

(19) **DANMARK**



PATENTDIREKTORATET
KØBENHAVN

(12) **FREMLÆGGESESSKRIFT**

(11) **154667 B**



(21) Patentansøgning nr.: **3983/81**

(51) Int.Cl.⁴

G 01 N 21/64

(22) Indleveringsdag: **09 sep 1981**

G 01 N 33/12

(41) Alm. tilgængelig: **10 mar 1983**

(44) Fremlagt: **05 dec 1988**

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: -

(71) Ansøger: ***SLAGTERIERNES FORSKNINGSinSTITUT; Maglegårdsvej 2; 4000 Roskilde, DK**

(72) Opfinder: **Anna Birthe *Mortensen; DK**

(74) Fuldmægtig: -

(54) **Fremgangsmåde til detektering af ornelugt hos individuelle dyrekroppe, fortrinsvis slagtekroppe eller dele deraf**

(56) Fremdragne publikationer

DK ans. nr. 2029/79

GB off. g. skrift nr. 1057997

Andre publikationer. Houben Weyl: Methoden des Organischen Chemie, Stuttgart 1955, bind III, 2. del, side 487-90.

(57) Sammendrag:

3983-81

Ornelugt hos individuelle dyrekroppe, fortrinsvis slagtekroppe eller dele deraf, kan detekteres ved, at spektrofluorometriske data bestemmes for den individuelle krop eller del deraf, især på en ekstrakt af en kød- og/eller spækprøve fra den pågældende krop eller del deraf, og de således registrerede data sammenlignes med tidligere registrerede spektrofluorometriske data, der har statistisk sammenhæng med ornelugt.

Denne metode til ornelugtbestemmelse er på grund af hastighed, arbejdsindsats og nøjagtighed direkte anvendelig i forbindelse med slagteriers slagtelinier.

Ved talbehandling af de målte spektrofluorometriske data, eventuelt sammen med andre målte parametre, der har statistisk sammenhæng med ornelugt, kan opnås en sikkerhed i detektionen, der er tilfredsstillende for industriel kontrol og sortering af individuelle slagtekroppe.

DK 154667 B

-1-

Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til detektering af ornelugt hos individuelle dyrekroppe, fortrinsvis slagtekroppe eller dele deraf, ved hvilken der bestemmes én eller flere parametre med statistisk sammenhæng med ornelugt.

- 5 Kødudskæringer fra ukastrerede orner kan under og efter kogning eller stegning udvikle en ubehagelig aroma, såkaldt ornelugt. Ved kogning eller stegning af udskæringer fra kastrerede orner forekommer sådanne lugtgener derimod sjældent. Hangrise kastreres således sædvanligvis i en ung alder, for at man senere kan undgå
- 10 lugtgener ved tilberedningen af kødet i husholdningen.

Kastrationen af hangrisene har dog den ulempe, at fodereffektiviteten bliver lavere, og sygdomshyppigheden forøges, og samtidig fås en formindsket kødprocent i slagtekroppene.

- Der har været foreslået metoder til at detektere, om individuelle
- 15 slagtekroppe vil udvikle ornelugt ved tilberedning af udskæringer deraf, således at det bliver muligt at frasortere disse kroppe inden videreforarbejdning til udskæringer, der er beregnet for detailhandelen, og anvende de frasorterede kroppe industrielt, fx til konserver eller pølsefremstilling, hvor lugtudviklingen vil
- 20 være uden betydning.

I dansk fremlæggelsesskrift nr. 145.356 foreslås det således, at slagtekroppe af ukastrerede orner sorteres på grundlag af IR-spektrofotometriske transmissionsdata for en fedtprøve fra kroppen, idet der findes en statistisk sammenhæng mellem en subjektivt bestemt ornelugt hos en 5 prøve fra en slagtekrop og transmittansen for en fedtprøve fra kroppen målt i det infrarøde område. Metoden er imidlertid ikke tilstrækkeligt sikker til, at man alene kan basere sorteringen på metoden, idet der er en ikke ubetydelig risiko for, at der gennem kontrollen slipper slagtekroppe, der ved tilberedning vil udvikle ornelugt. I over- 10 ensstemmelse med dette foreslås det i det nævnte fremlæggelsesskrift, at der bestemmes én eller flere yderligere parametre med statistisk sammenhæng med ornelugt, fx koncentrationen af umættede fedtsyrer i fedtprøven, og at de således opnåede data anvendes sammen med de IR-spektrofotometriske data til detektion af ornelugt i den individuelle 15 slagtekrop. Der er med de beskrevne metoder dog stadig væsentlig risiko for, at udskæringer af slagtekroppe, der er behæftet med ornelugt, slipper ud i detailhandelen, eller også er de kendte supplerende analyser af en sådan art, at de ikke kan gennemføres i industriel skala. Fx kendes flere metoder til detektion af androstenon, som antages at udgøre en væsentlig faktor i ornelugt, men disse metoder er 20 langsommelige og arbejdskrævende og kan derfor hverken anvendes hver for sig eller sammen med den i dansk fremlæggelsesskrift nr. 145.356 omhandlede IR-metode til detektion af ornelugt hos slagtekroppe, der fremføres på en slagtelinie.

25 Det er formålet med den foreliggende opfindelse at tilvejebringe en industrielt anvendelig fremgangsmåde af den indledningsvis angivne art, ved hvilken der kan opnås en mere sikker detektion af ornelugt end ved den ovennævnte IR-metode, enten ved anvendelse af fremgangsmåden alene, eller ved anvendelse sammen med andre industrielt anvendelige fremgangsmåder til detektion af ornelugt. 30

Ifølge opfindelsen opfyldes dette formål af en fremgangsmåde, der er ejendommelig ved, at der for den individuelle krop eller del deraf bestemmes spektrofluorometriske data, og de således registrerede data sammenlignes med tidligere registrerede spektrofluorometriske data, som har statistisk sammenhæng med ornelugt.

Det er ved hjælp af spektrofluorometrisk måling ifølge opfindelsen således muligt at detektere, om en individuel dyrekrop er af den art, hvor udskæringer vil udvikle ornelugt under varmebehandling, og denne metode til ornelugtbestemmelse er på grund af hastighed, 10 arbejdsindsats og nøjagtighed direkte anvendelig i forbindelse med slagteriers slagtelinier.

De spektrofluorometriske data for den individuelle krop eller dele deraf kan være fluoroscensen fra en prøve ved én eller flere bølgelængder under bestråling med UV-lys. De spektrofluorometriske data 15 kan således være fluoroscensen ved en eller flere for ornelugt karakteristiske bølgelængder, men omfatter eventuelt også måleresultater fra bølgelængder, der er uden forbindelse med ornelugt, men som fx tjener som reference.

En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen er således 20 ejendommelig ved, at fluoroscensen bestemmes for en eller flere bølgelængder, ved hvilke den har statistisk sammenhæng med ornelugt. Ved fluoroscensen skal her og i det følgende forstås intensiteten af det fra en belyst prøve isotropt genudstrålede lys ved en eller flere bølgelængder.

25 Fluorescensen, der bestemmes ved denne udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen, kan være lysintensiteterne ved bestemte bølgelængder i forhold til lysintensiteterne hidrørende fra fluoroscensen af en standardprøve. Fluoroscensen kan også være forskellen eller forholdet mellem prøvens lysintensiteter ved flere forud 30 fastlagte bølgelængder, hvoraf nogle eller alle er karakteristiske for ornelugt, medens andre er uden forbindelse med ornelugt og tjener som referenceværdier.

Inden for bølgelængdeområdet 380-500 nm findes en fluorescens, der har tydelig sammenhæng med dyrekroppes ornelugt. En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen er derfor ejendommelig ved, at fluorescensen bestemmes for en eller flere forud bestemte 5 bølgelængder inden for området 380-500 nm, hvorved der måles ved mindst en bølgelængde, ved hvilken fluorescensen har statistisk sammenhæng med ornelugt.

Til ekscitation af prøven ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan anvendes ultraviolet lys, der indeholder komponenter fra hele det 10 ultraviolette område, men for at reducere indflydelsen fra forstyrrende fluorescerende stoffer, der ikke har statistisk sammenhæng med ornelugt i dyrekroppe, anvendes fortrinsvis smalbåndet eller monochromatisk UV-lys.

Bølgelængden af det ultraviolette lys vælges hensigtsmæssigt således, at der fås den maksimale og/eller mest selektive fluorescens 15 fra de i dyrekroppen forekommende fluorescerende stoffer, der har statistisk sammenhæng med ornelugt.

En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen er således ejendommelig ved, at der eksцитeres med UV-lys af bølgelængder in- 20 den for et snævert bånd beliggende i området 320-420 nm, idet der herved findes tydelige fluorescenser, hidrørende fra i lugtende kroppe specifikt forekommende forbindelser.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er af den art, der kan gennemføres på kort tid, fx i løbet af 10-20 minutter, medens slagtekrop- 25 pen fortsat behandles på slagtelinien. Ved hjælp af fremgangsmåden ifølge opfindelsen er det derfor på slagteriers slagtelinier muligt løbende at afgøre, om de individuelle slagtekroppe er behæftet med ornelugt, således at de lugtende kroppe kan frasorteres til fx konserverfabrikation eller pølsemereri, medens de øvrige kroppe kan fø- 30 res i kølerum for køling og senere normal forædling, fx til bacon.

-5-

Prøveudtagningen, der er nødvendig for fremgangsmådens gennemførelse, kan ske på et hvilket som helst sted langs slagtelinien, men foretages fortrinsvis ikke længere fremme på linien end, at resultatet af undersøgelsen foreligger inden slagtekroppene når til sorteringsstedet, fx inden indgangen til kølerummet. Hensigtsmæssigt kan prøvetagningen fx ske i forbindelse med måling af slagtekroppens kødprocent (klassificering), således at prøverne kan nå at blive præpareret og analyseret inden kroppen kommer til kølerummet. Prøvetagningen kan udføres manuelt eller halv- eller helautomatisk, fx i forbindelse med anvendelse af klassificeringsudstyr.

Præparationen, analysen og talbehandlingen af analyseresultatet bør udføres halv- eller helautomatisk, da det vil være meget arbejdskrævende manuelt at skulle behandle og bestemme fx 100-400 prøver i timen. For at lette behandlingen af prøvematerialet bringes dette hensigtsmæssigt på flydende form, fx ved smeltning eller ekstraktion. I flydende form kan automatiske analyser eksempelvis udføres efter det såkaldte "segmented continuous flow"-system, eller ved "flow injection analysis".

Selv om der skal behandles et stort antal prøver pr. time vil der ved passende udformning af analyseapparatet være tilstrækkelig tid til, at hver prøve kan præpareres inden analysen. En præparation af prøven vil i almindelighed være en forudsætning for en sikker detektion af ornelugt. En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen er derfor ejendommelig ved, at de spektrofluorometriske data for den pågældende krop eller del deraf bestemmes på en opløsning, der er fremstillet ved ekstraktion af en kød- og/eller spækprøve. Ved anvendelse af en ekstrakt til bestemmelse af de spektrofluorometriske data ifølge opfindelsen vil det fx ved valg af ekstraktionsmiddel være muligt at fraskille stoffer, der ikke har statistisk sammenhæng med ornelugt, men som virker forstyrrende på målingen af de stoffer, som er interessante i forbindelse med ornelugt. Det kan fx være stoffer, der forstyrrer, fordi de har fluorescens i samme bølgelængdeområde som de stoffer, der skal detekteres ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, eller det kan være stofpartikler, der spreder lyset, hvormed prøven exciteres.

Det har derved vist sig, at der ved den omhandlede ekstraktion af kød- og/eller spækprøver tilstrækkelig hurtigt kan præpareres en prøve af en sådan renhed, at det ved hjælp af den omhandlede spektrofluorometriske bestemmelse med tilfredsstillende sikkerhed kan detekteres, om individuelle dyrekroppe er behæftet med ornelugt.

Til ekstraktion af de udtagne kød- og/eller spækprøver anvendes opløsningsmidler eller opløsningsmiddelblandinger, som opløser ét eller flere af de fluorescerende stoffer, som bidrager til ornelugt eller specifikt ledsager dyrekroppe, som er behæftet med ornelugt. Opløsningsmidlerne opløser eller oplukker eventuelt også de bestanddele, hvori disse stoffer er bundet.

Det har vist sig, at der i kød- og/eller spækprøver, som er behæftet med ornelugt, findes for disse prøver specifikke fluorescerende stoffer, som er opløselige i polære organiske opløsningsmidler.

En udførelsesform og fremgangsmåde ifølge opfindelsen er derfor ejendommelig ved, at de spektrofluorometriske data for den pågældende krop eller del deraf bestemmes på en opløsning, der er opnået ved ekstraktion af en kød- og/eller spækprøve med et ekstraktionsmiddel omfattende et polært organisk opløsningsmiddel, især acetone. For at reducere ekstraktionsmidlets evne til at opløse forstyrrende lipide stoffer, kan der ifølge en udførelsesform af fremgangsmåden anvendes en opløsning, der er opnået ved ekstraktion af en kød- og/eller spækprøve med et ekstraktionsmiddel omfattende en blanding af et polært organisk opløsningsmiddel og vand, især en blanding af vand og acetone. En opløsningsmiddelblanding kan således bestå af en blanding af acetone og vand, fx i forholdet 2:1 til 10:1.

Opløseligheden af de i kød- og/eller spækprøven indeholdte vandopløselige eller delvis vandopløselige stoffer kan være pH-afhængig. De polære opløsningsmidler er derfor fortrinsvis tilsat en buffer, der sikrer reproducerbarheden, optimerer opløseligheden af de for ornelugt ejendommelige stoffer, og/eller nedsætter opløseligheden af uønskede stoffer, fx uspecifikke fluorescerende stoffer eller dispergerede stoffer.

En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen består derfor i, at der til ekstraktionen er anvendt et ekstraktionsmiddel omfattende buffer, især et ekstraktionsmiddel, der ved hjælp af en buffer er indstillet til pH 7-8. I det angivne pH-interval går for ornelugt karakteristiske stoffer over i ekstraktionsmidlet.

Til ekstraktion af kød- og/eller spækprøver har det således vist sig særlig fordelagtigt at anvende en opløsningsmiddelblanding af acetone og vandig bufferopløsning indstillet til pH 7-8, især omkring 7,5, idet der herved opløses stoffer, der er karakteristiske for ornelugt, uden at ekstrakten belastes med et stort indhold af fedtstoffer.

Endvidere kan vandfasen af en opløsningsmiddelblanding være tilsat overfladeaktive forbindelser, der forbedrer opløseligheden af de for ornelugt ejendommelige stoffer i vand.

Til ekstraktionen kan anvendes et ekstraktionsmiddel, der som buffer indeholder en vandig opløsning af et organisk bufferstof, fx tris-(hydroxymethyl)-aminomethan, hvorved blandingen samtidig indeholder en overfladeaktiv forbindelse. Bufferopløsningen kan være indstillet til den ønskede pH-værdi ved hjælp af en sædvanlig syre eller base, fx saltsyre eller natriumhydroxidopløsning. Organisk opløsningsmiddel og bufferopløsning kan blandes i forhold, der er tilpasset de stoffer, man specifikt ønsker ekstraheret eller bibeholdt i kød- og/eller spækprøven, fx kan acetone og bufferopløsning blandes i et forhold på mellem 2:1 og 10:1. Ved ekstraktion af spækprøver anvendes hensigtsmæssigt en blanding, der indeholder forholdsvis meget vand, fx acetone og vand i forholdet 3:1, medens der ved ekstraktion af en kødprøve kan anvendes forholdsvis lidt vand, fx acetone og vand i forholdet 9:1.

For at beskytte oxygen-følsomme stoffer under og efter ekstraktionen af kød- og/eller spækprøven kan der arbejdes under inaktiv atmosfære. Til ekstraktionsmidlet kan der imidlertid også før, under eller efter ekstraktionen sættes et reduktionsmiddel, som hæmmer omsætningen mellem luftens oxygen og oxygenfølsomme fluorescerende stoffer, der er karakteristiske for ornelugt. En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen består derfor i, at der til ekstraktionen er anvendt et ekstraktionsmiddel omfattende reduktionsmiddel, og/eller at der til ekstrakten sættes reduktionsmiddel.

- 10 Ekstraktionen af en kød- og/eller spækprøve kan udføres på sædvanlig måde, fx ved at prøven sønderdeles under blanding med ekstraktionsmidlet, hvorefter blandingen klares, således at uopløst fedt, celledele, bindevæv og lign. fjernes. Ekstrakten kan renses, således at de for ornelugt ejendommelige stoffer, der er blevet ekstraheret, yderligere befries for forstyrrende stoffer.

En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen er i overensstemmelse hermed ejendommelig ved, at de spektrofluorometriske data bestemmes på en opløsning, der er opnået ved oprensning af ekstrakten med en blanding af vand og et eller flere upolære organiske opløsningsmidler. Oprensningen kan foretages ved, at ekstrakten blandes med nævnte flerfaseblanding, hvorved stofferne fordeler sig med forskellig koncentration i faserne. Der opnås således en vis indbyrdes separation mellem de for ornelugt karakteristiske stoffer og forstyrrende stoffer. De spektrofluorometriske data bestemmes på en eller flere af faserne.

Til oprensning af ekstrakten af kød- og/eller spækprøven anvendes fortrinsvis en opløsningsmiddelblanding omfattende buffer, som ændrer den vandige fases pH-værdi. Der opnås således yderligere isolation af de stoffer, hvis fluorescens skal måles ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, idet de uønskede pH-følsomme stoffer fx føres over i en fase, der ikke anvendes til den spektrofluorometriske måling.

pH-Værdien for den vandige fase af den opløsningsmiddelblanding, der kan anvendes til rensning af ekstrakten, ligger hensigtsmæssigt fra 4-6. En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen består derfor i, at der til oprensningen af ekstrakten
5 anvendes en opløsningsmiddelblanding omfattende buffer, især en blanding, der ved hjælp af bufferen er indstillet til pH 4-6.

Til rensning af en acetone-buffer-ekstrakt kan således fx anvendes et tofasesystem af chloroform og vandig bufferopløsning med pH 5, hvorved der sker en pH-påvirket fordeling af stoffer mellem
10 den vandige acetonefase og chloroform-acetone-fasen.

En udførelsesform af fremgangsmåden er ejendommelig ved, at de spektrofluorometriske data bestemmes på den vandige fase, fremkommet ved oprensning af ekstrakten med en blanding af vand og et eller flere upolære organiske opløsningsmidler. Der findes
15 nemlig for ornelugt ejendommelige, fluorescerende stoffer, som er opløselige i vand eller blandinger af vand og polære organiske opløsningsmidler.

Visse af de for ornelugt uspecifikke stoffer, som findes i den vandige fase, har vist sig at udvise en fluorescens, der er pH-
20 følsom. Fasens pH-værdi indstilles derfor fortrinsvis inden den spektrofluorometriske måling, således at stoffernes indflydelse bliver mindst, og der fås den maksimale og/eller mest selektive fluorescens af stoffer, der er karakteristiske for ornelugt.

I overensstemmelse hermed er en udførelsesform af fremgangsmåden
25 ifølge opfindelsen ejendommelig ved, at de spektrofluorometriske data bestemmes på en vandig ekstrakt, der er indstillet til en pH-værdi, der er mindre end 3, især ca. 1. Ved denne udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan man væsentligt reducere forstyrrelsen fra et for ornelugt uspecifikt B-vitaminagtigt stof.
30

Der findes også for ornelugt ejendommelige fluorescerende stoffer, som er opløselige i upolære organiske opløsningsmidler. En udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen består derfor i, at de spektrofluorometriske data bestemmes på en eller flere af de organiske faser, 5 der er fremkommet ved oprensning af ekstrakten med en blanding af vand og et eller flere upolære organiske opløsningsmidler. Spektrofluorometriske data kan således bestemmes på den chloroformfase, der fås ved behandling af ekstrakten med en opløsningsmiddelblanding af vandig bufferopløsning og chloroform.

10 I overensstemmelse med ovennævnte udførelsesformer af fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan de spektrofluorometriske data bestemmes på såvel vandige som organiske faser, der opnås ved oprensning af ekstrakten med en blanding af vand og et eller flere upolære organiske opløsningsmidler. Fluorescerende stoffer, der er karakteriske for ornelugt, og som er opløselige i den vandige fase, kan således detekteres 15 i denne fase, medens andre karakteristiske fluorescerende stoffer, der enten er uopløselige i vand eller camoufleres i denne fase, kan detekteres i en af de organiske faser.

De ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen bestemte spektrofluorometriske 20 data af en ekstrakt af en kød- og/eller spækprøve findes ved hjælp af et apparatur, der er indrettet til at måle de ornelugt ledsagende eller bestemmende stoffer ved en spektrofluorometrisk måling. Apparatet kan således indeholde et spektrofluorometer, der kan ekscitere og måle prøven, fortrinsvis ved flere bølgelængder eller endog ved scanning af emissionsspektret fra prøven, og det kan desuden være forsynet med hjælpeindretninger, såsom polarisationsfiltre.

-11-

Det ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvendte apparatur kan endvidere omfatte en styre- og beregningsenhed, hvori det ved hjælp af et program afgøres, hvilke parametre der skal bestemmes, og hvilken indstilling spektrofluorometeret skal have under den aktuelle måling, og hvori de målte data endvidere sammen med eventuelle andre data, såsom oplysning om vægt, successivt lagres og efter indsamling af det fornødne antal data behandles i overensstemmelse med en forud opstillet model til afgørelse af, om dyrekroppen er behæftet med ornelugt.

På tale som parameter, der kan anvendes sammen med de på prøven målte spektrofluorometriske data i apparatets beregningsenhed, kommer fx de IR-spektraldata, der måles i overensstemmelse med den fremgangsmåde, der beskrives i dansk fremlæggeskrift nr. 145.356.

Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvendes imidlertid fortrinsvis en ekstrakt af en kød- og/eller spækprøve. Det vil derfor være en fordel at bestemme yderligere parametre på samme ekstrakt eller en del af ekstrakten, der anvendes til bestemmelse af spektrofluorometriske data. Fx kan ornelugt detekteres i overensstemmelse med den i dansk patentans. nr. 3981/81 beskrevne fremgangsmåde, eller de derved opnåede data kan sammen med de spektrofluorometriske data indgå i en talanalyse i beregningsenheden, således at det med større sikkerhed er muligt at detektere, om dyrekroppen er behæftet med ornelugt, uden at der derved kræves en væsentlig arbejdsforøgelse for måling og præparation af prøven.

En fordelagtig udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen er derfor ejendommelig ved, at der som yderligere parameter med statistisk sammenhæng med ornelugt i overensstemmelse med den i dansk patentans. nr. 3981/81 beskrevne fremgangsmåde, bestemmes spektrofotometriske data for en opløsning, der er fremstillet ved ekstraktion af en kød og/eller spækprøve fra den pågældende krop eller del deraf, og omsætning af denne ekstrakt med en farvedanner for en eller flere i dyrekroppen forekommende forbindelser, der har statistisk sammenhæng med ornelugt, hvorefter de således registrerede data sammenlignes med forud fastlagte spektrofotometriske data, der har statistisk sammenhæng med ornelugt.

Ved denne udførelsesform af fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan ekstrakten således deles i to eller flere portioner, hvoraf en anvendes til spektrofluorometrisk måling, medens andre anvendes til omsætning med farvedannere, efterfulgt af spektrofotometrisk måling.

- 5 Den ved omsætningen anvendte farvedanner kan derved også være en sådan, der danner en fluoroscerende forbindelse, hvorved målingen på den omsatte prøve kan udføres i samme apparat som den spektrofluorometriske måling på den uomsatte prøve.

En ekstrakt, der er opnået ved ekstraktion af en prøve med en blanding omfattende vand og acetone, giver tydelig farvereaktion med p-dimethylaminobenzaldehyd, når prøven udviser ornelugt. En fordelagtig udførelsesform af nævnte spektrofotometriske bestemmelse er derfor ejendommelig ved, at spektrofotometriske data bestemmes på en opløsning, der er fremstillet ved ekstraktion med en opløsnings-
15 middelblanding omfattende vand og acetone, og som er omsat med p-dimethylaminobenzaldehyd.

I overensstemmelse med det ovenstående kan der foretages forskelligartede målinger på kød- og/eller spækprøver, således at ét eller flere med ornelugt associerede stoffer og deres koncentration kan be-
20 stemmes med større sikkerhed. Behandles alle måleresultaterne i beregningsenheden, og sammenholdes resultaterne med den indbyggede model, kan det således med væsentligt større sikkerhed end ved enkeltmålinger afgøres, om den individuelle dyrekrop, der undersøges, vil udvise ornelugt ved tilberedning hos forbrugeren og derfor bør fra-
25 sorteres til en industriel produktion, hvor lugten vil være uden betydning.

Selv om fremgangsmåden ifølge opfindelsen hovedsagelig er beskrevet i forbindelse med sortering af slagtekroppe af ukastrerede ornegrise, vil metoden også kunne anvendes til sortering af slagtekroppe af sogrise på slagtelinien, hvis det er ønskeligt. Undersøgelse af såvel orner som sogrise for ornelugt vil dog i gennemsnit fordoble 5 prøvefrekvensen.

Endvidere vil det også være muligt at anvende fremgangsmåden ifølge opfindelsen i forbindelse med et avlsarbejde sigtende på udskillelse af de avlsorner og -søer, der fortrinsvis giver anledning til ornelugt i afkommet. Avlsarbejdet kan være baseret alene på den ornelugt, der findes hos afkommet. Det vil dog også være muligt at foretage udvælgelsen under hensyn til ornelugten af såvel forældrepar som afkom, eventuelt allerede i levende live.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen illustreres nærmere i nedenstående eksempler.

15

Eksempel 1

Fra slagtekroppe af ukastrerede ornegrise udtages prøver af brystflask eller rygspæk, der er tilstrækkeligt store til, at de hver kan deles i flere mindre prøver til lugtbedømmelse og fremstilling af ekstrakt.

Lugtbedømmelse

20 Ca. 5 g spækprøve opvarmes langsomt i en kolbe på varmeplade. Under opvarmningen bedømmer et lugtpanel på tre til fire øvede personer graden af ornelugt fra prøven og tildeler den én af følgende karakterer:

25

- 0 ingen ornelugt
- 1/2 tvivlsom
- 1 svag ornelugt
- 2 nogen ornelugt
- 3 stærk ornelugt

Fluoroscensmåling på kødekstrakt

En 0,2 M vandig opløsning af tris-(hydroxymethyl)-aminomethan indstillet til pH 7,5 blandes med actone i forholdet 1:9. 5 g kød afvejes og mixes med 10 ml af denne blanding under sønderdeling af prøven, hvor-
5 efter blandingen filtreres. Filtratet suppleres med tris-acetonebuffer til et rumfang på 10 ml.

En 0,1 M vandig opløsning af kaliumhydrogenphthalat indstilles til pH 5,0 med 0,1 M vandig natriumhydroxidopløsning. 5 ml af denne buffer blandes med 5 ml af det opnåede filtrat og 5 ml chloroform, og blandin-
10 gen centrifugeres ved 1700 x G i 10 minutter. Den vandige fase suges derefter fra og tilsættes en dråbe (0,05 ml) koncentreret svovlsyre, således at pH indstiller sig på ca. 1.

Et spektrofluorometer af fabrikat Aminco SPF 500 indstilles ved hjælp af en 0,1 mg/l quininsulfatopløsning i 0,1 N svovlsyre til måleværdi
15 10,0 ved λ (ex) = 350 nm, og λ (em) = 450 nm. Standardens måleværdi ved λ (ex) = 367 nm og λ (em) = 460 nm er 5,73-5,83.

Prøvens fluoroscens måles herefter på det indstillede spektrofluorometer ved λ (ex) = 367 nm og λ (em) = 460 nm, idet målingen kontrolleres med måling på en samtidigt fremstillet blindværdi.

20 Resultater

Resultaterne af målinger på kødekstrakter fremgår af nedenstående tabel I, hvori der endvidere er anført de tilsvarende resultater fra lugtbedømmelsen. Det fremgår, at der er tydelig sammenhæng mellem lugtbedømmelsen og fluoroscensmålinger fra samme orneprøve. Der er således fun-
25 det en korrelationskoefficient mellem lugtbedømmelsen og fluoroscensmålinger på 0,72.

T a b e l I

Prøve nr.	Lugt- bedøm.	Fluoro- scens	Prøve nr.	Lugt- bedøm.	Fluoro- scens	Prøve nr.	Lugt- bedøm.	Fluoro- scens
1	3,0	1,50	15	1,0	1,19	29	0,0	0,77
5 2	0,0	0,87	16	2,0	1,25	30	0,5	0,67
3	3,0	1,34	17	3,0	0,96	31	0,0	0,76
4	3,0	1,30	18	3,0	1,03	32	1,0	0,92
5	1,0	0,92	19	2,0	0,92	33	0,5	0,76
6	0,0	0,79	20	2,0	0,93	34	0,5	0,63
10 7	0,0	1,01	21	0,0	0,79	35	0,5	0,60
8	0,0	0,96	22	2,0	0,92	36	0,5	0,61
9	0,0	0,99	23	3,0	1,22	37	0,5	0,92
10	3,0	1,27	24	0,5	0,92	38	0,5	0,99
11	3,0	1,26	25	2,0	0,85	39	2,0	1,05
15 12	0,5	0,74	26	0,5	1,00	40	0,5	0,72
13	1,0	0,77	27	0,5	0,75			
14	2,0	1,13	28	0,0	0,71			

Eksempel 2

Fra slagtekroppe af ukastrerede ornegrise udtages prøver af bryst-
20 flæsk eller rygspæk på samme måde som i eksempel 1, og lugten bedøm-
mes efter den beskrevne metode.

Fluoroscensmåling på spækekstrakt

En 0,2 M vandig opløsning af tris-(hydroxymethyl)-aminomethan ind-
stilles til pH 7,5 og tilsættes 1% 0,1 M natriumsulfitopløsning. Op-
25 løsningen blandes med acetone i forholdet 1:3. 5 g spæk afvejes og
mixes med 10 ml af denne blanding under sønderdeling af prøven, hvor-
efter blandingen filtreres. Filtratet suppleres med tris-acetone-
buffer til et rumfang på 10 ml.

5 ml af samme phthalat-buffer som anvendt i eksempel 1 blandes med
30 5 ml af det opnåede filtrat og 5 ml chloroform, og blandingen centri-
fugeres ved 1700 x G i 10 minutter. Den vandige fase bortkastes, mens
chloroformfasen (ekstrakten) frasuges til spektrofluorometrisk måling.

-16-

Spektrofluorometret indstilles med quininsulfat som angivet i eksempel

1. Standardens måleværdi ved $\lambda(\text{ex}) = 360 \text{ nm}$ og $\lambda(\text{em}) = 426 \text{ nm}$ er 6,40-6,50, medens måleværdien ved $\lambda(\text{ex}) = 360 \text{ nm}$ og $\lambda(\text{em}) = 405 \text{ nm}$ er 2,60-2,70.

5 Prøvens fluorescens måles herefter på det indstillede spektrofluorometer ved $\lambda(\text{ex}) = 360 \text{ nm}$ og $\lambda(\text{em}) = 426 \text{ nm}$, samt ved $\lambda(\text{ex}) = 360 \text{ nm}$ og $\lambda(\text{em}) = 405 \text{ nm}$, og målingerne kontrolleres med målinger på en samtidigt fremstillet blindværdi. Fluorescensen angives som differencen af målingerne ved de to emissionsbølgelængder.

10 Farvedannelse, spektrofotometrisk måling

Efter den i eksemplet i dansk patentans. nr. 3981/81 beskrevne fremgangsmåde udføres spektrofotometrisk bestemmelse på ekstrakter, der er fremstillet af de ovenfor undersøgte spækprøver, og som er omsat med farvereagens.

15 I korthed består fremgangsmåden i, at der af en tris-acetoneekstrakt af prøven udtages 1 ml, der blandes med 1 ml af en opløsning af 0,5 g 4-dimethylaminobenzaldehyd i 20 ml stærk svovlsyre, tilsat 30 ml 99%'s ethanol. Efter fem minutters henstand måles prøvens absorption på spektrofotometer ved 580 nm, og målingen kontrolleres med måling på en samtidigt fremstillet blindværdi. Prøvens indhold af skatolækvivalenter aflæses på en standardkurve, der er opnået ved tilsvarende måling af absorbansen på opløsninger, der indeholder en kendt mængde skatol, og som er omsat med farvereagenset.

Resultater

25 Resultaterne af målinger på spækprøver fremgår af nedenstående tabel II, hvor der endvidere er anført de tilsvarende resultater fra lugtbedømmelsen. Det ses, at der er en tydelig sammenhæng mellem prøvernes lugtbedømmelse og den spektrofluorometriske måling, og at der ligeledes er sammenhæng med resultaterne fra den fotometriske måling.

30 Sammenhængen er endnu tydeligere, når lugtbedømmelsen sammenlignes med summen af fluorescens og skatolækvivalenter.

Der er således fundet en multipel korrelation på 0,79 mellem på den ene side lugtbedømmelsen, og på den anden side en kombination af fluoroscens og skatolækvivalenter. Den partielle korrelation mellem fluoroscens og lugtbedømmelse (ved konstant skatolækvivalentniveau) er beregnet til 0,51, medens den partielle korrelation mellem skatolækvivalenter og lugtbedømmelse (ved konstant fluoroscensniveau) er beregnet til 0,77.

T a b e l II

(1)					(2)				
Prøve-	Lugt-	Fluoro-	Skat.æk.	Sum	Prøve-	Lugt-	Fluoro-	Skat.æk.	Sum
nr.	bedøm.	scens	(ppm)	(1+2)	nr.	bedøm.	scens	(ppm)	(1+2)
1	0,9	-0,11	0,01	-0,10	22	0,8	-0,02	0,04	0,02
2	1,5	-0,07	0,01	-0,06	23	1,3	-0,05	0,07	0,02
3	1,3	-0,04	0,00	-0,04	24	1,0	-0,08	0,08	0,00
4	1,2	-0,10	0,06	-0,04	25	1,3	-0,10	0,08	-0,02
5	0,5	-0,12	0,01	-0,11	26	3,0	-0,03	0,40	0,37
6	1,4	-0,04	0,04	0,00	27	3,0	-0,04	0,21	0,17
7	2,0	0,04	0,07	0,11	28	1,5	0,09	0,04	0,13
8	1,2	-0,01	0,05	0,04	29	2,0	-0,04	0,04	0,00
9	0,2	-0,09	0,04	-0,05	30	2,0	-0,05	0,14	0,09
10	1,3	-0,07	0,09	0,02	31	3,0	-0,13	0,62	0,49
11	0,7	-0,03	0,09	0,06	32	0,8	0,00	0,01	0,01
12	0,7	-0,12	0,04	-0,08	33	1,0	0,06	0,04	0,10
13	0,7	-0,06	0,06	0,00	34	0,5	-0,05	0,04	-0,01
14	0,0	-0,13	0,04	-0,09	35	1,0	-0,09	0,01	-0,08
15	1,7	-0,05	0,09	0,04	36	1,6	0,04	0,08	0,12
16	1,8	-0,02	0,15	0,13	37	0,9	-0,03	0,05	0,02
17	2,5	0,00	0,27	0,27	38	0,3	0,01	0,04	0,05
18	2,8	-0,08	0,37	0,29	39	0,3	-0,02	0,06	0,04
19	3,0	0,13	0,07	0,20	40	1,3	-0,05	0,05	0,00
20	1,8	-0,07	0,10	0,03	41	1,5	0,05	0,03	0,08
21	1,8	-0,01	0,12	0,11					

Oprindelsen af det anvendte materiale af slagtekroppe udviser store variationer, idet der indgår prøver af otte sogrise som kontrol (prøve nr. 1, 2, 9, 12, 14, 37, 39 og 40), og orneprøverne hidrører fra flere forskellige producentbesætninger og forskellige fodringssystemer. Metoden kan således anses at være robust over for variationskilder af den nævnte art.

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåde til detektering af ornelugt hos individuelle dyrekroppe, fortrinsvis slagtekroppe eller dele deraf, ved hvilken der bestemmes én eller flere parametre med statistisk sammenhæng med ornelugt, k e n d e t e g n e t ved, at der for den individuelle krop eller del 5 deraf bestemmes spektrofluorometriske data, og de således registrerede data sammenlignes med tidligere registrerede spektrofluorometriske data, som har statistisk sammenhæng med ornelugt.
2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at fluoroscensen bestemmes for én eller flere bølgelængder, ved hvilke den har 10 statistisk sammenhæng med ornelugt.
3. Fremgangsmåde ifølge krav 1-2, k e n d e t e g n e t ved, at fluoroscensen bestemmes for en eller flere forud bestemte bølgelængder inden for området 380-500 nm, hvorved der måles ved mindst en bølgelængde, ved hvilken fluorescensen har statistisk sammenhæng med ornelugt.
- 15 4. Fremgangsmåde ifølge krav 1-3, k e n d e t e g n e t ved, at der exciteres med UV-lys af bølgelængder inden for et snævert bånd beliggende i området 320-420 nm.
5. Fremgangsmåde ifølge krav 1-4, k e n d e t e g n e t ved, at de spektrofluorometriske data for den pågældende krop eller del deraf be- 20 stemmes på en opløsning, der er fremstillet ved ekstraktion af en kød- og/eller spækprøve.
6. Fremgangsmåde ifølge krav 5, k e n d e t e g n e t ved, at de spektrofluorometriske data for den pågældende krop eller del deraf bestemmes på en opløsning, der er opnået ved ekstraktion af en kød- og/ 25 eller spækprøve med et ekstraktionsmiddel omfattende et polært organisk opløsningsmiddel, især acetone.

7. Fremgangsmåde ifølge krav 6, k e n d e t e g n e t ved, at der anvendes en opløsning, der er opnået ved ekstraktion af en kød- og/eller spækprøve med et ekstraktionsmiddel omfattende en blanding af et polært organisk opløsningsmiddel og vand, især en blanding af 5 vand og acetone.

8. Fremgangsmåde ifølge krav 6-7, k e n d e t e g n e t ved, at der til ekstraktionen er anvendt et ekstraktionsmiddel omfattende buffer, især et ekstraktionsmiddel, der ved hjælp af bufferen er indstillet til pH 7-8.

10 9. Fremgangsmåde ifølge krav 5-8, k e n d e t e g n e t ved, at der til ekstraktionen er anvendt et ekstraktionsmiddel omfattende reduktionsmiddel, og/eller at der til ekstrakten sættes reduktionsmiddel.

10. Fremgangsmåde ifølge krav 5-9, k e n d e t e g n e t ved, at de spektrofluorometriske data bestemmes på en opløsning, der er opnået 15 ved oprensning af ekstrakten med en blanding af vand og et eller flere upolære organiske opløsningsmidler.

11. Fremgangsmåde ifølge krav 10, k e n d e t e g n e t ved, at der til oprensningen af ekstrakten anvendes en blanding omfattende buffer, især en blanding, der ved hjælp af bufferen er indstillet til pH 4-6.

20 12. Fremgangsmåde ifølge krav 10-11, k e n d e t e g n e t ved, at de spektrofluorometriske data bestemmes på den vandige fase fremkommet ved oprensningen af ekstrakten med en blanding af vand og et eller flere upolære organiske opløsningsmidler.

13. Fremgangsmåde ifølge krav 5-12, k e n d e t e g n e t ved, at 25 de spektrofluorometriske data bestemmes på en vandig ekstrakt, der er indstillet til en pH-værdi mindre end 3, især pH ca. 1.

14. Fremgangsmåde ifølge krav 10-11, k e n d e t e g n e t ved, at de spektrofluorometriske data bestemmes på en eller flere af de organiske faser, der er fremkommet ved oprensning af ekstrakten med en 30 blanding af vand og et eller flere upolære organiske opløsningsmidler.

15. Fremgangsmåde ifølge krav 5-14, k e n d e t e g n e t ved, at de spektrofluorometriske data bestemmes på såvel vandige som organiske faser, fremkommet ved oprensning af ekstrakten med en blanding af vand og ét eller flere upolære organiske opløsningsmidler.

5 16. Fremgangsmåde ifølge krav 1-15, k e n d e t e g n e t ved, at der som yderligere parameter med statistisk sammenhæng med ornelugt bestemmes spektrofotometriske data for en opløsning, der er fremstillet ved ekstraktion af en kød- og/eller spækprøve fra den pågældende krop eller del deraf, og omsætning af denne ekstrakt med en farvedan-
10 ner for en eller flere i dyrekroppe forekommende forbindelser, der har statistisk sammenhæng med ornelugt, hvorefter de således registrerede data sammenlignes med forudfastlagte spektrofotometriske data, der har statistisk sammenhæng med ornelugt.

17. Fremgangsmåde ifølge krav 16, k e n d e t e g n e t ved, at
15 spektrofotometriske data bestemmes på en opløsning, der er fremstillet ved ekstraktion med en opløsningsmiddelblanding omfattende vand og acetone, og som er omsat med p-dimethylaminobenzaldehyd.