# EINIGE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ACETONGEHALT IM FLEISCH, BLUT UND HARN VON SCHLACHTTIEREN.

von Hugo Fredholm.

Mitteilung aus der Abteilung für Lebensmittelhygiene der Kgl.
Tierärztlichen Hochschule, Stockholm, und dem Forschungslaboratorium des Sveriges Slakteriförbund, Stockholm.

eta - Hydroxybuttersäure ist im normalen Muskelfleisch vorhanden. Was die anderen Acetonkörper oder ketonischen Körper hauptsächlich die Acetylessigsäure und das Aceton betrifft, sind die Ergebnisse der Litteratur widersprechend. Die Ketokörper scheinen durch Oxydation der aus der Verseifung der Lipoide sich bildenden Fettsäuren oder beim Abbau der aus den Proteinen hervorgehenden Aminosäuren zu entstehen. Dagegen ist die Entstehung der Ketokörper aus Zuckerarten noch nicht mit Bestimmtheit festgestellt.

Die Zuckerarten sind dagegen für die Zerstörung der Ketokörper notwendig. Diese Tatsache ist für die Kenntnis der physiologischen und pathologischen Zustände der Acetonämie wichtig, denn ein Mangel an Zuckerarten kann infolge unzureichender Menge oder Abwesenheit von Zuckerarten in der Nahrung oder infolge Muskelermüdung, Fieber, Trächtigkeit und anderen Arten von übermässigem Verbrauch an Zuckerarten oder infolge Diabetes oder schliesslich infolge Schädigung der glucosiden Funktion bei gewissen Leberaffektionen oder hormonalen Störungen auftreten.

Eine degenerierte Leber kann dagegen vorliegen, ohne dass das Fleisch Aceton enthält.

Unter dem Namen mania puerperalis beschrieb Landel (1848) wahrscheinlich zum ersten Male die Acetonämie der Tiere. Erst in den dreissiger Jahren wurde die Krankheit mehr allgemein diagnostiziert und ihre grosse ökonomische Bedeutung mehr deutlich. Heute wissen wir, dass die Acetonämie nicht nur von grosser unmittelbarer Bedeutung als Krankheit, die sterblich sein kann, für den Viehbesitzer ist. Die Bedeutung der Krankheit für die Milchproduktion wurde immer klarer. Schliesslich spielt in letzter Zeit die Verminderung des Fleischwertes bei Schlachttieren infolge Acetongeruch eine immer grössere, praktische Rolle.

Immer mehr Kenntnis ist in den letzten Jahren über die Pathologie, die Physiologie sowie über die Behandlungsmöglichkeiten der Krankheit gesammelt worden. In vielen Fällen ist die Kontrolle der Krankheit jetzt möglich.

Von grösstem Interesse ist also - und dies nicht nur aus veterinärmedizinischen sondern auch aus lebensmittelhygienischen Ursachen - dass zuverlässige und am besten auch schnelle Methoden zur Verfügung stehen für den Nachweis und für die Bestimmung der Menge Aceton sowie gleichartiger Stoffe, besonders im Blut und Fleisch. Wie es oft der Fall ist, wenn nur organoleptische Methoden zur Verfügung stehen, können leicht sehr unrichtige Voraussetzungen z.B. für Kassation vom Fleisch vorliegen.

Der Zweck vorliegender Untersuchung war erstens - nachdem eine zuverlässige Bestimmungsmethode festgestellt war - die Menge Aceton im Fleisch von Tieren zu bestimmen, die von Acetonämie leideten, und womöglichst vom Blut derselben Tiere, was, im Zusammenhang mit s.g. Notschlachten, ohne den Tieren unnötiges Leiden zu verursachen, möglich ist. Die Absicht war auch den Acetongehalt im Fleisch von scheinbar frischen Tieren zu bestimmen. In gewissen Fällen war es auch möglich, die Bestimmung im Urin der Tiere auszuführen. Wenn auch die Untersuchung erstens beabsichtigte, einen mehr zuverlässigen Haltepunkt für die Beurteilung von s.g. Aceton-Fleisch aus lebensmittelhygienischem Gesichtspunkt zu erhalten, kann es sein, dass das vorliegende Material aus veterinärpathologischem und veterinärmedizinischem Gesichtspunkt von Interesse ist.

### METHODISCHES

Für die qualitative und halbquantitative Bestimmung von Aceton und gleichartig gebauten Stoffen sind mehrere Verfahren im Gebrauch. Oft sind sie nicht spezifisch oder geben, aus anderen Gründen, fehlerhafte Werte. Einige dieser Methoden von besonderem Interesse werden hier erwähnt.

Bougault & Gros (1922) haben die Anwendung vom Nesslerschen Reagens für die qualitative Bestimmung von Aceton im Urin vorgeschlagen. Diese Methode ist von Blanchard & Houdinière (1937).

für den Nachweis von Aceton im Fleisch gebraucht. Dieselben Verfasser haben (1940) die Methode auf ein Destillat von Fleisch angewandt und sie für halbquantitative Bestimmung modifiziert. Leider ist die Methode sehr unspezifisch und die halbquantitative Modifikation ganz zu unempfindlich, um in vielen Fällen eine praktische Bedeutung zu haben. Die Methode kann also nur für Acetongehalte, die 0,95 mg % übersteigen, gebraucht werden. Die von Blanchard & Houdinière (1940) angemeldeten Fälle von Acetongeruch im Fleisch haben alle mehr als 1 mg % Aceton gezeigt. Wir haben doch viele ökonomisch bedeutende Fälle von Acetonfleisch mit unter 0,5 mg % Aceton.

Van Slyke (1917) und van Slyke & Fitz (1917, 1932) haben eine wohlbekannte Methode für die quantitative Bestimmung von der totalen Menge Acetonkörper im Blut ausgearbeitet. Die Methode ist u.a. von Sampson & Boley (1945) für die Bestimmung im Blut von Rindern gebraucht. Wie bekannt, hat die Methode bedeutende Begrenzungen, wozu kommt, dass es im gegenwärtigen Falle von grösstem Gewicht war, das Aceton allein bzw. Aceton und Acetylessigsäure bestimmen zu können.

Ljungdahl (1919) beschreibt die jodometrische Bestimmung von Aceton, und seine Methode wird als Mikromethode für die Bestimmung in Blut von Rappaport & Baner & Tiqva (1942-43) gebraucht. Aus bekannten Gründen ist die Methode nicht spezifisch. Die Mikromethode leidet ausserdem von dem Fehler, immer hohe Blindprobe zu geben, normal höher als was der Menge Aceton entspricht. Das Aceton wird also als eine verhältnismässig kleine Differenz zwischen zwei grossen Zahlen erhalten. Die von Böhme & Winkler (1954) angegebene Methode für die Bestimmung von Aceton im Blut und im Urin mit 2,4 - Dinitrophenyl-hydrazin, das in alkalischem Medium eine koloremetrisch bestimmbare Farbe mit Aceton und mehreren anderen Körpern gibt, sollte auch erwähnt werden. Die Empfindlichkeit der Methode ist leider nicht besonders gross (0,5 mg %).

Schön & Lippach (1956) beschrieben eine modifizierte Methode, die dasselbe Reagens, 2,4 - Dinitro - phenylhydrazin benutzt aber in einer ziemlich komplizierter Arbeitsweise eine viel grössere Empfindlichkeit hat. Dieser Arbeitsgang ist von uns nicht geprüft.

Die von Eegriwe (1943) angegebene Methode zum Nachweis von Aceton unter Anwendung von Guajakoldialdehyd konnte von uns nicht in quantitativer oder halbquantitativer Richtung verwendet werden, auch nicht die von Opfer - Schaum (1943) beschriebene qualitative Methode die p-Nitrophenylhydrazin als Reagens benutzt.

Nash & Lister & Vobes (1954) vergleichen einige halbquantitative Bestimmungsmethoden für Acetonkörper im Harn und zwar die wohlbekannten Rothera (1908), Gerhardt - und anderen Ausführungsformen der Nitroprussidmethode. Sie empfehlen die Nitroprussidmethode in einer angegebenen Arbeitsweise. Weil es von Interesse sein könnte "eine einfache "Tablettenmethode" in der Praxis zu benutzen, haben wir die Zuverlässigkeit der Methode näher untersucht und berichten darüber unten.

Die Reaktion zwischen Salicylaldehyd und Aceton in alkalischer Lösung wurde von Behre & Benedict (1926) für die Bestimmung von Acetonlörpern in Blut und Urin benutzt. Thomson (1946) hat die Reaktion mit besonderem Hinblick auf die Spezifizität untersucht.

Unter Benutzung von einer Mikrodiffusionskammer nach Conway haben Thin und Robertson (1952) eine Salicylaldehydmethode für die Acetonbestimmung im Blut angegeben. Adler (1957) beschrieb eine Methode für den Nachweis und ungefähre Bestimmung von Aceton im Blut mittels Salicylaldehyd. Die Methode ist als eine Indikatorpapiermethode entwickelt. Auch Pawan (1958) benutzt die Methode an Papier, das jedoch vorher mit 50 % Anilin behandelt ist. Solche Ausführungsformen geben nie genaue Werte, können doch in der Feldarbeit von Interesse sein.

Wir sind zu zwei Ausführungsformen der Reaktion zwischen Salisylaldehyd und Aceton gekommen, die sehr empfindlich sind. In Kulmbach haben wir, Fredholm (1956), eine vorläufige Mitteilung gegeben. Die eine Methode (I) ist zunächst für sehr genaue Bestimmungen geeignet, während die andere ( II ) eine Schnellmethode für die Praxis ist, die hinreichend genaue Werte gibt, um eine sichere Beurteilung zu erlauben. Die Reaktion zwischen Salicylaldehyd und Aceton ist zwar nicht spezifisch. Vielmehr geben mehrere Körper, die eine reaktionsfähige Methylengruppe enthalten, die Reaktion. So wie die Reaktion unten beschrieben wird, ist indessen einerseits die Empfindlichkeit der Reaktion zwischen Salicylaldehyd und Aceton grösser als die Empfindlichkeit anderer möglichen Reaktionen im System. Anderseits ist durch die spezielle Methodik dafür geleistet, dass es nur mit Wasserdampf flüchtige Acetonkörper im Reaktionssystem gibt. Wenn Fleisch oder Blut untersucht wird, kommt nur Aceton in Frage, die entweder frei oder als Acetylessigsäure im Untersuchungsmaterial vorhanden ist.

Die benutzte Methode ( I ) war die folgende:

Die Probe wurde fein zerteilt. Gewöhnlicherweise wurde dann zwischen 10 und 25 g abgewogen. Auch viel kleinere Mengen können eingesetzt werden. In einem Destillierkolben von 1 Liter Inhalt wurde die Probe mit 300 ml Wasser, 0,5 ml 50%-iger H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und 40 g kryst. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in der genannten Reihenfolge versetzt. Nach jedem Zusatz wurde genau geschüttelt. Der Kolben wurde im Destillationsaufsatz festgesetzt, und es wurde in einen Erlenmeyerkolben von 100 ml mit zugehörigem Glaspfropfen überdestilliert, nachdem die Vorlage mit 10 ml 0, 1-n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> beschickt war. Falls Gummistopfen im Destillationssystem benutzt werden mussten, wurden diesse mittels Al-Folien während der Destillation gedeckt. Ein Kjeldahldestillationsaufsatz erwies sich für die Destillation als geeignet.

In einem Messkolben wurde das Destillat bis zu genau 100 ml mit Wasser verdünnt und dann wieder in den Erlenmeyerkolben zurück-gegossen. Ein aliquoter Teil, meistens 1 bis 5 ml, wurde abpipettiert und einer kolorimetrischen Bestimmung unterworfen, die folgenderweise ausgeführt wurde.

5 ml vom verdünnten Destillat bzw. 1 ml davon nebst 4 ml H<sub>2</sub> O u.s.w., wurde in einer Glasküvette mit Glaspfropfenüberführt. 5 ml 32 %-iges NaOH und dann 0,60 ml Salicylaldehydreagens wurde zugesetzt, wonach die Lösung geschüttelt wurde. Das Salicylaldehydreagens wurde aus 10 ml reinstem, frisch destilliertem Salicylaldehyd und 50 ml 96 %-igem Ethylalkohol bereitet und in einer Flasche von braunem Glas bewahrt. Die Glasküvetten wurden im Wasserthermostat (Höppler) während 30 min. bei 50,0 °C erhitzt. Sie wurden dann während 45 min. bei Zimmertemperatur erkalten gelassen, wonach unter Benutzung von monochromatischem Licht der Wellenlänge 5250 Å kolorimetriert wurde. Die Wellenlänge 5250 Å wurde gewählt, nachdem das Absorptionsspektrum im ganzen sichtbaren. Gebiet aufgenommen war.

Die Eichkurve, die mit genau gekannten Mengen Aceton aufgenom men wurde, ist eine ausserordentlich scharfe Linie und genau reproduzierbar, Figur 1.

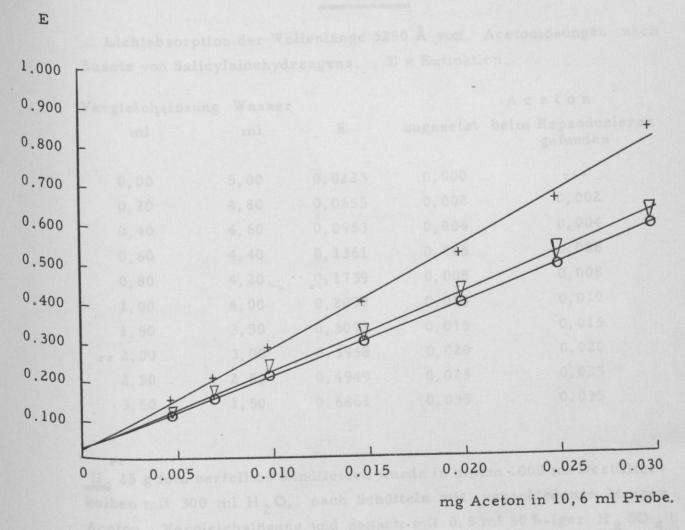


Fig.1. Absorption von Licht der Wellenlänge 5250 Å.

V Eichkurve. + Nach 2,5 h. O Nach 24 h.

Um den Einfluss der Zeit zwischen Fertigstellen der zu kolori - metrierenden Probe und Farbmessung zu zeigen sind in der Figur 1 auch die Kurven für 2 1/2 bzw. 24 Stunden eingezeichnet.

Die Eichkurve wurde regelmässig bisher während 5 Jahren aufgenommen und zwar jedesmal nach den folgenden zwei Methoden:

I. Von reinstem Aceton, <u>Baker's</u> analyzed, wurde 1,0000 g mit ausgekochtem, destilliertem Wasser zu 1000 ml verdünnt. Von dieser Lösung wurde 5,00 ml genommen, mit 50 ml 0,100-n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt und nach Schütteln mit ausgekochtem, destilliertem Wasser zu 500 ml verdünnt. Diese Lösung wurde als Vergleichslösung benutzt. Sie gab immer die folgenden Messergebnisse (Tabelle 1.).

Tabelle 1.

Lichtabsorption der Wellenlange 5250 Å von Acetonlösungen nach Zusatz von Salicylaldehydreagens. E = Extinktion.

Vergleichslö	sung Wasser			Aceton
ml	ml	E	zugesetzt	beim Reproduzieren gefunden
0,00	5,00	0,0223	0,000	
0,20	4,80	0,0655	0,002	0,002
0,40	4,60	0,0953	0,004	0,004
0,60	4,40	0,1361	0,006	0,006
0,80	4,20	0,1739	0,008	0,008
1,00	4,00	0,2097	0,010	0,010
1,50	3,50	0,3098	0,015	0,015
2,00	3,00	0,3958	0,020	0,020
2,50	2,50	0,4949	0,025	0,025
3,50	1,50	0,6861	0,035	0,035

II. 25 g fein zerteiltes Rindfleisch wurde in einem 1000 ml Destillierkolben mit 300 ml H<sub>2</sub>O, nach Schütteln mit verschiedenen Mengen Aceton - Vergleichslösung und danach mit 0,5 ml 50 %-iger H 2 SO 4 und 40 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(kryst.) versetzt. Es wurde dann wie oben beschrieben destilliert und die Licht-absorption gemessen. ( Tabelle 2, 3 und 4 ).

Tabelle 2.

Lichtabsorption der Wellenlänge 5250 Å vom Destillat von mit genau gekannten Mengen Aceton versetztem Rindfleisch. E = Extinktion.

Vergleichslösung		Ace	ton
ml	E	mg pr	o ml
		zugesetzt	gefunden
0,00	0,0269		
0,50	0,1198	0,005	0,005
1,00	0,2076	0,010	0,010
1,50	0,3116	0,015	0,015
2,00	0,3872	0,020	0,019
2,50	0,4737	0,025	0,024
3, 50	0,6737	0,035	0,034

Die Blindprobe gab eine Lichtdurchlässigkeit T von 95,0 %. Der Wert von  $E = 2 - \log T = 0,0269$  der zweiten Kolumne entspricht T = 94,0 %. Das im Fleisch vorhandene Aceton ist für den Unterschied verantwortlich.

Tabelle 3.

Lichtabsorption.

Der Gehalt des Fleisches an Aceton 0,09 mg %.

Menge Destill	lat	Acet	o n
in ml pro l	00 ml E	mg %	6
		vorhanden	gefunden
5,00	0,0645	0,17	0,18
5,00	0,0809	0,25	0,25
5,00	0,0964	0,33	0,31
5,00	0,1141	0,41	0,39
5,00	0,1512	0,57	0,54
5,00	0,1871	0,73	0,70
5,00	0,2291	0,89	0,87
5,00	0, 3116	1,29	1,22
5,00	0,3768	1,69	1,50
2,50	0, 3028	2,49	2,37
2,50	0,3893	3, 29	3, 10

Die gefundenen Werte der Lichtabsorption (Kolumne 2 der Tabelle 3) sind hier zum Acetongehalt des Fleisches (Kulumne 4) umgerechnet.

## Tabelle 4.

Acetonbestimmung im Fleisch nach Methode 1.

Lichtwellenlänge 5250 Å. Die dritte Kolumne, Messungsvolumen, gibt die Menge Destillat von insgesamt 100 ml, die zur Messung genommen wurde.

Extinktion	Lichtdurch-	Messungs-	Aceton	in mg %	Abweichung
E	lässigkeit T	volumen ml	Gefunden	Vorhanden	in mg %
0.0696	85.2	5.00	0.20	0.15	+ 0.05
0.0809	83.0	5.00	0.24	0.23	+ 0.01
0.1013	79.2	5.00	0.33	0.31	+ 0.02
0.1163	76.5	5.00	0.40	0.39	+ 0.01
0.1543	70.1	5.00	0.56	0.55	+ 0.01
0.1884	64.8	5.00	0.70	0.71	- 0.01
0.2262	59.4	5.00	0.86	0.87	- 0.01
0.3099	49.1	5.00	1.21	1.27	- 0.06
0.3862	41.1	5.00	1.53	1.67	- 0.14
0.3054	49.5	2.50	2.40	2.47	- 0.07
0.3851	41.2	2.50	3.07	3.27	- 0.20
0.4609	34.6	2.50	3.69	4.07	- 0.38
0.3116	48.8	1.00	6.08	6.07	+ 0.01
0.3958	40.2	1.00	7.84	8.07	- 0.23
0.5498	28.2	1.00	11.08	12.07	- 0.99

Die Übereinstimmung zwischen vorhandener und gefunder Menge Aceton war ausgezeichnet. Die Behauptung von Nikitin und Verschinski (1937), dass die Farbstärke bei der alkalischen Kondensation von Salicylaldehyd mit kleinen Mengen von Aceton nicht proportional der Acetonkoncentration sein sollte, konnte bei unserer Arbeitsweise nicht bestätigt werden.

Die Bestimmung von Aceton im Blut, Harn und Milch wurde in ganz ähnlicher Weise ausgeführt. Die Genauigkeit ebenso wie die Reproduzierbarkeit waren gleich gut wie beim Fleisch.

Die Schnellmethode ( II ) wurde folgenderweise ausgeführt:

Eine weithalsige 100 ml Flasche aus Jenaerglas (Schott & Gen.) mit eingeschliffenem Glasstöpsel wurde mit 1,5 ml konz. H  $_2$  SO  $_4$ beschickt. Die Flasche wurde so geschwenkt, dass die Säure auch den niederen Teil der Flaschenwand anfeuchtet. In einer kleinen Schale mit flachem Boden wurde 1.00 g fein zerteilte Probe eingewogen. Die Probemenge wurde am Boden der Schale eben verteilt. Die Schale wurde dann mittels einer Pincette in die Jenaer Flasche eingeführt, der Glasstöpsel angebracht und die Flasche während 30 min auf kochendem Wasserbad erhitzt. Dann wurde die Flasche in fliessendem kaltem Wasser schnell abgekühlt, die kleine Schale ausgenommen und mit dest. H<sub>2</sub> O genau abgespühlt. Unter Kühlen und Rühren wurde 3,5 ml 13,5 n NaOH zugesetzt und der Flascheninhalt in einem Messkolben zu 25 ml verdünnt. Dann wurde die kolorimetrische Acetonbestimmung wie oben ausgeführt. Wenn die Genauigkeit der Messung nicht wichtig ist, kann eine einfache vergleichende kolorimetrische Messung ausgeführt werden.

Auch die Schnellmethode gibt sehr gut reproduzierbare Resultate und wenn die genaue Kolorimetrie benutzt wird, auch für die meisten Zwecke hinreinchend genaue Werte, wie es aus Tebelle 5 hervorgeht.

Tabelle 5.

Bestimmung von dem Gehalt an Aceton im Fleisch nach der Schnellmethode. Für die Messung der Extinktion wurde 5 ml entsprechend 0.200 g Fleisch genommen. Wellenlänge 5250 Å.

Probe	E Acatongeh	Lichtdurch- lässigkeit T in %	Aceto Gefunden	n in mg % Zugesetzt Gehalt des Fleisches	Abweichung in mg %
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11	0.0400 0.0458 0.0482 0.0706 0.0809 0.1135 0.1518 0.1675 0.2314 0.3054 0.3788	91.2 90.0 89.5 85.0 83.0 77.0 70.5 68.0 58.7 49.5	0.50 0.65 0.75 1.30 1.55 2.40 3.40 3.85 5.50 7.50 9.35	0.55 0.71 0.87 1.27 1.67 2.47 3.27 4.07 6.07 8.07	- 0.05 - 0.06 - 0.12 + 0.03 - 0.12 - 0.07 + 0.13 - 0.22 - 0.57 - 0.57 - 0.72

Im Mittel 94.0 % Aceton gefunden von der ganzen vorhandenen Menge.

Da die Genauigkeit der Schnellmethode nicht viel grösser durch eine längere Erhitzung auf dem Wasserbade wird und diese Methode nur für solche Acetonbestimmungen von Interesse ist, wo die zur Verfügung stehende Zeit kurz ist, und anderseits die Werte für die Zwecke der Methode zufrieden sind, dürfte die angegebene Arbeitsweise, die eine gute Reproduzierbarheit Gewähr leistet, vorzuziehen sein.

## Ergebnisse.

Normales Kuh-, Bullen- oder Stierenfleisch wurde in der Weise untersucht, dass von verschiedenen definierten Muskeln Proben ausgeschnitten wurden.

Es wurde gefunden, dass auch sogenanntes normales Vieh-Fleisch geringe Mengen von Aceton, bzw. Acetylessigsäure enthält. Es handelt sich gewöhnlicherweise um einige Hundertteile von mg %, wenn auch Mengen bis zu 0.11 mg % in Fleisch, das als Marktfleisch ohne Geruch bezeichnet war, vorhanden waren. Als typisch für Viehfleisch von Kühen, die ganz gesund sind, können folgende Werte bezeichnet werden (Tabelle 6).

# Tabelle 6.

Acetongehalt in der Gracilis-Muskel von frischen Kühen.

### SRB-Rasse.

Alter	Aceton gefunden
Jahren	mg %
3,5	0.056
4	0.050
15	0.060
1 5,5 (mag) Acet	0.058
7	0.056
7,5	0.056
8	0.062
10	0.044

Proben von Fleisch mit Acetongeruch sowie von Fleisch, das in dieser Hinsicht verdächtig war, wurden teils an verschiedenen Schlachthöfen (Stockholm, Göteborg, Uppsala), teils an der Tierärztlichen Hochschule, Stockholm, ausgenommen. Von grossem Interesse ist die grosse Streuung der Werte, die aus Tabelle 7 hervorgeht.

Tabelle 7.

Acetongehalt in einigen Proben von Rindfleisch, das von Tierärzten als Fleisch mit Acetongeruch bezeichnet wurde.

Nr		Art der Prob		Aceton	gefunden ng %
1	Gracilis,	Acetonämie		8	3, 3
2			bei dem Schl		, 75
3					, 90
4	11	Acetonämie,		1	1,19
5	11	11		16	6,00
6	11	Traum, Perit			7,7
7	. "	Mastit		(	0,12
8	11	Acetonämie,	fraglich	(	0,07
9	oneshale" m Flets	, min,		elben II	0,10
10	11	Lymfadenos			2,22
11		Acetonamie			1,34
12	11			Hara	8,42
13	11	Nekr . Mastit			0,10
14	11	Acetonämie			0,40
15	11	" )			8,30
15 a	Schulter,	11	Dasselbe Tier		8,28
16	"	11	8.40		7,04
16a	Gracilis,	112,80	Dasselbe Tier		7,00
17	3660 ,,	,, 3, 50	7.20		0,75
18		"D.38	Dasselbe Tier		0,77
	Schulter,	fragl.Acet.			0,11
19	Gracilis,	iragi, Acet.	Dasselbe Tier		0,10
20	Schülter,		)		

Aus mehreren Hunderten von Untersuchungen während der letzten 5 Jahren geht hervor, dass Gehalte von Aceton + Acetylessigsäure in Rindfleisch, die unter 0.10 mg pro 100 g Fleisch liegen,immer nur höchstens einen fraglichen Acetongeruch geben. Gehalte bis etwa 0.30 mg % erfordern eine gute organoleptische Erfahrung des Tierarztes, um das Fleisch als Marktfleisch mit Acetongeruch einwandfrei bezeichnen zu können. Leider kommt es auch vor, dass Fleisch als Fleisch mit Acetongeruch bezeichnet wird, ohne dass dies berechtigt ist. Solche Irrtümer sind nicht selten, wie die spätere objektive Bestimmung des Acetongehaltes gezeigt hat.

Der Gehalt an Aceton verschiedener Skelettmuskeln scheint recht nahe derselbe zu sein. Dagegen zeigt der gleichzeitige Gehalt an Aceton im Fleisch, Blut, Harn und Milch grosse Verschiedenheiten, wie Tabelle 8 zeigt. Die Blut-, Harn- und auch in einigen Fällen Milch-proben wurden unmittelbar vor oder bei dem Schlachten und die Fleischproben von denselben Tieren unmittelbar nach dem Schlachten genommen.

Acetongehalt im Fleisch, Blut, Harn und Milch desselben Tieres.

Proben	A	ceton	in mg %	
Bezeichnung	Fleisch	Blut	Harn	Milch
4061/4659	0.10	0.14		
4078/5114	0.14	0.21		
4256	0.44	0.74		
4095/15419	8.42	23.5		
VHB		8.40	48.7	3.1
V.P E. 374	2.80		45.0	
F.F. 23660	3.50	7.20	36.3	2.80
F.F.A	0.16	0.24	1.10	0.18

Der Acetongehalt des Harns eines Acetonämietieres schwenkt ziemlich stark, ist aber regelmässig höher als der entsprechende Gehalt des Blutes, der Milch und ganz besonders höher als der des Fleisches.

Es ist öfters behauptet, dass wenn man nur "Acetonfleisch "belüftet, verschwindet der Acetongeruch, weil Aceton ein sehr flüchtiger Stoff ist. Leider ist es nicht so, wie die Tabelle 9 zeigt. Eine Anzahl von ganzen Vierteln wie Proben einzelner Muskeln davon wurden gut belüftet, und der Acetongehalt vor und nach dem Belüften bestimmt.

In derselben Tabelle ist auch die Einwirkung von dem Kochen des Fleisches in Wasser mitgenommen.

Tabelle 9.

Acetongehalt von Rindfleisch vor und nach Belüften oder Kochen.

			in/
Proben Bezeichnung	Behandlung	Acetongehat	l t mg % nach
3825/2035	Belüften des		
Ganze	ganzen Viertels während:		
Vierteln	2 Tagen	8.30	8.08
	5 "	8.30	7.52
	9 "	8.30	7.04
246 Ganze	Dieselbe 2 Tagen	3.20	3.14
Vierteln	5 11 4 50 00	3.20	3.05
	9 "10,00	3.20	2.95
2360	Dieselbe		
	2 Tagen	8.30	7.40
l kg Proben	5 "	8.30	6.90
	9 "	8.30	6.12
3915	Kochen bei 100°C		
	20 min. 500 g Proben	7.70	5.30

Es gibt noch nicht eine einfache Methode, Fleisch mit Acetongeruch davon frei zu machen.

Wir haben auch verschiedene vergleichende Untersuchungen ausgeführt, um die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit von öfters in der medizinischen und tierärtzlichen Praxis benutzten sogenannten klinischen Methoden festzulegen. Leider geben alle solche von uns untersuchten klinischen Methoden grosse Fehler bei sehr mangelhafter Reproduzierbarkeit. Es mag hier nur einige Ergebnisse, die mit dem sogenannten Acetest, das auf Grund der Arbeit von Nash, Lister & Vobes (1954) enwickelt wurde, genannt werden, Tabelle 10.

Tabelle 10.

Acetest - Reaktion bei verschiedenem Gehalt von Aceton in Fleisch und Harn.

Probe	Aceton vorhanden mg %	Reaktion nach Acetest
Harn was the gender	0.25	Keine Reaktion
lackwels and Bestimm	15.00	" Moderate "
rillsch durchgepräft.	22.50	"Strongly positive "
Fleisch	0.10	Keine Reaktion
le"cine Methode ist ze	0.15	
allend die andere ei	1.30	u - a u u de la deservación de la companya de la co
chile limethode gibt l	4.50	n n n n
Vergleichslösung		Kaum zu beobachtende
von Aceton	10.00	Reaktion
unders my % genau ke	100.00	" Moderate "

16.

Es geht aus der Tabelle 10 hervor, dass die Methode für Fleisch überhaupt nicht brauchbar ist und für Harn nicht genügend empfindlich ist. In der Tabelle sind auch zwei Messungen an wässriger Vergleichslösung von Aceton, wie früher beschrieben bereitet, mitgenommen. Die geringe Empfindlichkeit und das ziemlich beliebige Bezeichnen der Reaktion ergibt sich daraus.

Sehr viel bessere Übereinstimmung und auch eine genügende Empfinlichkeit kann man mit Hilfe von gefärtben Lösungen erhalten, mit denen die mittels der Schnellmethode wie oben beschrieben erhaltenen Destillate verglichen werden. Hierüber wird in einer besonderen Mitteilung berichtet (H. Fredholm & K. Odengrim 1960).

## Zusammenfassung.

Die Verminderung des Fleischwertes bei Schlachttieren infolge Acetongeruch spielt eine immer grössere, praktische Rolle. Die Acetonämie ist demnach nicht nur von grosser unmittelbarer Bedeu-tung als Krankheit und für die Milchproduktion.

In der vorliegenden Arbeit werden verschiedene Methoden für Nachweis und Bestimmung von Aceton in Fleisch, Blut, Harn und Milch kritisch durchgeprüft. Zwei neue Ausführungsformen der Reaktion zwischen Salicylaldehyd und Aceton werden im einzelnen beschrieben. Die eine Methode ist zunächst für sehr genaue Bestimmungen geeignet, während die andere eine Schnellmethode für die Praxis ist. Auch die Schnellmethode gibt hinreichend genaue Werte, um eine sichere Beurteilung zu erlauben. So können Gehalte von Aceton in Fleisch, Blut, Harn und Milch im weiten Gebiet von einigen Hundertsteln bis mehr als hundert mg % genau bestimmt werden.

Es wurde gefunden, dass auch sogenanntes normales Viehfleisch geringe Mengen von Aceton bzw. Acetylessigsäure enthält. Es handelt sich gewöhnlicherweise um einige Hundertstel von mg %, wenn auch Mengen bis zu 0.11 mg % in Fleisch, das als Marktfleisch ohne Geruch bezeichnet war, vorhanden sein könnte.

Gehalte von Aceton+Acetylessigsäure in Rindfleisch, die unter 0.10 mg pro 100 gFleisch liegen, geben immer nur höchstens einen fraglichen Acetongeruch. Gehalte bis etwa 0.30 mg % erfordern eine gute organoleptische Erfahrung, um das Fleisch als Marktfleisch mit Acetongeruch einwandfrei zu bezeichnen. Es kommt oft vor, dass Fleisch als Fleisch mit Acetongeruch bezeichnet wird, ohne dass dies richtig ist.

Der gleichzeitige Gehalt an Aceton im Fleisch, Blut, Harn und Milch zeigt grosse Verschiedenheiten. Der Acetongehalt des Harns ist regelmässig viel höher als der des Fleisches und auch höher als der des Blutes und der Milch. Der Gehalt an Aceton im Blut ist höher als im Fleisch.

Es werden auch einige Bestimmungen von Aceton im Fleisch vor und nach Belüften oder Kochen ausgeführt. Diese zeigen nur eine geringe Abnahme des Acetongehaltes nach der Behandlung.

## Anerkennung.

Ingenieur Karl Odengrim ist mir bei der Ausführung einiger der in dieser Arbeit angegebenen analytischen Bestimmungen behilflich gewesen. Für seine genaue und geschickte Arbeit spreche ich meinen besten Dank aus.

## LITERATUR.

- Adler, J.H. 1957. A method for direct estimation of aceton content of blood samples. Cornell Vet. 47, 354 360.
- Behre & Allen, Jeanette, & Benedict, S.R. 1926. A colorimetric method for the determination of acetone bodies in blood and urine.

  Journ.biol.chem.70, 487 94.
- Blanchard L. & Houdinière A. 1937. Recherche sur la présence d'acétone dans le muscle des animaux de boucherie. Recueil de médecine vétérinaire 113, 811 819.

  1940. Techniques nouvelles de recherche et de dosages de l'acétone musculaire. Rec. Med. Vétérinaiere 116, 313 20.
- Bougault, J. & Gros, R. 1922. Nouvelles applications analytiques du réactif Nessler. Caractèrisation des acétones; dosages des aldéhydes. Journ.de pham.et chim. VII série, 26, 5 11.
- Böhme, H. & Winkler, O. 1954. Zur photometrischen Bestimmung geringer Mengen Aceton insbesondere in Blut und Harn. Z. Physiol. Chem, 296, 274 79.
- Eegriwe, E. 1943. Reaktionen und Reagenzien zum Nachweis organischer Verbindungen VI. Z. anal. Chem. 126, 134 38.
- Fredholm, H. 1956. Acetongehalt im Fleisch und im Blut von Schlachttieren. 2. Arbeitstagung europäischer Fleischforscher Kulmbach, 30. Juli - 2. August 1956. Die Fleischwirtschaft 8, 627.
- Fredholm, H. & Odengrim, K. 1960. In Manuskript.
- Landel, 1848, Se Udall, D.H. 1933. The Practice of Veterinary Medicine Ed.1, Ithaca.
- Ljungdahl, M. 1919. Eine Mikromethode zur Bestimmung des Total-Acetons im Blute. Biochem. Z. 96, 345.
- Nash, J. & Lister, J. & Vobes, D. H. 1954. Clinical tests for Ketonuria.

  The Lancet 801 804.
- Nikitin, E.K. & Verschinski, S.A. 1937. Zur Methodik der Aceton Bestimmung mittels der Salicylaldehydreaktion. Journal of
  applied Chem. (USSR) 10:4, 755 758.

- Opfer-Schaum, R. 1943. Mikroverfahren zum Nachweis von Aldehyden und Ketonen. Arch. Pharm. & Ber. Deutsch. Pharm. Ges. 281,380-84.
- Pawan, G.L.S. 1958. Micromethod for the quantitative determination of acetone and acetoacetate in biological fluids. Biochem. Journ. 68, 33-34.
- Rappaport, F. & Baner, B.C. & Petah Tiqva. 1942-43. Microdetermination of aceton and diacetic acid in blood.

  Journ, Lab. Clin. Med. 28, 1770 72.
- Rothera, A.C.H. 1908. A note on the sodium nitroprusside reaction for acetone. Journ. Physiol. 37, 491.
- Sampson, J. & Boley, L.-E. 1945. Some observations on the total ketone bodies of the blood of apparently healthy dairy cattle.

  The Cornell Veterinarian. 35, 314 20.
- Schön, H. & Lippach, I. 1956. Eine neue Farbreaktion zum Nachweis von Aceton, Acetessigsäure und s-Oxybuttersäure im Blut und Urin. Klin. Wochenschr. 34, 1083 1084.
- Thin, C. & Robertson, A. 1952. The estimation of acetone bodies.

  Biochem. Journ. 51, 218.
- Thomson, T. 1946. The specificity of the salicylaldehyde reaction for the detection of acetone. Journ. Soc. Chem. Ind. 65, 121 24.
- Van Slyke, D.D. 1917. Studies of Acidosis. VII. The determination of beta-hydroxybutyric acid acetoacetic acid and acetone in urine.

  Journ.biol.chem. 32,455 94.
- Van Slyke, D.D. & Fitz, R. 1917. Studies of Acidosis VIII. The determination of beta-hydroxybutyric acid, acetoacetic acid and acetone in blood. Journ.biol.chem. 32, 495 7.
- Quantitative Clinical Chemistry, Vol. II. Methods, Baltimore,