

Creatinausblühungen auf der Oberfläche vorverpackter fermentierter Rohwürste

Creatine blooms on the surface of prepackaged fermented sausages

L. KRÖCKEL¹, W. JIRA², D. KÜHNE³ und W.-D. MÜLLER³

¹ Institut für Mikrobiologie und Toxikologie, ² Institut für Chemie und Physik, ³ Institut für Technologie

Zusammenfassung

Weiße, kristalline Ausblühungen auf Oberflächen dünnkalibriger, vorverpackter fermentierter Rohwürste wurden erstmals zweifelsfrei als Creatin identifiziert. Das Massenspektrum des unbehandelten Belages war nahezu identisch mit dem von Creatin. Enzymatisch wurde ein Gehalt von 83 % Creatin pro Gramm Belag ermittelt. Da die kristalline Form als Creatin-Monohydrat vorliegt, ist von einem Gehalt von 94 % Creatin-Monohydrat in den Ausblühungen auszugehen. Als Quelle des Creatins wurde das fleischeigene Creatin ermittelt, dessen Gehalt in den Würstchen bei 2,43 mg/g lag. Für die qualitative Untersuchung weißer Rohwurstbeläge auf Creatin wird ein Schnelltest auf der Grundlage der VOGES-PROSKAUER Reaktion vorgeschlagen.

Summary

White, crystalline blooms on the surface of small-caliber prepackaged fermented sausages have been identified for the first time unambiguously as creatine. The mass spectra of the untreated blooms and of creatine were almost identical. By enzymatic analysis a content of 83 % creatin per gram of coating material was determined. Since the crystalline form of creatine is creatine monohydrate, the creatine monohydrate content would amount to 94 %. Meat-borne creatine was identified as the source of creatine in the blooms. Its concentration in the sausages was 2,43 mg/g. For the qualitative determination of creatine in white sausage blooms a rapid test based on the Voges-Proskauer reaction is suggested.

Schüsselwörter	Creatin – Voges-Proskauer Test – vorverpackte fermentierte Rohwurst – unerwünschter Oberflächenbelag
Key Words	creatine – Voges-Proskauer test – prepackaged fermented sausages – undesired surface coating

Einleitung

Weißliche Ausblühungen auf Oberflächen von geräucherten oder luftgetrockneten (nicht schimmelgereiften) fermentierten Rohwürsten wurden in der Vergangenheit regelmäßig beobachtet. Etwa ab Mitte der 80er Jahre fiel dieses Phänomen bei Folienpackungen mit Schutzatmosphäre auf (KÜHNE *et al.* 1986). Sowohl die technologischen Voraussetzungen als auch die stoffliche Ursache dieser Erscheinungen wurden bislang nicht systematisch erforscht. Zwar ist bekannt, dass dieses

Phänomen bevorzugt bei über einen längeren Zeitraum kühl gelagerten, vorverpackten Rohwürsten auftritt, die genauen Bedingungen für eine experimentelle Induktion dieser Erscheinung sind jedoch unbekannt. In den meisten Fällen blieb auch unklar, woraus diese Beläge bestehen. Kolonie- bzw. Rasen bildende weißpigmentierte Bakterien oder Schimmelpilze konnten mikroskopisch und durch mikrobiologische Analyse der Oberflächenflora stets ausgeschlossen werden. Ebenso schied eine Salzkrustenbildung durch Nitritpökelsalz (NaCl/NaNO₂) aus,

da weder Chlorid noch Nitrit in nennenswerten Mengen nachgewiesen werden konnten. Erstmals ausführlicher untersucht wurde ein Belag, der bei der Langzeitlagerung von Rohwürsten in Stickstoff begasteten Folienbeuteln nach 3-5 Monaten Lagerung auftrat (KÜHNE *et al.* 1986). Damals wurde aus dem Gehalt des weißen Belages an Magnesium (7,6 - 10,2 %) und racemischer Milchsäure (je 26 % D(-)- und L(+)-Lactat) auf einen schwerlöslichen Mg-Lactat-Komplex (Mg-DL-Lactat) geschlossen; zusätzlich wurde ein NaCl-Gehalt von 1 % angegeben. In anderen Fällen wurde jedoch weder Magnesium noch Lactat in ausreichenden Mengen nachgewiesen, so dass eine zufriedenstellende Erklärung der Zusammensetzung der Beläge nicht möglich war.

Vertriebsbedingte Temperaturänderungen wie etwa Lagerung der Fleischerzeugnisse bei Raumtemperatur nach längerer Kühlung oder Wechsel zwischen Kühlung und Lagerung bei Raumtemperatur begünstigten die Ausbildung dieses Produktdefektes. Der Handel weist derart auffällige Chargen ab, da sie nicht der Verbrauchererwartung entsprechen. Dem Laien erscheinen die Produkte entweder mikrobiologisch nicht einwandfrei oder überlagert. In beiden Fällen wird er in der Regel keine positive Kaufentscheidung treffen. Für den Hersteller, der das gleiche Produkt zumeist bereits seit Jahren erfolgreich vermarktet, kann dies mit schwerwiegenden finanziellen Einbußen verbunden sein.

Die Einsendung einer Probe dünnkalibriger, vorverpackter fermentierter Rohwürstchen durch einen betroffenen Hersteller bot die Gelegenheit, das Problem neu zu bearbeiten. Im vorliegenden Fall wurden die weißlichen Beläge an der Oberfläche der Würstchen nahezu ausschließlich als Ausblühungen von Creatin identifiziert.

Material und Methoden

Probenmaterial. Von einem Rohwursthersteller wurden 20 Rohwürstchen „nach Salami-Art“ von 1 cm Durchmesser und 20-25 cm Länge im Naturdarm (Saitling)

in einer Folienpackung unter Schutzgasatmosphäre zur Untersuchung eingesandt (3 Wochen vor Ablauf des MHD). Die Gesamteinwaage laut Hersteller war 456 g. Das Produkt enthielt lt. Zutatenliste Schweinefleisch, Schweinespeck, Kochsalz, Gewürze, Traubenzucker, Geschmacksverstärker (E 621, Speisewürze), Schafssaitling und Konservierungsstoffe (E 250, Rauch). Der bemängelte Defekt war zunächst nicht erkennbar. Erst nach wiederholten Temperaturwechseln (Kühlschrank/Raumtemperatur) zeigten sich massive weißliche Ausblühungen an der Wurstoberfläche (Abb. 1). Von dem so entstandenen Belag wurden ca. 25 mg vorsichtig gewonnen. Dabei wurde darauf geachtet, dass möglichst keine Darm- und darmnahen Bestandteile mit entfernt wurden. Das erhaltene weißliche Pulver wurde in einer Wägeschale gesichtet und in zwei Chargen sortiert, eine relativ einheitliche Charge I (ca. 10 mg) und eine weniger einheitliche Charge II (ca. 15 mg). Für quantitative und massenspektrometrische Untersuchungen wurde Charge I herangezogen.

Chemische Schnelltests. Für den qualitativen Nachweis von Magnesium wurde eine Mikrospatelspitze der pulverförmigen Probe nacheinander mit je einem Tropfen ethanolischer Chinalizarin-Lösung (15 mg/ml) und 2 M NaOH versetzt. Bei Anwesenheit von Magnesiumionen erfolgt eine charakteristische Blaufärbung. Für den qualitativen Nachweis von Chlorid wurde ein Aliquot der Probe in Wasser gelöst (1 mg/ml). Davon wurden 20 µl mit der gleichen Menge 0,1 N AgNO₃ versetzt. Bei Anwesenheit von Chlorid bildet sich ein weißer Niederschlag. Als positive Referenz wurden seriell verdünnte NaCl-Lösungen verwendet. Das Vorliegen von Guanidylgruppen wurde nach dem Prinzip der VOGES-PROSKAUER Reaktion nachgewiesen (ANONYM 1999; VOGES und PROSKAUER 1898). Dazu wurde eine Mikrospatelspitze der pulverförmigen Probe in 1 ml einer 50 mM wässrigen Acetoin-Lösung gelöst und nacheinander mit 0,2 ml 40 % KOH und 0,6 ml 5 % ethanolischer α-Naphtol-Lösung versetzt. Eine sich nach wenigen Minuten bildende Rotfärbung (roter Ring nahe der Flüssigkeit/Luft-

Grenzfläche oder, wie in Abb. 2, homogene Färbung nach Durchmischung) zeigte eine positive Reaktion an. Die Reaktion wurde in 7,5 cm hohen Reagenzröhrchen mit einem Querschnitt von 1 cm durchgeführt. Die Nachweisgrenze des Tests lag bei 10-20 µg Creatin.

Quantitative enzymatische Bestimmungen. Die anteiligen Mengen an D(-)- und L(+)-Lactat sowie Creatin und Creatinin in den Rohwurstausblühungen wurden enzymatisch bestimmt (ANONYM 1981 1984; ETTTEL und TUOR 1977). Die benötigten Reagenzien wurden von Roche Diagnostics bzw. R-Biopharm bezogen. Die Tests wurden nach Vorschrift des Herstellers durchgeführt. Die Gehalte von Creatin,

Creatinin sowie von D(-)- und L(+)-Lactat in Rohwurst wurden nach Perchlorsäureaufschluss (ANONYM 1981) von ca. 15 g Rohwurst (ohne Hülle) bestimmt. Die Gehalte von Creatin und Creatinin wurden zusätzlich in dem vom Rohwursthersteller mitgelieferten Rohwurstgewürz bestimmt.

Massenspektrometrie. Ein Finnigan MAT 8500 Massenspektrometer mit Direkteinlass und EI-positiver Messung (70 eV) wurde zur Aufnahme der Massenspektren des Rohwurstbelages und von Creatin genutzt. Aufgrund der optisch relativ homogenen Probe wurde ein Aliquot des Belages ohne jede weiteren Reinigungsschritte direkt eingesetzt.



Abb. 1: Weiße Ausblühungen auf dünnkalibrigen, verpackten Rohwürsten

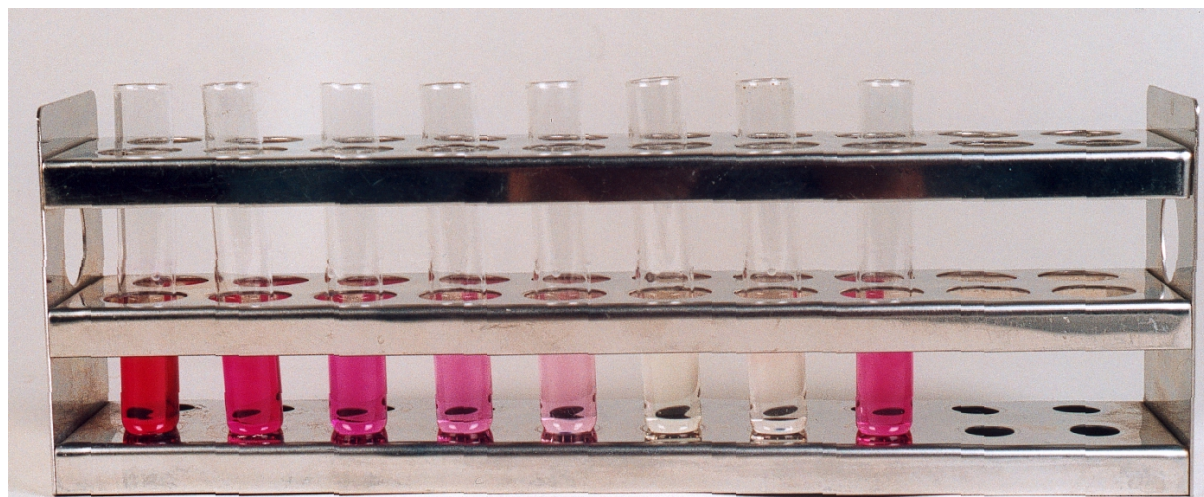


Abb. 2: Schnelltest für den Nachweis der Guanidylgruppen von Creatin und Arginin. Die Testansätze 1 - 6 (von links nach rechts) enthalten 160, 80, 40, 20, 10 und 0 µg Creatin·H₂O; Ansatz 7 enthält 160 µg Creatinin; Ansatz 8 enthält 80 µg L-Arginin·HCl

Ergebnisse

Schnelltests auf Magnesium und Chlorid verliefen negativ bzw. zeigten nur Spurenkonzentrationen an (0 % Magnesium, 0,04 % Chlorid). Auch Lactat konnte nicht nachgewiesen werden. Sowohl Kochsalz als auch Magnesiumlactat kamen somit nicht als Ursache des weißen Belages der Rohwürstchen in Betracht. Von weiteren Standarduntersuchungen auf zusätzliche Ionen und Aminosäuren wurde abgesehen, da diese bereits bei früheren Untersuchungen wiederholt negativ waren (KÜHNE *et al.* 1986; KÜHNE *et al.* unveröffentlicht).

Der modifizierte Voges-Proskauer Test reagierte stark positiv mit dem Rohwurst-

belag sowie den Reinsubstanzen von Arginin und Creatin, nicht aber mit Creatinin (Abb. 2). Damit lag nahe, dass Creatin ein wesentlicher Inhaltsstoff des Belages sein könnte. Die massenspektrometrische Untersuchung bestätigte diese Vermutung zweifelsfrei. Die dominanten Massen des Creatins ($m/z=43$; Abspaltung des Aminoiminomethylrests im Zuge einer α -Spaltung und $m/z=113$; Wasserabspaltung) wurden auch für den Belag gefunden (Abb. 3). Die große Ähnlichkeit der beiden Spektren ließ einen sehr hohen Creatin-Gehalt des Belages vermuten. Die quantitative enzymatische Bestimmung ergab einen Gehalt von ca. 83 % Creatin. Der Creatinin-Gehalt lag dagegen unter der Nachweisgrenze des Enzymtests (Tab. 1).

Tab. 1: Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen

Probe	Creatin (mg/g)	Creatinin (mg/g)	D(-)-Lactat (mg/g)	L(+)-Lactat (mg/g)
Rohwurstbelag (Charge I)	830 (Nwg = 30)	< 50 (Nwg = 50)	< 16	< 16
Rohwurst	2,43 (Nwg = 0,3)	0,42 (Nwg = 0,3)	2,89 (Nwg = 0,2)	7,99 (Nwg = 0,2)
Gewürz	< 3	< 3	< 3	< 3

Messfehler < 5%; Nwg, Nachweisgrenze

Der pH-Wert der Würstchen lag nach Homogenisieren in 0,9 % NaCl bei pH 5,86 und bei direkter Messung mittels Einstichelektrode bei pH 5,77. Die Gehalte an Creatin, Creatinin sowie D(-)- und L(+)-Lactat sind in Tab. 1 zusammengefasst, die entsprechenden Gehalte im Rohwurstgewürz lagen unterhalb der Nachweisgrenze. Die mikrobiologische Untersuchung der Rohwurst (ohne Darm) ergab eine Gesamtkeimzahl von 10^3 KBE/g und

für die Milchsäurebakterien weniger als 10^4 KBE/g. Der a_w -Wert der Würstchen war 0,812. Das Ergebnis der mikrobiologischen Untersuchung, der relativ hohe pH-Wert sowie der relativ niedrige D(-)-Lactat-Wert der Wurst deuten darauf hin, dass es sich bei den dünnkalibrigen Rohwürstchen um ein kaum fermentiertes, vor allem durch Trocknung stabilisiertes Erzeugnis handelt.

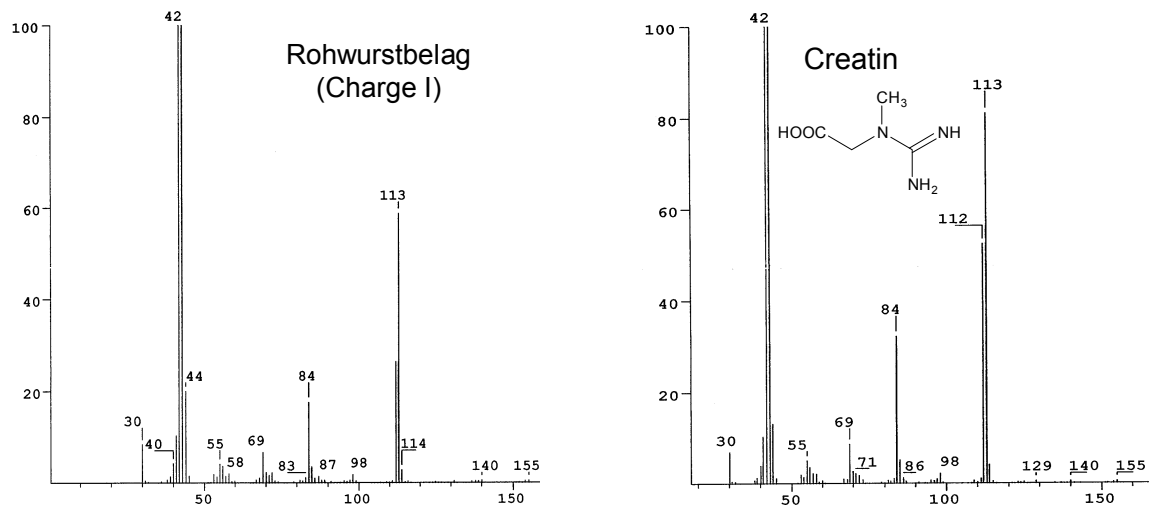


Abb. 3: Massenspektren vom Rohwurstbelag und von Creatin-Monohydrat

Diskussion

Für die Entstehung von Ausblühungen auf der Oberfläche von verpackten Rohwürsten kommen zunächst solche Inhaltsstoffe in Betracht, die in der Rohwurst in größerer Konzentration vorliegen. Dazu zählt sicherlich die Milchsäure, deren Gesamtmenge sich aus der fleischeigenen Milchsäure des *post rigor* Muskels und der im Zuge der Rohwurstfermentation von den Milchsäurebakterien aus Zuckern produzierten Milchsäure zusammensetzt. In fermentierten Rohwürsten ist je nach Rohwurst-Typ mit einem Lactat-Gehalt von 8 - 14 g/kg (lang gereifte Produkte französischer Art) oder mit bis zu 25 g/kg Trockengewicht (kurz gereifte Produkte belgischer/deutscher Art) zu rechnen (GIRARD *et al.* 1989 coref. KRÖCKEL 1995; DE KETELAERE *et al.* 1974 coref. DAINTY

und BLOM 1995). L(+)-Lactat entsteht im Muskel von Säugetieren vor allem aus dem Abbau von Glykogen. Zur Rohwurstherstellung eingesetztes Frischfleisch enthält bereits bis zu 100 mmol L(+)-Lactat/kg. Im Vergleich dazu liegt der Anteil des Magnesiums im *post rigor* Muskel mit 10 mmol/kg (LAWRIE 1995) deutlich niedriger. Allerdings würde bereits ein Bruchteil dieser Menge ausreichen, um die von KÜHNE *et al.* (1986) beschriebenen Ausblühungen von Mg-DL-Lactat zu erhalten.

Da im aktuellen Fall weder Lactat noch Magnesium in den Ausblühungen gefunden wurden, richtete sich der Blick auf andere potentiell ursächliche Fleischkomponenten. Dabei fiel der relativ hohe Gehalt an Creatin auf.

Der *post rigor* Muskel enthält ca. 75 % Wasser, 19 % Proteine, 2,5 % Lipide, 1,2 % Kohlenhydrate und 2,3 % verschiedene lösliche, nicht proteinartige Verbindungen (LAWRIE 1995). Der Anteil anorganischer Bestandteile liegt bei 0,65 %, wobei Phosphat und Kalium mit 0,20 und 0,35 % am häufigsten vorkommen. Die löslichen N-haltigen, nicht proteinartigen Verbindungen setzen sich zusammen aus 0,55 % Creatinin, je 0,35 % Aminosäuren und Carnosin/Anserin, 0,3 % Inosinmonophosphat und 0,1 % di- und triphosphorylierte Nukleotide. Dabei dürfte sich der angegebene Wert für Creatinin auf die Summe aus Creatin (Cr), Creatinphosphat (CrP) und Creatinin (Cn) beziehen.

Anderen Quellen zufolge findet man Creatin-Gehalte von 0,3 - 0,6 % in frischem Rindfleisch (BELITZ und GROSCH 1987), 0,05 - 0,4 % im Muskelsaft der Wirbeltiere (RÖMPP 1995), bis zu 35 mmol Creatin (ca. 5 g/kg) sind in rohem Fleisch enthalten (HARRIS *et al.* 1997), ein Wert wie er auch für Schweinefleisch angegeben wird (BALSOM *et al.* 1994). In Hähnchenbrust und Rindfleisch (*stewing beef*) wurden 32 und 28 mmol/kg nachgewiesen. Im Vergleich dazu liegen die Creatinin-Gehalte in frischem Fleisch lediglich bei 1 - 3% der Creatin-Gehalte. Erst längeres Kochen führt zu höheren Creatinin-Gehalten (CAMBERO *et al.* 1992; DEL CAMPO *et al.* 1998; HARRIS *et al.* 1997). Generell begünstigt eine thermische Behandlung von Creatin-haltigen Lösungen die Bildung von Cn, welches aus diesem Grund im Fleischextrakt in höherer Konzentration vorliegt als im rohen Fleisch.

Creatinin ist ein Abbauprodukt des Creatins und wird im lebenden Organismus über die Niere ausgeschieden, während Creatin resorbiert wird. Rohes Fleisch enthält daher vor allem Creatin. Ursache für den Abbau von Creatin ist die Instabilität des Creatins in wässriger Lösung und die damit verbundene, unter Wasserausschluss und intramolekularem Ringschluss erfolgende Umwandlung in Creatinin. Creatinphosphat ist ein Energiepuffer im lebenden Muskel und liegt im Fleisch

praktisch nicht vor. Im ruhenden Muskel findet man 25 mM Creatinphosphat und 13 mM Creatin (STRYER 1991).

Die relativ hohen Konzentrationen von Creatin im Fleisch erklären sich dadurch, dass die phosphorylierte Form des Creatins eine wichtige Reserve für die Regeneration des ATP im arbeitenden Muskel darstellt. Chemisch gesehen ist Creatin eine niedermolekulare organische Verbindung mit einem Molekulargewicht von 131 g/mol. Creatin besitzt eine N-Methylguanidinogruppe, weist also strukturelle Ähnlichkeit zu Arginin auf, das eine Guanidinogruppe im Molekül enthält (vgl. Abb. 3). Creatin wurde 1835 von CHEVREUL erstmals beschrieben und nach dem griechischen Wort für Fleisch (*kreas*) benannt. In konzentrierten wässrigen Lösungen bildet es farblose, monokline Kristalle (ANONYM 2001). Ein Gramm des Monohydrates löst sich in 75 ml Wasser (bei 20 °C). Diese relative geringe Löslichkeit erklärt die Neigung des Creatins zu Ausblühungen auf Rohwurstoberflächen.

Untersuchungen zum Creatingehalt in fermentierten Rohwürsten lagen bislang nicht vor. Wie unsere Ergebnisse zeigen, bewirkt der Herstellungsprozess keine wesentliche Veränderung des Creatingehaltes.

Ausgehend von der Gesamtlänge der Würstchen und dem mittleren Kaliber wurde die gesamte Wurstoberfläche näherungsweise auf 1500 cm² geschätzt. Nicht die gesamte Wurstoberfläche sondern etwa 50 % waren von den Ausblühungen betroffen. Die durch Abstreifen gewonnene Belagmenge betrug ca. 25 mg, so dass von 33 - 35 µg Belag/cm² ausgegangen werden kann. Ausgehend von der Einwaage (456 g), einem Fettgehalt der Würstchen von 50 %, einem Trocknungsverlust von 50 % und einem Creatingehalt im Schweinefleisch von 5 g/kg errechnet sich eine Gesamtmenge von 2,28 g Creatin (2280 mg). Die Ausblühungen entsprechen damit lediglich 1 - 2 % des vorhandenen Creatins.

Kristalline, oberflächliche Ausblühungen auf Rohwürsten lassen sich mit dem hier neu beschriebenen Schnelltest ohne großen Aufwand auf die mögliche Anwesenheit von Creatin prüfen. Das Nachweisprinzip beruht auf dem in der Mikrobiologie bekannten Voges-Proskauer-Test zum Nachweis von Acetoin, das z. B. von bestimmten *Enterobacteriaceae* und Milchsäurebakterien in Glucose haltigen Nährmedien gebildet wird (LEVINE *et al.* 1934, O'MEARA 1931, LEIFSON 1932, BARRIT 1936). In der hier beschriebenen Form wird Acetoin im stark alkalischen Milieu mittels Luftsauerstoff zu Biacetyl oxidiert, welches mit freien Guanidylgruppen und 1-Naphthol rot gefärbte Verbindungen ergibt. Solche Gruppen finden sich im Creatin, Arginin, Agmatin, der Guanidinoessigsäure und Dicyanamid (EDDY 1961).

Traditionell wird zum Nachweis von Creatin und Creatinin die FOLIN-Methode herangezogen. In der sog. JAFFÉ-Reaktion reagiert hier das Creatinin mit alkalischem Pikrat. Creatin muss dabei jedoch erst durch längeres Erhitzen in saurem Milieu in Creatinin umgewandelt werden. Einige offizielle Methoden

arbeiten nach diesem Prinzip (AOAC 1984). Für die quantitative Bestimmung von Creatin in Fleisch und Fleischerezeugnissen wurden aber auch die 1-Naphthol/Biacetyl Methode (MUSSINI *et al.* 1984, DVORÁK 1988, DEL CAMPO *et al.* 1998) und der enzymatische Nachweis (CAMBERO *et al.* 1992) mit Erfolg eingesetzt.

Schlussfolgerungen für die Praxis

Mit der Identifikation von Creatin als Hauptkomponente weißer Ausblühungen auf Rohwürsten eröffnen sich neue Denkansätze zur Vermeidung der Entstehung dieser unerwünschten Beläge. Die Beläge sind völlig harmlos für den Verbraucher, da sie lediglich aus dem in weit höheren Mengen in der Rohwurst selbst vorhandenen Creatin bestehen.

Danksagung. Frau Jutta Popp, Frau Ruth Kolb und Frau Hannelore Ponert danken wir für die hervorragende technische Assistenz. Herrn M. Glaessner (Universität Bayreuth) danken wir für die Aufnahme der Massenspektren.

Literatur

Anonym (1981) Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: 07.00/15 - Bestimmung von L- und D-Milchsäure (L- und D-Lactat) in Fleischerzeugnissen.

Anonym (1984) *Food Analysis*. Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica, Mannheim.

Anonym (1999) *Mikrobiologie-Handbuch*. Merck, Darmstadt, S. 197.

Anonym (2001) *Merck-Index*, 13th Edition. Merck & Co., Whitehouse Station, New Jersey, USA.

AOAC (1984) *Official Methods of Analysis*, 14th edn. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA.

Balsom, P. D., Söderlund, K., Ekblom, B. (1994) Creatine in humans with special reference to creatine supplementation. *Sports Med.* 18(4), 268-280.

Barrit, M. (1936) The intensification of the Voges-Proskauer reaction by the addition of α -Naphthol. *J. Path. Bact.* 42, 441-454.

Belitz, H. D., Grosch, W. (1987) *Food chemistry*. Springer Verlag, Berlin.

Cambero, M. I., Seuss, I., Honikel, K. O. (1992) Flavour compounds of beef broth as affected by cooking temperature. *J. Food Science*, 57, 1285-1290.

Dainty, R., Blom, H. (1995). Flavour chemistry of fermented sausages. In: G. Campbell-Platt and P. E. Cook (eds.) *Fermented Meats*. Blackie Academic & Professional, London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, pp. 176-193.

Del Campo, G., Gallego, B., Berregi, I., Casado, J. A. (1998) Creatinine, creatine and protein in cooked meat products. *Food Chemistry* 63, 187-190

Dvorák, Z. (1988) Flow-injection determination of creatine in animal tissues. *Analytica Chimica Acta* 208, 307-312.

Eddy, B.P. (1961) The Voges-Proskauer reaction and its significance: A review. *J. Appl. Bact.* 24, 27-41.

Ettel, W., Tuor, A. (1977) Enzymatische Gesamtkreatininbestimmung in Fleischextrakt. *Dt. Lebensm. Rundschau* 73, 357-361.

Harris R. C., Lowe, J. A., Warnes, K., Orme, C. E. (1997) The concentration of creatine in meat, offal and commercial dog food. *Research in Veterinary Science* 62, 58-62.

Kröckel, L. (1995) Bacterial fermentation of meats. In: G. Campbell-Platt and P. E. Cook (eds.) *Fermented Meats*. Blackie Academic & Professional, London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, pp. 69-109.

Kühne, D., Stiebing, A. und Kolb, R. (1986) Unerwünschter Belag der Rohwurst-Oberfläche. Jahresbericht der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, S. C20.

Lawrie, R. (1995) The structure, composition and preservation of meat. In: G. Campbell-Platt and P. E. Cook (eds.) *Fermented Meats*.

Blackie Academic & Professional, London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, pp. 1-38.

Leifson, E. (1932) An improved reagent for the acetyl-methyl-carbinol test. *J. Bact* 23, 353-354.

Levine, M., Epstein, S. A., Vaughn, R. H. (1934) Differential reaction in the colon group of bacteria. *Am. J. Publ. Hlth.* 24, 505-510.

Mussini, E., Colombo, L., De Ponte, G., Marcucci, F. (1984) Determination of creatine in body fluids and muscle. *J. Chromatography* 305, 450-455.

O'Meara, R. (1931) A simple delicate and rapid method of detection the formation of acetyl-methylcarbinol by bacteria fermenting carbohydrates. *J. Path. Bact.* 34, 401-406.

Römpp, (1995) *Lexikon Lebensmittelchemie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

Stryer, L. (1991) *Biochemie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York.

Voges, O., Proskauer, B. (1898) Beitrag zur Ernährungsphysiologie und zur Differentialdiagnose der hämorrhagischen Septicämie. *Z. Hyg. Infekt.* 28, 20-32.