

La théorie et la méthodologie de la spectroscopie de fluorescence sont largement utilisées dans les domaines de la chimie et de la biochimie pour caractériser les propriétés structurales et catalytiques de molécules telles les protéines et les enzymes. Toutefois, jusqu'à récemment, la spectroscopie de fluorescence n'était pas ou peu mise en œuvre dans les domaines de l'étude non invasive et non destructive de la qualité et des propriétés des produits alimentaires.

Suite à l'excitation par la lumière, certaines molécules présentant des doubles liaisons conjuguées absorbent des photons de longueur d'onde donnée. La molécule excitée revient à son état de repos en émettant des photons de longueur d'onde supérieure à la longueur d'onde d'excitation : c'est le phénomène de fluorescence. La spectroscopie de fluorescence est beaucoup plus sensible que les autres techniques spectroscopiques telle la spectroscopie infrarouge, (100 à 10000 fois). De plus, les propriétés de fluorescence des fluorophores sont très sensibles aux modifications de leur environnement. Par exemple, la vitamine A incluse dans la matière grasse laitière présente des spectres de fluorescence différents lorsque les triglycérides sont sous forme cristalline ou liquide (Dufour et al, 1998).

Depuis les travaux de Parker sur l'hémoglobine en 1968 à ceux de Dufour et collaborateurs sur le suivi de l'affinage du fromage (Dufour et al, 2000), en passant par les études de Swatland sur la viande dans les années quatre-vingt (Swatland 1987a, b, c), il a été montré que la spectroscopie de fluorescence frontale ou de surface, autorisant des mesures en ligne, était une technique de choix pour évaluer la qualité des aliments. La spectroscopie de fluorescence, de part sa rapidité et sa sensibilité, apparaît comme une technique d'analyse bien adaptée au contrôle qualité. L'utilisation de micro-ordinateurs et d'outils chimiométriques pour l'analyse des spectres permettra à la spectroscopie de fluorescence de devenir un outil pour les déterminations qualitatives et quantitatives en industries agroalimentaires.

Après une revue bibliographique sur la spectroscopie de fluorescence et ses applications, les premiers résultats obtenus par spectroscopie de fluorescence frontale sur différents muscles à plusieurs temps de maturation sont rapportés dans cet article.

Correspondance : Pr É. DUFOUR, UPRES TPA, ENITA-CF, site de Marmilhat, 63370 LEMPDES. Tél : 04 73 98 13 78. Fax : 04 73 98 13 90
Mél : dufour@gentiane.enitac.fr

Les spectres de fluorescence frontale

Une empreinte digitale de la viande

La spectroscopie de fluorescence frontale permet d'obtenir un spectre très caractéristique pour chaque type de viande. Les évolutions techniques rendront bientôt la méthode exploitable sur les lignes industrielles pour caractériser la qualité des viandes, en particulier leur tendreté.

Science et technique

É. DUFOUR^a, J.-P. FRENCIA^b

^a UPRES Typicité des Produits Alimentaires, ENITA Clermont Ferrand, site de Marmilhat, 63370 Lempdes

^b ADIV, 2 rue Chappe, 63039 Clermont Ferrand cédex 2

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le faux filet et le paleron, deux muscles présentant des teneurs en collagène différentes, ont été prélevés sur des carcasses de bovin 48 heures après abattage. La maturation a été réalisée sous vide à 2 °C, durant 16 jours. Les spectres de fluorescence ont été enregistrés à J + 2 (ressuage) et J + 16. Les éprouvettes (L = 1 cm, l = 1 cm, e = 0,5 cm) sont découpées (perpendiculaire aux fibres) dans les échantillons de muscle et montées entre deux lames de quartz.

Spectroscopie de fluorescence frontale

L'éprouvette est placée sur le porte échantillon pour les mesures en fluorescence frontale d'un spectrofluorimètre Fluoromax (Spex - Jobin Yvon; Longjumeau) (Figure 1).

Les spectres d'émission de fluorescence des tryptophanes des protéines sont enregistrés, après excitation à 290 nm, entre 305 et 400 nm (pas = 0,5 nm). Pour le tissu conjonctif, les spectres d'émission ont été acquis, après excitation à 317 nm, entre 425 et 580 nm (pas de 1 nm). Les acquisitions ont été réalisées à température ambiante. Pour l'acquisition des spectres de chaque échantillon, 8 éprouvettes différentes ont été utilisées. Au total, 32 spectres de fluorescence des protéines et 32 spectres de fluorescence du collagène ont été enregistrés.

Le codage des spectres des échantillons était comme suit : 1re lettre : C (spectre du collagène) ou P (spectre des protéines), 2e lettre : F (faux filet) ou P (paleron), 3e lettre : A (J + 2), B (J + 16), 4e lettre : répétition (A à F).

Description des données par l'Analyse en Composantes Principales

Les données obtenues par spectroscopie de fluorescence frontale se présentent sous forme de spectres constitués de plusieurs centaines de points de mesure. Lorsque l'on enregistre une collection de spectres pour n échantillons, on peut organiser à l'aide de ces données, un tableau à n lignes et p colonnes, représentant respectivement les échantillons et les variables. Avant toute analyse, les spectres sont normés, en réduisant l'espace sous chaque spectre à une valeur de 1 (Bertrand et Scotter, 1992).

Les méthodes d'analyses multidimensionnelles sont des méthodes statistiques d'exploitation des données. Elles facilitent l'interprétation et l'utilisation des grands tableaux de données qui contiennent un grand nombre de variables mesurées pour un grand nombre d'individus. Ces méthodes peuvent être descriptives, mettant en évidence les relations existant entre les variables et les échantillons comme l'analyse en composantes principales (ACP), ou prédictives, permettant d'estimer une ou plusieurs caractéristiques d'un échantillon à partir d'autres mesures effectuées sur le même échantillon, comme la régression en composantes principales.

L'objectif de l'ACP est de décrire, sans aucune hypothèse préalable sur les données, une collection de données par un nombre réduit de variables, en respectant au mieux les distances observées pour l'ensemble des individus. Ces nouvelles variables, appelées composantes principales, sont des combinaisons linéaires des variables d'origine.

Il est ensuite possible de représenter les individus sur des graphes, en sélectionnant deux composantes principales et en affectant aux individus les coordonnées factorielles correspondantes.

**FIGURE 1 :
DES RÉSULTATS
ENCOURAGEANTS SUR UN
MATÉRIEL DE LABORATOIRE**



*Spectrofluorimètre Fluoromax
(Spex - Jobin Yvon)*

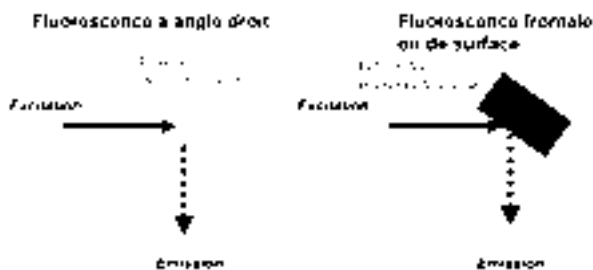
PROPRIÉTÉS DES FLUOROPHORES INTRINSÈQUES DES ALIMENTS

La spectroscopie de fluorescence donne des informations sur la présence de fluorophores et sur leur environnement dans les échantillons (Marangoni, 1992). Ainsi les propriétés de fluorescence des acides aminés aromatiques des protéines ou de sondes extrinsèques ajoutées au milieu ont été utilisées pour caractériser la structure des protéines et les interactions protéine/petites molécules hydrophobes. La très grande majorité de ces expériences est réalisée sur des solutions diluées dont l'absorbance est inférieure à 0,1 : c'est la fluorescence à angle droit (Lakowicz, 1983).

La spectroscopie de fluorescence frontale a été développée pour permettre l'étude des poudres et des milieux concentrés et turbides (Figure 2) (Parker, 1968). Dans ce cas, la surface de l'échantillon est illuminée et donc examinée. En dépit de l'intérêt que présente cette technique pour la caractérisation des produits alimentaires en l'état, peu de travaux ont été publiés dans ce domaine comme l'a montré une recherche bibliographique : nous pouvons signaler l'étude des protéines du gluten de blé par Genot et al (1992a, b). Ce manque d'intérêt pour l'utilisation de cette technique peut s'expliquer par la composition complexe des produits alimentaires ou par les faibles différences spectrales observées après un traitement technologique qui rendent difficiles l'analyse et l'interprétation des données de fluorescence.

De plus, il est généralement admis que de nombreux facteurs perturbent les résultats de fluorescence. L'intensité de fluorescence enregistrée sur un échantillon varie fortement avec la température : généralement l'augmentation de la température conduit à une diminution de l'intensité de fluorescence (Wold, 2000). La couleur de l'échantillon modifie aussi de façon importante l'intensité de fluorescence mesurée. L'émission des échantillons clairs est plus importante que celle des échantillons foncés qui réabsorbent fortement les

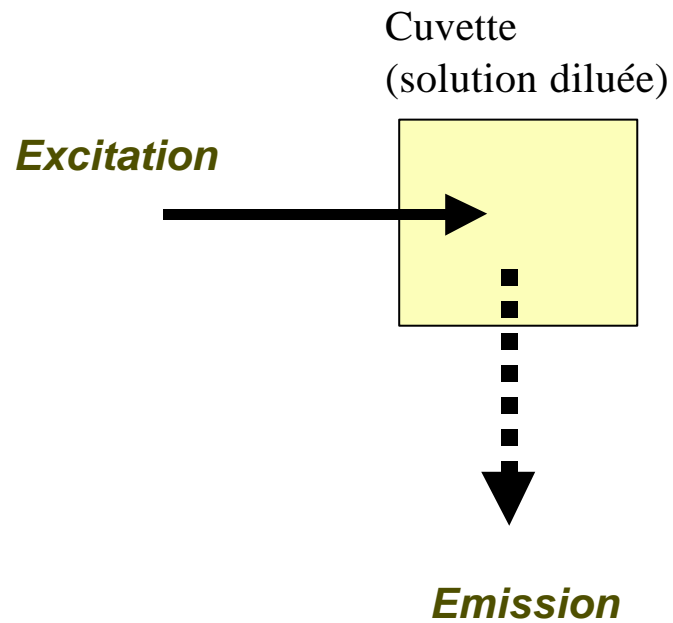
**FIGURE 2 :
LA FLUORESCENCE À ANGLE DROIT POUR OBSERVER
DIRECTEMENT LE PRODUIT**



*Schémas des principes de la fluorescence à angle droit
et de la fluorescence frontale*

Spectroscopies de fluorescence

Fluorescence à angle droit



Fluorescence frontale ou de surface

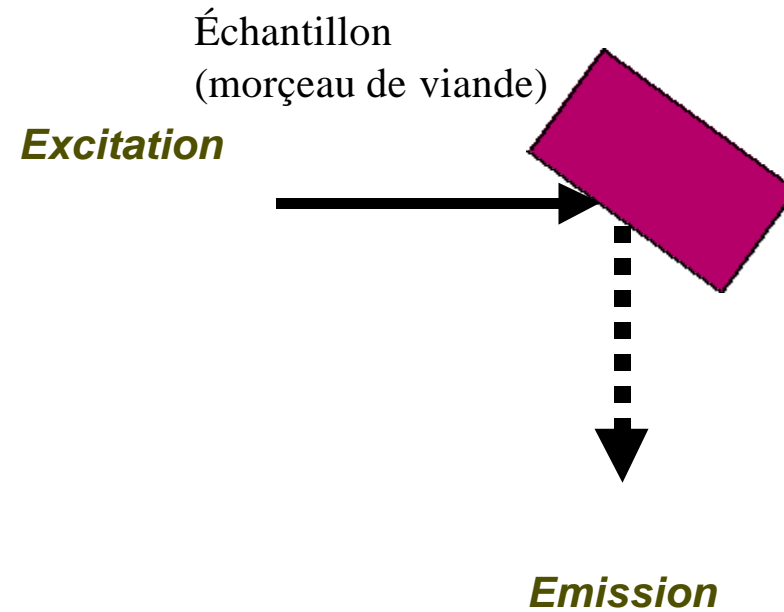
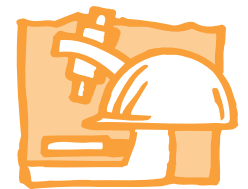


Figure 1, Dufour et al



photons émis (Wold, 2000). L'auteur suggère aussi que l'information contenue dans les spectres de fluorescence est essentiellement reliée à l'intensité du signal et peu à l'allure du spectre, contrairement à l'infrarouge. Toutefois des travaux conduits sur le lait, les émulsions et les fromages ont montré clairement que l'allure du spectre contenait une information qui permettait de caractériser et d'identifier ces produits (Dufour et al, 1998, 2000). Ainsi, l'allure du spectre de fluorescence de la vitamine A contenue dans la matière grasse laitière varie fortement lorsque les triglycérides passent de l'état solide à l'état liquide : la représentation des valeurs de F322nm/F295nm en fonction de la température permet de déterminer le point de fusion de la matière grasse (Dufour et al, 1998). Dufour préconise de normaliser les spectres avant tout traitement des données, afin de s'affranchir des variations d'intensité artificielles.

Par ailleurs, l'analyse des collections spectrales présentant de faibles différences nécessitant l'emploi des méthodes d'analyse statistique multidimensionnelle pour évaluer les données ; démarche pratiquée avec succès dans le domaine de la spectroscopie infrarouge (Bertrand et Scotter, 1992). Le fait d'appliquer ces outils statistiques sur des collections de données renfermant un grand nombre de variables mesurées pour un grand nombre d'échantillons permet de conclure sur la significativité des faibles différences spectrales observées. Le potentiel de la spectroscopie de fluorescence couplée à l'analyse en composantes principales des spectres pour discriminer des échantillons de lait cru, chauffé ou homogénéisé a été montré par Dufour et Riaublanc (1997).

UNE MÉTHODE ADAPTÉE À LA VIANDE

Dans le domaine des recherches sur la fluorescence de la viande, Howard Swatland est indéniablement le principal contributeur (Swatland, 1987a, b, c, 1993, 1997, 2000 ; Swatland et al, 1991, 1996). Ses investigations ont

essentiellement porté sur les propriétés de fluorescence du tissu conjonctif mesurées directement sur la viande et sur les relations entre les spectres de fluorescence et la qualité de la viande. En se basant sur les propriétés de fluorescence des groupements pyridinoline, une des principales molécules assurant le pontage des fibres de collagène et d'élastine, il a développé une sonde comprenant une fibre optique coaxiale en Y permettant de caractériser et de doser le tissu conjonctif. Swatland (1987a) a mis en évidence que les spectres d'émission des collagènes I et III sont différents, alors que collagène I et élastine présentent des spectres similaires. Le collagène I présente des maxima d'excitation et d'émission à respectivement 370 nm et 440 nm ainsi qu'un épaulement à 510 nm. Les collagènes I et III sont discriminés essentiellement sur la base de leur intensité de fluorescence respective. Du fait des propriétés de fluorescence similaires de l'élastine et du collagène I qui sont présents dans les tendons et les aponévroses, il a été possible de développer une méthode de dosage du cartilage dans les viandes hachées (Swatland, 1987b). Cet auteur rapporte un coefficient de corrélation de 0,85 pour le collagène, déterminé par la méthode de référence et par la fluorescence intrinsèque de la viande bovine.

Le gras intramusculaire peut aussi être quantifié par fluorescence (Wold, 2000). Dans ce cas, la viande doit être broyée avant l'acquisition des données, afin de disposer d'échantillons homogènes. Selon Swatland, le principal fluorophore du tissu adipeux serait constitué par les fibres de conjonctif, formées essentiellement de collagène III, qui entourent les cellules adipeuses. Il est aussi probable que les vitamines liposolubles et des pigments fluorescents contenus dans le tissu adipeux contribuent à la fluorescence mesurée après excitation à 332 nm.

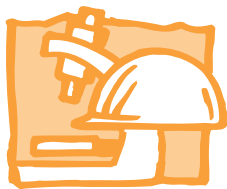
Certaines propriétés technologiques et sensorielles de la viande et des produits carnés peuvent être prédites à partir des spectres de fluorescence. Des mesures de

fluorescence et de réflectance ont permis de prédire avec une certaine confiance le goût et la tendreté de steaks (Swatland et al., 1998). Enfin, Brondum et al (2000) ont prédit le pouvoir de rétention d'eau et la composition de la viande porcine, aux moyens de données de fluorescence et de spectroscopies dans le visible et le proche infrarouge.

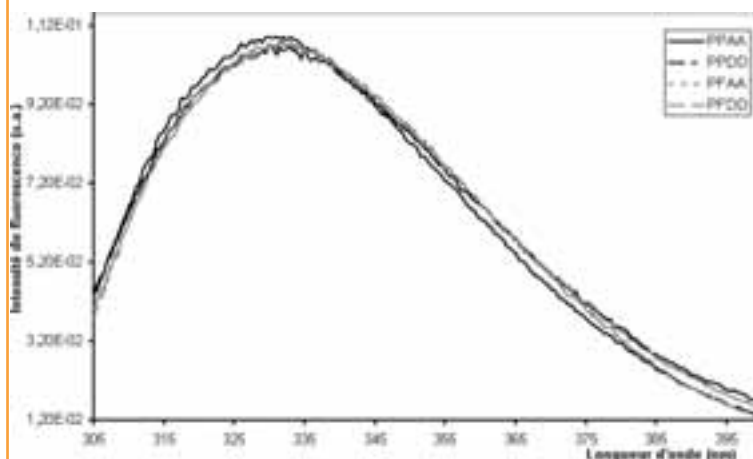
Comme l'indiquent les lignes ci-dessus, seule ou presque la fluorescence du collagène et de l'élastine a été étudiée. Toutefois, d'autres fluorophores tels les tryptophanes des protéines, les co-facteurs NADH et FADH et les nucléotides sont présents dans la viande. À notre connaissance, aucun article ne rapporte les propriétés de fluorescence de ces fluorophores intrinsèques de la viande. Alors que ces fluorophores ont été utilisés depuis longtemps pour l'étude des tissus animaux (Üdenfriend, 1969).

UN BON OUTIL POUR DÉTERMINER LA TEXTURE

Dans le cadre d'un programme financé par Interbev et l'Ofival, l'Adiv et l'Enita-CF ont évalué les potentialités de la spectroscopie de fluorescence frontale pour déterminer la tendreté de la viande. Cette approche sur la viande s'est basée sur des travaux antérieurs réalisés sur les fromages. L'équipe de l'Enita-CF a mis en évidence que les spectres de fluorescence des tryptophanes des protéines et de la vitamine A de la matière grasse étaient fortement corrélés à la texture des fromages (Herbert, 1999 ; Dufour et al, 2001 ; Lebecque et al, 2001). Pour ce qui concerne l'étude de Lebecque et al (2001), les caractéristiques de texture des fromages ont été évaluées par analyse sensorielle, mesures rhéologiques et spectroscopie de fluorescence. L'analyse en composantes principales et l'analyse canonique des corrélations ont été utilisées pour analyser les données et évaluer les relations entre les différents jeux de données enregistrés sur les mêmes échantillons de fromage. Toutes les méthodes d'analyse utilisées dans cette étude permettaient de discriminer les fromages : les données enregistrées consti-

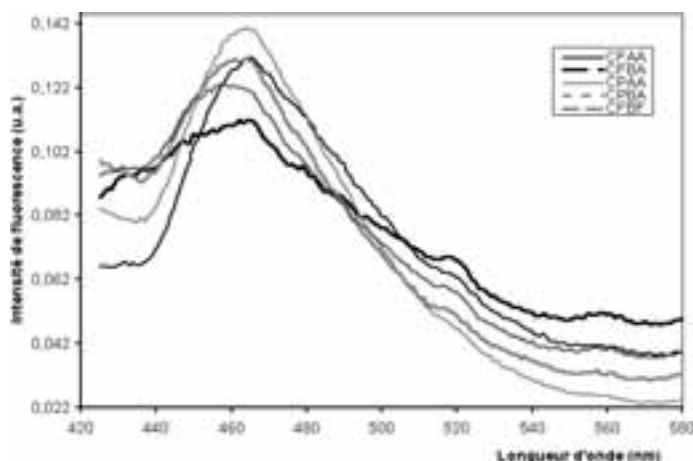


**FIGURE 3 :
NORMER LES SPECTRES AVANT ANALYSE**



Spectres d'émission (excitation : 290 nm) de fluorescence des tryptophanes des protéines enregistrés sur du faux filet (PF) et du paleron (PP)

**FIGURE 4 :
UN MAXIMUM À 465 NM POUR LES SPECTRES
D'EXCITATION À 317 NM**



Les spectres d'émission (excitation : 317 nm) de fluorescence du tissu conjonctif enregistrés sur du faux filet (CF) et du paleron (CP)

tuaient des empreintes digitales des fromages. De plus, des corrélations fortes ont été mises en évidence entre le domaine des descripteurs sensoriels et les domaines des mesures instrumentales, suggérant que les phénomènes observés aux niveaux moléculaire et macroscopique étaient reliés à la texture des fromages.

Les objectifs du présent travail étaient d'une part de définir les conditions opératoires pour l'ac-

quisition des spectres de fluorescence des tryptophanes des protéines et du collagène et d'autre part de faire des mesures sur 2 types de muscles, variant par le taux de collagène, à plusieurs temps de maturation.

DES RÉSULTATS ENCOURAGEANTS SUR LA VIANDE

Les spectres d'émission de fluorescence des tryptophanes des protéines et du tissu conjonctif

enregistrés directement sur des échantillons de viande en l'état sont présentés respectivement figures 3 et 4. La figure 3 présente les spectres normés d'émission des tryptophanes du faux filet et du paleron enregistrés à J + 2 et à J + 16. Ils sont caractérisés par un maximum localisé au voisinage de 332 nm qui est caractéristique des protéines en général. Par ailleurs, l'allure des spectres diffère légèrement d'un échantillon à l'autre. Même si ces différences peuvent apparaître peu importantes et non significatives, elles sont du même ordre de grandeur que celles observées sur les spectres de fluorescence des tryptophanes des protéines acquis sur les fromages. Les spectres d'émission enregistrés après excitation à 317 nm sont caractérisés par un maximum aux environs de 465 nm (figure 4). Les spectres du faux filet et du paleron aux deux temps de maturation présentent de grandes différences. Toutefois, comme le montrent les spectres CFBA et CFBF enregistrés sur des éprouvettes différentes de l'échantillon de faux filet à J + 16, il y a une très mauvaise répétabilité des spectres du tissu conjonctif (figure 4). Cette mauvaise répétabilité obtenue sur des échantillons de viande en l'état a probablement deux origines, dépendantes l'une de l'autre :

- les caractéristiques du réseau de conjonctif ;
- la faible surface échantillonnée (7 mm x 0,5 mm) par le faisceau lumineux du spectrofluorimètre.

La faible surface illuminée par la lumière d'excitation ne permet pas d'enregistrer un signal reflétant les caractéristiques moyennes de la trame conjonctive de l'échantillon. Cette mauvaise répétabilité des spectres du tissu conjonctif est clairement mise en évidence sur la carte factorielle 1-2 tracée à partir des résultats de l'ACP réalisée sur les spectres du tissu conjonctif (figure 5) : aucune discrimination des échantillons n'est observée.

Des résultats différents sont obtenus avec les spectres d'émission de fluorescence des protéines. La figure 6 présente la carte factorielle tracée à partir des résultats

Figure 3, Dufour et al

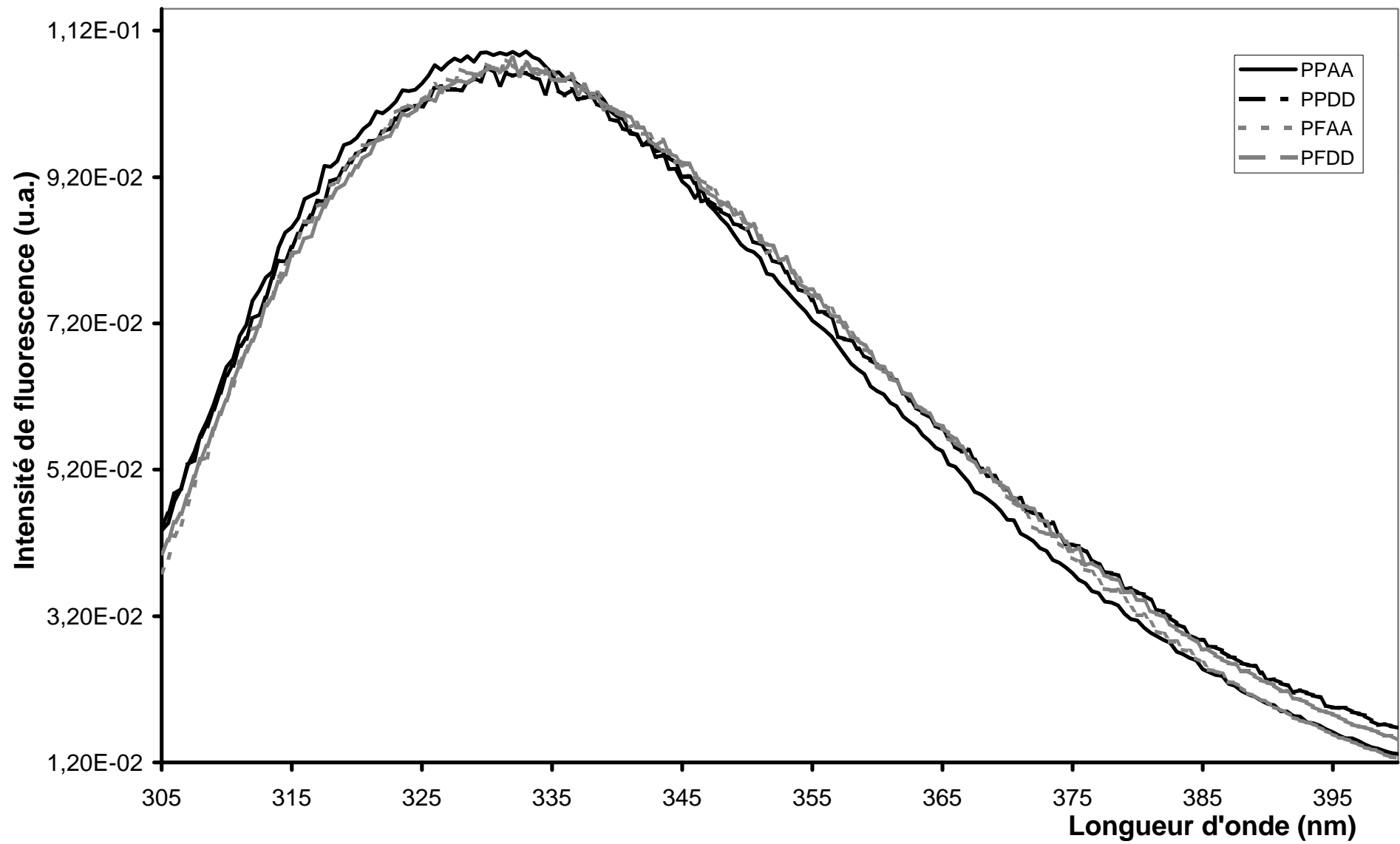
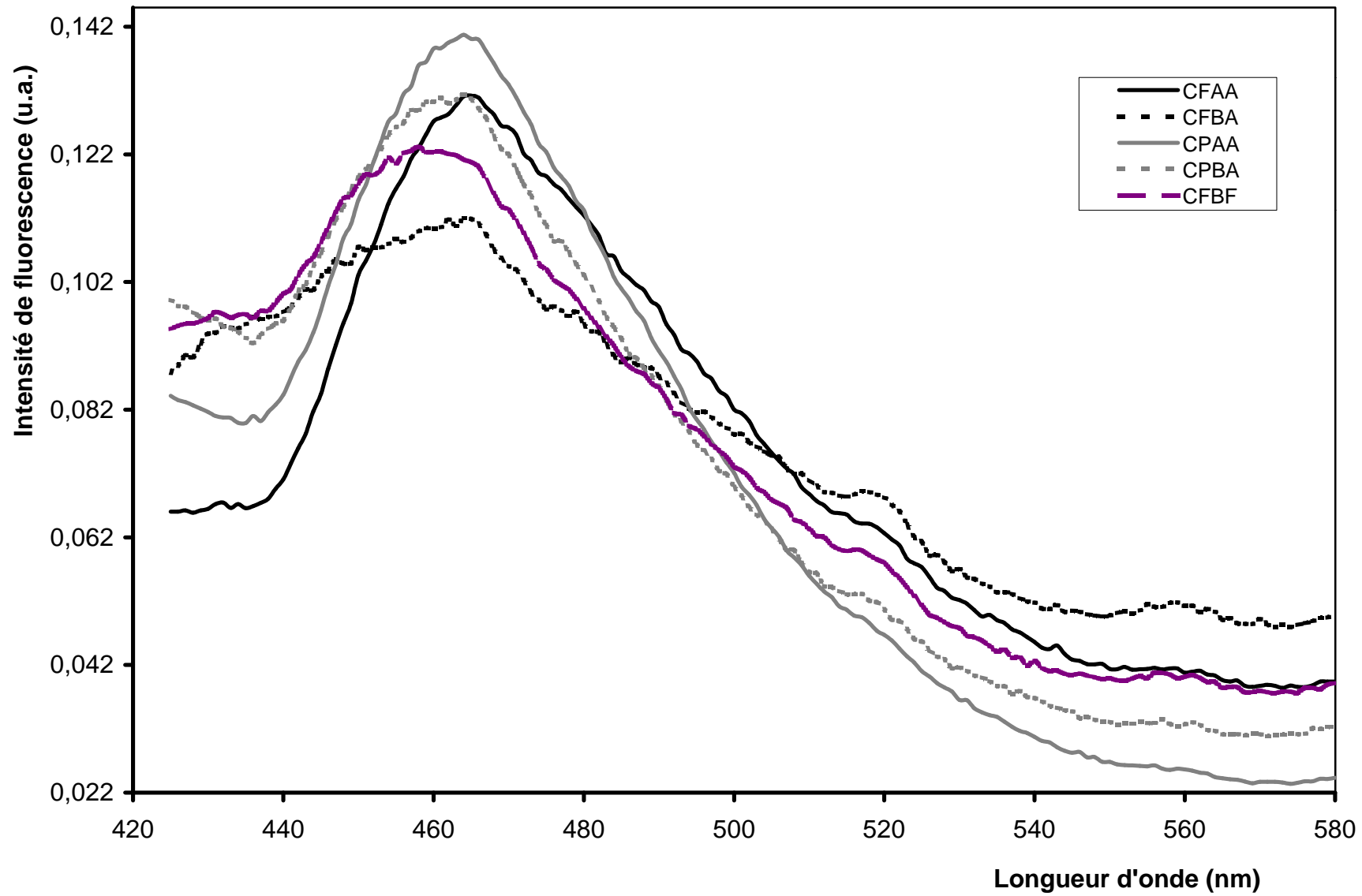


Figure 4, Dufour et al



**FIGURE 5
UNE MAUVAISE RÉPÉTABILITÉ
DES SPECTRES DU TISSU CONJONCTIF...**



Carte factorielle 1-2 de l'analyse en composantes principales réalisée sur la collection de spectres d'émission du collagène. CFA (u), CFB (n), CPA (s) et CPB (X)

**FIGURE 6 :
...MAIS UNE BONNE DISCRIMINATION
SUR LES SPECTRES DES TRYPTOPHANES**



Carte factorielle 1-2 de l'analyse en composantes principales réalisée sur la collection de spectres d'émission des tryptophanes des protéines. PFA (u), PFB (n), PPA (s) et PPB (X)

de l'ACP réalisée sur la collection de données. Pour un échantillon donné, les spectres d'émission des tryptophanes présentent une bonne répétabilité et permettent de discriminer le faux filet du paleron aux deux temps de maturation. Comme cela avait été montré sur les fromages, le spectre de fluorescence des tryptophanes d'un produit constitue une empreinte digitale qui permet de le caractériser et de l'identifier. Les spectres constituent une empreinte digitale du

produit résultant des propriétés de fluorescence de l'ensemble des protéines de la viande (myofibrilles, protéines, sarcoplasmiques, collagène,...) et de leurs évolutions au cours de la maturation.

Les spectres de fluorescence des tryptophanes des protéines enregistrés sur un échantillon de viande en l'état présentent une bonne répétabilité et contiennent une information relative au type de muscle (type de fibres, taux de

collagène) et à la durée de la maturation. Ces résultats encourageants viennent d'être reproduits lors d'une expérimentation portant sur 8 muscles différents et 3 animaux.

UN AVENIR POSSIBLE EN SITE INDUSTRIEL

Ces premiers résultats obtenus sur un spectrofluorimètre de laboratoire sont encourageants et laissent entrevoir la possibilité de développer un appareil de spectroscopie de fluorescence utilisable en site industriel; c'est-à-dire autorisant des mesures rapides directement sur les carcasses. En effet, bien que les structures des fromages et de la viande soient très différentes, l'émission de fluorescence des tryptophanes apparaît comme une sonde sensible permettant de discriminer des muscles présentant des types de fibres et des teneurs en collagène différentes à plusieurs temps de maturation. Il semble donc tout à fait envisageable que nous pourrions corrélérer les spectres de fluorescence des tryptophanes avec la texture, et plus particulièrement la tendreté de la viande, comme cela a été fait pour les fromages. Les résultats obtenus récemment confirment cette hypothèse : de fortes corrélations ont été mises en évidence entre les données spectrales et les données sensorielles obtenues sur les mêmes échantillons (Frenchia et Dufour, en préparation).

En l'état actuel, la principale limite de cette méthode réside dans le matériel. L'acquisition du spectre prend 2 minutes et nécessite le prélèvement d'un échantillon de viande. Toutefois les solutions techniques pour s'affranchir de ces 2 contraintes existent. Nous travaillons actuellement au développement d'un spectrofluorimètre équipé d'une fibre optique qui permet de déporter la mesure et d'une caméra CCD autorisant l'acquisition d'un spectre en 1 seconde.

Figure 5, Dufour et al

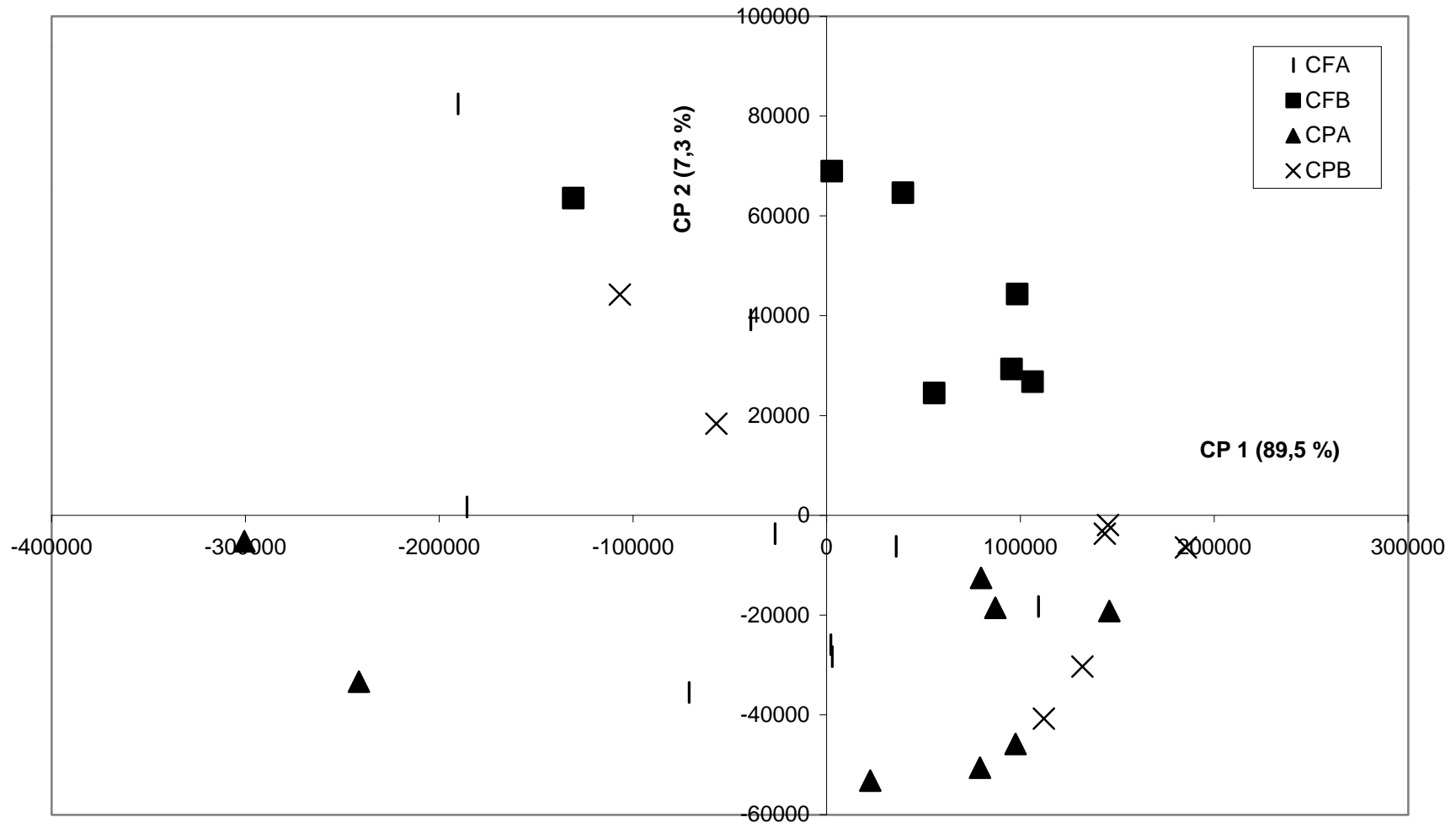
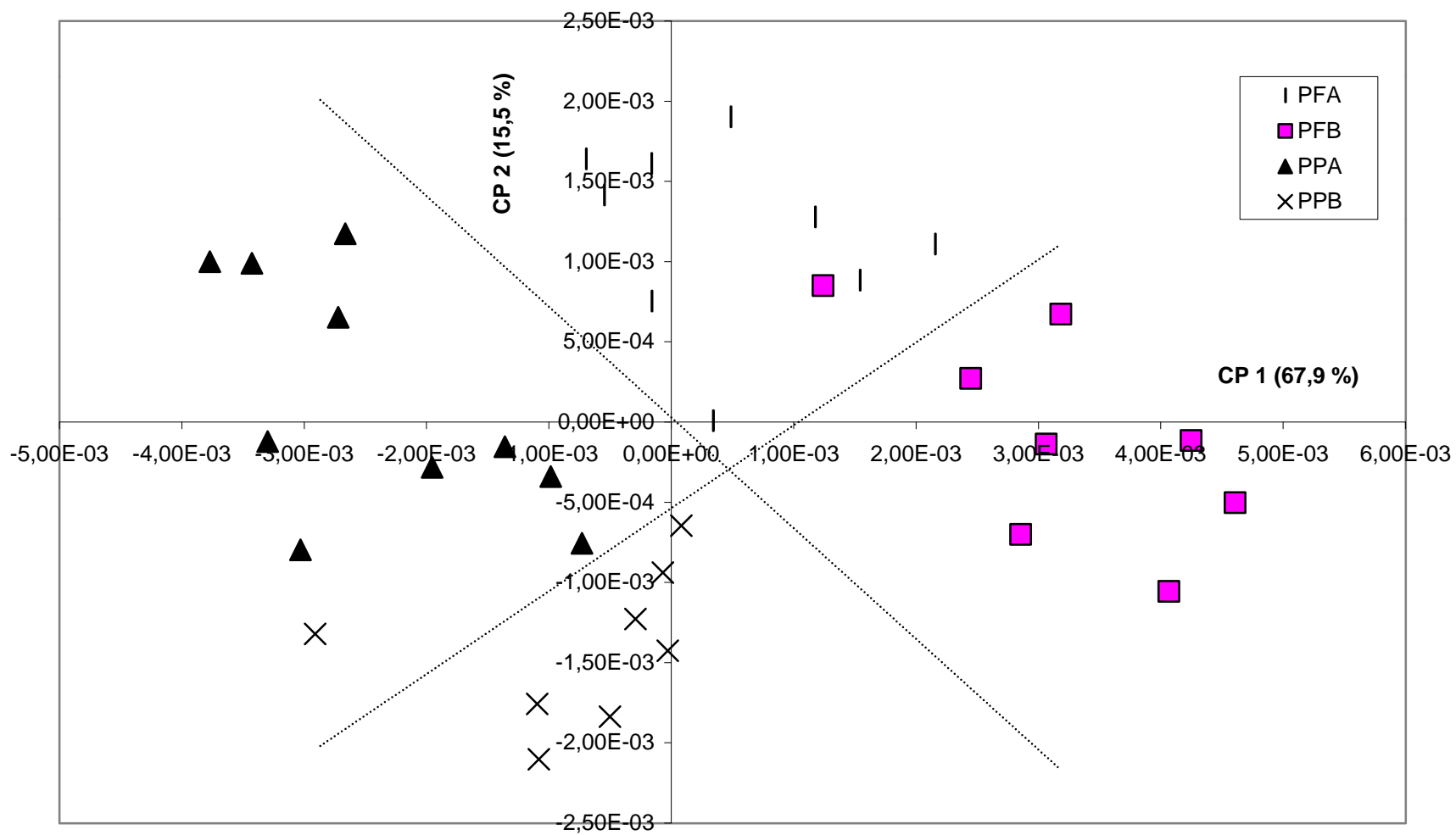


Figure 6; Dufour et al



B I B L I O G R A P H I E

- BERTRAND D., SCOTTER C.N.G. 1992.** Application of multivariate analyses to NIR spectra of gelatinized starch. *Appl. Spectrosc.* 46, 1420-1425.
- BRONDUM J., MUNCK L., HENCKEL P., KARLSSON A., TORNBERG E., ENGELSEN S. 2000.** Prediction of water-holding capacity and composition of porcine meat by comparative spectroscopy. *Meat Sci.* 55, 177-185.
- DUFOUR E., RIAUBLANC A. 1997.** Potentiality of spectroscopic methods for the characterisation of dairy products. I. Front-face fluorescence study of raw, heated and homogenised milks. *Le Lait* 77, 657-670.
- DUFOUR E., LOPEZ C., RIAUBLANC A., MOUHOU RIU N. 1998.** La spectroscopie de fluorescence frontale : une approche non-invasive de la structure et des interactions entre les constituants des aliments. *Agoral.* 10, 209-215.
- DUFOUR E., MAZEROLLES G., DEVAUX M.F., DUBOZ G., DUPLOYER M.H., MOUHOU RIU N. 2000.** Phase transition of triglycerides during semi-hard cheese ripening. *Int Dairy J.* 10 87-99.
- DUFOUR E., DEVAUX M.F., FORTIER P., HERBERT S., 2001.** Delineation of the structure of cheeses at the molecular level by fluorescence spectroscopy. Relation with the texture. *Int. Dairy J.*, 11, 465-473.
- GENOT C., TONETTI F., MONTENAY-GARESTIER T., DRAPON R. 1992.** Front-face fluorescence applied to structural studies of proteins and lipid-protein interactions of visco-elastic food products. 1- Designing of front-face adaptor and validity of front-face fluorescence measurements. *Sci. Alim.* 12 199-212.
- GENOT C., TONETTI F., MONTENAY-GARESTIER T., MARION D., DRAPON R. 1992.** Front-face fluorescence applied to structural studies of proteins and lipid-protein interactions of visco-elastic food products. 2- Application to wheat gluten. *Sci. Alim.* 12 687-704.
- HERBERT S., 1999.** Caractérisation de la structure moléculaire et microscopique de fromages à pâte molle. Analyse multivariée des données structurales en relation avec la texture. Thèse de Doctorat, Université de Nantes, 120 pp.
- LAKOWICZ J.R. 1983.** Protein fluorescence. In : *Principles of fluorescence spectroscopy* (Lakowicz, J.R., ed), Plenum Press, New York, pp 341-389.
- LEBECQUE A., LAGUET A., DEVAUX M.F., DUFOUR E., 2001.** Delineation of the texture of Salers cheese by sensory analysis and physical methods. *Le Lait* 81, 609-623.
- MARANGONI A.G. 1992.** Steady-state fluorescence polarization spectroscopy as a tool to determine microviscosity and structural order in food systems. *Food Res. Intern.* 2567-80.
- PARKER C. A. 1968.** Apparatus and experimental methods. In "Photoluminescence of solutions with applications to photochemistry and analytical chemistry" (C. A. Parker, Ed.), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp 128-302.
- SWATLAND H.J. 1987A.** Fiber optic reflectance and autofluorescence of bovine elastin and differences between intramuscular and extramuscular tendons. *J. Anim. Sci.* 64, 1038-1042
- SWATLAND H.J. 1987B.** Measurement of the gristle content in beef by macroscopic ultraviolet fluorimetry. *J. Anim. Sci.* 65, 158-164.
- SWATLAND H.J. 1987C.** Autofluorescence of adipose tissue measured with fibre optics. *Meat Sci.* 19, 277-284.
- SWATLAND H.J. 1993.** An anomaly in the effect of temperature on collagen fluorescence in beef. *Food Res. Int.* 26, 271-276.
- SWATLAND H.J. 1997.** Relationship between the backscatter of polarized light and the fibre-optic detection of connective tissue fluorescence in beef. *J. SciFood Agric.* 74, 45-49.
- SWATLAND H.J. 2000.** Connective and adipose tissue detection by simultaneous fluorescence and reflectance measurements with an on-line meat probe. *Food Res. Int.* 33, 749-757.
- SWATLAND H.J., BARBUT S. 1991.** Fluorimetry via quartz-glass rod for predicting the skin content and processing characteristics of poultry meat slurry. *Int. J. Food Sci. Technol.* 26, 373-380.
- SWATLAND H.J., MADSEN N.T., NIELSEN T. 1996.** Fluorometry of connective tissue in beef, relative to direction measurement. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 29, 536-541.
- SWATLAND H.J., BROOKS J.C., MILLER M.F. 1998.** Possibilities for predicting taste and tenderness of broiled beef steak using an optical-electromechanical probe. *Meat Sci.* 50, 1-12.
- UDENFRIEND S. 1969.** Fluorescence assay in biology and medicine, Vol II, Academic Press, New York, pp 539-556.
- WOLD J.-P. 2000.** Rapid quality assessment of meat and fish by using near-infrared spectroscopy and image analysis. PhD thesis, Agricultural University of Norway, 130 pp.