

CHROM. 4303

## UNTERSUCHUNG DER AUS MUSKELGEWEBE UND FLEISCHERZEUGNISSEN EXTRAHIERBAREN NICHTFETT- UND FETTSÄUREN MITTELS DÜNNSCICHT- UND GASCHROMATOGRAPHIE

U. STOLL\*

*Institut für Lebensmittelkunde, Hannover (B.R.D.)*

(Eingegangen am 30. Mai 1969; geänderte Fassung am 24. Juli 1969)

---

### SUMMARY

*Examination of non-fatty and fatty acids extractable from muscle tissue and meat products by thin-layer and gas chromatography*

This paper presents a procedure for extraction and chromatography of the non-esterified acids occurring in meat and meat products. Thin-layer (TLC) and gas-liquid chromatography (GLC) are used for qualitative and quantitative evaluations of aliphatic and fatty acids. Only the aliphatic acids (*e.g.* lactic, succinic, pyruvic, fumaric etc.) could be separated and identified by thin-layer chromatography. Two solvents were used for the separations on cellulose layers and another for those on the Kieselguhr-silica gel layer. The acids were detected with benzidine  $\text{NaJO}_4$ . The stained spots gave a bluish-violet or yellow colour, depending on the nature of the acid. The gas chromatographic separations of methyl esters were performed on Reoplex 400 (10%) and on Apiezon M (15%). The separations on Reoplex were obtained by programming the temperature at 3°/min from 60° to 170°. Methyl esters of fatty acids could easily be assayed at an isothermal temperature (235°) on Apiezon M. Known and previously unknown aliphatic acids could be detected.

---

### EINLEITUNG

Bisher durchgeführte Säureuntersuchungen an Fleisch und Fleischwaren konzentrierten sich vor allem auf die Bestimmung der Veränderungen im Milchsäuregehalt<sup>1,2</sup>. In einzelnen Muskelfleisch-extrakten konnte neben Milchsäure auch Glykol- und Bernsteinsäure aufgefunden werden<sup>3,4</sup>. In verschiedenen tierischen Geweben wurden weitere Säuren papierchromatographisch<sup>5</sup> nachgewiesen, jedoch nicht identifiziert.

In Rohwürsten konnte mittels chemischer Methoden neben Milchsäure auch Brenztraubensäure<sup>6</sup> bestimmt werden, ausserdem wurden gaschromatographisch<sup>7</sup> einige während der Reifung gebildeten freien Fettsäuren nachgewiesen. Die während der Lagerung von Fleisch<sup>8,9</sup>, wie auch der Reifung von Wursterzeugnissen<sup>10</sup> entstan-

denen freien Fettsäuren werden für die Beurteilung der Qualität derartiger Erzeugnisse in immer grösserem Umfange herangezogen.

Es wurde deshalb eine Methode erarbeitet, bei welcher die in Fleisch und Fleischerzeugnissen vorkommenden nicht veresterten Säuren mittels Dünnschicht- und Gaschromatographie nachgewiesen und bestimmt werden können.

#### METHODIK ..

##### Aufarbeitung der Extrakte

Die zur Extraktion von Säuren aus Muskelgewebe geeigneten Verfahren mit 96 %igem Äthanol, bzw. 0.6 N  $\text{HClO}_4$ , wurden zunächst miteinander verglichen und an die spezielle Fragestellung angepasst (Analysenschema s. Fig. 1). Bei der Extrak-

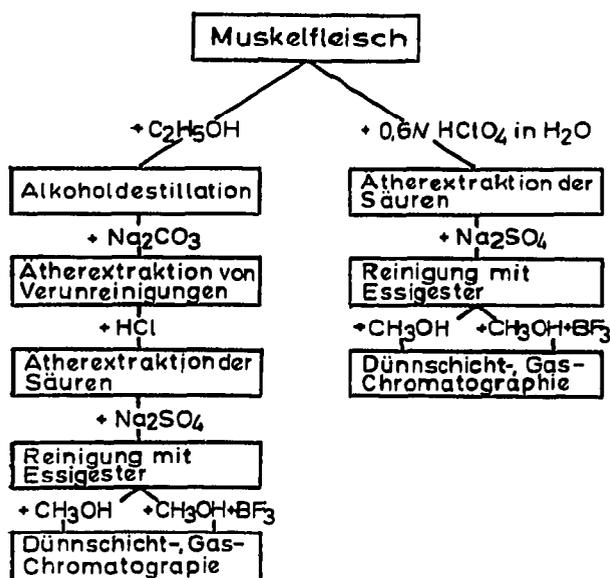


Fig. 1. Vergleich der Aufarbeitung von Säuren bei Extraktion aus Muskelgewebe mit 96 %igem Äthanol bzw. 0.6 N Perchlorsäure.

tion mit heissem Alkohol wurde die Menge so bemessen, dass das portionsweise zugegebene zerkleinerte Gewebe (100 g) damit vollständig bedeckt war. Nach dem Abkühlen verblieben die mit Alkohol versetzten Proben für eine Nacht im Kühlschrank. Die am Rotavapor eingedampften, und mit halbgesättigter Sodalösung alkalisch gemachten Extrakte wurden anschliessend zur Entfernung von Begleitstoffen mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Ansäuern mit HCl konnten die aus dem Gewebe stammenden Säuren in Äther überführt werden. Die mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknete ätherische Lösung wurde nun eingedampft und der in wenig Essigester aufgenommene Rückstand abfiltriert. Der erneut eingedampfte Extrakt konnte zur Chromatographie in 1 ml Methanol gelöst werden.

Bei der Extraktion von Säuren mit 0.6 N  $\text{HClO}_4$  wurde das Gewebe (100 g) zusammen mit dem Extraktionsmittel homogenisiert und die abfiltrierte säurehaltige Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Bei der weiteren Aufarbeitung konnte entsprechend der oben beschriebenen Methode verfahren werden (vgl. Fig. 1).

### *Chromatographie der Säuren*

*Dünnschichtchromatographie.* Die Dünnschichtchromatographie der Säuren erfolgte auf Trennschichten, bei welchen Kieselgur und Kieselgel im Verhältnis 1:1 gemischt wurde. Zur Trennung der aufgetragenen Säuren wurde das Laufmittel Benzol-Äthanol-Ammoniak (25 %) (10:20:5) eingesetzt<sup>11</sup>. Ausserdem wurden die extrahierten Säuren auf Celluloseschichten mit den hierfür zusammengestellten Laufmitteln: *n*-Butanol-Ameisensäure-Wasser (10:7:1) (obere Phase) und Äthanol-Ammoniak (25 %)-Wasser (35:7:2) chromatographiert.

Zum Nachweis der Säuren wurde bei silikathaltigem Beschichtungsmaterial mit Bromkresolgrün besprüht und zur speziellen Erkennung der Fettsäuren mit Jod bedampft. Auf Celluloseschichten konnten Säuren durch aufeinander folgendes Besprühen mit (a) 0.5 %iger äthanolischer Benzidinlösung und (b) 0.1 %iger wässriger NaJO<sub>4</sub>-Lösung sichtbar gemacht werden. Wichtig ist, dass die angegebene Reihenfolge beim Aufsprühen eingehalten wird. Nach dem Besprühen von (a) lässt man kurze Zeit antrocknen. Ketosäuren konnten mit Dinitrophenylhydrazin (DNPH), gelöst in 3 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, nachgewiesen werden. Für Celluloseschichten war der Nachweis bei Verwendung einer 0.05 %igen DNPH-Lösung und für silikathaltige Platten bei 0.3 %iger DNPH-Lösung am empfindlichsten.

*Gaschromatographie.* Die Veresterung der extrahierten Säuren erfolgte mit Methanol und Bortrifluorid als Katalysator. Bortrifluorid wurde in 14 %iger methanolischer Lösung von der Firma Serva (Heidelberg) bezogen. Die Methylierung der extrahierten Säuren erfolgte jeweils durch Vermischen von einem Teil Säureextrakt mit einem Teil des Methylierungsreagenzes. Die Proben blieben eine Nacht bei Zimmertemperatur verschlossen stehen und wurden dann nach MAZLIAK UND SALSAC<sup>12</sup> ohne weitere Aufarbeitung der Gaschromatographie unterworfen. Für Referenzuntersuchungen und zur Erstellung von Eichkurven mussten die in Methanol gelösten Säuren entsprechend verestert werden. An Stelle von Milchsäure wurde deren Calcium-Salz methyliert. Eine vorherige Entfernung des Kations durch Ionenaustauscher erwies sich als nicht erforderlich.

Die gaschromatographischen Trennungen wurden mit einem Fraktometer F 20 der Firma Perkin-Elmer durchgeführt. Die Methylester der aliphatischen Nichtfettsäuren, wie auch der Fettsäuren, liessen sich auf der polaren Säule Reoplex 400<sup>13</sup> (10 % auf Chromosorb W) trennen. Zur Identifizierung der extrahierten Fettsäuren wurden deren Methylester auch auf der apolaren Säule Apiezon M (15 % auf Kieselgur) chromatographiert. Die Trennungen auf Reoplex 400 erfolgten bei Temperaturprogrammierung zwischen 60 und 170°, bei einer Anstiegsrate von 3°/min. Die Methylester der Fettsäuren mit mehr als 16 C-Atomen erschienen im isothermen Nachlauf bei 170°. Auf Apiezon M wurde isotherm bei 235° gefahren. Die Identifizierung wurde neben dem Vergleich mit Reinsubstanzchromatogrammen durch Mitchromatographieren der vermuteten Methylester (Peakerhöhung) durchgeführt. Das Trägergas Stickstoff hatte eine Strömungsgeschwindigkeit von 35 ml/min. Die Strömungsgeschwindigkeit für Wasserstoff betrug 33 ml/min und für synthetische Luft 350 ml/min. Bei Apiezon M wurde mit einer Stickstoffströmung von 25 ml/min gearbeitet.

Der Nachweis der abgetrennten Substanzen erfolgte im FID-Detektor. Die Temperatur des Einspritzblocks betrug 250°. Injiziert wurden Flüssigkeitsmengen von 0.2–2.0 µl. Die Konzentration der verwendeten Referenzlösungen lag zwischen

0.15 und 2.0 %, je nach Empfindlichkeit des Detektors für den injizierten Säuremethylester. Der Papiervorschub des Schreibers betrug 0.5 cm/min.

#### ERGEBNISSE UND DEREN INTERPRETATION

##### *Vergleich der Extraktionsmethoden mit Äthanol bzw. 0.6 N HClO<sub>4</sub>*

Bei der äthanolischen Aufarbeitung der Säuren war der Anteil mitextrahierter Begleitstoffe, die auf Ninhydrin und diazotierte Sulfanilsäure positiv reagierten, grösser als im HClO<sub>4</sub>-Extrakt. Perchlorsäureextrakte enthielten dagegen mehr durch Jodadsorption nachweisbare Verunreinigungen. Obwohl beide Verfahren zur Aufarbeitung von Säuren aus tierischem Gewebe eingesetzt werden können, war die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bei äthanolischer Extraktion besser und die Aufarbeitung schonender, so dass wir diesem Verfahren den Vorzug gaben.

##### *Säurenachweis mit Benzidin-NaJO<sub>4</sub>*

Die beim Säurenachweis mit Benzidin und NaJO<sub>4</sub> erzielte Farbtönung erwies sich für einzelne Säuren bzw. Säuregruppen als spezifisch und variierte hinsichtlich des Farbtons zwischen violett, blau und gelb bis weiss. Eine violette bis blau-violette Farbe ergab sich bei der auf den Nachweis sehr empfindlich reagierenden Säuregruppe: Malein-, Bernstein-, Fumar-, Citronen-, Aconit-, Malon-, und Adipinsäure. Eine blaue bis blassblaue Farbe wurde bei: Glykol-, Milch-,  $\beta$ -Hydroxybutter- und 3-Hydroxybuttersäure erhalten. Zwischen den beiden genannten Gruppen lagen hinsichtlich ihres Farbtons Oxal- und Glutarsäure. Eine gelbliche Tönung konnte für die Ketosäuren: Oxalessig-, Brenztrauben-, Glyoxyl-, und Ketoglutarsäure erzielt werden. Ketoglutar- und Lävulinsäure erschienen manchmal zunächst auch mit blauer, später verblassender Farbe. Fettsäuren präsentierten sich als gelblich-weiße Flecken. Palmitolein- und Ölsäure erschienen ebenfalls manchmal zunächst mit hellblauem, später verblassendem Farbton.

Die erzielte Anfärbung dürfte darauf beruhen, dass das zunächst aufgesprühte Benzidin an säurefreien Stellen bis zu gelblich-bräunlichen Produkten oxidiert wird, an säurehaltigen Stellen jedoch unter Mitwirkung der Säuren gefärbte Oxidationsprodukte ergibt. NaJO<sub>4</sub> ist anderen Oxidationsmitteln vorzuziehen. Die Absorptionsmaxima der mit Säuren erzielten Farbkomponenten liegen zwischen 500 und 650 nm (s. Fig. 2). Einzelne Säuren lassen sich schon ab 10  $\gamma$  Substanz auf der Platte damit nachweisen. Dieser Farbnachweis für Säuren eignet sich nicht für silikathaltige Trägerschichten, da hier offenbar die Kieselsäure die Oxidation des Benzidins stört. Da die Farbreaktion spezifisch ist, kann sie neben dem  $R_f$ -Wert einen wichtigen Hinweis bei der Identifizierung von Säuren darstellen. Das Reagenz wurde weder bei FERRAZ UND RELVAS<sup>14</sup> noch bei STAHL<sup>15</sup> zum Nachweis von Säuren benannt, so dass angenommen wird, dass es bisher hierfür nicht beschrieben wurde.

##### *Dünnschichtchromatographie der Säuren*

Die verwendeten Laufmittel und Beschichtungsmaterialien ermöglichten eine dünnschichtchromatographische Trennung der nicht zur Fettsäurereihe gehörenden Säuren. Bei Chromatographie auf Celluloseschichten wurde das verwendete Laufmittel Äthanol-Ammoniak-Wasser (35:7:2) günstig durch das saure Laufmittel *n*-Butanol-Ameisensäure-Wasser (10:7:1) (obere Phase) ergänzt (vgl. Fig. 3 und 4).

Beide Laufmittel entsprechen in ihrer Zusammensetzung den bei der Dünnschichtchromatographie von Tricarbonsäurecyclussubstraten eingesetzten Laufmittel<sup>10</sup>.

Die aus Fleisch und Fleischerzeugnissen extrahierbaren Säuren konnten im oben erwähnten alkalischen Laufmittel in vier Hauptfraktionen aufgetrennt werden, die als Fraktion A–D bezeichnet wurden (vgl. Fig. 3). Fraktion A enthält Spuren von

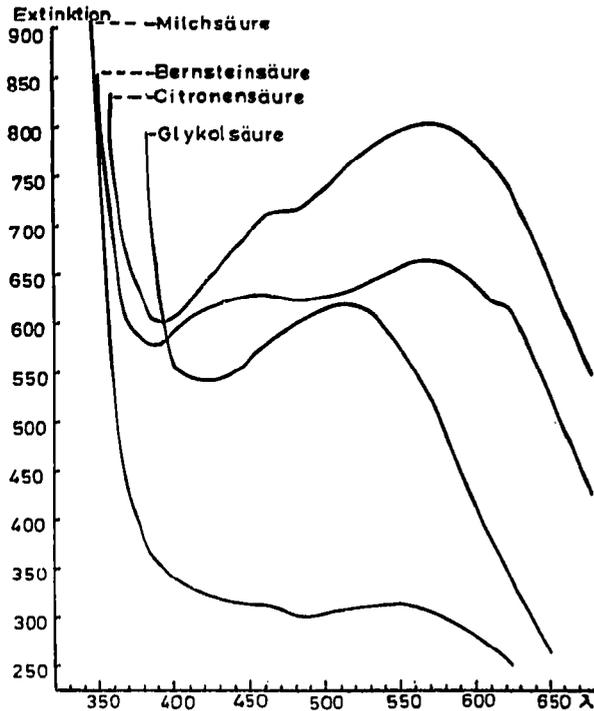


Fig. 2. Extinktionskurven der Reaktionsprodukte, die bei der Umsetzung von Carbonsäuren mit Benzidin und anschließender Oxidation mit  $\text{NaJO}_4$  entstehen.

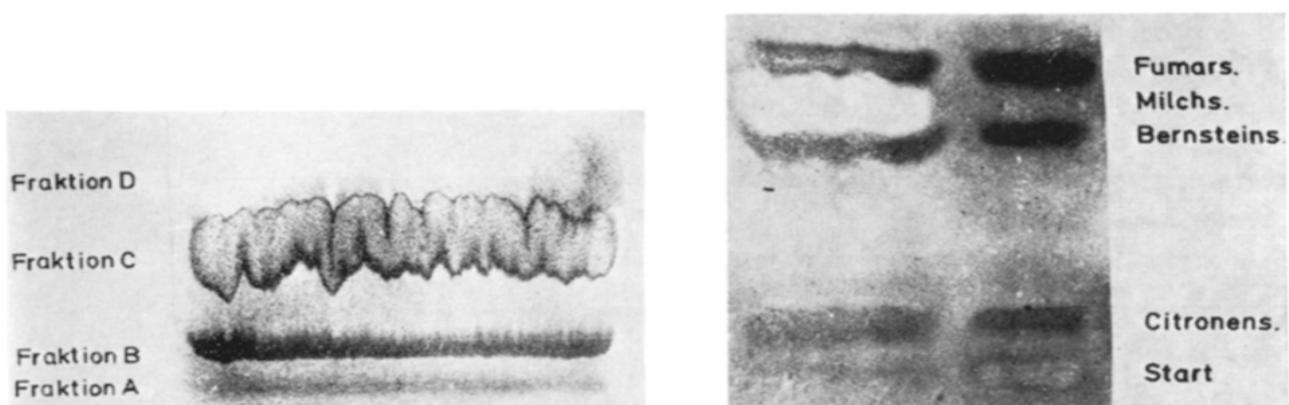


Fig. 3. Dünnschichtchromatographische Trennung von Carbonsäuren aus geräucherter Mettwurst (äthanolischer Extrakt). Beschichtungsmaterial: Cellulose. Laufmittel: Äthanol-Ammoniak-Wasser (35:7:2). Sprühmittel: Benzidin/ $\text{NaJO}_4$ . Fraktion A: Citronensäure sowie nicht identifizierte Verbindungen; Fraktion B: Bernsteinsäure + Fumarsäure; Fraktion C: Milchsäure + Glykolsäure (Spuren); Fraktion D: Fettsäuren + 3-Hydroxybuttersäure + Lactylmilchsäure.

Fig. 4. Dünnschichtchromatographische Trennung von Carbonsäuren aus Muskelgewebe. Links: äthanolischer Extrakt, rechts: Reinsubstanzen. Beschichtungsmaterial: Cellulose. Laufmittel: *n*-Butanol-Ameisensäure-Wasser (10:7:1) (obere Phase). Sprühmittel: Benzidin/ $\text{NaJO}_4$ .

Citronensäure und eventuell noch weitere Verbindungen. Fraktion B besteht aus Bernstein- und Fumarsäure. Fraktion C enthält als Hauptbestandteil Milchsäure. Spuren von Glykolsäure können hier ausserdem vorhanden sein. In Fraktion D können ausser den höheren Fettsäuren auch Lactylmilchsäure und 3-Hydroxybuttersäure anwesend sein.

Zur Trennung der in Muskelgewebe und Fleischerzeugnissen vorkommenden Hydroxysäuren: Milch-, Glykol- und 3-Hydroxybuttersäure eigneten sich besonders Mischschichten aus Kieselgur und Kieselgel im Verhältnis 1:1, bei Verwendung von Benzol-Äthanol-Ammoniak (10:20:5) als Fließmittel. Hiermit konnten die höheren

TABELLE I

$R_F$ -WERTE VON CARBONSÄUREN AUS MUSKELGEWEBE UND FLEISCHERZEUGNISSEN  
Trägerschicht: Cellulose.

Identifizierte Säuren	Laufmittel				Bemerkungen
	$n\text{-C}_4\text{H}_9\text{OH-HCOOH-H}_2\text{O}$ (10:7:1)		$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH-NH}_4\text{OH}$ (25%) $\text{H}_2\text{O}$ (35:7:2)		
..	Gef. Säure	Reinsubst.	Gef. Säure	Reinsubst.	
—	0.07	—	—	—	Säurenachweis positiv
Citronen-	0.15	0.15	0.09	0.08	—
Glykol-	0.51	0.58	0.46	0.46	Häufig verdeckt durch Milchsäure
Bernstein-	0.58	0.66	0.27	0.31	—
Milch-	0.66	0.66	0.51	0.60 <sup>a</sup>	—
	—	0.81	—	0.79 <sup>b</sup>	—
Fumar-	0.72	0.77	0.33	0.41	—
Brenztrauben-	0.79	0.75	—	—	Leicht zersetzbar
Höhere Fett-	0.91	0.94	0.92	0.94	Nur als Gruppe nachweisbar

<sup>a</sup> Hauptfleck.

<sup>b</sup> 2. Milchsäurefleck (Lactylmilchsäure).

TABELLE II

$R_F$ -WERTE VON CARBONSÄUREN AUS MUSKELGEWEBE UND FLEISCHERZEUGNISSEN  
Trägerschicht: Kieselgur und Kieselgel im Verhältnis 1:1.

Identifizierte Säuren	$\text{C}_6\text{H}_6\text{-C}_2\text{H}_5\text{OH-NH}_4\text{OH}$ (25%) (10:20:5)		Bemerkungen
	Gef. Säure	Reinsubst.	
Bernstein-	0.10	0.17	$R_F$ -Wert mehrerer Säuren
Glykol-	0.31	0.29	Häufig verdeckt durch Milchsäure
Milch-	0.33	0.36 <sup>a</sup>	—
	—	0.50 <sup>b</sup>	—
	0.59	0.62 <sup>c</sup>	—
3-Hydroxybutter-	0.49	0.53	—
Höhere Fett-	0.75	0.77	Nur als Gruppe nachweisbar
—	0.94	—	Positiv mit $\text{J}_2$ und DNPH

<sup>a</sup> Hauptfleck.

<sup>b</sup> Lactid (sehr schwach).

<sup>c</sup> Lactylmilchsäure (schwach).

Fettsäuren besser und schärfer als auf Celluloseschichten von den übrigen Säuren abgetrennt werden. Die dünnschichtchromatographisch identifizierten Säuren wurden in Tabelle I und II mit den entsprechenden Laufmitteln und Beschichtungsmaterialien zusammengestellt.

### Gaschromatographie der Säuren

*Methodische Ergebnisse.* Bei den durchgeführten Untersuchungen wurde entgegen den Angaben von CANVIN<sup>13</sup> festgestellt, dass Fumarsäuredimethylester bei Chromatographie auf Reoplex (400) unmittelbar vor Bernsteinsäuredimethylester aus der Säule austritt. Bei zitiertem Autor erschien Fumarsäuredimethylester auf der gleichen Säule wesentlich später, und zwar erst nach dem Dimethylester des Isocitronensäurelactons. Der letztgenannte Dimethylester wurde seinerseits, bei den von uns durchgeführten Untersuchungen, erst nach Linolsäuremethylester (Peak Nr. 22 in Fig. 5-7) aus der Säule eluiert. Es muss angenommen werden, dass unter den von CANVIN<sup>13</sup> angegebenen Methylierungsbedingungen ein spät austretendes Pyrazolin aus Fumarsäuredimethylester entstanden ist, dessen mögliche Entstehung auch von MCKEOWN UND READ<sup>17</sup> diskutiert wurde.

Die von LANGNER<sup>18</sup> beobachtete Zersetzung von Milchsäure beim Methylieren mit Methanol und Bortrifluorid als Katalysator konnte unter den angegebenen Bedingungen nicht festgestellt werden. Die Zersetzung darf nicht auf Bortrifluorid als Katalysator, sondern muss auf die anschließende Hitzebehandlung zurückgeführt werden.

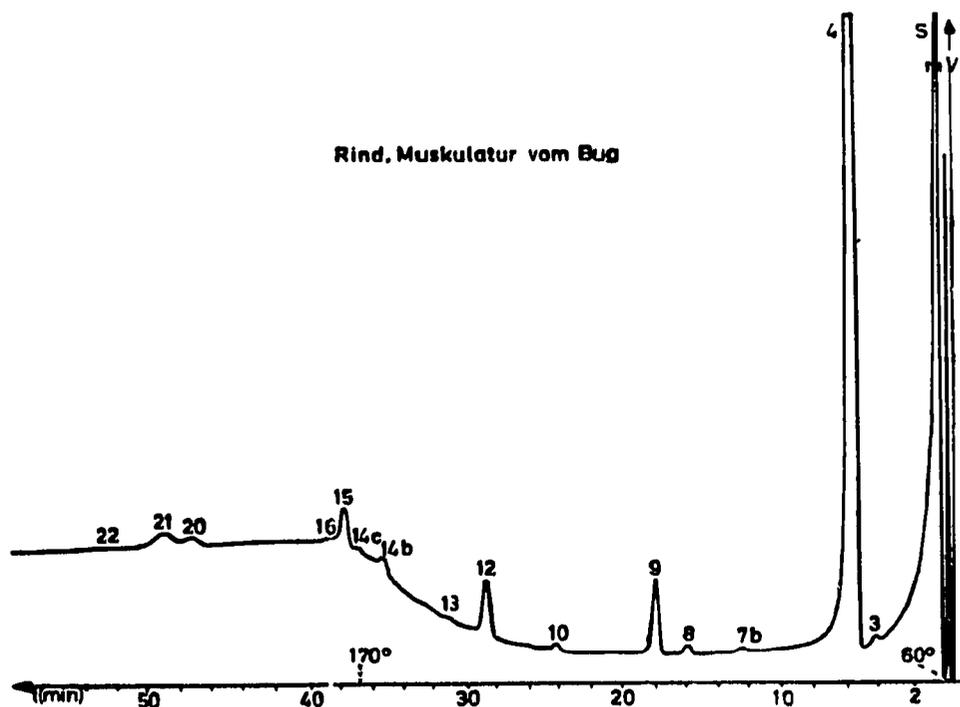


Fig. 5. Gaschromatographie der Methylester der aus Bugmuskulatur des Rindes extrahierten Säuren auf Reoplex 400. Technische Angaben s. Text. Erklärung der durchnummerierten Peaks: 3 = Brenztrauben-; 4 = Milch-; 7b = 3-Hydroxybutter-; 8 = Fumar-; 9 = Bernstein-; 10 = Laurin-; 12 = unbekannt; 13 = Myristin-; 14b und c unbekannt; 15 = Palmitin-; 16 = Palmitolein-; 20 = Stearin-; 21 = Öl-; 22 = Linolsäuremethylester.

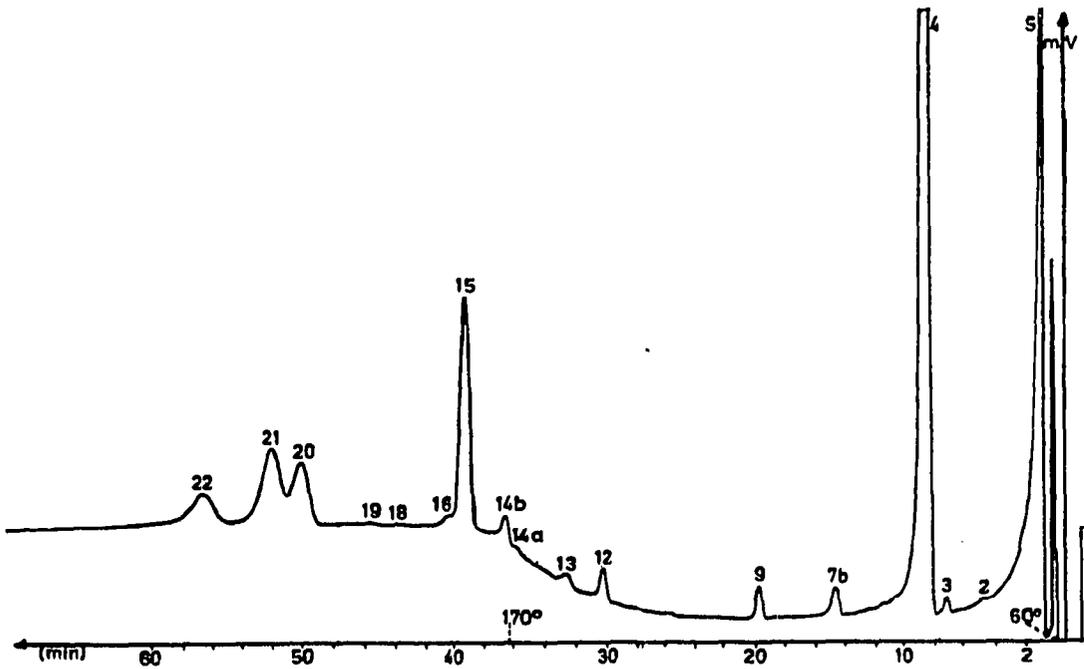


Fig. 6. Gaschromatographie der Methylester der aus Brustmuskulatur von Hähnchen extrahierten Säuren auf Reoplex 400. Technische Angaben s. Text. Erklärung der Peaks, s. Fig. 7.

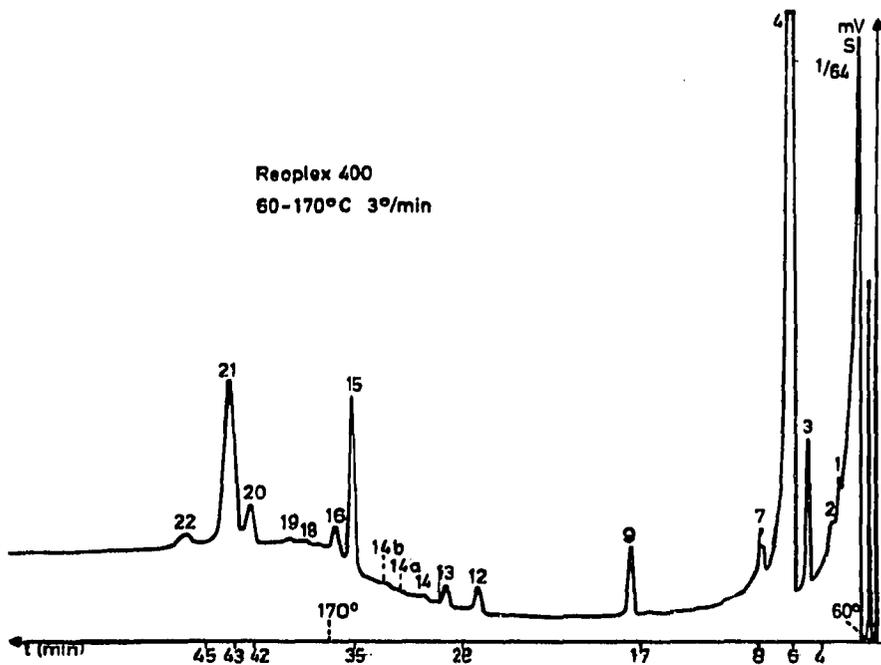


Fig. 7. Gaschromatographische Trennung der aus geräucherter Mettwurst extrahierten Säuren nach Überführung in Methylester auf Reoplex 400, mit Temperaturprogrammierung. Erklärung der durchnummerierten Peaks: 1 = Butter- (?); 2 = Capron-; 3 = Brenztrauben-; 4 = Milch-; 7 = Capryl-; 7b = 3-Hydroxybutter-; 9 = Bernstein-; 12 = unbekannt; 13 = Myristin-; 14 = Myristein-; 14a, b und c unbekannt; 15 = Palmitin-; 16 = Palmitolein-; 18 = Heptadecan-; 19 = Heptadecen- (?); 20 = Stearin-; 21 = Öl-; 22 = Linolsäuremethylester.

*Identifizierung von Säuren in Fleisch und Fleischerzeugnissen.* Auch bei der gaschromatographischen Untersuchung der methylierten Säuren konnte Milchsäure (Peak Nr. 4) als mengenmässig wichtigste Säure bei Muskelgewebe und daraus hergestellten Erzeugnissen nachgewiesen werden (vgl. Fig. 5–7). Bei den Nichtfettsäuren soll auf das Vorkommen von Brenztraubensäure (Peak Nr. 3), 3-Hydroxybuttersäure (Peak Nr. 7b) und Bernsteinsäure (Peak Nr. 9) hingewiesen werden. In geringer Menge konnte auch Fumarsäure (Peak Nr. 8) in der Muskulatur frisch geschlachteter Tiere aufgefunden werden. Als die mengenmässig wichtigsten freien Fettsäuren in Fleisch und Fleischerzeugnissen konnten Palmitinsäure (Peak Nr. 15), Stearinsäure (Peak Nr. 20), Ölsäure (Peak Nr. 21) und Linolsäure (Peak Nr. 22) ermittelt werden. Diese wurden sowohl auf der polaren Säule Reoplex 400 (Fig. 5–7) wie auch auf der apolaren Säule Apiezon M (Fig. 8) identifiziert.

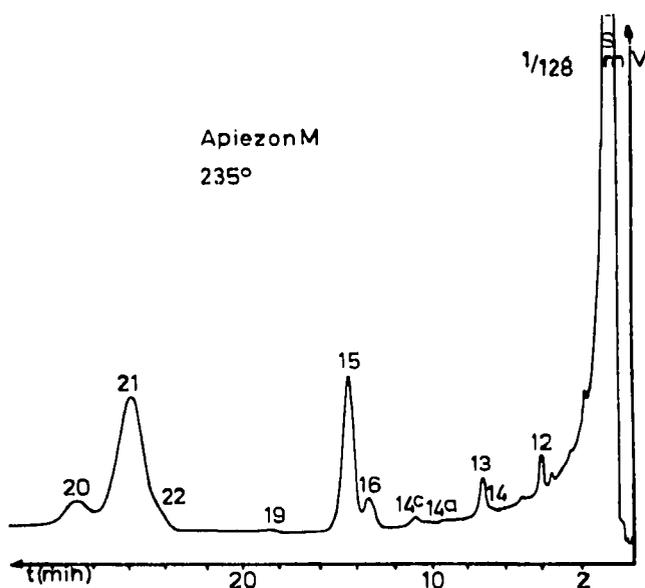


Fig. 8. Gaschromatographische Trennung der aus geräucherter Mettwurst extrahierten Säuren nach Überführung in Methylester auf Apiezon M, isotherm. Erklärung der Peaks, s. Fig. 7.

Die Menge einzelner nichtveresterter Säuren, die in der Muskulatur von verschiedenen Tierarten und in verschiedenen Geweben nachweisbar ist, dürfte grösseren Schwankungen unterworfen sein. So konnten bei vergleichbaren chromatographischen Bedingungen für die aus der Bugmuskulatur vom Rind (Fig. 5) extrahierten Fettsäuren wesentlich geringere Anteile als für die Gehalte an freien Fettsäuren, die aus der Brustmuskulatur von Hähnchen (Fig. 6) stammten, festgestellt werden.

Im weiteren sollen nun vor allem die quantitativen Veränderungen der aufgefundenen Säuren während der Bearbeitung und Lagerung von Muskelgewebe und Fleischerzeugnissen bestimmt werden.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die im Gewebe frisch geschlachteter Tiere, wie auch in Fleischerzeugnissen anwesenden kurzkettigen nicht veresterten, aliphatischen Nichtfett- und Fettsäuren

wurden mit Äthanol extrahiert und zur Chromatographie aufgearbeitet. Die Identifizierung der Säuren erfolgte mittels Dünnschicht- und Gaschromatographie. Für die Dünnschichtchromatographie von Säuren auf Celluloseschichten wurden zwei Laufmittel und ein spezifisches Sprühmittel beschrieben. Ein weiteres Laufmittel wurde direkt aus der Literatur übernommen. Zur Gaschromatographie von aliphatischen Nichtfett- und Fettsäuren eignete sich unter Anwendung der Temperaturprogrammierung Reoplex 400 als flüssige Phase. Die Fettsäuren wurden ausserdem isotherm auf Apiezon M chromatographiert. In Muskulatur konnte, neben zahlreichen bekannten Säuren, auch die bisher nicht erwähnte Fumarsäure nachgewiesen werden.

## LITERATUR

- 1 C. E. BODWELL, A. M. PEARSON UND M. E. SPOONER, *J. Food Sci.*, 30 (1965) 766.
- 2 H. GÜNTHER UND A. SCHWEIGER, *J. Food Sci.*, 31 (1966) 300.
- 3 T. WOOD UND A. E. BENDER, *Biochem. J.*, 67 (1957) 366.
- 4 A. E. BENDER, T. WOOD UND J. A. PALGRAVE, *J. Sci. Food Agr.*, 9 (1958) 812.
- 5 R. GRAU UND H. GÜNTHER, *Fleischwirtschaft*, 14 (1962) 184.
- 6 W. PEZACKI UND D. SZOSTAK, *Fleischwirtschaft*, 14 (1962) 180.
- 7 Z. DUDA, *Fleischwirtschaft*, 46 (1966) 974.
- 8 D. PEARSON, *J. Sci. Food Agr.*, 19 (1968) 553.
- 9 A. AWAD, W. D. POWRIE UND O. FENNEMA, *J. Food Sci.*, 33 (1968) 227.
- 10 J. WURZIGER UND R. RISTOW, *Fleischwirtschaft*, 46 (1966) 971.
- 11 E. BANCHER, H. SCHERZ UND V. PREY, *Mikrochim. Acta*, (1963) 713.
- 12 P. MAZLIAK UND L. SALSAC, *Phytochemistry*, 4 (1965) 693.
- 13 D. T. CANVIN, *Can. J. Biochem.*, 43 (1965) 1281.
- 14 F. G. PRIOR FERRAZ UND M. E. ALMEIDA RELVAS, *J. Chromatog.*, 6 (1961) 505.
- 15 E. STAHL, *Dünnschicht-Chromatographie*, 2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 1967.
- 16 H. GOEBELL UND M. KLINGENBERG, *Chromatographie-Symposium, II.*, Société Belge des Sciences Pharmaceutiques, Bruxelles, 1962, p. 153.
- 17 G. G. MCKEOWN UND S. I. READ, *Anal. Chem.*, 37 (1965) 1780.
- 18 H. J. LANGNER, *Z. Lebensm.-Untersuch. Forsch.*, 129 (1965) 25.

*J. Chromatog.*, 44 (1969) 537-546