

偏振敏感光学相干层析对鸡肉组织两种变质过程的表征

阳利锋 曾楠 陈东胜

(清华大学深圳研究生院光学检测与成像实验室, 广东 深圳 518055)

摘要 利用偏振敏感光学相干层析(PS-OCT)成像技术可以测量鸡肉新鲜度对鸡肉相位延迟的影响。给出了两种组织变质过程中 PS-OCT 的测量结果,通过组织双折射光学特性的数据提取反映了鸡肉脱水和水解两种不同过程。脱水过程主要影响组织的折射率和微纤维尺寸,双折射随鸡肉脱水程度增加而增大,过程由表及里,最后随深度均匀分布。水解过程主要影响组织中纤维状散射单元的比例和分布一致性,双折射随鸡肉水解状态而减弱,过程是由里及表,最终随水解完成而消失。实验结果显示了 PS-OCT 测量能够反映组织变质过程的结构和光学特性,并具有成为检测肉类新鲜度方法的潜力。

关键词 生物光学;光学相干层析;双折射;偏振

中图分类号 O434 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201138.1204002

Characterization of Dehydration and Proteolysis Process of Chicken Muscle Using Polarization-Sensitive Optical Coherence Tomography

Yang Lifeng Zeng Nan Chen Dongsheng

(Laboratory of Optical Imaging and Sensing, Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong 518055, China)

Abstract Two type degeneration processes; dehydration and proteolysis are studied, and the description based on polarization sensitive optical coherence tomograph (PS-OCT) measurement is presented respectively. Birefringent changes due to dehydration or proteolysis process are different. For the former case, the average birefringence increases with dehydration, caused by the size and index changes of muscle fibers. However, the hydrolysis process shows an opposite tendency. The average birefringence decreases with proteolysis, which can be explained by the damage of fibrous microstructures and the appearance of isotropic scattering elements. The above experimental results reveal different optical and microstructural changes in these two degeneration processes, and can be used to evaluate the muscle quality.

Key words biological optics; optical coherence tomography; birefringence; polarization

OCIS codes 170.4500; 260.5430; 170.6960; 170.1420

1 引言

偏振敏感光学相干层析(PS-OCT)成像是偏振与弱相干测量相结合的功能型光学层析术^[1],它既可以实现生物组织传统 OCT 成像,又能提取生物组织的偏振信息,特别是生物组织的双折射信息,同

时也可以实现对斯托克斯向量和 Mueller 矩阵的测量^[2~4]。肌肉是一种具有明显光学双折射的生物组织,其双折射效应与组织的化学、物理和生物状态密切相关,肌肉双折射的变化能够反映出组织的运动机能、新陈代谢、健康状态等重要信息。关于肌肉双

收稿日期: 2011-07-25; 收到修改稿日期: 2011-08-31

基金项目: 国家自然科学基金(10974114)资助课题。

作者简介: 阳利锋(1987—),男,硕士研究生,主要从事偏振光学相干层析应用方面的研究。

E-mail: yanglifenglois@gmail.com

导师简介: 曾楠(1979—),女,博士,副教授,主要从事生物医学光学成像方法和组织光学仿真模拟等方面的研究。

E-mail: zengnan00@mails.tsinghua.edu.cn(通信联系人)

折射的变化已经有一些文献进行了研究,如 pH 值的降低会引起肌纤维半径的减小,双折射随 pH 值的降低而增大,且在 pH 值为 5.5 左右时达到最大值^[5];肌肉在松弛状态下的双折射要大于僵直状态下的双折射^[6],另外肌肉双折射的大小与肌节有关^[7],而肌节长短则会影响蛋白质的水解过程^[8]。本文以肌肉组织的两种变质过程为研究出发点,应用 PS-OCT 技术研究了在脱水和水解条件下肌肉双折射的变化过程,并对变质过程的组织状态进行了分析。

2 实验装置和样品处理方法

2.1 实验装置

实验装置如图 1 所示,为实验室已有的基于自由空间的频域 PS-OCT 系统^[9]。宽带光源(SLD)的中心波长为 830 nm,经偏振分光棱镜 PBS1 后变为水平 H 偏振光,再经非偏振敏感分光棱镜 BS 入射到 Michelson 干涉仪的参考臂和样品臂。参考臂中的真零级 $\lambda/4$ 波片 QW1 快轴与 H 方向的夹角为 22.5° ,使参考光来回通过 QW1 后变为 45° 方向偏

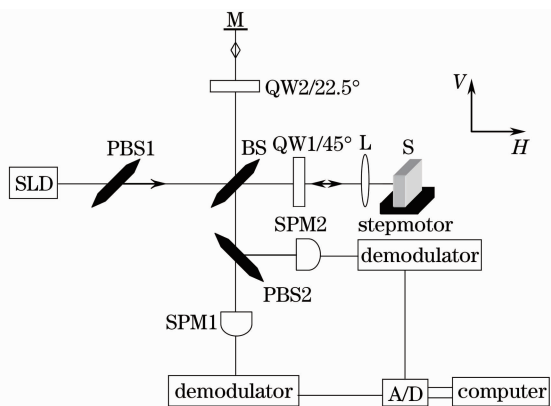


图 1 实验装置示意图

Fig. 1 Schematic of experimental setup

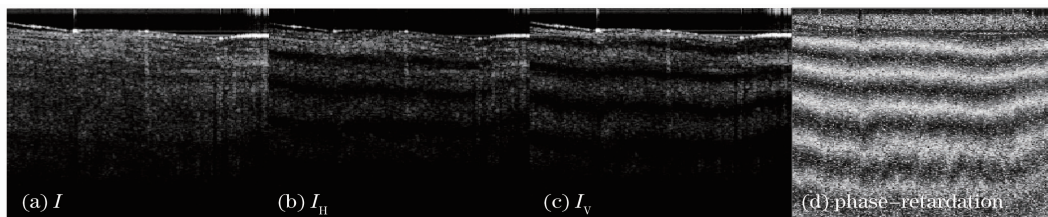


图 2 鸡肉的 PS-OCT 图

Fig. 2 PS-OCT images of chicken muscle

图 3 为与图 2 对应的数据处理后得到的相位延迟图,相位延迟随深度变化用像素表示,1 pixel 对应的实际物理深度为 $2.6 \mu\text{m}$,鸡肉的平均折射率 $n_0 = 1.4$ ^[11]。

振光。样品臂的 $\lambda/4$ 波片 QW2 快轴与水平方向的夹角为 45° ,使入射 H 偏振光变为圆偏振光,经消色差透镜 L 聚焦后入射到样品表面。参考光与样品背向散射光经 BS 汇合并干涉,经偏振分光棱镜 PBS2 分为 H 方向和 V 方向信号光并分别由光谱仪 SPM1 和 SPM2 接收,信号经解调以及数模转换后输入计算机处理。相位延迟随深度变化的公式为^[10]

$$\delta(z) = \arctan \sqrt{\frac{I_H(z)}{I_V(z)}} = k_0 z \Delta n, \quad (1)$$

式中 k_0 为光源的中心波长, Δn 为快轴与慢轴的折射率差。因此,只要得到 H 和 V 方向随深度变化的光强图,则可以计算出相位延迟随深度的变化。

2.2 实验样品处理方法

实验所选样品为鸡肉,样品均在超市购买,待尸僵 24 h 后再进行实验。脱水实验时切取尺寸为 $20 \text{ mm} \times 15 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ (长 \times 宽 \times 厚)的样品,用夹子夹住并拉伸约 6 mm 后固定在样品台上,此时样品表面较平。实验时每隔 2 h 测量一次,脱水时间为 24 h。水解实验时将鸡肉塞入一尺寸为 $50 \text{ mm} \times 20 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$ (长 \times 宽 \times 高)的比色皿中,让肌纤维取向好的一面紧贴比色皿前表面,避免测量表面与空气的接触而脱水,也保持了样品表面平整,便于实验测量。每隔 10 h 测量一次,总水解时间为 8 天,扫描位置靠近比色皿的底部。选择比色皿作为容器是因为比色皿透光性好而且对信号的衰减较弱。脱水和水解实验时温度为 27°C ,湿度为 60%。

3 实验结果

3.1 鸡肉脱水双折射的变化

鸡肉的 PS-OCT 图如图 2 所示,成像深度为 1.5 mm,横向宽度为 2 mm,对应 200 A-Scans。

根据(1)式,取图 3 中 1~20 A-Scans 处表面以下两个周期对应的相位延迟为 2π 来计算双折射大小 Δn 随脱水时间的变化关系,如图 4 所示。

从图 4 可以看出鸡肉双折射总体随脱水时间延

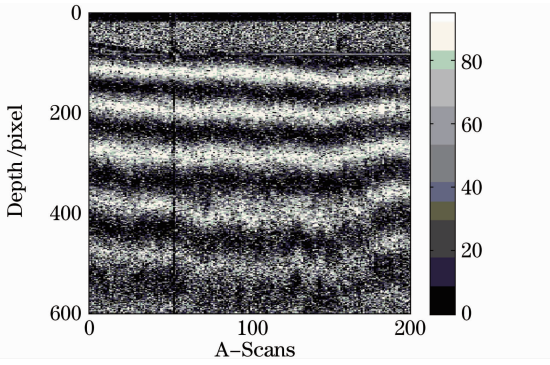


图 3 相位延迟图

Fig. 3 Phase retardation

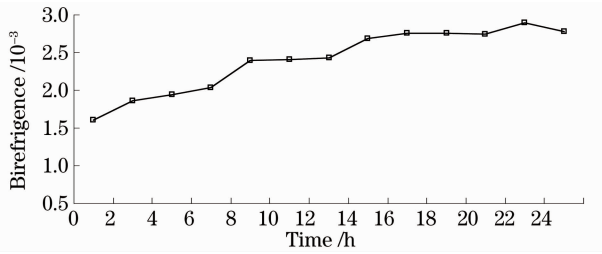


图 4 鸡肉双折射随脱水时间的变化

Fig. 4 Birefringence changes of chicken muscle vary with dehydration time

长而增大,且前 8 h 的双折射变化最大,14 h 之后双折射的变化趋势变缓。双折射增大可能主要由两个因素引起:1) 鸡肉脱水会使鸡肉 pH 值下降。肌肉在尸僵过程中肌质的 pH 值下降^[12], Tsai 等^[13] 研究认为单根鸡肉纤维 pH 值随蛋白质水解时间变化很小,但脱水使鸡肉中水分减少,因此肌质中 pH 值将下降。pH 值下降会使肌丝堆积密度增加,肌质密度减少,使肌原纤维与肌质的折射率差增大^[5]。2) 可以观察到脱水使鸡肉收缩体积减少,脱水后变成类似木状纤维结构,可以认为肌质中的水分被空气取代,使肌质折射率降低,导致肌纤维与肌质间的折射率差增大。从牛肉脱水实验来看脱水后表面反射率增加,同时易溶的蛋白质会因为脱水而迁移到牛肉表面,最后形成类似轻木结构^[14]。由菲涅耳

反射率公式可知脱水后牛肉折射率增大。肌肉中肌质蛋白的水溶性最好^[15], 因此可以解释为脱水过程中鸡肉收缩,肌纤维半径减少密度增加,而肌质中的水分以及水溶性蛋白迁移到表面,而且水分被空气取代,使肌质折射率降低,肌原纤维与肌质折射率差增大。

为了验证测量鸡肉脱水双折射的变化是正确的,在相位延迟图上取两个不同位置,计算双折射随时间的变化情况。如图 3 取 1~20 A-Scans 和 100~120 A-Scans 两个位置计算双折射大小 Δn 随脱水时间的变化关系,如图 5 所示。从图中比较看到,两个位置处双折射随脱水时间变化趋势相同,说明对双折射的测量正确,同时也说明双折射的变化能够比较好地反映脱水情况。

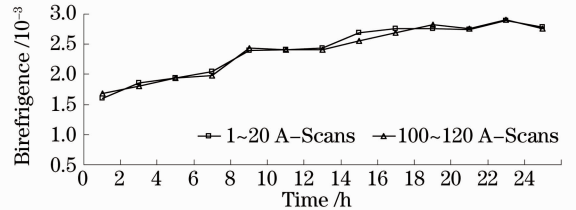


图 5 两个不同位置双折射随鸡肉脱水时间的变化
Fig. 5 Birefringence changes of two different locations vary with dehydration time

为了研究组织不同深度的脱水状态,选择不同时间段的相位延迟,计算由表及里 3 个 π 相位延迟周期像素的间隔,即不同脱水时间相位延迟大小随深度的变化。分别选择 0、2、6、10、16、24 h 的相位延迟图,为了减小误差,在相位延迟图中分别选 3 个不同位置的像素间隔做平均,分别为 1~20、100~120、180~200 A-Scans。0 h 的第三个周期很模糊,因此只给出前两个周期。图 6 为不同脱水时间的相位延迟图,为方便观察只取到深度为 400 pixel。图 7 为三个相位延迟周期的像素间隔随脱水时间的变化。

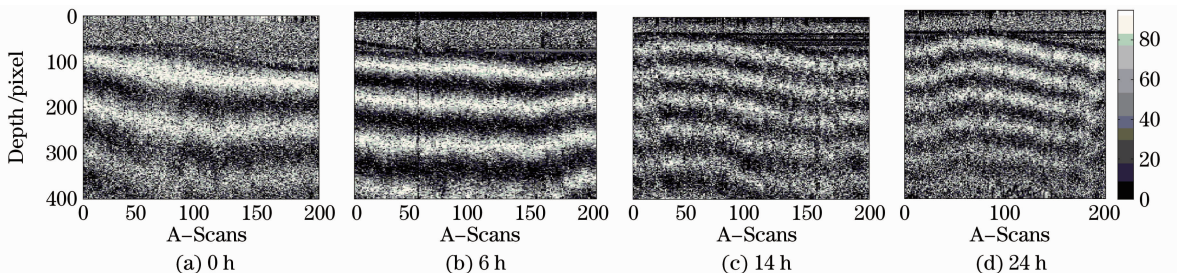


图 6 不同脱水时间的相位延迟图

Fig. 6 Images of phase-retardation with different dehydration time

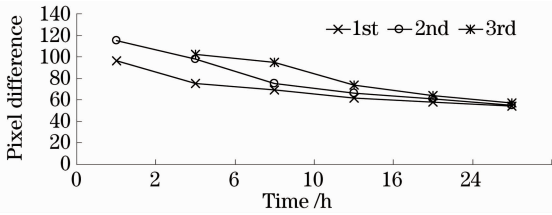


图 7 不同深度双折射大小随脱水时间的变化

Fig. 7 Birefringence changes of different depths vary with dehydration time

从图 7 可以看到,每个周期的像素间隔随脱水时间减少,说明双折射是增大的,这与前面的结论一致。同时也可以看出,相同相位延迟,表层的像素间隔小于里层,说明表层的双折射大于里层的双折射,而随着脱水时间的延长,里层的双折射逐渐增大,最后脱水比较充分的时候表层与里层的双折射大小趋于一致,说明脱水是由表及里的。

实验发现鸡肉经过 40、50、60 h 和 7 天之后双折射依然存在,且与 24 h 相比变化不大。说明鸡肉风干后水解腐烂的速度会很慢,可能原因是鸡肉脱水后,鸡肉结构会定型,同时缺少水分可能会使蛋白水解酶失效以及不利于细菌的生存。

3.2 鸡肉水解双折射的变化

水解实验中同样取两个不同位置查看双折射的变化。取相位延迟图中 1~20 和 100~120 A-Scans,如图 8 所示,得到双折射大小随水解时间的变化如图 9 所示。

从图 9 可以看出,两个位置处的双折射总体变化趋势相同。前 20 h 双折射变化较小,此时鸡肉水解程度很低。随后伴随着水解时间延长组织开始从规则纤维状态向糊状腐败物质变化,表现为双折射

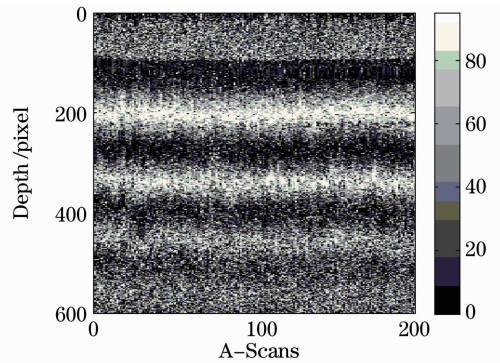


图 8 鸡肉水解的相位延迟图

Fig. 8 Image of phase retardation of proteolysis

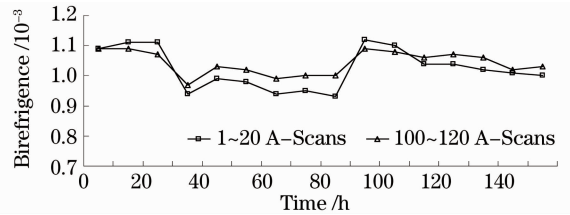


图 9 两个不同位置双折射随鸡肉水解时间的变化

Fig. 9 Birefringence changes of two different locations vary with proteolysis time

减小。90 h 双折射的突然增大是因为肌肉组织规则形态破坏后脱离原有比色皿固定窗口,随后随着糊状物质的增多,水解效应继续导致 90~150 h 的双折射下降。

图 10 是鸡肉不同水解时间的相位延迟图(0、90、130、190 h),为研究不同深度相位延迟效应随水解时间的变化,取相位延迟图中 100~120 A-Scans 处表面以下 3 个 π 相位延迟周期,如图 11 所示,查看每个周期相位延迟的峰峰值随水解时间的变化,如图 12 所示。

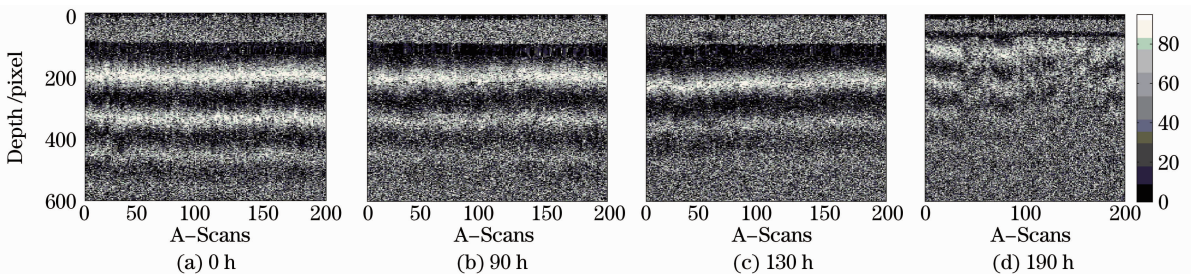


图 10 不同水解时间的相位延迟图

Fig. 10 Images of phase retardation with different proteolysis times

比较图 12 和图 10 可以看出,第一个周期相位延迟的变化较慢,变化最快的是第二个和第三个周期,第三个周期在刚开始时比较模糊,90 h 后基本消失,而第二个周期 130 h 已经比较模糊,190 h 后消失,只剩下第一个周期。第一个周期变化较前两

个周期小,可能的原因是表面脱水大大减缓了水解速度,同时这也说明鸡肉水解是由里及表的,与鸡肉脱水刚好相反。

实验结果表明随着鸡肉的水解,双折射会减弱,最后会消失,这是因为鸡肉水解过程中,柱状肌原纤

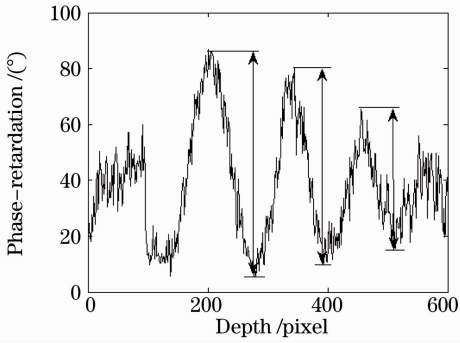


图 11 鸡肉水解相位延迟随深度的变化

Fig. 11 Phase retardation changes vary with depth

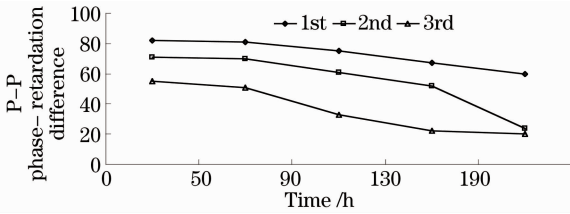


图 12 不同深度双折射大小峰峰值随水解时间的变化

Fig. 12 P-P values of birefringence of different depths vary with proteolysis time

维被分解成小分子量的蛋白质碎片,改变了鸡肉各向异性的结构,同时也可以看到水解是从鸡肉内部开始的。

3.3 误差分析

系统噪声会影响 H 和 V 方向的探测信号,因此会引入相位延迟测量的系统误差。如果考虑系统的噪声,那么实际测得的相位延迟应该为^[16]

$$\delta_{\text{meas}} = \arctan \sqrt{\frac{\sin^2(\delta) + N_r^{-1}}{\cos^2(\delta) + N_r^{-1}}}, \quad (2)$$

式中 N_r^{-1} 为系统的信噪比,那么相位延迟的系统误差 $\delta_{\text{error}} = \delta_{\text{meas}} - \delta$ 。从式中可知相位延迟为 $n\pi$ 或者 $n\pi + 90^\circ$ 时系统误差最大,因为此时有一个探测器的信号近似为噪声信号, $n\pi + 45^\circ$ 时系统误差最小,因为此时两路探测信号相等。由于系统的信噪比随深度下降,因此测量到的样品相位延迟的误差会随深度增大。当系统的信噪比大于 25 dB 时,系统误差较小,系统信噪比不低于 15 dB 时可以测量到较准确的相位延迟,此时系统误差在 5° 以内^[16]。对本文中的系统,信噪比降到 15 dB 时对应的样品深度约为 $400 \mu\text{m}$,新鲜样品 2π 相位延迟对应深度约为 $500 \mu\text{m}$,因此深度 $400 \mu\text{m}$ 以下的相位延迟系统误差较大。在本文中脱水使鸡肉双折射增大,大约 6 h 后, 2π 相位延迟对应的深度接近 $400 \mu\text{m}$,随后 2π 相位延迟对应的深度小于 $400 \mu\text{m}$,此时系统误差较小,相位延迟测量的准确度随脱水时间提高。对水

解实验,由于双折射减小,因此随着水解时间延长,相位延迟的系统误差会增大。尽管单次相位延迟测量的准确度受系统误差的影响,但相位延迟随不同变质过程的变化趋势与实验现象符合较好。

4 结 论

应用 PS-OCT 技术对鸡肉组织的两种变质过程即脱水和水解进行了测量,通过双折射变化过程,对两种过程中的组织结构状态以及发展过程进行了解释。脱水过程主要影响组织的折射率和微纤维尺寸,双折射随鸡肉脱水程度增加而增大,过程是由表及里的,最后随深度均匀分布。水解过程主要影响组织中纤维状散射单元的比例和分布一致性,双折射随鸡肉水解过程而减弱,过程是由里及表的,最终随水解完成而消失。实验结果表明基于 PS-OCT 的光学双折射效应的检测可以区分鸡肉不同的变质过程,并有可能发展成为一种肌肉组织质量评价的新方法。

参 考 文 献

- 1 Michael R. Hee, David Huang, Eric A. Swanson *et al.*. Polarization-sensitive low-coherence reflectometer for birefringence characterization and ranging[J]. *J. Opt. Soc. Am. B*, 1992, **9**(6): 903~908
- 2 Meng Zhuo, X. Steve Yao, Yao Hui *et al.*. Detecting early artificial caries by using optical coherence tomography [J]. *Chinese J. Lasers*, 2010, **37**(11): 2709~2713
孟卓,姚晓天,姚晖等. 光学相干层析用于检测早期人工龋齿[J]. *中国激光*, 2010, **37**(11): 2709~2713
- 3 L. Li, N. Zeng, L. F. Yang. Linear polarization detection of polarization-sensitive optical coherence tomography in the early detection of the application of dental caries[C]. *SPIE*, 2010, **7845**: 784520
- 4 Wang Yi, Chen Xiaodong, Li Haifeng *et al.*. Single-detector polarization-sensitive optical coherence tomography for biological tissue imaging [J]. *Chinese J. Lasers*, 2009, **36** (10): 2534~2537
汪毅,陈晓冬,李海峰等. 单探测器偏振相干层析的生物组织成像[J]. *中国激光*, 2009, **36**(10): 2534~2537
- 5 H. J. Swatland. Effect of pH on the birefringence of skeletal muscle fibers measured with a polarizing microscope[J]. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 1990, **109**(4): 361~367
- 6 L. K. Srebnitskaya, G. N. Vishnyakov, S. A. Neiman *et al.*. Reconstruction of the two-dimensional birefringence map of the skeletal muscle sarcomere in relaxed and rigor state by interference microscopy data [J]. *Biophysics*, 2001, **46** (3): 494~499
- 7 J. J. Pasquesi, S. C. Schlachter, M. D. Boppart *et al.*. In vivo detection of exercise-induced ultrastructural changes in genetically-altered murine skeletal muscle using polarization-sensitive optical coherence tomography[J]. *Opt. Express*, 2006, **14**(4): 1547~1556
- 8 A. D. Weaver, B. C. Bowker, D. E. Gerrard. Sarcomere length influences postmortem proteolysis of excised bovine semitendinosus muscle [J]. *J. Anim. Sci.*, 2008, **86** (8):

1925~1932

- 9 Dai Xiangsong, Zeng Nan, He Yonghong *et al.*. Development and applications of spectral-domain polarization-sensitive optical coherence tomography [J]. *J. Optoelectronics • Laser*, 2008, **19**(11): 1502~1506
 代祥松, 曾楠, 何永红等. 频域偏振敏感光学相干层析系统的研制及应用研究[J]. *光电子·激光*, 2008, **19**(11): 1502~1506
- 10 J. F. de Boer, T. E. Milner. Review of polarization sensitive optical coherence tomography and Stokes vector determination [J]. *J. Biomed. Opt.*, 2002, **7**(3): 359~371
- 11 Sun Ping, Wang Yu, Mo Xiaoli *et al.*. Refractive index measurement for animal tissue in vitro total internal reflection [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2009, **38**(5): 1250~1253
 孙萍, 王瑜, 莫晓丽等. 用全反射方法测量离体动物组织的折射率[J]. *光子学报*, 2009, **38**(5): 1250~1253
- 12 Li Shengjie, Xu Xinglian, Zhou Guanghong. Research advances in the influence of actomyosin dissociation on postharvest meat tenderness[J]. *Food Science*, 2010, **31**(21): 442~445
 李胜杰, 徐幸莲, 周光宏. 宰后肌动球蛋白解离对肉品嫩度的影响研究进展[J]. *食品科学*, 2010, **31**(21): 442~445
- 13 S. F. Tsai, C. Y. Lin, J. J. Lu *et al.*. Postmortem proteolysis of breast and leg muscles from Taiwan colored chickens and Silkie Bantams[J]. *J. Anim. Sci.*, 2006, **19**(5): 739~743
- 14 A. L. Tappel, L. W. Regier, G. F. Stewart. High quality dehydrated meats: dehydration by freeze-drying method results in products with color, flavor, and food value characteristics of fresh meats[J]. *California Agriculture*, Oct. 1955: 4~5
- 15 F. J. G. Schreurs. Post-mortem changes in chicken muscle[J]. *World's Poultry Science Journal*, 2000, **56**(4): 319~346
- 16 M. J. Everett, K. Schoenberger, B. W. Colston *et al.*. Birefringence characterization of biological tissue by use of optical coherence tomography[J]. *Opt. Lett.*, 1998, **23**(3): 228~230

栏目编辑: 韩峰