

ASSESSMENT OF BASIC COMPONENTS OF PORK AND BEEF MEAT BY FT NIR SPECTROSCOPY

STANOVENÍ ZÁKLADNÍCH SLOŽEK VEPŘOVÉHO A HOVĚZÍHO MASA POMOCÍ FT NIR SPEKTROSKOPIE

Mlček J., Simeonovová J., Šustová K.

Ústav technologie potravin, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

E-mail: jirimlcek@quick.cz, simeon@mendelu.cz, sustova@mendelu.cz

ABSTRACT

Our work dealt with assessment by basic components of pork and beef meat (fat, proteins and dry matter) by way of FT NIR spectroscopy. Samples were analysed by FT NIR Nicolet Antaris in reflectance regime on integration sphere in a spectral range 12 500 - 4 000⁻¹ cm with 80 scan. Samples were measured in tough milled and softly milled status in compression cuvette and Petri's dish in bag. Results obtained referentially were used to the calibration of apparatus. Calibration models were created by PLS algorithm (method of minimum squares) and they were checked by cross validation. High correlative coefficients of calibration was get (fat 0.996 - 0.998; proteins 0.974 - 0.978; dry matter 0.993 - 0.997), after that, even validation and very low ruling deviation of calibration and validation (SEC, SEP). Any static probative differences between referential and predict values of determination weren't found by Z-test. Method NIRS has according to public results compensate high potencial for expensive and time-consuming chemical analyse of meat composition.

Keywords: NIR spectroscopy, pork meat, beef meat, chemical composition

ABSTRAKT

Naše práce se zabývala stanovením základních složek vepřového a hovězího masa (obsah tuku, bílkovin a podíl sušiny) pomocí FT NIR spektroskopie. Vzorby byly analyzovány na přístroji FT NIR Nicolet Antaris v režimu reflektance na integrační sféře ve spektrálním rozsahu 12 500 - 4 000 cm⁻¹ s 80 scany. Vzorby byly měřeny v hrubě mletém a jemně mletém stavu v kompresní kyvetě a Petriho misce v sáčku. Referenčně získané výsledky byly použity ke kalibraci přístroje. Kalibrační modely byly vytvořeny pomocí PLS algoritmu (metoda minimálních čtverců) a ověřeny křížovou validací. Bylo dosaženo vysokých korelačních koeficientů kalibrace (tuk 0,996 - 0,998; bílkoviny 0,974 - 0,978; sušina 0,993 - 0,997), následně i validace a velmi nízkých směrodatných odchylek kalibrace i validace (SEC, SEP). Z-testem nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi referenčními a predikovanými hodnotami stanovení. Metoda NIRS má dle uveřejněných výsledků vysoký potenciál nahradit drahou a časově náročnou chemickou analýzu složení masa.

Klíčové slova: NIR spektroskopie, vepřové maso, hovězí maso, chemické složení

ÚVOD

Blízká infračervená spektroskopie (NIRS) je analytická technika, která využívá zdroj vyrábějící záření známé vlnové délky (obvykle 800 – 2 500 nm) a umožňuje získat kompletní obraz organického složení analyzovaného materiálu (Van Kempen, 2001). Na základě principu ozáření vzorku s různou chemickou vazbou pak tyto látky pohlcují nebo vydávají záření různé vlnové délky. Spektroskopie v NIR oblasti se v potravinářství a zemědělství jako jediných oborech uplatňuje již od 60. let (stanovení obsahu vody, proteinů, olejů, tuků a sacharidů). Další uplatnění našla ve farmacii, petrochemii, medicíně a při sledování životního prostředí (Centner, 1999). Aplikace NIR spektroskopie je však mnohem širší a zahrnuje i stanovení senzorických a fyzikálně chemických parametrů (Rodríguez-Otero et al., 1997). Tradiční metody pro stanovení kvality masa a jeho hlavních složek jsou relativně pomalé a dosti drahé. Mezi přednosti NIR spektroskopie řadíme rychlost, simultánnost, nedestruktivní měření vzorků a především velký potenciál pro on-line analýzu. V případě stanovování obsahových složek ve vzorcích je však nutné provést přesnou kalibraci NIR spektrometru pomocí vhodného souboru kalibračních standardů o známém složení pomocí vhodných analytických metod známých jako referenční metody. Hlavní nevýhoda metody je její závislost na referenčních metodách, slabá citlivost k minoritním složkám, omezený převodem kalibrací mezi různými přístroji a složitý výklad spektrálních dat (Bünning-Pfaue et al., 2003).

Ve vydaných studiích bylo nejvíce pozornosti směřováno právě k využití schopnosti NIRS předpovídat chemické složení masa a kvality masa v různých druzích. Dnes jsou již vytvořeny početné kalibrace pro chemické složení hovězího masa (Eichinger and Beck, 1992; Tøgersen et al., 2003; Alomar et al., 2003), vepřového masa (Tøgersen et al., 1999; Brøndum et al., 2000) a drůbežího masa (Valdes and Summers, 1986; Renden et al., 1986; Abeni and Bergoglio, 2001), ale i králíčího masa (Masoero et al., 1994) a jehněčího masa (Cozzolino et al., 2000).

MATERIÁL A METODIKA

K analýzám a následné kalibraci NIR přístroje byly použito 40 vzorků hovězího a 40 vzorků vepřového masa (výsekové a výrobní) s různým podílem tuku, bílkovin a sušiny. Vzorky byly získány z různých částí jatečně opracovaných těl a také z ořezu, aby se docílila různá škála hodnot tuku, bílkovin a sušiny. Následně byly vzorky pomlety hrubě a jemně.

U poloviny pomletých vzorků byl referenčními metodami stanoven obsah sušiny (sušením), dle ČSN 46 7092, část 3, obsah tuku (extrakcí), dle ČSN 46 7092, část 7 a obsah bílkovin (Kjeldahlova metoda pomocí přístroje BUCHI KJELDAL), dle ČSN 46 7092, část 4. Složení vzorků čerstvého vepřového a hovězího masa uvádí tabulka 1.

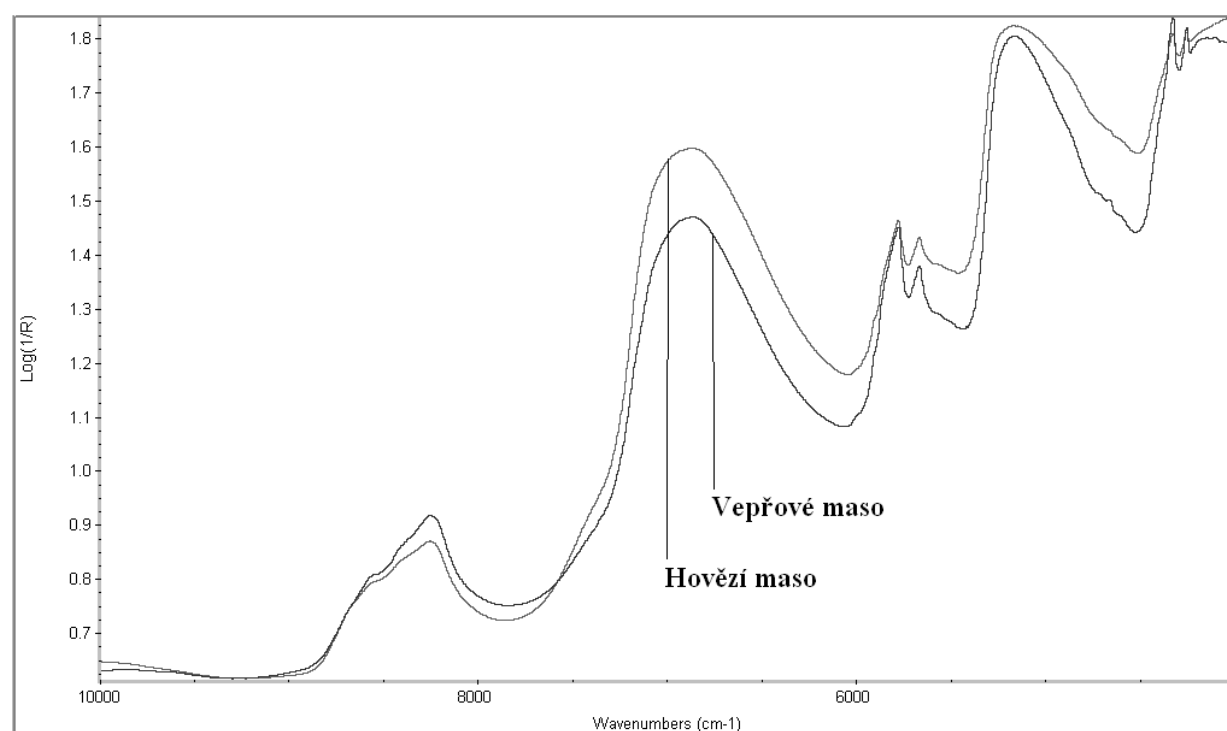
Tab. 1 Referenční analytické hodnoty v g/kg

Druh masa	Parametr	n	min	max	x_p	s_x
Vepřové maso	Celkové proteiny	40	47,6	214,1	161,6	43,4
	Tuk	40	17,8	787,2	270,5	204,7
	Sušina	40	242,2	830,8	432,4	156,9
Hovězí maso	Celkové proteiny	40	149,5	231,8	197,0	19,3
	Tuk	40	39,7	350,2	138,3	88,8
	Sušina	40	243,4	503,9	333,8	69,5

n – počet vzorků; max – maximální hodnota; min – minimální hodnota; x_p – průměr; s_x – směrodatná odchylka

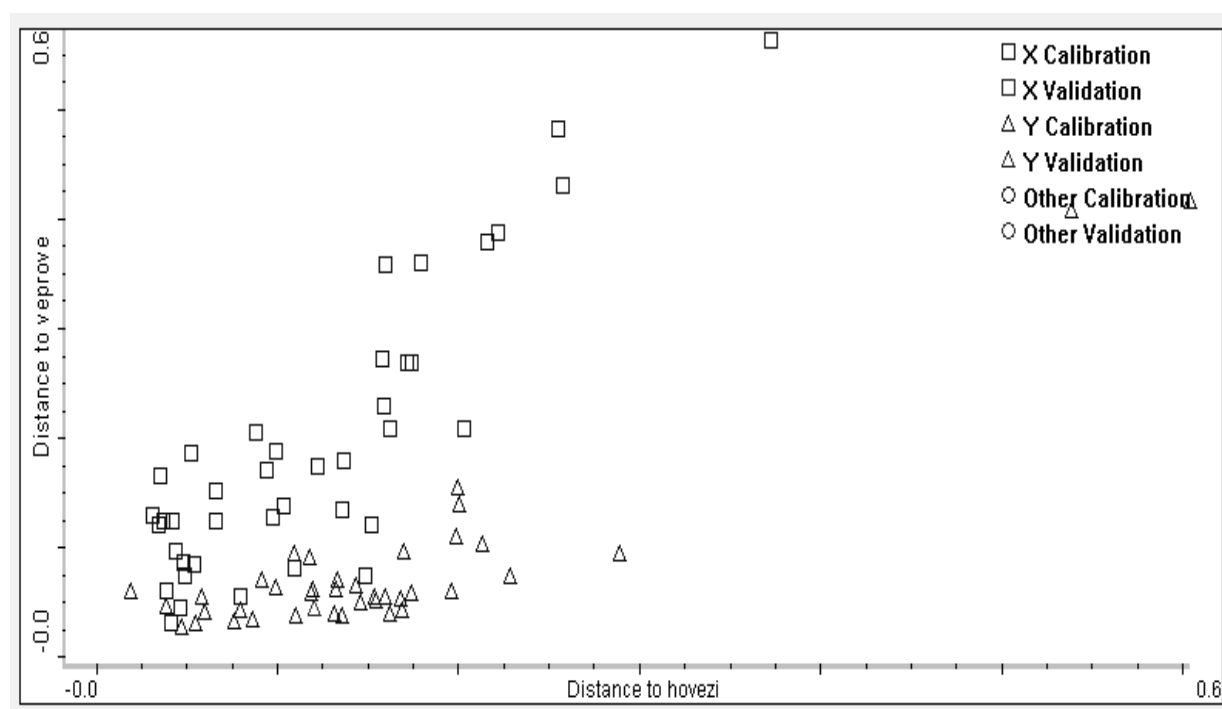
Druhá polovina pomletých vzorků byla současně proměřena na přístroji FT NIR Antaris firmy ThermoNicolet ve spektrálním rozsahu 12 500 – 4 000 cm^{-1} s 80 scany rozlišením 8 a s dobou snímání cca 1 min. Spektra (obr. 1) byla měřena na integrační sféře za pomoci spinneru (otáčení nehomogenních materiálů) v režimu reflektance (technika měřící absorpci záření po odrazu záření od vrstvy vzorku) v kompresní kyvetě a Petriho misce v sáčku s použitím alobalu. Vzorky byly měřeny jak v hrubém tak i jemném stavu. Každý vzorek byl snímán dvakrát a pro kalibraci bylo použito průměrné spektrum.

Obr. 1 Ukázka spekter hovězího a vepřového masa



Diskriminační analýzou (metoda zkoumání závislosti mezi skupinou p nezávisle proměnných, nazvaných diskriminátory, tj. sloupců zdrojové matice na jedné straně a jednou kvalitativní závisle proměnnou na druhé straně) byly porovnány spektra vzorků vepřového masa a spektra vzorků hovězího masa. Pro velkou podobnost (obr. 2) byla tato spektra 40ti vzorků vepřového a 40ti vzorků hovězího masa sloučena a pro kalibraci bylo tudíž použito 80 vzorků, resp. 80 průměrných spekter. Kalibrační modely byly vytvořeny pomocí PLS algoritmu (metoda minimálních čtverců). PLS faktory použité v kalibračních modelech zahrnují spektrální a současně koncentrační informaci. Některé vzorky v kalibracích byly ignorovány.

Obr. 2 Diskriminační analýza hovězího a vepřového masa



□ - hovězí maso, Δ - vepřové maso

Zhodnocení výsledků bylo provedeno na základě korelace mezi referenčními hodnotami a hodnotami vypočtenými ze získaných kalibračních rovnic a na základě velikosti směrodatných odchylek kalibrace (SEC) a validace (SEP). Je kladen důraz na minimální SEP, protože se jedná o odchylku, která je očekávána v budoucích předpovědích. SEP spolehlivé kalibrace není obvykle o mnoho větší než SEC. Nejžádanější hodnotou obou odchylek je hodnota blížící se k nule.

Vhodnost výsledného modelu se posuzuje rovněž dle korelačních koeficientů (R). Čím více se hodnota R blíží 1, tím lze považovat model za použitelnější. Dalším ukazatelem spolehlivosti modelu je hodnota kalibračního variačního koeficientu CCV a hodnota predikčního variačního koeficientu PCV. Velmi spolehlivá kalibrace znamená, že hodnota CCV je pod 5 % a PCV pod 10 % potvrzuje dobrou kalibraci.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem naší práce byla možnost stanovení základních složek vepřového a hovězího masa využitím NIR metody. Zaměřili jsme se na stanovení obsahu bílkovin, tuku a sušiny. Pro vytvoření kalibračního modelu bylo použito 80 vzorků (vepřové + hovězí maso). Pomocí diagnostického nástroje (spectrum outlier) byly však některé odlehlé výsledky ignorovány, a to ty, u kterých byla nepřesně stanovena referenční hodnota nebo se objevila odchylka ve změřeném spektru. Přesný počet vzorků použitých pro kalibraci pak uvádí tabulka 2, též jsou zde uvedeny směrodatné odchylky validace (SEP), hodnoty kalibračních variačních koeficientů (CCV), hodnoty predikčních variačních koeficientů (PCV) a korelačních koeficientů (R).

Tab. 2 Výsledky měření NIRS

Parametr			n	SEP [g/kg]	CCV [%]	PCV [%]	R
CP	Kyveta	jemně mleté	74	7,94	3,89	4,34	0,970
		hrubě mleté	74	8,01	3,81	4,39	0,968
	Petriho miska	jemně mleté	73	7,89	3,74	4,32	0,971
		hrubě mleté	74	8,31	4,02	4,56	0,967
Tuky	Kyveta	jemně mleté	72	9,36	4,69	5,38	0,998
		hrubě mleté	78	16,4	6,67	8,05	0,995
	Petriho miska	jemně mleté	78	13,6	6,33	7,18	0,996
		hrubě mleté	76	13,5	6,18	7,02	0,996
Sušina	Kyveta	jemně mleté	77	13,8	3,44	3,74	0,991
		hrubě mleté	80	13,9	2,82	3,63	0,994
	Petriho miska	jemně mleté	78	11,9	2,97	3,39	0,994
		hrubě mleté	76	13,6	3,03	3,65	0,993

CP – celkové proteiny; n – počet vzorků; SEP – směrodatná odchylka predikce; CCV – kalibrační variační koeficient; PCV – predikční variační koeficient; R – korelační koeficient

Z tabulky 2 vyplývá, že u všech vzorků nebyla překročena hodnota PCV, tedy 10 % a tím se potvrzuje, že kalibrační modely pro stanovení obsahu sušiny, tuků a bílkovin splňují podmínky spolehlivých modelů. Kromě stanovení tuku v kyvetě (hrubě mleté maso) a v Petriho misce (hrubě i jemně mleté maso), byla u všech modelů také dosažena hodnota CCV do 5 %. Všechny tyto ostatní modely můžeme posuzovat jako velmi spolehlivé. Jak vidíme, bylo dosaženo též vysokých hodnot korelačních koeficientů u všech kalibrací. Stojí za povšimnutí, že ve většině vydaných studií, kde bylo NIRS technikou měreno chemické složení masa, byly obdrženy také vysoké korelační koeficienty (nad 0.90) (Prevolnik

et al., 2004). Korelační koeficienty pro sušinu a bílkoviny jsou sice mírně nižší, nemají však zásadní vliv na robustnost modelu. Toto tvrzení uvádí také většina autorů ve svých pracích (Tøgersen et al., 1999, Brøndum et al., 2000, Cozzolino et al., 2002, Alomar et al., 2003). Všechny modely jsou velmi robustní a pro praxi použitelné. Bylo dosaženo velmi dobrých a vyrovnaných hodnot směrodatných odchylek validace (SEP). Pouze u měření tuku v kyvetě (hrubě mleté maso) byla tato hodnota mírně navýšena, ale hodnota 8,05 % PCV, potvrzuje stále dobrou kalibraci.

V práci byl porovnáván vliv mletí na dosažené výsledky. Usoudili jsme, že jemné mletí vykazuje mírně lepších výsledků než hrubé mletí. Také Tøgersen et al. (2003) uvádí, že na predikci přesnosti má vliv různá velikosti mletí: jemnější mletí pak vykazuje vyšší předpovědácí přesnost. Řada dalších pokusů pak také potvrzuje, že predikce chemického složení masa je lepší v mletých vzorcích, než je tomu u neupravených vzorcích (Eichinger and Beck, 1992; Cozzolino et al., 2000; Cozzolino and Murray, 2002).

Dále jsme v práci porovnávali vhodnost použití kyvety nebo Petriho misky při měření, ale dosáhli jsme téměř shodných výsledků. Při měření vzorků tedy můžeme používat buď jednu nebo druhou metodu. Musíme mít ale stále na paměti, že nesmí dojít ke kombinaci těchto metod, tzn. že při měření vzorků např. v kyvetě pak musíme vždy použít tuto metodu. To pak též platí při tvorbě kalibrací, která pak již vychází pouze podle jedné měřicí techniky.

Souhrnně můžeme říci, že nejlepších modelů bylo dosaženo při použití kompresní kyvety a najemno pomletého masa. Jednou výjimkou je však model při stanovení sušiny v kyvetě s hrubě pomletým masem, kde jsme dosáhli nejlepšího CCV a to 2,81%. Tuto skutečnost si můžeme vysvětlit tím, že při měření byl použit spinner, tj. zařízení na rotaci vzorku, které vyrovnává měření vzorků hrubě a jemně mletých. U měřeného nehomogenního vzorku je tak zachycena celá plocha vzorku a ne jenom jeho část.

Všechny výsledky referenčních hodnot a NIR hodnot byly statisticky ověřeny pomocí parametrického Z-testu. Mezi posuzovanými hodnotami nebyl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl ($z - z_t$) u žádného ze stanovovaných ukazatelů.

ZÁVĚR

Bylo dosaženo vysokých korelačních koeficientů (R) kalibrace a následně i validace, velmi nízkých směrodatných odchylek kalibrace i validace (SEC, SEP). U všech kalibračních modelů bylo PCV hodnot dosaženo. Pouze u některých stanovení tuku (v kyvetě hrubě mleté maso a v Petriho misce hrubě i jemně mleté maso) byla mírně překročena hodnota CCV. I přes tuto menší výchylku v měření můžeme potvrdit u všech modelů podmínku spolehlivosti. Výkonnost metody NIRS predikovat složení masa může být ovlivněna přesností referenční metody, vůči níž se provádí kalibrace. Použití metod NIRS může dále omezovat to, že ke všem účelům vyžadují pracnou a náročnou kalibraci. Jakmile je však spolehlivá kalibrace provedena, je již vlastní stanovení velmi jednoduché. Na rozdíl od tradičních metod pro stanovení chemického složení a kvality masa metoda NIRS umožňuje rychlé, jednoduché a současné vyhodnocení více složek i vlastností masa, a to vše bez použití chemikálií. Metoda

NIRS má dle uveřejněných výsledků vysoký potenciál nahradit drahou a časově náročnou chemickou analýzu složení masa.

LITERATURA

Abeni F., Bergoglio G. (2001): Characterization of different strains of broiler chicken by carcass measurements, chemical and physical parameters and NIRS on breast muscle. *Meat Science*, 57, 133–137.

Alomar D., Gallo C., Castaneda M., Fuchslocher R. (2003): Chemical and discriminant analysis of bovine meat by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Science*, 63, 441–450.

Brøndum J., Munck L., Henckel P., Karlsson A., Tornberg E., Engelsen S.B. (2000): Prediction of water-holding capacity and composition of porcine meat by comparative spectroscopy. *Meat Science*, 55, 177–185.

Büning-Pfaue H. (2003): Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 82, 107–115.

Centner, V. Blízká infračervená spektroskopie (NIR) a její průmyslová aplikace, *CHEMagazín*, 1999, roč. 9, č.1, s. 22-23.

Cozzolino D., De Mattos D., Martins V. (2002): Visible/ near infrared reflectance spectroscopy for predicting composition and tracing system of production of beef muscle. *Animal Science*, 74, 477–484.

Cozzolino D., Murray I. (2002): Effect of sample presentation and animal muscle species on the analysis of meat by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 10, 37–44.

Cozzolino D., Murray I., Scaife J.R., Paterson R. (2000): Study of dissected lamb muscles by visible and near infrared reflectance spectroscopy for composition assessment. *Animal Science*, 70, 417–423.

ČSN 46 7092-3 Metody zkoušení krmiv - Část 3: Stanovení obsahu vlhkosti, 1998

ČSN 46 7092-4 Metody zkoušení krmiv - Část 4: Stanovení dusíkatých látek (hrubého proteinu), 1998

ČSN 46 7092-7 Metody zkoušení krmiv - Část 7: Stanovení obsahu tuku, 1998

Eichinger H., Beck G. (1992): Possibilities for improving breeding value estimation of meat quality in cattle by using the near-infrared measurement technique. *Archiv für Tierzucht*, 35, 41–50.

- Masoero G., Xiccato G., Zotte dalle A., Parigi Bini R., Bergoglio G. (1994): Analysis of freeze-dried rabbit meat by NIRS. *Zootecnica e Nutrizione Animale*, 20, 319–329.
- Prevolnik M., Čandek-Potokar M., Škorjanc D. (2004): Ability of NIR spectroscopy to predict meat chemical composition and duality – a review. *Czech J. Anim. Sci.*, 49, 500-510.
- Renden J.A., Oates S.S., Reed R.B. (1986): Determination of body fat and moisture in dwarf hens with near infrared reflectance spectroscopy. *Poultry Science*, 65, 1539–1541.
- Rodriguez-Otero, J., L., Hermida, M., Centro, J. Analysis of Dairy Products by Near-Infrared Spectroscopy: A Review, *J. Agric. Food Chem.*, 1997, Vol. 45, No. 8, s. 2815-2818.
- Tøgersen G., Arnesen J.F., Nilsen B.N., Hildrum K.I. (2003): On-line prediction of chemical composition of semi-frozen ground beef by non-invasive NIR spectroscopy. *Meat Science*, 63, 515–523.
- Tøgersen G., Isaksson T., Nilsen B.N., Bakker E.A., Hildrum K.I. (1999): On-line NIR analysis of fat, water and protein in industrial scale ground meat batches. *Meat Science*, 51, 97–102.
- Valdes E.V., Summers J.D. (1986): Determination of crude protein in carcass and breast muscle samples of poultry by near infrared reflectance spectroscopy. *Poultry Science*, 65, 485–490.
- Van Kempen L. (2001): Infrared technology in animal production. *World's Poultry Science Journal*, 57, 29–48.