

Monika MODZELEWSKA-KAPITUŁA, Marek CIERACH
Katedra Technologii i Chemii Mięsa, Wydział Nauki o Żywności,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wykorzystanie komputerowej analizy obrazu do oznaczania zawartości wody wolnej w mięsie metodą Graua-Hamma - wpływ wielkości nacisku i czasu na wynik oznaczenia

Streszczenie

Zdolność utrzymywania wody przez mięso i jego przetwory jest ważnym aspektem zarówno z technologicznego jak i ekonomicznego punktu widzenia. Jedną z popularnych metod oznaczania zawartości wody wolnej jest metoda Graua-Hamma, która opiera się na pomiarze powierzchni plam sprasowanej próbki mięsa i nacieku. Celem pracy było zbadanie jak na wynik zawartości wody wolnej wpływa wielkość zastosowanego nacisku i czas jego działania oraz sprawdzenie czy do pomiaru powierzchni plam można zastosować program do komputerowej analizy obrazu NIS-Elements BR 2.20 (Nikon Corporation, Tokyo, Japonia). Zawartość wody wolnej oznaczano w mięsie wołowym (*m. semitendinosus*). Próbki o masie 0,3 g poddawano naciskowi 1, 2 i 5 kg przez czas 1, 3, 5, 7, 10 min. Powierzchnię otrzymanych plam mięsa i nacieku mierzono przy użyciu programu NIS-Elements BR 2.20. Stwierdzono, że dzięki zastosowaniu programu komputerowego możliwe jest szybkie i precyzyjne uzyskanie wymiarów powierzchni plam, bez konieczności obrysowywania konturów plam czy też innych czasochłonnych zabiegów. Analiza statystyczna wykazała, że na wynik zawartości wody wolnej wpływa zarówno wielkość zastosowanego nacisku, jak i czas jego działania. Odnotowano brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wynikami uzyskanymi w następujących warunkach: nacisk 2 kg przez 1, 3, 5, 7 i 10 min., 1 kg przez 3, 5, 7 i 10 min. oraz 5 kg przez 1 min. Otrzymane wyniki dają podstawę do porównywania wartości otrzymywanych przy zróżnicowanym nacisku i czasie jego działania.

Słowa kluczowe: woda wolna, wołowina, metoda Graua-Hamma, komputerowa analiza obrazu

Application of computer image analysis to assay free water content in meat by Grau-Hamm method - the influence of pressure and time on the results

Summary

From the technological and economical point of view water-holding capacity is a very important feature. One of the popular method of free water determination is Grau-Hamm method, which is based on measurement of pressed meat sample and stain areas. The aim of the study was evaluation of the influence of measurement parameters: pressure and time on obtained results of free water content using Grau-Hamm method, as well as verification if computer image analysis NIS-Elements BR 2.20 (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) software can be applied for stains area measurement. Free water content in beef (*m. semitendinosus*) was assayed using 0.3 g meat samples, which were pressed using 1, 2, 5 kg weight for 1, 3, 5, 7, 10 minutes. Stains were photographed with a digital camera and their areas measured using Nikon NIS-Elements BR 2.20 software. It was found that measurements done with the use of the computer image analysis software were quick and precise and no additional time consuming operations such as drawing stains boundaries were required. Statistical analysis revealed that both time and weight mass significantly affected free water content values. There were no statistical significant differences between results obtained under the following conditions: weight 2 kg – time from 1 to 10 minutes, 1 kg from 3 to 10 minutes and 5 kg for 1 minute. Results of the study enabled to compare free water or water-holding capacity values obtained under different pressure and time conditions.

Key words: free water, beef, Grau-Hamm method, computer image analysis

Wstęp

Woda jest dominującym składnikiem mięsa i stanowi ok. 75% jego masy (Dolatowski, Twarda 2002; Huff-Lonergan, Lonergan 2005). Jej rozmieszczenie w tkance mięśniowej nie jest równomierne: ok. 85% całej ilości wody występuje we włóknach mięśniowych (ok. 60% w miofibrkach i ok. 25% w sarkoplazmie), a ok. 15%

w przestrzeniach poza włóknkowych. Można wyróżnić kilka form w jakich występuje ona w mięsie tj. wodę hydratacyjną, strukturalną, unieruchomioną i wolną. Woda hydratacyjna związana jest chemicznie za pomocą wiązań elektrostatycznych z grupami hydrofilowymi białek. Woda ta otacza białka płaszczem zbudowanym z kilku warstw cząsteczek, nadaje im charakter koloidów i pełni funkcję ich biologicznej osłony. Woda hydratacyjna stanowi od 4 do

5% całkowitej ilości wody zawartej w mięsie. Jej ilość nie jest zależna od zmian struktury mięsa, m.in. jego rozdrobnienia czy oddziaływania czynników fizykochemicznych. Nie jest możliwe usunięcie jej na drodze ucisku. Woda strukturalna jest utrzymywana w przestrzeniach kapilarnych działaniem sił fizycznych. Przestrzenie takie znajdują się w miofibrach (pomiędzy miofilamentami włókienek kurczliwych oraz wewnątrz struktury miofilamentów), pomiędzy włóknkami mięśniowymi i mięśniami. Siła, z jaką woda strukturalna utrzymywana jest w mięsie zależy od średnicy kapilar – im jest ona mniejsza tym wiązanie wody jest silniejsze i trudniej ją usunąć z mięsa (Prost 2006).

Ze względu na łatwość usuwania wody z mięsa wyróżnia się wodę związaną i wodę wolną. Woda związana to taka, której nie można usunąć z mięsa pod działaniem nacisku czy wirowania. Zalicza się do niej wodę hydratacyjną i wodę strukturalną znajdującą się w kapilarach o małym przekroju. Za wodę wolną uważa się wodę strukturalną znajdującą się w przestrzeniach kapilarnych o większym przekroju, głównie w przestrzeniach między włóknkowych (Prost 2006). Można ją usunąć z mięsa stosując nacisk lub oddziałując siłą odśrodkową (Kończak i in. 2007). Ilość wody wolnej w mięsie wzrasta, kiedy następuje migracja związanej wody strukturalnej poza kapilary o małym przekroju (Huff-Lonergan, Lonergan 2005).

Jednym z ważniejszych czynników kształtujących jakość oraz wartość ekonomiczną mięsa jest jego zdolność do wiązania wody. Cecha ta wpływa na soczystość i kruchość mięsa, jak również na zmiany zawartości wody w mięsie podczas transportu, przechowywania i obróbki termicznej Irie i in., (1996). W celu określenia zdolności mięsa do utrzymywania wody wolnej stosuje się wiele metod pomiarowych. Szeroko rozpowszechniona jest metoda Graua-Hamma, w której próbki mięsa poddawane są naciskowi, w wyniku którego woda wolna zostaje wyciśnięta na bibułę. W rezultacie tego zabiegu powstają na bibule dwie plamy – wewnętrzna, będąca sprasowaną próbką mięsa i zewnętrzna – naciek. Zawartość wody wolnej oblicza się na podstawie wyników pomiarów powierzchni obu plam. Klasyczny pomiar odbywał się za pomocą planimetru, obecnie do tego celu można wykorzystywać nowoczesne programy od komputerowej analizy obrazu. Jak wykazały badania (Irie i in. 1996) zastosowanie komputerowej analizy obrazu pozwala na szybkie uzyskanie wyników o wyższej powtarzalności i odtwarzalności niż klasyczne metody planimetrowania, w których znaczny wpływ na wynik oznaczenia mają umiejętności osoby przeprowadzającej pomiar.

Celem pracy było zbadanie czy występują statystycznie istotne różnice pomiędzy wynikami zawartości wody wolnej otrzymanymi przy zastosowaniu zróżnicowanego nacisku i czasu jego oddziaływania na próbkę mięsa. Przeprowadzone badania pozwolą stwierdzić, czy możliwe jest porównywanie wyników otrzymywanych w różnych warunkach pomiarowych. Celem pracy było ponadto określenie czy możliwy jest pomiar powierzchni plam za pomocą programu do komputerowej analizy obrazu NIS-Elements BR 2.20.

Materiały i metody

Zawartość wody wolnej określano metodą Graua-Hamma (Hamm 1986). Mięso wołowe (*m. semitendinosus*) rozdrabniano dwukrotnie w maszynce do mięsa z siatką o średnicy oczek 3 mm. Następnie próbki o masie 0,3g umieszczano na bibule o średniej szybkości sączenia (POCH S.A.) między dwiema płytkami szklanymi i poddawano równomiernemu naciskowi przy pomocy odważników o masie 1, 2 i 5 kg w ciągu 1, 3, 5, 7, 10 min. Powierzchnie bibule z uzyskanymi konturami mięsa i nacieku fotografowano aparatem cyfrowym (FUJIFILM Fine Pix M603) zamontowanym na statywie w odległości 34 cm od powierzchni bibule przy obustronnym oświetleniu lampami nachylonymi pod kątem 30°. Na uzyskanych obrazach (*.jpg) przeprowadzono pomiary powierzchni sprasowanej próbki mięsa i nacieku w programie do komputerowej analizy obrazu (NIS-Elements BR 2.20, Nikon Corporation, Tokyo, Japonia). Dla każdego wariantu (wielkość nacisku – czas nacisku) wykonano 15 powtórzeń. W celu oznaczenia wodochłonności bibule na pięć równych kawałków nanoszono po 0,1 cm³ wody destylowanej. Po dokonaniu pomiaru powierzchni otrzymanych plam wody obliczano średnią wielkość powierzchni plam i ilość wody (*W*) przypadającą na 1 cm² zacieku wg wzoru:

$$W = \frac{a \cdot b}{P} [\text{cm}^3] \quad (1)$$

gdzie:

a - ilość naniesionej wody [cm³],

b - 1 [cm²],

P - średnia powierzchnia plamy naniesionej wody [cm²].

Następnie określono współczynnik niezbędny do przeliczenia powierzchni nacieku na procentową zawartość wody w badanej próbce mięsa korzystając ze wzoru:

$$K = \frac{W}{C} \cdot 100 \quad (2)$$

gdzie:

C - naważka próbki mięsa [g]

Znając pole powierzchni nacieku (*P_n*) i pole powierzchni sprasowanej próbki mięsa (*P_p*) obliczono ilość wody wolnej, w procentach w stosunku do masy próbki (*W_w*), ze wzoru:

$$W_w = K \cdot (P_n - P_p) [\%] \quad (3)$$

Wyniki przedstawiono jako wartości średnie, podając także wartości odchylenia standardowego (*SD*) i współczynnika zmienności (*C*). Statystyczną analizę wyników przeprowadzono metodą dwuczynnikowej analizy wariancji. W celu wyodrębnienia grup jednorodnych średnich posłużono się testem Newmana-Keulsa na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ (Statistica 8.0., StatSoft, Inc.).

Wyniki i ich dyskusja

Programy do komputerowej analizy obrazu były wykorzystywane do pomiarów powierzchni plam w metodzie Graua-Hamma m.in. przez Irie i in. (1996) oraz Pipek i in. (2005). Pipek i in. (2005) korzystający z programu Lucia 3.52b (Laboratory Imaging Ltd. Praha, Czechy) dokonali oznaczenia zawartości wody wolnej w mięsie wołowym

i wieprzowym różnych klas. Jednocześnie zaproponowali oni usprawnienie metody pomiarowej przez fizyczne rozdzielanie próbki mięsa i bibuły z naciekiem lub korzystanie ze skanera w celu uzyskania zdjęć o większej ostrości i kontraście. Wykorzystany w niniejszej pracy program NIS-Elements BR 2.20. okazał się skutecznym narzędziem do pomiaru powierzchni płam mięsa i nacieku. Przy zastosowaniu prostych komend możliwy był pomiar powierzchni płam bez fizycznego oddzielania sprasowanej próbki mięsa od bibuły.

Wartości zawartości wody wolnej w mięsie wołowym otrzymane przy zastosowaniu różnego czasu i wielkości nacisku przedstawiono w tabeli 1. Najniższe wartości otrzymano po poddaniu próbki mięsa naciskowi 1 kg przez 1 minutę (13,74%), a najwyższe stosując największy nacisk 5 kg przez 10 minut (30,3%). Współczynnik zmienności kształtował się w przedziale od 0,16% (dla kombinacji 5 kg – 5 minut) do 0,34% (1 kg – 1 minuta). Wyniki te wskazują, że zastosowanie krótkiego czasu i niewielkiego nacisku powodują otrzymanie wartości o znacznym rozrzucie.

Tabela 1. Zawartość wody wolnej w mięsie wołowym [%]

Table 1. Free water content in beef meat [%]

Czas nacisku; Pressing time [min]	Masa odważnika; Weight [kg]					
	1		2		3	
	$\bar{x}_{sr} \pm SD$	C [%]	$\bar{x}_{sr} \pm SD$	C [%]	$\bar{x}_{sr} \pm SD$	C [%]
1	13,74±4,66	0,34	15,32±5,10	0,33	20,56±4,96	0,24
2	15,39±4,16	0,27	17,88±5,16	0,29	24,12±5,35	0,22
5	18,09±4,96	0,27	19,69±5,85	0,30	25,61±4,08	0,16
7	18,22±5,29	0,29	20,01±3,09	0,19	28,26±6,41	0,23
10	18,05±3,43	0,21	20,58±4,30	0,23	30,30±5,37	0,18

\bar{x}_{sr} – wartość średnia / mean value;

SD – odchylenie standardowe / standard deviation;

C – współczynnik zmienności / variation coefficient.

Statystyczne opracowanie wyników pozwoliło na stwierdzenie, że zarówno czas ($p = 0,000$), jak i wielkość nacisku ($p = 0,000$) wpływają znacząco na wynik analizy, chociaż między tymi dwoma czynnikami nie dochodzi do interakcji ($p = 0,576$).

Aby stwierdzić, które z uzyskanych wyników nie różnią się statystycznie zastosowano test Newmana-Keulsa (tabela 2). W wyniku analizy statystycznej otrzymano 5 grup jednorodnych, z których najliczniejszą obejmowała następujące warunki prowadzenia oznaczenia: nacisk 2 kg – czas od 1 do 10 min., nacisk 1 kg od 3 do 10 min. oraz nacisk 5 kg przez 1 min. Wyniki uzyskane przy zastosowaniu odważnika 1 kg i czasie od 1 do 10 min. nie różniły się statystycznie pomiędzy sobą i wynikami uzyskanymi po nacisku próbek odważnikiem 2 kg przez 1 i 3 min. Wyniki uzyskane przy zastosowaniu odważnika 5 kg nie różniły się statystycznie jeżeli próbkę mięsa poddano naciskowi od 3 do 7 minut oraz przez 7 i 10 min.

Monika Modzelewska-Kapituła

Uniwersytet Warmińsko - Mazurski w Olsztynie,
Katedra Technologii i Chemii Mięsa,
Plac Cieszyński 1, 10-718 Olsztyn
e-mail: monika.modzelewska@uwm.edu.pl

Tabela 2. Jednorodne grupy średnich zawartości wody wolnej otrzymane przy zastosowaniu różnego czasu nacisku i masy odważnika (test Newmana-Keulsa, $\alpha = 0,05$)

Table 2. Homogeneous group of medium free water content obtained using different amounts of time pressure and weight mass (Newman-Keulsa, $\alpha = 0,05$)

Czas; Time [min]	Masa odważnika; Weight [kg]	Zawartość wody wolnej; Free water content [%]	Jednorodne grupy; Homogenous groups				
			1	2	3	4	5
1	1	13,74	****				
1	2	15,32	****	****			
3	1	15,39	****	****			
3	2	17,88	****	****			
10	1	18,05	****	****			
5	1	18,09	****	****			
7	1	18,22	****	****			
5	2	19,69		****	****		
7	2	20,01		****	****		
1	5	20,56		****	****		
10	2	20,58		****	****		
3	5	24,12			****	****	
5	5	25,61				****	
7	5	28,26				****	****
10	5	30,30					****

Wnioski

Program do komputerowej analizy obrazu NIS-Elements BR 2.20. może być z powodzeniem stosowany do pomiaru powierzchni płam mięsa i nacieku powstałych na bibule podczas oznaczania zawartości wody wolnej w mięsie metodą Graua-Hamma. Warunki prowadzenia oznaczania wody wolnej w mięsie mają wpływ na otrzymywane wyniki. Analiza statystyczna wykazała, że możliwe jest, w pewnych granicach, porównywanie wyników otrzymanych przy zastosowaniu zróżnicowanego nacisku i czasu.

Literatura

- Dolatowski Z., Twarda J. 2002. *Rola wody w mięsie*. Mięso i Wędliny, 8, 32-34.
- Hamm R. 1986. *Functional properties of the myofibrillar system and their measurement*. In: Bechtel PJ (eds) *Muscle as Food*. Academic Press Inc, London,
- Huff-Lonergan E., Lonergan S. M. 2005. *Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes*. Meat Science, 71, 194-204.
- Kończak T., Krzysztoforski K., Palka K. 2007. *The effect of post-mortem ageing and heating on water retention in bovine muscles*. Meat Science, 75, 655-660.
- Irie M., Izumo A., Mohri S. 1996. *Rapid method for determining water-holding capacity in meat using video image analysis and simple formulae*. Meat Science, 42, 95-102.
- Pipek P., Schleusener H., Pudil F., Jeleníková J. 2005. *Bewertung von Wasserbindungsvermögen mittels Videoimageanalyse*. Fleischwirtschaft, 6, 101-103.
- Prost E. 2006. *Zwierzęta rzeźne i mięso – ocena i higiena*. Lubelskie Towarzystwo Naukowe, Lublin.

Pobrano z www.ips.wm.tu.koszalin.pl