



*...going one step further*



**1013460**



## I. Introduction

Most people associate flavour enhancers with the term glutamate. In fact, glutamate or its derivatives are the most important flavour enhancers worldwide. Typically, glutamate is added to pre-cooked meals, frozen foods, snacks, tinned food, salad dressings and meat or fish dishes. In some countries it is even common to put it on the table as a condiment for the seasoning of food.

The Japanese chemist Kikunae Ikeda discovered in 1907 that there was a fifth flavor besides sweet, sour, bitter and salty, which he called umami (from Japanese „umai“ meaty, savoury, tasty). He found that the umami taste has to do with the L-glutamic acid and its salts. He recognized its importance for enhancing the flavour of food, so that two years later, he founded a company for the production and selling of flavour enhancers together with a partner from the industry sector.

In both food and the human body, glutamic acid can occur in two mirror-image isomers, as L-glutamic acid and as D-glutamic acid, wherein the L-form predominates in volume. Furthermore, L-glutamic acid exists in bound and free form. In bound form, glutamic acid is combined with other amino acids and forms proteins. In free form, glutamic acid is present as a single amino acid. Only the free glutamic acid or its salts play an important role for the umami taste of foods. Most foods contain glutamic acid primarily in bound form. However, in soybeans, tomatoes, milk, spinach and many cheeses, for instance, glutamic acid occurs naturally in high concentrations.

The greatest importance with regard to flavour enhancers is attached to monosodium glutamate. Other salts of glutamic acid are monopotassium glutamate, calcium diglutamate, and monoammonium glutamate and magnesium diglutamate.

The detection of these flavour enhancers forms the basis of this experimental kit.

For completeness, it should be mentioned that there are flavour enhancers which are not based on glutamate, but share the same flavour characteristics (umami taste). These are guanylic acid, disodium guanylate, dipotassium guanylate, calcium guanylate, inosinic acid, disodium inosinate, dipotassium inosinate, calcium inosinate, calcium 5'-ribonucleotides and disodium 5'-ribonucleotides.

In Europe, flavour enhancers are additives which need to be declared either by name or with their corresponding E number in the list of ingredients in foods (see table 1). Australia and New Zealand have adopted the European labeling standards. In the U.S. and Canada one can also find similar rules for flavour enhancers.

# Tracking Flavour Enhancers

English

**Table 1:** The E number list which is widely used in Europe. The various flavour enhancers are listed together with their corresponding E number.

E Number	Designation
E620	Glutamic acid
E621	Monosodium glutamate
E622	Monopotassium glutamate
E623	Calcium diglutamate
E624	Monoammonium glutamate
E625	Magnesium diglutamate
E626	Guanylic acid
E627	Disodium guanylate
E628	Dipotassium guanylate
E629	Calcium guanylate
E630	Inosinic acid
E631	Disodium inosinate
E632	Dipotassium inosinate
E633	Calcium inosinate
E634	Calcium 5'-ribonucleotide
E635	Disodium 5'-ribonucleotide
E636	Maltol
E637	Ethylmaltol
E640	Glycine and its sodium salt

E636, E637 and E640 do not cause umami taste.

E636 (maltol) enhances sweet taste.

E636 (ethylmaltol) is similar to maltol, but more intense in its effect.

E640 (glycine) tastes sweet.

Flavour enhancers are controversial. In many studies on humans and animals, negative effects are described. There are also studies which show no causal relationship, however these were mostly launched by the large manufacturers of flavour enhancers.

Nevertheless, with flavour enhancers one can earn much money. Food manufacturers' interest in them is in fact huge because certain expensive ingredients such as meat, shrimp or cheese can be replaced or reduced by using them. Several renowned scientists are very worried as they see correlations between flavour enhancers and the onset and development of Alzheimer's disease, ADHD (attention deficit-hyperactivity disorder), obesity and other diseases.

It should also be mentioned that the addition of glutamate to baby food is totally forbidden in Germany, Sweden and other European countries. In the USA, producers have agreed on a voluntary ban of glutamate in baby food.

Since many consumers now respond more negatively to the addition of flavour enhancers to foods, many

# Tracking Flavour Enhancers

manufacturers stopped using the pure additive (E620 ff) in their products, but use instead a mixture of various amino acids or their salts. In many countries it is sufficient to list these ingredients as “spice”, “yeast extract”, “fermented wheat” or the like on the label. Ultimately all these terms are „Trojan horses“ used to hide the fact that flavour enhancers were added to the product.

## II. Components of the Kit

Extraction solution, 250 ml  
L-glutamic acid, 20 mg  
Ninhydrin, 300 mg  
Filter papers, 20 pieces  
Glass capillaries (volume 10 µl), 50 pieces  
Chromatography foil, 20 pieces  
Chromatography chamber, 5 pieces

## III. Additional Equipment and Solutions Required

Erlenmeyer flasks, 100 ml  
Mortar  
Funnel  
Tweezers  
Bowl (glass or plastic)  
Hair dryer, alternatively oven (105°C)  
H<sub>2</sub>O dist., sterile  
Disposable gloves (powder-free), suitable for laboratory work

## IV. Preparation of Reagents

### L-Glutamic Acid

Dissolve 20 mg glutamic acid in 20 ml sterile H<sub>2</sub>O (dist.). This gives a concentration of 1 mg/ml. This concentration can be further diluted to 1:3 or 1:5 to get standards with 0.33 or 0.2 mg/ml. The glutamic acid standards should be stored frozen at –18°C in aliquots.

### Plasticizer Medium

The plasticizer medium for thin layer chromatography is composed of butanol, acetic acid and H<sub>2</sub>O in the ratio of 4:1:1.

### Ninhydrin Solvent

The ninhydrin solvent (100 ml) is composed of 95 ml 2-propanol and 5 ml acetic acid.

### Preparation of Ninhydrin

Dissolve 300 mg ninhydrin in 100 ml ninhydrin solvent. Please use a clean Erlenmeyer flask. The solution can be stored in a closed bottle in the refrigerator.

## V. Experiment

### Sample Preparation

Weigh 3 g of a sample and put it into an Erlenmeyer flask. Mix it with 5 ml of extraction solution and finely ground it in a mortar. If there is not a large enough mortar available, the sample may also be processed portion by portion. Filter the extract through a paper filter. The filtrate shall be used for the thin-layer chromatography.

If you want to carry out the thin-layer chromatography later, you can store the filtrate frozen at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  for several weeks.

### Thin-Layer Chromatography

**Note:** Please do not touch the chromatography paper with your fingers. Please wear powder-free gloves use tweezers and touch only the edge of the paper when moving it. The ruler that you need for later experimental steps should be absolutely clean!

First, draw a thin horizontal line with a pencil about 1.5 cm from the bottom of the chromatography paper (see Fig 1). This is the starting line for the samples and the glutamine acid standard. Below this starting line, at spaces of 8 mm, mark the numbers 1,2,3 etc. from left to right where the traces will run. Part of the above mentioned glutamic acid standard (1 mg/ml) shall be diluted 1:3 and 1:5 diluted with  $\text{H}_2\text{O}$ , so that then 3 standards with the concentrations 1mg/ml, 0.33 mg/ml and 0.2 mg/ml are available. Fill the chromatography chamber with the solvent mixture to about 7 mm and seal it with the lid. For the saturation of the chamber, it should be incubated for at least 15 min.

Using capillary tubes, apply both the samples and the standards (10  $\mu\text{l}$  each) on the starting line at equally spaced intervals (above the numbers). For each sample and each standard a new capillary tube must be used.

For application, place the chromatography paper horizontally on the table, then open the chromatography chamber, and place the chromatography paper loaded with samples and standards with the starting line pointing downwards into the chamber. Close it again with the lid.

Now the solvent mixture rises upward in the chromatography paper. When the solvent has risen about 7cm (measured from the starting line), remove the paper from the chamber and put it on the table to dry. The drying process can be accelerated using a hair dryer on a low setting or in an oven. The chromatogram now ready to be stained, however if you prefer it is possible to store the chromatogram in the refrigerator protected from light for a few days.

### Staining of Amino Acids

**Note:** The bowl has to be absolutely clean (no fingerprints etc.) as any protein contamination would be stained, too!

Pour some ninhydrin staining solution into a suitable bowl (glass or plastic). Then pull the chromatography paper very briefly (1 sec.) through the staining solution and let the paper dry

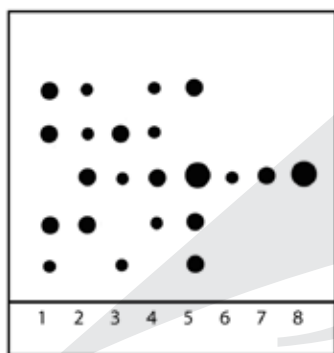
in the air or an oven at about  $105^{\circ}\text{C}$ . Now the chromatogram is ready for analysis.

The stained chromatogram can be stored at room temperature in the dark. Sticking it in a workbook may best be done with scotch tape.

## VI. Evaluation

On the chromatogram you can see several spots in various shades from red to violet. The glutamic acid standards are shown in lanes 6, 7 and 8 of fig. 1. The glutamate in the samples (here in this aqueous environment as glutamic acid) runs on the same level as the standards, which makes it easily identifiable. By comparing the spot size of the sample with the spot sizes of the standards, the amount of glutamate in the samples can be semi-quantitatively estimated. The spots above and below the third row represent different amino acids that cannot be identified with this kit system.

**Figure 1:** Example of a chromatogram with samples (lanes 1-5) and three glutamic acid standards (lanes 6-8). Concentrations of glutamic acid standard: 0.2 mg/ml, 0.33 mg/ml and 1 mg/ml. The sample in lane 1 contains no glutamic acid, the samples in lanes 2-5 show varying amounts of glutamic acid. The estimation of the amount of glutamic acid shall be carried out in comparison with the standards.



## VII. Suggestions and Questions for the Integration into Teaching

### Preparatory work before the lesson:

- 1 Do some research on the topic „The flavour enhancer glutamate.“ (Alternatively, a lecture on the subject might be prepared and held by a student or teacher.)
- 2 Do some research on the topic of „TLC“. (Alternatively, a lecture on the subject might be prepared and held by a student or teacher.)
- 3 For the next lesson, bring a small amount of food into the classroom, for which the presence of the flavour enhancer glutamate shall be investigated.

### Tasks during the lesson:

- 1 Read the entire experiment. Clarify questions with your neighbour.
- 2 Explain the function of the glutamic acid standard.
- 3 Justify why three glutamic-acid standards of different concentrations are used.
- 4 Describe the experiment's underlying issue.
- 5 Carry out the experiment.
- 6 Log the experiment. Attach the chromatogram with tape to your protocol and label it.
- 7 Evaluate the experiment with regard to the question in task 2.
- 8 Check results you did not expect at all by searching for possible errors in the experimental procedures. Please read the manual again. If necessary, run the experiment once more.

# Tracking Flavour Enhancers

English

## Solutions:

### for task no. 2:

- The glutamic acid serves as a standard control approach. Without it, a glutamic acid spot of the sample mixture can not be identified because there are other amino acids present in the tested food, these would also be stained.

### no. 3:

- Using the dilutions, the amount of glutamic acid in the studied samples can be estimated semi-quantitatively.

### no. 4:

- For which kind of food can you prove the flavour enhancer MSG?
- In which kind of food can you detect the greatest concentration of glutamate, in comparison to other foods examined?

## VIII. Safety and Disposal

The safe handling of chemicals and laboratory equipment requires a certain level of basic knowledge and safety measures. During the experiment, lab coats and protective goggles should be worn. Gloves must be provided by the teacher and should be used if necessary.

Also the handling of the equipment and risks of its use should be known. In particular, one should pay attention to the dangers of electricity. All connectors, power cords, work areas and hands must be dry before handling electrical devices.

Other health and safety measures: tie up long hair, remove any jewellery, and wear tight-fitting sleeves, to avoid unwanted contact with equipment, chemicals, etc.

All waste should be disposed of in accordance with the instructions and local regulations.

## Hazard Classification of the Kit Components

### Extraction Solution

Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008:

Not harmful, contains H<sub>2</sub>O and NaCl merely in the physiological range.

Classification according to Directive 67/548/EEC or Directive 1999/45/EC:

Not harmful, contains H<sub>2</sub>O and NaCl merely in the physiological range.

### L-Glutamic Acid

Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008:

Not harmful.

Classification according to Directive 67/548/EEC or Directive 1999/45/EC:

Not harmful.



## **Ninhydrin**

Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008:

### Hazards

H302: Harmful if swallowed.

H315: Causes skin irritation.

H319: Causes eye irritation.

H335: May cause irritation to the respiratory system.

### Safety instructions

P261: Avoid inhalation

P305 + P351 + P338: On contact with eyes, rinse the eyes gently with water for several minutes. Remove contact lenses if necessary, continue rinsing.

Classification according to Directive 67/548/EEC or Directive 1999/45/EC:

### Hazards

R22: Harmful if swallowed.

R36/37/38: Irritating to eyes, respiratory system and skin.

### Safety instructions

S26: Avoid contact with eyes, rinse immediately with water and seek medical advice.

S28: After contact with skin, wash immediately with plenty of water.

S36: Wear suitable protective clothing.

## **IX. Literature**

Hahn-Deinstorp, E. 2000. Applied Thin-Layer Chromatography – Best Practice and Avoidance of Mistakes. New York: Wiley-VCH.

Stahl, E. 1967. Dünnschichtchromatographie, Ein Laboratoriumshandbuch. Berlin: Springer Verlag: 701-714, 842.

## I. Einleitung

Die meisten Menschen verbinden Geschmacksverstärker mit dem Begriff Glutamat. In der Tat hat Glutamat oder Abkömmlinge davon weltweit die größte Bedeutung als Geschmacksverstärker. Typischerweise wird Glutamat in Fertiggerichten, Tiefkühlkost, Knabbereien, Dosennahrung, Salatsöfen und Speisen auf Fleisch- oder Fischbasis zugesetzt. In einigen Ländern steht es sogar als Würzmittel zum Nachwürzen auf dem Tisch.

Der japanische Chemiker Kikunae Ikeda erkannte bereits 1907, dass es neben den vier Geschmacksrichtungen süß, sauer, bitter und salzig eine fünfte gibt, die er als umami (von jap. „umai“: fleischig, herzhaft, wohlschmeckend) bezeichnete. Er fand heraus, dass dieser Umami-Geschmack mit der Aminosäure L-Glutaminsäure bzw. mit deren Salzen zu tun hat. Er erkannte die große Bedeutung für die Geschmacksqualität von Lebensmitteln und gründete zwei Jahre später mit einem Partner aus der Industrie ein Unternehmen zur Herstellung und Vermarktung von Geschmacksverstärkern.

In Lebensmitteln und im menschlichen Körper kann Glutaminsäure in zwei Spiegelbild-Isomeren vorkommen, als L-Glutaminsäure und als D-Glutaminsäure, wobei die L-Form mengenmäßig überwiegt. Darüber hinaus kommt L-Glutaminsäure, wie andere proteinogene Aminosäuren auch, gebunden und in freier Form vor. In gebundener Form liegt sie vor, wenn sie mit anderen Aminosäuren verbunden ist und ein Protein bildet. In freier Form liegt Glutaminsäure als einzelne Aminosäure vor. Nur die freie Glutaminsäure bzw. deren Salze spielen eine wichtige Rolle für den Umami-Geschmack eines Lebensmittels. Die meisten Lebensmittel enthalten Glutaminsäure vorwiegend in gebundener Form. Aber beispielsweise in Sojabohnen, Tomaten, Milch, Spinat und vielen Käsesorten findet man natürlicherweise hohe Konzentrationen an freier Glutaminsäure.

Als Geschmacksverstärker hat Mononatriumglutamat die größte Bedeutung. Andere Salze der Glutaminsäure sind Monokaliumglutamat, Calciumdiglutamat, Monoammoniumglutamat und Magnesiumdiglutamat.

Der Nachweis genau dieser oben genannten Geschmacksverstärker bildet die Grundlage des vorliegenden Experimentier-Kits.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass es auch Geschmacksverstärker gibt, die nicht auf Glutamat basieren, aber die gleichen Geschmackseigenschaften (Umami-Geschmack) haben. Diese sind: Guanylsäure, Dinatriumguanylat, Dikaliumguanylat, Calciumguanylat, Inosinsäure, Dinatriuminosinat, Dikaliuminosinat, Calciuminosinat, Calcium 5'-ribonucleotid und Dinatrium 5'-ribonucleotid.

In Europa werden Geschmacksverstärker als Zusatzstoffe bezeichnet und müssen entweder mit ihrem Namen oder mit ihrer entsprechenden E-Nummer in der Auflistung der Inhaltsstoffe in Nahrungsmitteln deklariert werden. (vgl. Tabelle 1). Australien und Neuseeland haben das europäische Kennzeichnungsverfahren übernommen. Auch in den USA und Kanada gibt es ähnliche Regelungen zu Geschmacksverstärkern.

# Geschmacksverstärkern auf der Spur

**Tabelle 1:** Die in Europa weit verbreitete sogenannte E-Nummernliste, in der die verschiedenen Geschmacksverstärker einer entsprechenden E-Nummer zugeordnet sind.

E-Nummer	Bezeichnung
E620	Glutaminsäure
E621	Mononatriumglutamat
E622	Monokaliumglutamat
E623	Calciumdiglutamat
E624	Monoammoniumglutamat
E625	Magnesiumdiglutamat
E626	Guanylsäure
E627	Dinatriumguanylat
E628	Dikaliumguanylat
E629	Calciumguanylat
E630	Inosinsäure
E631	Dinatriuminosinat
E632	Dikaliuminosinat
E633	Calciuminosinat
E634	Calcium 5'-ribonucleotid
E635	Dinatrium 5'-ribonucleotid
E636	Maltol
E637	Ethylmaltol
E640	Glycin und dessen Natriumsalz

E636, E637 und E640 bewirken keinen Umami-Geschmack.

E636 (Maltol): verstärkt süßlichen Geschmack

E636 (Ethylmaltol): ähnlich wie Maltol, aber intensivere Wirkung

E640(Glycin): schmeckt süßlich

Geschmacksverstärker sind insgesamt nicht unumstritten. In vielen Studien an Menschen und Tieren sind negative Auswirkungen beschrieben. Allerdings gibt es auch Studien, aus denen sich kein ursächlicher Zusammenhang ableiten lässt. Diese Studien wurden jedoch größtenteils von großen Produzenten solcher Stoffe in Auftrag gegeben.

Mit Geschmacksverstärkern wird viel Geld verdient. Das Interesse der Nahrungsmittelhersteller an Geschmacksverstärkern ist riesig, da man damit teure Zutaten wie Fleisch, Shrimps, Käse ersetzen bzw. reduzieren kann. Einige renommierte Wissenschaftler haben jedoch starke Bedenken und sehen Zusammenhänge bei der Entstehung bzw. Begünstigung von Alzheimer, ADHS (Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung), Adipositas und weiteren Erkrankungen.

In Babynahrung ist die Zugabe von Glutamat in Deutschland, Schweden und weiteren europäischen Ländern völlig verboten. In den USA haben sich die Hersteller von Babynahrung auf einen freiwilligen Verzicht dieses Zusatzstoffes geeinigt.

# Geschmacksverstärkern auf der Spur

Deutsch

Weil viele Verbraucher immer kritischer auf den Zusatz von Geschmacksverstärkern reagieren, sind viele Hersteller dazu übergegangen, keinen reinen Zusatzstoff (E620 ff.) mehr einzusetzen, sondern praktisch Gemische von verschiedenen Aminosäuren bzw. deren Salzen. In vielen Ländern reicht dann die Kennzeichnung „Würze“, „Hefeextrakt“, „fermentierter Weizen“ oder ähnliches. Letztendlich sind dies alles „Trojanische Pferde“, um Geschmacksverstärker in versteckter Form ins Produkt zu bringen.

## II. Bestandteile des Kits

Extraktionslösung, 250 ml  
L-Glutaminsäure, 20 mg  
Ninhydrin, 300 mg  
Faltenfilter, 20 Stück  
Einmalkapillaren, Volumen 10 µl, 50 Stück  
Chromatographie-Papier, 20 Stück  
Chromatographie-Kammer, 5 Stück

## III. Geräte, Hilfsmittel und Lösungen, die benötigt werden

Erlenmeyerkolben, 100 ml  
Mörser  
Trichter  
Pinzette  
Schale (Glas oder Kunststoff)  
Haartrockner (Föhn), alternativ Trockenschrank (105°C)  
H<sub>2</sub>O dest., steril  
Einmalhandschuhe (puderfrei), geeignet für Laborarbeiten

## IV. Vorbereitung der Reagenzien

### L-Glutaminsäure-Standard

20 mg werden in 20 ml sterilem H<sub>2</sub>O (dest.) gelöst. Dies ergibt eine Konzentration von 1 mg/ml. Dieser kann 1:3 bzw. 1:5 mit H<sub>2</sub>O weiter verdünnt werden, um Standards mit 0,33 bzw. 0,2 mg/ml herzustellen. Die Glutaminsäure-Standards sollten portioniert bei -18°C eingefroren gelagert werden.

### Fließmittelgemisch

Das Fließmittelgemisch setzt sich zusammen aus Butanol, Essigsäure und H<sub>2</sub>O dest., im Verhältnis 4:1:1.

### Lösungsgemisch für Ninhydrin

Das Lösungsgemisch (100 ml) setzt sich zusammen aus 95 ml 2-Propanol und 5 ml Essigsäure.

### Färbemittel

300 mg Ninhydrin werden mit 100ml Lösungsgemisch für Ninhydrin versetzt und gelöst. Bitte dazu einen sauberen Erlenmeyerkolben verwenden. Das Färbemittel wird verschlossen im Kühlschrank aufgehoben.

## V. Versuchsdurchführung

### Probenaufarbeitung

3 g Probe werden in einem Erlenmeyerkolben eingewogen und mit 5 ml Extraktionslösung versetzt und fein gemörsert. Steht kein ausreichend großer Mörser zur Verfügung, kann die Probe auch portionsweise aufgearbeitet werden. Der Extrakt wird anschließend durch einen Faltenfilter filtriert und verwendet das Filtrat zur Dünnschichtchromatographie.

Möchte man die Dünnschichtchromatographie erst später durchführen, kann das Filtrat eingefroren bei  $-18^{\circ}\text{C}$  für einige Wochen aufbewahrt werden.

### Dünnschichtchromatographie

**Hinweis:** Das Chromatographiepapier bitte nur mit Pinzette am Rand berühren und transportieren. Bitte dabei Handschuhe tragen und keine Fingerabdrücke auf dem Papier hinterlassen. Das verwendete Lineal muss ebenfalls absolut sauber sein !

Zunächst zieht man mit einem Bleistift ca. 1,5 cm vom unteren Rand des Chromatographiepapiers eine dünne horizontale Linie (vgl. Abb1). Dies ist die Startlinie für die Proben bzw. die Glutaminsäure-Standards. Unterhalb der Startlinie werden im Abstand von 8mm die Laufspuren von links nach rechts mit 1,2,3 usw. beschriftet. Ein Teil des oben genannte Glutaminsäure-Standards (1 mg/ml) wird noch 1:3 und 1:5 mit  $\text{H}_2\text{O}$  verdünnt, so dass dann 3 Standards mit den Konzentrationen 1 mg/ml; 0,33 mg/ml und 0,2 mg/ml zur Verfügung stehen und mitaufgetragen werden.

Die Chromatographiekammer wird mit dem Fließmittelgemisch ca. 7 mm hoch gefüllt und mit dem Deckel verschlossen. Zur Kammersättigung wird die Kammer für mindestens 15 Min. stehen gelassen.

Sowohl von den Proben als auch von den Standards werden im gleichmäßigen Abstand auf der Startlinie (über den Zahlen) jeweils 10  $\mu\text{l}$  aufgetragen. Die Auftragung erfolgt mit Hilfe der Kapillarröhrchen. Für jede Probe und jeden Standard ist ein neues Kapillarröhrchen zu verwenden.

Zum Auftragen liegt das Chromatographiepapier horizontal auf dem Tisch. Nach dem Auftragen öffnet man die Chromatographiekammer und stellt das mit Proben und Standards beladene Chromatographiepapier mit der Startlinie nach unten zeigend in die Kammer und verschließt diese wieder mit dem Deckel.

Nun steigt das Fließmittelgemisch im Chromatographiepapier nach oben. Wenn das Fließmittel ca. 7 cm (ab der Startlinie gemessen) hochgelaufen ist, entnimmt man das Papier der Kammer und legt es zum Trocknen auf den Tisch. Mit einem schwach eingestellten Föhn (oder Trockenschrank) kann man diesen Trocknungsprozess vorsichtig beschleunigen. Eine langsame Trocknung bei Raumtemperatur kann aber auch erfolgen.

Jetzt kann die Anfärbung durchgeführt werden oder man hebt das Chromatogramm lichtgeschützt im Kühlschrank auf. Die Lagerung kann einige Tage betragen bevor die Anfärbung erfolgt.

### Anfärbung der Aminosäuren

**Hinweis:** Die Schale muss absolut sauber sein, ohne Fingerabdrücke o.ä., da jegliche Proteinverunreinigung mit angefärbt wird!

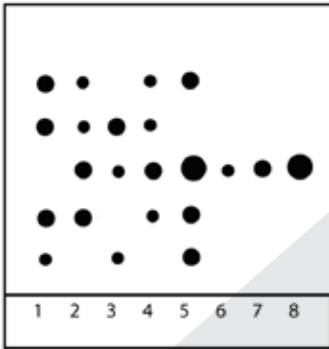
In eine geeignete Schale aus Glas oder Kunststoff wird etwas Färbelösung eingefüllt. Dann zieht man das Chromatographiepapier ganz kurz (1 Sekunde) durch die Färbelösung und lässt es anschließend an der Luft oder im Trockenschrank bei ca.  $105^{\circ}\text{C}$  trocknen. Danach kann die Auswertung erfolgen.

Das gefärbte Chromatogramm kann bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt werden.

Das Aufkleben im Arbeitsheft erfolgt am besten mit Tesafilm.

## VI. Auswertung

Auf dem Chromatogramm sieht man etliche Flecken in verschiedenen Farbnuancen von Rot bis Violett. Die Glutaminsäure-Standards sind in den Spuren 6, 7 und 8 der Abb. 1 zu sehen. Das Glutamat in den Proben (hier im wässrigen Milieu als Glutaminsäure nachgewiesen) läuft auf gleicher Höhe wie die Standards und kann somit leicht identifiziert werden. Durch Vergleichen der Fleckgröße der Proben mit den Fleckgrößen der Standards kann die Menge des Glutamats in den Proben halbquantitativ abgeschätzt werden. Die Flecken oberhalb und unterhalb der dritten Reihe repräsentieren andere Aminosäuren, die jedoch mit dem vorliegenden Kit-System nicht identifiziert werden.



**Abb. 1:** Beispielhaftes Chromatogramm mit Proben (Spuren 1-5 und 3 Glutaminsäure-Standards (Konz. 0,2 mg/ml, 0,33 mg/ml und 1mg/ml)). Die Probe in Spur 1 weist kein Glutamat auf, die Proben in den Spuren 2-5 zeigen Glutamatzusätze in unterschiedlichen Mengen. Die Abschätzung der Glutamatgehalte kann durch Vergleich mit den Standards erfolgen.

## VII. Anregungen und Fragen für die Einbindung in den Unterricht

### Vorbereitende Aufgaben zur Unterrichtsstunde:

- 1 Recherchieren Sie zum Thema „Der Geschmacksverstärker Glutamat“. (Alternativ kann auch ein Schüler- oder Lehrervortrag zum Thema vorbereitet und gehalten werden.)
- 2 Recherchieren Sie zum Thema „Dünnschichtchromatographie“. (Alternativ kann auch ein Schüler- oder Lehrervortrag zum Thema vorbereitet und gehalten werden.)
- 3 Bringen Sie zur nächsten Unterrichtsstunde eine kleine Menge eines Nahrungsmittels mit, das sie auf den Geschmacksverstärker Glutamat hin untersuchen möchten.

### Aufgaben während der Unterrichtsstunde:

- 1 Lesen Sie aufmerksam die gesamte Versuchsdurchführung. Klären Sie eventuelle Fragen mit Ihrem Platznachbarn bzw. Ihrer Platznachbarin.
- 2 Erläutern Sie, welche Funktion der Glutaminsäure-Standard hat.
- 3 Begründen Sie, weshalb drei Glutaminsäure-Standards mit unterschiedlichen Konzentrationen verwendet werden.
- 4 Formulieren Sie die dem Experiment zu Grunde liegende Fragestellung.
- 5 Führen Sie das Experiment durch.
- 6 Protokollieren Sie. Kleben Sie das erstellte Chromatogramm mit Klebestreifen in Ihr Protokoll und beschriften Sie es.
- 7 Werten Sie das Experiment hinsichtlich der von Ihnen in Aufgabe 2 formulierten Fragestellung aus.

# Geschmacksverstärkern auf der Spur

- 8 Überprüfen Sie nicht erwartete Ergebnisse, indem Sie nach möglichen Fehlern bei der Durchführung des Experiments suchen. Lesen Sie hierzu nochmals die Versuchsdurchführung. Führen Sie das Experiment gegebenenfalls noch einmal durch.

## Lösungen:

### zu 2:

Der Glutaminsäure-Standard dient als Kontrollansatz. Ohne ihn kann die mögliche Glutaminsäure-Bande des Probenansatzes nicht identifiziert werden, weil meist auch noch andere Aminosäuren in dem untersuchten Lebensmittel vorhanden sind, die dann ebenfalls angefärbt werden.

### zu 3:

Mithilfe der Verdünnungen kann die Menge der Glutaminsäure in den untersuchten Proben halbquantitativ abgeschätzt werden.

### zu 4:

- In welchen Lebensmitteln lässt sich der Geschmacksverstärker Glutamat nachweisen?
- In welchen Lebensmitteln lässt sich im Vergleich mit den anderen untersuchten Lebensmitteln die größte Glutamat-Konzentration nachweisen?

## VIII. Sicherheit und Entsorgung

Der sichere Umgang mit Laborgeräten und Chemikalien setzt ein gewisses Maß an Grundwissen und Sicherheitsmaßnahmen voraus. Während des Experiments sollten generell Laborkittel und Schutzbrillen getragen werden. Handschuhe sind ebenfalls vorzuhalten und bei Bedarf anzuziehen. Auch der Umgang mit den Geräten sowie Risiken bei der Nutzung sollten bekannt sein. Insbesondere auf die Gefahren von Elektrizität ist zu achten. Alle Verbindungsstecker, Netzkabel und Arbeitsflächen (aber auch die Hände) müssen trocken sein, bevor die Bedienung von elektrischen Geräten erfolgt.

Weitere Maßnahmen zur Arbeitssicherheit: Lange Haare zusammen binden, möglichst keinen Schmuck tragen, enganliegende Ärmel etc, damit kein unerwünschter Kontakt mit Geräten, Chemikalien usw. auftreten kann.

Sämtliche Abfälle sind entsprechend den Anweisungen und den örtlichen Bestimmungen zu entsorgen.

# Geschmacksverstärkern auf der Spur

Deutsch

## Gefahreneinstufung der Kit-Bestandteile

### **Extraktionslösung**

Einstufung gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008:

Nicht gesundheitsschädlich, enthält lediglich H<sub>2</sub>O und NaCl im physiologischen Bereich.

Einstufung gemäß Richtlinie 67/548/EWG bzw. Richtlinie 1999/45/EG:

Nicht gesundheitsschädlich, enthält lediglich H<sub>2</sub>O und NaCl im physiologischen Bereich.

### **L-Glutaminsäure**

Einstufung gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008:

Nicht gesundheitsschädlich

Einstufung gemäß Richtlinie 67/548/EWG bzw. Richtlinie 1999/45/EG:

Nicht gesundheitsschädlich

### **Ninhydrin**

Einstufung gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008:

### Gefahrenhinweise

H302: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken

H315: Verursacht Hautreizungen

H319: Verursacht Augenreizungen

H335: Kann die Atemwege reizen

### Sicherheitshinweise

P261: Einatmen vermeiden

P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen,

Kontaktlinsen ggf. entfernen, weiter spülen

Einstufung gemäß Richtlinie 67/548/EWG bzw. Richtlinie 1999/45/EG:

### Gefahrenhinweise

R22 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken

R36/37/38 Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut

### Sicherheitshinweise

S26: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.

S28: Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser.

S36: Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen

## **IX. Literatur**

Hahn-Deinstorp, E.: Applied Thin-Layer Chromatography – Best Practice and Avoidance of Mistakes. Wiley-VCH, Weinheim, New York, Chichester, Brisbane, Singapur, Toronto 2000.

Stahl, E.: Dünnschichtchromatographie, Ein Laboratoriumshandbuch, 2. Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1967, S. 701-714, 842.



## I. Introducción

La mayoría de las personas relacionan los potenciadores del sabor con el término glutamato. De hecho, el glutamato o sus derivados son los potenciadores del sabor más importantes a nivel mundial. El glutamato se agrega a alimentos pre-cocidos, alimentos congelados, enlatados, aderezos y platos a base de carne o pescado. En algunos países es incluso común ponerlo en la mesa como un condimento para el aliño de la comida.

El químico japonés Kikunae Ikeda descubrió en 1907 que había un quinto sabor además del dulce, agrio, amargo y salado, al cual llamó el “umami” (del japonés „umai”: carnosos, sabrosos). Él encontró que el sabor del umami se relaciona con el aminoácido ácido L-glutámico y con sus respectivas sales. Él reconoció su gran importancia para conservar la calidad del sabor de los alimentos, fundando dos años después con un socio de la industria una compañía para la producción y comercialización de potenciadores del sabor. El ácido glutámico se presenta en los alimentos y en el cuerpo humano en forma de enantiómeros, como ácido L-glutámico y como ácido D-glutámico, en donde la forma L predomina en volumen. Además, el ácido L-glutámico (como otros aminoácidos proteínicos) existe en formas enlazada y libre. En forma enlazada se presenta cuando está unido a otros aminoácidos conformando una proteína. En forma libre, el ácido glutámico está presente como un solo aminoácido. Sólo el ácido glutámico libre o sus sales juegan un papel importante para el sabor umami de un alimento. La mayoría de los alimentos contienen ácido glutámico principalmente en forma enlazada. Sin embargo, en habas de soja, tomates, leche, espinaca y muchos quesos, por ejemplo, se presentan naturalmente altas concentraciones de ácido glutámico libre. El glutamato sódico es el potenciador del sabor más importante. Otras sales de ácido glutámico son glutamato de potasio, glutamato dicálcico, glutamato de amonio y glutamato dimagnésico. El descubrimiento de exactamente los anteriormente llamados potenciadores del sabor desarrolla el conocimiento básico de este equipo experimental.

Para complementar debe mencionarse también que hay potenciadores del sabor que no son a base de glutamato, pero tienen las mismas propiedades de sabor (sabor umami). Estos son: ácido guanílico, guanilato disódico, guanilato dipotásico, guanilato cálcico, ácido inosínico, inosinato disódico, inosinato dipotásico, inosinato cálcico, 5'-ribonucleótidos cálcicos y 5'-ribonucleótido disódico. En Europa los potenciadores del sabor son especificados como aditivos y deben ser declarados por el nombre o con su correspondiente número E en la lista de ingredientes en los alimentos (vea Tabla 1). Australia y Nueva Zelanda han adoptado el procedimiento del labelling europeo. También en EUA y en Canadá se puede encontrar reglas similares para potenciadores del sabor.

# Rastreando potenciadores del sabor

Español

**Tabla 1:** Lista del número E usado ampliamente en Europa, en donde son listados diferentes potenciadores del sabor junto con su número E correspondiente.

Número E	Especificación
E620	Ácido glutámico
E621	Guanilato monosódico
E622	Guanilato monocálcico
E623	Guanilato dicálcico
E624	Glutamato de amonio
E625	Glutamato dimagnésico
E626	Ácido guanílico
E627	Guanilato disódico
E628	Gualinato dipotásico
E629	Guanilato cálcico
E630	Ácido inosínico
E631	Inosinato disódico
E632	Inosinato dipotásico
E633	Inosinato cálcico
E634	5'-ribonucleótidos cálcicos
E635	5'-ribonucleótido disódico
E636	Maltol
E637	Etilmaltol
E640	Glicina y sales sódicas

E636, E637 y E640 no causan el sabor del umami.

E636 (maltol): refuerza el sabor dulce.

E636 (etilmaltol): similar al maltol, pero más intenso en su efecto.

E640 (glicina): sabe dulce.

Los potenciadores del sabor son en general polémicos: En muchos estudios en humanos y animales se describen efectos negativos. Hay también sin embargo, estudios que no muestran ninguna relación causal. Estos estudios habrían sido hechos en su mayoría por grandes productores de estas sustancias.

Con potenciadores del sabor se puede ganar mucho dinero. El interés del fabricante de alimentos en ellos es grande porque una cierta cantidad de ingredientes caros como la carne, la gamba o el queso pueden ser reemplazados o reducidos. Varios científicos renombrados están fuertemente angustiados y observan las correlaciones entre la aparición, y respectivamente, el ataque y desarrollo de enfermedades tales como el Alzheimer, el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), obesidad y otras enfermedades.

# Rastreando potenciadores del sabor

También debe mencionarse que la utilización de glutamato en alimentos para bebés está totalmente prohibida en Alemania, Suecia y otros países europeos. En EUA, los productores de alimentos para bebés han estado de acuerdo en el abandono voluntario al empleo de este aditivo.

Debido a que muchos consumidores responden cada vez más críticamente a la adición de potenciadores del sabor a los alimentos, muchos fabricantes se vieron obligados a dejar de agregar el aditivo puro (E620 y derivados) a sus productos, pero usando en cambio una mezcla de varios aminoácidos o sus sales. En muchos países es suficiente su identificación escribiendo en la etiqueta “aliño”, „extracto de levadura“, “trigo fermentado”. Finalmente son todas estas denominaciones “caballos de Troya”, es decir, una forma de esconder potenciadores del sabor que fueron agregados al producto.

## II. Componentes del equipo

Solución extractiva, 250 ml  
Ácido L-glutámico, 20 mg  
Ninhidrina, 300 mg  
Papeles de filtro, 20 unidades  
Tubos capilares (volumen: 10  $\mu$ l), 50 unidades  
Papel cromatográfico, 20 unidades  
Cámara cromatográfica, 5 unidades

## III. Equipo, herramientas y soluciones que serán necesarias

Frasco Erlenmeyer, 100 ml,  
Mortero  
Embudo  
Pinzas  
Recipiente (vidrio o plástico)  
Secador de pelo, alternativamente horno (105°C)  
H<sub>2</sub>O. destilada, estéril  
Guantes desechables (sin polvo), conveniente para el trabajo del laboratorio

## IV. Preparación de reactivos

### Estándares de ácido L-glutámico

Disolver 20 mg de ácido L-glutámico en 20 ml H<sub>2</sub>O estéril (dest.). Esto da una concentración de 1 mg/ml. Esta concentración puede diluirse más a 1:3 o 1:5 para conseguir soluciones estándar con 0.33 o 0.2 mg/ml respectivamente. Porciones de estos estándares de ácido glutámico deben guardarse congelados a -18°C.

### Mezcla de Solventes

La mezcla de solventes está compuesta por Butanol, ácido acético y agua destilada en una proporción de 4:1:1.

### Mezcla disolvente para Ninhidrina

La mezcla disolvente (100 ml) está compuesta de 95 ml de 2-propanol y 5 ml de ácido acético.

### Colorante

Disolver 300 mg de ninhidrina en 100 ml de mezcla disolvente. Por favor use un frasco de Erlenmeyer limpio. El colorante puede guardarse en una botella cerrada en el refrigerador.

## V. Experimentación

### Preparación de la prueba

Pesar 3 g de una muestra (finamente pulverizada en el mortero) en un frasco de Erlenmeyer y mezclar con 5 ml de solución extractiva. Si no hay ningún mortero lo suficientemente grande, la muestra también puede procesarse porción por porción. Filtrase el extracto a través de un filtro del papel. El filtrado se usará para la cromatografía de capa delgada.

Si se quiere llevar a cabo la cromatografía de capa delgada después, puede guardarse el filtrado congelado a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante varias semanas.

### Cromatografía de capa delgada

**Nota:** Por favor utilizar las pinzas y tocar solo el borde del papel cromatográfico para moverlo o transportarlo. Por favor usar guantes y no dejar huellas digitales en el papel. La regla a utilizar debe estar completamente limpia!

Primero, trace una línea horizontal delgada de aproximadamente 1,5 centímetros con un lápiz en el borde inferior del papel cromatográfico (vea Fig. 1). Ésta es la línea de arranque para las muestras y los respectivos estándares de ácido glutámico. Debajo de esta línea de arranque, a una distancia de 8 mm, serán enumerados los trazos 1, 2, 3, etc. de izquierda a derecha. Una parte de los anteriormente llamados estándares de ácido glutámico (1 mg/ml) se diluirá 1:3 y 1:5 con  $\text{H}_2\text{O}$ , para que estén disponibles 3 estándares con concentraciones de 1 mg/ml, 0.33 mg/ml y 0.2 mg/ml y sean analizados. Llene la cámara cromatográfica con la mezcla de solventes aproximadamente 7 mm y cierre con la tapa. Para la saturación de la cámara debe incubarse por lo menos 15 min.

Las muestras como también los estándares serán aplicados por medio de los tubos capilares (10 $\mu\text{l}$ ) y estarán igualmente distanciados desde la línea de arranque (sobre los números). Para cada muestra y cada estándar se usará un nuevo tubo capilar.

Para la aplicación, ponga el papel cromatográfico horizontalmente en la mesa. Después de la aplicación, abra la cámara cromatográfica y ponga el papel cromatográfico cargado con las muestras y estándares con la línea de arranque apuntando hacia abajo y ciérrelo de nuevo con la tapa.

Ahora la mezcla de solventes debe subir hacia arriba en el papel cromatográfico. Cuando el solvente está por encima aproximadamente 7 cm (medido desde la línea de arranque), quite el papel de la cámara y póngalo en la mesa a secar. El proceso de secado puede acelerarse cuidadosamente con un secador de pelo a poca potencia o usando un horno a baja temperatura. También se puede secar a temperatura ambiente. Ahora es posible realizar la coloración o también es posible guardar el cromatograma en el frigorífico protegido de la luz durante algunos días antes de que ocurra la coloración.

### Coloración de aminoácidos

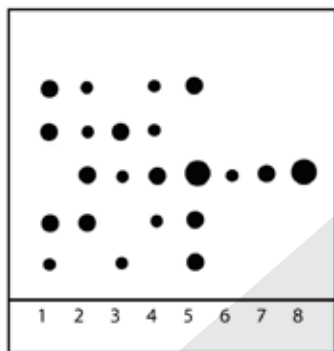
**Nota:** ¡El recipiente tiene que estar completamente limpio sin huellas digitales, etc., ya que cualquier contaminación proteínica se colorearía también!

Vierta un poco del colorante en un recipiente de vidrio o plástico adecuado. Luego coloque el papel cromatográfico muy brevemente (1 seg.) en el colorante y déjelo secar en el aire o en un horno a aproximadamente  $105^{\circ}\text{C}$ . Después de esto estará listo para el análisis.

El cromatograma con colorante puede guardarse a temperatura ambiente y en un cuarto oscuro. Para pegarlo en el cuaderno preferiblemente con Tesafilm.

## VI. Análisis

En el cromatograma se pueden observar varias manchas en diferentes tonalidades desde el rojo hasta el morado. Los estándares de ácido glutámico pueden verse en los trazos 6,7 y 8 de la fig. 1. El glutamato en las muestras (aquí en estado acuoso como ácido glutámico) corre en la misma dirección de los estándares lo cual lo hace fácilmente identificable. Comparando el tamaño de las manchas de las muestras con las manchas de los estándares puede estimarse semi-cuantitativamente la cantidad de glutamato en las muestras. Las manchas que hayan sobre y debajo de la tercera fila, representan otros aminoácidos que no pueden identificarse con el equipo utilizado.



**Fig. 1:** Ejemplo de un cromatograma con las muestras (trazos 1-5 y 3 estándares de ácido glutámico (con. 0.2 mg/ml, 0.33 mg/ml y 1 mg/ml). La muestra en el trazo 1 no contiene ácido glutámico, las muestras en los trazos 2-5 muestran cantidades variantes de aditivos de glutamato.

## VII. Sugerencias y preguntas para la comprensión de la lección

Trabajo preparatorio antes de la lección:

- 1 Investigar sobre „Glutamato. El potenciador del sabor“. (Sería conveniente que un estudiante o el profesor se preparase una presentación ).
- 2 Investigar sobre „Cromatografía de capa delgada“. (Igualmente sería recomendable que presentaran dicha investigación el alumno o el profesor).
- 3 Traer una pequeña cantidad de comida al aula el primer día, y así poder analizar el contenido de Glutamato.

### Ejercicios durante la lección:

- 1 Lea atentamente todo el manual del experimento. Clarifique las dudas con el compañero o compañera que está a su lado.
- 2 Explique la función de los estándares de ácido glutámico.
- 3 Justifique por qué se usan tres estándares de ácido glutámico de concentraciones diferentes.

# Rastreando potenciadores del sabor

Español

- 4 Formule el cuestionario en el que se basa el experimento.
- 5 Lleve a cabo el experimento.
- 6 Reporte. Pegar el cromatograma resultado del reporte y describirlo.
- 7 Evalúe el experimento con respecto a su respuesta de la pregunta 2 del cuestionario.
- 8 Verifique resultados no esperados por posibles errores a la hora de la experimentación. Por favor lea el manual de nuevo. Si es necesario, ejecute una vez más el experimento.

## Respuestas:

### Pregunta 2:

El estándar de ácido glutámico cumple una función de control. Sin él la banda de ácido glutámico de las pruebas no puede identificarse porque hay también otros aminoácidos en el alimento que igualmente se colorearan.

### Pregunta 3:

Usando las disoluciones estudiadas puede estimarse semi-cuantitativamente la cantidad de ácido glutámico en las muestras.

### Pregunta 4:

- ¿Para qué tipo de alimentos puede demostrarse la presencia de glutamato?
- ¿En qué tipo de alimentos puede obtenerse la mayor concentración de glutamato en comparación con otros alimentos examinados?

## VIII. Seguridad y disposición

El manejo seguro de elementos químicos y equipo del laboratorio requiere unos conocimientos básicos y ciertas medidas de seguridad. Durante el experimento debe utilizarse bata de laboratorio y gafas de seguridad. Los guantes tienen que proporcionarse y deben usarse si son necesarios.

También debe conocerse el manejo del equipo y los posibles riesgos al utilizarlo. En particular debe prestarse atención a los peligros que conlleva la electricidad. Todos los enchufes, los cables y el área de trabajo así como las manos deben estar secos antes de usar dispositivos eléctricos.

Otras medidas para el trabajo seguro pueden ser: Recogerse el pelo largo, en la medida de lo posible no usar joyas, mangas ajustadas etc., para que no haya contacto con el equipo, elementos químicos, etc. Todos los desechos deben regularse según las instrucciones y las regulaciones locales.

## Clasificación del riesgo químico de los componentes del equipo

### Solución extractiva

Clasificación según la Regulación (EG) Nro. 1272/2008:

No dañino, contiene HO y NaCl en el rango fisiológico.

Clasificación según Directriz 67/548/EWG y Directriz 1999/45/EG:

No dañino, contiene H<sub>2</sub>O y NaCl en el rango fisiológico.

### Ácido L-glutámico

Clasificación según la Regulación (EG) Nro. 1272/2008:

No dañino

Clasificación según Directriz 67/548/ EWG o Directriz 1999/45/ EWG:

No dañino

### Ninhidrina

Clasificación según la Regulación (EG) Nro. 1272/2008:

#### Riesgos

H302: Dañino al ser ingerido.

H315: Causa irritación en la piel.

H319: Causa irritación en los ojos

H335: Puede causar irritación en el sistema respiratorio

#### Instrucciones de seguridad

P261: Evite la inhalación

P305 + P351 + P338: En contacto con los ojos, enjuague los ojos suavemente con agua durante varios minutos, quítese las lentes de contacto si fuera necesario, continúe el enjuague.

Clasificación según Directriz 67/548/ EWG o Directriz 1999/45/ EWG:

#### Riesgos

R22: Dañino al ser ingerido.

R36/37/38: Irrita los ojos, sistema respiratorio y piel

#### Instrucciones de seguridad

S26: Evite el contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con agua y consultar con un médico.

S28: Después del contacto con la piel, lave inmediatamente con suficiente agua.

S36: Usar la ropa adecuada durante la práctica.

## IX. Bibliografía

Hahn-Deinstorp, E.: Applied Thin-Layer Chromatography – Best Practice and Avoidance of Mistakes. Wiley-VCH, Weinheim, New York, Chichester, Brisbane, Singapur, Toronto 2000.

Stahl, E.: Dünnschichtchromatographie, Ein Laboratoriumshandbuch, 2 Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1967, S. 701-714, 842.

## I. Introduction

La plupart des gens associent les exhausteurs de goût au terme de glutamate. Effectivement, le glutamate ou ses dérivés sont les exhausteurs de goût les plus utilisés à l'échelle mondiale. Le glutamate est très souvent ajouté aux plats précuits, produits surgelés, snacks, conserves, vinaigrettes et aux plats de viande ou de poisson. Dans certains pays, le glutamate se trouve même sur la table comme condiment.

Le chimiste japonais Kikunae Ikeda découvrit, déjà en 1907, qu'il existe une cinquième saveur outre les quatre connues: doux, aigre, amer et salé, un cinquième, qu'il désignait umami (du mot japonais „umai“: carné, savoureux, relevé). Il découvrait que cette saveur-umami était liée à l'acide aminé appelé l'acide glutamique L ou bien à ses sels. Il reconnaissait leur grande importance pour la qualité de saveur des aliments et fonda deux années plus tard avec un partenaire industriel, une entreprise de production et de commercialisation d'exhausteurs de goût.

Dans les aliments comme dans le corps humain, l'acide glutamique peut se trouver dans deux isomères optiques, sous la forme de l'acide glutamique L et d'acide glutamique D, mais l'acide glutamique L est dominant. De plus, l'acide glutamique L figure, comme d'autres acides aminés protéinogènes, sous une forme libre et liée.

Dans sa forme liée, l'acide glutamique est combiné à d'autres acides aminés et forme ainsi une protéine. L'acide glutamique libre est un simple acide aminé. Seul l'acide glutamique libre et ses sels jouent un rôle important dans la saveur umami d'un aliment. La plupart des aliments contiennent des acides glutamiques surtout sous la forme liée. De fortes concentrations d'acide glutamique libre sont naturellement abondantes dans les graines de soja, les tomates, le lait, les épinards et différentes sortes de fromages.

On accorde la plus grande importance au glutamate monosodique comme exhausteur de goût. D'autres sels d'acide glutamique peuvent être cités, comme le glutamate monopotassique, le diglutamate de calcium, le glutamate d'ammonium et le diglutamate de magnésium.

Le dépistage de ces additifs alimentaires sert de base au kit d'expérimentation présent.

De plus, il faut mentionner qu'il existe des additifs alimentaires, qui ne sont pas basés sur le glutamate, mais qui partagent les mêmes propriétés, à savoir la saveur umami. Ceux-ci sont: l'acide guanylique, le guanylate disodique, le guanylate dipotassique, le guanylate de calcium, l'acide inosinique, l'inosinate disodique, l'inosinate dipotassique, l'inosinate de calcium, le 5'-ribonucléotide calcique et le 5'-ribonucléotide disodique.

Une directive européenne définit les exhausteurs de goût comme additifs alimentaires, qui doivent à ce titre être inscrits sur la liste des ingrédients alimentaires soit sous leur nom soit sous leur code Exxx (cf. Tableau 1). L'Australie et la Nouvelle-Zélande ont adopté la méthode d'étiquetage européenne de même qu'aux Etats-Unis et au Canada on peut retrouver des réglementations similaires en ce qui concerne les additifs alimentaires.



# Sur la trace des exhausteurs de goût

**Tableau 1:** Ci-dessous, la liste des additifs alimentaires les plus utilisés en Europe. Les différents additifs alimentaires autorisés au niveau européen bénéficient d'un code du type Exxx.

Numéro	Descriptif
E620	Acide glutamique
E621	Glutamate monosodique
E622	Glutamate monopotassique
E623	Diglutamate de calcium
E624	Glutamate d'ammonium
E625	Diglutamate de magnésium
E626	Acide guanylique
E627	Guanylate disodique
E628	Guanylate dipotassique
E629	Guanylate de calcium
E630	Acide inosinique
E631	Inosinate disodique
E632	Inosinate dipotassique
E633	Inosinate de calcium
E634	5'-ribonucléotide calcique
E635	5'-ribonucléotide disodique
E636	Maltol
E637	Éthyl-maltol
E640	Glycine et son sel de sodium

E636, E637 et E640 ne produisent pas de saveur-umami.

E636 (Maltol): renforce le goût sucré.

E637 (Éthyl-maltol): comme le maltol, mais d'un effet plus fort.

E640(Glycine): a un goût sucré.

Les exhausteurs de goût ne font pas l'unanimité. Lors de nombreuses études sur des hommes et des animaux, on décrit des effets néfastes. Cependant, d'autres études démontrent l'absence d'un lien de causalité, mais ces dernières étaient pour la plupart effectuées pour le compte des gros producteurs d'exhausteurs de goût.

Les exhausteurs de goût représentent un gros marché. L'intérêt des producteurs d'aliments pour des exhausteurs de goût est énorme, parce qu'il est possible, en les utilisant, de réduire ou même remplacer une quantité d'ingrédients chers comme de la viande, des fruits de mer ou du fromage. Mais certains scientifiques de renom manifestent leur inquiétude. Ils voient des liens de corrélation entre l'utilisation des exhausteurs de goût et le développement de la maladie d'Alzheimer, du TDAH (trouble déficitaire de l'attention/hyperactivité), de l'obésité et d'autres maladies.

L'addition de glutamate dans les aliments pour bébés est strictement interdite en France, Allemagne, Suède et dans d'autres pays européens. Aux Etats-Unis, les producteurs alimentaires ont renoncés collectivement à l'utilisation de cet additif dans l'alimentation des nourrissons.

# Sur la trace des exhausteurs de goût

Français

Comme beaucoup de consommateurs réagissent de manière de plus en plus critique envers l'utilisation des exhausteurs de goût, beaucoup de producteurs ont abandonné l'ajout d'additif pur (E620 et suivants) à leurs produits, mais utilisent à leur place des mélanges de différents acides aminés ou bien leurs sels. Dans beaucoup de pays, dans ces cas là, le marquage de „condiment“, „extrait de levure“, „blé fermenté“ ou indications similaires suffit. En fin de compte, ces termes sont utilisés comme des „Chevaux de Troie“, pour ajouter des exhausteurs de goût aux produits sous forme cachée.

## II. Composants du kit

Dissolution d'extraction, 250 ml  
Acide glutamique L, 20 mg  
Ninhydrine, 300 mg  
Filtres à plis, 20 unités  
Capillaires pour une fois, volume 10 µl, 50 unités  
Papier à chromatographie, 20 unités  
Compartiment de chromatographie, 5 unités

## III. Equipements et dissolutions nécessaires

Erlenmeyer, 100ml  
Mortier  
Entonnoir  
Pincette  
Bol (de verre ou de matière plastique)  
Sèche-cheveux (foehn), alternativement étuve (105°C)  
H<sub>2</sub>O distillé, stérilisé  
Gants protection (non-poudrés) à usage unique, qualifiés aux travaux laboratoires

## IV. Préparation des réactifs

### Acide glutamique L standard

20 mg sont dissolus dans 20 ml de H<sub>2</sub>O (distillé). Cela produit une concentration de 1 mg/ml. Celle-ci peut être diluée jusqu'à 1:3 ou bien 1:5 avec de H<sub>2</sub>O, pour produire des standards de 0,33 ou bien 0,2 mg/ml. Les standards d'acide glutamique doivent être stockés en portions à une température de -18°C.

### Eluant

L'éluant est formé d'un mélange de butanol, d'acide acétique et de H<sub>2</sub>O distillé selon le rapport 4:1:1.

### Mélange à dissolution pour ninhydrine

Le mélange à dissolution (100ml) est composé de 95 ml de 2-propanole et de 5 ml d'acide acétique.

### Colorant

300 mg de ninhydrine sont mélangées et dissolues à 100ml de mélange à dissolution. Utiliser un Erlenmeyer propre. Le colorant bouché doit être conservé au réfrigérateur.

## V. Réalisation de l'expérience

### Mise à neuf de l'échantillon

Peser 3 g de l'échantillon, mélanger les dans l'Erlenmeyer avec 5 ml de dissolution d'extraction puis, réduire en poudre fine à l'aide d'un mortier. Si vous n'avez pas de mortier de taille suffisante, l'échantillon peut aussi être traité par petites quantités.

Ensuite, filtrer l'extrait dans un filtre à plis et utiliser le filtrat pour effectuer la chromatographie à couche mince. Si vous voulez effectuer la chromatographie à couche mince plus tard, le filtrat peut être conservé au réfrigérateur à une température de  $-18^{\circ}\text{C}$  pour quelques semaines.

### Chromatographie à couche mince

**Remarques:** Toucher et transporter le papier à chromatographie uniquement à l'aide de la pincette positionnée sur la marge du papier. Porter des gants d'hygiène pour marquer pas par des empreintes digitales. La règle utilisée doit également être absolument propre.

Dans un premier temps, tirer à l'aide d'un crayon une fine ligne horizontale (cf. Application 1) à partir de la marge inférieure de papier à chromatographie. Celle-ci représente la ligne de départ pour les échantillons ou bien pour les standard d'acides glutamiques. Au-dessous de cette ligne de départ, les sillons de cours sont étiquetés avec 1,2,3, etc. de gauche à droite dans des espacements de 8mm. Une part du standard d'acide glutamique est diluée jusqu'à 1:3 et 1:5 avec de  $\text{H}_2\text{O}$ , pour qu'on ait à disposition 3 standards de concentrations 1mg/ml; 0,33 mg/ml et 0,2 mg/ml qui peuvent être appliqués également.

Le compartiment à chromatographie est rempli avec l'éluant d'une hauteur de 7 mm environ et bouché avec le couvercle. Pour obtenir la saturation du compartiment, le laisser pour 15 min. minimum. Non seulement des échantillons mais aussi des standards, sont appliqués 10 $\mu\text{l}$  sur la ligne de départ (au-dessus des chiffres) à intervalles réguliers.

L'application se fait à l'aide des capillaires. Pour chaque échantillon et pour chaque standard, il faut utiliser un nouveau capillaire. Pour effectuer l'application, le papier à chromatographie se trouve horizontalement sur la table. Après l'application, on ouvre le compartiment de chromatographie, on met alors le papier à chromatographie, chargé des échantillons et des standards, dans le compartiment de manière que la ligne de départ pointe vers le bas. On rebouche le compartiment de chromatographie. L'éluant va alors monter sur le papier à chromatographie. Au moment, où l'éluant est monté environ 7 cm (mesuré à partir de la ligne de départ), on prélève le papier du compartiment et le met sur la table pour le laisser sécher. Il est possible d'accélérer soigneusement ce processus de séchage à l'aide d'un sèche-cheveux (ou d'une étuve). Mais on peut également choisir le séchage lent à température ambiante.

Puis, la coloration peut être effectuée, sinon, le chromatogramme protégé de la lumière peut être conservé dans le réfrigérateur. Le chromatogramme peut être entreposé pendant plusieurs journées avant de le colorer.

### Coloration des acides aminés

**Remarques:** Le bol doit être absolument propre, sans porter d'empreinte digitale ou d'autres choses semblables, car chaque contamination de protéines sera colorée également.

Un peu de colorant dissolu est mis dans un bol de verre ou de matière plastique. Le papier à chromatographie est alors tiré brièvement (1 seconde) à travers du colorant, puis séché soit à l'air, soit dans l'étuve à une température de  $105^{\circ}\text{C}$ . C'est alors qu'on peut interpréter. Le chromatogramme coloré peut être entreposé à température ambiante dans l'ombre. Le collage dans le cahier se fait au mieux avec des bandes adhésives.

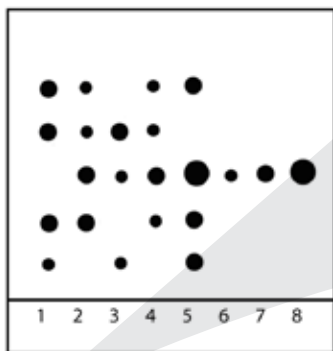
# Sur la trace des exhausteurs de goût

Français

## VI. Lecture du chromatogramme

Sur le chromatogramme, on voit un bon nombre de taches colorées de différentes nuances de rouge à violet. Les standards d'acide glutamique se trouvent sur les traces 6,7 et 8 de l'application 1. Le glutamate de l'échantillon (ici dépisté comme acide glutamique en milieu aqueux) va apparaître au même niveau que les standards et peut ainsi être facilement identifié. En comparant la taille des taches de l'échantillon à la taille des taches des standards, la quantité de glutamate dans les échantillons peut donner lieu à une vague estimation. Les taches au-dessus et au-dessous de la troisième colonne représentent d'autres acides aminés, qui ne peuvent pas être identifiés à l'aide du kit présent.

**Application 1:** Chromatogramme exemplaire avec échantillons (traces 1-5 et 3), standards d'acide glutamique (concentration 0,2 mg/ml, 0,33 mg/ml et 1 mg/ml). L'échantillon sur trace 1 ne comporte pas de glutamate, les échantillons sur les traces 2-5 comportent des additifs de glutamate en quantités différentes.



## VII. Suggestions et questions pour l'intégration de l'expérience dans le cours

### Exercices préparatoires d'une heure de cours:

- 1 Rechercher au sujet de „L'exhausteur de goût glutamate“. (Il est alternativement possible d'organiser un exposé ou bien un cours magistral à ce sujet.)
- 2 Rechercher au sujet de „la chromatographie sur couche mince“. (Il est alternativement possible d'organiser un exposé ou bien un cours magistral à ce sujet.)
- 3 Amener pour la prochaine heure de cours une petite quantité d'un aliment, que vous voulez tester à l'exhausteur de goût glutamate.

### Devoirs à faire pendant le cours:

- 1 Lire attentivement et en entier le manuel de la réalisation de l'expérience. Résoudre les questions éventuelles avec le voisin/la voisine de table.
- 2 Expliquer la fonction du standard d'acide glutamique.
- 3 Justifier, pourquoi trois standards d'acide glutamique sont utilisés.
- 4 Formuler la problématique de l'expérience.
- 5 Effectuer l'expérience.
- 6 Rédiger un protocole expérimental. Coller le chromatogramme réalisé à l'aide de bandes adhésives sur

# Sur la trace des exhausteurs de goût

le protocole et l'étiqueter.

7 Exploiter l'expérience quant à la question formulée dans l'exercice 2.

8 Réviser les résultats inattendus, en cherchant des fautes éventuellement commises au cours de l'expérience. Consulter de nouveau le manuel. Si nécessaire, refaire l'expérience.

## Solutions:

À propos de l'exercice 2:

Le standard d'acide glutamique sert de préparation de contrôle. Sinon, il n'est pas possible d'identifier la bande d'acide glutamique de l'échantillon, parce que les aliments analysés comportent souvent aussi d'autres acides aminés qui sont colorés eux aussi.

À propos de l'exercice 3:

A l'aide de dilutions, on peut donner une estimation de la quantité d'acide glutamique comportée dans l'échantillon.

À propos de l'exercice 4:

- Pour quels aliments est-il possible de faire un dépistage de glutamate comme exhausteur de goût?
- En comparaison avec d'autres aliments, lesquels comportent la plus grande concentration de glutamate?

## VIII. Sécurité et traitements des déchets

L'utilisation conforme des ustensiles de laboratoire et des produits chimiques demande certaines connaissances fondamentales et mesures de sécurité. Durant l'expérience il convient de porter blouse de laboratoire et lunettes de protection. Il convient également de tenir des gants à disposition et de les mettre en cas de besoin. Les règles d'utilisation des ustensiles de laboratoire et les risques de l'usage devaient être connus. Il faut en particulier respecter les risques électriques. Il faut que tous les connecteurs, cordons électriques et plans de travail (mais également les mains) soient sec, avant d'utiliser des appareils électriques.

Mesures supplémentaires à la sécurité du travail: Attacher les cheveux longs, ne porter pas de bijoux, favoriser des manches collantes etc, pour qu'il n'y ait pas de contact indésirable aux ustensiles et produits chimiques.

Il faut éliminer tous les déchets conformément aux consignes et aux directives locales.

## Classement des risques des composants du kit

### Dissolution d'extraction

Définition selon règlement (CE) n° 1272/2008:

Non nocive pour la santé, comporte seulement H<sub>2</sub>O et NaCl dans des quantités physiologiques.

Définition selon règlement 67/548/CEE ou bien selon directive 1999/45/CE:

Non nocive pour la santé, comporte seulement H<sub>2</sub>O et NaCl dans des quantités physiologiques.

### Acide glutamique L

Définition selon règlement (CE) n° 1272/2008:

Non nocif pour la santé.

# Sur la trace des exhausteurs de goût

Français

Définition selon directive 67/548/CEE ou bien selon directive 1999/45/CE:

Non nocif pour la santé.

## **Ninhydrine**

Définition selon règlement (CE) n° 1272/2008:

### Avertissements de danger

H302: Nocif en cas d'ingestion.

H315: Provoque une irritation cutanée.

H319: Provoque une sévère irritation des yeux.

H335: Peut irriter les voies respiratoires.

### Conseils de prudence

P261: Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/ aérosols.

P305+P351+P338: En cas de contact avec les yeux, rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes, enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Définition selon directive 67/548/CEE ou bien selon directive 1999/45/CE:

### Avertissements de danger

R22: Nocif en cas d'ingestion

R36/37/38: Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et pour la peau.

### Conseils de prudence

S26: En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement puis consulter un ophtalmologiste. S28: Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec de l'eau.

S36: Porter un vêtement de protection approprié.

## **IX. Littérature**

Hahn-Deinstorp, E.: Applied Thin-Layer Chromatography – Best Practice and Avoidance of Mistakes. Wiley-VCH, Weinheim, New York, Chichester, Brisbane, Singapur, Toronto 2000.

Stahl, E.: Dünnschichtchromatographie, Ein Laboratoriumshandbuch, 2 Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1967, S. 701-714, 842.

## I. Introdução

A maior parte das pessoas associa aditivos alimentares com o termo glutamato. De fato, glutamato ou os seus derivados são os mais importantes aditivos alimentares em uma escala mundial. Tipicamente, glutamato é adicionado a refeições para cozinhar, comida congelada, snacks, comida enlatada, tempero de salada e pratos de carne ou peixe. Em alguns países é ainda comum colocá-lo na mesa como condimento para temperar a comida.

O químico Japonês Kihunae Ikeda descobriu em 1907 que havia um quinto sabor para além do doce, azedo, amargo e salgado, que ele chamou de umami (do Japonês “umai” carnosos, saboroso, apetitoso). Ele descobriu que o sabor do umami vinha do ácido L-Glutâmico e com a respectiva quantidade de sal. Reconheceu ainda a sua importância para engrandecer os aditivos alimentares, e assim dois anos depois fundou a corporação para produção e comércio de aditivos alimentares acompanhado pelo seu companheiro do setor da indústria.

Nos Alimentos e no corpo Humano, o ácido glutâmico existe em duas formas espelho, isômeros, que são ácido L-Glutâmico e D-Glutâmico, onde o ácido L-Glutâmico predomina em volume. Além disso, o ácido L-Glutâmico existe tanto na forma livre como com ligações. Com ligações, o ácido Glutâmico combina-se com outros aminoácidos e com formas proteicas. Na forma livre, o ácido Glutâmico está presente como simples aminoácido. Somente o ácido Glutâmico livre, ou o seus sais, tem um importante papel para o sabor umami da comida. A maioria das comidas contém ácido Glutâmico principalmente na forma com ligações. No entanto, o ácido Glutâmico existe naturalmente em elevadas concentrações, são exemplos disso os grãos de soja, os tomates, o leite, os espinafres e ainda muitos queijos.

O aditivo alimentar com maior importância é o glutamato monossódico. Outros sais do ácido Glutâmico são glutamato monopotássico, Diglutamato de cálcio, glutamato monoamônio e Diglutamato de magnésio.

A detecção de exata destes aditivos alimentares formam a base do conjunto experimental.

Para completar, deve ser mencionado que existem aditivos alimentares que não são derivados de glutamato, mas que partilham as mesmas características alimentares (sabor umami). Estes são ácido Guanílico, Guanilato dissódico, Guanilato Dicalcico, Guanilato de Cálcio, ácido Inosínico, Inosinato Dissódico, Inosinato Dipotássico, Inosinato de Cálcio, 5'-Ribonucleotideo de cálcio e 5'-Ribonucleotídeo dissódico.

Na Europa, os aditivos alimentares precisam de ser declarados ou por nome ou pelo seu E-número correspondente na lista de ingredientes alimentares (ver tabela 1). Austrália e Nova Zelândia têm adotado este procedimento de classificação europeu e também nos Estados Unidos e no Canadá, podem ser encontradas regras semelhantes para os aditivos alimentares.

# Localizar aditivos alimentares

Português

**Tabela 1:** A lista E-número é bastante usada na Europa. Os vários aditivos alimentares são listados junto com os seus correspondentes:

E-Número	Designação
E620	Ácido Glutâmico
E621	Glutamato monossódico
E622	Glutamato de Monopotássico
E623	Diglutamato de Cálcio
E624	Glutamato monoamônio
E625	Diglutamato de magnésio
E626	Ácido Guanílico
E627	Guanilato Dissódico
E628	Guanilato Dipotássico
E629	Guanilato de Cálcio
E630	Ácido Inosínico
E631	Inosinato Dissódico
E632	Inosinato Dipotássico
E633	Inosinato de Cálcio
E634	5'-Ribonucleotídeo de Cálcio
E635	5'-Ribonucleotídeo Dissódico
E636	Maltol
E637	Etil Maltol
E640	Glicina e Sal Sódico

E636, E637 and E640 não causam o sabor umami.

E636 (maltol): realça o sabor doce

E636 (ethylmaltol): semelhante ao maltol, mas mais intenso no seu efeito.

E640 (glycine) sabor doce.

Aditivos alimentares são polêmicos na maioria dos estudos em humanos e animais, sendo descritos efeitos negativos. No entanto, existem estudos que mostram não haver relação causa-efeito, onde desta forma, continuam sendo lançados no mercado, pelas grandes companhias de aditivos alimentares.

Contudo, com os aditivos alimentares ninguém consegue ganhar muito dinheiro. Mas o interesse dos fabricantes de comida é imenso, pois uma certa quantidade de ingredientes dispendiosos utilizados como por exemplo na carne, no camarão ou no queijo, são substituídos ou reduzidos com o seu uso. Contudo, vários cientistas de grande renome estão fortemente preocupados, pois eles associam o uso dos aditivos alimentares com o surgimento e futuro desenvolvimento de doenças como, Alzheimer, TDAH (Transtornos de Déficit de Atenção/Hiperatividade), obesidade e outras doenças.

Deve ser também mencionado que a adição de glutamato à alimentos para bebês é totalmente proibida na Alemanha, Suécia e em outros países europeus. Nos E.U.A., os produtores decidiram em renunciar a adição de glutamato à alimentos para bebês.



Desde que vários consumidores respondem cada vez mais criticando à adição de aditivos a produtos alimentares, muitos fabricantes desistiram de adicionar o aditivo puro (E620) em seus produtos, mas usam como alternativa uma mistura de vários aminoácidos ou os seus sais. Na maior parte dos países, os fabricantes substituem na etiqueta das embalagens dos alimentos, a palavra ácido Glutâmico por “especiaria”, “extrato de levedura”, “trigo fermentado” ou algo semelhante na etiqueta. Finalmente todos estes termos são “Cavalos de Tróia”, usados para esconder os aditivos que foram adicionados ao produto.

## II. Componentes do Conjunto

Solução de extração, 250 ml  
Ácido L-Glutâmico, 20 mg  
Ninidrina, 300 mg  
Filtros de papel, 20 unidades  
Capilares de Vidro (volume 10 µl), 50 unidades  
Folha Cromatografia, 20 unidades  
Câmara de Cromatografia, 5 unidades

## III. Equipamentos, Ferramentas e soluções necessárias

Erlenmeyer, 100 ml  
Almofariz com esmagador  
Funil  
Pinça  
Recipiente (vidro ou plástico)  
Secador do cabelo, ou forno como alternativa (105°C)  
H<sub>2</sub>O destilada, estéril  
Luvas descartáveis (sem pó), convenientes para trabalho em laboratório

## IV. Preparação dos reagentes

### Ácido L-Glutâmico

Dissolver os 20 mg de ácido glutâmico em 20 ml de H<sub>2</sub>O estéril (destilada). Isto dá uma concentração de 1 mg/ml. Esta concentração pode ser diluída nas seguintes proporções 1:3 ou 1:5 para obter padrões de concentração de 0.33 ou 0.2 mg/ml. O ácido glutâmico com as concentrações padrão deve ser armazenado no congelador a -18°C em alíquotas.

### Meio Plastificante

O meio plastificante para a fina camada de cromatografia é composta por Butanol Ácido Acético e H<sub>2</sub>O com os seguintes razões 4:1:1.

### Solvente de Ninidrina

O solvente de ninidrina (100 ml) é composto por 95 ml de 2-propanol e 5 ml de ácido acético.

### Preparação de Ninidrina

Dissolver 300 mg de ninidrina em 100 ml do solvente de ninidrina. Por favor use um Erlenmeyer limpo. A solução pode ser armazenada numa garrafa fechada no frigorífico.

## V. Experiência

### Preparação da amostra

Pese 3 g da amostra e coloque-a no Erlenmeyer. Misture com 5 ml da solução de extração e moa no almofariz. Se não houver um almofariz disponível que seja suficientemente grande, a amostra pode ser processada porção a porção. Filtre a essência por papel de filtro. O que foi filtrado deve ser usado para a fina camada para cromatografia.

Se quiser fazer a fina camada de cromatografia mais tarde pode armazenar o que foi filtrado no congelador a  $-18^{\circ}\text{C}$  por várias semanas.

### Fina camada de cromatografia

**Nota:** Por favor não toque na folha de cromatografia com os dedos. Use uma pinça e toque apenas na ponta da folha apenas para transporte. Por favor use luvas sem talco e toque na folha apenas nas extremidades. Também a régua que será precisa para mais alguns procedimentos experimentais, deve estar absolutamente limpa!

Primeiro, com um lápis, desenhe um linha horizontal fina a 1.5 cm do fundo da folha de cromatografia (ver Fig.1). Esta é a linha de partida para as amostras e para o ácido glutâmico de controle (padrão). Por baixo desta linha, com uma distância de 8mm entre eles, marque os números 1,2,3 etc. da esquerda para a direita onde os traços irão correr. Parte do ácido glutâmico padrão (1 mg/ml) mencionado acima deve ser diluído 1:3 e 1:5 com  $\text{H}_2\text{O}$ , para que os 3 ácidos glutâmicos de controle tenham as seguintes concentrações: 1mg/ml, 0.33 mg/ml e 0.2 mg/ml. Deve encher a câmara de cromatografia com a mistura de solventes até cerca de 7 mm e feche-a com a tampa. Para a saturação da câmara, deve ser incubada pelo menos 15 min. Usando os tubos capilares e ambas as amostras a analisar, e também as amostras de controle (10  $\mu\text{l}$  cada) na linha de partida com uma distância igual entre elas (acima dos números). Para cada amostra e amostras controle, deverá ser usado um novo tubo capilar.

Para aplicação coloque a folha de cromatografia na horizontal na mesa. Depois da aplicação abra a câmara de cromatografia e coloque a folha de cromatográfica, com as correspondentes amostras a analisar e de controle, colocando-as com a linha de partida a apontar para baixo no interior da câmara. Volte a fechar com a tampa.

Agora a mistura de solventes sobe na folha de cromatografia. Quando o solvente subir cerca de 7 cm (medido a partir da linha de partida), remova a folha da câmara e coloque-a na mesa para secar. O processo de secagem pode ser acelerado com um secador de cabelos ajustada para baixa potência ou usando um forno. Contudo, a secagem lenta à temperatura ambiente também é possível.

A seguir, a cromatografia poderá ser colorida. Mas antes de o fazer, é possível guardar a cromatografia num frigorífico por uns dias, desde que protegido da luz.

### Manchas de Aminoácidos

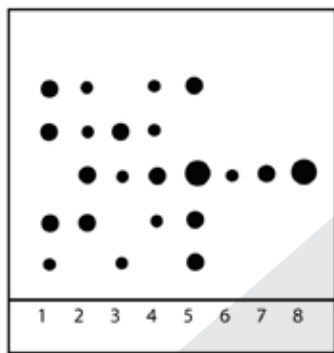
**Nota:** O recipiente tem de estar absolutamente limpa (sem impressões digitais, etc.) pois qualquer proteína pode contaminar as amostras e formar uma mancha indesejada!

Verta um pouco de solução de ninidrina para manchar no recipiente mais conveniente (vidro ou plástico). Depois passe a folha de cromatografia pela solução para colorir muito rapidamente (1sec) e deixe a folha secar no ar ou no forno a cerca de  $105^{\circ}\text{C}$ . Agora a cromatografia está pronta para análise.

O cromatograma de manchas pode ser guardado à temperatura ambiente no escuro. Colocá-lo no livro de trabalho deve ser feito com fita adesiva.

## VI. Avaliação

No cromatograma podem ser observados várias sobras desde o vermelho até ao violeta. Os ácidos glutâmicos padrão estão nas linhas 6, 7 e 8 da Fig. 1. E, as amostras de Glutamato (aqui em ambiente aquoso como ácido glutâmico) estão ao mesmo nível das amostras padrão, o que faz com que sejam facilmente identificáveis. Por comparação com o tamanho da mancha entre as amostras para análise e o tamanho de mancha das amostras de controle, a quantidade de glutamato na amostra pode ser semi-quantitativamente estimada. As manchas acima e abaixo da terceira coluna representam aminoácidos que não podem ser identificados com este conjunto experimental.



**Figura 1:** Exemplo de um cromatograma com amostras a analisar (linas 1-5) e três ácidos glutâmicos de controle (linas 6-8). As concentrações do ácido glutâmico de controle são as seguintes: 0.2 mg/ml, 0.33 mg/ml e 1 mg/ml.

A amostra na linha 1 não contém ácido glutâmico, as amostras nas linhas 2-5 mostram quantidades variáveis de ácido glutâmico. A estimativa da quantidade de ácido glutâmico, deve ser feita em comparação com as amostras de controle.

## VII. Sugestões e questões para utilização no ensino

### Preparação do trabalho antes da aula:

- 1 Fazer uma pesquisa sobre o tema “Aditivos alimentares derivados de Glutamato” (Alternativamente uma aula sobre o assunto pode ser preparada e apresentada pelo aluno ou pelo professor.)
- 2 Fazer uma pesquisa sobre o tema “Cromatografia planar” (Alternativamente uma aula sobre o assunto pode ser preparada e apresentada pelo aluno ou pelo professor.)
- 3 Para a próxima aula, traga uma pequena variedade de produtos alimentares para a sala de aula e faça o teste de presença de aditivos alimentares derivados de glutamato.

### Tarefas durante a aula:

- 1 Leia toda a experiência. Tire suas dúvidas com o parceiro.
- 2 Explique a função dos ácidos Glutâmicos de controle.
- 3 Justifique a utilização de três ácidos glutâmicos de controle em diferentes concentrações.
- 4 Descreva a questão subjacente na experiência.
- 5 Realize a experiência

# Localizar aditivos alimentares

Português

- 6 Registe a experiência. Coloque o cromatograma com fita adesiva no seu protocolo e faça a legenda.
- 7 Avalie a experiência em relação à questão na segunda tarefa.
- 8 Confira os resultados que não esperava de todo e procure por possíveis erros no procedimento experimental. Por favor leia o manual de novo. Se necessário, volte a realizar a experiência.

## Soluções:

### Para a tarefa 2:

- O ácido glutâmico serve como padrão de controlo. Sem este padrão, uma mancha de ácido glutâmico na amostra não poderia ser identificada pois existem outros aminoácidos presentes nos alimentos a analisar, que também iriam aparecer como manchas.

### nº. 3:

- Usando as diluições, a quantidade de ácido glutâmico nas amostras a serem estudadas pode ser estimada semi-quantitativamente.

### nº. 4:

- Em quais alimentos consegues saborear os aditivos de Glutamato Monossódico?
- Em quais alimentos consegues detectar maiores concentrações de glutamato, em comparação com outros alimentos analisados?

## VIII. Segurança e despejo

O manuseamento em segurança de químicos e do equipamento de laboratório requer um conhecimento básico de medidas de segurança. Durante a experiência, deve-se usar jaleco de laboratório e óculos de proteção. Luvas serão fornecidas pelo professor, devendo ser usadas sempre que for necessário. Também o manuseamento do equipamento e os riscos do seu uso devem ser conhecidos. Em particular, o aluno deve ter em atenção os perigos da eletricidade. Todos os cabos de ligação, de alimentação, a área de trabalho e também as mãos, deverão estar limpas e secas antes da utilização de dispositivos eletrônicos.

Outras medidas de saúde e segurança: amarre o cabelo longo, não use jóias, vista mangas apertadas, para que não exista contato indesejado com equipamentos, químicos etc.

Todo o lixo deve ser despejado de acordo com as instruções segundo as legislações locais.

### Classificação de perigos do conjunto experimental

#### Solução de Extração

Classificação segundo a Regulação (EC) No 1272/2008:

Não é prejudicial, contém H<sub>2</sub>O e NaCl meramente nos valores fisiológicos.

Classificação Segundo a Directiva 67/548/EEC ou a Directiva 1999/45/EC:

Não é prejudicial, contém H<sub>2</sub>O e NaCl meramente nos valores fisiológicos.

#### Ácido L-Glutâmico

Classificação segundo a Regulação (EC) No 1272/2008:

Não é prejudicial.

Classificação Segundo a Directiva 67/548/EEC ou a Directiva 1999/45/EC:

Não é prejudicial.

## **Ninidrina**

Classificação segundo a Regulação (EC) No 1272/2008:

### Perigos

H302: Perigo se ingerido.

H315: Causa irritação na pele.

H319: Causa irritação nos olhos.

H335: Pode causar irritação no sistema respiratório.

### Instruções de segurança

P261: Evitar inalação.

P305 + P351 + P338: Em contacto com os olhos, enxaguar os olhos suavemente com água durante vários minutos, remova lentes de contacto se necessário, continue a enxaguar.

Classificação Segundo a Directiva 67/548/EEC ou a Directiva 1999/45/EC:

### Perigos

R22: Prejudicial se ingerido.

R36/37/38: Provoca irritação nos olhos, no sistema respiratório e na pele.

### Instruções de segurança

S26: Evito contacto com o olho, enxaguar imediatamente com água e procure aconselhamento médico.

S28: Depois do contacto com a pele, lave imediatamente com bastante água.

S36: Use equipamento protetor conveniente.

## **IX. Bibliografia**

Hahn-Deinstorp, E. 2000. Applied Thin-Layer Chromatography – Best Practice and Avoidance of Mistakes. New York: Wiley-VCH.

Stahl, E. 1967. Dünnschichtchromatographie, Ein Laboratoriumshandbuch. Berlin: Springer Verlag: 701-714, 842.

# Monitoraggio degli esaltatori di sapidità Italiano

## I. Introduzione

Molte persone associano gli esaltatori di sapidità al glutammato. In realtà, il glutammato o i suoi derivati sono gli esaltatori di sapidità più importanti a livello mondiale. Generalmente, il glutammato viene aggiunto ai cibi precotti e surgelati, agli snack, ai cibi in scatola, ai condimenti per insalate e ai piatti sia di carne che di pesce. In alcuni paesi è addirittura comune metterlo sul tavolo come condimento per insaporire gli alimenti.

Il chimico giapponese Kikunae Ikeda scoprì già nel 1907 che c'era un quinto sapore oltre al dolce, all'acido, all'amaro e al salato, che chiamò umami (dal giapponese „umai“ saporito, gustoso). Egli scoprì che il sapore umami aveva a che fare con l'acido L-glutammico e con i suoi sali. Fu così che riconobbe la sua importanza per migliorare il sapore del cibo, tant'è che due anni più tardi, insieme a un partner dal settore industriale, fondò una società per la produzione e per la vendita di esaltatori di sapidità.

Negli alimenti e nel corpo umano, l'acido glutammico può manifestarsi nelle due forme speculari di isomeri: come acido L-glutammico e come acido D-glutammico, in cui la forma ad L predomina in volume. Inoltre, l'acido L-glutammico è presente in forma legata e libera. Nella forma legata, l'acido glutammico è combinato con altri aminoacidi e proteine; mentre nella forma libera l'acido glutammico è presente come un singolo aminoacido. Solamente l'acido glutammico libero o i suoi sali svolgono un ruolo importante per il gusto umami degli alimenti. La maggior parte dei cibi contengono acido glutammico principalmente in forma legata. Tuttavia, nei semi di soia, nei pomodori, nel latte, negli spinaci e in molte varietà di formaggi, l'acido glutammico è presente in via naturale in concentrazioni elevate.

L'importanza maggiore in relazione agli esaltatori di sapidità è collegata al glutammato monosodico. Altri sali dell'acido glutammico provengono dal glutammato monopotassico, dal diglutammato di calcio, dal glutammato monoammonico e dal diglutammato di magnesio.

La rilevazione precisa di questi esaltatori di sapidità costituisce la base di questo kit sperimentale.

Per completezza va detto che ci sono esaltatori di sapidità che non si basano sul glutammato, ma ne condividono le stesse caratteristiche di sapore (gusto umami). Questi sono l'acido guanilico, il guanilato disodico, il guanilato dipotassico, il guanilato di calcio, l'acido inosinico, il inosinato disodico, lo inosinato dipotassico, lo inosinato di calcio, 5'-ribonucleotidi di calcio e 5'-ribonucleotidi di sodio.

In Europa, gli esaltatori di sapidità sono additivi che devono essere dichiarati nell'elenco degli ingredienti dei cibi tramite il nome o con il loro numero E corrispondente (vedi tabella 1). L'Australia e la Nuova Zelanda hanno adottato la procedura europea di etichettatura e anche negli Stati Uniti e in Canada si possono trovare regole simili per gli esaltatori di sapidità.

# italiano **Monitoraggio degli esaltatori di sapidità**

**Tabella 1:** Lista dei codici E, che sono largamente utilizzati in Europa. I vari esaltatori di sapidità sono elencati assieme al loro codice E corrispondente.

<b>Sigla E</b>	<b>Denominazione</b>
E620	Acido glutammico
E621	Glutammato monosodico
E622	Glutammato monopotassico
E623	Diglutammato di calcio
E624	Glutammato monoammonico
E625	Diglutammato di magnesio
E626	Acido guanilico
E627	Guanilato disodico
E628	Guanilato dipotassico
E629	Guanilato di calcio
E630	Acido inosinico
E631	Inosinato disodico
E632	Inosinato dipotassico
E633	Inosinato di calcio
E634	5'-ribonucleotidi di calcio
E635	5'-ribonucleotidi di sodio
E636	Maltolo
E637	Maltolo etilico
E640	Glicina e il suo sale sodico

L'E636, l'E637 e l'E640 non hanno sapore umami.

L'E636 (maltolo) esalta il gusto dolce.

L'E637 (maltolo etilico) ha un gusto simile al maltolo, ma più intenso.

L'E640 (glicina) ha un gusto dolce.

Gli esaltatori di sapidità hanno risultati controversi: in molti studi sugli esseri umani e sugli animali vengono descritti degli effetti negativi. Tuttavia, ci sono anche degli studi che non mostrano alcuna relazione causale, ma essi sono stati per lo più esaltati dalle grandi aziende manifatturiere che hanno lanciato questi prodotti.

Ciononostante, con gli esaltatori di sapidità si può guadagnare molto denaro. L'interesse in essi per i produttori di alimenti è in realtà enorme, perché una certa quantità di ingredienti costosi – quali la carne, i gamberi o il formaggio – possono essere sostituiti o ridotti grazie agli esaltatori di sapidità. Diversi scienziati famosi sono però fortemente preoccupati perché vedono delle correlazioni tra gli esaltatori di sapidità e l'insorgenza e lo sviluppo del morbo di Alzheimer, l'ADHD (sindrome da deficit di attenzione e iperattività), l'obesità e altre malattie.

Va inoltre precisato che l'aggiunta di glutammato negli alimenti per l'infanzia è totalmente proibita in Germania, Svezia e in altri paesi europei. Negli Stati Uniti i produttori hanno concordato per la rinuncia volontaria dell'aggiunta di glutammato nel cibo per neonati.

Da quando molti consumatori hanno iniziato a reagire in modo critico all'aggiunta di esaltatori di sapi-

# Monitoraggio degli esaltatori di sapidità *Italiano*

dità negli alimenti, molti produttori hanno smesso di aggiungere l'additivo puro (E620 e seguenti) ai loro prodotti, e hanno iniziato ad utilizzare al suo posto una miscela di vari aminoacidi o dei loro sali. In molti paesi è sufficiente contrassegnarlo sull'etichetta scrivendo „spezie“, „estratti di lievito“, „grano fermentato“ o simili. Quindi tutti questi termini sono „cavalli di Troia“ utilizzati con il fine di nascondere il tipo di esaltatori di sapidità aggiunti al prodotto.

## II. Componenti del Kit

Soluzione di estrazione, 250 ml  
Acido L-glutammico, 20 mg  
Ninidrina, 300 mg  
Filtri di carta, 20 pezzi  
Capillari di vetro (volume 10 µl), 50 pezzi  
Foglio cromatografico, 20 pezzi  
Camera cromatografica, 5 pezzi

## III. Attrezzature, strumenti e soluzioni necessarie

Beuta da 100 ml  
Mortajo  
Imbuto  
Pinzette  
Bacinella (in vetro o plastica)  
Asciugacapelli o, in alternativa, forno (105°C)  
Acqua distillata  
Guanti usa e getta (senza polvere), adatti per le attività di laboratorio

## IV. Preparazione dei reagenti

### Acido L-glutammico

Sciogliere 20 mg di acido glutammico in 20 ml di H<sub>2</sub>O sterile (distillata). Questo dà una concentrazione di 1 mg/ml. Questa concentrazione può essere ulteriormente diluita a 1:3 o 1:5 per ottenere un concentrato di 0,33 o 0,2 mg/ml. Gli standard di acido glutammico devono essere conservate congelate in varie porzioni a -18 °C.

### Mix di plastificanti

Il mix di plastificanti per la cromatografia su strati sottili è composta da butanolo, acido acetico e H<sub>2</sub>O nel rapporto di 4:1:1.

### Soluzione di ninidrina

La soluzione di ninidrina (100 ml) è composta da 95 ml 2-propanolo e da 5 ml di acido acetico.

### Preparazione della ninidrina

Dissolvere 300 mg di ninidrina in 100 ml di soluzione di ninidrina. Si prega di usare una beuta pulita. La soluzione può essere conservata in una bottiglia chiusa in frigorifero.



# italiano Monitoraggio degli esaltatori di sapidità

## V. Esperimento

### Preparazione dei campioni

Pesare 3 g di un campione e versarlo in una beuta. Mescolare con 5 ml di soluzione di estrazione e pestarlo finemente nel mortaio. Se non si ha a disposizione un mortaio sufficientemente grande il campione può anche essere trattato in varie porzioni. Filtrare l'estratto attraverso un filtro di carta. Il filtrato dovrà essere poi utilizzato per la cromatografia su strato sottile.

Se si vuole effettuare la cromatografia su strato sottile in seguito, è possibile conservare il filtrato congelato a -18 °C per diverse settimane.

### Cromatografia su strato sottile

**Nota bene:** Si prega di non toccare il foglio cromatografico con le dita. Utilizzare pinzette e toccare solo il bordo del foglio per il trasporto e le altre operazioni. Si prega di indossare guanti senza polvere e toccare il foglio solo sui bordi. Anche il righello di cui ci si servirà per le prossime misure sperimentali deve essere assolutamente pulito!

Per iniziare tracciare una linea orizzontale sottile con una matita a circa 1,5 cm dal fondo della carta cromatografica (cfr. Fig.1). Questa è la linea di partenza per i campioni e lo standard di acido glutammico. Sotto questa linea di partenza, ad una distanza di 8 mm, contrassegnare i numeri 1,2,3 ecc. da sinistra a destra in modo da segnare dove le tracce verranno eseguite. Una parte del suddetto acido glutammico (1 mg/ml) deve essere diluito tramite H<sub>2</sub>O in proporzioni 1:3 e 1:5, in modo che poi i 3 standard con le concentrazioni 1 mg/ml, 0,33 mg/ml e 0,2 mg/ml saranno disponibili. Riempite la camera cromatografica con la miscela di solventi di circa 7 mm e chiudete con il coperchio. In modo che la camera sia saturata, la miscela dovrebbe essere incubata per almeno 15 minuti.

Utilizzando i capillari di vetro, posizionate sia i campioni che gli standard (10 µl ciascuno) sulla linea di partenza ad intervalli equidistanti (sopra i numeri). Per ogni campione e per ogni standard deve essere utilizzato un nuovo capillare di vetro.

Per l'applicazione posizionare il foglio in orizzontale sul tavolo. Dopo l'applicazione, aprire la camera cromatografica ed inserire la carta caricata con i campioni e gli standard con la linea di partenza puntata verso il basso della camera. Infine richiudete la camera con il coperchio.

Ora la miscela di solventi dovrebbe salire verso l'alto lungo il foglio cromatografico. Quando il solvente è salito di circa 7 centimetri dalla linea di partenza, rimuovete la carta dalla camera e posizionala sul tavolo ad asciugare. Il processo di asciugatura può essere accelerato con un asciugacapelli regolato molto basso o utilizzando un forno. Tuttavia, è possibile anche una asciugatura lenta a temperatura ambiente.

In seguito, il cromatogramma può essere colorato. Volendo, prima di colorarlo, è possibile conservare il cromatogramma in frigorifero al riparo dalla luce per alcuni giorni.

### Colorazione degli aminoacidi

**Nota bene:** La bacinella deve essere assolutamente pulita (nessuna impronta digitale ecc.) sennò si colorerebbe anche qualsiasi proteina contaminata!

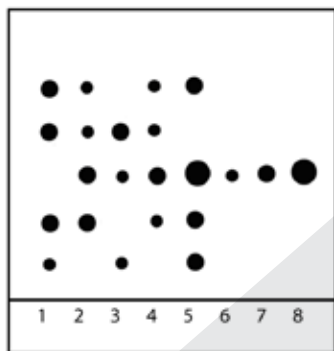
Versate un po' di soluzione colorante ninidrina in una bacinella adatta (in vetro o plastica). Immergete il foglio cromatografico molto velocemente nella soluzione colorante (1 sec.) e lasciate asciugare il foglio all'aria o in forno a circa 105°C. Ora il cromatogramma è pronto per l'analisi.

Il cromatogramma colorato può essere conservato a temperatura ambiente al buio. Se si volesse attaccarlo alla cartella di lavoro è consigliabile farlo con lo scotch.

# Monitoraggio degli esaltatori di sapidità Italiano

## VI. Valutazione

Sul cromatogramma si potranno vedere varie macchie in diverse sfumature dal rosso al violetto. Gli standard di acido glutammico sono mostrati nelle colonne 6,7 e 8 della fig. 1. Il glutammato nei campioni (qui in questo ambiente acquoso sotto forma di acido glutammico), si presenta sullo stesso livello degli standard, il che lo rende facilmente identificabile. Confrontando la dimensione delle macchie del campione esaminato con quelle degli standard, la quantità di glutammato nei campioni può essere così stimata in una valutazione semi-quantitativa. I punti sopra e sotto la terza riga rappresentano differenti aminoacidi che non possono essere identificati con questo kit d'equipaggiamento.



**Figura 1:** Esempio di cromatogrammi con campioni (colonne 1-5) e 3 acidi glutammici standard (colonne 6-8). Concentrazione dello standard di acido glutammico: 0.2 mg/ml, 0.33 mg/ml and 1 mg/ml. Il campione nella colonna 1 non contiene alcun acido glutammico, i campioni nelle colonne 2-5 mostrano quantità variabili di acido glutammico. La stima della quantità di acido glutammico è effettuata rispetto agli standard.

## VII. Suggerimenti e domande che possono integrare la didattica

### Studio preparatorio prima della lezione:

- 1 Fare qualche ricerca sul tema „Il glutammato: l'esaltatore di sapidità“. (In alternativa, una lezione sul tema potrebbe essere preparata e tenuta da uno studente o dal docente.)
- 2 Eseguire una ricerca sul tema „cromatografia su strato sottile (TLC)“. (In alternativa, una lezione sul tema potrebbe essere preparata e tenuta da uno studente o dal docente.)
- 3 Per la lezione successiva: portare una piccola quantità di cibo in classe in modo da investigare se in esso sia presente del glutammato come esaltatore di sapidità.

### Attività durante la lezione:

- 1 Leggere l'intero esperimento e chiarificare i punti critici con il proprio vicino.
- 2 Spiegare la funzione dello standard di acido glutammico.
- 3 Giustificare il perché dell'utilizzo di tre standard di acido glutammico.

# italiano **Monitoraggio degli esaltatori di sapidità**

- 4 Descrivere lo scopo dell'esperimento.
- 5 Eseguire l'esperimento.
- 6 Trascrivere l'esperimento. Fissare il cromatogramma con dello scotch al proprio quaderno di lavoro ed etichettarlo.
- 7 Valutare l'esperimento riguardo all'attività numero 2.
- 8 Controllare i risultati inaspettati ricercando i possibili errori nelle procedure sperimentali. Si prega di leggere il manuale di nuovo. Se necessario, eseguite l'esperimento una volta di più.

## **Soluzioni:**

### **per l'attività n° 2:**

L'acido glutammico serve come approccio di controllo standard. Senza di esso, un acido glutammico posto della miscela campione non può essere identificato perché ci sono anche altri aminoacidi nel cibo testato, che verrebbero colorati anch'essi.

### **per l'attività n° 3:**

Utilizzando le diluizioni, la quantità di acido glutammico nei campioni studiati può essere stimato con una valutazione semi-quantitativa.

### **per l'attività n° 4:**

- Per quale tipo di cibo si è in grado di dimostrare che l'esaltatore di sapidità è glutammato monosodico?
- In quale tipo di cibo si è in grado di rilevare la maggiore concentrazione di glutammato rispetto agli altri alimenti esaminati?

## **VIII. Sicurezza e smaltimento**

La gestione sicura delle sostanze chimiche e di laboratorio richiede una certa quantità di conoscenze di base e l'adozione di alcune misure di sicurezza. Durante l'esperimento dovrebbero essere indossati camice da laboratorio e occhiali protettivi. I guanti devono essere forniti dal docente e devono essere utilizzati se necessario.

Anche la gestione delle apparecchiature e dei rischi derivanti dal suo uso dovrebbero essere conosciuti. In particolare, si dovrebbe prestare attenzione ai pericoli derivanti dall'energia elettrica. Tutti i connettori, i cavi di alimentazione, l'area di lavoro, così come le mani, devono essere asciutti prima di utilizzare dispositivi elettrici.

Altre misure di salute e sicurezza: legare i capelli lunghi, non indossare gioielli, ed indossare maniche aderenti, in modo che non si verifichi alcun contatto indesiderato con attrezzature, prodotti chimici, ecc.

Tutti i rifiuti devono essere smaltiti in conformità con le istruzioni e le normative locali.

# Monitoraggio degli esaltatori di sapidità

Italiano

## Classificazione di pericolosità dei componenti del kit

### Soluzione di estrazione

Classificazione secondo Regolamento CE n° 1272/2008:

Non nociva, contiene H<sub>2</sub>O NaCl solamente nel range fisiologico.

Classificazione secondo la Direttiva CEE 67/548 o la Direttiva CE 1999/45:

Non è nocivo, contiene H<sub>2</sub>O NaCl solamente nel range fisiologico.

### Acido L-glutammico

Classificazione secondo Regolamento CE n° 1272/2008:

Non nocivo.

Classificazione secondo la Direttiva CEE 67/548 o la Direttiva CE 1999/45:

Non nocivo.

### Ninidrina:

Classificazione secondo Regolamento CE n° 1272/2008:

#### Pericoli

H302: Dannosa se ingerito.

H315: Provoca irritazione cutanea.

H319: Provoca irritazione agli occhi.

H335: Potrebbe causare irritazione al sistema respiratorio.

#### Istruzioni di sicurezza

P261: Evitare l'inalazione.

P305 + P351 + P338: In caso di contatto con gli occhi sciacquare gli occhi delicatamente con acqua per alcuni minuti. Togliere le lenti a contatto, se necessario, continuare a sciacquare.

Classificazione secondo la Direttiva CEE 67/548 o la Direttiva CE 1999/45:

#### Pericoli

R22: Dannosa se ingerita.

R36/37/38: Provoca irritazione agli occhi, cutanea e al sistema respiratorio.

#### Istruzioni di sicurezza

S26: Evitare il contatto con gli occhi, lavare immediatamente con acqua e consultare un medico.

S28: In caso di contatto con la pelle, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua.

S36: Indossare indumenti protettivi adatti.

## IX. Bibliografia

E. Hahn-Deinstorp, Applied Thin-Layer Chromatography – Best Practice and Avoidance of Mistakes, New York, Wiley-VCH, 2000.

E. Stahl, Dünnschichtchromatographie, Ein Laboratoriumshandbuch. Berlin: Springer Verlag, pp. 701-714 pag. 842, 1967.









**3B SCIENTIFIC® PRODUCTS**

**3B Scientific GmbH**

Rudorffweg 8 • 21031 Hamburg • Germany  
Tel.: + 49-40-73966-0 • Fax: + 49-40-73966-100  
[www.3bscientific.com](http://www.3bscientific.com) • [3b@3bscientific.com](mailto:3b@3bscientific.com)

© Copyright 2012 for instruction manual and design of product:  
3B Scientific GmbH, Germany