

Rapport

PTR-TOF-MS som detektionsprincip for hangriselugt

14. februar 2012
Proj.nr.: 2000223
Version: 01
CBN/ASCR/NCK/MT

Claus Borggaard, Annette Schäfer og Niels Kjærsgaard

Sammendrag

Der arbejdes i EU-regi hen imod et ophør af kirurgisk kastration pr. 1. januar 2018, og der er på nationalt plan politiske ønsker om et endnu hurtigere stop. Et scenarie er derfor, at op til 50 % af de slagtede grise i Danmark i løbet af en kortere årrække vil være hangrise.

Den afvigende hangriselugt består hovedsageligt af følgende tre forbindelser: skatol, androstenon og indol. Ideelt set skal et nyt detektionsudstyr være i stand til at måle alle tre forbindelser, være relativt billigt og tilstrækkeligt hurtigt til at kunne følge med en almindelig produktion på et nordisk slagteri.

I "Review af udvalgte metoder til detektion af hangriselugt"¹ blev forskellige potentielle teknologier til detektion af hangriselugt gennemgået. Det blev konkluderet, at den mest lovende kandidat er PTR-TOF-MS fra det østrigske firma Ionicon Analytik G.m.b.H.

Formål

Formålet med denne rapport er at sandsynliggøre, om PTR-TOF-MS er i stand til at måle androstenon, skatol og indol i spækprøver fra grise, i koncentrationer som er relevante, når grise med afvigende lugt skal frasorteres. Desuden undersøges det, om udstyret kan måle forekomsten af de relevante forbindelser ved en simpel head space-måling. Dette vil muliggøre en simpel implementering af udstyret på svineslagterierne.

Konklusioner

Skatol og indol kan let måles med PTR-TOF-MS i head space over en spækprøve. Udstyret giver et godt signal for androstenon, men der skal arbejdes på at finde en metode, hvorved androstenonen kan frigøres fra spækket på en reproducerbar måde.

¹ DMRI/Teknologisk Institut, A. Schäfer, C. Borggaard og N. Kjærsgaard, 22. december 2010.

Baggrund

Der arbejdes i EU-regi hen imod et ophør af kirurgisk kastration pr. 1. januar 2018, og der er på nationalt plan politiske ønsker om et endnu hurtigere stop. Et scenarie er derfor, at op til 50 % af de slagtede grise i Danmark i løbet af en kortere årrække vil være hangrise.

Den afvigende hangriselugt består hovedsageligt af følgende tre forbindelser: skatol, androstenon og indol. Ideelt set skal et nyt detektionsudstyr være i stand til at måle alle tre forbindelser, være relativt billigt og tilstrækkeligt hurtigt til at kunne følge med de slagtelinjehastigheder, der kan forekomme på selv de største europæiske slagterier. Målingen kan med fordel foretages på en spækprøve fra nakkespækket.

I "Review af udvalgte metoder til detektion af hangriselugt"² blev forskellige potentielle teknologier til detektion af hangriselugt gennemgået. Det blev konkluderet, at den mest lovende kandidat er PTR-TOF-MS fra det østrigske firma Ionicon Analytik G.m.b.H. På 5th International Conference on Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry³ demonstreredes mange anvendelser af udstyret, bl.a. inden for medicin, bioteknologi og miljømålinger, men også i forbindelse med identifikation af eksplosiver.

Der er foretaget en række test, dels af en DMRI-medarbejder hos Ionicon, dels hos DMRI, der lejede udstyret i en to måneders periode. Forsøgene har vist, at skatol og indol let kan analyseres. En androstenonbestemmelse stiller større krav til prøveforberedelsen for at få frigivet androstenon fra spækket. På trods af at der mangler en optimal prøveforberedelse, giver PTR-TOF-MS et tydeligt signal fra denne forbindelse.

Formål

Formålet med denne rapport er at sandsynliggøre, om PTR-TOF-MS er i stand til at måle androstenon, skatol og indol i spækprøver fra grise, i koncentrationer som er relevante for at kunne frasortere grise med afvigende lugt. Desuden undersøges det, om udstyret kan måle forekomsten af de relevante forbindelser ved en simpel head space-måling.

PTR-TOF-MS som detektionsteknologi

Beskrivelse af analyseprincippet

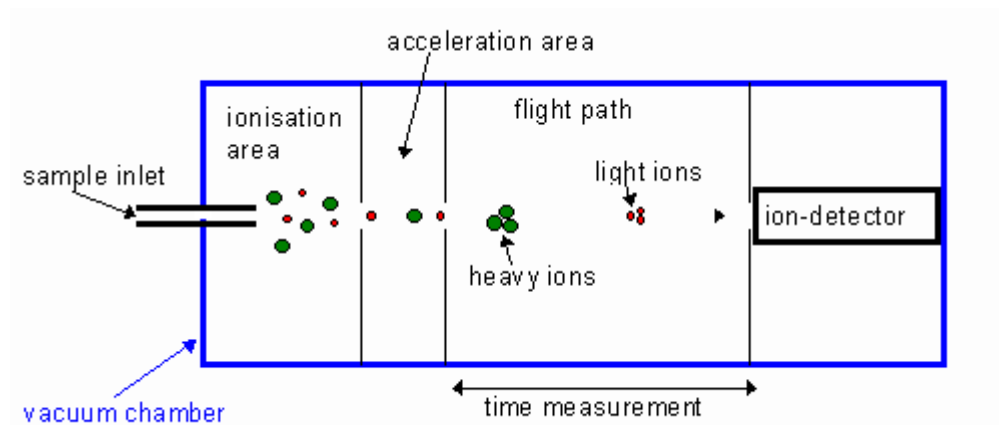
PTR-TOF-MS (Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry) er en meget følsom teknik til at måle flygtige organiske forbindelser (VOC: volatile organic compounds) online. DMRI har gennem projektet opnået en vis erfaring med dette udstyr og har testet det hos såvel Ionicon som i Roskilde. DMRI har arbejdet med "time of flight (TOF)" udgaven af udstyret, som er den mest sensitive af Ionicon's modeller. Ifølge udstyrsleverandøren reagerer udstyret lineært i koncentrationsintervallet 5 ng/kg (nanogram/kg) luft og op til 1 mg/kg luft. Ved højere koncentrationer er det således nødvendigt at fortynde luften med ren luft før målingen.

² DMRI/Teknologisk Institut, A. Schäfer, C. Borggaard og N. Kjærsgaard, 22. december 2010.

³ Afholdt på Univerzitätszentrum Obergurgl, Obergurgl, Østrig i perioden 26.01.2011-02.02.2011.

I nedenstående er vist en nærmere beskrivelse af måleprincippet.

Massespektromet PTR-TOF-MS er et massespektrometer, der anvender "time of flight"-princippet til er at identificere de kemiske bestanddele af de flygtige stoffer, der ønskes analyseret. Det overordnede princip kan illustreres ved hjælp af figur 1, der viser en simplificeret model af et "time of flight" massespektrometer.



Figur 1. Model af et "time of flight" massespektrometer

For bedst muligt at kunne måle de tre primære forbindelser, der giver anledning til hangriselugt, opvarmes prøven, der er udtaget fra nakkespækket på slagtekroppen. Gas fra "head space" over prøven indføres i udstyrets inlet (sample inlet) og videre i ioniseringskammeret, hvor molekylerne får tilført en proton og derved bliver positivt ladede. Molekylet (der på grund af denne ændring nu er et ion) har nu en elektrisk ladning og kan derfor accelereres i et elektrisk felt, der er inde i accelerationskammeret. Jo større elektrisk ladning ionen er tilført, og jo lettere ionen er, desto større acceleration og hastighed vil den opnå.

Ved at måle den tid det tager ionerne at bevæge sig en vis distance (fra accelerationskammeret til ion-detektoren), kan forholdet imellem ionens masse og elektriske ladning bestemmes. Da ladningen i dette tilfælde altid er den samme, kan molekyl-ionens masse bestemmes, og det pågældende stof identificeres. Molekylmasserne for de tre vigtige hangrisestoffer er:

Skatol:	131,2 u (amu atomic mass unit)
Androstenon:	272,4 u
Indol:	117,2 u

Det, som adskiller PTR-TOF-MS'en fra andre massespektrometriske metoder, er bl.a., at indføring af prøven sker uden membran, som kan stoppe til med klæbrige substanser fra fedtet. Membranen er erstattet af et meget fintmasket metalnet. Ioniseringen er meget nænsom, således at man undgår, at molekylerne fragmenteres. Dette gør identifikationen på baggrund af de målte masser mere enkel.

En yderligere fordel ved PTR-TOF-MS er, at metoden reagerer øjeblikkeligt på

tilstedeværelsen af VOC-komponenter og falder igen til nul, så snart prøven fjernes. Dette muliggør, at et enkelt udstyr vil kunne måle en prøve på under 10 sekunder. En eventuel prøveforberedelse (opvarmning) på op til 4 minutter pr. prøve vil ikke være en hindring for en hurtig afvikling af prøven, da de kan håndteres i et lagersystem under temperaturkonditioneringen.

Aktiviteter og resultater med PTR-TOF-MS

*Aktiviteter med
PTR-TOF-MS*

Der er i løbet af året opnået en række erfaringer med PTR-TOF-MS udstyret, opnået igennem:

- deltagelse i konference og workshop med PTR-TOF-MS hvor indledende måleresultater med udstyret blev præsenteret
- ophold og forsøg hos Ionicon, Østrig
- igennem leje af udstyret i en to måneders periode i Roskilde
- opsamling og frigivelse af androstenon i SPME-fibre

Forsøg

Laboratorieafprøvning af PTR-TOF-MS udstyret hos Ionicon, Østrig

Der er gennemført en række test hos Ionicon, dels af Ionicon's eksperter, dels af DMRI-medarbejder under ophold hos Ionicon i perioden 23.08.2011 - 02.09.2011. Formålet har dels været at afprøve, om udstyret har tilstrækkelig følsomhed til at kunne måle alle tre ASI-komponenter (androstenon, skatol, indol) i svinespæk dels at få et nært kendskab til udstyrets virkemåde.

Inden de første målinger blev foretaget hos Ionicon, var der en del usikkerhed om, hvor meget arbejde det ville kræve at få udarbejdet en prøveforberedelse, så ASI-forbindelserne kan overgå til head space. Derfor blev der i første omgang kun fremsendt 5 prøver til Ionicon i Østrig. Prøverne blev leveret i frossen tilstand.

De 5 spækprøver var udvalgt med relativt høje niveauer af ASI-stofferne androstenon og skatol.

	Interval	Gennemsnit
Indol	0.09 - 0.37	0.25
Skatol	0.23 - 1.10	0.71
Androstenon	1.70 - 6.30	4.64

Tabel 1. HPLC-referencemålinger for de 5 første spækprøver (enheder i ppm = mg/kg).

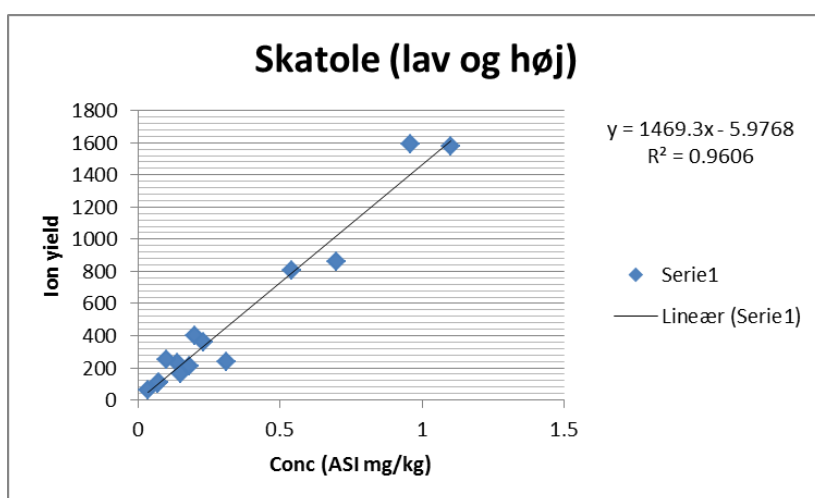
Da dette forsøg viste opmuntrende resultater ved målinger med PTR-TOF-MS-udstyret blev der yderligere fremskaffet 10 spækprøver, hvor indholdet af androstenon, skatol og indol (ASI) er kendt efter HPLC-referencemetoden. De 10 prøver blev udvalgt, så de har et indhold af de respektive ASI-stoffer svarende til typiske koncentrationer i hangrisespæk.

	Interval	Gennemsnit
Indol	0.03 - 0.56	0.13
Skatol	0.04 - 0.51	0.18
Androstenon	0.00 - 2.50	0.88

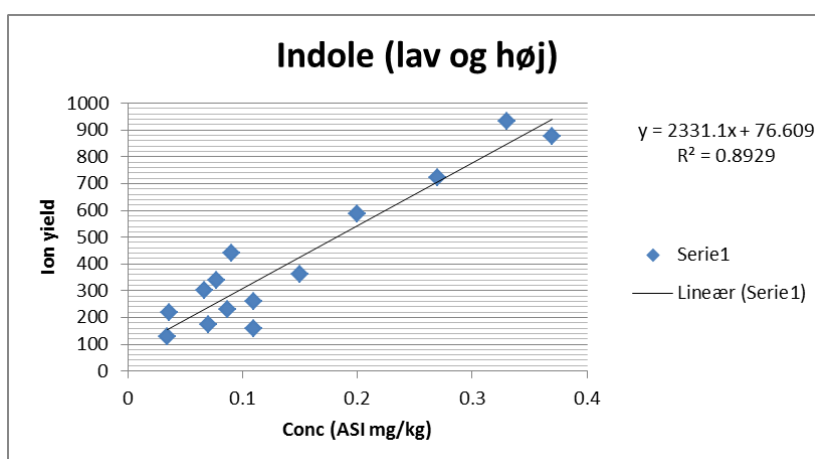
Tabel 2. Spækprøver med HPLC-bestemte koncentrationer. 10 prøver til analyse hos Ionicon til supplerung af de 5 prøver fra første runde. Værdier er angivet i enheden ppm (parts per million = mg/kg)

Resultater

I figur 2 og 3 er resultaterne for de to forsøgsrunder slået sammen. Det ses, at der er en klar sammenhæng mellem prøvernes indhold af hhv. skatol og indol bestemt ved HPLC-referencemetoden og målingen fra PTR-TOF-MS-udstyret.



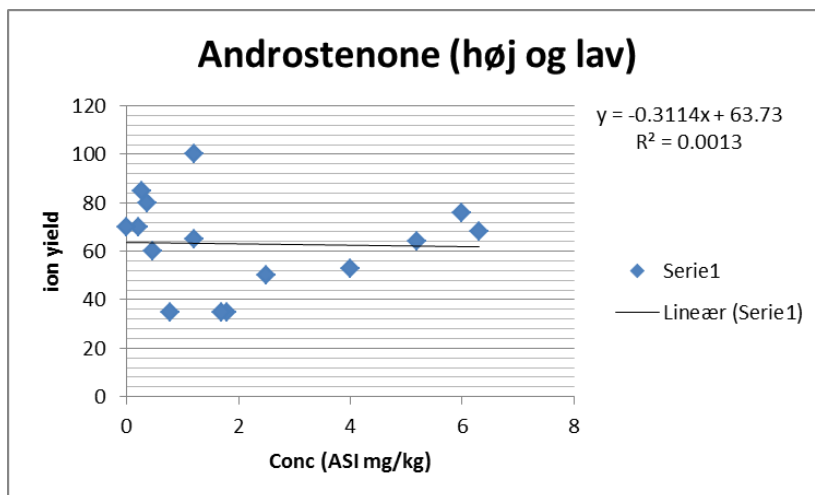
Figur 2. Sammenhæng mellem skatol målt ved HPLC-referencemetoden og PTR-TOF-MS



Figur 3. Sammenhæng mellem indol målt ved HPLC-referencemetoden og PTR-TOF-MS

I figur 2 og 3 dækker brugen af udtrykket "ion yield" over antallet af skatol- og indol-ioner, der har ramt detektoren i PTR-TOF-MS inden for et tidsinterval svarende til den flyvetid (TOF), der kan forventes af ioner med de respektive masser.

Til gengæld ses det af figur 4, at der for androstenon ikke er nogen klar sammenhæng mellem målingen med PTR-TOF-MS-udstyret og referencemetoden.



Figur 4. Sammenhæng mellem androstenon målt ved HPLC-referencemetoden og PTR-TOF-MS

Målingerne i figur 4 demonstrerer, at der er signal, men at en større del af signalet kan skyldes en konkurrerende forbindelse med næsten samme masse. Alternativt kan det skyldes, at androstenonen ikke frigives fra spækprøven på en reproducerbar måde.

Problemet med androstenon er, at det er lipofilt (=fedtelskende) og vanskeligt at få frigivet fra spækket. For skatol og indol er en simpel opvarmning af prøverne tilstrækkeligt. For androstenon vil det være nødvendigt med anden prøveforberedelse, f.eks. ekstraktion af androstenonen før opvarmning.

Laboratorieafprøvningen af PTR-TOF-MS udstyret i Roskilde

Ud fra de gennemførte test hos Ionicon blev PTR-TOF-MS-udstyret lejet for en to måneders periode af DMRI i Roskilde, hvor der blev arbejdet på at afklare udstyrets potentiale til placering at-line (på laboratoriet) på et nordisk slagteri. Der fokuseredes på skatol og indol og muligheden for at opnå tilstrækkeligt præcise og hurtige målinger. Herudover var det hensigten at afprøve alternative metoder til opsamling af androstenon, så det kunne måles i PTR-TOF-MS'en (se afsnittet på side 11).

Forsøg

Til denne afprøvning blev anvendt 74 spækprøver, udvalgt på baggrund af skatol- og indolindholdet fundet ved hjælp af HPLC-referencemetoden. Spækprøverne fordeler sig som følger:

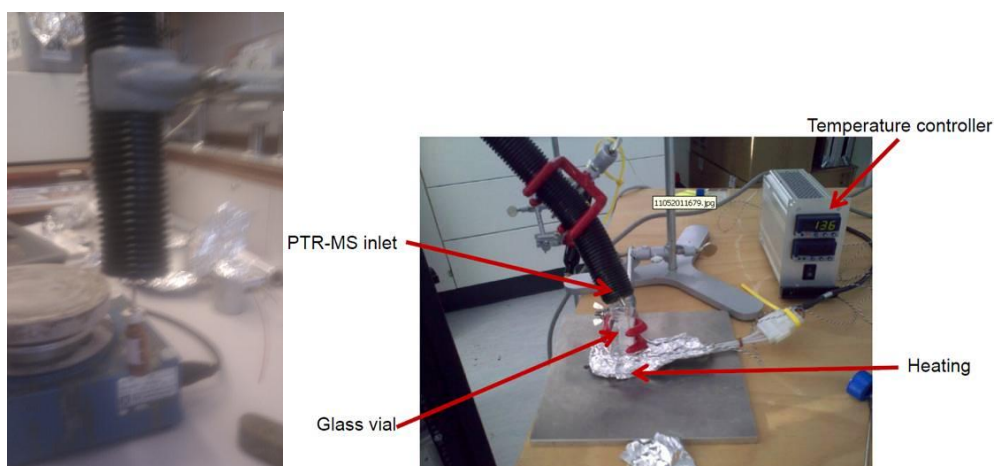
	Interval	Gennemsnit
Indol	0.02 - 0.45	0.08
Skatol	0.02 - 0.73	0.23

Tabel 3. Interval og gennemsnit for spækprøver (ppm).

Intervallerne for skatol- og indolniveauerne for de valgte prøver ligger fordelt omkring den grænse, der traditionelt angives som detekterbar af den menneskelige næse.

Prøveforberedelse

Fra hver prøve blev udboret 2 spækorme (diameter 4 mm og længde på ca. 15 mm), som blev opbevaret på frost, indtil de skulle testes på PTR-TOF-MS'en. Hver orm blev placeret i en lille glasflaske (en såkaldt vial) der kan rumme 3 - 4 kubikcentimeter. Flasken påsættes en membranhatte af silikonegummi. Inlet fra PTR-TOF-MS'en, der består af en hård plastslange med en diameter på 2 mm samt en tilsvarende trykudligningslange, trykkes igennem silikonemembranen. Glasflasken pakkes i aluminiumsfolie (som er en fremragende leder af varme). Den aluminiumsindpakkede flaske sættes herefter i god kontakt med et termostateret varmelegeme, som er indstillet til 170 °C.



Figur 5. Forsøgsopstilling

Resultater

Målingen med PTR-TOF-MS'en er påbegyndt, mens prøven (spækormen) stadig var frossen, og signalet for skatol og indol er fulgt under opvarmningen af prøven. Da både skatol og indol bidrager til hangriselugten, vælges det at vise forsøgsresultaterne for disse to komponenter som et vægtet gennemsnit kaldet skatolækvivalenter⁴:

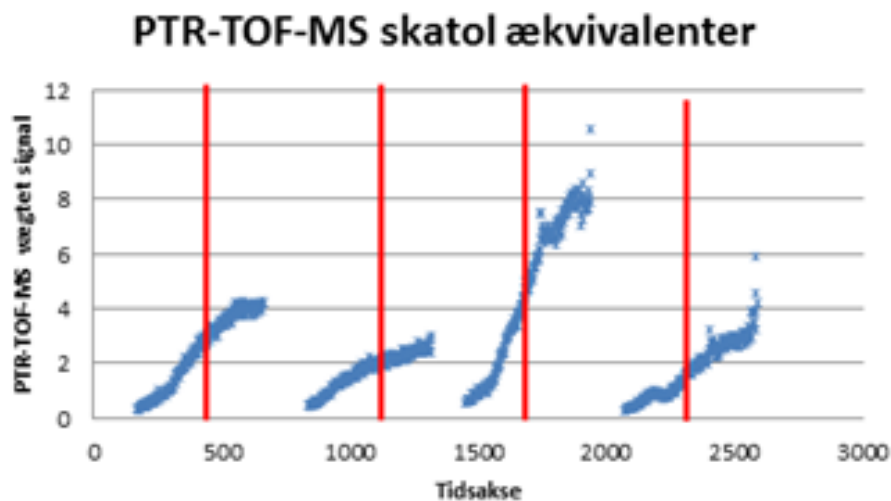
$$\text{skatolækvivalenter} = 100 \cdot (0.759 \cdot \text{skatol} + 0.422 \cdot \text{indol} + 0.027)$$

Hvor skatol og indol måles i ppm (mg/kg).

I figur 6 er vist de rå signalværdier for 4 af de 74 spækprøver under opvarmningen. Signalhøjden efter 4 minutter (240 sekunder) registreres og kan sammenlignes

⁴ J. Hansen-Møller (1998). Analytical methods for determination of boar taint compounds. Skatole and boar taint. Danish Meat Research Institute (1998).

med skatolækvivalenter beregnet på baggrund af HPLC-referencemetoden.

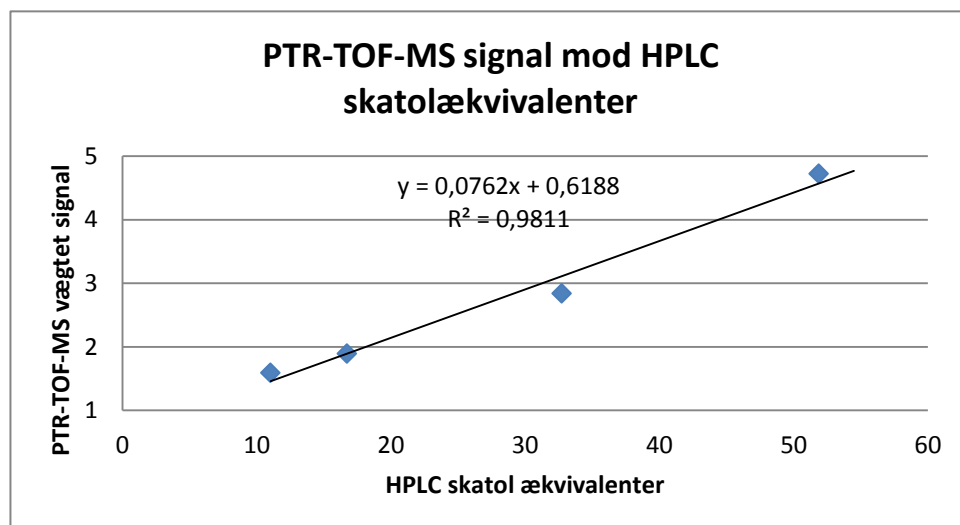


Figur 6. PTR-TOF-MS signalhøjde (vægtet mix af skatol- og indolsignaler) som funktion af tiden angivet i sekunder.

De røde lodrette streger er alle anbragt 240 sekunder efter starten af opvarmning for hver prøve. Tidsaksen er en fortløbende akse, og skatolækvivalenter (på baggrund af HPLC-referencemetoden) for de 4 prøver er henholdsvis 33,16, 51 og 11.

I de sidste 2 prøver optræder nogle pludselige spidser i signalværdierne. Disse er forårsaget af, at spækket i glasflasken giver sig til at stødkoge, så fedt sprøjter direkte ind i PTR-TOF-MS-indsugningen. Sådanne stødkogninger skal om muligt undgås.

I figur 7 er sammenhængen mellem signalhøjder fra figur 6 og HPLC-skatol-ækvivalenter vist.



Figur 7. Signalhøjder fra figur 6 afsat mod HPLC skatolækvivalenter (referencemetoden).

I figur 6 skal man lægge mærke til, at signalerne vokser med tiden for hver af de 4

viste prøver. Dette skyldes, at prøven gradvist opvarmes, og at ligevægten mellem fedtprøve og head space derved forskydes mere og mere til fordel for head space. En af svaghederne ved fremgangsmåden er, at ligevægten ikke på noget tidspunkt når at etablere sig. Dette betyder, at metoden vil være afhængig af en stram styring af temperatur og tid.

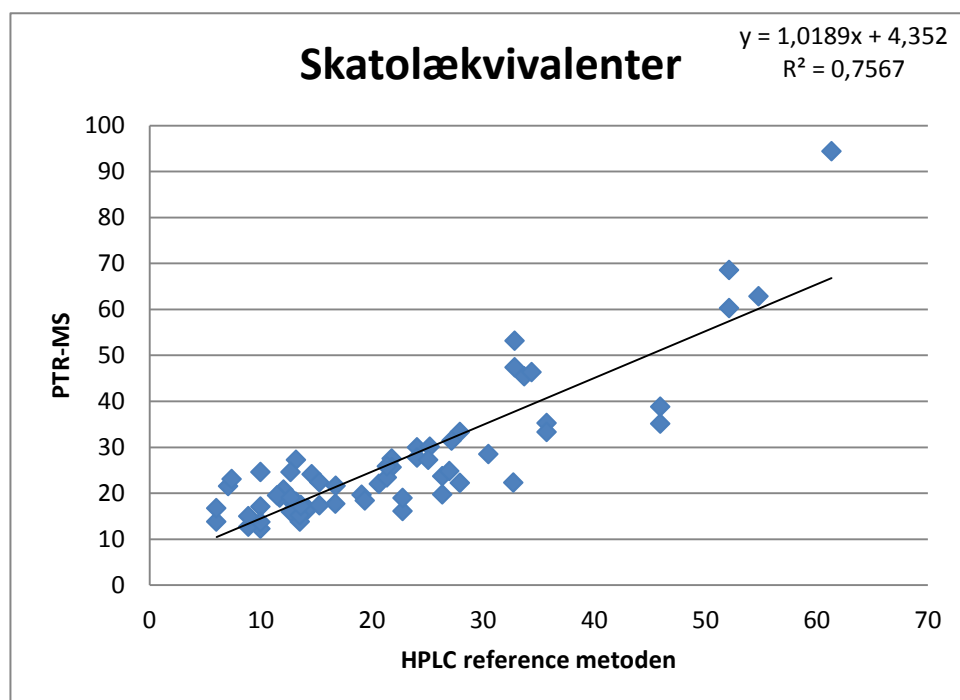
Reproducerbarhed

Ud af de 74 prøver, der er til rådighed for forsøget, er de 21 målt 2 gange (to orme fra samme prøve) på to forskellige dage. På denne måde er det muligt at estimere et mål for PTR-TOF-MS'ens reproducerbarhed.

Resultater:

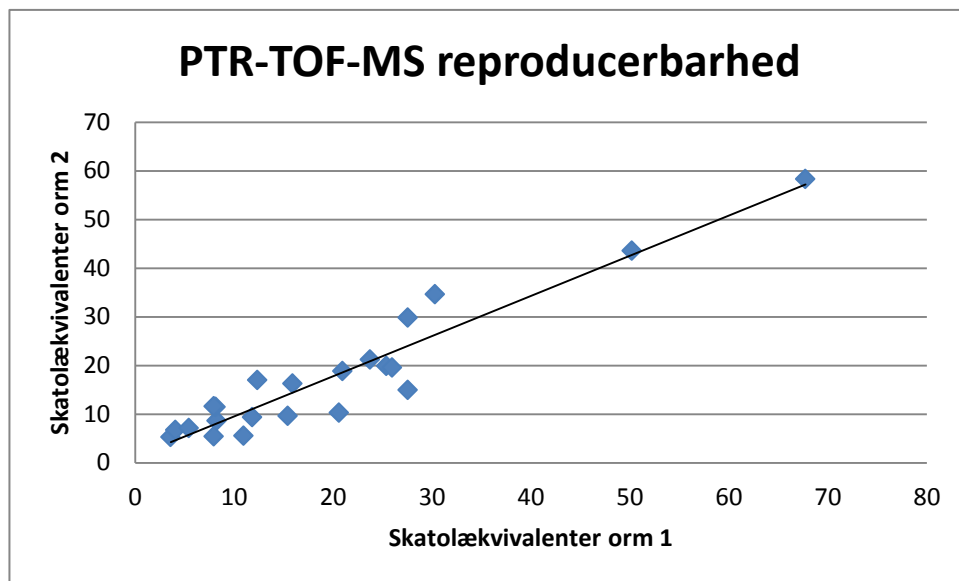
I det følgende sammenholdes PTR-TOF-MS'ens og HPLC-referencemetodens resultater. Ved vurderingen af resultaterne skal det erindres, at den simple prøveforbehandling giver plads for store fejlkilder, som let fjernes ved en automatisering af målingerne.

I figur 8 er vist resultaterne for de 74 prøver, der både er målt med HPLC-referencemetoden og med PTR-TOF-MS-udstyret. Der opnås en korrelation på $R^2 = 0,76$, altså langt fra perfekt. Ved vurderingen af resultaterne skal det tages i betragtning, at HPLC-metoden ikke selv er fejlfri. For skatol og indol er den relative laboratorieusikkerhed på ca. 10%. For androstenon er den relative usikkerhed på ca. 3%.



Figur 8. PTR-TOF-MS-metoden mod HPLC-referencemetoden (omregnet til skatolækvivalenter).

I figur 9 gives et indtryk af PTR-TOF-MS'ens reproducerbarhed. Den gennemsnitlige afvigelse mellem to orme fra samme gris er på 4 skatolækvivalenter. Gentagelserne er kørt på hver sin dag.



Figur 9. PTR-TOF-MS reproducerbarhed (N = 21)

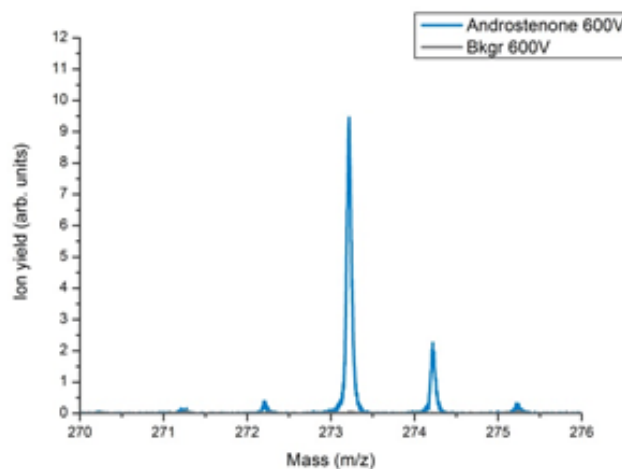
Fejlkilder i forbindelse med PTR-TOF-MS afprøvningen

Den anvendte prøveforberedelse, der ligger til grund for ovenstående resultater, er langt fra optimal. Ved en automatisering af metoden kan fejlene reduceres væsentligt uden større anstrengelser. Der kan med fordel gøres følgende simple tiltag for at forbedre resultaterne.

1. Prøverne skal være forvarmet til en fast temperatur på en langt mere ensartet måde end i dette forsøg.
2. I forsøget indsuges head space fra en lukket vial. For at undgå undertryk er der sammen med inlet-røret indført et trykudligningsrør, som tillader erstatningsluft udefra at komme i vial. Luften omkring indsugningen kan nogle gange være kommet næsten direkte fra trykudligningsrøret, således at de målte værdier for skatol og indol er for lave.
3. Temperaturen af spækprøven skal kunne kontrolleres (og styres). Dels for at undgå at der kommer for høje koncentrationer af VOC'er i head space, hvorved signalet fra PTR-TOF-MS ikke vokser lineært med koncentrationerne, dels for at forhindre stødkogning i prøvebægeret, hvilket kan resultere i et ujævnt måleforløb.
4. Det skal undersøges, om den samlede koncentration af proton-indfangende VOC'ere ikke har været for høj i udstyrets ioniseringskammer. Sker dette, vil det være nødvendigt at sænke koncentrationen i inlet ved at opblande head space med ren og tør luft. Hvis VOC-koncentrationerne i inlet er for høje, vil de registrerede signaler ikke være proportionelle med mængden, der rammer detektoren.

Udvidelse af PTR-TOF-MS-metoden til også at bestemme androstenon

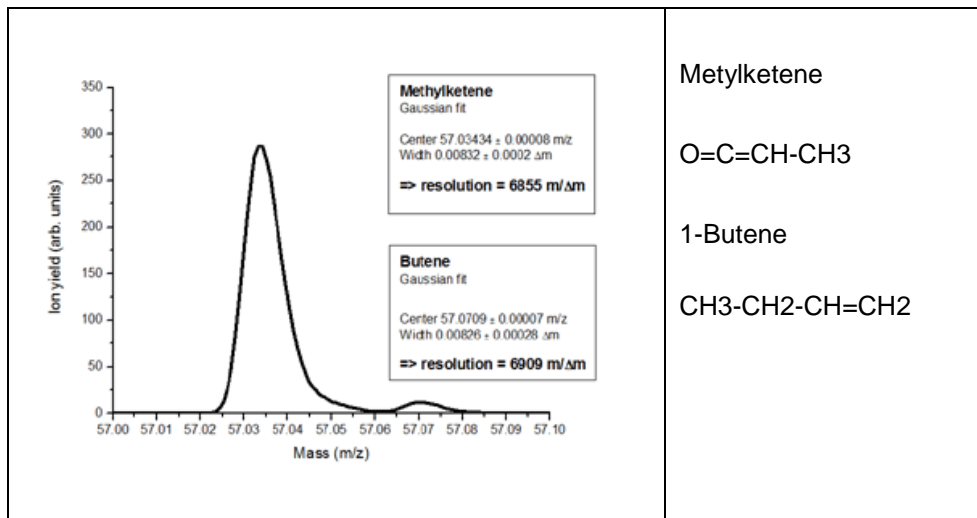
Det er kvalitativt demonstreret, at PTR-TOF-MS-udstyret giver et øjeblikkeligt udslag, når den "snuser" til luften over en lille krystal af rent androstenon. Dette er konstateret, ved at en krystal er anbragt i bunden af en beholder, der lukkes med et låg. Efter lidt tid sniffes med PTR-TOF-MS til luften i den lukkede beholder. Herved stiger ion-yield næsten momentant for en masse ved 272,4u (+1 proton fra ioniseringen) svarende til androstenons. Dette demonstrerer, at metoden er tilstrækkeligt følsom til at kunne måle androstenon i de små koncentrationer, der er tale om i spæk. I figur 10 er signalet for androstenon fra en sådan ren krystal vist. Bemærk, at androstenonkrystallen ikke er perfekt oprenset, idet der ses en del mindre udslag i nabolaget. Målingen er foretaget ved en temperatur på ca. 60° C.



Figur 10. Måling af androstenonkrystal. Bemærk det kraftige signal ved ca. 273 u svarende til androstenons masse + 1 proton fra ioniseringen.

Androstenon-molekylerne er dog væsentligt tungere end både indol og skatol og samtidigt mere "klæbende" til spækprøven. Dette gør, at man skal varme prøven til en højere temperatur for at drive forbindelsen ud af spækprøven og over i head space. Derudover har det vist sig, at der er en anden forbindelse i spækken, der har omtrent samme masse som androstenon og derfor kan forveksles med androstenon. Dette problem kan løses ved en forbedret dataanalyse, idet de små masseforskelle mellem disse to molekyler kan skelnes, hvis forskellen er større end ca. 0,02 u. PTR-TOF-MS kan skelne sådanne små forskelle, men det kræver en mere kompliceret signalbehandling.

For at demonstrere PTR-TOF-MS'ens evne til at adskille tætliggende masser er der i figur 11 et eksempel fra Ionicon, hvor de to forbindelser metylketene og butene separeres. De to forbindelser har formelt samme massetal (nemlig 56 +1 proton masse fra ioniseringen i PTR-processen), men deres faktiske masser adskiller sig med 0,035 u. Denne forskel kan nemt opløses med en passende signalbehandling.



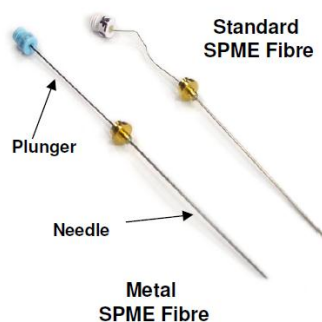
Figur 11. Et eksempel fra Ionicon på hvor effektivt to forbindelser med næsten ens masse kan kvantificeres hver for sig.

På grund af dette behov for en speciel signalbehandling for androstenon er der primært arbejdet med skatol og indol og i mindre omfang med androstenon. Der er behov for et større udviklingsarbejde til forbedring af prøveforbehandlingen, der kan gøre androstenon tilgængeligt for måleudstyret samt signalbehandlingssoftware, der automatisk kvantificerer lugtkomponenterne i spækket.

På trods af disse ovenfor beskrevne vanskeligheder lykkedes det at få afprøvet en prøvesamplings teknik kaldet SPME-adsorption, hvorved androstenonen kan gøres tilgængelig for en måling i et massespektrometer.

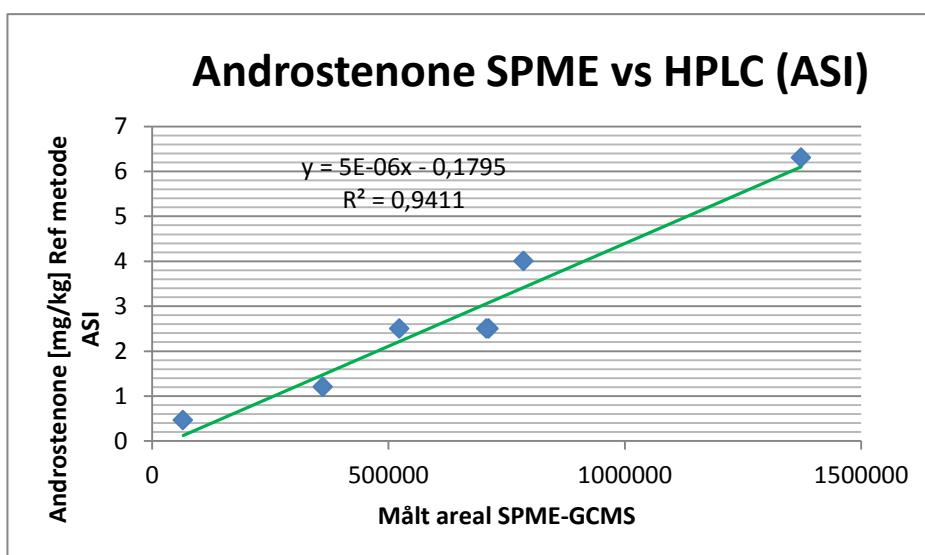
Måling af androstenon med SPME-fibre og massespektrometer

SPME er en forkortelse for Solid Phase Micro Extraction. Metoden bygger på, at forbindelser i luften kan adsorberes på overfladen af forskellige plastmaterialer. Til analysebrug benyttes nåleformede fibre, som placeres i head space over prøven, der skal analyseres (eksempelvis en spækprøve). Efter nogen tid vil der have opsamlet sig en lang række forbindelser på overfladen, heriblandt androstenon.



Billede 1. Billede af standard SPME-fibre.

Herefter kan fiberen placeres i den opvarmede inlet til PTR-TOF-MS'en. Varmen frigiver så de adsorbereede forbindelser, som så kan registreres på helt sædvanlig vis. Metoden er afprøvet på 6 spækprøver med meget stor variation i androstenon-indholdet. Resultatet er vist i figur 12. Der gøres opmærksom på, at der her er målt med et massespektrometer, der er anbragt efter en GC (Gas Chromatograph), der separerer en lang række komponenter i head space inden inlet til massebestemmelsen. GC-metoden er meget langsom, men ved at bruge den undgås interferens fra molekyler med samme masse. Resultaterne i figur 12 kunne med lige så godt resultat være opnået med en PTR-TOF-MS, som er en mere følsom og langt hurtigere teknik end den kombinerede GC-MS løsning.



Figur 12. Androstenon opsamlet ved SPME-fibre og målt ved GC-MS og ved HPLC-referencemetoden

Yderligere optimering af prøvehåndtering m.v. i forhold til forsøget:

- Det skal undersøges, hvor høj prøvetemperaturen skal være, for at der er tilstrækkeligt skatol og indol, som er overgået til head space. Det er en fordel, hvis temperaturen kan holdes under 100° C, så man undgår, at vandet i spækket stødkoger. I de gennemførte forsøg er der eksempler på, at sådanne stødkogninger giver voldsomme kortvarige udslag på indol- og skatolsignalet fra PTR-TOF-MS-udstyret (se figur 6).
- Trykudligningsrøret skal placeres i forhold til snifferørret på en sådan måde, at tilførslen af ren luft sker, så head space omkring snifferindsugningen fortyndes på reproducerbar vis med ren luft. Et alternativ til trykudligningsrøret vil være at der vælges et låg til prøvebægeret, der er delvist gennemtrængeligt for luft (hvorved overtryk i bægeret undgås).
- En androstenonbestemmelse vil kræve et større optimeringsarbejde på prøveforberedelsen.

PTR-TOF-MS og androstenon

I rapporten er det ikke bevist, at androstenon kan måles (kvantificeres) direkte i head space fra en forbehandlet/konditioneret prøve. Dog er der mange forhold, der taler for, at dette kan gøres:

1. Forudsætningen for, at en forbindelse kan måles med PTR-MS, er, at molekylet kan binde en proton til sig bedre end vand (man siger, at den skal have større proton-affinitet end vand). Typiske gode "proton modtagere" er aromatiske kulbrinteringe og ketongrupper (eksempel figur 11). Androstenon indeholder i rigt mål disse funktionelle grupper.
2. Måling på en ren androstenonkrystal gav et øjeblikkeligt signal. Dette understøtter påstanden i punkt 1.
3. Det er lykkedes at opsamle androstenon på plastfiber fra head space og få den opsamlede mængde frigivet igen ved en simpel opvarmning.

Alternative fremgangsmåder

Frem for at søge at måle de tre lugtkomponenter særskilt, kan man behandle det samlede massespektrogram eller fragmenter af det som input til en multivariat regression, hvori man søger efter en model, der direkte kobler spektrogrammet til en sensorisk profil af den pågældende spækprøve. Man vil således kunne bruge PTR-TOF-MS'en som en slags avanceret elektronisk næse, der giver et "fingeraftryk" af luften i head space.

Fordelene ved denne multivariate fremgangsmåde er følgende

1. Man skal ikke kunne adskille de enkelte komponenter direkte.
2. Hvis der skulle være andre komponenter end androstenon, skatol og indol i fedtprøverne, der giver udslag på det sensoriske panel, vil disse automatisk kunne blive medregnet i modellen.
3. PTR-TOF-MS er en langt mere alsidig "elektronisk næse" end dem, der normalt betegnes som sådan. PTR-TOF-MS kan siges at have mindst 1000 sensorer mod en elektronisk næses 16 - 32.
4. PTR-TOF-MS reagerer øjeblikkeligt på tilstedeværelsen af VOC i head space og ikke mindst; signalet falder øjeblikkeligt til nul, når prøven fjernes fra inlet. En standard elektronisk næse skal bruge flere minutter på at blive ren (purged) før næste måling.

Yderligere uafklaret spørgsmål

Såfremt en PTR-TOF-MS skal danne baggrund for en sortering på et slagteri, skal det undersøges, om udstyret kan holde til at gennemføre det store antal målinger pr. dag. Leverandøren har en del erfaring med, at deres udstyr bruges i lufthavne til detektion af eksempelvis sprængstoffer og narkotika, og det kan derfor antages at være rimeligt robust. Målinger på fedtprøver stiller givet vis langt større krav til vedligehold og rengøring, end Ionicon tidligere har oplevet, og de har derfor ikke

villet gætte på en tid mellem rengøring/serviceeftersyn. Dog har leverandøren meddelt, at langt de fleste eftersyn kan foretages af oplært laboratoriepersonale - dog ikke en udskiftning/justering af linsesystemet til fokusering af ionerne inden accelerationskammeret.

Konklusion

Det er demonstreret, at PTR-TOF-MS-metoden kan benyttes til at måle skatol og indol i spækprøver. Målinger kan foretages i et lukket bæger, ved at der sniffes til luften i bægeret under en kontrolleret opvarmning af prøven til 95 - 120 °C. Der er således tale om en minimal prøveforberedelse.

En automatisering af prøveopvarmning og måling vil have en gavnlig effekt på, hvor god målemetoden bliver. Herved opnås, at opvarmning m.v. foretages på samme måde og med samme varighed, så der opnås ens betingelser fra prøve til prøve.

Måling af androstenonindholdet vil nødvendiggøre, at der gennemføres et større udviklingsforløb omkring prøveforberedelsen og hvorledes androstenonen bedst frigives fra spækket på en hurtig og reproducerbar måde.