

УДК 65.012.16:637.521

¹Щебентовська О.М., к. вет. н.; ²Муравський Л. І., д. т. н., професор;
³Березюк М. І., аспірант ©¹Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок²Фізико-механічний інститут імені Г. В. Карпенка НАН України³Львівський національний університет імені Івана Франка

ДЕЯКІ АСПЕКТИ ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ ЗА ВИКОРИСТАННЯ ДИНАМІЧНИХ СПЕКЛІ-ПОЛІВ

Автолітичні процеси після забою тварин зумовлюють зміни структурних елементів м'язової тканини на різних рівнях її організації. Встановлено, що ці зміни впливають на просторово-часові властивості біоспеклів, їхню динаміку. У статті представлені результати досліджень динамічних спеклів м'язової тканини біофізичним методом просторово-часової кореляції. Описана експериментальна установка та наведено результати досліджень взірців м'язової тканини.

Ключові слова: м'ясо, цифрова кореляція зображень, біотканина, динамічні спекли.

Вступ. Вже кілька десятиліть вчені різних країн вивчають питання морфологічних особливостей м'ясної сировини, зміни м'язової тканини у процесі автолізу, механічних та фізичних впливів за тривалого зберігання. Як правило, органолептичні методи не завжди оправдовують себе, оскільки експерту доводиться керуватись виключно своїми органами чуття, а залежане м'ясо не завжди видає себе кольором або запахом, особливо після спеціальної обробки. Хімічні методи контролю м'яса є доволі трудоемними, дорогими та довготривалими. Одним із методів, що дозволить відрізнити свіже м'ясо від такого, яке вже декілька днів чи навіть місяців пролежало в холодильнику або з ознаками псування, є метод просторово-часової кореляції спеклів.

При взаємодії світла з біооб'єктами, в результаті випадкової зміни фази відбитих і заломлених хвиль, на структурних елементах біооб'єкта спостерігається багатопроменева інтерференція і формуються просторові динамічні поля – біоспекли [1-3]. Автолітичні процеси після забою тварин зумовлюють зміни структурних елементів м'язової тканини на різних рівнях її організації. Встановлено, що ці зміни впливають на просторово-часові властивості біоспеклів та їхню динаміку [4-6].

Структурні елементи біотканини мають різні показники заломлення, форму, і їх розміри знаходяться в межах від десятків нанометрів до декількох сотень мікрометрів, що ускладнює створення єдиної математичної моделі, яка б описувала поширення світла у біооб'єктах [7-12]. При дослідженні властивостей

біотканин використовують звичайно малопотужні джерела випромінювання, щоб уникнути додаткових збурень у процесі, які є предметом вивчення.

Метою нашої роботи було вивчити динаміку біоспеклів м'язової тканини за допомогою методу просторово-часової кореляції спеклів.

Матеріали і методи. Для проведення експериментальних досліджень м'язової тканини створено установку для реєстрації спекл-зображень. Підібрано відповідний кут освітлення, щоб уникнути впливу дзеркальної складової. Для збільшення інтенсивності розсіяного випромінювання зразок освітлювали вузьким лазерним променем діаметром приблизно 1мм. Щоб зменшити вплив вібрацій на результати вимірювань установку розміщували на оптичній лаві. Схему розробленої установки наведено на рис. 1.

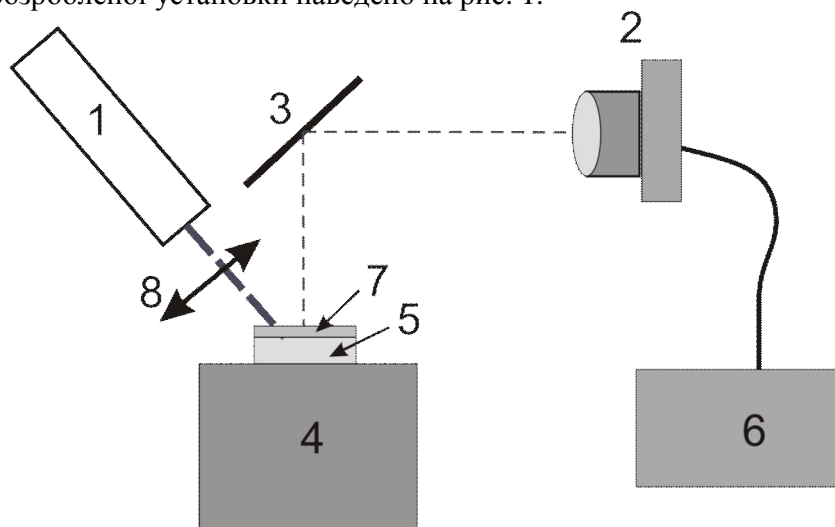


Рис. 1. Схема установки для проведення досліджень біоспеклів м'язової тканини (1 – лазер, 2 – цифрова відеокамера з об'єктивом, 3 – дзеркало, 4 – предметний столик, 5 – зріз м'язової тканини в кюветі, 6 – персональний комп'ютер з програмним забезпеченням, 7 – предметне скло, 8 – шторка).

Результати дослідження. Під час експерименту спеціально підготовлені зрізи м'язової тканини, які зберігались у холодильнику, встановлювали на предметний столик. Зверху зрізи накривали предметним скельцем, яке щільно прилягало без утворення повітряних проміжків. Перед вимірюваннями вони деякий час, з метою стабілізації, витримувались за кімнатної температури. Зрізи освітлювались сфокусованим лазерним променем, який спрямовувався під кутом 45° по відношенню до напрямку спостереження. За допомогою дзеркала і об'єктива на чутливій матриці відеокамери формувалось зображення поверхні зріза в ділянці взаємодії лазерного випромінювання з об'єктом (рис. 2).

При дослідженні зрізів м'язової тканини в експериментальній установці використовували He-Ne лазер ЛГН 207 ($P=1.5$ мВт, $\lambda=630$ нм). Щоб зменшити тепловий вплив лазерного випромінювання об'єкт досліджень

освітлювали тільки під час реєстрації зображень. Для цього використовували штормку, яка відкривалась синхронно з моментом початку реєстрації зображень.

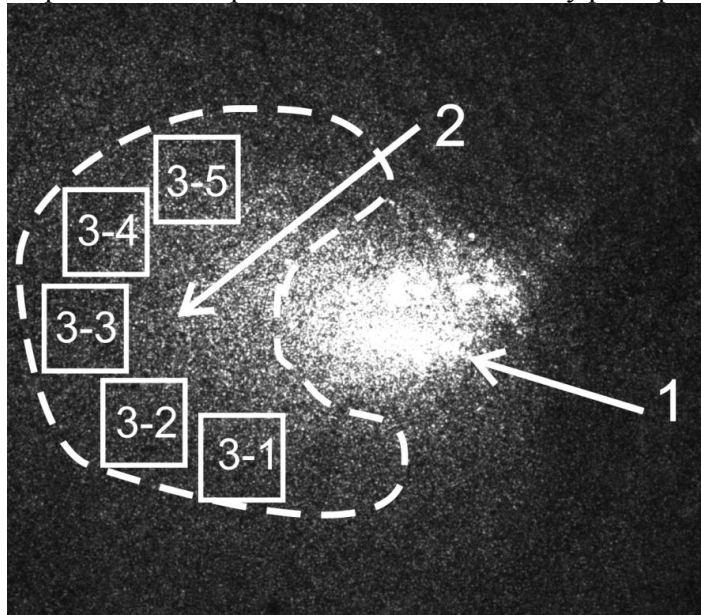


Рис. 2. Зображення поверхні вірця м'язової тканини освітленого вузьким лазерним (1 – місце падіння лазерного променя, 2 – ділянка формування розвинутих біоспеклів, (3-1...3-5) – фрагменти, які використовувались для розрахунку функції просторово-часової кореляції).

Після температурної і механічної стабілізації вірця реєстрували серію зображень його поверхні у місці падіння лазерного променя. Зображення реєстрували послідовно одне за другим упродовж 30с з інтервалом ≈ 1 с і записували їх на жорсткий диск комп'ютера. В подальшому зображення оброблялись спеціально розробленою програмою, блок-схема якої представлена на рис. 3.

В місці падіння лазерного променя, за рахунок значної інтенсивності розсіяного випромінювання і фіксованого часу експозиції відеокамери, спекл-картина не спостерігається (рис. 2). В цьому місці інтенсивність зображення перевищує динамічний діапазон відеокамери. На невеликій відстані від місця попадання променя в ділянці 2, окресленої пунктирною лінією, більш чітко спостерігається розвинута спекл-картина, яка поступово зникає за рахунок значного розсіювання випромінювання. Цю ділянку використовували для розрахунку функції крос-кореляції між першим і всіма наступними зображеннями. При цьому вибирали п'ять прямокутних фрагментів рівномірно розподілених в даній ділянці і отримані результати усереднювали.

Вибираючи фрагменти (3-1...3-5) керувались наступним. Для отримання статистично достовірних результатів розміри фрагментів повинні бути достатньо великими, в межах від 100×100 до 200×200 пікселів. У фрагментах не

повинно знаходитись багато перенасичених пікселів з інтенсивністю, яка перевищує динамічний діапазон відеокамери. При обробці зареєстрованих спекл-зображень користувач сам вибирав положення і розміри фрагмента на першому зображенні керуючись зазначеними критеріями. В подальшому програма автоматично знаходила відповідні фрагменти на всіх зареєстрованих спекл-зображеннях і розраховувала коефіцієнти крос-кореляції між першим (вихідним) зображенням та всіма наступними.

За результатами обробки спекл-зображень автоматично будувалась залежність зміни амплітуди коефіцієнта крос-кореляції від часу вимірювання і формувався файл результатів. Типова залежність зміни інтенсивності крос-кореляційного сигналу від часу вимірювання, яку отримували під час досліджень взірців м'язової тканини свині представлена на рис. 4. Як видно з наведеного графіка метод виявився дуже чутливим до процесів які постійно відбуваються у м'язовій тканині. Навіть упродовж декількох секунд спостерігаються значні зміни інтенсивності коефіцієнта крос-кореляції.

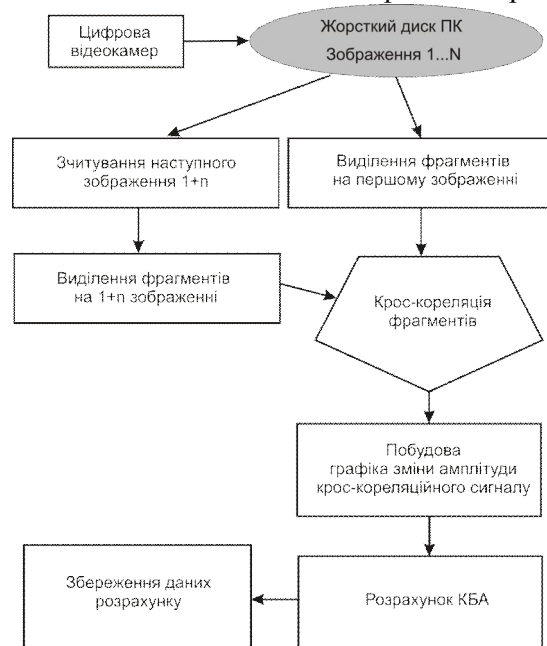


Рис. 3. Блок схема програми обробки спекл-зображень.

Аналізуючи отримані залежності зміни крос-кореляційного сигналу в часі, для різних взірців м'язової тканини свині встановлено ряд параметрів, які змінюються в залежності від часу зберігання взірців. Цими параметрами є величина зміни коефіцієнта крос-кореляції $C(t)$ від максимального значення до деякого постійного рівня, інтервал часу τ_0 , за який проходять ці зміни, залишкова величина коефіцієнта крос-кореляції $C(\tau_0)$ та значення коефіцієнта крос-кореляції після першої секунди $C(t_1)$ (рис. 4). Використовуючи ці

параметри запропонували для інтегральної оцінки змін, які проходять під час зберігання м'язової тканини, розраховувати коефіцієнт біологічної активності (КБА) наступним чином:

$$\text{КБА} = \frac{C(t_1) - C(\tau_0)}{\int_0^{\tau_0} C(t) \cdot dt}, \quad (1)$$

де $C(t_1)$ – коефіцієнт крос-кореляції вихідного спекл-зображення з першим наступним зареєстрованим через певний інтервал часу dt (під час наших експериментів з м'язовою тканиною $dt = 1\text{с}$); $C(\tau_0)$ – коефіцієнт крос-кореляції вихідного спекл-зображення з зображенням зареєстрованим через інтервал часу τ_0 .

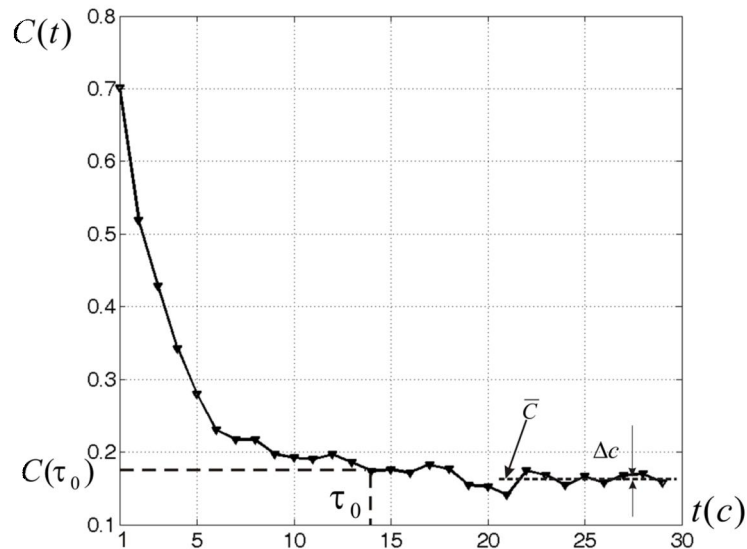


Рис. 4. Типова залежність зміни амплітуди крос-кореляційного сигналу.

Для кількісного оцінювання часу τ_0 і величини $C(\tau_0)$ потрібно визначити постійний залишковий рівень, при якому змінами величини коефіцієнта крос-кореляції можна нехтувати (коли ці зміни знаходяться в межах похибки вимірювання). Для розрахунку цього рівня визначали середнє значення коефіцієнта крос-кореляції $\bar{C} = [C(26) + \dots + C(30)]/5$ за останні 5с вимірювання і додавали до нього подвійне значення максимального відхилення Δc від цього середнього

$$C(\tau_0) = \bar{C} + 2 \cdot \Delta c. \quad (2)$$

Розрахунки КБА для взірців м'язової тканини свині, представлені у таблицях 1 і 2.

Таблиця 1

**Значення КБА взірців м'язової тканини свині, які зберігались
в охолодженому стані**

Розраховані значення КБА в ділянці 2					Середнє значення КБА
Фрагмент	КБА	τ_0	$C(\tau_0)$	$C(t_1)$	
Час зберігання за температури +4 °С 28 год.					
3-1	0.683	5	0.355	0.831	0.505
3-2	0.526	6	0.418	0.861	
3-3	0.428	9	0.375	0.875	
3-4	0.398	21	0.394	0.875	
3-5	0.490	5	0.310	0.858	
Час зберігання за температури +4 °С 72 год.					
3-1	0.372	8	0.355	0.828	0.382
3-2	0.300	12	0.383	0.850	
3-3	0.432	8	0.370	0.815	
3-4	0.469	8	0.332	0.797	
3-5	0.336	23	0.201	0.777	

Таблиця 2

**Значення КБА взірців м'язової тканини свині, які зберігались
в замороженому стані**

Розраховані значення КБА в ділянці 2					Середнє значення КБА
Фрагмент	КБА	τ_0	$C(\tau_0)$	$C(t_1)$	
Час зберігання за температури -4 °С 28 год.					
3-1	0.682	5	0.461	0.817	0.679
3-2	0.577	11	0.411	0.798	
3-3	0.628	5	0.463	0.822	
3-4	0.720	4	0.427	0.794	
3-5	0.789	4	0.325	0.714	
Час зберігання при температурі -4 °С 72 год.					
3-1	0.375	23	0.383	0.885	0.394
3-2	0.409	8	0.366	0.872	
3-3	0.336	9	0.345	0.884	
3-4	0.394	7	0.365	0.884	
3-5	0.454	20	0.406	0.871	
Час зберігання за температури -4 °С 144 год.					
3-1	0.292	10	0.299	0.872	0.296
3-2	0.262	12	0.376	0.889	
3-3	0.260	13	0.398	0.905	
3-4	0.305	13	0.379	0.883	
3-5	0.314	14	0.406	0.882	

Як видно з наведених таблиць значення КБА розраховані в різних фрагментах дещо відрізняються, що свідчить про просторову неоднорідність біологічних процесів які проходять у взірцях м'язової тканини. Враховуючи високу просторову чутливість методу, для інтегрального оцінювання зміни властивостей взірців від часу зберігання усереднювали значення КБА розрахованих у кожному фрагменті. Середні значення наведено у останній

колонці кожної таблиці. З отриманих даних чітко видно падіння середнього значення КБА з часом, що вказує на процеси руйнування м'язового волокна (автоліз, руйнування клітинних мембран, порушення їх проникності тощо).

Висновки. Проведені дослідження показали існування оберненої залежності біологічної активності взірців м'язової тканини від часу τ_0 , за який амплітуда крос-кореляційного сигналу змінюється від максимального значення $C(t_1)$ до деякого постійного рівня $C(\tau_0)$ і пряму залежність від величини різниці крос-кореляційного сигналу $C(t_1) - C(\tau_0)$. Таким чином, загальним кількісним показником біоактивності взірців м'язової тканини може слугувати величина КБА. Чим інтенсивніше проходять біологічні процеси в біооб'єкті, тим більша величина КБА. Зменшення біологічної активності біооб'єкта відображається зменшенням величини КБА.

Література

1. Тучин В. В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. / В. В. Тучин. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2010. – 488 с.
2. Франкевич Л. Ф. Дослідження біоспеклів методом просторово-часової спекл-кореляції / Л. Ф. Франкевич, О.П. Максименко, Л.І. Муравський // Відбір і обробка інформації. – 2005. – Вип. 23 (99). – С.117–121.
3. Aizu Y. Bio-speckle phenomena and their application to the evaluation of blood flow / Y. Aizu, T. Asakura // Optics & Laser Technology. – 1991. – Vol. 23. – P. 205–219.
4. Arizaga R. Display of local activity using dynamical speckle patterns / R. Arizaga, N. Cap., H. Rabal, M. Trivi // Optical Engineering. – 2002. – Vol.41, №2. – P.287–294.
5. Boas D. A. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics / Boas D. A., A. K. Dunn // Journal of Biomedical Optics. – 2010. – Vol. 15, №1. – P. 109–112.
6. Briers J.D. The statistics of fluctuation speckle patterns produced by a mixture of moving and stationary scatters / J.D. Briers // Optical and Quantum Electronics. – 1978. – №10. – P.364–366.
7. Briers J. D. Capillary blood flow monitoring using laser speckle contrast analysis (LASCA) / J. D. Briers, R. Richards, X.W. He // Journal of Biomedical Optics. – 1999. – Vol. 4, №1. – P. 164–175.
8. Draijer M. Review of laser speckle contrast techniques for visualizing tissue perfusion / M. Draijer, E. Hondebrink, T. van Leeuwen, W. Steenbergen // Lasers Med Sci. – 2009. – Vol. 24, №4. – P. 639–651.
9. Rabelo G. F. Frequency response of biospeckle laser images of bean seeds contaminated by fungi / G. F. Rabelo, A.M. Enes, R.A. Braga, I.M. Fabbro // Biosystems engineering. – 2011. – №110. – P. 297–301.
10. Stoykova E. Dynamic laser speckle for non-destructive quality evaluation of bread / E. Stoykova, B. Ivanov, M. Shopova, T. Lyubenova, I. Panchev // 16th International School on Quantum Electronics: Laser Physics and Applications, edited by Tanja Dreischuh, Dimitar Slavov, Proceedings of SPIE Vol. 7747, (2011). –

P.77470L1 – 77470L8.

11. Fujii H. Evaluation of blood flow by laser speckle imaging sensing / H. Fujii, K. Nohira, Y. Yamamoto, H. Ikawa // *Applied Optics*. – Part I – 1987. – Vol.25. – P.5321–5325.

12. Xu Z. Temporal and spatial properties of the time-varying speckles of botanical specimen / Z. Xu, C. Joenathan, B. M. Khorana // *Optical Engineering*. – 1995. – Vol.34, №5. – P.1487–1502.

Summary

¹O. Shchebentovska, ²L. Muravskij, ³M. Berezyuk

¹*State Scientific Control Institute of veterinary preparations and fodder additives*

²*Karpenko Physical-Mechanical Institute of NAS of Ukraine*

³*Ivan Franko National University of Lviv*

SOME ASPECTS OF STUDYING PROPERTIES MUSCLE TISSUE BY SPATIO-TEMPORAL CORELATION OF SPECKLES

Autolitical processes after slaughter animals cause changes in the structural elements of skeletal muscle at various levels of its organization. It is determined that these changes affect the spatial and temporal properties of biospeckles and their dynamics. The method for investigation the dynamics speckles of biological tissue on the basis of space-temporal correlation is proposed. Experimental setup and a result of investigation samples of the muscular tissue are described.

Рецензент – д.с.-г.н., професор Козенко О.В.