

# Wie hat die elektronische Nase gelernt den Ebergeruch zu erkennen?

GIUSEPPE BEE, SILVIA AMPUERO

## 1 Einleitung

Ab dem Jahr 2009 (Übergangsfrist bis 2010) wird die Kastration von Schweinen ohne vorherige Schmerzausschaltung in der Schweiz nicht mehr erlaubt sein. Deshalb werden zurzeit verschiedene Alternativen diskutiert. Eine davon wäre vollständig auf die Kastration zu verzichten, d.h. die Mast von unkastrierten Schweinen (Jungebern) zu betreiben. Als wichtige Vorteile dieser Produktionsart werden das gänzliche Entfallen der Kastration, die verbesserte Futtermittelverwertung und die mageren Schlachtkörper genannt. Diesen Vorteilen stehen jedoch nicht zu vernachlässigende Nachteile gegenüber. So werden in Mastbuchten, welche mit Jungebern belegt sind, beim Einsetzen der Pubertät vermehrt Rankkämpfe beobachtet, was zu einer erhöhten Inzidenz von Verletzungen der Gliedmaßen und der Haut führen kann. Zudem nimmt, bedingt durch den geringeren Fettansatz, bei Standardfütterung der Sättigungsgrad (Verhältnis gesättigte zu ungesättigte Fettsäuren) des angesetzten Rückenfettes ab, was sich negativ auf die Festigkeit und Oxidationsstabilität des Fettes auswirkt. Das größte Problem bei der Jungeberproduktion ist jedoch das mögliche Auftreten von Ebergeruch im Fleisch. Dieser wird hauptsächlich durch drei Substanzen verursacht: Androstenon (A)<sup>1</sup>, Skatol (S)<sup>2</sup> und Indol (I)<sup>2</sup>. Jede dieser Substanzen ist lipophil und wird somit im Fettgewebe eingelagert. Das Risiko von zu hohen Konzentrationen an S und I im Gewebe kann durch spezifische Fütterungsmaßnahmen verringert werden (PAULY und BEE 2007). Die Konzentration von A hingegen hängt stark von der geschlechtlichen Reife des Tieres ab. Zudem ist auch bekannt, dass deutliche rassenspezifische und tierindividuelle Unterschiede innerhalb derselben Rasse auftreten. Bevor die Jungebermast als Produktionsform in Betracht gezogen werden kann, muss sichergestellt sein, dass dem Konsumenten Fleisch angeboten wird, das frei von Ebergeruch ist. Dies setzt ein objektives, sicheres und schnelles Prüfverfahren voraus, das das Finden von geruchsbelasteten Schlachtkörpern an der Schlachtkette ermöglicht. Bei der zurzeit geringen Anzahl angelieferter Eber in den Schweizer Schlachthöfen (meistens Eber aus der Reproduktion) wird diese Geruchskontrolle durch den Fleischschauer

<sup>1</sup> Androstenon ist ein Steroid (Androgen) und ein Metabolit des Sexualhormons Testosteron, das beim Schwein als Pheromon dient.

<sup>2</sup> Skatol und Indol sind Abbauprodukte von L-Tryptophan und werden im Dickdarm gebildet.

mittels Kochprobe vorgenommen. Die Tatsache, dass die Sensibilität der Menschen gegenüber A, S und I stark variiert – ca. 40 % der Bevölkerung ist sogar anosmisch<sup>1</sup> gegenüber A – verdeutlicht, dass die Kochprobe nur eine beschränkte Sicherheit gewährleistet und zugleich subjektiv ist. Weiter zu beachten ist, dass der Fleischbeschauer dies nur bei einer geringen Probenzahl durchführen kann, weil einerseits mit zunehmender Anzahl geprüfter Proben die Sensibilität des Prüfenden abnimmt und andererseits die Analyse zeitaufwändig ist. Deshalb kommt für die Evaluierung des Ebergeruchs nur eine instrumentelle Lösung in Frage. Es ist hinlänglich bekannt, dass die A-, S- und I-Konzentrationen im Gewebe nur teilweise das Auftreten von Ebergeruch erklären. Deshalb ist eine Globalanalyse aller möglichen Geruchs- und Geschmackskomponenten angebracht, wie Ergebnisse aus früheren Studien zeigen



Abb. 1: Die E-Nase (SMart Nose®) besteht aus dem Massenspektrometer (unten), das mit einer automatischen Pyrolyseanlage (oben) gekoppelt ist.

(BOURROUNET et al. 1995, ANNOR-FREMPONG et al. 1998). AMPUERO und BEE (2005) zeigen, dass dies mit der elektronischen Nase (E-Nase) möglich ist. Im Gegensatz zu den zitierten Studien, wurden in der vorliegenden Studie sowohl Ergebnisse aus Degustationsuntersuchungen als auch die gemessenen A-, S- und I-Konzentrationen im Gewebe zur Modellierung der E-Nasen-Daten verwendet. Die Gründe für dieses Vorgehen sowie die dazu notwendigen Schritte werden im nachfolgenden Text genauer beschrieben.

<sup>1</sup> Bezeichnet das vollständige Fehlen des Geruchssinns für Androstenon.

## 2 Was ist an dieser Methode innovativ?

Der zur Erfassung des Ebergeruchs gewählte innovative Ansatz basiert auf der Kombination der klassischen Analytik der relevanten Substanzen (A, S und I), der Verwendung der Ergebnisse der menschlichen Wahrnehmung und der Globalanalyse der Geruchs- und Geschmackskomponenten der Probe mittels E-Nase. Die zurzeit verwendete E-Nase basiert auf der Massenspektrometrie (MS; Abb. 1). Die zu analysierenden Proben werden pyrolysiert<sup>1</sup> (automatische Pyrolyseanlage); die Pyrolyse ist unabdingbar, weil A, S und I nicht nur lipophil, sondern auch kaum flüchtig sind. Somit ist die Bestimmung deren Konzentration in der gasförmigen Phase (z. B. nach der Erhitzung im Ofen) erschwert und liegt in Messbereichen, die unter der Nachweisgrenze des Gerätes liegen. Es ist aber erwiesen, dass diese Konzentrationen durch den Menschen wahrgenommen werden können. In Voruntersuchungen an Agroscope Liebefeld-Posieux (ALP) wurde festgestellt, dass mittels Pyrolyse die Konzentrationen der Geruchskomponenten um das Zweifache verstärkt werden kann und somit deren Messung mit dem MS erleichtert wird (AMPUERO und BEE 2005). Wie einleitend erwähnt, können mit der E-Nase nicht Konzentrationen an bestimmten Stoffen erfasst werden. Das Ergebnis der Analyse ist ein Profil der ionisierten Massen (1–300 amu). Dieses Profil ist der Probe eigen und somit vergleichbar einem Fingerprint. Die E-Nase kann aber nur dann zur Erfassung des Ebergeruchs verwendet werden, wenn sie gelernt hat, den Fingerprint einer Güteklasse (z. B. starker Ebergeruch oder kein Ebergeruch) zuzuordnen. Bei dieser Kalibrierung halfen Daten aus der klassischen chemischen Analyse und die Ergebnissen von sensorischen Tests. Bei der klassischen Analyse wurden mittels High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) die Konzentrationen von A, S und I im Schweinefett von unkastrierten und kastrierten Schweinen (353 Proben) nach der Methode von HANSEN-MÖLLER (1994) bestimmt. Zugleich beurteilten Degustatoren, die auf das Erkennen von Ebergeruch geschult wurden, den Geruch und Geschmack des Schweinefleisches (langer Rückenmuskel; 58 Proben) von Jungebern und Kastraten. Die Ergebnisse der HPLC-Analysen und der Sensoriktests sowie der gleichzeitig mit der E-Nase erfassten Spektren bildeten die Datengrundlage für die Erarbeitung der chemometrischen Modelle, die es erlauben, Proben mit starkem Ebergeruch mit einer hohen Wahrscheinlichkeit zu erfassen.

<sup>1</sup> Pyrolyse ist die Bezeichnung für die thermische Spaltung chemischer Verbindungen, wobei durch hohe Temperaturen ein Bindungsbruch innerhalb von großen Molekülen erzwungen wird.

### 3 Weshalb ist dieser Lernprozess so schwierig?

Die klare Definition des Ebergeruchs bzw. Ebergeschmacks erweist sich als ein schwieriges Unterfangen, weil Menschen (Konsumenten) unterschiedlich empfindlich auf A, S und I reagieren. Zudem ist bekannt, dass mittlere Gehalte an A, S und I nicht allein für den Ebergeruch verantwortlich sind. Andere mögliche Geruchssubstanzen und deren Einfluss sind jedoch nur unzureichend erforscht. Trotzdem braucht es für die Kalibrierung der E-Nase eine Definition des Ebergeruchs. Die Ergebnisse zweier großer Konsumentenstudien, die ALP in den letzten Jahren in der Schweiz durchführte, bildeten die Grundlage für die Bildung von drei Ebergeruchsklassen (kein, schwach, stark). Die ausführliche Beschreibung der Vorgehensweise und die Diskussion der Ergebnisse der Konsumentenstudie wird in einer Publikation, demnächst verfügbar sein (AMPUERO et al. unveröffentlicht). Eine der wichtigen Erkenntnisse dieser Untersuchungen ist in Tabelle 1 bereits dargestellt. Daraus wird ersichtlich, dass die Klassen „kein“ Ebergeruch und Ebergeruch „schwach“ sich hinsichtlich der A-Konzentrationen unterscheiden, wenn die Gewebekonzentration an S und I  $\leq 0,16 \mu\text{g/g}$  ist. Proben werden als stark mit Ebergeruch belastet eingestuft, wenn die S- und I-Konzentration  $\geq 0,16 \mu\text{g/g}$  oder der A-Gehalt  $> 1 \mu\text{g/g}$  beträgt. Eine Probe, welche eine A-Konzentration von  $< 1 \mu\text{g/g}$  aufweist aber der S- und I-Gehalt  $> 0,16 \mu\text{g/g}$  ist, wird ebenfalls als stark mit Ebergeruch belastet eingestuft. Dass

Tab. 1: Konzentrationen and Androstenon, Skatol und Indol, welche die drei Ebergeruchsklassen definieren

Ebergeruchsklassen	Substanzen [ $\mu\text{g/g}$ ]				
	Androstenon		Skatol		Indol
Kein	$< 0,50$	und	$\leq 0,16$	und	$\leq 0,16$
Schwach	$> 0,50 - \leq 1,00$	und	$\leq 0,16$	und	$\leq 0,16$
Stark	$> 1,00$	oder	$> 0,16$	oder	$> 0,16$
	$> 1,00$	und	$> 0,16$	oder	$> 0,16$

Tab. 2: Klassifizierung von 29 Schweinefleischproben, basierend auf der Einordnung durch die geschulten Degustatoren und der HPLC Analyse.

Ebergeruchsklassen basierend auf der HPLC Analyse	Beurteilung durch Degustatoren bezüglich Ebergeruch <sup>1</sup>		
	kein	schwach	stark
Kein		4	1
Schwach	16		8
Stark			

<sup>1</sup> Die sensorische Diskriminierung der Proben erfolgte mit dem bipolaren R-Index.

diese Einteilung, die allein auf die A-, S- und I-Konzentration beruht, nur teilweise mit der Beurteilung der geschulten Degustatoren übereinstimmt, wird aus den Ergebnissen in Tabelle 2 ersichtlich. Von den insgesamt 58 mit dem bipolaren R-Index<sup>1</sup> (CLIFF et al. 2000, O'MAHONY und BI 1995) geprüften Proben deckten sich nur 50 % davon mit der in Tabelle 1 definierten HPLC-Klassierung: bei 29 der 58 Proben entsprach die Zuordnung der Degustatoren nicht der Messung der A-, S- und I-Konzentrationen. Diese geringe Übereinstimmung mag auf den ersten Blick etwas ernüchternd sein, bestätigt allerdings die an ALP gemachten Erfahrungen in den letzten Jahren. Bei genauer Betrachtung der Ergebnisse wird ersichtlich, dass mit der HPLC-Methode neun Proben in die Gruppe kein (1) oder schwacher (8) Ebergeruch fallen. Die Degustatoren nahmen diese jedoch als stark mit Ebergeruch belastet wahr. Gegenüber den Ergebnissen des Sensoriktests wurden die übrigen Proben mit HPLC entweder zu streng (kein vs. schwach: 16) oder zu wenig streng (schwach vs. kein: 4) beurteilt. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass es richtig war, sowohl die Ergebnisse der HPLC-Messungen als auch jene der Degustation für die Kalibrierung der E-Nase zu verwenden. Die chemometrische Evaluierung der Daten erfolgte mittels „multi-class Support Vector Machine“ und „variable selection via genetic algorithms“ (RAGHURAJ and LAKSHMINARAYANAN 2007).

#### 4 Wie zuverlässig erkennt die E-Nase den Ebergeruch?

Die zur Erarbeitung der chemometrischen Modelle verwendeten Proben stammen von Schweinen verschiedener Rassen und Kreuzungen, die bei unterschiedlichem Alter und/oder Gewicht geschlachtet wurden. Die Haltungsformen (reine Stallhaltung, Stallhaltung mit Auslauf, Freilandhaltung) und die während der Mast verfütterten Rationen waren ebenfalls verschieden. Von den 353 mit HPLC (A, S und I) analysierten Proben, wurden 58 von den Degustatoren bewertet. Abbildung 2 zeigt die Verteilung der A- und S-Gehalte der analysierten Proben. Die gestrichelten Linien markieren die A- und S-Grenzwerte für die Ebergeruchsklasse „stark“. Anhand der chemometrischen Modelle wurden alle Proben, die mit der grauen Fläche markiert sind, durch die E-Nase der Klasse „starker“ Ebergeruch zugeordnet. Zwei Proben, welche S-Konzentrationen aufwiesen, die genau 0,21 µg/g betragen und A-Gehalte (< 0,03 µg/g), die unter der Nachweisgrenze lagen (vgl. Pfeil in Abb. 2) wurden nicht korrekt klassiert (falsch negativ). Die

<sup>1</sup> Der bipolare R-Index erlaubt die Beurteilung einer Testprobe gegenüber einer Kontrollprobe. Das Ergebnis wird als Wahrscheinlichkeit der Differenzierung angegeben. Wenn der Wert 1, ist bedeutet dies, dass die Testprobe verschieden ist und wenn der Wert 0,5 ist, bedeutet dies, dass kein Unterschied zwischen Test- und Kontrollprobe besteht.

semi-externe Validierung der Modelle zeigte, dass 97–100 % der untersuchten geruchsbelasteten Proben durch die E-Nase ebenfalls korrekt klassiert wurden.

Basierend auf eigenen Untersuchungen gehen PAULY und BEE (2007) davon aus, dass in der Jungeberproduktion unter Praxisbedingungen ca. 5,5 % der Schlachtkörper „starken“ Ebergeruch aufweisen werden. Mit dem verfügbaren Verfahren könnten somit von den 5,5 Tieren pro 100 angelieferte Tiere 5,33 (97 % von 5,5) erfasst werden. Um die geruchsbelasteten Schlachtkörper jedoch vollständig aussortieren zu können, ist weitere Forschungsarbeit nötig. Das Ziel dieser Untersuchungen sollte sein, weitere Substanzen, welche zum Ebergeruch beitragen, zu entdecken. Dies betrifft besonders die Klasse „schwacher“ Ebergeruch, in der mittlere Konzentrationen gefunden werden und die Degustatoren und die HPLC-Daten nicht eindeutig übereinstimmen. Das von ALP entwickelte System ist vorerst nur im Labor einsetzbar. Die Anwendung in der Praxis erfordert technische Anpassungen, welche den Betrieb unter Schlachthofbedingungen erlauben.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Ebergeruch mit der E-Nase erfasst werden kann. Damit eine noch genauere/sicherere Analyse möglich ist, muss der Ebergeruch per se besser definiert werden. Zudem ist weitere Entwicklungsarbeit notwendig, um ein Gerät verfügbar zu machen, dass den industriellen Anforderungen des Schlachthofes an Handhabung, Analysengeschwindigkeit und Unterhalt gerecht wird.

## 5 Literatur

- AMPUERO S.; BEE G. (2005): Application of an electronic nose to the detection of boar taint. Technical report. Agroscope Liebefeld Posieux (ALP)
- ANNOR-FREMONG I.E.; NUTE G.R.; WOOD J.D.; WHITTINGTON F.W.; WEST A. (1998): The measurement of the responses to different odour intensities of ‚boar taint‘ using a sensory panel and an electronic nose. Meat Science 50, 139–151

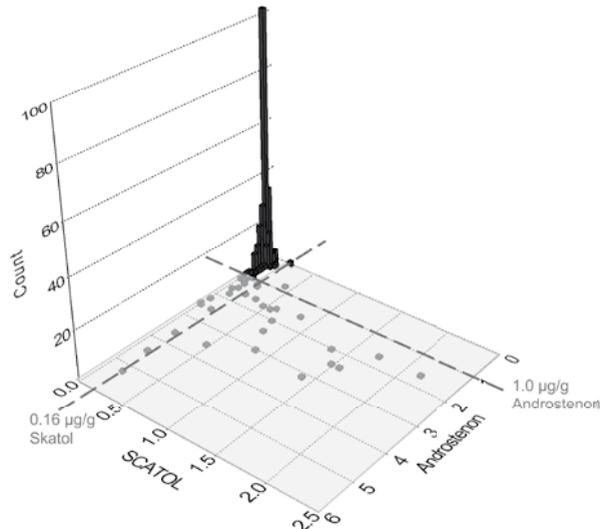


Abb. 2: Verteilungshistogramm der 353 Rückenfettproben von kastrierten und unkastrierten Schweinen als Funktion der Androstenon- und Skatolkonzentration. Die gestrichelten Linien bezeichnen die Grenzwerte für Androstenon und Skatol (vgl. Tab. 1). Die graue markierte Fläche kennzeichnet die Proben, die mit der E-Nase in die Ebergeruchsklasse „stark“ klassiert wurde.

- BOURROUNET B.; TALOU T.; GASET A. (1995): Application of multi-gas-sensor device in the meat industry for boar-taint detection. *Sensors and Actuators B-Chemical* 27, 250-254
- CLIFF M.-A.; O'MAHONY M.; KING M.; KUMUTOL L. (2000): Development of a 'bipolar' R-index. *Journal of Sensory Studies* 15, 219-229
- HANSEN-MOLLER J. (1994): Rapid high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of androstenone, skatole and indole in back fat from pigs. *Journal of Chromatography B. Biomedical Applications* 661, 219-230
- O'MAHONY M.; BI J. (1995): Table for testing the significance of the R-index. *Journal of Sensory Studies* 10, 341-347
- PAULY C.; BEE G. (2007): Jungerbermast in der Schweiz: Erfahrungen und Resultate. *Suisseporcs* 12, 11-12
- RAGHURAJ R.K.; LAKSHMINARAYANAN S. (2007): Partial correlation based variable selection approach for multivariate data classification methods. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 86(1), 68-81