

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 145356 B



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

- (21) Ansøgning nr. 2029/79 (51) Int.Cl.³ G 01 N 21/35
(22) Indleveringsdag 16. maj 1979
(24) Løbedag 16. maj 1979
(41) Alm. tilgængelig 17. nov. 1980
(44) Fremlagt 1. nov. 1982
(86) International ansøgning nr. -
(86) International indleveringsdag -
(85) Videreførelsesdag -
(62) Stamansøgning nr. -
(30) Prioritet -

(71) Ansøger SLAGTERIERNES FORSKNINGSinSTITUT, 4000 Roskilde, DK.

(72) Opfinder Ole-Christian Bjarnø, DK.

(74) Fuldmægtig Plougmann & Vingtoft Patentbureau.

(54) Fremgangsmåde til detektering af ornelugt og -smag hos individuelle slagtekroppe af ukastrerede orner eller dele deraf.

målinger udnyttes ifølge opfindelsen også generelt til detektering af bestemte kvalitetsegenskaber hos individuelle fødevarer eller råvaregenstande til fødevarer, idet de for den individuelle genstand registrerede IR-spektrofotometriske data sammenlignes med tilsvarende data, som har statistisk sammenhæng med de pågældende kvalitetsegenskaber.

SAMMENDRAG.

2029-79

Bestemte organoleptiske ønskede eller uønskede egenskaber hos individuelle fødevarer eller råvaregenstande til fødevarer bestemmes ved, at spektraldata bestemmes for den individuelle genstand, fortrinsvis ved IR-absorptionsspektrum på en prøve fra genstanden, og de registrerede spektraldata sammenlignes med tilsvarende data, som har statistisk sammenhæng med de pågældende organoleptiske egenskaber. Således bestemmes egenskaben "ornelugt" hos ukastrerede orner på en fedtprøve fra den individuelle ornekrop ved bestemmelse af forholdet mellem absorptionen ved to forskellige bølgelængder i fedtprøvens IR-spektrum. En endnu højere korrelation mellem de bestemte spektraldata og de organoleptiske data opnås, når der bestemmes én eller flere yderligere parametre med statistisk korrelation til lugtbilledet, f.eks. koncentrationen af androstenon, hexanal eller skatol i ornekroppens fedt eller koncentrationen af umættede fedtsyrer i ornekroppens fedt (multipel korrelation). Fordelen ved IR-spektrofotometriske

D
O
O
O
O
T
-
S

Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til detektering af ornelugt og -smag hos individuelle slagtekroppe af ukastrerede orner eller dele deraf.

5 Ornelugt er, som navnet antyder, en egenskab hos hangrise, der i modsætning til deres søstre (sogrise) og kastrerede brødre (galte) har en ejendommelig sved- eller urinagtig lugt ved kødet. Da en vis del af forbrugerne er sensitive over for denne lugt, foretager man i Danmark og i de fleste andre lande kastration af alle små hangrise. Der er imidlertid et betydeligt produktionstab forbundet med denne fremgangsmåde, da tilvækst og kødkvalitet er væsentligt ringere for kastrater end for orner.

15 Nu er det imidlertid sådan, at det kun er ca. 5% af ornerne, der ved normal slagtevægt lugter i en sådan grad, at det vil virke generende, og det ville derfor af de nedenfor nævnte grunde være ønskeligt, om man kunne undgå kastreringen og i stedet foretage en frasortering af de dyr, der udviser væsentlig ornelugt, og bruge dem til produkter, hvor lugten blev maskeret.

25 Der har imidlertid ikke hidtil stået nogen metode til rådighed, ved hvilken man på en tilstrækkelig effektiv måde i en slagtelinje ville kunne frasortere slagtekroppe udvisende ornelugt.

30 Der findes metoder til detektion af, hvad der menes at være hovedkomponenten i ornelugt, nemlig androstenon, men de metoder, der indtil nu er forsøgt anvendt, kan ikke komme i betragtning til en on-line detektion i slagterimiljø. De kendte metoder er højtryksvæskechromatografi, gaschromatografi-massespektrometri, radioimmunoassay, enzymkoblet immunosorbentassay og gas-væske-chromatografi. Alle disse metoder er omstændelige, mandskabskrævende og langsommelige, og de kræver apparatur, der næppe kan anvendes i slagterimiljø i kontinuert drift.

Til forståelse af problemstillingen ved det her anvendte eksempel på en organoleptisk egenskab, nemlig ornelugt, skal ornelugten i det følgende diskuteres mere detaljeret:

5 Ornelugten er første gang undersøgt af Lerche i 1936
(Geschlechtsgeruch bei Eberkastraten, Z. Fleisch- u.
Milchhyg. 46, 417, (1936)). Derefter var der kun spredte
aktiviteter på området indtil 1968, hvor massespektrome-
10 terets fremkomst gjorde det muligt for R.L.S. Patterson (5 α -
-Androst-16-ene-3-one Compound Responsible for Taint in
Boar Fat, J.Sci.Fd.Agric., 19, 31 - 38, (1968)) at iden-
tificere, hvad han antog var hovedkomponenten i ornelugt,
og som stadig regnes for hovedkomponenten i ornelugt,
nemlig androstenon (5 α -androst-16-en-3-on). I en senere
15 artikel (Identification of 3 α -Hydroxy-5 α -androst-16-ene
as the Musk Odour Compound of Boar Submaxillary Salivary
Gland and its Relationship to the Sex Odour Taint in Pork
Meat, J.Sci.Fd.Agric., 19, 434 - 438, (1968)) beskriver
Patterson identifikationen af den beslægtede forbindelse
20 3 α -hydroxy-5 α -androst-16-en fra orners spytkirtler og
opstiller den hypotese, at dette er det primære
olfaktoriske kommunikationsstof (sex pheromon), og at
overskud deraf oplagres i fedtvævet i oxideret form som
androstenon. Aflejringen varierer meget; således har
25 Øystein Andresen (Øystein Andresen & Håvard Bakke, 5 α -
-Androstenone in Fat from Boars Selected for Rate of Gain
and Thickness of Back Fat and from Boars Used in Artifi-
cial Insemination Service, Acta. Vet. Scand., 16, 492,
(1975)) fundet en variation fra 0,8 til 7,ug/g fra skul-
30 derregion til lænderegion.

Når androstenon regnes for at være hovedkomponenten i
ornelugt, hænger det sammen med, at denne forbindelse
har en lugt, der minder meget om ornelugt, og at det er
35 denne forbindelse, der indtil nu er fundet med den høje-
ste (omend ikke særlig høj) korrelation over for organo-
leptiske bedømmelser.

At andre forhold end androstenonkoncentrationen hænger sammen med ornelugten, ses f.eks. af, at lugtpanelundersøgelser på rent androstenon (N.M. Griffiths & R.L.S. Patterson, Human Olfactory Response to 5 α -Androst-16-ene-3-one Principal Component of Boar Taint, J.Sci.Fd.Agric., 21, 4 - 6, (1970) ikke giver samme resultat som på ornekød. Der er da også beskrevet flere arbejder, der viser, at andre forhold medvirker til lugtbilledet. Således har J. Wismer-Pedersen (Produktion og smag af ornekød, Konserves & Dybfrost, 4, 38, (1969), og Landøkonomisk Forsøgslaboratorium, Efterårsmøde, p136, (1968)) vist en positiv korrelation over for fedtsyresammensætningen (graden af umættethed) samt over for hexanalkoncentrationen. Fedtsyresammensætningens influens er ligeledes undersøgt i Lund (B. Malmfors, K. Lundström, I. Hansson, Interrelations between Boar Taint, 5 α -Androstenone, and Fatty Acid Composition in Pigs, Swedish J. Agric. Res., 8, 161 - 169 (1978). Vold (E. Vold, Fleischproduktionseigenschaft bei Ebern und Kastraten, Meldinger fra Norges Landbrugshøjskole, No. 16, 49, (1970)) har identificeret endnu en komponent, der indgår i ornelugtbilledet, nemlig skatol, 3-methylindol. Endelig optræder det ovenfor nævnte sex pheromon, androstenol, også i fedtvævet (K.E. Berry & J.D. Sink, Isolation and Identification of 3 α -Hydroxy-5 α -androst-16-ene and 5 α -Androst-16-ene-3-one from Porcine Adipose Tissue, J. Endocr., 51, 223 - 224, (1971)), og omend det har en behagelig moskusagtig lugt, må det også bidrage til det samlede lugtbillede (R.H. Thompson, A.M. Pearson, K.A. Banks, Identification of some C₁₉- Δ ¹⁰ Steroids, J. Agr. Food Chem., 20, p185, (1972)). I øvrigt er der identificeret en lang række beslægtede hormoner fra ornestikler (D.B. Gower, 16-Unsaturated C₁₉ Steroids. A Review of their Chemistry, Biochemistry, and Possible Physiological Role, J. Steroid Biochemistry, 3, 45, (1972)); foruden androstenon og androstenol er der tale om androstenan, androstenandien, androstadienin m.fl., og det er sandsynligt, at nogle af disse eller omdannelsesprodukter deraf ligeledes optræder i fedtet og medvirker til lugten.

Hypotesen om, at det ikke kun er ét stof, der giver ornelugt, bekræftes også af det faktum, at der efterhånden er gennemført mange organoleptiske undersøgelser, og at korrelationen over for androstenon stort set har ligget omkring 0,5.

Således finder B. Malmfors (B. Malmfors & Ø. Andresen, Relationship between Boar Taint Intensity and Concentration of 5 α -Androst-16-ene-3-one in Boar Peripheral Plasma and Back Fat., Acta Agr. Scand., 25, 93 - 95, (1975) og B. Malmfors, K. Lundström, I. Hansson, Interrelations between Boar Taint, 5 α -Androstenone, and Fatty Acid Composition in Pigs, Swedish J. Agric. Res., 8, 161 - 169, (1978) i tre undersøgelser korrelationer på ca. 0,5 med store hold af Svensk Landrace, Yorkshire og krydsninger mellem Svensk Landrace, Yorkshire og Hampshire. Newell et al. (J.A. Newell et al., Influence of late Castration and Diethylstilbestrol Implantation on Performance of Boars and on Incidence of Boar Taint, Can. J. Anim. Sci., 53, 205, (1973)) rapporterer fra Canada om en korrelation på 0,53. Desmoulin (B. Desmoulin, Recherches sur l'Élevage des Porcs, INRA-CNRZ, 78350 Jony-en-Josas, France, Resultater fremlagt på 2. møde i EAAP Working Group on "Production and Utilization of Meat from Entire Male Animals, 18-19 Oct., 1977") finder for racerne Belgisk Landrace og Pitain korrelationer på 0,24 - 0,66. På Slagteriernes Forskningsinstitut (Lis Buchter, Sammenhæng mellem ornelugt og indhold af 5 α -androstenon i spæk, Slagteriernes Forskningsinstitut rapport 17/43, (1977)) findes for Dansk Landrace 0,6. Den højeste korrelation, der overhovedet er beskrevet, er på 0,75 (Georg Fuchs, The Correlation Between 5 α -Androst-16-ene-3-one Content and the Sex Odour Intensity in Boar Fat, Swedish J. Agric. Res., 1, 233 - 237, (1971)), men der var tale om et ret begrænset antal dyr, nemlig 20, hvoraf resultaterne fra de tre højeste blev udeladt, idet man antog, at disse ikke kunne adskilles organoleptisk.

Disse korrelationer eller nærmere mangel på samme kan tilskrives tre forhold: Den organoleptiske reference- metodes usikkerhed, androstenonbestemmelsens usikkerhed samt det forhold, at androstenon alene ikke er nogen sær-
5 lig god indikator for fænomenet. Det mest sandsynlige er nok, at det er en kombination af alle tre forhold, der gør sig gældende.

De økonomiske fordele ved kødproduktionen på orner har
10 hele tiden været så iøjnefaldende, at mange spekulatio-
ner har været gjort om, hvorledes man kunne undgå lugten af orner. Der har været gjort forsøg med kastration på et senere tidspunkt, hvor hovedparten af kødtilvæksten havde fundet sted, eller med indgift af diethylstilbestrol,
15 der standser hormonproduktionen, dvs. "kemisk kastration" (J.A. Newell et al., Influence of Late Castration and Diethylstilbestrol Implantation On Performance of Boars and on Incidence of Boar Taint, Can. J. Anim. Sci., 53, 205, (1973)). Den
20 gennemsnitlige reduktion af lugtintensiteten skete med en faktor 2, men da kastration af voksne grise er et ret omfattende indgreb med betydelig risiko for komplikationer, og da det alligevel kun delvis virker, er dette næppe nogen attraktiv løsning.

25 Der har også været fremsat formodninger om, at der kunne være forskel på racerne med hensyn til deres tendens til at udvise ornelugt. Til støtte for denne formodning nævnes bl.a. det forhold, at engelske forbrugere tilsy-
30 neladende reagerer væsentligt mindre negativt over for ornekød end kontinentale (A. Landon, Meat from Boars, Pig Farming, July 1977). Dette forhold er søgt belyst af Birgitta Malmfors (B. Malmfors & I. Hansson, Incidence of Boar Taint in Swedish Landrace and Yorkshire Boars, Livest. Prod. Sci., 1, 411, (1974)), der faktisk
35 finder, at den engelske race Yorkshire lugter lidt mindre end Svensk Landrace. Forskellen er kun lige

akkurat statistisk signifikant, og den kan næppe forklare den påståede accept af ornekød hos de engelske forbrugere.

5 Et andet aspekt, der har været undersøgt, er muligheden for gennem avlsselektion at dæmpe kønslugten. Dette er undersøgt af Wismer-Pedersen og P. Jonsson (P. Jonsson & J. Wismer-Pedersen, Kønslugt hos orner af Dansk Landrace, Statens Husdyrbrugsforsøg, Meddelelse nr. 10 110, 1976), men materialet var ikke statistisk sikkert. Derimod fandt man en svag positiv sammenhæng mellem kønslugt og bedækningsvillighed, og dette antyder, at hvis man prøver at bortavle en parameter som kønslugt, der er 15 nøje knyttet til centrale hormonale processer, er der risiko for, at man samtidig får forstyrret andre (ønskede) egenskaber såsom bedækningsvillighed og lignende.

Selv om man kunne dæmpe kønslugten ved avlsselektion, ville dette imidlertid tage lang tid, bl.a. på grund af den dårligt estimerede selektionsparameter, og der er som angivet 20 ovenfor usikkerhed med hensyn til, om andre (ønskede) egenskaber kan bevares intakte.

Ligesom ornelugts kemiske baggrund ikke er fuldt opklaret, 25 udgør forbrugerens respons på lugtende ornekød også et broget billede. De ovennævnte undersøgelser fra England tyder på, at man dér stort set kan sende lugtende ornekød på markedet uden reaktion fra forbrugerne. Andre omfattende undersøgelser fra Holland (P. Walstra, Fattening of Young Boars: Quantification of Negative and Positive 30 Aspects, Livestock Production Science, 1, 187 - 196, (1974)) konkluderer noget lignende, nemlig at forbrugerne generelt næppe bemærker lugten af ornekød, men at fransortering af stærkt lugtende orner alligevel bør finde 35 sted af hensyn til de få særligt sensitive personer. Andre undersøgelser, f.eks. en for nylig på Slagteriernes Forskningsinstitut udført undersøgelse (Lis Buchter & Asta

Vimmerslev, Afprøvning af ornelugtens indflydelse på kvaliteten af svinekødsprodukter, Slagteriernes Forskningsinstitut, rapport 17/43-1 (1977)) viste, at forbrugere klart vurderede lugtende ornekød ringere.

5 Opfattelsen af ornelugt udviser således et broget billede, hvilket muligvis kan skyldes, at der indgår betydelige psykologiske momenter deri, og at den derfor er vanskeligt at kvantificere, men selv om det kun er få af forbrugerne, der er sensitive over for lugten af ornekød, vil man af
10 hensyn til svineproduktets renommé i al almindelighed ikke ønske at udsætte disse for lugten af ornekød.

Økonomien ved produktion af ornekød har været indgående bearbejdet. I A. Landon, Meat from Boars, Pig Farming,
15 July 1977, nævnes således, at tilvæksten for orner er 712 g/dag mod 662 g/dag for kastrater, hvilket betyder en ca. 10% større produktion for orner og dermed ca. 10% mindre kapitalomkostninger. Udnyttelsen af foderet angives at være ca. 10% bedre end for kastrater, og slagtekroppene har 9 - 20% mindre fedtlag end for kastrater, hvilket
20 medfører en højere klassifikation. Produktionstab ved kastration af hangrise skønnes at være ca. 50 kr. pr. gris, hvilket betyder, at man i Danmark med en produktion på 5 millioner galte har et samlet produktionstab på 250
25 millioner kr./år. Et lignende beløb kommer Walstra (P. Walstra, Fattening of Young Boars: Quantification of Negative and Positive Aspects, Livestock Production Science, 1, 187 - 196, (1974)) frem til for hollandske forhold, og for EF totalt er produktionstabet opgjort
30 til 3 milliarder kr./år.

Der er derfor i høj grad behov for en automatiserbar standardanalysemetode til detektering af ornelugt, så at man i produktionslinjen på et slagteri hurtigt og
35 tilstrækkeligt sikkert kan frasortere slagtekroppe udvisende ornelugt, idet tilvejebringelsen og udnyttelsen af en sådan automatiserbar standardanalysemetode ville gøre det muligt uden risiko for svineproduktionens re-

nommé at undlade kastration af hangrise og dermed at opnå de dermed forbundne meget store økonomiske fordele. De eksisterende metoder til detektering af ornelugt er imidlertid ikke hensigtsmæssige til dette formål:

- 5 Der anvendes i dag to kategorier af metoder til detektering af ornelugt, nemlig direkte (organoleptiske) og indirekte (chromatografiske, immunologiske og massespektrometriske).
- 10 Den traditionelle organoleptiske metode kan f.eks. udføres ved, at en skive bacon anbringes på en glas-Petri-skål i ovn ved 200°C i 6 - 7 minutter, hvorefter den vurderes af et trænet smagspanel på 8 personer.
- 15 I de senere år er der eksperimenteret en del med en variant af denne metode, nemlig den såkaldte handsealer eller loddekolbe. Denne består af en loddekolbe med en specielt udformet spids, der er termostateret til 150°C, og metoden går ud på, at kolben først anbringes
- 20 nogle sekunder på fedtet og derefter holdes under næsen. Handsealermetoden er hurtigere end den traditionelle metode, omend næppe helt så pålidelig, og den har vundet stor udbredelse og hævdes endog at kunne anvendes til separation af lugtende orner på slagtelinjen (P.
- 25 Walstra, G. Mateman, P.C. Moerman, Het Gebruick van De Handsealer In De Slachtlijn Ter Vaststelling van Beregeur, Tijdschr. Diergeneesk., deel 102, afl. 15, p. 913 (1977)), men nøjagtigheden må antages at være for ringe.
- 30 Den organoleptiske referencemetode er givetvis behæftet med en betydelig usikkerhed, men rigtigt udført med anvendelse af store smagshold, under hensyntagen til psykologi, adaptation, individuel variation og lignende,
- 35 udgør den et rimeligt godt værktøj. Metoden vil dog næppe kunne anvendes til separation på slagtelinjen, idet den er for mandskabskrævende til, at økonomien kan bære det.

De øvrige kendte metoder detekterer alle androstenon og kræver alle en ekstraktion, fraktionering og oprensning. Denne separationsprocedure kan gennemføres på forskellig vis, men som en typisk separationsprocedure kan nævnes (W.D. Hubbard et al., Comparison of Various Methods for the Extraction of Total Lipids, Fatty Acids, Cholesterol, and other Sterols from Food Products, J. of AOCS, 54, p. 81 (1977)): ekstraktion med chloroform/methanol, homogenisering i blender, filtrering, vask med vand, faseseparation, vask af vandfase og afdampning af opløsningsmiddel.

Et andet eksempel (Ø. Andresen, A Radioimmunoassay for 5α -Androst-16-en-3-one in Porcine Adipose Tissue, Acta Endocrinologica, 79, 619 - 624 (1975)) er: fedtvæv homogeniseres i absolut ethanol, hvorefter der centrifugeres, supernatanten frasepareres og nedkøles med CO_2 -is/acetone, hvorefter der igen centrifugeres, og supernatanten frasepareres, hvorefter opløsningsmidlet forsigtigt afdampes.

Det er klart, at prøveforberedelsesprocedurer af denne karakter ikke just er velegnede i en automatiseret, hurtig detektionsmetode.

Af chromatografiske metoder har været anvendt såvel tyndtlagschromatografi (R. Claus, B. Hoffmann, H. Karg, Determination of 5α -Androst-16-en-3-one, a Boar Taint Steroid in Pigs, with Reference to Relationships to Testosterone, J. Anim. Sc., 33, No. 6, p. 1293 (1971)), gaschromatografi (J. Wismer-Pedersen, Landøkonomisk Forsøgslaboratorium, Efterårsmøde, p. 136 (1968)) som højtryksvæskechromatografi og gas/væskechromatografi (D.B. Gower, 16-Unsaturated C_{19} Steroids. A Review of their Chemistry, Biochemistry, and Possible Physiological Role, J. Steroid Biochemistry, 3, 45 (1972)). Disse metoder er nu alle forladt på grund af manglende sensitivitet og erstattet af radioimmunoassay. Alle forskerhold i Europa (ca. 5), der arbejder med androstenonbestemmelse, anvender radioimmunoassay (RIA).

Radioimmunoassay går i korthed ud på, at androstenonet efter separation og oprensning kobles til radioaktivt mærket androstenon-antistof. Efter separation af antigen/antistof-complexet måles den resterende radioaktivitet som et mål for androstenonkoncentrationen.

Metoden er sensitiv og nogenlunde pålidelig (interlaboratoriske afvigelser på op imod en faktor 2 er dog blevet rapporteret), men er en decideret laboratoriemetode, der yderligere kræver isotoplaboratorium.

En anden variant af den immunologiske metode, ved hvilken variant man kan undgå nødvendigheden af et isotoplaboratorium, er ELISA, eller enzymkoblet immunosorbent-assay. Metoden er oprindelig udviklet og instrumenteret til detektion af hepatitisvirus i blodbanker, men den er også f.eks. blevet anvendt til detektion af antistoffer mod trichiner i svin på slagterier (Ruitenberget al., Application of ELISA for the Serodiagnosis of T. spiralis Infections in Pigs under Slaughterhouse Conditions, Proc. IIIrd Int. Congress of Parasitology, München, 1203 (1974)) og vil kunne adapteres til androstenonbestemmelse i slagterier. Metoden betjener sig imidlertid af en række dyre kemikalier og synes ikke umiddelbart særlig velegnet til anvendelse under slagteriforhold, og den kræver en fuldstændig prøveforberedelse med afvejning af fedtvæv, ekstraktion, separation og oprensning.

De massespektrometriske metoder indebærer de samme ulemper som nævnt ovenfor i sammenhæng med chromatografiske metoder, idet separationstrinet ved de massespektrometriske metoder udføres ved gaschromatografi.

Med den foreliggende opfindelse tilvejebringes en fremgangsmåde til detektering af ornelugt og -smag hos individuelle slagtekroppe af ukastrerede

- orner eller dele deraf, hvilken fremgangsmåde egner sig til on-line anvendelse i den industri, hvor de individuelle slagtekroppe eller dele deraf behandles, og fremgangsmåden er ejendommelig ved, at IR-spektrofotometriske transmissionsdata bestemmes på en fedtprøve fra den individuelle krop eller del, og således registrerede spektraldata sammenlignes med tidligere registrerede IR-spektrofotometriske transmissionsdata, som man ved har statistisk sammenhæng med ornelugt og -smag, og at der eventuelt bestemmes én eller flere yderligere parametre med statistisk korrelation til ornelugt og -smag, og korrelationen mellem bestemmelsen for den eller de yderligere parametre på en fedtprøve fra den individuelle ornekrop eller del og tidligere registrerede tilsvarende data, som man ved har en statistisk sammenhæng med ornelugt og -smag, anvendes som yderligere parameter eller yderligere parametre i statistisk analyse til detektering af, om ornekroppen eller delen udviser ornelugt og -smag.
- Den IR-spektrofotometriske transmissionsmåling på en fedtprøve fra den individuelle krop eller del kan udføres på en ekstrakt af fedtvæv fra den individuelle orne, en smeltet fedtprøve fra den individuelle orne eller en dampfase tilvejebragt ved fordampning af fedt fra den individuelle ornekrop.
- I modsætning til de ovenfor nævnte kendte metoder, der har været forsøgt anvendt til bestemmelse af ornelugt i slagteridrft, udmærker IR-spektrofotometriske transmissionsmålinger sig ved, at de kan udføres hurtigt og nøjagtigt i hensigtsmæssigt apparatur, og at de kan tilpasses således, at prøveforberedelsen bliver overkommelig til formålet. En særlig fordel er, at der ikke behøver foretages nogen afvejning af prøven i tilfælde, hvor en standardiseret prøveforberedelsesteknik kombineres med transmissionsmålinger

i en cuvette med fastlagt lysvej, eller, hvad der er særlig hensigtsmæssigt, den statistiske sammenhæng med ornelugt og -smag relateres til forholdet mellem transmission eller absorption ved to bestemte bølgelængder i et spektrum, således som det er illustreret i eksempel 1, idet prøvens størrelse eller vægt i disse tilfælde ikke har anden betydning for resultatet, end at prøven skal være af en størrelsesorden, der egner sig til den pågældende bestemmelse.

10

Prøveudtagningen ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan foregå med forskellig grad af automatisering. F.eks. kan man ved starten af slagtelinjen udskære en portion fedtvæv, der efter indkodning af svinets nummer transporteres f.eks. på kop-elevator/transportbånd til en analyseautomat, hvor den videre prøveforberedelse består i en opvarmning af prøven til flydende konsistens og opsugning af det flydende fedt til målecuvetten. Det kan her være hensigtsmæssigt, at der foretages en filtrering eller centrifugering af det flydende fedt. Endvidere er det hensigtsmæssigt, at flow-systemet i analyseautomaten renses automatisk med f.eks. detergent/afioniseret vand.

15

20

Hvis prøven fra slagtekroppen forgasses, kan prøveudtagningen simpelt hen foregå ved afsugning, hvilket kan udføres meget nær fuldautomatisk. På stationen for klassificering kan der således foretages en sådan afbrændingsprøveudtagning ved hjælp af enten en specifik probe eller en funktion sammenbygget med den i forvejen anvendte ledningsevneprobe.

25

30

Den videre analyse af forbrændingsgasserne bør foretages i et meget sensitivt system, og hertil er IR-laser-systemer attraktive. F.eks. kan et IR-LOS-system (Laser Optoacoustic Spectroscopy) på et par minutter analysere en blanding af 10 gasser med en sensitivitet på i praksis omkring 1 ppb

35

(L.B. Kreutzer, Laser Optoacoustic Spectroscopy. A New Technique of Gas Analysis, Analytical Chemistry, 46, 240A, (1974); og L.B. Kreutzer, N.D. Kenyon, C.K.N. Patel, Air Pollution: Sensitive Detection of Ten Gases by Carbon Monoxide and Carbon Dioxide Lasers, Science, 177, side 347, (1972)) og en teoretisk detektionsgrænse på 10^{-3} (L.B. Kreutzer, Ultralong Gas Concentration Infrared Absorption Spectroscopy, J. of Applied Physics, 42, 2934, (1971)). Sådanne systemer er robuste og velegnede til industriel proceskontrol (L.B. Kreutzer, Laser Optoacoustic Spectroscopy. A New Technique of Gas Analysis, loc. cid.).

Medens der ifølge opfindelsen kan opnås en tilstrækkelig pålidelig bestemmelse på basis af en enkelt spektralparameter, hensigtsmæssigt som illustreret i eksempel 1, forholdet mellem absorptionen ved to forskellige bølgelængder i IR-spektret, vil en endnu højere korrelation mellem de ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen bestemte data og ornelugt og -smag kunne opnås ved, at der bestemmes én eller flere yderligere parametre med statistisk korrelation til lugtbilledet, og at korrelationen mellem bestemmelsen for den eller de yderligere parametre på en fedtprøve fra den individuelle slagtekrop eller del og tidligere registrerede data, som man ved har en statistisk sammenhæng med ornelugt og -smag, anvendes som yderligere parametre i statistisk analyse til detektering af ornelugt og -smag. Således er f.eks. koncentrationen af androstenon, hexanal eller skatol i ornekroppes fedt eller koncentrationen af umættede fedtsyrer i ornekroppes fedt, f.eks. bestemt som refraktivt indeks eller iodtal, parametre, der har statistisk korrelation til lugtbilledet (jo højere koncentration, des større sandsynlighed for ornelugt), og som med fordel kan indgå i en multipel korrelation til opnåelse af forhøjede korrelationskoefficienter. I eksempel 2 belyses den forøgelse af korrelationskoefficienten, der opnås, når en IR-bestemmelse på det smeltede fedt kombineres med en kemisk bestemmelse af iodtallet som udtryk for

gråden af umættetheden af de i fedtet indgående fedtsyrer. Foruden ved iodtalsbestemmelse eller refraktivt indeksbestemmelse kan et udtryk for umættethed også fås ved direkte IR-måling, f.eks. ved en måling ved ca. 3000 cm^{-1} , hvor det har vist sig, at der er en høj korrelation til iodtallet, således som det fremgår af nedenstående tabel visende iodtal i relation til IR-transmissionsmåling for 5 orneprøver (målt med Perkin-Elmer IR-spektrofotometer):

10

Tabel.

	Iodtal g/100 g	IR (transmission ved 3004 cm^{-1} divideret med transmission ved 2992 cm^{-1})
15	61,4	0,709
	63,4	0,686
	62,5	0,693
	64,1	0,680
	59,3	0,725

20

Korrelationskoefficienten er 0,99.

Eksempel 1.

På en række prøver af 10 udskæringer af brystflask fra henholdsvis en so og 9 orner blev fedt ekstraheret på følgende måde: 45 g kødprøve blev ekstraheret med 50 ml perchlorethylen i 2 minutter i en Foss-Let-reaktor (en lukket stålbeholder, hvori prøven sammen med perchlorethylen bliver underkastet dels rystning og dels bearbejdning med et frem- og tilbagegående stempel), og ekstrakten indeholdende størstedelen af prøvens fedtindhold blev filtreret gennem kiselgur og var derefter klar til de efterfølgende undersøgelser.

Filtraterne fra de 10 prøver blev overført til cuvetten i et Perkin-Elmer Infrared Spectrophotometer 580, ved hjælp af hvilket der målttes transmittanser i frekvenser omkring toppen ved ca. 1280 cm^{-1} med referenceplateau ved ca. 1300 cm^{-1} . Mellem målingerne blev cuvetten først skyllet med perchlorethylen, dernæst to gange med den næste prøve, på hvilken der skulle måles, og efter tredje gennemskylning blev målingen udført.

På prøver fra hver udskæring foretoges endvidere organoleptisk bedømmelse med et lugtepanel på 8 personer. Resultaterne fremgår af nedenstående tabel:

35 30 25 20 15 10 5

Tabel I.

Forhold peak-bølgelængde/referencebølgelængde for henholdsvis sokød og ornekød ved forskel-
lige lugtkarakterer efter en skala fra 0 (bedste lugt) til 5 (dårligste lugt).

λ_1/λ_2	So	0,0	0,38	0,38	0,50	0,75	1,62	2,12	3,38	3,75	korrelations- koeffi- cient
1300/1280	1,1235	1,1247	1,1173	1,1210	1,1208	1,1171	1,1208	1,1171	1,1090	1,1054	0,90
1300/1275	1,1463	1,1531	1,1415	1,1484	1,1457	1,1420	1,1460	1,1392	1,1346	1,1259	0,88
1300/1270	1,1701	1,1777	1,1643	1,1722	1,1694	1,1656	1,1698	1,1620	1,1569	1,1472	0,88
1295/1280	1,1111	1,1189	1,1057	1,1111	1,1129	1,1091	1,1131	1,1075	1,1015	1,0941	0,81
1295/1275	1,1359	1,1446	1,1316	1,1359	1,1356	1,1362	1,1379	1,1292	1,1248	1,1167	0,85
1295/1270	1,1618	1,1692	1,1540	1,1615	1,1612	1,1598	1,1615	1,1540	1,1468	1,1399	0,87
1290/1280	1,0932	1,1002	1,0863	1,0911	1,0930	1,0934	1,0933	1,0921	1,0846	1,0818	0,72
1290/1275	1,1197	1,1282	1,1139	1,1176	1,1174	1,1199	1,1199	1,1135	1,1075	1,1018	0,84
1290/1270	1,1408	1,1524	1,1363	1,1408	1,1405	1,1435	1,1408	1,1357	1,1314	1,1248	0,82
1300/1285	1,0658	1,0661	1,0639	1,0682	1,0642	1,0644	1,0665	1,0622	1,0571	1,0555	0,88
1305/1280	1,1403	1,1502	1,1338	1,1389	1,1431	1,1349	1,1440	1,1346	1,1316	1,1215	0,74
1305/1285	1,0866	1,0897	1,0801	1,0870	1,0849	1,0813	1,0875	1,0804	1,0789	1,0729	0,77
1310/1280	1,1640	1,1728	1,1568	1,1647	1,1647	1,1567	1,1680	1,1555	1,1498	1,1415	0,80
1310/1285	1,1071	1,1113	1,1040	1,1075	1,1077	1,1021	1,1061	1,1005	1,0966	1,0920	0,90

Det vil ses, at den maksimale korrelationskoefficient
haves ved forholdet 1300/1280 og 1310/1285, men at de
øvrige korrelationskoefficienter også er ganske til-
fredsstillende. Ved anvendelse af dette system vil det
5 være hensigtsmæssigt at frasortere slagtekroppe, der
har en lugtkarakter på 2 eller dårligere, hvilket vil
svare til et forhold mellem peak-bølgelængde- og refe-
rencebølgelængdeabsorption på ca. 1,12.

10 Dernæst analyseredes på samme måde 7 koteletudskæringer
ved bestemmelse af absorptionen ved henholdsvis 1310
og 1285 cm^{-1} og bestemmelse af forholdet mellem absorp-
tionerne. Lugtkaraktererne spredte sig jævnt fra 0,12
til 3,38 bestemt efter en skala fra 0 (bedste lugt) til
15 5 (dårligste lugt; mest udprægede ornelugt). Korrelations-
koefficienten blev fundet til 0,88.

Eksempel 2.

20 På 10 prøver af afsmeltet fedt fra orner foretoges or-
ganoleptisk lugtbedømmelse med et lugtepanel på 8 per-
soner. Prøverne bedømtes efter en skala med karakterer
fra +5 til -5. Den negative del af skalaen angiver til-
tagende dårlig lugt. Resultaterne er anført i nedenstå-
25 ende tabel i kolonnen "Organoleptisk lugtkarakter", som
gennemsnit af de 8 personers bedømmelse.

Fedtprøverne var afsmeltet fra en hakket prøve udtaget
fra den enkelte ornekrop. Den hakkede prøve anbragtes i
30 et bægerglas på sandbad, idet sandbadets temperatur hold-
tes således, at prøvens temperatur var mellem 50 og 60°C.
Så snart en rimelig portion fedt var afsmeltet, dekante-
redes fedtet fra, og det afsmeltede fedt blev opbevaret
i køleskab i plastbægre, idet det var konstateret, at
35 prøverne ved henstand ved stuetemperatur ændredes, formo-
dentlig på grund af harskning, og gav andre IR-resultater.

IR-Spektrofotometriske bestemmelser blev foretaget på flydende fedt fra de 10 prøver. Resultaterne er i nedenstående tabel opgivet som forholdet mellem transmittansen ved 1300 cm^{-1} og transmittansen ved 1275 cm^{-1} .

5

Det anvendte apparat er en modificeret "Milko-Scan" 203, et IR-spektrofotometer, der er specielt udviklet til måling af fedt, protein og lactose i mælk, og som er beskrevet i detaljer i "The Analysis of Milk by Infrared Absorption", A Thesis submitted for the Degree of Bachelor of Philosophy at the University of York, by John Shields, November 1975. Apparatet var til formålet modificeret på følgende måde: 4 af apparatets 6 optiske filtre var udskiftet for at kunne måle bølgelængdeforholdene ved $1300\text{ cm}^{-1}/1275\text{ cm}^{-1}$ og $1300\text{ cm}^{-1}/1235\text{ cm}^{-1}$, idet disse forhold blev udlæst direkte og printet samtidig på en tilsluttet skriver. Cuvetten og apparatets indre var termostateret til 50°C for at sikre, at fedtet holdtes flydende i cuvetten. Apparatets ellers indbyggede homogenisator, der anvendes til mælk, var fjernet, og fedtet blev manuelt sprøjtet direkte ind i cuvetten. I forhold til normaludgaven var apparatets følsomhed forøget ved større forstærkning i det elektriske kredsløb, hvilket bevirkede, at det var nødvendigt at måle på en standard for at kunne korrigere for apparatdrift. Som standard blev anvendt rent kommercielt svinefedt.

10

15

20

25

30

35

Ved målingen blev cuvetten (cuvettevejlængde $37\text{ }\mu\text{m}$) først skyllet grundigt med prøven, hvorefter der blev foretaget tre 10-dobbelte bestemmelser på prøven, idet nye prøvemateriale blev skyllet igennem cuvetten inden hver 10-dobbelt bestemmelse. Før og efter prøven blev der foretaget 10-dobbelt bestemmelse på standarden, og resultatet for prøven blev korrigeret ved gennemsnittet af standardmålingerne.

Kolonne 3 i nedenstående tabel viser den lugtkarakter, der fremkommer, når man udfører lineær korrelation mellem organoleptisk bestemt lugt og IR-måling og ud-læser lugten ved hjælp af den fremkomne korrelations-
5 ligning.

I kolonne 4 i tabellen er anført iodtallet, som er et udtryk for graden af umættethed, bestemt ved den kemiske standardmetode. Enheden er g iod/100 g fedtstof. Ende-
10 lig er i kolonne 5 anført den lugtkarakter, som fremkommer, når man foretager multipel regressionsanalyse imellem organoleptisk bestemt lugt, IR-målt forhold og iod-tal.

Som det vil ses af tabellen og de under tabellen anførte beregninger af korrelationskoefficienter, opnås der ved anvendelse af en multiple korrelation en væsentlig for-
15 øgelse af korrelationskoefficienten.

Der er mulighed for at anvende andre statistiske metoder end regressions- og multipelregressionsanalyse ved behand-
20 lingen af datamaterialet. Dataene for de 10 prøver er f.eks. blevet behandlet i en diskriminansanalyse. Med denne var det muligt at sortere prøverne perfekt i tre grupper med
25 grænserne lugt > -1, -1 > lugt > -2,5 og lugt < -2,5.

35
30
25
20
15
10
5

Tabel II.

Smeltet fedt målt på modifieret Milko-Scan 203.

Udlæsning 1300/1275	Organoleptisk lugt karakter	Lugt bestemt via IR-måling (lineær regression)	Iodtal i g/100 g	Lugt bestemt via IR-måling og iodtal (multipel lineær regression)
0,27	0,25	-0,75	70,95	-0,72
0,25	0,00	-1,05	70,77	-1,10
0,31	-0,50	-0,13	73,77	-0,57
0,22	-1,00	-1,51	64,78	-0,28
0,21	-1,50	-1,66	67,00	-1,02
0,17	-1,75	-2,27	65,50	-1,49
0,17	-1,88	-2,27	70,30	-2,64
0,16	-2,62	-2,43	70,05	-2,74
0,25	-3,12	-1,05	75,00	-2,12
0,14	-3,50	-2,73	70,20	-3,24
		Organoleptisk bestemmelse versus IR-måling	Organoleptisk bestemmelse IR-måling og iodtalsbestemmelse	
	Korrelationskoefficient	R	0,68	0,85
	Index of determination	R ²	0,46	0,73
	Adjusted index of determ.	R ¹²	0,39	0,65

$$R^{12} = \frac{N-1}{N-p} \times R^2 - \frac{p-1}{N-p} \quad , \quad N = \text{antal målinger}, \quad p = \text{antal uafhængige variable}.$$

Patentkrav.

1. Fremgangsmåde til detektering af ornelugt og -smag hos individuelle slagtekroppe af ukastrerede orner
5 eller dele deraf,
k e n d e t e g n e t ved, at IR-spektrofotometriske transmissionsdata bestemmes på en fedtprøve fra den individuelle krop eller del, og således registrerede spektraldata sammenlignes med tidligere registrerede IR-spektrofotometriske
10 transmissionsdata, som man ved har statistisk sammenhæng med ornelugt og -smag, og at der eventuelt bestemmes én eller flere yderligere parametre med statistisk korrelation til ornelugt og -smag, og korrelationen mellem bestemmelsen for den eller de yderligere parametre på en fedtprøve fra den
15 individuelle ornekrop eller del og tidligere registrerede tilsvarende data, som man ved har statistisk sammenhæng med ornelugt og -smag, anvendes som yderligere parameter eller yderligere parametre i statistisk analyse til detektering af, om ornekroppen eller delen udviser ornelugt og -smag.
20
2. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at den IR-parameter, der lægges til grund for sammenligningen, er forholdet mellem absorptionen ved to forskellige bølgelængder i IR-spektret.
25
3. Fremgangsmåde ifølge krav 2,
k e n d e t e g n e t ved, at det forhold, ved hvilket kroppen eller delen bestemmes som udvisende ornelugt, er et sådant, som er statistisk ækvivalent med en lugtkarakter på -2 i en skala fra -5 (dårligste lugt) til +5 (bedste lugt).
30
4. Fremgangsmåde ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at den yderligere parameter, der bestemmes, er koncentrationen af umættede fedtsyrer i kroppenes eller delenes fedt.
35

5. Fremgangsmåde ifølge krav 4,
k e n d e t e g n e t ved, at koncentrationen af umæt-
tede fedtsyrer i kroppen eller delenes fedt bestemmes
som refraktivt indeks eller ved IR-transmissionsmåling.

5

Fremdragne publikationer:

Erner Andersen m.fl. "Industriel levnedsmiddelkonservering",
bind 1, København 1965, side 138-144, 158-159, 180-181,
194-196.