

Efecto sinérgico y cuantificación de los 5'-ribonucleótidos en una sopa de pollo

Carla Gutiérrez y Elba Sangronis

Departamento de Química de Alimentos, Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, Venezuela
Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos, Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela

RESUMEN. La normativa nacional e internacional permite adicionar a las mezclas deshidratadas para caldos y sopas resaltadores del sabor tales como glutamato monosódico (GMS) y los ácidos inosínico y guanílico o sus sales fosfatadas (IMF y GMF, respectivamente), solos o combinados para lograr un efecto sinérgico. Los objetivos de este estudio fueron: 1) determinar mediante un panel sensorial, el efecto sinérgico en el sabor de una sopa de pollo deshidratada cuando se usa mezcla de resaltadores y 2) cuantificar los 5'-ribonucleótidos en dicha matriz. La intensidad del sabor a pollo se determinó empleando un panel de 6 personas previamente entrenadas. Los 5'-ribonucleótidos se cuantificaron empleando HPLC. Los resultados con el panel entrenado comprobaron que la combinación utilizada de GMS, IMF y GMF potencia significativamente ($p < 0,05$) el sabor de la sopa de pollo deshidratada. El análisis químico de los 5'-ribonucleótidos reflejó un porcentaje de recuperación de 93,6% para GMF y 90,5% para IMF.

Palabras clave: 5'-ribonucleótidos, glutamato monosódico, resaltadores del sabor, sopa de pollo.

SUMMARY. Synergistic effect and quantification of 5'-ribonucleotides in a chicken soup. The international and national regulation permits the addition of flavour enhancers such as monosodium glutamate (MSG) and inosinic and guanilic acids and their fosfated salts (IMP or GMP, respectively) alone or combined to dehydrated mixtures of broths and soups in order to obtain a synergistic. The objectives of this study were: 1) to determine, through a sensorial panel, the synergistic effect on the flavour of a dehydrated chicken soup to which flavour enhancers were added and 2) quantify the 5'-ribonucleotides in such matrix. The intensity of the chicken flavour was determined using a previously trained 6-member panel. The 5'-ribonucleotides were determined using the HPLC technique. The results using the panel demonstrated that the combination of GMS, IMF and GMF used potentiates significantly ($p < 0.05$) the flavour of the dehydrated chicken soup, which allows the use of less quantity of them to obtain the same effect on the flavour. The chemical analysis of the 5'-ribonucleotides in the dehydrated chicken soup reflected a percentage of recovery of 93.6% for MSG and 90.5% for IMF.

Key words: 5'-ribonucleotides, monosodium glutamate, flavor enhancers, chicken soup.

INTRODUCCION

El sabor de los alimentos puede ser mejorado con la adición de ingredientes naturales denominados resaltadores del sabor, los cuales se definen como "sustancias que a las concentraciones que se utilizan normalmente en los alimentos, no aportan un sabor propio, sino que intensifican o resaltan el sabor de los otros componentes presentes" (1). Los resaltadores del sabor más usados son: la sal de mesa, el glutamato monosódico (GMS) y los 5'-ribonucleótidos como son la inosina 5'-monofosfato (IMF) y la guanosina 5'-monofosfato (GMF) o sus sales. Dichos ribonucleótidos se encuentran naturalmente en muchos alimentos, la carne de cerdo, pollo y pescado contienen IMF, mientras que en los moluscos, crustáceos y algunos vegetales está presente el adenosinmonofosfato (AMP), el cual es un precursor para la formación de IMF (2). El uso de los resaltadores del sabor es más efectivo en alimentos proteínicos y vegetales con pH entre 5,5 y 8,0, siendo altamente efectivo en productos lácteos,

carnes, aves, pescados y otros alimentos marinos (3,4).

El gusto Umami, también llamado el quinto gusto ya que difiere de los cuatro gustos clásicos: dulce, ácido, salado y amargo, se encuentra involucrado en la actividad potenciadora del sabor por parte de los resaltadores. Se sugiere la participación de un sitio receptor para dichas sustancias o posiblemente una ocupación conjunta de los sitios receptores que participan en la percepción de los cuatro gustos básicos (4). Según Nagodawithana (5) el GMF y el IMF tienen la habilidad de incrementar la afinidad del sitio receptor del GMS, y se produce un efecto sinérgico que permite utilizar menor cantidad de ellos para obtener el mismo efecto potenciador del sabor. Además, se ha observado que la presencia de 1,2% de cloruro de sodio en combinaciones de GMS-GMF (1:1) acentúan el efecto sinérgico (6). Estudios con paneles sensoriales indican que el óptimo efecto potenciador del sabor se logra usando GMS en concentraciones que van entre 0,2-0,8% (p/p), pero cuando se usan mezclas de GMF-IMF solo se requiere entre 0,02-0,04% (p/p) de GMS para obtener el

mismo efecto. En ciertos alimentos procesados, el empleo de 0,9g de una mezcla de GMS e IMF (50:50) permite reducir el uso de GMS en un 170%, con una consecuente reducción de costo entre un 25 y 30% (6,7). Se debe considerar que siempre esa cantidad va a ser dependiente del tipo de alimento, el resaltador elegido para el propósito y la aplicación (7).

Los resaltadores del sabor son sustancias generalmente reconocidas como seguras (GRAS) y aprobadas por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) de los Estados Unidos como aditivos alimentarios seguros, sin requisito de IDP (ingesta diaria permitida). En Venezuela existe la Norma Venezolana COVENIN de Mezclas Deshidratadas para Caldos y Sopas (8) y la Norma General para Aditivos Alimentarios (9), la cual permite la adición de GMS y de los ácidos inosínico y guanílico y sus sales de sodio y/o potasio, solos o en mezclas limitados por las buenas prácticas de manufactura. Los objetivos de este estudio fueron: 1) determinar mediante un panel sensorial el efecto sinérgico de los resaltadores de sabor adicionados a una sopa de pollo y 2) cuantificar los 5'-ribonucleótidos en dicha matriz mediante la técnica de HPLC.

MATERIALES Y METODOS

Muestras

Se utilizó una mezcla deshidratada de sopa de pollo desarrollada por Hernández y Guerra (10) como base, a partir de ella se prepararon 5 tratamientos con las concentraciones de los diferentes resaltadores del sabor que se indica a continuación:

- Tratamiento A: sopa preparada con 0,6% de GMS
- Tratamiento B: sopa preparada con 0,6% de GMS y 0,030% de IMF
- Tratamiento C: sopa preparada con 0,6% de GMS y 0,015% de GMF
- Tratamiento D: sopa preparada con 0,6% de GMS, 0,023% de IMF y 0,023% de GMF
- Tratamiento E: sopa preparada sin resaltadores, para ser usada como control.

Los resaltadores fueron marca Ajinomoto donados por su fábrica en Brasil y se usaron cantidades entre el rango sugerido por el proveedor. Se midieron 3 cucharadas de la sopa deshidratada, se reconstituyeron en 120 mL de agua y se cocinó durante 2 min con agitación constante (10).

Evaluación sensorial

Para conformar el panel entrenado, se siguieron los lineamientos de la Norma Española UNE 87 024-1 (11), Wittig de Penna (12), Torricella y col. (13), sobre las etapas de reclutamiento, selección y entrenamiento de los panelistas. Para el reclutamiento y selección de los panelistas se realizó un

cuestionario a 12 personas del Departamento de Química de Alimentos del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", a fin de determinar su motivación, interés, salud, tiempo disponible, entre otros factores. Se seleccionaron 8 personas que fueron entrenadas utilizando las pruebas de gustos básicos, pruebas de umbral, ordenamiento de colores y sabores, además se realizaron pruebas triangulares para detectar diferencias entre sopas donde se le varió la concentración de uno o varios ingredientes. Considerando los resultados obtenidos, el panel se conformó con 6 personas de edades comprendidas entre 20 y 40 años, quienes evaluaron la intensidad del sabor a pollo en los 4 tratamientos de sopas con resaltadores de sabor (A, B, C, D), comparadas con el control (E). Para evaluar la intensidad de sabor se empleó la planilla presentada en la Fig. 1. Es importante aclarar que la aceptabilidad de la sopa base fue previamente evaluada con consumidores y entre las observaciones más importantes suministradas fue su débil sabor a pollo (10).

Determinación de los 5'-ribonucleótidos

Preparación de los patrones: se pesaron 250 mg de IMF y GMF, de cada uno de ellos por separado, se disolvieron en agua y se llevaron a 100 mL. A partir de cada solución madre se preparó la solución patrón de IMF y GMF al 0,025 mg/mL. En un balón aforado de 50 mL, se colocó una alícuota de 5 mL de la solución patrón de cada ribonucleótido, se llevó a volumen y se obtuvo la solución de trabajo de IMF y GMF, la cual contiene 0,0252 y 0,0251 mg/mL, respectivamente, ambas estables por 5 días a 4°C.

Preparación de las muestras: la mezcla de sopa deshidratada que el panel identificó como la de sabor a pollo mas intenso, se molió hasta un tamaño de partícula de 0,85 mm y se pesó una cantidad de muestra que debería contener aproximadamente 0,30% de IMF y 0,15% de GMF por triplicado, se le adicionó 40 mL de agua caliente y se colocó en un baño maría hirviendo por 30 min, se trasvasó a un balón aforado de 100 mL con agua, se llevo a volumen, se tomaron 50 mL y se centrifugaron a 4000 rpm por 20 min. Se tomaron 10 mL del sobrenadante, se ajustó el pH a 3,5 con HCl al 10 %, se llevó a 100 mL con agua y se filtró a través de un filtro desechable de 0,45 µm. La metodología usada fue una adaptación de la propuesta por el Laboratorio de Análisis de Ajinomoto Interamericana.

Determinación analítica: se preparó la fase móvil (24 g de dihidrógenofosfato de sodio en 1000 mL de agua) el pH se ajustó a 4,3 y se procedió a equilibrar el flujo del sistema (1,0 mL/min). Se utilizó el detector UV-visible, a 254 nm, y el equipo usado fue un HPLC marca PERKIN ELMER, modelo 250. Se inyectaron las soluciones de cada uno de los patrones. Se inyectó la solución de trabajo con la mezcla de los 5'-ribonucleótidos para comprobar la separación y el orden de elusión, seguidamente se inyectaron dos veces cada triplicado

de la muestra. Se cuantificaron los 5'-ribonucleótidos por comparación con los patrones, se obtuvieron 6 cromatogramas. Se calculó el porcentaje de recuperación del método por comparación con la cantidad de los 5'-ribonucleótidos adicionados.

Análisis estadístico

A los datos obtenidos en la evaluación sensorial se aplicó ANOVA usando el programa SPSS, versión 9.0 para observar diferencias significativas ($p < 0,05$) en la intensidad del sabor a pollo entre los 5 tratamientos evaluados. Las medias fueron posteriormente comparadas usando la prueba de Duncan. A los resultados analíticos se les calculó la media de cada duplicado, se calculó el porcentaje de recuperación promedio de los 6 resultados, su desviación estándar y coeficiente de variabilidad (CV).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presentan los resultados del puntaje sensorial promedio asignado por los panelistas entrenados. El ANOVA indicó diferencias significativas en la intensidad de sabor a pollo de las 5 sopas evaluadas. La sopa D presentó la mayor intensidad del sabor a pollo, con un puntaje promedio de 6,6 lo que significa que su intensidad de sabor a pollo es superior a la sopa control en grado entre moderado y extremo (Figura 1), por lo tanto la mezcla de los 3 resaltadores (GMS, IMF y GMF) intensifica más el sabor que cuando se utiliza GMS solo o combinado con uno de los 5'-ribonucleótidos. El test de Duncan indicó que la intensidad de sabor a pollo de la sopa que contenía solo 0,6% de GMS (A), no se diferenció significativamente de la que contenía 0,6% de GMS y 0,030% de IMF (B) y de la que contenía 0,6% de GMS y 0,015% de GMF (C). Todas las sopas que contenían resaltadores, la intensidad de sabor a pollo fue superior a la de la sopa control.

TABLA 1
Resultados de los puntajes sensoriales

Tratamiento	Puntaje sensorial ($\bar{X} \pm DS$)
A - sopa con 0,6% de GMS	5,0 \pm 0,4 ^a
B - sopa con 0,6% de GMS y 0,030% de IMF	5,1 \pm 0,6 ^a
C - sopa con 0,6% de GMS y 0,015% de GMF	5,2 \pm 0,5 ^a
D - sopa con 0,6% de GMS y 0,023% de IMF y GMF	6,4 \pm 0,5 ^b

Resultados de 6 panelistas. Letras iguales indican no diferencias significativas ($p < 0,05$)

FIGURA 1
Planilla para determinar la intensidad del sabor
a pollo de la sopa

Instrucciones:

- 1.- Se le darán 4 muestras de sopas de pollo cuya intensidad de sabor a pollo requiere ser comparada con la muestra control, la cual está debidamente identificada
- 2.- Use la escala dada para hacer la comparación
- 3.- Asegúrese de enjuagarse la boca entre muestra y muestra

	Puntaje	
Diferencia por Inferioridad	Extrema	1
	Moderada	2
	Poca	3
No diferencia con el control		4
Diferencia por superioridad	Poca	5
	Moderada	6
	Extrema	7

Muestra	Sabor

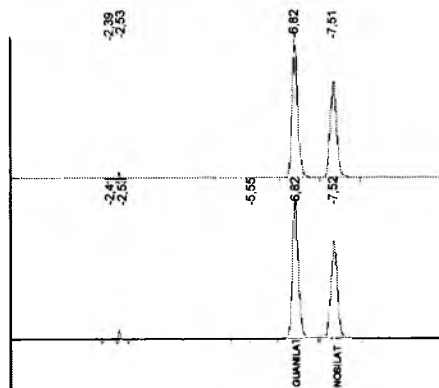
Observaciones:

Nombre: _____ Fecha: _____

En las Figura 2 se presentan los duplicados de los cromatogramas de la solución de trabajo de los 5'-ribonucleótidos. Por comparación de los tiempos de retención y por el área de los picos correspondientes se identificaron y cuantificaron los 5'-ribonucleótidos. El tiempo de retención para el GMF fue aproximadamente 6,5 min y el de IMF aproximadamente 7,5 min. Cuando se analizaron los duplicados de la muestra (Sopa D) se obtuvieron 6 resultados los cuales se resumen en la Tabla 2. Los porcentajes de recuperación fueron 93,6% y 90,5% para GMF y IMF, respectivamente, los cuales se consideran altos. De acuerdo a lo reportado (10), el contenido de grasa de la sopa utilizada es 17% y 56% de carbohidratos, lo que quizás ocasionó que fuera necesario centrifugar 3 veces el extracto de la muestra previo a la determinación analítica, y que el porcentaje de recuperación no fuese mayor. Para corroborar esta presunción, se aplicó la misma metodología a una mezcla deshidratada para preparar caldos y sopas de una marca comercial la cual declaraba IMF como ingrediente, y un contenido de grasa no mayor de 4%. Se observó que la solución obtenida de dicha muestra comercial presentó una mínima cantidad de sólidos suspendidos y observables visualmente, razón por la cual no

requirió centrifugación y la filtración por papel Whatman N°1 fue suficiente para clarificar la solución. El porcentaje de recuperación en este caso fue 97% para GMF y 98% para IMF, valores mayores a los obtenidos cuando se analizó la sopa de pollo deshidratada utilizada en éste estudio.

FIGURA 2
Duplicados de los cromatogramas de la solución de trabajo de los 5'-ribonucleótidos



Se puede concluir que el panel empleado corroboró el efecto sinérgico de la mezcla de los 5'-ribonucleótidos con el GMS en la intensidad de sabor a pollo de una mezcla deshidratada para preparar sopa. La metodología química aplicada resultó efectiva para la cuantificación de los 5'-ribonucleótidos en este tipo de mezclas deshidratadas, lo cual se demostró por los altos niveles de recuperación de la técnica empleada. En consecuencia, dicha técnica se implementó como análisis rutinario en la sección de control de calidad de productos diversos del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", ente gubernamental encargado de la vigilancia y el control sanitario de productos de uso y consumo humano.

AGRADECIMIENTO

Se agradece a la Compañía Ajinomoto interamericana Brasil por donar las muestras de los resaltadores empleados y a la Profesora Silvia Mendoza por su asesoría, así como también al personal adscrito al Departamento de Química de Alimentos del INH"RR" que participaron como panelistas.

TABLA 2
Porcentaje de recuperación de los 5'-ribonucleótidos en la sopa deshidratada de pollo

GMF* Triplicados	IMF** Cantidad añadida (mg)	Valor experimental (mg)*	% de recuperación	Cantidad añadida (mg)	Valor experimental (mg)	% de recuperación
1	15,300	14,30/14,30	93,464	37,700	34,10/34,20	90,450
2	13,600	12,50/12,70	92,650	30,900	27,40/28,40	90,290
3	15,800	15,10/14,80	94,620	33,900	30,90/30,70	90,860
Promedio	14,900	13,96/13,93	93,578	34,130	34,13/31,10	90,533
Desv Est. (CV)	_____	_____	0,99 0,33	_____	_____	0,29 0,10

* guanosina 5'-fosfato ** inosina 5'-monofosfato CV: Coeficiente de variabilidad

REFERENCIAS

- Vaclavik V. Fundamentos de Ciencia de los Alimentos. 1ª ed. Editorial Acribia S.A. España. 1998. p 416.
- Yamaguchi S, Ninomiya K. Umami and Food Palatability. Amer Soc Nutr Sci 2000; 4S: 921S-926S.
- Okiyama A, Beauchamp GK. Taste Dimensions of Monosodium Glutamate (MSG) in Food System: Role of Glutamate in young American Subjects. Physiol Behav 1998; 65: 177-181.
- Lindsay R. Flavores. En Fennema O. Química de los Alimentos. 2ª ed. Editorial Acribia S.A. España. 2000. p 855-906.
- Nagodawithana T. Flavor Enhancers: Their Probable Mode of Action. Food Tech 1994; 48: 79-85.
- Maga J. Flavor Potentiators. CRC Crit Rev Food Sci Nutr 1983; 18: 231-312.
- Löliger J. Function and Importance of Glutamate for Savory Foods. Amer Soc Nutr Sci 2000S: 915S-920S.
- COVENIN 2302-1985. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Mezclas Deshidratadas para Caldos y Sopas. Fondonorma.
- COVENIN 910-2000. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Norma General para Aditivos Alimentarios. Fondonorma.
- Hernández B, Guerra M. Desarrollo y Evaluación de una fórmula para niños con diarrea a base de auyama, arroz, pollo y aceites vegetales. Arch Latinoam Nutr 1997; 47:57-62.
- UNE 87 024-1-1995. Análisis sensorial: Guía general para la selección, entrenamiento y control de jueces. Parte 1: catadores. Norma Española AEN/CTN 87. Editada por AENOR. España.
- Wittig de Penna E. Evaluación Sensorial, una metodología actual para tecnología de alimentos. Chile: Talleres Gráficos USACH. 1986. p 139.
- Torricella R, Zamora E, Pulido H. Evaluación Sensorial en la Industria Alimentaria. Cuba: Centro de Información y Documentación Científico-Técnica IIIA Minal Edit. 1989.

Recibido: 09-02-2006

Aceptado: 12-07-2006