

สัมมนา

เรื่อง

การประเมินเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อด้วยภาพถ่าย

Intramuscular Connective Tissue in Meat Determined by Image Analysis Application

โดย

นายปริญญา แพงงา

อาจารย์ที่ปรึกษา

รศ. ดร. ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2550

การประเมินเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อด้วยภาพถ่าย

Intramuscular Connective Tissue in Meat Determined by Image Analysis Application

นายปริญญา แปงษา

คำนำ

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งโปรตีนที่เป็นอาหารของมนุษย์ มีทั้งสัตว์เล็ก สัตว์ใหญ่ ตั้งแต่โค, สุกร, ไก่ รวมไปถึงนกและปลา สัตว์เหล่านี้มีส่วนประกอบแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์ เช่น ปริมาณและชนิดของโปรตีนในเนื้อ เป็นต้น จากส่วนประกอบของเนื้อยังส่งผลให้มีความแตกต่างของกลิ่น รส ความชุ่มฉ่ำ และความนุ่มของเนื้อ ความนุ่มส่งผลกระทบต่อคุณภาพในการบริโภค และราคาของเนื้อ เช่น เนื้อสันจะมีราคาแพงกว่าเนื้อจากหน้าแข้ง จากการศึกษาความนุ่มของเนื้อพบว่า อิทธิพลส่วนใหญ่มาจากปริมาณและส่วนประกอบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ (IMCT) ปัจจุบันมีการศึกษาถึงปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อ IMCT ที่มีผลต่อความนุ่มของเนื้อ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการวัดปริมาณ IMCT โดยการวิเคราะห์จากภาพถ่าย และแสดงค่าปริมาณของ IMCT เพื่อการวัดคุณภาพของเนื้อ

ความสัมพันธ์ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อกับคุณภาพเนื้อ

การศึกษาเกี่ยวกับสัณฐานวิทยา ส่วนประกอบ และปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ (Intramuscular connective tissue, IMCT) จะมีความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ พันธุ์กล้ามเนื้อ และอายุ อิทธิพลของ IMCT ที่มีต่อความเหนียวของเนื้อเป็นที่รู้จักมากกว่า 75 ปี (Lehmann, 1907; Hammond, 1932; Carpenter *et al.*, 1963; Marsh, 1977; Champion *et al.*, 1985; Broos and Savell, 2004 อ้างโดย Purslow, 2005)

โครงสร้างหลักของ IMCT ประกอบด้วย 1. endomysium เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นบางๆ ที่หุ้มเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละเส้น 2. perimysium เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่หุ้มเส้นใยกล้ามเนื้อแต่ละมัด (muscular bundle or fascicles) ภายในกล้ามเนื้อ 3. epimysium เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่ด้านนอกสุด ทำหน้าที่เป็นผนังห่อหุ้มมัดกล้ามเนื้อแต่ละมัด (Purslow, 2005)

เนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ ประกอบด้วยเส้นใยของโปรตีน collagen และ elastin เป็นหลัก ปริมาณ collagen ทั้งหมดล้อมรอบด้วย proteoglycan matrix ในกล้ามเนื้อโคมีความผันแปรระหว่าง 1-15% ของน้ำหนักแห้ง และปริมาณ elastin ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่น้อยกว่า มีความผันแปร 0.6-3.7% ของน้ำหนักแห้ง (Bendall, 1967 อ้างโดย Purslow, 2005)

Collagen ที่พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อและสามารถแยกแยะได้ คือ ชนิด I, III, IV, V, VI, XII และ XIV (Listrat *et al.*, 1999; Listrat *et al.*, 2000 อ้างโดย Purslow, 2005) โดยชนิด I และ III เป็นชนิดที่พบในส่วนประกอบที่เป็นเส้นใยหลักใน endomysium, perimysium และ epimysium ชนิด IV เป็นชนิดที่พบในส่วนประกอบที่ไม่ใช่เส้นใยของ basement membrane ที่ยึดชั้นของ endomysium ติดกับชั้นของเซลล์กล้ามเนื้อ ชนิด V เป็นส่วนประกอบน้อยในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่เป็นส่วนประกอบหลักที่สำคัญของ IMCT ในปลา ที่เรียกว่า myocommata (Sato *et al.*, 1998 อ้างโดย Purslow, 2005)

Collagen fiber เป็นเส้นใยที่พบได้มากที่สุดที่สุดในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน มีปริมาณถึง 10-15% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมดในร่างกายสัตว์ ขนาดของเส้นใยหนาประมาณ 1-2 ไมครอน ภายในเส้นใยจะประกอบด้วย collagen fibril ขนาดหนาประมาณ 0.3-0.5 ไมครอน ซึ่งคอลลาเจนไฟบริลนี้เองจะมีลายเห็นเป็นส่วนทึบแสงและสว่างสลับกันไป นอกจากนั้นความแข็งแรงของโมเลกุลคอลลาเจน ยังเกิดจากการสร้างสะพานเชื่อมต่อกันทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล (intra และ inter molecular cross linkaged) โดยสัตว์ที่มีอายุมากจะมีความหนาของสะพานเชื่อม (cross linkaged) เพิ่มขึ้น จึงทำให้ collagen มีความแข็งแรงมากขึ้น

Elastin หรือ elastic fiber มีลักษณะคล้ายยางสีเหลือง มีความต้านทานต่อปฏิกิริยาของด่างที่ร้อน และเอ็นไซม์เปปซิน (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546) ให้ระบุชื่อคน

Purslow (2005) ได้กล่าวว่า ปริมาณ การกระจายตัว และส่วนประกอบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในกล้ามเนื้อจะมีอิทธิพลต่อความนุ่มของเนื้อปรงสุก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานอื่นๆ วิโรจน์ (2535) ได้กล่าวถึงสัดส่วนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในกล้ามเนื้อ และปริมาณไขมันที่แทรกอยู่ในกับกล้ามเนื้อ มีความสำคัญโดยตรงต่อความเหนียวหรือความนุ่มของเนื้อ เนื้อส่วนสะโพกหรือเนื้อสันจะมีความนุ่มกว่ากล้ามเนื้อจากหน้าแข้ง ทั้งนี้เนื่องจากมีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่รอบมัดเส้นใยกล้ามเนื้อมาก (perimysium) จิตธนาและคณะ (2546) ไม่มีในเอกสารอ้างอิง ได้เปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างกล้ามเนื้อสีแดงและสีขาว โดยกล้ามเนื้อสีแดงจะให้เนื้อที่ละเอียด นุ่มนวล และมีรสดี มากกว่ากล้ามเนื้อสีขาว เนื่องจากกล้ามเนื้อสีแดงมีขนาดเซลล์ที่เล็กกว่า มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันน้อยกว่า และปริมาณไขมันที่แทรกอยู่ระหว่างกล้ามเนื้อมากกว่า

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อ IMCT

Purslow (2005) กล่าวว่า ส่วนประกอบและปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ นั้น จะแตกต่างกันอย่างมากระหว่างสายพันธุ์ พันธุ์ กล้ามเนื้อ และอายุ

1. สายพันธุ์

สัตว์ที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์มีทั้งสัตว์เล็ก สัตว์ใหญ่ ตั้งแต่โค กระบือ ลงไปจนถึง กระจ่าง และนกต่างๆ สัตว์เหล่านี้จะมีส่วนประกอบแตกต่างกันไปเช่น ปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และชนิดของไขมันในเนื้อต่างกันทำให้เกิดความแตกต่างของเนื้อสัมผัสและความนุ่มของเนื้อ

2. พันธุ์

สัตว์ในสายพันธุ์เดียวกัน (ไม่เข้าใจ ไซ้ “ชนิด” หรือไม่) แต่ต่างพันธุ์กัน จะพบว่ามีความแตกต่างกันหลายอย่างเช่น ปริมาณเนื้อที่ได้จากการตัดแต่ง อัตราส่วนของเนื้อแดงกับไขมัน ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ และความแน่นของไขมัน เป็นต้น

3. อายุ

เมื่อสัตว์มีอายุมากขึ้นสัดส่วนของเนื้อแดงต่อกระดูก สัดส่วนของไขมันต่อกระดูกจะเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณน้ำจะลดลง ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจะเพิ่มขึ้นตามอายุสัตว์จนกระทั่งสัตว์โตเต็มที่แล้ว ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันจึงจะคงที่

Del Moral *et al.* (2007) ได้ศึกษาความแตกต่างของกล้ามเนื้อและชนิดสัตว์ ต่อปริมาณ IMCT การทดลองได้ใช้สัตว์ตัวผู้ทั้งหมด 30 ตัว ประกอบด้วย สุกรพันธุ์ลาจไวท์ (100-110 กิโลกรัม), สุกรพันธุ์ไอเบอเลีย (160-175 กิโลกรัม), แกะ (9-10 กิโลกรัม), โคพันธุ์ Rubia Gallega (ประมาณ 450 กิโลกรัม), โคพันธุ์โกเบตอน (550-570 กิโลกรัม) และนกพิราบ (0.45-0.5 กิโลกรัม) คัดเลือกตัวอย่างจากซากภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากการฆ่า โดยสุ่มกล้ามเนื้อที่ใช้ในการทดลองคือ *longissimus thoracis* (LT) จากสุกร, โค, แกะ *masseter* (M) จากโค *triceps brachii* (TB) จากแกะ *pectoralis major* (PM) จากนกพิราบ โดยใช้สีย้อม Sirius-red และ hematoxylin-eosin ในการย้อมชิ้นเนื้อที่ถูกตัดตามขวาง แล้วถ่ายภาพด้วยกล้องวิดีโอและวิเคราะห์ภาพถ่ายโดยโปรแกรมอัตโนมัติ โดยแสดงพื้นที่ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ และการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ

ผลการทดลองพบว่าสัดส่วนและพื้นที่ของ IMCT ระหว่างกล้ามเนื้อ และชนิดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) โดย *masseter* จากโค Rubia Gallega มีปริมาณพื้นที่ ของ IMCT มากที่สุดตามด้วย *longissimus thoracis* จากสุกรพันธุ์ไอเบอเลีย *longissimus thoracis* จากแกะ *triceps brachii* ของแกะ *longissimus thoracis* ของโคโกเบ *pectoralis major* จากนกพิราบ และ *longissimus thoracis* จากโค Rubia Gallega ขนาดของ perimysium จะมีความแตกต่างทางสถิติ ระหว่างกล้ามเนื้อ ($p < 0.001$) โดย *masseter* จากโค Rubia Gallega มีขนาดใหญ่ที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ และ *longissimus thoracis* จากโคโกเบมีขนาดเล็กที่สุด ดังตารางที่ 1

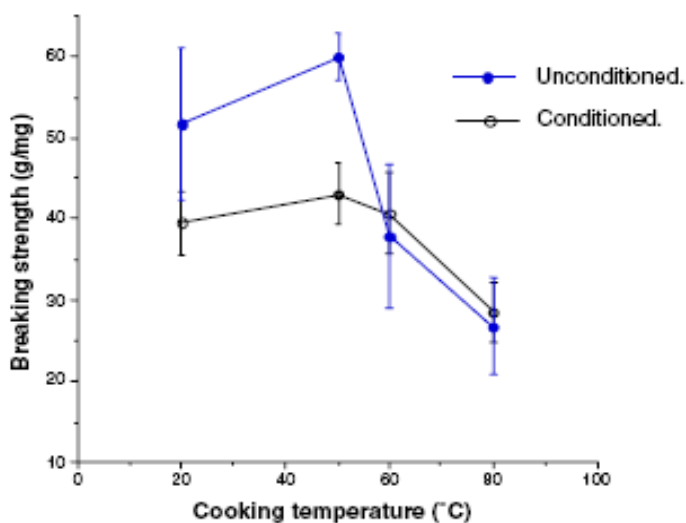
ตารางที่ 1 แสดงลักษณะ โครงสร้างของเนื้อเยื่อที่ต่างกันจากการใช้การวิเคราะห์ภาพถ่าย

	TB แกะ	LT แกะ	Masseter โคพันธุ์ Rubia Gallega)	LT โค Rubia Gallega	PM นกกพิราบ	LT โคโกเบ	LT สุกรไอเบอเลียน	LT สุกรลาจไวท์	ค่า P
% IMCT	7.53 ± 1.95	8.43 ± 4.29	28.75 ± 10.63	3.20 ± 0.98	4.11 ± 2.24	4.37 ± 1.20	17.02 ± 14.99	4.00 ± 2.15	0.001
IMCT (µm ²)	4530.96 ± 1173.79	5070.49 ± 2580.10	17293.49 ± 6393.30	1926.3 9± 587.88	2476.28 ±1340.45	2627.47 ± 725.46	10238.13± 9014.84	2406.11±1294.70	0.001
% perimysium	13.78 ± 4.21	20.65 ± 1.50	75.07 ± 17.10	3.00 ± 2.11	7.66 ± 1.17	5.82 ± 2.81	9.93 ± 4.95	22.59 ± 0.87	0.001
Perimysium (µm ²)	8289.90±2533.18	12419.74 ± 902.70	45150.30 ±10283.31	1804.18±1267.05	4609.27 ± 705.28	3498.74 ± 1693.511	5971.09 ± 2974.71	13587.70 ± 521.79	0.001
% การหดตัว ของเส้นใย กล้ามเนื้อ พื้นที่ของการหด ตัวของเส้นใย กล้ามเนื้อ (µm ²)	13.27 ± 2.81	3.16 ± 2.30	11.86 ± 3.40	17.12 ± 1.67	11.52 ± 2.34	22.69 ± 0.30	20.16 ± 3.08	13.45 ± 3.69	0.001
ตัวของเส้นใย กล้ามเนื้อ (µm ²)	52163.38±1688.13	58243.26 ± 1383.28	53014.37 ± 2048.37	49847.73±1008.06	53218.26 ± 1408.31	46495.47 ± 181.11	48020.55 ± 1853.97	52053.50±2216.58	0.001

ที่มา : Del Moral *et al.*, (2007)

นอกจากนี้ยังมีอิทธิพลอื่นๆที่ส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ โดย Davey and Gilbert (1974); Devey and Winger (1979); Martens *et al.* (1982) อ้างโดย Purslow (2005) ได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการประกอบอาหารที่มีผลกระทบต่อเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อโดยความเหนียวของเนื้อจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วระหว่างอุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส และลดลงหรือคงที่เมื่ออุณหภูมิระหว่าง 50 และ 60 องศาเซลเซียส และจะเหนียวขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ซึ่ง myosin จะสลายตัวช่วง 42-65 องศาเซลเซียส ส่วน collagen สลายตัวเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 65 องศาเซลเซียส Bouton *et al.* (1981) อ้างโดย Purslow (2005) แสดงให้เห็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ให้ความเหนียวจะสูงขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิต่ำ ในการทำให้เนื้อสุก และความเหนียวลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส Lewis and Purslow (1989) อ้างโดย Purslow (2005) ได้รายงานถึงความแข็งแรงของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน perimysium จะเพิ่มขึ้นเมื่อปรุงเนื้อจนถึงระดับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความแข็งแรงลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่านี้

อิทธิพลจากการสลายตัวของโปรตีน ระหว่างการบ่มชากนั้นจะมีการสลายตัวของโปรตีนทั้ง collagen และ proteoglycan ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ IMCT ซึ่งปริมาณของ collagen เพิ่มขึ้นเนื่องจากการสลายออกมาจากเนื้อสัตว์ (Stanton and Light, 1987 อ้างโดย Purslow, 2005) และลดความแข็งแรงของ perimysium ในเนื้อดิบหลังจากการบ่ม (Lewis *et al.*, 1991 อ้างโดย Purslow, 2005) ยังศึกษาจากการวัดความแข็งแรงของ perimysium ในเนื้อที่บ่มทั้งก่อนและหลังปรุงสุกพบว่า ความแข็งแรงของ IMCT จะลดลงในสภาพเนื้อดิบที่บ่ม แต่หลังจากการปรุงอาหารที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างของความแข็งแรงของ perimysium ในเนื้อที่บ่มหรือไม่บ่ม ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงความแข็งแรงของ perimysium ของเนื้อสัตว์หลังจากปรุงสุกที่อุณหภูมิต่างๆ โดยเปรียบเทียบ perimysium จากกล้ามเนื้อที่บ่มนาน 1 วัน (Unconditioned) และนาน 14 วัน (conditioned) (Purslow, 2005)

วิธีการประเมิน IMCT ด้วยภาพถ่าย

Sifre *et al.* (2005); Sifre-Maunier *et al.* (2006) อ้างโดย Del Moral *et al.* (2007) ศึกษา IMCT โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์และวิเคราะห์จากภาพถ่าย ซึ่งเห็นว่าเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อที่สำคัญ 2 องค์ประกอบหลักคือ myofibres และ IMCT ที่จำเป็นต่อการประเมินความนุ่มของเนื้อและการวัดความเหนียวด้วยเครื่องมือ

Del Moral *et al.* (2007) ได้ศึกษาโครงสร้างของ IMCT เพื่อใช้ในวิธีการวิเคราะห์จากภาพถ่ายด้วยโปรแกรมอัตโนมัติ วิธีการดังนี้คือ

1. การคัดเลือกตัวอย่างและเตรียมเนื้อเยื่อ

คัดเลือกเนื้อเยื่อจากสัตว์ตัวอย่างจำนวน 6 ชนิดโดยวิธีการสุ่ม และนำมาตัดให้มีขนาด 2 x 2 x 0.5 เซนติเมตร โดยการตัดจะเป็นการตัดขวาง เนื้อเยื่อจะถูกตรึงในฟอร์มอลิน 4 % และแช่ในพาราฟิน หลังจากนั้นจะถูกเก็บทันทีในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 48 ชั่วโมงแล้วทำการย้อมสีด้วย 1% picro Sirius red F 3BA เป็นเวลา 30 นาที การใช้ Sirius red จะทำให้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันติดสีแดงเข้ม นิวเคลียสติดสีแดงอ่อน และไซโตพลาสซึมจะติดสีเหลืองสว่าง (Sweat *et al.*, 1964 อ้างโดย Del Moral *et al.*, 2007) ในการย้อมสีนี้จะเป็นการประเมินพื้นที่ และสัดส่วนของ epimysium, perimysium, endomysium ต่อมาจะทำการย้อมด้วยเทคนิค hematoxylin-eosin เพื่อประเมินบริเวณที่มีการหดของเส้นใยกล้ามเนื้อ

2. การวิเคราะห์ภาพถ่าย

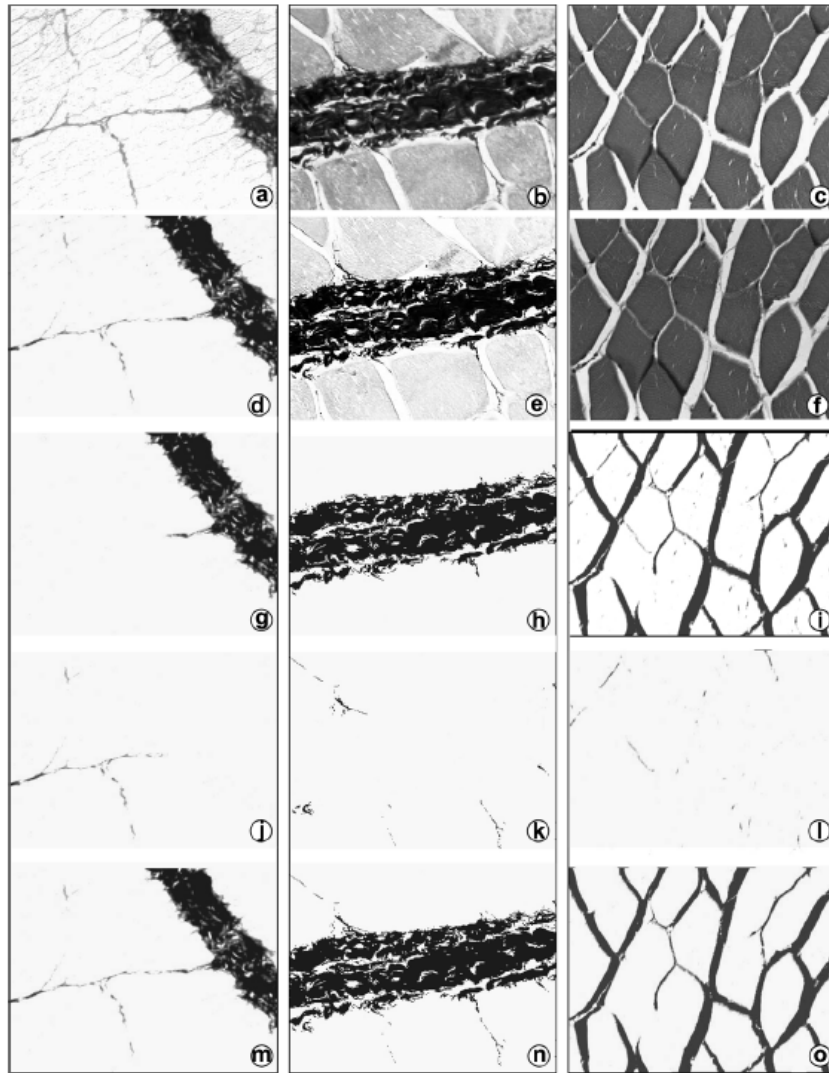
โดยการใช้กล้องวิดีโอถ่ายภาพขาวดำจำนวน 75 ภาพต่อตัวอย่าง จากนั้นวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์โดยใช้ Visilog 6.0 software ซึ่งเป็นโปรแกรมที่พัฒนาสำหรับการวิเคราะห์ภาพถ่าย ปริมาณพื้นที่ของ IMCT และการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อถูกคำนวณด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ดังแสดงในภาพที่ 2

% ของพื้นที่ IMCT คำนวณจาก

$$IMCT = 100 \times CA/IA$$

โดย CA = บริเวณพื้นที่ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

IA = บริเวณพื้นที่ทั้งหมดของภาพถ่าย



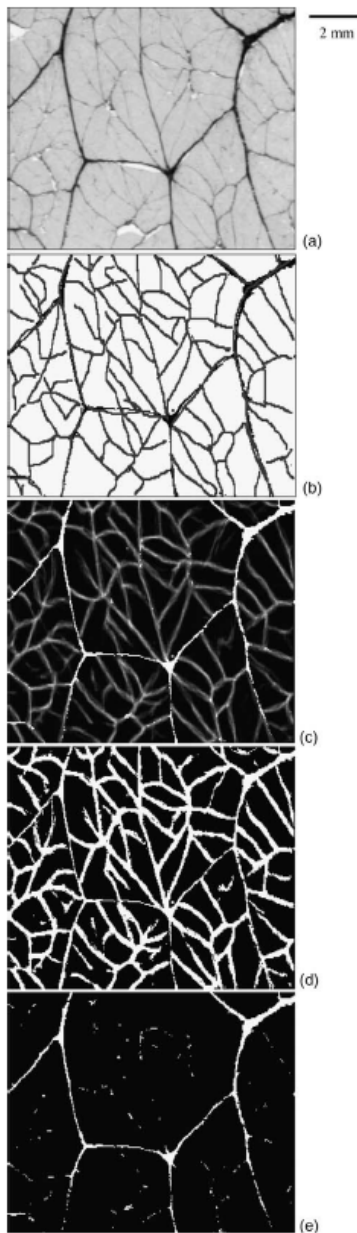
- a คือ ภาพถ่ายดิจิทัลเพื่อแสดงปริมาณของ IMCT (กำลังขยาย 10x)
- b คือ ภาพถ่ายดิจิทัลเพื่อแสดงปริมาณของ IMCT (กำลังขยาย 20x)
- c คือ ภาพถ่ายดิจิทัลเพื่อแสดงปริมาณการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ (กำลังขยาย 20x)
- d-f คือ ภาพถ่ายปกติและปรับด้วยคอมพิวเตอร์
- g-i คือ ภาพถ่ายที่มีการปรับปรุงโดยคอมพิวเตอร์
- j-l คือ ภาพถ่ายที่ใช้ filter และ reconstruction
- m คือ พื้นที่ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ
- n คือ พื้นที่ของ perimysium
- o คือ พื้นที่ของการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ

ภาพที่ 2 แสดงกระบวนการวิเคราะห์ภาพถ่ายในการหาพื้นที่ IMCT (Del Moral *et al.*, 2007)

ผลการทดลองแสดงพื้นที่และสัดส่วนของ IMCT perimysium และการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ แสดงไว้ในตารางที่ 1

จากภาพถ่ายแสดงให้เห็นความแตกต่างขององค์ประกอบและโครงสร้างของ IMCT และเส้นใยกล้ามเนื้อระหว่างกล้ามเนื้อของสัตว์แต่ละชนิดอย่างชัดเจน ซึ่งมีผลทำให้เกิดความแตกต่างทางด้านสัมผัส (organoleptic) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อสัมผัส (textural)

Sifre-Maunier *et al.* (2006) ใช้วิธี Probabilistic map thresholding (PMT) ในการวัดเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อจากภาพถ่ายมาสร้างแผนที่อ้างอิงร่างแห perimysium โดยใช้โค 2 กลุ่มคือโคสาว Aubrac อายุ 2 ปี และแม่โค Charolais อายุ 3-7 ปี เก็บตัวอย่างเนื้อ *biceps femori*, *infraspinatus*, *longissimus thoracis* และ *pectoralis profundus* ซึ่งมีความแตกต่างกันด้านความนุ่มและโครงสร้างของเนื้อเยื่อเช่น ขนาดมัดเส้นใยกล้ามเนื้อ การจัดเรียงตัวและความหนาของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ โดยตัดตัวอย่างเนื้อขนาด 20x20x10 mm³ แช่ในไนโตรเจนเหลว (-160 °C) ตัดให้มีมีความหนา 10 μm ย้อมสีด้วย red Sirius ทำให้ IMCT มีสีแดง ส่วนเส้นใยกล้ามเนื้อมีสีเหลือง แล้วถ่ายภาพผ่านกล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงในภาพที่ 3



a คือ ภาพต้นแบบ

b คือ ภาพที่วาดจากการประมาณ

c คือ ภาพอ้างอิงที่แสดงความน่าจะเป็นของร่างแห perimysium

d คือ ภาพที่เป็นไปได้ที่ระดับความเข้มนั้น $\epsilon=80\%$

e คือ ภาพที่เป็นไปได้ที่ระดับความเข้มนั้น $\epsilon=30\%$

ภาพที่ 3 แสดงภาพอ้างอิงของกล้ามเนื้อที่ถูกตัดขวาง (Sifre-Maunier *et al.*, 2006)

จากภาพถ่ายสามารถคำนวณความหนา พื้นที่และความยาวของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้ ดังแสดงในตารางที่ 2 กล้ามเนื้อ BF มีพื้นที่ของ IMCT ใหญ่ที่สุดที่ 80% (4.9%) ในตารางที่ 2a และมีพื้นที่น้อยที่สุดที่ 55% (13.8%) ในตารางที่ 2b ในทางตรงกันข้าม กล้ามเนื้อ IS มีพื้นที่ของ IMCT ใหญ่ที่สุดที่ 55% (16.6%) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีปริมาณ collagen มาก ความยาวของร่างแห perimysium ขึ้นอยู่กับการแตกแขนงของร่างแห ซึ่งกล้ามเนื้อ PP และ IS มีกรแตกแขนงมากกว่า ก็จะมีความยาวของร่างแหมากกว่ากล้ามเนื้อ LT และ BF (ตารางที่ 2)

ส่วนความหนานั้นจัดได้เป็น 2 กลุ่มคือ BF และ PP กับ IS และ LT โดยพบว่า BF และ PP มีความหนาต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 80% แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่าง IS และ LT ในทางตรงกันข้าม ที่ระดับความเชื่อมั่น 55% นั้นพบความแตกต่างของความหนาระหว่าง IS และ LT แต่ BF และ PP ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงค่าความหนา พื้นที่และความยาวของ perimysium ระหว่างชนิดกล้ามเนื้อโดยวัดจากภาพถ่ายด้วยวิธี PMT สำหรับ $\epsilon = 0.8$ (a) และ $\epsilon = 0.55$ (b)

ชนิดกล้ามเนื้อ	ความหนา (μm)	พื้นที่ (% ของภาพถ่าย)	ความยาว (มม.)
a			
BF	82a	4.9a	118c
IS	58c	4.0b	135b
LT	58c	3.1c	104d
PP	67b	4.9a	144a
b			
BF	82a	13.8b	330b
IS	69c	16.6a	469a
LT	74b	14.0b	374b
PP	80a	14.8ab	363b

ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$)

ที่มา Sifre-Maunier *et al.* (2006)

สรุป

ปริมาณ การกระจายตัว และส่วนประกอบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันภายในกล้ามเนื้อ (IMCT) มีผลโดยตรงต่อความเหนียวของเนื้อ โดยเนื้อที่มีความเหนียวจะมี IMCT อยู่ปริมาณมาก ปริมาณ และส่วนประกอบของ IMCT นั้น มีความแตกต่างระหว่างชนิดสัตว์ พันธุ์ ชนิดกล้ามเนื้อ และอายุ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ เช่น ระยะเวลาการบ่ม และอุณหภูมิในการปรุงสุก การประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ภาพถ่ายเพื่อประเมินปริมาณของ IMCT และการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ โดยแสดงผลในด้านพื้นที่และสัดส่วนของพื้นที่ รวมทั้งพื้นที่ ความหนาและความยาวของ perimysium ซึ่งการใช้ภาพถ่ายวิเคราะห์นั้น มีความถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้ ทำให้เข้าใจถึงความสัมพันธ์และสามารถศึกษาโครงสร้างและปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันกล้ามเนื้อ อันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพที่เกิดจากการเก็บรักษา การแช่เย็นแช่แข็ง และการปรุงอาหาร

เอกสารอ้างอิง

- วิโรจน์ จันทรัตน์. 2535. กายวิภาคและสรีระวิทยาของสัตว์เลี้ยง. สำนักพิมพ์อะไร ชื่อจังหวัด 988 น. ระบุชื่อคน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2546. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 528 น.
- Del Moral, F.G., F. O'Valle, M. Masseroli and R.G. Del Moral. 2007. Image analysis application for automatic uantification of intramuscular connective tissue in meat. Journal of Food Engineering. 81: 33-41.
- Purslow, P.P. 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. Meat Science. 70: 435-447.
- Sifre-Maunier, L., R.G. Taylor, P. Berge, J. Culioli and J-M. Bonny. 2006. A global unimodal thresholding based on probabilistic reference maps for the segmentation of muscle images. Image and Vision Computer. 24: 1080-1089.