma determinante, en el desarrollo de la humanidad. El desarrollo de la industria alimentaria vinculado al quinto gusto umami y a los sinergistas de sabor, se asocia a desarrollos culturales muy diversos. Incluye desde Babilonia, China, Grecia y Roma, pasando por las civilizaciones indoamericanas incas, aztecas y mayas, hasta la moderna cocina mediterránea y aquellas recetas culinarias modernas con ancestrales raíces en asentamientos humanos de las tierras altas y valles de los Pirineos, como la comida vasca.

Los antiguos iban reteniendo en la memoria lo más sabroso y acondicionando sus gustos a los alimentos más frescos, los más coloridos, los cocidos de mejores sabores, aroma y textura. La sabiduría del paladar hizo que de los muchos sabores y miles de aromas, al igual que el disco de Newton, del que a partir de colores básicos deriva una variada gama de colores, de los alimentos surja una inimaginable e incontable cantidad de sabores a manera de un “disco de Sabor”, a partir de los cinco gustos básicos (ácido, salado, dulce, amargo y umami), lo que brinda una gran cantidad de variados y fascinantes sabores. Cada uno de los gustos básicos responde a un determinado tipo de sustancia química, decía Zucker (Montaner, 2003), “... *razón evolutiva, vía gustativa de los aminoácidos...*”; podría deducirse que las necesidades metabólicas de los tejidos, en cuanto a determinadas sustancias nutritivas, influyeron en la selección de los alimentos. Las preferencias gustativas de un individuo pueden llegar a cambiar de acuerdo con los requerimientos de su organismo en situaciones diferentes.

El quinto gusto fue estudiado científicamente por el Dr. Kikunae Ikeda (1864-1936), uno de los grandes creadores del sistema industrial japonés. Dr. Ikeda identificó el ácido glutámico libre y sus sales como responsables del gusto que él denominó umami, dado que umami en japonés significa alimento sabroso o gustoso.

En sus investigaciones, el profesor Ikeda quiso caracterizar el gusto distintivo de los espárragos, los tomates, el queso, alga marina laminaria, y las carnes, hasta entonces desconocido, que se distinguía con claridad de los gustos básicos: dulce, amargo, ácido y salado. El profesor Ikeda sabía que el caldo de alga laminaria, preparado de forma tradicional en la cocina japonesa era rico en este específico gusto y empezó su extracción usando enormes cantidades de este caldo, al punto que escasamente pudo obtener 30 g de glutamato monosódico a partir de 40 kg de algas (Ault, 2004). Finalmente, consiguió purificar los cristales del glutamato monosódico (GMS) y se dio cuenta de que esta sal tenía un gusto distintivo (Kasabian & Kasabian, 2005).

El profesor Ikeda decidió producir un sazónador a partir de su recién purificado glutamato. No obstante, para poder ser utilizado como condimento, el glutamato tenía que tener las mismas propiedades físicas que, por ejemplo, la sal o el azúcar: se tenía que disolver con facilidad en agua pero sin absorber humedad o solidificarse. Así, el profesor Ikeda inventó un método para obtener cristales de GMS en la forma más pura posible que además se conservaba muy bien a largo plazo y tenía un gusto diferencial característico. Debido a que el

GMS es inodoro y no presenta una textura específica por sí mismo, se puede usar con facilidad en distintas comidas.

Ahora sabemos bien que el gusto umami se debe a la presencia del glutamato, aminoácido no esencial, y a los 5'-ribonucleótidos inosina-5'-monofosfato (IMP) y guanosina-5'-monofosfato (GMP), presentes naturalmente en la carnes, pescados, vegetales y lácteos (Ninomiya & Rozin, 2007). Este gusto sutil armoniza perfectamente con otros gustos básicos, procurando una sinergia que aumenta, prolonga y complementa el sabor original, contribuyendo a la gama de sabores a los que antes nos referíamos.

Aunque el hombre primitivo no tenía noción de estos conceptos científicos, obedecía a su paladar e instinto y, a través del tiempo, su evolución y desarrollo cultural lo fue integrando en sus costumbres alimentarias, subsistiendo y manteniéndose insustituible hasta nuestros días.

3. DE LA SAL, EL AZÚCAR Y LOS CONDIMENTOS AL UMAMI

La sal, compuesto químico formado por cloro y sodio, ha sido desde siempre esencial para la supervivencia de los seres vivos. Entre sus funciones está el evitar la deshidratación manteniendo el equilibrio de los líquidos corpóreos. Así, su uso ha sido valorado desde el inicio de los tiempos: cuentos y leyendas señalan la sal como un aditivo insustituible para la salud y el sabor de las comidas. No es difícil entonces darle una connotación económica, cuando a los soldados romanos les pagaban parte de su sueldo con sal; religiosa, por el vínculo de amistad de los hombres con Dios a través de ella; fisiológica, por la necesidad para la retención de fluidos; y alimentaria, tanto para el sabor como para conservar las carnes por su facilidad para la deshidratación (Trager, 1997).

La contraparte de la sal ha sido siempre lo dulce. Los antiguos obtuvieron lo dulce a través de las flores, el néctar de las flores, de la miel que preparaban las abejas y, más adelante, gracias a las técnicas de los chinos cantoneses, a partir del azúcar del jugo de caña. El libro de Su-Kung, autor del siglo VII, *Historia Natural*, menciona que: *El emperador Ti Hun envió trabajadores a aprender el arte de hacer azúcar en Lyu (India) y más precisamente en Mo-Ki-To (Bengala)*. Lo que es seguro es que el *Saccharum officinarum* o caña de azúcar, originaria de Ganges, dotó al mundo de un sabor agradable y sustituable sólo por la abundancia de frutas. Estas últimas con su atrayente color, fragancia y dulzura que aumenta muchas veces al deshidratarlas y consumirlas como frutas secas (Tannahill, 1988).

A los alimentos básicos se les iba añadiendo la condimentación con algunas hierbas y especias que ya desde el Neolítico acompañaban los primeros preparados, potenciando el olor, sabor, textura e incluso apariencia. Las primeras más accesibles por su abundancia fueron las semillas, cortezas, yemas, frutos, raíces e incluso secreciones, especias que daban a los alimentos, novedosos sabores. Cuando todo esto no fue suficiente, se añadió la presencia de los condimentos que, aunque pueden ser fuertes, salados o picantes, realzan y convierten en inigualable el sabor de una comida. Además, como un signo de diferencia social, surgen los condimentos del pobre, comunes y de fácil acceso, y los de los nobles, caros, difícil de preparar, raros para conseguir y costosos para el uso diario, como lo es el caso de la pimienta, la canela y la casia (Fernández-Armesto, 2004).

Así surgen novedosos condimentos, entre los que resaltan el *silfium*, el *asafétida* y el *garum*. Este último producto se hizo indispensable en la cocina romana. Su nombre surge del *garo* o caballa, pescado adicionado de sal (incluyendo las vísceras que liberaban enzimas digestivas) que era colocado al sol para su fermentación. Al tiempo, el líquido emanado, llamado también *liquamen*, se filtraba y se obtenía una sustancia rica en sabor. El sólido o residuo constituía el *hallec*, conservado para ocasiones especiales como condimento. Esta preparación parece tener un origen oriental y fue objeto de una gran industria en las costas africanas y europeas del Mar Mediterráneo, donde se preparaba de atún. Aunque el sabor dependía del pescado con el que se hacía, su uso no solo era para abrir el apetito y facilitar la digestión, sino además para sustituir la sal en la alta cocina, como se suele hacer domésticamente hoy en día para realzar el sabor con glutamato monosódico (GMS). También solían mezclarlo con vino y convertirlo en *oenogarum*, con agua o *hydrogarum*, con aceite u *oleogarum* o con el vinagre u *oxygarum*. Su uso se extendió durante nueve siglos, incluso se usaron ánforas especiales para distinguir clases y marcas, con base puntiaguda y etiquetas que realzaban sus características.

Con el tiempo, sobre todo por las condiciones poco higiénicas e insalubres en las que se preparaba, se fue olvidando esta técnica. No obstante, algunas cocinas orientales actualmente usan productos cuya fabricación es prácticamente idéntica al *garum* romano. Japón y China, que utilizan la típica salsa de soya fermentada; el *ganjang*, su equivalente coreano, así como las tradiciones culinarias de Filipinas, Vietnam o Tailandia, que utilizan el *nouc-man* o salsa tailandesa con la misma función saborizante hasta nuestros días. Del mismo modo, incluso la *moda retro* que también está resurgiendo en la gastronomía, está utilizando

restos de bonito deshidratado o pescado fermentado, para realzar algunos aderezos y preparaciones novedosas (Apicio, 1995).

Por otra parte, en las nuevas tierras, en la América que había sido descubierta, el sabor también había sido indiscutible. Basta señalar la buena nutrición de la que gozaron culturas tan importantes como la Azteca o la Inca. La cultura incaica disfrutaba, por ejemplo, de consumir pescado marino. Las grandes distancias que separaban las principales ciudades de la zona costera, y la carencia de vehículos o animales de transporte como el caballo o el camello del viejo continente, hicieron recurrir solo a la fortaleza humana. Los *Chasquis* eran hombres especializados en llevar y traer no solo información a través del Imperio sino también proveer de gustos y antojos a la nobleza, encabezada por el emperador inca. Una forma de conservar estos pescados era con sal. Sin embargo, eso no implicaba que el producto llegara siempre en las mismas condiciones. Dependiendo de la velocidad del individuo, el trayecto tan accidentado de los andes sudamericanos, la temperatura tan variada por los diferentes pisos altitudinales, podía producirse una fermentación inicial que alteraba, mejorando, el sabor de los productos del mar.

Lo mismo ocurrió con las técnicas de conservación de otras carnes como el *charqui* o la *chalonga* o *cecina*, tipos de carne seca que, hasta ahora, se preparan y dan un sabor simplemente exquisito a los platos que los incluyen como ingredientes. La papa y el maíz también han tenido esta suerte de cambio de sabor. Fuentes indiscutibles de almidón, constituidos de carbohidratos son excelentes dadores de energía pero carentes totalmente de sabor. Fueron los antiguos pobladores peruanos, quienes encontraron una forma eficaz de darle sabor a estos alimentos a través de la fermentación: los sumergían en agua por tiempos prolongados y gracias a la presencia de microorganismos se producía el proceso fermentativo, con formación de ciertos compuestos, que le daban un sabor incomparable a las preparaciones (Honório, 2007).

La bebida por excelencia, conocida como *chicha* en su raíz nahual, pero de nombre *aqha* o *azua* en el original quechua, era el resultado de la fermentación de maíz de “jora” (maíz malteado), o en el caso de la yuca de la Amazonía, recibiendo el nombre de *masato*. En ambos casos la fermentación enaltece los sabores, no sólo de la bebida, más también de las preparaciones en las que se utilizan. La reciente publicación del libro “Perú + Umami” indica la concentración de umami en insumos tradicionales peruanos destacando los ajíes panca y mirasol deshidratados, la yuca blanca, el tomate y el sachatomates, el macambo y el tocosh (Ajinomoto del Perú, 2018).

Rompieron la marcha tres sustanciosas tazas de excelente caldo, debido a la disolución en agua caliente de esas preciosas pastillas Liebig, preparadas con las mejores carnes de los rumiantes de las Pampas...

(Julio Verne, 1870, Alrededor de la Luna)

4. EL SABOR EN LA ERA CONTEMPORÁNEA

En 1861, un ingeniero alemán residente en Sudamérica, George Christian Giebert, propone al químico también alemán Justus von Liebig, conocido como el padre de la Química Orgánica, la fabricación en estas tierras del extracto de carne que Liebig había desarrollado. El objetivo era ponerlo en el mercado, pero sobre todo utilizarlo para alimentar a los ejércitos con una fuente proteica económica, segura y nutritiva.

La iniciativa en tecnología alimentaria conmocionó al mercado, luego de la instalación de la *Giebert et Compagnie*, primera fábrica de extracto de carne, instalada en la ciudad de Fray Bentos, Uruguay, con uso de capital belga. El producto del extracto de carne se hizo famoso en todo el mundo y prontamente hubo demanda en cantidades que superaban la producción. El *extratum carnis Liebig* era envasado en recipientes cuyas etiquetas llevaban la propia firma del inventor. Dado el rendimiento de uso del extracto concentrado, el cual permitía hacer una sopa para 130 soldados con sólo 4 kg del producto, el *extratum carnis Liebig*, se convirtió en alimento muy utilizado por los ejércitos de las guerras europeas de esa época, así como en las grandes expediciones características del siglo XIX. Se destaca, la expedición de Stanley buscando al Dr. David Livingstone en África, la expedición de Nansen al polo sur, Sir Edmund Percival Hillary escalando el Himalaya, entre otras (Boretto-Ovalle, 2000). Posteriormente, en 1908, Kikunae Ikeda, profesor de la Universidad Imperial de Tokio, realizó sus investigaciones con el caldo *dashi* para descubrir la sustancia que le concedía el sabor tan especial al extracto de carne concentrado.

Estos descubrimientos fueron posibles gracias a una técnica ideada en 1903 por el investigador Tswett, creador del cromatógrafo, un equipo sin el cual la determinación del sabor se hubiese quedado en el aspecto básicamente cualitativo y subjetivo. Tswett, realizó sus investigaciones en vegetales bajo el título: *Composición físico-química de la partícula de clorofila. Investigación experimental y crítica*, que constituyó su tesis magistral en 1901. Este trabajo demostró que se podían descomponer e identificar los compuestos de una sustancia (Barbas & Rupérez, 2003). El doctor Ikeda, utilizó esta técnica la cual lo ayudó a demostrar las distintas percepciones del sabor en la cultura alimentaria de los pueblos.

En 1903, Julius Maggi, suizo fabricante de harina, descubre que sometiendo granos de cereales a altas temperaturas, se consigue un sabor parecido a la carne. La carne era escasa y muy cara en aquella época, y Julius Maggi inicia la producción de cubitos para sopas nutritivas, muy populares hasta nuestros días. El Dr. Maggi aplicaba el proceso del pardeamiento no enzimático o Reacción de Maillard. Asimismo, en muchas gastronomías, incluso en la fina cocina europea, se usa el caldo *bouillon*, una preparación similar al caldo *dashi* del Japón, cuya función es enaltecer las comidas a través del sabor de la carne. Esta función también se ha encontrado en vegetales maduros y sabrosos que tienen en común sabores complejos, como los espárragos y tomates, así como en el queso y la carne.

Todos los alimentos antes descritos tienen diferentes concentraciones de glutamato, o determinados nucleótidos como inosinato y guanilato, que estimulan el gusto umami y despiertan nuevas sensaciones de explosión de sabor en las comidas, cuando todas ellas están contenidas en un bocado. Este desarrollo, como se vio anteriormente, motivó la fundación de empresas biotecnológicas.

El término “biotecnología” fue acuñado en Yorkshire, Inglaterra, a principios del siglo XX y sorprende el hecho de que, aproximadamente, por esos mismos años, el Dr. Kikunae Ikeda desarrollara en Japón el proceso biotecnológico que diera lugar a la elaboración del glutamato monosódico. De hecho, para el Dr. Ikeda eran familiares las palabras “química” y “fermentaciones”, pero desconocía la palabra “biotecnología” aun cuando el proceso por él inventado era claramente biotecnológico en la más moderna acepción del término (Hulse, 2004). Citando al Dr. Hulse:

La historia del procesamiento de los alimentos, en gran parte es la historia de la bioingeniería; el reemplazo gradual de las manos humanas y la energía, primero por animales, luego por máquinas. Los procesos industriales de fraccionamiento y transformación, utilizados hoy, fueron desarrollados hace cientos de años. Lo que comenzó como una labor artesanal, con un uso intensivo de energía humana, fue progresivamente mecanizado. Adicional a la producción de una inmensa diversidad de productos alimenticios, las industrias alimentarias han reducido progresivamente el esfuerzo y la energía humana utilizada en las fábricas, en los restaurantes y en los hogares.

Los procesos biotecnológicos anteceden por milenios al concepto moderno de biotecnología, de tal forma que por medio del empirismo se desarrollaron productos y procesos que impartían perfiles de sabor y aromas que caracterizaron la preferencia por el buen comer y el bien alimentarse de todas las culturas.

El empirismo abrió paso al conocimiento científico-tecnológico a partir de la cuantificación para el conocimiento de los procesos cognoscitivos planteados por el físico británico Lord Kelvin quien propuso la frase que encabeza este capítulo.

El gusto umami está estrechamente vinculado a las más importantes salsas y aderezos que, enraizados en las entrañas de las más antiguas civilizaciones, han navegado por la cultura alimentaria, nutriendo el músculo y el intelecto de la humanidad. Las salsas *Worcestershire* y *ketchup*, la *zuppa de pesce* (sopa de pescado) salpicada con ralladura de queso *parmesano* o *reggina-montano* se vinculan al buen gusto del *garum*, nombre que en el Imperio Romano daban al perfil de sabor que hoy conocemos como umami (Riley, 2009).

Uno de los procesos biotecnológicos más interesantes se vincula a la salsa *ketchup*, de origen asiático, en lo que hoy se conoce como Malasia, para luego difundirse a China y el resto de Oriente. Luego se incorporó a la cocina occidental mediante la colonización que de estas tierras hicieron los exploradores holandeses e ingleses. La “mancha roja” del *ketchup* se desparramó por el mundo y hoy las salsas descendientes de aquella original son identificadas con la cocina norteamericana por excelencia y, en particular, por algunas empresas del rubro alimentario como Heinz y MacDonalds.

Según el diccionario de la Real Academia Española, la palabra *ketchup* proviene de *kôechiap* que significa salsa de pescado en escabeche o salmuera. La teoría más difundida acerca del origen de la palabra *ketchup* indica que proviene de *ke-tsiap*, palabra del dialecto hablado en la isla Amoy, cerca de China. Otras teorías coinciden en que en realidad la palabra maya *kechap* dio origen a la palabra actual *ketchup*. Más tarde, a finales del siglo XVII, el nombre *ketchup* y quizás también algunas muestras del producto llegaron a Inglaterra, donde el término apareció publicado por primera vez en 1690 como *catchup*. Después, en 1711, comenzó a utilizarse *ketchup*. Ambos nombres fueron aplicados años después a distintos condimentos ingleses.

El tomate, hoy característico de la salsa *ketchup*, no estuvo en la formulación y el proceso original, y no lo estuvo por milenios. Desde el punto de vista histórico y geográfico, es impensable que originalmente la salsa lo tuviera. La salsa de pescado fermentado *ke-tsiap* se originó en las costas asiáticas de los mares que rodeaban las islas y poblaciones del Pacífico. Por otro lado, el tomate tuvo su origen en América y de allí se difundió principalmente a Europa, posterior a la conquista, en las postrimerías del siglo XV y comienzos del siglo XVI.

Las salsas de *ketchup* a base de pescado fermentado y otros ingredientes evolucionaron hasta que alguien detectó que el principio activo, propio del sabor especial de aquellas, también estaban en el tomate triturado. Actualmente, sabemos que es a raíz del alto contenido de ácido glutámico libre que tiene esta fruta. Eso promovió un cambio radical en los procesos de fabricación y en la disponibilidad de la “esencia del sabor” para la elaboración de la salsa en cuestión. El oportunismo industrial y empresarial de Henry Heinz tomó ventaja de tal hecho a fines del siglo XIX y comienzos del siglo XX, cuando aún el Dr. Ikeda estaba llevando a cabo sus estudios en la Universidad Imperial de Tóquio, Japón. Una vez más la aplicación industrial precedió a la comprensión del hecho científico.

Quienes se interesan por la cultura alimentaria, el buen comer y sobre todo por la buena alimentación no pueden dejar de preguntarse ¿cuál es el hilo conductor que vincula paso a paso la transformación de una salsa de pescado fermentado hacia una salsa básicamente de tomates, sin que prácticamente cambie de nombre a través de la historia, las migraciones poblacionales, sobreviviendo aun al auge y caída de imperios y civilizaciones? La respuesta es el gusto umami.

El hilo conductor del sabor agradable está vinculado a los ingredientes de la salsa original, sus modificaciones intermedias y el producto final que hoy conocemos. Gracias a los trabajos del Dr. Kikunae Ikeda, podemos identificar este hilo conductor como siendo el ácido glutámico libre y sus sales, así como los 5'-ribonucleótidos, también participantes tanto de las propiedades de sinergismo de sabor como del gusto umami característico. Los 5'-ribonucleótidos con mayor impacto de sabor para los seres humanos son principalmente el guanosina-5'-monofosfato (GMP) y el inosina-5'-monofosfato (IMP) (Kuninaka *et al.*, 1964; Cagan, 1987).

El *ketchup* original no tenía otros ingredientes que pescado fermentado, para generar ácido glutámico libre, y especias. El entonces aderezo condimentado conocido como “salsa de las Indias Orientales” por los exploradores ingleses y holandeses fue llevado a Europa y, lógicamente, adaptado con el tiempo a las materias primas, costumbres alimentarias y métodos de procesamientos que fueron definitivamente arrasadores con el advenimiento de la Revolución Industrial del siglo XIX. Ingredientes y procesos fueron innovados con el agregado de anchoas saladas, melaza de caña de azúcar, hongos y hortalizas secas, pero la “esencia del sabor” del umami quedó intacta debido, principalmente, a que todos los nuevos ingredientes nombrados son ricos en ácido glutámico libre y 5'-ribonucleótidos. Una vez más, umami sobrevivió a las migraciones, auges y caídas de las civilizaciones.

Siguiendo la línea histórica de la cultura alimentaria de las distintas civilizaciones, en las civilizaciones prerrománicas, de origen árabe, que predominaban en el mar Mediterráneo y el Océano Atlántico próximo, se desarrollaron técnicas especiales de artes pesqueras. Un ejemplo de estas técnicas es, la *algarra*, procedimiento de captura para el atún que luego era consumido tanto por su carne como por la *mojama*, palabra derivada del árabe *musama* (seco). Se trataba de capturar grandes atunes, de hasta 200 kg de peso, para filetear sus lomos y secarlos en un proceso de salazón y oreo. El producto rico en ácido glutámico libre fue esencia y sabor de la cocina mediterránea en las regiones de lo que hoy, en España, son las comunidades de Murcia y Valencia, así como la costa atlántica andaluza, provincias de Cádiz y Huelva. *Mojama*, presentado como lonchas de lomo de atún seco, condimentado al gusto y rociado delicadamente con aceite de oliva, es un delicado platillo que alegra los paladares y el corazón de la cálida región donde moros y cristianos hicieron una amalgama cultural por encima de diferencias raciales y religiosas.

Las técnicas de captura de atún de origen árabe prerrománico se difundieron en la cultura alimentaria griega con el nombre del pescado *garon*. De este pescado, tomaban las partes menos nobles para obtener una salsa fermentada, y culminó ya en pleno Imperio Romano con la ya mencionada creación gastronómica denominada *garum*. *Garum* era una salsa de pescado producida por fermentación, a la que se le atribuían propiedades afrodisíacas. Estas propiedades fueron fundadas, probablemente, en su uso para aliñar y condimentar los alimentos de las grandes ocasiones festivas y en su composición a base de vino, vinagre, pimienta y aceite de oliva, además del ingrediente fermentado, todos ellos, ingredientes básicos de la gastronomía mediterránea de la península itálica.

Tales principios básicos de elaboración de salsas fueron utilizados en productos que luego se hicieron famosos tanto en las comidas regionales como internacionales. Tal es el caso de la salsa *Worcestershire*, que se utiliza como condimento saborizante y se elabora con vinagre, melaza, jarabe de maíz, ajíes picantes o chiles, pimentón, tamarindo, anchoas, cebollas, clavo de olor, ajo y eventualmente otros condimentos. El uso más frecuente es para aderezar carnes, para marinar carne de cerdo y está incluida en el aliño de la *Cesar Salad*, tan popular en nuestros días. En un contexto histórico, la salsa *Worcestershire* procede, de la amalgama de la cultura culinaria hindú con la de los conquistadores ingleses. Nuevamente, el “quinto gusto” umami tomaba lo mejor de los alimentos y los transportaba con ventaja al complejo sistema de sabor y aroma, que acompaña al sencillo acto de alimentarse.

El Dr. Gordon G. Birch, en su trabajo *Structure, Chirality, and Solution Properties of Glutamates in Relation to Taste* afirma que el origen del gusto umami y del glutamato monosódico podría ser atribuido al padre de la química orgánica y alimentaria, Justus von Liebig, quien se dio cuenta de que las proteínas hidrolizadas tenían aroma a carne (Birch, 1987). Tal como lo manifiesta el Dr. Birch, el gusto umami y el glutamato monosódico, aún no identificados como tales, estaban presentes en los trabajos del químico alemán y su empuje industrial dio lugar a una pujante industria que sentó las bases económicas de los países de la cuenca del Río de la Plata.

En 1865, se funda la *Liebig's Extract of Meat Company Ltd.* que con gran éxito comercializa el extracto de carne y amplía sus instalaciones con fábricas en Argentina, Uruguay y Paraguay. Crece como una gran multinacional de la carne sobre todo en el primero de estos países.

En 1870 el extracto era conocido en toda Europa. En 1889 se comenzó a fabricar un producto que encontró una difusión aún mayor que el extracto: el *Corned Beef* (carne enlatada). Era comercializada en envases de hojalata de forma tronco piramidal, muy apropiados para la estiba, la apertura rápida y el cómodo acceso al contenido. Es así que en 1903 la compañía adquiere un saladero en la provincia de Entre Ríos, sobre la costa del río Uruguay, entre las ciudades de Colón y San José. Allí se instala “Fábrica Colón”. Desde ese año, la Liebig exporta variados productos elaborados con carne argentina a todo el mundo. Para ese entonces ya estaban puestas en práctica las soluciones del francés Charles Tellier, autor de *La conservation de la viande par le froid* (La conservación de la carne por el frío), para la generación de frío mecánico en barcos mercantes y se había comenzado a exportar carne cruda refrigerada y congelada. Este hecho provocó un vuelco fundamental en la incorporación de tecnología para posibilitar la comercialización de carne, anteriormente solo posible por los métodos de salado o envasado. El primer barco que trasladó carne refrigerada a Europa salió del Río de la Plata, de los puertos de Montevideo y Buenos Aires, demoró 105 días para llegar a su destino. Por esos mismos tiempos, Gustave Swift impuso el uso de vagones refrigerados para el transporte de carne por tierra.

Durante la segunda década del siglo XX, la empresa Armour de Chicago se instala en las proximidades del Frigorífico Liebig's. Pocos años más tarde, este se transforma en el Frigorífico Anglo, cerrando un ciclo de gran contenido irónico pues las tecnologías desarrolladas en Sudamérica por científicos alemanes fueron el soporte fundamental para alimentar a las tropas aliadas que combatieron y vencieron al III Reich.

Los campos de golf construidos por los británicos en los predios próximos a los complejos industriales de transformación y conservación de carne quedan como mudos testigos de aquellas tecnologías que alimentaron a las tropas. Estas últimas que respaldaron las políticas de reordenamiento económico, energético y territorial del siglo XX en las guerras que redistribuyeron el petróleo, el gas, las materias primas agropecuarias y las riquezas minerales (Silvera & Von Liebig, 2008).

La mencionada redistribución de riqueza ha financiado el desarrollo de la ciencia básica y la tecnología a partir del conocimiento generado utilizando como base la teoría atómica y la mecánica cuántica en la primera mitad del siglo XX y de la biotecnología, la genética y las comunicaciones en la segunda mitad. De forma similar, las riquezas de Asia e principalmente India, África, así como los metales preciosos de América financiaron la Revolución Industrial a través de la banca holandesa de los siglos XVI y XVII, y que eclosionó en el siglo XVIII.

Inicialmente, la campaña de Napoleón en Rusia motivó a Nicholas Appert, en 1810, a seguir su brillante intuición de capturar los nutrientes en un recipiente de larga duración. Cuarenta años más tarde, Louis Pasteur postuló los principios básicos de la microbiología mediante el proceso de pasteurización. Posteriormente, fueron realizados los trabajos de Justus von Liebig con extracto de carne y los de Charles Tellier con refrigeración mecánica. Todos estos eventos dieron las bases científicas y tecnológicas para que la carne, fuente de energía y proteína de alta calidad, tuviera acceso a los mercados y consumidores de todo el mundo.

Los giros de la rueda de la historia de los alimentos tiene muchos radios de sustentación: la conservación de granos en ánforas herméticamente cerradas, precursoras de nuestros actuales silos; la descripción de Séneca de la conservación de los camarones por el hielo, que antecede a muchas de nuestras tecnologías de conservación por bajas temperaturas; y la deshidratación de la papa por los habitantes de las tierras altas andinas fueron antecesores de quienes después reinventaron la deshidrocongelación (*Freeze Drying*). La preservación por salado, condimentación y calor de la carne picada fueron anticipos de la conservación en latas, botellas y bolsas, y la fermentación láctica practicada por los babilonios fue precursora de nuestros actuales quesos y yogures.

5. UMAMI: ASUMIENDO LA CATEGORÍA DE GUSTO BÁSICO

En el año 2000, la revista *Nature Neuroscience*, publica un artículo del Dr. Charles Zuker de la Universidad de California en San Diego, miembro del

Instituto Médico Howard Hughes. El artículo relata el papel de los aminoácidos en la dieta y demuestra que el hombre, teniendo más de diez mil papilas gustativas en lengua, paladar y faringe e innervado por los pares craneales VII, IX y X, posee un receptor gustativo específico para el glutamato monosódico y otros similares (Nelson *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2003). Este descubrimiento es prueba definitiva de lo que proponía el Dr. Ikeda, que el gusto umami era un quinto gusto básico no resultante de la combinación de los otros gustos conocidos, sino independiente y único. Así, cada pueblo tiene sabores típicos, siendo que el aroma, gusto y presentación de un plato (lo cual se debe a la armonía de sus ingredientes), constituyen la cultura culinaria de su país. Los miembros de una comunidad reconocen e identifican sus sabores y sabores, y miembros de otras culturas pueden reproducir los sabores con estos insumos, ingredientes indispensables en comidas populares de todo el mundo.

Solamente algunas pocas moléculas de importancia biológica parecen tener tantos roles en la función del cuerpo como el glutamato. Los seres humanos sabemos que el sabor es más que detectar los componentes químicos en una comida o bebida. Olor, textura y sabor unidos a temperatura proveen de una sensación inigualable e inolvidable.

Ya la cada vez mejor posicionada gastronomía peruana, tiene en la región sur del país el famoso *mocontullo* o hueso de rodilla. Este es elaborado con el hueso de “manzana” o cabeza de fémur de la pierna de vaca, que por tradición se utiliza para dar sabor a las sopas tradicionales arequipeñas y se conserva por largos periodos de tiempo cerca del fogón de la casa.

Añadir cereales, granos andinos, leguminosas, carnes, pescados, mariscos, pollo, verduras, legumbres frescas a sopas, caldos o guisos, identifican la cocina típica de cada región. Sin embargo, todos cumplen la misma función: realzar y armonizar los sabores de las comidas y deleitar el paladar de quien los consume (Maldonado, 2016).

Existe, entonces, un segmento alimentario que cruza horizontalmente a todas las innovaciones precedentes, y marca un hito histórico en las costumbres alimentarias de todas las culturas. Un ingrediente que hace que un alimento sea simultáneamente sano, sabroso y apropiado a la logística de distribución en todo el planeta: umami, el quinto gusto básico.

Este relato sobre la cultura alimentaria es finalizado con un razonamiento básico: es bien sabido que en los viajes de Marco Polo se introdujeron los “muy italianos spaghettis”, de la remota China a Italia, por el puerto de Venecia. Manjar rico, sano y nutritivo que fundamenta su aceptación en el aporte sávido

del ácido glutámico libre proveniente del tomate de origen americano y del queso *parmesano*, claro, con un toque de aceite de oliva y una taza, a la temperatura adecuada, de un vino tinto proveniente de los viñedos de la campiña italiana.

Los hechos históricos, las verificaciones científicas, las mediciones biológicas, los trabajos toxicológicos, la incorporación de tecnología de punta por parte de las empresas líderes del sector vinculado a la producción de alimentos, todos, medidos con precisión en el devenir de las civilizaciones que construyeron la cultura alimentaria de la humanidad, en total acuerdo con las palabras iniciales de Lord Kelvin citadas al inicio de este capítulo, indican sin lugar a dudas que las propiedades sensoriales y nutricionales beneficiosas adjudicadas al glutamato monosódico deben ser consideradas válidas... y lo son.

El Dr. Kikunae Ikeda, genio y figura de la investigación aplicada en ciencia de los alimentos, hace 100 años categorizó y compendió la historia del empirismo alimentario y lo transformó en conocimiento científico. Como padre reconocido de tal conocimiento tuvo el privilegio de bautizar el gusto umami y lo llamó de “esencia del sabor”. Hilo conductor de la alimentación a través de, por lo menos, seis mil años de la historia gastronómica y nutricional de la humanidad pueden aplicarse estas palabras escritas en el siglo III, a.C. por Epicuro, filósofo hedónico:

*Desde luego el todo fue siempre tal como ahora es,
y siempre será igual.*

Epicuro, Carta a Herodoto

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJINOMOTO DEL PERÚ. *Perú + Umami*. Lima, Hirka S.A.C., 2018. Disponible en <<https://www.behance.net/gallery/68146351/Peru-Umami>>. Acceso el 8/12/2020.

APICIO, M. G. *Gastronomía en la antigua Roma imperial*. San Sebastian, R&B Ediciones, 1995. Disponible en <<https://www.casadellibro.com/libro-gastronomia-en-la-antigua-roma-imperial/9788488947277/496927>>. Acceso el 9/5/2020.

AULT, A. “The monosodium glutamate story: the commercial production of MSG and other amino acids”. *Journal of Chemical Education*, 81: 347-355, 2004.

BARBAS, C. & RUPÉREZ, F. J. “En memoria de Tswett: 100 años de cromatografía”. *Cromatografía y técnicas afines*. 24(1), 2003. Disponible en <<https://re>

positorioinstitucional.ceu.es/bitstream/10637/1051/1/p%2014_19.pdf>. Acceso en 1/3/2020.

BIRCH, G. G. “Structure, chirality, and solution properties of glutamates in relation to taste”. In: *KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). Umami: a basic taste. Physiology, biochemistry, nutrition, food science.* New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 173-184.

BORETTO-OVALLE, R. *Historiografía de la Ciudad de Fray Bentos Periodo 1857-1890.* CD del patrimonio de la ciudad de Fray Bentos, Uruguay, 2000.

CAGAN, R. H. “Allosteric regulation of glutamate taste receptor function”. In: *KAWAMURA Y. & KARE M. R. (ed.). Umami: a basic taste. Physiology, biochemistry, nutrition, food science.* New York, Marcel Dekker, 1987, pp.155-172.

CUBA DEBATE. La longevidad y su comportamiento histórico. Disponible en <<http://www.cubadebate.cu/noticias/2013/03/31/la-longevidad-y-su-comportamiento-historico/#.X15GP6hKgdU>>. Acceso en 3/3/2020.

FERNÁNDEZ-ARMESTO F. *Historia de la comida: alimentos, cocina y civilización.* Barcelona, Tusquets Editores S.A., 2004, pp. 234-235.

HONÓRIO, D. Z. *Conferencia: Sensaciones y flavor en tocosh de maíz y papa.* II SLANUT, Universidad de Ciencias Aplicadas; Lima, 2007.

HULSE, J. H. “Biotechnologies: past history, present state and future prospects”. *Trends Food Sci Technol*, 15(1): 3-18, 2004.

KASABIAN, D. & KASABIAN, A. *The fifth taste, cooking with umami.* New York, Universe Publishing, 2005.

KUNINAKA, A.; KIBI, M. & SAKAGUCHI, K. “History and development of flavor nucleotides”. *Food Technol.* 18: 287-93, 1964.

LÉVI-STRAUSS, C. *Mitológicas I: lo crudo y lo cocido.* México, Fondo de Cultura Económica de México, 1968.

MALDONADO, S. “Arequipeñismos y localismos em las tradiciones de Ricardo Palma”. *Aula Palma.* (13): 293-302, 2016.

MONTANER, J. “Los secretos del umami. Investigaciones recientes desvelan nuevas conexiones entre el glutamato monosódico y el umami, el llamado quinto

gusto”. Eroski Consumer. 2/9/2003. Disponible en <<https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/los-secretos-del-umami.html>>. Acceso el 28/2/2020.

MORIN, E. *Los siete saberes necesarios para la educación del futuro*. Bogotá, Cooperativa Editorial Magisterio, 1999. Disponible en <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000117740_spa>. Acceso el 28/2/2020.

NELSON, G. *et al.* “An amino-acid taste receptor”. *Nature*. 416: 199-202, 2002.

NINOMIYA, K. & ROZIN, E. *The world Umami: the fifth taste of human being*. Umami Books. Londres, Cross Media Limited, 2007, p. 6.

RILEY, G. *The Oxford Companion to Italian Food*. Oxford, Oxford University Press, 2009.

SALAZAR-GARCÍA, D. “Repasao a la evidencia isotópica sobre alimentación en la prehistoria valenciana durante el Mesolítico y el Neolítico”. *Bilyana*. 2016, pp. 31-46. Disponible en <https://www.researchgate.net/publication/311102897_Repaso_a_la_evidencia_isotopica_sobre_alimentacion_en_la_prehistoria_valenciana_durante_el_Mesolitico_y_el_Neolitico>. Acceso el 3/3/2020.

SERRANO, E. *Introducción a la antropología*. Museo Nacional de Antropología. Cédulas de Sala. Departamento de Promoción Cultural. Mexico, Conaculta Inah, 2016.

SILVERA, C. & VON LIEBIG, J. “El químico que innovó en la industria de la carne, la nutrición y la política de los siglos XIX y XX”. In: BLANCO, T. & ALVARADO-ORTIZ, C. *Alimentos – Bromatología*. 2. ed. Lima, Ajinomoto Foundation and the University of Applied Sciences (UPC), 2008.

TANNAHILL, R. *Food in History*. New York, Three Rivers Press, 1988, pp. 13-144.

TRAGER, J. *The food chronology: a food lover's compendium of events and anecdotes from prehistory to the present*. New York, Henry Holt and Company, 1997, p. 30.

WHITE, E. & BROWNS, D. *El primer hombre*. Barcelona, Ediciones Folio S.A., 1994.

ZHAO, G. Q. *et al.* “The receptors for mammalian sweet and umami taste”. *Cell*. 115(3): 255-266, 2003.

PARTE II
ASPECTOS QUÍMICOS Y PRESENCIA
EN ALIMENTOS

ASPECTOS ANALÍTICOS DEL GLUTAMATO

Susanne Rath
Flavia Pereira da Silva Airoidi

El glutamato monosódico es la sal sódica del ácido glutámico, aminoácido no esencial. El glutamato puede existir formando parte de las proteínas, en conjunto con otros aminoácidos, o en forma libre en tejidos vegetales y animales. Sin embargo, es el glutamato libre el que juega un papel importante en el sabor y en la palatabilidad de los alimentos.

El primer relato acerca de la obtención del ácido glutámico se remonta a 1866, cuando el químico alemán Ritthausen describió la obtención de ese compuesto puro a partir de la hidrólisis ácida de la gliadina, un componente del gluten. No obstante, sus propiedades de realzar el sabor permanecieron desconocidas hasta la primera década del siglo XX. En 1908, el profesor Kikunae Ikeda de la Universidad Imperial de Tokio descubrió que el ácido glutámico es responsable del sabor característico del caldo hecho a partir del *kombu* (*Laminaria japonica*), un tipo de alga usada a través de los siglos en la cocina tradicional japonesa. Mediante un proceso simple de extracción con agua caliente, fue posible que el profesor Ikeda aislara 30 g de ácido L-glutámico, a partir de 40 kg de algas (Ault, 2004).

El proceso de obtención de glutamato monosódico (GMS) a partir de harina de trigo fue patentado en 1909 y el compuesto se comercializó bajo el nombre comercial de Ajinomoto.

Debido a sus características de potenciador o realzador del sabor, el GMS ha sido ampliamente utilizado en todo el mundo, atribuyéndosele el gusto umami, que es considerado el quinto gusto básico, distinto de los otros cuatro gustos: dulce, amargo, ácido y salado. El GMS se ha añadido a los alimentos preparados y procesados tales como alimentos congelados, mezcla de condimentos, sopas enlatadas y deshidratadas, salsas, aderezos para ensaladas y productos cárnicos como salchichas y jamones. En su forma natural, está presente en alimentos ricos en proteínas como carnes, hortalizas y leche.

El organismo humano también produce glutamato en gran escala. Los músculos, el cerebro y otros órganos contienen glutamato en forma libre o unido a proteínas. El L-glutamato libre es el más abundante de los aminoácidos en el cerebro y uno de los más importantes neurotransmisores excitadores en el sistema nervioso central de los mamíferos. Cuando la concentración de glutamato en el cerebro es excesiva, se vuelve tóxico para las neuronas que contienen receptores de glutamato (Blandini & Greenamyre, 1998).

Debido a la importancia del glutamato monosódico en el ámbito biológico, así como a su uso como ingrediente alimenticio, se han llevado a cabo muchas investigaciones acerca de la inocuidad y eficacia del GMS, enfocando principalmente en su utilidad en la alimentación. Para este fin, es necesario que haya disponibilidad de métodos analíticos confiables, capaces de determinar el glutamato y el ácido L-glutámico en matrices complejas, tales como alimentos y material biológico.

Este capítulo tiene como objetivo describir las propiedades físico-químicas del glutamato y discutir sobre los métodos analíticos desarrollados a través del tiempo.

1. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO

El compuesto 2-amino-5-hidroxi-5-oxo-pentanoato de sodio, comúnmente conocido como glutamato monosódico, o GMS, existe en dos formas enantiómeras. Si bien el isómero levógiro (L) es responsable del característico gusto umami, el isómero dextrógiro (D) no presenta características organolépticas.

La estructura química de GMS se muestra en la Figura 2.1.

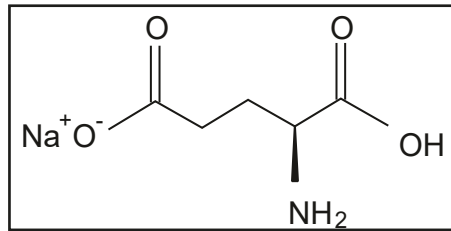


Figura 2.1 – Estructura química del glutamato monosódico.

Fuente: figura elaborada por los autores.

El GMS está registrado en el *Chemical Abstract Service* bajo la identificación CAS 142-47-2. Las propiedades físico-químicas se resumen en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1 – Propiedades físico-químicas del glutamato monosódico.

Fórmula molecular	Masa molar	Apariencia	Punto de fusión	Solubilidad
$C_5H_8NO_4Na$	169,11	Polvo cristalino blanco	225 °C	Muy soluble en agua y poco soluble en etanol.

El GMS no es higroscópico y es estable cuando se almacena a temperatura ambiente durante periodos prolongados. El pH de una solución acuosa de 1:20 (m/v) se sitúa entre 6,7 y 7,2 (CFCC, 2004).

Además, el GMS no sufre descomposición durante el procesamiento, es decir, en la cocción normal de los alimentos. Mientras en condiciones ácidas (pH 2,2 a 2,4) y a altas temperaturas, se transforma en 5-pirrolidona-2-carboxilato (Yamaguchi & Ninomiya, 1998).

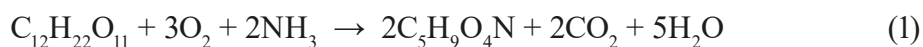
En general, el GMS se comercializa en su forma hidratada (masa molar 187,13) y CAS 6106-04-3 (CFCC, 2004).

1.1 Producción

La producción industrial de GMS se realiza a partir del hidrocloreto del ácido L-glutámico o simplemente del ácido L-glutámico, el cual es disuelto en agua, neutralizado y convertido en sal monosódica mediante la adición de hidróxido de sodio. Los cristales de GMS se obtienen después por concentración al vacío de la solución que contiene GMS, a 60 °C y tras la posterior centrifugación (Ault, 2004).

A su vez, el ácido glutámico puede obtenerse por extracción a partir de fuentes naturales, por síntesis química, fermentación o catálisis enzimática. La

obtención de ácido L-glutámico por fermentación es actualmente el proceso más importante a considerar en la producción de glutamato monosódico. Este proceso se estableció hace más de medio siglo, cuando se descubrió que la *E. coli* es capaz de sintetizar y secretar aminoácidos y que el rendimiento de la reacción se incrementa por la presencia de sales de amonio en el medio de cultivo. Las materias primas más importantes para este proceso han sido la caña de azúcar, el maíz y la yuca. Más tarde, otra bacteria fue descubierta, la *Corynebacterium glutamicum*, que produce el ácido L-glutámico (C₅H₉O₄N) a partir de carbohidratos, oxígeno y amoníaco (Reacción 1).



La ventaja del proceso de fermentación es la producción del isómero levógiro del ácido glutámico, que en forma de sal sódica tiene las propiedades organolépticas deseadas de potenciador o realzador del sabor. Por otro lado, en el proceso de síntesis se obtiene una mezcla racémica y la separación enantiomérica necesita ser realizada en una etapa adicional.

2. MÉTODOS DE ANÁLISIS

Uno de los primeros métodos descritos para la determinación de glutamato fue propuesto por Fernández-Flores *et al.* (1969). El método se basa en la titulación del ácido glutámico con hidróxido de sodio en presencia de formaldehído, después de la separación previa de este aminoácido de una matriz acuosa en una columna de intercambio iónico. Sin embargo, este método titrimétrico no presenta detectabilidad y selectividad suficientes para cuantificar el glutamato en los alimentos, en presencia de otros aminoácidos. Posteriormente, para sortear estas limitaciones, fueron propuestas modificaciones tanto en la preparación de muestras (separación y purificación), como con relación a artificios para aumentar la detectabilidad del glutamato (Sporns, 1982).

Desde entonces, una gran variedad de métodos han sido descritos en la literatura para la determinación de glutamato en matrices diversas como alimentos y material biológico. Entre ellas, titulaciones potenciométricas, métodos fluorimétricos, cromatografía en papel, cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta eficiencia, electroforesis capilar y determinación mediante los analizadores de aminoácidos. En la actualidad, la mayoría de los métodos destinados a la determinación de L-glutamato en matrices biológicas, incluyendo alimentos,

implica el uso de una cromatografía líquida de alta eficiencia, la electroforesis capilar o mediciones amperométricas con el uso de biosensores.

Aunque la cromatografía en papel y la cromatografía de gases hayan sido empleadas para la determinación del glutamato, la primera carece de precisión y la segunda requiere una etapa previa de derivatización. Los métodos que emplean la cromatografía líquida de alta eficiencia o analizador de aminoácidos asociados a detectores UV o fluorescencia también requieren derivatización del ácido glutámico post o precolumna. En general, las técnicas cromatográficas requieren una preparación previa de la muestra, antes de la cuantificación, destinada a extraer el analito de la matriz, así como también la eliminación de interferencias de otros componentes y concentración, lo que requiere tiempo y consumo de reactivos.

En este sentido, los métodos enzimáticos, utilizando biosensores, son una interesante alternativa para los métodos cromatográficos debido a sus características de selectividad y rapidez de respuesta.

El método oficial propuesto por la *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) se basa en la cuantificación del ácido glutámico mediante la titulación con hidróxido sódico en presencia de formaldehído, después de la extracción y limpieza en columna de intercambio iónico (AOAC, 2005). No obstante, este método no es adecuado para la cuantificación del glutamato en los alimentos y en material biológico y no indica la contaminación cruzada por otros aminoácidos (Lau & Mok, 1995).

A continuación se discuten los principales métodos analíticos utilizados para la determinación de glutamato en alimentos y matrices biológicas.

2.1. Cromatografía líquida de alta eficiencia

Los métodos cromatográficos han sido ampliamente utilizados en las más diversas áreas por sus numerosas ventajas sobre otros métodos, en especial en la separación, identificación y cuantificación de compuestos en matrices complejas hechas en un solo análisis. La sensibilidad de la técnica depende del sistema de detección asociado al método cromatográfico. El glutamato no posee un cromóforo que resulte en una absorción significativa de energía en la región ultravioleta o visible del espectro electromagnético, ni tampoco tiene un grupo funcional con propiedades fluorescentes, que permita la cuantificación del GMS en matrices biológicas. Por esta razón, son necesarias reacciones de derivatización pre o postcolumna. Como reactivos de derivatización se han utilizado, entre otros, fenilisotiocianato (PITC), cloruro de dansilo (DNS-Cl), o-ftalaldehído (OPA),

9-Fluorenilmetil cloroformato (FMOCl). No obstante, en general, las reacciones de derivatización consumen tiempo, muchas veces los derivados carecen de estabilidad y los interferentes de matrices biológicas no son totalmente eliminados. Todos estos factores puede afectar la selectividad del método (Zhang *et al.*, 2006).

El método más conocido para la determinación de aminoácidos por HPLC implica la reacción del analito con o-ftalaldehído (OPA) y 2-mercaptoetanol (2-ME) para producir derivados isoindoles fluorescentes. Estos últimos compuestos son separados en la columna cromatográfica y cuantificados mediante un detector de fluorescencia. Sin embargo, el método no permite la diferenciación de enantiómeros. Para el análisis enantioselectivo, el 2-ME necesita ser reemplazado por tioles quirales tales como N-acetilcisteína, N-isobutiril-L-cisteína (IBC) y otros (Grant *et al.*, 2006). La reacción de derivatización de un aminoácido con OPA e IBC se representa en la Figura 2.2.

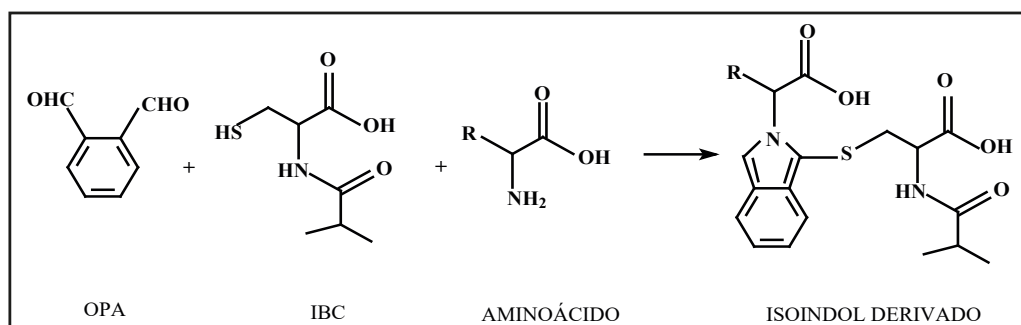


Figura 2.2 – Reacción de derivatización de un aminoácido con o-ftalaldehído (OPA) y N-isobutiril-L-cisteína (IBC).

Fuente: figura elaborada por los autores.

La propiedad del cloruro de dansilo de formar derivados fluorescentes con aminas primarias y secundarias también ha sido explorada para cuantificar el glutamato mediante HPLC. En este caso, los derivados fluorescentes pueden separarse en una fase estacionaria octadecilsilano, usando una fase móvil compuesta de metanol:agua. Williams & Winfield (1982) emplean este procedimiento para la determinación de glutamato en muestras de sopas. Las longitudes de onda de excitación y emisión del dispositivo de detección fueron ajustadas en 245 nm y 328 nm, respectivamente y el glutamato de las muestras fue extraído con agua.

Populin *et al.* (2007) determinaron aminoácidos, entre estos el ácido glutámico y aminas biógenas en alimentos (sopas instantáneas, aderezos para ensaladas, verduras, carnes, proteínas vegetales hidrolizadas, entre otros), con

y sin la presencia de GMS. Para eso emplearon la cromatografía líquida de alta eficiencia, asociada a un detector de fluorescencia (HPLC-FL). Los aminoácidos fueron derivatizados con OPA y la separación se realizó en una columna octadecilsilano, usando agua como fase móvil agua:tampón fosfato pH 7,0 (370:90 v/v) + acetonitrilo y elución por gradiente. Para la detección se utilizaron longitudes de onda de excitación y emisión de 330 y 440 nm, respectivamente. La preparación de las muestras consistió básicamente en la extracción de los aminoácidos de la matriz con agua antes de la derivatización con OPA. Las muestras líquidas (listas para el consumo), fueron simplemente diluidas con agua antes de la reacción de derivatización y cuantificación por HPLC. Las muestras en polvo, las granuladas y las pastas fueron disueltas en agua hirviendo y tratadas como muestras líquidas. En el caso de muestras más complejas, como las sopas con trozos de hortalizas, aderezos para ensaladas y condimentos, una parte representativa de la muestra fue homogenizada y luego se le añadió ácido clorhídrico 0,1 mol L⁻¹. La solución fue centrifugada y el sobrenadante fue filtrado antes de la etapa de derivatización. La mayor concentración de glutamato en los alimentos a los que no se les adicionó GMS fue constatada en los productos que contenían hidrolizados de proteína (> 129 mg/100g). Los alimentos con mayor porcentaje de glutamato monosódico en su composición fueron las sopas y los aderezos para ensalada (76,8 – 92,5%).

Harada *et al.* (2004) estudiaron el efecto de la cepa y del medio de cultivo en la composición química de los componentes responsables del sabor (azúcares solubles y aminoácidos libres) en hongos *Hypsizygus marmoreus*. La preparación de las muestras consistió en la extracción de los analitos de la muestra previamente liofilizada con una solución de agua:etanol (20:80 v/v). La cuantificación de los aminoácidos se realizó por HPLC-FL.

Rotzoll *et al.* (2006) realizaron un estudio para identificar compuestos con propiedades organolépticas en hongos *Morchella deliciosa Fr.* entre ellos el ácido L-glutámico. Antes de la cuantificación, los hongos fueron triturados, y los aminoácidos extraídos con agua. El extracto fue filtrado y fraccionado por ultracentrifugación. La fracción de baja masa molecular (<1 kDa) fue liofilizada y posteriormente disuelta en una solución tampón 0,1 mol L⁻¹ que contenía acetato de sodio, metanol, ácido fórmico, ácido acético y ácido octanoico, antes de la cuantificación. Para este fin fue utilizado un analizador de aminoácidos.

En lugar del detector de fluorescencia, Lau & Mok (1995) desarrollaron un método para la determinación de glutamato en los alimentos (sopas, salsas y alimentos para bebés), empleando HPLC asociada a un detector de conductivi-

dad. Como columna analítica se utilizó una columna Econosil NC y como fase móvil agua:acetonitrilo:tetrahidrofurano (77:22:3 v/v/v) adicionada de 1 mmol L⁻¹ de ácido perclórico. Las muestras que no contenían almidón en su composición fueron previamente homogeneizadas y se les añadió agua y carbón activado. La limpieza del extracto, después del proceso de filtración, fue realizada por medio de una columna de intercambio iónico (Dowex 50W-X8 (H⁺), 100-200 mesh). Antes del análisis cromatográfico, los eluatos fueron liofilizados para la eliminación del ácido clorhídrico.

Un método simple y versátil, que utiliza HPLC-FL, fue descrito por Grant *et al.* (2006) para la determinación de aminoácidos neuroactivos en el sistema glutaminérgico, entre ellos, L-serina, L-glutamato, L-glutamina y glicina. Antes del análisis, los aminoácidos fueron derivatizados con OPA y N isobutilil L-cisteína (IBC) en una solución de metanol y tampón borato pH 10. El método fue aplicado al análisis del plasma y para este fin, las muestras fueron previamente desproteinizadas, utilizando metanol y centrifugación. La separación cromatográfica fue realizada en una columna octadecilsilano con una fase móvil compuesta de dos solventes: (i) fosfato de sodio 0,04 mol L⁻¹:metanol (85:15 v/v) y (ii) fosfato de sodio 0,04 mol L⁻¹:metanol:tetrahidrofurano (67:55,5:3 v/v/v), ambas fases ajustadas para pH 6,2. La elución fue realizada por gradiente. Los derivados de aminoácidos fueron monitoreados en las longitudes de onda de excitación y de emisión de 260 y 455 nm, respectivamente. El método mostró ser lineal en el intervalo de 2,5 a 100 ng de L-glutamato.

Zhang *et al.* (2006), describieron un método utilizando HPLC-FL para la determinación de glutamato y aspartato en retina de conejos. Para esto, combinaron la microextracción en polímero monolito con derivación de los analitos usando 8-fenil-(4-oxi ácido acético N-hidroxisuccinimida éster)-4,4-difluoro-1,3,5,7-tetrametil-4-bora-3a,4a-diaza-S-indaceno. El límite de detección establecido para el glutamato fue de 0,53 nmol L⁻¹.

Nagata *et al.* (2006), determinaron la concentración de serina, alanina, prolina, aspartato y glutamato en la saliva humana, utilizando dos técnicas de cromatografía en serie: cromatografía en capa fina bidimensional y HPLC. Las muestras de saliva libres de células fueron tratadas con ácido tricloroacético al 5% para la eliminación de las proteínas y el extracto fue clarificado en columna de intercambio iónico. Posteriormente, se procedió a la concentración del eluato y a la derivatización de los aminoácidos con 1-fluoro-2,4-dinitrofenil-5-L-alanina amida antes de su separación por cromatografía en capa fina bidimensional. Después de la separación, los derivados fueron retirados de la placa y analizados

por HPLC con detección en longitud de onda de 340 nm. Para este fin, fue utilizada una fase estacionaria octadecilo y una fase móvil compuesta de acetonitrilo y tampón de trietilamina-fosfato pH 3,5. Fue realizada la elución en gradiente.

Kang *et al.* (2006) propusieron un método para la determinación de doce aminoácidos, entre ellos el glutamato, tanto en el tejido cerebral de ratas como en el plasma de conejos. Para este fin, el cerebro o el plasma fue homogeneizado en ácido perclórico, seguido de centrifugación para la eliminación de las proteínas. Luego, los extractos fueron transferidos a una solución de bicarbonato de potasio-hidróxido de potasio 2 mol L^{-1} y los aminoácidos fueron derivatizados con DNS-Cl en medio de acetonitrilo. La reacción fue encubada a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ en la oscuridad, durante 30 min. Inmediatamente después, la reacción fue interrumpida por adición de ácido acético. La mezcla fue centrifugada y el sobrenadante fue inyectado en el sistema cromatográfico. La separación de los derivados fue realizada en columna de fase reversa octadecilsilano y una fase móvil compuesta de metanol:agua adicionada de trietilamonio 1,5% e hidróxido de tetrabutilamonio 5 mmol L^{-1} , pH 2,5 bajo elución isocrática. La cuantificación fue realizada en la región ultravioleta a 286 nm. Los autores concluyeron que, en las condiciones experimentales establecidas, el detector de UV mostró una mayor sensibilidad que el detector de fluorescencia. El límite de detección para un volumen de inyección de $20 \text{ }\mu\text{L}$ fue de 38 ng para el glutamato.

La cromatografía líquida de ultra alta eficiencia (UHPLC) ha estado reemplazando a la cromatografía líquida de alta eficiencia en la última década en las aplicaciones más diversas. Los motivos son las ventajas de alta eficiencia de las columnas analíticas con un diámetro de partícula menor a $2 \text{ }\mu\text{m}$ combinado con tiempos de análisis más cortos y menor consumo de solventes. González *et al.* (2011) utilizaron UHPLC asociada con espectrometría de masas secuencial (UHPLC-MS/MS) para la determinación de neurotransmisores, incluido el glutamato, en el cerebro de ratas. Stragierowicz *et al.* (2017) reportaron un método para la determinación de neurotransmisores en la misma matriz usando UHPLC con detector de fluorescencia.

La ventaja de usar UHPLC-MS/MS en la determinación de glutamato y otros aminoácidos es la selectividad cuando se opera en el modo de reacciones seleccionadas y que no se necesita agregar un agente de derivatización. Zheng *et al.* (2019) reportaron un método que utiliza UHPLC-MS/MS para la determinación de aminoácidos, purinas en suero sanguíneo, incluido el glutamato. Para la cuantificación, se controló la transición del ión precursor (m/z 148,2) al ión producto (m/z 84,0). La preparación de la muestra consistió en la precipitación

de proteínas mediante la adición de metanol. Después de la centrifugación y separación de proteínas, el sobrenadante se filtró y se analizó directamente en UHPLC-MS/MS. La fuente de electrospray se hizo funcionar en modo positivo. El límite de cuantificación del método para la determinación de glutamato en suero fue de 0,8 ng mL⁻¹.

2.2. Cromatografía gaseosa

Numerosos investigadores han explorado el uso de la cromatografía de gases para la resolución de aminoácidos ópticamente activos. En el caso de la producción del GMS por fermentación, es importante disponer de técnicas que permitan la diferenciación de los dos enantiómeros, incluso cuando uno esté en concentración mucho más baja que el otro. En este contexto, Curry *et al.* (1983) describieron un método para la determinación de D-GMS y L-GMS por cromatografía gaseosa utilizando una columna capilar quiral y un detector de ionización de llama. La cuantificación fue realizada después de la derivatización del glutamato con anhídrido trifluoroacético y usando la L-fenilalanina como patrón interno. El método fue evaluado en muestras líquidas que contenían de 30-40% de GMS en su composición.

2.3. Electroforesis capilar

Las técnicas electroforéticas basadas en la electromigración de moléculas cargadas en solución bajo la fuerza de un campo eléctrico han sido ampliamente empleadas en diversas aplicaciones analíticas, especialmente en el campo de la bioquímica. Entre estas técnicas, la electroforesis capilar de zona o solución libre (CZE) se ha destacado en los últimos años, debido principalmente a algunas ventajas en comparación con los demás métodos cromatográficos. Por ejemplo: alta eficiencia, requerimiento de pequeñas cantidades de solventes y muestras, así como rapidez de análisis. Basado en la electromigración y en los diferentes modos de separación, se han desarrollado técnicas tales como, la cromatografía micelar electrocinética (MEKC), la electroforesis capilar en gel (CGE) y la electroforesis capilar por focalización isoelectrica (CIEF). Una de las grandes versatilidades de la electroforesis capilar es la posibilidad de asociación a una amplia variedad de técnicas de detección, como: la absorción en el UV-Vis, la fluorescencia, la fluorescencia inducida por láser, la espectrometría de masas, la conductividad, la amperometría, la radiactividad, el índice de refracción, el dicroísmo circular y Raman.

No obstante, para la separación y la determinación de aminoácidos se ha destacado el uso de la CZE y MECK, asociadas a los detectores de absorción en el UV y/o fluorescencia inducida por láser (LIF).

Debido a las propiedades físico-químicas del GMS, antes de la cuantificación se recomiendan procedimientos de derivatización para mejorar la sensibilidad del método. Para la detección mediante LIF, se han utilizado reactivos como 4-fluoro-7-nitrobenzofurazan, (NBD-F), naftaleno-dicarboxaldehído (NAD) y el o-ftalaldehído (OPA) (Chen *et al.*, 2007, Wang *et al.*, 2006).

Pérez-Ruiz *et al.* (2000) describieron un método para la determinación de glutamato en bebidas y alimentos usando CZE con detección por LID. El método presentó linealidad en el rango de concentración de glutamato de 10^{-7} a 10^{-4} mol L⁻¹, con un límite de detección de $5,4 \cdot 10^{-10}$ mol L⁻¹.

Chen *et al.* (2007) propusieron un método que emplea la técnica MEKC para la separación de veinte aminoácidos, incluyendo el ácido glutámico. Los aminoácidos fueron derivatizados con isotiocianato de fluoresceína (FITC) y cuantificados con un detector de fluorescencia con excitación multifotónica desarrollado por los propios autores.

Bodor *et al.* (2001) utilizaron la isotacoforesis en un *chip* con detector de conductividad para la separación y determinación de aditivos alimentarios, entre estos, el benzoato, el sorbato, los ésteres de ácido p-hidroxibenzoico y el glutamato. El método fue utilizado para la determinación de glutamato en alimentos.

Para la detección de aminoácidos excitadores, Wang *et al.* (2006) utilizaron la electroforesis capilar asociada a un detector de fluorescencia. Los aminoácidos fueron derivatizados con naftaleno-2,3 dicarboxaldehído. Los analitos fueron separados en capilar de sílice fundida con tampón borato 10 mmol L⁻¹, pH 9,3. El límite de detección para el ácido glutámico fue de $2,1 \cdot 10^{-8}$ mol L⁻¹. Este método fue utilizado para la determinación de ácido glutámico y aspártico en fluidos biológicos (suero humano y líquido cefalorraquídeo). Las muestras de suero y líquido cefalorraquídeo fueron diluidas y agitadas con acetonitrilo para precipitar las proteínas. La mezcla se encubó en baño de hielo durante una hora y luego fue centrifugada. Enseguida fue añadido el agente de derivatización.

Li *et al.* (2006) propusieron un nuevo método para la determinación de la actividad de las enzimas aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa en los fluidos biológicos. Este procedimiento está basado en la separación y cuantificación de alanina, glutamato y aspartato por electroforesis capilar con detección por electroquimioluminiscencia. La separación fue promovida en tampón fosfato 5 mmol L⁻¹, pH 2,1. La detección se llevó a cabo en un electrodo

de disco de platino (1,2 V vs Ag/AgCl) en presencia de tris (2,2-bipiridilo) rutenio (II) disuelto en fosfato 80 mmol L⁻¹, pH 10,5. El método se mostró adecuado para su aplicación en biología celular y en el área clínica.

El uso de detectores electroquímicos ofrece ventaja sobre los detectores ópticos porque no requiere la derivatización del glutamato antes de la cuantificación. En este contexto, se destacan los detectores de conductividad conductimétrica sin contacto acopladas capacitivamente (C4D). Aunque estos detectores son de bajo costo, son simples técnicamente y permiten la detección de compuestos múltiples, sufren el efecto de la matriz, lo que puede comprometer la selectividad y detectabilidad de los analitos.

Campos *et al.* (2019) desarrollaron un método que emplea electroextracción líquido-líquido (sistema acuoso bifásico) en línea (*on-line*) con electroforesis capilar y usando sistema de detección conductimétrica sin contacto acoplada capacitivamente. Este método fue utilizado para la determinación de ácido glutámico en muestras de *shoyu*, que presentan alto contenido de sodio.

Las principales reacciones y condiciones empleadas para la determinación de glutamato por técnicas de separación se resumen en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2 – Métodos de separación empleados para la determinación de glutamato en alimentos y material biológico.

Técnica	Columna	Fase móvil	Agente de derivatización	Rango Lineal (LOD)	Matriz	Referencias
HPLC-FLD	ODS	CH ₃ OH/H ₂ O	DNS-Cl	0-10 µg mL ⁻¹	Sopas	Williams & Winfield, 1982
GC-FID	Fase quiral	Helio	Anhidrido trifluoroacético	-	Muestras líquidas	Curry <i>et al.</i> , 1983
HPLC-CD	Ciano	H ₂ O/CH ₃ CN/THF/HClO ₄	-	0 a 500 µg mL ⁻¹	Sopas y aderezos	Lau & Mok, 1995
TLC+	ODS	CH ₃ CN (tampón trietilamina-fosfato pH 3,5)	1-Fluoro-2,4-dinitro fenil-5-L-alaninamida	-	Saliva	Nagata <i>et al.</i> , 2006
HPLC-FLD	ODS	Fosfato de sodio pH 6,2/CH ₃ OH y fosfato de sodio pH 6,2/CH ₃ OH/THF	OPA e IBC	2,5 a 100 ng	Plasma	Grant <i>et al.</i> , 2006
HPLC-UV	ODS	CH ₃ OH / H ₂ O – trietilamonio-hidróxido de tetrabutilamonio, pH 2,5	DNS-Cl	23 a 454 ng (38 ng)	Cerebro de ratas y plasma de conejo	Kang <i>et al.</i> , 2006
CZE-EQ		PBS 5 mmol L ⁻¹ , pH 2,1			Material biológico	Li <i>et al.</i> , 2006
CZE-FLD		BBS 10 mmol L ⁻¹ , pH 9,3	Naftaleno-2,3 dicarboxaldehído	(2,1 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹)	Fluidos biológicos	Wang <i>et al.</i> , 2006
CZE-FLD		Ácido [3-(ciclohexilamino)-2-hidroxi-1-propa-no sulfónico] 20 mmol L ⁻¹ , pH 9,0	FITC	10 ⁷ a 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ (5,4 10 ⁻¹⁰ mol L ⁻¹)	Alimentos y bebidas	Pérez-Ruiz <i>et al.</i> , 2000
HPLC-FLD	ODS	H ₂ O-PBS pH 7,0/ acetónitrilo	OPA	-	Sopas instantáneas, aderezos de ensaladas, vegetales, carnes, proteínas vegetales hidrolisadas	Populin <i>et al.</i> , 2007
UHPLC-FLD	BEH C18	Tampón acetato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0; CH ₃ OH	OPA	100 a 10000 ng mL ⁻¹ (30 ng mL ⁻¹)	Cerebro de ratas	Stragierowicz <i>et al.</i> , 2017
UHPLC-UV	Fenil-hexil	N-metilmorfolina 50 mmol L ⁻¹ tampón acetato pH 7,4/2% CH ₃ CN	2,4-Dinitro fluorobenzeno		Tomates	Agius <i>et al.</i> , 2018
UHPLC-MS/MS	BEH C18	CH ₃ OH y ácido fórmico con adición de HFBA 1 mmol L ⁻¹	HFBA	1 a 200 µg L ⁻¹ (0,73 µg g ⁻¹)	Cerebro de ratas	González <i>et al.</i> , 2011
UHPLC-MS/MS	Nucleoshell HILIC	Formiato de amonio 25 mmol L ⁻¹ , pH 3,5 (ajustado con ácido fórmico) y CH ₃ CN	-	2,5 a 2000 ng mL ⁻¹ (0,25 ng mL ⁻¹)	Córtex de ratas	Defaix <i>et al.</i> , 2018
UHPLC-MS/MS	BEH amida	Ácido fórmico 0,1% acuoso y CH ₃ CN adicionado de ácido fórmico 0,1% BBS 25 mmol L ⁻¹ ,	-	0,099 a 9,9 µg mL ⁻¹ (0,2 µg mL ⁻¹)	Suero sanguíneo	Zheng <i>et al.</i> , 2019
MEKC-MPEF		SDS 100 mmol L ⁻¹ e 5% CH ₃ OH, pH 11,0	FITC	9,73 a 109 µmol L ⁻¹ (1,25 µmol L ⁻¹)	Suplementos nutricionales	Chen <i>et al.</i> , 2007

HPLC: cromatografía líquida de alta eficiencia; UHPLC: cromatografía líquida de ultra-alta eficiencia; FLD: detector de fluorescencia; CD: detector de conductividad; UV: ultra-violeta; MS/MS: espectrometría de masas secuencial; TLC: cromatografía en capa fina; CZE: electroforesis capilar de zona; MEKC: cromatografía electrocinética micelar; MPEF: fluorescencia con excitación multifrónica; EQ: electroquimioluminiscencia; GC: cromatografía gaseosa; FID: ionización de llama; ODS: octadecilsilano; DNS-Cl: cloruro de dansilo; OPA: o-ftalaldehído; IBC: N-isobutiril L-cisteína; BBS: tampón borato; PBS: tampón fosfato; HFBA: ácido heptafluoro butírico.

Fuente: tabla elaborada por los autores.

2.4. Métodos espectroanalíticos

Chapman & Zhou (1999) desarrollaron dos métodos fluorimétricos para la determinación de L-glutamato en muestras biológicas y alimentos. El primero describe el uso de una reacción de reciclaje continua de sustrato catalizada por las enzimas L-glutamato oxidasa (GLOD) y glutamato piruvato transaminasa (GPT). El peróxido de hidrógeno formado en la reacción enzimática es determinado indirectamente en la forma de Resorufin (derivado fluorescente) que se forma en la reacción de H_2O_2 con Amplex Roja (Amplex Red). El segundo método sigue el mismo principio del primero, sin embargo, utiliza como enzimas la L-glutamato deshidrogenasa (GLDH) y GPT. En esta reacción, el glutamato es cuantificado a través de la medida del NADH formado en la reacción enzimática mediante la reacción de este con resazurina en presencia de diaforasa. De esta forma, en esta reacción ocurre la formación del derivado fluorescente Resorufin. Los métodos fueron aplicados para la determinación de L-glutamato en sopas. La preparación de las muestras consistió en la centrifugación de las muestras líquidas y dilución del sobrenadante en tampón Tris – HCl 100 mmol L⁻¹, pH 7,5. Los autores enfatizan que el método fluorimétrico con Amplex Roja es 500 veces más sensible que el método espectrofotométrico convencional, debido a la estrategia de reciclado del sustrato, así como al uso de reactivo de derivatización.

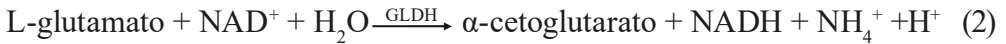
Basado en el mismo principio de reciclaje de sustrato, Khampha *et al.* (2004) describieron un método para la determinación de L-glutamato en los alimentos, utilizando como enzimas la GLDH y la D-fenilglicina aminotransferasa (D-PhgAT). La GDLH convierte el glutamato en α -cetoglutarato con reducción concomitante del NAD^+ para NADH. El α -cetoglutarato, a su vez, es reciclado para formar glutamato por la reacción de transaminación catalizada por la enzima D-PhgAT utilizando la D-hidroxifenilglicina como un donante del grupo amino. En esta reacción, la hidroxifenilglicina es convertida en 4-hidroxibenzoilformato que absorbe fuertemente a 340 nm. El límite de detección es de 0,14 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

2.5. Biosensores

Los biosensores son dispositivos en los cuales los materiales de origen biológico (enzimas, anticuerpos, organelos, ácidos nucleicos y otros) son inmovilizados junto a un transductor adecuado. Según el transductor utilizado, el biosensor puede ser clasificado como óptico (medida de fluorescencia, luminiscencia, etc.), electroquímico (conductimétrico, potenciométrico y amperométrico) y detector de masas. Existe un número elevado de artículos científicos publicados en la literatura que describen métodos que emplean biosensores para aplicaciones

analíticas en alimentos y material biológico. Esto puede ser atribuido a sus importantes características como selectividad, respuesta rápida, bajo costo y facilidad de construcción, así como a las posibilidades de miniaturización.

El primer biosensor electroquímico para glutamato fue desarrollado por Malinauskas & Kulys en 1978, utilizando la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) y la coenzima NAD^+ , inmovilizadas en una membrana semipermeable. En esta reacción (Reacción 2), ocurre la formación de NADH que, generalmente, es la especie monitoreada para fines cuantitativos.



No obstante, la oxidación directa del NADH en electrodos no modificados requiere un elevado sobrepotencial, debido al proceso lento de transferencia de cargas. Para sortear esta limitación, diferentes mediadores redox han sido incorporados en la superficie de los electrodos, entre ellos: MnO_2 (Beyene *et al.*, 2003), tetratio fulvaleno-tetracianoquinodimetano (Pauliukaite *et al.*, 2006), metosulfato de fenazina (Malinauskas & Kulys, 1978; Curruli *et al.*, 1997), entre otros. Los mediadores pueden ser inmovilizados por diferentes procesos, tales como quimisorción, unión covalente en la superficie del electrodo o polímeros conductores, películas poliméricas depositadas electroquímicamente en la superficie del electrodo y en pasta de carbono (Curruli *et al.*, 1997). Recientemente se ha verificado que los nanotubos de carbono son capaces de reducir el sobrepotencial para la oxidación del NADH (Chakraborty & Raj, 2007).

Además de la enzima GLDH, la L-glutamato oxidasa (GLOD) producida por *Streptomyces sp*, ha sido ampliamente utilizada en biosensores para la determinación del glutamato. La GLOD oxida el L-glutamato a α -cetoglutarato con la formación de amonio y peróxido de hidrógeno (Reacción 3).



La reacción y cuantificación del glutamato pueden ser monitoreadas por la formación de peróxido de hidrógeno, usando el método amperométrico. Sin embargo, semejante al NADH, la determinación de peróxido de hidrógeno a través de su oxidación requiere un elevado sobrepotencial, lo que puede llegar a afectar la selectividad del método.

En las mediciones electroquímicas utilizando biosensores, los electrodos empleados generalmente son metales inertes y la enzima necesita ser incorporada a la superficie de los mismos. Para este fin, se han empleado membranas poliméricas Nafion y películas de polifenildiamina, entre otras (Pauliukaite *et al.*, 2006).

A continuación se describen algunos biosensores y sus aplicaciones en la determinación de L-glutamato en muestras de alimentos y material biológico. La Tabla 2.3 presenta un resumen de los biosensores utilizados.

Kwong *et al.* (2000) desarrollaron un biosensor para la determinación de L-glutamato en salsas de soya. La enzima GLOD fue inmovilizada mediante un hidrogel de poli(carbamil sulfonato) y cuantificada por un detector electroquímico. El sensor mostró linealidad en el rango de 0,1 mmol L⁻¹ a 5 mmol L⁻¹ de L-glutamato, con un límite de detección de 1,01 μmol L⁻¹. Además, el sensor mostró selectividad en la presencia de la mayoría de otros aminoácidos, con excepción de L-asparagina, L-glutamina, L-ácido aspártico y L-histidina.

La formación de amonio en la reacción enzimática fue empleada para la determinación de glutamato en alimentos, a través de un sensor potenciométrico (Nikolelis, 1987). El método presentó linealidad adecuada para el glutamato en el rango de 1 10⁻⁵ mol L⁻¹ a 1 10⁻⁴ mol L⁻¹.

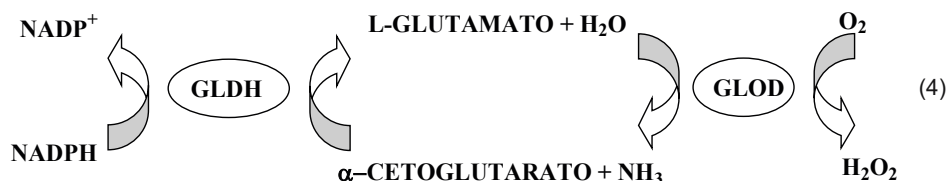
Tabla 2.3 – Biosensores utilizados para la determinación de glutamato en alimentos y material biológico.

Técnica/Potencial	Biosensor	Especie Monitoreada	Muestras	Electrolitos	Rango Lineal (LOD)	Referencia
Potenciometría	GLDH	NH ₃	Sopas	Tris-HCl pH 8,5	1 10 ⁻⁴ a 1 10 ⁻³ mol L ⁻¹	Nikolelis, 1987
FIA-Amperometría/ 650 mV	Inosina monofosfato deshidrogenasa y NADH deshidrogenasa	H ₂ O ₂	Condimentos	PBS 0,3 mol L ⁻¹ , pH 8,0	1,0 a 10,0 mmol L ⁻¹	Matsumoto <i>et al.</i> , 1998
FIA-Amperometría/ 400 mV	Pt/GLOD+Hidrogel policarbamilsulfonato/	H ₂ O ₂	Condimentos	PBS 67 mmol L ⁻¹ pH 6,86	0,1 a 5 mmol L ⁻¹ (1,01 μmol L ⁻¹)	Kwong <i>et al.</i> , 2000
FIA-Amperometría/ 50 mV	Azul de Prusia-Nafion®/GLOD	H ₂ O ₂	–	PBS 0,05 mol L ⁻¹ e KCl 0,1 mol L ⁻¹ , pH 6,0.	1 10 ⁻⁷ a 1 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ (1 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹)	Karyakin <i>et al.</i> , 2000
Amperometría/ 440 mV	Electrodo de carbono impreso/ filme de Nafion® + MnO ₂ + GLOD	H ₂ O ₂	Condimentos	PBS 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,75	10 a 60 mg L ⁻¹ (1,7 mg L ⁻¹)	Beyene <i>et al.</i> , 2003
Potenciometría	Electrodo de oxígeno/GLOD + GLDH + policarbonato	O ₂	Sopas y aderezos	PBS 0,2 mol L ⁻¹ pH 7,0	0,02 a 1,2 mg L ⁻¹ (0,02 mg L ⁻¹)	Basu <i>et al.</i> , 2006
Fluorescencia	Sol-gel de titanio inmovilizado con carboxi seminaftorhodamina-1-dextran/ GLDH	Derivado fluorescente	Agua y suero de albúmina bovina	Tampón, ³⁻ bis[tris(hidroximetil) metilamino] propano, 2,5 mmol L ⁻¹ , pH 9,0	0,02 a 10 mmol L ⁻¹ (6,7 μmol L ⁻¹)	Doong & Shih, 2006
Amperometría/ 200 mV	Polí(amidoamina) encapsuladas en nanopartículas de platino sobre nanotubos de carbono/ GLDH			PBS 0,1 mol L ⁻¹ pH 7,4	0,2 a 250 μmol L ⁻¹ (10 mmol L ⁻¹)	Tang <i>et al.</i> , 2007
Amperometría/ 600 mV	Electrodo de platino/ poli(m-fenilenediamina)/GLOD	H ₂ O ₂	Nervios cerebrales de ratas	Tampón HEPES 25 mmol L ⁻¹ pH 7,4	2 a 400 μmol L ⁻¹ (2 μmol L ⁻¹)	Borisova <i>et al.</i> , 2018

FIA: análisis de inyección de flujo; GLDH: glutamato deshidrogenasa; GLOD: glutamato oxidasa; PBS: tampón fosfato HEPES; ácido 2-[4-(2-hidroxietil)-piperazin-1-il]-etanosulfónico.

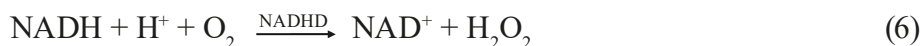
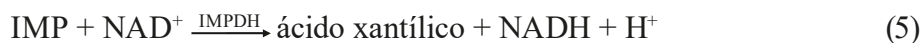
Fuente: tabla elaborada por los autores.

Basu *et al.* (2006) desarrollaron un sensor para GMS por coimmobilización de GLOD y GLDH, basado en el reciclaje de sustrato. Este paso de reciclaje del sustrato proporciona una amplificación de la respuesta del biosensor (Reacción 4). En presencia de NADPH y GMS, son utilizadas las actividades de las dos enzimas y el GMS es regenerado. La cuantificación del GMS fue realizada a través del consumo de oxígeno por el sistema.



El biosensor desarrollado presentó linealidad en el rango de concentración de GMS de 0,02 a 1,2 mg L⁻¹ en presencia de 10 mmol L⁻¹ de amoníaco. El pH óptimo fue de 7 ± 2 y el tiempo de respuesta de 2 min. El sensor se utilizó para la determinación de GMS en salsas y sopas. La preparación de la muestra consistió simplemente en la centrifugación de las muestras y la dilución del sobrenadante en tampón fosfato pH 7,0. Además fue adicionada una pequeña cantidad de ácido clorhídrico para prevenir la conversión del ácido glutámico en ácido pirrolidocarboxílico.

Matsumoto *et al.* (1998) desarrollaron un biosensor para la determinación simultánea de L-glutamato e inosina monofosfato (IMP) en alimentos. Para este fin, fueron acoplados dos reactores enzimáticos en serie, y las mediciones fueron realizadas en flujo. El interés en la determinación de IMP y GMS reside en el hecho de que ambos compuestos utilizados como aditivos alimentarios tienen la propiedad de realzar el sabor de los alimentos. Existe un efecto sinérgico del IMP y el glutamato, lo que lleva a aumentar la intensidad del gusto umami. En el método propuesto para la determinación de IMP fueron utilizadas las enzimas inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), obtenida a partir de *Bacillus cereus*, y la NADH deshidrogenasa (NADHD), obtenida de *Bacillus licheniformis* (Reacciones 5 y 6). La cuantificación del IMP se efectuó a través de la determinación del peróxido de hidrógeno con un transductor amperométrico.



Por otro lado, la cuantificación del glutamato se realizó a través de la reacción enzimática, utilizando la GLOD y de la determinación del peróxido de hidrógeno formado. El método presentó un rango lineal para el IMP y glutamato de 0,1 a 1,0 mmol L⁻¹ y 1,0 a 10,0 mmol L⁻¹, respectivamente. Las muestras de condimentos fueron diluidas en agua y filtradas antes del análisis. Como interferentes potenciales fueron identificados inosina difosfato e inosina trifosfato.

Karyakin *et al.* (2000) modificaron un biosensor amperométrico para la determinación de glutamato. Los autores inmovilizaron la GLOD en una película de Nafion bajo la superficie de un electrodo modificado con Azul de Prusia. El glutamato se determinó en un sistema de análisis por inyección en flujo en tampón fosfato 0,05 mol L⁻¹ e KCl 0,1 mol L⁻¹, pH 6,0. El potencial de detección fue de -50 mV *versus* Ag/AgCl, KCl 0,1 mol L⁻¹. El rango lineal del método estuvo en el intervalo de 1 10⁻⁷ a 1 10⁻⁴ mol L⁻¹ de glutamato.

En los últimos años, se ha dado especial atención al desarrollo de membranas desechables que permiten eliminar procedimientos de regeneración de superficie de los sensores después de su uso. En este contexto, la tecnología de serigrafía (*screen-printing*), más conocida como *silk-screen* se ha utilizado con gran éxito en la fabricación de electrodos en las últimas décadas. Esto hace posible, la producción en masa de electrodos mediante un proceso simple, a un costo extremadamente bajo y que puede ser practicada en cualquier laboratorio. El electrodo impreso es una película depositada sobre un soporte inerte (Agnes & Nascimento, 1998). Utilizando esta tecnología, Beyene *et al.* (2003) propusieron un biosensor amperométrico para glutamato usando electrodo de carbono impreso modificado con MnO₂ y GLOD inmovilizada en película de Nafion®. El MnO₂ actúa como mediador de electrones, entre la enzima reducida y el electrodo. Las mediciones se realizaron en sistema de análisis por inyección en flujo, utilizando como cargador tampón fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,75 y un potencial de 440 mV *versus* Ag/AgCl. La curva analítica presentó un rango lineal de 10 a 160 mg L⁻¹, con un límite de detección para glutamato 1,7 mg L⁻¹. El biosensor fue aplicado en la determinación de glutamato en condimentos. En este caso, las muestras fueron disueltas en tampón fosfato y filtradas en membrana de 0,22 µm, antes de la cuantificación.

En los últimos años, los materiales sol-gel han atraído el interés de los investigadores por las características propicias del material para la inmovilización de enzimas en la construcción de biosensores. En este contexto, Doong & Shih (2006) desarrollaron un biosensor óptico de sol-gel de titanio, inmovilizado con seminaftorhodamina-1-dextrano (compuesto fluorescente) y la enzima GLDH

para aplicación en la determinación de glutamato en agua y material biológico (suero de albúmina bovina). La longitud de excitación utilizada fue de 488 nm y la emisión fue monitoreada en 588 y 640 nm. Utilizando material biológico, el sensor presentó un rango lineal para el glutamato de 0,02 a 10 mmol L⁻¹ y un límite de detección de 6,7 μmol L⁻¹.

Tang *et al.* (2007) desarrollaron un biosensor amperométrico basado en la autoorganización de los dendrímeros de poli(amidoamina) encapsulados en nanopartículas de platino sobre nanotubos de carbono para la inmovilización de GLDH. El biosensor mostró un rango lineal para el glutamato de 0,2 a 250 μmol L⁻¹ con un tiempo de respuesta de 3 s. El límite de detección fue de 10 nmol L⁻¹.

Borisova *et al.* (2018) describieron un biosensor amperométrico para monitorear la liberación de glutamato en terminales nerviosas en el cerebro de ratas. Con este fin, los autores construyeron un biosensor amperométrico que inmovilizaba la enzima GLOD y desarrollaron un algoritmo para monitorear la cinética de la liberación de glutamato tónico excitotónico y mediada por el transporte de terminales nerviosas aisladas del cerebro de ratas. El límite de detección del sensor fue de 2 μmol L⁻¹.

3. CONSIDERACIONES FINALES

El glutamato monosódico ha despertado el interés de los investigadores desde hace un siglo por sus propiedades de realzar el sabor de los alimentos. Por este motivo, se han promovido discusiones tanto para aclarar su inocuidad como su eficacia. Todos estos estudios requieren métodos analíticos que sean capaces de cuantificar el glutamato en matrices complejas como alimentos y material biológico en un amplio rango de concentraciones. Si bien el glutamato está presente en alimentos en concentraciones de hasta 1 mg kg⁻¹, en el material biológico se encuentra en nivel de μg g⁻¹. Por lo tanto, para el análisis de los alimentos o del material biológico, los métodos analíticos requieren un desempeño diferenciado.

Los primeros métodos desarrollados para la determinación de glutamato en los alimentos fueron los titrimétricos, que aún hoy se recomiendan como métodos oficiales de análisis. Sin embargo, ellos han sido sustituidos por los métodos cromatográficos, principalmente por asociar rapidez de análisis con alta selectividad y capacidad de detección. Entre los métodos cromatográficos, la cromatografía líquida de alta eficiencia ha sido la más importante, asociada con los detectores de absorción en el ultravioleta (UV) y de fluorescencia. Debido

a que el glutamato no tiene fluorescencia nativa y no presenta absorción significativa en la región del UV, se han utilizado ampliamente las reacciones de derivatización pre y postcolumna. Sin embargo, con el desarrollo de columnas analíticas con partículas de diámetro menores de 2 μm , la cromatografía líquida de ultra alta eficiencia ha sustituido la HPLC. Los análisis con alta eficiencia son más rápidos y consumen menos solventes y cuando se asocian con espectrometría de masas secuencial permiten la confirmación de la identidad del analito. Además, esta técnica no requiere reacciones de derivatización para permitir la cuantificación del glutamato y se puede aplicar tanto a muestras de alimentos como a material biológico.

También ha sido reportado en la literatura el uso de métodos electroforéticos, pero en menor medida. Estas metodologías usan los mismos detectores que la cromatografía líquida. Los avances consisten en los microdispositivos de tipo *Lab-on-a-chip*.

El uso de la cromatografía gaseosa ya no es una tendencia actual, dado que el glutamato presenta un alto punto de ebullición y no puede ser determinado por esta técnica sin previa derivatización para la formación de derivados volátiles.

Sin lugar a dudas, la estrategia más destacada para la determinación de glutamato en los últimos años ha sido el desarrollo y el uso de biosensores. Estos dispositivos son herramientas que han complementado las técnicas ya existentes, debido a sus características únicas, entre ellas: selectividad, costo relativamente bajo de construcción y almacenamiento, potencial para la miniaturización, facilidad de automatización de equipos y la construcción de equipamientos simples y portátiles. Muchos biosensores han sido desarrollados y aplicados en la determinación de glutamato en alimentos y en material biológico. La dificultad inicial del alto sobrevoltaje necesario para cuantificar el peróxido de hidrógeno o el NADH formado en las reacciones enzimáticas que utilizan la glutamato oxidasa o glutamato deshidrogenasa, fue superada por la incorporación de mediadores en los sensores. Además, nuevos materiales se han destacado en la elaboración de biosensores, entre ellos los electrodos impresos, que son desechables y los nanotubos de carbono. De esta forma, la combinación de biosensores con mediciones amperométricas ha representado el mayor avance con relación a métodos analíticos destinados a la determinación de glutamato en los alimentos y matrices biológicas. Aún más, por ser una técnica de relativo bajo costo y por todas las otras ventajas mencionadas, puede ser utilizada en varios segmentos de la industria y en centros de investigación.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGIUS C. *et al.* “Quantification of glutamate and aspartate by ultra-high performance liquid chromatography”. *Molecules*. 23(6): 1389-1404, 2018.

AGNES, L. & NASCIMENTO, V. B. “Eletrodos fabricados por silk-screen”. *Química Nova* . 21: 614, 1998.

AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International. Official Method 970.37. “Monosodium Glutamate in Food”. *Potentiometric titration method*. 18. ed. Gaithersburg, AOAC International, 2005.

AULT, A. “The monosodium glutamate story: the commercial production of MSG and other amino acids”. *Journal of Chemical Education*. 81: 347-355, 2004.

BASU, A. K. *et al.* “A biosensor based on co-immobilized l-glutamate oxidase and l-glutamate dehydrogenase for analysis of monosodium glutamate in food”. *Biosensors Bioelectronics*. 21: 1968-1972, 2006.

BEYENE, N.W.; MODEREGGER, H. & KAICHER, K. “A stable glutamate biosensor based on MnO₂ bulk modified screen-printed carbon electrode and Nafion® film immobilized glutamate oxidase”. *South African Journal of Chemistry*. 56: 54-59, 2003.

BLANDINI, F. & GREENAMYRE, J. T. “Prospects of glutamate antagonists in the therapy of Parkinson’s disease”. *Fundamentals of Clinical Pharmacology*. 4-12, 1998.

BODOR, R. *et al.* “Isotachopheresis and isotachopheresis-zone electrophoresis of food additives on a *chip* with column-coupling separation channels”. *Journal of Separation Science*. 24: 802-809, 2001.

BORISOVA, R. *et al.* “An amperometric glutamate biosensor for monitoring glutamate release from brain nerve terminals and in blood plasma”. *Analytica Chimica Acta*. 1022: 113-123, 2018.

CAMPOS C. D. M. *et al.* “On-line electroextraction in capillary electrophoresis: application on the determination of glutamic acid in soy sauces”. *Electrophoresis*. 40: 322-329, 2019.

CFCC. COMMITTEE ON FOOD CHEMICALS CODEX. *Food and Nutrition Board. Institute of Medicine on the National Academies*. 5. ed. Washington, The National Academies Press, 2004.

CHAKRABORTY, S. & RAJ, C. R. “Amperometric biosensing of glutamate using carbon nanotube based electrode”. *Electrochemistry Communications*. 9: 1323-1330, 2007.

CHAPMAN, J. & ZHOU, M. “Microplate-based fluorometric methods for the enzymatic determination of L-glutamate: application in measuring L-glutamate in food samples”. *Analytica Chimica Acta*. 402: 47-52, 1999.

CHEN, S. *et al.* “Separation and determination of amino acids by micellar electrokinetic chromatography coupling with novel multiphoton excited fluorescence detection”. *Journal of Chromatography A*. 1162: 149-153, 2007.

CURRY, K. K.; EVANS, J. W. & SCHWAB, G. “Determination of monosodium glutamate enantiomers by chiral phase capillary gas chromatography”. *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications*. 6(9): 510-511, 1983.

CURULLI, A. *et al.* “Enzyme electrode probes obtained by electropolymerization of monomers with PMS and selected dehydrogenase enzymes”. *Talanta*. 44: 1659-1669, 1997.

DEFAIX, C. *et al.* “Rapid analysis of glutamate, glutamine and GABA in mice frontal cortex microdialysis samples using HPLC coupled to electrospray tandem mass spectrometry”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 152: 31-38, 2018.

DOONG, R. & SHIH, H. M. “Glutamate optical biosensor based on the immobilization of glutamate dehydrogenase in titanium dioxide sol-gel matrix”. *Biosensors Bioelectronics*. 22: 185-191, 2006.

FERNANDEZ-FLORES, E.; JOHNSON, A. R. & BLOMQUIST, V. H. “Estimation of monosodium glutamate in food products”. *Journal Association of Official Analytical Chemists*. 52: 744-746, 1969.

GONZÁLEZ, R. R. *et al.* “Development and validation of an ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass-spectrometry (UHPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of neurotransmitters in rat brain samples”. *Journal of Neuroscience Methods*. 198: 187-194, 2011.

GRANT, S. L. *et al.* “Determination of D-serine and related neuroactive aminoacids in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection”. *Journal of Chromatography B*. 804: 278-282, 2006.

HARADA, A. *et al.* “Effects of strain and cultivation medium on the chemical composition of the taste components in fruit-body of *Hypsizygus marmoreus*”. *Food Chemistry*. 84: 265-270, 2004.

KANG, X. *et al.* “Optimization of dansyl derivatization and chromatographic conditions in the determination of neuroactive amino acids of biological samples”. *Clinical Chimica Acta*. 366: 352-356, 2006.

KARYAKIN, A. A.; KARYAKINA, E. E. & GORTON, L. “Amperometric biosensor for glutamate using Prussian blue-based artificial peroxidase as a transducer for hydrogen peroxide”. *Analytical Chemistry*. 72: 1720-1723, 2000.

KHAMPHA, W.; MEEVOOTISOM, V. & WIYAKRUTTA, S. “Spectrophotometric enzymatic cycling method using L-glutamate dehydrogenase and d-phenylglycine aminotransferase for determination of L-glutamate in foods”. *Analytica Chimica Acta*. 520: 133-135, 2004.

KWONG, A. W. K. *et al.* “Comparative study of hydrogel-immobilized L-glutamate oxidases for a novel thick-film biosensor and its application in food samples”. *Biotechnology Letters*. 22: 267-272, 2000.

LAU, O. W. & MOK, C. S. “Indirect conductometric detection of amino acids after liquid chromatographic separation. Part II. determination of monosodium glutamate in foods”. *Analytica Chimica Acta*. 302(1): 45-52, 1995.

LI, T. *et al.* “Capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection for measurement of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities in biofluids”. *Journal of Chromatography A*. 1134: 311-316, 2006.

MALINAUSKAS, A. & KULYS, J. “Alcohol, lactate and glutamate sensors based on oxidoreductases with regeneration of nicotinamide adenine dinucleotide”. *Analytica Chimica Acta*. 98: 31-37, 1978.

MATSUMOTO, K.; ASADA, W. & MURAI, R. “Simultaneous biosensing of inosine monophosphate and glutamate by use of immobilized enzyme reactors”. *Analytica Chimica Acta*. 358: 127-136, 1998.

NAGATA, Y. *et al.* “The presence of high concentrations of free d-amino acids in human saliva”. *Life Sciences*. 78: 1677-1681, 2006.

NIKOLELIS, D. P. “Kinetic-potentiometric determination of monosodium glutamate in soups and soup bases and of glutamic dehydrogenase”. *Analyst*. 112: 763-765, 1987.

PAULIUKAITE, R. *et al.* “L-Glutamate biosensor for estimation of the taste of tomato specimens”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 386: 220-227, 2006.

PÉREZ-RUIZ, T. *et al.* “Analysis of glutamate in beverages and foodstuffs by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection”. *Chromatographia*. 52: 599-602, 2000.

POPULIN, T.; MORET, S. & TRUANT, S. “A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate”. *Food Chemistry*. 104: 1712-1717, 2007.

ROTZOLL, N.; DUNKEL, A. & HOFMANN, T. “Quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments on the key taste compounds in morel mushrooms (*Morchella deliciosa* Fr.)”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 2705-2711, 2006.

SPORNS, P. “Rapid high-performance liquid-chromatographic determination of monosodium glutamate in food”. *Journal Association of Official Analytical Chemists*. 65: 567-571, 1982.

STRAGIEROWICZ, J.; DARAGÓ, A. & KILANOWICZ, A. “Optimization of ultra-performance liquid chromatography (UPLC) with fluorescence detector (FLD) method for the quantitative determination of selected neurotransmitters in rat brain”. *Medycyna Pracy*. 68(5): 583-591 2017.

TANG, L. *et al.* “Amperometric glutamate biosensor based on self-assembling glutamate dehydrogenase and dendrimer-encapsulated platinum nanoparticles onto carbon nanotubes”. *Talanta*. 73: 438-443, 2007.

WANG, C. *et al.* “Determination of excitatory amino acids in biological fluids by capillary electrophoresis with optical fiber light-emitting diode induced fluorescence detection”. *Journal of Chromatography B*. 833: 129-134, 2006.

WILLIAMS, A. T. R. & WINFIELD, S. A. “Determination of monosodium glutamate in food using high-performance liquid chromatography and fluorescence detection”. *Analyst*. 167: 1092-1094, 1982.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “What is umami?”. *Food Reviews International*. 14: 123-138, 1998.

ZHANG, H. J. *et al.* “Determination of aspartate and glutamate in rabbit retina using polymer monolith microextraction coupled to high-performance liquid chromatography with fluorescence detection”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 386: 2035-2042, 2006.

ZHENG, Y. *et al.* “Simultaneous determination of amino acids, purines and derivatives in serum by ultrahigh-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry”. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 33: 81-88, 2019.

PRESENCIA DEL GLUTAMATO EN ALIMENTOS

*Cinthia Baú Betim Cazarin
Carolina Soares de Moura
Priscila Neder Morato
Jaime Amaya-Farfan*

1. INTRODUCCIÓN

En la primera edición de este libro, se utilizaron datos de la Encuesta de Presupuesto Familiar (POF), del Instituto Brasileño de Geografía y Estadística (IBGE, 2002/2003), para calcular la contribución de los alimentos adquiridos comercialmente en Brasil en términos del contenido de ácido glutámico y glutamato monosódico. Desde ese momento hasta la actualidad se han realizado dos nuevas POF, siendo la última en 2018. Esta encuesta sería la más adecuada para la elaboración de un nuevo presupuesto, no solo por ser la más reciente, sino también porque fue diseñada para medir el consumo real de alimentos pero aún no está disponible para el público. Conscientes de las limitaciones de POF-2002/2003, de la necesidad de obtener datos de composición más actuales de las antiguas y nuevas formulaciones, además de la inaccesibilidad de POF-2018, los autores optaron por mantener los cálculos de POF-2002/2003. Sin embargo, sería aconsejable que los nuevos cálculos basados en las nuevas POFs destaquen el contenido de glutamato monosódico – y quizás otras sales – de forma separada del contenido de ácido glutámico proteico y el peptídico para mejorar el panorama del consumo en Brasil.

De las pocas novedades que se han producido desde la primera edición, quizás el acontecimiento principal en los últimos 10 años ha sido la opinión científica sobre el consumo de ácido glutámico y glutamatos expresada por la Comisión en Fuentes de Aditivos y Nutrientes (*Additives and Nutrient Sources* -ANS) de la Autoridad Europea de Seguridad alimentaria (EFSA, 2017). En relación a la exposición alimentaria a glutamatos (E620-E625), la Comisión señaló que la población europea consume glutamatos totales (el ácido y los glutamatos de sodio, potasio, calcio, amonio y magnesio) en niveles que superan los límites aceptables para la ingesta de glutamatos libres añadidos a la dieta, de 30 mg (de ácido)/kg p.c./día. Además de superar las dosis asociadas a efectos adversos en determinados grupos de la población, incluso sin incluir el glutamato presente en las proteínas y otros compuestos naturales. Por esta razón, se entiende que existe una preocupación con el tema de la “seguridad”, especialmente en relación a la población infantil. Yendo un poco más allá, es posible percibir que el énfasis está en el consumo de las formas libres de sales y que hay espacio para desarrollar más investigaciones sobre el tema “presencia y consumo” de glutamatos y su relevancia en la salud.

Una consecuencia de lo reportado por EFSA (2017) sobre la exposición a los glutamatos (E620-E625) fue la investigación sobre consumo y composición de alimentos publicada por Tennant (2018). El autor señaló exposición alimentaria en niños pequeños debido al consumo y digestión de las proteínas. Esta constituye una dieta sin aditivos que puede llegar a 440 mg/kg p.c./día de ácido glutámico y glutamatos totales. Los cálculos mostraron un amplio rango de consumo promedio de glutamato libre en los países europeos, que van desde 5,5 mg/kg p.c./día en ancianos austriacos, hasta 37 mg/kg p.c./día en niños de 1 año en adelante en Bélgica. Los quesos curados, en este caso, fueron responsables por una parte importante del consumo, seguidos de los embutidos, la leche, las patatas y los tomates. En el rango de alto consumo, hubo niños que consumieron entre 56 y 82 mg/kg p.c./día y la ingesta alta se asoció al consumo de quesos.

A partir de su investigación, Tennant (2018) estimó que, aplicando ingestas aceptables, los niños de 1 año o más podrían ingerir aproximadamente 80 mg/kg p.c./día. Sin embargo, si se incluye el consumo del ácido glutámico de las proteínas contenidas en los alimentos, el total podría alcanzar hasta 400 mg/kg p.c./día. De esta forma, el autor concluyó que el aporte de glutamatos añadidos a los alimentos es muy pequeño en comparación con la ingesta total de todas las formas a lo largo del día. Aunque la declaración de Tennant (2018) constituye una orientación primordial sobre el tema de la seguridad alimentaria, nuestra

opinión es que la conclusión es discutible ya que las posibles formas químicas del aminoácido: el ácido libre, el peptídico y las sales no son biológicamente equivalentes, cada una con sitios de acción específicos y no deberían considerarse como un *pool* único, según se discute más adelante.

En todo tejido biológico, los aminoácidos libres se encuentran en menor proporción en relación a los aminoácidos totales, variando de 0,1 a 5%. La suma de los aminoácidos que componen las proteínas (aminoácidos proteicos), más los aminoácidos que forman parte de pequeños péptidos y los aminoácidos libres resulta en lo que se denomina como aminoácidos totales. El aminoácido L-glutamato es uno de los más difundidos en la naturaleza, ya sea vegetal, animal, alga o microbio. Este aminoácido puede estar presente en forma de aminoácido libre, en combinación con otros aminoácidos, integrando algunos péptidos e incluso en forma proteica, integrando la estructura de las más de 22 500 proteínas distintas existentes en los organismos vivos, incluyendo al hombre. Por lo tanto, es posible encontrar este aminoácido en su forma no combinada con otros componentes celulares en cantidades variables en todos los alimentos.

Si bien la concentración del glutamato libre es muy reducida en las frutas, las concentraciones son más expresivas en las hortalizas, Por otra parte, en los tejidos animales, las concentraciones de ácido L-glutámico libre presentan menor variabilidad y son más elevadas que en los vegetales. Entre los ejemplos de tejidos en los cuales los niveles de ácido L-glutámico son significativos tenemos el intestino delgado. La glutamina, derivado γ -amidado del aminoácido, es la principal fuente de energía para el enterocito y el cerebro. En este último, el ácido glutámico es el más abundante de los aminoácidos libres. La transformación del ácido glutámico en glutamina se realiza en la célula a través de la acción de la glutamina sintetasa. En el cerebro, la fuente de ácido glutámico es la glutamina (Tapiero *et al.*, 2002).

Los productos alimenticios que se encuentran en el mercado pueden contener ácido glutámico, tanto como componente natural, como añadido, en este último caso en forma de glutamato monosódico (GMS). El aditivo o ingrediente es adicionado al alimento procesado en virtud de sus características realzadoras del sabor, en forma pura (GMS) u oculta como integrante, por ejemplo, de un extracto de levadura. En general, los alimentos pueden contener concentraciones considerables, especialmente algunos productos industrializados, mientras que lo esperado en aquellos que no tuvieron adición de GMS es que tengan concentraciones clasificadas como medias o bajas.

2. ¿ÁCIDO, SAL O AMIDA?

En los tejidos vivos, en los cuales los pHs prevalentes son fisiológicos, el ácido glutámico libre no se encuentra en la forma ácida propiamente dicha sino más bien en equilibrio con la forma de sal, es decir, en forma de glutamato (el aminoácido neutralizado con algún catión monovalente o divalente). Las cantidades relativas de las formas derivadas, tales como glutamina libre y/o peptídica que puedan estar presentes en un momento determinado, serán dependientes de las enzimas glutamina sintetasa y glutaminasa.

De este conjunto de situaciones se concluye que en cualquier organismo siempre habrá un equilibrio entre las tres formas del ácido glutámico libre. Por ende, se entiende que los alimentos disponibles para el hombre poseen las tres formas distintas de ácido glutámico libre, además del que ya se encuentra en la forma peptídica y proteica.

3. CONTENIDO DE ÁCIDO GLUTÁMICO EN LOS ALIMENTOS

Esta cuestión ha sido explorada desde la década de 1940 cuando se inició el desarrollo de técnicas analíticas para la determinación de aminoácidos. Este interés se debe, probablemente, al hecho de que, aunque este aminoácido no es considerado nutricionalmente indispensable, ya se reconocían en aquella época sus propiedades sensoriales y sus funciones neurológicas. Hoy en día esta tendencia natural del hombre a la búsqueda de sabores más refinados podría explicarse de manera análoga a aquella que esclarece el interés en el azúcar, la sal o la grasa en los alimentos. Uno de los trabajos pioneros fue el de Krebs *et al.* (1948) en el cual se determinaron los valores del ácido glutámico y de la glutamina en cerca de una docena de tejidos de ovejas y de palomas. En este estudio, también, fue constatado que las frutas tienen bajos niveles de ácido glutámico.

Los alimentos que se destacan por la elevada concentración de glutamato libre naturalmente presente son, justamente, aquellos utilizados en la culinaria en virtud de su capacidad de conferir atributos sensoriales de sabor a platos y preparaciones. Por esta razón, tales productos a menudo se emplean en la elaboración de salsas, entre ellos los tomates, los champiñones y el queso (Giacometti, 1979; Yamaguchi & Ninomiya, 2000). De acuerdo con Yamaguchi & Ninomiya (2000), las concentraciones de glutamato libre pueden variar, por ejemplo, entre 1 y 1680 mg/100 g para la leche de vaca y para el queso parmegiano reggiano, respectivamente (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 – Distribución del ácido glutámico libre en alimentos de diferentes orígenes sin especificación de la existencia de adición de GMS.

Tipo de alimento	Contenido de ácido glutámico libre (mg/100 g)
Carnes y Aves	
Carne bovina	10
Carne de cerdo	9
Pollo	22
Mariscos	
Escalope	140
Cangrejo blanco	19
Cangrejo azul	43
Cangrejo rey de Alaska	72
Camarón blanco	20
Alga marina	
Alga comestible seca	1378
Quelpo (<i>Kelp</i>)	1608
Wakame (<i>U. pinnetifida</i>)	9
Hortalizas	
Repollo	50
Espinaca	48
Tomate	246
Espárragos verdes	49
Maíz	106
Alveja (Guisante) verde	106
Cebolla	51
Papa (batata)	10
Hongos	42
Hongo <i>Shiitake</i>	71

Tipo de alimento	Contenido de ácido glutámico libre (mg/100 g)
Frutas	
Aguacate	18
Manzana	4
Uva (<i>V. labrusca</i>)	5
Kiwi	5
Quesos	
Emmental	308
Parmesano reggiano	1680
Cheddar	182
Leches	
Bovina	1
Leche de cabra	4
Materna	19
Salsa de pescado	
China	828
Japón	1323
Salsa <i>shoyu</i>	
China	926
Japón	782

Valores obtenidos por método cromatográfico. No se especifica si hubo adición de GMS.

Fuente: tabla adaptada de Yamaguchi & Ninomiya, 2000.

Otro estudio realizado por Barylko-Pikielna & Kostyra (2007), utilizó muestras de preparaciones típicas polacas especialmente elaboradas para la investigación. Este estudio reveló la presencia de concentraciones de glutamato y glutamina en un grupo de alimentos que comprendía caldo de pollo, sopa de champiñones, remolacha roja, sopa de espárragos y puré de papas. Los autores elaboraron sus preparaciones sin adición de glutamato y observaron que

los productos podrían ser clasificados en varias categorías, de acuerdo con las concentraciones de glutamato libre y glutamina. Por ejemplo, bases de caldo de pollo podían contener cantidades de glutamato semejantes a los de bases de sopa de verduras y de remolacha roja (entre 9,2 y 12,3 mg/100 g). A su vez, esos productos contenían concentraciones inferiores a los de una formulación a base de puré de papas (19,3 mg/100 g) o a una sopa de arvejas (41,1 mg/100 g), o a una base de espárragos (45,4 mg/100 g).

En el estudio citado, las concentraciones de glutamina presentes en los productos remolacha roja, sopa de verduras y puré de papas (21, 19,4 y 27,3 mg/100 g, respectivamente) fueron las que más se destacaron. En los demás productos, las concentraciones de glutamina oscilaron entre 2 y 10 mg/100 g. Para tener una idea de la magnitud de las concentraciones de glutamato, en relación con los demás aminoácidos libres, las sumas totales de los aminoácidos libres en todas las preparaciones variaron de menos de 100, para el caldo de gallina, a 224 mg/100 g para la sopa de arvejas. Esto nos da una medida de la importancia relativa que el glutamato tiene cuando se considera el conjunto de aminoácidos libres.

En un levantamiento de datos realizado en algunos productos en los Estados Unidos de América (EUA) y en países de la Unión Europea (EU) (Populin *et al.*, 2007), se verificó que entre los alimentos que no tenían adición de glutamato monosódico los niveles oscilaban entre 0,3 y 129 mg/100 g. Sin embargo entre aquellos que tenían el aditivo la variación era de 92,7 a 341 mg/100 g (Tabla 3.2). De esta forma, tratándose de un estudio amplio y relativamente reciente, es interesante observar que los aderezos para ensaladas fueron clasificados entre los alimentos industrializados con contenidos más expresivos de glutamato (entre 266 y 753 mg/100 g). Por otro lado, también es cierto que los productos con mayores niveles de glutamato no son alimentos clasificados como básicos; es decir, no participan en la dieta como una fuente principal de calorías. Este es el caso de las salsas, los caldos concentrados y similares, que tienen una función accesoria en la culinaria y no constituyen la base de la alimentación.

En los países asiáticos, los principales alimentos y productos que contienen glutamato son los mariscos secos y fermentados, salsas de pescado, frijoles y granos fermentados además de, hongos y té. Se destaca Japón como el país con mayor variedad de salsas de pescado, totalizando mayor disponibilidad/oferta de ácido glutámico. Para la preparación de platos populares, en Tailandia es común el uso del proceso de fermentación para la obtención del umami. La fermentación depende principalmente de las glutaminasas de los microorganismos presentes en los ingredientes para aumentar el contenido de ácido glutámico libre (Hajeb & Jinap, 2015).

Tabla 3.2 – Contenido de glutamato libre en caldos, sopas y bases, para sopas elaboradas en EUA y UE.

Producto	Ingredientes	Adición de GMS	GLU (mg/100 g de producto)	GLU (mg/ porción)	GLU (% del total de aa libres)
Caldo	Carne	No	1,5 ~ 5,1	3,7 ~ 12,7	6,5 ~ 12,1
	Carne, hortalizas	No	12,7 ~ 40,3	31,6 ~ 101,0	6,5 ~ 9,1
	Carne, hortalizas, extractos de levadura	No	27,2 ~ 33,8	68,0 ~ 84,5	19,6 ~ 21,1
Sopa	Carne, extractos de levadura	Sí	118,0 ~ 162,0	295,0 ~ 405,0	65,3 ~ 71,6
	Carne, hortalizas, extractos de levadura, proteína vegetal hidrolizada	Sí	187,0 ~ 242,0	468,0 ~ 606,0	78,5 ~ 80,9
	Hortalizas, extractos de levadura	No	29,2 ~ 45,5	73,0 ~ 114,0	12,9 ~ 15,8
	Hortalizas	Sí	176,0 ~ 284,0	439,0 ~ 710,0	47,0 ~ 61,1
	Hortalizas, extractos de levadura	Sí	208,0 ~ 221,0	521,0 ~ 554,0	49,4 ~ 59,7
	Carne e hortalizas	Sí	223,0	558,0	59,2
Base para Sopas	Carne, hortalizas, extracto de levadura, proteína vegetal hidrolizada	Sí	267,0 ~ 341,0	667,0 ~ 853,0	50,6 ~ 86,6
	Hortalizas	No	0,3	0,8	8,8
	Hortalizas, proteína vegetal hidrolizada	No	129,0	322,0	47,7
	Hortalizas extractos de levadura	No	7,8 ~ 46,5	14,5 ~ 116,0	24,6 ~ 30,3
	Hortalizas, extractos de levadura, proteína vegetal hidrolizada	No	10,1 ~ 67,7	25,3 ~ 169,0	19,5 ~ 22,5
	Carne	No	1,3 ~ 2,8	2,2 ~ 3,3	4,3 ~ 5,9
	Carne, extracto de levadura	No	9,2	18,3	16,0
	Carne, hortalizas, proteína vegetal hidrolizada	No	87,8	220,0	47,5
	Carne, hortalizas, extracto de levadura, proteína de carne hidrolizada	No	19,0	38,0	34,9
	Hortalizas	Sí	1.46,0 ~ 178,0	291,0 ~ 445,0	77,4 ~ 91,6
aa = aminoácidos.	Hortalizas, extracto de levadura	Sí	92,7 ~ 339,0	232,0 ~ 848,0	81,1 ~ 87,9
	Hortalizas, extracto de levadura, proteína vegetal hidrolizada	Sí	115,0	288,0	92,7
	Carne, hortalizas, extracto de levadura	Sí	315,0 ~ 323,0	788,0 ~ 808,0	78,8 ~ 86,8

Fuente: tabla adaptada de Populin *et al.*, 2007.

Es importante percibir que un buen número de productos alimenticios, ya sean preparaciones artesanales o industrializadas, o incluso ingredientes que hayan sido sometidos a procesos de germinación, fermentación o hidrólisis, podrán contener concentraciones más elevadas de ácido glutámico y glutamina libres. Esto se debe a la liberación de enzimas proteolíticas producidas durante el proceso de fermentación. Las enzimas liberadas se encargan de digerir las proteínas y generar las formas de baja masa molecular que emigran al medio.

En relación al contenido de GMS en productos brasileños disponibles comercialmente, los datos son escasos, y se restringen a los valores para las cremas y sopas. Sin embargo, existe por lo menos un estudio brasileño que relata el contenido de GMS en cremas, sopas, y caldos de gallina (industrializados) de marcas de gran consumo. Este estudio revela que la variación es grande y puede abarcar niveles de 1 hasta 12 g/100 g de producto (Guimarães & Lanfer-Marques, 2005). En cuanto a los contenidos, no hubo una distinción clara entre los tipos de productos, salvo que las mayores concentraciones se encontraron en las sopas con 5,5 g/100 g, seguidas de las cremas (media de 4,0 g/100 g) y de los preparados de caldo de gallina (media de 2,4 g/100 g). Las diferencias pueden estar más relacionadas con la marca que con el tipo de producto.

En relación a las concentraciones de glutamato total, es posible obtener una noción del contenido mediante la utilización de Tablas de Composición de los Alimentos. En la Tabla 3.3 se recopilan los 400 alimentos más consumidos en Brasil, extraídos de una lista con más de 5000 productos (microdatos del Estudio de Presupuestos Familiares – POF: IBGE, 2002/2003), y sus correspondientes contenidos de glutamato total, la cual sirve para tener una idea de la magnitud del contenido de glutamato en los alimentos más comúnmente consumidos en Brasil.

Tabla 3.3 – Contenido de glutamato total (g/100 g) de los 400 productos alimenticios más ricos en el aminoácido y más consumidos en Brasil.

ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)	ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)
Aguacate	0,287	Bacalao	9,378
Piña (Ananás)	0,079	Banana (plátano)	0,152
Calabaza cruda	0,184	Banana frita con miel	0,170
Calabacín verde	0,126	Banana seca o deshidratada	0,399
Azafrán	3,699	Papa congelada (semi-pro- cesada)	0,399
Acelga	0,267	Boniató (papa dulce)	0,155
Berro	0,190	Emparedado (<i>sandwich</i>)	3,104
Agua de coco	0,165	Berenjena cruda	0,186
Apio	0,090	Beterraga (remolacha roja)	0,428
Alcatra	2,901	Galleta cream cracker	3,066
Lechuga	0,182	Galleta de maicena	1,618
Albahaca	0,277	Galleta integral de agua	2,804
Algas em conserva	0,199	Galleta rellena	1,753
Ajo	0,805	Brócoli	0,542
Ablandador de carne	8,668	Brote de bambú	0,248
Ciruela	0,035	Brote de frijol	0,640
Ciruela Negra	0,114	Callos de res	1,964
Almendra	6,810	Cacao	2,948
Maní (en grano) (<i>in natura</i>)	5,390	Perro Caliente (Hot-Dog)	2,385
Manteca de maní	5,422	Café	2,030
Maní salado	4,949	Café de cevada	2,741
Americano (<i>sandwich</i>)	3,104	Café descafeinado	1,937
Almidón de arroz	1,097	Caldo de gallina	3,173
Almidón de maíz	0,053	Caldo de verduras	2,126
Papilla de harina de maíz (precocida)	1,754	Camarón	3,465
Embutido de jamón	1,934	Camarón cocido	3,566
Arroz especial (japonés)	0,029	Camarón en conserva	3,429
Arroz integral crudo	1,528	Canela em polvo	0,370
Arroz pulido	1,288	Caqui	0,104
Arroz precocido	1,466	Carambola (fruta estrella)	0,148
Arroz instantáneo	0,464	Caramelo (dulce)	0,892
Espárragos em conserva	0,295	Cangrejo	3,155
Atún em conserva	3,961	Carcaza de cerdo	2,642
Avena em hojuelas	3,712	Carne asada o bisteca	4,113
Avellana	3,710	Carne de res em conserva	2,728

ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)	ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)
Carne de caballo	3,116	Crema de arroz	1,004
Carne de codorniz	2,530	Crema de leche	0,620
Carne de conejo	3,217	Crema de maíz	0,741
Carne de pollo	2,012	Crepe	1,627
Carne de pollo en conserva	3,173	Cruasán (<i>croissant</i>)	2,300
Carne de hamburguesa	2,967	Cuscús	1,367
Carne de pato	1,709	Damasco seco o deshidratado	0,188
Carne de pavo	3,150	Diet shake	0,713
Carne de cerdo ahumada	3,327	Dulce de leche	0,618
Carne de cerdo en conserva	2,731	Dulce de calabaza pastoso	0,133
Carne de cerdo salada	0,693	Dulce de boniato	0,089
Carne de venado	3,336	Dulce dietético de durazno (melocotón)	0,061
Carne molida (cerdo)	2,642	Hamburguesa com huevo	2,180
Carne seca	4,316	Empanada	0,779
Carpaccio	4,052	Arveja (guisante)	0,436
Carré de cerdo	2,642	Arveja (en grano)	4,196
Castaña	0,210	Arveja (en vaina)	0,741
Castaña de cajú	4,506	Arveja y zanahoria en conserva	0,307
Castaña de pará	3,147	Espinaca	0,343
Cebolla	0,258	Harina de maní	10,908
Cebolla en conserva	0,131	Harina de arrurruz	0,050
Cebolla en polvo	1,445	Harina de avena	2,830
Zanahoria	0,366	Harina de galletas	1,300
Zanahoria en conserva	0,233	Harina de centeno	2,621
Cereal matinal	1,370	Harina de yuca	0,206
Cereza fresca	0,083	Harina de maíz enriquecida	1,754
Cerveza	0,047	Harina de pan rallado	3,192
Cevada en grano	2,741	Harina de soya	6,689
Chantilly	0,670	Harina de trigo	3,479
Hamburguesa con queso	3,102	Haba (en grano)	4,437
Chayote	0,125	Frijol (varios tipos)	2,869
Requesón (cuajada)	2,706	Frijol amarillo	3,355
Cocada	0,775	Frijol blanco	3,561
Coco	0,761	Frijol café	3,294
Hongos en conserva	0,207	Frijol carioca	3,595
Hongo fresco	0,343	Frijol mulato	3,294
Col	0,374		
Coliflor	0,264		

ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)	ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)
Frijol negro	3,294	Leche de cabra	0,626
Frijol rosado	3,195	Leche de coco	0,524
Frijol Morado	3,862	Leche de soya	0,487
Frijol verde	0,187	Leche de soya en polvo	0,487
Frijol rojo	3,436	Leche desnatada	7,350
Fermento biológico	1,235	Leche gelificada	0,681
Fibra de trigo	2,874	Leche entera	5,512
Hígado de res	2,612	Leche semidesnatada	0,782
Hígado de gallina o pollo	2,093	Leche vitaminada	0,779
Higo	0,072	Lenteja en conserva	1,399
Higo seco o deshidratado	0,295	Lengua de res	2,053
Hojuelas de arroz	1,212	Salchicha (al por menor)	2,210
Hojuelas de maíz	1,647	Salchicha <i>peperoni</i>	2,117
Pollo frito troceado fino	3,202	Calamar	2,208
Pollo asado o ahumado	3,497	Manzana	0,025
Harina de maíz	1,300	Manzana seca o deshidratada	0,137
Gelatina	0,894	Macadamia/nueces	2,267
Marmelada de frutas	0,109	Fideo instantáneo	4,596
Gemada	0,769	Papaya	0,033
Jengibre	0,162	Yuca	0,206
Sésamo	3,955	Mango	0,060
Guayaba	0,333	Albahaca	0,277
Dulce de guayaba	0,042	Mantequilla con o sin sal	0,178
Granola (copos de cereal mixto)	1,975	Margarina con sal	0,179
Garbanzo crudo	3,375	Mariscos	1,618
Pomelo blanco	0,176	Masa de pan común	1,730
Menta	0,358	Masa de pan de queso	1,751
Ñame	0,181	Masa de quibe, croqueta	2,514
Yogur de cualquier sabor	0,966	Masa de tomate	0,348
Kani kama	1,438	Masas precocidas	1,832
Catchup	1,101	Miel de abeja	0,018
Kiwi	0,184	Sandía	0,063
Langosta	3,207	Melón	0,209
Naranja pera	0,247	Mejillón	1,618
Leche achocolatada	0,664	Maíz (en grano)	1,768
Leche condensada	1,656	Maíz blanco en grano	1,768
Leche de búfala	0,477	Maíz verde (en espiga)	0,636

ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)	ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)
Maíz verde en conserva	0,385	Páprika	2,363
<i>Porridge</i> (gachas de avena)	1,102	Pasta de maní	5,023
Mini-pizza	3,539	Pastelería frita	2,021
<i>Sandwich</i> de jamón y queso caliente o frío	3,104	Paté	1,904
Mezclas industriales de panes	1,422	Pechuga de gallina o pollo	3,458
Salsa barbacoa	0,067	Pechuga de pavo	2,786
Salsa de pimienta	0,171	Pezcado acará	2,896
Salsa inglesa	0,067	Pescado albacora	3,489
Frutilla (fresa)	0,098	Pescado anchoa	3,038
Mortadela	2,619	Pescado asado	3,654
Mostaza (condimento)	4,979	Pescado atún	3,482
<i>Mozzarella light</i>	5,677	Pescado bagre de mar	2,445
Nabo	0,130	Pescado bonito	3,284
Nata dulce o salada	0,662	Pescado cazón	3,131
Durazno pelado	0,034	Pescado caballa	2,777
Níspero	0,061	Pescado chicharro	3,028
<i>Nuggets</i> de pollo	2,114	Pescado corvina	2,654
Ostra	0,711	Pescado curimata	2,996
Huevos de pescado	2,670	Pescado de agua dulce (varios tipos)	2,815
Huevo cocido	1,644	Pescado de mar (varios tipos)	2,751
Huevo de codorniz	1,662	Pescado dorado de mar	2,762
Huevo de gallina	1,676	Pescado frito	2,514
Huevo de pata	1,789	Pescado mero	2,892
Huevo de pava	1,742	Pescado lenguado	2,813
Palmito en conserva	0,296	Pescado mono	2,163
Panetone (pan de pascua)	2,355	Pescado morena	2,753
Panqueque	1,330	Pescado ojo de buey	3,455
Pan de centeno	2,603	Pescado chato	2,322
Pan de molde	2,920	Pescado pámpano sureño (pampo)	2,758
Pan de miel	1,498	Pescado sabalito	2,734
Pan de maíz	1,625	Pescado pargo	3,017
Pan de queso	1,022	Pescado pescada	2,903
Pan diet (industrializado)	2,459	Pescado sardina	3,674
Pan dulce	1,732	Pescado saboga	2,527
Pan francés	3,287	Pescado sierra	2,956
Pan sirio	3,153	Pescado salmón	2,889

ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)	ALIMENTO	Ácido glutámico (g/100 g producto)
Pescado tilapia	3,213	Repollo en conserva	0,292
Pescado rojo	3,061	Requesón	1,714
Pescado sherlet (tipo jurel)	2,996	Risotto	0,545
Pepino	0,196	Risotto precocido	1,328
Pera	0,030	Rosquita de coco	0,552
Pernil de cerdo asado	4,084	Ensalada rusa	0,387
Pavo asado o ahumado	4,785	Salame	1,929
Durazno	0,056	Papas fritas de bolsa (<i>chips</i>)	1,243
Durazno seco o deshidratado (huesillo)	0,548	Perejil	0,249
Picles	0,095	Salchicha	1,802
Pimienta	0,264	<i>Sandwich</i> natural	2,440
Pimienta malagueta en conserva	0,119	Sangre de carnero	2,120
Pimentón verde	0,194	Semilla de calabaza	4,315
Palomita de maíz, dulce o salada	2,255	Semolina de trigo	4,571
Pistacho	3,819	Shouo	1,479
Pizza	2,852	Cangrejo	3,080
Polvo de flan	0,618	Soya (en grano)	7,874
Polvo para <i>milk shake</i>	0,639	Bombas dulces rellenas	1,865
Polenta frita	0,741	Dátil seco o deshidratado	0,359
Pulpo	2,027	Mandarina	0,061
Proteína de soya	17,452	Polvillo de yuca (tapioca)	0,029
Puré de papas	0,353	Condimento mixto industrializado	2,126
Queso camembert	4,187	Tomate	0,431
Queso de soya	1,408	Tomate seco	5,202
Queso gorgonzola	5,179	Toranja	0,197
Queso minas	4,458	Tostada	1,999
Queso <i>mozzarella</i>	4,458	Chicharrón	7,625
Queso <i>parmesano</i>	8,209	Torta dulce	0,786
Queso <i>provolone</i>	6,235	Torta Salada	0,779
Queso ricota	2,446	Tocino de cerdo ahumado	1,707
Queso <i>roquefort</i>	3,670	Trigo (en grano)	4,743
Queso suizo	5,704	Uva rosada	0,131
Queso tipo <i>gouda</i>	6,137	Ostión	2,282
Quimbombó	0,271	Vísceras de res	1,983
Rabanito	0,157	Vísceras de cerdo saladas	1,983
Repollo	0,294	Batido de frutas	0,703

4. EXPOSICIÓN DEL CONSUMIDOR BRASILEÑO AL GLUTAMATO

No se encontraron informaciones relativas a las cantidades de ácido glutámico libre consumido en América Latina. No obstante, los volúmenes de glutamato monosódico así como de otras sales, producidos por el sector industrial pueden ser usados para obtener una estimativa indirecta sobre el consumo. La producción mundial de GMS alcanzó en 2006 un volumen de, aproximadamente, 2 millones de toneladas, de las cuales apenas una pequeña proporción fue destinada a la alimentación animal. Considerando que China produjo 57% y consumió 52% de ese total, se deduce que la población de América Latina debe consumir alrededor de 10%, es decir, doscientos mil toneladas de glutamato monosódico por año (Yokose & Janshekar, 2007).

Partiendo de la base de que la población de los países de América Latina (América del Sur, América Central, México y el Caribe) es de cerca de 679 millones de personas y de que el 20% de la población no tiene acceso a productos industrializados, tendremos una estimativa de consumo de 368,19 ton/10⁶ habitantes/año. Esto significa que el consumo medio era de aproximadamente 1 tonelada de GMS por un millón de habitantes por día, es decir de aproximadamente 1 g/persona/día. No hay dudas de que el panorama ha cambiado en los últimos 10 años y es lógico que los perfiles de consumo también hayan sufrido alteraciones.

En Brasil, así como en los demás países de América Latina, los datos de consumo de ácido glutámico libre, o ácido glutámico más glutamina libres, de origen alimenticio, no son conocidos. Sin embargo, al menos en Brasil, el consumo en la forma de ingrediente puro, sin considerar el extracto de levadura, puede ser estimado utilizando los datos de las POFs como fue hecho con la POF 2002/2003, pero siempre mantener actualizadas las concentraciones de nutrientes mediante análisis.

Otra consideración importante que puede ser relevante en el futuro es el estado químico o físico-químico en que el nutriente se encuentra en el alimento a la hora de ser consumido. Sobre una visión más moderna en materia de salud, el impacto real de los nutrientes añadidos a la dieta podría evaluarse mejor si consideramos la cantidad total del nutriente, consolidando todas sus formas en un único valor. Sin embargo, esta estrategia no parece ser aplicable a las diversas formas de los glutamatos y al ácido encriptado en las proteínas debido a la poca equivalencia entre algunos de ellos.

Es evidente que, cuando se calcula el consumo de ácido glutámico libre, se excluye automáticamente una masa completa, no despreciable, del aminoácido

proteico. Si bien esta masa es liberada por el proceso digestivo en poco más de una hora después de la ingestión, también es necesario reconocer que existe una separación temporal en el uso. Además existen diferencias en la bioaccesibilidad entre las diferentes formas, especialmente entre las formas libres y las formas peptídica o proteica. En consecuencia, desde un punto de vista nutricional y fisiológico no es posible otorgar un valor biológico equivalente a todas las formas del aminoácido y, por tanto, la cuantificación de las diferentes formas debe realizarse e informarse por separado.

Siguiendo esa lógica, el cálculo de la exposición alimentar al glutamato debería ser estimado considerándose al menos dos formas: el glutamato libre y el glutamato no libre. La dificultad práctica, no obstante, está en que los datos sobre composición de alimentos procesados, ni siempre son relatados con tal grado de detalle.

A pesar de las consideraciones anteriores y, en ausencia de nuevos datos, seguiremos dependiendo de los datos de la Encuesta de Presupuestos Familiares – POF (IBGE, 2002/2003) que recopiló informaciones sobre la adquisición de todo tipo de bienes de consumo, incluidos los alimentos. Esta es la mejor manera de obtener datos sobre el consumo de sales de ácido glutámico o cualquier nutriente por parte de la población brasileña, aunque, como ya se mencionó, los datos de la encuesta 2002/2003 no se refieren a la ingesta mundial de alimentos por familias, sino solo a los alimentos que se compraron y se pusieron a disposición en el hogar. Por lo tanto, no se espera que los números encontrados usando esta base revelen la ingesta real de sales de ácido glutámico y sus contrapartes. Además, se señala que los alimentos consumidos fuera del hogar no se incluyeron en la investigación.

En la Tabla 3.4 se presentan los mismos datos de la primera edición sobre consumo de ácido glutámico total, es decir, la suma del ácido glutámico libre (que incluye el GMS) y el proteico, por la población brasileña, conforme la región geográfica, según la POF (IBGE, 2002/2003).

Tabla 3.4 – Valores promedios per cápita diarios de ácido glutámico total disponibles en domicilios brasileños.

Región	N	Disponibilidad y promedio diario de proteína (g)	Disponibilidad y promedio diario de energía (kcal)	Disponibilidad y promedio diario de ácido glutámico (g)
Norte	105829	47,38-57,48	1534,27-1751,56	12,37
Noreste	296378	38,91-68,37	1510,85-2000,14	12,22
Sureste	125654	36,87-65,52	1538,48-2225,21	16,40
Sur	93512	45,46-65,61	1744,91-2079,50	19,86
Centro-Oeste	93734	35,99-53,83	1549,70-1740,00	15,82

Fuente: POF, 2002/2003.

5. BENEFICIOS OBTENIDOS CON EL USO DE GLUTAMATO MONOSÓDICO (GMS) EN ALIMENTOS

El GMS es un aditivo muy utilizado por la industria alimentaria en todo el mundo, así como en la cocina gourmet y en preparaciones domésticas. Tal preferencia se debe a su característica de realzar el sabor. Se han presentado iniciativas en la literatura científica con el objetivo de utilizar GMS como sustituto parcial del cloruro de sodio (Maluly *et al.*, 2017). Si la aplicación de estrategias, como la anterior, pudiera paliar el consumo excesivo de sodio y azúcar, podríamos ver que la lista de beneficios derivados de este aditivo crecerá y, con él, también la ingesta.

Los beneficios asociados al GMS constituyen una prueba de que la sal monosódica puede considerarse como una sal bioactiva y, por lo tanto, no es equivalente al aminoácido proteico y debe determinarse e informarse por separado. La justificación biológica para resaltar el consumo de glutamato monosódico, proteína o glutamato total, en futuras encuestas, se basa en las diferentes funciones que desempeñan y los diferentes sitios de acción que tienen en el organismo las dos formas del aminoácido. Esta medida de precaución se basa en al menos un caso ya reportado en la literatura sobre el desequilibrio metabólico causado por la ingesta de aminoácidos de cadena ramificada libres (BCAA) (Newgard *et al.*, 2009; Newgard, 2012). Los estudios metabólicos realizados por estos autores mostraron que la ingesta de BCAA libres se asoció con la resistencia a la insulina y con la diabetes tipo 2 en animales y humanos. Las preguntas planteadas por este y otros trabajos que siguieron aún no se han resuelto, pero deben considerarse para guiar nuevas investigaciones sobre la adición de aminoácidos libres a los alimentos.

6. CONSIDERACIONES FINALES

Con relación al consumo de glutamato monosódico (GMS), son escasas las investigaciones realizadas en América Latina y más específicamente en Brasil. Con base en la producción de este ingrediente, una estimativa simple indica que la ingestión diaria es de aproximadamente 1g por habitante, por día. Desde la primera edición de este capítulo, ha habido pocas novedades sobre la aparición de GMS en productos alimenticios. Los autores estaban interesados en descubrir si las nuevas tendencias del consumidor moderno habrían alterado de alguna manera la demanda de productos que contienen el ingrediente, pero no fue posible encontrar evidencia de que su producción industrial haya disminuido o aumentado. Por tanto, creemos que el consumo per cápita se mantiene sin cambios.

Los productos alimenticios no modificados, existentes en el mercado, poseen concentraciones muy distintas. Basado en estas diferencias, pueden ser clasificados como de concentraciones bajas, medias y altas. En el primer grupo se encuentran las frutas en general, mientras que el grupo de alto contenido está compuesto por hongos, ajo, tomate, quesos, nueces, algunas carnes, algas marinas y todos aquellos productos normalmente utilizados en la preparación de salsas, justamente para aprovechar sus características enriquecedoras del sabor. Muchas verduras, cangrejos y algunos pescados se encuentran clasificados en el grupo con contenidos intermedios. Los productos industrializados y los condimentos deshidratados son también generalmente muy ricos en GMS.

Con el objetivo de expresar de forma más realista el acceso de una población al glutamato alimentario, deberíamos adoptar un enfoque más amplio, incluyendo tanto el glutamato libre, como el glutamato no-libre, es decir, el proteico, cuyo contenido en la dieta puede ser 10 veces mayor que el libre. Sin embargo, dado que las funciones biológicas son esencialmente diferentes para las distintas formas químicas del aminoácido, no habría ninguna justificación lógica para informar los datos de consumo de manera conjunta o global. Este razonamiento parece reflejarse en la reciente postura de la EFSA (2017) sobre el uso de nutrientes como aditivos.

La extracción futura de datos de las POF más recientes puede confirmar o modificar la tendencia de distribución del consumo de glutamato agregado al alimento, que había sido detectada por POF-2002/2003. A través de la disponibilidad en los hogares brasileños, la investigación identificó que en las regiones Medio Oeste, Sureste y Sur, las familias, en general, consumían más glutamato agregado a los alimentos que en las regiones Norte y Noreste.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARYŁKO-PIKIELNA, N. & KOSTYRA, E. “Sensory interaction of umami substances with model food matrices and its hedonic effect”. *Food Qual Prefer.* 18(5): 751-758, 2007.

EFSA, EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. “Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives”. *EFSA Journal.* 15(7): 4910, 2017.

GIACOMETTI, T. “Free and bound glutamate in natural products”. In: FILER, L. J. et al (ed.). *Glutamic acid: advances in biochemistry and physiology.* New York, Raven Press, 1979, pp. 25-34.

GUIMARÃES, C. P. & LANFER-MARQUES, U. M. “Estimativa do teor de fenilalanina em sopas desidratadas instantâneas: importância do nitrogênio de origem não-protéica”. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 41(3): 365-375, 2005.

HAJEB, P. & JINAP, S. “Umami taste components and their sources in asian foods”. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 55(6): 778-791, 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de orçamentos familiares no Brasil - POF, 2002/2003.* Rio de Janeiro, 2004.

KREBS, H. A.; EGGLESTON, L. V. & HEMS, R. “Distribution of glutamine and glutamic acid in animal tissues”. *Biochem J.* 44: 159-163, 1948.

MALULY, H. 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 Sci Nutr.* 5(6): 1039-48, 2017.

NEWGARD, C. B. “Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance”. *Cell Metab.* 15: 606–614, 2012.

NEWGARD, C. B. et al. “A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance”. *Cell Metab.* 9: 311–326, 2009.

POPULIN, T. et al. “A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate”. *Food Chem.* 104: 1712-1717, 2007.

TENNANT, D. R. “Review of glutamate intake from both food additive and non-additive sources in the European Union”. *Ann Nutr Metab.* 73(suppl 5): 21-28, 2018.

TAPIERO, H. *et al.* “Glutamine and glutamate”. *Biomed Pharmacother.* 56: 446-457, 2002.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “Umami and food palatability”. *J Nutrit.* 130: 921S-926S, 2000.

YOKOSE, K. & JANSHEKAR, H. “Monosodium glutamate”. *SRI Consulting* [periódicos eletrônicos]. Jan. 2007. Disponible en <http://www.sriconsulting.com/ceh/private/reports/543.6000>. Acceso el 19/4/2008.

PARTE III
ASPECTOS BIOLÓGICOS

GLUTAMATO ASPECTOS BIOQUÍMICOS

*Teresa Blanco de Alvarado-Ortiz
Alexandra Cucufate Petrushina*

1. INTRODUCCIÓN

La Bioquímica es una ciencia relativamente nueva. Basada en los adelantos generados por la Química y la Biología a mediados del siglo XIX, nace como ciencia en el siglo XX y se desarrolla como una actividad más fructífera y útil por sus avances en nutrición, medicina, farmacia, agricultura e industria. Estudia los componentes químicos del ser vivo, en particular del hombre, y los distintos cambios que sufren en un esquema que llamamos metabolismo. Este último entendido como el conjunto de modificaciones que se producen en los componentes químicos del ser vivo para garantizar sus funciones, crecimiento, desarrollo, nutrición, reproducción, movimiento y otras. Escribir sobre la Bioquímica del glutamato, en ese sentido, significa ubicarlo en ese esquema metabólico con la importancia que tiene para garantizar una fisiología sana y productiva en cualquier ser vivo, desde una bacteria hasta el hombre.

El glutamato, por ser un aminoácido proteico, se ubica dentro del estudio de las proteínas, moléculas que comparten tanto un rol estructural como constituyentes de órganos fundamentales (músculo, hígado, piel, tejido conectivo, etc.), como un rol especial en las funciones vitales, siendo componente de enzimas

digestivas y celulares, hormonas que regulan el metabolismo, anticuerpos que nos defienden contra bacterias, virus y otros.

Así, el estudio de las proteínas comprende áreas tan variadas como el ciclo del nitrógeno, síntesis de compuestos orgánicos nitrogenados; síntesis de enzimas digestivas proteolíticas; evaluación de cantidad y calidad de las proteínas dietéticas, determinación de balance nitrogenado; recambio, vida media y valor biológico de las proteínas; vías metabólicas involucradas en la utilización del esqueleto carbonado de los aminoácidos para producir energía; mecanismos a través de los cuales los organismos liberan productos tóxicos derivados del catabolismo del nitrógeno; transporte de aminoácidos; requerimientos proteicos; aminoácidos esenciales y no esenciales, y la biosíntesis de estos. Todo ello ayuda a comprender el estudio de la bioquímica del glutamato.

Sobre la calidad de los 20 aminoácidos usuales de la dieta, Rose (1938) estableció el concepto de aminoácido esencial, o indispensable, para 8 de ellos y no esencial para los 12 restantes. Tal clasificación está basada en que el hombre sintetiza los no esenciales mediante vías metabólicas cortas, utilizando pocas enzimas, y a partir de restos o residuos de otros aminoácidos o intermediarios del metabolismo hidrocarbonado. Los aminoácidos esenciales, por requerir muchas enzimas y largas vías metabólicas, no pueden ser sintetizados y, por ello, deben ser consumidos diariamente.

Otros autores en el campo de la nutrición (Mataix & Navas, 2005; Byrd-Bredbenner *et al.*, 2009) presentan la clasificación que Rose estableció como poco afortunada, ya que induce a que la investigación se enfoque mucho más en aminoácidos esenciales, al poder interpretarse que lo no esencial es sinónimo de poco importante. Sin embargo, se puede resumir la importancia de cada uno de los aminoácidos no esenciales de la siguiente forma:

- Alanina: interviene en el metabolismo de la glucosa.
- Arginina: participa principalmente en la conservación del equilibrio de N_2 y de CO_2 ; en el ciclo de la urea, en la producción de la hormona de crecimiento, involucrada en crecimiento de tejidos, músculos, mantenimiento y reparación del sistema inmunológico como también síntesis de óxido nítrico.
- Asparagina: se encuentra comprometida en procesos metabólicos del sistema nervioso central.
- Ácido aspártico: participa en procesos de desintoxicación hepática ya que con otros aminoácidos forma moléculas capaces de absorber toxinas

- del torrente sanguíneo. A través de reacciones de transaminación con cetoácidos, forma aminoácidos para la síntesis de proteínas.
- **Cistina:** participa en la actividad desintoxicante formando derivados mercaptúricos; participa también en la conversión de cianuros en tiocianatos. Interviene en la síntesis de la insulina.
 - **Cisteína:** junto a L-cistina, trabaja en la desintoxicación como antagonista de radicales libres. Interviene en mantener el cabello saludable por su contenido de azufre.
 - **Tirosina:** es un neurotransmisor directo trabajando en combinación con otros aminoácidos.
 - **Prolina:** determina la formación del colágeno en el tejido conjuntivo, la reparación y mantenimiento del sistema muscular y de los huesos.
 - **Glicina:** constituyente de numerosos tejidos; estructuralmente es el más pequeño de los aminoácidos y, por ello, participa en formar diversos compuestos nitrogenados.
 - **Glutamina:** interviene en numerosas reacciones, como la de aportar glucosa a las células cerebrales.
 - **Glutamato:** es un nutriente estructural en la formación de cientos de proteínas, sustrato proveedor de energía, es una molécula excitatoria y participa también como regulador enzimático.

Por ello, resulta apropiado que importantes textos como Villavicencio (2007) y Champe *et al.* (2004), valoren el papel de los aminoácidos no esenciales. Asimismo, Reeds *et al.* (1996), destacan que 12 de los 20 aminoácidos, justamente los no esenciales, son necesarios, indispensables; por tanto, el hombre debe sintetizarlos a partir de precursores orgánicos y restos de otros aminoácidos, todos de indiscutible importancia.

2. METABOLISMO DEL GLUTAMATO, GENERALIDADES

Mathews & Van Holde (2000) escriben en su libro Bioquímica:

[...] el glutamato es tal vez el más activo de todos los aminoácidos en cuanto al número de sus funciones metabólicas.

Coincide con ello lo expresado por Vernon & Ajami (2000):

[...] pocas moléculas de importancia biológica parecen tener tantos roles en la función del cuerpo como el glutamato libre; es agente saborizante en la comida, combustible

metabólico en el tracto gastrointestinal, aminoácido constituyente de proteínas, esqueleto carbonado que brinda energía especialmente a la placenta y al enterocito, participante en la detoxificación del amoníaco hepático, neurotransmisor en el cerebro, entre otras funciones.

El glutamato es crucial por las siguientes razones:

- a) Es una molécula clave en la generación de la percepción del gusto umami en decenas de alimentos industrializados como sopas, caldos, embutidos, salsas de tomate, conservas de pescado, galletas, aliños, comida preparada, ya que en forma de aminoácido libre es empleado como aditivo alimentario, codificado según el *Codex Alimentarius* (Codex, 1999) como E621. Se obtiene por biotecnología, a partir de la glucosa que a la vez se obtiene por hidrólisis de la sacarosa de la caña de azúcar, o de otras fuentes vegetales ricas en almidón. Se estima que el consumo promedio del aminoácido libre como aditivo en la dieta podría variar entre 0,5 a 2 g por día.
- b) Es una molécula clave en la generación de la percepción del gusto umami en aquellos alimentos que contienen el aminoácido libre en forma espontánea, o que llegan a liberar el glutamato a través de procesos tales como la fermentación. En estos casos, se incrementa la concentración del glutamato debido a la hidrólisis proteica ocasionada por proteasas de microorganismos agregados, como en el queso *parmesano*, salsa de soya (*sillao*) o de pescado (*garum*), *tocosh* de papa (alimento tradicional andino preparado a partir de pulpa de la papa fermentada), entre otros. La Tabla 4.1 muestra el contenido de glutamato libre en algunos alimentos de acuerdo con las Tablas Estándares de Composición de Alimentos de Japón (*Science and Technology Agency of Japan*, 1986), y con la Composición de Aminoácidos de Alimentos de la FAO (1981).

Tabla 4.1 – Glutamato libre en alimentos (expresado en mg/100 g).

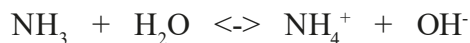
Alimento	Alimento	Alimento
Tomate maduro 246	Ajo 99	Leche de vaca 2
Papa 180	Brócoli 30	Leche humana 22
Col 50	Col china 94	Queso <i>Cheddar</i> 182
Lechuga 46	Espárrago 49	Carne de vaca 33
Coliflor 46		Carne de cerdo 23

Fuente: *Science and Technology Agency of Japan*, 1986; FAO, 1981.

- c) Puede encontrarse como aminoácido libre al consumir ciertos alimentos sometidos a la degradación parcial de sus proteínas, así como en la maduración de algunos vegetales como tomate, lentejas, brócoli, champiñones, espárragos, papa, ajo y col (Ninomiya, 1998).
- d) Como aminoácido que conforma parte de las estructuras de las proteínas de la dieta. Según la FAO (1981) el consumo diario de proteínas debe oscilar entre 0,8 a 1 g/kg p.c. Estas proteínas son digeridas hasta liberar aminoácidos, siendo el glutamato y el aspartato los que están en mayor proporción en la mayoría de los alimentos.

En el organismo, el glutamato cumple un rol central en el metabolismo de aminoácidos, y es el único aminoácido sintetizado completamente a partir del ion amonio (NH_4^+) producido por plantas y bacterias mediante aminación del α -cetoglutarato, que convierte el N_2 de su forma inorgánica (ion amonio) a una forma orgánica (α -amino).

El amoníaco (NH_3) y el ion amonio (NH_4^+) son compuestos nitrogenados diferentes pero con grande interrelación. El factor determinante en la proporción de cada una de estas especies en agua es el pH, aunque también tienen influencia, la fuerza iónica y la temperatura. La ecuación química que rige la relación entre amoníaco e ion amonio se presenta a continuación:



Cuando el pH es bajo, el equilibrio de la reacción se desplaza hacia la derecha y cuando el pH es alto, se dirige hacia la izquierda.

Además, el glutamato cumple otras funciones básicas, tales como:

- Ser el único aminoácido en hombres y mamíferos que se desamina a apreciable velocidad.
- Intervenir en la producción de urea en el hígado, cumpliendo varias funciones.
- Ser un participante obligado de las reacciones de transaminación en la síntesis de aminoácidos no esenciales.
- Ser precursor de los aminoácidos no esenciales proteicos: glutamina y prolina; y de los no proteicos ornitina y ácido γ -amino butírico.
- Actuar como verdadero comodín para el intercambio de energía entre los tejidos.

- Ser un verdadero eslabón entre los ciclos de la urea y del ácido cítrico.

Aunque el glutamato se consume como aminoácido presente en las proteínas de muchos alimentos, donde justamente está en mayor cantidad respecto a los otros aminoácidos, el hombre lo sintetiza para poder incorporarlo a numerosos procesos orgánicos. Ejemplo de estos procesos son: la síntesis de proteínas por ser este un aminoácido proteico; el metabolismo anabólico a nivel muscular; el transporte de nitrógeno entre los diferentes órganos y por brindar energía a las células del estómago, intestino, páncreas, bazo, hasta en un 80 a 90%. Además, el glutamato es precursor de otras moléculas de importancia biológica como el glutatión, tripéptido con función antioxidante y transportador de aminoácidos; la prolina, aminoácido relacionado con la formación de colágeno; y el carboxiglutamato, un factor de la coagulación sanguínea.

En las últimas 4 décadas se han escrito tres importantes publicaciones acerca del glutamato: la primera, Filer *et al.* (1979). *Glutamic Acid: Advances in Biochemistry and Physiology*. Esta publicación trata sobre los aspectos sensoriales del ácido glutámico, sus funciones metabólicas en el cuerpo humano, su rol como neurotransmisor en el sistema nervioso central y sobre la seguridad del glutamato como aditivo en los alimentos. La segunda, en 1998, corresponde al *International Symposium on Glutamate* (ISG, 2000), celebrado en Bergamo, Italia con temas del metabolismo del glutamato, componente clave en la economía de la energía y del nitrógeno de algunos órganos, como la placenta, el hígado, el tracto gastrointestinal y el cerebro; también, sobre umami, gusto del glutamato con sus receptores a nivel de la cavidad bucal y su rol como neurotransmisor en el sistema nervioso central. La tercera, Albarracín *et al.* (2016), “*L-Glutamato: un aminoácido clave para las funciones sensoriales y metabólicas*”, con temas de revisión y actualización del glutamato como molécula generadora del gusto umami, su función en el metabolismo celular de los diferentes sistemas y su rol como neurotransmisor.

3. SÍNTESIS DEL GLUTAMATO A PARTIR DEL NITRÓGENO (N₂) DEL MEDIOAMBIENTE

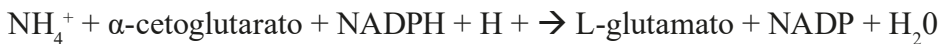
Dentro del estudio del glutamato, cobra especial importancia su síntesis a partir del nitrógeno del ambiente, ya que es el único aminoácido sintetizado completamente a partir del ion amonio producido por plantas y bacterias por aminación del α -cetoglutarato, convirtiendo al nitrógeno (N₂) de su forma inorgánica (ion amonio), a la forma orgánica (α -amino). Para obtener sus proteínas y otros compuestos nitrogenados, hombres y animales deben consumir alimentos

vegetales porque ellos convierten el nitrógeno (N_2) atmosférico en moléculas disponibles para su alimentación.

La fijación del nitrógeno (N_2) atmosférico – sumado al de nitritos y nitratos – es realizada por enzimas nitrogenasas, propias de algunas bacterias del suelo. Ejemplo de estas bacterias son *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Clostridium*, cianobacterias, especialmente aquellas del género *Rhizobium*, que viven en forma simbiótica en raíces de algunos vegetales, como leguminosas tales como frijoles, garbanzos, habas, lentejas, arvejas, trébol, alfalfa, soya; también en cereales como arroz, trigo, maíz, avena, centeno, alforfón, mijo; y algo menos en tubérculos y raíces como papa, camote, yuca; y en pequeñas cantidades en más de 200 vegetales, formando en ellos, ion amonio. Estos vegetales, al ser consumidos directamente por el hombre o indirectamente (a través del consumo de alimentos como carne, huevos, leche, producidos y/o obtenidos de animales que a la vez se alimentaron con dichos vegetales), le proporcionan proteínas.

Enzimas nitrogenasas de las mencionadas bacterias son las que fijan el nitrógeno, transformándolo en ion amonio, que con un α -cetoglutarato por acción de la enzima glutamato deshidrogenasa, utilizando coenzima NADPH, forman glutamato, conforme se aprecia en la siguiente ecuación:

Transformación del ion amonio en glutamato



Si bien el nitrógeno es el elemento más abundante en la naturaleza, es también de los más inertes, por lo que su incorporación a las biomoléculas requiere reducción enzimática de N_2 (nitrógeno) a NH_3 (amoníaco) o NH_4^+ (ion amonio) con un alto costo energético. Se calcula que por cada mol de N_2 reducido a NH_3 , se gastan 16 moles de ATP.

El nitrógeno ambiental, que se presenta como nitrógeno (N_2), nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) es aprovechado por bacterias de los géneros ya mencionados. Estos microorganismos se encuentran generalmente en las raíces de leguminosas y cereales y son capaces de transformar esas moléculas inorgánicas en aminoácidos gracias a un conjunto de enzimas detalladas en la Figura 4.1. Estos aminoácidos forman finalmente proteínas.

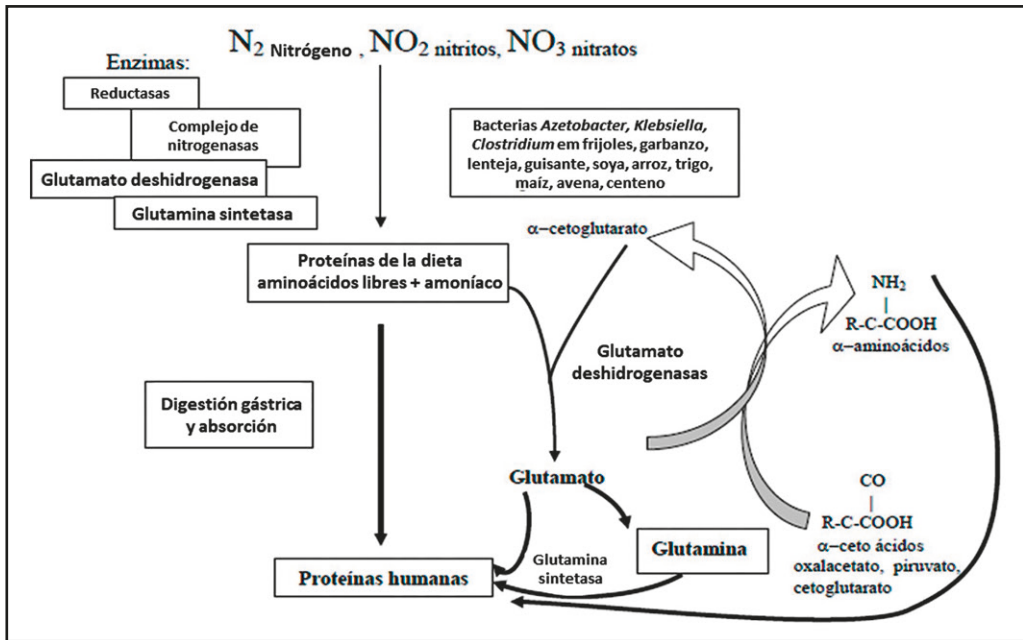


Figura 4.1 – Formación de aminoácidos y proteínas en vegetales a partir de la fijación de nitrógeno ambiental por microorganismos.

Fuente: figura elaborada por los autores.

Todos los microorganismos capaces de convertir el nitrógeno en amoníaco lo hacen a través del complejo enzimático nitrogenasa. Este complejo está formado por dos metaloproteínas, la ferroproteína (Fe-proteína) y la molibdoferroproteína (MoFe-proteína). La conversión de nitrógeno a amoníaco por el complejo enzima nitrogenasa ocurre mediante una sucesión de reacciones de transferencia de electrones (Espinosa, 2017).

Además, la planta proporciona a las bacterias ATP como fuente energética y una fuente reductora con electrones de alto potencial, ferredoxina, producida en los cloroplastos, siguiendo los siguientes pasos:

1. La ferredoxina reducida provee sus electrones al componente hierro-proteína.
2. El ATP se une a la reductasa, luego se hidroliza y la reductasa se disocia.
3. Se produce la fijación del nitrógeno por la nitrogenasa y ocurre su inmediata reducción.
4. Se regenera la ferredoxina por NADH-ferredoxina reductasa o deshidrogenasa pirúvica.

Todos los organismos asimilan amoníaco a través de reacciones que principalmente conducen a glutamato, glutamina y carbamoil fosfato. De estos compuestos, el carbamoil fosfato sirve únicamente para sintetizar arginina, urea y los nucleótidos de pirimidina. Sin embargo, el glutamato y la glutamina se forman con la mayoría del nitrógeno del amoníaco y se derivan de ellos otros compuestos nitrogenados, a través de dos reacciones: la desaminación y la transaminación.

4. METABOLISMO DEL GLUTAMATO A NIVEL HEPÁTICO

Yang & Brunengraber (2000) calificaron al glutamato como “una ventana hacia el metabolismo intermediario”, basados en experimentos con isótopos radiactivos. Este trabajo permitió el buen seguimiento del glutamato desde que ingresó al organismo, como aminoácido libre, liberado por hidrólisis proteica o sintetizado por el propio organismo, según las necesidades fisiológicas. Los resultados señalaron que el glutamato participa en importantes procesos metabólicos en el hígado, tales como:

1. Reacciones de transaminación y desaminación
2. Ciclo de la urea
3. Interviene como un enlace entre los ciclos de Krebs y de la Urea

4.1 Reacciones de transaminación y desaminación

El glutamato sufre degradación oxidativa y entrega el nitrógeno de su α amino por dos vías enzimáticas: la transaminación y la desaminación.

La transaminación consiste en un proceso en el que aminotransferasas, enzimas que actúan en todos los aminoácidos excepto en treonina y lisina, transfieren reversiblemente el grupo α -amino de un aminoácido hacia el grupo carbonilo de uno de los siguientes cetoácidos: cetoglutarato, oxalacetato y piruvato. Los productos de la reacción son el α -cetoácido correspondiente del aminoácido y uno de los tres aminoácidos: glutámico, aspártico y alanina, respectivamente. Por ejemplo, el aminoácido glutamato transfiere su grupo α -amino a un cetoácido como pirúvico y lo transforma en el aminoácido alanina, y queda como α -cetoglutarato (Figura 4.2).

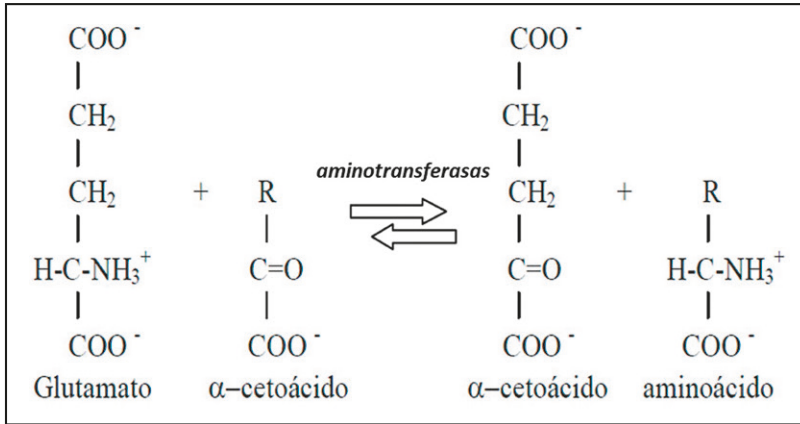
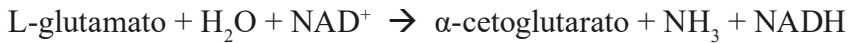


Figura 4.2 – Reacción de transaminación entre un aminoácido y un cetoácido.

Fuente: figura adaptada de Ortiz Ureta, 2012.

Las transaminasas, en su mayoría, requieren al α -cetoglutarato, una molécula del Ciclo de Krebs con 5 carbonos, que recibe el grupo amino transferido. Estas enzimas son específicas para los sustratos donde actúan. En el hombre cobran importancia especial en el suero para fines de diagnóstico, la glutamato oxaloacetato amino transferasa sérica (SGOT) y la glutamato piruvato amino-transferasa sérica (SGPT). Otra transaminasa, la alanina transaminasa, actúa en el músculo, donde el piruvato es transaminado a alanina. Así, se genera una nueva ruta para transportar nitrógeno del músculo al hígado, donde transfiere el ion amonio al α -cetoglutarato y regenera piruvato. El piruvato puede ser direccionado para la vía de la gluconeogénesis. Este proceso es llamado ciclo de la alanina-glucosa.

Para Villavicencio (2007) y Herrera (1993), gracias a las transaminasas, los grupos α -amino de varios aminoácidos se colectan en uno solo, el glutamato. Este aminoácido es el producto final de la mayoría de las transaminaciones. Así, el glutamato sirve de donante específico de grupos aminos para diversas reacciones que los convierten en productos de excreción. En el hombre y demás mamíferos, la liberación de los grupos aminos por los aminoácidos transcurre en el citosol, donde la aspartato transaminasa forma glutamato que ingresa a la mitocondria por transporte específico de la membrana mitocondrial. Posteriormente, el glutamato por desaminación oxidativa, gracias a la glutamato deshidrogenasa que utiliza piridin nucleótidos como coenzimas, es transformado en ácido α -imino glutárico que al hidratarse se transforma en α -cetoglutarico y amoníaco. Este último será la fuente del primer nitrógeno de la urea. La reacción se muestra a continuación:



La desaminación es el proceso en el que el glutamato libera amoníaco, un compuesto tóxico, que finalmente, es transformado en urea, ácido úrico o persiste como amoníaco, según la especie. En hombres y mamíferos ureotéticos (los que eliminan urea), el glutamato por desaminación dona su grupo amino al oxalacetato, molécula de cuatro carbonos, formando aspartato y liberando un átomo de nitrógeno que será el segundo nitrógeno de la urea.

4.2. Ciclo de la Urea

La urea es un compuesto químico nitrogenado no tóxico formado a través del Ciclo de la Urea. Este conjunto de reacciones ocurre, principalmente, en el hígado de donde la urea es transportada por la sangre a los riñones. Ya en los riñones, la sangre es filtrada y la urea es depositada en la orina y excretada posteriormente. El ciclo de la urea fue el primer ciclo metabólico estudiado, en 1932, por Hans Krebs y Kurt Henseleit.

La urea es el producto de desecho que elimina aproximadamente el 95% del nitrógeno sobrante, principalmente de la descomposición de las proteínas del cuerpo y de aquellas ingeridas por intermedio de los alimentos. Existe urea en los excrementos de peces y de otras especies.

Un hombre adulto elimina por la orina de 20 a 28 g de urea por día, la cual se encuentra en menor proporción en sangre, hígado, linfa y en fluidos serosos. La urea se forma a partir del amoníaco que resulta de la desaminación de los aminoácidos formados por la hidrólisis de las proteínas corporales o ingeridas durante la dieta. Los aminoácidos desaminados, libres del grupo amino, quedan en forma de esqueletos de carbono que sirven a las necesidades energéticas del organismo.

El amoníaco, excretado como ion amonio mantiene el pH de la orina entre 4 y 8, y sus concentraciones en el suero normal están en el rango de 20-40 mM. Un incremento del amoníaco circulante a valores cercanos a 400 mM causa alcalosis y toxicidad.

Montgomery *et al.* (1992), Horton *et al.* (1997), Lozano (2001) y Fernández Velasco (2002), coinciden en que la formación de la urea en el hígado ocurre mediante los siguientes pasos (Figura 4.3).

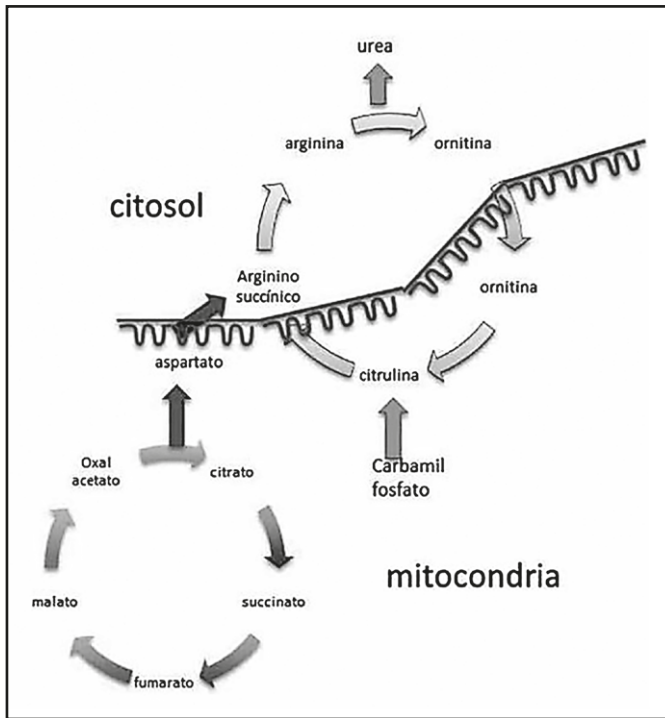


Figura 4.3 – Ciclo de la urea.

Fuente: figura elaborada por los autores.

1. El glutamato libre o el que se forma a partir de otros aminoácidos por transaminación forma amoníaco (fuente de nitrógeno) mediante la reacción de desaminación oxidativa catalizada por la glutamato deshidrogenasa. El amoníaco, altamente tóxico, es conducido desde los diferentes tejidos hasta el hígado a través de la sangre en forma de glutamina, gracias a la acción de la glutamina sintasa. Ya en el hígado, la glutamina es hidrolizada por la glutaminasa liberando amoníaco. La molécula de amoníaco es condensada al CO_2 proveniente del bicarbonato que es producido por la respiración celular, con consumo de 2 ATP. Esta es una reacción esencialmente irreversible catalizada por la carbamoil fosfato sintetasa que lleva a la formación de carbamoil fosfato en la matriz mitocondrial del hepatocito.
2. Formación de citrulina, a partir de la transferencia del grupo carbamoil del carbamoil fosfato a la ornitina mediante una reacción catalizada por la enzima ornitina trans carbamoila. La ornitina es un aminoácido no proteico que se regenera en cada ciclo, una vez liberada la urea.

3. La citrulina, aminoácido no proteico, una vez formado se transporta al citoplasma, donde se condensa con el aspartato, que otorgará el segundo nitrógeno a la urea para formar el arginino succinato. Esta es una reacción reversible catalizada por la arginino succinato sintasa. El aspartato es producido a partir del glutamato por transaminación con oxalacetato mediante la aspartato aminotransferasa.
4. El catabolismo del arginino succinato, por la arginino succinato liasa, libera fumarato y arginina, precursor inmediato de la urea.
5. La arginina se convierte en ornitina y urea, gracias a la arginasa, reacción que ocurre en el citosol del hepatocito. Luego, la urea se difunde o sale del hígado a la sangre y va a los riñones para ser eliminada en la orina. La ornitina vuelve a las mitocondrias para unirse a otro carbamoil fosfato e iniciar un ciclo nuevo de la urea.

Entonces, el ciclo de la urea de manera sintética se puede describir de la manera siguiente:



Como se aprecia en la Figura 4.3, en el ciclo de la urea el glutamato es precursor de los siguientes compuestos:

1. N-acetilglutamato.
2. Ornitina, aminoácido no proteico.
3. Arginina.
4. Ácido aspártico.

4.2.1. Glutamato precursor de N-acetilglutamato

El N-acetil glutamato se sintetiza a partir de glutamato y acetil CoA, que activa alostéricamente a la carbamoil fosfato sintasa I para iniciar el ciclo de la urea. Al aumentar la velocidad de degradación de los aminoácidos por transaminación, aumenta la concentración de glutamato y este estimula la síntesis de N acetil glutamato. El aumento de N acetil glutamato se traduce en un incremento de la velocidad de síntesis de la urea, lo cual requiere a su vez, un aumento en la concentración de amoníaco, según la cinética de Michaelis-Menten.

Nelson & Cox (2021) afirman que el ciclo de la urea se regula por el nivel de carbamoil fosfato sintetasa I, y por la cantidad tanto de las enzimas del ciclo, como de las proteínas de la dieta.

¿Dónde el glutamato sintetiza N-acetilglutamato?

El N-acetilglutamato se sintetiza en la mitocondria del hepatocito. El glutamato libre intramitocondrial y/o el glutamato liberado de la glutamina, gracias a la acción de la glutaminasa hepática, se une con la acetil CoA, sintetizando N-acetilglutamato. Cabe mencionar que la enzima glutaminasa hepática se activa al elevarse la concentración del amoníaco en el hígado.

Berg, *et al.* (2015) observa que la concentración de N-acetilglutamato puede cambiar rápidamente para facilitar el flujo a través del ciclo de la urea. Estas variaciones están reguladas tanto por la arginina que activa la N-acetilglutamato sintetasa, como por el aumento de glutamato a partir de la glutamina al activarse la glutaminasa hepática por su propio producto, el amoníaco.

El N-acetilglutamato y NADPH + H⁺ forman γ -semi-aldehído, a partir del cual se forma directamente la ornitina por transaminación del grupo aldehído. La ornitina participa en el ciclo de la urea dando como productos, la arginina y la urea.

4.2.2. Glutamato precursor de la ornitina, aminoácido no proteico

La ornitina es un aminoácido no proteico de cinco carbonos y es muy importante en el ciclo de la urea por las siguientes razones:

- El primer carbono está unido a un carboxilo y a un grupo amino, seguido de tres metilenos, el último de ellos unido a otro grupo amino.
- Se sintetiza por reducción del grupo γ -carboxilo del glutamato, gastando energía.
- Sufre una descarboxilación para dar 1,4 diaminobutano, que ha recibido el desagradable nombre de putrescina, debido a que se le aisló por primera vez de la carne descompuesta.
- La putrescina es un compuesto muy similar a la cadaverina, producto de la descarboxilación de la lisina y de la histamina, producida a su vez por descarboxilación de la histidina.

¿Cómo el glutamato forma ornitina?

De acuerdo con Jones (1985), un grupo carboxilo del glutamato con el ATP forma acilfosfato que es reducido por el NADPH para formar directamente una estructura que está en equilibrio con la δ pirrolidin-5-carboxilato. Esta molécula dará por reducción una prolina, llamada glutamato γ -semialdehído, que es transaminado para formar ornitina en una reacción catalizada por la ornitina- δ -amino transferasa. Ornitina que en el ciclo de la urea se transformará en arginina.

4.2.3. Glutamato, precursor de la arginina

La arginina es un aminoácido no esencial, importante por las siguientes razones:

- Su estructura lleva en la cadena lateral al grupo guanidina, con tres nitrógenos.
- Permite sintetizar óxido nítrico (NO) gracias a la enzima NO sintasa. Este compuesto se produce en áreas del encéfalo y se le vincula a la función neurotransmisora del glutamato.
- Como precursora de óxido nítrico, poliaminas y otras moléculas de importancia biológica, la arginina desempeña un rol crucial en el metabolismo: es esencial para el desarrollo fetal y neonatal.
- Condicionalmente, la arginina es esencial para los adultos ya que ayuda a mantener la capacidad reproductiva, la función inmune, gastrointestinal, hepática, cardiovascular y pulmonar, así como mejorar los procesos de reparación de tejidos dañados.
- La suplementación con arginina aumenta el peso del timo y de los linfocitos, así como las reacciones de hipersensibilidad retardada. Además, aumenta la capacidad linfoproliferativa de los linfocitos frente a agentes mutagénicos y la actividad de las células *natural killer* (NK).
- La arginina puede sintetizarse *de novo* principalmente en el hígado y en menor proporción en el riñón y en los linfocitos.
- Una dieta sin arginina disminuye la tasa de crecimiento longitudinal, aumenta los niveles de glucagón en sangre e incrementa la degeneración hepática en varios modelos animales.
- Las soluciones de nutrición parenteral exentas de arginina causan hiperamonemia, acidosis metabólica y coma en niños y adultos con función renal normal o alterada.

- Los requerimientos de arginina son altos en condiciones de elevada degradación proteica como sepsis y trauma. Por esta razón, si es necesario, la arginina puede reemplazarse, al menos parcialmente, por ornitina, uno de sus derivados metabólicos.
- Tanto la arginina como la ornitina son precursores de óxido nítrico (NO), el cual participa en las respuestas adaptativas del intestino a factores genéticos y ambientales.
- Mejora la función endotelial, cuyo efecto está mediado por la síntesis de NO catalizada por la enzima NO sintasa y por reacción directa de la arginina con el peróxido de hidrógeno. Consecuentemente, mantener niveles de arginina puede limitar la aterogénesis.
- Actúa activando la síntesis de N-acetilglutamato a partir del glutamato y de la acetil-CoA.

¿Cómo el glutamato genera arginina?

1. El glutamato, al acetilar su grupo α -amino, forma N acetil glutamato como ya se indicó. De esta forma, actúa como precursor del γ -semialdehído del ácido glutámico, responsable porque la reacción de ciclación de la arginina no ocurra.
2. N-acetilglutamato se transforma en ornitina por una fosforilación, una transaminación y una desacetilación. En mamíferos, la conversión de ornitina en arginina ocurre en cantidad insignificante. La causa de este fenómeno es la rápida ruptura de la arginina que ocurre en el ciclo de la urea, donde la arginasa libera ornitina y urea, como afirman Champe *et al.* (2004).

4.3. Transformación de prolina y arginina en glutamato en el hígado

Dos de los tres átomos de nitrógeno (N) del grupo guanidínico de la arginina derivan del ácido glutámico. El tercero tiene su origen en el carbamoil fosfato; por tanto este nitrógeno puede también derivar del glutamato por la acción de la glutamato hidrogenasa o a partir de la glutamina vía glutaminasa. Por esta razón, la carbamoil fosfato resulta ser una molécula importante para la síntesis de la arginina. Las dos enzimas, carbamoil fosfato sintetasa I y carbamoil fosfato sintetasa II, principales catalizadoras de la formación de arginina, se encuentran en el hígado de los mamíferos. De ellas la primera, carbamoil fosfato sintetasa I se haya en la mitocondria del hepatocito y aparentemente no está en otros tejidos. Utiliza únicamente ion amonio como dador de nitrógeno y requiere ácido

N-acetil-L-glutámico como un efector alostérico positivo. Su principal función es proporcionar carbamoil fosfato para la síntesis de la arginina. La regulación por retroalimentación de la síntesis del carbamoil fosfato se efectúa porque la arginina actúa como un efector negativo para la formación del ácido acetil-glutámico y este estimula la formación de carbamoil fosfato. La segunda enzima, carbamoil fosfato sintetasa II, necesita de glutamina como dador de N y es independiente del N-acetilglutamato.

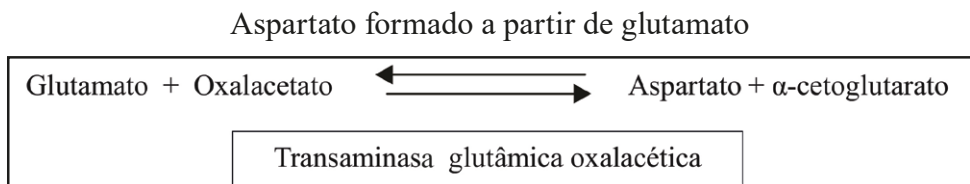
4.3.1. Glutamato, precursor del aminoácido aspártico

White *et al.* (1978) describieron las características del ácido aspártico, las cuales fueron confirmadas posteriormente por Champe *et al.* (2004). Estas características son detalladas a continuación:

- El ácido aspártico, aminoácido no esencial, es monoamino dicarboxílico de 4 carbonos.
- Presenta un grupo carboxilo en un extremo de su cadena lateral.
- Se sintetiza a partir de glutamato por transaminación con el oxalacetato.
- Sintetiza asparagina, su amida, gracias a la asparagina sintetasa.
- Junto a otros aminoácidos actúa como componente de varias proteínas.
- Unido a la citrulina dona el segundo nitrógeno a la urea, vía arginosuccinato y arginina.
- Por transaminación o desaminación por aspartasa, forma fumarato y amoníaco.

¿Cómo se forma el aspartato a partir del glutamato?

El glutamato se une al oxalacetato a través de la reacción catalizada por la transaminasa glutámica oxalacética, formando aspartato y α -cetoglutarato, como se observa a continuación:



El aspartato también se sintetiza a partir de la asparagina por acción de la asparaginasa.

4.4. Glutamato, bisagra entre los Ciclos de Krebs y de la Urea

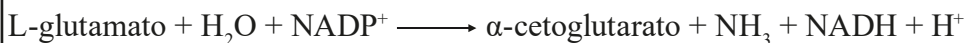
El glutamato actúa como verdadera conexión entre el Ciclo del ácido Cítrico o de Krebs y el Ciclo de la Urea proporcionando energía necesaria para el metabolismo en determinados tejidos.

La función energética que cumple el glutamato, a partir del metabolismo de su esqueleto de carbono luego de trabajar como aminoácido proteico, es la siguiente:

- Sintetizar aminoácidos no esenciales como la glutamina, prolina, aspartato, alanina y arginina.
- Sintetizar aminoácidos no proteicos como la ornitina y la citrulina.
- Sintetizar diversas proteínas, hormonas peptídicas, enzimas, anticuerpos, membranas, al unirse con otros aminoácidos esenciales y no esenciales.

Lógicamente, dicha donación de energía la cumple el glutamato a la luz de los dos procesos bioquímicos -ya detallados- en los que participa activamente: (i) la transaminación, en la que proporciona su grupo amino por acción de la glutamato transaminasa al oxaloacetato del Ciclo de Krebs, convirtiéndolo en aspartato y formando α -cetoglutarato; y (ii) la desaminación oxidativa por acción de la glutamato deshidrogenasa o L-glutamato NAD⁺ óxido-reductasa, empleando NAD⁺ y NADP⁺ como coenzimas. Estas enzimas liberan el grupo amino del glutamato en forma de ion amonio, que iniciará el Ciclo de la Urea al formar carbamoil fosfato y α -cetoglutarato. Este último sigue la ruta del ácido cítrico.

Desaminación oxidativa del glutamato



El glutamato a través de su esqueleto carbonado proporciona energía mediante el Ciclo de Krebs al desaminarse oxidativamente por acción de la glutamato deshidrogenasa, originando α -cetoglutarato que es un intermediario de dicho ciclo. Esta función también la cumplen los otros aminoácidos de cinco carbonos, glutamina, histidina, prolina y arginina, cuando se convierten en glutamato por distintas vías metabólicas.

De otro lado, la glutamina, como se ha visto, forma glutamato al liberar NH₄⁺ por acción de la glutaminasa. Por su parte, la histidina, al igual que el triptófano, no sufre transaminación cuando comienza su degradación. En su lugar, manteniendo su anillo, sufre la acción catalítica de una liasa específica que la fragmenta produciendo ácido urocánico. Este compuesto, en dos pasos siguientes, por

una reducción forma 4 imidazolona-5-propionato. El enlace amida se hidroliza formando ácido N formimino glutámico. Esta es una sustancia útil porque ofrece fragmentos de un carbono activo que transfiere su grupo formimino al tetrahidrofolato, formando 5 formimino tetrahidrofolato y glutamato.

La función energética -ya como glutamato-, se cumple en diferentes tejidos, principalmente en el enterocito y la placenta, como se verá más adelante.

5. METABOLISMO DEL GLUTAMATO A NIVEL RENAL

El riñón de los mamíferos utiliza como combustible para sus diversos procesos metabólicos, los siguientes compuestos:

- a) Ácido graso palmitato, que proporciona del 60 al 80% del combustible;
- b) Metabolito lactato, el segundo donante de combustible ya que, aunque el palmitato frena o inhibe su empleo como energía, no evita su captación por el riñón. Al respecto, el lactato captado por el riñón, en presencia de exceso de palmitato, se transforma en glucosa gracias a la gluconeogénesis;
- c) Glucosa, su empleo es pequeño, solo ayuda en 2 a 6 % del consumo;
- d) Glicerol;
- e) Cuerpos cetónicos, combustible utilizado en ayuno prolongado, inanición y diabetes;
- f) Aminoácidos glutamato y glutamina.

De los combustibles mencionados tiene una especial importancia la glutamina, que es la amida del ácido glutámico. Este es el aminoácido en que se transforma el glutamato para poder transportar el amoníaco tóxico, formado en el metabolismo de las proteínas y así eliminarlo a través del ciclo de la urea. La glutamina es un aminoácido proteico no esencial de gran importancia metabólica, ya que vuelca grupos amino a la circulación sanguínea a más alta velocidad que la asparagina que también tiene dos grupos amino.

Las principales características de la glutamina son las siguientes:

- Es sintetizada en cantidad suficiente para cubrir las necesidades del hombre.
- Es abundante en la sangre, en concentraciones basales alcanza 650 $\mu\text{moles/L}$.
- Es el aminoácido de mayor concentración en el *pool* intracelular.
- Constituye el 61% de los aminoácidos del músculo esquelético.
- Representa la mitad del total de los aminoácidos corporales.

- Regula la homeostasis de aminoácidos, junto a la alanina.
- Transporta más de la mitad del nitrógeno de los aminoácidos circulantes.
- Es consumida ávidamente por células que se replican rápidamente, por ejemplo, los fibroblastos.
- Su esqueleto carbonado ofrece energía al intestino delgado, tal como el glutamato.
- Se libera del músculo esquelético en estado postabsortivo y en procesos de estrés, catabolia, sepsis, estrés quirúrgico o politraumatismo.
- Disminuye la atrofia de las vellosidades y la necrosis intestinal, que podrían conducir a la necesidad de aplicar soporte nutricional.
- En el soporte nutricional enteral, como aminoácido libre, mejora la integridad de la mucosa intestinal y el balance nitrogenado.
- Es precursor de la purina, ya que sus átomos provienen del ácido aspártico y de la glicina.
- Su grupo amida sustituye al grupo pirofosfato unido al C1 del 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP), en una reacción a cargo de la transaminasa glutamina PRPP amidotransferasa. Esta enzima puede ser inhibida por AMP, GMP, IMP, controlándose la velocidad de reacción mediante la concentración intracelular de los sustratos, glutamina y PRPP.
- Es precursor del anillo pirimidina, ya que los átomos de esta molécula provienen de la glutamina y del ácido aspártico, además del CO₂. A diferencia del anillo de purina, el de pirimidina se sintetiza antes de unirse con la ribosa 5-fosfato, donado por el PRPP.

La síntesis de glutamina depende, entonces, en gran medida del glutamato. La Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) en su lista sobre Composición de Aminoácidos y Proteínas de Alimentos - ya mencionada- no considera la presencia de este compuesto en los alimentos. Solamente coloca, junto a los otros aminoácidos, la concentración de glutamato expresada en mg/100g de proteína o de N₂ de los alimentos.

Entonces, ¿Cómo el glutamato sintetiza glutamina?

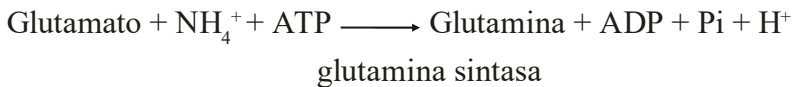
El glutamato es el principal donador de grupos amino en reacciones de transaminación, sintetiza glutamina gracias a la enzima mitocondrial glutamina sintasa. Así, logra fijar el amoníaco -tóxico- generado por la degradación de los aminoácidos provenientes de la digestión de las proteínas de la dieta. De esta

forma se evita que la concentración de amoníaco llegue a niveles apreciables. El amoníaco se produce en los tejidos, de donde pasa rápidamente a la circulación sanguínea en forma de glutamina hasta llegar al hígado para convertirse finalmente en urea.

Entonces, la glutamina sintasa, en alta concentración en el tejido renal, cataliza la síntesis del enlace amida de la glutamina a expensas de la hidrólisis de un equivalente de ATP formando ADP y Pi. Esto hace que la dirección de la reacción, esté fuertemente inclinada hacia la síntesis de la glutamina.

Luego, la reacción de síntesis de glutamina a partir del glutamato catalizada por la glutamina sintasa muestra semejanzas y diferencias con la reacción catalizada por la glutamato deshidrogenasa, enzima que favorece la síntesis del glutamato por desaminación oxidativa. Si bien ambas enzimas fijan un nitrógeno inorgánico, la glutamato deshidrogenasa lo hace para un grupo amino por oxidación de NADPH y la glutamina sintasa para un grupo amida, acompañándose de la hidrólisis del ATP.

Síntesis de glutamina a partir de glutamato



Después, el metabolismo de los aminoácidos a nivel renal, especialmente del glutamato y de la glutamina, se traduce en un incremento de la producción y la excreción del ion amonio (NH_4^+) como respuesta homeostática del riñón a la acidosis metabólica. La formación del amoníaco aparece cuando actúa la enzima glutaminasa (dependiente de fosfato) que se encuentra en la membrana interna o en la matriz mitocondrial y que hidroliza la molécula de glutamina produciendo glutamato y amoníaco. En condiciones de acidosis metabólica, los riñones aumentan la captación de glutamina y el amoníaco producido por acción de la glutaminasa reacciona con átomos de hidrógeno formando el ion amonio que es un compuesto no tóxico y de fácil difusión. Los iones de amonio producidos en los túbulos distales de los mamíferos son entonces excretados directamente, sin necesidad de ir al hígado para la formación de urea.

6. METABOLISMO DEL GLUTAMATO A NIVEL INTESTINAL

Young & Ajami (2000) recopilaron trabajos sobre glutamato, realizados desde hacía más de 50 años. De ellos, destacan especial importancia los

conducidos por Neame & Wiseman (1958), que describen concentraciones de alanina y cetoácidos en sangre mesentérica durante la absorción de ácido glutámico por el intestino delgado de perros, gatos y conejos *in vivo*. Posteriormente, Munro (1979) publica casos en los que se discuten concentraciones de glutamato en sangre y factores que afectan la relación glutamato/glutamina en una dieta suplementada con glutamato. Los trabajos realizados por Windmueller & Spaeth (1975) y Windmueller (1982) sobre el metabolismo intestinal de glutamina, así como los de Battezzati *et al.* (1995), coinciden en que, a nivel del tejido intestinal, ocurre un significativo metabolismo del glutamato y de la glutamina ingeridos a través de los alimentos, lo que confirma que muy poco o nada de glutamato entra en la corriente sanguínea portal o sistémica después del consumo de alimentos.

En otro de los trabajos analizados, Reeds *et al.* (1996) encontraron concentraciones de glutamato relativamente estables en el plasma de cerdos, tanto en periodos de ayuno como de alimentación a lo largo de las 24 h del día. Estos resultados confirmaron que el glutamato es el mayor dador de energía en la mucosa intestinal con una función adicional: sintetizar glutatión. Posteriormente, Reeds *et al.* (1997) reportaron que el glutamato luminal en cerdos bebés, más que la glutamina derivada del glutamato, fue la mejor fuente para sintetizar glutatión en la mucosa intestinal. Dado que el esqueleto carbonado del glutamato es cetoglutarato, intermediario del Ciclo de Krebs, después de la fosforilación oxidativa, brinda energía como ATP, agua y CO₂. Vernon & Ajami (2000) afirmaban que, cualquiera sea su origen, el glutamato ya absorbido inicia su metabolismo en el enterocito, donde de 80 a 90% del glutamato forma α -cetoglutarato por transaminación. El resto, conforma el *pool* de aminoácidos en el que cumple funciones como tal.

Por otro lado, el trabajo de Garattini (2000) trae a la memoria sus conceptos postulados 20 años antes sobre las funciones del glutamato, y resalta que este tiene importancia especial por su rol metabólico energético a nivel enterocitario, así como por participar en la percepción del gusto umami y ser un aditivo alimentario de uso seguro, entre otras ventajas.

Fernstrom (2000) destacó el prolijo estudio de Reeds *et al.* (2000), quienes trabajaron con cerdos. Estos animales, si bien también son mamíferos y tienen metabolismo similar al del hombre, son suficientemente robustos, pueden sobrevivir después de una cirugía y ganar un rápido crecimiento al consumir una dieta basada en todas las proteínas y carbohidratos de la leche. Los resultados de Reeds *et al.* (2000) revelaron que el 95% del glutamato de los alimentos se metaboliza en la mucosa y que, de esta cantidad, el 50% llega a CO₂.

Brosnan *et al.* (2001) reportó que el glutamato, como cosustrato en reacciones de transaminación y desaminación de otros aminoácidos, ofrece esqueleto de carbono para la gluconeogénesis y para generar ATP. Finalmente, los estudios de Nijima (2000) mostraron la relación entre los receptores de la mucosa bucal para el glutamato y sus sensores, posiblemente receptores, como evidencia neurofisiológica de la habilidad del glutamato para estimular los sensores aferentes del nervio vago en el intestino delgado. Dicha estimulación induciría una activación refleja de las fibras aferentes desde el cerebro al páncreas, lo que facilita la digestión, absorción y distribución de nutrientes. Es así como Fernstrom (2000) deja en claro que las proteínas de los alimentos, luego del trabajo de enzimas proteolíticas del estómago, páncreas e intestino delgado, se hidrolizan hasta aminoácidos libres y pequeños péptidos, los que, mediante transportadores específicos en el lumen, son asimilados por el intestino.

Wu (1998), dedicado a estudiar diversos aspectos metabólicos de los aminoácidos citulina, prolina y arginina, encontró que, para el epitelio intestinal, el glutamato y la alanina entérica servían de importante fuente de energía. Sin embargo, poco o nada se sabía de los sitios responsables por la absorción y transporte de los productos de las proteínas de la dieta. Sin embargo, Prezioso & Scalera (1996), en estudios farmacológicos en los que usaron vesículas de membrana con borde en cepillo, sugirieron la localización de un sistema de transporte dependiente de sodio para el L-glutamato en la parte apical de las células, sin poder determinar el lugar exacto en la membrana para el transporte.

7. METABOLISMO DEL GLUTAMATO EN EL TEJIDO MUSCULAR, CONJUNTIVO Y COLÁGENO

Sobre el metabolismo del glutamato, la mayoría de los trabajos se realiza en los tejidos hepático, renal, intestinal y cerebral, siendo pocos en otros tejidos como el tejido muscular y conjuntivo. Por esta razón, la importancia de ser abordados en este capítulo.

7.1. Metabolismo del glutamato en el músculo humano en descanso y en ejercicio

El músculo esquelético constituye la mayor reserva proteica del hombre y de los mamíferos; por ello, también es la principal fuente de energía - no grasosa - almacenada. Ello se evidencia en adultos como una pérdida de masa muscular después del ayuno o una dieta pobre en calorías.

El glutamato es centro de varias reacciones de transaminación que afectan la producción de aspartato, alanina y glutamina, así como el de varios intermediarios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo de Krebs. Por este motivo Mourtzakis & Graham (2002) estudiaron los efectos de dicho aminoácido en el músculo en descanso y durante el ejercicio en sujetos saludables, a los que se les había administrado glutamato monosódico y placebo. Como resultado, se observó elevación de los niveles de glutamato, aspartato, glutamina y taurina del plasma, tanto en descanso como en ejercicio. Sin embargo los niveles del resto de los aminoácidos no sufrieron variaciones. Curiosamente, al llegar al máximo del ejercicio, el glutamato del músculo disminuyó y permaneció así durante el ejercicio, a pesar de su constante ingreso a la circulación sanguínea por ingestión.

- a) En ejercicio: frente al aumento de los niveles de glutamina y alanina en el músculo esquelético, los investigadores sugirieron que el glutamato juega un importante papel en la transferencia de grupos amino y en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos.
- b) En reposo: al no haber cambios en los niveles de alanina ni de amoníaco, se argumentó que al ingerir glutamato, aunque abunda en el *pool* de aminoácidos tanto del músculo activo como del músculo en descanso, se incrementa su disponibilidad. Sin embargo, durante el ejercicio, se altera la distribución de glutamato debido a las reacciones de transaminación dentro del músculo activo, tal como señaló claramente Meister (1990). Esto se traduce en un mayor nivel de alanina y una disminución en el amoníaco.

El trabajo de Mourtzakis & Graham (2002) es de gran interés, ya que el glutamato se ha estudiado más en intestino y en hígado, pero no en músculo. Este trabajo concluye que, aunque el glutamato juega un rol integral en diversos procesos metabólicos, solo las concentraciones de aspartato, taurina, alanina y glutamina en el músculo fueron afectadas por su ingestión. Esos aminoácidos son liberados en cantidades similares durante el ejercicio, pero, al haber una mayor disponibilidad de glutamato desde su administración, se evidencia una elevación de los transportadores para cada uno de ellos, concluyendo que el glutamato y la glutamina son aminoácidos con reacciones muy cercanas durante el ejercicio.

Así, el glutamato desempeña un rol más determinante en el metabolismo de la alanina que en el de la glutamina. La alanina es un aminoácido no esencial,

con estructura formada únicamente por tres carbonos, el carbono alfa carboxilo, un metileno unido a la amina y a un metilo, que es su cadena lateral. Es un aminoácido glucogénico que, al perder su grupo amino, pasa a formar piruvato. En el ciclo glucosa-alanina trabaja como transportador de carbono desde el músculo al hígado para la gluconeogénesis. El glutamato, al ceder su grupo amino al ácido pirúvico – por una reacción de transaminación – contando con la coenzima piridoxal fosfato, forma alanina a partir del piruvato y α -cetoglutarato a partir del glutamato.

El aspartato se incrementa tanto durante el descanso como en el ejercicio al aumentar el glutamato, a niveles que pueden ser atribuidos a la interrelación entre glutamato y aspartato. El continuo incremento de aspartato en el plasma es, probablemente, debido a su disminución en el hígado, así como previamente se sugirió para el glutamato. Como ya descrito en el metabolismo del ciclo de la urea, el glutamato es precursor del aspartato.

Por otro lado, la taurina – aminoácido no proteico – se eleva después de la ingestión del glutamato durante el descanso y mucho más durante el ejercicio, por lo que podría prevenir un incremento de la glucosa durante el ejercicio.

7.2. Glutamato, precursor de prolina, aminoácido no esencial, indispensable como constituyente del colágeno

La prolina es el único de los 20 aminoácidos proteicos, considerado aminoácido no esencial que el hombre sintetiza para conformar la mayor parte de su tejido conjuntivo, el colágeno, incorporando también a otros aminoácidos como la hidroxiprolina, lisina y glicina. El colágeno y la elastina constituyen el 30 y 11%, respectivamente, del tejido conjuntivo, que es el que forma tendones y articulaciones bajo los epitelios.

El glutamato también puede ser utilizado en la célula intestinal para la síntesis de prolina. Primeramente, el glutamato forma γ -semialdehído glutámico que pierde una molécula de agua sin intervención de enzimas y se cicla formando el pirrolín ácido carboxílico. Este compuesto por acción de una NADPH^+H^+ libera NADP^+ oxidado y forma el aminoácido prolina (Figura 4.4).

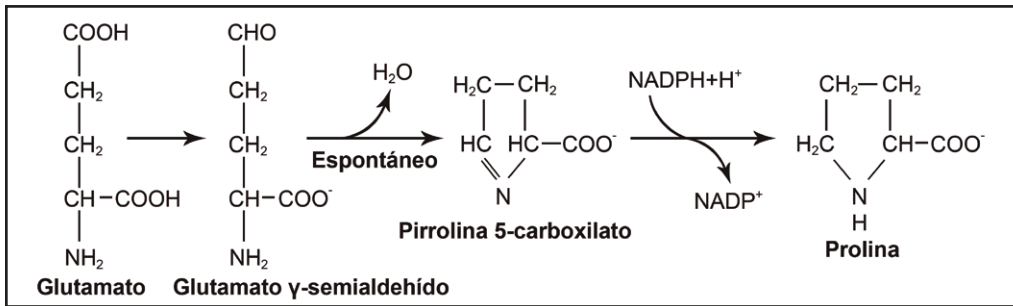


Figura 4.4 – Formación de prolina a partir del glutamato.

Fuente: figura adaptada de Ortiz Ureta, 2012.

Entender la importancia de la prolina lleva a recordar qué es el colágeno, su síntesis y su rol dentro del tejido conjuntivo del hombre.

El colágeno es una molécula proteica que forma fibras flexibles que ofrecen resistencia a la tracción. Están presentes en todos los organismos pluricelulares y son secretadas por las células del tejido conjuntivo, fibroblastos y otros tipos celulares.

El punto de ruptura de las fibras colágenas de los tendones humanos se alcanza con una fuerza de varios cientos de kilogramos por centímetro cuadrado. Al hervir dichas fibras ocurre desnaturalización de las proteínas, traducida en un ablandamiento y facilidad de consumo. Luego, al enfriar, siempre en solución acuosa, se convierte en gelatina.

La síntesis del colágeno se inicia justamente con su proteína precursora llamada tropocolágeno, que mide unos 300 nm de largo y 1,4 nm de diámetro. Esta molécula está formada por tres cadenas polipeptídicas (cadenas alfa), cada una con masa molecular alrededor de 100 000 Da (daltons) que están organizadas en una triple hélice. Las cadenas peptídicas están formadas predominantemente por los aminoácidos, prolina, hidroxiprolina, lisina y glicina, fundamentales en la formación de la superhélice.

Los aminoácidos prolina, glicina y lisina que conforman las cadenas del colágeno, cumplen funciones diferentes:

- Prolina: por su estructura anular rígida, estabiliza la forma helicoidal en cada cadena alfa. Ella interviene en la formación del segmento peptídico de la hidroxiprolina del colágeno.
- Glicina: ocupa un lugar cada tres residuos y se localiza a lo largo de la región central, lo que hace con mucha facilidad por su pequeño tamaño,

favoreciendo el empaquetamiento de las tres cadenas α de la superhélice de colágeno. Así, se forma una triple hélice dextrógira con una distancia de 8,6 nm entre las vueltas, unidas por puentes de hidrógeno que afectan a aproximadamente $2/3$ de cada cadena α .

- c) Lisina: es el único aminoácido esencial del colágeno. Su función es permitir que los tropocolágenos se unan entre sí por enlaces de algunas lisinas, llamadas *crosslinkings* o enlazadoras por cruce. Sobre los residuos de nitrógeno de estas lisinas *crosslinkings* actúa la enzima lisina oxidasa, transformándolas en aldehídos. De esta forma, la lisina pasa a llamarse alisina, capaz de formar uniones covalentes con otras alisinas constituyendo así, las fibrillas de colágeno.

¿Cómo el glutamato genera prolina?

Es un proceso metabólico que tiene los siguientes pasos:

1. El glutamato a través de su grupo carboxilo, con la energía de un ATP, forma δ -glutamilfosfato en reacción catalizada por la γ -glutamil quinasa. Esta enzima es regulada por retroinhibición, a través de los niveles de prolina ya formada.
2. El δ -glutamil fosfato intermediario se reduce a glutamato γ -semialdehído, que puede ser transaminado formando ornitina o prolina.
3. El glutamato γ -semialdehído se cicla automáticamente con pérdida de agua y, sin mediar enzimas, forma δ -1-pirrolina-5-carboxilato.
4. El δ -1-pirrolina-5-carboxilato es reducido por acción de la enzima δ -1-pirrolina-5-carboxilato reductasa, perdiendo su insaturación gracias a $\text{NADPH} + \text{H}^+$ y formando prolina.

El mecanismo de interconversión entre la δ -1-pirrolina-5-carboxilato y la prolina, puede actuar como un mecanismo de lanzadera, transfiriendo equivalentes reductores provenientes de la ruta de las pentosas fosfato en las mitocondrias. La prolina también se sintetiza a partir de la arginina de la dieta, transformándose primero en ornitina por la vía de la arginasa.

Prácticamente todas las proteínas contienen una o más regiones con mayor cantidad de cuatro aminoácidos no esenciales, prolina, glutamato, serina y treonina, designando a cada uno de esos aminoácido con letras, P para prolina, E para glutamato, S para serina y T para treonina. A cada una de esas regiones con solo 12 a 60 residuos de longitud, se les conoce como secuencias PEST. La

prolina es un constituyente de las proteínas con secuencia PEST de vida corta. Según Mathews & Van Holde (2000) la mayoría de las proteínas de vida corta, son aquellas que tienen un tiempo de vida entre 1/2 y 2 h. Estos datos corroboran la revisión sobre biosíntesis de aminoácidos y de sus funciones precursoras realizada por Meister (1990). Nelson & Cox (2021) también reafirman estos resultados. En sus respectivas obras de Bioquímica, los autores enfatizan que dichas proteínas con secuencias PEST se degradan rápidamente. Entre los aminoácidos de la secuencia PEST, la prolina, sintetizada en mamíferos y otros seres vivos, puede convertirse nuevamente en glutamato mediante la inversión de las reacciones de su catabolismo. Así, la prolina se transforma en dehidroxiprolina por acción de la prolina deshidrogenasa que incorpora una molécula de agua dando γ -semialdehído de glutamato. Posteriormente por acción de la glutamato semialdehído deshidrogenasa se forma el glutamato que es utilizado en las células para diversos fines.

8. METABOLISMO DEL GLUTAMATO EN ERITROCITOS Y EN PLASMA

Murray (2000) resume en 11 puntos los aspectos más importantes del metabolismo de los eritrocitos. Los primeros aspectos están todos relacionados con el metabolismo de los carbohidratos: dependen de la glucosa como fuente de energía; la glicólisis, al producir lactato, es la vía de producción de ATP en los eritrocitos. Al no tener mitocondrias, no hay producción de ATP mediante fosforilación oxidativa; tienen transportadores que logran mantener su equilibrio iónico e hídrico, entre otros. Además, el autor resalta que el glutatión reducido (GSH) es muy importante en el metabolismo del eritrocito por su acción contra los peróxidos dañinos. En cuanto al metabolismo de los aminoácidos, solo destaca el hecho de que cuando el eritrocito llega al término de su tiempo de vida, la globina se degrada hasta aminoácidos que son utilizados por el organismo para diferentes fines, el grupo heme se degrada liberando hierro y tetrapirrol que pasa a formar parte de la bilirrubina, la cual será excretada en la bilis.

8.1. Glutamato en sangre, plasma y eritrocitos

La concentración de aminoácidos en la sangre total, eritrocitos y plasma es muy variada en adultos hombres durante las 24 h, después de ingerir una dieta saludable, con una variación rítmica ya observada por Feigin *et al.* (1967). Posteriormente, Feigin *et al.* (1968) identificaron algunos factores que afectaban esa periodicidad circadiana de los aminoácidos estudiados individualmente.

8.1.1. Glutamato en eritrocitos

Sobre la regulación de los niveles de glutamato en los eritrocitos, Stegink *et al.* (1982a), alimentaron adultos con dietas conteniendo altas concentraciones de proteínas, y observaron que la concentración de glutamato en el plasma se incrementaba 1-2 h después de las comidas (almuerzo o cena), con y sin adición de glutamato monosódico (GMS). Esta concentración bajaba notoriamente a lo largo de las 24 h, sugiriendo que el aminoácido se metabolizaba rápidamente.

8.1.2. Glutamato en plasma y en eritrocitos al administrar además del glutamato, el edulcorante aspartame

Extensa bibliografía entre los años 1969 y 1980, evidencia los daños que causa administrar (por vía subcutánea u oral) altas dosis de aminoácidos dicarboxílicos, aspartato y glutamato a roedores neonatos produciendo necrosis neuronal hipotalámica. Dentro de esos trabajos, se destacan: el de Olney (1969) (vía subcutánea) sobre lesiones cerebrales, obesidad y otros disturbios en ratones; y otro de Olney y Ho (1970) en el que señala el daño cerebral en ratones recién nacidos al consumir aspartato o cisteína y glutamato por vía oral. Sin embargo, el daño al cerebro de primates resultó cuestionable. Así lo demostraron Stegink *et al.* (1982b), al adicionar el edulcorante aspartame (dipéptido L aspartil-fenilalanil-metil éster formado por ácido aspártico y fenilalanina, más una molécula de metanol) a comidas que ya tenían considerable cantidad de glutamato monosódico (GMS). Encontraron, lógicamente, la fenilalanina aumentada, pero, en contra de lo esperado, solo observaron un pequeño efecto en las concentraciones de glutamato y de aspartato del plasma, un poco más altas que las observadas en la dieta sin agregar aspartame. Estos resultados evidenciarían el rápido metabolismo de los dos aminoácidos dicarboxílicos en las células intestinales. La respuesta fue razonable, ya que el aspartame es hidrolizado en la mucosa intestinal hasta liberar sus dos aminoácidos aspartato y fenilalanina, más el metanol, y deja abierta la posibilidad de que se produzcan interacciones entre ambos aminoácidos dicarboxílicos.

Tsai & Huang (2000) trabajaron con individuos adultos sanos y administraron una dieta de 1,5 g de proteína y 40 kcal por kg p.c./día. Una semana después, los sujetos recibieron la misma dieta más 100 mg de glutamato kg p.c./día dividido en tres tomas: 15, 40 y 45 mg/kg p.c., en desayuno, almuerzo y cena, respectivamente. Analizando la concentración de aminoácidos en sangre completa, plasma y eritrocitos, los autores observaron una variación circadiana del glutamato en el plasma: altos niveles de glutamato en los

eritrocitos después del almuerzo y cena, con disminución notable en el periodo matutino. Estos resultados demostraron que el glutamato se metabolizaba rápidamente. Aunque no llegaron a definir la función de glutamato intracelular en los eritrocitos, sí observaron que la concentración se modificaba según su presencia en la dieta.

Estudiando las concentraciones de glutamato en eritrocitos, Watford (2002) coincidiendo con los trabajos ya mencionados, argumentó lo siguiente:

- La glutamina es el mayor sustrato para la síntesis de glutamato en el eritrocito. El glutamato que se encuentra en las células en mención se generaría primordialmente por la reacción de la enzima glutamina amino transferasa sobre la amida nitrogenada mencionada inicialmente. Esta reacción fue observada *in vivo* al trabajar con glutamina marcada con N_{15} , que fue introducida a la circulación de una oveja. Los resultados mostraron acumulación intracelular del glutamato marcado. En hombres, el glutamato marcado con N_{15} entró en los eritrocitos muy lentamente, mientras la entrada de glutamina marcada fue mucho más rápida. No se reporta si la infusión de la glutamina marcada generó una elevación intracelular del glutamato marcado.
- La síntesis de glutatión es el mayor destino del metabolismo del glutamato intracelular.
- La mayor cantidad de glutamato que ingresa en la dieta diaria es metabolizada dentro de la mucosa intestinal. Sin embargo, esa cantidad es pequeña en comparación con la cantidad de glutamato necesaria para el metabolismo de síntesis de otros aminoácidos e influye poco en el flujo del glutamato extracelular.
- El glutamato predomina en los eritrocitos de 2 a 4 veces más que en el plasma y juega un rol en el flujo del glutamato interorgánico. Sin embargo, esas concentraciones de glutamato en los eritrocitos no varían en su paso a través de los tejidos.
- La función del glutamato en sangre es desconocida, pero sí se conoce que su concentración depende del glutamato de la dieta. Así, hay dos veces más glutamato en los eritrocitos de ratas adaptadas, por 10 días, a dietas bajas en proteínas (5%), que en aquellas que consumen dietas con suficiente proteína (20%). Igual ocurre en eritrocitos de humanos que reciben alimentación sin proteínas, como ocurre en aquellos con malnutrición energético-proteica y con hipercapnia crónica. En estos individuos,

al igual que lo observado en ratas, existe mayor concentración de glutamato en los eritrocitos.

Basándonos en el esquema de Griffith & Meister (1979), que señala posibles vías del metabolismo del glutamato en los eritrocitos, se observa como el glutamato en la sangre es utilizado para la síntesis de otros aminoácidos y para la síntesis de glutatión. Sea el glutamato directamente obtenido de la dieta o formado por desaminación de la glutamina gracias a la glutaminasa o glutamina amino transferasa (Figura 4.5).

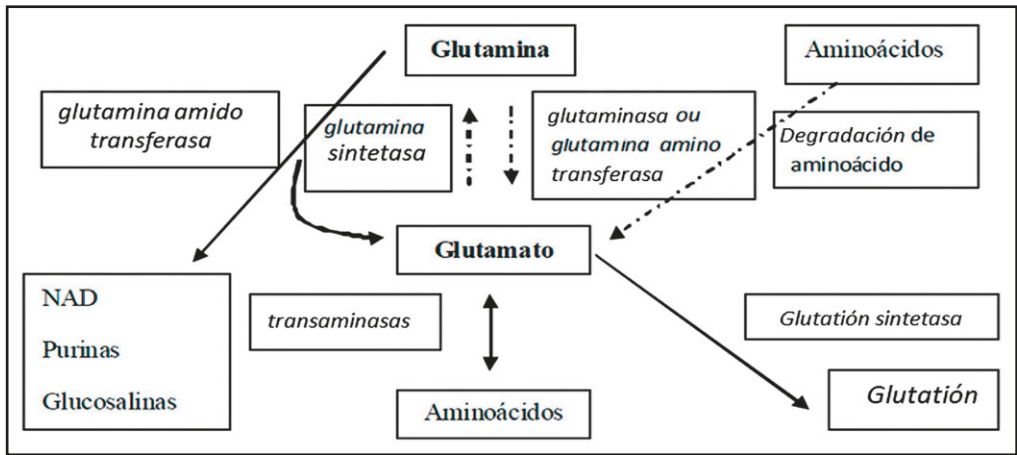


Figura 4.5 – Metabolismo del glutamato en los eritrocitos.

Fuente: figura adaptada de Griffith & Meister, 1979.

8.1.3. Glutamato en plasma, eritrocitos y músculo, en relación a la insulina

Elwyn *et al.* (1972) estudiaron la distribución de glutamato entre eritrocitos y plasma (2-4:1 a favor de los eritrocitos), indicando que los eritrocitos podrían tener un rol especial como transportadores de este aminoácido desde el intestino al hígado y a otros tejidos periféricos. Aoki *et al.* (1972), reportaron que los eritrocitos son importantes además en el transporte de glutamato hacia el músculo.

Divino Filho *et al.* (1997 y 1998) estudiando disturbios del metabolismo proteico, encontraron altos niveles de glutamato en eritrocitos y en plasma, siendo el único aminoácido con correlación inversa entre eritrocitos y músculo. Por ejemplo, al trabajar con pacientes urémicos, detectaron acumulación de glutamato en eritrocitos, sin encontrar un regulador que ocasionara dicho

acúmulo. A la luz de los resultados en ambos trabajos, el glutamato eritrocítico podría ser mejor índice del metabolismo de proteínas que el glutamato en el plasma, concepto que aún no se ha confirmado. Además, encontrar que la concentración del glutamato en eritrocitos -no en plasma- está inversamente relacionada con los niveles de glutamato en músculo de pacientes con hemodiálisis, podría indicar que este aminoácido se acumula en eritrocitos cuando ingresa en baja cantidad al músculo.

8.1.4. Glutamato, en plasma y en eritrocitos relacionado a carbohidratos

Stegink *et al.* (1983), siempre estudiando las concentraciones de glutamato en eritrocitos, observaron un posible efecto de los carbohidratos sobre los niveles de glutamato en estas células y en plasma en humanos que ingieren una gran dosis de glutamato monosódico en agua, 50 mg/kg p.c. El estudio fue realizado midiendo las concentraciones de glutamato y comparándolas con las de una fórmula líquida (policosa o hidrolizado de maíz) en vez de agua.

El glutamato disuelto solo en agua produjo un pico alto en el plasma; en cambio, al agregar carbohidratos a la solución, bajó ese pico. El carbohidrato podría servir como fuente de piruvato para las células mucosas, facilitando la transaminación del glutamato, lo que reduciría su liberación a la circulación periférica. Bajas concentraciones de glutamato en plasma, después de ingerir diversas comidas con glutamato podrían indicar la presencia de carbohidratos. El proceso aumentaría el catabolismo de glutamato en la mucosa y la baja liberación de la glucosa a la circulación periférica. Hay datos consistentes (Windmueller, 1982) que indican que glutamato y glutamina son los sustratos de mayor energía para el intestino.

8.1.5. Glutamato como parte del glutatión

- El glutatión, según Kondo *et al.* (1984), es el tripéptido glutamil-cisteinil-glicina, formado por tres aminoácidos no esenciales: ácido glutámico, glicina y cisteína (Glu-Cys-Gly).
- La molécula del glutatión es nitrogenada y azufrada, es intracelular y es la más común en toda célula viva, de 0,1 a 10 mM, en forma reducida (GSH) y en forma oxidada (GSSG).
- Su grupo tiol (SH) le otorga la estabilidad que le permite cumplir su rol como antioxidante y limpiador biológico (*scavenger*) importante; participa, además, en la regulación de genes y en las reacciones redox.

- En su forma reducida (GSH) actúa como reductor y mantiene en forma reducida los grupos sulfídricos de algunas enzimas.
- Para la biosíntesis del glutatión, el glutamato se condensa con el aminoácido cisteína en una primera reacción catalizada por la enzima γ -glutamil-cisteína sintetasa formando γ -glutamil cisteína. Esta última molécula, en combinación con la glicina, forma el glutatión (reducido) gracias a la glutatión sintetasa. Toda la síntesis ocurre dentro de la célula.
- El glutatión está presente en microorganismos, tejidos animales y vegetales.
- En el hombre, se encuentra en hígado, riñones, pulmones, corazón, intestinos y músculos.
- Dentro de las células, está en las mitocondrias, en el retículo endoplásmico y núcleo de las células. En este último lugar, aumenta su concentración en la apoptosis o muerte celular programada.
- Transporta y almacena la cisteína como γ -glutamil-cisteína en el riñón.
- Estabiliza las membranas de los eritrocitos.
- Participa en la síntesis de DNA y RNA, eicosanoides, leucotrienos y otras biomoléculas.
- Actúa como antioxidante detoxificando xenobióticos electrofílicos como, por ejemplo, al reducir el peróxido (H_2O_2) hasta agua en una simultánea oxidación de glutatión (GSH) a glutatión bisulfito (GSSG).
- Protege estructuras oxigénicas reactivas, presentes en la formación de vitaminas C y E, a partir de sus productos oxidados.
- Participa en la actividad antioxidante del selenio como cofactor de la glutatión peroxidasa y de la piridoxina.
- Su insuficiencia lleva a deterioro de la defensa antioxidante, relacionado a diversas enfermedades. Se asocia al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), hepatitis, cirrosis, diabetes, quemaduras, desnutrición energética proteica.
- Además, es transportador de aminoácidos en varios tipos de células.
- Protege a las células de la radiación y de las toxinas del medioambiente. Es muy clara la formación de un derivado mercaptúrico a partir de un contaminante orgánico muy peligroso como lo es el diclorobenceno. Se inicia con la actuación del glutatión sobre el diclorobenceno por la acción enzimática de la GSH-S-transferasa que permite la eliminación de un HCl, formado por el H del glutatión reducido y un cloro (Cl) del

diclorobenceno. Así, queda el glutatión condensado a la molécula del contaminante justamente en el enlace donde se liberó el cloro (Cl). Luego de la acción de la γ -glutamil transpeptidasa, se separa el glutamato, seguido de una reacción similar que separa a la glicina, De esta forma, queda el anillo unido solo a la cisteína, momento en que por la acción de una N acetilasa, se desprende una CoA generando el ácido mercaptúrico, el cual es no tóxico.

Sobre la función del glutatión como transportador de aminoácidos, Meister (1988) describe en detalle esa función específica, por lo que, desde entonces, el proceso bioquímico es conocido como *Esquema de Alton Meister* (1988 y 1990) (Figura 4.6).

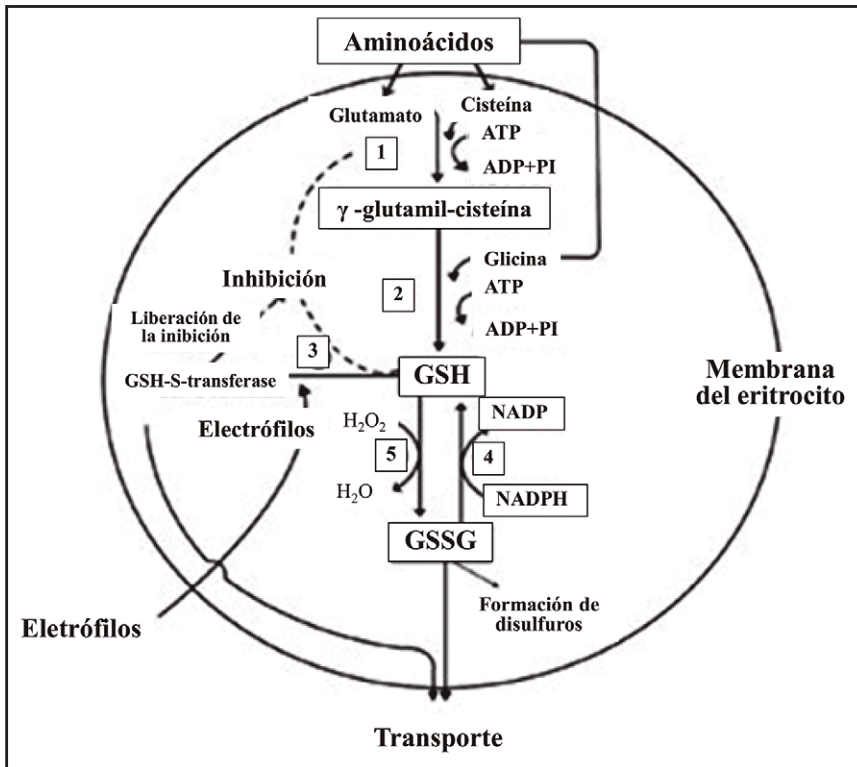


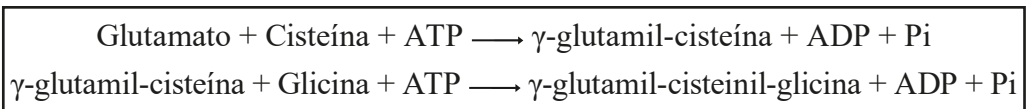
Figura 4.6 – Interrelaciones metabólicas involucradas en la síntesis de glutatión en eritrocitos humanos.

- (1) enzima GC sintetasa; (2) enzima glutatión sintetasa; (3) enzima GSH S-transferasa; (4) enzima glutatión reductasa; (5) enzima glutatión peroxidasa.

Fuente: figura basada en el ciclo γ -glutamilo o *Esquema de Alton Meister*, sobre el transporte de aminoácidos desde el exterior al interior de la célula. Herrera, 1993.

De acuerdo al *Esquema de Alton Meister*, la síntesis de glutatión ocurre cuando el glutamato se une a la cisteína y a la glicina, dentro de la célula, según la siguiente secuencia de pasos:

1. Primero, teniendo ATP como fuente de energía y actuando la enzima γ -glutamil cistenil sintetasa, se forma el dipéptido glutamil-cisteína al unirse el ácido glutámico con la cisteína.
2. Luego, en una segunda reacción por la enzima glutatión sintetasa, el dipéptido glutamil-cisteína adiciona glicina formando el tripéptido γ -glutamyl-cisteinil-glicina o glutatión.



3. Una vez sintetizado el glutatión, se hidroliza o degrada a nivel del γ -glutamyl para recibir un nuevo aminoácido; con él atraviesa la membrana celular, lo libera en el interior de la célula y sale nuevamente a regenerar el tripéptido.

En consecuencia, el transporte de aminoácidos -vía glutamilo- tiene características muy propias:

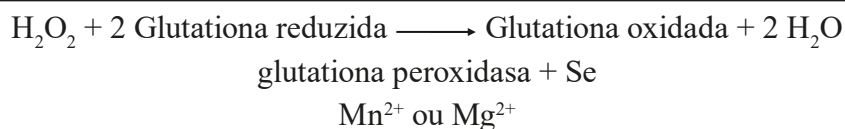
- Es costoso desde el punto de vista energético, debiéndose hidrolizar 3 ATP.
- Ninguna enzima se activa por iones Na^+ , como ocurre en el transporte de aminoácidos.
- Los aminoácidos ingresan a la célula siguiendo una gradiente de Na^+ , luego, esos iones son expulsados de la célula por ATPasa Na^+ , K^+
- La síntesis ocurre por acciones secuenciales de la γ -glutamylcisteína y glutatión sintetasa, en una reacción que es inhibida por retroalimentación del glutatión reducido.
- La interrupción de GSH se inicia por la acción de la γ -glutamyl transpeptidasa, que cataliza la transferencia del grupo γ -glutamyl de glutatión por aceptores aminoácidos, dipéptidos y H_2O .
- De esos aminoácidos, la cisteína es el aceptor más activo. Mientras, la metionina y la glutamina son aceptores menos activos.
- La cisteinil-glicina formada en la reacción de transpeptidación es degradada por la enzima dipeptidasa a glicina y cisteína.

- Los aminoácidos γ -glutamil formados en transpeptidación son sustratos de la γ -glutamil ciclotransferasa, que los convierte en 5-oxoprolina y a ella en glutamato.

9. ACCIÓN ANTIOXIDANTE DEL GLUTATIÓN

Si bien no todos los libros de bioquímica aceptan el transporte de aminoácidos por el glutatión, sí privilegian su función como parte importante del sistema de defensa antioxidante interno del cuerpo. De esta forma apoyan la actividad de las vitaminas antioxidantes C y E, reducen especies reactivas de oxígeno, como el peróxido de hidrógeno, gracias a la enzima glutatión peroxidasa conforme la siguiente reacción:

Enzima glutatión peroxidasa transformando el glutatión reducido en glutatión oxidado:



La reacción anterior requiere de selenio para formar glutatión oxidado que ya no tiene propiedades protectoras. Sin embargo, puede regresar a su forma reducida por la enzima glutatión reductasa, empleando NADPH como fuente de electrones. Los eritrocitos obtienen NADPH a través de la vía de las pentosas fosfato.

Así, el sistema de glutatión peroxidasa/glutatión reductasa se presenta en el organismo como un medio de defensa, combatiendo los intermediarios reactivos del oxígeno, capaces de dañar órganos y tejidos. La glutatión reductasa es una enzima que cataliza la reducción del glutatión oxidado a glutatión reducido el cual será utilizado por la glutatión peroxidasa para la reducción del peróxido y de lipoperóxidos, especies reactivas del oxígeno.

La enzima glutatión peroxidasa juega un importante papel en la defensa antioxidante. Debido a su presencia en los diferentes tejidos y órganos, está involucrada en la fisiopatología de varias enfermedades tales como cáncer, diabetes mellitus, obesidad, úlcera péptica, enfermedad de Parkinson, isquemia y envejecimiento.

Queda claro que la función fundamental del glutatión es proteger a la célula contra la acción de agentes oxidantes endógenos y exógenos, mantener la estabilidad de la membrana, contribuir al mantenimiento de la estructura de la hemoglobina, participar en la síntesis de proteínas en los reticulocitos, así como preservar algunas enzimas y proteínas de la membrana (Tabla 4.2).

Tabla 4.2 – Efectos que se pueden esperar de un suplemento de glutatión.

Previene cataratas	Estabiliza el nivel de azúcar en la sangre
Previene desprendimiento de retina	Protege el sistema digestivo
Previene el cáncer	Mejora el sistema inmunológico
Impide el crecimiento de tumores	Retrasa el proceso de envejecimiento
Desintoxica el hígado	Optimiza el resultado atlético
Desintoxica el sistema linfático	Reduce daño cerebral por embolia
Retira las flemas de los pulmones	Disminuye el nivel de colesterol
Previene enfermedad cardíaca, artritis	Protege los eritrocitos
Previene la diabetes	

El glutatión disminuye con la edad, ejercicio violento y enfermedades como diabetes, fibrosis quística, SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida), cirrosis, infecciones, malnutrición proteica y tratamientos quimioterápicos, entre otros.

En un trabajo de Martínez *et al.* (2006), sobre conceptos actuales del metabolismo del glutatión y la utilización de los isótopos estables para la evaluación de su homeostasis, se reafirma que el transporte estéreo-específico de aminoácidos libres de la dieta y de los liberados en la digestión ocurre, preferentemente, en riñón e intestino. Se detallan a continuación cinco sistemas de transporte para el caso de aminoácidos libres:

1. Aminoácidos de 2 y 3 carbonos, (glicina y alanina) y aminoácidos neutros (valina leucina e isoleucina). Cabe recordar que los dos primeros son neutros también.
2. Aminoácidos aromáticos: triptófano, fenilalanina, tirosina y aminoácidos neutros.
3. Aminoácidos básicos: lisina, arginina e histidina.
4. Aminoácidos neutros y aromáticos
5. Para aminoácidos libres como transporte de dipéptidos o *Esquema de Alton Meister*

9.1. Glutamato como precursor del carboxiglutamato, en la coagulación de la sangre

El γ -carboxiglutamato (GLA) es la estructura que permite la maduración de los factores de coagulación II, VII, IX y X.

¿Cómo el glutamato forma γ -carboxiglutamato?

Champe *et al.* (2004) demostraron cómo residuos de ácido glutámico con CO_2 , O_2 y la forma hidroquinona de la vitamina K forman γ carboxiglutamato (GLA). GLA es una molécula que por estar presente en la protrombina con su acción quelante sobre iones Ca^{++} , forma el complejo protombrina-calcio que se une a las plaquetas. Otros residuos de γ carboxiglutamato se encuentran en otras proteínas como la osteocalcina, sin conocerse el rol que desempeña.

9.2. Glutamato en otros tejidos de importancia

9.2.1. Glutamato en la leche materna

El glutamato, según la Composición de Aminoácidos en los alimentos de la FAO (1981), es el aminoácido libre más abundante de la leche materna humana, 952 mg/g de N, lo que podría indicar que cumple un rol determinante en el desarrollo del intestino del bebé.

Al respecto, Sarwar (1998) recopila trabajos que resaltan el papel del glutamato y de la glutamina en la síntesis de proteínas y de ácidos grasos de la leche de mamíferos. Comprueba la presencia de 1339 – 2157 $\mu\text{mol/L}$ de glutamato libre en la leche humana, algo más que en la leche de elefanta (1332 $\mu\text{mol/L}$), y de yegua (1119 $\mu\text{mol/L}$) y mucho más que en la leche de vaca (349 $\mu\text{mol/L}$). La leche materna humana, rica en glutamato y glutamina, tendría un papel protector frente a enfermedades crónicas como las alergias. Por otro lado, la presencia de otros aminoácidos libres, como treonina y cisteína, participarían en la síntesis de glucoproteínas del moco intestinal, en la síntesis de las proteínas producidas por las células inmunes y en la síntesis de glutatión.

9.2.2 . Glutamato en el hígado fetal y la placenta

Battaglia (2000) estudió el glutamato en la placenta donde, en forma similar a lo que ocurre en el enterocito de un adulto, se utiliza como fuente importante de energía y lo hace en un alto porcentaje (60% de la disposición del glutamato). El hígado del feto es la fuente predominante de glutamato, aunque la placenta puede directamente utilizar glutamato proveniente de la sangre materna. No se conoce por qué los intestinos de los adultos y la placenta consumen grandes cantidades de glutamato para la generación de energía. El grupo amino del glutamato, al sufrir desaminación, forma NH_4^+ quedando su esqueleto carbonado para obtener energía cuando hay déficit. Tanto el transporte como el metabolismo de glutamato y de glutamina durante el desarrollo fetal, de acuerdo con lo estudiado

por Battaglia (2000), presentan las siguientes características que enfatizan la interacción de estos aminoácidos entre la placenta y el hígado fetal:

- La glutamina es enviada a la circulación fetal a mayor velocidad que otros aminoácidos.
- El 45% de carbonos de la glutamina del feto participa en la producción de glutamato; en cambio, solo 6% de carbonos del glutamato es convertido a glutamina en la placenta. Los carbonos restantes del plasma fetal son convertidos en CO₂.
- La cantidad tomada del glutamato disponible en el plasma materno para la placenta es mayor que 60%.
- En contraste, 90% de glutamato en el plasma fetal es excretado por la placenta.
- El metabolismo del glutamato y la glutamina en el feto se ha estudiado poco.

Finalmente, la placenta e intestinos de los adultos utilizan glutamato como importante fuente de energía, hasta en un 60% del glutamato total fetal.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBARRACÍN, S. L. *et al.* “L-Glutamato: un aminoácido clave para las funciones sensoriales y metabólicas”. *Arch Latinoam Nutr.* 66(2): 2016.

AOKI, T. T. *et al.* “Effect of insulin on muscle glutamate uptake. Whole blood versus plasma glutamate analysis”. *J Clin Invest.* 51(11): 2889-2894, 1972.

BATTAGLIA, F. C. “Glutamine and glutamate exchange between the fetal liver and the placenta”. *J Nutr.* 130 (4S Suppl): 974S-977S, 2000.

BATTEZZATI, A.; BRILLON, D.J. & MATTHEWS, D. E. “Oxidation of glutamic acid by the splanchnic bed in humans”. *Am J Physiol.* 269: E269-E276, 1995.

BERG, J. *et al.* *Biochemistry.* 8. ed. New York, Freeman and Company, 2015.

BROSNAN, J. T. *et al.* “Alanine metabolism in the perfused rat liver. Studies with (15)N”. *J Biol Chem.* 276(34): 31876-31882, 2001.

BYRD-BREDBENNER, C. *et al.* *Perspectives in nutrition.* 8. ed. New York, Mc Graw Hill, 2009.

CHAMPE, P.; HARVEY, H. A. & FERRIER, D. S. “Aminoácidos: eliminación del nitrógeno”. In: CHAMPE, P.; HARVEY, H. A. & FERRIER, D. S. *Bioquímica*. 3. ed. México, McGraw-Hill Interamericana, 2004.

CODEX, CODEX ALIMENTARIUS. *Sistema Internacional de Numeração de Aditivos Alimentares. vol. 1A: Sección 5. Aditivos Alimentarios*. Roma, FAO 1999.

DIVINO FILHO, J. C. *et al.* “Free amino-acid levels simultaneously collected in plasma, muscle, and erythrocytes of uraemic patients”. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 12(11): 2339-2348, 1997.

DIVINO FILHO, J. C. *et al.* “Glutamate concentration in plasma, erythrocyte and muscle in relation to plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-1 and insulin in patients on haemodialysis”. *The Journal Of Endocrinology*. 156(3): 519-527, 1998.

ELWYN, D.H. *et al.* “Roles of plasma and erythrocytes in interorgan transport of amino acids in dogs”. *Am J Physiol*. 222(5): 1333-1342, 1972.

ESPINOSA, R. M. M. *Avances en el metabolismo del nitrógeno*. Editorial Club Universitario, San Vicente del Raspeig, Alicante, España, 2017.

FAO, ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. *Contenido en aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre las proteínas. Colección FAO: alimentación y nutrición n. 21*. 3. ed., Roma, 1981.

FEIGIN, R. D.; KLAINER, A. S. & BEISEL, W. R. “Circadian periodicity of blood amino acids in adult man”. *Nature*. 215: 512-514, 1967.

FEIGIN, R. D.; KLAINER, A. S. & BEISEL, W. R. “Factors affecting circadian periodicity of blood amino acids in man”. *Metabolism*. 17(9): 764-775, 1968.

FERNÁNDEZ VELASCO, D. A. “Estructura y propiedades de las proteínas”. In: LAGUNA, J. & PIÑA, E. *Bioquímica de Laguna*. 5. ed. México, Manual Moderno, 2002.

FERNSTROM, J. D. “Pituitary hormone secretion in normal male humans: Acute responses to a large, oral dose of monosodium glutamate”. *J Nutr*. 130(4S Suppl): 1053S-1057S, 2000.

- FILER L. J. *et al.* *Glutamic Acid: advances in biochemistry and physiology*. New York, Raven Press, 1979.
- GARATTINI, S. J. "Glutamic acid, twenty years later". *J Nutr.* 130(4S): 901S–909S, 2000.
- GRIFFITH O. W. & MEISTER, A. "Glutathione: interorgan translocation, turnover, and metabolism". *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76(11): 5606-5610, 1979.
- HERRERA, E. *Elementos de bioquímica*. México, Interamericana McGraw-Hill, 1993.
- HORTON, H. R., *et al.* *Bioquímica*. México, Prentice Hispanoamericana, 1997.
- ISG, INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON GLUTAMATE. *The journal of nutrition: official publication of the american society for nutritional sciences*. October 1998. Bergamo, Rockville Pike, Bethesda, 130 (4 S), 2000.
- JONES, M. E. "Conversion of glutamate to ornithine and proline: pyrroline-5-carboxylate, a possible modulator of arginine requirements". *J Nutr.* 115: 509-515, 1985.
- KONDO, T.; TANIGUCHI, N. & KAWAKAMI, Y. "Significance of glutathione S-conjugate for glutathione metabolism in human erythrocytes". *Eur J Biochem.* 145(1): 131-136, 1984.
- LOZANO, J. *Bioquímica para ciencias de la salud*. 2. ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 2001.
- MARTÍNEZ, S. M. *et al.* "Conceptos actuales del metabolismo del glutatión". *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 40 (1): 45-51, 2006.
- MATAIX, J. & NAVAS, P. "Aminoácidos y otros componentes nitrogenados considerados nutrientes condicionalmente esenciales". In: MATAIX, J. *Nutrición y alimentación humana*, tomo II. Barcelona, Océano/Ergon, 2005.
- MATHEWS, C. K. & VAN HOLDE, K. E. *Metabolismo de los compuestos nitrogenados: principios de la biosíntesis, la utilización y el recambio bioquímica*. 2. ed. Madrid, McGraw-Hill Interamericana, 2000.
- MEISTER, A. "Glutathione metabolism and its selective modification". *J Biol Chem.* 263: 17205-17208, 1988.

- MEISTER, A. "On the transamination of enzymes". *Ann N Y Acad Sci.* 585: 13-31, 1990.
- MONTGOMERY, R.; CONWAY, T. & SPECTOR, A. *Bioquímica, casos y texto.* Madrid, Mosby-Year Book Wolfe Publishing, 1992.
- MOURTZAKIS, M. & GRAHAM, T. E. "Glutamate ingestion and its effects at rest and during exercise in humans". *J Appl Physiol.* 93: 1251-1259, 2002.
- MUNRO, H. N. "Factors in the regulation of glutamate metabolism". In: FILER, L. J. *et al* (ed). *Glutamic acid: advances in biochemistry and physiology.* New York, Raven Press, 1979, pp. 55-68.
- MURRAY, R. K. "Eritrocitos y leucocitos". In: *Bioquímica de Harper.* 16. ed. México, Manual Moderno, 2000.
- NEAME, K. D. & WISEMAN, G. "The alanine and oxo acid concentrations in mesenteric blood during the absorption of L-glutamate acid by the small intestine in dog, cat and rabbit in vivo". *J Physiol.* 140: 148-155, 1958.
- NELSON, D. L. & COX, M. M. *Lehninger Principles of biochemistry.* 8. ed. Worth Publishers, 2021.
- NIIJIMA, A. "Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity". *J Nutr.* 130: 971S-973S, 2000.
- NINOMIYA, K. "Natural occurrence". *Food Rev Int.* 14 (2): 177-211, 1998.
- OLNEY, J. W. "Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate". *Science.* 164: 719-721, 1969.
- OLNEY, J. W. & HO, O. L. "Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartame or cysteine". *Nature.* 277: 609-611, 1970.
- ORTIZ URETA, C. A. *Repasando bioquímica y nutrición.* 2. ed. Lima, Universidad de San Martín de Porres, 2012, p. 536.
- PREZIOSO, G. & SCALERA, V. "Sequential ordered mechanism for the sodium-glutamate transport in intestinal brush border membrane vesicles". *Biochim Biophys Acta.* 1279(2): 144-148, 1996.
- REEDS, P. J. *et al.* "Enteral glutamate is almost completely metabolized in first pass by the gastrointestinal tract of infant pups". *Am J Physiol.* 270: E413-E418, 1996.

REEDS P. J. *et al.* “Enteral glutamate is the preferential precursor for mucosal glutathione synthesis in the piglet”. *Am J Physiol.* 273: E408-E415, 1997.

REEDS, P. J. *et al.* “Intestinal glutamate metabolism”. *J Nutr.* 130: 978S-982S, 2000.

ROSE, W. C. “The nutritive significance of the amino acids”. *Physiol. Rev.* 18:109-136, 1938.

SARWAR, G. *et al.* “Free amino acids in milks of human subjects, other primates and non-primates”. *Brit J Nutr.* 79: 129-31, 1998.

SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY OF JAPAN. *The standard tables of food composition in japan, amino acids.* Tokyo, Printing Bureau, Ministry of Finance, 1986.

STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. “Plasma and erythrocyte amino acid levels in normal adult subjects fed a high protein meal with and without added monosodium glutamate”. *J Nutr.* 112(10): 1953-1960, 1982a.

STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. “Effect of aspartame plus monosodium L-glutamate ingestion on plasma and erythrocyte amino acid levels in normal adult subjects fed a high protein meal”. *Am J Clin Nutr.* 36(6): 1145-1152, 1982b.

STEGINK, L. D.; FILER, L. J. Jr. & BAKER, G. L. “Effect of carbohydrate on plasma and erythrocyte glutamate levels in humans ingesting large doses of monosodium L-glutamate in water”. *Am J Clin Nutr.* 37(6): 961-968, 1983.

TSAI, P. J. & HUANG, P. C. “Circadian variations in plasma and erythrocyte glutamate concentrations in adult men consuming a diet with and without added monosodium glutamate”. *J Nutr.* 130(4S Suppl): 1002S-1004S, 2000.

VERNON, R. Y. & AJAMI, A. M. “Glutamate: An Amino Acid of Particular Distinction”. *J Nutrition.* 130: 892S-900S, 2000.

VILLAVICENCIO, M. *Bioquímica*, tomo II. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2007, p. 410.

WATFORD, M. Net interorgan transport of L-glutamate in rats occurs via the plasma, not via erythrocytes, *The Journal of Nutrition*, 132(5), 952-956, 2002.

WHITE, A. *et al.* *Principles of biochemistry*. 6. ed. Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha, 1978.

WINDMUELLER, H. G. & SPAETH, A. E. "Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood". *Arch Biochem Biophys*. 171: 662-672, 1975.

WINDMUELLER, H. G. "Glutamine utilization by the small intestine". *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*. 53: 201-237, 1982.

WU, G. "Intestinal mucosal amino acid catabolism". *J Nutr*. 128: 1249-1252, 1998.

YANG, D. & BRUNENGRABER, H. "Glutamate, a window on liver intermediary metabolism". *J Nutr*. 130(4S Suppl): 991S-994S, 2000.

YOUNG, V. R. & AJAMI, A. M. "Glutamate: an amino acid of particular distinction". *J Nutr*. 130(4S Suppl): 892S-900S, 2000.

PAPEL NUTRICIONAL DE LOS GLUTAMATOS

Joel Faintuch

1. INTRODUCCIÓN

El glutamato monosódico (GMS) es la sal sódica del ácido glutámico, el cual se libera una vez en el interior del organismo. El ácido glutámico, como la glutamina con la cual está relacionado, es un aminoácido no esencial de cinco carbonos. Se encuentra en las proteínas de la dieta habitual, y en el plasma de niños y adultos, como un integrante del aminograma normal.

El consumo de GMS es, generalmente, voluntario y con fines culinarios, pero, a veces, la ingestión es menos consciente, a través de la ingesta de alimentos industrializados. El ácido glutámico, a su vez, está presente en proteínas animales y vegetales de amplio consumo. Biológicamente, su consumo no es obligatorio, dado que, como otros aminoácidos no esenciales, puede ser sintetizado en el hígado a partir de otras fuentes. No obstante, a lo largo de los últimos 50 años, diversas funciones nutricionales y metabólicas importantes han sido asociadas a este compuesto. En este capítulo todas ellas serán revisadas (Tabla 5.1).

Tabla 5.1 – Principales acciones metabólicas del ácido glutámico y glutamatos

Neoglucogénesis
Síntesis de proteína muscular
Balance ácido-básico renal
Fuente de energía de los enterocitos
Ureogénesis en el hígado
Producción de glutatión
Precusores de arginina (aminoácido inmunomodulador)

2. SÍNTESIS PROTEICA

En las décadas de 1940 y 1950, luego del fin de la Segunda Guerra Mundial, fueron realizadas una serie de investigaciones que llevaron a Rose (Rose, 1968) a avalar una propuesta revolucionaria en 1968. En ella, se postulaba que algunos pocos aminoácidos dietéticos eran imprescindibles y en su conjunto eran probablemente suficientes para garantizar la síntesis proteica corporal. Todos los demás aminoácidos se comportarían como no esenciales (Rose, 1968).

Nacieron entonces los clásicos ocho aminoácidos de Rose, los que, cerca de una década después, sirvieron de sustrato para la “dieta del astronauta”. Esta dieta se metamorfoseó en las modernas mezclas de preparados monoméricos y oligoméricos para apoyo enteral, así como para las soluciones pioneras de nutrición intravenosa, cimientos de la moderna alimentación parenteral (Faintuch, 1976).

En las décadas siguientes, la experiencia demostró que las ideas de Rose fueron realmente notables y valiosas, especialmente para la época en que se realizaron, aunque incompletas. De hecho, el conjunto de aminoácidos prioritarios se enriqueció de varios componentes semiesenciales, condicionalmente esenciales y recomendables para determinadas enfermedades y situaciones clínicas, lo que duplicó, por lo menos, los ocho protagonistas iniciales.

Aún más, ha quedado de manifiesto que todos los aminoácidos no esenciales son, en realidad, deseables para una reposición dietética equilibrada y completa en la mayoría de las circunstancias. Prescindir de ellos, por ejemplo del ácido glutámico y la glutamina, acarrea diversos inconvenientes (Tabla 5.2), y sólo es justificable en determinados casos.

Tabla 5.2 – Ventajas de la oferta de todos los aminoácidos no esenciales.

Perfil más fisiológico de la alimentación
Aminograma plasmático más próximo de la normalidad
Menor costo metabólico para el hígado (desaminación, transaminación, transporte interórganos de nitrógeno)

Se sabe que el hígado está dotado de enzimas como desaminasas, transaminasas y otras capaces de sintetizar todos los aminoácidos no esenciales a partir de los esenciales o de otros sustratos. Sin embargo, no es menos cierto que esto involucra un proceso de consumo de energía que acaba sobrecargando las vías metabólicas celulares. Además, por no ajustarse al patrón normal de ingesta alimentaria, hay que considerar la posibilidad de desequilibrios en las concentraciones de aminoácidos circulantes.

Aunque aparentemente los aminoácidos no esenciales son consumidos mayoritariamente en el intestino, llegando a más del 90% de extracción espláncica de glutamato en algunos modelos, ellos contribuyen decisivamente para el equilibrio del *pool* de aminoácidos y para la fabricación de proteínas en el organismo (Van Goudoever *et al.*, 2006).

Cabe observar que el glutamato está involucrado en el anabolismo nitrogenado muscular y que en enfermos pulmonares crónicos con desnutrición y sarcopenia hay correlación entre la concentración de glutamato sérico y la masa corporal magra (Rutten *et al.*, 2006).

Esas verificaciones son compatibles con datos anteriores del equipo sueco de Wernerman, que muestran que, en voluntarios sanos privados de alimentación, la concentración del glutamato y de algunos otros aminoácidos osciló, y bajó proporcional y significativamente en el interior de la musculatura y retornó en el mismo ritmo cuando se retomó la alimentación (Hammarqvist *et al.*, 2005). Esta constatación se opone a aquellas que plantean que los aminoácidos de cadena ramificada, en la misma situación, se elevan en las células musculares. La justificación sería el flujo de glutamato y glutamina, ya registrado en situaciones de trauma y sepsis, contrastando con el catabolismo sin exportación de los aminoácidos de cadena ramificada, los que, consecuentemente, tenderían a acumularse (Hammarqvist *et al.*, 2005).

3. ABASTECIMIENTO Y REGULACIÓN DEL CICLO DE KREBS

El ciclo de los ácidos tricarboxílicos recibe acetil-CoA derivado de los carbohidratos y de otros esqueletos de carbono, lo que genera CO₂ y energía. Pese a ser teóricamente autoregenerativo, en la práctica, es necesario reponer los intermediarios aceptores de acetil-CoA para el funcionamiento eficiente del ciclo. Las moléculas más apropiadas para esa finalidad, denominadas anapleróticas, son el propio piruvato, glutamina/glutamato y algunos ácidos grasos, aminoácidos, además de cuerpos cetónicos de cinco carbonos. En contraposición existen algunas moléculas capaces de depletar los intermediarios del ciclo y son llamadas de catapleróticas.

Como agente anaplerótico, el glutamato asegura una eficiente oxidación aerobia de la glucosa y la producción de energía por las mitocondrias celulares, optimizando el desempeño celular. Sin embargo, su contribución no se limita a esa esfera. Los intermediarios favorecen la neoglucogénesis a partir de aminoácidos, lactato y piruvato, así como la ureogénesis, fenómenos importantes para la bioquímica corporal.

En el cerebro, el glutamato colabora con la eliminación del exceso de nitrógeno en casos de hiperamonemia. Además, hay indicios de que este aminoácido estaría involucrado en la producción de insulina en las células beta de los islotes pancreáticos.

La cataplerosis, inducida paralelamente a la anaplerosis, no sería una condición totalmente negativa, dado que, concomitantemente, se estimularía la exportación de NADPH y de acetil-coA, intermediarios preciosos para otras reacciones metabólicas. Cabe destacar que las propiedades anapleróticas del glutamato pueden ser propicias para tratar síndromes isquémicos coronarios y otros (Brunengraber & Roe, 2006).

4. FUNCIÓN MITOCONDRIAL

Las mitocondrias son organelos celulares que en el siglo pasado eran consideradas apenas como sede de la oxidación fosforilativa. Su dimensión práctica en nutrición y enfermedades era inexpresiva, salvo raras mitocondriopatías hereditarias. Hoy en día, en los centros de salud, tampoco se investigan o evalúan rutinariamente posibles disfunciones celulares o subcelulares en los pacientes.

No obstante, ha quedado claro que las mitocondrias desencadenan evidentes fenómenos de daño celular, en oposición a su función protectora. Además, regulan el proceso de muerte celular (apoptosis) ante determinados estímulos nocivos.

Pese a los conocimientos aún limitados, los glutamatos no pueden omitirse en los estudios sobre la función mitocondrial considerando que son integrantes de la familia de transportadores mitocondriales (MCF) (Arco & Satrustegui, 2005). Los transportadores mitocondriales clásicos son exclusivamente los metabolitos, nucleótidos y cofactores del ciclo de ácidos tricarbóxicos y de otros ciclos de la respiración celular. Sin embargo, otras moléculas como los glutamatos ejercen un papel auxiliar en esa importante cadena de transporte de electrones y de generación de fosfatos de alta energía.

Informaciones actuales demuestran la disfunción mitocondrial en entidades tan frecuentes y graves como sepsis, enfermedades cardiovasculares, choque séptico, diabetes, hepatopatías, molestias neurodegenerativas, - cuadros isquémicos, hipóxicos y tóxicos (Muravchik & Levy, 2006).

El gatillo de tales trastornos sería una pérdida de eficiencia de la oxidación fosforilativa, llevando a un menor suministro de energía y a un daño, principalmente de las células con requerimientos energéticos elevados. Otra consecuencia, relacionada también al mal desempeño de las enzimas de oxidación celular, sería la acumulación de especies reactivas de oxígeno (radicales libres). Estos radicales libres que ya son formados en mitocondrias sanas, se generarían en mayor cantidad en organelos enfermos. El exceso de esos radicales y su contraparte, el consumo de glutatión intracelular, son mecanismos conocidos por desencadenar la apoptosis o muerte celular.

Frente a tales agresiones, existen reacciones protectoras, principalmente la formación de las proteínas de choque térmico, cuyos papeles citoprotector y antiapoptótico, han sido constantemente valorizados. La hipoxia, las especies reactivas de oxígeno, el choque, las toxinas y las citocinas son todos inductores de proteínas de choque térmico. Sin embargo, el resultado efectivo de estas proteínas puede no ser suficiente para prevenir la muerte mitocondrial (mitoptosis) o celular (apoptosis) (Muravchik & Levy, 2006).

Distintos atributos del glutamato serían útiles en este fenómeno de disfunción mitocondrial, hoy considerado crucial en la sepsis y en el fallo múltiple de órganos (Tabla 5.3).

Tabla 5.3 – Interfaces entre glutamato y función mitocondrial

Mecanismo	Efecto benéfico
Síntesis de glutatión y retirada de radicales libres	Prevención de la mitoptosis y apoptosis
Aumento de la producción de proteínas de choque térmico	Prevención de la mitoptosis y apoptosis
Atenuación de la producción de citocinas	Prevención de la mitoptosis y apoptosis

5. TROFISMO INTESTINAL Y CITOPROTECCIÓN

El intestino es un órgano vital en más de un aspecto. Su capacidad de absorción es única e insustituible, mediada por un intenso trabajo celular que se manifiesta por una constante proliferación, migración, diferenciación y apoptosis. Se estima que en tres días el epitelio intestinal se renueva, un ritmo frenético de intercambio, propio de un órgano de choque, de un verdadero centinela del organismo. La dimensión de este fenómeno es aún mayor de lo que se podría imaginar, si se considera el área de contacto superlativa con el medio exterior, o por lo menos con los alimentos y antígenos deglutidos de ese medio. Estas medidas equivalen al tamaño de una cancha oficial de tenis, cuando se suman las superficies celulares y las subcelulares (borde en cepillo).

No menos decisivo es el trabajo del intestino en cuanto a reconocimiento antigénico y defensa inmunológica en su calidad de mayor estructura inmune del organismo. Uno de los desdoblamientos de esa característica es la interacción con la microbiota bacteriana, estableciendo un equilibrio saludable y sustentable entre actividad comensal y capacidad invasiva y toxigenica de esos microbios.

La premisa subyacente a todos esos rasgos es el trofismo intestinal, en el cual deben ser destacados determinados nutrientes, especialmente la glutamina y el glutamato. De hecho, la glutamina es el principal combustible energético de la mucosa del intestino delgado y el segundo del colon, y el glutamato presenta varias de estas funciones metabólicas. En este sentido, se admite que la mayoría del GMS captado en la alimentación es metabolizado localmente, ejerciendo sus efectos energéticos en el intestino delgado.

Varios protocolos han sido diseñados con el objetivo de investigar acerca del papel intestinal de la glutamina *versus* otros nutrientes potencialmente ventajosos como glutamato, arginina, nucleótidos y otros (Ziegler *et al.*, 2003; Tuhacek *et al.*, 2004). La glutamina ocupa un lugar de honor en todas las circunstancias. Sin embargo, ha quedado bien demostrado que en ausencia de glutamina y siempre que no haya carencia de la enzima glutamina sintetasa, que es un constituyente habitual de la mucosa, el glutamato desempeña un papel tan importante como el de la glutamina (Tabla 5.4).

Tabla 5.4 – Influencia de la glutamina sobre el trofismo intestinal.

Proliferación y diferenciación del epitelio
Producción de glutatión
Elevación del flujo espláncnico
Mayor absorción de los nutrientes intraluminales
Aumento de la defensa inmunológica y menor agresión y translocación bacteriana
Atenuación de las citoquinas proinflamatorias
Mayor producción de proteínas de choque térmico

Fuente: Ziegler *et al.*, 2003.

En modelos experimentales, la oxidación del glutamato en el intestino es superior a la oxidación de la glucosa y a la de la propia glutamina. Llega a representar 95% de la dosis ingerida. Su orientación acentuada hacia la síntesis de glutatión también llama la atención, y sirve también como sustrato para la biosíntesis de arginina y prolina.

Vale resaltar que la síntesis más eficiente de glutatión no se traduce apenas en impacto positivo para el combate sistémico de radicales libres. Ella tiene un papel antagónico a la acción de estos radicales en el epitelio intestinal, abriendo camino a la proliferación e integridad de la mucosa, asegurando aun la fluidez del moco secretado (Ziegler *et al.*, 2003).

6. APOPTOSIS INTESTINAL

La muerte celular programada es un fenómeno absolutamente fisiológico, con duración genéticamente programada para cada tejido, pese a que en muchos casos exprese las consecuencias de lesiones patológicas. En condiciones fisiológicas, representa una herramienta reguladora para la supresión de células infectadas, defectuosas o envejecidas. Su aumento puede configurar una pérdida de la viabilidad del tejido. Esto sucede también en las transformaciones malignas, como una tentativa de eliminar esos elementos indeseables.

Durante mucho tiempo, la apoptosis intestinal fue considerada como un fenómeno eminentemente del núcleo celular. En este caso, enzimas intestinales que digieren DNA, las enzimas nucleasas, previamente activadas por enzimas proteolíticas denominadas caspasas, darían inicio a la fragmentación de los cromosomas y enseguida al colapso y destrucción de toda la célula. Hoy se sabe que las mitocondrias están profundamente asociadas a este fenómeno.

La glutamina retarda la apoptosis en la mucosa intestinal. Esto se ha determinado repetidamente en contextos de ataque de la mucosa por citocinas y otros agentes (Ziegler *et al.*, 2003; Neu & Li, 2007; Evans *et al.*, 2005), con lo que se ha comprobado un desempeño positivo en lo referido a la regeneración de las células damnificadas.

7. SEPSIS

La sepsis es una entidad frecuente y multivariada en la cual se pueden reconocer diferentes agentes agresivos y mecanismos fisiopatológicos por ejemplo, las disfunciones de la oxidación celular, del flujo de aminoácidos y del *turnover* proteico. Estos factores comprometen tanto la síntesis como la degradación nitrogenada. También se ha registrado disfunción mitocondrial.

El glutamato, la taurina y el aspartato presentaron reducción sincrónica en el plasma de pacientes con trauma y sepsis, aunque no en el interior de los neutrófilos. Una de las justificaciones sería el consumo de glutamato para la síntesis de taurina, así como para atender necesidades oxidativas, prioritarias para la defensa antibacteriana en este contexto (Engel *et al.*, 2006).

8. CORAZÓN ISQUÉMICO

Tanto el glutamato como la glutamina son benéficos para la función cardiaca y para las condiciones hemodinámicas después del estrés de la isquemia y reperfusión, tal como sucede en las coronariopatías isquémicas, intervenciones quirúrgicas e infarto del miocardio (Stottrup *et al.*, 2006). El efecto cardioprotector se acompaña experimentalmente mediante la elevación del glucógeno en el miocardio.

Tales hallazgos se asocian con efectos antiisquémicos del glutamato en pacientes sometidos a cirugía de revascularización miocárdica. Efectos iguales o superiores se han observado con la glutamina, siendo que la vía de acción postulada es la mejoría del metabolismo de los carbohidratos con disponibilidad y captación de la glucosa más eficientes (Svedjeholm *et al.*, 1996; Kristiansen *et al.*, 2003).

Aun en dosis suprafisiológicas, el glutamato y la glutamina no se muestran cardiotoxicos, y contribuyen a una evolución positiva a través de diversos mecanismos posibles (Tabla 5.5).

Tabla 5.5 – Respuestas metabólicas potencialmente cardioprotectoras.

Refuerzo al ciclo de Krebs (anaplerosis)
Aporte de glutamato y piruvato para formación de α -cetoglutarato y alanina
Mejor uso de la glucosa
Reoxidación de la adenina dinucleótido (NAD) por vía del malatoaspartato
Protección contra acúmulo de especies reactivas de oxígeno
Aumento de la síntesis de glucógeno cardiaco

Fuente: Stottrup *et al.*, 2006.

9. CEREBRO

Desde la década del 1950, se sospechaba que el glutamato actuaba como neurotransmisor; sin embargo, solamente en la década de años 1980 (Fonnum, 1984) quedó demostrado que era el principal neurotransmisor excitatorio. Al mismo tiempo, este compuesto se ha configurado como precursor del ácido gamma-aminobutírico (GABA), un importante neurotransmisor inhibitorio.

No obstante, sus efectos no se limitan a la mediación del impulso nervioso y a la modulación de las actividades cerebrales, aunque esas sean actividades de elevada jerarquía. Como medida de su importancia, se sabe que la biosíntesis *de novo* del glutamato cerebral (Figura 5.1) justifica cerca de 20% de los requerimientos calóricos del sistema nervioso central.

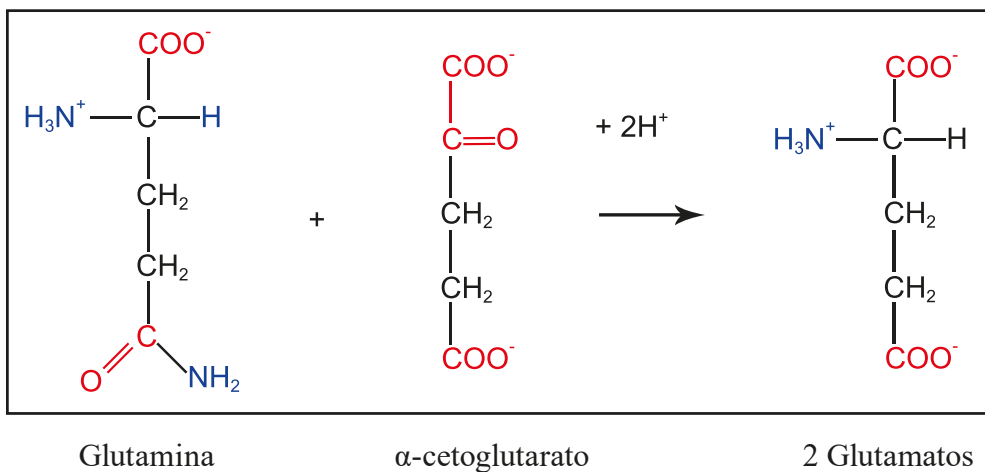


Figura 5.1 – Síntesis del glutamato a partir del α -cetoglutarato.

Fuente: figura elaborada por los autores.

10. APRENDIZAJE

El fenómeno de fijación a largo plazo de informaciones absorbidas por el sistema nervioso está fuertemente subordinado al glutamato. Esta es la base del proceso de aprendizaje que depende de energía y de una intensa síntesis proteica. Estudios experimentales en animales, dado que investigaciones de esta naturaleza en humanos son inviables y antiéticas, indican que ocurre liberación de glutamato, tanto en la etapa de entrenamiento como en los periodos subsecuentes de perpetuación del mensaje (Hertz, 2006).

11. NEUROTRANSMISIÓN

El glutamato y la glutamina ejercen numerosas funciones en el cerebro, sea de estimulación, de depresión (a través del GABA), de transmisión y regulación de los impulsos nerviosos. Estas funciones son mediadas tanto por transportadores vesiculares especializados en los astrocitos, como por la liberación en el modelo de neurotransmisores comunes, o incluso por interferencia en diversos otros procesos. De esta forma, en paralelo al desempeño típico de neurotransmisor por parte del glutamato y del GABA, otros impactos regulatorios sobre la fisiología del sistema nervioso central los convierten en piezas centrales para ese compartimento (Hertz, 2006; Waagepetersen *et al.*, 2005).

12. NEUROTROFISMO

El fenómeno de la neurogénesis asume gran importancia no solo en los estadios embrionarios de la evolución, sino que también prosigue en la edad adulta. De hecho, en los adultos se observan células-madre neurales en las zonas subventricular y subgranular del giro dentado del hipocampo entre otras regiones (Schlett, 2006), capaces de diferenciarse en neuronas de naturaleza variada. Frente a estímulos nosológicos, isquémicos o traumáticos como los accidentes vasculares cerebrales, epilepsia y otras agresiones, existe el potencial de regeneración de los tejidos a partir de tales matrices. Sin embargo, aún se conoce poco a respecto de los mecanismos involucrados o cómo influenciarlos.

Uno de los avances recientes se refiere al glutamato. Células embrionarias neurales están rodeadas de altas concentraciones de ese aminoácido en el medio extracelular. Mediante un estímulo no sináptico, el glutamato parece interferir en la división de esas células progenitoras, ya sea a través de la activación de receptores glutamatérgicos ionotrópicos o metabotrópicos, o modulando la acción de células vecinas y también de distintos estímulos neurales.

Estos descubrimientos abren perspectivas promisorias para la manipulación del glutamato cerebral en situaciones de enfermedad o lesión en las cuales la restauración de la integridad tisular se revele prioritaria (Schlett, 2006).

13. NEOGLUCOGÉNESIS

En el hígado, el glutamato, como algunos otros aminoácidos glucogénicos, se convierte fácilmente en glucosa a través de la neoglucogénesis. Aunque til-dada de potencialmente nociva en los pacientes sépticos y traumatizados, por depletar las proteínas corporales, la neoglucogénesis es, en realidad, un proceso fisiológico ventajoso y esencial para la vida, y se vuelve nocivo solo cuando es inapropiado o exacerbado.

De hecho, el patrón de alimentación de los humanos sanos, como en los otros animales, no es ni debería ser continuo. En este sentido, son inevitables las oscilaciones en el aporte de carbohidratos y en la tasa de glucemia, fenómeno que podría amenazar la función de órganos sensibles dependientes de un flujo continuo de glucosa, en particular, el sistema nervioso central y periférico.

La neoglucogénesis asegura el mantenimiento de una glucemia estable en el periodo interdigestivo y, en especial, en el posabsortivo o nocturno, cuando típicamente el organismo permanece 12 h sin aporte energético. Gracias a los sistemas enzimáticos especializados de la glándula hepática, como el ciclo de Cori y otros, hay una eficiente generación de glucosa endógena para atender las exigencias energéticas de órganos consumidores exclusivos, así como para la prevención de la cetoacidosis del ayuno.

14. BIOSÍNTESIS DE MACROMOLÉCULAS

La glucosa es indispensable también para la síntesis de fosfatos de alta energía, almacenadores de fuerza motriz y del desempeño químico celular (ATP, NADPH), participando aun de la síntesis de macromoléculas como fosfolípidos y ácidos nucleicos (DNA, RNA). Mediante la neoglucogénesis, el glutamato previene posibles interrupciones del proceso.

14.1. Interacciones entre glutamato y glutamina

La glutamina es el aminoácido más abundante en los fluidos extracelulares, con concentración plasmática del orden de 0,7 mMol/L, mientras que el ácido glutámico está débilmente representado, en proporción, decenas de veces menor (20 μMol/L). En el interior de las células, gracias a la ubicuidad de la enzima

glutaminasa, gran parte de la glutamina es convertida en glutamato, el cual constituye el aminoácido intracelular más común (2-20 mMol/L).

Se sabe que el glutamato no penetra fácilmente en el espacio intracelular, debido a su carga eléctrica fuertemente negativa y a la dificultad de transporte transmembrana. La captación ocurriría directamente para el encéfalo a nivel de la barrera hematoencefálica, gracias a la existencia de receptores específicos glutaminérgicos, pero de forma estrictamente regulada y controlada.

A pesar de las dificultades de internalización del glutamato, existen evidencias clínicas compatibles con un papel importante de esta molécula en varios contextos. En niños y adultos, el glutamato puede ser direccionado para la síntesis de glutamina (Figura 5.2), especialmente si, simultáneamente, son administrados precursores de carbono, como el α -cetoglutarato y otros aminoácidos. (Parimi & Kalhan, 2007).

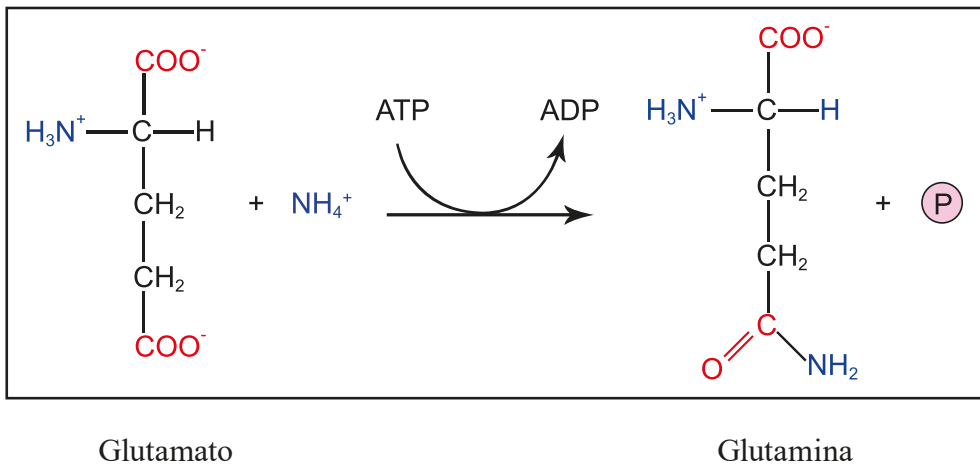


Figura 5.2 – Síntesis de la glutamina a partir del glutamato

Fuente: figura elaborada por los autores.

Revisiones sistemáticas y meta-análisis han consolidado el papel de la glutamina como nutriente trófico intestinal en la prevención de la translocación bacteriana, como inmunoestimulador en la sepsis, trauma y perioperatorio, así como en la estimulación de la síntesis proteica.

Cabe destacar que, semejante a la glutamina, se registran diferencias en los efectos de esos aminoácidos conforme la vía de administración, sea oral o parenteral. El impacto es más significativo sobre el epitelio intestinal y tiene repercusiones sistémicas menos evidentes en el caso de la vía oral, *versus* un

perfil opuesto en el caso de la vía parenteral. Esto se debe a la compartimentalización de la fisiología de estos aminoácidos, con destinos preferenciales, o para el segmento espláncnico, o para la gran circulación (Parimi & Kalhan, 2007).

15. COMBATE A LOS RADICALES LIBRES

El glutatión (GSH) es el principal antioxidante del medio intracelular y el “tiol” de baja masa molecular más abundante en el organismo. Desempeña tareas cruciales en la defensa antioxidante. Los “tioles”, como se sabe, son compuestos sulfurados dotados del radical –SH que tienen gran eficiencia en la captura de especies de oxígeno y otros agentes oxidantes. El glutatión es aún más relevante por formar un sistema reversible dinámico GSH/GSSG (glutatión reducido/glutatión oxidado), sujeto a consumo y regeneración, dependiendo de las fluctuaciones y de las demandas del metabolismo.

Químicamente, el glutatión es un tripéptido (γ -glutamil-cisteinil-glicina) construido, como el nombre lo indica, por glutamato, cisteína y glicina. De los tres aminoácidos referidos, el más limitante suele ser la cisteína. Sin embargo, el glutamato merece destaque también y su administración es útil para la síntesis del glutatión. En efecto, se propone la obtención de este beneficio a través de reposiciones habituales de ácido glutámico y de glutamato, dentro de los patrones de ingesta habituales.

En ratas, el glutamato monosódico, en dosis macizas, superiores a las observadas en el consumo humano, ha sido asociado paradójicamente con un aumento del estrés oxidativo, posiblemente por elevar de forma acentuada la ingesta alimentar, induciendo algunos componentes del síndrome metabólico, inclusive con anormalidades en las enzimas hepáticas. La adición de fibras neutraliza tal efecto, reforzando la hipótesis de que este constituye una respuesta aberrante debido al consumo dietético no fisiológico y mal balanceado de GMS (Farombi & Onyema, 2006; Diniz *et al.*, 2005). Esa complicación nunca ha sido registrada en humanos.

16. EJE ENTERO-CEREBRAL

Es ampliamente conocido que después de una abundante comida se siente somnolencia y menor disposición para cualquier trabajo, sea físico o intelectual. De igual forma, el hambre conduce a cierto grado de agitación y ansiedad, que afecta también la capacidad psicomotora. Sin embargo, estos puentes entre el tubo digestivo y la actividad del sistema nervioso central siempre fueron

considerados indirectos, subordinados a la tasa de glucemia o a la subida del pH arterial después del almuerzo (alcalosis posprandial).

Investigaciones recientes indican la existencia de receptores de sabor en el tracto gastrointestinal, incluso para el glutamato. El hallazgo contradice el precepto de que la gastronomía es un fenómeno estrictamente bucal, pues una vez traspuesta la faringe no hay diferencias entre los sabores de los alimentos. También se ha demostrado que la ingesta de GMS estimula localmente neuronas entéricas, que a través del nervio vago alcanzan y activan distintas áreas del córtex cerebral y los núcleos de la base.

Está claro que el cerebro monitorea todo lo que transita por las vísceras. Aún más, el glutamato es un señalizador fisiológico de este eje, posiblemente involucrado en la regulación energética, dada la presencia de receptores específicos y de vías de transmisión elaboradas para su señal (Kondoh *et al.*, 2009).

17. INTERFACE CON MEDIADORES BIOLÓGICOS GASEOSOS

En la década de 1980, fueron descubiertas las funciones del óxido nítrico (NO) en el organismo, un gas producido por determinadas células, que promovía efectos fisiológicos potentes en otras células, principalmente la relajación del endotelio y la vasodilatación (Ignarro & Gruetter, 1980; Ignarro *et al.*, 1980; Furchgott & Zawadzki, 1980). Este mediador inusitado causó gran sensación y fue citado en 1992 por la revista *Science* como la molécula del año (Koshland, 1992). En la actualidad, diversos otros gases con características comparables han sido mapeados, pero actuando en otros territorios y funciones, en especial el sulfuro de hidrógeno (H₂S) y el monóxido de carbono (CO).

El denominador común de esta familia de mediadores gaseosos es su producción a partir de diversos aminoácidos de la dieta, uno de los cuales es el glutamato. Su espectro de acción es amplio: vasodilatación, relajación de la musculatura lisa, regulación hemodinámica, neurotransmisión, citoprotección y estimulación inmunológica. Se añade así otra confirmación al papel de los aminoácidos de la alimentación y del glutamato, no solamente en el estado nutricional sino también en el desempeño de las células y funciones relevantes (Wu, 2010).

18. REGULACIÓN DEL APETITO Y BALANCE ENERGÉTICO

Uno de los temas recurrentes en el uso dietético del glutamato monosódico es su impacto sobre el consumo calórico. Si el mayor placer en la alimentación

es un objetivo racional y deseable, la hiperfagia podría ser una repercusión adversa. Tal hipótesis ya fue abordada en la literatura especializada.

Investigaciones indican la gran seguridad en el uso de GMS en distintos contextos. Tomoe *et al.* (2009) agregaron 0,5% de GMS a la dieta patrón de personas mayores en instituciones de abrigo, durante un periodo de tres meses. No hubo modificación de la ingesta de calorías ni de proteínas; no obstante, la conducta de los comensales cuando sentados a la mesa fue más dinámica y positiva. Fue interesante registrar que, aun sin aumento significativo en el balance calórico-proteico, uno de los marcadores nutricionales relacionados con la albúmina se elevó, indicando un pequeño beneficio nutricional.

El estudio de Carter *et al.* (2011), de corto plazo, sigue la misma línea y complementa los resultados anteriores. Mujeres jóvenes y sanas fueron sometidas a cuatro sesiones dietéticas en las cuales se les ofrecieron cuatro preparados de caldo de carne. Dos de ellos estaban enriquecidos con GMS, en la dosis máxima de 2,4 g/día. Nuevamente el impacto sobre el total de calorías y proteínas de las participantes fue neutro. No obstante, se demostró que, en el intervalo entre las comidas, las mujeres del grupo del GMS sentían menos hambre o deseos de pellizcar (comer un poco) que las de los demás grupos, lo que confirmó la mayor satisfacción con el caldo utilizado, sin cualquier ruptura del equilibrio energético.

19. CONSIDERACIONES FINALES

Los glutamatos son componentes naturales, sanos y valiosos de la alimentación, además de tener propiedades nutricionales no esenciales. Tienen gran importancia para la síntesis proteica, y actúan como señalizadores y mediadores de gran número de transformaciones metabólicas, algunas de inusitada relevancia. La seguridad, e incluso la conveniencia de su consumo, tienen el aval de numerosos estudios. Su uso es discutido, eventualmente, con relación al empleo en dosis aberrantes, suprafisiológicas y capaces de comprometer acentuadamente el aminograma plasmático. Tales dosis se revelarían, además, potencialmente nocivas para virtualmente todo y cualquier nutriente, sea aminoácido o de otra naturaleza.

Newsholme *et al.* (2003) juzgan a la glutamina y al glutamato tan básicos y convenientes para múltiples órganos y sistemas que, en su enfoque, solo la glucosa ocupa una posición fisiológica tan central.

20. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCO, A. D. & SATRUSTEGUI, J. “New mitochondrial carriers: an overview”. *Cell Mol Life Sci.* 62: 2204-2227, 2005.

BRUNENGRABER, H. & ROE, C. R. “Anaplerotic molecules: current and future”. *J Inherit Metab Dis.* 29: 327-331, 2006.

CARTER, B. E. *et al.* “Supplementing chicken broth with monosodium glutamate reduces hunger and desire to snack but does not affect energy intake in women”. *Br J Nutr.* 106: 1441-1448, 2011.

DINIZ, Y. S. *et al.* “Monosodium glutamate in standard and high-fiber diets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats”. *Nutrition.* 21: 49-55, 2005.

ENGEL, J. M. *et al.* “Relationship of taurine and other amino acids in plasma and in neutrophils of septic trauma patients”. *Amino Acids.* 30: 87-94, 2006.

EVANS, M. E.; JONES, D. P. & ZIEGLER, T. R. “Glutamine inhibits cytokine-induced apoptosis in human colonic epithelial cells via the pyrimidine pathway”. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 289: G388-396, 2005.

FAINTUCH, J. “Bases para a utilização parenteral de aminoácidos”. *In:* FAINTUCH, J. *et al.* *Alimentação parenteral prolongada.* São Paulo, Manole, 1976, pp. 43-57.

FAROMBI, E. O. & ONYEMA, O. O. “Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin”. *Hum Exp Toxicol.* 25: 251-259, 2006.

FONNUM, F. “Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain”. *J Neurochem.* 42: 1-11, 1984.

FURCHGOTT, R. F. & ZAWADZKI, J. V. “The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine”. *Nature* 288: 373-376, 1980.

HAMMARQVIST, F. *et al.* “Free amino acid and glutathione concentrations in muscle during short-term starvation and refeeding”. *Clin Nutr.* 24: 236-243, 2005.

HERTZ, L. “Glutamate, a neurotransmitter-and so much more. A synopsis of Wierzbica III”. *Neurochem Int.* 48:416-425, 2006.

IGNARRO, L. J. & GRUETTER, C.A. "Requirement of thiols for activation of coronary arterial guanylyl cyclase by glyceryl trinitrate and sodium nitrite: possible involvement of S-nitrosothiols". *Biochim Biophys Acta* 631: 221–231, 1980.

IGNARRO, L. J. *et al.* "Guanylyl cyclase activation by nitroprusside and nitrosoguanidine is related to formation of S-nitrosothiol intermediates". *Biochem Biophys Res Commun* 94: 93–100, 1980.

KONDOH, T.; MALICK, H. N. & TORII, K. "Activation of the gut-brain axis by dietary glutamate and physiologic significance in energy homeostasis". *Am J Clin Nutr.* 90: 832S-837S, 2009.

KOSHLAND, D. E. "The molecule of the year". *Science.* 258: 1861, 1992.

KRISTIANSEN, S. B. *et al.* "Effects of L-glutamate supplementation mimic effects of fasting in the ischemic heart". *APMIS Suppl.* 3: 117-121, 2003.

MURAVCHIK, S. & LEVY, R. J. "Clinical implications of mitochondrial dysfunction". *Anesthesiol.* 105: 809-837, 2006.

NEU, J. & LI, N. "Pathophysiology of glutamine and glutamate metabolism in premature infants". *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 10: 75-79, 2007.

NEWSHOLME, P. *et al.* "Glutamine and glutamate as vital metabolites". *Braz J Med Biol Res.* 36: 153-163, 2003.

PARIMI, P. S. & KALHAN, S. C. "Glutamine supplementation in the newborn infant". *Semin Fetal Neonatal Med.* 12: 19-25, 2007.

ROSE, W. C. "The sequence of events leading to the establishment of the amino acid needs of man". *A.J.P.H.* 58(11): 2020-2027, 1968.

RUTTEN, E. P. *et al.* "Greater whole-body myofibrillar protein breakdown in cachectic patients with chronic obstructive pulmonary disease". *Am J Clin Nutr.* 86: 829-834, 2006.

SCHLETT, K. "Glutamate as a modulator of embryonic and adult neurogenesis". *Curr Top Med Chem.* 6: 949-960, 2006.

STOTTRUP, N. B.; KRISTIANSEN, S. B. & LOFGREN, B. "L-glutamate and glutamine improve haemodynamic function and restore myocardial glycogen content during postischaemic reperfusion: A radioactive tracer study in the rat isolated heart". *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 33: 1099-1103, 2006.

SVEDJEHOLM, R. *et al.* “Metabolic and hemodynamic effects of intravenous glutamate infusion early after coronary operations”. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 112: 1468-1477, 1996.

TOMOE, M. *et al.* “Clinical trial of glutamate for the improvement of nutrition and health in the elderly”. *Ann N Y Acad Sci.* 1170: 82-86, 2009.

TUHACEK, L. M. *et al.* “Substitutes for glutamine in proliferation of rat intestinal epithelial cells”. *Nutrition.* 20: 292-297, 2004.

VAN GOUDOEVER, J. B. *et al.* “Intestinal amino acid metabolism in neonates”. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 58: 95-102, 2006.

WAAGEPETERSEN, H. S. *et al.* “Role of glutamine and neuronal glutamate uptake in glutamate homeostasis and synthesis during vesicular release in cultured glutamatergic neurons”. *Neurochem Int.* 47: 92-102, 2005.

WU, G. “Functional amino acids in growth, reproduction and health”. *Adv Nutr (Bethesda).* 1: 31-37, 2010.

ZIEGLER, T. R. *et al.* “Trophic and cytoprotective nutrition for intestinal adaptation, mucosal repair and barrier function”. *Ann Rev Nutr.* 23: 229-261, 2003.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DEL GLUTAMATO

EL GLUTAMATO EN LA LECHE MATERNA Y EN EL DESARROLLO DEL INTESTINO DEL LACTANTE

*Manuel E. Baldeón
Nancy Flores*

1. INTRODUCCIÓN

La leche materna exclusiva es el alimento ideal de los infantes hasta los seis meses de edad. Además de los componentes nutricionales necesarios para el crecimiento y desarrollo del lactante, contiene muchos factores bioactivos que complementan los efectos beneficiosos de la leche materna. (Castellote *et al.*, 2011). Organizaciones internacionales, como la Organización Mundial de la Salud, promueven la implementación de políticas locales, regionales y globales que favorecen la práctica de la lactancia materna (OMS, 2003). La estrategia global que apoya la lactancia materna está basada en muchos estudios científicos sobre este tema (OMS, 2003).

La leche materna provee al lactante de alimento y de protección inmunológica a un bajo costo en un medioambiente seguro. Su composición nutricional, compuesta de carbohidratos, grasa, proteínas, vitaminas, minerales y agua, está hecha para cubrir los requerimientos nutricionales durante los primeros meses de vida. La composición de la leche en cada especie es específica, lo que significa que la de otras especies de mamíferos no es adecuada para el consumo humano.

La leche de vaca, por ejemplo, no se recomienda sino hasta que el infante tenga un año de edad.

La leche materna contiene, además, componentes inmuno-moduladores que no están presentes en ninguna de las fórmulas infantiles artificiales disponibles actualmente. Los componentes inmunes protegen al infante de infecciones, y modulan la respuesta inmune intestinal limitando el proceso inflamatorio a “alimentos exógenos” así como también a la microbiota intestinal (Riveron, 1995). Además, contiene componentes humorales y celulares cuya función es proteger al lactante de microorganismos externos, bacterias, virus y parásitos (Riverón, 1995). La leche materna posee una variedad de aminoácidos y factores de crecimiento que regulan el desarrollo de la mucosa intestinal, su función de barrera contra elementos externos y la respuesta inmune en la mucosa del lactante (Lönnerdal, 2003). Entonces, la alimentación del lactante, durante los primeros seis meses de vida, con otro alimento distinto a la leche materna lo priva de su apropiada nutrición y lo pone en riesgo de malnutrición e infecciones (Zinkernagel, 2001); es decir, la leche materna asegura el crecimiento y desarrollo normal de los lactantes.

2. COMPOSICIÓN DE LA LECHE MATERNA

Las secreciones que se producen en la glándula mamaria tienen una composición cambiante que se ajusta a las necesidades del lactante durante su crecimiento en los primeros meses de vida. El fluido que comienza a producirse alrededor del parto se denomina calostro y es producido hasta los primeros siete días después del nacimiento. Después de este periodo, cambia en consistencia y composición, y se le denomina leche de transición que se produce por aproximadamente quince días, tiempo a partir del cual la glándula mamaria produce leche madura (Lawrence, 2007).

Nacimiento				
Semanas	1	2	3	
	Calostro	Transición	Madura	Destete

El calostro es un fluido espeso y amarillento que provee aproximadamente 67 Kcal/100 mL La Tabla 6.1 resume los cambios en el tiempo de la composición de las secreciones mamarias, incluido el calostro. El calostro tiene altas concentraciones de aminoácidos libres, proteínas, e inmunoglobulinas (Ig), es rico en vitaminas liposolubles como A y E, y su contenido es bajo en grasas

y lactosa. El calostro facilita la expulsión del meconio, provee al lactante de abundantes anticuerpos, antioxidantes e inicia el establecimiento de la microbiota intestinal.

Tabla 6.1 – Composición y volumen de las secreciones de la glándula mamaria en el primer mes después del parto.

Composición	Días Posparto						
	1	2	3	4	5	14	28
Proteínas (g/dL)	32	17	12	11	11	8	9
Lípidos (g/dL)	12	15	20	25	24	23	29
Carbohidratos (lactosa) (g/dL)	20	25	31	32	33	35	35
Volumen (mL/día)	50	190	400	625	700	1100	1250

Fuente: tabla modificada de Lawrence, 2007.

La leche de transición se produce luego del calostro por aproximadamente dos semanas. En esta leche, las concentraciones de lactosa, grasa y vitaminas hidrosolubles aumentan, y los niveles de inmunoglobulinas, proteínas y vitaminas liposolubles disminuyen (Tabla 6.1). La leche que se produce después de este periodo se llama leche madura, aporta aproximadamente 75 Kcal/100 mL y su composición es bastante estable (Tabla 6.2).

Tabla 6.2 – Composición de la leche madura.

	COMPONENTES	CONTENIDO
Fase Acuosa		
Solución acuosa y suero	Ca, Mg, Na, K, Cl, fosfatos, citrato, caseína, α -lactoalbúmina, lactoferrina, IgA, lisozimas, seroalbúmina, lactosa, oligosacáridos, nitrógeno no proteico: glucosamina, urea, glutamato, vitaminas del complejo B, ácido ascórbico	87%
Fase coloidal		
Emulsión: glóbulos de grasa	Caseínas, Ca, fosfatos	0,30%
Interfase: membrana de los glóbulos de grasa	Triglicéridos, ésteres de colesterol	4%
Células	Proteínas, fosfolípidos, colesterol, enzimas, oligoelementos, vitaminas liposolubles	2%
	Macrófagos, neutrófilos, linfocitos, células epiteliales	1 x 10 ⁶ /mL
Macronutrientes (g/L)	Carbohidratos	72
	Proteínas	10
	Grasas	39

	COMPONENTES	CONTENIDO
Micronutrientes (mg/L)	Calcio	280
	Cloro	420
	Magnesio	35
	Fósforo	140
	Potasio	525
Elementos traza (µg/L)	Hierro	300
	Cobre	250
	Zinc	1200
	Yodo	110
	Cromo	50
	Manganeso	6
	Selenio	20
Vitaminas (mg/L)		
Liposolubles	A	670 ± 200 µg/L
	D	0,55 ± 0,10 µg/L
	E	2,3 ± 1,0 g/L
	K	2,1 ± 0,10 µg/L
Hidrosolubles	B6	93 ± 8 g/L
	B12	0,97 µg/L
	Biotina	4 ± 1,0 µg/L
	B1	0,21 ± 0,03 g/L
	Riboflavina	0,35 ± 0,02 g/L
	B3	1500 ± 0,20 g/L
	B5	1800 ± 0,20 g/L
	Vitamina C	40 ± 10 g/L
Folato	85 ± 37 µg/L	
Otras Proteínas (mg/L)	IgA	50-100
	IgM	2
	IgG	1
	Lactoferrina	100-300
	Lisosimas	5,0-25,0
	Lactoalbúmina	200-300
	Caseína	200-300

Fuente: tabla modificado de Lawrence, 2007; y Polin *et al.*, 2004.

En la leche madura, los carbohidratos y los lípidos proveen la mayoría de la energía. La leche materna es rica en ácidos grasos esenciales, ácidos linoleico

y linolénico que tienen un papel importante en el desarrollo cerebral y del sistema inmune de los lactantes (Sherman, 2000). Por otro lado, las proteínas de la leche son fuente de aminoácidos y contribuyen a la digestión y absorción de los otros nutrientes por acción de enzimas como la amilasa, lipasa, lactoferrina, haptocorrina y β -caseína. La mayoría de las proteínas presentes en la leche se sintetizan en la glándula mamaria y otras como la albúmina provienen de la sangre materna.

El contenido proteico de la leche cambia con el tiempo: durante la lactancia temprana la concentración de proteínas puede llegar hasta 14-16 g/L, mientras que seis meses después del nacimiento su concentración es de 7-8 g/L. Es interesante anotar que no todas las proteínas de la leche se digieren completamente en el intestino del lactante; algunas son parcialmente procesadas o mantienen intacta su estructura debido a que estas cumplen importantes funciones en el crecimiento y desarrollo intestinales. Además, también mantienen propiedades inmunológicas como las de la lactoferrina y la inmunoglobulina A, IgA (Ward *et al.*, 2002).

3. COMPONENTES INMUNOLÓGICOS DE LA LECHE MATERNA

Además de suplir las necesidades nutricionales, la leche materna provee protección inmunológica al lactante, propiedad que ha motivado muchas investigaciones en los últimos años (Li *et al.*, 2019). Son numerosos las células y los factores inmunológicos que proporcionan protección contra infecciones (Tabla 6.3). Estos componentes producen una cascada de efectos que ayuda al desarrollo y funcionamiento del sistema inmune del lactante (Castellote *et al.*, 2011). Se estima que la leche materna contiene aproximadamente 1×10^6 células/mL y la mayoría de sus células son polimorfonucleares y macrófagos que fagocitan y matan microbios como *Cándida*, *Clostridium difficile* y *Klebsiella* (Li *et al.*, 2019).

El segundo grupo de células más importante es el de los linfocitos, como los productores de inmunoglobulinas, linfocitos B y los linfocitos T; estos últimos son los más abundantes (Tabla 6.3). Los linfocitos T de la leche son células de memoria que pueden ser fácilmente activados. Por otro lado, los linfocitos B de la leche producen IgA que protege directamente al lactante. Otros péptidos solubles con actividad antimicrobiana e inmunológica de la leche incluyen a la lactoferrina, lactoperoxidasa, lisozima y a la N-acetil- β -D-glucosaminidasa, citosinas, interferones, entre otros (Lønnerdal, 2003). La leche materna provee de agentes antimicrobianos, antiinflamatorios e inmunoreguladores que favorecen

el crecimiento y desarrollo del recién nacido y lo protegen a largo plazo de enfermedades infecciosas durante la infancia (Goldman, 2007).

Tabla 6.3 – Componentes inmunes de la leche materna.

Componentes	Número aproximado o concentraciones
Células	1 x 10 ⁶ /mL
Macrófagos	75% de células mononucleadas
Linfocitos	25% de células mononucleadas
Linfocitos B: IgG, IgA, IgM	20% de los linfocitos
Linfocitos T	80% de los linfocitos
Citocinas	
Interleucinas	
IL-1 β	1130 pg/mL
IL-6	150 pg/mL
Interferones	
IFN- γ	400 ng/mL
Otros	
TNF- α	600 pg/mL

Fuente: tabla modificada de Baldeón & Gaskins, 2000.

La leche materna es el medio más importante de inmunidad pasiva para el recién nacido (Field, 2005). Sus proteínas incrementan la función inmune e inhiben infecciones causadas por virus, bacterias, y hongos. La IgA al ligarse al antígeno microbiano específico, bloquea su adhesión, produce fagocitosis, activa la respuesta inmune local y lo elimina, sin afectar la colonización normal de la microbiota intestinal (Castellote *et al.*, 2011). La IgA también inactiva enterotoxinas e interfiere en la absorción de antígenos potencialmente dañinos de los alimentos contribuyendo con su eliminación (Li *et al.*, 2019). Además, se han identificado IgAs en la leche materna contra patógenos muy comunes como *Haemophilus influenza*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Vibrio cholerae*.

Otra proteína con propiedades antimicrobianas de amplio espectro es la lactoferrina. Estudios *in vitro* e *in vivo* demuestran que la lactoferrina tiene propiedades antimicrobianas contra *E. coli*, *Streptococcus*, *H. pylori*, *S. aureus*, virus del herpes, virus de la hepatitis C, rotavirus, y virus de la inmunodeficiencia humana (Newburg & Street, 1997). Es importante considerar que la protección inmune que confiere la leche materna al lactante sucede en ausencia de inflamación lo que probablemente se deba a la presencia de factores antiinflamatorios y antioxidantes en su composición.

Las glándulas mamarias son consideradas parte del denominado tejido linfoide asociado a mucosas (MALT por sus siglas en inglés). Similar a otros componentes del MALT, el epitelio de la glándula mamaria produce glicoproteínas y péptidos inmunes que limitan el contacto y regulan la composición de la microbiota de la glándula mamaria (Liu & Newburg, 2013). Además, recientemente se han descrito células madres del epitelio mamario (hMSCs) con capacidad de dar origen a células productoras de leche y en teoría provocar en los lactantes tolerancia a antígenos maternos (Cacho & Lawrence, 2017). Al momento se están desarrollando estudios para caracterizar estas hMSCs y determinar sus funciones en la díada madre-lactante.

Otro aspecto importante relacionado con el componente inmunológico en las glándulas mamarias es la presencia de la microbiota de la glándula. En los últimos años se ha descrito la presencia de bacterias facultativas anaerobias (especies de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*) y anaerobias (especies de *Bifidobacterium* y *Bacteroides*) (Gómez-Gallego *et al.*, 2016). Será importante determinar el origen de la microbiota mamaria, su efecto en el desarrollo del MALT local y la función fisiológica en el lactante (ver sección 6). Estos datos demuestran que la leche materna provee varias formas de protección inmunológica al lactante.

4. EL GLUTAMATO EN LA LECHE MATERNA

Además de los nutrientes y de los factores inmunológicos que ya se han indicado anteriormente, la leche materna contiene una proporción alta de sustancias que conforman el llamado nitrógeno no proteico (NNP). El NNP de la leche materna incluye aminoácidos libres, pequeños péptidos, urea, ácido úrico, amonio, creatina, creatinina, ácidos nucleicos, amino-azúcares, entre los más importantes. Estudios demuestran que varios de estos compuestos influyen en el crecimiento y desarrollo del intestino del lactante (Koletzko *et al.*, 1998). Se estima que los aminoácidos libres constituyen entre el 3 y el 5% de los aminoácidos totales de la leche. La abundancia de los aminoácidos es variable en el tiempo: son más abundantes temprano en la lactancia, excepto por el glutamato y la glutamina cuyas concentraciones se incrementan con el progreso de la lactancia (Agostoni *et al.*, 2000a).

Las concentraciones de glutamato y glutamina se incrementan durante la lactancia y llegan a constituir, aproximadamente, el 50% de los aminoácidos libres de la leche a los tres meses después de iniciada la lactancia (Agostoni *et al.*, 2000a). El glutamato, precursor de la glutamina, es el aminoácido más

abundante de la leche materna (Singh & Saxena., 2004; Spitzer, 1996). Por tanto, el lactante es expuesto continuamente a concentraciones crecientes de glutamato y glutamina que pueden tener un papel importante en el desarrollo y mantenimiento del intestino y del bienestar del infante (Agostoni *et al.*, 2000a). Las altas concentraciones de glutamato y glutamina en la leche materna podrían ser beneficiosas para el infante alimentado con leche materna, pues tiene un papel importante en el desarrollo del intestino del infante (Burrin & Stoll, 2002).

El análisis de aminoácidos libres presentes en la leche de humanos, de otros primates y de no primates demuestra que el glutamato es el aminoácido libre más abundante: leche humana (1339-2157 $\mu\text{mol/L}$), primates no humanos (423-2528 $\mu\text{mol/L}$), elefantes (1332 $\mu\text{mol/L}$), caballos (1119 $\mu\text{mol/L}$) y vacas (349 $\mu\text{mol/L}$) (Sarwar *et al.*, 1998). Los patrones únicos de las concentraciones de aminoácidos libres en las diferentes especies de mamíferos podrían indicar la importancia relativa de algunos grupos de estos compuestos durante la lactancia. Las altas concentraciones de ácido glutámico libre en la leche materna podrían estar relacionadas con funciones fisiológicas importantes en el lactante (Neu, 2001).

Estudios de los años 1980, diseñados para determinar las concentraciones de aminoácidos libres en la leche de madres que habían tenido sus hijos pretérmino y a término, han demostrado que el ácido glutámico y la taurina son los aminoácidos más abundantes en la leche materna (Pamblanco *et al.*, 1989). Estos estudios también indican que la leche de madres con niños pretérmino presenta concentraciones más altas de ácido glutámico que la leche de madres con niños a término. La concentración prominente de glutamato ha sido, desde entonces, asociada con funciones importantes a nivel intestinal como metabolismo energético y maduración intestinal (Pamblanco *et al.*, 1989). Un reciente estudio sobre el contenido de glutamina en la leche materna demostró que este aminoácido está presente en concentraciones similares tanto en la leche de madres con niños nacidos pretérmino como en la leche de madres con niños nacidos a término y esto se mantuvo durante todo el periodo de lactancia, 4960 y 5000 $\mu\text{mol/L}$ de leche, respectivamente (Jochum *et al.*, 2006). Sin embargo, la concentración de glutamina libre se incrementó en la lactancia tardía posiblemente para contribuir al desarrollo intestinal por medio de la continua disponibilidad de este aminoácido, 107 $\mu\text{mol/L}$ en la leche de transición a 291 $\mu\text{mol/L}$ en la leche madura. Los autores de ese estudio estimaron que un recién nacido de 3,5 Kg. de peso que consuma 500 mL de leche por día, consumiría 370 mg/d de glutamina y la glutamina libre representa entre el 5-7% de la glutamina total de la leche (Jochum *et al.*, 2006). Los mecanismos fisiológicos que regulan la síntesis y secreción

de la glutamina en la glándula mamaria no han sido elucidados todavía. Este conocimiento será de mucha utilidad para evaluar el impacto de la glutamina en la fisiología y en los estados de enfermedad intestinal.

Investigaciones realizadas en la década de 1950 demostraron la importancia del ácido glutámico y la glutamina en la síntesis de las proteínas de la leche (Barry, 1956). Con el uso de glutamina y glutamato radioactivos, se demostró que la glutamina y el glutamato presentes en la caseína provenían de la glutamina y del glutamato libres del plasma sanguíneo materno (Barry, 1956). Desde entonces, muchos estudios han demostrado que los aminoácidos del plasma materno son extraídos por la glándula mamaria durante la lactancia (Viña *et al.*, 1981). Los carbonos del glutamato y la glutamina extraídos del plasma materno son, entonces, utilizados para la síntesis de ácidos grasos y proteínas de la leche, y algunos de estos aminoácidos aparecen en la leche materna como compuestos libres (Viña *et al.*, 1981; Viña *et al.*, 1987; Viña & Williamson, 1981). Es importante señalar que las concentraciones de muchos aminoácidos libres presentes en la leche materna disminuyen luego en un ayuno de aproximadamente 10 h (ayuno durante el sueño nocturno), excepto las concentraciones de tirosina, aspartato, asparagina, glutamato y glutamina (Viña *et al.*, 1987). Estos datos indicarían que, en el ayuno, la disponibilidad y transporte de aminoácidos libres en la glándula mamaria disminuye, lo que resulta en una disminución de aminoácidos libres en la leche materna. Sin embargo, las concentraciones de aminoácidos con funciones fisiológicas importantes, como el glutamato y la glutamina, se mantienen. Estos resultados sugieren que existen mecanismos locales que privilegian la síntesis y liberación de glutamato y glutamina en la leche materna para no interrumpir la administración continua de los mismos al lactante (Viña *et al.*, 1987).

En un estudio realizado en Ecuador, en el que se compara la concentración de aminoácidos libres presentes en la leche materna de madres adolescentes y adultas, se encontró que las concentraciones de glutamato, glutamina, alanina y serina libres se incrementaron con el tiempo de la lactancia en ambos grupos de estudio. Las concentraciones de estos aminoácidos a los cuatro meses de lactancia tendieron a ser mayores en la leche de madres adultas aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Baldeón *et al.*, 2014). Así mismo, se observó que la concentración de aminoácidos totales y aminoácidos no esenciales se incrementa en el tiempo de lactancia y sus concentraciones no están relacionadas con la edad de las madres (Baldeón *et al.*, 2014). Los datos demuestran que la composición de la leche materna no depende de la edad de

la madre. Un estudio reciente que evaluó los niveles de aminoácidos libres totales y las concentraciones de proteína en leche materna durante los primeros seis meses de lactancia y su posible asociación con el sexo de los lactantes, demuestra una asociación entre las niñas lactantes y concentraciones más altas de proteína y aminoácidos totales durante los tres primeros meses de lactancia (van Sadelhoff *et al.*, 2018). Los autores del estudio concluyen que la composición de los aminoácidos en la leche materna varía con el sexo. En un estudio de cohorte realizado en mujeres ecuatorianas en el que se estudiaron los niveles de aminoácidos libres en la leche materna se observaron concentraciones significativamente más altas de Glu 14,40 (1,35; 27,44), Gly 1,82 (0,24; 3,4), Cys 0,36 (0,03; 0,68) y Tyr 0,24 (0,02; 0,46) en la leche destinada para niños (Baldeón *et al.*, 2019). Los aminoácidos libres Glu, Gly, Cys, y Tyr se incrementaron con el tiempo de lactancia. En ese estudio también se observaron concentraciones más altas de Glu 28,62 (1,78; 55,46) y Ala 7,16 (1,26; 13,06) en la leche de los niños que tuvieron una ganancia de peso mayor que en la leche de los niños que tuvieron una ganancia de peso menor. Los autores del estudio concluyen que existen diferencias en los niveles de aminoácidos libres en la leche materna destinada para niños y para aquellos que crecen más rápido (Baldeón *et al.*, 2019). Se deben realizar más estudios sobre esta novedosa asociación y las posibles consecuencias fisiológicas de estas diferencias. Se ha indicado que las concentraciones de glutamato y glutamina ayudan al desarrollo de los niños luego del nacimiento durante el periodo de lactancia. Por otro lado, estos datos indican que se debe considerar que no todas las leches maternas son iguales; por tanto, el manejo de los bancos de leche que mezclan la leche de madres jóvenes y adultas tiene que ser revisado.

Las leches maternizadas disponibles en el mercado son diseñadas para imitar la composición de la leche materna en su contenido de macro y micro nutrientes. Pocos estudios han comparado la concentración de aminoácidos libres de las leches maternizadas comerciales con las concentraciones de estos aminoácidos en la leche materna (Chuang *et al.*, 2005; Ferreira, 2003). Uno de estos estudios demostró que la concentración de aminoácidos libres de la leche materna fue significativamente más alta que la concentración de estos aminoácidos en todas las fórmulas estudiadas: 8139 $\mu\text{mol/L}$ para la leche materna de niños pretérmino, 3462 $\mu\text{mol/L}$ para la leche materna de niños a término, 720 $\mu\text{mol/L}$ para la fórmula A; 697 $\mu\text{mol/L}$ para la fórmula B y 820 $\mu\text{mol/L}$ para la fórmula diseñada para niños pretérmino (Chuang *et al.*, 2005). Los aminoácidos esenciales y no esenciales estuvieron en concentraciones más altas en la leche materna que en las leches maternizadas (Chuang *et al.*, 2005). El estudio

también demostró que, aunque los aminoácidos más abundantes en la leche materna fueron el ácido glutámico y la taurina, las concentraciones de estos aminoácidos en las fórmulas infantiles no mantuvieron este patrón (Chuang *et al.*, 2005). La diferencia en la composición de las leches maternizadas en cuanto a aminoácidos libres como glutamato, glutamina y taurina, en relación con la leche materna, podría alterar la protección de la mucosa intestinal del infante en niños que se alimentan con fórmulas comerciales (Agostoni *et al.*, 2000b). Estos estudios indican que, aunque las fórmulas infantiles ahora disponibles tratan de imitar la composición de la leche materna, estas tienen que ser reformuladas para representar mejor la composición de los aminoácidos libres presentes en la leche materna. Por lo tanto, la leche materna es la mejor fuente de nutrición y protección inmune del lactante.

5. EL GLUTAMATO DE LA LECHE MATERNA Y EL TRACTO GASTROINTESTINAL DEL LACTANTE

El glutamato cumple un papel esencial en el metabolismo humano (Melbourne *et al.*, 2001). Es uno de los aminoácidos no esenciales más comunes que se hallan en la naturaleza. Es el principal componente de muchas proteínas y péptidos de la dieta, y está presente básicamente en todos los tejidos del organismo. Como se ha indicado, también es uno de los aminoácidos libres más abundantes en la leche materna. El glutamato mantiene el crecimiento celular; tiene un papel importante en el flujo de energía entre tejidos; es un neurotransmisor excitatorio en el cerebro; contribuye al mantenimiento del equilibrio hidroelectrolítico en los riñones y forma parte del ciclo de la urea en el hígado; es el precursor de ácidos nucleicos para la síntesis de DNA; y es el sustrato más importante para la producción de energía de las células epiteliales intestinales (Marante *et al.*, 2005; Reeds *et al.*, 2000; Albarracin *et al.*, 2016).

A nivel intestinal, también, el glutamato es importante para la síntesis local de aminoácidos esenciales como la prolina y arginina. Como parte del glutatión, el glutamato actúa como agente antioxidante (Wu, 1998). Por lo indicado, el glutamato es un aminoácido indispensable para el normal funcionamiento del organismo.

Al momento de nacer, el tracto gastrointestinal de un ser humano debe estar capacitado para digerir y absorber los nutrientes de la leche materna, proteger al huésped de toxinas y patógenos microbianos, y mantener el equilibrio hidroelectrolítico. El nacimiento determina que la nutrición para el mantenimiento del

infante cambie drásticamente del transporte de nutrientes a través de la placenta y del consumo de líquido amniótico al consumo oral de la leche materna. Por ello, el estado estructural y funcional del intestino debe estar lo suficientemente desarrollado en un recién nacido (Commare & Tappenden, 2007).

El crecimiento y desarrollo del intestino en el periodo fetal y neonatal están finamente regulados. En el periodo neonatal, la maduración y crecimiento del aparato gastrointestinal están influenciados por varios factores fisiológicos y medioambientales. El líquido amniótico y la leche materna proveen factores tróficos necesarios para el intestino. Estos factores incluyen nutrientes, factores de crecimiento peptídico, hormonas peptídicas intestinales, esteroides, hormonas tiroideas y estímulos nerviosos.

Otros compuestos en la leche que modulan el desarrollo intestinal son células inmunes y sus productos, y oligosacáridos no digeribles que posibilitan el establecimiento de la microbiota intestinal (Burrin & Stoll, 2002; Perin *et al.*, 1995; Castellote *et al.*, 2011). La colonización microbiana del intestino, por ejemplo, permite el desarrollo del tejido linfoide asociado al intestino, que es un componente importante del sistema inmunológico del infante (De La Cochetière *et al.*, 2007).

Las células del mesénquima intestinal son también fuente de varios factores de crecimiento, como: el factor de crecimiento para los fibroblastos, de crecimiento hepático, de crecimiento queratinocítico y de crecimiento similar a la insulina (IGF-I). Del mismo modo, las células del mesénquima también producen los componentes de la matriz extracelular como el colágeno y los proteoglicanos, necesarios para el mantenimiento y desarrollo intestinales. Los mecanismos por los cuales los factores endógenos, como las hormonas, o exógenos, como los componentes de la dieta (leche materna) que regulan la maduración del intestino al nacimiento, han sido un área activa de investigación (Gree, 2001; Commare & Tappenden, 2007).

Existe amplia evidencia que demuestra que los aminoácidos no esenciales, como el glutamato y la glutamina, contribuyen al funcionamiento metabólico de la mucosa intestinal. Estos aminoácidos, además de contribuir en la generación de energía para el funcionamiento celular, son precursores de varias vías metabólicas para la síntesis de otros aminoácidos, nucleótidos, amino azúcares, etc. (Reeds & Burrin, 2001). En células especializadas en la absorción y secreción de sustancias, y con tiempo de vida corto como las células epiteliales intestinales, la generación de DNA y los productos de sus secreciones como la mucina obligatoriamente demandan compuestos o sustratos que puedan producir energía y,

al mismo tiempo, ser parte de la generación de nuevas células y sus productos como es el caso del glutamato y la glutamina. Es importante enfatizar que estos aminoácidos no esenciales, que se utilizan para el mantenimiento de la mucosa intestinal, provienen de la dieta, del plasma sanguíneo y además pueden ser generados dentro de las células de la mucosa intestinal (Reeds *et al.*, 2000).

Los aminoácidos libres presentes en la leche materna son fácilmente utilizables en el intestino porque pueden ser absorbidos rápidamente en el intestino de los lactantes. Los transportadores de glucosa y aminoácidos en las células epiteliales intestinales se forman en el periodo fetal y al nacimiento son completamente funcionales. El transporte de glutamato en el epitelio intestinal es sodio dependiente, lo que indica que se requiere la presencia de sodio para su absorción. Esto es importante debido a la alta demanda de energía del lactante al momento del nacimiento. Si existen diferentes usos para los aminoácidos no esenciales producidos localmente y para aquellos que llegan en la dieta o vía sanguínea, esto aún no se ha establecido.

Una de las funciones importantes del epitelio intestinal es servir de barrera entre el contenido de la luz del intestino (gran número de microbios y antígenos) y la lámina propia de la pared del tubo digestivo (interior del organismo, incluidas las células inmunes). Esta barrera está conformada por una capa única de células epiteliales, las mismas que están unidas entre sí por complejos proteicos que en su conjunto se denominan *tight junctions*. La función de barrera es posible debido a que las células caliciformes del epitelio y las fuertes uniones que ocurren entre estas células epiteliales, *tight junctions*, secretan activamente moco hacia la luz intestinal. El moco secretado limita la interacción de los componentes del contenido intestinal, alimentos y microorganismos con las células epiteliales que facilitan su eliminación (Newburg & Walker, 2007). Se considera que las *tight junctions* forman parte del sistema inmune no específico y sirven para impedir el ingreso de los componentes intestinales hacia el interior del organismo. La glutamina tiene un papel importante tanto para la producción de moco como para el mantenimiento de las *tight junctions*, lo que permite que el epitelio intestinal cumpla con su función de barrera (Newburg & Walker, 2007; Li *et al.*, 2004). En la formación del moco, la glutamina es necesaria para la síntesis de amino azúcares como la N-acetilglucosamina y la N-acetilgalactosamina, presentes en la matriz extracelular y en el moco intestinal.

Por otro lado, la glutamina es necesaria para la síntesis de las proteínas que forman las *tight junctions* que mantienen la estructura del epitelio intestinal (Li *et al.*, 2004). Estos estudios indican que los aminoácidos no esenciales

como el glutamato y la glutamina, además de servir como fuentes de energía, cumplen funciones específicas en la mucosa intestinal manteniendo su integridad (Li *et al.*, 2004).

Estudios de complementación con glutamato o glutamina al alimento de lechones normales demuestran que la presencia de estos aminoácidos mejoran el comportamiento zootécnico en estos animales (Liu *et al.*, 2002). La presencia de glutamato o glutamina mejora la morfología y función del intestino favoreciendo el crecimiento. Debido a las importantes funciones adscritas al glutamato y a la glutamina en la fisiología intestinal, varios estudios clínicos de complementación con estos aminoácidos se han realizado. Sin embargo, desafortunadamente, hasta al momento, no existe un consenso en el uso de glutamina bajo estas circunstancias, debido a la falta de consistencia de los resultados en esos estudios (Plauth *et al.*, 1999; Hall *et al.*, 2003).

6. EL GLUTAMATO DE LA LECHE MATERNA, LA MICROBIOTA Y LA RESPUESTA INMUNE INTESTINAL

Cuando un niño nace, los componentes inmunológicos del intestino ya se encuentran presentes (Newburg & Walker, 2007). Tradicionalmente, la respuesta inmune de defensa del organismo se divide en respuesta inmune innata y respuesta inmune adquirida (Mackay *et al.*, 2001). La respuesta inmune innata se conforma por barreras físicas y químicas como el epitelio intestinal, el ácido clorhídrico del estómago, la producción de criptidinas en el intestino, así como también factores humorales como las proteínas plasmáticas del sistema complemento, proteínas de fase aguda, entre otras. Los elementos celulares de la respuesta inmune innata incluyen las células dendríticas, células *natural killer* (NK) y células fagocíticas como los polimorfonucleares y los macrófagos. Este tipo de respuesta es similar para todos los agentes patógenos y no puede discriminar específicamente al agente agresor. Por otro lado, la respuesta inmune adquirida está mediada por los linfocitos B y linfocitos T, y sus productos; esta respuesta inmune es específica y puede desarrollar una respuesta inmune más rápida y más potente si el huésped es infectado más de una vez por un mismo patógeno. A pesar de que todos los componentes del sistema inmune intestinal están presentes al nacimiento, los recién nacidos tienen mayor riesgo de infección que niños mayores y que los adultos, lo que indicaría una aparente inmadurez de la respuesta inmune intestinal al momento del nacimiento. En otras especies como en los ratones, por ejemplo, el sistema inmune también completa su desarrollo después

del nacimiento. En humanos, la inmadurez del sistema inmune al nacimiento pondría al recién nacido en riesgo de infecciones. Sin embargo, para compensar esta parcial debilidad, anticuerpos de la madre (IgG) pasan por la placenta al feto, reforzando de esta forma el sistema inmune del recién nacido. Por otro lado, la leche materna provee de inmunidad pasiva al lactante por medio de células fagocíticas y proteínas con propiedades antimicrobianas de amplio espectro, y disminuye así el riesgo de infección del lactante (Howie *et al.*, 1990; Chantry *et al.*, 2006). Por eso, es importante la alimentación con la leche materna.

Por otra parte, uno de los componentes más importantes del sistema inmunológico es el denominado tejido linfoide asociado al intestino, comúnmente llamado GALT por sus siglas en inglés (*gut-associated lymphoid tissue*). La superficie mucosa del intestino está expuesta a una gran cantidad de agentes externos como el alimento y microorganismos que conforman la microbiota intestinal y, por tanto, es un sitio potencialmente vulnerable a la entrada de agentes infecciosos. No es sorprendente, entonces, saber que la mayoría de agentes patógenos ingresan al organismo por las superficies mucosas como la intestinal. El tejido linfoide del intestino debe, por ello, cumplir con una especial función de defensa contra organismos patógenos, pero, al mismo tiempo, debe permitir/tolerar la presencia de agentes externos como los alimentos y la microbiota intestinal que coexisten en simbiosis con el huésped. El GALT está conformado por agregados linfoides que están bajo el epitelio del intestino desde la boca hasta el ano. Ejemplos de estos agregados incluyen las amígdalas, las adenoides, el apéndice, nódulos linfoides situados a lo largo del intestino delgado y grueso, y las denominadas placas de Peyer.

Las placas de Peyer son agregados de células inmunes por donde se induce (inicia) la respuesta inmune. Están cubiertas con un epitelio especializado que les permite tomar constantemente muestras del contenido intestinal y, por interacción con las células del sistema inmune establecen, o no, una respuesta inmunológica. Si el contenido intestinal no es una amenaza para el organismo, este es “tolerado” y no se establece una respuesta inmune. Por el contrario, si existiera un agente infeccioso en el intestino, se despierta una fuerte respuesta inmune intestinal que se expresa no solamente a nivel de las placas de Peyer, sino también a lo largo del intestino a través de los linfocitos y otras células inmunes efectoras de la lámina propia. El GALT está encargado de procesar los antígenos que interactúan con la mucosa intestinal y diseminar la respuesta inmune.

Por tanto, los alimentos que el lactante consume temprano en la vida son fuente de antígenos a los cuales debe “tolerar” y que normalmente están en

la leche materna (Calder *et al.*, 2006). Sin embargo, la alimentación temprana también debe proveer factores (incluidos nutrientes) que ayuden a modular la respuesta inmunológica y favorecer el establecimiento de la microbiota intestinal. La microbiota intestinal, a su vez, ayuda a la maduración del sistema inmune (Calder *et al.*, 2006). Por otro lado, la respuesta inmune del recién nacido se complementa con la inmunidad pasiva que el lactante adquiere por el paso de IgG de la madre durante el periodo fetal y por los componentes inmunes presentes en la leche materna en la lactancia (Gil & Rueda, 2002). Además, la leche materna también contiene elementos que modulan la respuesta frente a antígenos que no constituyen un peligro para el huésped y, de esa manera, evita una reacción inmune que potencialmente podría dañar al intestino. Tanto el establecimiento de la microbiota intestinal como los factores inmunes moduladores de la leche materna tienen un papel crítico en la maduración del intestino y de su sistema inmune (ver discusión posterior). El efecto modulador de la respuesta inmune por la leche materna a temprana edad podría explicar el efecto benéfico que esta tiene en enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1, alergias, enfermedades crónicas no transmisibles, que aparecen más tarde en la vida. Estos datos indican que la leche materna, rica en glutamato y glutamina, tiene un papel protector frente al desarrollo de enfermedades crónicas como las alergias (Calder *et al.*, 2006).

Otros componentes que están presentes en la leche materna, y que influyen en el GALT, son los aminoácidos y las proteínas (Gil & Rueda, 2002). Así, los aminoácidos libres (treonina, cisteína, glutamato, glutamina) son indispensables para la síntesis de glucoproteínas (del moco intestinal), proteínas producidas por las células inmunes, síntesis de glutatión (ver sección 5). El glutatión es un tripéptido constituido por glutamato, glicina y cisteína que actúa como transportador de aminoácidos y como antioxidante. En situaciones de estrés, por ejemplo, durante periodos de nutrición parenteral y presencia de infecciones, las concentraciones de glutatión pueden disminuir y los requerimientos de glutamato y glutamina se incrementan. La administración de estos aminoácidos, en situaciones de estrés, mejoran el estado del GALT (Gil & Rueda, 2002). Se ha demostrado que la administración de glutamina previene la atrofia de la mucosa intestinal que se observa en la nutrición parenteral; igualmente, en un modelo animal de endotoxemia, se demostró que la administración oral de glutamina mejoró los niveles de las células inmunes intestinales (Li *et al.*, 1998; Manhart *et al.*, 1999). Estos estudios indican que la leche materna, además de proveer inmunidad pasiva, contiene nutrientes que modulan la respuesta inmune intestinal.

El estímulo más importante para el desarrollo del sistema inmune intestinal es la colonización microbiana del intestino (De La Cochetière *et al.*, 2007). Al nacimiento, el intestino del recién nacido es estéril. Durante el proceso del parto y posterior a este, los microorganismos de la madre y del medioambiente circundante colonizan el intestino hasta constituir el ecosistema microbiano llamado microbiota intestinal. Este ecosistema está formado por, aproximadamente, 400 especies bacterianas y, una vez establecido, es muy estable en su composición. La microbiota intestinal cumple con funciones fisiológicas, nutricionales y de defensa del organismo (Tabla 6.4). Ayuda en la digestión de macronutrientes, producción de ácidos grasos de cadena corta y en la síntesis de vitaminas. Además, constituye una barrera de defensa contra microorganismos patógenos, limitando su crecimiento y mejorando la inmunidad intestinal al estimular el GALT.

Tabla 6.4 – Importancia de la microbiota intestinal.

Favorece el desarrollo del sistema inmune intestinal
Favorece el desarrollo del sistema nervioso intestinal
Compite con microorganismos patógenos
Metaboliza macronutrientes que llegan al intestino grueso
Produce ácidos grasos de cadena corta
Degrada la mucina intestinal
Convierte el urobilinógeno en urobilina
Convierte el colesterol en coprostanol
Degrada la urea
Permite la circulación enterohepática de ácidos biliares, bilirrubina, entre otros
Puede generar metabolitos carcinogénicos
Puede causar daño directo de la mucosa en condiciones anormales

Existen varios factores que modulan el establecimiento de la microbiota intestinal como el tipo de parto, la dieta, la carga genética del huésped, el uso de fármacos (antibióticos), entre otros (Vance *et al.*, 2001). El parto vaginal implica que la colonización inicial de boca y estómago del recién nacido se haga por parte de las especies microbianas presentes en las heces fecales y en la microbiota vaginal de la madre (Mackie *et al.*, 1999). Los niños que nacen por cesárea se exponen a la microbiota de la madre pero además se exponen a las bacterias presentes en los equipos quirúrgicos y en el personal de salud presente en el momento del procedimiento quirúrgico. Esto determina que la composición de la microbiota intestinal sea distinta en niños nacidos por parto normal o por

cesárea. En términos generales, el recién nacido por vía vaginal es colonizado en los primeros días de vida por *Enterobacteriaceae* y por cocos Gram positivos, los mismos que crean un medioambiente adecuado para el establecimiento de *Bacteroides*, *Bifidobacterium* y *Clostridium* (Vance *et al.*, 2001).

Por otro lado, el consumo de leche materna facilita la colonización intestinal principalmente por *Bifidobacterium* y también por *Lactobacillus* y *Streptococcus*, mientras que la microbiota de los niños alimentados con fórmulas maternizadas contiene predominantemente coliformes y enterococos, *E. Coli* y *Klebsiella* (Harmsen *et al.*, 2000). La leche materna contiene complejos de oligosacáridos (fructanos, inulina) que no son susceptibles de degradación por las amilasas del lactante, sino que más bien actúan como prebióticos, facilitando la proliferación de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, que son abundantes en la microbiota normal del infante (De La Cochetière, 2007). Además, componentes de la microbiota intestinal como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* pueden producir compuestos biológicamente activos a partir de aminoácidos de la dieta. Estos aminoácidos son utilizados como sustratos en la generación de ácidos grasos de cadena corta, histamina, GABA (Devaraj *et al.*, 2013). Los componentes de la leche materna, incluido los aminoácidos libres, activamente contribuyen al establecimiento y mantenimiento de la microbiota intestinal así como también al desarrollo del intestino del lactante.

La microbiota intestinal estimula el desarrollo normal de la respuesta inmune intestinal (Cebra, 1999). Además, estimula la producción de moco, la síntesis y secreción de IgA por parte de los linfocitos B, y estimula también a los linfocitos T de la lámina propia intestinal. Tanto el moco como la IgA secretados en el lumen del intestino cubren y protegen la superficie intestinal contra patógenos intestinales (Field, 2005). Por otro lado, la microbiota y los componentes celulares y proteicos de la leche materna modulan la respuesta inmune intestinal por lo que limitan la inflamación y logran un equilibrio en la respuesta mediada por las células T cooperadoras (T- *helper cells*) (Lönnerdal, 2003; Coëffier *et al.*, 2001). Alteraciones en esta respuesta mediada están asociadas con enfermedades como alergias, enfermedad inflamatoria intestinal, entre otras.

Ya se ha indicado que componentes del nitrógeno no proteico de la leche materna como el glutamato y la glutamina contribuyen en la defensa del intestino al favorecer el mantenimiento de la barrera intestinal, lo que imposibilita el ingreso de posibles agentes patógenos. Fallas en la barrera intestinal en el periodo neonatal también se han asociado con atopía y alergias, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celiaca, y enfermedades autoinmunes como

la diabetes tipo 1 (Newburg & Walker, 2007). La administración de glutamina a pacientes con alteraciones de la barrera intestinal como las complicaciones de sepsis o la enfermedad inflamatoria intestinal, mejora la respuesta al estrés metabólico y el balance nitrogenado (Fontana *et al.*, 2006).

A pesar del evidente efecto benéfico de la leche materna en la nutrición y desarrollo del lactante, los mecanismos moleculares de estos efectos no han sido completamente establecidos. Claramente se necesitan más estudios para identificar los efectos del glutamato en el intestino del lactante y en el sistema inmune.

7. CONSIDERACIONES FINALES

El normal desarrollo del recién nacido está influenciado por el consumo del calostro y la leche materna, particularmente evidente en la maduración del aparato gastrointestinal y del sistema inmune asociado (GALT). Los componentes de la leche materna proveen los compuestos necesarios para que esta maduración sea posible. Los aminoácidos libres como el glutamato y la glutamina, presentes en altas concentraciones en la leche materna, tienen un papel importante en estos procesos de maduración y mantenimiento del infante y de sus sistemas inmune e intestinal. La presencia de un sistema específico de estimulación del glutamato a nivel gástrico podría ayudar a esclarecer cómo componentes únicos de la leche materna (glutamato libre) contribuyen en la maduración y desarrollo del infante.

8. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los miembros del Centro de Investigación Biomédica de la Universidad UTE por su apoyo en el desarrollo del presente trabajo.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTONI, C. *et al.* "Free glutamine and glutamic acid increase in human milk through a three-month lactation period". *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 31: 508-512, 2000a.

AGOSTONI, C. *et al.* "Free amino acid content in standard infant formulas: comparison with human milk". *J. Am. Coll. Nutr.* 4: 434-438, 2000b.

ALBARRACIN, S. L. *et al.* "L-glutamate: a key amino acid for sensory and metabolic functions". *Arch Latinoam Nutr.* 66: 101-112, 2016.

BALDEÓN, M. E. & GASKINS, H. R. “Diabetes and immunity”. In: *GERSHWIN, M. E.; GERMAN, B. & KEEN, C. L. Nutrition and Immunology Principles and Practice*. Totowa, Humana Press, 2000, pp. 301-311.

BALDEÓN, M. E. *et al.* “Free amino acid content in breast milk of adolescent and adult mothers in Ecuador”. *Springerplus*. 3: 104, 2014.

BALDEÓN, M. E. *et al.* “Free Amino Acid Content in Human Milk is Associated with Infant Gender and Weight Gain during the First Four Months of Lactation”. *Nutrients*. 11(9): 2239, 2019.

BARRY, J. M. “The use of glutamine and glutamic acid by the mammary gland for casein synthesis”. *Biochem. J.* 63: 669-676, 1956.

BURRIN, D. G. & STOLL, D. “Key nutrients and growth factors for the neonatal gastrointestinal tract”. *Clin.Perinatol.* 29: 65-96, 2002.

CACHO, N. T. & LAWRENCE, R. M. “Innate Immunity and Breast Milk”. *Front Immunol.* 8: 584, 2017.

CALDER, P. C. *et al.* “Early nutrition and immunity - progress and perspectives”. *Br. J. Nutr.* 96: 774-790, 2006.

CASTELLOTE, C. *et al.* “Premature Delivery Influences the Immunological Composition of Colostrum and Transitional and Mature Human Milk”. *J. Nutr.* 141: 1181-1187, 2011.

CEBRA, J. “Influences of microbiota on intestinal immune system development”. *Am. J. Clin. Nutr.* 69(5): 1046S-1051S, 1999.

CHANTRY, C. J.; HOWARD, C. R. & AUINGER, P. “Full breast feeding duration and associated decrease in respiratory tract infection in US children”. *Pediatrics*. 117: 425-432, 2006.

CHUANG, C-K. *et al.* “Free amino acids in full-term and pre-term human milk and infant formula”. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 40: 496-500, 2005.

COEFFIER, M. *et al.* “Influence of glutamine on cytokine production by human gut in Vitro”. *Cytokine*. 13: 148-154, 2001.

COMMARE, C. E. & TAPPENDEN, K. A. “Development of the infant intestine: implications for nutrition support”. *Nutr. Clin. Pract.* 22(2): 159-173, 2007.

- DE LA COCHETIÈRE, M. F. *et al.* “Intestinal microbiota in neonates and pre-term infants: a review”. *Curr. Pediatr. Rev.* 3: 21-34, 2007.
- DEVARAJ, S.; HEMARAJATA, P. & VERSALOVIC, J. “The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes”. *Clin Chem.* 59: 617-628, 2013.
- FERREIRA, I. M. “Quantification of non-protein nitrogen components of infant formulae and follow-up milks: comparison with cow’s and human milk”. *Br. J. Nutr.* 7: 1-23, 2003.
- FIELD, C. J. “The Immunological components of human milk and their effect on immune development in infants”. *J. Nutr.* 135:1-4, 2005.
- FONTANA, L. *et al.* “Compuestos nitrogenados de interés en nutrición clínica”. *Nutr. Hosp.* 21: 15-29, 2006.
- GIL, A. & RUEDA, R. “Interaction of early diet and the development of the immune system”. *Nutr. Res. Rev.* 15: 263-292, 2002.
- GOLDMAN, A. “The Immune System in Human Milk and the Developing Infant”. *Breastfeed Med.* 2(4): 195-204, 2007.
- GÓMEZ-GALLEGO, C. *et al.* “The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity”. *Semin Fetal Neonatal Med.* 21: 400-405, 2016.
- GREE, F. R. “Feeding the premature infant in the 20th century”. *J. Nutr.* 131: 426S-430S, 2001.
- HALL, J. C. *et al.* “A prospective randomized trial of enteral glutamine in critical illness”. *Intensive Care Med.* 29: 1710-1716, 2003.
- HARMSSEN, H. J. *et al.* “Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods”. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 30(1): 61-67, 2000.
- HOWIE, P. W. *et al.* “Protective effect of breast feeding against infection”. *Br. Med. J.* 300: 11-16, 1990.
- JOCHUM, F. *et al.* “Total glutamine content in human milk is not influenced by gestational age”. *Acta Paediatrica.* 95(8): 985–990, 2006.

KOLETZKO, B, *et al.* “Growth, development and differentiation: a functional food science approach”. *Br. J. Nutr.* 80(Suppl 1): S5-S45, 1998.

LAWRENCE, R. *Lactancia Materna: Una Guía para la Profesión Médica.* 6. ed., Elsevier-España, 2007.

LI, J. *et al.* “Glycyl-L-glutamine enriched total parenteral nutrition maintains small intestine gut associated lymphoid tissue and upper respiratory tract immunity”. *Journal of Parenteral and Enteral Nutr.* 22: 31-36, 1998.

LI, N. *et al.* “Glutamine regulates Caco-2 tight junction protein”. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 287: G729-G733, 2004.

LI, S. *et al.* “Characterization of stem cells and immune cells in preterm and term mother’s milk”. *Journal of Human Lactation.* 35: 528-534, 2019.

LIU, B. & NEWBURG, D. S. “Human milk glycoproteins protect infants against human pathogens”. *Breastfeed Med.* 8: 354-362, 2013.

LIU, T. *et al.* “Effects of dietary glutamine and glutamate supplementation on small intestinal structure, active absorption and DNA, RNA concentration in skeletal muscle tissue of weaned piglets during d 28 to 42 of age”. *Asian-Aust J. Anim. Sci.* 15: 238-242, 2002.

LÖNNERDAL, B. “Nutritional and physiologic significance of human milk proteins”. *Am. J. Clin. Nutr.* 77(6): 1537S-1543S, 2003.

MACKAY, I. R.; ROSEN, F. S. & ZINKERNAGEL, R. M. “Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases”. *N. Engl. J. Med.* 345: 1331-1335, 2001.

MACKIE, R.; SGHIR, A. & GASKINS, H. R. “Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract”. *Am. J. Clin. Nutr.* 69S: 1035S-1045S, 1999.

MANHART, N. *et al.* “Effects of orally administered glutamine on lymphocyte subpopulations in Peyer’s patches in endotoxin boosted mice”. *Immunol. Lett.* 69: 25-33, 1999.

MARANTE, J. *et al.* “Usos de la glutamina en pediatría”. *MedUNAB.* 8(1 Supl. 1): S37-S42, 2005.

MELBOURNE, T. *et al.* “The glutamine/glutamate couplet and cellular function”. *News. Physiol. Sci.* 16: 157-160, 2001.

- NEU, J. "Glutamine in the fetus and critically ill low birth weight neonate: metabolism and mechanism of action". *J. Nutr.* 131(9 Sppl): 2585S-2589S, 2001.
- NEWBURG, D. S. & STREET, J. M. "Bioactive materials in human milk, milk sugars sweeten the argument for breast-feeding". *Nutr. Today.* 32: 191-201, 1997.
- NEWBURG, D. S. & WALKER, W. A. "Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk". *Pediatr. Res.* 61: 2-8, 2007.
- OMS. *Organización Mundial de la Salud. Estrategia Mundial para la Alimentación del Lactante y del Niño pequeño.* Ginebra, 2003.
- PAMBLANCO, M. *et al.* "Free aminoacids in preterm and term milk from mothers delivering appropriate- or small-for-gestational-age infants". *Am. J. Clin. Nutr.* 50: 778-781, 1989.
- PERIN, N. M.; CLANDININ, T. & THOMSON, B. R. "Importance of milk and diet on the ontogeny and adaptation of the intestine". *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 24: 419-425, 1995.
- PLAUTH, M. *et al.* "Effects of vascular or luminal administration and of simultaneous glucose availability on glutamine utilization by isolated rat small intestine". *Int. J. Colorect. Dis.* 14: 95-100, 1999.
- POLIN, R. A.; FOX, W. W. & ABMAN, S. H. *Fetal and Neonatal Physiology.* 3. ed., Philadelphia, Elsevier, 2004, p. 275.
- REEDS, P. J. *et al.* "Intestinal glutamate metabolism". *J. Nutr.* 130: 978S-982S, 2000.
- REEDS, P. J. & BURRIN, D. G. "Glutamine and the Bowel". *J. Nutr.* 131: 2505S-2508 S, 2001.
- RIVERÓN, R. "Valor inmunológico de la leche materna". *Rev Cubana Pediatr.* 67(2), 1995.
- SARWAR, G. *et al.* "Free amino acids in milks of human subjects, other primates and non-primates". *Brit. J. Nutr.* 79: 129-131, 1998.
- SHERMAN, M. P. "Human milk, fatty acids, and the immune response: a new glimpse". *Am. J. Clin. Nutr.* 72(5): 1071-1072, 2000.

SINGH, P. & SAXENA, S. K. “Free Glutamic acid content of milk in Indian Mothers”. *Indian J. Physiology Pharmacology*. 48: 365-369, 2004.

SPITZER, A. R. *Intensive care of the fetus and neonate*. St. Louis, Mosby-yea, 1996, p. 843.

VAN SADELHOFF, J. H. J. *et al.* “Longitudinal variation of amino acid levels in human milk and their associations with infant gender”. *Nutrients*. 10(9): 1233, 2018.

VANCE, J.; MCCRACKEN, V. J. & LORENZ, R. G. “The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota”. *Cell. Microbiol.* 3: 1-11, 2001.

VIÑA, J. *et al.* “Involvement of gamma-glutamyltransferase in amino-acid uptake by the lactating mammary gland of the rat”. *Biochem. J.* 194: 99-102, 1981.

VIÑA, J. R. & WILLIAMSON, D. H. “Utilization of L-arginine and L-glutamine by lactating mammary gland of the rat”. *Biochem. J.* 196: 757-762, 1981.

VIÑA, J. R. *et al.* “Effect of fasting on amino acid metabolism by lactating mammary gland: studies in women and rats”. *J. Nutr.* 117: 533-538, 1987.

WARD, P. P.; URIBE-LUNA, S. & CONNEELY, O. M. “Lactoferrin and host defense”. *Biochem. Cell Biol.* 80: 95-102, 2002.

WU, G. “Intestinal mucosal amino acid catabolism”. *J. Nutr.* 128: 1249-1252, 1998.

ZINKERNAGEL, R. M. “Maternal antibodies, childhood infections, and autoimmune diseases”. *N Engl. J. Med.* 345: 1331-1335, 2001.

ASPECTOS ENDOCRINOS DEL GLUTAMATO

*Miguel Arcanjo Areas
André Schwambach Vieira*

1. EFECTOS FISIOLÓGICOS

El glutamato monosódico (GMS) y todas las demás sales del ácido glutámico disociadas en soluciones acuosas son idénticos al propio ácido glutámico (GLU), el cual se encuentra ligado a muchos alimentos proteicos y también en su forma libre, en determinados alimentos. El GMS se utiliza en la industria alimentaria para aumentar el sabor de alimentos como sopas, salsas, pizzas y condimentos, consumidos principalmente por la población de los países asiáticos. Además se usa para reducir el contenido de sodio en los alimentos (Maluly *et al.*, 2017).

Aproximadamente, el 95% del GLU derivado del alimento (ligado o añadido) es utilizado como fuente de energía por el enterocito de la mucosa intestinal. En individuos adultos sanos, el GLU puede ser sintetizado de forma endógena en cantidades adecuadas y, por lo tanto, es considerado un aminoácido no esencial, siendo su *turnover* diario de aproximadamente 48 g (Świąch *et al.*, 2010). En la luz intestinal, la cinética de absorción del GLU proveniente de los alimentos proteicos es influenciada por el tiempo de retención en el estómago, por la mezcla con el quimo en el intestino y además por el intenso catabolismo de los aminoácidos no esenciales en la mucosa intestinal (Burrin *et al.*, 2008).

Estudios recientes comprueban que el GLU es el sustrato oxidativo más importante de la mucosa intestinal, además de ser un precursor específico para los aminoácidos arginina y prolina, así como también es un elemento clave para los neurotransmisores entéricos. Este hecho puede constituirse en un potencial terapéutico para la mejora de la función intestinal de neonatos (Janeczko *et al.*, 2007). De esta manera, se puede deducir que el GLU de la dieta sería un factor indispensable para mantener la integridad funcional de la mucosa intestinal.

La absorción del GLU a través de la membrana del enterocito ocurre por transportadores independientes del Na⁺, y no hay diferencias de captación en el lumen entre el GLU liberado de proteínas, el GLU libre o el GLU como un aditivo alimentario (Janeczko *et al.*, 2007). Por otro lado, la barrera placentaria controla la transferencia de glutamina al feto en situaciones de alta concentración plasmática materna debido a que el metabolismo placentario del GLU constituye un factor fisiológico limitante dosis-dependiente (Gao *et al.*, 1994).

De hecho, un estudio con hembras primates no humanas demostró que solo una pequeña fracción del GLU materno administrado por vía intravenosa fue transferida a la circulación fetal, porque la placenta es capaz de extraer el GLU tanto de la circulación materna como de la fetal para usarlo como una importante fuente de energía (Gao *et al.*, 1994). A fin de saber los niveles plasmáticos a partir de los cuales este fenómeno ocurre, se administraron por vía intravenosa diferentes concentraciones de GMS a hembras de monos *Rhesus* preñadas. Las placentas de estos animales presentan características morfológicas y fisiológicas similares a la placenta humana. Se observó que hubo un aumento del nivel plasmático fetal superior a 440 µg/mol/L solo cuando los animales fueron expuestos a una alta concentración de GMS (0,40 g/kg p.c.) asociado a un alto nivel plasmático materno (2800 µg/mol/L), valor muy superior a la concentración basal (50 µg/mol/L). Un nivel plasmático materno entre 2000 y 2500 µg/mol/L fue identificado como barrera limitante para la transferencia del GLU materno al feto (Newman *et al.*, 1973).

Estudios electrofisiológicos y conductuales sugieren que el GLU es una de las moléculas responsables por el quinto gusto básico (umami), diferente del gusto dulce, ácido, salado y amargo o de la combinación de ellos (Jinap & Hajeb, 2010). Estudios electrofisiológicos en perros, realizados con fibras eferentes del nervio cuerda del tímpano, demostraron la existencia de células gustativas responsivas a la aplicación de GLU en la lengua, independientemente de la estimulación de receptores de sodio (Ninomiya *et al.*, 2000). Estudios en ratas identificaron un tipo de receptor para el gusto umami con semejanzas farmacológicas al receptor

metabotrópico para el GLUsubtipo-4 (mGLU-R4). En los seres humanos, estos fueron relacionados con la percepción e intensidad del gusto umami para una variedad de agonistas de receptores del GLU, probablemente metabotrópico, similar al mGLU-R4 (Shigemura *et al.*, 2009). Además, también se detectaron receptores de GMS en el interior del estómago de perros, asociados con el aumento de la motilidad posprandial y con la aceleración del vaciado gástrico, siendo la señal mediada por el nervio vago. (Toyomasu *et al.*, 2010). La administración de GMS en el estómago, duodeno y vena porta activa las fibras nerviosas aferentes vagales en el estómago, intestino e hígado, lo que sugiere la existencia de receptores sensibles al GMS asociados a la inervación vagal aferente presente en estas estructuras (Kondoh & Torii, 2008b). De hecho, se han encontrado receptores GLU metabotrópicos (mGLU) en células no neurales del estómago y en los intestinos de ratas (Nakamura *et al.*, 2010). Tales receptores parecen jugar un papel crucial en la sensibilidad del tracto gastrointestinal a la presencia de nutrientes en los alimentos, y su activación es de gran importancia tanto en la regulación local de la motilidad y secreción como en la modulación de la actividad en diferentes regiones del sistema nervioso (Torii *et al.*, 2013).

La adición de GLU mejora la palatabilidad y el sabor de los alimentos (Barylko-Pikielna & Kostyra, 2007). De esta forma, sales de sodio o calcio de GLU aumentan la aceptabilidad de nuevos sabores en la industria alimentaria. Además, contribuyen al mantenimiento de la ingesta de alimentos en personas con reducida sensibilidad quimiosensorial, como suele ocurrir en las personas mayores. De hecho, la reducción de las sensaciones gustativas y olfativas puede disminuir el apetito, proporcionando una ingesta alimentar insuficiente, situación que se produce a menudo con el envejecimiento.

El tratamiento sintomático de esta condición incluye la intensificación del sabor y del olor de los alimentos en un intento de compensar, en parte, la pérdida de estas sensaciones. Para eso, son utilizados alimentos más sabrosos o aditivos alimentarios que realcen el sabor como, por ejemplo, el GMS. El aumento de la palatabilidad puede aumentar el flujo salival. Esto permite una mayor acción de la saliva sobre la formación del bolo alimenticio al inicio de la digestión oral de hidratos de carbono y mayor actividad bactericida de componentes de la saliva (lisozima) en la cavidad bucal. De esta manera, se contribuye a la aceptación del alimento (Bellisle, 2008). Además de la producción de saliva, el gusto umami también estimula la producción del jugo gástrico, la secreción exocrina pancreática y la secreción de insulina, participando así de forma eficaz en la función gastrointestinal (Khropycheva *et al.*, 2009; Nijima, 2000).

De esta manera, el GMS puede ser utilizado con cautela en la dieta a fin de aumentar la palatabilidad, así como también por especialistas en nutrición en la formulación de dietas sanas para personas que tienen baja ingesta de alimentos o problemas en las sensaciones olfativas y gustativas.

2. EFECTOS ADVERSOS

2.1. Sistema respiratorio

A partir de la descripción inicial del Síndrome del Restaurante Chino en 1968 (Kwok, 1968), se discute si la ingesta de GMS podría ser responsable por diferentes síntomas alérgicos como asma, urticaria y rinitis. En 1981, los investigadores relacionaron casos de crisis asmática con la ingesta de 2,5 g de GMS, añadiendo este síntoma a aquellos atribuidos al Síndrome del Restaurante Chino (Allen *et al.*, 1987). Posteriormente, otros investigadores condujeron un experimento con un grupo de individuos asmáticos, bajo la premisa de que la adición de GMS a la dieta sería la causa del problema respiratorio (Yang *et al.*, 1997). Durante ese lapso de tiempo, se realizó un estudio de doble ciego con personas asmáticas, placebo controlado, con seguimiento de la función pulmonar. No se observaron efectos significativos del GMS sobre la función respiratoria ni tampoco broncoespasmo (Woods *et al.*, 1998). Además, se evaluó la posibilidad de que la ingesta de GMS indujera broncoespasmo en 78 individuos asmáticos sensibles o no al GMS. No se observaron cambios significativos en la función pulmonar de estos individuos independientemente de su intolerancia al GMS (Williams & Woessner, 2009). De este modo, si por un lado hay alguna evidencia de que la ingestión de grandes dosis de GMS (43 g) por individuos con el estómago vacío, sin la ingesta concomitante de alimentos, podría provocar algunas de las reacciones alérgicas descritas anteriormente; por otro lado, sería inadecuado concluir que, en las condiciones recomendadas, el consumo de GMS pudiera inducir tales síntomas.

Entonces, no hay pruebas consistentes de que el aumento plasmático de GMS pueda desencadenar crisis asmáticas (Freeman, 2006).

2.2. Sistema nervioso central

La barrera hematoencefálica (BHE) restringe y regula el flujo de sustratos entre la circulación sanguínea y el sistema nervioso central. Para cruzar esta barrera, las sustancias deben presentar propiedades lipofílicas o ser acarreadas por transportadores específicos. El GLU es una sustancia polar; por lo tanto, su

afluencia pasiva se limita a menos del 1% de aquel que se produce en los vasos sanguíneos de otros tejidos. Aunque la BHE tiene baja permeabilidad al GMS, la presencia de transportadores con alta afinidad al glutamato, localizados en la membrana luminal de los capilares de la BHE, puede facilitar la captación del GMS y, de esta manera, su transporte hasta el cerebro. En el caso de lesiones en la BHE, el GLU de la sangre, en concentración plasmática considerada fisiológica, también puede atravesar esta barrera y causar efectos tóxicos al sistema nervioso central (Xiong *et al.*, 2009).

Como el tracto gastrointestinal tiene alta capacidad de metabolizar el GLU, la ingesta alimentar del GLU (libre o ligado) tiene poco impacto en los niveles plasmáticos. Sólo altas concentraciones (550 $\mu\text{mol/L}$, por ejemplo) pueden provocar un aumento transitorio en el nivel plasmático. Consecuentemente, el GLU derivado de alimentos (incluyendo el GMS en cantidades normales de menos de 1 g/día) no aumentaría el riesgo de efectos tóxicos para el sistema nervioso central en casos de lesión de la BHE, siempre y cuando la concentración plasmática no esté aumentada.

La glutamina actúa sobre el sistema nervioso central como un neurotransmisor excitatorio. Por lo tanto, el GLU debe mantenerse dentro de las células concomitantemente con bajas concentraciones extracelulares. Este hecho se verifica por la rápida eliminación del GLU liberado en el terminal sináptico por la acción de astrocitos, células nerviosas que son importantes para la nutrición de las neuronas, así como por el mecanismo de transporte activo proporcionado por la BHE. Esto asegura que el nivel de GLU en el líquido cerebrospinal sea ligeramente inferior a su concentración plasmática (Xiong *et al.*, 2009).

2.3. Sistema cardiovascular

Estudios en ratas adultas tratadas con GMS en el periodo neonatal mostraron una reducción de la presión arterial en respuesta a la inyección aguda de L-NAME (Tokarev & Jezová, 2000), sustancia inhibidora de la síntesis endotelial de óxido nítrico (NO). Esto porque el NO presenta un potente efecto vasodilatador (Hetrick & Schoenfisch, 2009). Además, el NO endotelial es uno de los más importantes moduladores del tono del músculo liso vascular. Por consiguiente, el efecto del GMS puede estar relacionado tanto con la alteración de la síntesis de NO endotelial como con anomalías en el tono del músculo liso vascular. De forma similar, otros estudios demostraron que la administración de GMS a ratas redujo la respuesta de la presión arterial tanto a la fenilefrina como a la angiotensina II. La fenilefrina es un agonista del receptor alfa-1-adrenérgico,

mientras que la angiotensina II es una sustancia endógena con potente acción vasoconstrictora. El tratamiento con GMS también redujo la reactividad vascular a la noradrenalina y a la serotonina (Tokarev *et al.*, 1997). Este hecho puede atribuirse a los probables efectos tóxicos causados por el GMS sobre el sistema nervioso central, alterando así el funcionamiento normal de la actividad simpática sobre el sistema cardiovascular (Tokarev *et al.*, 1997).

2.4. Sistema endocrino

La leptina (del griego *leptos* = magro) es una proteína secretada por adipocitos. Actúa sobre el sistema nervioso central (SNC), promoviendo una menor ingesta de alimentos y aumentando el metabolismo energético. Además afecta ejes hipotalámico-hipofisarios y regula mecanismos neuroendocrinos. La leptina es producida en el tejido adiposo blanco y en menor medida, en el tejido adiposo marrón, por los folículos de Graaf y placenta. La acción de la leptina en el sistema nervioso central (hipotálamo) promueve la reducción de la ingesta de alimentos y el aumento del gasto energético, además de regular la función neuroendocrina y aumentar el metabolismo de la glucosa y de las grasas. En personas con obesidad, mientras más grande es la cantidad de tejido adiposo, mayores son los niveles de leptina circulante. Este hallazgo es paradójico ya que altos niveles de leptina deberían disminuir el apetito y aumentar el gasto energético. De esta manera, de una forma similar a lo que ocurre en algunos individuos con diabetes mellitus, en los cuales los niveles de insulina están aumentados, es probable que en seres humanos con obesidad ocurra un aumento de la resistencia periférica a la leptina. La respuesta a esta paradoja se ha explicado por diversos mecanismos celulares, incluyendo un posible defecto en el transporte de la leptina a través de la barrera hematoencefálica, o por una menor expresión de los receptores de leptina en personas con obesidad, asociada con la ingesta de dietas ricas en grasas (González *et al.*, 2010; Jéquier, 2002).

Algunos investigadores han descrito un modelo experimental que se asemeja a la situación clínica del síndrome metabólico, calificado como obesidad neuroendocrina. Esta obesidad puede obtenerse en ratas por medio de la administración subcutánea de GMS. De este modo, la acción del GLU en ratas en el periodo neonatal, cuando la BHE no está plenamente desarrollada, resulta en efectos tóxicos a las neuronas del núcleo arqueado del hipotálamo. Esto altera la cascada de señalización de la acción hipotalámica de la leptina, causando por consiguiente, hiperfagia, obesidad e hiperleptinemia (Iwase *et al.*, 1998). Además de la obesidad, en animales de experimentación, se ha observado tam-

bién cese del crecimiento, déficit comportamental y alteraciones en la glucemia plasmática, como consecuencia de los efectos endocrinos inducidos por el GMS en animales de experimentación.

Sin embargo, a diferencia de los efectos de la administración subcutánea, ratas jóvenes y adultas que ingirieron espontáneamente agua con GMS al 1%, redujeron el aumento de peso corporal y la grasa abdominal, así como los niveles plasmáticos de leptina. En estos animales se observó también que la ingestión de GMS (1%) no influyó la longitud naso-anal, la masa magra, la ingesta de alimentos y la ingesta calórica, la presión arterial, los niveles plasmáticos de glucosa, insulina, triacilglicérols, colesterol total, albúmina ni de GLU. Tales efectos pueden haber sido mediados por los receptores del GLU presentes en el tracto gastrointestinal, asociados con la inervación aferente vagal o con la inervación aferente sensorial de la cavidad bucal (Kondoh & Torii, 2008a).

Con relación a la hormona del crecimiento, la administración subcutánea de GMS (4 mg/kg p.c.) en ratas neonatales indujo cambios endocrinos caracterizados por la reducción del crecimiento, obesidad y disminución del peso de la hipófisis, mientras que los parámetros tiroideos no se alteraron. Esto indica que los efectos inhibitorios del GMS en la producción de la GH y sobre la propia hipófisis no se verifican en el eje hipófisis-tiroides (Miśkowiak & Partyka., 1993). En cuanto a la prolactina (PR) y a la hormona estimulante de melanocitos (MSH), la administración de GMS en ratas neonatas de ambos sexos no alteró las concentraciones plasmáticas de ambas hormonas (Bodnár *et al.*, 2001).

La acción del GMS sobre el eje hipotálamo-hipófisis se ejerce en una compleja red neuronal que involucra los sistemas monoaminérgicos y peptidérgicos. Así, la administración subcutánea de altas concentraciones de glutamato monosódico en ratas neonatas redujo en 40% el número de neuronas tuberoinfundibulares - tirosina hidroxilasa inmunopositivas (TH). Sin embargo, no alteró el número de células nerviosas tuberoinfundibulares L-aminoácido aromático descarboxilasa inmunopositivas (AADC). Esto indica que esta reducción se produjo principalmente en las células TH-positivas. Por otro lado, el GMS no alteró el número de neuronas TH y AADC inmunoreactivas de los sistemas dopaminérgico periventricular hipofisario y tuberohipofisario (Bodnár *et al.*, 2001).

Sin embargo, estudios en humanos han demostrado que la ingesta de GMS no altera la secreción hormonal de la hipófisis anterior. Por tanto, no modifica las secreciones de GH, TSH y LH. Esto sugiere que el glutamato derivado de la dieta, de acuerdo con las recomendaciones nutricionales, no penetra en las regiones hipotálamicas que controlan la función de la adenohipófisis (Fernstrom, 2000).

3. TOXICIDAD

De manera general, el GLU presenta baja toxicidad aguda en condiciones normales, siendo que en ratas y ratones, la dosis oral letal para el 50% de los animales estudiados (DL50) fue de 15000 y 18000 mg/kg p.c., respectivamente. Estudios de toxicidad subcrónica y crónica de duración superior a dos años, incluyendo la fase reproductiva, no revelaron ningún efecto adverso específico en ratas y ratones alimentados con dietas que contenían un 4% de GMS. Estudios teratológicos y sobre el sistema reproductivo, realizados después de la administración oral de GMS a la madre, indicaron que, mediante el transporte placentario, el feto y el neonato no fueron expuestos al GLU presente en la dieta materna (Gao *et al.*, 1994).

Pese a que estos resultados obtenidos de forma experimental permiten que algunas organizaciones garanticen la seguridad del GLU consumido en los niveles recomendados para la población en general, se aconseja que las organizaciones y los profesionales relacionados con la nutrición y la salud tengan la responsabilidad de orientar a la población sobre los efectos indeseables que puede causar el GLU en altas dosis.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, D.; DELOHERY, J. & BAKER, G. "Monosodium glutamate induced asthma". *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 80(4): 530-537, 1987.
- BARYŁKO-PIKIELNA, N. & KOSTYRA, E. "Sensory interaction of umami substances with model food matrices and its hedonic effect". *Food Quality and Preference*. 18(5): 751-758, 2007.
- BELLISLE, F. "Experimental studies of food choices and palatability responses in european subjects exposed to the umami taste." *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 17(Suppl 1): 376-379, 2008.
- BODNÁR, I. *et al.* "Effect of neonatal treatment with monosodium glutamate on dopaminergic and L-DOPA-ergic neurons of the medial basal hypothalamus and on prolactin and MSH secretion of rats". *Brain Research Bulletin*. 55(6): 767-774, 2001.
- BURRIN, D. G.; MICHAEL, J. J. & STOLL, B. "Emerging aspects of dietary glutamate metabolism in the developing gut". *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 17(Suppl 1): 368-371, 2008.

FERNSTROM, J. D. "Pituitary hormone secretion in normal male humans: acute responses to a large, oral dose of monosodium glutamate. *The Journal of Nutrition*. 130(4S Suppl): 1053S-1057S, 2000.

FREEMAN, M. "Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review". *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*. 18(10): 482-486, 2006.

GAO, J. *et al.* "Transplacental neurotoxic effects of monosodium glutamate on structures and functions of specific brain areas of filial mice". *Sheng Li Xue Bao*. 46(1): 44-51, 1994.

GONZÁLEZ, J. E. *et al.* "Leptin: a peptide with therapeutic potential in the obese". *Endocrinología y Nutrición*. 57(7): 322-327, 2010.

HETRICK, E. M. & SCHOENFISCH, M. H. "Analytical chemistry of nitric oxide". *Annual Review of Analytical Chemistry*. 2: 409-433, 2009.

IWASE, M. *et al.* "Obesity induced by neonatal monosodium glutamate treatment in spontaneously hypertensive rats: an animal model of multiple risk factors". *Hypertens Res*. 21(1): 1-6, 1998.

JANECZKO, M. J. *et al.* "Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs". *The Journal of Nutrition*. 137(11): 2384-2390, 2007.

JÉQUIER, E. "Leptin signaling, adiposity, and energy balance". *Annals of the New York Academy of Sciences*. 967: 379-388, 2002.

JINAP, S. & HAJEB, P. "Glutamate. Its applications in food and contribution to health". *Appetite*. 55(1): 1-10, 2010.

KHROPYCHEVA, R. *et al.* "Dietary monosodium glutamate enhances gastric secretion". *The Journal of Medical Investigation*. 56 Suppl: 218-223, 2009.

KONDOH, T. & TORII, K. "MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male sprague-dawley rats". *Physiology & Behavior*. 95(1-2): 135-144, 2008a.

KONDOH, T. & TORII, K. "Brain activation by umami substances via gustatory and visceral signaling pathways, and physiological significance". *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 31(10): 1827-1832, 2008b.

KWOK, R. H. "Chinese-restaurant syndrome". *The New England Journal of Medicine*. 278(14): 796, 1968.

MALULY, H. 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 Sci. Nutr*. 5(6): 1039-1048, 2017.

MIŚKOWIAK, B. & PARTYKA, M. "Effects of neonatal treatment with MSG (monosodium glutamate) on hypothalamo-pituitary-thyroid axis in adult male rats". *Histology and Histopathology*. 8(4): 731-734, 1993.

NAKAMURA, E. *et al.* "New frontiers in gut nutrient sensor research: luminal glutamate-sensing cells in rat gastric mucosa". *Journal of Pharmacological Sciences*. 112(1): 13-18, 2010.

NEWMAN, A. J. *et al.* "The administration of monosodium L-glutamate to neonatal and pregnant rhesus monkeys". *Toxicology*. 1(3): 197-204, 1973.

NIIJIMA, A. "Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity". *The Journal of Nutrition*. 130(4S Suppl): 971S-973S, 2000.

NINOMIYA, Y. *et al.* "Responses to umami substances in taste bud cells innervated by the chorda tympani and glossopharyngeal nerves". *The Journal of Nutrition*. 130(4S Suppl): 950S-953S, 2000.

SHIGEMURA, N. *et al.* "Genetic and molecular basis of individual differences in human umami taste perception". *PloS One*. 4(8): e6717, 2009.

ŚWIĘCH, E. *et al.* "The effects of supplementing a low-protein threonine-deficient diet with different sources of non-essential amino acids on nitrogen retention and gut structure in young pigs". *Archives of Animal Nutrition*. 64(1): 22-35, 2010.

TOKAREV, D. *et al.* "Treatment of neonatal rats with monosodium glutamate attenuates the cardiovascular reactivity to phenylephrine and angiotensin II". *Physiol. Res*. 46(3): 165-171, 1997.

TOKAREV, D. & JEZOVÁ, D. "Effect of nitric oxide inhibition on blood pressure and corticosterone responses in adult rats neonatally treated with glutamate". *Physiol Res*. 49(Suppl 1): S87-S94 2000.

TORII, K.; UNEYAMA, H. & NAKAMURA, E. “Physiological roles of dietary glutamate signaling via gut-brain axis due to efficient digestion and absorption.” *Journal of Gastroenterology*. 48(4): 442-451, 2013.

TOYOMASU, Y. *et al.* “Intragastric monosodium L-glutamate stimulates motility of upper gut via vagus nerve in conscious dogs”. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 298(4): R1125-R1135, 2010.

WILLIAMS, A. N. & WOESSNER, K. M. “Monosodium glutamate ‘allergy’: menace or myth?”. *Clin Exp Allergy*. 39(5): 640-646, 2009.

WOODS, R. K., *et al.* “The effects of monosodium glutamate in adults with asthma who perceive themselves to be monosodium glutamate-intolerant”. *J Allergy Clin Immunol*. 101(6 Pt 1): 762-771, 1998.

XIONG, J.S.; BRANIGAN D. & LI, M. “Deciphering the MSG controversy”. *Int J Clin Exp Med*. 2(4): 329-336, 2009.

YANG, W. *et al.* “The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study”. *J Allergy Clin Immunol*. 99(6, Part 1): 757-762, 1997.

GLUTAMATO ASPECTOS NEURONALES

*Sonia Luz Albarracín C.
Leonardo R. Lareo*

1. INTRODUCCIÓN

En la naturaleza se han identificado más de 300 moléculas de tipo aminoácidos, no todos ellos codificados genéticamente y por tanto no asociados estructuralmente a proteínas. Aunque en la mayoría de los organismos, se reconocen 20 aminoácidos con codificación genética, en algunos microorganismos se han identificado hasta 22 aminoácidos genéticamente codificados. Así, en las células eucarióticas, se han aislado otros aminoácidos que se sintetizan a partir de los genéticamente codificados y pueden constituir parte de sus proteínas. Otros cumplen funciones metabólicas específicas como precursores de moléculas nitrogenadas.

De todo este conjunto molecular, se destaca un aminoácido fundamental para los procesos vitales como los conocemos. Tiene un papel único en la incorporación del nitrógeno a los esqueletos de carbono de los aminoácidos no esenciales y es fundamental en los procesos de deaminación, y de detoxificación por remoción de los iones amonio (NH_4^+). Este particular aminoácido es el ácido glutámico (Glu, E), una de las más abundantes moléculas de la naturaleza, y junto con el ácido aspártico (Asp, D) son moléculas consideradas aminoácidos

dicarboxílicos. En su forma fisiológica, el ácido glutámico se encuentra como glutamato y debido a la presencia de tres grupos atómicos con posibilidad de adquirir carga, tiene igual número de formas químicas, además de su forma como zwitterión. Esto le confiere propiedades de adaptabilidad estructural que permiten explicar su abundancia en la materia viva, en especial para su enantiómero L-Glu. Dentro de la amplia gama de funciones de este aminoácido “sobresaliente” se encuentra la de ser esencial para el funcionamiento del sistema nervioso central, lo cual constituye el tema principal de este capítulo.

Antes de iniciar, es necesario hacer mención a la propuesta reciente de que el glutamato es una de las moléculas responsables de la evolución del cerebro desde los primates hasta la hominización en sí misma (Burki & Kaessmann, 2004). Los autores demuestran cómo la evolución del cerebro, desde prosimios y primates hasta el cerebro homínido, se lleva a cabo paralelamente a la evolución adaptativa de los genes de algunas enzimas responsables del metabolismo del glutamato, principalmente la glutamato deshidrogenasa mitocondrial y la citosólica. Por lo anterior, se hace pertinente una revisión en este capítulo sobre los procesos metabólicos y fisiológicos del glutamato en el sistema nervioso central.

2. EL CEREBRO HUMANO

En el sistema nervioso central (SNC) residen todas las funciones superiores del ser humano, tanto las cognitivas como las emocionales. Está formado por el encéfalo (constituido por cerebro, cerebelo y tronco encefálico) y la médula espinal con los nervios periféricos. Se encuentra protegido en su parte superior por el cráneo y en la parte inferior por la columna vertebral. En los seres humanos, el cerebro es un órgano que tiene un peso entre 1,3 y 1,4 kg en la edad adulta representando el 2% del peso de un adulto masculino promedio de 70 kg. En recién nacidos el peso está entre 350 a 400 g. Con respecto al volumen, tiene en promedio 1700 mL de los cuales un 80% corresponde a la masa encefálica, 10% a sangre y el restante 10% a líquido cerebroespinal (Rengachary & Ellenbogen, 2005).

El cerebro, como órgano, está constituido por dos tipos de células: las neuronas y la glía. Aunque el número de neuronas que constituyen un cerebro es un dato siempre aproximado - debido, tanto a la propia variabilidad biológica como también a los métodos empleados para hacer los estimados. Sin embargo, se han calculado en promedio entre 100 billones y un trillón, o sea entre 10^{11} y 10^{12} neuronas. Las células gliales en el SNC de los vertebrados se pueden clasificar en macroglía y microglía (Lent *et al.*, 2012) y su número estimado es entre 10 y

50 veces el número de neuronas; es decir, el cerebro completo estará constituido, aproximadamente, por 1×10^{12} y 5×10^{13} células.

Por otro lado, una de las características más relevantes del cerebro como órgano y de sus células es la capacidad de conectividad para formar circuitos, mediados por sinapsis neuronales, en promedio 10^{14} (Lent *et al.*, 2012). Sin embargo, en los últimos años también se ha descrito un nivel de conectividad particular entre las células gliales mediado por el transporte iónico con funciones regulatorias específicas.

3. LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

El cerebro está protegido del paso de sustancias por una estructura dinámica y compleja denominada barrera hematoencefálica (BHE) (BBB nas siglas do nome em inglês, Brain Blood Barrier) (Abbott, 2013).

La barrera hematoencefálica limita el influjo al cerebro de sustancias químicas del torrente sanguíneo y es un complejo conjunto de membranas intrinsecamente vinculadas entre sí, entre las que se encuentran: células endoteliales del sistema sanguíneo cerebral, células epiteliales del plexo coroideo, las membranas aracnoides y los astrocitos. Todas estas estructuras forman una capa conectada por uniones estrechas. Esta barrera es prácticamente impermeable ya que la mayoría de las sustancias tienen una muy limitada difusión. Sin embargo, la BHE cuenta con diversos mecanismos especializados de transporte que facilitan el influjo y eflujo de algunas moléculas (Abbott, 2013). Por ejemplo, en el caso del glutamato, la BHE es prácticamente impermeable ya que este aminoácido ingresa al cerebro por difusión simple en menos del 1% de la concentración plasmática. Por lo anterior, este proceso restringido de difusión es, aparentemente, independiente de la concentración plasmática de glutamato (Price *et al.*, 1984).

Los sistemas transportadores para aminoácidos existentes en la BHE se han agrupado en un sistema L1 que transporta aminoácidos neutros, un sistema Y⁺ que transporta los aminoácidos básicos, un sistema X⁻ que transporta los aminoácidos dicarboxílicos y un sistema T que transporta hormonas tiroideas (Sharif *et al.*, 2018).

El sistema X⁻ de alta afinidad, que transporta el glutamato del plasma hacia el cerebro, tiene dos formas: una dependiente y otra independiente de sodio, ambas de baja capacidad, saturables y con competitividad entre el aspartato y el glutamato. Aunque aún no se ha identificado la molécula protei-

ca que hace el transporte del glutamato, se ha evidenciado que existe en la membrana luminal capilar. Por otro lado, se ha demostrado la existencia de un sistema que transporta el glutamato del cerebro al plasma que es dependiente de sodio y también es saturable (Lee *et al.*, 1998). La capacidad transportadora del sistema X⁻ es significativamente menor que la de los sistemas L1 y Y⁺. Un aspecto esencial del transporte de glutamato al cerebro es que el sistema X⁻ se encuentra saturado a un 80% a los niveles plasmáticos normales, lo que permite predecir un incipiente influjo de este aminoácido desde el plasma hacia el cerebro (Hawkins *et al.*, 2006).

4. LAS NEURONAS

Las neuronas son las células funcionales del tejido nervioso y se interconectan formando redes de comunicación que transmiten señales por diferentes zonas del cerebro. Entonces, las funciones complejas del sistema nervioso son consecuencia de la interacción entre redes de neuronas y no el resultado de las características específicas de cada neurona individual (Alvarez & Sabatini, 2007).

La forma y estructura de cada neurona se relaciona con su función específica, por ejemplo recibir señales desde receptores sensoriales, conducir estas señales como impulsos nerviosos o transmitir las señales a otras neuronas o a células efectoras. Desde el punto de vista celular, las neuronas son altamente polarizadas y en ellas se pueden distinguir dos zonas diferentes: el compartimento somatodendrítico y los axones. El primero está constituido por el pericarión o soma en donde residen el núcleo y los principales organelos y del cual se desprenden las numerosas dendritas que aumentan el área de superficie celular disponible para recibir información. Las dendritas son prolongaciones protoplasmáticas ramificadas que nacen del soma aumentando la superficie de recepción de estímulos de la neurona. Se caracterizan por presentar pequeñas proyecciones membranales, las espinas dendríticas, que miden entre 0,5 y 2 μm de longitud y albergan los componentes moleculares pre y postsinápticos y algunos organelos. Existen entre 10 y 100 dendritas por μm^2 en las neuronas y reciben la mayoría, del orden del 90%, de las sinapsis excitatorias. Se calcula que el cerebro humano contiene aproximadamente 10^{13} dendritas (Nimchinsky *et al.*, 2002). El segundo (axones) se caracteriza por presentar una o varias prolongaciones o terminales axónicos. Estos permiten transmitir el impulso nervioso de una neurona hacia otras ramificándose en su porción terminal (telodendrón). El tamaño de las células nerviosas es muy variable pero su cuerpo celular puede llegar a medir hasta 150 μm (Stiles & Jernigan, 2010).

Las interacciones celulares y funcionales especializadas llamadas sinapsis son generadas entre dendritas o en la vecindad de los botones terminales de las ramificaciones del axón o el soma neuronal. Las sinapsis hacen posible la comunicación neuronal que puede ser básicamente eléctrica o química. En este capítulo se abordarán las características de la comunicación neuronal química que está mediada por la liberación de neurotransmisores desde el terminal presináptico. La función de estos neurotransmisores es favorecer la interacción con las estructuras sinápticas en el terminal postsináptico y generar una serie de procesos de señalización que se discutirán posteriormente (Alvarez & Sabatini, 2007; Südhof, 2018).

5. LA SINAPSI NEURONAL

Las sinapsis se pueden definir como contactos funcionales que comprenden una zona estrecha formada por membranas opuestas de dos estructuras neuronales. Así, el terminal presináptico presenta la maquinaria molecular que favorece la síntesis, el empaquetamiento en vesículas y la liberación de los neurotransmisores. Esto ocurre durante el potencial de acción mediante fusión vesicular calcio (Ca^{2+}) inducida. Además, son producidas otras moléculas proteicas relevantes como son los transportadores que recapturan los neurotransmisores del medio extracelular y los conducen al terminal presináptico, los canales de calcio voltaje dependientes y las moléculas de adhesión (Alvarez & Sabatini, 2007).

El terminal postsináptico es rico en receptores, proteínas de señalización, proteínas de andamio y complejo de proteínas de densidades postsinápticas (DPS). Estas estructuras responden a la liberación del neurotransmisor, activando diversas rutas de señalización y generando un nuevo potencial de acción.

Se han reportado varios grupos de proteínas de adhesión localizadas en las sinapsis que median la organización bidireccional de los compartimentos pre y postsináptico. Entre ellas se destacan las neurexinas, SynCAMs (*Synaptic cell adhesion molecules*), cadherinas tipo I y II, ephrinas y netrinas G1 y G2 que se expresan en el terminal presináptico e interactúan como ligandos específicos en el terminal postsináptico (Südhof, 2018). Así, proteínas de la familia de las ephrinas, como la ephrina B, han sido relacionadas con la direccionalidad de los axones. Estas proteínas de adhesión interactúan con diferentes proteínas estructurales y del citoesqueleto, como la espectrina, las densidades postsinápticas y otras proteínas que directa o indirectamente interactúan con el citoesqueleto, con enzimas y con proteínas de señalización (Südhof, 2018).

6. LOS NEUROTRANSMISORES

Un neurotransmisor es una molécula sintetizada, empaquetada en una vesícula y liberada selectivamente de una terminal presináptica por un mecanismo Ca^{2+} inducido. Posteriormente, interactúa con un receptor específico en una terminal postsináptica produciendo una respuesta fisiológica. Existen muchas moléculas que actúan como neurotransmisores y se pueden clasificar según su identidad química. Así, dentro de los denominados neurotransmisores clásicos se pueden mencionar la acetilcolina, que se libera en las sinapsis neuromusculares y glandulares y en diferentes regiones del sistema nervioso central. Actúa principalmente como un neurotransmisor excitador, pero también puede ejercer su acción inhibitoria. Dentro del grupo de las aminas biogénicas se destacan la serotonina cuyas vías modulan los comportamientos, la alimentación y el sueño y la dopamina que participa en la coordinación de los movimientos corporales, la motivación y los mecanismos de recompensa (Briguglio *et al.*, 2018). Además, están la epinefrina que se libera en diversas áreas del sistema nervioso central y del sistema nervioso autónomo, y la norepinefrina. Esta última está presente en varias áreas del sistema nervioso central y sistema nervioso autónomo, es excitatoria o inhibitoria y regula efectores simpáticos (Fuller, 1982).

Otro grupo de neurotransmisores clásicos son los aminoácidos. Entre estos se destaca el glutamato que es liberado por neuronas en todo el sistema nervioso central y es el neurotransmisor excitatorio más abundante. Más del 60% de las sinapsis excitatorias del SNC son glutamatérgicas (aproximadamente, 10^{12} - 10^{13} en el cerebro humano) (Eyigor *et al.*, 2012). Mientras que las neuronas que liberan ácido γ -amino butírico (GABA) son en su mayoría interneuronas, que pueden modular la excitabilidad de los circuitos neuronales regulando las neuronas glutamatérgicas y previniendo la hiperexcitación (Terunuma, 2018). De otra parte, la glicina se considera el neurotransmisor inhibitorio más abundante que actúa comúnmente en la médula espinal. Otras moléculas pequeñas como el óxido nítrico también actúan, potencialmente, como neurotransmisores.

7. COMPARTIMENTACIÓN DEL GLUTAMATO EN NEURONAS

El cerebro contiene grandes cantidades de glutamato pero solo una pequeña fracción se encuentra, normalmente, en el líquido extracelular. Aunque depende mucho de la región del cerebro que se esté analizando, la concentración global de glutamato es del orden de 5-15 mM por kg de peso fresco. La concentración en el fluido extracelular, 10-20% del volumen total del cerebro, es aproximadamente

de 3 a 4 μM , y en el líquido cerebrospinal (LCE) alcanza a ser 10 μM (Hamberger & Nyström, 1984).

De igual forma, el glutamato en el parénquima intercelular no está distribuido homogéneamente y existen compartimentos de baja concentración y otros en donde la acumulación del aminoácido es significativamente alta. Estos son los denominados reservorios de glutamato. Así, se pueden distinguir dos reservorios celulares que responden a una característica funcional diferente: a) un gran reservorio neuronal y b) un pequeño reservorio glial.

El reservorio metabólico neuronal está asociado a los intermediarios metabólicos del ciclo de Krebs. Estos son importantes en la neurotransmisión debido a que son requeridos para la síntesis de precursores de glutamato y GABA. Se ha calculado que el reservorio de glutamato en las terminales sinápticas puede alcanzar 20 a 30% del total (Fonnum, 1985). Mientras que el reservorio de glutamato en las terminales GABAérgicas es de entre 6-11 μM . En estas terminales, el glutamato se encuentra concentrado en las mitocondrias y su correspondiente componente citosólico es relativamente bajo (Fonnum, 1985).

La función del neurotransmisor glutamato implica la existencia de vesículas sinápticas que hacen posible mantener una alta concentración de moléculas en este compartimento. Así, se ha encontrado que la concentración de glutamato, en las vesículas es varias veces superior a su concentración en el citosol; es decir puede llegar a ser del orden de 0,1M (Omote *et al.*, 2011). De acuerdo con diferentes estudios de microscopía electrónica se ha observado que las vesículas sinápticas son orgánulos abundantes, relativamente pequeños, de tamaño uniforme, con un diámetro de 40 nm aproximadamente. Están constituidas por bicapas de fosfolípidos asociadas a proteínas y en el lumen se concentran diferentes tipos de neurotransmisores. Por ejemplo, glutamato y acetilcolina se almacenan en pequeñas vesículas redondas y claras al microscopio electrónico (Omote *et al.*, 2011).

Debido a que la síntesis de glutamato es principalmente mitocondrial, se requiere que este sea incorporado a la vesícula utilizando un transportador dependiente de gradiente electroquímico de protones. Este gradiente es generado por una ATPasa vesicular activada por Mg^{2+} (Christensen *et al.*, 1990). El glutamato almacenado en las vesículas sinápticas se recicla con una vida media del orden de minutos, aun en condiciones fisiológicas de captura activa. Este mecanismo de captura está bien descrito, así el Mg^{2+} activa la ATPasa responsable de generar el gradiente de energía a través de la membrana de la vesícula. La ATPasa, como bomba de protones, los impulsa hacia el lumen vesicular, creando un gradiente

de pH que acidifica el lumen (ΔpH) y un potencial de membrana ($\Delta\psi$) positivo en el interior. Esto conlleva a un transporte de Cl^- acoplado al influjo de glutamato. Este mecanismo de captura vesicular del glutamato es altamente conservado dentro de los vertebrados tanto para su especificidad de sustrato como para sus requerimientos (Moriyama & Yamamoto, 1995).

8. GLUTAMATO EN LOS ASTROCITOS

En las células gliales se encuentra la menor concentración de glutamato reportada en el tejido nervioso. Esto se puede explicar por su función clave de inactivar el glutamato durante la neurotransmisión mediante la producción de una molécula no neuroactiva, la glutamina. Así, la concentración de glutamina se calcula del orden de 22 mM y se estima una concentración de glutamato glial del orden de 4-5 mM (Berl, 1965).

La remoción del glutamato del espacio extracelular (sináptico) se hace posible a través de los transportadores de glutamato en las membranas tanto de astrocitos como de neuronas y son esenciales para el adecuado funcionamiento del sistema nervioso. Se conocen, por lo menos, cinco tipos de transportadores diferentes EAAT1 - EAAT5 (*Excitatory Acidic Amino Acid Transporter* de sus siglas en inglés), todos dependientes de sodio para el mecanismo de captura del aminoácido. Algunos transportadores, como EAAT1, se expresan preferencialmente en células gliales; mientras que los EAAT4 se encuentran asociados a los terminales postsinápticos (Storck *et al.*, 1992). Además, la expresión de EAAT2 se puede encontrar relacionada a neuronas y a los astrocitos protoplasmáticos (Pines *et al.*, 1992).

Los mecanismos de transporte para este grupo de moléculas se basan en los gradientes transmembranales de sodio, potasio y pH. El transporte de glutamato es electrogénico y estimulado por el potencial de membrana negativo. Los mecanismos de recaptura del glutamato están finamente regulados por múltiples factores y su desregulación parece tener una fuerte influencia en el inicio y desarrollo de desórdenes neurodegenerativos entre los que se encuentran la enfermedad de Alzheimer y la demencia asociada al virus de inmunodeficiencia humana.

Para la inactivación del glutamato se requiere de la actividad de enzimas localizadas selectivamente tanto en la glía (glutamina sintetasa – GS) como en las neuronas (glutaminasa, activada por fosfatos – PAG) (Norenberg, 1979), favoreciendo el ciclo glutamato-glutamina (Glu-Gln). Consistentemente,

se ha encontrado una baja concentración de glutamina en las terminales glutamatérgicas, lo que indica que en estas estructuras, la glutamina es utilizada como precursor de glutamato. Sin embargo, otras enzimas que metabolizan este neurotransmisor, como la glutamato deshidrogenasa (GDH), favoreciendo la disposición de esqueletos de carbono para la oxidación o para la síntesis de otras moléculas, se expresan tanto en neuronas como en astrocitos (Rothe *et al.*, 1994). Aunque el gradiente de concentración favorece el influjo de glutamato hacia el astrocito, se ha demostrado que, bajo condiciones fisiológicas normales, también se puede generar un transporte reverso asociado con corrientes elevadas de K^+ (Tasker *et al.*, 2012).

Por lo anterior, en los astrocitos se sintetizan, acumulan y liberan al medio extracelular, una gran variedad de moléculas que favorecen mecanismos de señalización intracelular y regulan las sinápsis glutamatérgicas y GABAérgicas. Estos son los denominados gliotransmisores (Mayorquin *et al.*, 2018). En particular, para el caso del glutamato, esta descarga o liberación puede ocurrir a través de una serie de mecanismos bien identificados como: la acción reversa de los transportadores (Tasker *et al.*, 2012), la apertura de canales iónicos (Kimmelberg *et al.*, 1990), la exocitosis dependiente de Ca^{2+} (Parpura *et al.*, 1994), la acción de transportadores cistina-glutamato (Warr *et al.*, 1999), los receptores purinérgicos ionotrópicos (Duan *et al.*, 2003) y las uniones estrechas o conexones (Mayorquin *et al.*, 2018).

Los canales iónicos purinérgicos proveen otra ruta para la descarga de glutamato al medio extracelular. Estos receptores activados por ATP presentan siete diferentes subunidades que pueden conformar complejos homoméricos y heteroméricos, formando poros selectivos (North, 2002). Se han encontrado evidencias que en este transporte se libera glutamato (Duan *et al.*, 2003; Mayorquin *et al.*, 2018). Los canales de las uniones estrechas forman poros entre las células adyacentes. Estos canales están formados por dos conexones o hemicanales que se componen de proteínas de tipo conexinas. Se ha reportado transporte de iones, inositol fosfato y glutamato a través de estos hemicanales o conexones. Lo anterior favorece el efecto de comunicación intracelular glial denominado gliotransmisión (Mayorquin *et al.*, 2018).

Este proceso esta mediado por la descarga de glutamato mediante un mecanismo de exocitosis dependiente de Ca^{2+} que requiere un incremento de la concentración intracelular del catión en los astrocitos. Para este mecanismo, los astrocitos poseen una maquinaria secretora que involucra un gran complejo de proteínas (Mayorquin *et al.*, 2018).

La liberación de glutamato en vesículas está mediada por exocitosis, lo cual implica la fusión entre las membranas vesicular y plasmática. Esto se puede monitorear en diversas células y en cultivo primario de astrocitos midiendo la capacitancia de la membrana (C_m), que se relaciona linealmente con el área de la membrana (Kreft *et al.*, 2004). Esta técnica se utilizó para probar la hipótesis de que un aumento en la concentración de calcio citosólico provoca un aumento en la C_m de células completas (Kreft *et al.*, 2004; Zorec *et al.*, 2016). Además, se ha evidenciado la presencia de proteínas vesiculares en los astrocitos, lo que implica la liberación de glutamato por esta vía. Estas vesículas astrocíticas exhiben una movilidad similar a las sinápticas encontradas en las neuronas (Zorec *et al.*, 2016).

En el SNC tiene lugar otro importante mecanismo de compartimentación entre los astrocitos y las neuronas durante la síntesis del tripéptido glutatión (GSH: γ -L-glutamil-L-cisteína-glicina). Esta molécula es de gran relevancia para proteger a las neuronas del ataque de las especies reactivas de oxígeno (ERO) producidas durante diferentes reacciones metabólicas. Los astrocitos presentan una mayor concentración de GSH y una mayor capacidad de secretar GSH al espacio extracelular para las neuronas y otras células cerebrales mediante la actividad de la γ -glutamil transferasa (γ GT). Sin embargo, la síntesis de GSH depende de la disponibilidad de la cisteína. La incorporación de este aminoácido ocurre en las neuronas a través de un transportador para aminoácidos excitatorios (EAATs), mientras que en los astrocitos ocurre a través del intercambiador cistina/glutamato (sistema Xc-) (McBean, 2002).

Se han reportado también canales aniónicos permeables a pequeñas moléculas orgánicas e inorgánicas (Mongin & Orlov, 2001). Estos canales son permeables a aminoácidos como taurina, aspartato y glutamato. Son particularmente activos en condiciones de hipoosmolaridad del astrocito, en que el glutamato puede ser liberado aun cuando se han bloqueado otras vías anteriormente descritas (Kimelberg *et al.*, 1990).

9. SÍNTESIS DEL GLUTAMATO

Dado que no hay una captura neta de glutamato desde el plasma, el glutamato debe ser sintetizado en el cerebro a partir de glucosa. Esto debido no solo a su importante papel como neurotransmisor, sino a que está involucrado en la síntesis de aminoácidos, proteínas y péptidos (Weil-Maleherbe, 1950), así como de otros precursores y en los procesos de detoxificación de amonio en el cerebro.

En el tejido cerebral ocurre una interesante variación del ciclo del ácido cítrico. El acetil-CoA y el oxaloacetato son condensados para formar el citrato. Luego, este es isomerizado a isocitrato que es oxidado para obtener α -cetogluturato, precursor directo de glutamato por transaminación. El GABA es producido a partir de glutamato por descarboxilación que puede ser catabolizado, vía transaminación, a semialdehído succínico seguido por la oxidación a succinato y oxaloacetato. Este ciclo es denominado como “el desvío del γ -aminobutirato” y tiene un importante papel en la integralidad de los procesos oxidativos en el tejido cerebral (Chowdhury *et al.*, 2007). El γ -aminobutirato actúa también como donador de los grupos amino. En la Figura 8.1 se presenta un esquema de esta ruta metabólica.

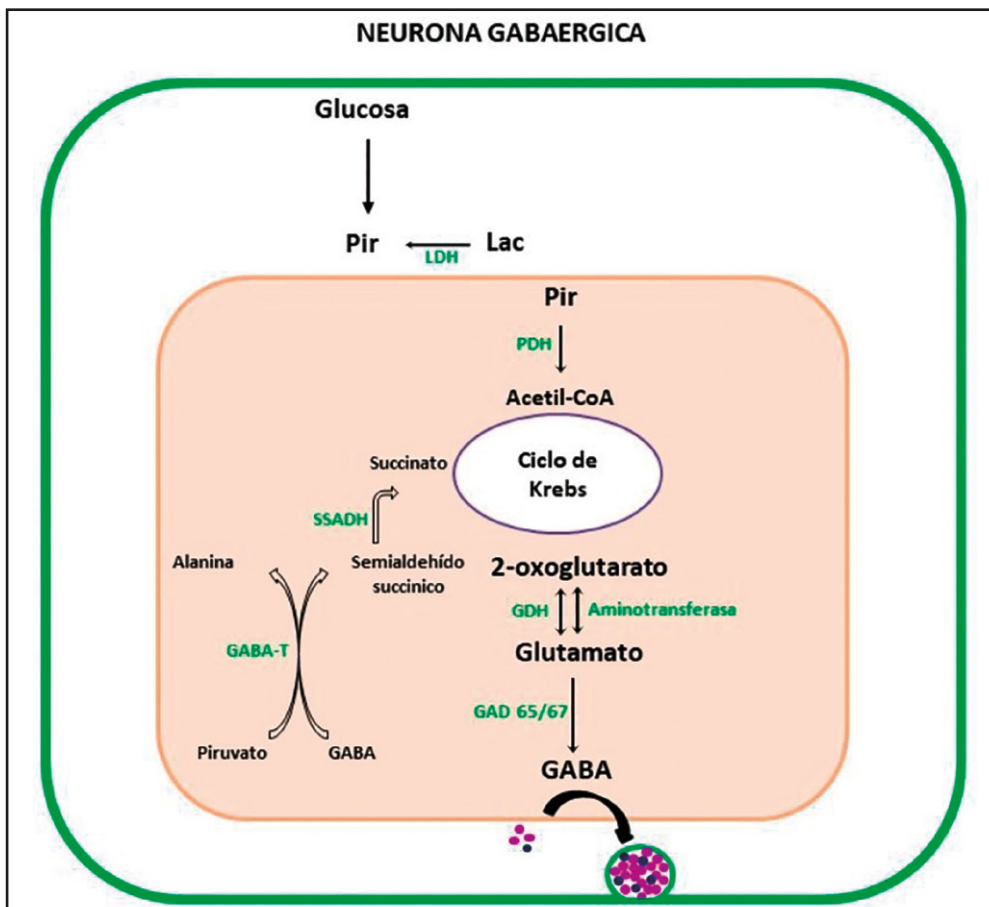


Figura 8.1 – Esquema de la ruta metabólica de la lanzadera del γ -aminobutirato. Se presentan los principales metabolitos involucrados en esta vía neuronal.

Fuente: figura elaborada por los autores.

Actualmente, se acepta que el ciclo glutamato-glutamina (Glu-Gln) tiene una importante función en el cerebro. Este ciclo no funciona en una forma estequiométrica exacta, ya que el Glu y la Gln son capturados y metabolizados tanto por los astrocitos como por las neuronas (Chowdhury *et al.*, 2007).

Es un consenso que la glutamina y el α -cetoglutarato derivados de la glucosa son los principales precursores del glutamato metabólico y neurotransmisor, tanto *in vivo* como *in vitro*. Sin embargo, parece que la glutamina es el sustrato preferido para la síntesis del glutamato como neurotransmisor (Yudkoff *et al.*, 1993). La enzima clave para esta reacción es la glutaminasa activada por fosfato (PAG) o glutamina amidohidrolasa.

Muchas enzimas están involucradas en el metabolismo del glutamato en el cerebro: la glutamina sintetasa (GS) ya mencionada; la glutamato descarboxilasa (GAD), que cataliza la formación del ácido GABA, a partir de glutamato y que se encuentra localizada en las neuronas GABAérgicas; la glutaminasa activada por fosfatos (PAG) que cataliza la generación de glutamato a partir de glutamina según la reacción $\text{Gln} \rightarrow \text{Glu} + \text{NH}_4^+$; la aspartato aminotransferasa, que cataliza la reacción $\text{Asp} + \alpha\text{-cetoglutarato} \leftrightarrow \text{Gln} + \text{oxaloacetato}$; y la glutamato deshidrogenasa (GDH), que cataliza la reacción $\text{Glu} + \text{NAD(P)} \leftrightarrow \alpha\text{-cetoglutarato} + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+$ (Sonnewald & Schousboe, 2016).

Las enzimas que catalizan reacciones específicas son solo algunos ejemplos del importante metabolismo del glutamato, a fin de garantizar la concentración y compartimentación. Esto hace posible el desarrollo de sus funciones, como neurotransmisor y metabolito activo en los procesos energéticos y de detoxificación en las neuronas.

10. EL GLUTAMATO COMO NEUROTRANSMISOR

La posibilidad de que el glutamato tuviera un especial significado en la función cerebral fue sugerida, inicialmente, por Weil-Maleherbe (1950). En 1956, Hayashi descubrió que los perros y monos a los que se les aplicaba glutamato, vía intracerebroventricular o intracarótida, sufrían de convulsiones (Hayashi, 1956). Posteriormente, se reportaron observaciones sobre la degeneración de la retina en ratones luego de la administración sistémica de glutamato, lo que parecía implicar la excitotoxicidad como mecanismo de muerte neuronal (Lucas & Newhouse, 1957). La demostración, al final de la década de 1950, sobre las acciones excitatorias y despolarizantes de este aminoácido sobre neuronas aisladas del SNC hicieron surgir las esperanzas sobre el descubrimiento del más importante neurotransmisor excitatorio del SNC.

La completa aceptación del glutamato como neurotransmisor no se alcanzó sino 20 años después. Aún en 1967 se podían leer afirmaciones como: “Las evidencias del glutamato como neurotransmisor son extremadamente débiles, razón por la cual solo se le considerara brevemente” (Kravitz, 1967). Actualmente, el papel del L-glutamato como neurotransmisor excitatorio en el sistema nervioso de los mamíferos es consenso fuera de cualquier duda razonable. También se le acepta con el mismo papel en otros vertebrados e invertebrados. Sin embargo, se requirieron importantes evidencias para demostrar que el glutamato se encuentra concentrado en vesículas sinápticas.

Estudios con análogos del glutamato han permitido dilucidar los requerimientos estructurales generales para la activación de sus receptores. La característica de ser aminoácido di-carboxílico, con un segundo grupo carboxilo en las posiciones β y γ , resultó ser esencial para la interacción. Por lo cual se ha evidenciado que la ausencia del grupo carboxilo del glutamato o del aspartato conlleva a la pérdida de su actividad excitatoria. La remoción del α -carboxilo resulta en moléculas de carácter inhibitorio, tal como ocurre con el GABA. Sustituciones del γ -carboxilo del glutamato por un sulfonato (DL-homocisteato) generan un compuesto más potente que el aminoácido precursor. Esta propuesta de mecanismo de interacción se conoce con el nombre “receptor de glutamato de tres puntos”, propuesto por Curtis & Watkins (1960).

Muchas otras fuentes de información y conocimiento consolidaron el papel del glutamato como neurotransmisor. Por ejemplo, que los niveles de este aminoácido son relativamente altos en las raíces dorsales aferentes (Curtis & Johnston, 1974). Así como la evidencia de que las neuronas de diferentes regiones del SNC muestran variabilidad en las sensibilidades al L-glutamato y L-aspartato, como se ha demostrado en el núcleo talámico y los cuernos dorsal y ventral de la médula espinal (Duggan 1974).

De otra parte, la primera relación entre el glutamato y el calcio apareció cuando se encontró que la liberación del neurotransmisor es parcialmente dependiente de la concentración extracelular de este ion (Bradford *et al.*, 1973). Posteriormente, se inició el desarrollo para dilucidar el papel de los agonistas y antagonistas sobre la transmisión sináptica. Este tipo de información y conocimiento se ha hecho posible en la medida en que los químicos se interesaron en la neurofarmacología y se empezó a evaluar un amplio tipo de moléculas con actividades sobre los receptores de glutamato.

Aunque inicialmente no se encontraron antagonistas, las actividades promisorias se alcanzaron cuando se evaluaban agonistas similares estructuralmente

al glutamato. Una de las primeras moléculas del L-glutámico que se sintetizó fue el N-metil-D-aspartato (NMDA) (Watkins, 1962). También se identificaron los ácidos kaínico y quisquálico dentro de un gran rango de sustancias obtenidas de productos naturales que mostraron actividad excitatoria (Watkins *et al.*, 1966). Posteriormente, fue sintetizado un análogo del ácido iboténico, el ácido- α -amino-3-hidroxi-5-metil-isoxazol-4-propiónico (AMPA), que mostró ser un poderoso excitador (Johnston *et al.*, 1968). Otros interesantes análogos evaluados en la época fueron el D- α -amino adipato (DAA), el γ -glutamil-aminometil-sulfonato (GAMS) y el glutamato dietilester (GDEE).

11. RECEPTORES DE NEUROTRANSMISORES

Como se discutió anteriormente, los neurotransmisores actúan sobre moléculas proteicas de tipo receptores. Aunque la idea original de un receptor fue propuesta por Langley en el siglo XIX, el mismo autor acuñó el término “sustancia receptiva” en 1905 (Langley, 1905). Este propuso que la actividad de los ligandos depende de su concentración y afinidad química. El primer tratamiento cuantitativo del problema receptor-ligando fue elaborado por Hill (1909), quien derivó la ecuación que más tarde descubriría también Langmuir y la cual lleva su nombre. Hasta ese momento estas observaciones no tenían nada que ver con la transmisión sináptica. Este conocimiento se inició con el artículo clásico de Dale *et al.* (1936), cuando se realizaron trabajos sobre la acetilcolina y sus efectos en las terminales nerviosas.

De esta forma se iniciaron los trabajos que contribuyeron a crear el escenario para que se generara el conocimiento que hoy considera al glutamato como un neurotransmisor que interactúa con receptores específicos en el sistema nervioso central.

12. RECEPTORES DE GLUTAMATO

Las acciones del glutamato como principal neurotransmisor excitatorio en el SNC de los mamíferos, son moduladas por los receptores de glutamato (GluRs) que se expresan prácticamente en todas las células neuronales y en algunas glías. Esta familia está constituida por receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) y los receptores ionotrópicos de glutamato (iGluR). En la Tabla 8.1 se presenta la organización de todas las subunidades constitutivas de las subfamilias y familias de los receptores de glutamato.

Tabla 8.1 – Subunidades constitutivas de la familia de los GluR.

Receptores de glutamato (GluRs)					
Metabotrópicos (mGluRs)			Ionotrópicos (iGluRs)		
I	II	III	AMPA	KAIN	NMDA
Familias			Subunidades		
mGluR1	mGluR2	mGluR4	GluR1	GluR5	NR1 (8 Isoformas)
mGluR5	mGluR3	mGluR6	GluR2	GluR6	NR2A
		mGluR7	GluR3	GluR7	NR2B
		mGluR8	GluR4	KA1	NR2C
				KA2	NR2D
					NR3A
					NR3B

Fuente: tabla preparada por los autores.

Los receptores metabotrópicos participan en los procesos de señalización debido a la interacción con el neurotransmisor y se acoplan fundamentalmente a la activación de proteínas G que favorecen el aumento de la concentración de segundos mensajeros corriente debajo. Actualmente, se conocen ocho receptores de este tipo (mGluR1-8) (Nakanishi, 1992), que se dividen en tres grupos (grupo I, II, III) según la homología de secuencia, el perfil farmacológico y los mecanismos de transducción de señales (Ferraguti & Shigemoto, 2006). Los análisis de homología de secuencia revelan que los mGluRs presentan una baja o ninguna similitud con otros receptores acoplados a las proteínas G. Una característica estructural de los receptores de la familia mGluR es su gran dominio extracelular y 21 residuos de cisteína en posiciones conservadas (Tanabe *et al.*, 1992). La descripción de los grupos se presenta en la Tabla 8.1.

Los receptores del grupo I están acoplados a la activación de la fosfolipasa C (PLC), se encuentran principalmente en las regiones postsinápticas, donde aumentan la excitabilidad neural y son potentemente activados por quisqualato (Kinoshita *et al.*, 1996). Mientras que los receptores de los grupos II y III están asociados a la inhibición de la adenilato ciclasa (AC). Estos se localizan principalmente en los terminales presinápticos y funcionan como inhibidores automáticos y heterorreceptores. Son insensibles al quisqualato, pero son potentemente activados por (2S, 1'R, 2'R, 3'R)-2-(2, 3-dicarboxiciclopropil) glicina (DCG-IV) y por el ácido L-2-amino-4-fosfonobutanóico (L-AP4) (Thomsen *et al.*, 1992). El grupo III es el grupo más grande de mGluRs, pero el menos caracterizado, probablemente debido a la falta de agentes farmacológicos selectivos. Aunque

los ligandos alostéricos para los subtipos mGluR del grupo III se descubrieron muy recientemente, esto ha permitido aclarar el papel de estos receptores en el funcionamiento normal del SNC y en los modelos de trastornos neurológicos y psiquiátricos (Ferraguti & Shigemoto, 2006; Palazzo *et al.*, 2016).

13. RECEPTORES IONOTRÓPICOS DE GLUTAMATO

A los complejos proteicos que actúan como receptores y que en su estructura cuaternaria presentan poros que funcionan como canales iónicos asociados, se los conocen como receptores ionotrópicos (iGluR).

Los iGluR han sido clasificados en tres poblaciones diferentes, cada una definida por la activación selectiva con diferentes análogos estructurales del glutamato (Flores-Soto *et al.*, 2012). Así, la familia iGluR queda constituida por receptores activados por N-metil-D-aspartato (NMDA), por ácido- α -amino-3-hidroxi-5-metil-isoxazol-4-propiónico (AMPA) y por ácido kaínico (KAIN). Las dos últimas categorías son conocidas, colectivamente, como receptores no-NMDA (Gasic & Heinemann, 1991). La complejidad de todos los arreglos potenciales de los canales funcionales indica que la presente clasificación no es absoluta y puede llegar a ser inadecuada para describir las actividades observadas *in vivo* (Flores-Soto *et al.*, 2012).

Los receptores iGluR neuronales tienen asociados canales catiónicos selectivos, primariamente de Ca^{2+} y Na^{+} entrando a la célula, mientras que el K^{+} efluye de ella a través del mismo canal. De la subfamilia de los receptores no-NMDA, los activados por AMPA muestran una cinética de rápida activación y desensibilización. La mayoría de las neuronas presentan una alta permeabilidad al $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ y una baja permeabilidad al Ca^{2+} . Los receptores de AMPA están constituidos por cuatro tipos denominados GluR1 a GluR4 (o GluR-A a GluR-D). Todos los tipos están caracterizados por su alta afinidad al AMPA, presentan valores de K_d en el rango nanomolar y una baja afinidad al KAIN. Todos los tipos presentan la existencia de isoformas debido a *splicing* alternativo de sus genes (Bettler *et al.*, 1990). Existe un grupo especial de receptores, denominados KA-1 y KA-2 con baja similaridad estructural con los GluR-1 a 4 y alta afinidad por el KAIN. Estos dos receptores no constituyen canales funcionales. Además de este, existe un nuevo grupo constituido por los δ -1 y δ -2, a veces conocidos como receptores huérfanos, de los que aún no se conoce su función. Dos formas truncadas, o proteínas incompletas, llamadas KBP-c y KBP-f presentes en pollo y rana, respectivamente, completan el grupo de moléculas de este tipo (Seeburg, 1993).

La subfamilia de los iGluR activados por NMDA (iGluR-NMDA) está caracterizada por una alta velocidad de disparo y lento decaimiento, con alta permeabilidad al Ca^{2+} . Son canales voltaje dependientes, regulados por Mg^{2+} que actúa como bloqueador del canal. Además, requiere la actividad de la glicina o de otros homólogos como co-agonistas (McBain & Mayer, 1994). Estos iGluR-NMDA producen corrientes excitatorias postsinápticas (EPSC) duraderas.

14. IGLUR-NMDA

Los iGluR-NMDA son un complejo macromolecular heteromultimérico, que se encuentra constituido por tres tipos diferentes de subunidades designadas como NR1, NR2 y NR3 en los receptores funcionales del SNC (Schüler *et al.*, 2008). Todas estas subunidades han sido clonadas (Ciabarra *et al.*, 1995), la mayoría de ellas entre 1992 y 1995, aunque algunas solo han logrado ser clonadas más recientemente. Está bien documentado, que la actividad del complejo depende de la composición de sus subunidades constitutivas particularmente en lo que se refiere a las propiedades farmacológicas y fisiológicas y, en muchos casos, la sensibilidad y especificidad (Honer *et al.*, 1998).

Así, para el tipo de subunidades NR1, se han identificado ocho isoformas provenientes de un mismo gen por *splicing* alternativo. La subfamilia NR2 está conformada por cuatro subunidades individuales, cada una proveniente de un gen, denominadas, NR2A a NR2D (Erreger *et al.*, 2005). Se han identificado cinco nuevas variantes por *splicing* alternativo de la NR2B en tejido cerebral de murinos (sub-familia de roedores de la familia Muridae) (Tabish & Ticku, 2004). La subfamilia NR3 consiste de 2 subunidades, cada una proveniente de un gen, conocidas como NR3A y NR3B (Erreger *et al.*, 2005). Las subunidades NR2 son considerablemente más grandes que las NR1 y presentan un bajo nivel de homología (Ishii *et al.*, 1993). La subunidad tipo NR2C fue la primera a la cual se le determinó la estructura de su gen (Suchanek *et al.*, 1995). La subfamilia NR3 consiste solo de dos subunidades, codificada cada una por su propio gen, las NR3A y NR3B.

Algunos trabajos han mostrado que los iGluRs forman tetrámeros en arreglos dímero-dímero, con subunidades individuales dispuestas en tres capas principales: el dominio amino-terminal distal (ATD) en la parte superior, el dominio de unión al ligando (LBD) intercalado en la parte media y el dominio transmembrana (TMD), que alberga el canal iónico, en el “fondo”. Los grandes dominios extracelulares muestran una característica no prevista: una disposición de subunidades no equivalentes de los ATD y LBD, que en conjunto están compuestas

por cuatro módulos tipo almeja (Sobolevsky *et al.*, 2009). En la capa ATD, las subunidades A/B y C/D se acoplan como dímeros locales, mientras que en la capa LBD son las subunidades A/D y B/C que están acopladas como dímeros locales, un entrelazamiento de subunidades que es realizado por el intercambio de interacciones subunidad-subunidad entre las capas ATD y LBD (Sobolevsky *et al.*, 2009). Como consecuencia de este intercambio de subunidades, los arreglos A/C y B/D, incluso en los receptores de AMPA homoméricos, adoptan dos conformaciones distintas. Durante algunos años se propuso que la estructura cuaternaria de los iGluR-NMDA podría ser tri, tetra, penta e inclusive heptamérica (Rosenmund *et al.*, 1998). Esto debido a que se han identificado ensamblajes hetero-multiméricos de las subunidades diferencialmente distribuidos en todo el SNC (Kashiwagi *et al.*, 1997). Sin embargo, solo en los últimos años, las estructuras cristalinas del iGluR-NMDA (GluN1/GluN2B) fueron dilucidadas por dos grupos de investigación diferentes y resueltas por rayos X en complejo con agonistas, un modulador alostérico y un bloqueador de canales iónicos (Karakas & Furukawa, 2014; Lee *et al.*, 2014). Tal vez esta sea la razón por la que pocas estructuras macromoleculares presentan actividades en un rango tan amplio de procesos bioquímicos, fisiológicos, psicológicos, farmacológicos y patológicos como el receptor ionotrópico de glutamato activado por N-metil-D-aspartato (iGluR-NMDA) (Lee *et al.*, 2003).

15. PROCESOS EN LOS QUE PARTICIPAN EL GLUTAMATO A TRAVÉS DEL IGLUR-NMDA

Los receptores iGluR-NMDA juegan múltiples e importantes papeles en procesos fisiológicos en el SNC. Debido a la complejidad y diversidad de los arreglos de sus estructuras macromoleculares no necesariamente siempre en el rol primordial, pero pueden estar regulando las actividades relacionadas con eventos asociados a otras estructuras macromoleculares.

Por lo anterior, se ha demostrado que el glutamato y los diferentes complejos que constituyen los iGluR-NMDA participan en diversos procesos funcionales como el aprendizaje (Tang *et al.*, 1999), y la consolidación de la memoria (Pláteník *et al.*, 2000; Jourdain *et al.*, 2018; Nakazawa *et al.*, 2004). Por lo anterior, se podría afirmar que sin el glutamato y el complejo iGluR-NMDA no existirían estos dos procesos fundamentales para la vida como la conocemos.

Adicionalmente, se ha demostrado la participación esencial del glutamato y del iGluR-NMDA, en mayor o menor proporción, en una multiplicidad de funciones dependientes de eventos neurofisiológicos y neurofarmacológicos que muestran la importancia de este complejo macromolecular y de su principal

agonista natural. Estos procesos regulan diversas actividades a nivel molecular, celular y sistémico. En la tabla 8.2 se listan algunas de las funciones con las que ha sido relacionado el iGluR-NMDA en el SNC.

Tabla 8.2 – Algunas funciones relacionadas con la actividad de iGLUR-NMDA o sus moléculas asociadas.

Funciones del iGLUR-NMDA en el SNC	Referencias
Plasticidad neuronal	Yang <i>et al.</i> , 2014
Migración neuronal	Wang <i>et al.</i> , 2007
Sinaptogénesis	Washbourne <i>et al.</i> , 2002
Neuroprotección	Jourdain <i>et al.</i> , 2018
Ritmos circadianos	Song <i>et al.</i> , 2017
Control de la ingesta de alimentos	Zeni <i>et al.</i> , 2000; Sasaki <i>et al.</i> , 2016
Formación de la conciencia	Lareo & Corredor, 2004; Lareo & Corredor, 2006; Lareo, 2006
Potenciación a largo plazo	Pláteník <i>et al.</i> , 2000; Jourdain <i>et al.</i> , 2018; Bliim <i>et al.</i> , 2019
Depresión a largo plazo	O’Riordan <i>et al.</i> , 2018
Envejecimiento	Billard, 2018; Evans <i>et al.</i> , 2019

Fuente: tabla preparada por los autores.

16. IGLUR-NMDA Y GLUTAMATO EN APRENDIZAJE Y MEMORIA

El papel del glutamato mediado por los iGluR-NMDA en los procesos de aprendizaje y memoria, estudiado desde mediados de los 80, quedó sólidamente consolidado con los resultados obtenidos utilizando una linaje de ratón genéticamente modificada, *Doogie*, producida a finales de los años 1990 por J. Tsien y su grupo en la Universidad de Princeton (Tang *et al.*, 1999). Estos ratones, en los que se logró una sobreexpresión del receptor completo y dentro de estos de la subunidad NR2B, mostraron procesos de aprendizaje acelerados y periodos de memoria mayores con respecto a sus congéneres.

Actualmente, es un consenso general que para la formación de memoria a largo plazo se requiere de la expresión génica neuronal, de la síntesis de proteínas y de la remodelación de los contactos sinápticos. En otras palabras, se requiere de la plasticidad sináptica. El fenómeno conocido como potenciación a largo plazo se ha propuesto como mecanismo básico para la formación de la memoria y, como es de esperarse, este proceso está altamente relacionado con la

función del iGluR-NMDA (Pláteník *et al.*, 2000; Jourdain *et al.*, 2018; Escobar & Bermudez-Rattoni, 2000). Este fenómeno se desarrolla principalmente en las espinas dendríticas.

Las espinas dendríticas son pequeñas protuberancias en las neuronas que albergan receptores sinápticos de conexiones excitadoras. En la membrana postsináptica de la mayoría de las espinas dendríticas se evidencia una región densa de electrones que alberga receptores de glutamato y otros complejos de proteínas, es decir, una densidad postsináptica (DPS) (Pláteník *et al.*, 2000). Se ha demostrado que el área de DPS se correlaciona con el volumen de la columna dendrítica y el volumen de la cabeza de la espina dendrítica. Además, se conoce que la plasticidad estructural de las espinas dendríticas es la base de la formación de la memoria, en parte debido a la forma y el tamaño de las mismas; lo que se considera proporcional al tamaño de su DPS, el número de receptores de glutamato y la fuerza sináptica. Durante la potenciación química a largo plazo dependiente del receptor NMDA (NMDAR-cLTP), las espinas dendríticas y su DPS no solo crecen, sino que también aumentan la relación de volumen de DPS y volumen DPS-núcleo en la espina dendrítica. Sin embargo, esto se modifica y se ajusta durante la plasticidad sináptica y está regulada por la actividad del retículo endoplásmico rugoso (Borczyk *et al.*, 2019). Se ha demostrado, también, que la cascada de señalización cAMP/PKA/CREB, activada por iGluR-NMDA, es fundamental para la formación de la memoria a largo plazo (Waltereit & Weller, 2003).

Este proceso de aprendizaje y memoria, que es característico y fundamental de la vida como la conocemos, mediado por el glutamato y sus receptores, en particular el iGluR-NMDA, pone en evidencia irrefutable la esencialidad de este aminoácido para todos los procesos vitales y neuronales que caracterizan el desarrollo superior de los seres humanos: el glutamato es esencial para la vida como la conocemos.

17. PAPEL DEL GLUTAMATO Y SUS RECEPTORES EN EXCITOTOXICIDAD Y NEURODEGENERACIÓN

De otro lado, debido a que iGluR-NMDA se encuentra asociado a tantas y diversas funciones, es susceptible de que algunos eventos se desregulen y puedan generar disfunciones a diferentes niveles. En la tabla 8.3 aparecen algunos ejemplos de los efectos deletéreos en el SNC cuando se presentan mutaciones, cambios en la expresión, disminución o aumento del receptor.

Tabla 8.3 – Patologías asociadas al mal funcionamiento del iGLUR-NMDA o a alguna de sus moléculas asociadas.

Alteraciones de iGLUR-NMDA en el SNC	Referencias
Desórdenes del estado de ánimo y psiquiátrico	Peyrovian <i>et al.</i> , 2019
Ansiedad	Gafford & Ressler, 2015
Depresión	Ragguett <i>et al.</i> , 2019; Farber, 2018
Catalepsia	Medeiros <i>et al.</i> , 2014; Lacopucci <i>et al.</i> , 2012
Psicosis	Jézéquel <i>et al.</i> , 2018
Dolor	Yuan & Burrell, 2019
Demencia asociada a la infección por VIH	Self <i>et al.</i> , 2004
Atrofia del hipocampo	Wang <i>et al.</i> , 2018
Enfermedad de Huntington	Ambroziak <i>et al.</i> , 2018
Enfermedad de Alzheimer	Wang & Reddy, 2017
Epilepsia	Marwick <i>et al.</i> , 2019
Esquizofrenia	Errico <i>et al.</i> , 2018
Desorden bipolar	Clinton & Meador-Woodruff, 2004
Dolor neuropático	Sun <i>et al.</i> , 2004
Enfermedad de Parkinson	Kim <i>et al.</i> , 2018
Esclerosis lateral amiotrófica	Paul & de Belleruche, 2014

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana.

Fuente: tabla preparada por los autores.

La alteración de la homeostasis del Ca^{2+} en las neuronas es el mecanismo central en la neurotoxicidad por aminoácidos excitatorios o excitotoxicidad. Existe abundante evidencia que sugiere que el aumento del calcio citosólico es responsable por la degeneración neuronal temprana y la posterior neurodegeneración (Tehse & Taghibiglou, 2018). La acumulación intracelular del calcio se ha atribuido al influjo incrementado del catión a través de los iGluR-NMDA y, en menor proporción, a los otros receptores ionotrópicos, AMPA y KAIN (Frandsen & Schousboe, 1993; Lambuk *et al.*, 2019).

Muchos estudios han fallado al tratar de establecer la relación entre la sobrecarga de Ca^{2+} y la sobreactivación de los receptores por el glutamato. Se han encontrado relaciones entre los niveles de calcio libre intracelular y la neurotoxicidad (Albarracín & Lareo, 2005; Albarracín & Lareo, 2007).

La contribución de la neurotoxicidad a la patofisiología de las enfermedades crónicas neurodegenerativas es cada vez más aceptada. Sin embargo, no existe evidencia contundente de incrementos en la concentración extracelular de glutamato. Se ha tratado de explicar el desarrollo de estas patologías con base en la

presencia de otras excitotoxinas tales como el ácido quinolínico o el ácido homocisteico o por la ausencia de inhibidores endógenos de los iGluR-NMDA. No obstante, estas teorías no han sido demostradas claramente (Beal *et al.*, 1990).

Se ha acuñado, entonces, el término excitotoxicidad débil o lenta (Albin & Greenamyre 1992) que se basa en el concepto de que algunos cambios patológicos pueden incrementar la vulnerabilidad de ciertas poblaciones celulares a las actividades del glutamato, aun en ausencia de valores elevados del mismo. Las modificaciones genéticas y polimorfismos de los genes, de las moléculas de los receptores, que conllevan a cambios conformacionales en las proteínas a las que codifican y, en consecuencia, cambios en sus funciones, podrían ser los disparadores reales de estas patologías. Existe abundante evidencia de relaciones entre polimorfismos de los genes que codifican para las subunidades de los iGluR-NMDA y diversas de estas patologías neurodegenerativas e, incluso, algunas neuropsiquiátricas tales como la esquizofrenia y la depresión (Ragguett *et al.*, 2019; Farber, 2018; Errico *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2007; Villegas *et al.*, 2006).

Estas demostraciones permiten sugerir que la neurotoxicidad atribuida al glutamato, no es por el neurotransmisor en sí, sino debido a que su función puede ser modificada de la condición normal, por defectos en los efectores biológicos, como receptores, transportadores y/o enzimas. Lo anterior, lleva a que las neuronas y los astrocitos que dependen de la actividad del glutamato disminuyan (o también modifiquen) su actividad fisiológica.

18. PAPEL DEL GLUTAMATO Y SUS RECEPTORES EN LA FORMACIÓN DE LA CONCIENCIA NEURAL

Sin lugar a dudas, la cumbre de la evolución del sistema nervioso y a la vez la más compleja de las funciones cerebrales es la conciencia. Recientemente, se ha propuesto que el iGluR-NMDA y en consecuencia su activador endógeno, el glutamato, son las moléculas clave para la formación de la conciencia. Esta propuesta se ha denominado “Correlato Molecular de la Conciencia” (CMC) (Lareo & Corredor, 2004; Lareo, 2006; Lareo & Corredor, 2006). Los detalles de esta propuesta sobrepasan los alcances esperados de este capítulo pero vale la pena resaltar que es el glutamato, entonces, la molécula que no solo cubre los aspectos esenciales de la vida neuronal de los organismos superiores sino que puede explicar, también, la más elevada capacidad humana, la conciencia de ser consciente.

19. GLUTAMATO Y GLUTAMATO MONOSÓDICO

Hasta este punto, en este capítulo, se ha hecho referencia exclusiva a las actividades del glutamato libre de origen natural que se puede sintetizar en todas las células del sistema nervioso, en todos los seres vivos y en forma por demás abundante. Ahora se realizarán consideraciones con respecto al glutamato de origen natural producido por mecanismos biotecnológicos, gracias a la actividad de bacterias fermentadoras. Es decir, glutamato monosódico (GMS), en particular en cuanto a la posibilidad de que el GMS cause efectos neuronales adversos.

El GMS es, como su nombre lo indica, una de las sales posibles en las que puede participar el anión glutamato. Este a pH fisiológico, es decir entre 6,8 y 7,4 se disocia en el anión glutamato y el catión Na^+ . En estas condiciones, el glutamato se desempeña exactamente como cuando es sintetizado por las células a partir de diferentes intermediarios metabólicos o a partir de la hidrólisis de las proteínas. En consecuencia, su metabolismo más importante se llevará a cabo en las células entéricas (Albarracin *et al.*, 2016). Por este motivo, la concentración plasmática del glutamato no se espera que sea incrementada después de la absorción de nutrientes. Como fue discutido anteriormente, la barrera hematoencefálica es una barrera natural efectiva contra el glutamato presente en la dieta, ya sea que esté naturalmente presente en los alimentos o como un aditivo alimentario en forma de GMS (Albarracin *et al.*, 2016). No existe ninguna evidencia conclusiva de que el GMS se comporte de una manera diferente químicamente, y bioquímicamente no tendría ningún sentido que así fuera. Bogdanov *et al.* (1996) demostraron en ratas que aun en niveles de exposición de 2 g/kg p.c., no surgieron cambios en los niveles de glutamato en el núcleo arcuado, lo que indica que no hay razón para predecir un potencial neurotóxico a partir del consumo de GMS. Rutten *et al.* (2006), incrementando la ingesta de glutamato en ancianos hasta niveles de 30 mg/kg p.c., a cada 20 min, en forma de bebidas, lograron incrementos plasmáticos significativos con consecuentes beneficios en la calidad de vida de los ancianos sin generar ningún efecto neurológico adverso.

20. CONSIDERACIONES FINALES

El actual nivel de desarrollo del sistema nervioso tiene sistemas de regulación sumamente finos para mantener los niveles de este aminoácido en los rangos fisiológicos normales dentro del cerebro, ya sea mediante la barrera física y bioquímica llamada barrera hematoencefálica, a través de los mecanismos de recaptura del glutamato del medio extracelular, mediante la regulación de las

funciones de sus receptores o por el balance de las actividades de todas las enzimas involucradas en su metabolismo. Las disfunciones detectadas no son debidas al glutamato en sí, sino que son el resultado de alteraciones de las funciones de alguno de los mecanismos que lo regulan. Adicionalmente, por lo menos en lo que se refiere a las fuentes de ingestión de GMS (presente de forma natural en los alimentos o como aditivo alimentario), no existen razones químicas ni bioquímicas que permitan predecir acciones diferenciales para ellas ni existe evidencia contundente en la literatura científica seria de que esto ocurra en algún caso.

El glutamato, independiente de su origen, no es uno de los aminoácidos nutricionalmente clasificados como esenciales, ya que tenemos los mecanismos bioquímicos para sintetizarlo, pero es esencial para la vida como la conocemos y en especial para la función neuronal y cerebral en condiciones funcionales que favorezcan la salud del sistema nervioso central.

21. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, N. J. “Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery”. *J Inherit Metab Dis.* 36(3):437-449, 2013.

ALBARRACIN, S. L. *et al.* “L-glutamate: a key amino acid for sensory and metabolic functions”. *Arch Latinoam Nutr.* 66(2):101-112, 2016.

ALBARRACÍN, S. L. & LAREO, L. R. “Modelo para simular la homeóstasis neuronal durante un influjo incrementado de calcio a través del canal asociado al receptor ionotrópico de glutamato activado por N-metil-D-aspartato”. *Universitas Scientiarum.* 10:51-55, 2005.

ALBARRACÍN, S. L. & LAREO, L. R. “Modelo integrador para las rutas de señalización diferencial del receptor ionotrópico de glutamato activado por el N-metil-D-aspartato”. *Revista Ciencias de la Salud.* 5: 92-105, 2007.

ALBIN, R. L. & GREENAMYRE, J. T. “Alternative excitotoxic hypotheses”. *Neurology.* 42: 733-738, 1992.

ALVAREZ, V. A. & SABATINI, B. L. “Anatomical and physiological plasticity of dendritic spines”. *Annu Rev Neurosci.* 30: 79-97, 2007.

AMBROZIAK, W.; FOURIE, C. & MONTGOMERY, J. M. “SAP97-mediated rescue of NMDA receptor surface distribution in a neuronal model of Huntington’s disease”. *Hippocampus.* 28(10): 707-723, 2018.

- BEAL, M. F. *et al.* “Kynurenine pathway measurements in Huntington’s disease striatum: Evidence for reduced formation of kynurenic acid”. *J Neurochem.* 55: 1327-1339, 1990.
- BERL, S. “Compartmentation of glutamic acid metabolism in developing cerebral cortex”. *J Biol Chem.* 240: 2047-2054, 1965.
- BETTLER, B. *et al.* “Cloning of a novel glutamate receptor subunit, GluR5: expression in the nervous system during development”. *Neuron.* 5: 583-595, 1990.
- BILLARD, J. M. “Changes in serine racemase-dependent modulation of NMDA receptor: impact on physiological and pathological brain aging”. *Front Mol Biosci.* 5: 106, 2018.
- BLIIM, N. *et al.* “Early transcriptome changes in response to chemical long-term potentiation induced via activation of synaptic NMDA receptors in mouse hippocampal neurons”. *Genomics.* 111(6): 1676-1686, 2019.
- BOGDANOV, M. B.; TJURMINA, O. A. & WURTMAN, R. J. “Consumption of a high dietary dose of monosodium glutamate fails to affect extracellular glutamate levels in the hypothalamic arcuate nucleus of adult rats”. *Brain Res.* 736: 76-81, 1996.
- BORCZYK, M. *et al.* “Neuronal plasticity affects correlation between the size of dendritic spine and its postsynaptic density”. *Sci Rep.* 9(1): 1693, 2019.
- BRADFORD, H. F.; BENNETT, G. W. & THOMAS, A. J. “Depolarizing stimuli and the release of physiologically active amino acids from the suspensions of mammalian synaptosomes”. *J Neurochem.* 21: 495-505, 1973.
- BRIGUGLIO, M. *et al.* “Dietary neurotransmitters: A narrative review on current knowledge”. *Nutrients.* 10(5): 591, 2018.
- BURKI, F. & KAESSMANN, H. “Birth and adaptive evolution of a hominoid gene that supports high neurotransmitter flux”. *Nature Genet.* 36: 1061-1063, 2004.
- CHOWDHURY, G. M. *et al.* “Glutamatergic and GABAergic neurotransmitter cycling and energy metabolism in rat cerebral cortex during postnatal development”. *J Cereb Blood Flow Metab.* 27(12): 1895-1907, 2007.
- CHRISTENSEN, H.; FYKSE, E. M. & FONNUM, F. “Uptake of glycine into synaptic vesicles isolated from rat spinal cord”. *J Neurochem.* 54: 1142-1147, 1990.

CIABARRA, A. M. *et al.* “Cloning and characterization of chi-1: A new developmentally regulated member of a novel class of the ionotropic glutamate receptor family”. *J Neurosci.* 15: 6498-6508, 1995.

CLINTON, S. M. & MEADOR-WOODRUFF, J. H. “Abnormalities of the NMDA receptor and associated intracellular molecules in the thalamus in schizophrenia and bipolar disorder”. *Neuropsychopharmacology.* 29: 1353-1362, 2004.

CURTIS, D. R. & JOHNSTON, A. R. “Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system”. *Ergeb Physiol.* 69: 97-188, 1974.

CURTIS, D. R. & WATKINS, J. C. “The excitation and depression of spinal neurons by structurally related amino acids”. *J Neurochem.* 6: 117-141, 1960.

DALE, H. H.; FELDBERG, W. & VOGT, M. “Release of acetylcholine at voluntary motor nerve ending”. *J Physiol.* 86: 353-380, 1936.

DUAN, S. *et al.* “P2X7 receptor-mediated release of excitatory amino acids from astrocytes”. *J Neurosci.* 23(4): 1320-1328, 2003.

DUGGAN, A. W. “The differential sensitivity to L-glutamate and L-aspartate of spinal interneurons and Renshaw cells”. *Exp Brain Res.* 19(5): 522-528, 1974.

ERREGER, K. *et al.* “Subunitspecific gating controls rat NR1/NR2A and NR1/NR2B NMDA channel kinetics and synaptic signalling profiles”. *J Physiol.* 563: 345-358, 2005.

ERRICO, F. *et al.* “The emerging role of altered D-aspartate metabolism in schizophrenia: new insights from preclinical models and human studies”. *Front Psychiatry.* 9: 559, 2018.

ESCOBAR, M. L. & BERMÚDEZ-RATTONI, F. “Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention”. *Brain Res.* 852: 208-212, 2000.

EVANS, C. E. *et al.* “Selective reduction of APP-BACE1 activity improves memory via NMDA-NR2B receptor-mediated mechanisms in aged PDAPP mice”. *Neurobiol Aging.* 75: 136-149, 2019.

EYIGOR, O.; MINBAY, Z. & KAFA, I. M. “Glutamate and orexin neurons”. *Vitam Horm.* 89: 209-222, 2012.

- FARBER, N. B. "NMDA Antagonists for treatment-resistant depression". *Handb Exp Pharmacol.* 250: 287-305, 2018.
- FERRAGUTI, F. & SHIGEMOTO, R. "Metabotropic glutamate receptors". *Cell Tissue Res.* 326(2): 483-504, 2006.
- FLORES-SOTO, M. E. *et al.* "Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits". *Neurologia.* 27: 301-310, 2012.
- FONNUM, F. "Determination of transmitter amino acid turnover". *Neuromethods.* 3: 201-209, 1985.
- FRANSEN, A. & SCHOUSBOE, A. "Excitatory amino acid-mediated cytotoxicity and calcium homeostasis in cultured neurons". *J Cereb Blood Flow Metab.* 12: 638-645, 1993.
- FULLER, R. W. "Pharmacology of brain epinephrine neurons". *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 22: 31-55, 1982.
- GAFFORD, G. M. & RESSLER, K. J. "GABA and NMDA receptors in CRF neurons have opposing effects in fear acquisition and anxiety in central amygdala vs. bed nucleus of the stria terminalis". *Horm Behav.* 76: 136-142, 2015.
- GASIC, G. P. & HEINEMANN, S. "Receptors coupled to ionic channels: the glutamate receptor family". *Curr Opin Neurobiol.* 1: 20-26, 1991.
- HAMBERGER, A. & NYSTROÖM, B. "Extra- and intracellular amino acids in the hippocampus during development of hepatic encephalopathy". *Neurochem. Res.* 9: 1181-1192, 1984.
- HAWKINS, R. A. *et al.* "Structure of the blood-brain barrier and its role in the transport of amino acids". *J Nutr.* 136: 218S-226S, 2006.
- HAYASHI, T. *Chemical physiology of excitation in muscle and nerve.* Tokyo, Nakayama-Shoten, 1956.
- HILL, A. V. "The mode of action of nicotine and curare determined by the form of the concentration curve and the method of temperature coefficients". *J Physiol.* 39: 361-373, 1909.
- HONER, M. *et al.* "Differentiation of glycine antagonist sites of N-methyl-D-aspartate receptor subtypes". *J Biol Chem.* 273: 11158-11163, 1998.

ISHII, T. *et al.* “Molecular characterization of the family of the N-methyl-D-aspartate receptor subunits”. *J Biol Chem.* 268: 2836-2843, 1993.

JÉZÉQUEL, J. *et al.* “Pathogenicity of antibodies against NMDA receptor: Molecular insights into autoimmune psychosis”. *Trends Neurosci.* 41(8): 502-511, 2018.

JOHNSTON, G. A. R. *et al.* “Central actions of ibotenic acid and muscimol”. *Biochem Pharmacol.* 17: 2488-2489, 1968.

JOURDAIN, P. *et al.* “Dual action of L-Lactate on the activity of NR2B-containing NMDA receptors: from potentiation to neuroprotection”. *Sci Rep.* 8: 13472, 2018.

KARAKAS, E. & FURUKAWA, H. “Crystal structure of a heteromeric NMDA receptor ion channel”. *Science.* 344: 992-997, 2014.

KASHIWAGI, K. *et al.* “Block and modulation of N-methyl-D-aspartate receptors by polyamines and protons: Role of amino acid residues in the transmembrane and pore-forming regions of NR1 and NR2 subunits”. *Mol Pharm.* 52: 701-713, 1997.

KIM, I. Y. *et al.* “Interaction between caffeine and polymorphisms of glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2A (GRIN2A) and cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) on Parkinson’s disease risk”. *Mov Disord.* 33(3): 414-420, 2018.

KIMELBERG, H. K. *et al.* “Swelling-induced release of glutamate, aspartate, and taurine from astrocyte cultures”. *J Neurosci.* 10: 1583-1591, 1990.

KINOSHITA, A. *et al.* “Presynaptic localization of a metabotropic glutamate receptor, mGluR8, in the rhinencephalic areas: a light and electron microscope study in the rat”. *Neurosci Lett.* 207: 61-64, 1996.

KRAVITZ, E. A. “Acetylcholine, g-aminobutyric acid, and glutamic acid: Physiological and chemical studies related to their roles as neurotransmitter agents”. In: QUARTON, G. C.; MELNECHUK, T. & SCHMITT, F. O. (ed.). *The neurosciences: a study program.* New York, The Rockefeller University Press, 1967, pp. 433-444.

KREFT, M. *et al.* “Properties of Ca(2+)-dependent exocytosis in cultured astrocytes”. *Glia.* 46(4): 437-445, 2004.

LACOPUCCI, A. P. *et al.* “L-NOARG-induced catalepsy can be influenced by glutamatergic neurotransmission mediated by NMDA receptors in the inferior colliculus”. *Behav Brain Res.* 234(2): 149-154, 2012.

- LAMBUK, L. *et al.* “Antiapoptotic effect of taurine against NMDA-induced retinal excitotoxicity in rats”. *Neurotoxicology*. 70: 62-71, 2019.
- LANGLEY, J. N. “On the reactions of cells and nerve-endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle to nicotine and curare”. *J Physiol*. 33: 374-413, 1905.
- LAREO, L. R. & CORREDOR, C. “Ionotropic glutamate receptor activated by N-methyl-D-aspartate: a key molecule of conscious life”. *Med Hypotheses*. 63(2): 245-249, 2004.
- LAREO, L. R. & CORREDOR, C. “Molecular Correlate of Consciousness”. In: TURRINI, S. K. (ed.). *Consciousness and learning research*. New York, Nova Pubs, 2006, p. 97.
- LAREO, L. R. “El receptor ionotrópico de glutamato activado por N-metil-D-aspartato, molécula clave de la conciencia”. *Universitas Scientiarum*. 11:13-33, 2006.
- LEE, C. H. *et al.* “NMDA receptor structures reveal subunit arrangement and pore architecture”. *Nature*. 511: 191-197, 2014.
- LEE, K. Y. *et al.* “NMDA receptors offer more than one functionality”. *Anesth. Analg.* 96: 1533-1534, 2003.
- LEE, W. J. *et al.* “Glutamine transport by the blood-brain barrier: a possible mechanism for nitrogen removal”. *Am J Physiol*. 274(4): C1101-C1107, 1998.
- LENT, R. *et al.* “How many neurons do you have? Some dogmas of quantitative neuroscience under revision”. *Eur J Neurosci*. 35: 1-9, 2012.
- LIU, M. *et al.* “An association study between GRIN1, BDNF genes and bipolar disorder”. *Yi Chuan*. 29(1): 41-46, 2007.
- LUCAS, D. R. & NEWHOUSE, J. P. “The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina”. *Arch Ophthalmol*. 58: 193-214, 1957.
- MARWICK, K. F. M. *et al.* “Functional assessment of triheteromeric NMDA receptors containing a human variant associated with epilepsy”. *J Physiol*. 597(6): 1691-1704, 2019.
- MAYORQUIN, L. C. *et al.* “Connexin-mediated functional and metabolic coupling between astrocytes and neurons”. *Front Mol Neurosci*. 11: 118, 2018.

- MCBAIN, C. J. & MAYER, M. L. "N-Methyl-D-Aspartic acid receptor structure and function". *Physiol Rev.* 74: 723-760, 1994.
- MCBEAN, G. J. "Cerebral cystine uptake: a tale of two transporters". *Trends Pharmacol Sci.* 23(7): 299-302, 2002.
- MEDEIROS, P. *et al.* "Glutamatergic neurotransmission in the inferior colliculus influences intrastriatal haloperidol-induced catalepsy". *Behav Brain Res.* 268: 8-13. 2014.
- MONGIN, A. A. & ORLOV, S. N. "Mechanisms of cell volume regulation and possible nature of the cell volume sensor". *Pathophysiology.* 8: 77-88, 2001.
- MORIYAMA, Y. & YAMAMOTO, A. "Vesicular L-glutamate transporter in microvesicles from bovine pineal glands". *J Biol Chem.* 270(38): 22314-22320, 1995.
- NAKANISHI, S. "Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function". *Science.* 258(5082): 597-603, 1992.
- NAKAZAWA, K. *et al.* "NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory". *Nat Rev Neurosci.* 5(5): 361-372, 2004.
- NIMCHINSKY, E. A.; SABATINI, B. L. & SVOBODA, K. "Structure and function of dendritic spines". *Annu Rev Physiol.* 64: 313-353, 2002.
- NORENBERG, M. D. "Distribution of glutamine synthetase in the rat central nervous system". *J Histochem Cytochem.* 27: 756-762, 1979.
- NORTH, R. A. "Molecular physiology of P2X receptors". *Physiol Rev.* 82: 1013-1067, 2002.
- OMOTE, H. *et al.* "Vesicular neurotransmitter transporter: bioenergetics and regulation of glutamate transport". *Biochemistry.* 50: 5558-5565, 2011.
- O'RIORDAN, K. J.; HU, N. W. & ROWAN, M. J. "Physiological activation of mGlu5 receptors supports the ion channel function of NMDA receptors in hippocampal LTD induction in vivo". *Sci Rep.* 8: 4391, 2018.
- PALAZZO, E. *et al.* "Metabotropic glutamate receptor 7: From synaptic function to therapeutic implications". *Curr Neuropharmacol.* 14(5): 504-513, 2016.
- PARPURA, V. *et al.* "Glutamate-mediated astrocyte-neuron signaling". *Nature.* 369: 744-747, 1994.

PAUL, P. & DE BELLEROCHE, J. “The role of D-serine and glycine as co-agonists of NMDA receptors in motor neuron degeneration and amyotrophic lateral sclerosis (ALS)”. *Front Synaptic Neurosci.* 6: 10, 2014.

PEYROVIAN, B. *et al.* “The glycine site of NMDA receptors: A target for cognitive enhancement in psychiatric disorders”. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 92: 387-404, 2019.

PINES, G. *et al.* “Cloning and expression of a rat brain L-glutamate transporter”. *Nature.* 360: 464-467, 1992.

PLÁTENÍK, J.; KURAMOTO, N. & YONEDA, Y. “Molecular mechanisms associated with long-term consolidation of the NMDA signals”. *Life Sci.* 67: 335-364, 2000.

PRICE, M. T. *et al.* “Uptake of exogenous aspartate into circumventricular organs but not other regions of adult mouse brain”. *J Neurochem.* 42: 740-744, 1984.

RAGGUETT, R. M. *et al.* “Rapastinel - an investigational NMDA-R modulator for major depressive disorder: evidence to date”. *Expert Opin Investig Drugs.* 28(2): 113-119, 2019.

RENGACHARY, S. S. & ELLENBOGEN, R. G. (ed.). *Principles of neurosurgery.* Edinburgh, Elsevier Mosby, 2005.

ROSENMUND, C.; STERN-BACH, Y. & STEVENS, C. F. “The tetrameric structure of a glutamate receptor channel”. *Science.* 280: 1596-1599, 1998.

ROTHER, F.; BROSZ, M. & STORM-MATHISEN, J. “Quantitative ultrastructural localization of glutamate deshydrogenase in rat cerebellar cortex”. *Neuroscience.* 64: 1133-1146, 1994.

RUTTEN, E. P. A. *et al.* “Effect of glutamate ingestion on whole-body glutamate turnover in healthy elderly and patients with chronic obstructive pulmonary disease”. *Nutrition.* 22: 496-503, 2006.

SASAKI, T.; MATSUI, S. & KITAMURA, T. “Control of appetite and food preference by NMDA receptor and its co-agonist d-serine”. *Int J Mol Sci.* 17(7): 1081, 2016.

SCHÜLER, T. *et al.* “Formation of NR1/NR2 and NR1/NR3 heterodimers constitutes the initial step in N-methyl-D-aspartate receptor assembly”. *J Biol Chem.* 283: 37-46, 2008.

SEEBURG, P. H. "The TiPS/TINS lecture: the molecular biology of mammalian glutamate receptor channels". *Trends Pharmacol Sci.* 14: 297-303, 1993.

SELF, R. L. *et al.* "The human immunodeficiency virus type-1 transcription factor Tat produces elevations in intracellular Ca²⁺ that require function of an N-methyl-D-aspartate receptor polyamine-sensitive site". *Brain Res.* 995: 39-45, 2004.

SHARIF, Y. *et al.* "Blood brain barrier: A review of its anatomy and physiology in health and disease". *Clin Anat.* 31(6): 812-823, 2018.

SOBOLEVSKY, A. I.; ROSCONI, M. P. & GOUAUX, E. "X-ray structure, symmetry and mechanism of an AMPA-subtype glutamate receptor". *Nature.* 462: 745-756, 2009.

SONG, Q. *et al.* "NMDA receptor-mediated Ca²⁺ influx in the absence of Mg²⁺ block disrupts rest: activity rhythms in drosophila". *Sleep.* 40(12), 2017.

SONNEWALD, U. & SCHOUSBOE, A. "Introduction to the glutamate-glutamine cycle". *Adv Neurobiol.* 13:1-7, 2016.

STILES, J. & JERNIGAN, T. L. "The basics of brain development". *Neuropsychol Rev.* 20(4): 327-348, 2010.

STORCK, T. *et al.* "Structure, expression and functional analysis of Na⁺-dependent glutamate/aspartate transporter from rat brain". *Proc Natl Acad Sci.* 89: 10955-10959, 1992.

SUCHANEK, B.; SEEBURG, P. H. & SPRENGEL, R. "Gene structure of the murine N-methyl D-aspartate receptor subunit NR2C". *J Biol Chem.* 270: 41-44, 1995.

SÜDHOF, T. C. "Towards an understanding of synapse formation". *Neuron.* 100(2): 276-293, 2018.

SUN, R. Q. *et al.* "Suppression of neuropathic pain by peripheral electrical stimulation in rats: mu-opioid receptor and NMDA receptor implicated". *Exp Neurol.* 187: 23-29, 2004.

TABISH, M. & TICKU, M. K. "Alternate splice variants of mouse NR2B gene". *Neurochem Int.* 44: 339-343, 2004.

TANABE, Y. *et al.* "A family of metabotropic glutamate receptors". *Neuron.* 8: 169-179, 1992.

- TANG, Y-P. *et al.* “Genetic enhancement of learning and memory in mice”. *Nature*. 401: 63-69, 1999.
- TASKER, J. G. *et al.* “Glial regulation of neuronal function: from synapse to systems physiology”. *J Neuroendocrinol*. 24: 566-576, 2012.
- TEHSE, J. & TAGHIBIGLOU, C. “The overlooked aspect of excitotoxicity: Glutamate-independent excitotoxicity in traumatic brain injuries”. *Eur J Neurosci*. 49(9): 1157-1170, 2018.
- TERUNUMA, M. “Diversity of structure and function of GABAB receptors: a complexity of GABAB-mediated signaling”. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 94(10): 390-411, 2018.
- THOMSEN, C. *et al.* “L-2-amino-4-phosphonobutyrate (L-AP4) is an agonist at the type IV metabotropic glutamate receptor which is negatively coupled to adenylate cyclase”. *Eur J Pharmacol*. 227: 361-362, 1992.
- VILLEGAS, V. E.; ZARANTE, I. & LAREO, L. R. “Estudio preliminar de los polimorfismos del gen GRIN-1 del receptor NMDA en una población sana colombiana”. *Universitas Scientiarum*. 11: 49-21, 2006.
- WALTEREIT, R. & WELLER, M. “Signaling from cAMP/PKA to MAPK and synaptic plasticity”. *Mol Neurobiol*. 27: 99-106, 2003.
- WANG, H. *et al.* “Protective role of NMDAR for microwave-induced synaptic plasticity injuries in primary hippocampal neurons”. *Cell Physiol Biochem*. 51(1): 97-112, 2018.
- WANG, J. Q.; FIBUCH, E. E. & MAO, L. “Regulation of mitogen-activated protein kinases by glutamate receptors”. *J Neurochem*. 100: 1-11, 2007.
- WANG, R. & REDDY, P. H. “Role of glutamate and NMDA receptors in Alzheimer’s disease”. *J Alzheimers Dis*. 57(4): 1041-1048, 2017.
- WARR, O.; TAKAHASHI, M. & ATTWELL, D. “Modulation of extracellular glutamate concentration in rat brain slices by cystine–glutamate exchange”. *J Physiol*. 514: 783-793, 1999.
- WASHBOURNE, P.; BENNETT, J. E. & MCALLISTER, A. K. “Rapid recruitment of NMDA receptor transport packets to nascent synapses”. *Nat Neurosci*. 5: 751-759, 2002.

WATKINS, J. C. “The synthesis of some acidic amino acids possessing neuropharmacological activity”. *J Med Pharm Chem.* 5: 1187-1199, 1962.

WATKINS, J. C.; CURTIS, D. R. & BISCOE, T. J. “Central effects of beta-N-oxalyl-alpha, beta-diaminopropionic acid and other lathyrus factors”. *Nature.* 211(5049): 637, 1966.

WEIL-MALEHERBE, H. “Significance of glutamic acid for the metabolism of the nervous tissue”. *Physiol Rev.* 30: 549-545, 1950.

YANG, J. *et al.* “Lactate promotes plasticity gene expression by potentiating NMDA signaling in neurons”. *PNAS.* 111(33): 12228-12233, 2014.

YUAN, S. & BURRELL, B. D. “Interaction between NMDA receptor- and endocannabinoid-mediated modulation of nociceptive synapses”. *Sci Rep.* 9(1): 1373, 2019.

YUDKOFF, M. *et al.* “Brain glutamate metabolism: neuronal-astroglial relationships”. *Dev Neurosci.* 15: 343-350, 1993.

ZENI, L. A. *et al.* “Glutamatergic control of food intake in pigeons: effects of central injections of glutamate, NMDA, and AMPA receptor agonists and antagonists”. *Pharmacol Biochem Behav.* 65: 67-74, 2000.

ZOREC, R. *et al.* “Astrocytic vesicles and gliotransmitters: Slowness of vesicular release and synaptobrevin2-laden vesicle nanoarchitecture”. *Neuroscience.* 323: 67-75. 2016.

EFFECTOS DEL GLUTAMATO EN EL CEREBRO

*Sonia Luz Albarracín C.
Leonardo R. Lareo*

1. INTRODUCCIÓN

La neurotransmisión en el sistema nervioso central (SNC) está mediada por una estrecha interacción entre las neuronas y la glía, especialmente evidente en las sinapsis excitatorias en las que el L-glutamato es el neurotransmisor predominante (Volterra & Meldolesi, 2005). Así, el glutamato se encuentra involucrado en las principales funciones del cerebro, en los procesos cognoscitivos del aprendizaje y la consolidación de la memoria, y en el desarrollo de la plasticidad sináptica. Consecuentemente, la desregulación en la homeostasis del glutamato se ha relacionado con diferentes desórdenes como la depresión, la esquizofrenia y con algunas enfermedades neurodegenerativas debido a que causa desequilibrio entre el glutamato sináptico y glial (Billard, 2018; Bliim *et al.*, 2019).

El glutamato, como neurotransmisor, proviene metabólicamente de los esqueletos de carbono de la glucosa y de la glutamina que atraviesan la barrera hematoencefálica (BHE). Por lo tanto, requieren un permanente suministro glial. Así, tanto neuronas, como astrocitos y oligodendrocitos manifiestan una “dependencia” de sustratos, que son sintetizados, capturados o liberados en estos tipos de células. Este mecanismo se conoce como “compartimentación celular”, que

en este contexto favorece la funcionalidad de todos los procesos asociados a la comunicación sináptica. Por ejemplo, la glutamina está presente tanto en plasma (500-750 μ M) como en líquido cefalorraquídeo (LCR) (Stanley & Prusiner, 1981) y es un metabolito importante ya que favorece la síntesis de aminoácidos y por tanto de proteínas. Además, puede ser usada durante la oxidación para la producción de ATP y para aumentar el reservorio de precursores para la síntesis de neurotransmisores como el aspartato, el glutamato y el ácido γ -amino butírico (GABA). En contraste, el glutamato es menos abundante extracelularmente y la relación de concentraciones glutamato/glutamina en el plasma es de 1/50.

La concentración aproximada de glutamato en el cerebro es del orden de 5 a 10 mM (Arrubla *et al.*, 2017) y la de glutamina es 7 mM. Aunque puede ser más alta en los somas o pericariones de las mismas neuronas donde la concentración es del orden de 38 mM, según estudios neuroquímicos y cuantitativos ultraestructurales (Christensen & Fonnum, 1991a). Esta diferencia pone de manifiesto la relación dinámica entre la producción de glutamato a partir de glutamina como un mecanismo fundamental para la fisiología celular. Este proceso que se conoce como el ciclo glutamato-GABA-glutamina y en el cerebro constituye un paradigma fundamental para entender la compartimentación entre las neuronas y la glía (Welbourne *et al.*, 2001; Simão *et al.*, 2016).

El mantenimiento del reservorio de glutamato en el cerebro constituye un punto del que penden delicados mecanismos a nivel celular y molecular. Así, el glutamato puede ser sometido a diferentes procesos metabólicos para la síntesis o la degradación en diversas reacciones de transaminación y deaminación oxidativa que favorecen la incorporación de esqueletos de carbono para la producción de ATP (Welbourne *et al.*, 2001). Metabolitos como α -cetoglutarato, piroglutamato, GABA y γ -glutamil péptidos se originan de esta forma en el SNC. Sin embargo, la conversión de glutamina para la producción de glutamato es funcionalmente una de las más importantes (Stanley & Prusiner, 1981).

El glutamato contenido en el cerebro se puede encontrar en cuatro compartimentos diferentes: a) en los terminales glutamatérgicos (40%); b) en los terminales GABAérgicos (10%) donde se requiere como precursor de GABA; c) en los astrocitos para la síntesis de glutamina (30%); y d) en un compartimento multicelular en el que es usado para el metabolismo energético (20%). Una disminución del glutamato disponible para mantener la función de las sinapsis glutamatérgicas o GABAérgicas podría resultar en un daño en el acople excitación/inhibición; es decir, en el balance glutamato/GABA. Del mismo modo, una pérdida de la función astrocítica que impida la capacidad para metabolizar el

reservorio de glutamato extracelular puede disminuir la detoxificación de iones amonio (NH_4^+) (Cooper, 1993). Estos dos escenarios demuestran que debe existir un fino balance en la dinámica de la actividad metabólica en cada uno de estos compartimentos. A fin de garantizar la funcionalidad de cada sistema, ya que, si se trastorna, puede disparar un sin número de alteraciones y estados patológicos.

De esta forma, el metabolismo del glutamato en el cerebro tiene en cuenta dos aspectos fundamentales: el primero se relaciona con el control de la concentración extracelular del neurotransmisor en el espacio sináptico debido a que la sobre-estimulación de los receptores ionotrópicos, especialmente de tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), produce eventualmente daño neuronal, fenómeno conocido como excitotoxicidad (Tanović & Alfaro, 2006); y el segundo aspecto se vincula con el delicado balance en la producción de iones de amonio (NH_4^+), cuyos excesos también resultan en efectos deletéreos en el SNC. Para mantener este fino mecanismo en condiciones óptimas, existen dos estrategias principales que le permiten al cerebro reducir estos riesgos y prevenir el daño neuronal: (i) estrategia mediada por la función selectiva de la BHE, que limita el transporte de glutamato de la sangre al cerebro, y (ii) la estrategia de compartimentación metabólica entre las neuronas y la glía. En ese sentido, el presente capítulo se centra en las principales características del mecanismo de compartimentación celular.

2. TERMINALES GLUTAMATÉRGICOS

La transmisión glutamatérgica ha sido descrita en diversas regiones del sistema nervioso e incluye conexiones córticocorticales, ipsilaterales y contralaterales, proyecciones corticales hacia la amígdala, tubérculo olfatorio, el putamen, núcleo caudado, tálamo, colículos superior e inferior, área tegmental, *sustancia nigra*, núcleo rojo y médula espinal. Además de la corteza entorrinal, que participa en la neurobiología hipocampal y en conexiones que incluyen al septum, subiculum, cuerpo mamilar e hipotálamo, así como también en la corteza visual, retina y cerebelo (Billard, 2018; Bliim *et al.*, 2019). Su escala de acción se encuentra en el orden de milisegundos y la activación de los receptores de glutamato juega un papel importante en los cambios duraderos que involucran al fenotipo neuronal y el desarrollo en el SNC. Ya que los patrones de actividad sináptica excitatoria son requeridos para el control fino de las conexiones sinápticas y la generación de mapas topográficos en las redes neurales (Kalb & Fox, 1997).

El glutamato proviene metabólicamente de la glucosa, de la glutamina y del lactato. Los dos primeros precursores atraviesan la BHE y son utilizados por neuronas y astrocitos. Debido a la gran demanda energética, las

neuronas oxidan totalmente la glucosa primero en el citosol con la producción de piruvato, luego este α -cetoácido es transportado a la matriz mitocondrial donde es descarboxilado y oxidado hasta acetil-coenzimaA (Acetil-CoA) por la acción del complejo piruvato deshidrogenasa. Posteriormente, el Acetil-CoA y el oxalacetato se condensan para iniciar las reacciones del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (CAT). Una vez en el ciclo, se forman diferentes intermediarios como citrato, isocitrato, α -cetoglutarato, succinato, fumarato y malato hasta que finalmente se regenera una molécula de oxalacetato. Al final se producen 2CO_2 y 1ATP , $3\text{NADH}^+\text{H}^+$ y 1FADH_2 por cada Acetil-CoA que ingresa al ciclo (Magistretti & Allaman, 2018).

Sin embargo, en condiciones de alta actividad neuronal, se ha evidenciado el papel del lactato derivado del glucógeno astrocitario y el transporte de este hacia las neuronas donde es utilizado como sustrato metabólico (Calì *et al.*, 2019; Magistretti & Allaman, 2018). Algunos estudios muestran que durante los procesos de potenciación a largo plazo (PLP), responsables del aprendizaje y la formación de la memoria, en estas condiciones el lactato es el metabolito energético preferido, más que la glucosa (Magistretti & Allaman, 2018).

El glutamato como neurotransmisor es acumulado en vesículas donde se encuentra en altas concentraciones (100 mM) y es liberado del terminal presináptico por exocitosis Ca^{+2} dependiente. En el terminal postsináptico, los receptores de glutamato (GluR) que se expresan prácticamente en todas las células neuronales, interactúan con el neurotransmisor. Esta familia está constituida por receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) y los receptores ionotrópicos de glutamato (iGluR). Los iGluR han sido clasificados en tres poblaciones diferentes, cada una definida por la activación selectiva con diferentes análogos estructurales del glutamato. Así, la familia iGluR está constituida por receptores activados por N-metil-D-aspartato (NMDA) de los cuales se conoce su estructura cuaternaria y los receptores activados por ácido- α -amino-3-hidroxi-5-metil-isoxasol-4-propiónico (AMPA) y por ácido kaínico (KAIN). Los receptores iGluR neuronales tienen asociados canales catiónicos selectivos que permiten aumentar las corrientes de entrada de Ca^{2+} y Na^+ , mientras que el K^+ efluye a través del mismo canal (Billard, 2018; Bliim *et al.*, 2019; Chen & Gouaux, 2019).

3. TERMINALES GABAÉRGICOS

La enzima glutamato descarboxilasa (GAD) (E.C. 4.1.1.15) convierte el glutamato en GABA (ácido γ -amino butírico), el neurotransmisor cerebral con mayor actividad inhibitoria. Los circuitos inhibitorios son diversos, aunque no

se conocen totalmente los aspectos de la biología celular implicada en su funcionamiento. En este sentido, la caracterización funcional de distintos subtipos de neuronas inhibitorias no ha sido suficiente para explicar cómo la neurotransmisión GABAérgica regula la actividad sináptica de manera tan relevante. Diversos mecanismos emergentes modulan la neurotransmisión GABAérgica de forma dinámica desde el terminal presináptico o el postsináptico. En este sentido, estas sinapsis contribuyen al desarrollo y la maduración de los circuitos hasta lograr el equilibrio excitación/inhibición. Adicionalmente, las interacciones entre las vías celulares, la difusión lateral de proteínas entre las sinapsis y el transportador de cloruro funcionan en las sinapsis excitadoras e inhibitorias y facilitan las adaptaciones inhibitorias de las sinapsis (Maffei *et al.*, 2017).

Investigaciones a nivel farmacológico, molecular y genético muestran que las sinapsis GABAérgicas son fundamentales en el desarrollo del cerebro y median procesos de plasticidad sináptica (Fazzari *et al.*, 2010). Se han descrito múltiples funciones durante el desarrollo de las sinapsis GABAérgicas entre las que se destacan el modular el posicionamiento de las neuronas en el tejido para lograr la diferenciación de las células, establecer la morfología y la forma de los contactos sinápticos con otras neuronas, así como participar en el refinamiento de las conexiones para hacer parte de la compleja red de neurotransmisión.

De manera interesante, en los últimos años se ha reportado que neuronas en el área tegmental ventral (ATV) y en la habénula coliberan glutamato y GABA. Lo anterior sugiere un papel complejo en la regulación de estas neuronas durante la neurotransmisión en estas regiones específicas (Yoo *et al.*, 2016; Zimmermann *et al.*, 2015; Shabel *et al.*, 2014). Estos recientes hallazgos evidencian la importancia de mantener el acople excitación/inhibición, lo que pone de manifiesto que estas dos actividades interdependientes favorecen el balance del que dependen tanto la funcionalidad celular como la de los circuitos neuronales previniendo los mecanismos de excitotoxicidad (Fazzari *et al.*, 2010).

4. COMPARTIMENTO GLIAL

Las células gliales del SNC (astrocitos tipo I, II y oligodendrocitos) cumplen funciones esenciales como el mantenimiento de la homeostasis iónica (especialmente de potasio), compartimentación metabólica, regulación de la inflamación, secreción de moléculas tróficas y sirven de guía y ayudan a la migración de las neuronas durante el desarrollo del sistema nervioso. Además, ejercen una actividad moduladora sobre la comunicación neuronal al eliminar neurotransmisores, proveer sus precursores y mantener concentraciones en el medio extracelular, lo

que permite la protección de las neuronas contra la neurotoxicidad por exceso de glutamato y NH_4^+ (Albrecht *et al.*, 2007).

Las células gliales, durante mucho tiempo, han sido consideradas como células no excitables y por tanto, actrices secundarias en los procesos de neurotransmisión. Sin embargo, diversos estudios realizados a partir de los años 2000 han motivado el reconocimiento de su papel protagónico en la funcionalidad del SNC. Así se han acuñado entonces, nuevos conceptos como la “gliotransmisión”, proceso en el que se liberan moléculas de los astrocitos a las células vecinas que inducen señales intra y extracelulares. En este sentido, se habla también de “gliotransmisores” para las moléculas involucradas. Sin embargo, los astrocitos no pueden generar potenciales de acción; el mecanismo excitatorio está determinado químicamente y es evidenciado por cambios en las concentraciones intracelulares de Ca^{+2} , llamadas “oscilaciones de Ca^{+2} ” que se propagan de célula a célula modulando la neurotransmisión (Bezzi & Volterra, 2001; Volterra & Meldolesi, 2005; Orellana & Stehberg, 2014).

Recientemente, se ha encontrado que en diferentes sinapsis, tanto en el SNC como en el sistema nervioso periférico (SNP), diversos neurotransmisores como glutamato, GABA, noradrenalina, acetilcolina, dopamina y adenosina están implicados en la activación sináptica glial durante la neurotransmisión (Orellana & Stehberg, 2014). Así, por ejemplo, los astrocitos hipocampales expresan receptores específicos para glutamato que, por mecanismos de señalización mediados por hidrólisis de fosfolípidos de membrana, generan inositol 1,4,5-trifosfato ($\text{Ins}1,4,5\text{P}_3$), favorecen la elevación intracelular de la concentración de Ca^{+2} , y provocan “oscilaciones de Ca^{+2} ” que se dispersan célula a célula a través de uniones estrechas (Figura 9.1) (Mayorquin *et al.*, 2018). La propagación de estas “ondas de Ca^{+2} ” pone de manifiesto un mecanismo de señalización glial que favorece actividades de neuromodulación (Bezzi & Volterra, 2001). Durante el disparo neuronal intenso, la liberación de neurotransmisores como el glutamato y GABA inducen elevaciones de la concentración intracelular de calcio $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en células gliales, que a su vez provoca la liberación de moléculas que impactan en la excitabilidad neuronal, la transmisión sináptica y la plasticidad (Bazargani & Attwell, 2016). Adicionalmente, producto de otros tipos de señales, la glía puede producir “gliotransmisores” como NO, ATP, glutamato, prostaglandinas, entre otros, o puede ejercer funciones de neuromodulación con la liberación de moléculas como D-serina (Volterra & Meldolesi, 2005).

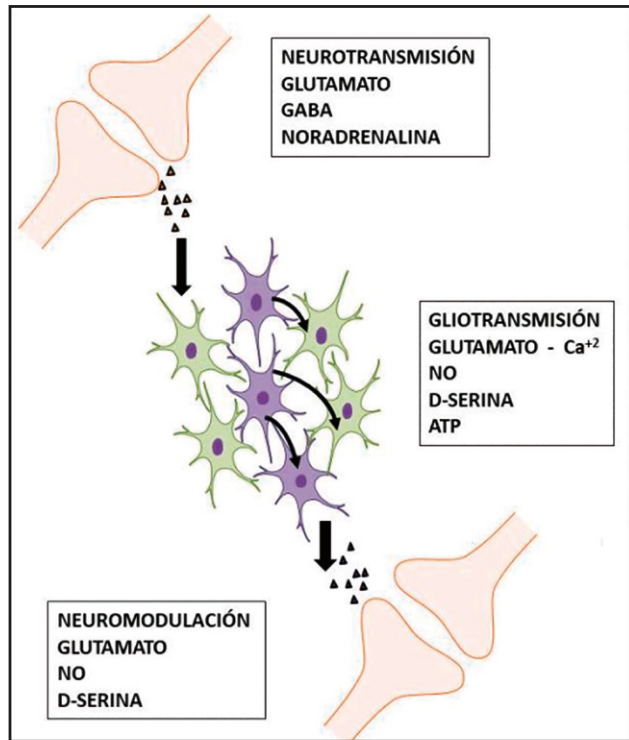


Figura 9.1 – Efecto neuromodulatorio de los gliotransmisores a través de la señalización mediada por ondas de calcio a través de uniones estrechas.

Fuente: figura adaptada de ppt- toolkit-Neuroscience;
<https://www.motifolio.com/neuroscience-all.html>.

Es así que el mecanismo de gliotransmisión puede coordinar redes de neuronas y sinapsis de unas regiones a otras. Debido a que las señales de Ca^{2+} astrocíticas evocadas localmente por sinapsis activas pueden expandirse intracelularmente desde su fuente original hacia diferentes células, esto implica que la señal viaja a lo largo de los procesos astrocíticos y desencadena la liberación de gliotransmisores en áreas distantes, regulando otras sinapsis y circuitos distantes (Araque *et al.*, 2014; Sahlender *et al.*, 2014).

Se ha reportado que astrocitos involucrados en el mismo circuito pueden liberar diferentes tipos de gliotransmisores y modular de esta forma la transmisión sináptica en múltiples formas. Sin embargo, la identificación del contexto de estas acciones regulatorias y sus múltiples respuestas es un desafío en la investigación en neurociencia para tratar de entender cómo operan en condiciones fisiológicas (Araque *et al.*, 2014).

5. SINAPSIS TRIPARTITA

Debido a las múltiples evidencias que reportan la existencia de una regulación dinámica y bidireccional entre los circuitos neuronales y los dominios astrocíticos, en los últimos años se ha establecido el concepto de la “sinapsis tripartita”. Este representa una visión integradora de la fisiología sináptica y considera a los astrocitos como protagonistas activos que regulan la transferencia de información entre las neuronas. De hecho, el término “sinapsis tripartita” fue acuñado para enfatizar la regulación del espacio extracelular alrededor de las sinapsis por los astrocitos, ya sea a través de la depuración de los neurotransmisores o la entrega de moléculas señalizadoras a los *loci* sinápticos, extrasinápticos o perisinápticos. Lo anterior produce un mecanismo de retroalimentación, una modulación homosináptica, o una acción heterosináptica de avance, que podría impactar los circuitos neuronales (Araque *et al.*, 2014; Farhy-Tselnicker & Allen, 2018).

En este sentido, este nuevo elemento en la neurotransmisión favorece la modulación de la comunicación entre neuronas. Sin embargo, la eficiencia de este proceso, depende de dos factores: la rápida liberación del neurotransmisor de la neurona presináptica y las bajas concentraciones del neurotransmisor en la sinapsis. Es decir, que se involucran procesos de síntesis, liberación y recaptura del neurotransmisor para mantener la eficiencia de este proceso (Daikhin & Yudkoff, 2000).

Se ha reportado que la concentración de glutamato en la sinapsis es del orden de 2-5 $\mu\text{mol/L}$ y puede elevarse después de la despolarización en un rango de 50-100 $\mu\text{mol/L}$. Así, el glutamato debe ser removido rápidamente de la sinapsis empleando tres sistemas: a) tomado por neuronas postsinápticas, b) tomado por neuronas presinápticas, y c) removido por astrocitos en la “sinapsis tripartita” (Daikhin & Yudkoff, 2000). Estos tres sistemas involucran mecanismos de compartimentación metabólica para el glutamato que ponen de manifiesto la participación activa de una gran familia de transportadores de alta afinidad para neurotransmisores excitatorios (EAAT). EAAT-1 y EAAT-2 se expresan en grandes áreas del cerebro como lóbulo frontal, corteza e hipocampo. Es decir; estas zonas particularmente activas en sinapsis glutamatérgicas cuentan con un efectivo sistema de remoción de glutamato. EAAT-3 se expresa en terminales nerviosos, pero no es considerado un mecanismo de transporte de glutamato importante. EAAT-4 es un transportador neuronal limitado a células de purkinje y EAAT-5 se expresa en retina (Hayashi, 2018).

De la misma manera y a través del mecanismo de compartimentación en las sinapsis inhibitorias, GABA es captado y metabolizado por astrocitos, gracias a la presencia de eficientes transportadores de alta afinidad (Sellstrom & Hamberger, 1977; Ramaharobandro *et al.*, 1982). En este sentido, se han descrito cuatro transportadores de alta afinidad para el GABA: GAT-1, GAT-3, GAT-B y XT1, todos Na^+/Cl^- dependientes, asociados con terminaciones nerviosas del SNC o asociados a células gliales (Mestikawy *et al.*, 1994). En condiciones normales, la concentración intraglial de GABA es aproximadamente 1 mM mientras que el extracelular es 1 μM . Esto quiere decir que estas células capturan activamente el exceso de GABA (Sellstrom & Hamberger, 1977). Parece ser que la afinidad del transportador del GABA es dependiente de la maduración cerebral, tanto en neuronas como en la glía. El valor de la constante de afinidad (K_M) del transportador de GABA es de 5,5 μM en neuronas y de 13 μM en astrocitos (González, 1985).

Aunque se pensó que el transportador neuronal de GABA estaba localizado exclusivamente en las terminaciones axónicas, se ha demostrado que dicho transportador se encuentra también en el pericarión neuronal. Tanto en neuronas como en astrocitos el aumento de las concentraciones de potasio extracelular estimula la liberación de GABA al medio, lo que establece un modelo bidireccional para el transportador de GABA. Una absorción óptima de GABA requiere de concentraciones intra y extracelulares de sodio y potasio las cuales dependen del potencial de membrana (Sellstrom & Hamberger, 1977; Christensen & Fonnum, 1991b).

6. CICLO GLUTAMATO-GABA-GLUTAMINA EN EL CEREBRO

En este paradigma de la sinapsis tripartita, cobra importancia el ciclo glutamato-GABA-glutamina. Este ciclo promueve la rápida remoción de glutamato y GABA de las sinapsis manteniendo una baja concentración de neurotransmisores y transformando estas moléculas en un sustrato no neuroactivo, la glutamina (Sidoryk-Wegrzynowicz & Aschner, 2013; Simão *et al.*, 2016; Hertz & Rothman, 2017; Hayashi, 2018). Es decir, los astrocitos sirven como “transportadores” de glutamato y GABA de regreso a las neuronas. Adicionalmente, la glutamina puede ser usada como combustible o precursor de otras moléculas. Por esta razón en el cerebro, el tráfico de glutamato, GABA y glutamina es crítico para el mantenimiento metabólico y el reservorio de neurotransmisores. El glutamato es liberado por las neuronas en un proceso Ca^{+2} dependiente que involucra la fusión de vesículas y su exceso puede ser tomado por los astrocitos en un proceso Na^+

dependiente y convertido en glutamina o en α -cetoglutarato (Simão *et al.*, 2016; Hertz & Rothman, 2017; Hayashi, 2018).

Esta actividad metabólica compartimentada entre neuronas y astrocitos también es importante ya que inactiva los iones NH_4^+ que son producto normal del metabolismo de estos neurotransmisores (Figura 9.2). No obstante, en el SNC son un importante agente neurotóxico, por lo cual es necesario removerlos de las sinapsis. En los tejidos, las sales de amonio y el amoníaco libre (NH_3) están en equilibrio, a pH 7,4 predomina en un 98,3% la forma protonada (NH_4^+ , o catión amonio). Sin embargo, el término “amonio” designa tanto a la forma libre como a la protonada. En condiciones fisiológicas, la forma no protonada atraviesa por difusión las membranas incluyendo la BHE (Cooper, 1993).

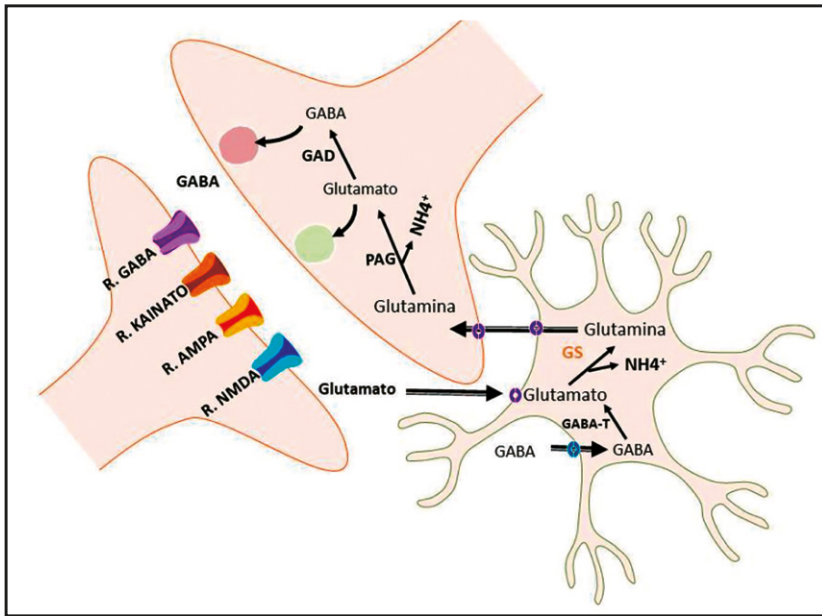


Figura 9.2 – Ciclo Glutamato-GABA-Glutamina en la sinapsis tripartita. Se evidencia la compartimentación metabólica de los neurotransmisores a fin de mantener la concentración extracelular disminuida y la eliminación de iones amonio de manera eficiente.

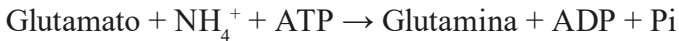
Fuente: figura adaptada de ppt- toolkit-Neuroscience;
<https://www.motifolio.com/neuroscience-all.html>.

En este sentido, el ciclo glutamato-GABA-glutamina se puede entender también como un movimiento de amonio del terminal sináptico a los astrocitos operado enzimáticamente y mantenido por tres mecanismos de transporte de NH_4^+ : a) difusión de NH_4^+ , b) antiporte acoplado a un mecanismo de lanzadera

de aminoácidos ramificados y a cetoácidos ramificados, y c) antiporte acoplado a la lanzadera alanina-lactato (Maciejewski & Rothman, 2008).

6.1 Principales enzimas del ciclo glutamato-GABA-glutamina

La conversión del glutamato a glutamina ocurre en presencia de ATP y el NH_4^+ proveniente de la sangre o del metabolismo cerebral. Esta reacción es catalizada por la enzima glutamina sintetasa (GS) y se muestra a continuación:



La glutamina sintetasa (GS) (E.C. 6.3.1.2) es una enzima presente en todas las especies y en casi todos los tejidos y cataliza la conversión del glutamato a glutamina en presencia de ATP (Meister, 1985; Daikhin & Yudkoff, 2000). GS está involucrada en el balance metabólico y el reciclaje de aminoácidos para el normal funcionamiento del cerebro. Clásicamente, esta enzima ha sido reportada exclusivamente en los astrocitos (Svenneby & Torgner, 1987) y la actividad de la GS está relacionada con la maduración de estas células (Caldani *et al.*, 1982).

En el adulto, la inmunoreactividad de la GS está asociada con procesos astrocíticos alrededor de las sinapsis excitatorias (Derouiche & Frotscher, 1991; Miyake & Kitamura, 1992). Se ha sugerido que los niveles extracelulares de glutamato pueden regular la distribución de GS. Lo anterior evidencia la gran importancia de estos mecanismos de compartimentación metabólica (Derouiche & Frotscher, 1991). La vida media de la enzima es relativamente corta (13-22 horas) y los niveles de GS son altamente regulados. La expresión de GS y la actividad son modulados por hormonas como insulina, hormona tiroidea, hormonas corticoesteroides (Suárez *et al.*, 2002).

La formación de glutamina en astrocitos a partir del glutamato liberado en las sinapsis es la base para el ciclo de la glutamina (Figura 9.3). La compartimentación de GS en astrocitos es consistente con la misión de reciclar glutamato, manteniendo el tráfico funcional y la ausencia de GS en neuronas es consistente con la neurotransmisión excitatoria en condiciones normales (Maciejewski & Rothman, 2008). Sin embargo, en condiciones patológicas como en la enfermedad de Alzheimer (EA), por ejemplo, se ha encontrado esta enzima en neuronas piramidales de las capas 5 y 6 (Walton & Dodd, 2007). Esta expresión alterada en condiciones patológicas muestra que el reciclaje de neurotransmisores en la sinapsis es crítico para mantener la baja concentración del glutamato. Por lo tanto,

GS podría funcionar como mecanismo de protección contra la sobreestimulación de receptores, que genera excitotoxicidad en estas condiciones.

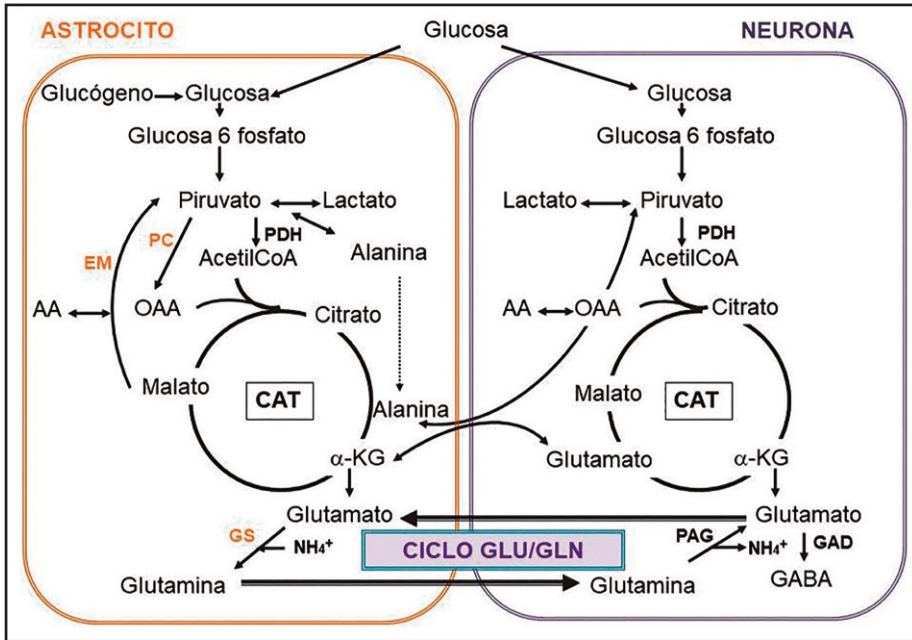
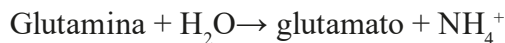


Figura 9.3 – Compartimentación metabólica entre neuronas y astrocitos. Se destacan las principales rutas metabólicas en estas células y el ciclo Glutamato-GABA-Glutamina.

Fuente: figura adaptada de ppt- toolkit-Neuroscience;
<https://www.motifolio.com/neuroscience-all.html>.

Considerando otro elemento del compartimento multicelular para el ciclo glutamato-GABA-glutamina, en las neuronas se expresan otras enzimas como glutaminasa activada por fosfato (PAG) (E.C. 3.5.1.2), enzima mitocondrial que cataliza la reacción no reversible:



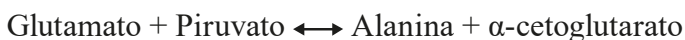
El fosfato inorgánico es derivado de la hidrólisis de ATP y el K_M característico de la enzima es muy bajo para su sustrato, lo que le confiere una alta afinidad por la glutamina. La PAG también inicia el catabolismo de la glutamina, el cual es muy importante para los procesos biogénicos celulares (Kovacevic & McGivan, 1983).

La glutamina es transportada a la neurona mediante dos mecanismos, uno Na^+ dependiente y otro Na^+ independiente (Daikhin & Yudkoff, 2000). La enzima es activada por fosfato y por ácidos carboxílicos e inhibida por glutamato, amonio y protones. La PAG está presente tanto en astrocitos como en neuronas, pero es principalmente activa en neuronas, lo que favorece la síntesis en terminales presinápticos y es consecuente con la compartimentación en condiciones normales (Maciejewski & Rothman, 2008). Así, la PAG produce glutamato y NH_4^+ en neuronas y GS utiliza glutamato y NH_4^+ en astrocitos.

El transporte de glutamato de los terminales sinápticos y el transporte de glutamina del astrocito son procesos dependientes de ATP. Adicionalmente, las reacciones catalizadas por GS y PAG también son ATP dependientes, por lo que el balance energético celular resulta crítico en el acople del ciclo glutamato-GABA-glutamina con los sustratos necesarios para su mantenimiento, que, en el cerebro, son dependientes de glucosa (Maciejewski & Rothman, 2008).

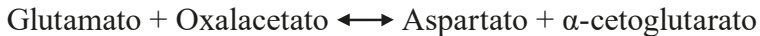
El tráfico de glutamato en las sinapsis para la neurotransmisión es fundamental para el funcionamiento del cerebro, debido a que la gran mayoría de las sinapsis son glutamatérgicas y median funciones vitales como el aprendizaje, la formación de memoria, reconocimiento espacial y funciones superiores de la conciencia. Adicionalmente, tanto neuronas como astrocitos pueden utilizar oxidativamente el glutamato por la acción de glutamato deshidrogenasa NAD(P)^+ (E.C. 1.4.1.2-4), ruta potencialmente importante para la entrada de esqueletos de carbonos al CAT. En los astrocitos, ácidos como citrato y malato, generados en esta ruta o por la actividad de la enzima málica (EC 1.1.1.40), podrían ser exportados principalmente para ser utilizados por las neuronas como esqueletos de carbono precursores de glutamato y permitir, así, el mantenimiento del ciclo glutamato/glutamina (Maciejewski & Rothman, 2008). Debido a que en el cerebro, no procede la aminación reductiva del α -cetoglutarato para producir glutamato, excepto bajo condiciones de hiperamonemia (Cooper *et al.*, 1979), la formación de glutamato puede ocurrir por transaminación con aminoácidos como la alanina, reacción catalizada por alanina aminotransferasa (EC 2.6.1.2).

La alanina también puede ser producida en los astrocitos a partir de piruvato por transaminación o por oxidación parcial de la glucosa en la glucólisis, como se ha demostrado en cultivo de neuronas (Peng *et al.*, 1991) y en cerebro *in vivo* (Bakkellund *et al.*, 1993).



La formación de alanina a partir de piruvato por transaminación con glutamato, está en equilibrio por la transaminación entre alanina y α -cetoglutarato para producir piruvato, que es oxidado en el CAT, y glutamato (Peng *et al.*, 1994). El donador de grupos amino para las transaminaciones con α -cetoglutarato puede ser también un aminoácido ramificado como valina, leucina o isoleucina, todos ellos aminoácidos esenciales que atraviesan fácilmente la BHE (Smith *et al.*, 1987).

El destino del glutamato no es solo aumentar el reservorio de neurotransmisores en la célula presináptica; la conversión del glutamato hasta α -cetoglutarato es una transaminación en la que interviene también la aspartato aminotransferasa (EC 2.6.1.1), reacción que favorece el equilibrio hacia la formación de aspartato (Erecinska *et al.*, 1990).



Por deaminación reductiva catalizada por glutamato deshidrogenasa NAD(P)^+ se favorece la utilización de esqueletos de carbono provenientes del glutamato con producción de α -cetoglutarato como combustible vía CAT (McKenna *et al.*, 1996).



También es importante la acción de la enzima piruvato carboxilasa (EC 6.4.1.1) (enzima glial) que favorece la carboxilación del piruvato en los astrocitos con la producción de oxalacetato. Esto aumenta la concentración de los intermediarios del CAT y, por tanto, la concentración de α -cetoglutarato que mediante una transaminación con alanina conduce a la producción de glutamato (Figura 9.3). De esta forma, los intermediarios del ciclo son precursores para la síntesis de neurotransmisores, en este caso glutamato, y también para oxidación y producción de ATP (Hertz *et al.*, 1999).

Todas estas reacciones favorecen la incorporación de los esqueletos de carbono, provenientes del glutamato al CAT en forma de α -cetoglutarato y, por acción del complejo multienzimático α -cetoglutarato deshidrogenasa, produce succinil coenzima A (succinil-CoA) (Hertz *et al.*, 1999). Se ha observado que el glutamato convertido en α -cetoglutarato puede ser completamente oxidado a CO_2 y agua en los astrocitos (Schousboe *et al.*, 1993) y en cerebro intacto de rata

(Pascual *et al.*, 1998). El α -cetoglutarato puede abandonar la matriz mitocondrial a través de su conversión a malato en el CAT a través de un transportador de dicarboxilato que se expresa en la membrana interna mitocondrial y, una vez en el citosol, es convertido en piruvato en una reacción catalizada por la enzima málica que se encuentra expresada solamente en la glía. El piruvato puede ser reintroducido al CAT para su completa oxidación hasta CO_2 y agua (McKenna *et al.*, 1996; Simão *et al.*, 2016; Magistretti & Allaman, 2018)

6.2 Regulación del ciclo glutamato-GABA-glutamina

Este ciclo requiere de un metabolismo altamente regulado, a fin de que tanto la síntesis de glutamina como su degradación no se conviertan en un ciclo inútil. Debido a que la síntesis de glutamina catalizada por GS es ATP dependiente, la regulación del consumo energético resulta también vital para la célula, así como la interrelación de los dos procesos. Sin embargo, es poco lo que se conoce de los mecanismos regulatorios en mamíferos y particularmente en SNC, pero se posee amplia información sobre estos mecanismos en bacterias.

Procariontes y eucariontes expresan formas diferentes de GS. Los procariontes expresan GS tipo I (GSI), mientras que eucariontes expresan GS tipo II (GSII). La GS de origen bacteriano consiste en un complejo enzimático de 12 subunidades, mientras que para las GS eucarióticas se han reportado complejos de 8 a 10 subunidades organizadas en dos tetrámeros o pentámeros, respectivamente. Investigaciones sobre GS II han sido realizadas en los siguientes tejidos: hígado de rata (Meister, 1985), músculo esquelético de rata y conejo (Meister, 1985), cerebro de cerdo (Jaenicke & Berson, 1977), cerebro de oveja (Maurizi *et al.*, 1987) y cerebro humano (Tumani *et al.*, 1999; Boksha *et al.*, 2002).

Con relación a la regulación de la actividad enzimática, existen reportes de la inhibición de GSII por ADP en músculo esquelético de rata; mientras que en cerebro e hígado no se presenta este tipo de regulación (Meister, 1985). Los sitios de interacción alostérica para GSII que han sido propuestos son para arseniato, glutamato y dos iones Mn^{+2} por subunidad. Otros iones que afectan la actividad de GSII son el ion Cl^- y para la GS de cerebro de oveja se han reportado cuatro Mn^{+2} unidos fuertemente por octámero (Sidoryk-Wegrzynowicz & Aschner, 2013). En contraste con GS de cerebro de bovino en que se han reportado 16 Mn^{+2} por octámero, pero no fuertemente unidos (Maurizi *et al.*, 1987). En este sentido, se ha demostrado que la exposición a Mn^{+2} causa transporte aberrante de glutamato en astrocitos, lo que lleva a elevadas concentraciones de glutamato extracelular. Además, Mn^{+2} provoca una regulación negativa de la expresión y

actividad de GS. Estos cambios pueden desencadenar el agotamiento de la síntesis de glutamina en la glía con la disminución y, por tanto, el desbalance del ciclo afectando las sinapsis glutamatérgicas y GABAérgicas (Sidoryk-Wegrzynowicz & Aschner, 2013).

Por otra parte, todas las GSII han perdido la secuencia de adenilación y no exhiben este mecanismo regulatorio como en el caso de las GSI y no se inhiben por acumulación de productos finales (Eisenberg *et al.*, 2000). En cuanto a la regulación de la expresión génica de la GS, se ha reportado que está determinada por hormonas como insulina e hidrocortisona que pueden inducir cambios en las tasas de biosíntesis de la enzima (Meister, 1985).

7. GLUTAMINA Y METABOLISMO OXIDATIVO EN EL CEREBRO

El metabolismo energético del cerebro depende exclusivamente de la utilización de la glucosa y la oxidación completa de la molécula en la mitocondria, por lo cual el cerebro es especialmente susceptible al daño oxidativo debido a la alta producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), la presencia de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares y la relativamente baja defensa antioxidante. Las EROs participan en el daño causado entre otros por los procesos neurodegenerativos, incluyendo muerte celular, desórdenes motores y lesiones. De otro lado, las disfunciones por deficiencias en la defensa antioxidante han sido asociadas con casi todas las patologías neurodegenerativas (Matés *et al.*, 1999).

La glutamina juega un papel importante en el control antioxidante y la respuesta celular redox. En la enfermedad de Alzheimer (EA), el péptido β -amiloide (PBA) y la apolipoproteína E (APOE) contribuyen a potenciar los eventos de estrés oxidativo que disparan apoptosis (Fadeel *et al.*, 1999). La glutamina, como precursor de glutatión, ayuda a elevar los niveles que protegen contra los efectos deletéreos de las ERO (Amores-Sánchez & Medina, 1999).

El radical óxido nítrico (NO), por ejemplo, es una ERO producida en organismos superiores por la oxidación de uno de los nitrógenos del guanidino terminal de la L-arginina por la óxido nítrico sintasa. Dependiendo del microambiente, NO puede ser convertido en otras especies reactivas de nitrógeno (ERN) como son el catión nitrosonio (NO^+), dióxido de nitrógeno (NO_2) o el peroxinitrito (ONOO^-) (Droge, 2002; Belzer & Hanani, 2019).

Diferentes trabajos han demostrado que el NO funciona como un neurotransmisor involucrado en la regulación neuroendocrina (Belzer & Hanani,

2019). Así, neuronas que sintetizan NO están presentes en los núcleos hipotálamicos estrechamente asociados con neuronas productoras de hormonas hipotálamicas liberadoras de hormonas hipofisarias, como la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GH-RH) y de hormonas adenohipofisarias como la prolactina (PRL) (Aguan *et al.*, 1996).

El óxido nítrico es sintetizado por una familia de enzimas conocida como óxido nítrico sintasa (NOS), de la que se han identificado tres isoformas. Una isoforma neuronal (nNOS o NOS1) de donde originalmente se clonó, aunque también esté presente en riñón y músculo esquelético (Droge, 2002). NOS1 juega un rol fisiológico importante a nivel neuronal en la liberación de neurotransmisores, el desarrollo neuronal, la regeneración, la plasticidad sináptica y la regulación de la expresión de genes. Sin embargo, la desregulación de esta enzima se ha relacionado con una gran variedad de desórdenes como EA y enfermedad de Parkinson (EP), en los que se evidencia una excesiva producción de NO en lesiones cerebrales, donde se comporta como un mediador de la neurotoxicidad (Droge, 2002).

Adicionalmente, en el cerebro GS es modulada por NMDA y NO. Así, el bloqueo de los receptores o de la actividad de NOS *in vivo* incrementa la actividad de GS y el contenido de glutamina en el cerebro, lo que indica que una activación de los receptores NMDA y NOS mantienen una inhibición de GS. Esto es debido a que la activación de NOS está mediada por los receptores NMDA que son responsables solo en parte por la inhibición de la enzima. Otras fuentes de NO pueden contribuir a la inhibición de la GS por efecto de modificaciones covalentes reversibles sobre la enzima como nitración de residuos de tirosina, lo que hace a la enzima menos eficiente (Rodrigo & Felipe, 2007).

8. PATOLOGÍAS ASOCIADAS AL DESBALANCE DEL CICLO GLUTAMATO-GABA-GLUTAMINA

El conocimiento de que las actividades cerebrales involucran una gran interacción entre las neuronas y la glía, abre todo un universo al entendimiento de diferentes patologías. Alteraciones en la glía disparan o potencian gran impacto en las actividades en las redes neuronales y, en muchos casos, podrían favorecer las primeras manifestaciones celulares y bioquímicas que, posteriormente, lleven a procesos de neurodegeneración. Se sabe que procesos inflamatorios y de activación glial “astrocitos” producen profundas alteraciones estructurales

entre las interacciones neurona-astrocitos (Pekny & Nilsson, 2005; Maragakis & Rothstein, 2006).

Adicionalmente, las funciones normales del cerebro requieren un balance entre la energía requerida para las actividades y el suministro de nutrientes lo cual, en el SNC, es principalmente dependiente de glucosa. Datos recientes indican que estos dos procesos están altamente acoplados y que el reciclaje de glutamato por los astrocitos resulta ser un proceso crucial en este acople. Así, la utilización de glucosa por los astrocitos es principalmente a través de la glucólisis, lo que conduce a la producción de lactato. Posteriormente, este lactato se exporta a las neuronas donde es usado para el metabolismo oxidativo o para la síntesis de neurotransmisores (Poitry *et al.*, 2000). En contraste, el glutamato liberado de las neuronas es captado por los astrocitos e incluido en el ciclo glutamato-GABA-glutamina.

Con estas observaciones se propone un modelo en el que se plantea que el consumo de glucosa del astrocito está acoplado a la captura de glutamato en estas células. El modelo propone que el consumo de energía glía-neurona está potenciado en función de la actividad sináptica (Pellerin & Magistretti, 1994; Pellerin & Magistretti, 2012). Estudios de resonancia magnética nuclear ^{13}C (NMR) en corteza de ratas y en humanos confirman una relación estequiométrica 1:1 del consumo de glucosa y el reciclaje de glutamato (Shen *et al.*, 1999).

Lo anterior implica que en condiciones de insuficiencia energética se espera encontrar alteraciones a nivel del ciclo glutamato-GABA-glutamina. En este sentido, la modulación de la actividad de GS y de otras enzimas en el cerebro resulta importante y cualquier alteración o saturación deriva en consecuencias potencialmente patológicas. En las siguientes patologías se muestran algunas evidencias que sustentan esta afirmación.

8.1 Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa de demencia más frecuente en la población anciana; representa entre un 50% y 80% del total de las demencias. Su forma de presentación se caracteriza por la aparición de trastornos mentales tales como ideas de persecución, alteración de la memoria, desorientación temporo-espacial, problemas de comprensión del lenguaje, disminución de la memoria y conversación inconexa (Villemagne *et al.*, 2013). Suele aparecer después de los 50 años de edad y no se acompaña de alteraciones en la marcha, coordinación de movimientos o alteraciones en los reflejos. A nivel molecular, se reconoce que en los estados avanzados de EA se encuentran

agregados del péptido β -amiloide (PBA) que se forma por clivajes secuenciales de una glicoproteína precursora transmembranal. El PBA es un péptido de 42 aminoácidos y constituye el núcleo de las placas seniles (placas de Alzheimer o placas neuríticas) (Querfurth & LaFerla, 2010). Las alteraciones en su procesamiento metabólico y la posterior acumulación son algunas de las características en los estados avanzados de la EA.

Durante años, ha prevalecido la hipótesis de que el glutamato es el principal responsable de los procesos de patogénesis debido a que se ha encontrado elevada la concentración extracelular de este neurotransmisor en pacientes con diagnóstico de EA (Le Prince *et al.*, 1995). Un estudio con pacientes que presentaban deterioro cognitivo o posible EA encontró que los niveles de glutamato y glutamina aumentan en el líquido cefalorraquídeo (LCR), por lo que se pueden considerar biomarcadores adicionales para el deterioro cognitivo preclínico o de las etapas tempranas de la demencia (Madeira *et al.*, 2018). Otro trabajo comparó los niveles de glutamato, glutamina y GABA en personas sanas jóvenes y mayores encontrando que estos pueden disminuir simultáneamente con la edad. Aunque estos niveles disminuyen predominantemente durante la enfermedad en pacientes que presentan deterioro cognitivo y en pacientes diagnosticados con EA. Estos estudios sugieren que puede encontrarse afectado el equilibrio excitación/inhibición en EA, lo cual podría contribuir a la patogénesis (Huang *et al.*, 2017).

Debido a que el aumento extracelular de glutamato provoca efecto “tóxico” sobre las neuronas, dado principalmente por sobreestimulación de los receptores de glutamato, particularmente los NMDA, se desencadenan una serie de eventos que son disparados por el aumento intracelular de Ca^{+2} y generan muerte celular. A este mecanismo se le conoce como “excitotoxicidad por glutamato” (Boksha, 2004). Pese a todo este conocimiento, aún no está claro qué componentes del sistema glutamatérgico se encuentran alterados. Adicionalmente, el exceso de glutamato no solo tiene efectos sobre las neuronas; los astrocitos abundantes en los terminales glutamatérgicos también se ven afectados, ya que el aumento de la concentración del glutamato provoca turgencia y finalmente lisis celular (Chen *et al.*, 2000).

El rápido aumento extracelular de glutamato provoca excitotoxicidad en pocos minutos. De esta forma, la pérdida repentina del suministro de energía debido al cierre del flujo de sangre al cerebro conduce a una ruptura de los potenciales de membrana neuronales y astrogliales, ya que el mantenimiento de estos depende de la energía. En las neuronas, la posterior despolarización de la

membrana conduce a la liberación vesicular de glutamato. Además del agotamiento de energía y la interrupción de la homeostasis iónica también se inhibe la actividad de los EAAT en los astrocitos e, incluso, puede inducir una inversión en su acción, lo que conduce a la liberación de glutamato no vesicular (Lewerenz & Maher, 2015).

Bajo este contexto, se espera que las patologías en el SNC resulten de los cambios en el sistema glutamatérgico a dos diferentes niveles principalmente: a) en la distribución y la expresión de diferentes transportadores, receptores y enzimas, lo que lleva a diferencias en la regulación, y b) afectación en las rutas implicadas en el metabolismo del glutamato para la síntesis o inactivación. Diversas enzimas como PAG y GS se han reportado alteradas en la EA. En particular, se ha encontrado disminuida drásticamente la expresión de PAG en neuronas corticales de pacientes con EA y el número de neuronas que expresan otras enzimas como glutamato deshidrogenasa también ha sido reportada (Akiyama *et al.*, 1989). En este mismo sentido, se ha detectado una baja actividad de los transportadores para glutamato tipo GLT1 (Procter *et al.*, 1988). Otros estudios histológicos *postmortem* de pacientes con EA revelan un decrecimiento en la expresión y en la actividad de la GS (Le Prince *et al.*, 1995). Estas observaciones son consistentes con que alteraciones en diferentes componentes del sistema glutamatérgico llevan a cambios deletéreos en el contexto funcional y, como consecuencia, conducirían al escenario perfecto para disparar eventos moleculares que llevan a la neurodegeneración típica de estas patologías.

Adicionalmente, se ha reportado que la pérdida de actividad de la GS puede estar relacionada con la formación de radicales libres (Aksenov *et al.*, 1997) o por susceptibilidad de la enzima a la presencia de los mismos y se ha sugerido un daño estructural que sería responsable por la pérdida de actividad de la GS. La sensibilidad de la GS a la inactivación por agentes oxidantes, que modifican su actividad generalmente, se ha usado como una medida del daño del tejido cerebral (Aksenov *et al.*, 1997). Los resultados usando un modelo de ratón triple-transgénico (3xTg-AD) indican que la disminución en la expresión de GS puede subyacer a una disminución gradual en la vía vital de conversión de glutamato a glutamina dependiente de astrocitos, que a su vez puede comprometer la homeostasis del glutamato. Esto puede conducir a fallas en la conectividad sináptica, la cognición y favorecer la pérdida de memoria (Kulijewicz-Nawrot *et al.*, 2013).

El mantenimiento del nivel de glutamato depende del acople de los procesos de captura y transporte, en contraposición con los mecanismos metabólicos

de producción e interconversión. En este sentido, las observaciones evidencian un decrecimiento de la expresión de la GS en astrocitos y una expresión alterada en neuronas piramidales en todos los casos de pacientes estudiados (Robinson, 2001; Walton & Dodd, 2007; Fernandes *et al.*, 2011). Estos resultados indican una alteración en el ciclo glutamato/glutamina en pacientes con EA. La expresión alterada de la enzima podría obedecer a un mecanismo de compensación del sistema para contrarrestar el efecto adverso, a fin de “inactivar” intracelularmente el glutamato en un compartimento diferente y operar parcialmente el sistema.

También, usando modelos *in vitro*, se ha demostrado la interacción de GS con el fragmento PBA 1-40 y el fragmento PBA 25-35, resultando en la inactivación oxidativa de la GS y en el incremento de la formación de radicales libres con el aumento de la neurotoxicidad por efecto del péptido (Butterfield *et al.*, 1997; Canevari *et al.*, 2004). Estas observaciones sugieren que existe una relación entre la interacción de la enzima con PBA y la formación de la placa amiloide, que podría evidenciarse con el compromiso en la toxicidad por glutamato y amonio. Se ha reportado también que los PBA facilitan la formación de radicales libres reactivos (Butterfield *et al.*, 1997; Butterfield *et al.*, 2007) y se ha propuesto que estos radicales libres derivados de PBA pueden dañar las proteínas celulares al causar modificaciones por oxidación. Posibles mecanismos que pueden explicar este efecto neurotóxico de los PBA son potenciar el estrés oxidativo, alterar la actividad de enzimas del metabolismo intermediario y favorecer la disfunción mitocondrial (Atamna & Frey, 2007). Existen reportes de otros estudios *in vitro* en los que se ha puesto en evidencia que los PBA 1-40 sintéticos interactúan con la GS y la inactivan, induciendo oxidación en la enzima pura (Butterfield *et al.*, 2007).

Otros trabajos muestran que en condiciones normales como el envejecimiento, hay disminución de la actividad de GS con incremento de las concentraciones de amonio y glutamato extracelular (Huang *et al.*, 2017). Pacientes con EA muestran niveles aún más bajos de actividad de la enzima, especialmente en las vecindades de las placas seniles y los depósitos amiloides característicos de la enfermedad en los que predomina la presencia de PBA. Adicionalmente, se ha observado expresión neuronal de la enzima (Robinson, 2001). Todos estos cambios intracelulares muy tempranos podrían ser un indicativo de daño tisular. Además, se ha reportado que la GS está presente en fluido cerebro espinal (FCE), lo que sugiere cambios en la compartimentación, la expresión de la GS y metabolismo alterado o disfuncional del glutamato (Tumani *et al.*, 1999).

8.2 La enfermedad de Huntington

La enfermedad de Huntington (EH) (o corea de Huntington), es un trastorno progresivo que ocasiona neurodegeneración en el cerebro y fue descrita inicialmente en 1872 por George Huntington, un médico estadounidense. Pacientes con este trastorno presentan pérdida progresiva de la función mental, cambios de personalidad y pérdida de las funciones cognitivas como el juicio y el lenguaje. También desarrollan movimientos faciales y corporales espasmódicos rápidos anormales. De hecho, el término corea indica “danza” y se refiere a estos movimientos atípicos que se desarrollan durante la enfermedad. En las formas juveniles de la enfermedad los pacientes presentan distonía y signos evidentes de que se afecta la función cognitiva y psiquiátrica (Chesselet, 2001). Un rasgo característico de esta patología es la presencia de agregados de una proteína de 350 KDa llamada huntingtina que presenta una expansión de poliglutaminas en la región N-terminal (más de 37 glutaminas). Este fragmento determina la acumulación de la proteína en el núcleo afectando la regulación transcripcional y el desencadenamiento de la neuropatología (Havel *et al.*, 2009).

En la EH, aunque los mecanismos de patogénesis aún no han sido bien entendidos, el común denominador parece ser una alteración en el ciclo glutamato-GABA-glutamina. En estudios con ratones transgénicos para la enfermedad y con un ratón R6/2, se ha identificado que el mecanismo de excitotoxicidad se encuentra asociado a esta entidad neurodegenerativa y en este caso compromete la actividad de los transportadores de glutamato. Algunos reportes de la literatura respaldan la opinión de que en la EH existe una redistribución de los receptores de NMDA, especialmente la subunidad NR2B, que podrían sobreactivar vías de señalización que fomentan la neurodegeneración. Sin embargo, no existen evidencias consistentes de que los niveles de glutamato cerebral extracelular aumenten considerablemente en la enfermedad (Lewerenz & Maher, 2015). Así mismo, fue observado un incremento en los niveles extracelulares de glutamina como producto de la actividad disminuida de GS en las células gliales o por un decrecimiento de la capacidad de captura del neurotransmisor por las células neuronales. Aunque la utilización de glutamina puede estar alterada debido a una deficiencia en la actividad de la PAG, en este estudio no se encontraron cambios en la expresión (Behrens *et al.*, 2002). Sin embargo, se sabe que, en pacientes con EH, se ha observado poca actividad de PAG (Butterworth *et al.*, 1985).

La actividad de la GS ha sido medida en áreas de cerebros *postmortem* de pacientes con EH y se ha encontrado reducida en corteza frontal, corteza temporal, putamen y cerebelo. Estos resultados sugieren que en las áreas en

donde se presenta reducción de la actividad GS existe un déficit funcional (Carter, 1982).

En un estudio usando modelos de ratón específicos para neuronas, astrocitos o en ambas poblaciones del circuito de ganglios basales se expresó un fragmento de huntingtina. Así, se demostró que los astrocitos se ven menos afectados por la huntingtina en comparación con las neuronas, en particular en lo que respecta a la agregación. Además, se observó una contribución más indirecta de los astrocitos en comparación con las neuronas en varios mecanismos fisiopatológicos como la astrogliosis y la disfunción neuronal (Meunier *et al.*, 2016).

8.3 Enfermedad de Parkinson (EP)

La enfermedad de Parkinson (EP) fue descrita inicialmente por el médico James Parkinson, en 1817, a quien se le debe el nombre. Al principio, el Dr. Parkinson la llamó *Parálisis Agitans*, lo cual define los síntomas de la enfermedad, es decir la asociación de lentitud con movimientos anormales. La EP es un desorden del sistema nervioso central en el que se presentan pérdida del control motor, temblor, bradiquinesia, rigidez muscular e inestabilidad postural (Hayes, 2019). La EP puede iniciarse desde la segunda década de la vida hasta finales de la misma, con un pico máximo de prevalencia entre la quinta y la sexta década de la vida. Se puede decir que es un mito el que la EP sea exclusiva de la vejez, dado que puede presentarse EP juvenil e infantil. La característica más importante desde el punto de vista de la patogénesis es la pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas en la sustancia *nigra pars compacta* por la formación de inclusiones anormales de proteína que se conocen como cuerpos de Lewy, compuestos principalmente de la α -sinucleína y la proteína parkina (Hayes, 2019).

La EP está asociada con muerte de neuronas, especialmente dopaminérgicas, aunque los mecanismos que causan esta degeneración aún no son totalmente entendidos. Existe evidencia indirecta que sugiere que los mecanismos de la actividad excitatoria del glutamato podrían regular la patogénesis de la EP (Meredith *et al.*, 2009, Zhang *et al.*, 2016). La sobreestimulación de las neuronas glutamatérgicas y el efecto benéfico observado con sustancias antiglutamatérgicas, en modelos animales, sugieren que el exceso de glutamato puede contribuir en la patofisiología de la EP. Asimismo, se ha encontrado reducida la actividad de la GS en pacientes con EP en comparación con pacientes control de las mismas edades. Estos resultados implican una desregulación en el ciclo glutamato/glutamina manifestada en la alteración de la enzima en pacientes con EP (Meredith *et al.*, 2009).

Como se mencionó previamente, la neurotransmisión excitatoria consume importantes cantidades de ATP, principalmente para los sistemas de transporte. Estudios que utilizan cultivo de neuronas dopaminérgicas de humano y rata sometidas a altas concentraciones de glutamato muestran que se favorece la activación de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH) con la consecuente producción de α -cetoglutarato. Así, este puede ser usado para mantener las demandas energéticas propias de los mecanismos transportadores de glutamato, la actividad de GS y PAG, todas ATP dependientes. En la patogénesis de EP, la actividad de GDH neuronal podría constituir una fuente adicional de energía metabólica (Plaitakis & Shashidharan, 2000).

Sin embargo, otros estudios han mostrado que la disminución de la expresión de los EAATs en la sustancia *nigra* o la administración de inhibidores provocan los efectos neurodegenerativos asociados con la enfermedad. Esta es una evidencia sólida que confirma que la disminución de la expresión de EAATs contribuye al proceso de patogénesis en la EP. De la misma forma, se ha demostrado que los fármacos o tratamientos que promueven la expresión y función de las EAATs atenúan la muerte de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia *nigra* y el estriado, mejorando las características del trastorno en cuanto a signos conductuales y a las capacidades cognitivas en modelos animales con EP (Assous *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2016).

9. CONSIDERACIONES FINALES

El glutamato en el sistema nervioso central es el aminoácido excitatorio más importante y participa en las principales funciones superiores y de la conciencia. Metabólicamente, proviene de la glucosa y de la glutamina que atraviesan la BHE. Sin embargo, debido a su importancia en la fisiología del cerebro, se pueden considerar cuatro grandes compartimentos en los que se encuentra: a) las sinapsis glutamatérgicas, b) las sinapsis GABAérgicas, c) el compartimento glial y d) un reservorio multicelular en el que participan diferentes tipos de enzimas. Esto significa que el glutamato participa en todas las actividades cerebrales, directa o indirectamente. Adicionalmente, si se presentan alteraciones a nivel estructural o funcional en cualquier punto de estos cuatro compartimentos, se pueden generar trastornos que conducen a procesos que potencian el escenario para que a nivel molecular se presenten manifestaciones patológicas.

En las enfermedades neurodegenerativas, particularmente, existen evidencias que confirman que alteraciones en el ciclo glutamato-GABA-glutamina generadas por cambios relacionados con la expresión de genes producto

del envejecimiento, pueden potenciar los mecanismos de excitotoxicidad característicos de estas entidades patológicas. Por esta razón en los últimos años la comunidad de neurocientíficos se ha dedicado a entender cómo el glutamato participa en las actividades metabólicas, de señalización y transporte en diferentes condiciones. El reto consiste en entender en qué situaciones se pueden generar cambios que alteren el normal metabolismo del glutamato en el cerebro, a fin de buscar alternativas terapéuticas para contrarrestarlos antes de que los efectos sean irreversibles.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUAN, K. *et al.* “Evidence for a physiological role for nitric oxide in the regulation of the LH surge: effect of central administration of antisense oligonucleotides to nitric oxide synthase”. *Neuroendocrinol.* 64(6): 449-455, 1996.

AKIYAMA, H. *et al.* “Loss of glutaminase-positive cortical neurons in Alzheimer’s disease”. *Neurochem Res.* 14(4): 353-358, 1989.

AKSENOV, M. *et al.* “Oxidative modification of glutamine synthetase by amyloide beta peptide”. *Free Rad Res.* 27(3): 267-281, 1997.

ALBRECHT, J. *et al.* “Glutamine in the central nervous system: function and dysfunction”. *Front Biosci.* 12: 332-343, 2007.

AMORES-SÁNCHEZ, M. I. & MEDINA, M. A. “Glutamine, as a precursor of glutathione, and oxidative stress”. *Mol Genet Metab.* 67(2): 100-105, 1999.

ARAQUE, A. *et al.* “Gliotransmitters travel in time and space”. *Neuron.* 81(4): 728-739, 2014.

ARRUBLA, J. *et al.* “Microstructural and functional correlates of glutamate concentration in the posterior cingulate cortex”. *J Neurosci Res.* 95(9): 1796-1808, 2017.

ASSOUS, M. *et al.* “Progressive Parkinsonism by acute dysfunction of excitatory amino acid transporters in the rat substantia nigra”. *Neurobiol Dis.* 65: 69-81, 2014.

ATAMNA, H. & FREY, W. “Mechanisms of mitochondrial dysfunction and energy deficiency in Alzheimer’s disease”. *Mitochondrion.* 7(5): 297-310, 2007.

BAKKELUND, A. H.; FONNUM, F. & PAULSEN, R. E. “Evidence using in vivo microdialysis that aminotransferase activities are important in the regulation of the pools of transmitter amino acids”. *Neurochem Res.* 18: 411-415, 1993.

BAZARGANI, N. & ATTWELL, D. “Astrocyte calcium signaling: the third wave”. *Nat Neurosci.* 19(2): 182-189, 2016.

BEHRENS, P. F. *et al.* “Impaired glutamate transport and glutamate–glutamine cycling: downstream effects of the Huntington mutation”. *Brain.* 125(8): 1908-1922, 2002.

BELZER, V. & HANANI, M. “Nitric oxide as a messenger between neurons and satellite glial cells in dorsal root ganglia”. *Glia.* 67(7): 1296-1307, 2019.

BEZZI, P. & VOLTERRA, A. “A neuron–glia signalling network in the active brain”. *Curr Opin Neurobiol.* 11(3): 387-394, 2001.

BILLARD, J. M. “Changes in serine racemase-dependent modulation of NMDA receptor: impact on physiological and pathological brain aging”. *Front Mol Biosci.* 5:106, 2018.

BLIIM, N. *et al.* “Early transcriptome changes in response to chemical long-term potentiation induced via activation of synaptic NMDA receptors in mouse hippocampal neurons”. *Genomics.* 111(6):1676-1686, 2019.

BOKSHA IS. “Coupling between neuronal and glial cells via glutamate metabolism in brain of healthy persons and patients with mental disorders”. *Biochemistry (Mosc).* 69(7): 705-719, 2004.

BOKSHA, I. S. *et al.* “Glutamine synthetase isolated from human brain: octameric structure and homology of partial primary structure with human liver glutamine synthetase”. *Biochemistry (Mosc).* 67(9): 1012-1020, 2002.

BUTTERFIELD, D. A, *et al.* “Oxidatively induced structural alteration of glutamine synthetase assessed by analysis of spin label incorporation kinetics: relevance to Alzheimer’s disease”. *J Neurochem.* 68(6): 2451-2457, 1997.

BUTTERFIELD, D. A. *et al.* “Roles of amyloid beta-peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment”. *Free Radic Biol Med.* 43(5): 658-677, 2007.

BUTTERWORTH, J.; YATES, C. M. & REYNOLDS, G. P. “Distribution of phosphateactivated glutaminase, succinic dehydrogenase, pyruvate dehydroge-

nase and gamma-glutamyl transpeptidase in post-mortem brain from Huntington's disease and agonal cases". *J Neurol Sci.* 67(2):161-171, 1985.

CALDANI, M. *et al.* "Glutamine synthetase activity during mouse brain development. *Experientia*". 38(10):1199-202, 1982.

CALÌ, C.; TUFFENBERGER, A. & e MAGISTRETTI, P. "The strategic location of glycogen and lactate: from body energy reserve to brain plasticity". *Front Cell Neurosci.* 13: 82, 2019.

CANEVARI, L.; ABRAMOV, A. & DUCHEN, M. "Toxicity of amyloid beta peptide: tales of calcium, mitochondria, and oxidative stress". *Neurochem Res.* 29(3): 637-650, 2004.

CARTER, C. J. "Glutamine synthetase activity in Huntington's disease". *Life Sci.* 31(11): 1151-1159, 1982.

CHEN, S. & GOUAUX, E. "Structure and mechanism of AMPA receptor - auxiliary protein complexes". *Curr Opin Struct Biol.* 54: 104-111, 2019.

CHEN, C. J.; LIAO, S. L. & KUO, J. S. "Gliotoxic action of glutamate on cultured astrocytes". *J Neurochem.* 75(4): 1557-1565, 2000.

CHESSELET, M (ed.). *Molecular mechanism of neurodegenerative disease.* New Jersey, Humana Press, 2001, p. 410.

CHRISTENSEN, H. & FONNUM, F. "Uptake of glycine, GABA and glutamate by synaptic vesicles isolated from different regions of rat CNS". *Neurosci Lett.* 129(2): 217-220, 1991a.

CHRISTENSEN, H. & FONNUM, F. "The ontogeny of the uptake systems for glycine, GABA and glutamate in synaptic vesicles isolated from rat spinal cord-medulla". *Brain Res Dev Brain Res.* 64(1-2): 155-159, 1991b.

COOPER, A. J. *et al.* "The metabolic fate of 13N-labeled ammonia in rat brain". *J Biol Chem.* 254(12): 4982-4992, 1979.

COOPER, A. J. "Ammonia metabolism in mammals: interorgan relationships". *Adv Exp Med Biol.* 341: 21-37, 1993.

DAIKHIN, E. T. & YUDKOFF, M. "Compartmentation of Brain Glutamate Metabolism in Neurons and Glia". *J Nutr.* 130 (4S Suppl):1026S-1031S, 2000.

DEROUICHE, A. & FROTSCHER, M. “Astroglial processes around identified glutamatergic synapses contain glutamine synthetase: evidence for transmitter degradation”. *Brain Res.* 552(2): 346-350, 1991.

DROGE W. “Free radicals in the physiological control of cell function”. *Physiol Rev.* 82(1): 47-95, 2002.

EISENBERG, D. *et al.* “Structure-function relationships of glutamine synthetases”. *Biochim Biophys Acta.* 1477(1-2): 122-145, 2000.

ERECINSKA, M. *et al.* “Neuronal glutamine utilization: glutamine/glutamate homeostasis in synaptosomes”. *J Neurochem.* 54(6): 2057-2069, 1990.

FADEEL, B.; ZHIVOTOVSKY, B. & ORRENIUS, S. “All along the watchtower: on the regulation of apoptosis regulators”. *FASEB J.* 13(13): 1647-1657, 1999.

FARHY-TSELNICKER, I. & ALLEN, N. J. “Astrocytes, neurons, synapses: a tripartite view on cortical circuit development”. *Neural Dev.* 13(1): 7, 2018.

FAZZARI, P. *et al.* “Control of cortical GABA circuitry development by Nrg1 and ErbB4 signalling”. *Nature.* 464(7293): 1376-1380, 2010.

FERNANDES, S. P. *et al.* “Inactivation of astrocytic glutamine synthetase by hydrogen peroxide requires iron”. *Neurosci Lett.* 490: 27-30, 2011.

GONZÁLEZ, M. “Ciclo del GABA en el cerebro: su misión en la transmisión nerviosa”. In: *Curso monográfico sobre Neuroquímica.* Madrid, Editorial de la Universidad Complutense, 1985, pp. 251-273.

HAVEL, L. S.; LI, S. & LI, XJ. “Nuclear accumulation of polyglutamine disease proteins and neuropathology”. *Mol Brain.* 2:21, 2009.

HAYASHI, M. K. “Structure-function relationship of transporters in the glutamate-glutamine cycle of the central nervous system”. *Int J Mol Sci.* 19(4):1177, 2018.

HAYES, M. T. “Parkinson’s Disease and Parkinsonism”. *Am J Med.* 132(7): 802-807, 2019.

HERTZ, L. *et al.* “Astrocytes: glutamate producers for neurons”. *J Neurosci Res.* 57(4): 417-428, 1999.

- HERTZ, L. & ROTHMAN, D. L. "Glutamine-glutamate cycle flux is similar in cultured astrocytes and brain and both glutamate production and oxidation are mainly catalyzed by aspartate aminotransferase". *Biology (Basel)*. 6(1): 17, 2017.
- HUANG, D. *et al.* "Glutamate-glutamine and GABA in brain of normal aged and patients with cognitive impairment". *Eur Radiol*. 27(7): 2698-2705, 2017.
- JAENICKE, L. & BERSON, W. "Glutamine synthetase from pig brain: binding of adenosine triphosphate". *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*. 358(7): 883-889, 1977.
- KALB, R. & FOX, A. "Synchronized overproduction of AMPA, kainate, and NMDA glutamate receptors during human spinal cord development". *J Comp Neurol*. 384(2): 200-210, 1997.
- KOVACEVIC, Z. & MCGIVAN, J. D. "Mitochondrial metabolism of glutamine and glutamate and its physiological significance". *Physiol Rev*. 63(2): 547-605, 1983.
- KULIJEWICZ-NAWROT, M. *et al.* "Astrocytes and glutamate homeostasis in Alzheimer's disease: a decrease in glutamine synthetase, but not in glutamate transporter-1, in the prefrontal cortex". *ASN Neuro*. 5(4): 273-282, 2013.
- LE PRINCE, G. *et al.* "Glutamine synthetase (GS) expression is reduced in senile dementia of the Alzheimer type". *Neurochem Res*. 20: 859-862, 1995.
- LEWERENZ, J. & MAHER, P. "Chronic glutamate toxicity in neurodegenerative diseases-what is the evidence?". *Front Neurosci*. 9: 469, 2015.
- MACIEJEWSKI, P. K. & ROTHMAN, D. L. "Proposed cycles for functional glutamate trafficking in synaptic neurotransmission". *Neurochem Int*. 52: 809-825, 2008.
- MADEIRA, C. *et al.* "Elevated glutamate and glutamine levels in the cerebrospinal fluid of patients with probable Alzheimer's disease and depression". *Front Psychiatry*. 9:561, 2018.
- MAFFEI, A. *et al.* "Emerging Mechanisms Underlying Dynamics of GABAergic Synapses". *J Neurosci*. 37(45):10792-10799, 2017.
- MAGISTRETTI, P. J. & ALLAMAN, I. "Lactate in the brain: from metabolic end-product to signalling molecule". *Nat Rev Neurosci*. 19(4):235-249, 2018.

- MARAGAKIS, N. J. & ROTHSTEIN, J. D. “Mechanisms of disease: astrocytes in neurodegenerative disease”. *Nat Clin Pract Neurol.* 2(12): 679-689, 2006.
- MATÉS, J. M.; PÉREZ-GÓMEZ, C. & NÚÑEZ DE CASTRO, I. “Antioxidant enzymes and human diseases”. *Clin. Biochem.* 32(8): 595-603, 1999.
- MAURIZI, M. R.; PINKOFSKY, H. B. & GINSBURG, A. “ADP, chloride ion, and metal ion binding to bovine brain glutamine synthetase”. *Biochemistry.* 26(16): 5023-5031, 1987.
- MAYORQUIN, L. C. *et al.* “Connexin-mediated functional and metabolic coupling between astrocytes and neurons”. *Front Mol Neurosci.* 11:118, 2018.
- MCKENNA, M. *et al.* “Exogenous glutamate concentration regulates the metabolic fate of glutamate in astrocytes”. *J.Neurochem.* 66(1): 386-393, 1996.
- MEISTER, A. “Glutamine synthetase from mammalian tissues”. *Methods Enzymol.* 113: 185-199, 1985.
- MEREDITH, G. E. *et al.* “Impaired glutamate homeostasis and programmed cell death in a chronic MPTP mouse model of Parkinson’s disease”. *Exp Neurol.* 219(1): 334-40, 2009.
- MESTIKAWY, S. *et al.* “Characterization of an atypical member of the Na⁺/Cl⁻-dependent transporter family: chromosomal localization and distribution in GABAergic and glutamatergic neurons in the rat brain”. *J Neurochem.* 62:445-455, 1994.
- MEUNIER, C. *et al.* “Astrocytes are key but indirect contributors to the development of the symptomatology and pathophysiology of Huntington’s disease”. *Glia.* 64(11): 1841-1856, 2016.
- MIYAKE, T. & KITAMURA, T. “Glutamine synthetase immunoreactivity in two types of mouse brain glial cells”. *Brain Res.* 586(1): 53-60, 1992.
- ORELLANA, J. A. & STEHBERG, J. “Hemichannels: new roles in astroglial function”. *Front Physiol.* 5:193, 2014.
- PASCUAL, J. M. *et al.* “Glutamate, glutamine, and GABA as substrates for the neuronal and glial compartments after focal cerebral ischemia in rats”. *Stroke.* 29(5): 1048-1056, 1998.

- PEKNY, M. & NILSSON, M. "Astrocyte activation and reactive gliosis". *Glia*. 50(4): 427-434, 2005.
- PELLERIN, L. & MAGISTRETTI, P. J. "Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization". *Proc Natl Acad Sci*. 91(22):10625-10629, 1994.
- PELLERIN, L. & MAGISTRETTI, P. J. "Sweet sixteen for ANLS". *J Cereb Blood Flow Metab*. 32(7): 1152-1166, 2012.
- PENG, L.; SCHOUSBOE, A. & HERTZ, L. "Utilization of α -ketoglutarate as a precursor for transmitter glutamate in cultured cerebellar granule cells". *Neurochem Res*. 16(1): 29-34, 1991.
- PENG, L.; ZHANG, X. & HERTZ, L. "High extracellular potassium concentrations stimulate oxidative metabolism in a glutamatergic neuronal culture and glycolysis in cultured astrocytes, but have no stimulatory effect in GABAergic neuronal culture". *Brain Res*. 663(1): 168-172, 1994.
- PLAITAKIS, A. & SHASHIDHARAN, P. "Glutamate transport and metabolism in dopaminergic neurons of substantia nigra: implications for the pathogenesis of Parkinson's disease". *J Neurol*. 247(Suppl 2): 1125-1135, 2000.
- POITRY, S. *et al.* "Mechanisms of glutamate metabolic signaling in retinal glial Muller cells". *J Neurosci*. 20(5): 1809-1821, 2000.
- PROCTER, A. W. *et al.* "Evidence of glutamatergic denervation and possible abnormal metabolism in Alzheimer's disease". *J Neurochem*. 50(3): 790-802, 1988.
- QUERFURTH, H. W. & LAFERLA, F. M. "Alzheimer's disease". *N Engl J Med*. 362: 329-344, 2010.
- RAMAHAROBANDRO, N. *et al.* "Glutamine and glutamate transport in cultured neuronal and glial cells". *Brain Res*. 244(1): 113-121, 1982.
- ROBINSON, S. R. "Changes in the cellular distribution of glutamine synthetase in Alzheimer's disease". *J Neurosci Res*. 66(5): 972-980, 2001.
- RODRIGO, R. & FELIPO, V. "Control of brain glutamine synthesis by NMDA receptors". *Frontiers in Bioscience*. 12: 883-890, 2007.

SAHLENDER, D. A.; SAVTCHOUK, I. & VOLTERRA, A. “What do we know about gliotransmitter release from astrocytes?”. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 369(1654): 20130592, 2014.

SCHOUSBOE, A. *et al.* “Glutamate and glutamine metabolism and compartmentation in astrocytes”. *Dev Neurosci.* 15 (3-5): 359-366, 1993.

SHABEL, J., *et al.* “GABA/glutamate co-release controls habenula output and is modified by antidepressant treatment”. *Science.* 345(6203): 1494-1498, 2014.

SELLSTROM, A. & HAMBERGER, A. “Potassium-stimulated g-aminobutyric acid release from neurons and glia”. *Brain Res.* 119: 189-198, 1977.

SHEN, J. *et al.* “Determination of the rate of the glutamate/glutamine cycle in the human brain by in vivo ¹³C NMR”. *Proc Natl Acad Sci.* 96(14): 8235-8240, 1999.

SIDORYK-WEGRZYNOWICZ, M. & ASCHNER, M. “Manganese toxicity in the central nervous system: the glutamine/glutamate- γ -aminobutyric acid cycle”. *J Intern Med.* 273(5): 466-477, 2013.

SIMÃO, D. *et al.* “Functional metabolic interactions of human neuron-astrocyte 3D in vitro networks”. *Sci Rep.* 6: 33285, 2016.

SMITH, Q. R. *et al.* “Kinetics of neutral amino acid transport across the blood-brain-barrier”. *J. Neurochem.* 49(5): 1651-1658, 1987.

STANLEY, B. & PRUSINER, M. D. “Disorders of glutamate: metabolism and neurological dysfunction”. *Ann Rev Med.* 32: 521-542, 1981.

SUÁREZ, I. *et al.* “Reduced glial fibrillary acidic protein and glutamine synthetase expression in astrocytes and Bergmann glial cells in the rat cerebellum caused by delta(9)-tetrahydrocannabinol administration during development”. *Dev Neurosci.* 24(4): 300-312, 2002.

SVENNEBY, G. & TORGNER, I. A. “Localization and function of glutamine synthetase and glutaminase”. *Biochem Soc Trans.* 15(2): 213-215, 1987.

TANOVIĆ, A. & ALFARO, A. “Glutamate-related excitotoxicity neuroprotection with memantine, an uncompetitive antagonist of NMDA-glutamate receptor, in Alzheimer’s disease and vascular dementia”. *Rev Neurol.* 42(10): 607-616, 2006.

TUMANI, H. *et al.* “Glutamine synthetase in cerebrospinal fluid, serum, and brain: a diagnostic marker for Alzheimer disease?”. *Arch. Neurol.* 56:1241-1246, 1999.

VILLEMAGNE, V. L. *et al.* “Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer’s disease: a prospective cohort study”. *Lancet Neurol.* 2(4): 357-367, 2013.

VOLTERRA, A. & MELDOLESI, J. “Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues”. *Nat Rev Neurosci.* 6(8): 626-640, 2005.

WALTON, H. S. & DODD, P. R. “Glutamate–glutamine cycling in Alzheimer’s disease”. *Neurochem Int.* 50(7-8): 1052-1066, 2007.

WELBOURNE, T. *et al.* “The glutamine/glutamate couplet and cellular function”. *News Physiol Sci.* 16: 157-160, 2001.

YOO, J. H. *et al.* “Ventral tegmental area glutamate neurons co-release GABA and promote positive reinforcement”. *Nat Commun.* 7: 13697, 2016.

ZHANG, Y. *et al.* “Recent advance in the relationship between excitatory amino acid transporters and Parkinson’s disease”. *Neural Plast.* 2016: 8941327, 2016.

ZIMMERMANN, J.; HERMAN, M. A. & ROSENMUND, C. “Co-release of glutamate and GABA from single vesicles in GABAergic neurons exogenously expressing VGLUT3”. *Front Synaptic Neurosci.* 7: 16, 2015.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DEL GLUTAMATO RELACIONADOS CON LA OBESIDAD

Manuel E. Baldeón

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) como el síndrome metabólico y la obesidad son problemas de salud pública (López-Jaramillo *et al.*, 2018; Cuevas *et al.*, 2011). Se estima que estas enfermedades se incrementarán marcadamente a nivel mundial, pero especialmente en países en vías de desarrollo. La obesidad, en particular, es un problema que está presente tanto en países en vías de desarrollo como en países desarrollados (Smyth & Heron, 2006), y afecta a sujetos de todas las edades y estratos socioeconómicos (Prabhakaran *et al.*, 2017; Smyth & Heron, 2006). En las últimas décadas, el número de personas con exceso de peso, sobrepeso y obesidad se ha incrementado drásticamente en la mayoría de las sociedades. Por ello, desde 1997, la obesidad ha sido considerada un problema de salud pública con características epidémicas (James, 2004). En Estados Unidos, por ejemplo, el incremento de sobrepeso y obesidad ha sido muy marcado desde los años 70 y, a inicios del decenio de 2010, el 30% de los ciudadanos de ese país tenían obesidad y 64,5% sobrepeso, tanto en hombres como en mujeres en todos los grupos étnicos estudiados (Ogden *et al.*, 2002). Otros estudios señalan que en 2004 el 17,1% de niños y adolescentes estadounidenses tenían sobrepeso, mientras que el 66,3% de los adultos tenían sobrepeso y el 32,2% obesidad (Ogden *et al.*, 2006). Datos

más recientes indican además, una asociación linear positiva entre el exceso de peso y otras enfermedades crónicas como la hipertensión (Ryu *et al.*, 2019). Para inicios de la década de 2010, en países de América Latina como Argentina, Colombia, México, Paraguay, Perú y Uruguay se estimó que aproximadamente el 50% de la población tenía sobrepeso y el 15% obesidad (Eberwine, 2002). En ese sentido, un estudio en la población de adolescentes en el Ecuador demostró que el 21,2% tenía exceso de peso, 13,7% tenía sobrepeso y 7,5% obesidad (Yépez *et al.*, 2008). Datos de la última encuesta nacional de salud y nutrición en el Ecuador indican que la prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños entre 5 a 11 años fue de 29,9% mientras que la prevalencia en adultos fue de 62,8% (Freire *et al.*, 2014). En un estudio reciente de una cohorte de 2000 adultos entre 35 y 70 años de edad de la provincia de Pichincha en Ecuador, se comprobó que el 45% de personas tenían sobrepeso, 33% obesidad y 69% obesidad abdominal (Felix *et al.*, 2020). Estos datos indican que el número de personas con exceso de peso se está incrementando y que es un problema generalizado en Ecuador, en la región y en el mundo.

El exceso de peso, sobrepeso y obesidad están asociados a las llamadas enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) como hipertensión arterial, diabetes mellitus, cáncer, enfermedades cardiovasculares y cerebro vasculares, que son las principales causas de enfermedad y muerte en el mundo (Batal *et al.*, 2018; WHO, 2004). Se estima que aproximadamente 18 millones de personas mueren cada año por problemas cardiovasculares (Hossain *et al.*, 2007). El costo económico y social del exceso de peso para el individuo y la sociedad es, por tanto, muy alto. En países desarrollados, entre el 2 y el 7% de todo el cuidado médico se dedica exclusivamente para tratar la obesidad. En el 2001, en Estados Unidos, se gastaron aproximadamente 123 billones de dólares para tratar la obesidad y problemas relacionados (Hossain *et al.*, 2007). Los enormes costos para el tratamiento de esta enfermedad y las patologías asociadas podrían rápidamente abrumar las débiles economías de los países en vías de desarrollo que todavía tienen que cubrir los altos costos generados por la desnutrición y las enfermedades infecciosas (Batal *et al.*, 2018; Hossain *et al.*, 2007; Yach *et al.*, 2006).

Es necesario indicar que los términos obesidad y sobrepeso frecuentemente son utilizados como sinónimos, aunque estos definen dos entidades clínicas diferentes. La obesidad se define como un trastorno metabólico que conduce a una excesiva acumulación de energía en forma de grasa corporal; en cambio, el sobrepeso se manifiesta como un mayor peso corporal en relación con el valor

esperado según edad, sexo, y la relación peso/talla o índice de masa corporal [IMC = peso corporal (kg)/talla (en metros)²] (Pi-Sunyer, 2000).

El estudio del IMC, por tanto, permite identificar fácilmente las personas con sobrepeso u obesidad. El IMC es útil porque sirve además para establecer riesgos de hipertensión, diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular y se ha utilizado también como guía para el tratamiento de la obesidad. Para clasificar a las personas con sobrepeso y obesidad, la Organización Mundial de la Salud (OMS) (WHO, 2000) considera los siguientes puntos de corte:

Puntos de corte	IMC (kg/m ²)
Bajo peso	Menor de 18,5
Peso normal	Entre 18,5 y 24,9
Sobrepeso	Entre 25 y 29,9
Obesidad grado I	Entre 30 y 34,9
Obesidad grado II (severa)	Entre 35 y 39,9
Obesidad grado III (mórbida)	Mayor de 40

Se ha indicado que el problema de la obesidad y de las patologías asociadas es un fenómeno más o menos reciente que se ha incrementado en los últimos 50 años. Esto obliga a preguntarse ¿por qué?, ¿cuáles son las razones de este incremento?, ¿qué ha pasado con los seres humanos en estos años para que estas enfermedades sean más comunes?. Para tratar de responder a estas interrogantes, a continuación, se discuten los posibles factores que contribuyen al desarrollo del sobrepeso y de la obesidad.

Varios factores determinan el desarrollo de la obesidad. Uno de ellos se podría relacionar a un desequilibrio entre lo que un individuo come (energía consumida) y lo que ese individuo utiliza de esa energía para vivir (gasto de energía). En condiciones de normalidad para un adulto, lo que un individuo consume de energía se gasta en el funcionamiento de las células del organismo cuando el sujeto está en reposo o realizando cualquier actividad física, el consumo de energía es igual al gasto de energía. Si este equilibrio entre ingesta y consumo se rompiera, un individuo podría sufrir de desnutrición en el caso de que la energía que consume sea menor que la que necesita para vivir. Por otro lado, si la energía que esa persona consume es mayor que la que necesita para vivir, esa persona puede eventualmente llegar a tener obesidad, en razón de que el exceso de energía consumida se almacena en forma de grasa en el organismo. Por tanto, un incremento en el ingreso de energía (exceso de comida) o el limitado uso de esa

energía (inactividad física) pueden resultar en la condición de obesidad debido a que se ha creado un desequilibrio energético. Sin embargo, otros factores como la microbiota intestinal presente en cada individuo podrían también tener un papel protagonista en el desarrollo de la obesidad (Bouter *et al.*, 2017).

La evidencia científica actual demuestra que factores genéticos y medioambientales (hábitos de alimentación y actividad física) afectan el balance energético actuando sobre el funcionamiento celular (fisiología de cada individuo) y el comportamiento de las personas (Wood *et al.*, 2018; Speakman, 2004).

El peso de un adulto se mantiene relativamente constante en el tiempo, lo que implica que la energía que ingresa al organismo se utiliza en su totalidad y, de esta forma, se mantiene el peso corporal. Para que esto ocurra, el organismo posee un complejo sistema fisiológico que regula el balance energético y el almacenamiento de energía (Barsh *et al.*, 2000). A continuación, se revisan los componentes que determinan el balance energético, específicamente el consumo, el gasto y el almacenamiento de energía.

En términos generales, el consumo de energía depende de la relación que existe entre la sensación de hambre en contraste con la sensación de saciedad. Los centros de control (grupos de neuronas) del hambre y la saciedad se encuentran en la base del cerebro, en el hipotálamo: en el hipotálamo lateral y en el hipotálamo ventromedial, respectivamente. Además, existen centros moduladores de las sensaciones de hambre y saciedad en la amígdala temporal (Woods, *et al.*, 1998). Actualmente, existe un gran interés por identificar las señales que regulan estos centros neuronales que controlan el balance energético, ya que la identificación de las señales que estimulan o inhiben estos centros sería de gran utilidad para contrarrestar la epidemia de obesidad.

Existen muchos factores que sirven de señal a los centros hipotalámicos del control energético: factores no biológicos (externos), como factores sociales, disponibilidad de alimentos, entre otros. Estas variables son distintas para cada persona ya esta puede enfrentar diferentes circunstancias de un día para el otro, lo que representaría que la cantidad de energía que cada persona consume (come) es variable en el tiempo. Sin embargo, a pesar de esta variabilidad, el peso corporal se mantiene constante a lo largo del tiempo, debido a que existe un sistema que regula el balance energético mediante el control de la cantidad de energía que se almacena en forma de grasa. Se han propuesto varios reguladores biológicos (internos) que directamente estimularían los centros del hambre y de la saciedad, como las concentraciones sanguíneas de glucosa, triglicéridos, ácidos grasos no esterificados y cuerpos cetónicos que están presentes después

del consumo de comida o durante el ayuno (Woods, *et al.*, 1998). Así, después de comer, el consecuente incremento en la concentración de glucosa sería una señal que estimula la saciedad. Por otro lado, durante el ayuno, el consiguiente incremento de cuerpos cetónicos estimularía el centro del hambre. Las concentraciones sanguíneas de los metabolitos antes indicados están, a su vez, reguladas por el sistema endocrino, principalmente por las concentraciones de las hormonas, insulina, glucagón, leptina y péptidos intestinales. La acción de estos péptidos y hormonas a nivel sistémico mantiene un control del consumo de alimentos y su utilización cada vez que la persona ingiere una comida (control inmediato) y también a lo largo del tiempo (control mediato).

El control hormonal del balance energético es complejo. Por ejemplo, durante el consumo de comida, e inmediatamente al final de la misma, la presencia de esta en el intestino y su absorción estimulan la liberación de péptidos intestinales como la colecistoquinina, péptido similar al glucagón 1, glucagón, bombesina, leptina e insulina que viajan por la sangre al sistema nervioso central (SNC) para limitar el consumo de alimentos (Schwartz, *et al.*, 2000). En el SNC, particularmente en el hipotálamo, estas hormonas actúan en grupos neuronales específicos por medio de sus receptores, lo que determina un cambio de comportamiento de la persona y esta deja de comer. La hormona (péptido) leptina tiene un papel central en un modelo hormonal de control energético. Esta molécula es producida principalmente en el tejido adiposo, y en menor cuantía en el estómago y la placenta (Friedman & Halaas, 1998).

La cantidad de leptina que se produce en una persona está relacionada con la cantidad de grasa almacenada. Así, el almacenamiento de energía en forma de grasa en los adipositos provoca un incremento en la síntesis y liberación de leptina en la sangre. Los niveles altos de leptina que indican almacenamiento de energía son transmitidos al SNC. En el SNC, la estimulación de grupos neuronales específicos determina que estas neuronas envíen señales adrenérgicas para estimular el uso de la energía almacenada al aumentar el metabolismo basal y la actividad física, y, por otro lado, señales que instruyan al sujeto a que cese de comer (Bates & Myers, 2003). Por otro lado, cuando existe pérdida de peso por disminución de grasa almacenada, la concentración de leptina disminuye, el hipotálamo no es estimulado por esta hormona y el SNC deja de enviar señales adrenérgicas y el gasto de energía disminuye. La disminución de los niveles de leptina también es un estímulo para que la persona consuma alimentos y de esta forma se restablezca la reserva energética (Friedman & Halaas, 1998). Otra hormona con funciones similares a la leptina asociada con

el control del balance energético es la insulina. La leptina facilita la síntesis y liberación de insulina. Lo anteriormente expuesto muestra que el control del balance energético es complejo.

Para complementar esta discusión sobre el control del balance energético y el mantenimiento del peso corporal, nos referiremos ahora al gasto de energía. El gasto, o consumo, de energía por el organismo se puede dividir en tres componentes: (1) tasa metabólica basal (TMB); (2) la generación de calor por la digestión de los alimentos; y (3) la actividad física. La TMB representa las dos terceras partes del gasto energético total; esta es la energía que es necesario gastar para mantener en funcionamiento todas las células del organismo cuando la persona se encuentra en descanso físico y mental, en un ambiente confortable por lo menos 12 h luego de la ingesta de alimentos (De Girolami, 2003). El segundo componente representa apenas un 10% del gasto energético total de una persona y es la energía que se utiliza para digerir la comida que ingresa al organismo para que esta pueda ser utilizada. Finalmente, la actividad física, que podría incluir el ejercicio físico, representa entre el 15-30% del gasto energético total (De Girolami, 2003). La actividad física de cada persona será distinta de acuerdo con las necesidades de la misma: cada individuo controla voluntariamente este gasto de energía que puede llegar a representar hasta el 50% del gasto energético total. Esto indica que el uso de energía por la actividad física tiene un papel importante en el mantenimiento del peso corporal.

Se ha demostrado que el medioambiente afecta el balance energético actuando sobre el funcionamiento celular y el comportamiento de las personas. En las últimas décadas, los cambios en el medioambiente, reflejados en la falta de actividad física y en el consumo de alimentos energéticamente ricos, han resultado en el incremento del número de personas con exceso de peso en todo el mundo. En este medioambiente “obesógeno”, las personas tienen un mínimo de actividad física y consumen alimentos ricos en energía, por ejemplo cuando miran televisión por varias horas (WHO, 2004). Las modificaciones medioambientales de las últimas décadas han sido asociadas con la urbanización, la globalización, el desarrollo socioeconómico y el desarrollo de la tecnología (WHO, 2004). De acuerdo con la OMS, la inactividad física es un contribuyente importante para las muertes, debidas a las ECNT asociadas con la obesidad. Por la importancia que tiene la actividad física en el balance energético y, por tanto, en el peso corporal, la OMS recomienda que todo individuo haga al menos 30 min de actividad física diaria de moderada intensidad para reducir el riesgo de ECNT (WHO, 2004).

Por lo expuesto, se puede indicar que las causas del prevalente exceso de peso que afecta a un gran número de personas en todo el mundo son variadas. Factores medioambientales y genéticos están involucrados en el sobrepeso, obesidad y en las patologías asociadas como diabetes, hipertensión y cáncer. No obstante, no existe un elemento causal único que sea responsable de esta epidemia que actualmente afecta prácticamente a todos los países en el mundo. Sin embargo, es importante señalar que el exceso en el consumo de energía en relación al uso de la misma es la principal causa de la ganancia de peso. Además la calidad de los componentes de la comida y sus derivados también pueden tener un efecto en el balance energético al estimular los sistemas regulatorios hormonales, neuronales y del sistema inmunológico como es el caso de las leguminosas (Muñoz *et al.*, 2018). Otros elementos relacionados con el exceso de peso son la inactividad física, la disponibilidad de alimentos (con alta o baja energía), la urbanización y el uso del cigarrillo (Romieu *et al.*, 2017).

EL GLUTAMATO Y EL CONTROL DEL BALANCE ENERGÉTICO

Existe controversia sobre el papel del glutamato monosódico (GMS) en el desarrollo de la obesidad. La mayoría de los estudios que relacionan el consumo de GMS y la obesidad han sido realizados en modelos animales de experimentación utilizando concentraciones supra fisiológicas de GMS de forma parenteral (Bhattacharya *et al.*, 2011; Elfers *et al.*, 2011). Estudios epidemiológicos en los que se ha observado la asociación entre el consumo de GMS y el exceso de peso no han sido concluyentes, y algunos de ellos han tenido problemas metodológicos (He *et al.*, 2008; Shi *et al.*, 2010; Bursey *et al.*, 2011). Por otro lado, estudios recientes sugieren que el consumo de GMS podría disminuir el desarrollo de la obesidad, pero son necesarios más estudios para determinar los efectos del GMS en el control del balance energético.

Como se ha indicado, uno de los factores ambientales que afectan el desarrollo de la obesidad es la dieta. La mayoría de los estudios que relacionan la dieta con el desarrollo de obesidad tradicionalmente se refieren al exceso del consumo de energía. Sin embargo, es importante considerar que componentes de la dieta pueden tener también efectos favorables que limiten el desarrollo del exceso de peso y de las patologías asociadas (Teas *et al.*, 2009; Muñoz *et al.*, 2018). A este respecto, es importante notar que existen datos que demuestran que el consumo de proteína, especialmente proteína vegetal, disminuye problemas asociados a las ECNT como la diabetes (Dove *et al.*, 2011; Baldeón *et al.*, 2012). En los últimos años, estudios sobre el reconocimiento a nivel intestinal

del aminoácido libre más abundante tanto en proteínas animales (incluida la leche materna) como de origen vegetal, el glutamato, están contribuyendo a entender el papel de este aminoácido en la regulación del balance energético. Este aminoácido libre, entonces, funciona como nutriente y también como mensajero de información en el tracto gastrointestinal (Uneyama, 2011). Ya se encuentra bien establecido el papel del glutamato en la sensación del quinto sabor umami luego de la estimulación de receptores específicos de este aminoácido en los botones gustativos en la lengua. En un estudio con un modelo animal, se ha descrito también un sistema de reconocimiento gástrico y estimulación del nervio vago por parte del glutamato de la dieta (Uneyama *et al.*, 2006). Complementario a este trabajo, la expresión del receptor del glutamato, mGluR1, ha sido identificada en la región apical de las células principales del estómago. En ese estudio, la estimulación con una dieta que contenía 1% de glutamato monosódico resultó en la modificación de la expresión de pepsinógeno a nivel gástrico (San Gabriel *et al.*, 2007). Los autores de esa investigación concluyeron que el mGluR1 estaría involucrado en la regulación de la fase gástrica en la digestión de las proteínas. Por otro lado, en un elegante estudio diseñado para determinar el efecto del consumo espontáneo de glutamato monosódico en la cantidad de la ingesta y en el peso de ratas *Sprague-Dawley*, con diferentes dietas en contenido calórico, se demostró que los animales que consumieron glutamato ganaron menos peso, presentaron menos acumulación de grasa visceral y subcutánea, y niveles más bajos de leptina que las ratas control que no consumieron glutamato. Estos resultados se evidenciaron tanto en ratas adultas como en ratas en el periodo de destete. Los autores de ese estudio concluyeron que los efectos del glutamato podrían estar mediados por los receptores gástricos del glutamato que estarían funcionalmente asociados a ramas del nervio vago. Indicaron también que los cambios observados podrían deberse a un incremento en el gasto de energía y no a una disminución en la ingesta o a una disminución del crecimiento de los animales (Kondoh & Torii, 2008).

Por otro lado, estudios clínicos con población pediátrica y adulta han demostrado también el papel del glutamato en el control del balance energético. Así, en un estudio en el que se incluyeron lactantes menores de 4 meses de edad, se analizó si concentraciones altas de glutamato en las fórmulas infantiles podrían proveer saciedad. A los lactantes que participaron en el estudio se les administró, en tres reuniones diferentes, tres tipos de fórmulas infantiles isocalóricas: (1) fórmula a base de leche de vaca (CMF – tiene bajas concentraciones de aminoácidos libres); (2) fórmula con alto contenido de proteína hidrolizada (ePHF – tiene altas concentraciones de aminoácidos libres); y (3) CMF suplementada con glutamato

para concentraciones aproximadas de ePHF (CMF+glu). Luego del consumo de las fórmulas, a los niños se les amamantó con CMF cuando tuvieron hambre otra vez. Los resultados del estudio demostraron que los lactantes consumieron menos CMF+glu y ePHF que CMF en la primera comida. Además, los radios de saciedad de los niños que consumieron CMF+glu y ePHF fueron mayores que para el CMF. Los autores sugirieron que, en los lactantes, el glutamato libre en las fórmulas infantiles desempeña un papel importante en la regulación de la ingesta de la fórmula y hacen un alerta para la alegación de que la alimentación con fórmulas infantiles afecta la capacidad de los bebés de autorregular la ingesta de energía (Ventura *et al.*, 2012).

En otro estudio clínico en el que se incluyeron mujeres adultas con peso normal, se analizó si el consumo de glutamato (GMS) e inosina-5'-monofosfato (IMP) afectaba el apetito, el consumo de energía y la selección de los alimentos. Las participantes recibieron tres tipos de caldos en tres días diferentes durante 3 semanas consecutivas (200 mL): (1) caldo de pollo con baja cantidad de energía; (2) caldo de pollo más GMS; y (3) caldo de pollo más GMS+inosina. Después de 15 min de que las participantes recibieran el caldo, se les ofreció una comida de prueba/buffet que consistía en 16 tentempiés de diferentes sabores y contenido de grasa. Se observó que luego del consumo de los caldos con GMS o GMS+inosina, las voluntarias consumieron menos kilocalorías tanto de tentempiés dulce o de sal comparado a cuando consumieron el caldo solo. Los autores de ese estudio también concluyeron que consumir glutamato, en un caldo por ejemplo, podría afectar un posterior consumo de energía (Imada *et al.*, 2014).

En un estudio complementario al de Imada *et al.* (2014) se evaluaron los potenciales mecanismos neurocognitivos asociados con las observaciones del estudio antes descrito. En este estudio, las variaciones se evaluaron después de la ingestión de caldo de pollo con o sin GMS adicionado (GMS+/GMS-). La ingesta de GMS+ se asoció con parámetros de inhibición de conductas asociadas a comer en exceso y a ganar peso; una disminución en el consumo de grasa durante la comida de prueba/buffet; disminución en la fijación en los platos de la comida; y una mayor activación de la región de la corteza prefrontal relacionada con el autocontrol. Los autores propusieron que el GMS posee efectos que facilitan procesos cognitivos relacionados con una alimentación saludable (Magerowski *et al.*, 2018).

Estos estudios apoyan la idea de la existencia de un sistema de control de balance energético mediado por el consumo de proteína/glutamato. Hemos indicado anteriormente que el consumo de calorías (carbohidratos y grasa) puede

resultar en su acumulación en el tejido graso y la subsecuente liberación de mediadores hormonales como la leptina que estimulan centros nerviosos (saciedad) para que los sujetos dejen de comer y consuman la energía almacenada. Este fenómeno de regulación por parte de la leptina, además, se evidencia por una disminución en el almacenamiento de triglicéridos en el tejido graso y en una disminución en la producción de leptina. Algunos autores han denominado a este sistema como un “lipostato” que regula la acumulación de grasa y por tanto del balance energético (Speakman, 2004).

En base a los estudios indicados anteriormente sobre el glutamato y sus efectos a nivel intestinal y orgánico en general, nos gustaría proponer la existencia de un “proteostato” para el control del balance energético. Así, el glutamato libre de los alimentos y el que se libera de las proteínas de la dieta en el estómago estimularía el receptor mGluR1 en las células principales de este órgano, lo que resultaría en la eventual estimulación de fibras nerviosas aferentes del nervio vago. Estas estimularían centros nerviosos centrales encargados del control de la generación de calor, lo que resultaría en un incremento en el gasto de energía y la subsecuente regulación del balance energético, reflejado en el peso del individuo.

Con esta hipótesis, se podría explicar por qué los lactantes que consumen leche materna (rica en glutamato libre) tienen una ganancia de peso menor que los niños amamantados con fórmula. Igualmente esta hipótesis podría explicar el efecto benéfico de dietas saludables, como la llamada dieta mediterránea, rica en glutamato. Los estudios cobran mucha importancia ante la actual epidemia de sobrepeso y obesidad en el mundo. Sin embargo, se hacen necesarios más estudios para establecer específicamente el efecto benéfico del glutamato en la dieta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDEÓN, M. E. *et al.* “Hypoglycemic effect of cooked lupinus mutabilis and its purified alkaloids in subjects with type-2 diabetes”. *Nutr Hosp.* 27(4): 1261-1266, 2012.

BARSH, G. S.; FAROOQI, S. & O’RAHILLY, S. “Genetics of body-weight regulation”. *Nature.* 404(6778): 644-651, 2000.

BATAL, M.; STEINHOUSE, L. & DELISLE, H. “The nutrition transition and the double burden of malnutrition”. *Med Sante Trop.* 28(4): 345-350, 2018.

- BATES, S. H. & MYERS, M. G. Jr. “The role of leptin receptor signaling in feeding and neuroendocrine function”. *Trends Endocrinol Metab.* 14(10): 447-452, 2003.
- BHATTACHARYA, T.; BHAKTA, A. & GHOSH, S. K. “Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure”. *Nepal Med Coll J.* 13(1): 11-16, 2011.
- BOUTER, K. E. *et al.* “Role of the Gut Microbiome in the Pathogenesis of Obesity and Obesity-Related Metabolic Dysfunction”. *Gastroenterology.* 152(7): 1671-1678, 2017.
- BURSEY, R. G.; WATSON, L. & SMRIGA, M. “A lack of epidemiologic evidence to link consumption of monosodium L-glutamate and obesity in China”. *Am J Clin Nutr.* 94(3): 958-960, 2011.
- CUEVAS, A.; ALVAREZ, V. & CARRASCO, F. “Epidemic of metabolic syndrome in Latin America”. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 18(2): 134-138, 2011.
- DE GIROLAMI, D. “Balances Nutricionales”. In: *Fundamentos de valoración nutricional y composición corporal.* Buenos Aires, El Ateneo, 2003, pp. 11-17.
- DOVE, E. R. *et al.* “Lupin and soya reduce glycaemia acutely in type 2 diabetes”. *Br J Nutr.* 106 (7): 1045-1051, 2011.
- EBERWINE, D. “Perspectivas de salud, Globesidad: una epidemia en apogeo”. *Rev Org Panam Sal.* 7(3), 2002.
- ELFERS, C.; RALSTON, M. & ROTH, C. L. “Studies of different female rat models of hypothalamic obesity”. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 24(3-4): 131-137, 2011.
- FELIX, C. *et al.* “Low levels of awareness, treatment, and control of hypertension in Andean communities of Ecuador”. *J. Clin. Hypertens.* 22: 1530-1537, 2020.
- FREIRE, W. B. *et al.* *Tomo I: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de la población ecuatoriana de cero a 59 años. ENSANUT-ECU 2012.* Quito, Ministerio de Salud Pública/Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2014.
- FRIEDMAN, J. M. & HALAAS, J. L. “Leptin and the regulation of body weight in mammals”. *Nature.* 395: 763-770, 1998.

- HE, K. *et al.* “Association of monosodium glutamate intake with overweight in Chinese adults: the INTERMAP Study”. *Obesity*. 16(8): 1875-1880, 2008.
- HOSSAIN, P.; KAWAR, B. & EL NAHAS, M. “Obesity and diabetes in the developing world-a growing challenge”. *N Engl J Med*. 356: 213-215, 2007.
- IMADA, T. *et al.* “Supplementing chicken broth with monosodium glutamate reduces energy intake from high fat and sweet snacks in middle-aged healthy women”. *Appetite*. 79: 158-165, 2014.
- JAMES, P. T. “Obesity: the worldwide epidemic”. *Clin Dermatol*. 22(4): 276-280, 2004.
- KONDOH, T. & TORII, K. “MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague-Dawley rats”. *Physiol Behav*. 95(1-2): 135-144, 2008.
- LÓPEZ-JARAMILLO, P. *et al.* “Reevaluating nutrition as a risk factor for cardio-metabolic diseases”. *Colomb Med*. 49(2): 175-181, 2018.
- MAGEROWSKI, G. *et al.* “Neurocognitive effects of umami: association with eating behavior and food choice”. *Neuropsychopharmacology*. 43(10): 2009-2016, 2018.
- MUÑOZ, E. B. *et al.* “Gamma-conglutin peptides from Andean lupin legume (*Lupinus mutabilis* Sweet) enhanced glucose uptake and reduced gluconeogenesis *in vitro*”. *Journal of Functional Foods*. 45: 339-347, 2018.
- OGDEN, C. L. *et al.* “Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000”. *JAMA*. 288(14): 1728-3212, 2002.
- OGDEN, C. L. *et al.* “Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004”. *JAMA*. 295(13):1549-1555, 2006.
- PRABHAKARAN, D. *et al.* “Cardiovascular, respiratory, and related disorders: key messages and essential interventions to address their burden in low- and middle-income countries”. In: PRABHAKARAN, D, *et al.* (ed.). *Cardiovascular, respiratory, and related disorders*. 3. ed. Washington (DC), The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, 2017.
- PI-SUNYER, F. X. “Obesity: criteria and classification”. *Proc Nutr Soc*. 59(4): 505-509, 2000.

- ROMIEU, I. *et al.* “Energy balance and obesity: what are the main drivers?”. *Cancer Causes Control*. 28(3): 247-258, 2017.
- RYU, S. *et al.* “Secular trends in the association between obesity and hypertension among adults in the United States, 1999-2014”. *Eur J Intern Med*. 62: 37-42, 2019.
- SAN GABRIEL, A. M. *et al.* “mGluR1 in the fundic glands of rat stomach”. *FEBS Lett*. 581(6): 1119-1123, 2007.
- SCHWARTZ, M. W. *et al.* “Central nervous system control of food intake”. *Nature*. 404: 661-671, 2000.
- SHI, Z. *et al.* “Monosodium glutamate is not associated with obesity or a greater prevalence of weight gain over 5 years: findings from the Jiangsu Nutrition Study Chinese adults”. *Br J Nutr*. 104(3): 457-463, 2010.
- SMYTH, S. & HERON, A. “Diabetes and obesity: the twin epidemics”. *Nat Med*. 12(1): 75-80, 2006.
- SPEAKMAN, J. R. “Obesity: The integrated roles of environment and genetics”. *J Nutr*. 134(8): 2090S-2105S, 2004.
- TEAS, J. *et al.* “Could dietary seaweed reverse the metabolic syndrome?”. *Asia Pac J Clin Nutr*. 18(2): 145-154, 2009.
- UNEYAMA, H. “Nutritional and physiological significance of luminal glutamate-sensing in the gastrointestinal functions”. *Yakugaku Zasshi*. 131(12): 1699-1709, 2011.
- UNEYAMA, H. *et al.* “Luminal amino acid sensing in the rat gastric mucosa”. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 291(6): G1163-1170, 2006.
- VENTURA, A. K.; BEAUCHAMP, G. K. & MENNELLA, J. A. “Infant regulation of intake: the effect of free glutamate content in infant formulas”. *Am J Clin Nutr*. 95(4): 875-881, 2012.
- WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. “Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO convention, Geneva, 1999”. *WHO Technical Report Series 894*, Geneva, 2000.
- WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. “Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health. Fifty-seventh World Health Assembly, Resolution

WHA57.17". 2004. Disponible en <https://www.who.int/dietphysicalactivity/strategy/eb11344/strategy_english_web.pdf>. Acceso el 2/3/2020.

WOOD, A. C. "Gene-environment interplay in child eating behaviors: what the role of "nature" means for the effects of "nurture"". *Curr Nutr Rep.* 7(4): 294-302, 2018.

WOODS, S. C. *et al.* "Signals that regulate food intake and energy homeostasis". *Science.* 280(5368): 1378-1383, 1998.

YACH, D.; STUCKLER, D. & BROWNELL, K. D. "Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes". *Nat Med.* 12(1): 62-66, 2006.

YÉPEZ, R.; CARRASCO, F. & BALDEÓN, M. E. "Prevalencia de sobrepeso y obesidad en estudiantes adolescentes ecuatorianos del área urbana". *ALAN.* 58(2): 139-143, 2008.

INTOLERANCIAS Y EFECTOS TÓXICOS DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO

Joel Faintuch

1. INTRODUCCIÓN

Ampliamente utilizado en todas partes del mundo, desde la primera mitad del siglo XX, el glutamato monosódico (GMS) ha sido asociado a variadas quejas y sospechas. El marco histórico fue, probablemente, la publicación, en el *New England Journal of Medicine*, en 1968, del artículo de Kwok (1968), titulado *Chinese restaurant syndrome*, según el cual síntomas transitorios y no específicos, sin embargo incómodos, como malestar, entorpecimiento y palpitaciones, eran desencadenados por la cocina oriental.

A lo largo del tiempo, ese síndrome se popularizó y abarcó prácticamente toda manifestación aguda, tras el consumo de alimentos que tuvieran cualquier cantidad de GMS, desde hiperemia facial (*flushing*), cefalea, dolor en la nuca y en la espalda hasta manifestaciones sistémicas como sudoración, taquicardia, mareo y síncope.

En décadas más recientes, se ha entablado un acalorado debate sobre el posible papel del GMS como desencadenador de la jaqueca, de las alergias en los niños y adultos, además de otras reacciones indeseables. La polémica más reciente se refiere a la posible toxicidad neurológica de los glutamatos en los

lactantes, y sus posibles consecuencias con relación a la aparición de secuelas a largo plazo, tales como hiposecreción de la hormona del crecimiento y obesidad. Cada uno de estos aspectos será discutido en el presente capítulo.

2. JAQUECA

Cerca del 46% de la población mundial padece de algún tipo de dolor de cabeza, del cual el 11% son víctimas de jaquecas (Stovner *et al.*, 2007). Las mujeres en edad fértil son especialmente susceptibles y las crisis pueden dejar a la víctima discapacitada temporalmente. Aunque se trate de un problema con un cuadro clínico consistente, los factores que funcionan como disparadores son variados y aún no entendidos completamente.

Fenómenos vasomotores ciertamente contribuyen a la sensación de latido o pulsación característica de este malestar, principalmente en el sistema trigémino-vascular. Métodos de imágenes aplicados al tronco cerebral indican trastornos en la modulación sensorial, de modo que algunos investigadores proponen la reclasificación de este malestar como una dismodulación sensorial (Goadsby, 2007).

Las asociaciones clínicas con este trastorno son numerosas y abarcan desde la tensión premenstrual y uso de anticonceptivos hasta la práctica de ejercicios físicos. La jaqueca puede estar asociada también a contingencias físicas como frío y grandes altitudes, a trastornos hemodinámicos como persistencia del foramen oval y a problemas articulares como artrosis temporomandibular. Hay, inclusive, asociaciones con estrés psicológico solamente.

Alimentos y bebidas no podrían faltar en esta miscelánea de factores asociados a la jaqueca, especialmente aquellos que contienen aminas vasomotoras. Individuos clasificados como intolerantes al GMS han relatado la ocurrencia de jaquecas entre sus malestares.

En conjunto, los alimentos desencadenantes de la jaqueca abarcan los quesos, principalmente aquellos extremadamente procesados o madurados, que contienen tiramina; chocolates (agentes causales: feniletilamina, teobromina); conservas y fríos industrializados con nitritos o nitratos; además de los ya consagrados alimentos industrializados o condimentados con GMS. No están exentos los productos lácteos como el yogur, ni tampoco los helados. Colorantes y aditivos en general (ácido benzoico, tartrazina amarilla) están en la lista de los sospechosos. Sin embargo, alimentos no procesados, como frutas cítricas, nueces y condimentos naturales, han sido igualmente acusados de desencadenar jaquecas.

Comidas grasosas y frituras están igualmente entre los alimentos sospechosos. En el ámbito de las bebidas, junto al clásico vino tinto, no se escapan la cerveza, el café, el té y los refrescos del grupo “cola” (Hämäläinen, 2006).

Protocolos bien diseñados no muestran beneficios de la exclusión sistemática del GMS u otros alimentos cuestionables de la dieta de individuos portadores de jaqueca. En los niños, la utilización de un régimen con restricción de aminos vasomotoras no fue más benéfico que la recomendación de la ingesta de más fibras durante las comidas (Hämäläinen, 2006).

Una norma oficial reciente de la *American Academy of Allergy, Asthma and Immunology* y del *American College of Allergy, Asthma and Immunology* (Chapman *et al.*, 2006) no excluye la posibilidad de situaciones individuales en las que puedan ocurrir reacciones del tipo cefalea. No obstante, se deja claro que auto-diagnósticos o meras impresiones clínicas no son sustitutos de una investigación diagnóstica científica de las quejas. Se avalan pruebas estandarizadas, tanto de supresión como de reintroducción de los nutrientes cuestionados, preferiblemente de forma enmascarada (utilización a ciegas) y con evaluación de los síntomas mediante registros de dolor validado y sintomatología general.

3. SÍNDROME DEL RESTAURANTE CHINO

Con relación al complejo y casi legendario síndrome, hay pocas pruebas de que el GMS sea, de hecho, el responsable. Freeman (2006) lista cerca de dos decenas de estudios, a lo largo de tres décadas, cuyos objetivos fueron reproducir y esclarecer la citada relación. La mayoría de ellos utilizó una metodología inadecuada o casuísticas modestas, mientras que aquellos trabajos de mejor calidad resultaron negativos.

El estudio más notable fue conducido en el año 2000 por investigadores de cuatro de las más renombradas instituciones universitarias norteamericanas: *Harvard Medical School*, *Boston University*, *University of California Los Angeles* (UCLA) y *Northwestern University*. El protocolo fue doble-ciego, controlado por placebo, y comprendía ensayos con dosis crecientes de GMS. Solamente fueron inscritos individuos con antecedentes positivos de intolerancia al glutamato monosódico, y el cuestionario cubría cefalea, rubor (*flushing*), ardor, molestar muscular y debilidad generalizada. En el primer protocolo, fue suministrada una dosis alta de GMS (5 g), seguida de dosis menores, aumentadas gradualmente hasta alcanzar nuevamente 5 g. De 130 individuos escogidos de manera aleatoria, solamente 2 (1,5%) se mostraron consistentes en sus respuestas, mucho menos que lo justificado por la casualidad (Geha *et al.*, 2000).

Es necesario considerar también el hecho de que ciertos alimentos chinos, así como algunos orientales de otras procedencias, pueden ser ricos en sodio o grasa y a menudo están acompañados de cantidades apreciables de bebidas alcohólicas. Estos compuestos podrían justificar varios de los síntomas ya mencionados. En resumen, se concluye que no existen fundamentos confiables a favor del referido síndrome. (Freeman, 2006; Geha *et al.*, 2000).

4. REACCIONES ALÉRGICAS

Son muchos los efectos adversos relatados en niños y adultos de todo el mundo atribuidos a respuestas de carácter inmuno-alérgico asociadas al consumo de GMS. Estos efectos van desde malestares orales y gastrointestinales relativamente leves hasta complicaciones mucho más graves tales como *shock* anafiláctico y paro cardiorrespiratorio. Los alérgenos más comunes son quizás los ácaros y otras partículas microscópicas del polvo doméstico. Sin embargo, como ya fue descrito para las cefaleas, docenas de otros agentes ya han sido involucrados en estas respuestas de carácter inmuno-alérgico, desde la exposición al frío, el ejercicio físico hasta las drogas, productos contaminantes, cosméticos y objetos de uso personal o industrial.

Se sabe que el organismo puede hipersensibilizarse a los antígenos alérgenos a través de la ingestión, inhalación, contacto cutáneo, inyección parenteral e incluso a través de la transfusión de sangre. Los alimentos más destacados en este contexto son la leche de vaca, el huevo, los crustáceos y otros frutos del mar, el chocolate y el maní. Además de los sospechosos habituales que son los conservantes, colorantes y aditivos de los alimentos condimentados o industrializados. Sin embargo, las compilaciones son tan vastas que se afirma, sin mucha exageración, que el agua es el único compuesto que nunca ha estado involucrado en estas sospechas.

En relación al GMS, las atenciones son direccionadas hacia las anomalías cutáneas (urticaria, angioedema) y enfermedades respiratorias (asma, broncoespasmo). La *American Academy of Allergy* y el *American College of Allergy, Asthma and Immunology* señalan que, aunque han sido encontrados en la literatura casos individuales de urticaria, angioedema y asma, estudios sistemáticos controlados con placebo no pudieron demostrar la reactivación de la urticaria crónica o el súbito apareamiento de crisis asmáticas durante el periodo de suplemento con GMS (Chapman *et al.*, 2006).

En un estudio representativo, realizado por Woods *et al.* (1998), se administraron dosis de 1 g y 5 g de GMS a personas que informaron sufrir de ataques de

asma, con crisis asmáticas inducidas por este condimento. Ninguno de los casos evaluados en el ensayo presentó una reducción en el FEV1 (volumen respiratorio forzado de un minuto). Este es un marcador clásico de espasmo, secreción y otras disfunciones bronquiolares, utilizado en la medición de desempeño respiratorio (Woods *et al.*, 1998).

5. TOXICIDAD NEUROLÓGICA

Es indudable que los animales recién nacidos sometidos a dosis muy altas de GMS sufren daños permanentes en el sistema nervioso central. Principalmente en el núcleo arcuato, pero también en el núcleo ventromedial, en el hipocampo, en el núcleo estriado y en la corteza cerebral. Se ha registrado también un aumento de la reactividad de las células gliales. Efectos similares ocurren en el feto tras el suplemento con GMS a ratas preñadas, sin embargo, en este caso, las dosis deben ser aún más altas.

La susceptibilidad del cerebro de animales de muy corta edad al glutamato, en tratamientos farmacológicos, se conoce desde 1969 (Olney & Sharpe, 1969) y ha dado origen a la teoría de la lesión neuronal excitotóxica. De una forma simplificada, esta teoría trata de la posibilidad de que los mismos mediadores que excitan las neuronas, en condiciones fisiológicas habituales, causen la destrucción de los receptores cuando se suministran en cantidades suprafisiológicas. Sin embargo, este es un principio más amplio, válido para varios otros neurotransmisores y no solo para el glutamato.

El glutamato, como ya se ha mencionado en otros capítulos, es un mediador esencial con múltiples acciones tanto en el sistema nervioso como también fuera de este. En especies susceptibles y en diseños experimentales particulares, un suministro excesivo de glutamato sería perjudicial y justificaría las más variadas consecuencias. Tales efectos pueden incluir obesidad hipotalámica que en algunos modelos, evoluciona a diabetes; degeneración retiniana; mayor respuesta inflamatoria en ciertos órganos, a expensas del factor de necrosis tumoral-alfa y al aumento del estrés oxidativo, con reducción del glutatión en algunos órganos más (Farombi & Onyema, 2006; Racz *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2005). Sin embargo, se sabe que la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo (barrera hematoencefálica) es altamente selectiva al paso de aminoácidos, por lo que no hay migración pura y simple desde el plasma hacia el líquido cefalorraquídeo.

El mayor equívoco atribuido al GMS en los últimos años sería la responsabilidad por el brote de la epidemia de obesidad mundial, con base en una suma de datos epidemiológicos y hallazgos experimentales. En roedores tratados

con dosis de 2,5 hasta 5 g de GMS por día (equivalente a 6,3-12,5 g/kg p.c., o en cifras redondas, 450-900 g por día de GMS para un adulto de 70 kg), se detecta voracidad, obesidad y disminución de la hormona del crecimiento, con consecuente reducción del desarrollo óseo. Al mismo tiempo, la población de algunos países muestra altos niveles de obesidad y, al menos en algunos estudios epidemiológicos, la obesidad grave se asocia con una estatura por debajo de la media. Por lo tanto, la deducción lógica sugeriría que la causa de la epidemia internacional sería el consumo crónico de GMS, presente en muchos alimentos industrializados (Hermanussen *et al.*, 2006).

Esta hipótesis, aunque creativa, sufre de algunas fallas cruciales. En los seres humanos de cualquier edad, nunca se ha observado voracidad, obesidad o disminución de la hormona del crecimiento por la ingesta de GMS en forma de alimentos industrializados o por el aporte de glutamato en la dieta enteral o parenteral, en cualquiera de las cantidades o patrones de oferta disponibles.

Se estima que un adulto promedio ingiere al día alrededor de 12 g de glutamato, ya que el ácido glutámico está bien representado en alimentos fundamentales de la dieta, como la leche (20% de proteínas) y la carne (16%). Sus fuentes son, por lo tanto, el glutamato estructural de las proteínas de la alimentación (10 g); el glutamato libre – presente en quesos madurados, hortalizas y otros (1 g); y el sazónador o condimento tipo GMS, industrializado con los alimentos o añadido durante la comida (0,4 g) (Beyreuther *et al.*, 2007).

En consecuencia, la ingesta diaria de GMS tiende a ser modesta en valor absoluto y es aún menos significativa si se diluye en el conjunto total de glutamato consumido, donde equivale a menos del 5%. No se puede comparar esa cantidad con las proporciones de 450 g o 900 g diarios necesarios para reproducir en el ser humano las condiciones experimentales mencionadas anteriormente (Hermanussen *et al.*, 2006).

Aún más, si hay una región en el mundo donde el GMS es utilizado desde hace siglos y de manera casi obligatoria en las comidas, esta es el Extremo Oriente, que se caracteriza exactamente por exhibir uno de los menores índices de obesidad poblacional.

6. TOXICOLOGÍA CLÍNICA

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) posee criterios bien estandarizados para establecer la ingesta segura de cualquier nutriente o aditivo. En esencia de estos criterios, los expertos se basan en los

niveles máximos de la sustancia examinada que no generan efectos adversos observables (*no observed adverse effect level/NOAEL*).

Para el GMS, tales valores fueron estipulados en 16000 mg/kg p.c. por vía oral o 500-1000 mg/kg p.c. en forma inyectable. Estos niveles están muy por encima del consumo dietético humano, incluso considerando los denominados “grandes consumidores” de condimentos y alimentos industrializados que contienen GMS (Beyreuther *et al.*, 2007).

En estudios relativamente antiguos, individuos voluntarios recibieron hasta 147 g de glutamato por día, durante 30 días o más, sin efectos adversos perceptibles (Bazzano *et al.*, 1970). En el plano experimental, se suministraron de 6000 a 7000 mg/kg/día a ratones, durante varias generaciones consecutivas, sin que pudiera ser encontrada ninguna anomalía en las crías de las camadas siguientes (Anantharaman, 1979).

A título de excepción, podemos citar a los individuos con alteraciones en la barrera hematoencefálica, en los que se verifica una permeabilidad cerebral excesiva al glutamato ingerido. Esto ocurre típicamente en la insuficiencia hepática avanzada (coma hepático), en la anestesia general con drogas que afectan el rendimiento de la barrera y en ciertos pacientes neuroquirúrgicos. Como ya fue señalado, también existe riesgo de inducción o de empeoramiento del edema cerebral. Cabe recordar que se trata de pacientes graves, en algunas circunstancias hospitalizados o incluso en unidades de cuidados intensivos. De esta forma, las normas alimentarias del GMS para el consumo general difícilmente se aplicarían (Stover & Kempinski, 1999).

Se ha reportado un aumento del paso de grandes moléculas hacia el cerebro en enfermedades menos dramáticas y de gran distribución en la población, como la diabetes y la hipertensión arterial. Igualmente, puede observarse en el envejecimiento, con o sin enfermedad de Alzheimer (Moody, 2006). Aun así, no se han registrado en la literatura repercusiones perjudiciales en relación al consumo de GMS dentro de los estándares conocidos.

7. CONSIDERACIONES FINALES

Durante las últimas décadas, el GMS ha sido examinado cuidadosamente por las más importantes entidades profesionales, científicas y reguladoras mundiales, incluyendo la Federación de las Sociedades Americanas de Biología Experimental (FASEB), la Administración Federal de Drogas de los Estados Unidos de América (FDA) y el Comité Internacional del *Codex Alimentarius*

(Organización de las Naciones Unidas). En este examen riguroso han participado igualmente el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), el Comité de los *Dietary Reference Intakes* de la Academia Nacional de Salud de los Estados Unidos de América, y numerosas agencias públicas de salud de todas las partes del mundo.

En todas estas oportunidades, fue determinado que el alimento, ya sea en forma de ácido glutámico o de sales de amonio, monosódica, potásica o cálcica no alteraba los niveles de glutamato en la sangre, en la leche materna o en la placenta, excepto en dosis exageradas. Su metabolización era igualmente adecuada en lactantes y adultos, incluso porque el glutamato es un componente integral de la leche materna y del plasma.

Ensayos con diferentes especies no mostraron efectos carcinógenos, ni teratológicos, sobre la fertilidad o sobre la reproducción. Ratones recién nacidos, y en menor grado otras especies, demostraron ser sensibles al daño neurológico. Sin embargo, las dosis plasmáticas necesarias para tales efectos eran tan altas que no pudieron ser alcanzadas en humanos, incluso con suministros orales de 10 g de GMS (Freeman, 2006; Beyreuther *et al.*, 2007; Walker & Lupien, 2000).

El síndrome del restaurante chino y las respuestas alérgicas o idiosincráticas ocasionalmente percibidas durante el uso de GMS no han quedado establecidos en estudios prospectivos y controlados. No obstante, esto no significa que no puedan existir individuos sensibles al glutamato monosódico, pero no de modo que pueda interferir en el excelente perfil de seguridad para la población en general, tanto infantil como adulta.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANANTHARAMAN, K. "In utero and dietary administration of monosodium L-glutamate to mice: Reproductive performance and development in a multigeneration study". In: FILER, L. J. *et al.* (ed.). *Glutamic Acid: Advances in Biochemistry and Physiology*. New York, Raven Press, 1979, pp. 231-253.

BAZZANO, G.; D'ELIA, J. A. & OLSON, R. E. "Monosodium glutamate: feeding of large amounts in man and gerbils". *Science*. 169(3951): 1208-1209, 1970.

BEYREUTHER, K. *et al.* "Consensus meeting: monosodium glutamate - an update". *Eur J Clin Nutr*. 61(3): 304-313, 2007.

CHAPMAN, J. A. *et al.* (editors). "Food allergy: a practice parameter". *Ann Allergy Asthma Immunol*. 96(3 Suppl2): S1-S68. 2006.

FAROMBI, E. O. & ONYEMA, O. O. "Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin". *Hum Exp Toxicol.* 25(5): 251-259, 2006.

FREEMAN, M. "Reconsidering the effects of monosodium glutamate: A literature review". *J Amer Acad Nurse Pract.* 18(10): 482-486, 2006.

GEHA, R. S. *et al.* "Multicenter, double-blind, placebo-controlled, multiple challenge evaluation of reported reactions to monosodium glutamate". *J Allergy Clin Immunol.* 106(5): 973-980, 2000.

GOADSBY, P. J. "Recent advances in understanding migraine mechanisms, molecules and therapeutics". *Trends Mol Med.* 13(1): 39-44, 2007.

HÄMÄLÄINEN, M. L. "Migraine in children and adolescents: a guide to drug treatment". *CNS Drugs.* 20(10): 813-820, 2006.

HERMANUSSEN, M. *et al.* "Obesity, voracity, and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite". *Eur J Clin Nutr.* 60(1): 25-31, 2006.

KWOK, R. H. M. "Chinese-restaurant syndrome". *New Eng J Med.* 278: 796, 1968.

MOODY, D. M. "The blood-brain barrier and blood-cerebral spinal fluid barrier". *Semin Cardiothorac Vasc Anesth.* 10(2): 128-131, 2006.

OLNEY, J. W. & SHARPE, L. G. "Brain lesions in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate". *Science.* 166(3903): 386-388, 1969.

RACZ, B. *et al.* "The neuroprotective effects of PACAP in monosodium glutamate-induced retinal lesion involve inhibition of proapoptotic signaling pathways". *Regul Pept.* 137(1-2): 20-26, 2006.

STOVER, J. F. & KEMPSKI, O. S. "Glutamate-containing parenteral nutrition doubles plasma glutamate: a risk factor in neurosurgical patients with blood brain-barrier damage?". *Crit Care Med.* 27(10): 2252-2256, 1999.

STOVNER, L. J. *et al.* "The global burden of headache: a documentation of headache prevalence and disability worldwide". *Cephalalgia.* 27(3): 193-210, 2007.

WALKER, R. & LUPIEN, J. R. "The safety evaluation of monosodium glutamate". *J Nutr.* 130(4S Suppl):1049S-52S, 2000.

WOODS, R. K. *et al.* “The effects of monosodium glutamate in adults with asthma who perceive themselves to be monosodium glutamate-intolerant”. *J Allergy Clin Immunol.* 101(6 Pt 1): 762-771, 1998.

XU, L. *et al.* “Effect of glutamate on inflammatory responses of intestine and brain after focal cerebral ischemia”. *World J Gastroenterol.* 11(5): 733-736, 2005.

PARTE IV
ASPECTOS DE SEGURIDAD
ALIMENTARIA

GLUTAMATO MONOSÓDICO ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

*Felix Guillermo Reyes Reyes
Miguel Arcanjo Areas
Hellen Dea Barros Maluly*

1. INTRODUCCIÓN

El glutamato monosódico (GMS), también identificado por las siglas GMS o MSG (*monosodium glutamate*, en inglés), es la sal sódica del aminoácido ácido glutámico. Sus estructuras se presentan en la Figura 12.1.

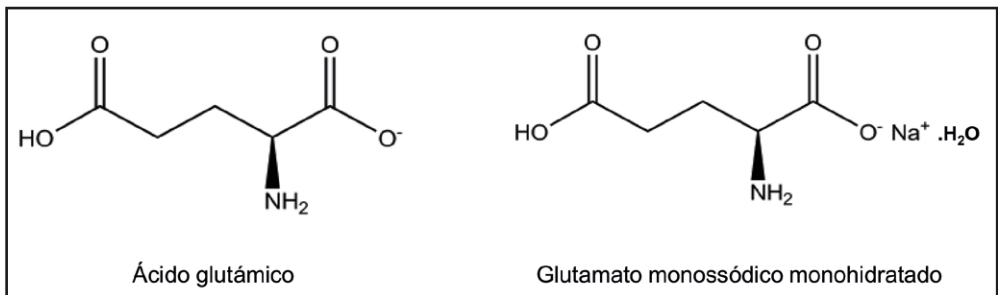


Figura 12.1 – Estructuras moleculares del ácido glutámico y del glutamato monosódico monohidratado.

Fuente: figura elaborada por los autores.

El ácido glutámico (o glutamato en su forma disociada) es el principal compuesto responsable por el denominado quinto gusto básico, umami, que en japonés quiere decir “delicioso” o “sabroso”. Además del glutamato, otras moléculas pueden inducir el gusto umami, como los nucleótidos, entre ellos inosina-5'-monofosfato y guanosina-5'-monofosfato (Blonde & Spector, 2017).

El glutamato libre, que no forma parte de la estructura de proteínas, puede estar naturalmente presente en la composición de los alimentos como, por ejemplo, tomates, espárragos, maíz, guisante, pescados, mariscos y carnes en general. Puede estar presente también en productos procesados e/o fermentados como quesos curados, jamón crudo, salami o puede haber sido adicionado como aditivo alimentario en la forma de GMS en alimentos procesados, como las sopas instantáneas, salsa de soya, aderezos para ensalada y *snacks*, entre otros (Maluly *et al.*, 2017; Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

El GMS ha sido tema de investigaciones científicas en diversas áreas, tanto en aquellas relacionadas con la tecnología de alimentos como en las que involucran cuestiones de salud humana. Este compuesto tiene un uso ampliamente diseminado en la industria de alimentos y desempeña muchas funciones fisiológicas en el cuerpo humano. Además, es importante mencionar que ya ha sido confirmada la presencia de receptores específicos para el glutamato, tanto en la lengua como en el estómago e intestino (Kurihara, 2015).

Sin embargo, la cuestión de la seguridad del uso del GMS ha generado polémicas a partir de publicaciones en las que lo asociaban a efectos adversos para la salud humana, cuando utilizado como aditivo alimentario en las comidas o en alimentos procesados. Entre estos efectos adversos podemos citar el “Complejo de Síntomas Relacionados con la Ingesta de Glutamato Monosódico” (conocido como “Síndrome del Restaurante Chino”) y la “Obesidad Hipotalámica” (Hermanussen *et al.*, 2006; Kwok, 1968; Monno *et al.*, 1995). A raíz de este hecho, el GMS como aditivo alimentario ha sido objeto de evaluaciones en cuanto a su seguridad de uso. En ellas han participado diferentes comités científicos y/o agencias de reglamentación: el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), la Administración Federal de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de América (FDA) y la Federación de las Sociedades Americanas de Biología Experimental (FASEB).

En 1970, en su 14ª reunión, el JECFA evaluó diferentes sales del ácido glutámico. El Comité estableció una ingesta diaria aceptable (IDA) de 0-120 mg/kg p.c. (expresados como ácido L- glutámico), y concluyó también que esa

IDA no se aplicaba a niños menores de 12 semanas de vida (JECFA, 1971). Sin embargo, en 1973, en la 17ª reunión, fue retirada la restricción de uso para alimentos infantiles, después de la verificación de que tales efectos adversos no eran observados en animales neonatos en los niveles recomendados para el uso de sales de ácido glutámico como aditivo alimentario, manteniéndose el valor de IDA (JECFA, 1974). Sin embargo, en evaluación posterior, realizada en 1987, el Comité estableció para el GMS una IDA “no especificada”. La denominación IDA “no especificada” significa que, tomando como base los datos disponibles (químicos, bioquímicos, toxicológicos, etc.), la ingesta diaria total de la sustancia, derivada de su uso para alcanzar los efectos tecnológicos deseados y de su concentración natural en los alimentos, no representa un peligro para la salud. Por esta razón, y por las otras enunciadas en cada una de las evaluaciones, no se consideró necesario el establecimiento de una IDA expresada en forma numérica. De esta forma, el JECFA concluyó que el GMS no representa un riesgo para la salud, cuando utilizado como aditivo alimentario (JECFA, 1988).

La Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasil (ANVISA), al igual que el JECFA, estableció una IDA “no especificada” para el GMS (BRASIL, 2001). Ya en los Estados Unidos de América, en 1958, el FDA clasificó el GMS como ingrediente Generalmente Reconocido como Seguro (*Generally Recognized as Safe*- GRAS). Esta clasificación se mantuvo en la reevaluación de los datos disponibles sobre el GMS, realizada en 1978 (FDA, 2018). Posteriormente, trabajos publicados indicaron la inducción de efectos adversos relacionados con el GMS como aditivo alimentario, principalmente en alimentos infantiles (Airoldi *et al.*, 1979; Arbogast & Voogt, 1990). Consecuentemente, la FDA recomendó que fueran realizados estudios adicionales para identificar la relación entre los efectos adversos y el uso del GMS en la alimentación de recién nacidos y de niños (Anderson & Raiten, 1992). De esta forma, la FASEB, formada por un grupo de científicos independientes, a pedido de la FDA, realizó una revisión completa de los datos científicos relacionados con la seguridad del GMS. En 1995, la FASEB concluyó que este componente es seguro cuando consumido como aditivo alimentario en los niveles tecnológicos recomendados (0,1-0,8% en el alimento) (Beyreuther *et al.*, 2007; Raiten *et al.*, 1995).

El Parlamento Europeo publicó en 1995 una directiva que estableció un límite de uso para el GMS de 10 g/kg de alimento, cuando utilizado como aditivo alimentario individualmente o en combinación con ácido glutámico y sus sales (potasio, calcio, amonio y magnesio), conforme las buenas prácticas de fabricación (EC, 1995). La última regulación publicada por el Parlamento fue

en 2008 y mantuvo las recomendaciones de la directiva de 1995 (EC, 2008). No obstante, como consecuencia de la reevaluación sobre la seguridad del uso de aditivos alimentarios, el Sector de Aditivos Alimentarios y Fuentes de Nutrientes Adicionados a los Alimentos (ANS) de la EFSA recomendó, en 2017, una IDA de grupo de 30 mg/kg p.c para el ácido glutámico y sus sales, expresada como ácido glutámico, lo cual no es compatible con el propio consumo de glutamato intrínseco de la dieta (Mortensen *et al.*, 2017). Siendo así, hasta 2020 esta recomendación no había sido aceptada ni adoptada por los órganos reguladores de todos los países.

Recientemente, Zanfrescu *et al.* (2019) relataron que muchos de los efectos negativos para la salud asociados al GMS tienen poca relevancia en humanos, en relación a la exposición crónica, y además son poco informativos pues se basan en la utilización de dosis de exposición elevadas que no corresponden a los niveles consumidos normalmente a través de los alimentos. Los autores concluyeron que son necesarios estudios clínicos y epidemiológicos adicionales, con protocolo (diseño experimental) adecuado teniendo en cuenta el GMS presente naturalmente en los alimentos y aquel adicionado como aditivo alimentario.

Este capítulo presenta una revisión de los datos biológicos, aspectos bioquímicos relacionados a la cinética y metabolismo, así como también estudios especiales (transporte transplacentario, barrera hematoencefálica). Serán analizados además, los estudios de toxicidad (toxicidad aguda, subcrónica, crónica, teratogenicidad y carcinogenicidad) utilizados por los diferentes Comités y/o Agencias de Reglamentación para establecer el uso seguro del GMS como aditivo alimentario.

2. ESTUDIOS DE CINÉTICA Y METABOLISMO

2. 1. Comportamiento del glutamato en el tracto gastrointestinal

El glutamato es metabolizado en gran cantidad en el tracto gastrointestinal (Figura 12.2). El estudio de Reeds *et al.* (2000) demostró que en el intestino de cerdos [(lactantes (hasta 20 kg) y jóvenes (de 20 a 60 kg)], así como también en humanos adultos, el GMS o el glutamato de la dieta es metabolizado en hasta 95 % como efecto de este primer trayecto. Posteriormente, el mismo grupo verificó que la absorción del glutamato en el estómago es mayor que en el intestino (Janeczko *et al.*, 2007).

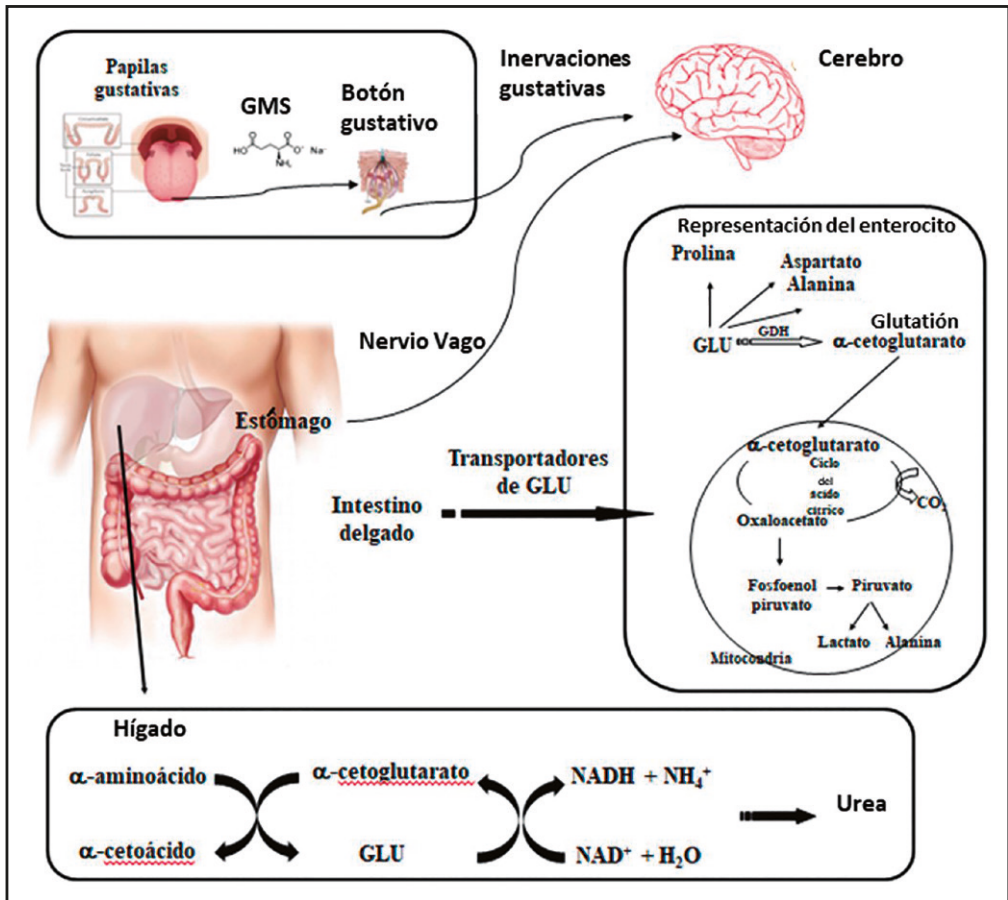


Figura 12.2 – Ruta metabólica del GMS en el organismo (GMS: glutamato monosódico; GLU: ácido glutámico; GDH: glutamato deshidrogenasa; CO_2 : dióxido de carbono; ATP: adenosina trifosfato; NAD: nicotinamida adenina dinucleótido; NH_4^+ : ion amonio).

Fuente: figura adaptada de Chandrashekar, 2006; y 3B Scientific/
<https://www.3bscientific.com.br/index.html>.

La metabolización del glutamato comienza por su transporte vía células del estómago y del intestino, a través del transportador de glutamato-aspartato 1 (GLAST-1), del transportador del glutamato (GLT-1), de los acarreadores de aminoácidos excitatorios 1 (EAAC-1) y de los transportadores de aminoácidos excitatorios 4 y 5. Los EAAC-1 son los transportadores más abundantes de glutamato en el intestino delgado, pero no en el estómago e intestino grueso. Por otro lado, el GLAST-1 y el GLT1 están presentes, en su mayor parte, en el estómago. Cuando el glutamato es absorbido por las células del tracto gastrointestinal, comienza a ser catabolizado en el citosol y en la mitocondria por la reacción

de trasaminación, con actividad de las enzimas aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, aminotransferasas de cadena ramificada y glutamato deshidrogenasa (GDH), presentes en el estómago, intestino delgado y colon. El glutamato es metabolizado a α -cetoglutarato, el cual puede entrar en el ciclo del ácido tricarbóxico con producción de energía (ATP) y liberación de dióxido de carbono (Iwanaga *et al.*, 2005).

Los átomos de carbono del glutamato que no sufrieron oxidación hasta la formación de dióxido de carbono son convertidos en lactato, alanina, prolina, citrulina, ornitina y arginina, que luego entran en la circulación portal. El nitrógeno derivado del metabolismo del glutamato es transformado en amonio y en otros aminoácidos, incluyendo la citrulina, ornitina, prolina y arginina. Gran parte del nitrógeno de estos compuestos es convertido en urea por las células hepáticas, sustancia que luego es eliminada por la orina (Burrin & Stoll, 2009).

Esa es la ruta a través de la cual ocurre la metabolización del glutamato consumido normalmente por la población, incluyendo el GMS utilizado como aditivo alimentario. Aún más, en un estudio realizado en cerdos lactantes quedó establecido que aun en dosis de GMS cuatro veces mayores que aquellas normalmente utilizadas como aditivo alimentario (hasta 0,8 %), el glutamato libre no es detectado en el plasma (Haÿs *et al.*, 2007).

2. 2. Metabolismo del glutamato en el hígado

Las rutas metabólicas del glutamato son complejas (Figura 12.2). Conforme mencionado anteriormente, el glutamato es extensivamente metabolizado en el tracto gastrointestinal a dióxido de carbono, lactato, glutatión, glutamina, alanina y varios otros tipos de aminoácidos. El glutamato ingerido que no es metabolizado en el tracto gastrointestinal entra en la circulación porta-hepática siendo entonces metabolizado en el hígado. El esqueleto carbonado del glutamato puede ser oxidado a través del ciclo de Krebs para generar energía, y su nitrógeno puede ser convertido en urea, la cual es excretada en la orina (Brosnan, 2000).

Siempre que se discute el metabolismo de los aminoácidos, es necesario separar el metabolismo del nitrógeno del metabolismo de los esqueletos de carbono. Aunque el metabolismo del nitrógeno es común a muchos aminoácidos, este es generalmente diferente para el esqueleto carbonado. El aspecto más importante del metabolismo del nitrógeno es su detoxificación en forma de urea. El metabolismo de casi todos los aminoácidos se inicia por aminotransferasas, y el

glutamato y el α -cetoglutarato forman parte de la reacción. La desaminación del glutamato promueve la formación de α -cetoglutarato y amoníaco por la enzima glutamato deshidrogenasa. El amoníaco producido aporta uno de los dos nitrógenos de la urea, por la enzima carbamoil fosfato sintetasa 1. La aspartato aminotransferasa transfiere el grupo amino del glutamato al oxalacetato para producir ácido aspártico, que puede entonces introducir el segundo nitrógeno en el ciclo de la urea por la arginino succinato sintetasa. Uno de los aspectos de este proceso es que las enzimas aminotransferasa y glutamato deshidrogenasa (GDH) son reversibles, lo que permite que el hígado ajuste la producción de amoníaco y ácido aspártico de acuerdo con las necesidades del ciclo de la urea. De este modo, el glutamato, además de producir energía por la formación de α -cetoglutarato, con posterior entrada en el ciclo de Krebs, también tiene un papel importante en la regulación del ciclo de la urea (Brosnan & Brosnan, 2009).

2. 3. Estudios de cinética

Las etapas de la cinética del glutamato dependen de la forma como este se encuentra en el organismo (si es en la forma libre o incorporado a proteínas). También tiene influencia de los componentes de la dieta, que dependen de las concentraciones de macronutrientes, principalmente de proteínas en la dieta (Imada *et al.*, 2014; Iwanaga *et al.*, 2005; Luscombe-Marsh *et al.*, 2009).

Como consecuencia del rápido metabolismo del glutamato libre en las células de la mucosa intestinal y en el hígado, sus niveles plasmáticos sistémicos son bajos, aun después de la ingesta de elevadas cantidades de proteína en la dieta. Sin embargo, la administración oral de dosis elevadas de glutamato libre puede resultar en aumento de sus niveles plasmáticos. De esta forma, el pico de concentración plasmática de glutamato dependerá de la cantidad ingerida (Stegink *et al.*, 1979). La administración enteral por sonda de una dosis de GMS de 1,0 g/kg p.c., en solución acuosa, resultó en un aumento significativo del glutamato plasmático en varias especies estudiadas. Los picos plasmáticos máximos de glutamato fueron menores en monos adultos y mayores en ratones. Diferencias relacionadas con la edad entre neonatos y adultos fueron verificadas en ratones y ratas. Los picos plasmáticos y el área bajo la curva fueron mayores en los animales recién nacidos que en los adultos, posiblemente debido a que los recién nacidos no poseen integridad gastrointestinal (Airoldi *et al.*, 1979; Ohara & Naim, 1977; Stegink *et al.*, 1975).

Fueron realizados estudios sobre los efectos de los componentes de la dieta en la absorción del glutamato en animales de laboratorio. Cuando ratones jóvenes

recibieron el GMS adicionado a fórmulas (alimentos) infantiles, o cuando los humanos adultos recibieron GMS con “consomé” (caldo concentrado) a través de intubación gástrica, los niveles máximos de glutamato en el plasma fueron significativamente menores, y el tiempo para alcanzar el pico plasmático fue mayor que cuando la misma dosis fue administrada solamente con agua (Ohara & Naim, 1977; Stegink *et al.*, 1985). De forma similar, en ratones, la alimentación *ad libitum* de una dieta que contenía GMS, originó apenas una ligera elevación plasmática de glutamato, arriba de los niveles basales (Heywood *et al.*, 1977).

Resultados similares sobre la absorción y los niveles plasmáticos del glutamato también fueron verificados en humanos. Los datos mostraron apenas un leve aumento en los niveles plasmáticos de GMS cuando fue ingerida una dosis de 0,150 g/kg p.c. en las comidas (Tung & Tung, 1980). Como ya fue citado, la ingesta de dosis elevadas de GMS junto con las comidas, provocó niveles plasmáticos de glutamato menores, en comparación con la ingesta de GMS con agua. En general, los alimentos que aportan carbohidratos metabolizables aumentan el metabolismo del glutamato, llevando a la reducción de sus niveles plasmáticos. En las células de la mucosa, los carbohidratos aportan piruvato como sustrato para la transaminación con el glutamato. De este modo se forma más alanina y llega menos glutamato a la circulación portal (Stegink *et al.*, 1983). También vale la pena mencionar que los niños, inclusive los bebés prematuros, tienen la misma capacidad de metabolizar dosis semejantes de GMS administradas en fórmulas infantiles (Tung & Tung, 1980).

La FASEB revisó treinta y cuatro estudios realizados con roedores, en los cuales el GMS fue administrado por vía enteral. Catorce animales recibieron GMS por sonda o intubación intragástrica, trece en la dieta o en el agua, cuatro por ambas vías y en tres de ellos no fue especificada la vía de administración (Anderson & Raiten, 1992). Fueron determinadas las concentraciones de ácido glutámico en el plasma en nueve estudios, y en otros cinco fueron verificados los picos de concentración plasmática (dos en ratas y tres en ratones). Tras la investigación, se concluyó que una de las causas de las lesiones producidas en el núcleo arqueado del hipotálamo, cuando el GMS era administrado por vía enteral, fue el hecho de que los estudios se realizaron con animales jóvenes, en los cuales la barrera hematoencefálica está aún en formación. Otra causa relacionada es el hecho de que en la ingesta se utilizaron dosis elevadas que no reflejan las dosis utilizadas en el consumo de GMS como aditivo alimentario. La dosis más baja utilizada en la que se observó algún tipo de lesión fue de 0,5 g/kg p.c. en animales con ocho días de vida (Daabees *et al.*, 1985).

3. ESTUDIOS DE TOXICIDAD

3. 1. Exposición aguda por vía oral

Los ensayos de toxicidad aguda tienen como objetivo demostrar la aparición de efectos adversos en un corto periodo de tiempo. Generalmente, se trata de la administración de una dosis única o exposiciones múltiples en 24 h. Se lleva también en consideración, la manifestación de algún efecto adverso en un periodo de hasta 14 días, después de la administración de la sustancia analizada (Barlow *et al.*, 2002). Estudios para la determinación del valor de la DL_{50} (dosis letal media), en los cuales el GMS fue administrado por vía oral, fueron realizados en varias especies. Los estudios fueron publicados en su mayoría en las décadas de 1960 y 1970 (JECFA, 1988). Estos trabajos mostraron valores de DL_{50} variables en ratones (13-19,2 g/kg p.c.), en ratas (10-19,9 g/kg p.c.) y en conejos (niveles mayores de 2,3 g/kg p.c.) (JECFA, 1988). Los resultados demuestran que los valores de DL_{50} utilizados fueron muy elevados indicando que el GMS tiene bajo potencial de toxicidad aguda. Además, los valores empleados no corresponden a los niveles de consumo de GMS, cuando utilizado como aditivo alimentario.

Los efectos tóxicos, tales como lesión en el núcleo arqueado del hipotálamo y alteraciones hipotalámicas, con consecuencias neuroendocrinas en roedores neonatos, han sido asociados con la exposición aguda al GMS. Esos efectos fueron verificados después de la administración de dosis elevadas por vía parenteral. Después de algunas horas, cuando el GMS fue administrado por vía oral, en altas dosis y sin la presencia de alimentos se observaron efectos neuronales en ratones de experimentación neonatos. Sin embargo, en otras especies, no fue observado ningún efecto adverso (Dawson, 1983; Hermanussen *et al.*, 2006; Olney, 1971).

3. 2. Exposición subcrónica (corta duración) por vía oral

La toxicidad subcrónica (de corta duración) generalmente involucra el estudio de efectos adversos provenientes de la exposición a múltiples dosis del agente tóxico, durante periodos que no exceden 10% de la vida media del animal. El objetivo es obtener informaciones que revelen posibles efectos tóxicos, en un periodo suficiente en que no haya modificaciones relacionadas a la edad, como alteraciones morfológicas y funcionales de los tejidos (Barlow *et al.*, 2002).

Dosis elevadas de GMS, administradas por vía enteral, pueden desarrollar lesiones en dos áreas del cerebro que son particularmente susceptibles a

efectos excitatorios exacerbados inducidos por el glutamato: el hipotálamo y el hipocampo. Para verificación de estos efectos, fueron administradas, por vía oral, dosis relativamente elevadas de GMS (4,0 g/kg p.c) en ratas adultas. Para esto, fue evaluada la ingesta única de GMS por sonda gástrica, así como la ingesta en dosis repetidas (21 días), en las cuales el GMS fue administrado en la dieta. Fueron evaluados también los niveles de glutamato en el plasma y en el cerebro. Se analizaron además, posibles alteraciones neuropatológicas mediante evaluación histológica de tejidos del cerebro. En este estudio de ingestión aguda, fue posible verificar un aumento significativo de glutamato tanto en el plasma como en los niveles extracelulares en el hipocampo y en el hipotálamo, en comparación con los de las ratas del grupo control. No obstante, en el estudio de 21 días, no fue verificada ninguna alteración en los niveles de glutamato, en comparación con las ratas que recibieron dieta control. La evaluación histológica no reveló ninguna alteración aguda o subcrónica, asociada con la administración del GMS (Monno *et al.*, 1995).

ANS/EFSA realizó una reevaluación de la seguridad del uso del GMS (Mortensen *et al.*, 2017) considerando estudios de corta duración (28 días). Para esto fueron utilizados ratas de ambos sexos (hembras dosis de 4,8 y 4,9 g/kg p.c. y machos dosis de 5,1 y 5,3 g/kg p.c.). No se observaron efectos adversos en estos ensayos. La administración de GMS (dosis de 0,15, 0,5 y 5 g/kg p.c.) a través de la dieta, a perros de la raza *beagle* mostró efectos clínicos, tales como vómito y diarrea. Sin embargo, estos síntomas no fueron considerados relevantes o fueron apenas transitorios. Así, hembras sometidas a las dosis de GMS más elevadas presentaron lesiones inespecíficas (como aumento del peso del timo), que no fueron consideradas como efectos adversos. Fueron realizados, también, ensayos subcrónicos en perros para verificar posibles efectos adversos en el tracto urinario. Después de 2 años de estudio, apenas se relataron efectos como aumento del volumen de orina y secreción de sodio. Estos efectos fueron observados cuando utilizada la dosis de administración de GMS más elevada (2,5 g/kg p.c.).

3. 3. Toxicidad crónica (largo plazo) y carcinogenicidad

Los estudios de toxicidad crónica y carcinogenicidad son realizados en un periodo correspondiente a la vida media del animal. El principal objetivo de estos estudios es evaluar los mecanismos involucrados en la ocurrencia de posibles lesiones neoplásicas como consecuencia de la exposición a la sustancia, en varias dosis, por una vía de administración apropiada (para aditivos, vía oral) (Barlow *et al.*, 2002).

Owen *et al.* (1978) relataron que la ingesta de GMS causaba hiperplasia de la vejiga y pelvis renal en ratas. Sin embargo, posteriormente, fue verificado que ese efecto no era provocado por la ingesta de GMS. La causa real era la presencia de bicarbonato de potasio (KHCO_3) en la dieta administrada a los animales. Este compuesto tenía un efecto alcalinizante en la orina (pH aumentaba hasta 8), durante el periodo de mayor consumo de alimento (de Groot *et al.*, 1988).

Shibata *et al.* (1995) realizaron un ensayo en el cual administraron dosis de 0, 0,6, 1,25, 2,5 y 5,0% de GMS a ratas, por un periodo de dos años. Los animales que recibieron dieta con 5,0% de GMS presentaron una tendencia al retardo del crecimiento. En ratas de ambos sexos que recibieron dieta con 2,5 e 5,0% de GMS ocurrió un aumento del pH y del sodio urinario mientras el potasio disminuyó. No obstante, no se observó desarrollo de lesiones proliferativas o neoplásicas en el tracto urinario.

3. 4. Estudios de reproducción y teratogenicidad

En los estudios de reproducción y de teratogénesis son evaluados los efectos adversos de la sustancia en el sistema de reproducción de animales de experimentación y las posibles consecuencias para su prole. De esta forma, fueron realizados ensayos para evaluación de los efectos adversos de GMS sobre el sistema reproductivo de animales de experimentación y sus posibles consecuencias en la prole. Se utilizaron dosis de GMS de 2,5 y 4,0 g/kg p.c., por vía oral, en ratones en fase final de gestación. Fue evaluado el comportamiento tanto de la madre como de su prole. El cruce de los machos tratados con las hembras tratadas resultó en gestaciones e hijos normales. Esto sugiere que la administración oral de GMS en una fase tardía de la preñez, no afecta la capacidad reproductiva de la prole. (Yu *et al.*, 1997).

El JECFA evaluó estudios de reproducción y teratogenicidad con administración de GMS por vía oral (JECFA, 1988). Se verificó que los animales expuestos no presentaron efectos adversos, ni aun cuando las hembras eran alimentadas con altas dosis de glutamato. Estos resultados indican que el feto y el neonato (lactantes) no fueron expuestos a los niveles tóxicos de la dieta materna, por transferencia transplacentaria o por la leche de las lactantes. Este hecho coincide con los relatos de que los niveles de glutamato en la sangre fetal no aumentan paralelamente con el aumento de los niveles de glutamato en la sangre materna. Por ejemplo, en las ratas que recibieron dosis orales de 8,0 g/kg p.c. de GMS al final del periodo de gestación, aumentaron los niveles plasmáticos de 100 a 1650 nmol/mL; sin embargo, no hubo aumento significativo en los niveles plasmáticos

de los fetos. De forma análoga, en hembras de monos *Rhesus* preñadas, la infusión de 1,0 g de GMS/h llevó a un aumento de 10 a 20 veces en los niveles de glutamato en el plasma materno, pero no hubo ningún cambio en los niveles plasmáticos de los fetos. En ratas y monos, tras la ingesta oral de grandes dosis de GMS, tampoco se detectó ningún aumento en los niveles de ácido glutámico en la leche materna.

Otros estudios evaluaron el paso de diferentes aminoácidos a través de la placenta de ovinos y concluyeron que el glutamato es el aminoácido que posee la menor transferencia para la circulación uterina, puesto que es metabolizado a α -cetoglutarato en la propia pared uterina (Cetim, 2001; Holzman *et al.*, 1979).

3. 5. Mutagenicidad

En la década de 1970, se realizaron estudios para evaluar el potencial de mutagenicidad del GMS. Con este fin, células de tejidos de ratas fueron expuestas a una dosis de 0,1% de GMS en solución y observadas durante 72 h. Ningún efecto tóxico fue verificado (FDA, 1969). Otro estudio utilizó ratones machos y les suministró GMS por sonda gástrica en diferentes niveles (0, 2,7 y 5,4 g/kg p.c.). Los animales tratados se cruzaron con hembras no tratadas cada seis semanas consecutivas. Las hembras fueron sacrificadas en la mitad de la gestación y el útero fue examinado para verificar señales de muerte embrionaria precoz y efectos mutagénicos. Entre las hembras que se cruzaron con animales tratados y no tratados, no se observaron diferencias en relación con la implantación, reabsorción y deficiencia embrionaria (JECFA, 1988).

3. 6. Neurotoxicidad

En las décadas de 1960 y 1970 se reportaron por primera vez efectos neurotóxicos asociados a la exposición al GMS. Los principales datos sobre las lesiones neuronales relacionadas con el suministro de GMS fueron constatados por Olney (1971). En su trabajo con ratones de 2 a 9 días de vida, se administraron dosis de 0,5-4,0 g/kg p.c., por vía parenteral. Estos animales fueron sacrificados a los 30 min o 48 h después de la administración de la dosis. Se observaron lesiones en el núcleo arqueado del hipotálamo, las mismas que fueron detectadas en ratones adultos tras el suministro de 5,0-7,0 g/kg p.c.

Otros investigadores han utilizado también como modelo, el animal tratado con dosis elevadas de GMS, administradas por vía parenteral u oral. Los estudios indicaron que la elevación de los niveles de glutamato en el plasma puede aumentar la circulación de glutamato en el cerebro y provocar lesión en

el núcleo arqueado del hipotálamo, y consecuente obesidad y diabetes (Hermanussen *et al.*, 2006; Nagata *et al.*, 2006). En estos experimentos, la barrera hematoencefálica de los roedores resultó gravemente dañada. En animales que habían recibido una inyección continua de GMS, el contenido de agua en el cerebro aumentó de forma significativa, provocando edema. La duplicación de concentraciones de glutamato en el plasma fue suficiente para causar este efecto. El edema cerebral empeoró solamente en estos animales. El edema puede haber ocurrido, probablemente, por la absorción de glutamato en las células de la glía, con consecuente reducción del glutamato extracelular en conjunto con iones de sodio. Esta condición, forzaría la entrada de agua al cerebro.

Además, se evidenció que las concentraciones de glutamato en el plasma, en condiciones normales, pueden llegar a $100\mu\text{mol/L}$ y en el cerebro hasta $12000\mu\text{mol/L}$. Sin embargo, apenas $0,5\text{-}2,0\mu\text{mol/L}$ llegan hasta el fluido extracelular. Aún más, la barrera hematoencefálica es casi impermeable al paso del glutamato, incluso en altas concentraciones, excepto en algunas áreas pequeñas con capilares fenestrados, puesto que el glutamato es un compuesto polar y, por lo tanto, el influjo pasivo está limitado a menos de 1% de aquel que ocurre en los vasos sanguíneos de otros tejidos (Hawkins, 2009).

4. GMS Y EL SÍNDROME DEL RESTAURANTE CHINO

El Síndrome del Restaurante Chino (o Complejo de Síntomas relacionados al GMS) fue descrito por primera vez por Kwok en 1968. El autor reportó un conjunto de señales y síntomas asociados al consumo de GMS, entre ellos dolores en el cuello o en la cabeza, debilidad y palpitaciones. Adicionalmente, otros síntomas han sido relacionados a la ingestión de GMS, como por ejemplo asma, dermatitis atópica, urticaria, dificultades respiratorias y taquicardia, ya sea a través del consumo de comida china o, más precisamente, por la ingesta de alimentos que contenían GMS (Allen *et al.*, 1987; Ratner *et al.*, 1984; Van Bever *et al.*, 1989).

Geha *et al.* (2000) realizaron un estudio sobre este síndrome utilizando un diseño del tipo doble-ciego, placebo-controlado. El estudio evaluó frecuencia cardíaca, presión sanguínea, tasa respiratoria y temperatura, para verificar las respuestas que eran consideradas positivas a reacciones adversas descritas después del consumo de GMS (debilidad generalizada, tensión y contracción muscular, rubor, sudoración, sensación de ardor o quemazón, dolor de cabeza – jaqueca, dolor en el pecho, palpitaciones, adormecimiento – hormigueo). Los resultados eran considerados positivos si el individuo presentaba dos o más

de estos síntomas. El diseño experimental consistió en 4 ensayos secuenciales (A – D); los 2 primeros fueron idénticos a un estudio realizado en Canadá en 1997 (Yang *et al.*, 1997). En los ensayos A - C, el GMS fue administrado sin alimentos. El ensayo A consideró 130 individuos que manifestaban tener reacciones después de consumir GMS. Los participantes recibieron cápsulas de placebo y cápsulas con 5,0 g de GMS en días alternados. Tanto placebo como GMS fueron administrados junto con un líquido de sabor cítrico para evitar que sintieran el sabor de la sustancia de prueba. Las reacciones fueron registradas durante 2 horas. Los individuos considerados positivos pasaron para el ensayo B cuyo objetivo fue analizar si las respuestas de los individuos eran consistentes y si eran dosis dependientes. Para eso fueron utilizadas varias concentraciones de GMS [0 (placebo), 1,25, 2,5, o 5 g] en 200 mL de la misma solución cítrica, en días diferentes. Los resultados mostraron que los síntomas fueron presentándose con mayor frecuencia a medida que la dosis de GMS aumentaba. Los individuos que respondieron a 5mg de GMS y no al placebo tanto en el ensayo A como en el B (12 individuos) pasaron al ensayo C, cuyo objetivo fue confirmar la reproductibilidad de los resultados obtenidos en los experimentos anteriores. Solamente 2 individuos respondieron a 5 g de GMS pero no al placebo, los cuales fueron elegidos para el ensayo D, El protocolo del ensayo D consistió en la evaluación de las características clínicas de las reacciones a GMS *versus* placebo cuando ingeridos con alimentos. Así, los 2 participantes ingirieron placebo (3 veces) o 5 g de GMS (3 veces) en presencia de alimentos (leche y cereales). Ambos individuos respondieron solamente a 1 de las 3 administraciones de GMS. Además, los síntomas descritos fueron diferentes a los relatados en los ensayos anteriores (A-C). Geha *et al.* (2000) concluyeron que cuando a un grupo de individuos autoidentificados como sensibles al GMS se le solicita que muestre reproducibilidad de los diferentes síntomas que ellos mismos describieron, ninguno logra hacerlo.

En sus conclusiones acerca de la seguridad del GMS, la FASEB y la FDA no consideraron la existencia de una subpoblación sensible y ambas entidades concordaron con la evaluación de seguridad del JECFA y del Comité Científico para Alimentos de la Comisión de la Comunidad Europea (SCF) (Walker & Lupien, 2000).

Williams & Woessner (2009) realizaron una revisión de la literatura disponible sobre la probable participación del GMS en las reacciones alérgicas más comunes (asma, urticaria y rinitis), que forman parte del “complejo de síntomas atribuidos al GMS”. Los investigadores concluyeron que, en el caso específico

del asma, el análisis crítico de los métodos y de las propuestas experimentales presenta limitaciones que imposibilitan concluir la existencia de esa relación. Además de eso, estudios con mayor rigor científico (como aquellos que implican pruebas doble ciego, placebo controlado) demostraron que era improbable que el consumo de GMS tuviera un papel participativo en el asma, aun en individuos identificados como sensibles a esta sustancia.

Por otro lado, muchos estudios que examinaron el probable papel de la ingesta alimentaria del GMS como agente causador de urticaria (edema generalmente pruriginoso) y angioedema (hinchazón localizada en la dermis o submucosa) sugirieron la posibilidad de una ocurrencia rara, que probablemente representa menos de 3% de los casos (Bush & Montalbano, 2014). No obstante, la calidad de la evidencia que sustenta esa relación está lejos de lo ideal. Por otra parte, la evidencia de que el GMS es agente causador de rinitis se limita a dos relatos en la literatura científica. En resumen, es esencial mencionar que los datos científicos actuales no sugieren que el GMS participe en el apareamiento de asma, urticaria, angioedema o rinitis (Williams & Woessner, 2009).

5. CONSIDERACIONES FINALES

El GMS es una sal del ácido glutámico y es utilizado mundialmente como aditivo alimentario por la industria alimenticia con la finalidad de realzar el sabor y auxiliar en la reducción del sodio en alimentos. Todas las sales de este aminoácido se disocian en solución acuosa. Por lo tanto, el glutamato presente en las soluciones es el mismo glutamato libre encontrado en los alimentos (como quesos, carnes, tomates, etc.).

En el cuerpo humano, el glutamato proveniente de la dieta, tanto en su forma natural (encontrado en los alimentos) como adicionado en forma de aditivo alimentario es, en su mayor parte, metabolizado en el propio tracto gastrointestinal. El glutamato tiene toxicidad aguda muy baja. Cuando es administrado por vía oral, la DL_{50} (dosis letal para 50% de los animales analizados) en ratas y ratones es de, aproximadamente, 13-19 g/kg p.c.

Estudios de toxicidad subcrónica y crónica, con duración de hasta dos años, en ratas y ratones, inclusive durante la fase reproductiva, no revelaron ningún efecto adverso específico cuando el GMS fue administrado en la dieta en dosis de hasta 4,0%. Investigaciones, de dos años de duración, realizadas con perros a los cuales se les suministró una dosis de 10% de GMS en la dieta, no revelaron ningún efecto de aumento de peso corporal, peso de los órganos, alteraciones

clínicas, de mortalidad o de comportamiento en general. La evaluación acerca de la cuestión de la seguridad realizada por el JECFA llevó a concluir que la ingesta dietética total de sales de ácido glutámico, debido a su uso como aditivo alimentario en niveles necesarios para alcanzar el efecto tecnológico deseado y de su aceptabilidad en alimentos, no presenta riesgo para la salud. Luego, la expresión de un valor numérico para IDA no fue considerada necesaria y, por tanto, para las sales del ácido glutámico (sales de sodio, potasio, calcio y amonio) fue atribuido una “IDA no especificada”. El JECFA también verificó que no habría necesidad de restricciones para mujeres embarazadas y niños. No obstante, mantuvo la posición tomada en las otras evaluaciones realizadas en lo que concierne a la recomendación de que los aditivos alimentarios, en general, no deben ser consumidos por neonatos, antes de doce semanas de vida.

El SCF, en 1991, llegó a la misma conclusión que el JECFA, atribuyendo una IDA no especificada para las sales del ácido glutámico (Walker & Lupien, 2000). Sin embargo, en 1995, una directiva de la Comunidad Europea (EC, 1995) sobre aditivos alimentarios fijó un límite de 10 g/kg para ácido glutámico y sus sales (individualmente o en combinación) presentes en los productos alimenticios, con excepción de alimentos no procesados, alimentos para bebés (para los cuales el uso de glutamato y sales no es permitido), condimentos y especias. Actualmente, la directiva continúa en vigor, como mencionado en la Resolución 1333/2008 (EC, 2008). Además, en 2017, como resultado de la reevaluación del uso seguro del glutamato y sus sales, como aditivos alimentarios, la ANS/EFSA recomendó una IDA de grupo de 30 mg/kg p.c., expresada como ácido glutámico (Mortensen *et al.*, 2017).

La FASEB publicó, en 1995, la evaluación realizada sobre reacciones adversas al GMS. Esta entidad concluyó que, aunque existan evidencias científicas comprobadas de efectos adversos en algunos individuos sensibles a dosis elevadas de glutamato, no hay documentación suficiente para indicar que existe un subgrupo de individuos saludables que presentan reacciones adversas al GMS. El subgrupo que responde a las manifestaciones del complejo de síntomas relacionados con el GMS generalmente responde dentro de una hora de exposición, cuando es expuesto a una dosis oral de 3,0 g de GMS en ausencia de alimento (Anderson & Raiten, 1992).

La FDA adoptó las conclusiones de la FASEB en relación con el complejo de síntomas, resaltando que hay diferencias en ensayos donde el GMS es administrado en cápsulas o en soluciones, en la ausencia o en presencia de alimentos. La FDA también concluyó que no hay ninguna evidencia de que el glutamato libre

presente naturalmente en alimentos o adicionado a la dieta cause, a largo plazo, daños degenerativos a células nerviosas. La FDA también consideró las conclusiones del informe de la FASEB coherentes con las evaluaciones de seguridad realizadas por otras organizaciones competentes (incluyendo el JECFA y SCF), que afirmaron la inocuidad del GMS en los niveles normalmente consumidos por la población en general. Después de la revisión de la FASEB, la FDA consideró el GMS como un ingrediente alimentario como la sal y el azúcar. Tal como estos ingredientes, el GMS tampoco puede ser usado en exceso, pues es autolimitante. Si se usa en exceso, no mejora el sabor de los alimentos y, por el contrario, lo empeora (Beyreuther *et al.*, 2007; Jinap & Hajeb, 2010)

Considerando todas las evaluaciones realizadas por comités científicos, órganos y agencias de regulación, se puede concluir que el uso del GMS como aditivo alimentario es seguro, cuando es utilizado en el nivel adecuado para obtener el efecto tecnológico deseado y conforme las buenas prácticas de producción de alimentos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIROLDI, L. *et al.* “Glutamic acid and sodium levels in the nucleus arcuatus of the hypothalamus of adult and infant rats after oral monosodium glutamate”. *Toxicology Letters*. 3(3): 121-126, 1979.

ALLEN, D. H.; DELOHERY, J. & BAKER, G. “Monosodium L-glutamate-induced asthma”. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 80(4): 530-537, 1987.

ANDERSON, S. A. & RAITEN, D. J. (ed.). *Safety of amino acids used as dietary supplements*. Bethesda, FASEB, 1992. Disponible en <https://www.faseb.org/Portals/2/PDFs/LSRO_Legacy_Reports/1992_Safety_Amino_Acids_Used_As_Dietary_Supplmnts.pdf>. Acceso el 15/1/2020.

ARBOGAST, L. A. & VOOGT, J. L. “Sex-related alterations in hypothalamic tyrosine hydroxylase after neonatal monosodium glutamate treatment”. *Neuroendocrinology*. 52(5): 460-467, 1990.

BARLOW, S. *et al.* “Hazard identification by methods of animal-based toxicology”. *Food and Chemical Toxicology*. 40(2-3): 145-191, 2002.

BEYREUTHER, K. *et al.* “Consensus meeting: monosodium glutamate - an update”. *European Journal of Clinical Nutrition*. 61(3): 304-313, 2007.

BLONDE, G. D. & SPECTOR, A. C. “An examination of the role of L-glutamate and inosine 5'-monophosphate in hedonic taste-guided behavior by mice lacking the T1R1 + T1R3 receptor”. *Chemical Senses*. 42(5): 393-404, 2017.

BRASIL. “Resolução - RDC n.1, de 2 de janeiro de 2001. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico que aprova o uso de aditivos com a função de realçadores de sabor, estabelecendo seus limites máximos para os alimentos”. *Diário Oficial da União*. 2001. Disponible en <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolucao_RDC_n1_de_02_de_janeiro_de_2001.pdf/f3ce5586-b054-4a0a-8762-10d7db6d1789>. Acceso el 2/2/2020.

BROSNAN, J. T. “Glutamate, at the interface between amino acid and carbohydrate metabolism”. *The Journal of Nutrition*. 130(4): 988S-990S, 2000.

BROSNAN, M. E. & BROSNAN, J. T. “Hepatic glutamate metabolism: a tale of 2 hepatocytes”. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 90(3): 857S-861S, 2009.

BURRIN, D. G. & STOLL, B. “Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut”. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 90(3): 850S-856S, 2009.

BUSH, R. K. & MONTALBANO, M. “Asthma and food additives. Chapter 27”. In: METCALFE, D. D. *et al.* (ed.). *Food allergy: adverse reactions to foods and food additives*. Fifth Edition, Chichester, John Wiley & Sons Ltd., 2014, pp. 341-345.

CETIN, I. “Amino acid interconversions in the fetal-placental unit: the animal model and human studies *in vivo*”. *Pediatric Research*. 49(2): 148-154, 2001.

CHANDRASHEKAR, J. *et al.* “The receptors and cells for mammalian taste”. *Nature*. 444 (7117): 288-294, 2006.

DAABEES, T. T. *et al.* “Correlation of glutamate plus aspartate dose, plasma amino acid concentration and neuronal necrosis in infant mice”. *Food and Chemical Toxicology*. 23(10): 887-893, 1985.

DAWSON, R. “Acute and long lasting neurochemical effects of monosodium glutamate administration to mice”. *Neuropharmacology*. 22(12A): 1417-1419, 1983.

DE GROOT, A. P.; FERON, V. J. & IMMEL, H. R. “Induction of hyperplasia in the bladder epithelium of rats by a dietary excess of acid or base: implications

for toxicity/carcinogenicity testing”. *Food and Chemical Toxicology*. 26(5): 425-434, 1988.

EC. “European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners”. 1995. Disponible en <<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1995L0002:20060815:EN:PDF>>. Acceso el 2/2/2020.

EC. “Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. 2008”. Disponible en <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&from=EN>>. Acceso el 2/2/2020.

FDA, Food and Drug Administration. “Report on monosodium glutamate for review by Food Protection Committee, NAS/NRC”. In: Apud - JECFA - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1988). “L-glutamic acid and its ammonium, calcium, monosodium and potassium salts”. WHO - World Health Organization (ed.). 1969. Disponible en <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v22je12.htm>>. Acceso el 2/2/2020.

FDA, Food and Drug Administration. “GRAS Substances (SCOGS) Database”. 2018. Disponible en <<https://www.fda.gov/food/ingredientpackaginglabeling/gras/scogs/default.htm>>. Acceso el 2/2/2020.

GEHA, R. S. *et al.* “Multicenter, double-blind, placebo-controlled, multiple-challenge evaluation of reported reactions to monosodium glutamate”. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 106(5): 973-980, 2000.

HAWKINS, R. A. “The blood-brain barrier and glutamate”. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 90(3): 867S-874S, 2009.

HAYŠ, S. P. *et al.* “Dietary glutamate is almost entirely removed in its first pass through the splanchnic bed in premature infants”. *Pediatric Research*. 62(3): 353-356, 2007.

HERMANUSSEN, M. *et al.* “Obesity, voracity and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite”. *European Journal of Clinical Nutrition*. 60(1): 25-31, 2006.

HEYWOOD, R.; JAMES, R. W. & WORDEN, A. N. “The *ad libitum* feeding of monosodium glutamate to weanling mice”. *Toxicol. Lett.* 1(3): 151-155, 1977.

HOLZMAN, I. R. *et al.* “Uterine uptake of amino acids and placental glutamine--glutamate balance in the pregnant ewe”. *Journal of Developmental Physiology*. 1(2): 137-149, 1979.

IMADA, T. *et al.* “Supplementing chicken broth with monosodium glutamate reduces energy intake from high fat and sweet snacks in middle-aged healthy women”. *Appetite*. 79: 158-165, 2014.

IWANAGA, T.; GOTO, M. & WATANABE, M. “Cellular distribution of glutamate transporters in the gastrointestinal tract of mice: an immunohistochemical and in situ hybridization approach”. *Biomedical Research*. 26(6): 271278, 2005.

JANECZKO, M. J. *et al.* “Extensive gut metabolism limits the intestinal absorption of excessive supplemental dietary glutamate loads in infant pigs”. *The Journal of Nutrition*. 137(11): 2384-2390, 2007.

JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. “Evaluation of food additives: specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some extraction solvents and certain other substances; and a review of the technological efficacy of some antimicrobial agents”. *Fourteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Geneva, 1971. Disponible en <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40848/WHO_TRS_462.pdf;jsessionid=8A7F9685E9E-54180C3AFE5B97D88676E?sequence=1>. Acceso el 2/2/2020.

JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. “Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications”. *Seventeenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Geneva, 1974. Disponible en <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41072/WHO_TRS_539.pdf?sequence=1>. Acceso el 2/2/2020.

JECFA, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. “L-glutamic acid and its ammonium, calcium, monosodium and potassium salts”. In: *WHO - World Health Organization* (ed.). 22nd ed. New York, Cambridge University Press, 1988. pp. 97-161. Disponible en <<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v22je01.htm>>. Acceso el 2/2/2020.

JINAP, S. & HAJEB, P. “Glutamate. Its applications in food and contribution to health”. *Appetite*. 55(1): 1-10, 2010.

- KURIHARA, K. “Umami the fifth basic taste: history of studies on receptor mechanisms and role as a food flavor”. *BioMed Research International*. 2015:189402, 2015.
- KWOK, R. H. “Chinese-restaurant syndrome”. *The New England Journal of Medicine*. 278(14): 796, 1968.
- LUSCOMBE-MARSH, N. D.; SMEETS, A. J. P. G. & WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. “The addition of monosodium glutamate and inosine monophosphate-5 to high-protein meals: effects on satiety, and energy and macronutrient intakes”. *British Journal of Nutrition*. 102(06): 929, 2009.
- MALULY, H. 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 Sci. Nutr*. 5(6): 1039-1048, 2017.
- MONNO, A. *et al.* “Extracellular glutamate levels in the hypothalamus and hippocampus of rats after acute or chronic oral intake of monosodium glutamate”. *Neuroscience Letters*. 193(1): 45-48, 1995.
- MORTENSEN, A. *et al.* “Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives”. *EFSA Journal*. 15(7), 2017.
- NAGATA, M. *et al.* “Type 2 diabetes mellitus in obese mouse model induced by monosodium glutamate”. *Experimental Animals*. 55(2): 109-115, 2006.
- OHARA, I. & NAIM, M. “Effects of monosodium glutamate on eating and drinking behavior in rats”. *Physiology & Behavior*. 19(5): 627-634, 1977.
- OLNEY, J. W. “Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus. An electron microscopic study”. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 30(1): 75-90, 1971.
- OWEN, G. *et al.* “The feeding of diets containing up to 4% monosodium glutamate to rats for 2 years”. *Toxicology Letters*. 1: 221-226, 1978.
- RAITEN, D. J.; TALBOT, J. M. & FISHER, K. D. (ed.). “Executive summary from the report: analysis of adverse reactions to monosodium glutamate (MSG)”. *The Journal of Nutrition*. 125(11): 2891S-2906S, 1995. Disponible en <<https://doi.org/10.1093/jn/125.11.2891S>>. Acceso el 26/3/2020.

- RATNER, D.; ESHEL, E. & SHOSHANI, E. "Adverse effects of monosodium glutamate: a diagnostic problem". *Israel Journal of Medical Sciences*. 20(3): 252-253, 1984.
- REEDS, P. J. *et al.* "Intestinal glutamate metabolism". *The Journal of Nutrition*. 130(4): 978S-982S, 2000.
- SHIBATA, M. A. *et al.* "Lack of carcinogenicity of monosodium l-glutamate in Fischer 344 rats". *Food and Chemical Toxicology*. 33(5): 383-391, 1995.
- STEGINK L. D. *et al.* "Comparative metabolism of glutamate in the mouse, monkey and man". In: FILER, L. J. *et al.* (ed.). *Glutamic acid: Advances in Biochemistry and Physiology*. New York, Raven Press, 1979, pp. 5-102.
- STEGINK, L. D. *et al.* "Monosodium glutamate metabolism in the neonatal monkey". *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 229(1): 246-250, 1975.
- STEGINK, L. D.; FILER, L. J. & BAKER, G. L. "Plasma amino acid concentrations in normal adults fed meals with added monosodium L-glutamate and aspartame". *The Journal of Nutrition*. 113(9): 1851-1860, 1983.
- STEGINK, L. D.; FILER, L. J. & BAKER, G. L. "Plasma glutamate concentrations in adult subjects ingesting monosodium L-glutamate in consommé". *The American Journal of Clinical Nutrition*. 42(2): 220-225, 1985.
- TUNG, T.C. & TUNG, K. S. "Serum free amino acid levels after oral glutamate intake in infant and adult humans". *Nutr Rep Int*. 22: 431-443, 1980.
- VAN BEVER, H. P.; DOCX, M. & STEVENS, W. J. "Food and food additives in severe atopic dermatitis". *Allergy*. 44(8): 588-594, 1989.
- WALKER, R. & LUPIEN, J. R. "The safety evaluation of monosodium glutamate". *The Journal of Nutrition*. 130(4): 1049S-1052S, 2000.
- WILLIAMS, A. N. & WOESSNER, K. M. "Monosodium glutamate 'allergy': menace or myth?". *Clinical & Experimental Allergy*. 39(5): 640-646, 2009.
- YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. "Umami and food palatability". *The Journal of Nutrition*. 130(4S Suppl): 921S-926, 2000.
- YANG, W. H. *et al.* "The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study". *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 99(6 Pt 1): 757-762, 1997.

YU, T. *et al.* “Effects of maternal oral administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy on developing mouse fetal brain”. *Brain Research*. 747(2): 195-206, 1997.

ZANFIRESCU, A. *et al.* “A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate”. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 18(4): 1111-1134, 2019.

PARTE V
ASPECTOS SENSORIALES

GUSTO, SABOR Y PERCEPCIONES SENSORIALES

*Helena Maria Andre Bolini
Maria Aparecida Pereira da Silva*

Desde el punto de vista conceptual, gusto y sabor son percepciones distintas; por consiguiente, es incorrecto utilizarlos como sinónimos. El gusto se origina en los receptores gustativos específicos (que son quimiorreceptores), estando presente en las células gustativas que junto con las células de soporte forman una estructura denominada botón gustativo, que a su vez se inserta en las papilas gustativas ubicadas en la lengua.

Tras el contacto de moléculas químicas dotadas de gusto con las células gustativas (quimiorreceptores), se producen impulsos nerviosos que el cerebro interpreta como gusto (Thibodeau & Patton, 2012).

Hay cuatro tipos de papilas gustativas en la superficie de la lengua: circunvaladas, foliadas, fungiformes y las filiformes.

Las papilas circunvaladas, foliadas y fungiformes contienen botones gustativos con células gustativas que son estimuladas por compuestos químicos disueltos en la saliva, mientras que las filiformes tienen la función de ayudar al movimiento y distinguir la textura de los alimentos dentro de la boca durante el consumo (Thibodeau & Patton, 2012).

La sensibilidad a las sustancias químicas que estimulan los receptores gustativos está determinada por factores genéticos y por la exposición de las personas a sustancias en su dieta diaria. Por esta razón, los padres tienen un papel relevante en la introducción de una amplia variedad de alimentos y experiencias de alimentación ricas y saludables para permitir la exposición y, en consecuencia, contribuir a la aceptación del consumo de dietas saludables (Schwartz *et al.*, 2018).

Definiendo y puntualizando, la diferencia entre gusto y sabor se puede sintetizar de la siguiente manera: el gusto es la sensación provocada por la presencia de ciertos compuestos químicos disueltos en la saliva, en contacto con receptores específicos, ubicados en estructuras altamente especializadas presentes en el órgano gustativo, la lengua. Hasta la fecha, existen cinco gustos científicamente reconocidos: dulce, salado, amargo, ácido y umami. Ya el sabor es una respuesta compleja provocada por la percepción resultante de la asociación de tres sensaciones simultáneas:

1. gusto resultante de la estimulación de los receptores gustativos a partir de compuestos químicos presentes en los alimentos, disueltos en la saliva.
2. olfato resultante de la estimulación de las células olfativas por los compuestos volátiles presentes en los alimentos, por vía retronasal (por ejemplo: afrutado, amaderado, floral, alcohólico, cítrico).
3. sensaciones táctiles de origen químico (quimioestesia) que estimulan directamente los receptores del dolor, el tacto y los receptores térmicos de la piel o mucosas - en el caso oral, nasal y ocular. Por ejemplo: el frío provocado por el mentol o el ardor de la capsaicina; y/o sensaciones táctiles de naturaleza mecánica (somestesia) que estimulan los receptores sensoriales durante el movimiento de los músculos de la lengua y el rostro en función de la posición y movimiento originados según la textura del alimento, como la viscosidad y la suavidad (ASTM, 2019). Las sensaciones táctiles mencionadas también son denominadas por algunos autores como sensaciones del trigémino (Da Silva & Costa, 2007; Kandel *et al.*, 2000; Nelson & Cox, 2000; Lawless & Heymann, 1999). Esta definición se debe a que todos los receptores involucrados son terminaciones nerviosas. del quinto par de nervios craneales, llamado trigémino (Netter, 2015).

Además de las sensaciones mencionadas, es importante citar la sensación de astringencia. Esta es una propiedad que se encuentra frecuentemente en

alimentos que contienen compuestos fenólicos que son los que provocan la percepción de esta característica sensorial.

Algunos compuestos fenólicos, provenientes de ingredientes o vegetales, pueden estar presentes en preparaciones con glutamato monosódico (GMS). Por tal motivo, es importante mencionar que la astringencia puede ser considerada como resultado de la ocurrencia simultánea de la quimioestesia y de la somestesia: quimioestesia por el fenómeno de complexación y precipitación de compuestos fenólicos en contacto con proteínas ricas en prolina presentes en la saliva; y somestesia debido a la estimulación de los receptores táctiles, por parte de los precipitados formados, así como por la aspereza y sequedad resultante de la reducción del agua de la saliva (Jiang *et al.*, 2014). Las señales nerviosas que se originan tanto en la quimioestesia como en la somestesia se transmiten al cerebro a través del quinto par de nervios craneales (Engelen & Van Der Bilt, 2008), mientras que las sensaciones gustativas se transmiten por los nervios timpánico y glossofaríngeo, que son el séptimo y noveno par de nervios craneales, respectivamente.

El gusto es parte del sentido del paladar, teniendo importancia en la vida y la evolución humana. En función de la aceptación o rechazo de los alimentos y de las concentraciones de ciertas sustancias es posible elegir y consumir, o no, ciertos alimentos. Así, se evita la ingestión de sustancias probablemente tóxicas (como los alcaloides extremadamente amargos) o rechazar alimentos con concentraciones inadecuadas de ingredientes.

El gusto dulce es una característica intrínseca de los alimentos ricos en azúcares, de los cuales proviene la energía esencial para el organismo; el gusto umami es característico de nucleótidos y aminoácidos; el gusto salado asegura el equilibrio electrolítico de nuestra dieta; y los gustos ácidos y amargos, según algunos autores (Chandrashekar *et al.*, 2006; Reed *et al.*, 2006; Herness & Gilbertson, 1999), pueden ser señales de alerta sobre la presencia de compuestos que pueden ser peligrosos para el organismo humano.

Los eventos iniciales de la percepción del gusto ocurren junto a los receptores sensoriales conocidos como células gustativas o células del gusto (*taste cells*). Las células gustativas están ubicadas en estructuras especializadas conocidas como botones gustativos, que tienen una forma redondeada (Figura 13.1c). Cada botón gustativo contiene entre 50 y 100 células gustativas, agrupadas en una estructura con un diámetro aproximado entre 20 y 40 μm y una longitud entre 40 y 60 μm . El sistema de clasificación actual reconoce la existencia de cuatro tipos de células gustativas. Solo las células de tipo I, II y III se consideran receptores

sensoriales del gusto y las de tipo IV se consideran células basales que no interactúan con los estímulos químicos disueltos en la saliva. Aunque las células gustativas difieren entre sí, existe una gran similitud entre los botones gustativos (Herness & Gilbertson, 1999). A su vez, los botones gustativos se pueden encontrar en las papilas fungiformes, foliadas y circunvaladas de la lengua, así como en el paladar blando y la epiglotis.

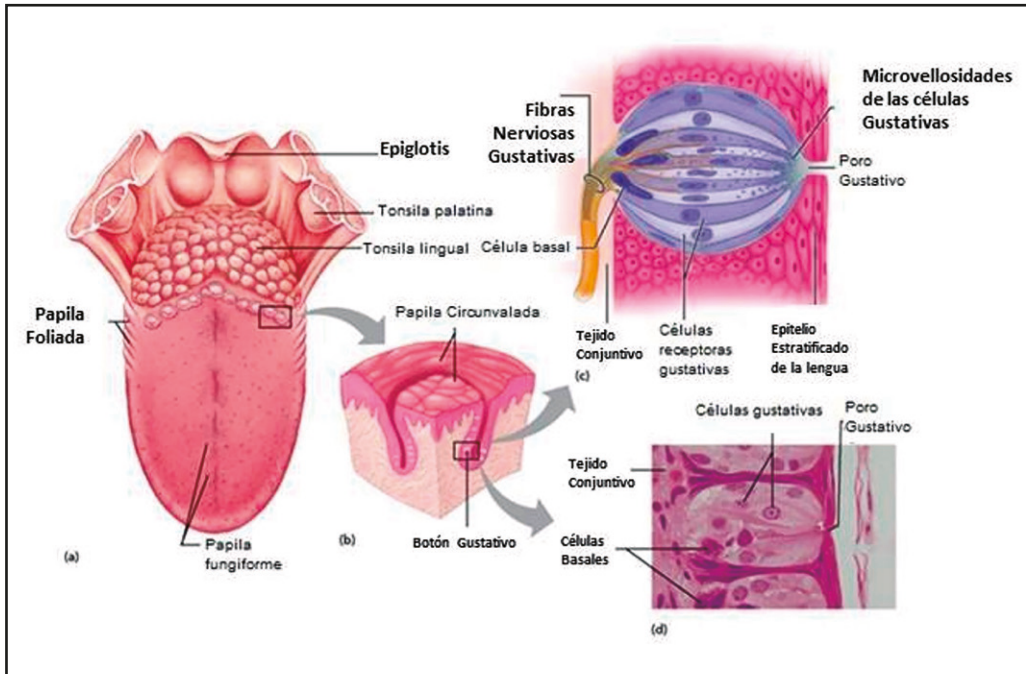


Figura 13.1 – Ubicación de las papilas y estructura de los botones gustativos en la lengua. (a) papilas fungiformes, foliadas y circunvaladas, que son proyecciones de la mucosa en la cual se encuentran los botones gustativos. (b) papila circunvalada seccionada mostrando la posición de los botones gustativos en sus paredes laterales. (c) detalle en mayor aumento de un botón gustativo que ilustra las células gustativas (receptores del gusto) y las células basales. (d) fotomicrografía de un botón gustativo.

Fuente: Marieb & Hoehn, 2009.

Según Herness & Gilbertson (1999), 2/3 de los botones gustativos se ubican en las papilas gustativas y 1/3 en el paladar blando y en la epiglotis. Las papilas filiformes, más numerosas en la lengua humana, no contienen botones gustativos (Chandrasher *et al.*, 2006; Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999; Guyton & Hall, 2015).

Un gran número de botones gustativos puede ser encontrado en las paredes de las depresiones o hendiduras que envuelven las papilas circunvaladas que forman una “V” en la parte posterior de la lengua (Figura 13.1a). Un número moderado de botones gustativos se encuentra en las papilas foliadas, localizadas en los pliegues, a lo largo de las superficies laterales de la parte posterior de la lengua. Finalmente, las papilas fungiformes, que tienen la forma de un hongo y se ubican en la parte delantera de la lengua, contienen pocos botones gustativos (Chandrasher *et al.*, 2006; Smith & Margolskee, 2001; Guyton & Hall, 2015).

Cada célula gustativa contiene proyecciones semejantes a pequeños dedos llamadas microvellosidades, que se proyectan hacia fuera del botón gustativo, a través de una abertura llamada poro gustativo, el cual tiene un diámetro entre 5 y 7 μ (Marieb & Hoehn, 2009).

El sabor influye en el factor hedónico en relación a un alimento de una manera extremadamente importante. Por tanto, es posible afirmar que la lengua es una estructura fundamental en la percepción sensorial de los alimentos, ya que contiene receptores gustativos (quimiorreceptores) y receptores de estímulos táctiles (quimio y mecanorreceptores), además de formar parte de la ruta por la cual los compuestos volátiles llegan a los receptores olfatorios por vía retronasal.

La lengua presenta estructuras altamente especializadas para transformar los estímulos químicos provenientes de los alimentos en respuestas sensoriales. Estas estructuras se denominan papilas gustativas, en las que se insertan todos los botones gustativos. Como se describió anteriormente, hay cuatro tipos de papilas gustativas: filiformes, fungiformes, circunvaladas y foliadas (Netter, 2015).

Las papilas filiformes están situadas en todas las regiones de la parte superior de la lengua. Este tipo de papilas es la única que no presenta botones gustativos, teniendo una función mecánica para mover los alimentos durante el consumo. Las papilas fungiformes son estructuras redondeadas y están presentes en la punta y en la región media de la lengua y contienen de ningún a cinco botones gustativos. Las papilas foliadas están presentes a los lados de la lengua y aparecen como surcos en posición vertical, semejante a los pliegues de las hojas. Las papilas circunvaladas (o en zanja) se encuentran en el área posterior de la lengua y son estructuras prominentes dispuestas en forma de V (Figura 13.1).

La percepción del gusto se inicia cuando por intermedio de la masticación son liberados compuestos químicos de los alimentos. Estos compuestos se disuelven en la saliva y entran en contacto con las células gustativas. De esta forma, compuestos químicos disueltos en la saliva, como sacarosa, caféina, etc., interactúan con receptores específicos localizados en las células gustativas. Tal

interacción desencadena una serie de procesos químicos y bioquímicos en la célula, los cuales, al final resultan en impulsos eléctricos que son conducidos hasta el cerebro vía red de neuronas.

Cada uno de los gustos básicos es generado a través de un mecanismo bioquímico específico (Chandrashekar *et al.*, 2006; Reed *et al.*, 2006; Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999; Guyton & Hall, 2015), de tal forma que mamíferos pueden reconocer y responder a un gran número de compuestos químicos como, por ejemplo, azúcares, sales, ácidos, aminoácidos y a una amplia variedad de sustancias amargas, que pueden ser tóxicas o no.

Es importante mencionar que durante mucho tiempo se difundió la idea de que la lengua se dividía en regiones en cuanto a la percepción del gusto (Tracy, 2018). Pruebas neurológicas fueron desarrolladas sobre la base de la falsa premisa de que los botones gustativos específicos para ciertos sabores se concentraban en determinadas regiones de la lengua. Sin embargo, los estudios demuestran que los botones gustativos con células gustativas que contienen los cinco tipos de receptores del gusto (dulce, salado, ácido, amargo y umami) se encuentran localizados aleatoriamente en el dorso de la lengua y en el paladar, y están presentes en menor cantidad en otras regiones (Smith & Margolskee, 2001).

Los neurotransmisores pueden ser considerados como “mediadores químicos” utilizados por las neuronas para comunicarse entre sí. Neuronas vecinas a la célula del gusto reciben el “mensaje” transmitido, a través de los neurotransmisores y lo transmiten al cerebro a través de una cadena de neuronas. Después de la liberación de los neurotransmisores, las células del gusto liberan K^+ a través de sus canales iónicos, retornando a su potencial inicial, próximo a -70mV (Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999).

La Figura 13.2 ilustra la morfología de una célula del gusto, mostrando, en mayores detalles, las microvellosidades, los canales iónicos por donde Na^+ , K^+ y Ca^{++} entran y salen de la célula, además de la región sináptica de la célula. Es en la región sináptica donde la célula del gusto libera sus neurotransmisores que van a estimular las fibras nerviosas vecinas.

La percepción del gusto salado se inicia cuando, durante la masticación, debido a la disociación del cloruro de sodio (NaCl) en la saliva, el ion sodio (Na^+) liberado entra en la célula del gusto, a través de los canales iónicos selectivos (para tamaño y carga del ion) presentes en las microvellosidades (Herness & Gilbertson, 1999) y en las paredes de la célula. Cuando la célula del gusto no está estimulada, la diferencia de potencial entre su interior y el exterior es aproximadamente igual a -70 mV . El acúmulo de Na^+ dentro de la célula causa

en ella una alteración electroquímica, lo que eleva esa diferencia hasta aproximadamente +40 mV, cuando ocurre lo que se conoce como despolarización de la membrana celular. La despolarización lleva a la entrada de Ca^{++} en la célula, lo que, a su vez, hace que esta libere neurotransmisores almacenados en sus vesículas (Figura 13.2d).

La percepción del gusto ácido es provocada por los iones H^+ liberados de los ácidos presentes en los alimentos durante la masticación. Esos iones interactúan con la célula del gusto a través de tres formas distintas: i) entrando directamente en la célula del gusto a través de los canales iónicos; ii) bloqueando los canales iónicos de K^+ situados en las microvellosidades e impidiendo la salida de ese ion; e iii) acoplándose y abriendo canales iónicos en las microvellosidades, lo que permite así la entrada de iones positivos dentro de la célula del gusto. Los tres mecanismos mencionados aumentan la carga positiva de la célula, provocando la despolarización, la liberación de neurotransmisores y la transmisión de las “señales” provocadas por el estímulo ácido hasta el cerebro (Figura 13.2e) (Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999).

El gusto dulce resulta de un mecanismo ligeramente diferente del anterior, dado que, las moléculas de azúcares y otros edulcorantes por tener tamaños muy grandes, no consiguen entrar en las células del gusto. Así, azúcares y edulcorantes artificiales disueltos en la saliva durante la masticación de los alimentos se acoplan a receptores específicos ubicados en las microvellosidades de las células del gusto (Figura 13.2c). Esos receptores están asociados a proteínas G y, cuando la molécula responsable por el gusto dulce se acopla al receptor, la subunidad α de la proteína G se disocia del complejo. Al hacerlo, activa una enzima dentro de la célula, que entonces transforma un precursor en un segundo mensajero que, a su vez, bloquea los canales de potasio, impidiendo la salida de ese ion de la célula del gusto. Esto aumenta la carga positiva de la célula, y la lleva a la despolarización, liberación de neurotransmisores y transmisión de las “señales” provocadas por el estímulo hasta el cerebro. El nombre proteína G se deriva del hecho de que la actividad de esas proteínas es regulada por la guanosina trifosfato (GTP). En 1992, un grupo de investigadores identificó proteínas G en sitios receptores de la célula del gusto y les atribuyeron el nombre de *Gustducin* (Smith & Margolskee, 2001; Herness & Gilbertson, 1999).

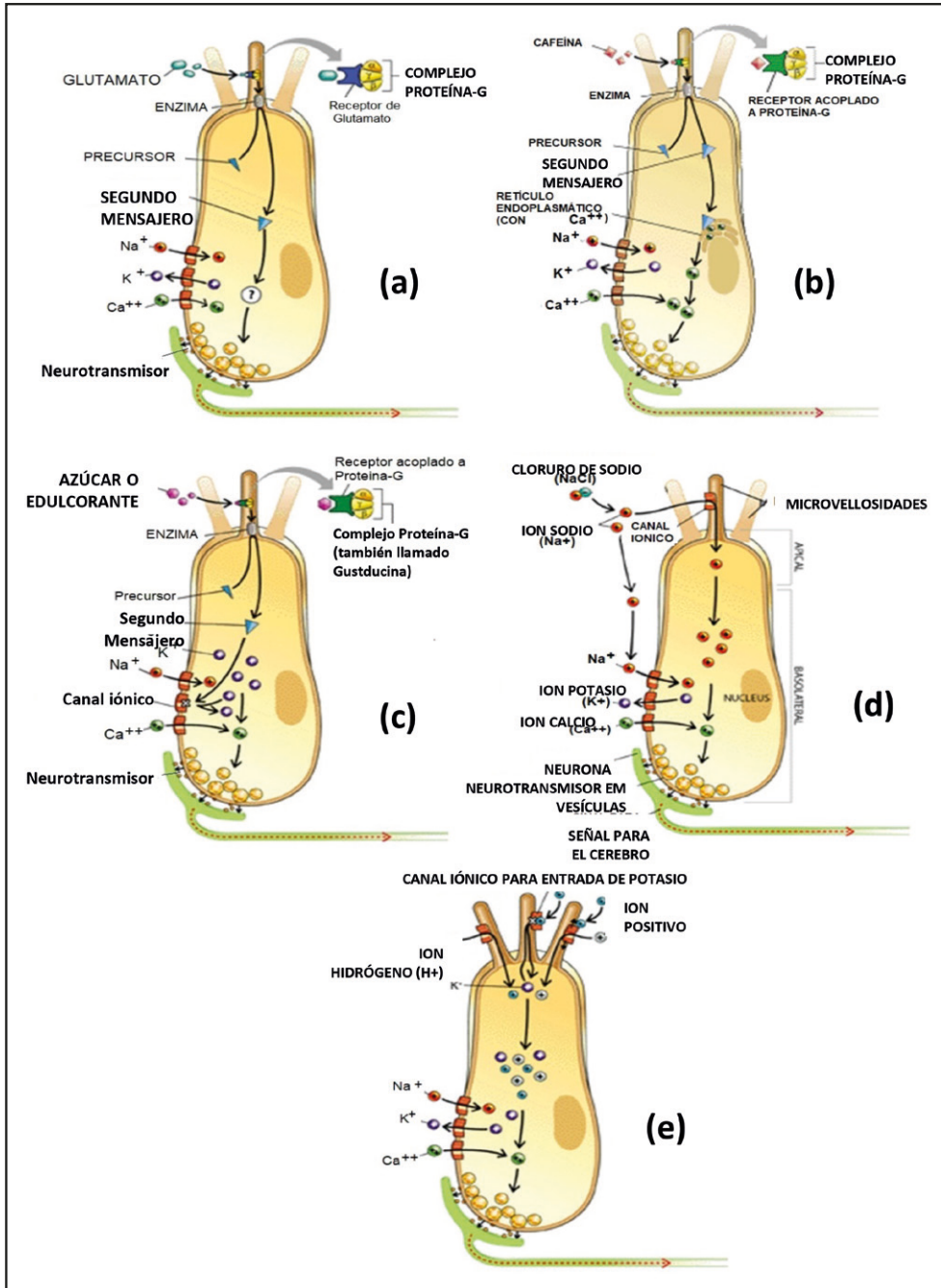


Figura 13.2 – Esquema ilustrativo de las células gustativas que muestran los receptores gustativos: (a) umami, (b) amargo, (c) dulce, (d) salado y (e) ácido presentes en los alimentos, disueltos en la saliva.

Fuente: Smith & Margolskee, 2001.

Mecanismo similar al ya descrito para el gusto dulce, ocurre para el gusto amargo. La diferencia es que cuando sustancias como la cafeína, quinina, etc., disueltas en la saliva interactúan con la proteína G del receptor de la célula del gusto, el segundo mensajero provoca la liberación de iones de calcio del retículo endoplásmico de la célula. Esto aumenta la carga positiva de la célula, llevando a la despolarización, la liberación de neurotransmisores y la transmisión de las señales provocadas por el estímulo ácido hasta el cerebro (Figura 13.2b).

Según Van den Oord & Van Wasenaar (1997), el gusto umami es una sensación inducida por L-glutamato (GMS) y ribonucleótidos monosódicos: inosina-5'-monofosfato (IMP) y guanosina-5'-monofosfato (GMP). Este gusto se describe como “agradable, sabroso” y las moléculas umami se utilizan como potenciadores del sabor de los alimentos.

Los estudios de Wang *et al.* (2015) muestran que los aminoácidos ácidos, así como algunos oligopéptidos que contienen residuos ácidos, también presentan el gusto umami. Cuando algunos aminoácidos como el glutamato, asociados al gusto umami, se acoplan a la proteína G de los receptores de la célula del gusto, se activa el segundo mensajero (Figura 13.2a). No obstante, aún no han sido totalmente esclarecidas las etapas intermedias que llevan a la liberación de los neurotransmisores.

En los mamíferos, la percepción de los gustos colabora de manera importante en la evaluación y consumo de nutrientes, evitando sustancias tóxicas y materiales no digeribles. Los diferentes tipos de células que expresan receptores únicos detectan cada uno de los cinco gustos básicos: salado, ácido, amargo, dulce y umami. Los tres últimos gustos mencionados son detectados por dos familias distintas de receptores acoplados a proteína G: T2Rs y T1Rs. Estos receptores gustativos se han encontrado en tejidos distintos de la lengua, como en el sistema digestivo, en el sistema respiratorio, en el cerebro, los testículos y los espermatozoides. Sin embargo, se desconocen las implicaciones funcionales de los receptores gustativos distribuidos por todo el cuerpo.

Las informaciones más recientes sobre el mecanismo de percepción del gusto umami fue reportada por Dang *et al.* (2019) quienes mencionan que existen interacciones sinérgicas entre péptidos que desencadenan la percepción del gusto umami y el GMS. Aún no hay aclaraciones sobre los mecanismos de interpretación de estas interacciones. Los autores concluyeron que hubo un efecto sinérgico y un consiguiente aumento de intensidad para 36 péptidos que presentaban gusto umami, en presencia de GMS, cuando entraban en contacto con el receptor del gusto T1R1/T1R3. Los autores utilizaron un nuevo modelo bivariado para

acoplamiento molecular y simulación cinética con T1R1/T1R3. Los resultados mostraron la misma tendencia cuando se realizaron en “lengua electrónica”. A través del análisis de un modelo de homología T1R1/T1R3 por *Discovery Studio* (DS, version 2.1), fue posible aclarar la relación entre la estructura y la intensidad de los péptidos umami y proporcionar una referencia teórica para las interacciones de los receptores gustativos y los alimentos con compuestos que presentan gusto umami (Dang *et al.*, 2019).

En la naturaleza son conocidas, hasta ahora, tres sustancias que evocan el gusto umami: glutamato monosódico (GMS), guanosina-5'-monofosfato (GMP) e inosina-5'-monofosfato (IMP) (Kurihara & Kashiwayanagi, 2000). En el ser humano, ocurre un gran sinergismo entre GMS e IMP o GMP. Por ejemplo, una solución que contiene 0,5 mmol/L de GMP o una solución que contiene 1,5 mmol/L de GMS, prácticamente, no poseen ningún gusto umami; sin embargo, al mezclar estas dos soluciones, se obtiene una solución con un fuerte gusto umami (Kuninaka, 1967; Kurihara & Kashiwayanagi, 2000).

Desde hace mucho tiempo, los científicos alternan opiniones entre dos teorías que explican la percepción de los diferentes gustos básicos: la del “código específico” (*specificity coding*, o *labeled line coding*) y la del “patrón de actividad entre neuronas” (*across-fiber patterning*). Según la teoría del “código específico”, existen fibras nerviosas o neuronas “sintonizadas” para responder a apenas una única clase de sustancias (edulcorantes, sales, ácidos, etc.) y, de esta forma, presentan actividad para solamente un tipo de gusto (dulce, salado, ácido, etc.). La segunda teoría, llamada “patrón de actividad neuronal”, que ha sido la más aceptada en las dos últimas décadas, propone que todas las neuronas responden a todas las sustancias que promueven gustos (azúcares, ácidos, etc.). Sin embargo, algunas neuronas responden más fuertemente a una cierta clase de sustancias, por ejemplo azúcares, y más débilmente a otras, por ejemplo, ácidos. Según esta teoría, cada sustancia genera un patrón de activación neuronal distinto, lo que le permite al cerebro diferenciar el gusto dulce asociado a diferentes sustancias, así como los diferentes tipos de gusto asociados a diferentes sustancias (Chandrasekhar, 2006; Reed *et al.*, 2006; Erickson, 2000; Smith & St. John, 1999; Herness & Gilbertson, 1999; Goldstein, 1999).

Una información falsa, pero infelizmente muy citada en libros textos, se refiere al “mapa de la lengua”, que propone la existencia de regiones en la lengua que presentan grandes diferencias entre sí, en relación a la sensibilidad a los gustos básicos. Hace mucho tiempo que los científicos saben que ese concepto está errado. Pese a que algunos experimentos hayan demostrado ligeras diferen-

cias de sensibilidad en toda la superficie de la lengua, especialmente en roedores, ninguno demostró las grandes diferencias de sensibilidad propuestas por el “mapa de la lengua”. De hecho, los cinco gustos básicos pueden ser percibidos en todas las regiones de la lengua que poseen botones gustativos, inclusive en el paladar blando (Chandrashekar *et al.*, 2006; Reed *et al.*, 2006; Smith & Margolskee, 2001). Esto significa que un individuo al realizar un análisis sensorial o incluso degustar un alimento, debe permitir que el mismo entre en contacto con toda la superficie bucal para permitir una experiencia más amplia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTM. “E253-19 Standard terminology relating to sensory evaluation of materials and products”. West Conshohocken, 2019.
- CHANDRASHEKAR, J. *et al.* “The receptors and cells for mammalian taste”. *Nature*. 444(16): 288-94, 2006.
- DA SILVA, M. A. A. P. & COSTA, F. “Sensory: Human biology and physiology”. In: NOLLET, L. M. L. *Handbook of meat poultry and seafood quality*. Oxford, Blackwell Publishing, 2007, p. 45-59.
- DANG, Y. *et al.* “Molecular docking and simulation of the synergistic effect between umami peptides, monosodium glutamate and taste receptor T1R1/T1R3”. *Food Chemistry*. 271: 697–706, 2019.
- ENGELEN, L. & VAN DER BILT, A. “Oral physiology and texture perception of semisolids”. *Journal of Texture Studies*. 39: 83-113, 2008.
- ERICKSON, R. P. “The evolution of neural coding ideas in the chemical senses”. *Physiol Behav*. 69(1-2): 3-13, 2000.
- GOLDSTEIN E. B. *Sensation and perception*. Belmont, Wadsworth Publishing Company, 1989, p. 496-525.
- GUYTON, A. & HALL, J. *Tratado de fisiología médica*. Tradução da 13. ed. Rio de Janeiro, Elsevier Editora Ltda, 2015, p. 1264.
- HERNESS, M. S. & GILBERTSON, T. A. “Cellular mechanisms of taste transduction”. *Annu Rev Physiol*. 61: 873-900, 1999.
- JIANG, Y.; GONG, N. N. & MATSUNAMI, H. “Astringency: a more stringent definition”. *Chem. Senses*. 39(6): 467-469, 2014.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H. & JESSELL, T. M. "Smell and taste: The chemical senses". *Principles of neural science*. New York, McGraw-Hill, 2000, pp. 625-647.

KURIHARA, K. & KASHIWAYANAGI, M. "Physiological studies on umami taste". *J Nutrit*. 130(Supl4S): 931-934, 2000.

KUNINAKA, A. "A flavor potentiator". In: SCHULTS, H. W.; DAY, E. A. & LIBBEY, L. M. *The chemistry and physiology of flavors*. Westport, AVI Publication, 1967, pp. 517-535.

LAWLESS, H. & HEYMANN, H. *Sensory evaluation of food: principles and practices*. New York, Springer, 1999, p. 596.

MARIEB, E. & HOEHN, K. *Anatomia e fisiologia*. 3. ed. Porto Alegre, Artmed, 2009, p. 1072.

NELSON, D. L. & COX, M. M. "Biosignaling". In: LEHNINGER, A. L. *Principles of biochemistry*. 3. ed. New York, Worth Publishers, 2000, pp. 437-483.

NETTER, F. *Atlas de fisiologia humana*. 6. ed. Rio de Janeiro, Elsevier Editora Ltda., 2015, p. 564.

REED, D. R.; TANAKA, T. & MCDANIEL, A. H. "Diverse tastes: genetics of sweet and bitter perception". *Physiol Behav*. 88(3): 215-226, 2006.

SCHWARTZ, C. *et al.* "Behavioral and physiological determinants of food choice and consumption at sensitive periods of the life span, a focus on infants and elderly". *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 46: 91-106, 2018.

SMITH, D. V. & ST JOHN, S. J. "Neural coding of gustatory information". *Curr Opin Neurobiol*. 9(4): 427-435, 1999.

SMITH, D. V. & MARGOLSKEE, R. F. "Making sense of taste". *Science American*. 284(3): 32-39, 2001.

THIBODEAU, G. A. & PATTON, K. T. *Structure and function of the body*. 14. ed. St Louis, Elsevier Mosby, 2012.

TRACY, S. E. "Delicious molecules: big food science, the chemosenses, and umami". *The Senses and Society*. 13(1): 89-107, 2018.

VAN DEN OORD, A. H. A. & VAN WASSENAAR, P. D. “Umami peptides: assessment of their alleged taste properties”. *Lebensm Unters Forsch.* 205: 125-130, 1997.

WANG, L. *et al.* “Enhancement of umami taste of hydrolyzed protein from wheat gluten by β -cyclodextrin”. *Journal of Science and Food Agriculture.* 96: 4499-4504, 2015.

ASPECTOS SENSORIALES DEL UMAMI

*Elba Sangronis
Helena Maria Andre Bolini*

1. INTRODUCCIÓN

Los factores que influyen en la elección de los alimentos en el ser humano son innumerables, siendo el gusto uno de los determinantes para desencadenar la compleja sensación de placer (factor hedónico) durante su consumo.

Los aspectos psicológicos, sociales, económicos y sensoriales juegan un factor decisivo en la elección de los alimentos (Bellisle, 2009).

Los autores informan que la elección de un alimento en detrimento de otro está estrechamente relacionada a las características sensoriales (Mela, 2001).

El conocimiento de dichos determinantes del consumo de alimentos es una herramienta importante para la prevención y el cambio de conductas de riesgo, así como para orientar las elecciones y hábitos alimentarios saludables (Bellisle, 2009; Kessler *et al.*, 2019).

La lengua de los mamíferos contiene receptores gustativos para cada uno de los cinco gustos básicos, impulsando direcciones hedónicas que se formaron durante la evolución humana para informar lo que se debe o no se debe comer (Chikazoe *et al.*, 2019).

Las preferencias y aversiones alimentarias, desarrolladas durante la infancia y la adolescencia, están determinadas por las características sensoriales de los alimentos (Sclafani, 2004) y están relacionadas con las elecciones alimentarias a lo largo de la vida (Bellisle, 2009; Mikkilä *et al.*, 2004, Bauer & Reisch, 2019).

El análisis sensorial se aplica a nivel mundial en estudios para obtener información sobre la percepción y el comportamiento humanos. Además, como instrumento de medición de la sensibilidad gustativa para analizar el comportamiento alimentario en diversos estados fisiológicos y patológicos. Se pueden citar estudios realizados con la enfermedad celíaca (Alencar *et al.*, 2012), con fumadores y no fumadores (Voorpostel *et al.*, 2014), con diabéticos (Mello *et al.*, 2010) y deportistas antes y después del ejercicio físico (Steinle *et al.*, 2005).

En la percepción de los alimentos intervienen los cinco sentidos, y la degustación tiene una importancia decisiva en la elección y aceptación de los alimentos, siendo, por tanto, fundamental para el mantenimiento del equilibrio del organismo sano.

El ácido glutámico y los 5' ribonucleótidos, específicamente inosina-5'-monofosfato o inosinato (IMP) y guanosa-5'-monofosfato o guanilato (GMP), están presentes naturalmente o son adicionados a los alimentos en la forma de sales, glutamato monosódico (GMS), inosinato e guanilato disódico (IMP y GMP, respectivamente), acentuando su sabor e interviniendo de manera muy importante en su palatabilidad.

Esta percepción diferente, existente en la presencia de los compuestos citados, fue descrita por el Dr. K. Ikeda en 1908 y lo denominó umami, un término japonés cuya traducción más cercana es "sabroso". Por esta razón, umami es una palabra utilizada internacionalmente para referirse al gusto de los compuestos GMS, IMP y GMP.

Por su origen, dicho término es único y se asocia a un sabor oriental que les resulta muy familiar a los integrantes de dicha cultura. El Dr. Ikeda lo calificó como una percepción difícil de describir con una palabra.

Tanto los investigadores del mundo oriental como del occidental han estudiado intensamente el umami y, a comienzos del año 2000, se determinó la presencia del primer receptor específico para el GMS y sustancias similares, localizado en los botones gustativos. El descubrimiento representó la prueba definitiva de que el umami es el quinto gusto básico, además de salado, ácido, dulce y amargo. Dicho descubrimiento ha revolucionado el mundo científico y también la industria de alimentos, la gastronomía y la enología. Hoy en día esa

palabra japonesa se encuentra ya en boca de la comunidad científica de todos los países. Sin embargo, siguen las investigaciones para tratar de explicar otros aspectos en relación al umami.

2. ASPECTOS SENSORIALES DEL UMAMI

Al comentar los aspectos sensoriales relacionados al umami, es necesario hablar sobre el sentido del gusto y sus receptores, sobre los umbrales de percepción de las sustancias que lo estimulan y sobre cómo estos pueden cambiar por la presencia de otros constituyentes en los alimentos como la sal, las proteínas y la grasa (Maga, 1987). También es interesante comentar el efecto sinérgico observado en numerosos estudios que indican la efectividad de la adición de GMS, conjuntamente con el IMP y el GMP.

El umami, como concepto, es relativamente nuevo en el mundo occidental, pero la propiedad que imparte a los alimentos existe desde tiempos antiguos, y se manifiesta en el uso de caldos-base de la cocina europea, de salsas, en lo delicioso de una pizza italiana, en los caldos japoneses o en la salsa de ostras, entre otros innumerables ejemplos.

Los occidentales se han conformado con describir esa sensación como sabrosa, plena de sensaciones bucales, o simplemente como un realizador de sabores

El glutamato fue la primera sustancia aislada del alga marina *kombu* (*Laminaria japonica*), responsable del umami y que luego se produjo comercialmente como un sazonador de comidas para hacerlas más apetecibles y sabrosas, además torna la sensación bucal del alimento más armónica y completa.

Más tarde, en 1913, el Dr. Kodama (Kodama, 1913) determinó que en el pescado bonito también había otras sustancias responsables del umami, ellas eran: la inosina-5'-monofosfato (IMP) y luego se determinó esa propiedad para otra sustancia, la guanosina-5'-monofosfato (GMP). Además, cuando el GMS y los 5'-ribonucleótidos se combinan se logran efectos potenciados en el gusto umami.

El hecho de que una sustancia o una mezcla de sustancias al ser adicionada a un alimento, modifique sus características sensoriales a través de una alteración en la percepción por los sentidos, ha sido objeto de muchas investigaciones científicas. En ese sentido, se ha estudiado la calidad de una percepción sensorial y su duración en el tiempo. Así, Yamaguchi & Kobori (1993) demostraron que la percepción del gusto umami, en presencia de GMS e IMP, es prolongada por más tiempo después de ingerir los alimentos que las contienen, incluso cuando dichas sustancias estén presentes en concentraciones muy bajas.

El gusto residual puede ser parte del placer de ingerir algún alimento. Las evidencias prueban que el umami es un generador del sabor residual, por lo que, no cabe duda de que tanto el GMS con los 5'-ribonucleótidos participan en el disfrute completo de una comida placentera (Maga, 1987).

La sensibilidad a las sustancias químicas que estimulan a los receptores del gusto está determinada por factores genéticos y por la exposición de los individuos a las sustancias existentes en la dieta diaria. Por esta razón, la participación de los padres en la introducción de una amplia variedad de alimentos y experiencias de alimentación rica y saludable es relevante para permitir la exposición y, en consecuencia, generar aceptación para el consumo de dietas saludables (Schwartz, 2018).

Kobayashi & Kennedy (2002) informaron que los japoneses deberían ser capaces de detectar la presencia de GMS más fácilmente, que un grupo de americanos e/o europeos expuestos al GMS en la dieta, en comparación con otro grupo que no estaba expuesto al estímulo. Tal información parece ser consistente ya que existe un mecanismo asociado a la habilidad de identificar el gusto umami como resultado de la exposición de ese compuesto en la dieta, incluso en periodos muy cortos de exposición y a bajas concentraciones de GMS. Ello explica que individuos orientales sean capaces de detectar umami en concentraciones muy bajas. Sin embargo, el mecanismo para explicar este hecho no se ha aclarado completamente. Por tanto, se deduce que se necesitan más estudios en áreas integradas como fisiología, biología molecular y ciencias sensoriales para dilucidar estos mecanismos y obtener esas respuestas.

Existen diferencias de sensibilidad entre individuos ante el GMS y los 5'-ribonucleótidos. Lugaz *et al.* (2002) determinaron una ageusia, es decir una ausencia de percepción al L-glutamato en un grupo de individuos. Por razones genéticas, una persona puede percibir o no el gusto. Fue observada una sensación duradera después del consumo de los alimentos que contienen glutamato, lo que corroboró estudios previos (Maga, 1987).

En 1985, en el Primer Simposio Sobre el Umami (Ninomiya, 2002) fue relatado que para que un gusto se considere básico debe cumplir con ciertas características. Debe ser claramente diferenciado de otros que ya se conocen, la calidad de ese gusto debe ser universal en todos los alimentos y debe ser verificable por la neurofisiología como un gusto diferente a los ya existentes. Respecto al umami se ha probado que cumple con estas premisas por lo que se considera un gusto básico independiente. Al respecto, se ha estudiado el comportamiento y la electrofisiología en animales de experimentación. Ya se sabe que hay un

receptor proteico específico para el glutamato en los botones gustativos, indicando que existe un mecanismo de percepción independiente (Chaudhari *et al.*, 1996; Chaudhari *et al.*, 2000; Lindeman, 2001).

3. DIFERENCIAS ENTRE GUSTO Y SABOR

Antes de que el umami se reconociera como un gusto básico, se utilizaron muchos términos para describir la percepción. Se decía que el GMS aumentaba la amplitud o que la sensación bucal era más armónica y que era un potenciador: todos los términos usados eran una expresión relacionada con el sabor, pero no como un gusto básico.

Otros investigadores opinaron que el umami era la combinación de los otros gustos básicos, pero luego se demostró que estaba fuera del tetraedro formado por los gustos dulce, amargo, ácido y salado (Yamaguchi, 1987). Hasta entonces, no se había demostrado la existencia de un mecanismo separado en la recepción del estímulo en estructuras celulares presentes en los botones gustativos, y el umami no había sido calificado ni como un gusto ni como un sabor (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). Sin embargo, en muchos textos se encuentran indistintamente citaciones del umami como quinto sabor básico o como quinto gusto básico. Lo correcto es la segunda definición. Para entender mejor esta afirmación, es necesario recordar aspectos básicos de anatomía y fisiología de los sentidos químicos, los cuales se describen a continuación.

4. PERCEPCIÓN DEL SABOR

El sabor influye aproximadamente en el 75% del factor hedónico de un alimento. Como el sabor es el resultado de la percepción simultánea del gusto, el aroma y los estímulos táctiles, es posible afirmar que la lengua es una estructura fundamental en la percepción sensorial de los alimentos, ya que contiene receptores gustativos (quimiorreceptores) y de estímulos táctiles (quimio y mecanorreceptores) además de ser parte de la estructura que sirve de paso para que los compuestos volátiles de los alimentos lleguen a los receptores olfativos por vía retronasal.

La lengua está situada entre las arcadas gingivodentarias, debajo de la región palatina, encima del piso bucal de la región infrahioidea y se inserta en el hueso hioides, en la mandíbula, en el paladar y en la apófisis estiloides. Mediante numerosos músculos; tiene una gran movilidad, lo que le permite intervenir en la masticación, la deglución y la fonación (Rouviere, 1999, Netter, 2014).

La lengua es irregularmente ovalada, con simetría bilateral, gruesa en su extremidad posterior y aplanada en su cara superior e inferior. Su cara dorsal, sus bordes, su vértice y la parte anterior de su cara inferior están revestidos por un epitelio estratificado que contiene unas proyecciones denominadas papilas gustativas.

Existen cuatro tipos de papilas gustativas: filiformes, fungiformes, circunvaladas y foliadas (Netter, 2014).

Las papilas denominadas filiformes están situadas en todas las regiones de la parte superior de la lengua. Este tipo de papila es la única que no tiene botones gustativos, teniendo una función mecánica para mover los alimentos durante el consumo.

Las papilas fungiformes son estructuras redondeadas y están en la punta y región media de la lengua y presentan desde ningún hasta cinco botones gustativos.

Las papilas foliadas están presentes a los lados de la lengua y aparecen en forma de surcos situados verticalmente como pliegues en las hojas.

Las papilas circunvaladas se localizan en la zona posterior de la lengua y son estructuras sobresalientes dispuestas en forma de “V”. Las papilas contienen los botones gustativos, estructuras responsables por la percepción del gusto, que están inervados por cerca de 50 fibras nerviosas (Guyton & Hall, 2014).

El número de botones gustativos por papila es variable. En las papilas fungiformes, pueden existir hasta 5 botones, casi siempre localizados en la parte superior de la misma. Las papilas circunvaladas, que son más grandes, pueden contener hasta 100 botones gustativos. Las pequeñas papilas filiformes cónicas que cubren el dorso de la lengua, por lo general, no contienen botones gustativos. Se estima la existencia de un total aproximado de 10000 botones gustativos (Rouviere, 1999; Marieb & Hoehn, 2009).

Cada botón gustativo está formado hasta por 4 tipos de células: células basales; células tipo 1 y 2, que sirven de sostén; y células tipo 3, que son las células receptoras gustativas que establecen las conexiones sinápticas con las fibras nerviosas sensoriales. Las células tipo 3 tienen microvellosidades que se proyectan en el poro gustativo. Esta es una abertura que permite el contacto directo de las microvellosidades con la saliva, y por lo tanto con los elementos químicos de los alimentos. Los bordes de las células sustentaculares y de las células gustativas están conectados entre sí y con las células epiteliales circundantes mediante uniones cerradas. Consecuentemente, la única parte de las células receptoras gustativas que se expone a los líquidos de la cavidad bucal son sus microvellosidades.

Las células receptoras del gusto, denominadas TRCs (sigla en inglés para *Taste receptor cells*), se encargan de detectar las sustancias químicas de los alimentos y envían estas informaciones sensoriales al cerebro a través de la activación de sinapsis específica en las fibras nerviosas del gusto (Bigiani, 2005). Sin embargo, para que se produzca esa sensación gustativa es necesario que dichas sustancias se disuelvan en la saliva y se pongan en contacto con las microvellosidades de las células gustativas presentes en los botones gustativos. Las sensaciones del gusto se agrupan en cinco categorías generales, denominadas sensaciones primarias del gusto. Estas son: salado, ácido, dulce, amargo y umami. Los cinco gustos se sienten en toda la lengua. También hay sensibilidad a los cinco gustos básicos en la faringe, el paladar y la epiglotis, debido a la presencia de TRCs en estas áreas (Bigiani, 2005).

Es un consenso general que la composición de la saliva puede influir en las sensaciones del gusto. Aún se conoce poco sobre la manera como los constituyentes orgánicos e inorgánicos de la saliva interactúan con los cinco gustos básicos. Se ha determinado que la concentración de sodio en la saliva altera la respuesta a una solución salina y también puede alterar la respuesta placentera producida por la presencia de GMS (Scinska- Bienkowska *et al.*, 2006).

Resumiendo: el gusto es la percepción sensorial que se origina a partir de la presencia de sustancias químicas disueltas en la saliva, las cuales entran en contacto con receptores químicos o canales iónicos, específicos para cada uno de los cinco gustos (ubicados en las células gustativas que forman los botones gustativos) presentes en la lengua, provocando la liberación del mediador químico (acetilcolina) en la hendidura sináptica, despolarizando la membrana neuronal y llevando la señal electroquímica hasta al área cerebral de la decodificación del gusto, transformándolo en la sensación gustativa.

Ya el sabor es una respuesta compleja provocada por la percepción resultante de la asociación de tres sensaciones simultáneas: 1) gusto resultante de la estimulación de los receptores gustativos por parte de los compuestos químicos presentes en el alimento, disueltos en la saliva; 2) olfato resultante de la estimulación de las células olfativas por los compuestos volátiles presentes en los alimentos, por vía retronasal; y 3) sensaciones táctiles de origen químico (quimioestesia) que estimulan directamente los receptores del dolor, el tacto y los receptores térmicos de la piel o de las mucosas – en este caso, oral, nasal y ocular. Por ejemplo: el frío provocado por el mentolado o el ardor de la capsaicina; y/o sensaciones táctiles de naturaleza mecánica (somestesia) que estimulan los receptores sensoriales durante el movimiento de dos músculos de la lengua y

la cara en función de la posición y movimiento originados por la textura de los alimentos, como viscosidad y suavidad (ASTM, 2018).

Muchos alimentos contienen compuestos fenólicos que causan la percepción de astringencia y pueden estar presentes en las preparaciones de GMS. Por esta razón, es importante tener en cuenta que la astringencia puede considerarse el resultado tanto de la quimioestesia como de la somestesia. Quimioestesia por el fenómeno de complejación y precipitación de los compuestos fenólicos en contacto con las proteínas ricas en prolina presentes en la saliva (Jiang *et al.*, 2014), y la somestesia, por la estimulación de los receptores táctiles, por los precipitados formados, así como por la aspereza provocada por la reducción del agua de la saliva.

Las señales nerviosas que se originan tanto en la quimioestesia como en la somestesia se transmiten al cerebro a través del quinto par de nervios craneales, llamado trigémino (Engelen & van der Bilt, 2008), mientras que las sensaciones gustativas se transmiten por los nervios timpánico y glossofaríngeo, que constituyen el séptimo y noveno par de nervios craneales, respectivamente.

5. RECEPTORES DEL GUSTO UMAMI

En estudios recientes, utilizando técnicas de clonaje molecular, fueron identificados los receptores para el glutamato. Incluyen dos tipos pertenecientes a la familia de receptores acoplados a la proteína G, denominados GPCR (sigla en inglés para *G protein-coupled receptors*): “gusto-mGluR4” y los “heterómeros T1R1/T1R3” (Bigiani, 2005; Temussi, 2009).

Los receptores de glutamato se clasifican principalmente en dos grupos: receptores ionotrópicos y metabotrópicos. En el primero, la unión del glutamato y su receptor resulta en un cambio conformacional que permite el paso de los cationes de calcio y sodio a través de un poro. Los receptores metabotrópicos, por otro lado, no son permeables a los iones y se acoplan a segundos mensajeros intracelulares por medio de la proteína G. A continuación se presenta una breve descripción de los receptores que intervienen en la percepción del umami.

5.1. Receptores Gustativos-mGluR4

Antes de la aplicación de los métodos moleculares, estudios electrofisiológicos y de conducción sugirieron que los receptores para el glutamato podían estar relacionados, de alguna manera, con los receptores del glutamato presentes en el cerebro. Las investigaciones en tejidos linguales de ratas permitieron

determinar la presencia de receptores de glutamato denominados mGluR4 y que responden a la presencia de GMS y de los 5'-ribonucleótidos. Este descubrimiento representó la prueba definitiva para el mundo occidental de que existe el gusto básico para el umami (Chaudhari *et al.*, 1996; Chaudhari *et al.*, 2000; Lindeman, 2001).

Además, se determinó que varios receptores ionotrópicos de glutamato, como los iGluR4 (receptores sinápticos del umami localizados en la membrana de las células receptoras gustativas) y los receptores metabotrópicos (GPCRs), se encuentran presentes en los tejidos de la lengua en ratas. Los receptores metabotrópicos son receptores acoplados a la proteína G, cuya función es modular la producción de segundos mensajeros intracelulares, es decir, que promueven la mediación en efectos lentos del glutamato.

A diferencia de los receptores ionotrópicos, la unión del glutamato a los receptores metabotrópicos no activa la apertura de un canal intrínseco, sino que regula la transmisión sináptica y la excitabilidad neuronal a través de la activación o inhibición de varios sistemas efectores acoplados a la proteína G.

Estudios revelan que existen, al menos, 8 subtipos de receptores metabotrópicos de glutamato, y estos, a su vez, han sido clasificados en tres grupos distintos, basado en su homología de secuencia, farmacología y acoplamiento a mecanismos de señalización intracelular. El primer grupo está integrado por el subtipo mGluR1 y mGluR5, el cual activa a una fosfolipasa C, mientras que los miembros del segundo (mGluR2 y mGluR3) y los del tercer grupo (mGluR4, mGluR7 y mGluR8) están acoplados negativamente a la adenilciclasa (GMPC); el receptor mGluR6 está acoplado a la activación de GMPC fosfodiesterasa.

Los receptores mGluR1 están localizados, principalmente en la región post sináptica y en los límites de las densidades postsinápticas, desde donde regulan la actividad de los receptores de NMDA (N-metil-D-aspartato) y AMPA (ácido- α -amino-3-hidroxi-5-metil-isoxasol-4-propiónico) y la excitabilidad de la neurona postsináptica. Los mGluR2 y mGluR3 están localizados pre- y post-sinápticamente. Ya los mGluR3 se encuentran también en las células gliales. El tercer grupo está ubicado en las células ON bipolares, funcionando como autorreceptores presinápticos.

Sin embargo, se ha demostrado que solo un receptor metabotrópico de glutamato, mGluR4, se expresa en las células receptoras de las papilas foliadas y circunvaladas. Es importante destacar que en el cerebro, el mGluR4 tiene sensibilidad para el L-glutamato que es más compatible con un receptor neurotransmisor, como un receptor de umami.

A través del clonaje del mGluR4 de tejidos del paladar, se ha podido conocer la diferencia sustancial que existe entre el receptor mGluR4 ubicado en el cerebro y los mGluR4 localizados en las papilas, que son denominados mGluR4 gustativos para diferenciarlos (Bigiani, 2005). Conforme descrito anteriormente, investigaciones preliminares en ratas mostraron que el receptor gustativo mGluR4 se encuentra en las terminaciones apicales de las TRCs, en las papilas foliadas y circunvaladas. Observaciones inmunocitoquímicas confirmaron que, en los botones gustativos de las ratas, el mGluR4 gustativo está localizado exclusivamente en el poro gustativo, es decir, donde se encuentra la membrana de TRCs, lo que apoya la hipótesis de que el mGluR4 gustativo actúa como un receptor de umami.

Los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) tipo I y II también causan sensación en los seres humanos (Bigiani, 2005).

5.2. Receptores T1R1/T1R3

Estudios moleculares evidencian la presencia de otro tipo de receptores, involucrados en la detección del umami. Son receptores de aminoácidos pertenecientes a la familia de los T1Rs de los G que constituyen un pequeño grupo de GPCRs (*G-protein-coupled receptors*) (Zhao *et al.*, 2003).

Los T1Rs definen dos poblaciones de células del gusto en la lengua y paladar formadas por los subgrupos T1R1, T1R2 y T1R3 que se combinan para generar los heterómeros denominados T1R1/T1R3 y T1R2/T1R3 (también llamados T1R1+3 y T1R2+3) que constituyen los receptores de los gustos umami y dulce, respectivamente.

Los receptores T1R1/T1R3 interactúan con los componentes químicos presentes en los alimentos e inician transmisiones en cascada que culminan en una liberación de neurotransmisores. Fibras nerviosas aferentes de los ganglios de los nervios craneales posteriormente transmiten esas señales a través del tálamo a los centros corticales del gusto donde se procesa e integra la información. Solamente la combinación de T1R1 con T1R3 funciona como un L-amino receptor y no las unidades por separado (Adler *et al.*, 2000).

Estudios realizados por Raliou *et al.* (2009), mostraron que las subunidades T1R1 y T1R3 tienen la función de controlar la mayoría de las respuestas fisiológicas y de comportamiento al L-glutamato. A diferencia del mGluR1, los T1R1/T1R3 son consistentemente detectados en las papilas gustativas fungiformes y sus correspondientes proteínas están localizadas en los botones gustativos (Figuras 14.1 y 14.2).

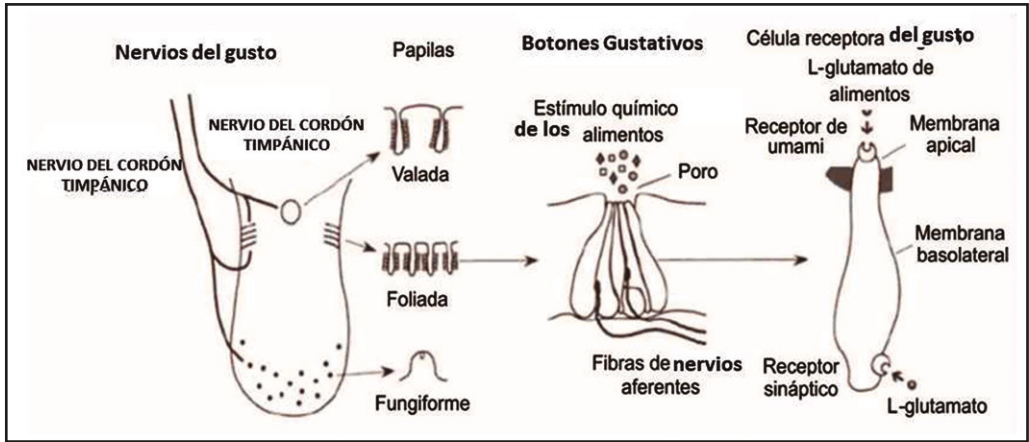


Figura 14.1 – Ubicación y estimulación de los receptores de L-glutamato T1R1/T1R3.

Fuente: Bigiani, 2005.



Figura 14.2 – Localización de heterólogos.

Fuente: Bigiani, 2005.

Las subunidades (T1R1 y T1R3) son activadas selectivamente por el glutamato y estos estímulos son potenciados, pero, no son activados directamente por los 5'-ribonucleótidos (Raliou *et al.*, 2009). Según Zucker (1999), los aminoácidos son las unidades más obvias para la fabricación de proteínas, compuestos de

gran valor metabólico en los seres humanos y, además de precursores biosintéticos de un gran número de moléculas vitales en la bioquímica del organismo, son también combustibles metabólicos para nuestro cuerpo. Por estos motivos, existen receptores para aminoácidos, que responden a sustancias químicas que hacen que los alimentos sean más sabrosos y, por tanto, de mayor aceptación, probablemente por razones evolutivas en los seres humanos.

6. RESPUESTA DEL SENTIDO DEL GUSTO

El gusto salado responde a la presencia de iones de sodio y de otras sales ionizadas. Sin embargo, el cloruro de sodio es específico para este gusto (Smith & Margolskee, 2006). Existen canales iónicos selectivos en relación al tamaño y carga que permiten la entrada específica del ion sodio, liberado en la disociación del cloruro de sodio.

El gusto ácido es estimulado por iones de hidrógeno liberados por la disociación de ácidos orgánicos e inorgánicos. Al igual que para desencadenar la percepción del gusto salado, para el gusto ácido existen canales iónicos selectivos que permiten la entrada específica del ion hidrógeno.

El gusto dulce es producido por diversas sustancias orgánicas como glucosa y otros azúcares, alcoholes, aldehídos, cetonas, amidas, ésteres, aminoácidos, algunas proteínas pequeñas, ácidos sulfónicos, ácidos halogenados, y sales inorgánicas de plomo y berilio. La mayor parte de estas sustancias es compuesto orgánico. Sin embargo, es importante mencionar que compuestos de diferentes clases químicas desencadenan la percepción del gusto dulce intenso, como aspartamo, sucralosa, estévia (especialmente rebaudiósido A), ciclamato, sacarina, neotame y otros.

La estimulación del gusto amargo la realizan aquellos compuestos nitrogenados y compuestos alcaloides, generalmente asociados a sustancias tóxicas, plantas venenosas y fármacos. Cuando un alimento es demasiado amargo puede provocar rechazo e incluso vómito como mecanismo de defensa del organismo.

El gusto umami es producido por la presencia del GMS y los 5'-ribonucleótidos. Llama la atención que algunos aminoácidos son dulces y agradables, otros son amargos y desagradables, y algunos provocan una respuesta al umami en el ser humano. Estas observaciones indican que los diferentes aminoácidos pueden interactuar con diversos receptores del sentido del gusto (Zucker, 1999).

Una vez que la sustancia química se disuelve en la saliva y se pone en contacto con las células receptoras presentes en las papilas gustativas, ocurren una

serie de eventos bioquímicos los cuales son señales electroquímicas enviadas al cerebro, que son específicas para cada uno de los gustos. Una vez que la señal llega al cerebro este la juzga e interpreta usando la información que ha almacenado, incluyendo recuerdos de sensaciones anteriores, y se desencadena una reacción ante el estímulo recibido. La frecuencia con que se repiten los impulsos indica la intensidad del gusto (Roper, 1989).

6.1. Vías cerebrales

Los impulsos que provienen de los dos tercios anteriores de la lengua (generados en las papilas fungiformes) se transmiten por estimulación del quinto par de nervios craneales, llamado cordón timpánico (*Chorda tympany*). Las papilas circunvaladas y foliadas, por otro lado, transmiten señales a través del noveno par de nervios craneales, llamado glosofaríngeo (Bartoshuk *et al.*, 1998; Roper, 2013; Yarmolinsky *et al.*, 2009).

Algunas señales gustativas se transmiten al tracto solitario desde la base de la lengua y otras partes de la región faríngea a través del nervio vago. Todas las células gustativas hacen sinapsis en los núcleos del tracto solitario y envían la información a neuronas de segundo orden en un área pequeña del núcleo ventroposteromedial del tálamo; desde allí, parten para neuronas de tercer orden hasta el extremo inferior de la circunvolución postcentral en la corteza cerebral, donde se curvan profundamente en la *sulcus lateralis* (también llamada fisura Sylvius y fisura lateral) y también en el área opérculo insular adyacente (Roper, 1989).

Existen factores que afectan la sensibilidad de los receptores gustativos al ser estimulados. Algunos son inherentes al alimento y otros al individuo que lo consume. La temperatura de los alimentos no debe ser muy diferente de la del cuerpo humano, de modo que, si la temperatura está muy baja, se hace más difícil la apreciación del gusto y si, por el contrario, está muy alta, los receptores se irritan y como consecuencia su sensibilidad también disminuye.

A veces, los gustos de un mismo alimento pueden modificarse, potenciarse o suprimirse en función de la temperatura de los alimentos, así como la sensibilidad de los receptores gustativos para detectar los gustos individuales. Así, por ejemplo, el azúcar puede enmascarar la percepción del amargor del café o la acidez de una limonada.

Las papilas gustativas tienen la capacidad de adaptarse a una sustancia una vez que esta reside cierto tiempo en la boca, por lo cual se pierde sensibilidad a otras sustancias, y se alteran las concentraciones que se detectan. Existe una sensibilidad innata en muchas personas para detectar los gustos básicos, pero no

todas las personas poseen la capacidad de percibirlos en los alimentos. Diversas patologías pueden afectar la capacidad de los individuos de detectar algunos de los gustos básicos, como la denominada ageusia. Han sido reportados casos de ageusia para el GMS (Lugaz *et al.*, 2002).

7. EL UMAMI, NUESTRO PRIMER GUSTO

En la leche materna, se encuentran 20 aminoácidos libres y el ácido glutámico es el más abundante, representando aproximadamente el 50% del total del contenido de aminoácidos. Steiner (1987) condujo una serie de experimentos en los que fue estudiada la expresión facial de los recién nacidos como respuesta a la estimulación de diferentes gustos. Los infantes recibieron agua y sus caras permanecieron relajadas y quietas, mientras que con solución ácida fruncieron el ceño, arrugaron la nariz; con la solución amarga agitaron la cabeza, cerraron los ojos y sacaron la lengua. Con soluciones dulces succionaron más rápido con movimientos de la lengua que son expresión de agrado. Cuando se les administró caldo de vegetales sin sazónador, la expresión facial fue similar a la de la solución ácida. Con el caldo sazónado con glutamato, la expresión fue parecida a la de la solución dulce. La solución de glutamato no fue placentera para los infantes, sin embargo, cuando fue añadida al caldo, la percibieron más agradable. Es posible que la presencia del glutamato en la leche materna contribuya a su aceptabilidad por los recién nacidos (Beauchamp & Pearson, 1991).

8. EL UMAMI COMO POTENCIADOR DEL SABOR Y LA PALATABILIDAD

Contrariamente a lo que sucede con el gusto, la percepción del sabor de un alimento es más compleja, ya que se integra toda la información sensitiva recibida en la boca. Los compuestos volátiles presentes en el alimento son responsables por su aroma y percibidos por el olfato; las sustancias químicas estimulan los botones gustativos, además de que, la textura y la temperatura del alimento estimulan receptores del tacto presentes en la cavidad bucal. Luego se procede a la detección e identificación del estímulo y ocurre una interpretación de la información total recibida conocida como palatabilidad, la cual es de sumo interés, ya que determina la elección o la preferencia por algún alimento, la cantidad que se consume e incluso su digestión. Los cinco sentidos están involucrados en la percepción de la palatabilidad, pero el gusto es el que juega el rol más importante. Sustancias como el glutamato y los 5'-ribonucleótidos son de suma importancia para la palatabilidad y aceptabilidad de los

alimentos (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). El placer de la cocina oriental está asociado al uso de caldos preparados con el alga *kombu* (*Laminaria japonica*) o el pescado bonito, ambos ricos en sustancias que modernamente se denominan realzadores o potenciadores del sabor como son el GMS, el IMP y el GMP. Por ello, la presencia del *kombu* o del pescado bonito en la preparación de los platos de la cocina oriental los hace muy apetecibles.

9. RESPUESTA HEDÓNICA AL UMAMI

La respuesta hedónica a los alimentos se refiere al grado de aceptabilidad o de placer que nos proporciona su ingesta. La respuesta hedónica del umami ha sido estudiada, en comparación a la de los otros gustos básicos (Yamaguchi & Takahashi, 1984a).

Se utilizó sacarosa, cloruro de sodio (NaCl), ácido tartárico, cafeína y GMS, sustancias químicas que representan los cinco gustos. Se examinaron individualmente las respuestas a cada gusto básico o en combinaciones de forma binaria. Se utilizaron, en primer lugar, soluciones acuosas simples; luego soluciones saborizadas; y por último en alimentos, en varios niveles de concentración. Se registró la respuesta hedónica de 20 y 40 individuos, según el experimento, usando una escala de 9 puntos, donde el máximo valor significaba extremadamente agradable y 0 para extremadamente desagradable. La puntuación estándar del agrado fue establecida en cero. Cuando se evaluaron las soluciones de los gustos básicos, solo la sacarosa (dulzor) dio una excepcional puntuación de agradabilidad. El GMS y las otras sustancias básicas del gusto fueron consideradas como neutras o desagradables. En las soluciones binarias de 2 gustos, la combinación del GMS y el ácido tartárico, y la de GMS y NaCl dieron puntuaciones positivas de agrado, pero solo cuando las concentraciones fueron bajas. Los resultados para las soluciones saborizadas y para los alimentos fueron muy diferentes. Se observó que la presencia de GMS aumentó el puntaje hedónico tanto de las soluciones saborizadas como de los alimentos.

Otro ejemplo que ilustra la influencia de la respuesta hedónica por la presencia del umami se observó con arroz cocido, el cual se caracteriza por ser insípido. Cuando el arroz se cocinó con GMS añadido, no hubo cambios en el puntaje usado para expresar el agrado de los probadores; ni tampoco cuando se le adicionó 0,7% de NaCl. Sin embargo, cuando se añadió GMS, NaCl y posteriormente el arroz fue cocinado, el puntaje aumentó significativamente. Igual respuesta se observó cuando además del NaCl se le adicionó una pequeña cantidad de salsa de soya, después de cocinado.

Los resultados de estos estudios indican que el efecto de las sustancias que modifican el gusto no se puede predecir por la respuesta hedónica en un sistema modelo de soluciones acuosas simples, sino que se debe estudiar en soluciones saborizadas o, mucho mejor, en los alimentos como tales (Yamaguchi & Takahashi, 1984a; Yamaguchi, 1987).

10. UMAMI Y LOS OTROS GUSTOS BÁSICOS

Se ha investigado la influencia que puede tener la presencia de umami en los alimentos en la percepción de los otros cuatro gustos básicos (Kawamura & Kare, 1987). Al detectar los umbrales para los cinco gustos básicos en soluciones umami acuosas simples conteniendo 5 mM GMS (0,094%) o IMP (0,26%) (Tabla 14.1), se observa que la presencia de GMS e IMP no disminuyó los umbrales para la sacarosa y para el NaCl, aunque el IMP aumentó el umbral del sulfato de quinina; mientras que el GMS y el IMP incrementaron el umbral para el ácido tartárico. Habría que destacar que el IMP disminuyó, notablemente, el umbral del GMS en más de 50 veces.

Contrariamente, cuando se analizaron los umbrales de GMS en las soluciones que contenían los cuatro gustos básicos (Tabla 14.2), estos no mostraron alteraciones. Dichos resultados sugieren que el umami no afecta la percepción de los otros gustos básicos y que el efecto sinérgico solo se observa entre los dos tipos de sustancias umami.

Tabla 14.1 – Umbrales de detección de sustancias características de los cinco gustos básicos en presencia de GMS e IMP (g/100 mL).

Solvente	Sacarosa	NaCl	Ácido tartárico	Sulfato de Quinina	GMS
Agua	0,086	0,0037	0,00094	0,00004	0,012
GMS sol. (5mmol/L)	0,086	0,0037	0,00190	0,000049	-
IMP sol. (5mmol/L)	0,086	0,0037	0,03	0,0002	0,00019

GMS: glutamato monosódico; IMP: inosina-5'-monofosfato.

Fuente: Yamaguchi & Ninomiya, 2000.

Tabla 14.2 – Detección de umbrales de GMS en soluciones de gustos básicos.

Solución	Concentración (g/dL)	Intensidad (I) ^a	Umbral de GMS (g/dL)
Agua		0	0,012
Sacarosa	8,83	50	0,023
	22,27	70	0,094
NaCl	0,88	50	0,012
	2,16	70	0,012
Ácido tartárico	0,030	50	0,012
	0,085	70	0,012
Sacarosa	8,83	50	0,023
NaCl	0,88	50	0,023
Ácido tartárico	0,030	50	0,023

^a En términos de la escala de intensidad del gusto, empleando probadores entrenados; GMS: glutamato monosódico.

Fuente: Yamaguchi, 1987.

En muchos alimentos, las sustancias umami son añadidas como sal. Si se consideran los riesgos para la salud por el consumo excesivo de sodio, es particularmente importante definir la concentración de sal a usar, sin reducir la palatabilidad de los alimentos. Yamaguchi & Takahashi (1984b) examinaron la relación funcional entre el GMS y el NaCl en sopas y su efecto en la salobridad y palatabilidad por el método de superficie de respuesta utilizando 9 sopas con diferentes niveles de GMS y NaCl, evaluadas con un panel y una escala de 7 puntos para medir la intensidad de salobridad y la palatabilidad de la sopa clarificada, la cual fue descrita por el siguiente modelo matemático:

$$Y = M - \alpha(X_1 - A)^2 - \beta(X_2 - B)^2 - \gamma(X_1 - A)(X_2 - B) \quad (1)$$

En este modelo, Y significa la puntuación de palatabilidad; M es la máxima puntuación de la palatabilidad; A, el nivel óptimo de GMS, B es el nivel óptimo de NaCl; y α , β , γ son constantes positivas; X_1 es la concentración de GMS añadida; y X_2 es la concentración de NaCl añadida. La puntuación de la palatabilidad se expresa como un punto en la superficie de una parábola elíptica, típica de este modelo matemático. El estudio demostró que cuando la cantidad total de sodio se reduce en 30% del valor óptimo, sin cambios en los niveles de GMS, la puntuación de palatabilidad disminuye de 0,17 a -0,19. Una reducción de NaCl a más del 30% disminuyó la puntuación de la palatabilidad (Tabla 14.3).

Tabla 14.3 – Efecto de la concentración de Na⁺ [proveniente del GMS y NaCl (g/100 g)] sobre la palatabilidad de una sopa.

Total de Na ⁺ añadido	GMS	NaCl	Puntuación de palatabilidad
0,363% (Óptimo)	0,379	0,806	0,17
0,327% (10% < Óptimo)	0,378	0,714	0,13
0,290% (20% < Óptimo)	0,377	0,620	0,01
0,254% (30% < Óptimo)	0,377	0,529	-0,19
0,218% (40% < Óptimo)	0,376	0,438	-0,47
0,362% (Sin GMS)	0	0,922	-0,56

Fuente: tabla modificada de Yamaguchi, 1987.

Para confirmar estas conclusiones, se diseñó un nuevo experimento pero con dos menús diferentes típicos japoneses. En este experimento participaron 150 panelistas. También, en este caso, se observó que la reducción de aproximadamente 30% (o >30%) en la adición de sal, sin la adición de las sustancias del umami disminuyó todas las puntuaciones de salobridad, umami y palatabilidad. No obstante, este descenso fue claramente neutralizado por la adición de sustancias de umami. La sensación de satisfacción por las comidas ofrecidas se incrementó con la adición de sustancias umami a todos los niveles de NaCl estudiados.

De los hechos descritos anteriormente, se puede concluir que si se usa una cantidad apropiada de sustancias umami, el consumo de sodio se puede reducir en un 30% sin disminuir la palatabilidad del alimento o minimizar el grado de satisfacción de las comidas. Finalmente, se debe enfatizar que solo 0,5% - 0,6% de las sustancias umami incrementan sustancialmente la sensación de satisfacción de la comida (Yamaguchi, 1987).

11. SINERGISMO ENTRE SUSTANCIAS UMAMI

Cuando el ácido glutámico y los nucleótidos (en forma libre o de sales) coexisten, el umami se incrementa drásticamente. Este fenómeno, mejor conocido como el efecto sinérgico del umami ha sido ampliamente investigado (Kuninaka, 1960; Yamaguchi, 1967; Yamaguchi *et al.*, 1971). Se estudió el efecto sinérgico en una serie de soluciones acuosas simples y en alimentos. Los umbrales reportados de GMS e IMP en los panelistas fueron de 0,03% y 0,025%, respectivamente. Sin embargo, cuando se determinó la presencia de umami en los alimentos que lo contienen, los umbrales de percepción de GMS e IMP, o ambos, fueron definitivamente inferiores. Fundamentalmente en aquellos alimentos con altas

concentraciones relativas de ácido glutámico, tales como productos marinos o tomates, el umbral para el IMP fue notablemente más bajo. Por otro lado, en aquellas muestras que contenían una alta concentración de 5'-ribonucleótidos, como el ternero y el bonito deshidratado, el umbral de glutamato fue claramente menor, menos para el IMP. Muchos de los alimentos que contienen glutamato y 5'-ribonucleótidos, incluso en pequeñas cantidades, se utilizan comúnmente en la cocina para aumentar la palatabilidad de los alimentos, con un efecto sinérgico de las sustancias umami contenidas en las matrices alimentarias (Yamaguchi, 1987). Es importante enfatizar que existen muchos alimentos que contienen de manera natural sustancias umami, tanto en cantidades supraumbrales como subumbrales, y estas cantidades son suficientes para afectar la percepción de una manera placentera (Maga, 1983; Maga, 1987). Gutiérrez & Sangronis (2006) notaron cambios en la intensidad de palatabilidad y respuesta hedónica en una sopa del tipo crema de pollo y vegetales, al realizar combinaciones de GMS y 5'-ribonucleótidos, aprovechando el efecto sinérgico entre ellos.

12. CONSIDERACIONES FINALES

Más de un siglo después del descubrimiento del gusto umami por el Dr. Ikeda, continúan los estudios para entender los mecanismos de acción, aplicaciones, posibilidades de uso, comprensión de la percepción y potenciación de los sabores, así como sinergias e interacciones con otros compuestos químicos.

Con base en los resultados de numerosos estudios que prueban la potenciación de sabores en alimentos que contienen compuestos químicos capaces de impartir gusto umami, esta premisa puede verse como relevante para su aplicación tanto en alimentos dirigidos al público que presentan disminución o supresión en la percepción de sabores, como con el propósito de reducir la sal para promover una alimentación saludable.

Se deben impulsar estudios con este enfoque para que el aumento del factor hedónico pueda jugar un papel importante en dietas especiales y contribuir a mejorar la calidad de la ingesta de alimentos y en consecuencia promover una nutrición adecuada para grupos de individuos que necesitan efectos sensoriales de estímulos y una mayor aceptación de alimentos con fines dietéticos especiales.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER, E. *et al.* "A novel family of mammalian taste receptors". *Cell*. 100(6): 693-702, 2000.

- ALENCAR, M. L. *et al.* “Prevalence of celiac disease among blood donors in São Paulo: the most populated city in Brazil”. *Clinics*. 67(9): 1013-1018, 2012.
- ASTM. “E253 – 18a. Standard terminology relating to sensory evaluation of materials and products”. West Conshohocken, 2018, p. 7.
- BARTOSHUK, L. M. *et al.* “PROP (6-n-Propylthiouracil) supertasters and the saltiness of NaCl”. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 855(1): 793-796, 1998.
- BAUER, J. & REISCH, L. “Behavioural insights and (un)healthy dietary choices: a review of current evidence”. *Journal of Consumer Policy*. 42(1): 3-45, 2019.
- BEAUCHAMP, G. K. & PEARSON, P. “Human development and *umami* taste”. *Physiol Behav*. 49(5): 1009-1012, 1991.
- BELLISLE, F. “How and why should we study ingestive behaviors in humans?”. *Food Quality and Preference*. 20(8): 539-544, 2009.
- BIGIANI, A. “Glutamate receptors in taste receptor cells”. Chapter 7. *In*: GRILL, S. & PULIDO, O. *Glutamate receptors in peripheral tissue*. New York, Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2005, pp. 129-143.
- CHAUDHARI, N.; LANDIN, A. M. & ROPER, S. D. “A metabotropic glutamate receptor variant function as a taste receptor”. *Nat Neurosci*. 3(2): 113-119, 2000.
- CHAUDHARI, N. *et al.* “The taste of monosodium glutamate: membrane receptors in taste buds”. *J Neurosci*. 16(12): 3817-3826, 1996.
- CHIKAZOE, J. *et al.* “Distinct representations of basic taste qualities in human gustatory cortex”. *Nature Communications*. 10: 1-8, 2019.
- ENGELEN, L. & VAN DER BILT, A. “Oral physiology and texture perception of semisolids”. *J. Texture Stud*. 39(1): 83-113, 2008.
- GUTIÉRREZ, C. & SANGRONIS, E. “Efecto sinérgico y cuantificación de los 5'-ribonucleótidos en una sopa de pollo”. *Arch Latinoamer Nutr*. 56(3): 26-32, 2006.
- GUYTON, A. & HALL, J. *Tratado de fisiología médica*. 13. ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2014.
- JIANG, Y.; GONG, N. N. & MATSUNAMI, H. “Astringency: a more stringent definition”. *Chem. Senses*. 39(6): 467-469, 2014.

- KAWAMURA, Y. & KARE, M. *Umami: a basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987.
- KESSLER, F. *et al.* “Consumer perception of snack sausages enriched with umami-tasting meat protein hydrolysates”. *Meat Science*. 150: 65-76, 2019.
- KOBAYASHI, C. & KENNEDY, L. “Experience induced changes in taste identification of monosodium glutamate”. *Physiol Behav*. 75(1-2): 57-63, 2002.
- KODAMA, D. “On a procedure for separating inosinic acid”. *J Tokyo Chem Soc*. 34: 487-492, 1913.
- KUNINAKA, A. “Studies on taste of ribonucleic acid derivatives”. *J Agric Chem Soc Jpn*. 34(6): 489-492, 1960.
- LINDEMAN, B. “Receptors and transduction in taste”. *Nature*. 413: 219-225, 2001.
- LUGAZ, O.; PILLAS, A. M. & FAURION, A. “A new specific ageusia: some humans cannot taste L-Glutamate”. *Chem Senses*. 27(2): 105-115, 2002.
- MAGA J. “Organoleptic properties of *umami* substances”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. *Umami: a basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 255-269.
- MAGA, J. “Flavor potentiators”. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 18(3): 231-312, 1983.
- MARIEB, E. & HOEHN, K. *Anatomia e fisiologia*. 3. ed. Porto Alegre, Artmed, 2009, p. 1072.
- MELA, D. J. “Why do we like what we like?”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81(1): 10-16, 2001.
- MELLO, L. L. M. *et al.* “Expectations and acceptability of diabetic and reduced calorie milk chocolates among non-diabetics and diabetics in the USA”. *Journal of Sensory Studies*. 25(s1): 133-152, 2010.
- MIKKILÄ, V. *et al.* “Longitudinal changes in diet from childhood into adulthood with respect to risk of cardiovascular diseases: the cardiovascular risk in young finns study”. *European Journal of Clinical Nutrition*. 58(7): 1038-1045, 2004.
- NETTER, F. H. *Atlas de anatomia humana*. 6. ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2014.
- NINOMIYA, K. “*Umami*: a universal taste”. *Food Rev Int*. 18(1): 23-38, 2002.

- RALIOU, M. *et al.* “Tas1R1-Tas1R3 taste receptor variants in human fungiform papillae”. *Neurosci Lett.* 451(3): 217-221, 2009.
- ROPER, S. D. “The cell biology of vertebrate taste receptors”. *Annu. Rev. Neurosci.* 12:329-353, 1989.
- ROPER, S. D. “Taste buds as peripheral chemosensory processors”. *Semin. Cell Dev. Biol.* 24(1): 71-79, 2013.
- ROUVIERE, H. *Anatomía humana*, tomo I. 10. ed. Barcelona, Editorial Masson, 1999, pp. 400-404.
- SCHWARTZ, J. “Health decision making”. *Consumer Psychology Review.* 1(1): 107-122. 2018.
- SCINSKA-BIENKOWSKA, A. *et al.* “Glutamate concentration in whole saliva and taste responses to monosodium glutamate in humans”. *Nutr Neurosci.* 9(1-2): 25-31, 2006.
- SCLAFANI, A. “Oral and postoral determinants of food reward”. *Physiology & Behavior.* 81(5): 773-779, 2004.
- SMITH, D. V. & MARGOLSKEE, R. F. Making sense of taste”. *Scientific American Special Edition.* 16(3): 84-92, 2006.
- STEINER, J. “What the human neonate can tell us about *umami*”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. *Umami: a basic taste.* New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 97-123.
- STEINLE, S. R. *et al.* “Avaliação da aceitação de chá mate adoçado com aspartame, extrato de estévia [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni] e sacarose, antes e após exercício físico”. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos.* 23(1): 221-227, 2005.
- TEMUSSI, P. “Sweet, bitter and *umami* receptors: a complex relationship”. *Trends Biochem Sci.* 40(10): 1-7, 2009.
- VOORPOSTEL, C. R.; DUTRA, M. L. B. & BOLINI, H. M. A. “Sensory profile and drivers of liking for grape nectar among smokers and nonsmokers consumers”. *Ciência e Tecnologia de Alimentos.* 34(1): 164-173, 2014.
- YAMAGUCHI, S. “Fundamental properties of *umami* in human taste sensation”. In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: a basic taste, phy-*

siology, biochemistry, nutrition, food science. New York, Marcel Dekker, 1987. pp. 41-73.

YAMAGUCHI, S. “The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate”. *J Food Sci.* 32: 473-478, 1967.

YAMAGUCHI, S. & KOBORI, I. “Subtleness and exquisiteness of *umami* taste in humans”. *J Food Qual Pref.* 4(1-2): 82, 1993.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “*Umami* and food palatability”. *J Nutr.* 130(4S): 921S-926S, 2000.

YAMAGUCHI, S. & TAKAHASHI, C. “Hedonic function of monosodium glutamate and four basic taste substances used at various concentration levels in simple and complex systems”. *Agric. Biol. Chem.* 1984a; 48: 1077-1081.

YAMAGUCHI, S. & TAKASHASHI, C. “Interactions of monosodium glutamate and sodium chloride on saltiness and palatability of clear soup”. *J Food Sci.* 49(1): 82-85, 1984b.

YAMAGUCHI, S. *et al.* “Measurement of the relative taste intensity of some α -amino acid and 5'-nucleotides”. *J. Food Sci.* 36(6): 846-849, 1971.

YARMOLINSKY, D. A.; ZUKER, C. S. & RYBA, N. J. P. “Common sense about taste: from mammals to insects”. *Cell.* 139: 234-244, 2009.

ZHAO, G. Q. *et al.* “The receptors for mammalian sweet and *umami* taste”. *Cell.* 115(3): 255-266, 2003.

ZUCKER, C. S. “Putative mammalian taste receptors: a class of taste – specific GPCRs with distinct topographic selectivity”. *Cell.* 96: 541-551, 1999.

MECANISMO DE ACCIÓN DEL SABOR Y DEL GUSTO UMAMI EN EL CEREBRO

Edmund T. Rolls

1. RESUMEN

El mecanismo de acción del umami en la corteza cerebral revela la razón que lo hace agradable y apetitoso. El carácter agradable del umami refleja y está correlacionado con el procesamiento en el área gustativa cortical secundaria, (corteza orbitofrontal) y con el área gustativa cortical terciaria (corteza cingulada anterior), mientras el procesamiento en el área cortical primaria del gusto (insular), refleja propiedades físicas, como la intensidad. Sin embargo, el glutamato puro, por sí solo, no tiene un sabor muy agradable como estímulo gustativo y no actúa sinérgicamente con otros gustos (dulce, salado, amargo y ácido). Cuando el glutamato se administra en combinación con un estímulo olfatorio armónico, por ejemplo con un rico aroma (vegetal), el sabor resultante, formado por una convergencia de las vías gustativas y olfativas en la corteza orbitofrontal, puede ser mucho más agradable. Esta palatabilidad se refleja en una activación de la corteza orbitofrontal media y de la corteza cingulada pregenual mucho mayor que la suma de las activaciones de los componentes gustativos y olfatorios presentados separadamente. Además, existe una relación recíproca entre las activaciones en estas regiones del cerebro con la apetencia y plenitud del gusto,

como también existe esa relación entre la armonía del gusto y los componentes olfatorios. A nivel conceptual, se propone que el umami puede ser pensado como un sabor rico y delicioso, producido por la combinación del gusto del glutamato con un estímulo olfatorio armónico, es decir con un aroma delicioso. El glutamato es, entonces, un realizador del sabor por la forma como puede combinarse supralinealmente con olores armónicos, en áreas corticales donde las vías del gusto y del olfato convergen más allá de los receptores. La modulación de las regiones corticales en la corteza orbitofrontal, entre ellas el área de la atención y el área cognitiva, también contribuyen a la palatabilidad del umami.

2. INTRODUCCIÓN

El gusto al que se refiere la palabra japonesa umami ha sido reconocido como el “quinto gusto” (Kawamura & Kare, 1987; Rolls, 2000). Además del dulce, salado, amargo y ácido, el umami se traduce en lo que a veces se describe como un gusto de proteína. De hecho, métodos de análisis de escala multidimensional en humanos (Yamaguchi & Kimizuka, 1979) han mostrado que el gusto del glutamato (tal como su sal de sodio, glutamato monosódico/GMS) no puede ser comparado con ninguno de los cuatro gustos básicos. Aún más, se han encontrado receptores específicos del gusto para el glutamato (Chaudhari *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2003; Maruyama *et al.*, 2006). El gusto umami se encuentra en una diversidad de alimentos ricos en glutamato, entre ellos el pescado, la carne, la leche, los tomates, en algunas verduras y es potenciado por algunos 5'-ribonucleótidos (inosina y guanosina incluidos) (Yamaguchi, 1967; Rifkin & Bartoshuk, 1980). Estos ribonucleótidos están presentes, por ejemplo, en carnes y en algunos pescados (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). La mezcla de esos componentes es responsable por el sabor delicioso característico de muchos alimentos.

En este capítulo, se resumen los hallazgos sobre cómo el gusto umami está representado por las neuronas perfectamente sintonizadas que se encuentran en las áreas corticales del gusto en los monos; y luego se hacen conjeturas basadas en estos estudios para examinar la representación del gusto umami en el cerebro humano. La pregunta que subyace, entonces, es ¿qué mecanismo hace posible que el umami sea percibido sensorialmente como un gusto agradable y apetecible?. La importancia de entender esta interrogante se justifica, en parte, debido a que el umami es un indicador sensorial clave de alimentos que contienen proteínas y, por ende, una señal importante que apunta hacia alimentos que ayudan a mantener una dieta nutricionalmente apropiada.

3. ESTUDIOS NEURONALES EN MONOS

Con el objetivo de entender la forma cómo el apetito y la ingesta de alimentos son controlados por el cerebro humano, así como también los desórdenes relacionados con el apetito y la alimentación, se han desarrollado diversos estudios, tanto en primates como en humanos, acerca de los mecanismos neuronales involucrados en la regulación de estos eventos (Rolls, 2005; Rolls, 2007a; Rolls, 2007b; Rolls, 2008a; Rolls & Grabenhorst, 2008). Una de las razones del empleo de primates como animales de experimentación en algunos de estos estudios, se debe al hecho de que su sistema gustativo está organizado anatómicamente y fisiológicamente de manera diferente al de los no-primates (Norgren, 1984; Rolls & Scott, 2003; Rolls, 2009). A diferencia de los roedores, por ejemplo, en los monos no existe un conjunto de vías subcorticales a partir del tronco cerebral. En su lugar, hay una conexión obligatoria del núcleo del tracto solitario del tálamo gustativo, con la corteza gustativa (Norgren, 1984; Rolls & Scott, 2003). Esto torna el sistema gustativo de los primates más fácil de analizar, mucho más que el de humanos en relación al procesamiento del gusto que ocurre en la corteza gustativa primaria y prosigue luego hacia otras áreas (Figura 15.1). En cambio, en los roedores existen salidas desde la zona (gustativa) del tronco cerebral a los sistemas subcorticales. Además, el comer hasta la saciedad reduce el grado de respuesta de las neuronas gustativas en la corteza gustativa (orbitofrontal) secundaria, pero no en la corteza gustativa (insular) primaria. Por otro lado, los efectos de la saciedad en el procesamiento del gusto son encontrados incluso en el núcleo del tracto solitario de roedores (Rolls & Scott, 2003), lo que torna al sistema gustativo de roedores más complejo de analizar.

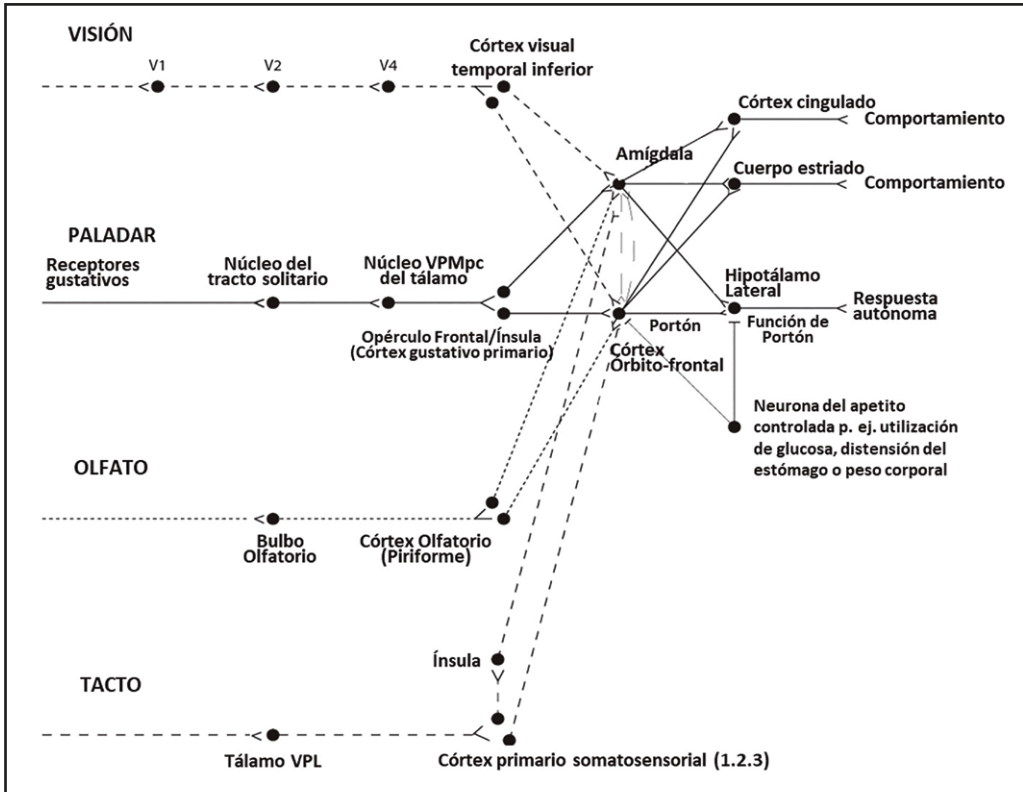


Figura 15.1 – Esquema de las rutas olfativas y gustativas en los primates, incluyendo humanos; se muestra la convergencia en un mismo espacio y la confluencia con las rutas visuales. El hambre modula la respuesta de las representaciones en la corteza orbitofrontal del gusto, aroma, textura y visión del alimento (indicado por la función porta), y la corteza orbitofrontal donde son representados la palatabilidad y el placer proporcionado por el alimento. VPMpc -núcleo talámico ventroposteromedial; V1, V2, V4 - áreas corticales visuales (tasolfpaths2.eps).

Se ha demostrado que en la corteza orbitofrontal de primates, hay una región de la corteza gustativa secundaria que se conecta con la corteza gustativa primaria en la ínsula y en el opérculo frontal adyacente (Scott *et al.*, 1986; Yaxley *et al.*, 1990; Baylis *et al.*, 1995; Scott & Plata-Salaman, 1999). En esta región, las neuronas son activadas por el sabor del alimento (Rolls *et al.*, 1990; Rolls, 2008a) (Figura 15.1). Estas neuronas gustativas de la corteza orbitofrontal pueden ser finamente sintonizadas con el estímulo gustativo (Rolls *et al.*, 1990). Aún más, esa actividad neuronal está relacionada a la recompensa del alimento, ya que las neuronas responden al gusto del alimento solamente cuando el mono está con hambre (Rolls *et al.*, 1989). Estas neuronas, muestran sus efectos en el proceso de saciedad sensorial específica, un mecanismo

primordial en el control de la alimentación, el cual tiene implicaciones importantes para el control del apetito y la ingesta de alimentos (Rolls *et al.*, 1989; Critchley & Rolls, 1996b; Rolls, 2005; Rolls, 2007b). La corteza orbitofrontal está involucrada en el control de la alimentación porque esta es la primera parte del sistema gustativo de los primates donde ocurren las respuestas neuronales al gusto del alimento durante el periodo de la sensación de hambre, pero no después de la saciedad (Rolls *et al.*, 1988; Yaxley *et al.*, 1988; Rolls *et al.*, 1989; Critchley & Rolls, 1996b; Rolls, 2007b).

4. NEURONAS ESPECÍFICAMENTE REGULADAS POR EL GLUTAMATO

Para investigar si el gusto umami opera en el sistema gustativo de primates a través de redes de información diferentes a las vías de procesamiento de los otros gustos (dulce, salado, amargo y ácido), Baylis & Rolls (1991) analizaron las respuestas de 190 neuronas gustativas sensibles, situadas en la corteza gustativa primaria y en el área adyacente de la corteza orbitofrontal de monos en estado de vigilia. Este estudio encontró la presencia de neuronas simples, ajustadas para responder mejor al glutamato (GMS) (gusto umami) así como también fueron halladas otras células que respondían mejor a la glucosa (dulce), al cloruro de sodio (NaCl) (salado), al ácido clorhídrico (HCl) (ácido), e hidocloruro de quinina (Q-HCl) (amargo). Dentro de la población de neuronas, la capacidad de respuesta al glutamato fue pobre, en relación con la respuesta al NaCl. De este modo, la representación de la actividad neuronal del glutamato mostró ser diferente del perfil del NaCl. Aún más, el perfil del glutamato mostró también ser diferente del perfil de cada uno de los otros cuatro gustos, en una medida aproximada a la diferencia observada entre los cuatro gustos básicos, comparados entre sí. Estos resultados fueron demostrados por medición multidimensional y análisis de grupos. Baylis & Rolls (1991) concluyeron que, en las áreas corticales gustativas de primates, el glutamato, que produce el gusto umami en humanos, está también representado como lo están los otros gustos producidos por la glucosa (dulce), el NaCl (sal), el HCl (ácido) y la Q-HCl (amargo).

5. NEURONAS QUE RESPONDEN AL GUSTO DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO TAMBIÉN RESPONDEN AL GUSTO DEL ÁCIDO GLUTÁMICO

Para evaluar el papel del ion glutamato en el perfil del gusto umami, Rolls *et al.* (1996a) realizaron una investigación neurofisiológica en la que se hicieron registros de las respuestas neuronales de la corteza orbitofrontal de monos

utilizando estímulos con ácido glutámico. En este estudio se demostró que algunas neuronas tuvieron amplias respuestas para la sensación gustativa de ácido glutámico 0,05 M y que las células que respondieron al ácido glutámico también respondieron al GMS. Sin embargo, estas neuronas no necesariamente tuvieron amplias respuestas a HCl 0,01 M (el pH del ácido glutámico es de 2,1). La correlación entre las respuestas de esta población de neuronas tanto al GMS como al ácido glutámico fue 0,75. Esta semejanza fue más grande que la mayoría de las correlaciones entre los demás estímulos gustativos. Este dato refuerza la evidencia de que, en el cerebro de los primates, el gusto umami está representado separadamente de las representaciones equivalentes a los otros cuatro gustos básicos.

6. NEURONAS QUE RESPONDEN AL GUSTO DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO, TAMBIÉN RESPONDEN AL GUSTO DE INOSINA MONOFOSFATO.

Dado que en la boca, la inosina 5'-monofostato (IMP) produce el gusto umami en humanos, y también puede actuar sinérgicamente con el GMS, los efectos neurofisiológicos de este compuesto fueron investigados en primates (Rolls *et al.*, 1996b). El conjunto de estímulos gustativos [glucosa 1,0 M (G), NaCl 0,1 M (N), HCl 0,01 M (H), Q-HCl 0,001 M (Q), GMS 0,1 M (GMS), e IMP 0,0001 M (IMP)] fue evaluado en secuencia aleatoria. Aunque la concentración de IMP sea considerada baja, fue escogida así debido a que en estudios preliminares en monos resultó efectiva en la producción de respuestas neuronales. En humanos, esta concentración de IMP está por debajo del umbral de detección de IMP pura (Yamaguchi, 1967). No obstante, esta es una concentración que, aparentemente, es capaz de afectar el sistema gustativo humano porque, en esta especie, está en el rango de concentración que tiene un efecto sinérgico con el GMS. Se ha demostrado que las neuronas de la corteza orbitofrontal de primates responden a concentraciones tan bajas como 0,0001 M de IMP, y que, típicamente, estas mismas neuronas, también responden al GMS. De hecho, en toda la población de neuronas, IMP produjo respuestas más parecidas a las inducidas por GMS que a las producidas por cualquier otro de los gustos evaluados (Rolls *et al.*, 1996b).

7. SACIEDAD

Experimentos con monos, demostraron que alimentarlos hasta causar la saciedad disminuye la respuesta de las neuronas de la corteza gustativa orbitofrontal

a los alimentos con los cuales hayan sido alimentados hasta saciar (Rolls *et al.*, 1989; Critchley & Rolls, 1996b). Esta modulación de las respuestas gustativas por el hambre no ha sido encontrada en la corteza gustativa primaria. Además, la disminución del grado de respuesta neuronal en la corteza gustativa secundaria es, por lo menos en parte, específica para el alimento ingerido por el mono hasta la saciedad. Esto es por lo tanto considerado como una disminución sensorial específica en las respuestas (Rolls, 2007b). Se ha investigado si la saciedad inducida por la alimentación con una solución de GMS afecta las respuestas de las neuronas gustativas de la corteza orbitofrontal al gusto del GMS y si esta respuesta es sensorialmente específica. La modulación de la capacidad de respuesta por el hambre implicaría que las neuronas estuviesen en un sistema de respuesta motivacional al alimento. La demostración de saciedad sensorial específica reforzaría la evidencia de la existencia de un mecanismo neuronal separado para la percepción del gusto umami.

Las células que respondieron al gusto del GMS, o que respondieron ante la vista del alimento (Rolls & Baylis, 1994), fueron evaluadas antes, durante y después de alimentar a un mono con 0,1 M de GMS hasta que el comportamiento del animal evidenciara saciedad. Rolls *et al.* (1996a) realizaron experimentos para verificar el efecto de la saciedad en respuestas gustativas al glutamato utilizando 5 neuronas (Rolls *et al.*, 1996b). Se encontró que algunas de estas neuronas mostraron una pequeña respuesta al gusto del glutamato, después de que este fue ingerido hasta la saciedad. No obstante, las mismas neuronas mantuvieron su capacidad de respuesta a los otros gustos. De esta forma, el valor de recompensa y el placer del gusto umami se encuentran representados en la corteza orbitofrontal (Rolls, 2001; Rolls, 2003).

Estos trabajos y otras investigaciones relacionadas han aportado las bases fundamentales para la comprensión, a nivel neuronal, del mecanismo gustativo, olfativo, táctil (textura y temperatura oral) y visual involucrado en el análisis sensorial de los alimentos. Estos estudios también han contribuido a promover el valor de recompensa explícito en las representaciones de la actividad neuronal, como muestran los efectos observables tras una alimentación hasta la saciedad; revela, por ende, el importante papel que juega la actividad neuronal en el control del apetito y de la ingesta de alimentos (Kadohisa *et al.*, 2005; Rolls, 2005; Rolls, 2007b; Grabenhorst *et al.*, 2008b; Rolls, 2008a; Rolls, 2009). Es necesario realizar investigaciones en humanos, mediante neuroimagen funcional, que contribuyan a la construcción de este conocimiento.

8. LA REPRESENTACIÓN DEL GUSTO UMAMI EN LA CORTEZA CEREBRAL HUMANA

Utilizando imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI) (Small *et al.*, 1999; O'Doherty *et al.*, 2001), de Araujo *et al.* (2003a) investigaron si las áreas corticales, que previamente mostraron ser activadas en humanos por los otros gustos, eran también activadas por el gusto umami, y si esta activación en áreas específicas reflejaba el sinergismo entre el GMS e IMP. En esta investigación acerca del gusto, se usó una solución control sin gusto (25 mM KCl + 2,5 mM NaHCO₃) para comparar con la respuesta producida por el estímulo gustativo. Al utilizar este contraste, es posible medir los efectos causados por el gusto, así como también los efectos somato-sensoriales de la solución control sin gusto. De igual forma, pueden ser medidos los movimientos requeridos para la deglución de la solución al final en cada periodo de la prueba gustativa. Respuestas corticales al estímulo umami fueron investigadas en diez individuos y evaluadas a través del suministro de diferentes soluciones que contenían glucosa (1 M, como localizador), GMS (0,05 M), IMP (0,005 M) o GMS+IMP (mezclado en concentraciones iguales) (de Araujo *et al.*, 2003a). El protocolo experimental consistió en un esquema de pruebas intercaladas en las cuales, al comienzo de un periodo aleatorio variable de 12-20 segundos, uno de los cuatro estímulos gustativos fue puesto en la boca del individuo en alícuotas de 0,75 mL, y deglutido después de 10 segundos. Luego, al inicio del siguiente periodo, fue suministrada una solución control sin gusto. En seguida se administró otro de los estímulos gustativos, en una secuencia pseudo-aleatoria. Este ciclo de pruebas fue repetido doce veces. Los resultados mostraron claramente activaciones significativas en la corteza orbitofrontal (Wilson *et al.*, 2002; de Araujo *et al.*, 2003a).

Los efectos del gusto umami sobre la activación cortical, fueron demostrados en diversos grupos con diferentes estímulos prototípicos, a saber: activación cortical producida por el estímulo representativo del gusto dulce utilizando glucosa (1 M) (Figura 15.2, línea 1); activación producida por el IMP (0,0005 M) (Figura 15.2, línea 2); y la activación con GMS (0,05 M) (Figura 15.2, línea 3). Para todos los estímulos sensoriales, se detectó activación de la corteza orbitofrontal y de la corteza gustativa insular-opercular, la cual es, presuntamente, la corteza gustativa primaria en la especie humana. La activación producida por el IMP muestra que el umami, incluso cuando la solución suministrada no contiene iones sodio, activa estas áreas de la corteza cerebral. Para analizar si existen áreas de superposición de las activaciones producidas por el estímulo umami y por la glucosa usada como un estímulo gustativo prototipo en la Figura 15.2 línea 5, se observa la conjunción de los efectos producidos por GMS, IMP, GMS+IMP,

y glucosa. Estos resultados (de Araujo *et al.*, 2003a) aportaron evidencias de que cuando el GMS y el IMP, que producen gusto umami, son colocados en la boca, se activan áreas corticales conocidas por su activación ante otras sustancias estimuladores del gusto (glucosa).

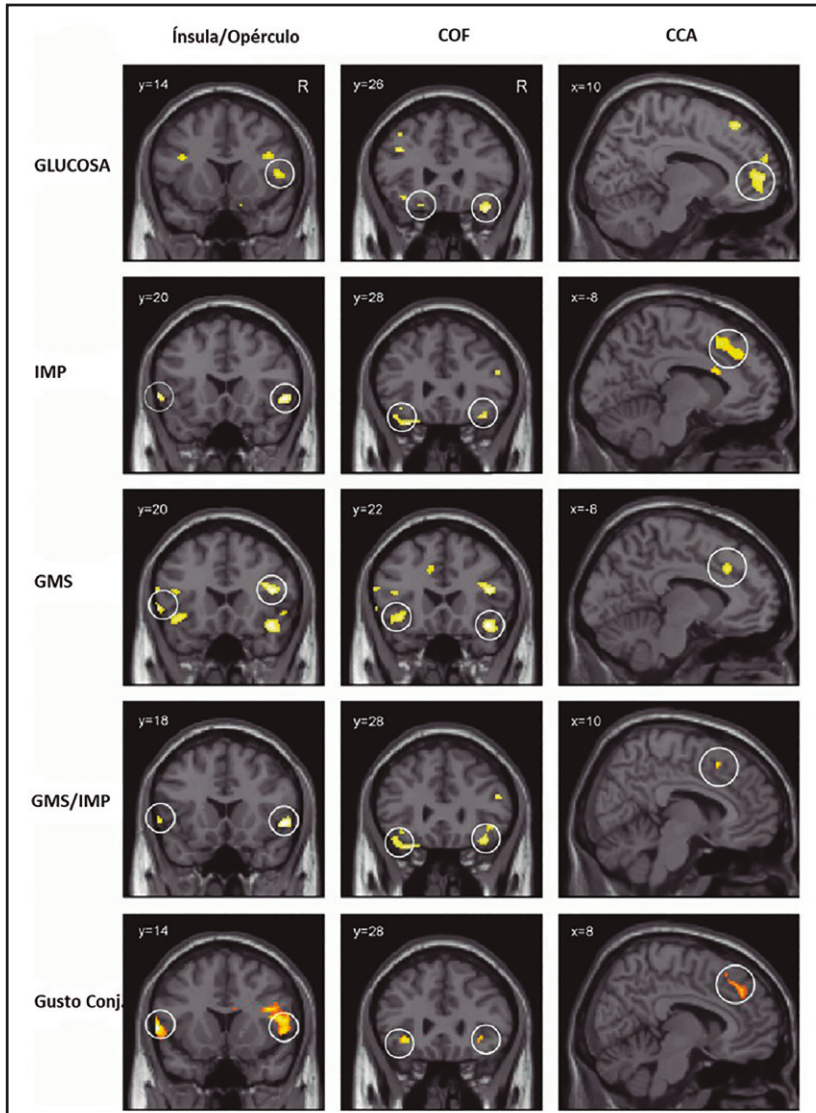


Figura 15.2 – Activaciones producidas en el ínsula/opérculo rostral, en la corteza orbitofrontal (COF) y en la corteza cingulada anterior (CCA) por glucosa (1 M), inosina-5'-monofosfato (IMP) (0,005 M), glutamato monosódico (GMS) (0,05 M), para la combinación de GMS e IMP (GMS/IMP), y la conjunción de todas las pruebas (Gusto conj.).

Fuente: de Araujo *et al.*, 2003a. (umami2 .eps).

Dada la evidencia de que el IMP (o su equivalente guanosina-5'-monofosfato) y el GMS pueden presentar sinergismo psicofisiológico (Rifkin & Bartoshuk, 1980), fue de considerable interés el estudio en que de Araujo *et al.* (2003a) demostraron que la corteza orbitofrontal lateral anterior, región izquierda (x,y,z=-44,34,-18) presenta una propiedad aditiva supralineal ante la combinación GMS+IMP; es decir, ocurre una significativa activación, que es mayor por la combinación GMS+IMP que por la suma de los efectos del GMS e IMP, considerados separadamente (Figura 15.2). La interacción real entre el GMS e IMP puede ser expresada, en parte, en los propios receptores gustativos, o puede haber receptores de umami un tanto distintos para los diferentes probadores de umami (Chaudhari *et al.*, 2000; Zhao *et al.*, 2003; Maruyama *et al.*, 2006). Sin embargo, en cualquiera de los casos, los resultados relatados por de Araujo *et al.* (2003a) muestran que, en la especie humana, existe una parte de la corteza orbitofrontal anterior en la cual la propiedad aditiva supralineal aparece muy fuertemente en el análisis estadístico. El hecho de que esa parte de la región de la corteza orbitofrontal humana refleja, estadísticamente, efectos supra-aditivos entre los provadores de umami, evidentes en la señal BOLD (señal dependiente del nivel de oxigenación sanguínea) indica la probabilidad de que la actividad en esta región de la corteza orbitofrontal sea especialmente relevante para la sensación perceptible del gusto umami, y para la manifestación comportamental de una preferencia por ese gusto. El papel especial de esta región de la corteza cerebral humana con relación al gusto umami, puede ser importante dado que es capaz de promover una amplificación no lineal de los estímulos del GMS e IMP ya combinados en los receptores del gusto, o puede ser que esta región de la corteza sea capaz de combinar la información a partir de vías umami parcialmente separadas para producir una amplia gama de respuestas a la combinación de GMS e IMP. Este último punto constituye un aspecto muy importante a ser estudiado en futuras investigaciones.

9. UMAMI: UN DELICIOSO SABOR FORMADO POR LA CONVERGENCIA DE LAS VÍAS DEL GUSTO Y DEL OLFATO EN EL CEREBRO HUMANO

El glutamato no actúa sinérgicamente con otros gustos (dulce, salado, amargo y ácido) (Yamaguchi & Kimizuka, 1979). Aún más, cuando el glutamato se presenta puro, como un estímulo al paladar, no tiene un gusto muy agradable (Beauchamp & Pearson, 1991). La pregunta que surge es entonces ¿de qué forma el glutamato contribuye a la buena palatabilidad de los alimentos?.

McCabe & Rolls (2007) demostraron que cuando el glutamato es suministrado en combinación con un aroma (vegetal) armónico y sabroso, el sabor resultante puede ser mucho más agradable. Los autores, entonces, investigaron los mecanismos cerebrales subyacentes, teniendo en cuenta que el sabor se define como la combinación de gusto y aroma. Para que esta combinación (gusto y aroma) sea efectiva, las señales olfativas y gustativas deben ser transmitidas juntas. A partir de estudios en primates no humanos, se sabe que la corteza gustativa primaria en la ínsula anterior contiene neuronas que responden al gusto y textura de lo que ha sido colocado en la boca, pero que no responden al aroma (Verhagen *et al.*, 2004). Tanto la corteza gustativa primaria como la corteza piriforme (olfatoria) se proyectan en dirección a la corteza orbitofrontal, y es allí donde se encuentran las neuronas bimodales gustativas y olfativas (Rolls & Baylis, 1994). Estas redes de neuronas receptoras del sabor son desarrolladas a través del aprendizaje por asociación olfato-gusto (Critchley & Rolls, 1996a; Rolls *et al.*, 1996a). Se han identificado áreas olfativas en la corteza piriforme y en la corteza orbitofrontal (Zatorre *et al.*, 1992; Rolls *et al.*, 2003). Estudios acerca de la región donde la sensación gustativa y olfatoria se asocian en el cerebro humano (Small & Prescott, 2005) han mostrado que, de hecho, existen áreas en la corteza orbitofrontal y en la ínsula anterior (agranular), que pueden ser activadas tanto por el gusto de la sacarosa como por el aroma de frutillas (fresas) (de Araujo *et al.*, 2003b).

McCabe & Rolls (2007) utilizaron un conjunto de estímulos diseñados para hacer posible que el gusto umami (producido por 0,1 M GMS y 0,005 M IMP) se probara solo o en combinación con un aroma vegetal sabroso de hortalizas. Esto permitió comparar los efectos de la combinación (GMSV en la Tabla 15.1) con los efectos de los componentes gustativos (GMS en la Tabla 15.1) u olfativos (tIV) suministrados separadamente. Para tener un estímulo de comparación, a fin de medir si los componentes gustativos y olfativos eran complementarios entre sí, el gusto umami fue presentado también en combinación con un aroma disonante, en este caso, una bebida alcohólica (ron). Los estímulos fueron suministrados oralmente en forma de solución insípida. Otra parte del diseño sirvió para tomar notas psicofísicas de los sujetos participantes en cada una de las pruebas a fin de realizar la clasificación, psicológicamente subjetiva, de los grados de placer, armonía y plenitud del sabor durante los experimentos de fMRI. De esta forma, fue posible correlacionar los efectos subjetivos de los estímulos, en cuanto al placer, con las señales BOLD, medidas en cada una de las pruebas.

Tabla 15.1 – Estímulos y abreviaturas utilizados en la investigación de McCabe & Rolls (2007) sobre el placer del sabor umami producido por la convergencia del gusto del glutamato monosódico y un aroma armónico.

GMS	0,1 M GMS + 0,005 M inosina-5'-monofosfato
GMSV	0,1 M GMS + 0,005 M inosina-5'-monofosfato + 0,4% aroma vegetal
NaCl	0,1 M NaCl
NaClV	0,1 M NaCl + 0,4% aroma vegetal
GMSR	0,1 M GMS + 0,005 M inosina-5'- monofosfato + 2% aroma de ron
tl	25 mM KCl + 2,5 mM NaHCO ₃ (control insípido)
tlV	25 mM KCl + 2,5 mM NaHCO ₃ + 0,4% aroma vegetal

Fuente: McCabe & Rolls, 2007.

Los niveles de placer, armonía y satisfacción del sabor se muestran en la Figura 15.3. La combinación de GMS y aroma vegetal fue clasificada como significativamente más agradable que el GMS puro ($p < 0,015$). La combinación de GMS y aroma vegetal fue clasificada como más agradable que la combinación de NaCl y aroma vegetal (Figura 15.3). En un test de ANOVA de doble vía ($F[1,11] = 22,05$, $p < 0,001$), se demostró que el aumento en el grado de placer fue mayor cuando al aroma vegetal se le añadió GMS, que cuando se les añadió NaCl. Este último, en verdad, produjo una disminución del placer (Figura 15.3). La adición de NaCl causó efectos de interacción similares a aquellos ocurridos al adicionar el aroma vegetal al GMS, en relación a la armonía ($F[1,11]=12,03$ $p < 0,005$), y a la plenitud del sabor ($F[1,11]=5,92$, $p < 0,03$).

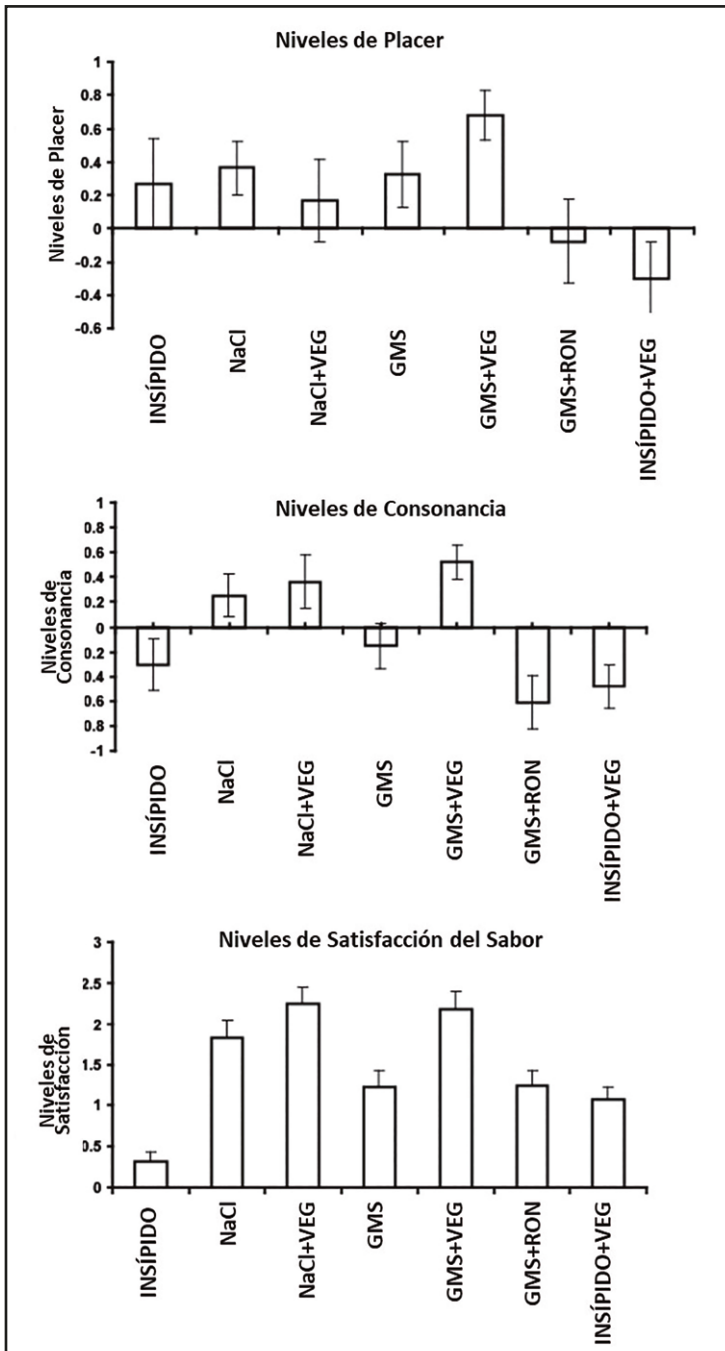


Figura 15.3 – Niveles de placer, armonía y plenitud de sabor (media \pm DE) en la investigación sobre el placer del sabor umami, producido por la convergencia del gusto del GMS y un aroma armónico.

Fuente: McCabe & Rolls, 2007. (umratings2.eps).

Uno de los focos principales de las investigaciones de McCabe & Rolls fue sobre la posibilidad de que la combinación del gusto de GMS con un aroma vegetal armónico, produjera activación selectiva de algunas regiones cerebrales. En este caso fueron utilizadas hortalizas como aroma vegetal armónico. Para probar esta hipótesis, se determinó por fMRI el contraste entre los efectos de la mezcla de GMS y verduras (GMSV), y la suma de las activaciones para GMS y verduras presentadas separadamente (Figura 15.4). Este contraste, entonces, es el de una adición supralineal, usada como un indicador de la interacción entre los componentes olfativos y gustativos, el cual revela un efecto altamente significativo en la corteza orbitofrontal medial centrado en $([-6\ 52\ -14] Z=3,96)$, factor de corrección $p=0,002$, que se extiende hasta la corteza cingulada progenual. Además, una parte del estriado ventral/tubérculo olfatorio, que recibe señales de la corteza orbitofrontal, mostró una activación supralineal significativa. Es de destacar que no hubo evidencia de esta supralinealidad en la ínsula gustativa, ni en la ínsula agranular. Los efectos supralineales fueron mucho menos (significativamente menos) evidentes para el cloruro de sodio y el sabor vegetal. Adicionalmente, la activación en estas regiones del cerebro fue correlacionada con el carácter agradable y satisfactorio del sabor, y con la armonía de los componentes del gusto y el olfato (McCabe & Rolls, 2007).

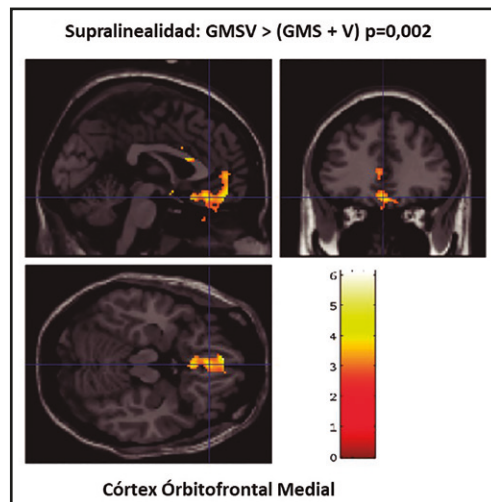


Figura 15.4 – Grado de adición entre GMS y un aroma vegetal armónico. Es presentado el contraste de la mezcla de GMS y aroma vegetal (GMSV), con la suma de las activaciones del GMS y el aroma vegetal presentados separadamente (GMS+V). Efecto altamente significativo en la corteza orbitofrontal centrado en $[-6\ 52\ -14]$ $fc\ p=0,002$, que con la activación se extendió a la corteza cingulada progenual.

Fuente: McCabe & Rolls, 2007. (SLMSGVofc2.eps).

Se propuso entonces, que el glutamato actúa vía efectos no lineales en regiones multimodales de convergencia cortical entre gusto y aroma, cuando en combinación con un aroma armónico. De esta forma, se plantea la idea de que a nivel conceptual el umami puede ser pensado como un sabor rico y delicioso que se produce por una combinación del gusto del glutamato y un aroma agradable y armónico. El glutamato es, de este modo, un potenciador del sabor, debido a la forma como puede combinarse supralinealmente con aromas armónicos en áreas corticales, donde las vías gustativas y olfativas convergen mucho más allá de los receptores y donde el placer del sabor se representa.

10. MODULACIÓN COGNITIVA DE RESPUESTAS EMOCIONALES AL SABOR Y GUSTO UMAMI

Fue mencionado anteriormente que un factor importante en la palatabilidad del umami es la combinación del gusto del glutamato con un aroma complementario y armónico. Otro factor importante para hacer el umami agradable es el rótulo cognitivo o la descripción asociada, ya sea al gusto del glutamato o al sabor umami, tal como lo demostraron Grabenhorst *et al.* (2008a). El estímulo gustativo del GMS (0,1 M) con IMP (0,005 M) que produce el gusto umami, fue rotulado, a través de un estímulo visual, y calificado como “un gusto rico y delicioso” (GMS-“rico”) o como “glutamato monosódico” considerado como básico (GMS-“básico”). De la misma forma, se rotuló el estímulo del sabor producido por la combinación del GMS con un aroma vegetal (GMSV-“rico”), en contraste con el “agua de hortalizas hervidas” (GMSV-“básico”). Al inicio del experimento, los sujetos de la investigación no fueron informados exactamente acerca de cuál estímulo gustativo o de sabor estaban colocando en la boca. La Figura 15.5 muestra que el GMS fue clasificado como significativamente más agradable cuando fue rotulado como “gusto rico y delicioso” que cuando fue rotulado como “glutamato monosódico” ($p=0,002$). De manera similar, el GMSV fue considerado como significativamente más agradable cuando fue rotulado como “sabor rico y delicioso”, que cuando se rotuló como “agua de hortalizas hervidas” ($p=0,003$). Adicionalmente, los rótulos no produjeron diferencias significativas en la clasificación de la intensidad de las mediciones del GMS.

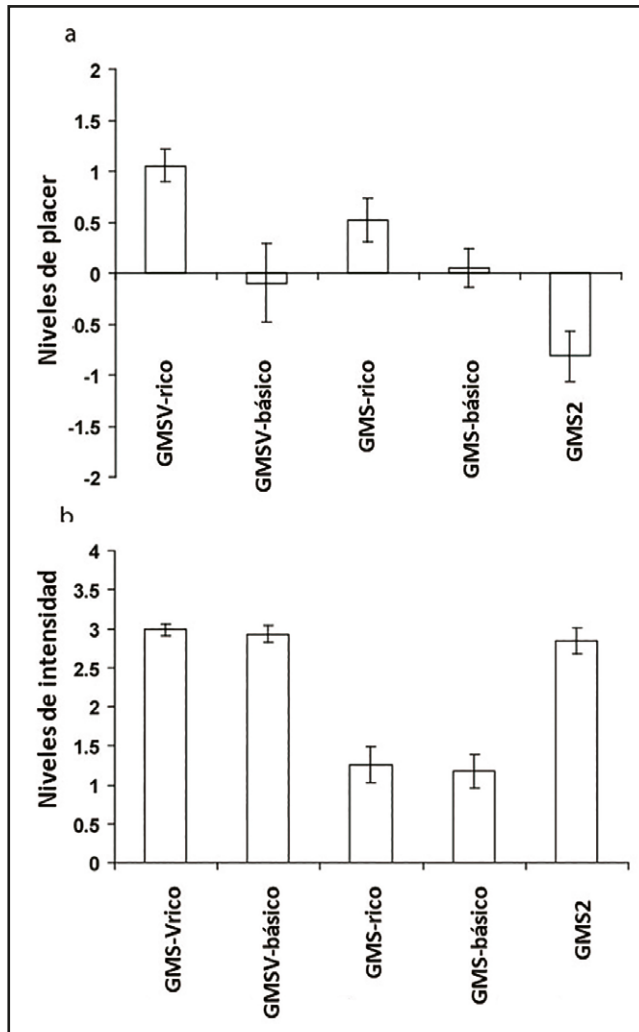


Figura 15.5 – Clasificación del placer (a) e intensidad (b) del gusto umami y del estímulo del sabor (media \pm DE). El estímulo gustativo del GMS fue clasificado como significativamente más agradable cuando se rotuló como “gusto rico y delicioso” que cuando se rotuló como “glutamato monosódico”. De manera similar, el estímulo de sabor do GMSV se calificó como significativamente más agradable cuando se rotulaba como “sabor rico y delicioso” que cuando se rotulaba como “agua de hortalizas hervida”. A diferencia de los efectos en los niveles de placer, los rótulos no produjeron diferencias significativas en los niveles de intensidad del gusto y el estímulo del sabor. Estos hallazgos proporcionan una clara evidencia de que los rótulos cognitivos modulaban la percepción del placer, pero no la intensidad del gusto y el sabor. El estímulo gustativo del GMS más concentrado (GMS2) se clasificó como significativamente menos agradable y más intenso que el estímulo gustativo rotulado idénticamente como GMS básico. En este caso, los rótulos eran idénticos (“glutamato monosódico”), y esto nos trae evidencia de que el gusto percibido también reflejaba las propiedades del estímulo (concentración baja *versus* alta).

Fuente: Grabenhorst *et al.*, 2008a. (Ratingsreview.eps).

La comparación GMSV-“rico” vs GMSV-“básico” mostró efectos significativos en la corteza orbitofrontal medial. Esta región fue más fuertemente activada cuando el estímulo gustativo fue rotulado como “sabor rico y delicioso” que cuando fue rotulado como “agua de hortalizas hervidas” (en [-8 28 -20] Figura 15.6a, la señal BOLD, para las dos condiciones, se muestran en la Figura 15.6b, y los picos fueron significativamente diferentes como mostrado en la Figura 15.6c). Se observa, entonces, que las palabras en los rótulos influenciaron las activaciones producidas por el sabor umami en esta área. Aún más, las activaciones en la corteza orbitofrontal medial reflejaron el placer del estímulo, como mostrado por la correlación con los niveles subjetivos del placer causados por el estímulo del rotulado (GMSV-“rico”, GMSV-“básico”, GMS-“rico” y GMS-“básico”) (La Figura 15.6d, muestra la señal BOLD en función de las clasificaciones). De este modo, en la corteza orbitofrontal, las activaciones generadas por los estímulos gustativos y de sabor fueron también moduladas por las palabras de los rótulos. Esta modulación cognitiva fue realizada a través de las activaciones relacionadas al placer generado por estos estímulos. Activaciones por el gusto del glutamato, promovidas e influenciadas por la terminología utilizada no rótulo, fueron moduladas en una región que recibe señales de la corteza orbitofrontal (la corteza cingulada pregenual), mientras que las activaciones por el gusto del glutamato como sabor umami fueron moduladas en otra región que recibe señales de la corteza orbitofrontal (el cuerpo estriado ventral). Una investigación relacionada demostró que los efectos de rótulos cognitivos *top-down* (de arriba para abajo) registrados solo en estas áreas eran relativamente débiles, y que los grandes efectos fueron registrados cuando había interacción entre los estímulos recibidos (de Araujo *et al.*, 2005). Entonces, se puede entender que el mecanismo influye en la competencia sesgada de arriba hacia abajo, similar a la involucrada en la atención de arriba hacia abajo (Rolls & Deco, 2002; Deco & Rolls, 2003; Deco & Rolls 2005; Rolls, 2008b). No se encontraron modulaciones cognitivas relacionadas con la emoción en la corteza gustativa insular (primaria), donde se representaba la intensidad, pero no el placer del gusto. Grabenhorst *et al.* (2008a) llegaron a la conclusión de que los efectos cognitivos en el nivel del lenguaje *top-down* alcanzan niveles muy bajos en las áreas corticales que representan el valor apetitivo del gusto y el sabor. Esta es una forma importante en la que la cognición influye en los mecanismos neuronales que controlan el placer del gusto del glutamato y del umami y, por lo tanto, el apetito.

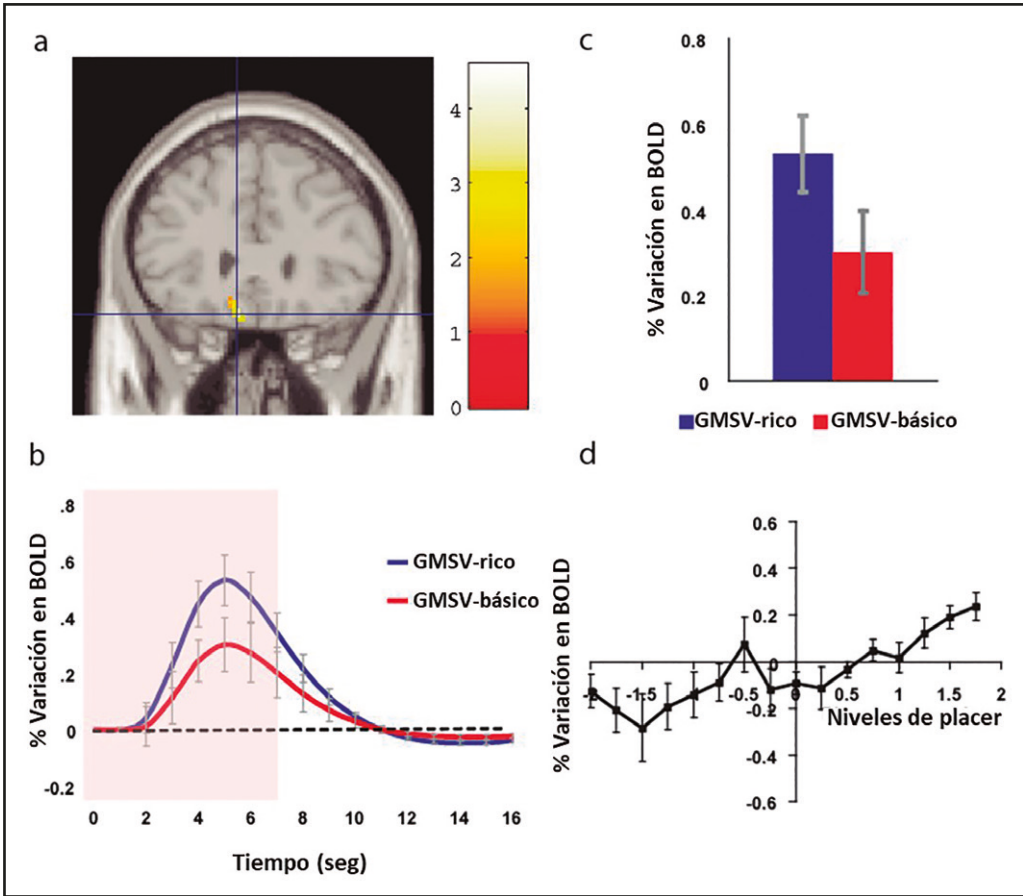


Figura 15.6 – (a) Fuerte activación de la corteza orbitofrontal medial cuando el estímulo gustativo fue rotulado como “sabor rico y delicioso” (GMSV-rico) en comparación cuando era rotulado como “agua de hortalizas hervida”. (GMSV-básico) ([-8 28 -20]); (b). variación de las señales BOLD en función del tiempo para las dos condiciones estudiadas; (c). valores máximos de la señal BOLD (media entre individuos \pm DP) fueron significativamente diferentes ($t=3.06$, $df=11$, $p=0,01$); (d). señal BOLD en la corteza orbitofrontal medial correlacionada con los niveles subjetivos del placer, del gusto y del sabor (media entre individuos \pm DP, $r=0,86$, $p<0,001$).

Fuente: Grabenhorst *et al.*, 2008a. (mOFC_Fig3review3.eps).

11. INFLUENCIA DE LAS PERCEPCIONES EN EL PROCESAMIENTO DEL ESTÍMULO UMAMI

¿Cómo las emociones influyen en el procesamiento del umami?. Grabenhorst & Rolls (2008) demostraron que, cuando se presta atención al placer del

gusto o sabor umami (en experimentos en que se le solicitó a cada participante, al inicio de la prueba, que clasificara el nivel de placer causado por los estímulos), el procesamiento en regiones del cerebro tales como la corteza orbitofrontal y corteza gustativa insular primaria se potencializa. Aún más, el placer subjetivo del gusto umami fue correlacionado con activaciones asociadas al gusto en la corteza orbitofrontal, mientras que la intensidad subjetiva del gusto umami fue correlacionada con activaciones en la corteza gustativa primaria. De este modo, dependiendo del contexto en el cual los gustos son presentados y de si el impacto emocional es relevante, el cerebro responde a un estímulo gustativo de forma diferente. Este sesgo diferencial de las regiones del cerebro involucradas en el procesamiento de un estímulo sensorial, dependiendo de cómo es la demanda cognitiva para eventos relacionados a las emociones *versus* el procesamiento de eventos relacionados a las sensaciones, puede ser un importante aspecto de cognición y atención. Esto tiene muchas implicaciones para la investigación y comprensión, tanto desde un enfoque psicológico como neurológico, de los efectos no solo del gusto, sino también de otros estímulos sensoriales, incluyendo el estímulo olfatorio (aromas) (Rolls *et al.*, 2008). Adicionalmente, pone de manifiesto el valor de la atención selectiva ya que, cuando se evalúa el estímulo umami, puede ser muy importante el hecho de dirigir la atención hacia las propiedades físicas de los estímulos (como la intensidad), o al valor afectivo de los estímulos (como el placer). Aún más, los sistemas cerebrales participan de formas diferentes, en función de la dirección de estos dos tipos de atención.

12. CONSIDERACIONES FINALES

A nivel neuronal, existen representaciones del gusto del glutamato diferentes de las de otros estímulos gustativos, tanto en la corteza gustativa primaria como en la corteza orbitofrontal. También, algunas neuronas combinan el gusto de glutamato con estímulos olfatorios, visuales, y de textura y temperatura oral, y el valor de recompensa del gusto de glutamato es representado por neuronas en la corteza orbitofrontal. En humanos, el glutamato activa las cortezas gustativas primaria (insular), secundaria (orbitofrontal) y pregenual cingulada (terciaria), y la sensación de placer del umami es producida por la combinación del gusto del glutamato con un aroma armónico en áreas que van mucho más allá de los receptores del gusto umami, en la corteza orbitofrontal y en las cortezas cinguladas y pregenual. También, los efectos cognitivos alcanzan profundamente la corteza orbitofrontal, para influenciar el placer del sabor y del gusto umami. Si la atención se dirige a las propiedades físicas del umami o a su valor emocional,

hay efectos moduladores *top-down* en diferentes sistemas de procesamiento cortical activados por el umami. De modo general, el procesamiento cortical para el sabor umami es importante, e a su vez permite entender cómo funciona el umami para promover un delicioso y rico sabor en los alimentos. Esto también tiene importantes implicaciones para entender el uso del sabor umami para promover una buena nutrición.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAYLIS, L. L. & ROLLS, E. T. “Responses of neurons in the primate taste cortex to glutamate”. *Physiol Behav.* 49(5): 973-979, 1991.

BAYLIS, L. L.; ROLLS, E. T. & BAYLIS, G. C. “Afferent connections of the orbitofrontal cortex taste area of the primate”. *Neuroscience.* 64(3): 801-812, 1995.

BEAUCHAMP, G. K. & PEARSON, P. “Human development and umami taste”. *Physiol Behav.* 49(5): 1009-1012, 1991.

CHAUDHARI, N.; LANDIN, A. M. & ROPER, S. D. “A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor”. *Nat Neurosci.* 3(2): 113-119, 2000.

CRITCHLEY, H. D. & ROLLS, E. T. “Olfactory neuronal responses in the primate orbitofrontal cortex: analysis in an olfactory discrimination task”. *J Neurophysiol.* 75(4):1659-1672, 1996a.

CRITCHLEY, H. D. & ROLLS, E. T. “Hunger and satiety modify the responses of olfactory and visual neurons in the primate orbitofrontal cortex”. *J Neurophysiol.* 75(4): 1673-1686, 1996b.

DE ARAUJO, I. E. T. *et al.* “Representation of umami taste in the human brain”. *J Neurophysiol.* 90(1):313-319, 2003a.

DE ARAUJO, I. E. T. *et al.* “Taste-olfactory convergence, and the representation of the pleasantness of flavour, in the human brain”. *Eur J Neurosci.* 18(7): 2059-2068, 2003b.

DE ARAUJO, I. E. T. *et al.* “Cognitive modulation of olfactory processing”. *Neuron.* 46(4): 671-679, 2005.

DECO, G. & ROLLS, E. T. “Attention and working memory: a dynamical model of neuronal activity in the prefrontal cortex”. *Eur J Neurosci.* 18(8): 2374-2390, 2003.

- DECO, G. & ROLLS, E. T. “Neurodynamics of biased competition and co-operation for attention: a model with spiking neurons”. *J Neurophysiol.* 94(1): 295-313, 2005.
- GRABENHORST, F. & ROLLS, E. T. “Selective attention to affective value alters how the brain processes taste stimuli”. *Eur J Neurosci.* 27(3): 723-729, 2008.
- GRABENHORST, F.; ROLLS, E. T. & BILDERBECK, A. “How cognition modulates affective responses to taste and flavor: top-down influences on the orbitofrontal and pregenual cingulate cortices”. *Cereb Cortex.* 18(7): 1549-1559, 2008a.
- GRABENHORST, F.; ROLLS, E. T. & PARRIS, B. A. “From affective value to decision-making in the prefrontal cortex”. *Eur J Neurosci.* 28: 1930-1939, 2008b.
- KADOHISA, M.; ROLLS, E. T. & VERHAGEN, J. V. “Neuronal representations of stimuli in the mouth: the primate insular taste cortex, orbitofrontal cortex, and amygdale”. *Chem Senses.* 30(5): 401-419, 2005.
- KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. *Umami: a basic taste.* New York, Dekker, 1987.
- MARUYAMA, Y. *et al.* “Umami responses in mouse taste cells indicates more than one receptor”. *J Neurosci.* 26(8): 2227-2234, 2006.
- MCCABE, C. & ROLLS, E. T. “Umami: a delicious flavor formed by convergence of taste and olfactory pathways in the human brain”. *Eur J Neurosci.* 25(6):1855-1864, 2007.
- NORGREN, R. “Central neural mechanisms of taste”. In: DARIEN-SMITH, I. *Handbook of physiology - The nervous system III. Sensory processes I.* Washington, American Physiological Society, 1984, pp. 1087-1128.
- O'DOHERTY, J. *et al.* “The representation of pleasant and aversive taste in the human brain”. *J Neurophysiol.* 85(3): 1315-1321, 2001.
- RIFKIN, B. & BARTOSHUK, L. M. “Taste synergism between monosodium glutamate and disodium 5'-guanylate”. *Physiol Behav.* 24(6): 1169-1172, 1980.
- ROLLS, E. T. “The representation of umami taste in the taste cortex”. *J Nutrit.* 130(4S Suppl): S960-S965, 2000.
- ROLLS, E. T. “The representation of umami taste in the human and macaque cortex”. *Sensory Neuron.* 3(3): 227-242, 2001.

ROLLS, E. T. “Brain mechanisms that analyse umami taste and their relation to the control of feeding”. In: ELMADFA, I.; ANKLAM, E. & KONIG, J. S. *Forums in nutrition 56: Modern aspects of nutrition - Present knowledge and future perspectives*. Basel, Karger, 2003, pp. 84-87.

ROLLS, E. T. *Emotion explained*. Oxford, Oxford University Press, 2005.

ROLLS, E. T. “Understanding the mechanisms of food intake and obesity”. *Obes Rev.* 8(Suppl 1): 67-72, 2007a.

ROLLS, E. T. “Sensory processing in the brain related to the control of food intake”. *Proc Nutr Soc.* 66(1): 96-112, 2007b.

ROLLS, E. T. “Functions of the orbitofrontal and pregenual cingulate cortex in taste, olfaction, appetite and emotion”. *Acta Physiol Hung.* 95(2): 131-164, 2008a.

ROLLS, E. T. *Memory, attention, and decision-making: a unifying computational neuroscience approach*. Oxford, Oxford University Press, 2008b.

ROLLS, E. T. “From reward value to decision-making: neuronal and computational principles”. In: DREHER, J. C. & TREMBLAY, L. (ed.). *Reward and decision-making*. Amsterdam, Elsevier, 2009.

ROLLS, E. T. & BAYLIS, L. L. “Gustatory, olfactory, and visual convergence within the primate orbitofrontal cortex”. *J Neurosci.* 14(9): 5437-5452, 1994.

ROLLS, E. T. & DECO, G. *Computational neuroscience of vision*. Oxford, Oxford University Press, 2002.

ROLLS, E. T. & SCOTT, T. R. “Central taste anatomy and neurophysiology”. In: DOTY, R. L. (ed.). *Handbook of olfaction and gustation*. 2. ed. New York, Dekker, 2003, pp. 679-705.

ROLLS, E. T. & GRABENHORST, F. “The orbitofrontal cortex and beyond: from affect to decision-making”. *Progress in Neurobiology.* 86(3): 216-244, 2008.

ROLLS, E. T.; SIENKIEWICZ, Z. J. & YAXLEY, S. “Hunger modulates the responses to gustatory stimuli of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey”. *Eur J Neurosci.* 1(1): 53-60, 1989.

ROLLS, E. T.; YAXLEY S. & SIENKIEWICZ, Z. J. “Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey”. *J Neurophysiol.* 64: 1055-1066, 1990.

ROLLS, E. T.; KRINGELBACH, M. L. & DE ARAUJO, I. E. T. "Different representations of pleasant and unpleasant odors in the human brain". *Eur J Neurosci.* 18(3): 695-703, 2003.

ROLLS, E. T. *et al.* "The responsiveness of neurones in the frontal opercular gustatory cortex of the macaque monkey is independent of hunger". *J Physiol.* 397: 1-12, 1988.

ROLLS, E. T. *et al.* "Orbitofrontal cortex neurons: role in olfactory and visual association learning". *J Neurophysiol.* 75(5): 1970-1981, 1996a.

ROLLS, E. T. *et al.* "Responses of neurons in the primate taste cortex to the glutamate ion and to inosine 5'-monophosphate". *Physiol Behav.* 59(4-5): 991-1000, 1996b.

ROLLS, E. T. *et al.* "Selective attention to affective value alters how the brain processes olfactory stimuli". *J Cogn Neurosci.* 20(10): 1815-1826, 2008.

SCOTT, T. R. & PLATA-SALAMAN, C. R. "Taste in the monkey cortex". *Physiol Behav.* 67(4): 489-511, 1999.

SCOTT, T. R. *et al.* "Gustatory responses in the frontal opercular cortex of the alert cynomolgus monkey". *J Neurophysiol.* 56(3): 876-890, 1986.

SMALL, D. M. & PRESCOTT, J. "Odor/taste integration and the perception of flavor". *Exp Brain Res.* 166(3-4): 345-357, 2005.

SMALL, D. M. *et al.* "Human cortical gustatory areas: a review of functional neuroimaging data". *Neuro Report.* 10(1): 7-14, 1999.

VERHAGEN, J. V.; KADOHISA, M. & ROLLS, E. T. "The primate insular/opercular taste cortex: neuronal representations of the viscosity, fat texture, grittiness, temperature and taste of foods". *J Neurophysiol.* 92(3): 1685-1699, 2004.

WILSON, J. L. *et al.* "Fast, fully automated global and local magnetic field optimisation for fMRI of the human brain". *Neuroimage.* 17(2): 967-976, 2002.

YAMAGUCHI, S. "The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate". *J Food Sci.* 32(4): 473-478, 1967.

YAMAGUCHI, S. & KIMIZUKA, A. "Psychometric studies on the taste of monosodium glutamate". In: FILER, L. J. *et al.* *Glutamic Acid: Advances in Biochemistry and Physiology.* New York, Raven Press, 1979, pp. 35-54.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “Umami and food palatability”. *J Nutrit.* 130(4S Suppl): 921S-926S, 2000.

YAXLEY, S.; ROLLS, E. T. & SIENKIEWICZ, Z. J. “The responsiveness of neurons in the insular gustatory cortex of the macaque monkey is independent of hunger”. *Physiol Behav.* 42(3): 223-229, 1988.

YAXLEY, S.; ROLLS, E. T. & SIENKIEWICZ, Z. J. “Gustatory responses of single neurons in the insula of the macaque monkey”. *J Neurophysiol.* 63(4):689-700, 1990.

ZATORRE, R. J. *et al.* “Functional localization of human olfactory cortex”. *Nature.* 360(6402): 339-340, 1992.

ZHAO, G. Q. *et al.* “The receptors for mammalian sweet and umami taste”. *Cell.* 115(3): 255-266, 2003.

UMAMI EN EL MUNDO DE LA GASTRONOMÍA

*Kumiko Ninomiya
Ana San Gabriel*

1. ¿QUÉ COMPONENTE HACE EL SABOR DE LOS ALIMENTOS APETITOSO?

Existe una gran variedad de culturas culinarias en el mundo, las cuales reflejan las formas de vida y las condiciones climáticas locales. La cultura culinaria y los hábitos alimentarios incorporan algunos de los factores que determinan el patrón básico desde el que una gastronomía considera un sabor agradable o repulsivo. A la hora de comer, hacemos uso de la visión y del olfato, así como de las sensaciones sutiles del gusto y del tacto dentro de la boca, a fin de juzgar si los alimentos que deseamos ingerir son frescos o ricos en nutrientes o si por lo contrario están en mal estado. Tras esta discriminación inicial, si la experiencia de probar estos alimentos es placentera los continuaremos comiendo y concluiremos que el sabor es agradable. De este modo, si la impresión de algo que comimos por primera vez es positiva, la próxima vez que lo encontremos nos entrarán ganas de volver a comerlo ante la expectativa de que saciará nuestro deseo. En cambio, si tras la ingesta de este alimento en particular, como por ejemplo suele suceder con los moluscos crudos, enfermamos con diarrea o fiebre, ciertamente, la próxima vez que nos ofrezcan moluscos no nos apetecerán. Este tipo de respuesta es un mecanismo de defensa del organismo que se conoce como evita-

ción condicionada. A través de nuestros hábitos alimentarios cotidianos vamos almacenando en la memoria las texturas, aromas y gustos de los alimentos. Esta información gustativa, olfativa y visual se transmite al cerebro a través del sistema nervioso, y este la compara con otras experiencias pasadas y decide si un alimento dado es deseable.

Existe una gran variedad de factores que determinan si un alimento es más o menos apetecible. Por ejemplo, es difícil sentirse satisfecho al comer cuando nos rodea una atmósfera tensa o cuando no nos encontramos bien (factores psicológicos y de salud). Si nos mudamos a un área o ambiente diferente de aquel donde crecimos, puede suceder que perdamos el apetito debido a que los alimentos o los hábitos alimentarios no nos son familiares. También es natural que a alguien le guste comer y encuentre la comida sabrosa en la mesa con la familia o rodeado de buenos amigos (entorno de la comida). Además de estos factores indirectos, otros elementos acerca de los propios alimentos, tales como el color, el brillo o la forma, también influyen en el apetito y en la percepción de lo delicioso que es. Nos apetece comer calientes los platos recién hechos en el fuego o en el horno y fríos los que se enfrían. También es importante, en la apreciación de la buena comida, sentir si el alimento es suave al contacto con la lengua o si se rompe en la boca o si hace ruido cuando se mastica. Pero, aunque existen numerosos factores que determinan si un alimento es sabroso o agradable al paladar, uno de los más importantes es el gusto, la apreciación de los cinco gustos básicos: dulce, ácido, salado, amargo y umami. Umami es esencial para el buen sabor de los alimentos. El que la comida nos sepa bien resulta de una evaluación exhaustiva pero a la vez subjetiva de elementos como el gusto, el aroma, la textura y la temperatura; además de otros factores como la apariencia, el color y la forma, así como nuestra condición física, el entorno que nos rodea, la cultura y nuestras experiencias anteriores (Figura 16.1).

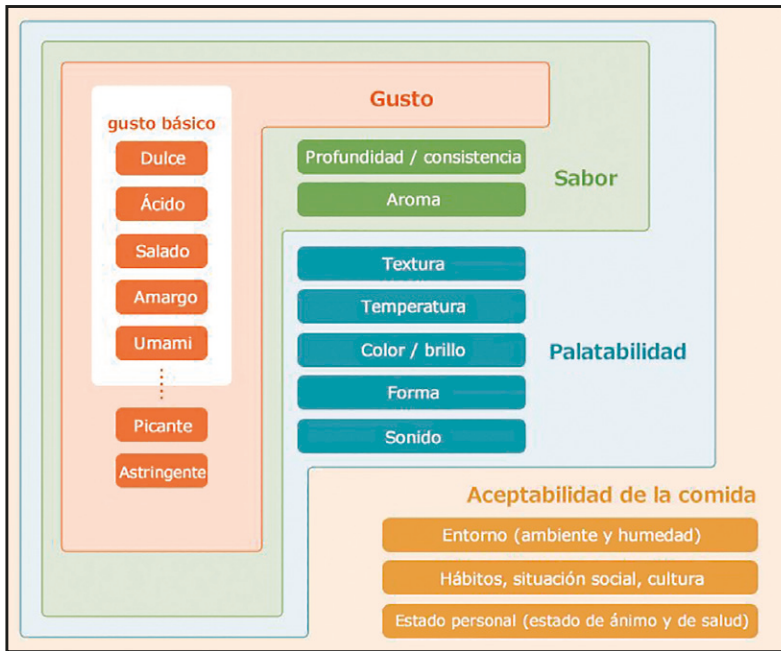


Figura 16.1 – ¿Cómo experimentamos los alimentos?.

Fuente: *Umami Information Center*, <https://www.umamiinfo.com/>.

En Occidente, los científicos han reconocido tradicionalmente cuatro gustos básicos: dulce, ácido, salado y amargo. A diferencia de lo que pasa con los sabores, los cuales requieren múltiples y concomitantes sensaciones, el gusto implica solamente una sensación única. Por muchos años, el evasivo quinto gusto o umami fue rechazado por científicos mientras *chefs* alrededor del mundo lo adoptaron. El umami se describe generalmente como ‘sabroso’, ‘típico del caldo de gallina’ o ‘relacionado con el gusto de la carne’, y procede de la palabra japonesa *umai* que significa “delicioso”. Brillat-Savarin, en su clásico tratado de 1825 *La Fisiología del Gusto*, propuso el nombre “*osmazome*” para identificar la esencia del gusto típico de la carne (Brillat-Savarin & Fisher, 1978); no obstante, no logró aislar la sustancia clave. Pese a existir desde hace miles de años, solo a fines del siglo XIX, un químico alemán logró aislar el ácido glutámico a partir del gluten del trigo. Y solo en 1908, el profesor japonés, Kikunae Ikeda, de la Universidad Imperial de Tokio, se dedicó al estudio del glutamato usando ingredientes de la cocina japonesa tradicional que contenían el rico sabor de sus platos tradicionales. A partir de caldos preparados con el alga deshidratada *Kombu*, Ikeda aisló el glutamato y descubrió que era responsable del gusto umami cuando se encontraba en la forma de sal y no como ácido glutámico (Ikeda, 1909).

La estructura del ácido glutámico ya había sido descrita por Ritthausen en 1866 (Vickery, 1931) y por Fischer (Fischer, 1906), quien posteriormente observó que tenía un gusto levemente ácido e insípido. De esta forma, Fischer no notó que el glutamato producía un gusto único, diferente de los cuatro gustos básicos clásicos. Vale la pena destacar que, en la mayoría de los alimentos, el pH se aproxima a la neutralidad y en estas condiciones el glutamato está presente casi exclusivamente en forma de sal. A pesar de que Ikeda aisló el ácido glutámico, en sus estudios lo preparó y lo probó en forma de sal. Hoy se sabe que varias de las sales solubles de glutamato: con Na (sodio), K (potasio) o Ca (calcio) son responsables del gusto umami (Kurihara, 2009).

Desde los años 1980, se llevaron a cabo estudios acerca del umami en una gran variedad de especialidades, incluyendo la ciencia de los alimentos, la fisiología de la nutrición y del gusto, la neurociencia y la psicofísica. Gracias a estos estudios, el umami se reconoce hoy como uno de los cinco gustos básicos.

En el año 2000, investigadores en los Estados Unidos encontraron un receptor (receptor metabotrópico del glutamato variante tipo 4) candidato para el umami (glutamato) en la lengua de ratas de laboratorio (Chaudhari *et al.*, 2000). Desde entonces, otros investigadores identificaron varios receptores del gusto umami, sus mecanismos de recepción así como el efecto sinérgico entre el glutamato y los ribonucleótidos (Zhang *et al.*, 2008; Beauchamp, 2009; San Gabriel *et al.*, 2009; Mouritsen & Khandelia, 2012). Como consecuencia, los estudios científicos interdisciplinarios, con miras a un mayor entendimiento de los mecanismos cognitivos del umami en el cerebro, por ejemplo, se han intensificado en los últimos años con el interés de establecer la importancia fisiológica y nutricional de sustancias gustativas tales como el ácido glutámico.

El glutamato monosódico (GMS), ingrediente de condimentos y realizador del sabor, es altamente soluble, estable y de fácil conservación. En todo el mundo se usan al año cerca de dos millones de toneladas. El descubrimiento del umami por el químico Ikeda no fue simplemente el trabajo académico de un científico, sino que modificó significativamente el curso de la historia de la industria alimentaria, tras convertir el condimento umami en un producto comercialmente disponible. Kikunae Ikeda fue seleccionado por la *Japan Patent Office* como uno de los “Diez Grandes Inventores Japoneses” (<http://www.batfa.com/greatjapanese.html>).

Podría decirse, sin lugar a dudas, que alrededor de todo el mundo se ha comenzado a reconocer, a partir de diversas experiencias de las personas, que el gusto umami del glutamato (enraizado en la cultura alimentaria japonesa) mejora el gusto básico de los alimentos eficientemente.

2. DASHI, EL CALDO UMAMI EN JAPÓN

Las sustancias que mayormente estimulan el gusto umami son el glutamato, la inosina-5'-monofosfato (IMP) y la guanosina-5'-monofosfato (GMP). Dado que estas sustancias fueron descubiertas por científicos japoneses, es indudable que la cultura culinaria de Japón fue un factor determinante para el descubrimiento del quinto gusto básico. En Japón, el *dashi* es una base gastronómica importante, como un caldo para todas las ocasiones, y se prepara generalmente a partir de *kombu* (alga marina deshidratada), *katsuoishi* (virutas de pescado bonito deshidratado) y las setas *shiitake* deshidratadas. El *dashi*, que literalmente significa “extracto hervido”, tiene un gusto umami muy simple, comparado con el gusto del consomé de Occidente y China. A falta de carne, que es una rica fuente de umami, los japoneses aprendieron a extraer umami de algas marinas, pescados y verduras deshidratadas.

El umami a veces se describe en inglés como un “gusto típico de caldo” (el gusto de caldo de carne o de gallina), pero cuando se comparan caldos que tienen un contenido diverso de aminoácidos libres y de IMP, el caldo japonés *dashi* resalta como un caldo insólito no solo por la alta cantidad de aminoácidos umami como el glutamato y el aspartato, sino por la ausencia de otros aminoácidos que no son umami. La intensidad del gusto umami del aspartato es más o menos un décimo de la intensidad del glutamato. No es una exageración decir que el *kombu dashi* o *ichiban dashi*, preparado con *kombu* y bonito deshidratado, es un caldo con un gusto umami natural. Por otro lado, los caldos occidentales y el *tang* de la cocina china son ricos no solo en glutamato, sino también en otros aminoácidos. En esta mezcla compleja de tantos tipos de aminoácidos libres, es difícil discernir el umami (Figuras 16.2 y 16.3). Las sustancias umami se encuentran en numerosos alimentos, como tomates y quesos, así como en el *kombu* y bonito deshidratados, pero normalmente no solemos sentir el gusto umami por sí solo, aunque sea un componente común a todos ellos. Apreciamos, en cambio, el sabor característico de cada alimento, el sabor del tomate, en el caso de los tomates, y el sabor característico del queso, en el caso de los quesos.

Las pastillas de caldo se comercializaron por primera vez a finales del siglo XIX por el molinero suizo Julius Maggi (Heer, 1991), quien desarrolló un producto de preparación rápida, las sopas deshidratadas y pastillas en forma de cubo. De esta forma, las personas que no tenían dinero para comprar carne podían lograr una nutrición suficiente a bajo costo. Uno de los ingredientes clave de las pastillas era la proteína vegetal hidrolizada y esos hidrolizados producían el sabor típico de la carne. Entonces, no se sabía que uno de los componentes

importantes de esos hidrolizados a base de proteína vegetal era el glutamato; sin embargo, las pastillas de caldo revolucionaron la industria alimentaria en occidente. El “sabor a carne” que los europeos obtenían al disolver las proteínas vegetales en agua, seguramente satisfacía su paladar. El lanzamiento de las pastillas de caldo en Occidente y del condimento umami en Japón, sin duda, reflejan las diferencias evidentes entre ambas culturas culinarias tradicionales, la de Japón y la de Occidente.

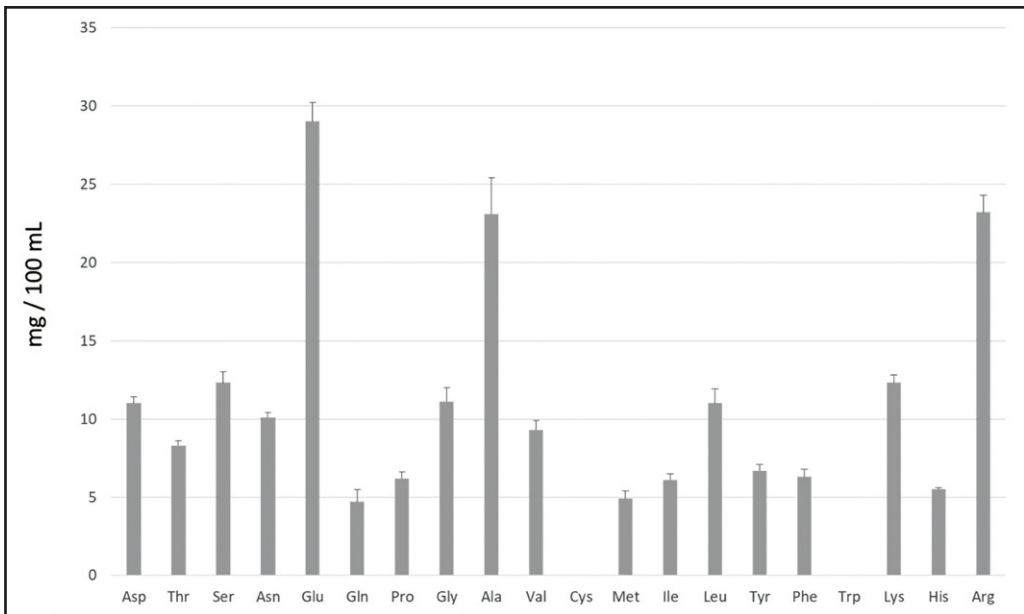


Figura 16.2 – Concentración de aminoácidos libres en un caldo estándar.

Fuente: figura adaptada a partir de Ninomiya *et al.*, 2010.

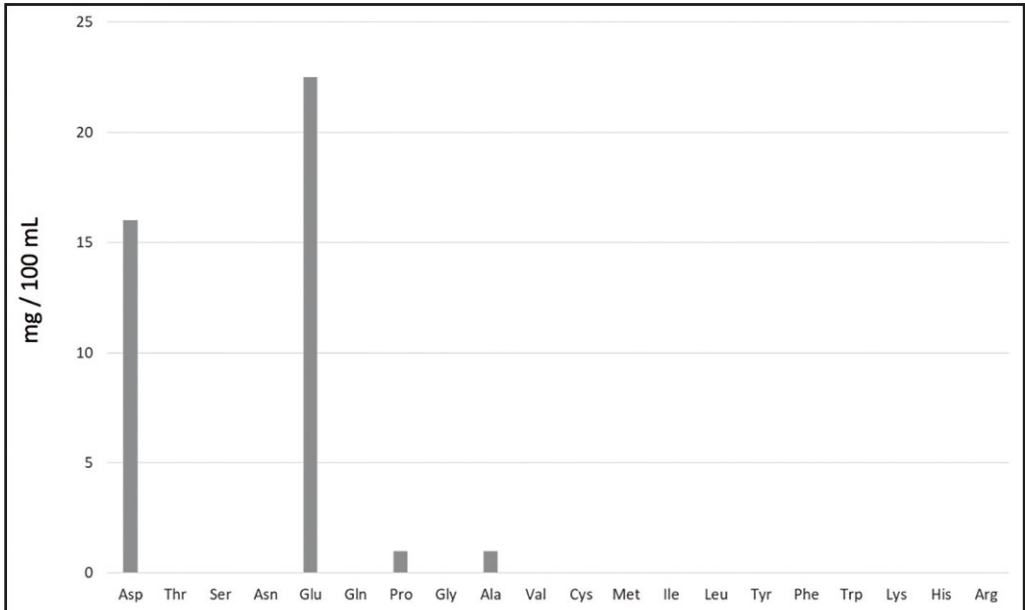


Figura 16.3 – Concentración de aminoácidos libres en *kombu dashi*.

Fuente: Kurihara, 2009.

3. ALIMENTOS RICOS EN UMAMI EN LA ARTE CULINARIA

Es interesante notar que, mucho antes de que se identificara oficialmente el umami como un gusto único, muchas civilizaciones utilizaban ya alimentos e ingredientes ricos en glutamato. La humanidad ha desarrollado formas diferentes para mejorar el sabor de la carne, el pescado, la leche, la soya, etc., a través de la fermentación, maduración o curación. Durante estos procesos, la cantidad de ácido glutámico aumenta a medida que la proteína libera los aminoácidos que la constituyen. Por lo general, la cantidad de ácido glutámico en proteínas de animales y plantas es de 20 a 40%. Eso significa que como resultado de la fermentación, maduración o curación, los alimentos contienen gusto umami. Además, al hervir en agua o calentar a fuego lento las carnes, pescados o verduras también se libera el glutamato de los tejidos de estos alimentos. Aunque cabe notar que a la temperatura normal de cocción, alrededor de 100 o 150 °C, no se digieren las proteínas. La cuestión es cómo lograr que el glutamato que no está unido a proteínas y se encuentra de forma natural en numerosos alimentos pase a ser parte de las sopas o salsas que preparamos. Existe una larga tradición en la combinación de ingredientes para la cocción de caldos que puede responder

a una combinación específica de glutamato y 5'-ribonucleótidos para potenciar el gusto umami. De hecho, en Japón, se sabe que las algas y el bonito dejan las sopas más sabrosas, en Francia, que la carne o el pescado y las verduras hacen los caldos más apetitosos y en Italia que el queso y el tomate cocinados con carne o frutos del mar producen platos más sabrosos.

3.1. Fermentación

A pesar de que los receptores gustativos para el umami hayan sido identificados solamente en el inicio de la década de los años 2000 (Chaudhari *et al.*, 2000, Li *et al.*, 2002), desde el punto de vista culinario, el gusto umami no es novedoso. Las salsas de pescado fermentado y los extractos concentrados de carne y verduras se han valorado por su gusto y aroma en la gastronomía mundial por más de 2000 años (Ninomiya, 2002) como por ejemplo el *garum* romano o *liquamen*, uno de los condimentos más antiguos, el *nam pla* tailandés, *nuoc mam tom cha* vietnamita, *terasi* indonesio, *ngapi* birmano, *bagoong* filipino o el *beef tea* británico.

En 1825, el gastrónomo francés Brillat-Savarin, en su obra *Fisiología del Gusto*, describió el gusto a carne como *osmazome* y predijo que el “futuro de la gastronomía pertenece a la química” (Brillat-Savarin & Fisher, 1978). Esta descripción de *osmazome* es similar a la interpretación japonesa del umami. Es la química de los alimentos con glutamato lo que ayuda a crear esa percepción del umami. Diversos tipos de alimentos fermentados alrededor del mundo son el mejor ejemplo de lo que varias civilizaciones han experimentado con el umami en tiempos antiguos. El *garum* puede haber sido la base del umami en la tradición culinaria italiana. La receta del *garum*, olvidada hace ya mucho tiempo, consistía esencialmente en un escabeche compuesto de pescados como la sardina, caballa, jurel y atún. Omnipresente en todos los platos de la cocina romana, su alto contenido de glutamato lo hacía un condimento ideal. Sin embargo, en el tercer siglo d.C. el *garum* desapareció de la cocina italiana y hoy los únicos vestigios de esa tradición culinaria antigua se encuentran en las anchoas saladas que acompañan algunos de los platos italianos contemporáneos. Existe una salsa de anchoa fermentada típica de Cetara, en la costa de Amalfi en el Sur de Italia, similar a la salsa de pescado *garum* producida por los antiguos romanos. La salsa es un subproducto del proceso de curación de las anchoas en capas de sal marina. El líquido rojizo y salado que suda de las anchoas se usaba en la antigua Roma como condimento rico en umami o como un sabroso sustituto a la sal. Apicius atestiguó en su libro de recetas romano que el *garum*, producido principalmente

en Italia, Turquía y España, era un condimento indispensable que se usaba frecuentemente en la antigua Roma y Grecia. De acuerdo con este libro de recetas, el *garum* se usaba en más de 80% de las recetas (Milham, 1969). Además, el perfil de aminoácidos libres (que no forman parte de la estructura de las proteínas) de varias salsas de pescado del Sureste Asiático es relativamente similar al del *garum* que actualmente se produce en Italia (Yoshida, 1998).

3.2. Tomate

Por lo general, cuando las verduras maduran se vuelven más sabrosas. Por ejemplo, el aumento progresivo de aminoácidos libres, ácidos orgánicos y de azúcares se ha relacionado con el sabor de los tomates maduros (Inaba *et al.*, 1980; Kader *et al.*, 1977). El ácido glutámico es el aminoácido libre predominante en la fruta y aumenta progresivamente en cantidad con el avance de la madurez (Tabla 16.1) (Inaba *et al.*, 1980). El *chef* británico y propietario del restaurante “*The Fat Duck*” con tres estrellas Michelin, Heston Blumenthal, y su equipo con científicos de la universidad de *Reading* investigaron cuál es la parte del tomate que posee más umami (Oruna-Concha, *et al.*, 2007). Según este estudio, diferentes variedades y formas de cultivo contribuyen a la variabilidad de los componentes gustativos. La concentración media de ácido glutámico en el tejido carnoso bajo la piel del tomate (mesocarpo y endocarpo) resultó ser menor a la de la pulpa interna, en particular la porción gelatinosa que contiene las semillas del tomate (lóculo con pulpa). En algunas variedades, la diferencia de concentración de ácido glutámico entre el tejido carnoso y la pulpa resultó ser mayor de seis veces. Así, durante la preparación de platos con tomates, se observó que el corazón del tomate (placenta del fruto y la pulpa circundante) posee mayor característica de gusto umami que la región de tejido carnoso periférico (mesocarpo y endocarpo). De hecho, la parte central del tomate que a menudo es desechada en las cocinas o en productos industrializados contiene más aminoácidos libres que la parte carnosa externa. Con base en los resultados de esta investigación, Blumenthal desarrolló nuevas recetas para aprovechar la parte gelatinosa de los tomates y propuso usos viables de la pulpa en productos derivados del fruto. Tradicionalmente, los tomates se incluyen en platos de carnes para potenciar su gusto umami característico. Se cree que sustancias umami como el GMS, el AMP (adenosina-5'-monofosfato) y el 5'-GMP de los tomates actúan sinérgicamente junto al 5'-IMP de las carnes.

Tabla 16.1 – Contenido de aminoácidos libres (mg/100 mL) en el lóculo (cavidad de consistencia gelatinosa que contiene las semillas) del fruto de tomate, en diferentes etapas de la maduración.

Aminoácido	Tomate verde	Tomate Verde maduro	Tomate cambio de color	Tomate color rosado	Tomate rojo	Tomate maduro	Tomate sobre maduro
Asp	54,9	25,5	22,1	26,1	39,1	51,5	63,9
Ser	109,1	81,9	75,3	59,9	48,8	53,8	52,2
Glu	20	20,7	29,7	74	143,3	175	262,7
Gly	3,2	2,5	1,8	1,6	1,5	1,8	1,8
Ala	1,3	6,1	5	4,2	4,6	7,4	10
Val	7,6	10,5	6,4	1,6	1,3	1,4	1,8
Met	1,2	0,9	1	1,3	1,6	1,4	22
Ile	8,4	6,7	5,3	2,5	2,1	2,6	3,4
Leu	3,7	3,1	3,0	3,3	4,0	4,2	5,0
Tyr	11,9	10,0	9,7	6,3	3,6	5,8	6,1
Phe	22,7	16,9	15,2	16,6	13,0	20,6	18,8
Lys	11,3	9,1	8,0	7,8	9,4	8,8	11,6
His	5,2	2,7	3,2	3,6	5,2	4,2	6,7
Arg	4,2	5,4	4,5	4,2	5,4	6,0	8,8

Ser: Incluye treonina, glutamina y asparagina.

Fuente: Inaba *et al.*, 1980.

Los tomates secos contienen una cantidad mayor de glutamato y de 5'-GMP y debido a ello, presentan un inigualable e intenso gusto umami. La típica salsa de tomate es la manera más simple de añadir un elemento sabroso y salado a una variedad de platos. La solución clara de tomates tras la filtración del puré de tomates se ha hecho popular entre los profesionales de la gastronomía. Aunque el color de la solución es claro, su gusto umami es intenso debido al alto contenido de glutamato y aspartato. Esta solución se suele utilizar para hacer gelatina transparente o *jelée* en demostraciones culinarias.

3.3. Hongos comestibles

Varios tipos de setas son una fuente de gusto umami en la elaboración de salsas, así como lo son los tomates y el queso. El 5'-GMP y el glutamato se encuentran en cantidades suficientes en diversas variedades de hongos como para participar en la aportación del gusto umami (Tabla 16.2). En China y en Japón, las setas *shiitake* secas son importantes para la cocción de caldos ya que, contienen 5'-GMP en abundancia. En Japón se comercializa una gran variedad

de setas *shiitake* secas. Estas variedades se evalúan según el tamaño, el grosor, la forma de los sombreros y el grado de sequedad. En el proceso de secado no solo se conserva mejor el producto, sino que también se intensifica el gusto umami de las setas. Los hongos secos, conocidos como “*porcini*”, se utilizan en Italia como condimento y como base de muchas sopas y caldos.

Tabla 16.2 – Contenido de aminoácidos libres y de guanosina-5'-monofosfato (5'-GMP) en variedades de setas.

Compuestos	Porcini seco	Setas de cardo	Morel seco	Shiitake fresco	Shiitake seco	Enoki fresco	Honshimeji fresco	Champiñón fresco
5'-GMP	10	10	40	0	150	0	0	0
Asp	106	85	28	8	70	7	90	11
Thr	116	38	59	49	100	33	30	25
Ser	194	91	99	39	80	27	39	19
Glu	77	314	311	71	1060	86	143	42
Pro	67	46	26	12	30	25	16	16
Gly	189	26	20	38	40	28	20	16
Ala	354	253	181	44	90	118	148	146
Val	73	36	29	26	40	36	28	23
Cys	11	7	0	15	20	44	10	17
Met	51	5	2	3	30	3	6	5
Ile	46	21	11	17	20	30	26	20
Leu	64	31	10	28	30	46	42	35
Tyr	25	58	37	15	70	55	20	12
Phe	38	41	10	21	50	91	32	30
Trp	27	8	4	11	20	15	7	19
Lys	62	21	100	33	140	84	49	19
His	27	13	46	21	120	51	35	21
Arg	188	14	1000	64	230	45	126	7

Fuente: Ninomiya, 1998.

3.4. Queso

El queso italiano, especialmente el queso *parmeseano*, es muy conocido en numerosos países y se puede encontrar en supermercados de todo el mundo. Los quesos italianos son muy diversos, desde el suave y cremoso *mozzarella* al queso duro *parmeseano*, considerado como el prototipo de umami (Ninomiya,

1998). La producción del queso *parmesano* demanda mucho trabajo y tiempo. Este queso requiere como mínimo un año para madurar. Durante este tiempo, la cantidad de glutamato en el queso va aumentando. La intensidad del gusto umami en el queso *parmesano* lo convierte en el acompañamiento ideal para una gran cantidad de platos, incluyendo la joya de la pasta italiana, los *espaguetis a la carbonara*. Un interesante artículo de S. L. Drake y colaboradores, enfocado específicamente en el gusto umami, muestra los componentes responsables del gusto umami en cuatro quesos *cheddar* y en cuatro quesos *suizos* (Drake *et al.*, 2007). En el artículo se cuantificaron siete compuestos diferentes y un análisis sensorial reveló que, tanto en los quesos *cheddar* como en los quesos *suizos*, el glutamato juega el papel más importante en el gusto umami. Drake *et al.* (2007) indican que este conocimiento permite potenciar la formación del gusto umami en quesos. La función de este gusto en el queso *emmental* fue verificada por investigadores europeos (Warmke *et al.*, 1996). Los componentes del queso *emmental* se agruparon en cuatro categorías, de acuerdo con cada tipo de gusto: dulce (por la prolina, alanina, glicina, treonina y serina); ácido y salado (por el ácido láctico, ácido succínico, Na, K, Mg, Ca, Cl, fosfato y amonio); amargo (por la valina, leucina, isoleucina, fenolftaleína, tirosina, histidina y lisina); gusto a caldo (por el glutamato); y la sensación de quemazón (por la tiramina e histamina). El perfil que incluyó la mezcla de los gustos ácido, salado, amargo y de caldo fue la más acorde con el gusto del queso *emmental*. El estudio sugirió que los ácidos acético, láctico, succínico y glutámico son moléculas potentes para dar sabor y que el ácido glutámico es el único componente en el queso *emmental* que promueve un gusto típico al de caldo, el umami.

4. EL DESCUBRIMIENTO DEL UMAMI POR LOS PROFESIONALES DE LA COCINA

Comer es una actividad fundamental para mantener nuestro cuerpo saludable. En los países desarrollados en los que se está adquiriendo cada vez más conciencia acerca de la salud se ha hecho popular una cocina que minimiza el uso de grasa animal, como la mantequilla y la nata. El afamado *chef* Heston Blumenthal, cuyas recetas aprovechan el umami del *kombu dashi* y en el *chiban dashi*, es vanguardista en este tipo de cocina saludable. De hecho, estamos hablando de un *chef* altamente refinado y que se aproxima al arte culinario desde una perspectiva científica.

Cuando el presentador británico Stefan Gates, que conduce un programa de TV para la BBC sobre ciencia y cocina, participó en un simposio en el Reino

Unido, organizado por el *Umami Information Center* (<https://www.umamiinfo.com/>), en 2005, dijo lo siguiente:

Entiendo, por la literatura, que el umami es un gusto básico y que está presente en tomates y queso, sin embargo, no logro entenderlo como un gusto en mi propia boca. Para ser sincero, no estoy seguro de haber sentido alguna vez el gusto umami.

Ese simposio fue uno de los eventos del mayor festival científico del Reino Unido y contó con la presencia de cerca de 250 personas interesadas en el umami, inclusive periodistas, *chefs* de cocina y otros interesados en la química de los alimentos o en la industria alimentaria con una visión similar a la de Stefan Gates. Realmente, el umami ha sido un gusto difícil para los occidentales. Durante el simposio, se distribuyeron *Bento kits* que contenían caramelos de *kombu*, tomates secos, queso *parmesano* entre otros ingredientes a todos los participantes. Todos los interesados en umami, investigadores, *chefs*, etc., intercambiaron observaciones basadas en la experiencia de cada uno mientras probaban esos alimentos e intentaban identificar un gusto común entre ellos. Al cierre del simposio, Gates comentó que había notado el umami como un gusto de larga duración que permanecía en la lengua incluso después de haber comido el tomate y el queso, y por fin entendió que el umami, también estaba presente en el *kombu dashi*.

El Centro de Información Umami (*Umami Information Center*, <https://www.umamiinfo.com/>) trata de relacionar lo que los participantes escucharon acerca del umami en el simposio con la experiencia de la sensación real del gusto umami a través de probar alimentos y bebidas ricas en umami como el té verde, *kombu* y *dashi*. Esto los motivó a sentir la sensación del umami por vez primera. De este modo, pese a no haber oído hablar del umami nunca antes, los participantes pudieron llegar a entender la sensación a la cual la palabra umami se refiere y, por deducción, el papel significativo de este quinto gusto en el arte culinario. El *chef* francés, Pascal Barbot, dueño del restaurante “París” de tres estrellas en la Guía Michelin, enfatizó las mejores cualidades de los ingredientes umami en un seminario en París en 2007. Comenzó explicando que cuando oyó hablar del umami por primera vez no entendió de qué se trataba; sin embargo, continuó diciendo, que al entenderlo mejor se convirtió en un aspecto enormemente importante en su cocina. Hoy, cuando al *chef* se le ocurre una idea nueva para cocinar, piensa en el papel del umami para optimizar y aprovechar los sabores involucrados. Barbot explicó la importancia de evaluar la cantidad de umami de cualquier plato dentro del contexto del salado, dulce, picante, etc. Según el *chef* inglés Heston Blumenthal:

Algunas personas no pueden detectar el umami si no se les enseña o se les hace conscientes previamente de su existencia, y para ello, probar el dashi puro es importante para entender la sensación real del gusto umami, porque es tan sutil y delicado.

Otro *chef* conocido, Wylie Dufresne, dueño de un restaurante en Nueva York, afirmó que el umami era un gusto indispensable para armonizar otros gustos. Pese a que el umami no es un gusto tan destacado como el dulce, el ácido, el salado o el amargo, este quinto gusto realza el sabor de los alimentos, haciéndolos más intensos y apetitosos.

En el Congreso Nacional de Gastronomía que tuvo lugar en Brasil en 2007 (CONAG, 2007), la profesora Mara Salles, de la Universidad Anhembi-Morumbi, dueña y *chef* de un famoso restaurante brasileño, “Tordesilhas”, presentó su plato umami brasileño, original, al cual denominó “*Aparecidinho*”, que significa apareciendo, lo contrario a “*Escondidinho*” (Escondido de carne), plato típico del estado de Pernambuco. El “*Escondidinho*” pernambucano le sirvió de inspiración a Mara Salles para la creación del “*Aparecidinho*” que esconde la carne seca deshilachada, rica en umami, en un puré de mandioca (yuca) y una capa de queso gratinado. Mara explicó que cuando la invitaron a preparar un plato brasileño rico en umami, en el Primer Simposio de Umami que tuvo lugar en São Paulo (I Simpósio Umami no Brasil, 2006), comenzó a investigar sobre este quinto gusto y descubrió su verdadero significado. Lo asombroso para ella fue descubrir que estaba familiarizada con este quinto gusto desde la infancia, desde los tomates del estofado de su madre hasta el palmito fresco de la hacienda de su padre en la que había nacido. Mara contó que como su madre no tenía dinero para comprar carne todos los días, recreaba el rico umami con berenjena cubierta con tomate y queso.

En 1912, el Prof. Kikunae Ikeda, que había descubierto el umami en 1908, presentó una ponencia titulada “Sobre el Gusto de la Sal del Ácido Glutámico”, en Chicago, en el Congreso Internacional de Química aplicada (Ikeda, 1912). En el texto de su presentación afirmó que:

Aquellas personas que prueben con especial atención lo que comen, notarán en los complejos sabores de los espárragos, tomates, quesos y carnes un gusto único y común que no se puede asociar a ninguno de los cuatro gustos básicos. Debido a que se trata de un gusto tenue, es fácil que otros gustos más fuertes lo oculten haciéndolo difícil de identificar cuando no se presta atención. Si no existiera nada que fuera más dulce que una zanahoria o la leche, probablemente no sería posible saber claramente lo que es el gusto dulce. Del mismo modo, sería igualmente imposible apreciar claramente lo que es el gusto único conocido como umami, solo con espárragos y tomates. Así como la miel y el azúcar nos muestran lo que es el gusto dulce, la sal del ácido glutámico nos da una clara idea de lo que es el gusto umami.

Como explica el Prof. Ikeda, si estamos muy atentos al gusto de lo que comemos, seremos capaces de identificar el gusto de varios alimentos como tomates, queso, *dashi* o consomé. No obstante, Ikeda, que fue capaz de identificar la sutil sensación del gusto singular del umami en su lengua, sin duda tenía una sensibilidad excepcional que le permitía identificar esa sensación como siendo un gusto único. Yamaguchi & Kobori (1994) verificaron que la percepción gustativa tiene una dimensión temporal. El seguimiento de la intensidad de un gusto específico a través del tiempo revela cualidades únicas acerca del compuesto que da ese gusto. El seguimiento temporal de la intensidad del gusto del GMS, IMP, la sal y el ácido tartárico se muestra en la Figura 16.4. En este estudio, se les pidió a los sujetos que tomaran 10 mL de una de las soluciones correspondientes a cada gusto, durante 20 segundos. La intensidad del gusto se midió tras haber expulsado la solución hasta 100 segundos después. El gusto ácido del ácido tartárico disminuyó rápidamente después de desechar la solución, así como también su gusto residual. El salado del NaCl dejó un gusto residual en la boca un poco más fuerte que el ácido del ácido tartárico. Por otro lado, la intensidad del gusto residual de las sustancias umami GMS e IMP aumentó después de expulsar la solución. Además, el gusto que perduraba del umami era más fuerte que el de los otros gustos.

Resultados semejantes se obtuvieron cuando se les solicitó a los participantes que tragaran las soluciones. Después de desechar las soluciones (en niveles umbrales) de GMS, IMP y GMP, se encontraron diferencias cualitativamente considerables entre el gusto inmediato y el residual (Horio & Kawamura, 1990). Las descripciones sobre la calidad del gusto inmediato de las sustancias umami variaron enormemente entre los sujetos, pero fueron semejantes con relación al gusto residual (Kawamura, 1993). Un gusto residual agradable es un determinante importante para que una comida en general agrade. Debido a sus características gusto-temporales únicas, las sustancias umami pueden jugar un papel importante y poco común en el desarrollo del gusto a largo plazo y, por lo tanto, ser determinantes de la satisfacción general.

El Prof. Ikeda publicó en la Revista de la Sociedad Química de Japón (*Nippon Kagakukai*) una tesis en la que explicó que el gusto astringente era una sensación táctil y por eso lo retiraba del grupo de los gustos básicos. En la publicación añadió que el umami se podía percibir particularmente fuerte en caldos que contienen *kombu* o *katsuobushi* hervidos (Ikeda, 1909). Una vez más, rendimos homenaje a la aguda percepción del Prof. Ikeda.

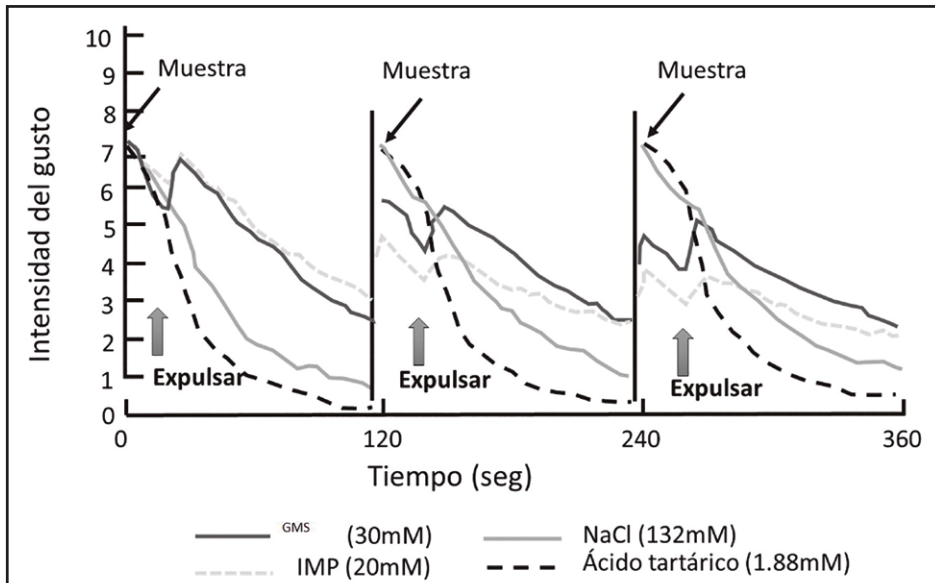


Figura 16.4 – Seguimiento temporal de la intensidad del gusto del glutamato monosódico (GMS), inosina-5'-monofosfato (IMP), cloruro de sodio (NaCl) y ácido tartárico.

Fuente: Yamaguchi & Kabori, 1994.

5. EL UMAMI GANA TERRENO EN TODO EL MUNDO

Un extenso artículo sobre el umami titulado “Un Gusto de Sensación Nueva” fue publicado el 8 de diciembre de 2007 en *The Wall Street Journal*. En este artículo, investigadores y muchas otras personas involucradas en el campo de la industria alimentaria reflexionan sobre el umami. El artículo manifiesta que, a pesar de que el umami fue descubierto por una persona japonesa hace ya un siglo, continuó siendo un concepto vago por mucho tiempo. De hecho, parece ser que en los EE UU el umami es un gusto difícil de entender. El artículo explica que cuando la gente imagina el gusto de queso *parmesano*, de anchoas, de sopa de gallina o de pizza de *peperoni* y *mozzarella*, podrían estar sintiendo un “gusto sabroso” o “una sensación que cubre la lengua”; pero no se dan cuenta de que ese es el gusto umami. Como ya había mencionado Brillat-Savarin & Fisher (1978), “*el descubrimiento de un nuevo plato significa más para la felicidad de la humanidad que el hallazgo de una estrella*”. Así, el descubrimiento del umami ha contribuido al disfrute de la comida en restaurantes a lo largo del planeta. Con el uso adecuado de las sustancias umami se puede mejorar aún más la palatabilidad de los alimentos (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

En los últimos años, con el auge global de la cocina japonesa, el umami se ha difundido naturalmente por todo el mundo. Sin embargo, no solo el *dashi* contiene umami, también existen otros alimentos y condimentos extendidos por el mundo, que son ricos en los componentes básicos del gusto umami. No es sorprendente que, junto al dulce, el quinto gusto básico, esté asociado a alimentos vitales para la supervivencia y sea uno de los más apreciados por la especie humana. Éste es un gusto sabroso, bajo en calorías que satisface.

La cocina japonesa es una gran fuente de inspiración para la creación de un nuevo modelo de alimentación saludable. Los elementos base en la cocina japonesa son el *dashi* y el umami y actualmente muchos *chefs* jóvenes, mundialmente conocidos, intentan introducir nuevos estilos de *dashi*. Se trata de una semirevolución dietética. Usar el tomate para hacer el *dashi* es una idea innovadora para elaborar un *dashi* claro, a fin de dar un toque de frescor a varios platos. Un joven *chef* de Perú, Pedro Miguel Schiaffino, creó un *dashi* peruano hecho a partir de verduras secas del país, incluyendo sacha tomate (o tomate de árbol, un tipo de fruto andino, parecido al tomate), arvejas y ají charapita. Los ingredientes fueron seleccionados por su contenido en umami que dieron un sabroso *dashi*, rico en gusto umami. Otra joven *chef* de Brasil, Helena Rizzo, preparó una sopa única basada en la tradicional salsa brasileña llamada ‘tucupi’, que se elabora con el jugo extraído de la mandioca. El gusto de esta sopa innovadora recuerda a un perfecto *dashi* japonés. Desde Japón otro *chef* joven, Koji Shimomura, creó un guisado moderno basado en alimentos ricos en umami, entre los que escogió los hongos *porcini*, alcachofas y jugo de trufa, todo mezclado con una nata desnatada en vez de las tradicionales mantequilla y nata. La ingesta calórica en este nuevo tipo de sopas es casi un tercio de las calorías de un guisado tradicional. En Dinamarca, uno de los 50 *chefs* más famosos del mundo, René Redzepi, colaboró con científicos a fin de investigar el gusto umami de las algas nórdicas. Se descubrió que las algas danesas como *sugar kelp* y *dulse* podrían ser usadas para la elaboración del *dashi* y se ha constatado que el alga *dulse* tiene un alto contenido de glutamato libre (Mouritsen *et al.*, 2012). Todas estas actividades en curso, desarrolladas por afamados *chefs* de cocina recomiendan el uso del umami con el fin de elaborar platos deliciosos y saludables.

Nuestra misión es fomentar el conocimiento científico del umami, a fin de contribuir a la creación de una red de comunicación global entre *chefs* y científicos, para beneficiar la salud y el bienestar humanos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEAUCHAMP, G. K. “Sensory and receptor responses to umami: an overview of pioneering work”. *Am. J. Clin. Nutr.* 90(suppl): 723S-727S, 2009.
- BRILLAT-SAVARIN, J. A. & FISHER, M. F. K. *The Physiology of Taste*. New York, Harcourt Brace Jovanovich, 1978.
- CHAUDHARI, N.; LANDIN, A. M. & ROPER, S. D. “A metabotropic glutamate receptor variant functions as a taste receptor”. *Nature Neurosci.* 3(2): 113-119, 2000.
- CONAG 2007. *I Congresso Nacional de Gastronomia*. Recife, 8-11/10/2007.
- DRAKE, S. L. *et al.* “Sources of umami taste in cheddar and Swiss cheese”. *J. Food Sci.* 72(6): S360-366, 2007.
- FISCHER, E. “Einleitung” [Introduction]. *Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine* [Studies on amino acids, polypeptides, and protein] (1899-1906). Berlin, Julius Springer Verlag, 1906.
- HEER, J. *Nestlé 125 Years, 1866-1991*. Vevey, Nestlé S.A., 1991. pp. 1-525.
- HORIO, T. & KAWAMURA, Y. “Studies on after-taste of various stimuli in humans”. *Chem. Senses.* 15(3): 271-280, 1990.
- IKEDA, K. “Shin Choumi-ryou ni tsuite” [On a New Seasoning]. *Tokyo Kagakukai Shi* (Journal of the Tokyo Society of Chemistry). 30: 820-836, 1909.
- IKEDA, K. “On the taste of the salt of glutamic acid”. *Eighth international congress of applied chemistry*. New York City, Abstract, 1912, p. 147.
- INABA, A. *et al.* “Changes in the concentration of free amino acids and soluble nucleotides in attached and detached tomato fruits during ripening”. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science.* 49(3): 435-441, 1980.
- KADER, A. A. *et al.* “Amino acid composition and flavor of fresh market tomatoes as influenced by fruit ripeness when harvested”. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 103: 541-544, 1977.
- KAWAMURA Y. “Significance and history of research on umami (in Japanese)”. In: KAWAMURA, Y. *et al.* (ed). *Umami*. Tokyo, Kyoritsu Shuppan, 1993, pp. 1-16.

- KURIHARA, K. "Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami)". *Am. J. Clin. Nutr.* 90 (suppl): 719S-722S, 2009.
- LI, X. *et al.* "Human receptors for sweet and umami taste". *PNAS.* 99(7): 4692-4696, 2002.
- MILHAM, M. E. *Apici decem libri qui dicuntur de re conquinaria et excerpta a Vinidario conscripta.* Leipzig, Teubner Verlagsgesellschaft, 1969.
- MOURITSEN, O. G. & KHANDELIA, H. "Molecular mechanism of the allosteric enhancement of the umami taste sensation". *FEBS J.* 279(17): 3112-3120, 2012.
- MOURITSEN, O. G. *et al.* "Seaweeds for umami flavour in the new nordic cuisine". *Flavour.* 1(4): 1-12, 2012.
- NINOMIYA, K. "Natural occurrence". *Food Rev. Int.* 14(2-3): 177-212, 1998.
- NINOMIYA, K. "Umami: A universal taste". *Food Rev. Int.* 18(1): 23-38, 2002.
- NINOMIYA, K. *et al.* "Changes in free amino acids during heating bouillon prepared at different temperatures". *J. Home Economics of Japan.* 61(12): 765-773, 2010.
- ORUNA-CONCHA, M. *et al.* "Differences in glutamic acid and 5'-ribonucleotide contents between flesh and pulp of tomatoes and the relationship with umami taste". *J. Agric. Food Chem.* 55(14): 5776-5780, 2007.
- SAN GABRIEL A. *et al.* "Metabotropic Glutamate receptor type 1 in taste tissue". *Am. J. Clin. Nutr.* 90 (Suppl): 743S-746S, 2009.
- I SIMPÓSIO UMAMI NO BRASIL. Centro de Gastronomía, Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, 6/11/2006.
- VICKERY, H. B. & SCHMIDT, C. L. A. "The history of the discovery of the amino acids". *Chem. Rev.* 9: 169-318, 1931.
- WARMKE, R.; BELITZ, H. & GROSCH, W. "Evaluation of taste compounds of Swiss cheese (Emmentaler)". *Lebensm Unters Forsch.* 203: 230-235, 1996.
- YAMAGUCHI, S. & KOBORI, I. "Humans and appreciation of the umami taste". In: KURIHARA, K.; SUZUKI, H. & OGAWA, H. (ed.). *Olfaction and Taste XI.* Tokyo, Springer, 1994, pp. 353-356.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “Umami and food palatability”. *J. Nutr.* 130(4S Suppl): 921S-926S, 2000.

YOSHIDA, Y. “Umami taste in traditional seasonings”. *Food Rev. Int.* 14(2-3): 213-246, 1998.

ZHANG, F. *et al.* “Molecular mechanism for the umami taste synergism”. *PNAS.* 105(52): 20930-20934, 2008.

PARTE VI
ASPECTOS TECNOLÓGICOS

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).

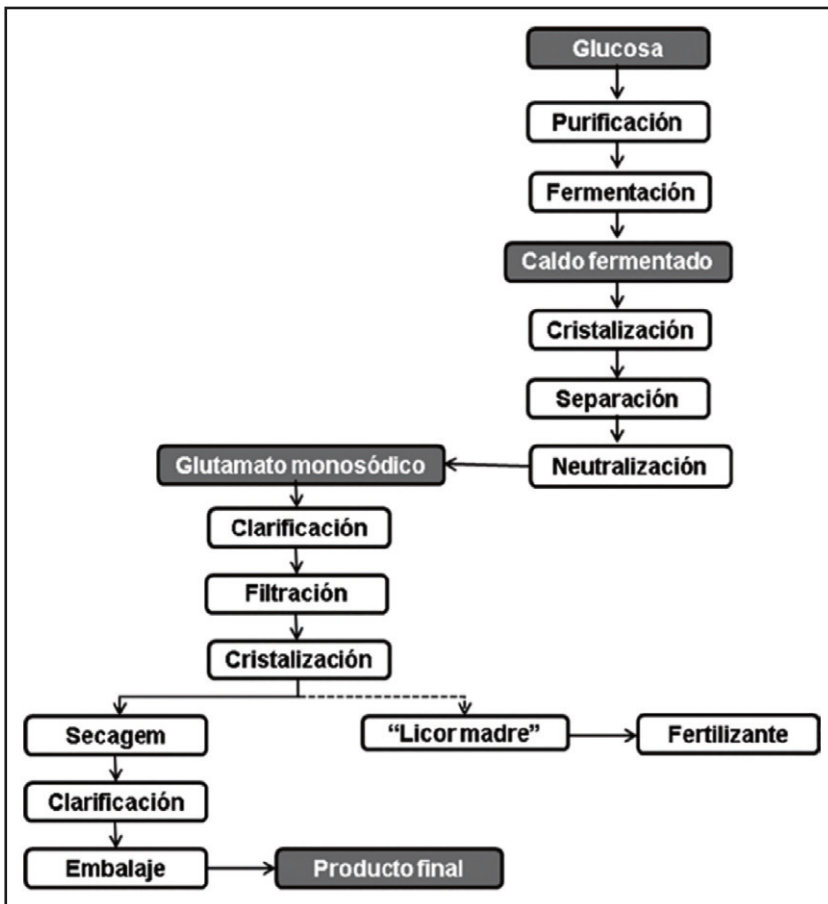


Figura 17.1 – Diagrama de flujo de producción de glutamato monosódico.

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.

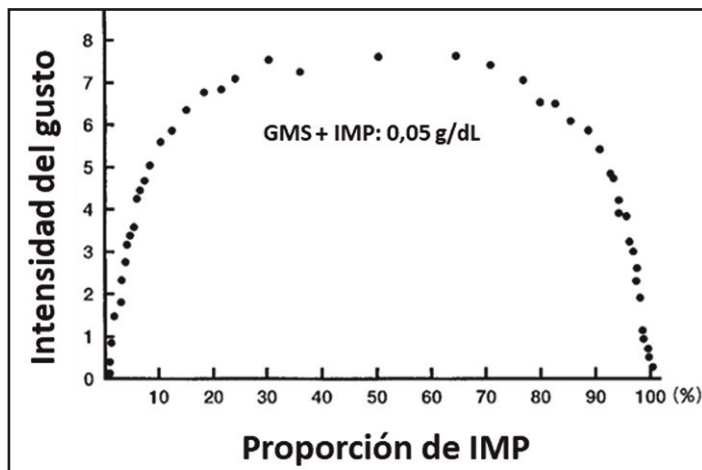


Figura 17.2 – Relación entre la proporción de mezcla de GMS (glutamato monosódico) e IMP (inosinato disódico) y la intensidad del gusto.

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.

UMAMI EN DIFERENTES DIETAS

*Silvia Mendoza
Jorge Herman Behrens*

1. INTRODUCCIÓN

Nuestras elecciones de alimentos son bastante complejas e involucran cuestiones fisiológicas, culturales, económicas y sociales. Sin embargo, el factor principal es el sabor de los alimentos que resulta de la interacción de los sentidos del olfato y el gusto (Lawless & Heymann, 2010).

Tradicionalmente, se describían cuatro dimensiones básicas del gusto, a saber: dulce, ácido, amargo y salado. En 1908, Kikunae Ikeda aisló la sal sódica del aminoácido L-glutamato de las algas y describió su gusto como algo completamente diferente de los gustos tradicionales. Además, argumentó que la función de este nuevo gusto sería permitir que el cuerpo detecte fuentes de proteínas de una manera análoga al gusto dulce que indica la presencia de carbohidratos (Beauchamp, 2009; Martin & Issanchou, 2019). Este nuevo gusto se denominó umami y su reconocimiento por parte de la comunidad científica se produjo alrededor del año 2000 (Trivedi, 2012).

Umami es una palabra japonesa en la que *umai* significa delicioso y *mi*, significa gusto. Dentro de los términos más utilizados para traducir la palabra

umami, se han postulado los siguientes: sabroso, rico y delicioso (Yamaguchi & Ninomiya, 2000; Ninomiya, 2002; Hartley *et al.*, 2019).

La principal sustancia responsable del gusto umami es el anión del ácido glutámico, L-glutamato, proveniente de la sal monosódica (glutamato monosódico-GMS), ampliamente utilizado en la industria alimentaria. Existen sales disódicas de los ácidos 5'-ribonucleicos que actúan sinérgicamente con el GMS, específicamente la inosina-5'-monofosfato (IMP) y la guanosina-5'-monofosfato (GMP) (Kasabian & Kasabian, 2006; Beauchamp, 2009). Es interesante notar que, aislados, IMP y GMP producen un gusto umami muy débil, siendo que la sensación de gusto producida sería, probablemente, debido a la interacción con el L-glutamato presente en la saliva humana; por tanto, concentraciones supralimnarias de GMS, potencializan la sensación umami (Hartley *et al.*, 2019).

A finales del siglo XX, el umami fue objeto de intensa investigación hasta que, a principios de la década de 2000, investigadores de la Universidad de Miami informaron haber identificado un receptor acoplado a proteína G en la lengua de ratones, al que llamaron *taste-mGLUR4*. Los receptores gustativos umami marcados con las proteínas T1R1 y T1R3 responden fuertemente al glutamato, sin embargo, también lo hacen frente a otros aminoácidos, en diferentes magnitudes (Trivedi, 2012). Por lo tanto, se consideró que el umami representaba el gusto de muchos aminoácidos, sean estos esenciales o no, lo que refuerza la teoría de su función como indicador de fuentes de proteínas.

El L-glutamato está presente de forma natural en diversos alimentos como tomates, hongos, algas, pescados y mariscos, así como en alimentos que se someten a procesos de fermentación o de cura como salsa de pescado, salsa de soya, quesos y productos cárnicos (Curtis, 2009; Hartley *et al.*, 2019). Yamaguchi & Ninomiya (2000) publicaron una lista de 39 sustancias que, según ellos, promueven el gusto umami. También se incluyen otros aminoácidos, como los ácidos ibotérico y tricolómico, ambos encontrados en algunos hongos; el ácido succínico que se encuentra en el saqué, en los mariscos y en el vino; la teharina, en el té, y un octopéptido que se encuentran en el caldo de carne. El GMS es, por lo tanto, el compuesto de gusto umami más reconocido, sin embargo, la investigación continúa con el objetivo de obtener un conocimiento más completo de este gusto (Kasabian & Kasabian, 2006).

La industria ha estado utilizando GMS, IMP y GMP como aditivos que realzan el sabor en los alimentos procesados, especialmente los salados como aderezos para ensaladas, *snacks*, sopas, productos cárnicos, platos congelados, etc. (Martin & Issanchou, 2019). De hecho, los estudios demuestran la relación

entre los gustos salado y umami y las sales de L-glutamato (sódico o potásico), así como los extractos de alimentos de fuentes umami son ingredientes alternativos para reducir el sodio en los productos alimenticios.

En los últimos años se han publicado varios trabajos sobre las interacciones del umami con otros sabores básicos, además de su contribución a la palatabilidad de los alimentos, cuestión fundamental para la supervivencia desde el punto de vista de la evolución humana (Prescott, 2012). En este sentido, se han evaluado sustancias con gusto umami como ingredientes en dietas para niños con trastornos alimentarios, para personas debilitadas, para ancianos desnutridos, en dietas para hipertensos, para personas diabéticas, y en dietas bajas en grasas para aquellas personas con sobrepeso. Sin duda, estos estudios aportan información muy relevante a los científicos, tecnólogos y nutricionistas de alimentos, pero el gusto umami siempre ha estado presente en la comida y la cocina de los pueblos de todo el mundo.

2. UMAMI EN LAS PRIMERAS FASES DE LA VIDA

Los receptores del gusto comienzan a operar en la fase uterina. Las células gustativas inician su formación entre las siete y ocho semanas de gestación y alrededor de las 17 semanas se consideran funcionalmente maduras. La succión gestacional no nutritiva comienza a partir de la semana 18 y las acciones de succión y deglución se coordinan alrededor de las 35 a 40 semanas de gestación. Al final del embarazo, el feto traga e inhala cantidades significativas de líquido amniótico que conducen a las primeras experiencias sensoriales y al aprendizaje del sabor. Capaz de detectar gustos, el bebé se prepara para la vida posnatal y la frecuencia de deglución aumenta en respuesta a la introducción de sustancias dulces (nutrientes) en el líquido amniótico y disminuye en respuesta a la introducción de sustancias amargas (peligro potencial) (Lipchok *et al.*, 2011). Un patrón de respuesta similar se observa poco después del nacimiento: en horas y días, el recién nacido reacciona, como es de esperar, a estímulos gustativos agradables y desagradables (Prescott, 2012).

Steiner (1987) realizó experimentos en niños recién nacidos. Colocó en la lengua del recién nacido agua, o una solución dulce, ácida, amarga o sopa de verduras sin y con GMS (0,5%) y registró las reacciones faciales de los bebés a los estímulos gustativos. Específicamente en relación al gusto umami, se pudo demostrar que la sopa con GMS tuvo expresiones de agrado cuando colocada en la lengua de los bebés similar a las presentadas con la solución dulce. Los indicios fueron: relajamiento de los músculos faciales, lamerse los labios y hacer

gestos positivos. Los resultados sugieren que la respuesta representa una habilidad innata.

Beauchamp *et al.* (1987) realizaron un estudio con bebés desnutridos de 2 a 24 meses de edad. Un grupo de 34 bebés recibió una sopa a base de verduras con y sin la adición de hidrolizado de caseína al 1% fortificada con L-triptófano, L-tirosina y L-cisteína. Otro grupo de 24 bebés recibió la misma base de sopa, pero se le agregó 0,4% de GMS. Otros dos grupos control de bebés sanos recibieron cada tipo de sopa por separado. Los bebés desnutridos consumieron más sopa con hidrolizado de caseína, mientras que los bebés normales consumieron más sopa-base, sin caseína. En cuanto a la sopa con GMS, los dos grupos de bebés reaccionaron de forma similar, consumiendo una mayor cantidad de sopa. Se concluyó que el mayor consumo de sopa fortificada con aminoácidos e hidrolizado de caseína refleja la deficiencia nutricional de los bebés. El mayor consumo de sopa con 0,4% GMS se debió a su mejor sabor, es decir, palatabilidad.

3. UMAMI Y PALATABILIDAD

Aunque se considera que la detección del gusto umami indica la presencia de proteínas (Beauchamp *et al.*, 1987; Yamaguchi & Ninomiya, 2000; Martin & Issanchou, 2019), estudios más recientes relacionan más el umami con la palatabilidad de los alimentos. La palatabilidad promueve la selección, ingestión, absorción y digestión de los alimentos y, aunque todos los sentidos están involucrados en la determinación de la palatabilidad de los alimentos, el gusto juega un papel importante (Prescott, 2012).

Se reconoce la relación entre los gustos salado y umami (Martin & Issanchou, 2019; Hartley *et al.*, 2019). En combinación con la sal (NaCl), las sustancias de gusto umami pueden mejorar la palatabilidad de muchos alimentos y, al agregar un porcentaje de GMS a algunos alimentos, es posible reducir el contenido de sodio sin disminuir la aceptabilidad (Schiffman, 1993). Para ilustrar este concepto, Yamaguchi & Takahashi (1984) utilizaron un modelo de sopa japonesa como base, en el que se mantuvo la palatabilidad con la adición de 0,38% de GMS, incluso con la cantidad de sal reducida. Se obtuvieron resultados similares utilizando caldo de pollo (Chi & Chen, 1992). Altug & Demirag (1993) obtuvieron resultados similares con sopas a las que se les añadió de 0,6% a 0,8% de glutamato, con una reducción del 40% de sal, sin afectar la palatabilidad. Los autores también confirmaron que el placer de tomar sopa con bajo contenido de sal y adición de GMS se mantuvo después de repetidas presentaciones. Cuando se introdujo la misma sopa sin GMS, la aceptación disminuyó. Cabe mencionar

que, en una serie de estudios realizados con diferentes menús, Yamaguchi (1987) encontró que la disminución del 30% en la sal sin la adición de sustancias umami afectó negativamente la aceptación.

4. UMAMI Y DIETA

El proceso de envejecimiento es complejo y refleja cambios en células, tejidos y órganos. Con la edad, existe una disminución natural de la agudeza gustativa, también influenciada por el uso de medicamentos, pérdida de dientes, atrofia del tejido óseo maxilar y alteración de la saliva (Schiffman & Warnick, 1993). Estos cambios en el gusto pueden conducir a una reducción del consumo de alimentos, o incluso a la anorexia, lo que provoca, como consecuencia, cambios nutricionales generales o específicos (Morley & Silver, 1998).

En diferentes países, se han realizado estudios con ancianos para evaluar: 1) si el uso de GMS y nucleótidos como potenciadores del sabor añadidos a la dieta puede compensar la pérdida del gusto y el olfato en los ancianos; 2) si el GMS añadido como potenciador del sabor en la dieta de las personas mayores hospitalizadas ayuda a mejorar la ingesta de alimentos; 3) si la adición de GMS a los menús permite hacer una reorientación de los alimentos para personas con casos de trastornos metabólicos (diabetes o sobrepeso); y 4) si las dietas adicionales con GMS y administradas a ancianos desnutridos durante unos meses podrían producir una mejora del estado nutricional (Schiffman, 1998, Schiffman & Warnick, 1993).

Murphy (1987) realizó un estudio en el cual se propuso investigar la relación entre el estado nutricional de jóvenes y ancianos, considerando su preferencia por aminoácidos en la dieta. Para ello, trabajó con dos grupos: el grupo A, formado por siete jóvenes universitarios de 18 a 26 años de edad; y el grupo B, conformado por 21 ancianos sanos, con una media de edad de 79 años. El estado nutricional de cada grupo fue determinado mediante exámenes bioquímicos (proteínas séricas totales, albúmina y nitrógeno de urea en sangre). El experimento consistió en la administración de una sopa-base a la cual se le adicionó glutamato en las concentraciones de 1, 2, 3, 4 e 5% peso/volumen. La aceptación de las sopas se midió por una escala hedónica lineal. Los resultados de los exámenes bioquímicos realizados en los ancianos fueron significativamente inferiores ($p < 0,05$), reflejando un peor estado nutricional. Más de la mitad de los ancianos prefirió las concentraciones de glutamato más altas. Mientras, los individuos más jóvenes, con un mejor estado nutricional, clasificaron las concentraciones más bajas de glutamato como las más agradables. Se concluyó que agregar potenciadores del

sabor en las dietas para personas mayores es favorable, ya que, a medida que aumenta la edad, las personas van perdiendo sensibilidad gustativa.

Bellisle (1998) estudió el efecto del umami en la dieta de las personas que vivían en un hogar de ancianos. Para una muestra de 65 ancianos con una edad promedio de 84 años, se les proporcionó para el almuerzo sopa y verduras con 0,6% de GMS. Los resultados mostraron que los participantes de la investigación consumieron más alimentos que contenían GMS. Por otro lado, el consumo de otros alimentos como los postres fue menor, por lo que, al final, el aporte calórico total se mantuvo constante. El experimento mostró que el glutamato puede facilitar la selección de ciertos alimentos y reducir el consumo de otros, una estrategia que los nutricionistas podrían utilizar para preparar dietas adecuadas para poblaciones con trastornos alimentarios.

Meertens & Solano (2002) llevaron a cabo, en Venezuela, un estudio sobre el efecto del GMS agregado a la dieta de ancianos con mal estado nutricional. Se evaluaron 54 adultos mayores de 60 años, residentes en un hogar geriátrico. Los ancianos que aceptaron participar se dividieron en dos grupos. El grupo A (n=26) recibió alimentos preparados con 0,6% de GMS en dos preparaciones de almuerzo, de lunes a viernes, durante tres meses. El grupo B (n=28) recibió los mismos alimentos y cantidades durante el mismo periodo, pero sin la adición de glutamato. Se midieron el índice de masa corporal (IMC) y los indicadores bioquímicos e inmunológicos. En el grupo A, el 19,2% de los ancianos presentaba déficit nutricional, porcentaje que descendió al 11,5% al final del periodo experimental. En el mismo grupo, el 65,3% presentaba hipoalbuminemia al inicio del estudio y, al final, este índice se redujo al 34,6%. La prevalencia de alteraciones en las subpoblaciones de linfocitos también disminuyó, especialmente para CD3 (*Cluster of Differentiation 3* - marcador utilizado en la identificación de células T, presente en leucemias y linfomas de células T, y que sirve como marcador de diferenciación entre leucemias/linfomas tipo B). En el grupo B, los cambios fueron menores. Los autores concluyeron que la adición de GMS a la dieta afectó positiva y significativamente el estado nutricional y el estado inmunológico de los participantes.

Bellisle *et al.* (1996) argumentaron que la adición de GMS favorece el consumo de alimentos, sin modificar el tamaño de la porción. Esta consideración es importante en personas con enfermedades metabólicas como diabetes mellitus, ya que podrían seleccionar una mayor cantidad de alimentos añadidos con GMS y con un índice glucémico bajo.

Bellisle *et al.* (1991) llevaron a cabo un estudio con pacientes diabéticos insulino dependientes y diabéticos no insulino dependientes, que tenían sobrepeso y necesitaban mejorar su elección de alimentos. Sesenta y dos pacientes diabéticos se dividieron en 31 pares según la edad, el índice de masa corporal (IMC), el género, el tipo y la duración de la diabetes. Fueron seleccionados dos menús tradicionales para los participantes y de palatabilidad media, los cuales incluían dos platos de prueba conteniendo GMS 0,6% (sopa y plato de verduras). Los menús fueron presentados en 6 ocasiones cada uno, 3 sin la adición de GMS y 3 con los platos de prueba conteniendo GMS. Todas las porciones se pesaron al principio y al final del almuerzo. La mitad de los pacientes presentó un aumento de la ingesta de alimentos a los que se añadió glutamato al 0,6%. La ingesta posterior de otros alimentos disminuyó, pero la ingesta calórica total se mantuvo constante. Así, al igual que en el estudio realizado con ancianos, la adición de GMS puede reorientar la elección de la comida en el almuerzo, sin inducir hiperfagia.

La mayoría de las investigaciones sobre el efecto del gusto umami en el consumo de alimentos utilizaron cantidades de GMS alrededor del 0,6%. Una mayor adición de GMS (1,2%) también aumentó la ingesta en la primera semana; sin embargo, después no hubo mayor efecto (Bellisle *et al.*, 1989).

5. UMAMI Y LA REDUCCIÓN DE GRASA EN LOS ALIMENTOS

En las últimas décadas, la prevalencia de sobrepeso y obesidad, tanto en niños como en adultos, ha ido aumentando a nivel mundial, convirtiéndose en una epidemia. El consumo excesivo de alimentos procesados ricos en grasas y azúcares se ha identificado como la principal causa de este fenómeno (Seidell, 1998).

Los alimentos con alto contenido en grasas son muy apetecibles, además de altamente energéticos, por lo que tienden a consumirse en grandes cantidades. Esto conlleva a un aporte energético superior del que el individuo necesita. Prescott (2012) incluso plantea que el hambre en las sociedades urbanas y afluentes adquiere un carácter fuertemente hedónico, es decir, algunos individuos prefieren alimentos densamente calóricos, ricos en grasas y carbohidratos, precisamente por el gran atractivo para el paladar. Por tanto, la reducción de grasas en los alimentos disminuye la palatabilidad y, para driblar este efecto, se postula que el uso adecuado de GMS en determinados alimentos podría ayudar a mantener la palatabilidad y aceptación de estos alimentos, en los que se reduce el contenido de grasa.

Se ha demostrado que el GMS aumenta la saciedad en adultos sanos con sobrepeso. Miyake *et al.* (2016) estudiaron el efecto del GMS en una sopa de verduras sobre la ingesta calórica posterior, así como la selección de alimentos por parte de mujeres adultas (n=68) sin trastornos alimentarios, sin embargo con sobrepeso u obesidad. Se proporcionó una porción fija (200 mL) de una sopa de verduras control, o la misma sopa con GMS añadido (0,5 g/100 mL), 10 min antes del almuerzo *ad libitum* y refrigerio *ad libitum*. El plato de sopa control tenía la misma cantidad equivalente que la sopa añadida con GMS. El consumo de sopa con GMS resultó en una ingesta significativamente menor de calorías en el almuerzo. La adición de GMS a la sopa también redujo la ingesta de energía de los alimentos salados ricos en grasas. En cuanto a la merienda, también hubo una reducción de calorías, pero sin diferencia significativa. Los autores concluyeron que el uso de GMS como condimento en un plato que sirve como entrada de una comida puede ser una estrategia para disminuir la ingesta energética posterior en personas con sobrepeso que no tengan trastornos alimentarios.

Martin & Issanchou (2019) no encontraron correlaciones significativas entre el contenido de grasa y el gusto umami, considerando diferentes tipos de alimentos. Es necesario realizar más investigaciones sobre el efecto de la adición de sustancias de gusto umami en los alimentos bajos en grasa, especialmente los procesados, ya que debido a su complejidad (ingredientes, aditivos, efectos de procesamiento, etc.), no está clara la relación entre la percepción de gustos (y su sinergia) y la señalización de nutrientes.

6. UMAMI Y CULINARIA

Quizás la principal representación social del umami esté asociada a la gastronomía oriental, ya sea por el origen lingüístico propio del término, así como por los ingredientes y alimentos característicos de la cocina asiática. Sin embargo, varios alimentos ricos en compuestos con gusto umami siempre han formado parte de los hábitos alimentarios de las poblaciones de todo el mundo, aunque no existe una palabra específica para ello en Occidente.

Diversos alimentos frescos (*in natura*) que se consumen en todo el mundo tienen una cantidad apreciable de sustancias de gusto umami (ácido glutámico y 5'-ribonucleótidos), como por ejemplo, zanahorias, tomates, champiñones, repollo, espárragos, guisantes, cebollas, uvas y manzanas, así como carnes blancas, carnes rojas, pescados y mariscos (Curtis, 2009).

Los procesos naturales de maduración, secado y curado liberan ácido glutámico y aumentan la intensidad del umami. Un tomate maduro tiene 10 veces

más glutamato que un tomate verde; Los hongos *shiitake* secos contienen 1060 mg de glutamato/100 g, en contraste con 71 mg/100 g de los frescos (Yamaguchi & Ninomiya, 2000). Durante los procesos de curado, salado o fermentación de productos proteicos, se liberan nucleótidos, así como una amplia variedad de aminoácidos libres por hidrólisis de proteínas. La carne bovina curada tiene más glutamato que la carne fresca. En quesos curados, como el *parmigiano reggiano* y *emmental*, cuanto mayor es el contenido de glutamato, más pronunciado es su sabor. Los alimentos que se someten a procesos fermentativos se destacan por las grandes cantidades de L-glutamato, como las salsas de pescado (621-1383 mg/100 g) y la soya (412-1264 mg/100 g).

Los registros históricos muestran que los romanos tenían cuatro tipos diferentes de salsas de pescado: *garum*, *liquamen*, *allec* y *muria*. El *garum* era la salsa principal producida por hidrólisis de pescados pequeños, en particular anchoas, sardinas y caballa, infundida con hierbas, especias y vino. Se utilizaban pesos para presionar la mezcla en frascos cerrados expuestos al sol durante varios meses. Al final, se separaba el líquido (*garum*) y se envasaba en ánforas de terracota. El material sobrante de la producción de *garum* se denominó *allec*. *Muria* era la solución salada resultante de la ósmosis al salar pescado entero o eviscerado (*salsamentum*). La naturaleza precisa del *liquamen* no está clara hasta hoy. Pero, según los paralelos modernos, parece haber sido el resultado de un lavado posterior del *allec* con solución salina. Por lo tanto, el *liquamen* estaba estrechamente relacionado con el *garum* y su proceso de producción similar sugiere que al final de la Antigüedad, el término *liquamen* reemplazó efectivamente al *garum* para designar la salsa de pescado. En general, esta descripción, aunque difundida, se asemeja a los procesos modernos de producción de salsa de pescado en el sureste asiático (Curtis, 2009).

La carne roja está muy presente en la comida occidental. La cocina tradicional europea utiliza la cocción prolongada de carnes, huesos y grasa bovina como base para caldos, como el caldo *bouillon* (del francés, “hervido”) y el *Bovril*, de origen inglés, para condimentar diversos alimentos (Marcus, 2005).

La cocina asiática, por otro lado, se basa en ingredientes tradicionales ricos en umami como el *dashi*, un caldo típico japonés elaborado con algas secas (*kombu*), pescado bonito seco (*katsuobushi*) o setas *shiitake* secas. *Dashi* significa “extracto hervido”, similar al caldo *bouillon* francés.

Según el *chef* estadounidense Mark Millar:

[...] los occidentales tienen un gusto lineal, acostumbrado a los gustos dulces y salados, con pocos contrapuntos y armonías. En la cocina asiática se utilizan todos los

gustos a la vez, se come de forma circular. Hay que acostumbrar la mente e ir tras las características del sabor y buscar sabores en diferentes partes de la boca (Labensky & Hause, 1995).

La globalización ha brindado la oportunidad de unir las cocinas y filosofías de Oriente y Occidente. Heston Blumenthal, en su libro *En busca de la perfección*, revisa los platos más populares del mundo y les da una perspectiva única. Umami es su gusto favorito debido a la profundidad y fuerza que imparte al sabor de un alimento. Según Blumenthal:

[...] la combinación de umami (glutamato, inosinato, guanilato y adenilato) tiene un efecto magnífico, que se demuestra en la práctica añadiendo ketchup a un filete de carne; tomate y carne molida en salsa boloñesa; o agregando queso parmesano a una pizza Margarita. Estas combinaciones son verdaderas explosiones de sabor debido al efecto sinérgico del glutamato y los ribonucleótidos (IGIS <<http://www.glutamate.org>>).

De lo anterior, la gastronomía actual une el arte y la ciencia, y el umami, aunque es un concepto reciente en Occidente, surge como un gusto que enriquece el sabor de la comida, brindando nuevas y más complejas experiencias sensoriales.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTUG, T. & DEMIRAG, K. "Influence of MSG on flavour acceptability and on the reduction of sodium chloride in some ready-made soups". *Chemical Mikrobiol Technol.* 15: 161-164, 1993.

BEAUCHAMP, G. K.; VASQUEZ DE VAQUERA, M. & PEARSON, P. B. "Dietary status of human infants and their sensory responses to amino acid flavor". In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: A Basic Taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 125-138.

BEAUCHAMP, G. K. "Sensory and receptor response to umami: an overview of pioneering work". *Am J Clin Nutr.* 90(3): 723S-727S, 2009.

BELLISLE, F. "Nutritional effects of umami in the human diet". *Food Rev Int.* 14(2-3): 309-319, 1998.

BELLISLE, F. *et al.* "Monosodium glutamate affects mealtime food selection in diabetic patients". *Appetite.* 26(3): 267-275, 1996.

BELLISLE, F. *et al.* "Monosodium glutamate as a palatability enhancer in the european diet". *Physiol Behav.* 49(5): 869-873, 1991.

BELLISLE, F.; TOURNIER, A. & LOUIS-SYLVESTRE, J. “Monosodium glutamate and the acquisition of food preferences in a european context”. *Food Qual Prefer.* 1(3):103-108, 1989.

CHI, S. P. & CHEN, T. C. “Predicting optimum monosodium glutamate and sodium chloride concentrations in chicken broth as affected by spice addition”. *J. Food Process Preserv.* 16: 313-326, 1992.

CURTIS, R. I. “Umami and the foods of classical antiquity”. *Am J Clin Nutr.* 90(3): 712S-718S, 2009.

HARTLEY, I. E.; LIEM, D. G. & KEAST, R. “Umami as an “alimentary” taste. A new perspective on taste classification”. *Nutrients.* 11(1): 182, 2019.

KASABIAN, D. & KASABIAN, A. *The fifth taste: cooking with umami.* New York, Universe Publishing: International Publications Inc., 2006.

LABENSKY, S. R. L. & HAUSE, A. M. *On cooking: a text book of culinary fundamentals.* 2. ed. New Jersey, Prentice Hall, 1995.

LAWLESS, H. T. & HEYMANN, H. *Sensory evaluation of food: principles and practices.* 2. ed. New York, Springer, 2010, p. 596.

LIPCHOCK, S. V.; REED, D. R. & MENELLA, J. A. “The gustatory and olfactory systems during infancy: implications for development of feeding behaviors in the high risk neonate”. *Clin Perinatol.* 38(4): 627-641, 2011.

MARCUS, J. B. “Culinary applications of umami”. *Food Technology.* 59(5): 24-30, 2005.

MARTIN, C. & ISSANCHOU, S. “Nutrient sensing: What can we learn from different tastes about the nutrient contents in today’s foods?”. *Food Quality and Preference.* 71: 185-196, 2019.

MEERTENS, L. & SOLANO, L. “Indice de masa corporal, variables bioquímicas inmunológicas de adultos mayores institucionalizados que recibieron dieta con glutamato monosódico”. *Anales Venezolanos de Nutrición.* 15(2): 105-110, 2002.

MIYAKE, T. *et al.* “Monosodium L-glutamate in soups reduces subsequent energy intake from high-fat savoury food in overweight and obese women”. *British Journal of Nutrition.* 115: 176-184, 2016.

MORLEY, J. E. & SILVER, A. J. "Anorexia in the elderly". *Neurobiol of Aging*. 9: 9-16, 1998.

MURPHY, C. "Flavor preference for monosodium glutamate and casein hydrolysate in young and elderly persons". In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: A basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp.139-151.

NINOMIYA, K. "Umami: a universal taste". *Food Rev. Int.* 18(1): 23-28, 2002.

PRESCOTT, J. *Taste matters: Why we like the foods we do?* London, Reaktion Books Grantham Book Services, 2012.

SCHIFFMAN, S. "Perception of taste and smell in elderly persons". *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33(1): 17-26, 1993.

SCHIFFMAN, S. "Sensory enhancement of foods for the elderly with MSG and flavors". *Food Rev. Int.* 14(2-3): 321-333, 1998.

SCHIFFMAN, S. & WARNICK, Z. S. "Effect of flavor enhancement of foods for the elderly on nutritional status: food intake, biochemical indices and anthropometric measures". *Physiol. Behav.* 53(2): 395-402, 1993.

SEIDELL, J. C. "Dietary fat and obesity: an epidemiologic perspective". *Am. J. Clin. Nutr.* 67(3 Suppl): 546S-550S, 1998.

STEINER, J. "What a neonate can tell us about Umami". In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. R. (ed.). *Umami: A basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 97-124.

TRIVEDI, B. "Gustatory system: The finer points of taste". *Nature*. 486 (7403): S2-S3, 2012.

YAMAGUCHI, S. "Fundamental properties of umami in human taste sensation". In: KAWAMURA, Y. & KARE, M. *Umami: a basic taste*. New York, Marcel Dekker, 1987, pp. 41-93.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. "Umami and food palatability". *Journal of Nutrition*. 130: 921S-926S, 2000.

YAMAGUCHI, S. & TAKAHASHI, C. "Interactions of monosodium glutamate and sodium chloride on saltiness and palatability of a clear soup". *J. Food Sci.* 49: 82-85, 1984.

USO DE GLUTAMATO MONOSÓDICO EN LA PRODUCCIÓN DE PAPAS FRITAS CON BAJO CONTENIDO DE ACEITE

Carlos Silvera Almitrán

1. INTRODUCCIÓN

Podemos afirmar que las modificaciones en los hábitos alimentarios del hombre han determinado los sucesivos cambios en su imagen corporal a lo largo de la historia. Dichos cambios forman parte de las consecuencias a nivel social y cultural que, inevitablemente, tienen la evolución de la humanidad en general y los grandes hechos históricos en particular.

Como es lógico, el desarrollo de las civilizaciones, desde la Prehistoria, está vinculado con la tecnología alimentaria: desde la primera manifestación conocida del dominio del fuego, hasta el muchas veces increíble perfeccionamiento de la tecnología alimentaria de nuestros días, con todo su abanico de posibilidades.

Esta evolución contribuyó a la introducción de cambios en la dieta, expandiendo su espectro y, por lo tanto, proporcionando permanentemente nuevas opciones de alimentos. Esto demuestra que las posibilidades alimentarias se renuevan constantemente, y que el estudio de la alimentación humana y sus ramas, como la nutrición, no solo se modifica permanentemente, sino que es un área de descubrimiento permanente e inagotable (Silvera, 2006).

El glutamato monosódico (GMS) se conoce como compuesto químico desde hace ya 140 años, pero sus propiedades sensoriales y nutricionales comenzaron a valorarse de forma creciente a partir del 1908. Fue en ese año que el Dr. Kikunae Ikeda obtuvo el primer elemento aislado del alga laminaria y lo identificó como responsable del gusto umami, al mismo tiempo que se ponían de manifiesto sus propiedades únicas de sinergista de sabor.

Si bien este capítulo estará dedicado primordialmente a destacar algunas nuevas aplicaciones alimentarias de esta interesante molécula, es necesario recalcar, tal como ha sido destacado por otros científicos, que el glutamato es el aminoácido más abundante en las proteínas y que en una dieta normal y variada, que incluya hortalizas, queso, pescados y otros productos del mar, hongos, carnes y cereales (maíz, trigo, etc.), se consumen aproximadamente 20 g diarios de GMS (Walker & Lupien, 2000).

Otro aspecto importante de destacar es que la demanda biológica de glutamato de los seres humanos es importante, a tal punto que nuestro organismo sintetiza todo el glutamato necesario para cubrir las eventuales carencias del mismo en la alimentación, atendiendo a las necesidades tanto desde el punto de vista energético como estructural. Un hecho de no menor importancia es que este aminoácido está clasificado como no esencial. En términos científicos, implica que la naturaleza considera tan importante su participación en los procesos metabólicos vinculados a la vida que no deja libre a circunstancias externas, y por lo tanto aleatorias, el suministro del mismo al reservorio denominado *pool* de aminoácidos. Un hecho bien conocido, pero no por ello menos importante, es el alto contenido de ácido glutámico libre en la leche materna de la raza humana en comparación con otras fuentes exógenas de leche. Este aminoácido imparte el agradable sabor necesario para hacer la leche atractiva al lactante y, por esa vía, nutrirlo (Reeds *et al.*, 2000).

Varios investigadores encontraron interesante buscar nuevas aplicaciones industriales y nutrimentarias para el GMS, debido a que se trata de una molécula con singulares propiedades dentro del conjunto de ingredientes disponibles para la elaboración de alimentos y por ser considerada como inocua por las regulaciones nacionales e internacionales. Dentro de esas aplicaciones, se destacan algunas relacionadas a los estudios de porosidad de hortalizas con vinculación a la obtención de papas fritas a la francesa con menor contenido de aceite y a la elaboración de películas flexibles comestibles, entendidas estas últimas como biopolímeros de aplicación en la industria de alimentos.

La vida útil de un alimento está determinada por numerosas interacciones dentro del mismo, así como con el medioambiente. Muchas veces, estas interacciones conforman un complejo ecosistema. Por ejemplo, la transferencia de humedad en alimentos frecuentemente deriva en deterioro de la calidad de los mismos y se traduce en una variación de la actividad de agua y del contenido de agua del producto en función del tiempo (Donhowe & Fennema, 1992). Por lo tanto, la interacción entre la humedad y el alimento es crítica.

Por otra parte, muchas de las propiedades funcionales de una película de cobertura comestible están relacionadas con la resistencia al transporte de gases, vapores y solutos. A ese transporte se asocian los conceptos de transferencia de masa, difusión y permeabilidad, sobre los que se hará énfasis en este trabajo.

La permeabilidad de oxígeno y agua tanto en estado líquido como en vapor pueden incidir en la estabilidad biológica del alimento, porque se facilita la actividad enzimática, así como el crecimiento microbiano y su consecuente actividad metabólica. En alimentos deshidratados, que implican condiciones de estrés para los hongos contaminantes, la actividad metabólica puede generar micotoxinas y graves consecuencias de salud pública.

En relación a todas las propiedades y características anteriores, se establece una asociación con la porosidad de los alimentos. La inclusión de moléculas de GMS, en las estructuras porosas de los alimentos a ser fritos, permite disminuir la incorporación de grasa a los productos finales, por ejemplo las papas fritas a la francesa. En ese sentido, el estudio de la porosidad de la papa y de los mecanismos de incorporación de aceite durante el proceso de freír aporta interesantes orientaciones para el uso de glutamato monosódico en la fabricación de papas fritas a la francesa con menor contenido de aceite.

2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS, NUTRICIONALES Y TECNOLÓGICOS DEL CONSUMO DE PAPAS POR LOS SERES HUMANOS

Cuenta una vieja leyenda andina que los hombres cultivadores de la quinua dominaron durante muchos años a los pueblos de las tierras altas y, a fin de dejarlos morir lentamente, les fueron disminuyendo la ración de alimentos para ellos y sus hijos.

Ya al borde de la muerte los pobres clamaron al cielo y Dios les entregó unas semillas carnosas y redondeadas, las cuales, después de sembradas, se convirtieron en hermosas matas que tiñeron de morado las gélidas punas con sus flores.

Desconsolados y moribundos de hambre, los vencidos pidieron otra vez clemencia al cielo y una voz les dijo desde las alturas: Remuevan la tierra y saquen los frutos, que allí los he escondido para burlar a los hombres malos y enaltecer a los buenos.

Y así fue, debajo del suelo estaban las hermosas papas, que fueron recogidas y guardadas en estricto secreto. Cada mañana, los hombres de las punas añadieron a su dieta empobrecida una porción de papas y pronto se restablecieron, cobraron fuerzas y atacaron a los invasores que, viéndose vencidos, huyeron para no regresar jamás a perturbar la paz de las montañas. (Graves, 2006).

La mitología y la historia se unen a las tecnologías más modernas a la luz de los trabajos científicos que buscan las raíces culturales andinas y se proyectan al futuro mejorando cada día las variedades genéticas de las papas, apropiadas a las necesidades industriales actuales. Historia y tecnología alimentaria se re-actualizan en el esfuerzo de los estudiosos que abrevan en las fuentes del conocimiento ancestral para proyectarse hacia el futuro.

En los Andes existió una verdadera preocupación por la preservación de las subsistencias, para lo cual se valieron de diversas tecnologías. El medioambiente difícil en medio del cual se desarrollaron las culturas andinas, creó una necesidad y una permanente angustia por poseer y almacenar alimentos.

Si fallaban los medios de conservación o se reducía el número de alimentos aparecía el espectro del hambre y podía producirse el colapso de la reciprocidad. En otras palabras, la consecuencia de un desabastecimiento podía traer la desintegración del Estado o de una macroetnia.

Debido a esta urgencia, el hombre andino inventó diversos métodos necesarios para la conservación de las subsistencias secando o deshidratando los productos.

Las carnes se secaban al sol y con ellas se preparaba el charqui, ya fuese de llama o de venado. También deshidrataban las carnes de aves como perdices y palomas, además de las ranas. El camarón se secaba por medio de piedras o arena caliente. A este producto se le conocía con el nombre de anuka y se le embalaba en cestos o petacas de totora llamadas chipa.

El pescado seco y salado era una importante fuente alimenticia de los costeños y especialmente los serranos, y era materia de trueque entre ambos. Otros productos del mar fueron diversos moluscos que podían secarse, como las machas, o que podían usarse para preparar una jalea incorruptible que se usaba en la confección de chupes o sopas.

Se ha estudiado con detenimiento el uso del cochayuyo o “yerba acuática” en la alimentación del Perú moderno y también antiguo en la cual se incluyen las algas de agua dulce pero principalmente las de agua de mar. Distintas variedades de algas se usaron en las comidas y la más corriente fue la Porphyra.

En la actualidad, el cochayuyo se come fresco en la costa con el ceviche, los picantes y las sopas, y también seco suelto o en plantas en los centros urbanos de la sierra.

*Los tubérculos también se preservaron de distintas formas. Las ocas (*Oxalis tuberosa*) y la machua (*Tropaeolum tuberosa*) se secaban al sol y soleados se ponen dulces y entonces se las llamaba cahui. Sin embargo, el tubérculo que se puede conservar por periodos indefinidos es la papa (*Solanum tuberosa*) la cual se sometía a un complicado proceso de deshidratación. Se usó de preferencia la variedad amarga y la faena se realizaba a 4 mil metros sobre el nivel del mar.*

*Las diversas suertes de chuño varían según las calidades de papa y los métodos empleados (el proceso dura por lo general varias semanas). Entre los productos obtenidos de papa destaca la moraya (del idioma quechua), que es un producto que se obtiene a partir de un proceso de secado de una variedad de papas amargas (*S. juzepczukii* y *S. curtilobum*) ricas en glicoalcaloides, típica de la zona alto andinas. Las papas de variedad dulce se acomodan por tamaño sobre una superficie plana y luego se exponen a la intemperie durante cuatro o cinco noches con sus días pasando por el frío nocturno y el ardiente sol del mediodía. Después son pisadas con cuidado por las mujeres para quitarles la cáscara y extraerles la humedad restante. Esto se repite hasta terminar de secar (Giannela, 2004; Rostworowski, 2010a; 2010b).*

Una lectura cuidadosa del texto anterior nos introduce en la antigua tecnología precolombina en la que están presentes distintos métodos de conservación de alimentos por deshidratación incluyendo procesos muy similares a la de secado por congelación *freeze drying*, y se utilizó a la naturaleza como fuente alternativa de energía pasando “por el frío nocturno y el ardiente sol del mediodía”.

Estas antiguas civilizaciones no solo desarrollaron tecnologías de procesamiento; también, poseían un profundo conocimiento de los alimentos y sus propiedades nutricionales y sensoriales. La selección de los alimentos mencionados se rescatan en documentos históricos: “la carne de llama o venado se secaba al sol”, “el pescado seco y salado era una importante fuente alimenticia para costeños y serranos”, “se fabricaban sopas con moluscos secos”, “el empleo de algas marinas secas para la alimentación”. Nos hablan de una marcada preferencia por alimentos que hoy conocemos como ricos en ácido glutámico libre, sus derivados y los 5'-ribonucleótidos.

Por su parte, las papas fritas son mucho más recientes. Si bien los belgas reivindican para sí el desarrollo de las papas fritas, existen referencias a las mismas, incluyendo las papas *soufflé*, durante las guerras napoleónicas. Puede, sin embargo, aceptarse como valedero que los belgas fueron los primeros en explotar la producción comercial e industrial de este apetitoso platillo. Asimismo, crónicas de la Primera Guerra Mundial cuentan que las tropas americanas e inglesas acantonadas, o atravesando Bélgica, probaron las papas fritas y las denominaron *french fries*, motivados por el hecho de que los proveedores, belgas, hablaban en francés. Lo realmente relevante es que se abrió el mercado a un producto de gran popularidad y que hoy en día incide en el comercio mundial con valores que rondan los 100 billones de dólares anuales.

Hoy se puede observar que las papas fritas, la sal y el *ketchup* han tenido historias convergentes al sabor umami. Todos los restaurantes de comidas rápidas contemporáneos sirven estas tres especies alimentarias en conjunto si bien tienen historias separadas por el tiempo y la geografía.

Como vimos anteriormente, las papas tienen su origen en tierras andinas de la América precolombina, con por lo menos tres mil años de historia. Los cultivos y sociedad conformaban un entramado cultural ligado a la consolidación y la evolución de estos pueblos que miraban hacia el mar y el cosmos con las espaldas sólidamente asentadas en la cordillera.

Respecto del origen *ketchup*, la teoría más difundida indica que dicha palabra proviene de *ke-tsiap*, del dialecto hablado en la isla Amoy, cerca de China, donde se aplicaba para denominar a un condimento a base de pescado en salmuera. Otras teorías coinciden en que en realidad la palabra maya *kechap* dio origen a *ketchup* o *catsup*. Más tarde, a finales del siglo XVII, el nombre *ketchup* y quizás también algunas muestras del producto llegaron a Inglaterra, donde apareció publicado por primera vez en 1690 como *catchup* (Planet Ketchup Heinz, 2019).

El primer tratado de farmacología conocido, *Peng-tzao-kanmu*, escrito en China hace aproximadamente 5000 años, menciona 40 tipos de sal. Este compuesto ha formado parte de la alimentación humana desde tiempos inmemoriales y ha cumplido funciones nutricionales y comerciales, y ha generado verdaderos nudos de tránsito de mercaderes tanto en Oriente como en Occidente. Las minas de Salzburgo, como lo indica su nombre, dieron notoriedad e importancia estratégica a esta zona austriaca (Salazar, 2010).

Entonces, papas, sal y *ketchup* son ingredientes de uno de los platos más populares de los tiempos modernos, con aportes históricos de América, Europa y Asia. Estos ingredientes se remontan a milenios y confluyen en la sabiduría ancestral de promover la generación de glutamato libre, tanto en el pescado deshidratado en salmuera como en la salsa de tomates, ambos ricos en este promotor del gusto umami y la sinergia de los mejores perfiles de sabor y aroma de la papa.

También es cierto y merecedor de la más respetuosa atención el hecho de que, para muchos nutricionistas, las papas fritas están catalogadas dentro de lo que se llama *junk foods* (comida “basura” o de “baja calidad nutritiva”). Sin embargo, en contraste con este calificativo, es innegable que se trata de un alimento preferido por muchos consumidores sobre todo en países, regiones y ciudades de altos estándares de vida, según los patrones de la cultura occidental. Las objeciones más incisivas respecto al consumo de papas fritas están vinculadas con su alto contenido calórico, la presencia de grasas “trans” y la formación de acrilamidas en el proceso de fritado a alta temperatura.

Estudiar las formas de salvar estas inconveniencias plantea un desafío para la comunidad científica vinculada a la ciencia y tecnología de alimentos. Muchas

son las propuestas y seguramente el conocimiento acumulado que generará soluciones para tranquilidad y satisfacción culinaria de los consumidores. Estas también tendrían que satisfacer la atenta supervisión de los organismos que regulan y reglamentan el comercio y la elaboración de alimentos, tales como *Codex Alimentarius* (FAO/OMS), Agencia Reguladora de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de América (FDA) y muchas otras organizaciones nacionales e internacionales.

3. LAS PAPAS Y SUS PROPIEDADES FÍSICAS

3.1. Estudio de la porosidad

El proceso de fritado de papas es esencialmente complejo debido a que el número de variables que interaccionan es muy grande. El concepto “papa” ya de por sí implica diferenciar cientos de variedades, con distinto grado de maduración, contenido de humedad, almidón, azúcares reductores, densidades, porosidades y otras muchas características que inciden en la calidad del producto final. Además, habría que observar las variables de proceso como temperatura del aceite, tiempo de fritado, tipo de grasa o aceite de fritura, procedimientos industriales o culinarios y otras como el blanqueo, deshidratado (en aire o por congelación), impregnación por ósmosis o al vacío, y recubrimiento con películas comestibles.

Cuando hablamos de propiedades físicas de las papas nos referimos, en realidad, a dos conceptos vinculados con el éxito de un proceso comercial de fritado de papas: la calidad agronómica, y las propiedades físicas y microestructurales.

Por un lado, se encuentran las propiedades vinculadas a la calidad agronómica relacionada con aspectos físicos, pero de gran impacto en la calidad comercial, tales como dimensiones axiales, esfericidad, ángulo de reposo, densidad real, densidad aparente y porosidad a granel (ver Glosario al final del texto). También son relevantes las propiedades mecánicas o estructurales intrínsecas como resistencia a la compresión, al corte, al punzonamiento y coeficiente de fricción.

Por su parte, se encuentran las propiedades físicas y microestructurales vinculadas al efecto que tienen el procesamiento industrial y a las características que afectan directamente a la calidad del producto final: contenido de almidón, azúcares reductores, porosidad de la matriz vegetal de los tubérculos individuales, contenido de humedad, etc.

Estos aspectos influyen directamente sobre los parámetros de calidad y en el rendimiento comercial de las papas fritas. A modo de ejemplo consideremos

que la cantidad de azúcares reductores está directamente vinculada a la densidad real del tubérculo. Por otra parte, este es un factor de oscurecimiento por pardeamiento debido al incremento de las de las reacciones de Maillard, indeseables para este producto. La cantidad de almidón libre luego del proceso de cortado de las papas en bastones u hojuelas (*chips*), es un factor primordial de deterioro prematuro del aceite de frito. Se debe resaltar también, que la geometría del tubérculo incide claramente en el rendimiento comercial de las papas fritas, pues las formas irregulares inciden en que haya un mayor desperdicio por astillas y trozos de descarte así como por la diferencia de tamaño del corte de bastones u hojuelas.

Las propiedades reológicas de las papas inciden claramente en la calidad del corte y aquellas están íntimamente ligadas con la forma de los bastones. En el proceso de corte de los bastones, la papa sufre dos tipos de “estrés”: el normal que produce deformación por compresión y el de cizalla, que produce deformación por arrastre, *strain*. Dependerá de la variedad y maduración de la papa, del filo de las cuchillas de corte y, fundamentalmente, del diseño de la máquina de corte, por ejemplo presión normal o tangencial al corte.

4. LA IMPREGNACIÓN AL VACÍO

Las primeras experiencias fueron difundidas por artesanos altamente calificados de la industria charcutera alemana, en un artículo de innegable practicidad y valor histórico. La primera información se remonta a la década de 1970, en Alemania, y se refiere a la impregnación al vacío de productos cárnicos, aunque también se reportan aplicaciones al curado de maderas.

Los charcuteros alemanes comenzaron sus experiencias basados primeramente en el conocimiento del concepto “vacío” y sus implicaciones tecnológicas. El objetivo era conocer la forma en que la regulación del vacío promueve el ingreso de sal, obteniendo productos similares en calidad a los salados por métodos convencionales, tanto en seco como en vía húmeda.

El acondicionamiento en un recipiente hermético con presión negativa facilita la difusión de las moléculas de sal disminuyendo radicalmente el tiempo de impregnación y posibilitando una distribución más homogénea. Como se verá más adelante, con ejemplos en materiales vegetales, la impregnación al vacío permite la oclusión de poros, fracturas e intersticios con moléculas de sal promoviendo la retención de aroma, color y jugosidad. Todos estos conceptos han llevado a que en las últimas décadas los científicos del sector alimentario presten atención directa a la aplicación de esta tecnología.

4.1. El ensayo con salame (Dauerwurst)



Salame (Dauerwurst)

Efectivamente, hoy en día el procedimiento tiene relevancia científica y día a día se encuentran nuevas aplicaciones en prestigiosos centros de investigación donde se está trabajando al respecto.

Es así que se han desarrollado tecnologías vinculadas a la impregnación al vacío con aplicación, además de las originarias a carnes y productos cárnicos, a frutas y hortalizas (Vidales & Alzamora, 1999; Paes *et al.*, 2007; Fito *et al.*, 2001a), a quesos tipo *manchego* (Chiralt & Fito, 1997; Andrés *et al.*, 1997), a quesos tipo *suizo* en investigaciones de apoyo a la industria (Crosa *et al.*, 2005) y muchos otros.



Queso tipo suizo

El sistema de impregnación al vacío (SIV) se basa en un mecanismo de transferencia de masa por aplicación de presiones subatmosféricas, frecuentemente utilizando pulsos en los cuales se alternan vacíos residuales del orden de 40 mmHg – 80 mmHg con presión atmosférica. Este procedimiento posibilita la impregnación de un sistema alimenticio poroso con soluciones, por ejemplo salinas, dando lugar a procesos de salado de alimentos en forma más rápida, eficiente y homogénea.

La penetración a poros y capilares está vinculada a la fracción volumétrica de la pieza del alimento que es susceptible de llenarse con líquido externo (X) y es función de la presión capilar p_c , de la presión del sistema (p) y de la porosidad efectiva del producto (ϵ) (Fito, 1994, Fito *et al.*, 2001b). A partir de la ecuación siguiente, se deduce que la penetración capilar aumenta con la disminución de la presión en el sistema, o sea con el aumento del vacío en la cámara de impregnación.

$$X = \epsilon \cdot \left[\frac{pc}{p + pc} \right] \quad (1)$$

Al completarse cada pulso de presión atmosférica – vacío – presión atmosférica en la cámara de impregnación, tiene lugar un mecanismo hidrodinámico que favorece la penetración del líquido en el alimento (Fito *et al.*, 1996; Salvatori *et al.*, 1998). Los modelos matemáticos que permiten predecir la fracción volumétrica del líquido de impregnación han sido desarrollados ampliamente en la bibliografía citada.

Este procedimiento no solo es compatible con la innovación tecnológica asociada a la menor incorporación de aceite a las papas fritas y al eventual procedimiento de fritado a temperaturas sensiblemente menores a los tradicionales 180 °C, sino que abre un interesante abanico de posibilidades para el desarrollo de nuevos productos por incorporación de sabores especiales a las papas en el momento de la impregnación o en etapas posteriores al fritado. El GMS ocluido en los poros y capilares del tejido vegetal podrá liberarse oportunamente en la masticación, ejerciendo su ya milenaria capacidad sinérgica sobre los sabores propios de la papa frita o de los condimentos adicionados y el delicado quinto gusto.

5. INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE FRITADO EN LA FORMACIÓN DE ACRILAMIDAS Y EN EL CONTENIDO GRASO DE LAS PAPAS FRITAS

5.1. Tiempo, temperatura, tipo de aceite. Formación de acrilamidas. Uso de GMS para disminuir la temperatura de fritado

La investigación de diversos grupos de expertos en ciencia y tecnología de alimentos pone de manifiesto que la formación de acrilamidas durante el proceso de fabricación de papas fritas está directamente relacionada con el factor tiempo-temperatura de fritado. Es frecuente el uso de temperaturas de fritado de aproximadamente 180-185 °C, aunque algunas reglamentaciones nacionales ya están recomendando el uso de menores temperaturas, justamente para disminuir la formación de compuestos indeseables.

En el pasado, la aplicación de la Física y los principios clásicos de la Ingeniería Química, combinados con cierta dosis de empirismo, eran suficientes para explicar los fenómenos del proceso de alimentos a nivel macro. Sin embargo, esta aproximación macro ha conllevado a una contribución limitada a (entender) los principios fundamentales de la ingeniería de los productos alimenticios algunas veces justificada por la "complejidad" de los materiales alimenticios, la escala reducida de los análisis y la dificultad de generar datos a nivel "micro". (Quevedo & Aguilera, 2000).

Del análisis del texto surge que la microestructura fue, en el pasado, la variable más importante obviada por los ingenieros y científicos alimentarios. Si bien la comunidad científica ha puesto mayor énfasis en estos estudios, sigue siendo totalmente cierto que para avanzar en la comprensión de las propiedades y oportunidades de los alimentos necesitamos profundizar en los detalles a nivel de tejidos, células y moléculas involucrados a los procesos de elaboración de alimentos. De ese modo, se podría mejorar la calidad del fritado de papas en la fabricación industrial o elaboración culinaria en restaurantes y hogares. También es necesario tener en cuenta la visualización de las modificaciones que se producen en el alimento, de ser posible en tiempo real y por métodos no destructivos.

La fritura por su parte es una operación unitaria cuyo resultado en las papas fritas se mide en la calidad final del producto, verificando tanto las propiedades sensoriales como las nutricionales. Entre otras cosas, el uso de temperaturas "altas" como las mencionadas anteriormente tienen varias conveniencias desde el punto de vista sensorial, por ejemplo la formación de una corteza (*crust*) muy apetecida por los consumidores, con un centro tierno. Esto, con temperaturas del orden de 180-185 °C, se obtiene en las primeras etapas del fritado.

En contraste, en condiciones normales, el uso de temperaturas más bajas, tendría por efecto una menor y más lenta formación de corteza. Los principales problemas tecnológicos asociados a la disminución de la temperatura de fritado se vinculan con el aumento de la incorporación de aceite debido a una estructura microporosa más abierta, aumento del tiempo de fritado, obtención de coloraciones indeseadas, aumento del contenido de humedad y dilución de sabores.

Durante el proceso de fritura, ya sean en bastones o en hojuelas “chips”, la papa sufre transformaciones que determinan los atributos de calidad del producto final como por ejemplo contenido de aceite, crocancia, rugosidad, porosidad, ternera, color y contenido de humedad.

El fritado en inmersión profunda es el proceso de elaboración más comúnmente utilizado en la industria, con una complejidad intrínseca que involucra la transferencia de calor y masa, con complejas modificaciones de la estructura tisular del bastón u hojuela (Figura 19.1).

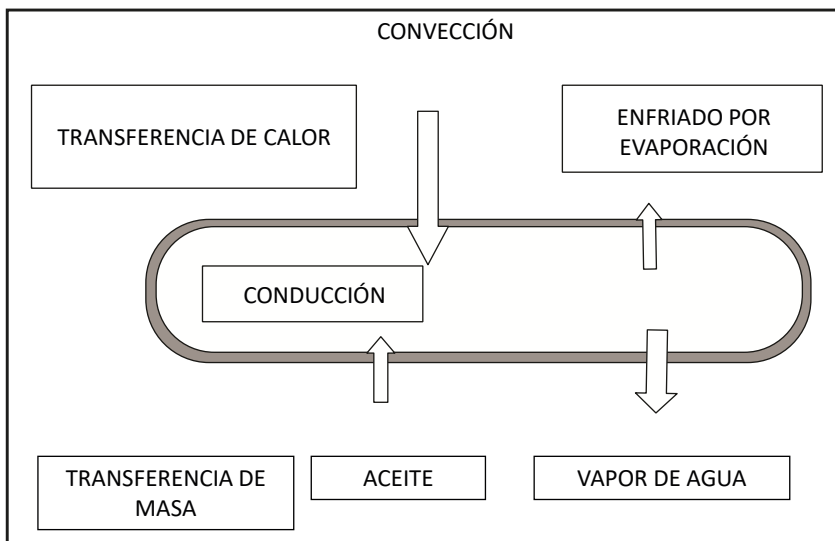


Figura 19.1 – Transferencia de calor y masa en un bastón de papa. La comprensión de los procesos de transferencia induce al desarrollo de nuevas tecnologías.

Fuente: Pulgar, 2006.

Siguiendo las tendencias marcadas por las recomendaciones nutricionales, es importante que los ingenieros alimentarios orienten sus investigaciones hacia la obtención de productos que permitan reducir la ingestión de aceites, pero respetando los factores culturales y las preferencias gastronómicas de los consumidores. Por este motivo, dedicar esfuerzos a la elaboración de papas fritas,

uno de los platos preferidos y popularmente aceptados, es una oportunidad de gran valor tanto desde el punto de vista tecnológico como comercial.

Los trabajos llevados a cabo en la Pontificia Universidad Católica de Chile, por Pulgar (2006) y por Schuten & Slotboom (2004), inducen a dos conclusiones que pueden ser consideradas como orientadores para la búsqueda de nuevos desarrollos que permitan obtener papas fritas con buenas características sensoriales, menor contenido de aceite y menor formación de acrilamidas (Figura 19.1).

El primero de los trabajos mencionados concluye que el principal mecanismo para la incorporación de aceite parece ser el flujo hidráulico del mismo. Este flujo es consecuencia del vacío generado en los poros de la papa por evaporación repentina del agua a alta temperatura de fritado, teniendo menor importancia cuantitativa la incorporación por difusión simple.

En el segundo de los trabajos, se concluye que si bien el contenido de aceite de las papas fritas aumenta con el tiempo de fritado, no se encuentra un aumento del contenido de aceite (en base seca) debido a la variación de la temperatura del aceite, si se mantiene el tiempo constante. En definitiva, de acuerdo a estos trabajos, se concluye que, si los tiempos de fritado son constantes, la incorporación de aceite está determinada por el contenido de humedad del tubérculo. Trabajos de muy diferente orientación científica y tecnológica presentan una armoniosa cadena de conclusiones, consideradas de gran utilidad para el diseño de nuevas alternativas de procesamiento.

El GMS puede ser un componente clave para la obtención de las papas fritas con aquellas deseadas características. Para la comprensión de la idea central de este proceso se deben considerar los siguientes factores:

1. El GMS es un componente común, de aplicación en alimentos como papas fritas o *snacks*.
2. No tiene limitaciones de uso, su estatus reglamentario en la FDA es de ser un compuesto generalmente reconocido como seguro (GRAS), estando también clasificado como un aditivo alimentario de uso seguro por el *Codex Alimentarius*.
3. A diferencia de la sal, cuyo gusto aumenta con su concentración en el alimento, el GMS tiene su máxima potencia de sinergismo de sabor en valores próximos a 0,3% en productos como los considerados en este trabajo. Además, no tiene mayor capacidad de potenciar sabores si se aumenta su concentración.

La idea rectora para este desarrollo pasa por la impregnación en condiciones de vacío SIV (*sous-vide*, un término francés que significa “al vacío”) de papa en bastones con una solución de cloruro de sodio y GMS. Como consecuencia de este tratamiento se produce la transferencia de masa por impregnación del tejido de papa con los solutos y la salida de agua de los poros, los cuales se llenan parcialmente con sal y GMS.

Las condiciones de trabajo para estos ensayos orientadores fueron en dos pulsos con las siguientes características:

Primer pulso: Tiempo de vacío, 5 min; 40 mmHg de presión residual; tiempo a presión atmosférica, 20 min.

Segundo pulso: Tiempo de vacío 5 min; 40 mmHg de presión residual; tiempo a presión atmosférica, 15 h.

Las soluciones de impregnación fueron seis (Tabla 19.1)

Tabla 19.1 – Datos experimentales.

Nº	NaCl (%)	MSG (%)
1	0,5	0
2	0,5	0,03
3	0,5	0,3
4	0,5	3
5	0	0,3
6	0	0

Se realizó seguimiento de los cambios de peso de los bastones de papa luego del proceso de impregnación y se encontró que el mejor cambio de peso correspondió a la solución número 4 con una pérdida de peso de 19%. Este resultado implica un claro efecto de disminución del peso de los bastones con el aumento del porcentaje de GMS.

Las papas en bastones después de ser escurridas durante 30 min a temperatura ambiente, fueron sometidas al proceso de prefritado a una temperatura de 180° durante 90 segundos y posterior escurrimiento del aceite (Figura 19.2).

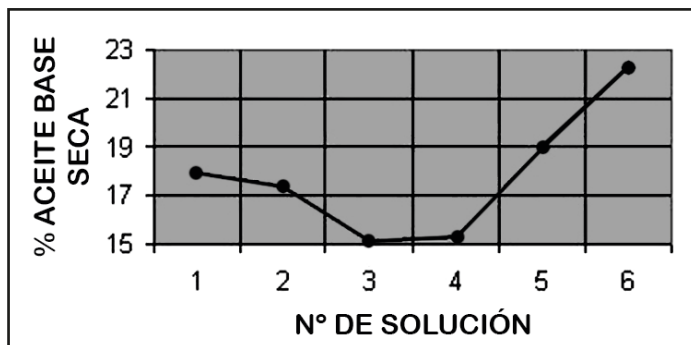


Figura 19.2 – Papas impregnadas con GMS y sal.

La menor incorporación de aceite con la presencia de las dos moléculas, tanto de sal (masa molecular 58,5 u) como de GMS (masa molecular 187,13 u), nos hace pensar en la posibilidad de que el ingreso de las dos sales, sustituyendo parcialmente al agua durante el proceso de impregnación, disminuye notoriamente las burbujas de evaporación de vapor de agua dentro de los poros del tejido de los bastones y, por lo tanto, el flujo hidráulico del aceite dentro de los mismos.

Otro aspecto a considerar está relacionado al tiempo de fritado y a sus consecuencias sobre la disminución de la formación de acrilamidas. Estos compuestos son indeseables desde el punto de vista de la salud pública y la formación de la corteza, pero son deseables desde el punto de vista sensorial.

Los ensayos preliminares para el proceso de prefritado aportan interesantes perspectivas. Las papas a fritar, con un 19% menos de agua, insumen notoriamente menor cantidad de calor latente para el cambio de estado vaporizando agua y mayor cantidad de calor sensible para actuar sobre la materia seca. Por tanto favorece un menor ingreso de aceite, pero una formación de la corteza más rápida y a menor temperatura, lo cual es compatible con una menor formación de acrilamidas. Estos resultados están en correspondencia con lo que expresa extensamente la bibliografía.

La evaluación sensorial, comparando papas en bastón fritas a 165 °C y a 180 °C realizadas por ensayos triangulares y de preferencia, indicó que no hay diferencias significativas en color y textura de costra. Esta última, medida como satisfacción en la mordida.

En definitiva, los grandes conceptos asociados a la innovación en nuevas aplicaciones se vinculan a la moderación de la temperatura de fritado, para lo cual se recomienda el artículo de Haase *et al.* (2003). Este trabajo trata sobre la

estructura porosa del alimento, las dimensiones de las moléculas utilizadas para sustituir agua en los poros de la papa, los cambios estructurales del almidón durante el fritado y el equipo de impregnación al vacío.

No es el propósito de este capítulo ofrecer resultados concluyentes que tomen en cuenta los análisis microestructurales, sino hacer un aporte a investigadores expertos en el área para buscar oportunidades de nuevas aplicaciones para un molécula que ha demostrado, a través de 100 años de historia, cumplir con las más exigentes reglamentaciones relativas a la seguridad alimentaria y que, a la vez, proporciona sorprendentes posibilidades tecnológicas.

6. GLOSARIO (BUITRAGO ET AL., 2004)

- *Ángulo de reposo: cuando un determinado material, al vaciarlo en una superficie horizontal, fluye formando una pila, que es una característica de sí mismo. El ángulo más inclinado del material en relación con el plano horizontal que se forma sin deslizarse es lo que se llama ángulo de reposo.*
- *Densidad y porosidad: la densidad de los sólidos se define como la masa del sólido dividida entre el volumen del sólido. La porosidad, o porcentaje de espacios vacíos de materiales no consolidados, es de gran utilidad en diversos procesos, como el paso de aire para su secado, almacenamiento, diseño de silos, separación de elementos indeseables, etc.*
- *Dimensiones axiales: la forma y tamaño son inseparables en un objeto físico y el conocimiento de las dimensiones axiales son necesarios para que un objeto sea descrito satisfactoriamente.*
- *Esfericidad: el fundamento geométrico del concepto de esfericidad descansa sobre la igualdad isoperimétrica de una esfera.*

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRÉS, A. *et al.* “Distribution of salt in Manchego type cheese after brining”. In: JOWITT R. *Engineering and Food at ICEF 7*. Brighton, Sheffield Academic Press, 1997, pp. 133-136.

BUITRAGO, G. V. *et al.* “Determinación de las características físicas y propiedades mecánicas de papa cultivada en Colombia”. *Rev bras Eng Agric Ambient.* 8(1): 102-110. 2004.

CHIRALT, A. & FITO, P. “Salting of manchego-type cheese by vacuum impregnation”. *Conference Proceedings*. 1997. Disponible en <10.1007/978-1-4615-6057-9_12>. Acceso en 13/1/2020.

CROSA, M. *et al.* “Desarrollo de una línea de salado por impregnación al vacío de quesos para una PYME Láctea”. In: Simposio Internacional de Innovación y Desarrollo de Alimentos, INNOVA. Montevideo, 2005. Disponible en <https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=983>. Acceso el 13/1/2020.

DONHOWE, I. G. & FENNEMA, O. “The effect of relative humidity gradient on water vapor permeance of lipid and lipid-hidrocolloid bilayer films”. *Journal of the American Oil chemists' Society*. 69(11): 1081-1087, 1992.

FITO, A. *et al.* “Acoplamiento de mecanismos hidrodinámico y los fenómenos de deformación-relajación durante los tratamientos de vacío en los sistemas sólidos porosos líquido de alimentos”. *Revista de Ingeniería de Alimentos*. 27(3): 229-240, 1996.

FITO, P. “Modeling of vacuum osmotic dehydration of food”. *Journal of Food Eng.* 22(1-4): 313-328, 1994.

FITO, P. *et al.* “Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: Application in functional fresh food development”. *J Food Engineering*. 49(2-3): 175-183. 2001a.

FITO, P. *et al* (ed.). *Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation*. Lancaster, Technomics Publishing Co., 2001b.

GIANELLA, T. “Chuño blanco, ‘tunta’ o ‘moraya’: un proceso natural de conservación”. *LEISA Revista de Agroecología*. 20(3), 2004. Disponible en <<http://www.leisa-al.org/web/index.php/volumen-20-numero-3/2094-chuno-blanco-tunta-o-moraya-un-proceso-natural-de-conservacion>>. Acceso el 13/1/2020.

GRAVES, C. (Ed.). *La papa tesoro de los Andes: de la agricultura a la cultura*. 2. ed. Lima, Centro Internacional de la Papa, 2006. Disponible en <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/05/la_papa_tesoro_de_los_andess.pdf>. Acceso el 13/1/2020.

HAASE, U. N.; MATTHAUS, B. & VOSMANN, K. “Acrylamide formation in foodstuffs - Minimising strategies for potato crisps”. *Deutsche Lebensm. Rund.* 99(3): 87-90, 2003.

PAES, S.; STRINGARI, G. & LAURINDO, J. “Effect of vacuum and relaxation periods and solution concentration on the osmotic dehydration of apples”. *International J Food Sci Technol*. 42(4): 441-447, 2007.

PLANET KETCHUP HEINZ. *Historia del Ketchup*. 2019. Disponible en <<https://www.heinzbrasil.com.br/sobre>>. Acceso el 13/1/2020.

PULGAR, C. E. C. *Estudio de la distribución del aceite en rodajas de papa frita*. Santiago, Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, 2006 (Memoria para optar al título de Ingeniero de Alimentos). Disponible el <http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2006/cocio_c/sources/cocio_c.pdf>. Acceso el 13/1/ 2020.

QUEVEDO, R. & AGUILERA, J. M. “Caracterización de la Topografía de Superficies en Biomateriales”. 2000. Disponible en <<https://smbb.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/magistrales/M-7.pdf>>. Acceso el 13/2/2020.

REEDS, P. J. *et al.* “Intestinal glutamate metabolism”. *J Nutrit*. 130(4S Suppl): 978S-982S, 2000.

ROSTWOROWSKI, M. D. C. 1. *La historia de los incas. Incas*. ISBN 978-612-4069-47-5. Lima, Producciones Cantabria, 2010a, pp. 17–25.

ROSTWOROWSKI, M. D. C. 2. *La ocupación del Cusco. Incas*. ISBN 978-612-4069-47-5. Lima, Producciones Cantabria, 2010b, pp. 26–35.

SALAZAR, E. “Historia de la sal en el Ecuador Precolombino y Colonial”. *Antropología Cuadernos de investigación*. 10: 13-29, 2010. Disponible en <<https://doi.org/10.26807/ant.v0i10.46>>. Acceso el 13/1/2020.

SALVATORI, D. *et al.* “The Response of Some Properties of Fruits to Vacuum Impregnation”. *Journal of Food Process Eng*. 21(1): 59-73, 1998.

SCHUTEN, H. G.; GIJSSEL, J. & SLOTBOOM, E. “Effect of frying conditions on the fat content of French fries: final report”. 2004. Disponible en <<https://edepot.wur.nl/35103#:~:text=Longer%20frying%20times%20results%20in%20higher%20fat%20content.&text=Higher%20temperatures%20result%20in%20higher,in%20a%20lower%20fat%20content.>>. Acceso el 13/1/2020.

SILVERA, P. *La imagen corporal desde la Edad Media hasta nuestros días*. Universidad Católica del Uruguay, 2006 (Trabajo especial de Licenciatura de Nutrición).

VIDALES, S. & ALZAMORA, S. “Impregnación a vacío de frutilla entera: influencia sobre textura, aw, sólidos solubles e integridad celular”. *In: VIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, Rafaela (Santa Fe), 13-16/5/1999.

WALKER, R. & LUPIEN, J. R. “The Safety Evaluation of Monosodium Glutamate”. *The Journal of Nutrition*. 130(4): 1049S-1052S, 2000.

PARTE VII
ASPECTOS REGULATORIOS

ASPECTOS REGULATORIOS DEL GLUTAMATO MONOSÓDICO

*Elba Sangronis
Helena Fernandes Martins Tavares*

1. ASPECTOS GENERALES

El glutamato, una de las principales sustancias que proporcionan el gusto umami, es un aminoácido multifuncional involucrado desde la percepción del gusto, hasta las funciones nutricionales y fisiológicas, incluido el sistema gastrointestinal, el metabolismo celular y la neurotransmisión. Por ser un aminoácido no esencial, el propio cuerpo humano es capaz de producir hasta aproximadamente 50 g de glutamato libre al día (Sasaki, 2017).

El glutamato se encuentra en muchos alimentos que se consumen en una dieta normal y también es un componente de la leche materna. El cuerpo metaboliza el glutamato exactamente de la misma manera, ya sea que provenga de estos alimentos o que se agregue como ingrediente a los alimentos, como el glutamato monosódico (GMS) (Raiten, 1995; IGIS, 2020).

El glutamato puede existir enlazado a otros aminoácidos como parte de las proteínas, o encontrarse en forma libre en tejidos vegetales y animales. La ingesta de glutamato puede derivarse de su presencia natural como constituyente de proteínas, de su presencia como glutamato libre en ciertos alimentos (muchos de los cuales son fermentados) y de la adición de ácido glutámico y glutamatos

a los alimentos como aditivos potenciadores del sabor (Tennant, 2018). Según el autor, la ingesta potencial de glutamato en la dieta se ha evaluado en los siguientes escenarios posibles: (i) consumo del glutamato libre que está presente naturalmente en los alimentos; (ii) consumo de glutamato presente en las proteínas dietéticas; (iii) consumo total de glutamato natural procedente de proteínas y libre en los alimentos; (iv) consumo de glutamato libre por el uso de aditivos alimentarios; (v) consumo de glutamato libre del uso de aditivos alimentarios y glutamato libre que se encuentra naturalmente en los alimentos; y (vi) consumo total de glutamato en la dieta de todas las fuentes combinadas.

Los problemas metodológicos afectan la confiabilidad de los análisis del glutamato en los alimentos, ya que no es posible discriminar entre glutamato natural libre, glutamato derivado de glutamina (la prehidrólisis ácida suele hacer que la glutamina en proteínas se determine como glutamato), glutamato en proteínas o glutamato añadido como un aditivo alimentario o nutriente. Por lo tanto, la selección cuidadosa de muestras con origen y composición conocidos puede ayudar a reducir las incertidumbres, agrupando alimentos que se sabe que tienen altos niveles de glutamato libre, alimentos con altos niveles de proteínas y alimentos en los que se agregaría glutamato para mejorar el sabor o la nutrición (Tennant, 2018).

El glutamato libre se encuentra de forma natural en diversos alimentos, como tomates, queso *parmesano*, carne, guisantes, maíz, champiñones, espárragos, entre otros (Yamaguchi & Ninomiya, 2000).

Sugimoto *et al.* (2019) verificaron la ingesta de glutamato libre en la población estadounidense a partir de los alimentos. Utilizando datos de consumo de alimentos de la *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) 2009-2014. El estudio reveló que el consumo promedio de glutamato libre fue de 258 mg/día para niños y 322 mg/día para adultos. Las principales fuentes alimentarias de glutamato libre fueron los platos mixtos, tanto para niños como para adultos. Otros alimentos importantes que aportan glutamato libre, tanto para niños como para adultos, fueron la leche y los productos lácteos, los alimentos proteicos (carnes, mariscos), frutas, condimentos, salsas y verduras. Según los autores, un estudio anterior que utilizó datos del *Nurse's Health Study* estimó la ingesta total de glutamato (no la ingesta de glutamato libre) entre los adultos estadounidenses en 7,27 g/día por el método de secuenciación genética y 14,46 g/día por el método bioquímico convencional. Esta importante diferencia entre los estudios se debe, según los autores, a la diferencia de la sustancia objeto de estudio. El estudio anterior evaluó la ingesta total de glutamato, incluido no

solo el glutamato libre, sino también el glutamato unido a proteínas, mientras que el estudio de Sugimoto *et al.* (2019) se centró solo en el glutamato libre. La proporción de glutamato libre es mucho más baja que la de glutamato presente en las proteínas y su concentración no tiene relación con el contenido de proteínas del alimento.

Tennant (2018) revisó y consolidó los niveles más altos de ingesta de glutamato por franja etaria observados en los países europeos (Figura 20.1).

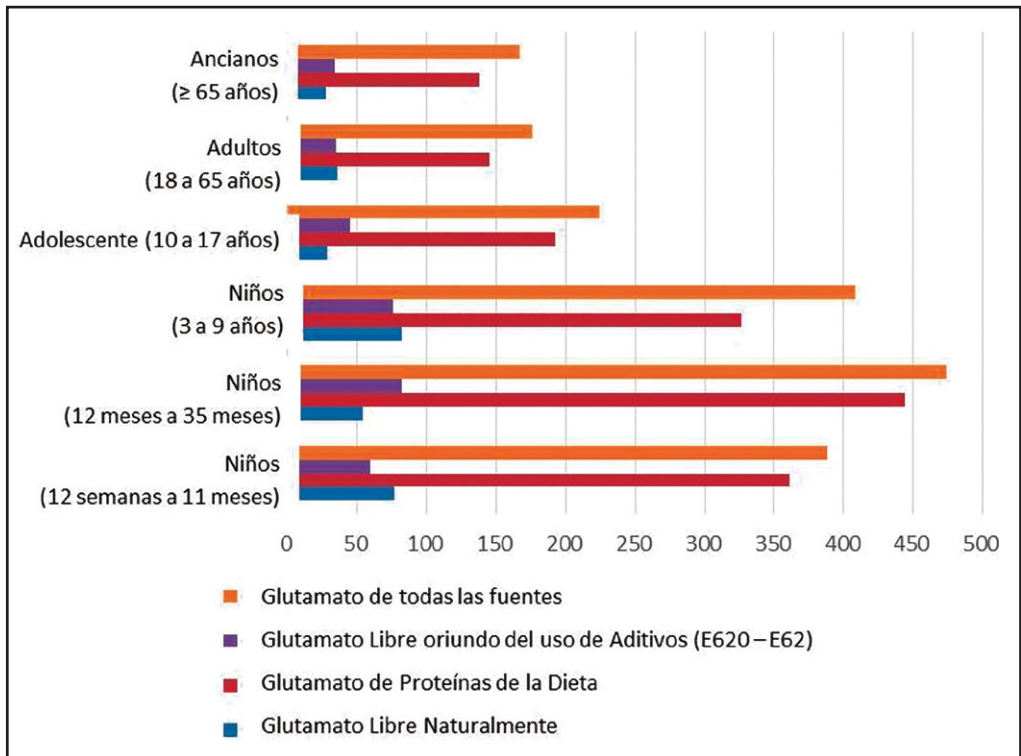


Figura 20.1 – Niveles más altos de ingesta de glutamato observados por franja etaria en los países europeos (mg ácido glutámico/kg p.c./día).

Fuente: figura adaptada de Tennant, 2018.

Como se señaló anteriormente, el glutamato libre también se puede encontrar en alimentos procesados como resultado del uso de GMS como potenciador del sabor (Maluly *et al.*, 2017).

El GMS es la sal de sodio del aminoácido llamado ácido glutámico en su forma de glutamato. A pH fisiológico, el GMS se disocia en el catión Na^+ y en el anión glutamato, que se metaboliza de la misma forma que se obtiene de su

fuente natural, las proteínas. Se produce por fermentación, además de salsas de soya o yogures, a partir de fuentes ricas en carbohidratos como la melaza y el sirope de caña de azúcar, remolacha o yuca. Esta fermentación se realiza en un ambiente controlado utilizando microorganismos (*Corynebacterium glutamicum*) y luego se filtra, purifica y cristaliza hasta obtener glutamato monosódico refinado.

El uso de GMS como ingrediente está permitido en una amplia variedad de productos alimenticios y está reglamentado por normas nacionales e internacionales. Además de otras sustancias responsables del gusto umami, como inosina-5'-monofosfato (IMP) y guanosina-5'-monofosfato (GMP), estas sustancias tienen su uso aprobado, por órganos regulatorios, como aditivos alimentarios con función de potenciadores del sabor, siendo el GMS el más utilizado en los alimentos.

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA*) considera que el uso del GMS como aditivo alimentario es seguro. Debido a que es un aditivo para el que se ha establecido una ingesta diaria aceptable (IDA) “no especificada”, el GMS se puede agregar a los alimentos de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF).

Es importante señalar que su uso excesivo no contribuye a la aceptación general de la preparación culinaria o producto alimenticio. De esta forma, el GMS se suele añadir a los alimentos en una proporción de 0,1 a 0,8%, que corresponde a la cantidad de L-glutamato libre presente de forma natural en los tomates o el queso *parmesano* (Maluly *et al.*, 2017). Así, aunque no existe un IDA numérico por su reconocida inocuidad, el aditivo es autolimitante, pues existe un límite sensorial cuya adición en pequeñas cantidades ya cumple con el efecto tecnológico deseado.

2. SEGURIDAD DEL USO DEL GMS Y ESCENARIO REGULATORIO

Desde su primera comercialización en Japón en 1909, el glutamato monosódico se ha utilizado de forma segura y eficaz en la preparación de alimentos. Se han realizado cientos de estudios científicos sobre el glutamato con un enfoque en su uso como ingrediente alimentario. Esta extensa investigación, realizada y revisada por científicos y agencias reguladoras de todo el mundo, combinada con su larga historia de uso, demuestra que el GMS es seguro (IGIS, 2020).

Desde un punto de vista regulatorio, el GMS está aprobado por gobiernos de todo el mundo, incluidos Estados Unidos, Europa, Japón y otros países asiáticos, América, África, Australia y Nueva Zelanda (IGIS, 2020).

Importantes comités y organismos reguladores y sanitarios, como la *Food and Drug Administration (FDA)*, *World Health Organization (WHO)*, *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)* e o *Codex Alimentarius*, han incluido durante años el estudio y los usos del GMS. Actualmente, estos organismos consideran que tanto el glutamato monosódico como los 5 ‘ribonucleótidos son ingredientes y/o aditivos seguros. Sin embargo, para lograr esta calificación y mantenerla en el tiempo, las evidencias científicas sobre el tema son revisadas periódicamente, de la misma manera que se hace para otras sustancias.

Estados Unidos

FASEB - *Federation of American Societies for Experimental Biology*

FDA - *Food and Drug Administration*

En 1958, bajo la *Food Additives Amendment to the Federal Food, Drug and Cosmetics Act* (21 USC 321[s]), el GMS se consideró un ingrediente GRAS (por sus siglas en inglés, *Generally Recognized as Safe*) como resultado de su historia de uso común en alimentos hasta esa fecha. Incluso después de muchos años de estudios y evaluaciones, el estado GRAS del GMS permanece hasta el día de hoy y se encuentra en el *Code of Federal Regulations* (21 CFR 182.1), siendo considerado un ingrediente alimentario común, como la sal, la levadura y la pimienta (Raiten, 1995; FDA, 2019).

La historia de las evaluaciones relacionadas a la seguridad en el consumo de GMS en los Estados Unidos es larga y comienza ya en 1969, cuando el presidente Nixon, durante la *White House Conference on Food, Nutrition and Health*, solicita a la *Food and Drug Administration (FDA)* una reevaluación de la seguridad de todas las sustancias GRAS. El *Selected Committee on GRAS Substances (SCOGS)*, convocó a la *Life Sciences Research Office (LSRO/FASEB)* en 1972, en virtud de un contrato con la FDA, para realizar una revisión independiente de los aspectos de salud relacionados con el GMS y otros glutamatos. Basado en datos científicos en ese momento, incluso con algún grado de incertidumbre y la necesidad de más estudios, el SCOGS concluyó que el GMS seguía siendo GRAS. El SCOGS también señaló que el GMS fue eliminado de los alimentos

infantiles por la propia industria y, por lo tanto, también concluyó que su uso en alimentos infantiles no se consideraría GRAS. Después de recibir este *Report* en 1978, la FDA pidió al SCOGS que reevaluara sus hallazgos a la luz de la nueva información presentada por los productores. El informe, entregado en 1978, reafirmó la condición GRAS del GMS en el nivel actual de uso, aún conteniendo las mismas limitaciones para su uso en alimentos infantiles (Raiten, 1995).

Con el fin de hacer que el rotulado de los alimentos sea más práctico para los consumidores, en 1990 el Congreso Americano promulgó la *Nutrition Labeling and Education Act* (NLEA). En consecuencia, la FDA ha desarrollado una serie de regulaciones propuestas con respecto al rotulado de alimentos para implementar la NLEA. Específicamente para el rotulado del GMS, la 21 CFR 101.22 establece que “*Any monosodium glutamate used as an ingredient in food shall be declared by its common or usual name monosodium glutamate*”. Por lo tanto, la FDA requiere que los alimentos que contienen glutamato monosódico agregado lo incluyan en la lista de ingredientes de la embalaje como “glutamato monosódico”. Sin embargo, el glutamato se encuentra de forma natural en ingredientes tales como proteína vegetal hidrolizada, levadura autolizada, levadura hidrolizada, extracto de levadura, extracto de soya y proteína aislada, así como en tomates y quesos. Aunque la FDA requiere que estos productos se incluyan en el panel de ingredientes, la agencia no requiere que la etiqueta también especifique que contienen glutamato de forma natural. Sin embargo, los alimentos con cualquier ingrediente que contenga glutamato de forma natural no pueden indicar “Sin GMS” o “Sin GMS agregado” en su embalaje (FDA, 2019).

A lo largo de los años, la FDA ha recibido informes de síntomas, como dolor de cabeza y náuseas, después de ingerir alimentos que contienen GMS. Sin embargo, en estos informes no constaban evidencias científicas documentadas que permitieran atribuir estos efectos adversos a la presencia del GMS. Se observaron inconsistencias en los casos presentados: a veces, era difícil establecer la conexión entre la reacción específica manifestada y la presencia de GMS en el alimento. En muchos casos, no se proporcionó información sobre las condiciones de consumo de GMS, el perfil de las personas afectadas, la cantidad de GMS consumida, entre otros.

Estos informes de eventos adversos llevaron a la FDA a solicitar al grupo científico independiente, *Federation of American Societies for Experimental Biology* (FASEB), que examinara nuevamente la seguridad del GMS en la década de 1990. En 1992, el *Center for Food Safety and Applied Nutrition* (CFSAN), solicitó a LSRO/FASEB que preparara un análisis científico del estado del arte

de la seguridad del GMS, abordando principalmente los puntos (1 a 5) que se detallan a continuación. A medida que avanzaba el estudio, la FDA perfeccionó el contexto al abrir estos temas hasta 18 preguntas para ser respondidas por FASEB en su informe final (Raiten, 1995).

1. Determinar si el GMS tal como se utiliza en la cadena alimentaria estadounidense (incluido su uso como componente de productos de hidrólisis de proteínas) contribuye a la presentación del conjunto de síntomas (denominados en ese momento como “síndrome del restaurante chino”) después de la ingesta oral de ≥ 5 g, al consumir alimentos y/o causar otras reacciones, incluidas reacciones adversas más graves (disnea, arritmia y asma) que se han informado después de la ingestión de GMS en niveles entre 25 - 100 mg/ocasión de consumo de alimentos;
2. Determinar si el GMS, tal como se usa en la cadena alimentaria estadounidense (incluido su uso como componente de productos de hidrólisis de proteínas) tiene el potencial de mediar el daño cerebral y la neurotoxicidad en primates recién nacidos y adultos y cualquier riesgo identificado en el consumo de GMS por humanos;
3. Comprobar que las glándulas pituitarias de los primates liberan hormonas después de ingerir alimentos que contienen GMS e identificar cualquier riesgo para los seres humanos por ingerir alimentos que contienen GMS;
4. Definición de las bases metabólicas que justificarían las reacciones adversas;
5. Elaboración de un informe con las conclusiones de esta revisión y evaluación.

En su informe final, en 1995, FASEB (Raiten, 1995) concluyó que el GMS es seguro e identificó que, con base en evidencias científicas verificadas, hay un subconjunto de personas presuntamente sanas que pueden responder con síntomas a corto plazo, transitorios y usualmente leves (tales como dolor de cabeza, entumecimiento, rubor, hormigueo, palpitaciones y somnolencia) después de la ingesta oral de 3 g o más de GMS en ausencia de alimentos. Sin embargo, una porción típica de un alimento con adición de GMS contiene menos de 0,5 g de GMS. Este nivel de ingesta puntual de GMS (≥ 3 g) en ausencia de alimentos es muy poco probable en el escenario real de consumo (FDA, 2019; Raiten, 1995). Además, puede haber un pequeño subconjunto de asmáticos inestables, diagnosticados previamente, que también pueden responder a altas dosis de GMS en condiciones específicas de uso. Sin embargo, los mecanismos de estas reacciones

se consideraron, en ese momento, desconocidos (Raiten, 1995). Aunque algunas personas se identifican a sí mismas como sensibles al GMS, los estudios que buscan verificar esta sensibilidad (utilizando individuos autotitulados “sensibles” que recibieron GMS o un placebo), no han podido reproducir reacciones de manera consistente (FDA, 2019). Finalmente, FASEB declaró en su informe que no hay evidencias que respalden la capacidad del glutamato, ingerido por vía oral, de producir efectos adversos en humanos, en particular efectos neurotóxicos (Raiten, 1995).

World Health Organization (WHO)

JECFA – Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

El GMS fue extensamente evaluado por el JECFA en los años 1971 (*Fourteenth Report of the Expert Committee*) y 1974 (*Seventeenth Report of the Expert Committee*). En 1987, el JECFA confirmó que el uso de GMS como aditivo alimentario es seguro. En esta revisión de datos toxicológicos, realizada en 1987, se evaluó el ácido glutámico y sus sales de amonio, calcio, magnesio, monosódico y de potasio. En contraposición a la monografía anterior, que establecía una IDA de 0 - 120 mg por kg de peso corporal (pc) (como ácido glutámico), el Comité concluyó que no era necesario establecer un valor numérico para IDA (WHO, 1987).

En esta última revisión (WHO, 1987), el Comité consideró la información obtenida después de la reunión de 1974, incluyendo una amplia gama de estudios metabólicos relacionados con la medición del ácido glutámico en plasma con efectos endocrinológicos y neurotóxicos, y estudios de intolerancia al GMS. El Comité concluyó, basándose en análisis de los niveles de ácido glutámico en la sangre de individuos, que los niveles plasmáticos máximos dependían del vehículo (matriz alimentaria) en el que se incorporó la sustancia y que los bebés metabolizan el GMS de manera similar a los adultos. A la luz de toda la literatura existente en ese momento, el Comité estableció una IDA “no especificada” para el GMS cuando se incorpora a los alimentos o se usa como aditivo. La IDA “no especificada” se aplica a todos los glutamatos, usados solos o en combinación (WHO, 1987). El Comité recomendó mayor precaución en la ingesta de GMS cuando se consume en una sola dosis alta que cuando se ingiere la misma dosis dividida entre varias comidas. En su evaluación anterior (WHO, 1974), el Comité llegó a la conclusión de que era prudente no aplicar la IDA del glutamato a los bebés menores de 12 semanas de vida. Sin embargo, en la evaluación realizada

en 1987, considerando que los niños metabolizan el GMS de manera similar a los adultos, no se indicó ninguna consideración adicional para el público infantil. Sin embargo, el Comité expresó que el uso de cualquier aditivo alimentario en niños debe considerarse con precaución.

Las sustancias que tienen una IDA “no especificada”, como las sales de glutamato, por ejemplo, se consideran de baja toxicidad. El Comité consideró, con base en los datos disponibles (químicos, bioquímicos, toxicológicos, otros), que la ingesta diaria total de glutamatos (derivada de los niveles utilizados que son necesarios para lograr la función tecnológica deseada y también presente en los propios alimentos) no representa un riesgo para la salud. Por esta razón, no se considera necesario establecer una ingesta diaria aceptable (IDA), expresada numéricamente. El Comité reiteró el principio general de que la cantidad de aditivo alimentario utilizada en los alimentos debe ser la mínima necesaria para lograr el efecto tecnológico deseado (WHO, 1987).

En la última evaluación realizada por el JECFA, en 2006, con respecto a la inocuidad de los aminoácidos y sustancias afines en el contexto y aplicación de aditivos alimentarios, se mantuvo la IDA de Grupo “no especificado” para el ácido glutámico y sus sales (WHO, 2006).

Comunidad Europea

Commission of European Communities

SCF - *Scientific Committee for Foods*

EFSA - *European Food Safety Authority*

En Europa, en 1991, el Comité Científico de Alimentos (*Scientific Committee for Foods - SCF*) de la Comunidad Europea, en el documento *Reports of the Scientific Committee for Foods: 25th series*, afirmó que el ácido glutámico es un componente de las proteínas animales y vegetales que se libera durante el proceso de digestión y es absorbido lentamente. El documento reafirmó que los bebés, incluidos los prematuros, metabolizan el glutamato con la misma eficacia que los adultos y no muestran una susceptibilidad particular a la ingesta alta de glutamato oral. El documento señaló que los estudios de toxicidad aguda, subcrónica y crónica en ratones, ratas y perros no demostraron efectos tóxicos a la exposición al GMS. Además, afirmó que no existen evidencias del potencial carcinogénico o genotóxico para esta sustancia. El informe consideró también, numerosos estudios de reproducción y teratogenicidad en ratones, ratas, conejos

y monos, y concluyó que estos no revelaban la existencia de un efecto adverso en la descendencia. Aún así, según el documento, algunos investigadores observaron cierta vulnerabilidad del sistema nervioso central de ratas y ratones en desarrollo, a altas dosis de glutamato solo o en combinación con otros aminoácidos, tras la administración de altas dosis. Sin embargo, no se observó daño cerebral en numerosos estudios de ratones, ratas o hámsteres que ingirieron altas dosis de GMS a través de la dieta (SCF, 1991).

Algunas de las reacciones agudas que se han reportado en humanos, luego de ingerir más de 3 g de glutamato por persona, también se observaron cuando se ingirieron alimentos que no contenían glutamatos. Ninguna medición clínica objetiva se asoció con la amplia variedad de síntomas descritos (SCF, 1991). Por lo tanto, sobre la base de los datos evaluados y considerando la amplia ingestión de glutamato de la dieta normal, el Comité estableció una IDA de Grupo “no especificada” (SCF, 1991).

En 1995, el Parlamento Europeo estableció la Directiva N° 95/2/EC que contempla la autorización y límites para el uso de aditivos alimentarios (con excepción de colorantes y edulcorantes). En este reglamento, se contemplaba el uso del ácido glutámico y sus sales, incluido el GMS, en la mayoría de las categorías de alimentos. En ese momento, su límite de uso se consideraba *quantum satis* para condimentos y aderezos. Para otras categorías de alimentos, se recomendó el límite de uso de 10 g de GMS/kg de alimento (EC, 1995).

En 2008, se publicó el Reglamento EC N° 1.333/2008 sobre aditivos alimentarios. Este reglamento reevaluó y estableció la normativa sobre aditivos alimentarios utilizados en los alimentos, con el objetivo de asegurar el funcionamiento eficiente del mercado y la protección de la salud humana. El reglamento prevé: a) listas de aditivos alimentarios aprobados, de conformidad con los Anexos II y III; (b) condiciones para el uso de aditivos alimentarios en los alimentos; y (c) normas relativas al rotulado de los aditivos alimentarios vendidos como tales (EC, 2008).

Finalmente, en 2011 el Reglamento EC N° 1.129/2011 complementó el Anexo II del Reglamento EC N° 1.333/2008 y estableció la lista de aditivos alimentarios permitidos en la Unión Europea. Actualmente, el ácido glutámico y sus sales (E620 - E625), incluido el GMS, tienen un límite de uso de 10 g/kg de alimento, individualmente o en combinación, expresados como ácido glutámico (EC, 2011). Además, los criterios de pureza se establecieron en el Reglamento EC N° 231/2012.

La larga historia del uso de glutamato en los alimentos, así como las conclusiones de numerosas evaluaciones de riesgos en Europa, incluido el mencionado *European Community's Scientific Committee for Food* (EC - SCF) y la propia *European Food Safety Authority* (EFSA), que evaluó este grupo de sustancias en 1987, establecieron una IDA de Grupo “no especificada”. Sin embargo, como parte del proceso reglamentario para la reevaluación periódica de los aditivos alimentarios, en 2017, el *Scientific Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food* (ANS) de la EFSA publicó su reevaluación de seguridad para el ácido glutámico (E 620), el glutamato monosódico (E 621), glutamato monopotásico (E 622), diglutamato de calcio (E 623), glutamato monoamónico (E 624) y diglutamato de magnesio (E 626), cuando se utilicen como aditivos alimentarios (EFSA, 2017). Según su opinión, el Panel no recibió ningún expediente nuevo y, por lo tanto, basó su evaluación en estudios y revisiones previas, literatura científica adicional que estuvo disponible después de la última evaluación, además de los datos disponibles después de una convocatoria pública de datos. El Panel destacó que, en 2015, se evaluó un nuevo método de producción de ácido L-glutámico como aditivo alimentario y también concluyó que no había motivo de preocupación en cuanto a la seguridad en relación al cambio de método de producción de este aditivo alimentario.

De hecho, el Panel en 2017 reforzó puntos importantes con respecto a la seguridad de los glutamatos:

- i. El glutamato se absorbe en el intestino y se metaboliza de forma presistémica en la pared intestinal.
- ii. El proceso de metabolización es idéntico, independientemente de si los glutamatos están presentes de forma natural en los alimentos o si se añaden como aditivos alimentarios.
- iii. La evidencia se consideró limitada para el aumento de la concentración de glutamato en el cerebro, incluso con altas dosis de ingestión de GMS (10 g) administradas por vía oral (dieta).
- iv. El ácido glutámico y sus sales tuvieron baja toxicidad aguda. Los estudios a corto plazo y subcrónicos no han mostrado efectos del tratamiento con GMS hasta dosis de aproximadamente 5000 mg/kg p.c./día; 5250 mg/kg p.c./día en un test de dosis límite; y 2700 mg/kg p.c./día en un estudio realizado siguiendo la Directriz 408 de la *Organisation for Economic Co-Operation and Development* (OCDE). En estudios con protocolos según la OCDE, para cumplir con los requisitos normativos, se observó un

aumento del peso de los riñones y del bazo en estudios de toxicidad crónica y toxicidad reproductiva, con dosis de 939 mg/kg p.c. en machos y 1039 mg/kg p.c./día en hembras. Sin embargo, la ganancia de peso de estos órganos no estuvo acompañada de efectos histopatológicos adversos. Por lo tanto, el Panel no consideró el aumento del peso de estos órganos como efecto adverso.

- v. El Panel consideró que el conjunto de datos de genotoxicidad era lo suficientemente sólido para evaluar el potencial genotóxico del GMS y extender la conclusión al ácido glutámico y las otras sales, debido a la escasez o falta de datos. Sobre esta base, el Panel determinó que el ácido glutámico (E 620), el glutamato monosódico (E 621), el glutamato monopotásico (E 622), el diglutamato de calcio (E 623), el glutamato monoamónico (E 624) y el diglutamato de magnesio (E 625) no son motivo de preocupación con respecto a la genotoxicidad cuando se utilizan como aditivos alimentarios.
- vi. En tres estudios de toxicidad crónica en ratas con 2 años de duración, no se observó aumento de la tasa de tumores, inclusive en las dosis más altas utilizadas en los estudios.
- vii. No hubo indicios de carcinogenicidad.
- viii. No se observaron efectos adversos en los estudios de toxicidad reproductiva y del desarrollo.

No obstante, a diferencia de otras autoridades científicas, el Panel recomendó a la Unión Europea la revisión del límite de uso de glutamatos en las categorías de alimentos mediante la adopción de una IDA de Grupo de 30 mg/kg p.c./día, expresada como ácido glutámico (EFSA, 2017). Sin embargo, en el contexto regulatorio, aunque el Panel Científico de la EFSA (ANS) recomendó la adopción de una IDA de Grupo numérica, esta recomendación aún debe ser decidida por la Comisión Europea, lo que implica el análisis y el acuerdo de todas las agencias sanitarias y reguladoras de los Estados miembros de la Unión Europea.

Australia y Nueva Zelanda

FSANZ - Food Standards Australia New Zealand

En 2003, la Agencia Reguladora de Alimentos de Australia y Nueva Zelanda llevaron a cabo la revisión de seguridad y análisis de riesgos del uso de GMS. El examen de la Agencia se basó principalmente en datos del JECFA y FASEB.

Al igual que las otras agencias, el GMS fue considerado seguro (FSANZ, 2003). En 2017, FSANZ declaró su conocimiento con respecto a la opinión científica publicada por EFSA (2017). Sin embargo, resaltó que esta opinión no planteó nuevas cuestiones que pudieran comprometer la seguridad del uso de GMS (FSANZ, 2017).

Codex Alimentarius

El *Codex Alimentarius* es un programa conjunto de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS), creado en 1963, con el objetivo de establecer normas internacionales en el área de alimentos, incluyendo estándares, directrices y guías de Buenas Prácticas y de Evaluación de la Seguridad y la Eficacia. Sus principales objetivos son proteger la salud de los consumidores y garantizar prácticas de comercio justas entre países. Actualmente, 189 miembros participan en el *Codex Alimentarius*, de los cuales 188 son Estados Miembros y una Organización Miembro (Unión Europea), además de 226 observadores (56 organizaciones intergubernamentales, 154 organizaciones no gubernamentales y 16 organizaciones de las Naciones Unidas). Si bien los documentos del *Codex Alimentarius* son aplicados de forma voluntaria por los miembros, en muchos casos se utilizan como referencias para establecer la legislación nacional de los países. La Resolución 39/248 de Naciones Unidas, de 1985, recomienda que los gobiernos adopten, siempre que sea posible, las normas y directrices del *Codex Alimentarius*, al formular políticas y planes nacionales relacionados con la alimentación (ANVISA, 2019).

Por lo tanto, si bien las normas, directrices y recomendaciones adoptadas por el *Codex* no están vinculadas al contexto de las leyes alimentarias nacionales, se alienta a los miembros de la Organización Mundial del Comercio (OMC) a armonizar sus leyes nacionales con las normas del *Codex*. Esta recomendación se debe al hecho de que las normas *Codex* se pueden utilizar, por parte de la OMC, como referencia para resolver controversias en disputas comerciales entre los países miembros, en relación al comercio de alimentos (ANVISA, 2019).

El *Codex Alimentarius*, en su Norma General para Aditivos Alimentarios (CODEX STAN 192-1995), establece en su preámbulo que serán listados solamente los aditivos alimentarios que hayan sido evaluados en relación a su inocuidad por el JECFA y que también hayan sido designados por el *International Numbering System* (INS) del *Codex Alimentarius* (2019).

Según CODEX STAN 192-1995, un aditivo alimentario es cualquier sustancia que, como tal, no se consume normalmente como alimento, ni siquiera se utilice como ingrediente básico en los alimentos, tenga o no valor nutricional, y cuya adición intencional a los alimentos con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos), en sus etapas de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, embalaje, transporte o almacenamiento, resulten o se puede esperar razonablemente que resulten (directa o indirectamente), por sí mismos o sus subproductos, en un componente de este alimento o en un elemento que afecte sus características. Esta definición no incluye los “contaminantes” o sustancias que se agregan al alimento para mantener o mejorar sus cualidades nutricionales (Codex Alimentarius, 2019).

El uso de aditivos también está relacionado con las BPF, y todos aquellos aditivos alimentarios regulados por las disposiciones de esta Norma se utilizarán de acuerdo con las condiciones de las BPF, que incluyen lo siguiente:

- i. La cantidad de aditivo que se añade al alimento se limitará al mínimo necesario para obtener el efecto tecnológico deseado.
- ii. La cantidad de un aditivo que pase a formar parte del alimento, como consecuencia de su uso en la fabricación, preparación o envasado y que no tenga el objetivo de obtener un efecto físico o técnico sobre ese mismo alimento, se reducirá a la menor cantidad que sea razonablemente posible.
- iii. El aditivo será de una calidad alimentaria adecuada y se preparará y manipulará de la misma forma que un ingrediente alimentario.

El ácido glutámico y sus sales, incluido el GMS, están incluidos en CODEX STAN 192-1995 en una amplia variedad de alimentos como aditivos potenciadores del sabor, y la cantidad establecida es según las BPF, sin establecer límites máximos de uso (Codex Alimentarius, 2019).

MERCOSUR

El MERCOSUR, o Mercado Común del Sur, al que pertenecen Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, cuenta con un reglamento técnico sobre aditivos alimentarios para ser utilizados de acuerdo con las BPF. En su resolución MERCOSUR/GMC/RES. N°. 31/92, se aprobó la definición de ingrediente, aditivo, coadyuvante de elaboración, contaminante y los principios fundamentales más recientes sobre el uso de aditivos alimentarios. Según esa resolución:

- Un ingrediente es cualquier sustancia, incluidos los aditivos alimentarios, que se utiliza en la fabricación o preparación de un alimento y que permanece en el producto final, aunque sea de forma modificada.
- Un aditivo es cualquier ingrediente agregado intencionalmente a los alimentos, sin el propósito de nutrir, con el propósito de modificar las características físicas, químicas, biológicas o sensoriales, durante la fabricación, procesamiento, preparación, tratamiento, envasado, acondicionamiento, almacenamiento, transporte o manipulación de un alimento. Cuando se agrega, también puede resultar en la conversión del aditivo y sus derivados en un componente de dicho alimento. Esta definición no incluye contaminantes o sustancias nutricionales que se incorporan al alimento para mantener o mejorar sus propiedades nutricionales.

También se establecen principios fundamentales en cuanto a la seguridad de uso que deben aportar los aditivos, los cuales deben ser sometidos a una adecuada evaluación toxicológica en la que, entre otros aspectos, se considere cualquier efecto acumulativo, sinérgico o protector que produzca su uso. Los aditivos alimentarios deben mantenerse en observación y reevaluarse cuando sea necesario, si se modifican las condiciones de uso, y debe actualizarse la información científica sobre el tema. El uso de aditivos debe limitarse a alimentos específicos, en condiciones específicas y al nivel mínimo para lograr el efecto deseado. La necesidad tecnológica de utilizar un aditivo solo se justificará cuando aporte ventajas tecnológicas y no cuando estas puedan lograrse mediante operaciones de fabricación más adecuadas o con mayores precauciones de higiene u operacionales. El uso de aditivos se justifica únicamente por razones tecnológicas, sanitarias, nutricionales o psicosensoriales y los aditivos autorizados se utilizan en concentraciones tales que su ingesta diaria no supere los valores considerados seguros desde el punto de vista toxicológico y que, además, cumpla con los requisitos de pureza establecidos por la FAO/WHO o el CODEX.

En la resolución MERCOSUR/GMC/res. n° 52/98, en el reglamento técnico “Criterios para la asignación de funciones de aditivos, aditivos y su concentración máxima a todas las categorías de alimentos”, se establece que solamente pueden ser utilizados los aditivos incluidos en la “Lista General Armonizada de Aditivos del MERCOSUR” (Resolución GMC n° 19/93, derogada por la Resolución GMC n° 11/2006). Esta lista incluye el GMS con el número del INS Codex 621, estando clasificado como una sustancia con función potenciadora del sabor, sin limitaciones cuantitativas para su uso (uso *quantum satis*), siempre que se

haya cumplido su función tecnológica, según las BPF (http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/rtm_alimentos.asp).

Si bien Argentina es uno de los países miembros del MERCOSUR, el Código Alimentario Argentino, en su Capítulo I (Disposiciones generales), dice lo siguiente: Un aditivo alimentario se define como cualquier sustancia o mezcla de sustancias que modifiquen directa o indirectamente las características físicas, químicas o biológicas de un alimento, para efecto de su mejora, conservación o estabilización, siempre que:

- a) Sean inocuos por sí mismos o a través de su acción como aditivos en las condiciones de uso.
- b) Su uso se justifique por razones tecnológicas, sanitarias, nutricionales o psicosensoriales necesarias.
- c) Cumplan con los requisitos de designación y pureza establecidos por este Código.

El GMS está calificado como potenciador del sabor y puede usarse en cantidades *quantum satis*, es decir, en la cantidad adecuada según el uso. Se debe consultar la norma para cada producto en particular, ya que en algunos casos existen limitaciones en la cantidad de uso, como para aceitunas rellenas, donde la cantidad máxima de GMS por peso de las aceitunas, incluida la salmuera, debe ser de 5 g/kg (Código Alimentario Argentino, Ley 18.284).

Países de América Latina

Actualmente, en Venezuela, las reglas que rigen el uso de ingredientes y aditivos son las denominadas “Normas Covenin”. La Norma General sobre Aditivos Alimentarios establecida en 2000, actualmente en revisión, permite el uso de GMS y de los 5'-ribonucleótidos como potenciadores del sabor, siendo el uso recomendado de acuerdo con las BPF.

La Normativa Alimentaria Chilena fue modificada en 2008, permitiendo el uso de GMS y de los 5'-ribonucleótidos, según las BPF. Antes de dicha modificación, eran establecidos límites de uso (Ministerio de Salud de la República de Chile, 2008).

En México, el glutamato aparece en la lista de aditivos permitidos en cantidades de uso conforme las BPF. Sin embargo, existen límites para su uso en algunos alimentos. Por ejemplo, en el proyecto de Norma Oficial Mexicana,

PROY-NOM-217-SSA1-2002, Productos y Servicios, Productos de Confeitería, se establece el límite máximo de 1,0 g GMS/kg en productos de confitería, y no permite su uso en gomas de mascar (http://www.economia-montevideo.gob.mx/Diario_Oficial/2003/15ago03.pdf). El límite de uso para la carne de cangrejo es de 0,5 g/kg. (<http://www.cofemermir.gob.mx/uploadtests/11199.59.59.1.version%20final%20proy-nom-pesca%20mar-06.doc>).

3. ROTULADO DE ALIMENTOS Y GMS

Actualmente, existe una tendencia a la declaración voluntaria en la etiqueta, por parte de algunas empresas alimentarias, de la información “Sin GMS” como una forma de promover la comercialización de alimentos como “más natural” o “más saludable”.

La FDA dice que esta declaración de “Sin GMS” o “Sin GMS agregado” puede ser engañosa, particularmente cuando se usa un ingrediente que contiene glutamato libre, como es el caso de los hidrolizados de proteínas. Además, muchos alimentos, en su forma natural, contienen glutamato libre, que es muy difícil de diferenciar con los métodos analíticos existentes. Por lo tanto, al comunicar “Sin GMS” o “Sin GMS añadido”, es posible que le esté ofreciendo al consumidor una información incorrecta.

La FDA exige que los alimentos que contienen GMS añadido lo incluyan en el panel de ingredientes del embalaje como glutamato monosódico. Sin embargo, el glutamato se encuentra naturalmente en ingredientes tales como proteína vegetal hidrolizada, levadura autolizada, levadura hidrolizada, extracto de levadura, extracto de soya y proteína aislada, así como en tomates y quesos. Aunque la FDA requiere que estos productos se incluyan en la lista de ingredientes, la agencia no exige que la etiqueta también especifique que contienen glutamato. Sin embargo, para los alimentos con cualquier ingrediente que contenga glutamato de forma natural, no se puede decir “Sin GMS” o “Sin GMS agregado” en su envase (FDA, 2019).

De manera similar, *Health Canada* (Agencia Reguladora Canadiense) determina que cuando se agrega GMS a los alimentos, debe declararse en la lista de ingredientes en las etiquetas de los alimentos, incluso cuando sea un componente de preparaciones aromatizantes, mezclas de especias, preparaciones potenciadores del sabor para alimentos y otras preparaciones o mezclas (Health Canada, 2019). Las afirmaciones relativas a la ausencia o no de glutamato monosódico, como “no contiene GMS”, “sin GMS añadido” y “sin adición de GMS”

se consideran engañosas cuando existen otras fuentes adicionales de glutamato libre (por ejemplo, proteína vegetal hidrolizada, proteína de soya hidrolizada, salsa de soya o extractos de levadura autolizados). También hay una serie de ingredientes alimentarios comunes que contienen altos niveles de glutamato libre, incluidos tomates y jugo de tomate, uvas y jugo de uva, otros jugos de frutas, quesos como *parmesano* y *roquefort* y champiñones. No existen requisitos de rotulado para los glutamatos libres de origen natural (Health Canadá, 2019).

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. 2019. Disponible em: <<http://portal.anvisa.gov.br/foruns-internacionais>>. Acceso el 26/3/2020.

CODEX ALIMENTARIUS. *General Standard for Food Additives CODEX STAN 192-1995. Adopted in 1995. Revision 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019.* 2019. Disponible en <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>>. Acceso el 26/3/2020.

EC. “European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners”. *Official Journal of the European Communities*. 1995. Disponible en <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A31995L0002>>. Acceso el 26/3/2020.

EC. “Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives”. *Official Journal of the European Union*. 2008. Disponible en <<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:en:PDF>>. Acceso el 26/3/2020.

EC. “Comission Regulation (EU) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives”. *Official Journal of the European Union*. 2011. Disponible en <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32011R1129>>. Acceso el 26/3/2020.

EFSA, EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. “Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives”. *EFSA Journal*. 15(7): 4910, 2017. Disponible

en <<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4910>>. Acceso el 26/3/2020.

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. “Questions and Answers on Monosodium glutamate (MSG)”. 2019. Disponible en <<https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/questions-and-answers-monosodium-glutamate-msg>>. Acceso el 26/3/2020.

FSANZ, FOOD STANDARDS AUSTRALIAN NEW ZEALAND. *Monosodium glutamate. A safety assessment. Technical report series No 20*. 2003. Disponible en <<https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/MSG%20Technical%20Report.pdf>>. Acceso el 26/3/2020.

FSANZ, FOOD STANDARDS AUSTRALIAN NEW ZEALAND. “MSG in food”. 2017. Disponible en <<https://www.foodstandards.gov.au/consumer/additives/msg/Pages/default.aspx>>. Acceso el 26/3/2020.

HEALTH CANADA. “Monosodium glutamate (MSG) - questions and answers”. *Government of Canada*, 2019. Disponible en <<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/food-additives/monosodium-glutamate-questions-answers.html>>. Acceso el 26/3/2020.

IGIS, INTERNATIONAL GLUTAMATE INFORMATION SERVICE. 2020. Disponible en <<https://glutamate.org/>>. Acceso el 26/3/2020.

MALULY, H. 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 Sci Nutr*. 5(6): 1039-1048, 2017.

RAITEN, D. J.; TALBOT, J. M. & FISHER, K. D. (Ed.). “Executive summary from the report: analysis of adverse reactions to monosodium glutamate (MSG)”. *The Journal of Nutrition*. 125(11): 2891S-2906S, 1995. Disponible en <<https://doi.org/10.1093/jn/125.11.2891S>>. Acceso el 26/3/2020.

SASAKI, A. (org.). *Umami: The Science and Lore of Healthy Eating*. Chicago, Academy of Nutrition and Dietetics, 2017. Disponible en <https://www.andean.org/vault/2440/web/Umami_Science_and_Lore_of_Health_Eating_201708.pdf> . Acceso el 26/3/2020.

SCF, SCIENTIFIC COMMITTEE FOR FOODS OF THE COMMISSION OF EUROPEAN COMMUNITIES. “Report of the Scientific Committee for food. First series of food additives of various technological functions”. *Food Science*

and Techniques (25th Series). , Brussels, Commission of the European Communities, 1991. Disponible en <http://aei.pitt.edu/40834/1/25th_food.pdf>. Acceso el 26/3/2020.

SUGIMOTO, M. *et al.* “Dietary free glutamate comes from a variety of food products in the US”. *Nutrition Research*. 67:67-77, 2019.

TENNANT, D. R. “Review of glutamate intake from both food additive and non-additive sources in the European Union”. *Ann Nutr Metab*. 73 (suppl 5): 21-28, 2018.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications / Seventeenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series*. 539: 23, 1974. Disponible en <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41072/WHO_TRS_539.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acceso el 26/3/2020.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Evaluation of certain food additives and contaminants / Thirty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series*. 759: 29-31, 1987. Disponible en <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39108/WHO_TRS_759.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acceso el 26/3/2020.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Safety evaluation of certain food additives / prepared by the sixty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JEFCA). WHO Food Additives Series*: 54, 2006. Disponible en <[file:///C:/Users/labtox/Downloads/9241660546_eng%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/labtox/Downloads/9241660546_eng%20(1).pdf)>. Acceso el 26/3/2020.

YAMAGUCHI, S. & NINOMIYA, K. “The Use and Utility of Glutamates as Flavoring Agents in Food”. *J. Nutr.* 130 (4S Suppl): 921S-926S, 2000.

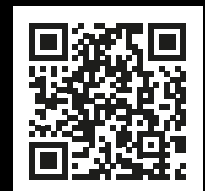


Esta obra aborda el descubrimiento del gusto umami, las evidencias científicas de su existencia y los compuestos químicos responsables por este gusto, en particular el glutamato monosódico (GMS), su papel en el metabolismo de los aminoácidos y su uso como aditivo alimentario. También se discute la asociación del GMS con las dietas, su influencia en la aceptabilidad de los alimentos y aspectos químicos, biológicos y sensoriales involucrados en este proceso. Se abordan aspectos de la seguridad alimentaria y tecnológica del GMS, los principales organismos reguladores y comités científicos relacionados.

Esta obra es el resultado de la colaboración de académicos y expertos de la industria, así respaldada por sólidas referencias científicas. Su contenido está dirigido a estudiantes de pregrado y posgrado, académicos y profesionales que trabajan en las áreas de la salud, ciencia y tecnología de alimentos, nutrición, gastronomía, culinaria y regulación alimentaria.



openaccess.blucher.com.br



Blucher Open Access