ANÁLISE DE INOSINA-5'-MONOFOSFATO (5'-IMP) E SEUS DERIVADOS EM DIFERENTES MÚSCULOS DE BOVINOS, SUÍNOS E OVINOS[1]

MADRUGA, Marta Suely[2]

RESUMO

As concentrações de inosina-5'-monofosfato e seus derivados (adenosina monofosfato, hipoxantina e inosina) nos músculos *Psoas major, Latissimus dorsi, Tensor fascia e Extensor carpi radialis* de bovinos, suínos e ovinos foram determinadas através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A Análise de Variância (ANOVA) dos dados mostraram que as concentrações de 5'-IMP e seus derivados foram significativamente diferentes entre as três espécies ($p < 0,001$). A maior concentração de 5'-IMP foi detectada nos músculos de ovinos (média de 108,2 mg/100g) seguida pelos de suínos (média de 97 mg/100g) e pelos de bovinos (média de 69,3 mg/100g). Houve variações significativas nas concentrações no músculo, entre os animais nas espécies bovina ($p < 0,01$) e ovina ($p < 0,05$), porém não entre os da espécie suína ($p > 0,05$). Não houve diferenças significativas entre os tipos de músculo em bovinos e ovinos ($p > 0,05$), mas em suínos ($p < 0,01$) observou-se variação significativa.

Palavras-chave: Ribonucleotídeo, inosina-5'-monofosfato, hipoxantina, inosina, carne.

SUMMARY

ANALYSIS OF INOSINE-5'-MONOPHOSPHATE (5'-IMP) AND ITS DERIVATIVES IN DIFFERENT MUSCLES OF BEEF, PORK AND LAMB. Concentration of inosine-5'-monophosphate and its derivatives (adenosine monophosphate, hypoxantine, and inosine) in four different muscles (*M. Psoas major; M. Latissimus dorsi; M. tensor fascia; M. Extensor carpi radialis*) from beef, pork and lamb were determined by High Pressure Liquid Chromatography (HPLC). The analysis of variance (ANOVA) of data showed that concentrations of 5'-IMP and its derivatives were significantly different in beef, pork and lamb ($p < 0,001$). The highest concentration of 5'-IMP was detected in lamb (average 108,2 mg/100g), then in pork (average 97 mg/100g). Beef showed the lowest concentration (average 69,3 mg/100g). Significant variations of concentration in muscle among beef ($p < 0,01$) and lamb ($p < 0,05$) were identified. However in pork the results were opposite ($p > 0,05$). There were no significant differences among beef and lamb muscle types ($p > 0,05$), but prominent variation was observed in pork ($p < 0,01$).

Key words: Ribonucleotides, inosine-5'-monophosphate, hypoxantine, inosine, meat.

1 — INTRODUÇÃO

O aroma de carne cozida é influenciado tanto por compostos aromáticos voláteis quanto por precursores aromáticos não voláteis. Inosina-5'-Monofosfato (5'-IMP) é um importante precursor não volátil do aroma de carne. Este é também considerado um enriquecedor de sabor de produtos de origem animal ("Flavour Enhancer") e contribui significativamente ao aroma cárneo.

Inosina-5'-Monofosfato é um nucleotídeo, formado por uma molécula de açúcar (ribose), um grupo fosfato (PO_4^{-3}) e uma base heterocíclica purina, a hipoxantina. A origem de 5'-IMP no tecido muscular resulta das transformações de adenosina-trifosfato (ATP) que ocorrem no músculo após o abate do animal. Adenosina-monofosfato (AMP) é formada a partir da hidrólise das reservas intramusculares de ATP, cuja concentração em um músculo relaxado é de aproximadamente 5-7 Mmoles por gramas de músculo. Durante as mudanças pós-mortem, dois grupos fosfatos do ATP são removidos e AMP é formado. Deaminação oxidativa de AMP, pela enzima AMP-deaminase, leva a rápida formação de 5'-IMP com liberação de amônia ou um íon de amônio. Continuando o processo, 5'-IMP é hidrolisado pela ação das enzimas 5'-nucleosidases ou fosfomonoesterase, com formação de inosina, a qual é convertida a hipoxantina e ribose ou ribose-fosfato (8).

Formação de 5'-IMP nos músculos de animais tem sua importância na produção do aroma cárneo tendo em vista a produção de ribose ou ribose-fosfato, as quais são reagentes participantes da reação de Maillard, e consequentemente importantes componentes das reações de formação do aroma de carne cozida (11). Compostos reconhecidamente importantes ao aroma cárneo, como furanos sulfurosos, são formados durante o processo de cozimento tendo como prováveis precursores os açúcares pentoses, o aminoácido cisteína e a vitamina tiamina (5,6,12,13,15).

Terasaki *et al.* (19) durante pesquisas envolvendo formação e degradação de 5'-IMP em carnes, reportaram que a concentração de 5'-IMP variou com a espécie animal e os métodos de abate, tendo-se notado que o sabor e o aroma da carne cozida estavam diretamente relacionados com a concentração de 5'-IMP. Mudanças nas concentrações de 5'-IMP e seus derivados durante o cozimento das carnes foram estudadas por Arya & Parhar (1), Macy *et al.* (10).

No presente trabalho, as concentrações de ribonucleotídeos foram determinadas através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, objetivando-se dosar a variação de um dos precursores do aroma cárneo em diferentes músculos de três espécies de animais.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Material

Inosina-5'-monofosfato e seus derivados (AMP, hipoxantina e inosina) foram dosados em amostras de bovinos, suínos e ovinos, utilizando-se quatro diferentes músculos, isto é *M. Psoas major; M. Latissimus dorsi; M. Tensor fascia;*

[1] *Recebido para publicação em 21/08/96. Aceito para publicação em 04/06/97.*

[2] *Profª Adjunta do Depto. Tec. Química e de Alimentos, da Universidade Federal da Paraíba (DTQA/CT/UFPB) - Campus I - Cidade Universitária - CEP 58059-900. João Pessoa - Paraíba.*

M. Extensor carpi radialis. Os diferentes músculos foram fornecidos pelo Departament of Meat Animal Science da Universidade de Bristol, Inglaterra, provenientes de doze animais (sendo quatro de cada espécie), submetidos aos tratamentos normais de pré e pós-abate. Para o abate utilizou-se a mesma técnica de insensibilização em todos os doze animais, com pistola de dardo cativo. As carcaças foram mantidas à temperatura de 8-10°C por um período de 8 horas, antes de proceder-se a desossa e separação dos músculos. Estes foram então colocados sob resfriamento a 5°C por seis horas, submetidos à limpeza para retirada de tecido adiposo, em seguida cortados em pedaços de 100g, empacotados à vácuo, e armazenados à –20°C até a realização das análises.

2.2 – Extração dos ribonucleotídeos

Os procedimentos utilizados para a extração dos ribonucleotídeos foram baseados em estudos realizados por Chen *et al.* (3), que relatou as vantagens e desvantagens de 4 métodos de extração de nucleotídeos aplicados à analises de CLAE. Extração com ácido perclorico (APC), seguida de neutralização com hidróxido de potássio (KOH) apresentou-se como o método de mais fácil aplicação e de melhor eficiência para a recuperação dos nucleotídeos.

Aproximadamente 100g de carne crua foram moídas em um multi-processador. Análises de pH da carne moída foram realizadas, objetivando-se um melhor acompanhamento do processo *Post Mortem* , utilizando-se pH-metro, marca Corning, modelo 320. Sub-amostras da carne moída (5g) foram então liquidificadas, em equipamento tipo doméstico, com 10ml de APC 0,6M por 1 min à total velocidade. As proteínas precipitadas foram removidas por centrifugação (5 min a 4200 rpm), e filtração em papel de filtro Whatman nº 54. Ao precipitado obtido foram adicionados 5,0µl de purina 40mM (padrão interno). Em seguida ajustou-se o pH do mesmo a 5,5 em pH-metro, através do gotejamento de solução de KOH 6M. Um novo precipitado de percloreto de potássio formou-se sendo este retirado através de uma nova centrifugação (10min a 4200 rpm) e filtração em papel de filtro nº 54. Cinco microlitros de tampão KH_2PO_4 (pH 5,5) foi então adicionado ao extrato final. Soluções padrão de 5'-IMP (25mM), adenosina monofosfato (25mM), inosina (25mM) e hipoxantina (10mM) foram preparadas utilizando-se o mesmo tampão (KH_2PO_4, pH 5,5).

2.3 – Análises Cromatográficas

Um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) equipado com uma bomba ternária (Spectra-Physics SP8800), um detector ultra violeta/visível (Spectroflow 757) e um integrador (HP 3396A) foi utilizado nas análises cromatográficas. As soluções padrões e os extratos foram injetados no sistema através de uma válvula injetora, equipada com um "loop" de injeção de 20µl. Os nucleotídeos foram separados através de uma coluna analítica fase reversa Bondpak C_{18} (25cm x 5 mm id – Hichrom Ltd, Reading, Inglaterra) protegida por uma coluna de guarda Techsil 10 C_{18} (Hichrom Ltd, Reading, Inglaterra). Um comprimento de onda de 254nm foi selecionado.

Um programa gradiente com duas fases móveis foi utilizado. O solvente A constava de uma mistura de metanol/água a 60/40, solução tampão fosfato KH_2PO_4 0,02M (pH 5,5) foi utilizada como o solvente B. Todos os solventes foram filtrados (HPLC filter, AllTech Associated/Applied Science, Lancashire, England) e degaseificados com hélio antes de serem utilizados. O tempo total de análise foi de 36 min, consistindo inicialmente de um gradiente de 5% a 36% A (95% a 64% B) durante 26 min; seguido de 36% A (64% B) por 5 min, e finalmente um gradiente reverso de 36% a 5% A (64% a 95% B) durante 5 min. O fluxo foi de 1,5 ml/min, estando o sistema de CLAE pronto para nova injeção após 5 min de equilíbrio.

As soluções padrões foram analisadas separadamente para a identificação dos tempos de retenção dos analitos. Posteriormente uma mistura contendo todas as soluções padrões foi analisada visando-se observar a separação dos picos em conjunto. A identificação dos ribonucleotídeos foi realizada através da comparação entre os tempos de retenção das soluções padrões e das amostras. Suas concentrações nos extratos cárneos foram expressas como mg/100g de tecido muscular. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

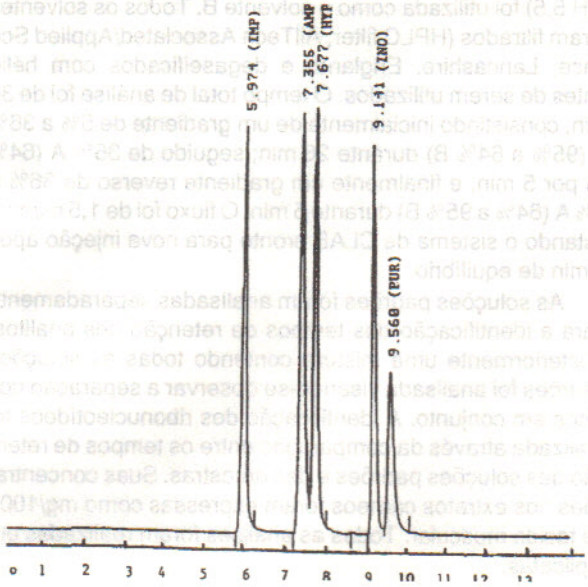
2.4 – Análises Estatísticas

Variações individuais entre músculos e animais foram examinadas através de ANOVA (dois critérios). Conjuntamente, variações entre espécies, músculos e animais utilizando-se todo o universo de dados, foram também realizadas, usando-se a mesma metodologia

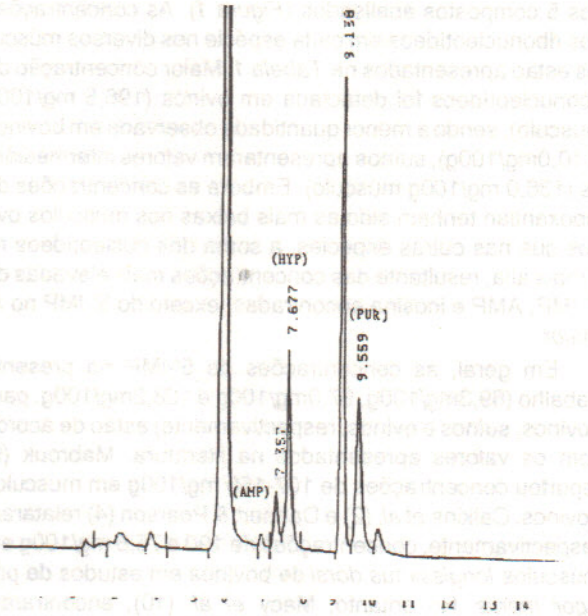
3 — RESULTADOS

O método utilizado apresentou uma clara separação dos 5 compostos analisados (*Figura 1*). As concentrações dos ribonucleotídeos em cada espécie nos diversos músculos estão apresentados na *Tabela 1*. Maior concentração de ribonucleotídeos foi detectada em ovinos (196,5 mg/100g músculo), sendo a menor quantidade observada em bovinos (110,0mg/100g), suínos apresentaram valores intermediários (136,0 mg/100g músculo). Embora as concentrações de hipoxantian tenham sido as mais baixas nos músculos ovinos que nas outras espécies, a soma dos nucleotídeos foi a mais alta, resultante das concentrações mais elevadas de 5'-IMP, AMP e inosina encontradas, exceto do 5'-IMP no *P. major.*

Em geral, as concentrações de 5'-IMP no presente trabalho (69,3mg/100g, 97,0mg/100g e 108,2mg/100g, para bovinos, suínos e ovinos, respectivamente) estão de acordo com os valores apresentados na literatura. Mabrouk (9) reportou concentrações de 107-150 mg/100g em músculos bovinos. Calkins *et al.* (2) e Dannert & Pearson (4) relataram respectivamente, concentrações de 190 e 75,5 mg/100g em músculos *longissimus dorsi* de bovinos em estudos de pós *rigor mortis.* No entanto, Macy *et al.* (10), encontraram concentrações bem mais elevadas (278 - 371 mg/100g) em diferentes músculos bovinos durante estudos envolvendo precursores do aroma cárneo. Dannert & Pearson (4) comparando as concentrações de 5'-IMP em músculos provenientes de bovinos, suínos e ovinos amostradas a zero hora de *post-mortem*, observaram que bovinos apresentaram maior concentração deste ribonucleotídeo.



(a) Cromatograma dos padrões
IMP = Inosina-5'-monofosfato;
AMP = Adenosina monofosfato;
HYP = Hipoxantina;
INO = Inosina;
PUR = Purina (padrão interno)



(b) Cromatograma do extrato obtido a partir do músculo de porco (*Tensor fascia lata*)

FIGURA 1. Cromatogramas de CLAE de análises de Ribonucleotídeos.

TABELA 1. Quantidades médias (mg/100g de carne) de ribonucleotídeos e seus derivados em diferentes músculos de bovinos, suínos e ovinos.

Ribo nucleotídeo	Espécie	*Psoas major* filet	*Latissimus dorsi* costela	*Tensor fascia lata* alcatra	*Extensor capri radialis* perna	Média geral
pH	bovino	5,6	5,6	5,4	5,5	–
	suíno	5,3	5,7	5,5	5,6	–
	ovino	5,6	5,6	5,7	5,5	–
5'-IMP	bovino	91,8	71,7	58,5	55,1	69,3
	suíno	110,6	95,3	108,6	73,3	97,0
	ovino	90,6	123,9	113,0	105,4	108,2
AMP	bovino	3,5	4,7	3,6	2,8	3,7
	suíno	2,3	2,8	2,2	2,5	2,5
	ovino	4,8	4,9	4,9	4,6	4,8
Hipoxantina	bovino	13,4	15,4	17,0	15,0	15,2
	suíno	6,1	5,6	5,1	10,4	6,8
	ovino	6,2	4,6	4,1	6,6	5,4
Inosina	bovino	21,7	24,0	23,3	18,4	21,9
	suíno	30,7	31,8	23,6	32,4	29,6
	ovino	96,9	70,4	63,6	81,5	78,1

LSD = Diferença significativa mínima para p=0,05 para comparação de duas médias

$LSD_{5'\text{-}IMP}$ = 24,05

LSD_{AMP} = 1,99

LSD_{HIP} = 2,55

Nakajima *et al.*, (16) e Terasaki *et al.*, (19) encontraram respectivamente 122 e 104 mg de 5'-IMP por 100g em suínos. Uma variação de 103-112 mg/100g foi reportada em três diferentes músculos desta espécie por Dannert & Pearson (4). Valores de 82 e 78 mg de 5'-IMP por 100g de músculos suínos foram relatados respectivamente por Dannert & Pearson (4).

Terasaki *et al.* (19), em músculos *longissimus dorsi* de ovinos refrigerados a 0-1,5°C após 7 dias de abate. Macy *et al.* (10) reportou 72,5 mg/100g em músculos de ovinos recém-abatidos, enquanto Arya & Parhar (1) relataram 105mg/100g em ovinos após 6-8 h de *post mortem*.

As concentrações de adenosina monofosfato foram bastante reduzidas em todos os músculos, aproximadamente 2,5-6% da concentração de 5'-IMP, o que indicaria uma hidrólise significativa de ATP, ADP e AMP à IMP. Calkins *et al.* (2) reportaram que os baixos níveis de AMP encontrados em carne bovina crua resultariam da rápida deaminação de AMP a IMP.

Concentrações de hipoxantina e inosina geralmente refletem a degradação de IMP em músculos durante o *rigor mortis* e/ou refrigeração. Maiores quantidades de hipoxantina foram observadas em bovinos (15,2 mg/100g músculo), o qual correspondeu a aproximadamente 22% da concentração de 5'-IMP nesta espécie, concentrações bem menores foram encontradas em suínos e ovinos. Rhodes (17) reportou que IMP de diferentes músculos de bovinos, foi completamente hidrolisado a hipoxantina num período de 30-40 dias, tendo observado ainda que a autólise em bovinos foi muito mais intensa que em ovinos.

Os níveis de inosina em ovinos (média de 78,1 mg/100g músculo) e suínos (média de 29,6 mg/100g músculo) foram maiores que em bovinos (média de 21,9 mg/100g músculo), sugerindo que houve menos hidrólise de inosina a hipoxantina nessas espécies quando comparada com a bovina. Arya & Parhar (1) encontraram concentrações de 5 mg/100g e 90 mg/100g de hipoxantina e inosina respectivamente em músculos de ovinos recém abatidos.

Entre os animais, bovinos e ovinos apresentaram maiores variações nas concentrações de 5'-IMP, enquanto as diferenças entre os diversos músculos foram muito pequenas. Por outro lado, em suínos os resultados foram opostos sendo os diferentes músculos a grande fonte de variação (*Tabela 2*).

TABELA 2. Análise de variância para concentração de ribonucleotídeos e seus derivados em três diferentes espécies (bovinos, suínos, ovinos) comparando-se o efeito do tipo de músculo e animais.

Ribonucleotídeo	Fonte	F-ratio bovinos	F-ratio suínos	F-ratio ovinos
5'-IMP	animal	12,4**	$0,9^{ns}$	14,7*
	músculo	$4,7^{ns}$	10,3**	$1,8^{ns}$
AMP	animal	$0,5^{ns}$	$2,6^{ns}$	$1,4^{ns}$
	músculo	$1,1^{ns}$	$0,3^{ns}$	$0,03^{ns}$
Hipoxantina	animal	29,3***	$2,3^{ns}$	$0,04^{ns}$
	músculo	$2,4^{ns}$	10,8**	$2,0^{ns}$
Inosina	animal	6,5*	$2,3^{ns}$	$5,7^{ns}$
	músculo	$3,7^{ns}$	9,1*	$2,5^{ns}$

*** diferença significativa a $p < 0,001$
** diferença significativa a $p < 0,01$
* diferença significativa a $p < 0,05$
^{ns} diferença não significativa

Diferenças significativas nas concentrações de 5'-IMP e hipoxantina foram observadas no que se refere as variações entre as espécies, os animais e os músculos. Concentrações de AMP apresentaram diferenças significativas apenas entre as espécies (*Tabela 3*).

Alguns trabalhos têm sido realizados envolvendo estudos relativos a degradação de nucleotídeos durante o período de pós-abate em diferentes espécies e músculos, porém de certa maneira esses trabalhos se contradizem. Por exemplo, Millo (14) e Macy *et al.* (10) reportaram que concentrações de 5'-IMP não diferiram significativamente nos diferentes músculos de bovinos e suínos estudados. Por outro lado, diferenças significativas na concentração de 5'-IMP em músculos bovinos *longissimus dorsi* foram detectadas por Dannert & Pearson (4) em pesquisa de pós-abate. Ismail (7) também observou mudanças significativas na concentração de 5'-IMP em músculos *longissimus dorsi, biceps femoris e semitendinosus* de camelos submetidos a refrigeração por 25 dias. Srerod (18) reportou que concentrações de AMP, IMP e inosina em músculos de búfalo variou entre animais e entre os músculos do mesmo animal durante estudos de pós-abate. Estes resultados provavelmente se explicam tendo-se em mente a grande variação que existe nas concentrações de ATP entre as diversas espécies, animais e músculos, resultando em variação da quantidade de IMP e seus derivados produzidos durante o processo de glicolíse que geralmente ocorre no período do *rigor mortis*.

TABELA 3. Análises de Variância para concentração de ribonucleotídeos e seus derivados[1] comparando-se o efeito de diferentes espécies (bovina, suína e ovina), em diferentes músculos e animais.

Fonte	SS	df	MS	F-ratio
5'-IMP				
Espécies	9635,4	2	4817,7	24,5***
Animal	14180,3	6	2363,4	12***
Músculo	2323,9	3	774,6	3,9*
Espécie* Músculo	4577,6	6	762,9	3,9**
Residual	3538,5	18	196,6	
Total	34255,7	35		
AMP				
Espécies	33,2	2	16,6	12,3***
Animal	10,3	6	1,7	$1,3^{ns}$
Músculo	3,3	3	1,1	$0,8^{ns}$
Espécie* Músculo	3,1	6	0,5	$0,4^{ns}$
Residual	24,2	18	1,3	
Total	74,2	35		
Hipoxantina				
Espécies	679,9	2	340,0	154***
Animal	172,8	6	28,8	13***
Músculo	27,3	3	9,1	4,1*
Espécie* Músculo	58,4	6	9,7	4,4**
Residual	39,7	18	2,2	
Total	978,3	35		

[1] apenas concentração de 5'-IMP, AMP e hipoxantina foram comparadas utilizando-se os dados das três espécies analisadas, tendo em vista que a concentração de inosina foi excessivamente alta em ovinos em relação as demais espécies, fazendo-se desnecessário a análise estatística.
*** significativamente diferente a $p < 0,001$
** significativamente diferente a $p < 0,01$
* significativamente diferente a $p < 0,05$
^{ns} não difere significativamente
SS soma dos quadrados
df número de graus de liberdade
MS média dos quadrados

4 — CONCLUSÃO

Em geral, os resultados mostraram que as concentrações de ribonucleotídeos encontradas nos músculos de bovinos, suínos e ovinos foram bastante variáveis e que as diferenças mais significativas foram observadas entre as espécies. Deve-se considerar que os níveis originais de ATP no músculo bem como as condições de pós-abate são fatores importantes para o nível final de AMP/IMP e seus

derivados, apresentando-se como os possíveis responsáveis por tais variações. Diferenças no conteúdo de 5'-IMP podem estar provavelmente relacionadas com as variações qualitativa e quantitativas observadas no aroma da carne após cozimento.

5 — REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) ARYA, S.S. & PARHAR, D.B. Changes in free nucleotides, nucleosides and bases during thermal processing of goat and sheep meats. Part I. Effect of temperature. **Die Nahrung**, v. 23, p.1-7, 1979.

(2) CALKINS, C.R., DUTSON, T.R., SMITH, G.C. & CARPENTER, Z.L. Concentration of creatine phosphate, adenine nucleotides and their derivatives in electrically stimulated and nonstimulated beef muscle. **J. Food Sci.**, v. 47, p. 1350-1353, 1982.

(3) CHEN, S.C., BROWN, P.R. & ROSIE, D.M. Extraction procedures for use prior to HPLC nucleotides analysis using microparticle chemically bonded packings. **J. Chromat. Sci.**, v. 15, p. 218-221, 1977.

(4) DANNERT, R.D. & PEARSON, A.M. Concentration of inosine 5'-monophosphate in meat. **J. Food Sci.**,v. 32, p. 49-52, 1967.

(5) FARMER, L.J. & MOTTRAM, D.S. Recent studies on the formation of meat-like aroma compounds. In: Bessiere, Y. & Thomas, A.F. **Flavour Science and Technology**, Chichester: Wiley, 1991, p. 113-116.

(6) GROSCH, W., ZEILER-HIGART, G., CERNY, C. & GUTH, H. Studies on the formation of odorants contributing to meat flavours. In: Schreier, P. & Winterhalter, P. **Progressin Flavour Precursor Studies**, Carol Stream IL: Allured Publ. Co., 1993, p. 329-342.

(7) ISMAIL, F.A. The presence of inosine-5'-monophosphate in camel meat. **Fleischwirtschaft,** v. 55, p. 1735-1736, 1975.

(8) LAWRIE, R.A. **Meat Science,** 5th ed., Pergamon, Oxford, 1992, p.112.

(9) MABROUK, A.F. Nonvolatile nitrogen and sulfur compounds in red meats and their relation to flavor and taste. In: Charalambous, G. & Katz, I. **Phenolic, Sulfur, andNitrogen Compounds in Food Flavors**, Washington DC: American Chemical Society, 1976, p. 146-183.

(10) MACY, R.L., NAUMANN, H.D. & BAILEY, M.E. Water-soluble flavor and odor precursors of meat. 3.Changes in nucleotides, total nucleosides and bases of beef, pork and lamb during heating. **J. Food Sci.**, v. 35, p. 78-80, 1970.

(11) MADRUGA, M.S. **Studies on some factors affecting meat flavour formation**. Tese de PhD, Universidade de Reading, Inglaterra. 1994, 206p.

(12) MADRUGA, M.S. & MOTTRAM, D.S. The effect of pH and Inosine-5'-Monophsphate (5'- IMP) on the formation of heterocyclic aroma volatiles in cooked meat. **R. Ciênci.Tecnol. Aliment.**, v.15, n.3, p. 284-287, 1995a.

(13) MADRUGA, M.S. & MOTTRAM, D.S. The effect of pH on the formation of Maillard- derived aroma volatiles using a cooked meat system. **J. Sci. Food Agric.**, v.68, p. 305-310, 1995b.

(14) MILLO, A. Chemical modifications in bovine and pig muscles after slaughter. **Vet. Ital.**, v. 15, p. 521-525, 1964.

(15) MOTTRAM, D.S. & MADRUGA, M.S. The role of inosine monophosphate as a precursor of meat aroma. In: Maarse,H. & van der Heij, D.G. **Trends in Flavour Research**, Amsterdam: Elsevier Science, 1994, p. 339-344.

(16) NAKAJIMA, N., ICHIKAWA, K., KAMADA, M. & FUJITA, E. Food studies on 5'-nucleotides. **Nippon Nogei-kagaku Kaishi,** v. 35, p. 803-809, 1961.

(17) RHODES, D.N. Nucleotide degradation during the extended storage of lamb and beef. **J. Sci. Food Agric.**, v. 16, p. 447-451, 1965.

(18) SREROD, S. **Presence and behaviour of mononucleotides and their metabolites in beef and their importance in hygiene assessment**. Hanover, 1973.

(19) TERASAKI, M., KAJIKAWA, M., FUKITA, E. & ISBII, K. Studies on the flavor of meats. I.Formation and degradation of inosinic acids in meats. **Agric. Biol. Chem.**, v. 29, p. 208-209, 1965.