



Diplomarbeit

Testgerät zur nichtinvasiven Detektion postmortaler biologischer Gewebeveränderungen durch den dielektrischen Verlustfaktor

durchgeführt von

Markus Fasthuber

0725797

am

Institute of Electrodynamics, Microwave and Circuit Engineering (EMCE)
der Technischen Universität Wien

unter der Leitung von

Univ.Prof. Helmut Pfützner

und

Ass.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Karl Futschik

Wien, im Februar 2017

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides Statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.

Wien, am 16.02.2017

(Markus Fasthuber)

Kurzfassung

Die Motivation zu dieser Arbeit entstand durch ein am Institut (EMCE) entwickeltes Messgerät zum Messen des dielektrischen Verlustfaktors von postmortalem biologischem Gewebe (TESTRON MS-Tester). Für die Messung werden dabei zwei Skalpell-Elektroden in das Gewebe eingestochen, womit es sich um eine invasive Methode handelt. Mit dem Messergebnis kann auf den Zustand des Gewebes, bzw. auf Gewebeveränderungen geschlossen werden.

Das Ziel dieser Arbeit war es, ein veterinärmedizinisch anwendbares, tragbares und einfach zu bedienendes Messgerät zu entwickeln, das den Verlustfaktor (bzw. die Impedanz) von biologischem Gewebe auf eine nicht invasive Methode misst. Weiters sollte darauf geachtet werden, dass Elektrodenimpedanzen das Messergebnis nicht beeinflussen.

Die Aufgabe wurde mittels so genannter Vier-Elektroden-Messung gelöst. Das Messgerät gibt einen Strom vor, misst den Spannungsabfall am Gewebe und berechnet die, von der Elektrodenimpedanz befreiten, Quasi-Impedanz (innere Impedanz zwischen zwei Äquipotentialflächen), sowie den Verlustfaktor mittels Mikrocontroller. Bei den verwendeten Elektroden handelt es sich um runde Edelstahlelektroden die an das Gewebe angelegt werden. Um eine möglichst einfache Bedienung zu gewährleisten, wird die Messung mittels Tastendruck gestartet und das Ergebnis direkt auf einem LCD-Display ausgegeben.

Am Anfang der hier vorliegenden Beschreibung wird auf die Grundlagen der Impedanzmessung von biologischem Gewebe und auf Einflussfaktoren eingegangen, um zu erläutern, welche Eigenschaften bei der Entwicklung des Gerätes wesentlich waren. Weiters werden in der Forschung verwendete, bzw. am Markt befindliche Geräte beschrieben, deren Ergebnisse auf elektrischen Messungen basieren. Darauf folgend werden die technischen Grundlagen, die Handhabung des Geräts, die elektrischen Schaltungen und das verwendete Mikrocontrollerprogramm beschrieben.

Abschließend werden Messungen präsentiert, die im Laufe der Arbeit durchgeführt wurden. An zunächst frischen Leberproben zeigten sich ein allmählicher Anstieg des Verlustfaktors, hervorgerufen durch zelluläre Defekte. Tiefgefrorene und anschließend aufgetaute Proben können an einem hohen Faktor erkannt werden.

Ein wichtiger Punkt der Arbeit lag auf der Erkennung der fortschreitenden Verderbnis von zunächst frischem Fisch. Beim Abbau zellulärer Strukturen zeigte sich ein Anstieg des Verlustfaktors. Damit können Schäden durch lange oder schlechte Lagerung diagnostiziert werden. Verändertes Verhalten zeigte sich an Fischen mit sehr hohem Fettgehalt, wie Karpfen. Dabei werden Veränderungen des Verlustfaktors von Schichten des Fettgewebes mitbestimmt, was die Auswertung der Messresultate erschwert. Hier werden weitere Untersuchungen notwendig sein - eventuell bei Variation der Messfrequenz.

Abstract

The motivation for this thesis arose from a veterinary test apparatus developed at the institute (EMCE) which measures the dielectric loss factor of biological tissue post mortem (TESTRON MS-Tester). Two scalpel-electrodes have to be inserted into the tissue to measure, so it is an invasive method. With the measurement results, it is possible to conclude on the cellular condition of the tissue, in particular on post mortem changes of tissue structure.

The goal of this thesis was to develop a portable and easy-to-use instrument that measures the loss factor (respectively the impedance) of biological tissue in a non-invasive way. Furthermore, the electrode impedance should not affect the measurement result.

The object was achieved with a four-electrode-methodology. The developed instrument impresses a current into the tissue, measures the voltage drop across the tissue and calculates the impedance and the loss factor with a microcontroller. Round, stainless steel electrodes are applied to the surface of the investigated tissue. To ensure an easy use, the measurement starts by pressing a button, and the result of measurement is presented directly on an LCD display.

At the beginning of this description, basics of impedance measurement of biological tissue and influencing factors are discussed to explain which properties influence the development of the device. Further devices are described to demonstrate other procedures of the task. Subsequently, the technical basics, the operation of the device, the electrical circuits and the program of the microcontroller are described.

Finally, various measurements that were performed during the course of the thesis are presented. Initially fresh liver samples show gradual increases of the loss factor in the course of increasing cellular defects. At first frozen and then thawed samples, a high loss factor is detectable.

An important point of the thesis is the recognition of the progressive corruption of initially fresh fish. An increase in the loss factor was observed in the degradation of cellular structures. This can be used to diagnose damage as caused by long or poor storage. Modified behavior was found in fish with very high fat content, such as carp. Adipose tissue leads to changes in the loss factor, which makes the evaluation of the measurement results more difficult. Further investigations will be necessary here - possibly with a variation of the measurement frequency.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	ii
Abstract	iii
1 Einführung	1
2 Grundlagen	3
2.1 Impedanzmessung	3
2.1.1 Möglichkeiten der rechnerischen Trennung von Medium- und Elektrodenimpedanz	5
2.1.2 Messung ohne Einfluss der Elektrodenimpedanz	8
2.2 Innere Impedanz	8
2.3 Dielektrischer Verlustfaktor	10
2.4 Untersuchtes biologisches Gewebe	10
2.4.1 Biologische Grundlagen	10
2.4.2 Einflussfaktoren auf Messergebnisse	12
2.5 Vorhandene Geräte	16
2.5.1 Geräte mit zwei Elektroden	16
2.5.2 Geräte mit vier Elektroden	18
3 Technische Grundlagen des entwickelten Gerätes	24
3.1 Anforderungen an das Gerät	24
3.2 Mess- und Berechnungsgrundlagen	24
3.3 Funktion des Gerätes (Blockschaltbild)	25
3.4 Bedienung des Geräts	26
3.5 Elektroden	28
4 Elektrische Schaltung	30
4.1 Spannungsversorgung	30
4.2 Stromgenerator	32
4.3 Spannungsmessung und Aufbereitung der Spannung	33
4.4 Mikrocontroller und LCD Display	36
5 Programmbeschreibung	39
6 Messergebnisse	43
6.1 Vergleichsmessungen	43
6.2 Messungen an Leber-Proben	43
6.2.1 Messungen an frischer Leber:	45
6.2.2 Messungen an eingefrorener und wieder aufgetauter Leber:	47
6.3 Messungen an Saiblingen	49
6.3.1 Messungen an Saiblingen mit runden Elektroden	49

6.3.2	Messungen an Saibling mit flachen Elektroden	52
6.4	Messungen an Karpfen	54
6.4.1	Messungen am nicht entschuppten Karpfen	54
6.4.2	Messungen am entschuppten Karpfen	57
7	Schlussfolgerung	59
	Literaturverzeichnis	60
	Abbildungsverzeichnis	62
	Tabellenverzeichnis	66

Kapitel 1

Einführung

Die vorliegende Arbeit behandelt das elektrische Verhalten biologischen Gewebes. Wie von der Biophysik aufgezeigt handelt es sich um sehr komplexe Verhaltensweisen, die von vielen Parametern bestimmt werden. Als wesentlichster Mechanismus wirken Zellmembranen sehr hoher elektrischer Kapazität bei niedrigen Frequenzen als Isolatoren, und der Stromfluß ist auf extrazelluläre Flüssigkeiten beschränkt. Verschiedene Gewebearten - wie Muskel, Fettgewebe oder Blut - zeigen in ihrem dielektrischen Verhalten somit sehr starke Unterschiede. In der Humanmedizin wird dies für zahlreiche diagnostische Verfahren genutzt, wobei als Beispiel die elektrische Plethysmographie bzw. auch Tomographie genannt sei.

Seit mehreren Jahrzehnten werden dielektrische Eigenschaften auch in der Veterinärmedizin für diagnostische Verfahren genutzt. Im speziellen nutzen sie postmortale Auflösungen der zunächst dichten molekularen Struktur von Membranen, die sich in starken Veränderungen elektrischer Kennwerte abzeichnen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird dies für veterinärmedizinisch anwendbare Diagnosen des Frischezustands von Fischen genutzt. Frühere entsprechende Anwendungen sind in [1] und [2] beschrieben.

Etwas näher betrachtet haben Zellen eine Membran aus einer Lipid-Doppelschicht, und sie enthalten eine leitfähige intrazelluläre Flüssigkeit. Zwischen den Lipid-Schichten herrscht hydrophobes Verhalten, was dazu führt, dass die Membran eine schlecht leitende Schicht mit kapazitiven Eigenschaften darstellt. Umgeben sind die Zellen von verschiedenen Strukturen (Proteine, Metaboliten, verschiedene Ionen) und Flüssigkeiten, die zur Impedanz beitragen. Im Vergleich zur Membran weist diese Impedanz ohmscheres Verhalten auf. Wird diese Zellstruktur verändert, z.B. durch Einfrieren, oder verändert sich die Struktur von selbst (z.B. Alterung), führt dies zu einer Veränderung der Impedanz. Post mortem werden die extrazellulären Spalten größer und die Zellwände lösen sich auf (Autolyse). Dies führt dazu, dass die Leitfähigkeit γ steigt und die Permittivität ε sinkt. Dies ist in Abb. 1.1 dargestellt. Kurz nach dem Absterben sind die Zelle und ihre Umgebung noch intakt (Abb. 1.1a). Mit der Zeit sinkt das Zellvolumen, die extrazellulären Spalten werden größer, was zu einer höheren Leitfähigkeit führt (Abb. 1.1b). Durch den anschließenden Autolysevorgang beginnt die Zellwand zunehmend permeabel zu werden und löst sich immer mehr auf, die Leitfähigkeit steigt und die Permittivität sinkt (Abb. 1.1c). Neben dem Autolysevorgang haben post mortem auftretende Wechselwirkungen zwischen Wasser und Proteinen, sowie sich ändernde polare Komponenten, Auswirkungen auf die elektrischen Eigenschaften. Weiteres werden die elektrischen Eigenschaften auch von äußeren Einflüssen verändert. Dies beinhaltet mechanische Zerstörung wie z.B. grobe Behandlung, Bestrahlung oder ein Einfrieren vor der Messung, und eine Temperaturabhängigkeit der Impedanz. Dies führt zu dem Ansatz, dass aus dem Ergebnis einer Impedanzmessung auf Änderungen des Gewebeszustands zurückgeschlossen werden kann. Diese Tatsache kann beispielsweise zur Bestimmung des Frischegrades eines Gewebes verwendet werden.

In dieser Arbeit wird im Kapitel 2 auf unterschiedliche Methoden der Impedanzmessung eingegangen. In den Kapiteln 3 bis 5 wird das entwickelte Gerät beschrieben. In Kapitel 6 werden erzielte Messergebnisse beschrieben, mit denen der Gewebezustand bestimmt werden kann.

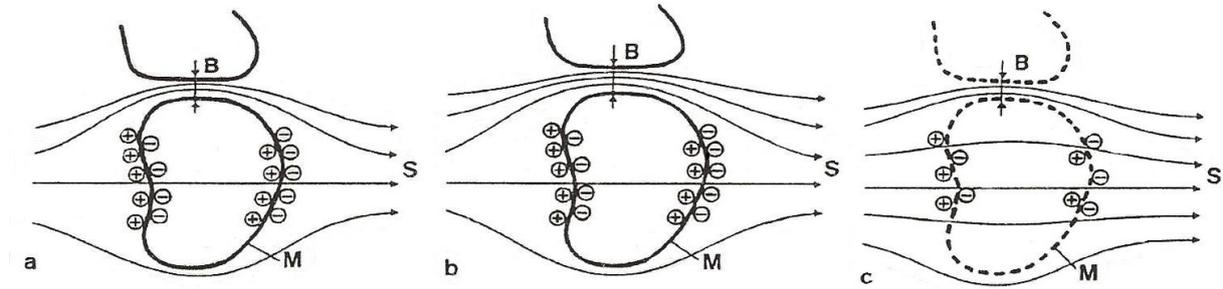


Abb. 1.1: Postmortales Verhalten eines schematisch dargestellten Teils eines Gewebes (zwei benachbarte Zellen) im Laufe der Zeit [3]: a) Gesunde Zellstruktur. b) Zellvolumen sinkt (die Membranoberfläche M nimmt ab), extrazellulärer Raum wächst (Abstand B zwischen Zellen steigt), was zu einer höheren Leitfähigkeit γ führt. c) Zellmembran löst sich auf, γ steigt weiter und Permittivität ε sinkt.

Kapitel 2

Grundlagen

2.1 Impedanzmessung

Zur Impedanzmessung an biologischen Proben werden meist Metallelektroden genutzt. Kommt ein Metall (Elektronenleiter) in Berührung mit einer elektrolytischen Lösung (Ionenleiter), so bildet sich eine sogenannte elektrochemische Doppelschicht an der Phasengrenze aus. Abb. 2.1 zeigt das Modell nach Stern (1924), welches die Modelle von Helmholtz (1880) und von Gouy und Chapmann (1910) vereint.

Laut Helmholtz stehen sich an der Grenze zwischen Elektronen- und Ionenleiter die Ladungen des Metalls und entgegengesetzt geladene Ladungsträger (Ionen) des Elektrolyts gegenüber (sogenannte starre Helmholtz-Schicht). Gouy und Chapmann gingen in ihrem Modell von der durch den Temperatureinfluss hervorgerufenen Ladungsträgerbewegung im Elektrolyt aus, und stellten somit das Modell der diffusen Doppelschicht auf. Im Modell nach Stern werden die beiden zuvor genannten Modelle vereint, die Phasengrenze wird mit einer starren (adsorbierte Ladungsträger) und einer diffusen Schicht (Ausgleich der noch unkompenzierten Ladung im Metall) beschrieben [3].

Diese Schichten führen pro Elektrode zu einer zusätzlichen Impedanz im Messkreis, der Elektrodenimpedanz \underline{Z}_E . Diese zeigt ohmsch-kapazitives Verhalten (Phasenwinkel etwa -70°) und ist abhängig von der Frequenz, vom Strom, und von der Elektrodengröße. In Abb. 2.2 ist das Verhalten von \underline{Z}_E zur Frequenz und Stromstärke dargestellt. Die verwendeten Elektroden hatten in etwa eine Fläche von einem Quadratcentimeter. Bis zu einer Stromdichte von etwa $1 \frac{\text{mA}}{\text{cm}^2}$ bleibt \underline{Z}_E konstant, mit höherer Stromdichte fällt sie ab. Weiteres ist eine Frequenzabhängigkeit ersichtlich. Eine niedrigere Frequenz führt zu höherem \underline{Z}_E und stärkerem Abfall bei Stromdichten über $1 \frac{\text{mA}}{\text{cm}^2}$.

Neben diesen Abhängigkeiten ist \underline{Z}_E umgekehrt proportional zur Elektrodenfläche. Dies lässt sich, unter Vernachlässigung des Realteils der Impedanz, mit den folgenden Formeln erklären:

$$C = \frac{\varepsilon \cdot A}{d}, \quad (2.1)$$

$$X = \frac{1}{\omega \cdot C} = \frac{d}{\omega \cdot \varepsilon \cdot A}. \quad (2.2)$$

Darin ist d die Dicke der Doppelschicht, ω die Kreisfrequenz, ε die Permittivität und A die Elektrodenfläche).

In Abb. 2.3 ist ein einfaches Ersatzschaltbild mit zwei Elektrodenimpedanzen \underline{Z}_E und der zu messenden Impedanz des Mediums \underline{Z}_M dargestellt. Ausgehend von diesem Ersatzschaltbild ergeben sich mehrere Möglichkeiten Messergebnisse ohne Einfluss von \underline{Z}_E zu erhalten.

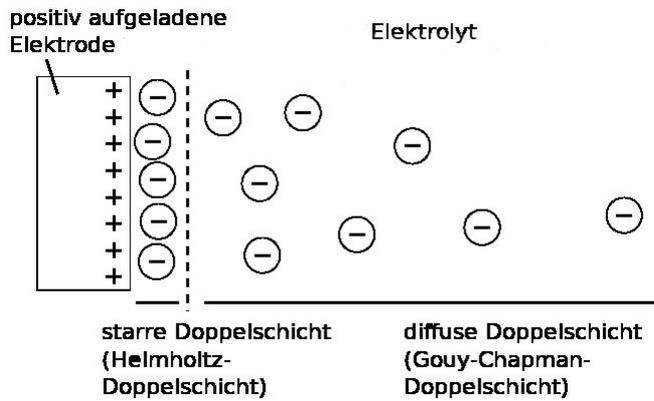


Abb. 2.1: Modell der Phasengrenze nach Stern bestehend aus einer starren (adsorbierte Ladungsträger) und einer diffusen Schicht (Ausgleich der noch unkompenzierten Ladung im Metall) [3].

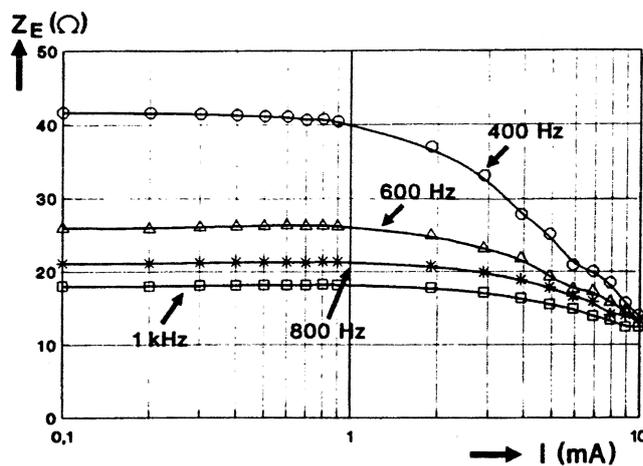


Abb. 2.2: Abhängigkeit des Betrages der Elektrodenimpedanz Z_E von der Stromstärke und der Frequenz. Ab einem Strom von 1 mA (entspricht bei dieser Messung etwa einer Stromdichte von $1 \frac{\text{mA}}{\text{cm}^2}$) kommt es zu einer Verringerung von Z_E , umso niedriger die Frequenz um so stärker fällt Z_E [3].

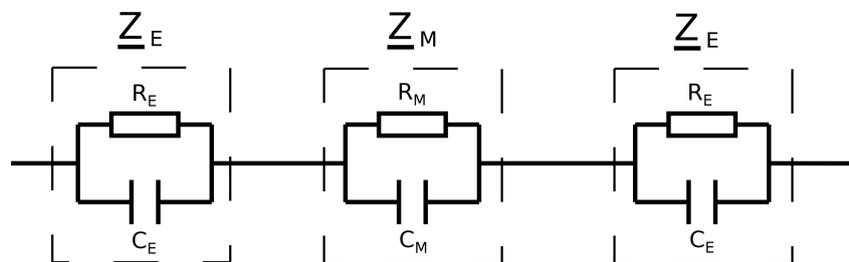


Abb. 2.3: Einfaches elektrisches Ersatzschaltbild einer biologischen Probe mit der Probenimpedanz Z_M und den Elektrodenimpedanzen Z_E . Es ist bekannt, dass die Impedanzen ohmsch-kapazitives Verhalten aufweisen und auf keinen Fall induktives Verhalten zeigen werden, weshalb sie mittels Parallelschaltung von Widerstand und Kondensator dargestellt werden können.

2.1.1 Möglichkeiten der rechnerischen Trennung von Medium- und Elektrodenimpedanz

Man kann \underline{Z}_E und \underline{Z}_M berechnen indem man zwei Messungen durchführt bei denen (a) entweder der Abstand zwischen den Elektroden d oder (b) die Elektrodenfläche A geändert wird. Weiters kann man (c) eine Messung mit zwei Messgeräten, die Dreileitermessung durchführen.

a) Variation des Elektrodenabstands

Es werden zwei Messungen durchgeführt, bei denen der Elektrodenabstand einmal d und einmal $d/2$ beträgt. Die Messergebnisse setzen sich zusammen als

$$\underline{Z}_d = \underline{Z}_E + \underline{Z}_M + \underline{Z}_E \quad (2.3a)$$

und

$$\underline{Z}_{d/2} = \underline{Z}_E + \frac{\underline{Z}_M}{2} + \underline{Z}_E \cdot \quad (2.3b)$$

Daraus ergibt sich

$$\underline{Z}_M = 2 \cdot (\underline{Z}_d - \underline{Z}_{d/2}) \quad (2.4a)$$

und

$$\underline{Z}_E = \underline{Z}_{d/2} - \frac{\underline{Z}_d}{2} \cdot \quad (2.4b)$$

Da bei dieser Methode eine Veränderung des Messaufbaus erforderlich ist, ist sie durch die Inhomogenität und der geometrischen Form von biologischem Gewebe nicht für feste Messproben geeignet, da es sehr schwierig ist genau das halbe Gewebevolumen zu messen. Für flüssige Proben ist diese Methode, unter der Annahme dass sich die Ionenschichten nach der Abstandsänderung wieder gleich ausbilden, durchaus geeignet [3].

b) Variation der Elektrodenfläche

Die Impedanzen \underline{Z}_M und \underline{Z}_E verändern sich abhängig von der Veränderung der Elektrodenfläche. Bei der Rasterelektrodenmethode bleibt die Impedanz \underline{Z}_M annähernd gleich wogegen sich \underline{Z}_E verändert. Betrachtet man die Formel (2.2) zeigt sich, dass sich die Elektrodenimpedanz umgekehrt proportional zur Fläche verhält. Mit den folgenden Formeln ($x = 1/\text{Flächenfaktor}$ [zB.: halbe Fläche $\Rightarrow x=2$]) lässt sich \underline{Z}_M und \underline{Z}_E wie folgt berechnen [3]:

$$\underline{Z}_1 = \underline{Z}_E + \underline{Z}_M + \underline{Z}_E \quad (2.5a)$$

$$\underline{Z}_2 = x \cdot \underline{Z}_E + \underline{Z}_M + x \cdot \underline{Z}_E \quad (2.5b)$$

$$\underline{Z}_M = \frac{x \cdot \underline{Z}_1 - \underline{Z}_2}{x - 1} \quad (2.6a)$$

$$\underline{Z}_E = \frac{\underline{Z}_2 - \underline{Z}_1}{2 \cdot (x - 1)} \cdot \quad (2.6b)$$

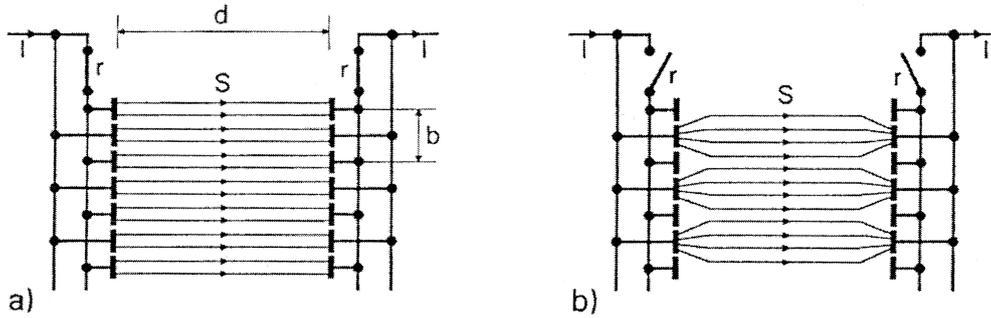


Abb. 2.4: Darstellung der Rasterelektrodenmethode mit eingezeichneten Stromlinien bei (a) gesamter und (b) halbiertes Elektrodenfläche [3];

Rasterelektrodenmethode: Am Beispiel der Rasterelektrodenmethode zeigt sich, dass die Formeln in der Praxis angepasst werden müssen, da es zu Inhomogenitäten im Strömungsfeld innerhalb der Messprobe kommt, sobald die Elektrodenfläche halbiert wird. Dargestellt ist dies in Abb. 2.4. Ist der Abstand b zwischen den Segmenten vernachlässigbar klein gegenüber dem Abstand der Elektroden d , können die Inhomogenitäten vernachlässigt werden. Ist dies nicht der Fall, kann mit dem geometrieabhängigen Korrekturfaktor k das Ergebnis korrigiert werden.

Kommt es bei der Herstellung der Elektroden zu Ungenauigkeiten, die dazu führen dass die Fläche nicht genau halbiert wird, kann dies mit dem komplexen Korrekturfaktor \underline{q} korrigiert werden. Die gemessene Impedanz bei gesamter Fläche lässt sich mit

$$\underline{Z}_A = \underline{Z}_E + \underline{Z}_M + \underline{Z}_E \quad (2.7)$$

berechnen. Wird die Fläche halbiert ergibt sich die Formel (mit Korrekturfaktoren)

$$\underline{Z}_{\frac{A}{2}} = (2 + \underline{q}) \cdot \underline{Z}_E + (1 + k) \cdot \underline{Z}_M + (2 + \underline{q}) \cdot \underline{Z}_E \quad (2.8)$$

Um die Korrekturfaktoren zu bestimmen wird eine 0,9 prozentige NaCl Lösung genutzt, da dies dem Salzgehalt der zellulären Flüssigkeit entspricht. In diesem Fall kann \underline{Z}_M als rein ohmsch betrachtet werden ($\underline{Z}_M = Z_M$ und $\varphi_M = 0$). Um den Korrekturfaktor k zu ermitteln wird bei hoher Frequenz (50 kHz) gemessen. Bei dieser Frequenz ist der Einfluss der Elektroden vernachlässigbar klein. Somit ergibt sich für die ganze Fläche

$$Z_{A/50\text{kHz}} = Z_M, \quad (2.9)$$

für die halbe Fläche

$$Z_{\frac{A}{2}/50\text{kHz}} = (1 + k) \cdot Z_M \quad (2.10)$$

und

$$k = \frac{Z_{\frac{A}{2}/50\text{kHz}}}{Z_{A/50\text{kHz}}} - 1. \quad (2.11)$$

Die Größe für \underline{q} kann mit weiteren Messungen bei niedriger Frequenz (500 Hz) ermittelt werden, da bei dieser Frequenz der überwiegende Einfluss von den Elektroden ausgeht. Die Messergebnisse lassen sich mit

$$\underline{Z}_{A/500\text{Hz}} = \underline{Z}_{E/500\text{Hz}} + Z_{A/50\text{kHz}} + \underline{Z}_{E/500\text{Hz}} \quad (2.12)$$

und

$$\underline{Z}_{\frac{A}{2}/500\text{Hz}} = (2 + \underline{q}) \cdot \underline{Z}_{E/500\text{Hz}} + Z_{\frac{A}{2}/50\text{kHz}} + (2 + \underline{q}) \cdot \underline{Z}_{E/500\text{Hz}} \quad (2.13)$$

berechnen. Daraus folgt für \underline{q} die Formel

$$\underline{q} = \frac{\underline{Z}_{\frac{A}{2}}/500\text{Hz} - \underline{Z}_{\frac{A}{2}}/50\text{kHz}}{\underline{Z}_{A/500\text{Hz}} - \underline{Z}_{A/50\text{kHz}}} - 2. \quad (2.14)$$

Im vorliegenden Fall zeigten Messungen, dass der Imaginärteil von \underline{q} vernachlässigt werden kann.

Nach der Bestimmung der Korrekturfaktoren können die beiden interessierenden Größen \underline{Z}_M und \underline{Z}_E mit

$$\underline{Z}_M = \frac{(2 + q) \cdot \underline{Z}_A - \underline{Z}_{\frac{A}{2}}}{1 - k + q} \quad (2.15a)$$

und

$$\underline{Z}_E = \frac{\underline{Z}_{\frac{A}{2}} - (1 + k) \cdot \underline{Z}_A}{2 \cdot (1 - k + q)} \quad (2.15b)$$

berechnet werden [3].

c) Dreileitermessung

Eine weitere Möglichkeit die Elektroden- und Mediumimpedanz zu berechnen, liegt darin eine Messung mit zwei Messgeräten durchzuführen [4]. Der Aufbau der Messschaltung ist in Abb. 2.5 dargestellt.

Diese Methode funktioniert nur, wenn \underline{Z}_{E3} gleich \underline{Z}_{E1} und \underline{Z}_{M1} vernachlässigbar klein gegenüber \underline{Z}_M ist, da ansonsten die Berechnung von \underline{Z}_M nicht ohne großen Fehler durchgeführt werden kann. Weiters lässt sich durch die Betrachtung des Aufbaus feststellen, dass durch den gegen unendlich gehenden Innenwiderstand des Spannungsmessgerätes V_2 der Strom \underline{I}_U gegen Null geht und somit die Elektrodenimpedanz \underline{Z}_{E2} vernachlässigbar klein ist. Unter den zuvor genannten Eigenschaften der Schaltung ergibt sich für die Mediums impedance

$$\underline{Z}_M = \frac{2 \cdot \underline{U}_2 - \underline{U}_1}{\underline{I}}. \quad (2.16)$$

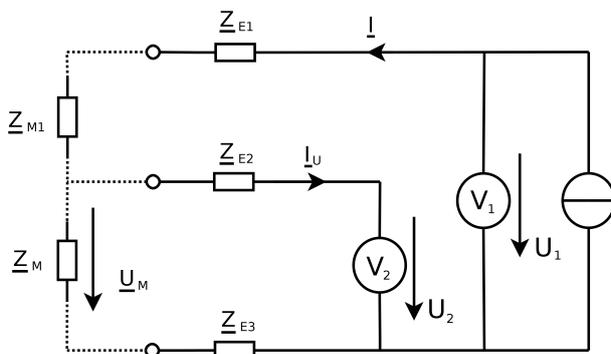


Abb. 2.5: Ersatzschaltbild einer Dreileitermessung;

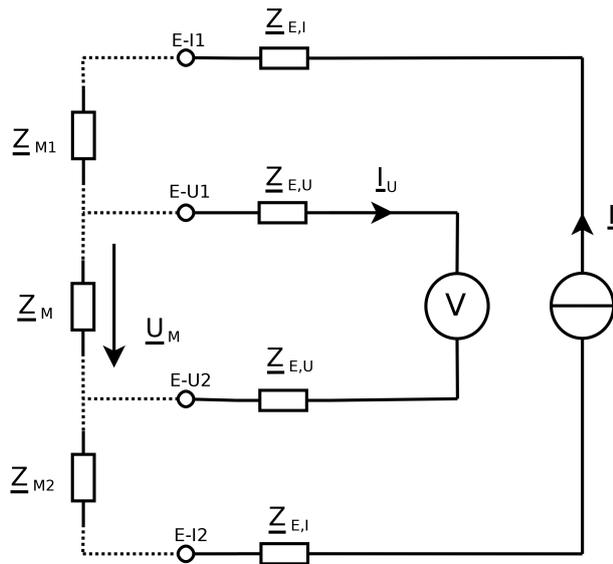


Abb. 2.6: Ersatzschaltbild einer Vier-Elektroden-Messung;

2.1.2 Messung ohne Einfluss der Elektrodenimpedanz

Es besteht die Möglichkeit, Impedanzen so zu messen, dass das Messergebnis nicht von Elektrodenimpedanzen beeinflusst wird. Dies ist mit einer Vier-Elektroden-Messung möglich und ist in Abb. 2.6 mit allen vorkommenden Teilimpedanzen dargestellt.

Bei dieser Methode wird ein Strom \underline{I} über die zwei außen liegenden Elektroden (Stromelektroden E-I1 und E-I2) in die Probe eingepreßt und mit den zwei innen liegenden Elektroden (Messelektroden oder Spannungselektroden E-U1 und E-U2) der Spannungsabfall an der Probe gemessen. Der gegen Unendlich gehende Innenwiderstand eines Spannungsmessgerätes führt dazu, dass der Strom \underline{I}_U gegen Null geht und somit sind die an den Elektrodenimpedanzen $\underline{Z}_{E,U}$ abfallenden Spannungen vernachlässigbar klein und die gemessene Spannung entspricht \underline{U}_M . Da der eingepreßte Strom \underline{I} entweder durch konstante Vorgabe oder Messung bekannt ist, lässt sich die Quasi-Impedanz (Impedanz zwischen zwei Äquipotentialflächen, siehe Kapitel 2.2) des biologischen Mediums mit

$$\underline{Z}_M = \frac{\underline{U}_M}{\underline{I}} \quad (2.17)$$

berechnen. Die Impedanzen $\underline{Z}_{E,I}$ (Elektrodenimpedanzen der Stromelektroden) und \underline{Z}_{M1} (Mediumsimpedanzen zwischen den Strom- und Messelektroden) beeinflussen das Ergebnis nicht, die Belastung der Stromquelle ist jedoch abhängig von $\underline{Z}_I = 2 \cdot \underline{Z}_{E,I} + \underline{Z}_{M1} + \underline{Z}_M + \underline{Z}_{M2}$.

Durch die Unabhängigkeit des Messergebnisses von den Elektrodenimpedanzen, haben die Form sowie die Fläche der Elektroden keinen Einfluss auf das Ergebnis, sie spielen aber eine Rolle bei der Belastung der Stromquelle, da sie $\underline{Z}_{E,I}$ beeinflussen [3][4][5].

2.2 Innere Impedanz

Im Obigen wurde eine so genannte Medienimpedanz \underline{Z}_M definiert, die das eigentliche Resultat der Messung darstellt. Hier soll kurz beschrieben werden, wie dieses Resultat zu interpretieren ist.

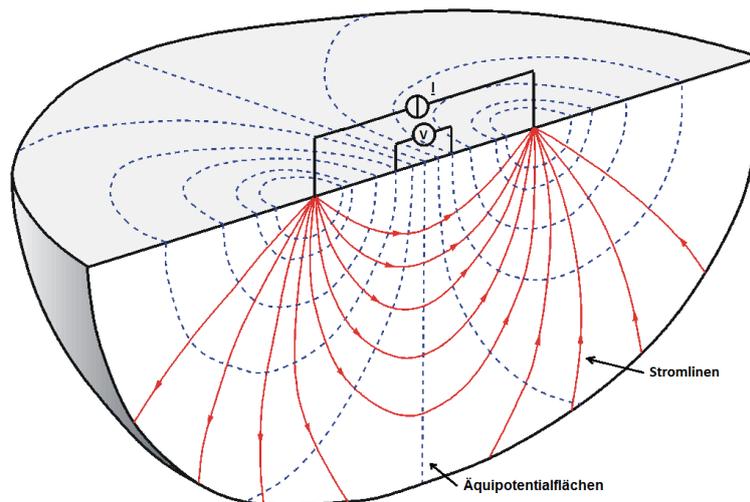


Abb. 2.7: Schematische Darstellung eines Ausschnitts eines Mediums mit eingezeichneten Stromlinien (durchgehende Linien) und den Äquipotentialflächen (strichliert)(abgewandelt aus [7]).

Üblicherweise verwendet man den Begriff Impedanz \underline{Z} für einen Zweipol mit zwei Kontakten A und B. Über A und B fließt ein Strom \underline{I} durch den Zweipol. Es tritt ein Spannungsabfall \underline{U} auf, woraus sich die Impedanz nach $\underline{Z} = \underline{U}/\underline{I}$ errechnet. [6, S.166f]

Hier hingegen liegt ein verzweigtes 3-dimensionales biologisches System vor. Durch zwei Stromelektroden E-I1 und E-I2 wird in ihm ein inhomogenes 3D Strömungsfeld aufgebaut, womit sich im Gewebe gekrümmte Äquipotentialflächen ergeben. Diese schneiden die Objekt Oberfläche entlang unregelmäßig gekrümmten Äquipotentiallinien. Setzen wir nun an der Oberfläche zwei Spannungselektroden E-U1 und E-U2 an, so sind sie Erzeugende von zwei Äquipotentiallinien.

Letztlich berechnen wir die Medienimpedanz als

$$\underline{Z}_M = \frac{U_{E-U1,2}}{I_{E-I1,2}}. \quad (2.18)$$

Dies zeigt folgendes auf: Bei der Medienimpedanz \underline{Z}_M handelt es sich um die im Inneren des biologischen Systems vorliegende Impedanz zwischen jener Äquipotentialfläche, die E-U1 als Erzeugende hat, und jener, die E-U2 als Erzeugende hat. In Abb. 2.7 ist dies schematische mit einem Ausschnitt eines Mediums, einer Stromquelle, einem Voltmeter, dem Strömungsfeld und den Äquipotentialflächen dargestellt.

Obwohl die Messung an der Oberfläche vorgenommen wird, handelt es sich bei \underline{Z}_M um eine in das Inneren des Systems versetzte Impedanz. Der Grad der Versetzung nach Innen kann durch Erhöhung des Abstand der Stromelektroden gesteigert werden. Als Vorteil liefert dies messtechnischen Zugriff in innere Gewebegebiete. Dies ist vor allem dann wichtig, wenn in oberflächlichen Bereichen schlecht leitende Gewebe vorliegen (wie im weiter unten behandelten Fall von Karpfen mit subkutaner Konzentration von Fettgewebe).

Im weiteren Verlauf der Arbeit werden, um den Lesefluss zu verbessern, die inneren Impedanzen als Impedanzen bezeichnet.

2.3 Dielektrischer Verlustfaktor

Neben der Impedanz lässt sich der Grad von Gewebeveränderungen auch mit dem dielektrischen Verlustfaktor d darstellen. Dieser wird mit der Leitfähigkeit γ , der Permittivität ε und der Kreisfrequenz ω mit

$$d = \frac{\gamma}{\omega \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r} \quad (2.19)$$

berechnet. Der Betrag der Phasenverschiebung (Arkuskotangens hat einen Wertebereich von $0 < f(x) < \pi$) zwischen Strom und Spannung, kann mittels

$$|\varphi| = \operatorname{arccot} \left(\frac{\gamma}{\omega \cdot \varepsilon_0 \cdot \varepsilon_r} \right) \quad (2.20)$$

berechnet werden, woraus sich der Zusammenhang zwischen dem Verlustfaktor und dem Phasenwinkel zu

$$d = \cot(|\varphi|) \quad (2.21)$$

ergibt. [8]

2.4 Untersuchtes biologisches Gewebe

In dieser Arbeit wurden Schweinelebern und Fische (Saibling und Karpfen) untersucht. In diesem Kapitel wird auf die biologischen Grundlagen und auf Messergebnis beeinflussende Faktoren eingegangen.

2.4.1 Biologische Grundlagen

A) Biologische Grundlagen von Lebergewebe

Die Leber ist dafür verantwortlich das Blut zu filtern und dessen Zusammensetzung zu kontrollieren. Die Leberzellen (Hepatozyten) entnehmen dem Blut Nährstoffe und andere Substanzen, um diese zu speichern oder zu metabolisieren, und führen dem Blut Sekrete und gespeicherte Substanzen zu. Zusätzlich erzeugen sie Galle, welche über Gallengänge zur Gallenblase geführt wird. Neben den Hepatozyten gibt es noch die Kupffer-Zellen. Diese, nach ihrem Entdecker (Karl Wilhelm von Kupffer, 1829 - 1902, entdeckte die Zellen 1866) benannten, Fresszellen (Makrophagen) und sind für die Säuberung des Blutes zuständig. Dabei bauen sie veraltete und geschädigte Erythrozyten, Bakterien und manche Giftstoffe ab.

Die Leber setzt sich aus Leberläppchen (Lobuli hepatis) zusammen. In diesen sind die Hepatozyten um die Zentralvene angeordnet, die das gefilterte Blut zum Herz transportiert. Die Lläppchen werden von der Leberarterie (sauerstoffreiches Blut) und von Pfortadern (sauerstoffarmes, nährstoffreiches vom Verdauungstrakt kommendes Blut; enthält weitere Substanzen die in der Verdauung aufgenommen wurden, zB. Medikamente) mit Blut versorgt. Das gefilterte Blut vereinigt sich in den zellumgebenden Sinusoiden und fließt an den Hepatozyten vorbei zur Zentralvene. Bei Schweinelebern sind die Lläppchen mit dem freien Auge erkennbar, da ausreichend interlobuläres Bindegewebe vorhanden ist [9][10].

Die Leber ist von Blutgefäßen durchzogen und es handelt sich, im Vergleich zu anderen Gewebearten, wie zB. Muskelgewebe, um ein weiches Gewebe. Bei weichem Gewebe kann

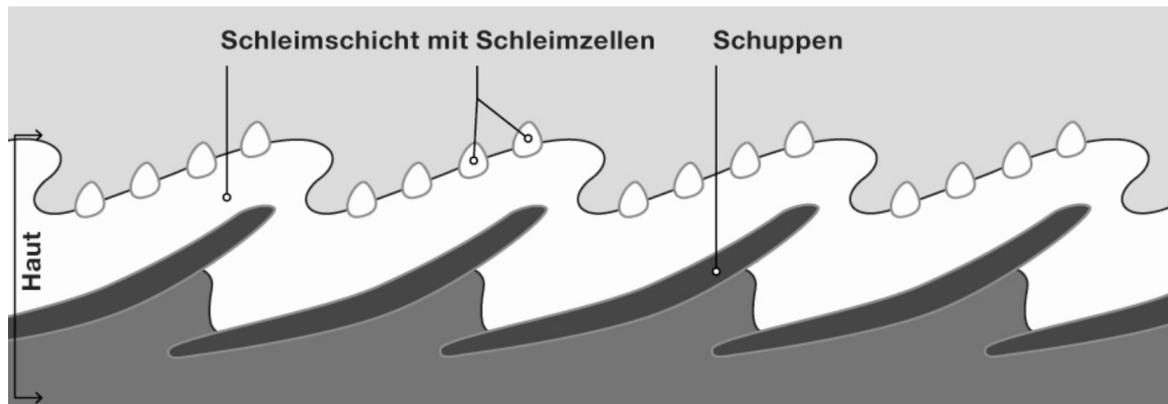


Abb. 2.8: Aufbau der Fischhaut von echten Knochenfischen [12].



Abb. 2.9: Schuppen eines Karpfens.

mechanische Belastung (siehe 2.4.2C) zu größerer Veränderung führen als bei nicht so weichem Gewebe.

B) Biologische Grundlagen von Fischen

Die in dieser Arbeit betrachteten Fische (Karpfen und Saibling) werden in die Klasse der echten Knochenfische (Teleostei) eingeteilt. Als Knochenfische werden Fische mit zumindest teilweise verknöchertem Skelett bezeichnet. Die Teilklasse der echten Knochenfische umfasst die Arten bei denen das Skelett vollständig verknöchert ist. Bei den Schuppen der Teleostei handelt es sich um Elasmoidschuppen, zellfreie Knochenbildungen die in so genannten Schuppentaschen im Stratum laxum (Bindegewebe der Lederhaut) sitzen und von der Epidermis (Oberhaut) bedeckt sind. Die Epidermis besteht bei Fischen aus einer Schleimschicht mit Schleimzellen um den Wasserwiderstand zu verringern und vor Bakterien, Pilzen und Parasiten zu schützen. In Abb. 2.8 ist dieser Aufbau dargestellt. [11] [12]

Die Schuppen von Karpfen (siehe Abb. 2.9) sind im Vergleich zu den Schuppen von Saiblingen (siehe Abb. 2.10) sehr groß und lassen sich problemlos entfernen. Ein weiterer Unterschied dieser beiden Fischarten liegt darin, dass Karpfen sowie alle Ostariophysen (Gruppe der echten Knochenfische) Schreckstoffzellen besitzen die bei Verletzung der Haut Schreckstoff (Hypoxanthin-3-N-oxid, $C_5H_4N_4O_2$) freigeben. In einem Quadratzentimeter Haut befindet sich so viel Schreckstoff dass in etwa 60 000 l Wasser markiert werden können. Ob es sich dabei um ein Alarmpheromon zum Verscheuchen von Artgenossen handelt ist ungeklärt. Außerdem ist nicht klar wie sich dieser Stoff auf Messungen der Impedanz auswirkt.[11][13]



Abb. 2.10: Schuppen eines Saiblings.

2.4.2 Einflussfaktoren auf Messergebnisse

A) Einflussfaktor Frequenz

Die Permittivität ε und Leitfähigkeit γ sind bei biologischen Medien frequenzabhängig und besitzen bis zu drei Dispersionsbereiche (zB. hat Blut nur zwei und extrazelluläre Flüssigkeit nur einen Dispersionsbereich). Die α -Dispersion im Niederfrequenzbereich, die β -Dispersion im Hochfrequenzbereich und die γ -Dispersion im Mikrowellenbereich. Sie äußern sich darin, dass ε sinkt und γ ansteigt. Die Verläufe von ε und γ in Abhängigkeit zur Frequenz sind in Abb. 2.11 dargestellt [14].

α -Dispersion:

Die α -Dispersion tritt bei einer Frequenz niedriger als 50 kHz, nicht aber bei allen biologischen Materialien auf und es ist noch nicht gänzlich erforscht wodurch sie verursacht wird. Sie ist umgebungs- und temperaturabhängiger als die β -Dispersion. Nach wenigen Stunden tritt sie bei totem Gewebe nicht mehr auf, gleichzeitig steigt aber die untere Frequenzgrenze der β -Dispersion an [14][15].

β -Dispersion:

Im Bereich von 50 kHz bis 100 MHz kommt es bei biologischem Gewebe (außer bei extrazellulärer Flüssigkeit) zu einer β -Dispersion. Betrachtet man Abb. 2.11 ist zu erkennen, dass es bei extrazellulären Flüssigkeiten zu keiner und bei biologischem Material das zelluläre Gewebestruktur aufweist zu einer β -Dispersion kommt. Ein vereinfachtes Modell einer Gewebestruktur ist in Abb. 2.12 dargestellt, in der die als Quadrat dargestellten Zellen mit der Kantenlänge a zwischen zwei Elektroden liegen.

Der Stromfluss durch die Extrazellulärspalte (S1) ist frequenzunabhängig, wohingegen der Stromfluss durch die Zellen (S2) stark frequenzabhängig ist. Dies führt bei niedrigen Frequenzen kaum zu Veränderungen, bei hohen (Frequenzen im β -Dispersionsbereich) hingegen werden die Zellmembranen (durch den Lipiddoppelschicht-Aufbau weisen diese kapazitives Verhalten auf (C_M)) überbrückt, was zu einer höheren Leitfähigkeit und somit zu einem höheren Stromfluss führt [14].

γ -Dispersion:

Im Bereich von 100 MHz bis 30 GHz kommt es zur γ -Dispersion. Diese wird durch die

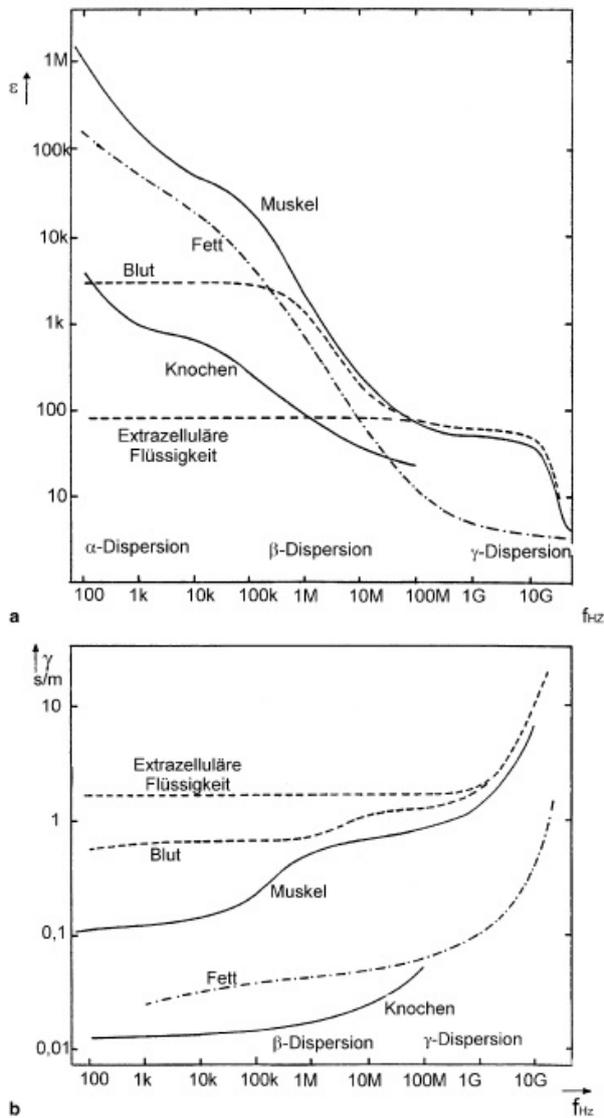


Abb. 2.11: Typischer Verlauf der (a) Permittivität ϵ und (b) der Leitfähigkeit γ in Abhängigkeit zur Frequenz f [14].

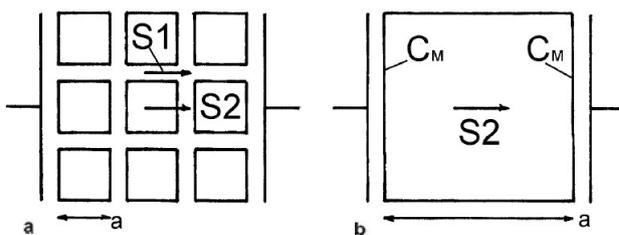


Abb. 2.12: Modell zur Erklärung der β -Dispersion. Zellen sind als Quadrate mit der Kantenlänge a und der Membrankapazität C_M dargestellt. Die Zellen befinden sich zwischen zwei Elektroden und es kommt zu einem Stromfluss durch die Extrazellulärspalte ($S1$) und durch die Zelle ($S2$). [14]

Orientierungspolarisation hervorgerufen. Dabei werden Moleküle mit polarem Moment p (hervorgerufen durch asymmetrische Molekülstruktur, zB. H_2O) am elektrischen Feld ausgerichtet. In vielen biologischen Materialien wird die Polarisation durch die Wassermoleküle dominiert.

Über 30 GHz kommt es zur Verschiebungspolarisation, das heißt die Feldstärke sorgt dafür, dass sich die Schwerpunkte der Elektronen zu denen der Protonen verschieben. Dazu tragen alle Atome bei, es ergibt sich für alle Medien eine Permittivität von ungefähr 3 [14].

B) Einflussfaktor Temperatur

Messungen zeigen, dass Temperaturveränderungen des Gewebes zu Änderungen der Impedanz führen, siehe Kapitel 6. Dabei verhält sich der Betrag der Impedanz umgekehrt proportional und der Winkel proportional zur Änderung der Temperatur. Dies ist in der Abb. 2.13 dargestellt. Für diese Messreihe wurde die Impedanz einer vier Tage alten Leber (gelagert im Kühlschrank) gemessen. Es wurden drei Messungen pro Minute mit dem HP 4284 Präzisions-LCR-Meter (PC-gesteuert mit einem LabView Programm) über einen Zeitraum von 2 h 28 min im Kühlschrank durchgeführt. Der Temperaturanstieg in den ersten 15 Minuten ist auf das anbringen der, im Vergleich zur Leber, warmen (Zimmertemperatur) Messelektroden zurückzuführen.

Hafs und Hartman [16] zeigten eine Möglichkeit der Temperaturkompensation auf. Diese ist in dem entwickelten Gerät aber nicht vorgesehen, da sie den Umfang des Geräts überschreiten würde.

C) Einflussfaktor mechanische Belastung

Kommt es bei einem biologischen Gewebe zu einer mechanischen Belastung werden Zellen zerstört und somit die Impedanz verändert. Dabei fällt neben der Druck- und Zugbelastung auch die Veränderung des Gewebes durch Gefrierlagerung in das Gebiet der mechanischen Belastung, da die im Gewebe entstehenden Eiskristalle die Zellmembrane zerstören.

Pfützner Helmut et al. [17] überprüften bei Schweinelebern den Einfluss von Kühl- und Gefrierlagerung sowie den Einfluss durch einen Transport. Dabei wurde der Verlustfaktor mit dem TESTRON-MS-Testgerät (siehe Kapitel 2.5.1.A) gemessen. In der Abb.2.14 sind die Messergebnisse dargestellt. Spalte α zeigt die Ergebnisse unmittelbar nach der Schlachtung, Spalte β nach der Transportbelastung (wechselnde thermische und mechanische Bedingungen), Spalte γ nach der Transportbelastung und viertägiger Lagerung bei 2°C , und der Hauptteil die Messergebnisse nach mehreren Tagen Tiefkühl Lagerung (-20°C und -38°C).

Aus den Messergebnissen wird ersichtlich wie sich mechanische Belastungen auf den Verlustfaktor auswirken. Transportbelastungen führen zu einer höheren Streuung der Messergebnisse und die Belastung durch Tiefkühlen der Lebern führt zu einer höheren Streuung und erhöhten Verlustfaktoren. Diese Effekte treten nicht nur bei Lebergewebe sondern auch bei jedem anderen Gewebe auf.

Vidaček et al. [18] zeigten den Unterschied des Widerstands R und Blindwiderstands X von nicht gefrorenen, eingefrorenen und zweimal eingefrorenen Wolfsbarsch auf. Die Proben wurden vor den Messungen, bzw. zwischen den beiden Einfrierzyklen, wieder aufgetaut. Die

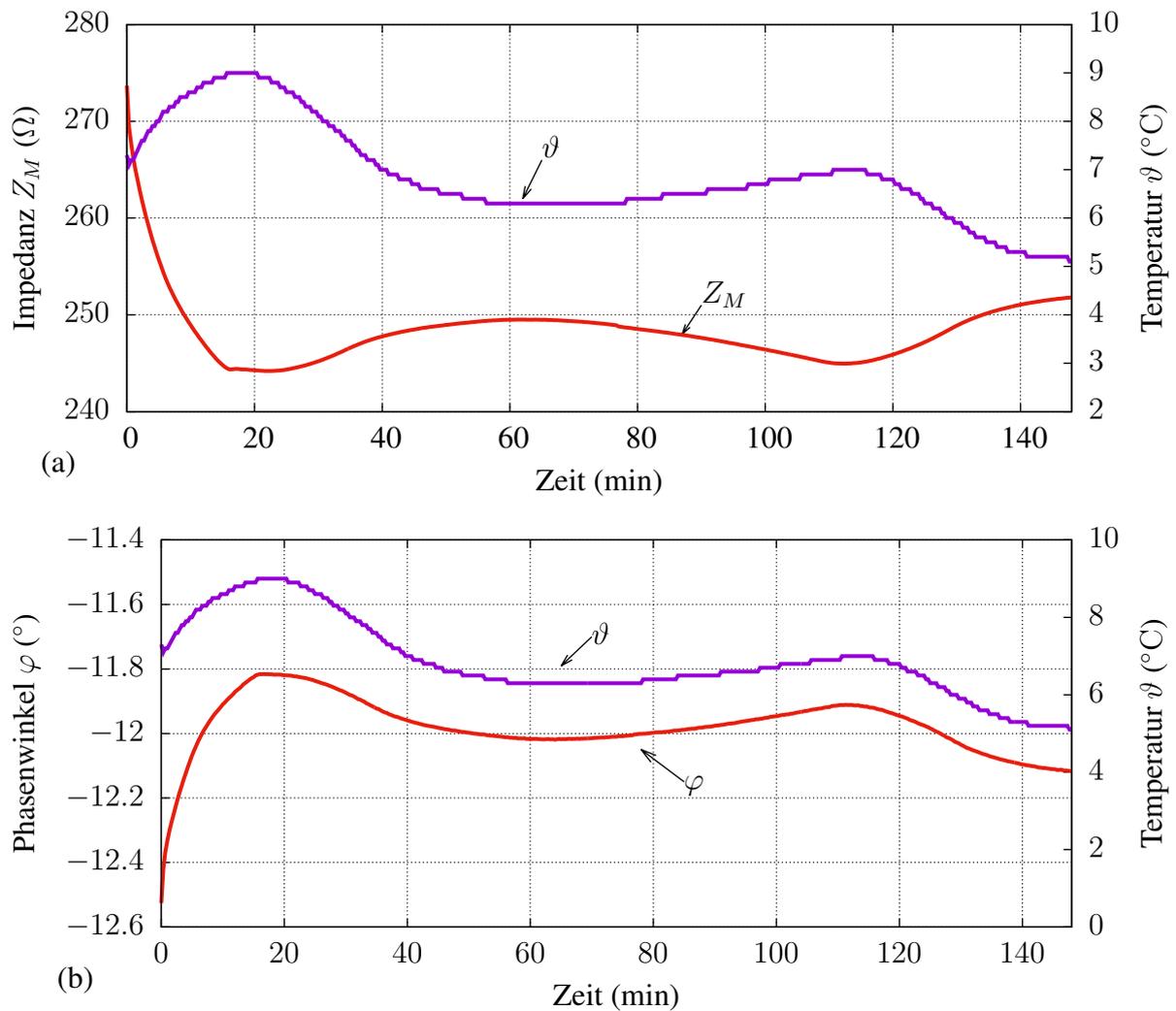


Abb. 2.13: Die Temperaturabhängigkeit der Impedanz Z_M zeigt sich in dieser Kurzzeitmessung über etwa 2 h an einer Probe (Leber eines Schweines), gemessen mit dem HP 4284 Präzisions- LCR-Meter. (a) Betrag von Z_M im Vergleich zur Temperatur ϑ . (b) Phasenwinkel φ von Impedanz Z_M im Vergleich zur Temperatur ϑ . Während der kurzen Messzeit sind keine Gewebeveränderungen zu erwarten.

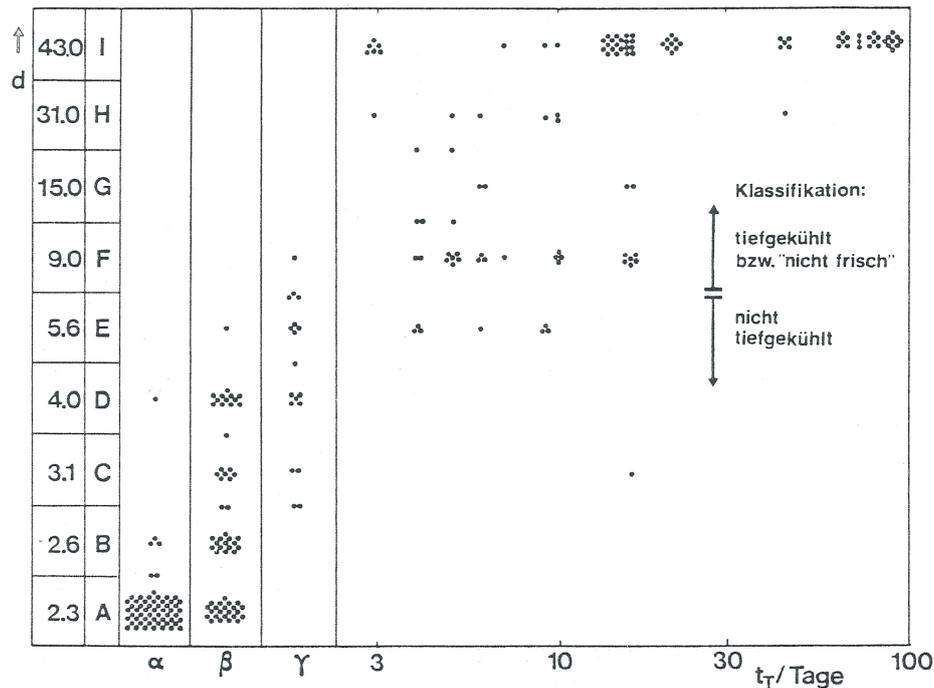


Abb. 2.14: Mit dem TESTRON-MS gemessener Verlustfaktor von Schweinelebern (Spalte α) unmittelbar nach der Schlachtung, (Spalte β) nach einem Transport, (Spalte γ) nach dem Transport und viertägiger Lagerung bei 2°C , und im Hauptteil nach mehreren Tagen Tiefkühlagerung (-20°C und -38°C) [17].

Messungen wurden mit 19 Frequenzen von 1 Hz bis 1 MHz durchgeführt. Das Ergebnis zeigt einen klaren Unterschied zwischen den nicht gefrorenen und gefrorenen Proben, und somit den Einfluss von mechanischer Belastung.

2.5 Vorhandene Geräte

Es gibt bereits verschiedene, in Labors genutzte und auch industriell vermarktete Impedanzmessgeräte, mit denen Rückschlüsse auf den Gewebezustand getroffen werden können. In diesem Kapitel wird auf die Arbeitsweise dieser Geräte eingegangen, wobei sie in zwei Gruppen eingeteilt werden, die Geräte mit zwei und die mit vier Elektroden.

2.5.1 Geräte mit zwei Elektroden

A) Intellectron Fischtester VI

Um ein auswertbares Messergebnis mit zwei Elektroden zu erhalten werden beim Fischtester zwei Messungen mit unterschiedlichen Frequenzen durchgeführt und der Betrag Z_M berechnet. Es wird davon ausgegangen dass ein Fisch kurz nach seinem Tod einen Widerstand von $2000\ \Omega$ aufweist, davon ausgehend wird das Messergebnis auf einer Skala von 0 bis 100 % angezeigt. Die Elektroden werden an den Querseiten des Fisches angelegt und es wird durch den Fisch gemessen. Abb. 2.15 zeigen den Fischtester [1].

Der Fischtester wurde schon an vielen verschiedenen Fischarten (Heringen, Dorschen, etc.) getestet. Die Ergebnisse des Fischtesters basieren auf unzerstörten Zellen. Es dürfen die Zellen



Abb. 2.15: Bilder des Intellectron Fischtester VI. Links: Anzeige des Fischtesters. Mitte: Der Fischtester zum Messen angelegt. Rechts: Gesamter Aufbau des Fischtesters. [1]

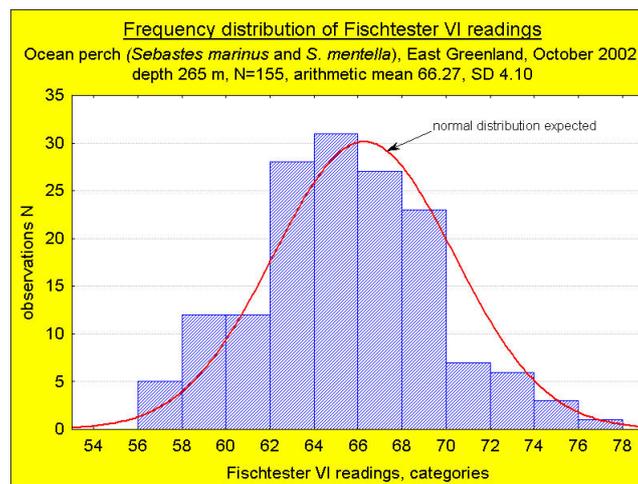


Abb. 2.16: Verteilung der Messergebnisse von 155 Rotbarschen kurz nach dem Fang, gemessen mit dem Intellectron Fischtester VI. [1]

nicht durch Einfrieren oder durch mechanische Beeinflussung zerstört werden. Bei zerstörten Zellen liegt eine hohe Leitfähigkeit (Z_M sehr klein) vor und der Fischtester zeigt den Wert 0 an. Dies kann dafür genutzt werden, um herauszufinden, ob Fische, die als frisch verkauft werden, frisch sind oder zuvor eingefroren waren und wieder aufgetaut wurden.

Abb. 2.16 zeigt die Verteilung der Messergebnisse bei Messungen an 155 Rotbarschen (*Sebastes marinus*). Um bei jedem Fisch vom selben Fortschritt des Zellerfalls ausgehen zu können wurden die Messungen nach einer definierten Zeit post mortem durchgeführt. Um Streuungen der Messwerte zu verringern wurden mehrere Messungen durchgeführt und aus den Messergebnissen der Mittelwert gebildet.

Abb. 2.17 zeigt den Zusammenhang zwischen den Messergebnissen des Fischtesters und der QIM Beurteilungen (organoleptische Beurteilung von Fischen, Bewertung von 0-24, 0...gute Qualität, 24...schlechte Qualität) [19]. Gemessen und bewertet wurden in Eis gelagerte Dorsche. Die durchgezogene Linie stellt den Mittelwert dar, die gestrichelte Linie das 95% Konfidenzintervall. Zwischen dem Messergebnis des Fischtesters (Mittelwerte) und der QIM Bewertung besteht der Zusammenhang

$$FT = 100,26 - 5,329 \cdot QIM \quad (2.22)$$

(FT...Ergebnis des Fischtesters, QIM...Ergebnis der QIM).

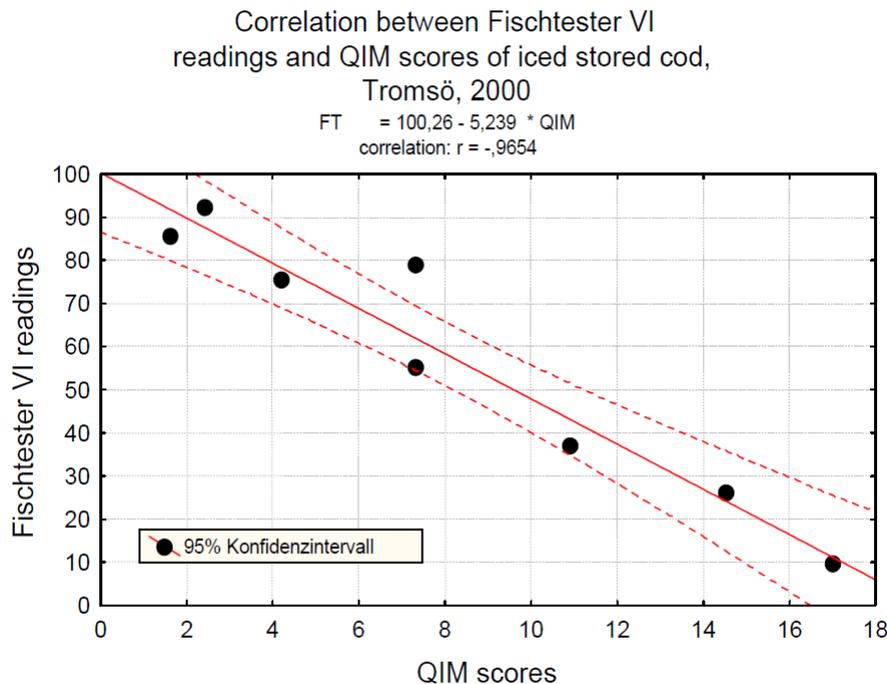


Abb. 2.17: Zusammenhang zwischen den Messergebnissen des Fischtesters und der QIM Bewertung. [1]

B) TESTRON-MS-Testgerät

Wie der Intellectron Fischtester VI arbeitet auch das pistolenförmige TESTRON-MS-Testgerät (siehe Abb. 2.18) mit zwei Elektroden. Im Gegensatz zum Fischtester nutzt das Testron-Messgerät Skalpelle als Elektroden und ist somit im Gegensatz zum Fischtester ein invasives Messgerät.

Das Messgerät legt eine Sinusspannung mit 15 kHz an eine Serienschaltung eines Normalwiderstandes und der Messprobe an und misst die an der Probe auftretende Phasenverschiebung. Der Verlustfaktor d (für den Zusammenhang zwischen d und der Phasenverschiebung siehe Kapitel 2.3) wird auf einer Leuchtdiodenreihe von $< 2,3$ bis > 43 (siehe Abb. 2.19; Anzeigecharakteristik siehe Abb. 2.20) und einem Analogausgang (10 bis 0, 1V) ausgegeben.

Mit dem Testron-Messgerät wurde 1981 Schweinefleisch auf PSE (Abkürzung für pale-soft-exudative: Ein genetischer Defekt der zu erhöhtem Wassergehalt im Gewebe führte, weshalb es beim Braten des Fleisches zu einer Verringerung des Volumens kam.) überprüft. Weist frisch geschlachtetes Schweinefleisch eine Phasenverschiebung von kleiner gleich 5° auf, gilt das Fleisch als PSE-positiv, bei größer 5° als PSE-negativ. Mit Hilfe des Testron-Messgeräts konnten Schweine die PSE aufwiesen, aufgespürt und eliminiert werden. [8]

2.5.2 Geräte mit vier Elektroden

A) Torrymeter

Das Torrymeter der Firma Distell [21] nutzt die Vier-Elektroden-Technik um den Zellzerfall bei Fischen zu bestimmen. In Abb. 2.21 sieht man das Torrymeter im Einsatz. Der Sensorkopf mit den Elektroden befinden sich an der Unterseite des Torrymeters und hat in Abb. 2.21 Kon-



Abb. 2.18: Das Testron-MS-Testgerät in der Seitenansicht.

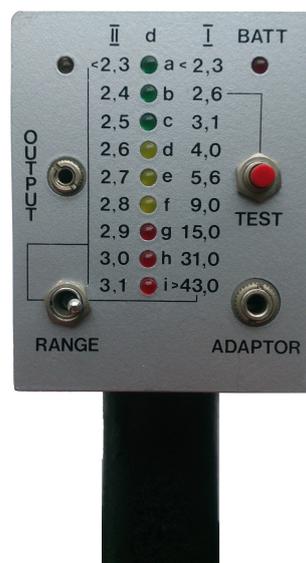


Abb. 2.19: Verlustfaktoranzeige des TESTRON-MS-Testgeräts. Um bei kleinem Verlustfaktor eine bessere Auflösung zu erhalten, lässt sich die Skala auf einen kleineren Bereich (linke Skala) einstellen.

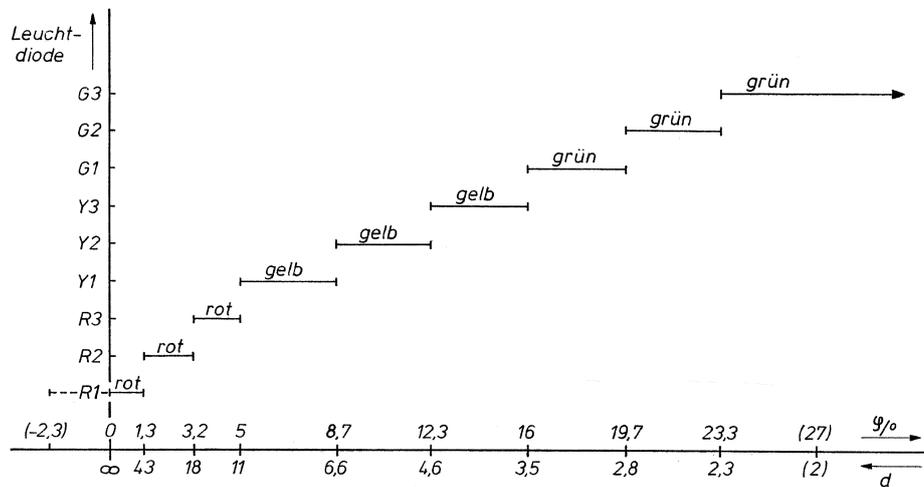


Abb. 2.20: Zusammenhang zwischen der Phasenverschiebung φ , bzw. dem Verlustfaktor d und den zu leuchtenden LEDs des TESTRON-MS-Testgeräts (gemessen bei 20°C). [8]



Abb. 2.21: Das Torrymeter im Einsatz. [20]

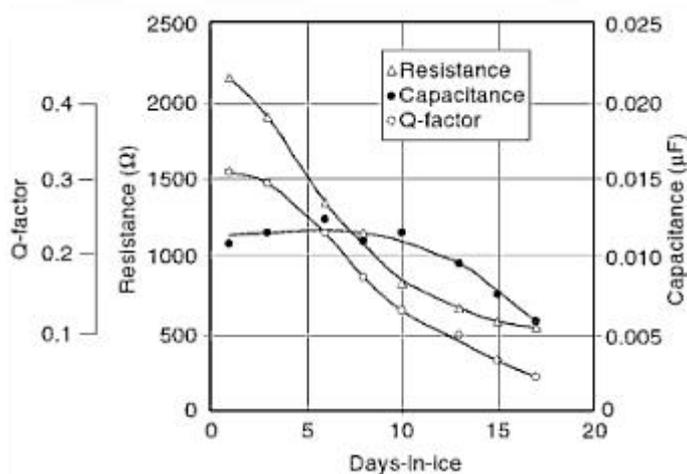


Abb. 2.22: Typischer Verlauf des Widerstands, der Kapazität und des Q-Faktor (vom Torrymeter genutzter Wert) in Abhängigkeit der Lagertage auf Eis gelagert. [21]

takt mit dem Fisch. Neben den vier Elektroden zur Messung der Impedanz befinden sich zwei weitere Elektroden am Sensorkopf. Diese kontrollieren ob die Mess- und die Stromelektroden Kontakt zum Fisch haben und es somit bei einer Messung zu einem aussagekräftigem Ergebnis kommt. Außerdem befindet sich an der Oberseite ein LCD Display zur Anzeige des Messergebnisses und an der Rückseite ein Mess-, sowie ein Resetknopf.

Das Torrymeter misst den Widerstand und die Kapazität. In Abb. 2.22 ist ein typischer Verlauf des Widerstands, der Kapazität und des Q-Faktors in Abhängigkeit der Lagertage (auf Eis) dargestellt. In den ersten zehn Tagen post mortem nimmt der Widerstand stark und danach schwächer ab. Die Kapazität nimmt in den ersten zehn Tagen post mortem leicht zu und fällt danach ab. Um die Qualitätsbestimmung zu verbessern wird die Kapazität und der Widerstand in einen Faktor umgerechnet, den Q-Faktor,

$$Q = 2 \cdot \pi \cdot f \cdot C \cdot R . \quad (2.23)$$

Dieser wird in einen Wert von 0 bis 16 umgerechnet und als Messergebnis des Torrymeters ausgegeben.

Der Q-Faktor wird auch vom Phasenwinkel zwischen Strom und Spannung beeinflusst. Die Impedanz Z_M hat ohmsch-kapazitives Verhalten mit einer Phasenverschiebung φ . Bei einer Messfrequenz von 2 kHz beträgt φ selten mehr als 0,4 rad. Wird Q als $\tan(\varphi)$ definiert, ist der Q-Faktor bei $\varphi = 0,4 \text{ rad}$ gleich 0,42. Dies zeigt, dass man den Q-Faktor annähernd mit $Q = \varphi$ berechnen kann und deshalb wurde für das Torrymeter eine Messfrequenz von 2 kHz gewählt.

In der Arbeit von Abang Ahmad Azeriee et al. [22] wurde das Torrymeter an Stachelmakrelen (*Decapterus Punctatus*) getestet. In Abb. 2.23 sind die Messergebnisse (Mittelwerte in %) von Messungen an 40 Fischen in Abhängigkeit von den Lagertagen im Kühlschrank dargestellt. An den ersten drei Tagen waren die Fische genießbar, am vierten Tag ungenießbar. Dies wurde durch Geschmack und Geruch festgestellt und führte zur Einteilung „sehr frisch (very fresh)“, „frisch (fresh)“, „durchschnittlich (average)“ und „ungenießbar (unfit to eat)“.

Vida Simat et al. erstellten in ihrer Arbeit „Effekt of different storage conditions on the dielectric properties of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.)“ [23] eine Tabelle, in der sie die Messergebnisse des Torrymeters mit denen von organoleptischen Methoden (QIM [19] und EU

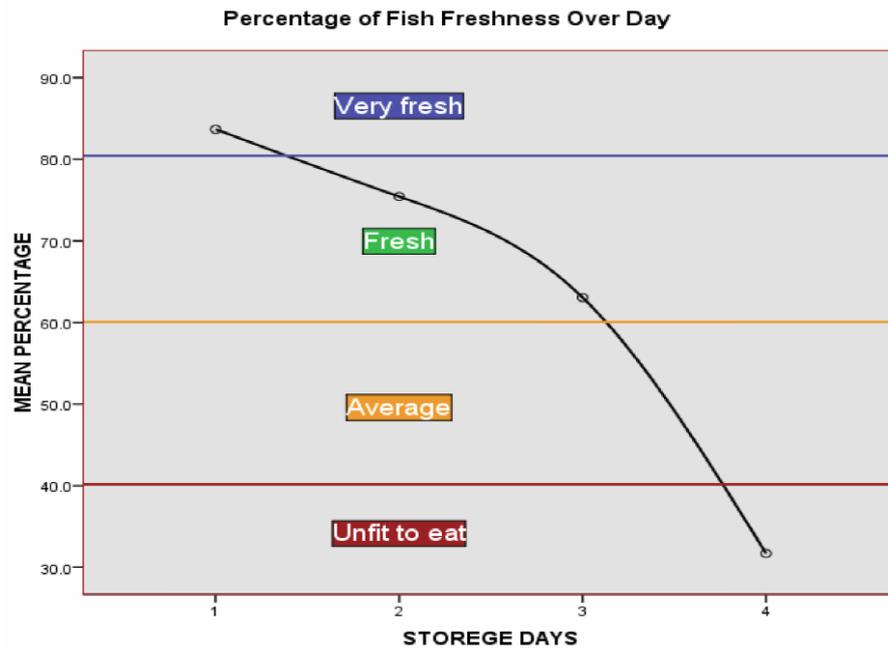


Abb. 2.23: Mittlere Messergebnisse (in %) des Torrymeters in Abhängigkeit zu den Lagertagen im Kühlschrank. Eingezeichnet sind die Frischebereiche „sehr frisch“, „frisch“, „durchschnittlich“ und „ungenießbar“. [22]

Methode [Bewertungsstufen: E(beste Qualität), A, B, C(Substandard)] [24]) vergleichen. Diese Messungen wurden an europäischen Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*) durchgeführt. In Tabelle 2.1 (Abgewandelt aus [23]) wird ein kleiner Ausschnitt dieser Tabelle dargestellt.

Das Torrymeter hat für Fischerwettbewerbe in den USA große Bedeutung. Um sich einen Vorteil zu verschaffen, nahmen Teilnehmer einen zuvor gefangenen, manchmal zuvor eingefrorenen Fisch (in diesem Fall zeigt das Torrymeter den Wert 0 an, da durch zerstörte Zellen eine sehr hohe Leitfähigkeit entsteht) mit um diesen bewerten zu lassen. Es wurde mittlerweile in die Regeln aufgenommen, dass das Torrymeter über einen gewissen Wert anzeigen muss damit der Fisch gewertet wird.

Tabelle 2.1: Messergebnisse des Torrymeters (TM) im Vergleich zur EU Methode und zur QIM bei Messungen an Wolfsbarschen. Abgewandelt aus [23]

Lagerzeit [h]	See-Eiswasser 0-2°C			Seewasser 10-12°C		
	EU	QIM	TM	EU	QIM	TM
0	E	0	13,8	E	0	14,6
10	E	0	15,4	E	4	14
20	E	0	16	A	6	14,4
30	E	0	16	A	8	13,6
40	E	0	16	B	10	12,4
50	E	1	16	B	17	11,4
60	E	2	15,8	C	20	10,8
70	E	3	15	C	22	8

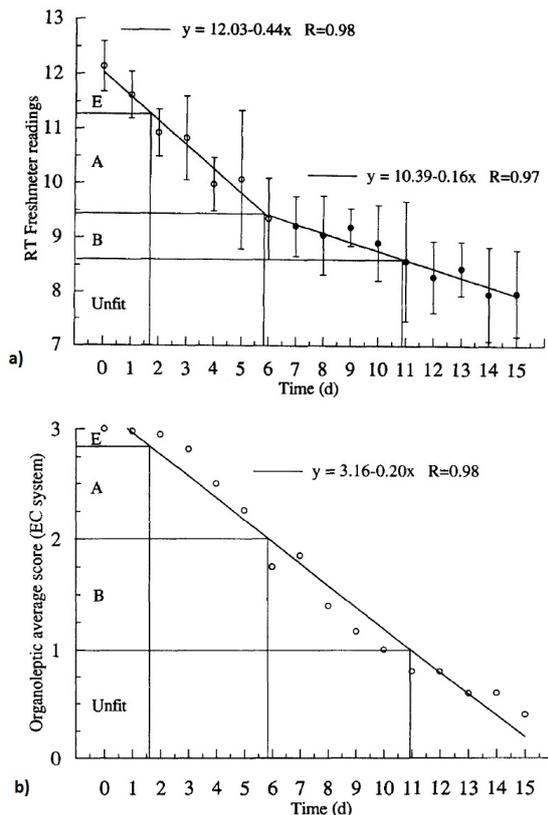


Abb. 2.24: a) Angezeigte Messergebnisse des RT-Freshmeters (inkl. Bereiche der EU (EC) Methode). b) Beurteilungen mit der EU (EC) Methode, in Abhängigkeit zur Zeit post mortem, von auf Eis gelagerten Bastardmakrelen. [25]

B) RT-Freshmeter

Das RT-Freshmeter funktioniert nach dem selben Prinzip wie das Torrymeter, im Unterschied dazu werden 100 Messwerte über einen Zeitraum von einer Sekunde aufgenommen. Diese Messwerte werden arithmetisch gemittelt und der Mittelwert wird angezeigt. Wie auch das Torrymeter hat das RT-Freshmeter am Sensorkopf zwei zusätzliche Elektroden um den Kontakt zum Fisch zu überprüfen. Es werden nur Messwerte gewertet bei denen ein Kontakt festgestellt wurde.

Paulo Vaz-Pires et al. [25] verglichen in ihrer Arbeit die Messergebnisse des RT-Freshmeters mit den Beurteilungen der EU Methode [24]. Es wurden 40 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) und 35 Bastardmakrelen (*Trachurus trachurus*) bewertet und gemessen. Abb. 2.24.a zeigt die Messergebnisse der Messungen an den Bastardmakrelen (gelagert in Eis) dargestellt durch Mittelwerte inklusive Streuungen aufgetragen gegen die postmortale Zeit. Die Beurteilungen nach der EU Methode sind in Abb. 2.24.b aufgetragen.

Kapitel 3

Technische Grundlagen des entwickelten Gerätes

3.1 Anforderungen an das Gerät

Das Messergebnis soll nicht von Elektrodenimpedanzen beeinflusst werden, daher wird bei dem Gerät die Vier-Elektroden-Technik (siehe Kapitel 2.1.2) verwendet. Mittels Umschalter kann die Messfrequenz (10 oder 15 kHz) eingestellt werden. Das mit Akku betriebene Gerät prägt per Knopfdruck einen Strom in das Gewebe ein und misst die nötigen Größen um die Impedanz, die Phasenverschiebung und den Verlustfaktor berechnen und auf einem LCD Display ausgeben zu können.

3.2 Mess- und Berechnungsgrundlagen

Wie in Kapitel 2.4.2 beschrieben ist es wichtig die Messfrequenzen so zu wählen, dass sie in keinem Dispersionsbereich liegen. Die Frequenz des eingepprägten Stromes soll auf 10 oder 15 kHz einstellbar sein. Ein wichtiges Kriterium für den eingepprägten Strom ist, dass er keinen Gleichanteil besitzt, da es ansonsten zu einer Ausrichtung der polarisierbaren Teilchen (zB. H_2O) im Gewebe kommt und sich Ionen zu einer Elektrode hin bewegen. Diese Effekte würden zu einem verfälschten Messergebnis führen. Die Amplitude des Wechselstromes ist so zu wählen, dass das Gewebe nicht zerstört wird. Diese Kriterien werden bei einem sinusförmigen Strom mit einer Amplitude von etwa einem Milliampere erfüllt.

Damit die Amplitude ungefähr ein Milliampere beträgt, ist es notwendig zu wissen welchen Impedanzbereich das zu messende Gewebe aufweist um die Schaltung dafür auszulegen. Wie sich durch Messungen von Jun Zhang et al. an Silberkarpfen [26] und Karauschen [27] zeigte, liegt der Betrag der Impedanz in einem Bereich von circa 70Ω bis 500Ω und einem Winkel im Bereich von circa -1° bis -13° . Messungen an Lebern sowie Saiblingen mit dem „HP 4284A Präzisions-LCR-Meter“ bestätigen den Betrag der Impedanz, der Bereich des Winkels liegt dabei aber im Bereich von circa -1° bis -30° , wobei dieser Unterschied durch unterschiedlichen Aufbau der Elektroden (Abstand zwischen den Elektroden, Elektrodengröße, usw.) zustande kommt.

Um die Impedanz \underline{Z} berechnen zu können, ist es notwendig den Strom $i(t)$ durch die Probe und die Spannung $u(t)$ an der Probe zu messen. Die zeitabhängigen Verläufe der Spannung und des Stroms sind in Abb. 3.1 skizziert.

Die Impedanz der Probe lässt sich mit

$$\underline{Z} = |\underline{Z}| \cdot e^{j\varphi} \quad (3.1)$$

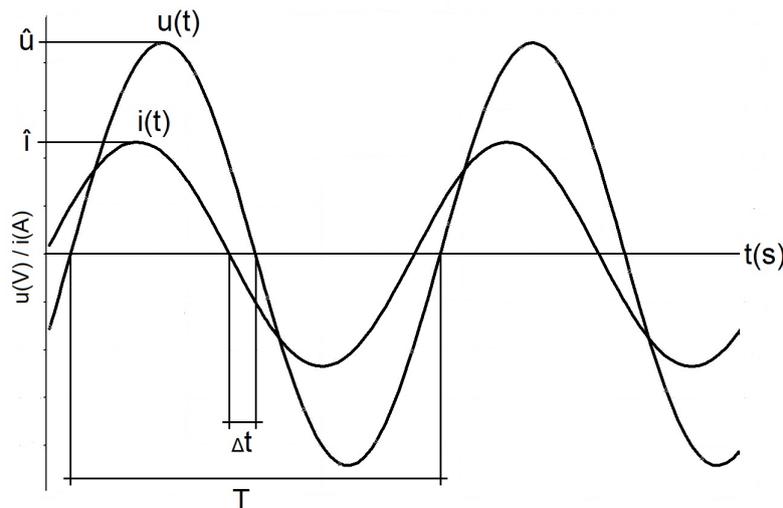


Abb. 3.1: Zeitlicher Verlauf des Stroms und der Spannung an der Probe, schematisch dargestellt.

und der Betrag der Impedanz mit

$$|\underline{Z}| = Z = \frac{\hat{u}}{\hat{i}} \quad (3.2)$$

berechnen.

Der Phasenwinkel φ lässt sich mit dem zeitlichen Abstand der Nulldurchgänge (Δt) berechnen. Dabei gilt:

$$\varphi[^\circ] = \frac{360^\circ}{T} \cdot \Delta t = f \cdot 360^\circ \cdot \Delta t, \quad (3.3a)$$

$$\varphi[\text{rad}] = \frac{2\pi}{T} \cdot \Delta t = f \cdot 2\pi \cdot \Delta t. \quad (3.3b)$$

Wie in Kapitel 2.3 beschrieben wurde, wird der Verlustfaktor d mittels

$$d = \cot(|\varphi|) \quad (3.4)$$

aus dem Betrag von φ berechnet. Dies führt dazu, dass das berechnete d stets positiv ist, da der Kotangens bei einem Winkel von 0 bis 90° einen Verlauf von ∞ bis 0 verfolgt. Eine Phasenverschiebung kleiner -90° ist bei biologischem Gewebe auszuschließen.

3.3 Funktion des Gerätes (Blockschaltbild)

Der Stromgenerator erzeugt aus Gründen die in Kapitel 3.2 erläutert wurden einen sinusförmigen Strom mit einer Amplitude von circa einem Milliampere. Der Stromfluss wird aus dem Spannungsabfall an einem Normalwiderstand (R_N) berechnet. Dieser Widerstand liegt in Reihe mit der Gewebeprobe, die in Schaltbildern als eine Parallelschaltung von einem Widerstand und einem Kondensator dargestellt wird.

Die gegen unendlich gehenden Eingangswiderstände der Spannung-messenden-Schaltungen sind wichtig um Messfehler zu vermeiden. Nach der Messung werden die Spannungssignale für

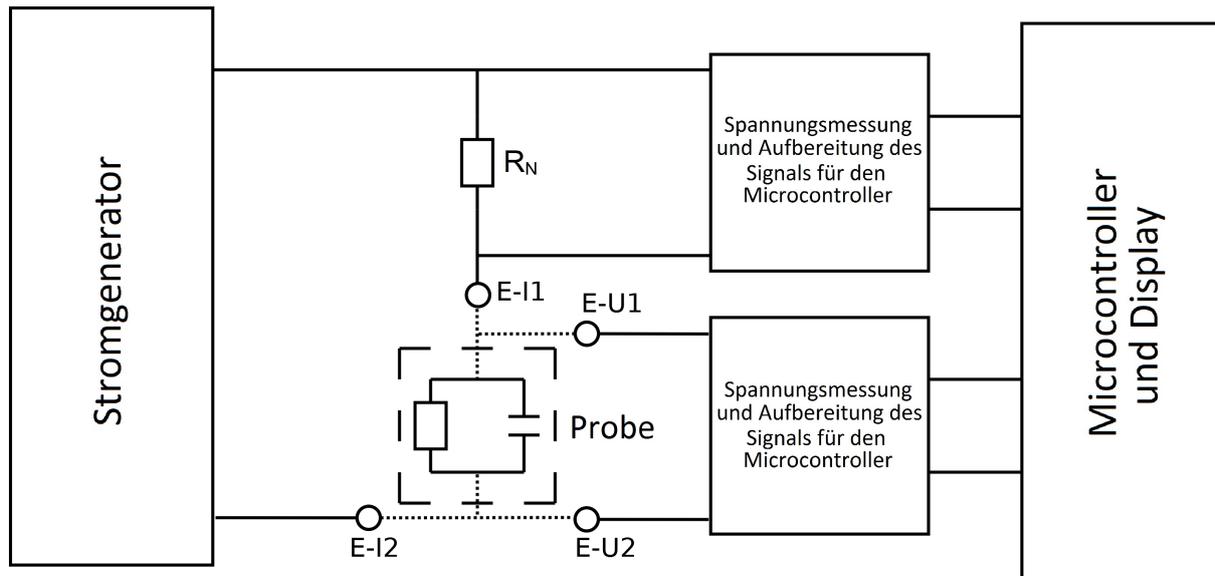


Abb. 3.2: Blockschaltbild des Geräts mit eingezeichneter Position der Probe und der Elektroden (Stromelektroden E-I1, E-I2 und Messelektroden E-U1, E-U2).

die Verarbeitung im Mikrocontroller aufbereitet, das bedeutet es werden die Amplituden und die Nulldurchgänge der Signale herausgefiltert und an den Mikrocontroller übergeben. Dieser nimmt die nötigen Berechnungen vor und gibt die Ergebnisse auf dem Display aus.

Betrachtet man das Blockschaltbild (Abb. 3.2) ist ersichtlich dass das Messgerät auch mit zwei Elektroden arbeiten könnte, in diesem Fall würde die Elektrodenimpedanz das Messergebnis beeinflussen.

3.4 Bedienung des Geräts

In Abb. 3.3 ist das gesamte Gerät abgebildet. Die Platine (halbe Europlatine), ein LCD Display und die Stromversorgung finden in einem Gehäuse der Größe 196 x 100 x 40 mm Platz. Das Gehäuse besitzt eine durchsichtige Plastikabdeckung als Schutz für das Display, innen Befestigungsstifte mit Gewinde für die Befestigung der Platine und ein Batteriefach mit Deckel. Das Gerät wird mit zwei 9 V Batterien oder Akkus betrieben. Diese befinden sich in Abb. 3.5 gezeigtem Batteriefach. Die Messung wird mit Druck auf den Taster (siehe Abb. 3.4) gestartet. Mit dem seitlich am Gerät befindlichen Kippschalter wird die Messfrequenz eingestellt (Kippschalter unten: 10 kHz, Kippschalter oben: 15 kHz). Die Elektroden werden (wie in Abb. 3.4 zu sehen) an der Oberseite des Geräts mittels LEMO Steckverbindung (Stecker: FGG.0B.304 und Buchse: EGG.0B.304) (siehe Abb. 3.6) verbunden.

Auf der Anzeige wird in der ersten Zeile der Betrag der Impedanz sowie der Phasenwinkel und in der zweiten Zeile der Verlustfaktor und die Messfrequenz ausgegeben. Das Display kann kein φ und $^\circ$ darstellen, stattdessen wird ϕ und ein hochgestelltes x verwendet. Dies ist in der Abb. 3.4 zu sehen. Sollte es zu einem Fehler kommen, wird eine Fehlermeldung am Display ausgegeben und die Messung wird gestoppt. Ist keine Probe vorhanden oder liegt das Messergebnis außerhalb des Messbereichs wird dies als Fehler behandelt. Um nach der Behebung eines Fehlers ein Messergebnis zu erhalten, ist ein Neustart der Messung notwendig.



Abb. 3.3: Abbildung des Geräts in der Frontansicht.



Abb. 3.4: Ausschnitt des Geräts mit dem Elektrodenanschluss, dem Display mit einem Messergebnis, dem Taster zum Messen und dem Kippschalter zum Frequenz einstellen (in diesem Fall sind 15 kHz eingestellt).



Abb. 3.5: Geöffnetes Batteriefach mit zwei eingelegten 9 V Lithium-Ionen-Akkumulatoren.



Abb. 3.6: LEMO Steckverbindung, oben: Stecker, unten: Buchse.

3.5 Elektroden

Während der Entwicklung des Geräts bestanden die Elektroden aus geschliffenen Laborlöffeln, die zwischen zwei Polycarbonat-Platten (150 x 80 x 20 mm) fixiert wurden, siehe Abb. 3.7. Jede Elektrode wurde per Koaxialkabel und BNC-Stecker entweder mit dem HP 4284A Präzisions-LCR-Meter oder zum Testen mit der Platine des Geräts verbunden.

Der Vorteil dieser Elektrodenhalterung liegt darin, dass sich die Elektroden verschieben lassen und es somit möglich war verschiedene Elektrodenabstände zu testen. Aus diesem Grund war jede Elektrode einzeln mit der Schaltung verbunden. Es wurden mehrere Testmessungen durchgeführt und die gewonnenen Erfahrungen genutzt, um Elektrodenhalterungen mit fixierten Elektroden zu entwerfen und anzufertigen. Diese Elektroden sind auch kleiner und somit handlicher gebaut. Weiteres wird nur eine Leitung genutzt um die Elektroden mit dem Gerät zu verbinden.



Abb. 3.7: Elektrodenhalterung mit flachen Elektroden (geschliffene Löffel) und benannten Elektroden (Stromelektroden E-I und Messelektroden E-U).

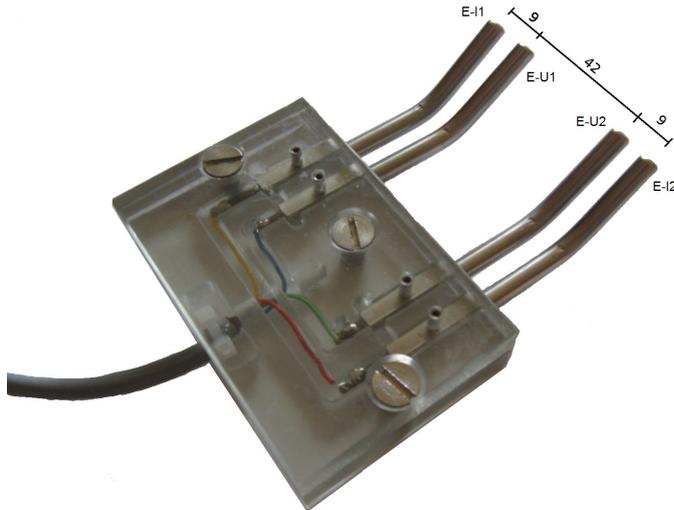


Abb. 3.8: Rundelektroden in Halterung mit benannten Elektroden (Stromelektroden E-I und Messelektroden E-U), Abstand zwischen inneren Elektroden (D) beträgt 42mm. Maße in mm. Im Folgenden als E-g bezeichnet

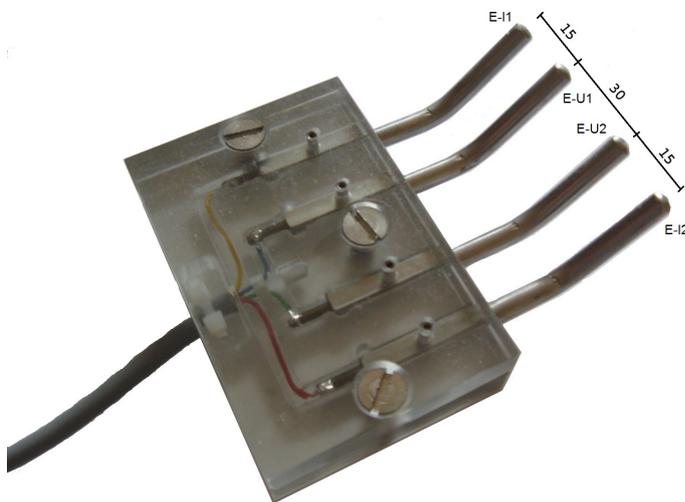


Abb. 3.9: Rundelektroden in Halterung mit benannten Elektroden (Stromelektroden E-I und Messelektroden E-U), Abstand zwischen inneren Elektroden (D) beträgt 30mm. Maße in mm. Im Folgenden als E-k bezeichnet.

Es wurden zwei Halterungen ($89 \times 69 \times 20$ mm) mit fixierten, runden, nicht rostenden Edelstahlelektroden (Werkstoffnummer: 1.4301) mit 5 mm Durchmesser gefertigt (siehe Abb. 3.8 und 3.9). Der Unterschied zwischen den beiden Halterungen liegt im Abstand und der Länge der Elektroden. Der Abstand zwischen den inneren Elektroden (D) bei der ersten Halterung beträgt 42mm und bei der zweiten 30mm. Die Elektrodenlänge beträgt bei der ersten Halterung 60 mm und bei der Zweiten 55 mm. Der Abstand zwischen den beiden äußeren Elektroden ist bei beiden Halterungen 60 mm. Die Halterungen wurde aus zwei Polycarbonat-Platten gefertigt. Außerdem wurden sie so konstruiert dass sie einfach zu reinigen sind. Im Folgenden wird die erste Elektrodenhalterung mit dem größeren Abstand zwischen den inneren Elektroden mit E-g bezeichnet und die Elektrodenhalterung mit dem kleineren Abstand E-k.

Die Elektroden und das Gerät werden mittels einer Diodenleitung (Li2YDY $4 \times 0,08$ mm²; vier separat geschirmte Adern in einem Kabel) und einer LEMO Steckverbindung (siehe Abb. 3.6) verbunden. Die vier Adern in der Messleitung sind einzeln geschirmt um gegenseitige Beeinflussung der Signale zu verhindern.

Kapitel 4

Elektrische Schaltung

In diesem Kapitel werden wesentliche Teile der Schaltung genauer erklärt. Die Schaltung wurde mit Multisim, einer SPICE-Simulationsumgebung von National Instruments, entwickelt. Die in diesem Kapitel vorkommenden Abbildungen wurden damit erstellt, weshalb amerikanische Schaltzeichen verwendet werden.

4.1 Spannungsversorgung

Für die Versorgung aller Komponenten des Geräts sind vier unterschiedliche Spannungen (8 V, -8 V, 5 V und -5 V) notwendig. Damit das Gerät mit einem Akkumulator oder Batterien (siehe Kapitel 3.1) betrieben werden kann ist es notwendig diese Spannungen mittels Fixspannungsreglern sowie Ladungspumpen aus der Akkumulator-Spannung (V_{CC}) zu erzeugen.

Der Spannungsregler MC7808 (IC1) regelt eine Eingangsspannung von mindestens 10 V (mindestens 2 V höher als die Ausgangsspannung) auf 8 V. Um unerwünschte Schwingen zu vermeiden und ein besseres Verhalten bei Lastsprüngen zu erhalten sind die Kondensatoren C1 und C2 notwendig (siehe Abb. 4.1).

Der Spannungsregler LM2904-5 (IC2) regelt die Eingangsspannung von 8 V auf die Ausgangsspannung von 5 V. Die Eingangsspannung muss auch bei diesem Spannungsregler mindestens 2 V über der Ausgangsspannung liegen. Wie beim IC1 ist auch beim IC2 eine externe Beschaltung durch Kondensatoren (C3 und C4) notwendig.

Um aus einer positiven Spannung eine negative zu erzeugen wird die Ladungspumpe LTC1144 eingesetzt. Diese konvertiert Eingangsspannungen von 2 bis 18 V in deren komplementäre Ausgangsspannung von -2 bis -18 V. Dazu benötigt sie zwei Kondensatoren (Einer zwischen CAP+ und CAP- und der zweite zwischen V_{out} und Masse). Laut Datenblatt sollen diese gleich groß sein, jedoch ist die Qualität nicht ausschlaggebend für die Funktionalität.

Die Quellen der negativen Versorgungsspannungen (-8 sowie -5 V) werden mit einem Strom von etwa 70 mA belastet. Die Ausgangsspannung des LTC1144 steigt (abhängig von der Eingangsspannung und der externen Beschaltung) ab einem gewissen Ausgangsstrom schlagartig an. Um die 70 mA mit einer Ladungspumpe liefern zu können wäre eine hohe Eingangsspannung (die Spannung geht aus dem Datenblatt nicht hervor) notwendig, was zu einem hohen Leistungsverlust bei den Bauteilen der Spannungsversorgung führen würde. Aus diesen Gründen werden zwei Ladungspumpen genutzt um den Stromfluss aufzuteilen. Bei einem Strom von 35 mA je Ladungspumpe müssen diese mit einer Eingangsspannung von mindestens 12 V (durch Messungen ermittelt) betrieben werden damit die Ausgangsspannung nicht über -10 V steigt und die beiden nachfolgenden Spannungsregler MC7908 (IC4 und IC7) die Ausgangsspannungen auf -8 V regeln können.

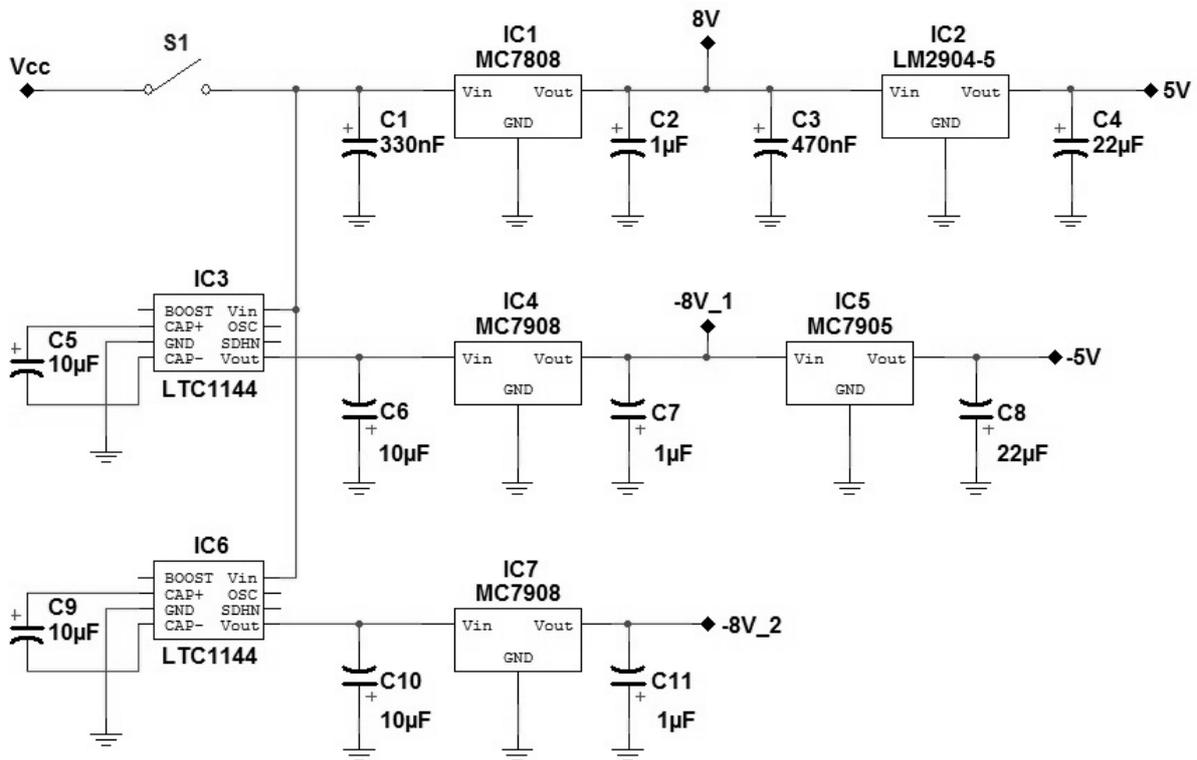


Abb. 4.1: Die Spannungsversorgung des Geräts.

Im Gegensatz zu den Spannungsreglern für die positiven Spannungen (MC7808 und LM2904-5) sind an deren Eingänge keine zusätzlichen Kondensatoren geschaltet, da mit C6 und C10 bereits Kondensatoren mit genügend Kapazität vorhanden sind. Die Kondensatoren an deren Ausgängen (C7 und C11) sind jedoch notwendig um die Ausgangsspannungen zu stabilisieren. Die erste -8 V -Versorgungsspannung (-8 V_1) versorgt die beiden OPVs OPA4277 (siehe Kapitel 4.3) und den Spannungsregler MC7905. Die zweite -8 V -Versorgungsspannung (-8 V_2) versorgt den Funktionsgeneratorchip XR2206 und den OPV LM358N im Stromgenerator (siehe Kapitel 4.2).

Der Spannungsregler MC7905 (IC5) regelt, bei einer Eingangsspannung von -8 V (-8 V_1), die Ausgangsspannung auf -5 V . Um diese zu stabilisieren ist am Ausgang des Reglers der Kondensator C8 geschaltet.

Die Akkumulator- oder Batteriespannung muss über 12 V betragen, ansonsten würden die beiden ICs LTC1144 nicht die korrekten Ausgangsspannungen (Eingangsspannung der beiden ICs MC7908) erzeugen. Die maximale Eingangsspannung eines LTC1144 beträgt 18 V , dies ist somit die maximale Akku- oder Batteriespannung. Der Schalter S1 trennt die Versorgungsspannung von der Schaltung und dient als Ein-/Ausschalter des Geräts. Es handelt sich bei S1 eigentlich um einen Taster, der Multisim-Bauteilkatalog verfügt aber über kein Schaltzeichen für einen Taster.

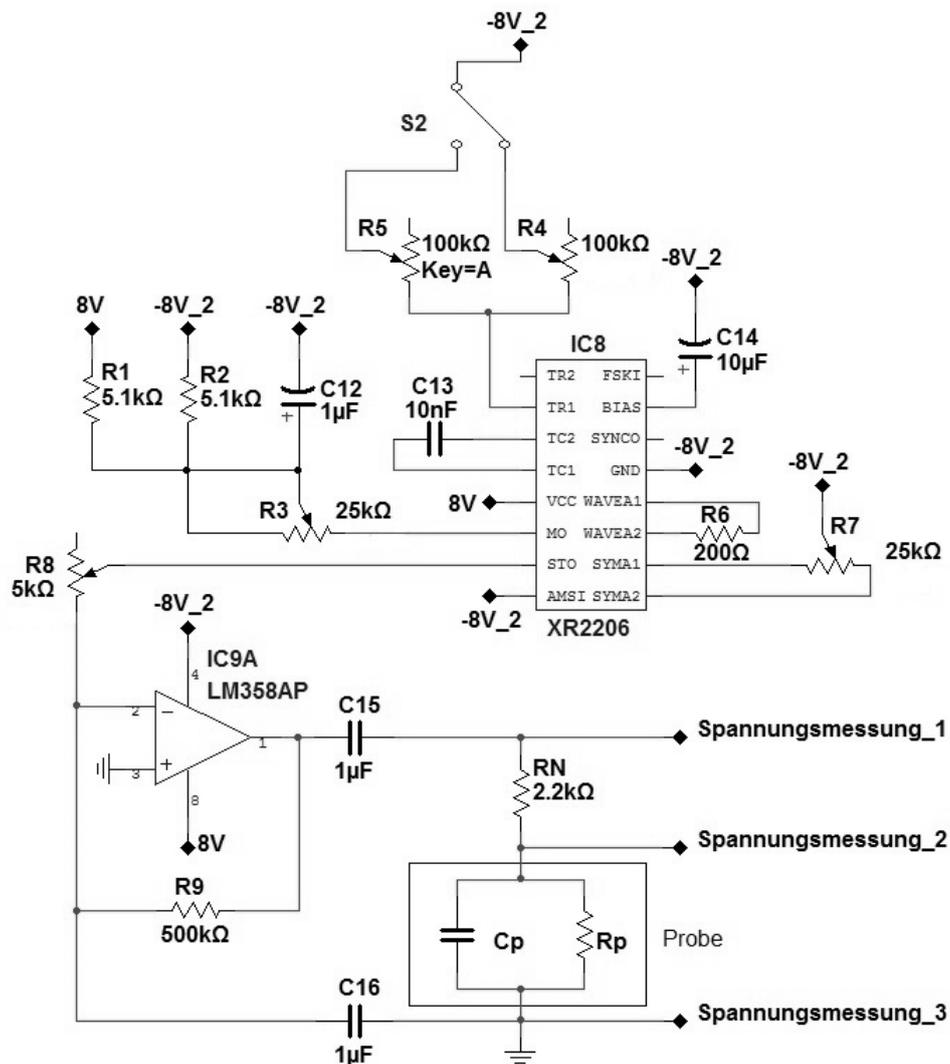


Abb. 4.2: Sinusstromgenerator des Geräts.

4.2 Stromgenerator

Die Aufgabe des Stromgenerators ist es, einen sinusförmigen Strom mit einer Amplitude von circa einem Milliampere zu erzeugen, der durch den Normalwiderstand (R_N) und der Gewebeprobe fließt. Um diesen Strom zu erzeugen wird mit dem Funktionsgeneratorchip XR2206 (IC8) eine Sinusspannung erzeugt. Diese wird mittels Spannung-Strom-Konvertierers in einen Sinusstrom konvertiert.

Der XR2206 muss, um eine Sinusspannung zu erzeugen, mit mehreren Widerständen und Kondensatoren beschaltet werden (Schaltung laut Datenblatt). Mit anderer Beschaltung könnte der Chip auch statt einer Sinus- eine Dreieck- oder Rechteckspannung erzeugen. Die Schaltung am Pin MO bestimmt die Amplitude der Ausgangsspannung die mit dem 25 k Ω Potentiometer (R3) eingestellt wird. Die Frequenz wird mit einer RC-Zeitkonstante, bestehend aus dem Kondensator C13 und entweder dem Widerstand R4 oder R5, eingestellt. Mit dem Umschalter S2

wird entweder R4 oder R5 und somit die Frequenz gewählt. Die Frequenz wird mit der Formel

$$f = \frac{1}{R_4 \cdot C_{13}} \quad (4.1)$$

oder

$$f = \frac{1}{R_5 \cdot C_{13}} \quad (4.2)$$

berechnet. Dabei wird C13 auf 10 nF festgelegt. Um die Frequenzen (10 und 15 kHz) korrekt einstellen zu können, werden statt Widerständen Potentiometer genutzt, deren Werte während einer Frequenzmessung eingestellt wurden. Das Potentiometer R7 wird zur Einstellung der Sinussymmetrie genutzt.

Die vom XR2206 erzeugte Sinusspannung wird an den Eingang eines Spannung-Strom-Konverters gelegt der die Sinusspannung in einen Sinusstrom mit beinahe konstanter Amplitude (Höhe wird mit R8 und R9 eingestellt und ist von der Probengröße abhängig) umwandelt. R8 erfüllt neben der Einstellung der Stromamplitude auch noch die Funktion als Strom-begrenzender Widerstand. Es ist notwendig die gleich- und niederfrequenten Anteile aus dem Signal zu filtern, dies wird mit den Kondensatoren C15 und C16 durchgeführt.

Um die Größe von R_N zu bestimmen müssen mehrere Faktoren beachtet werden:

- 1) Er darf nicht größer als 5 k Ω sein, dies würde bei einer Stromamplitude von einem Milliampere zu einem Spannungsabfall von 5 V führen. Übersteigt der Strom ein Milliampere (bei kleiner Probenimpedanz) würde durch den höheren Spannungsabfall an R_N die Spannung nach der Spannungsmessung (siehe Kapitel 4.3) durch die ± 5 V Versorgungsspannungen der OPVs IC12 (LM358AP) und IC13 (LM393P) begrenzt werden.
- 2) Er soll nicht zu klein sein, da bei einem zu kleinen Normalwiderstand die Impedanz der Probe zu große Auswirkungen auf die Amplitude des Stromes haben würde.
- 3) Um so größer R_N ist, um so größer muss die Amplitude der vom XR2206 erzeugten Spannung sein.

Unter Beachtung dieser drei Punkte wurde die Amplitude der vom XR2206 erzeugten Spannung auf 2,35 V eingestellt, da diese Spannung in Verbindung mit einem 2,2 k Ω großen Normalwiderstand eine Stromamplitude von etwa einem Milliampere erzeugt. Dies wurde mittels Simulationen getestet und in der Praxis zeigte sich, dass es sich um eine passende Kombination aus Spannungsamplitude und Widerstandswert handelt, so dass sich die Stromamplitude im Bereich von 0,9 bis 1,1 mA, abhängig von der Impedanz der Probe, befindet.

4.3 Spannungsmessung und Aufbereitung der Spannung

Wie in Abb. 3.2 gezeigt wurde, sind zwei Spannungsmessungen notwendig um dem Mikrocontroller die Spannungen zu liefern, die er benötigt um die Impedanz berechnen zu können. Die Schaltung zum Messen des Spannungsabfalls am Normalwiderstand R_N und der Probe sind identisch und die Schaltung aus der Abb. 4.3 ist zweimal im Gerät vorhanden.

Es ist wichtig den Eingangsstrom der Spannungsmessung so gering wie möglich zu halten damit keine Messfehler auftreten. Aus diesem Grund wurden an den beiden Eingängen

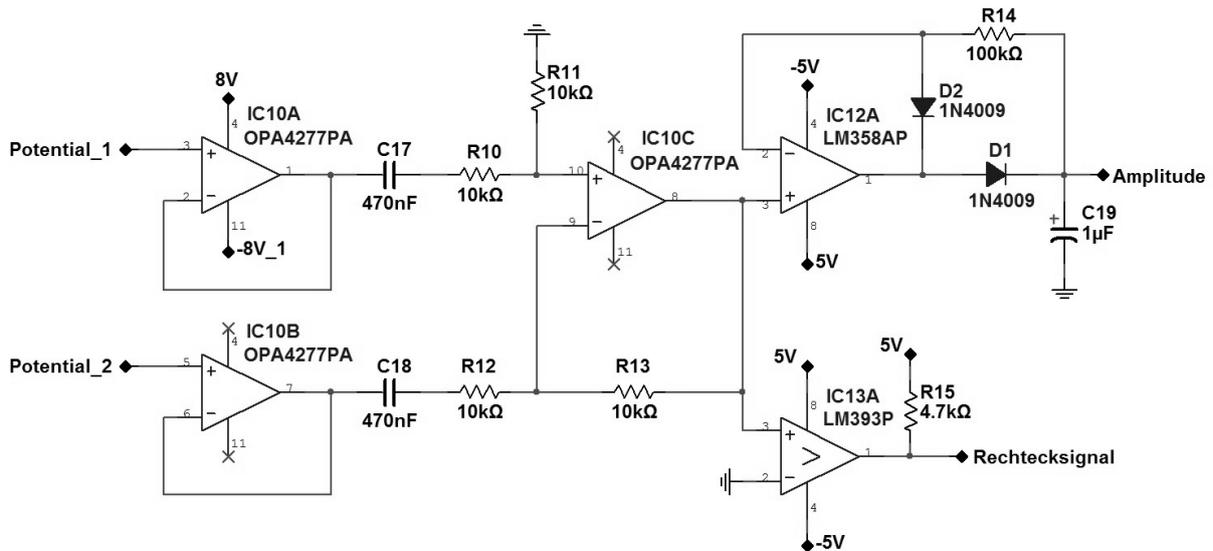


Abb. 4.3: Schaltung zum Messen und Aufbereiten der Spannung für den Mikrocontroller.

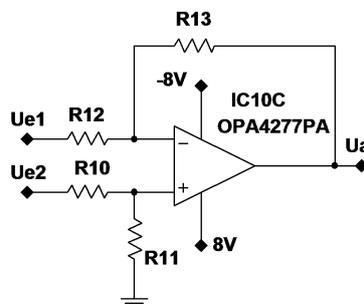


Abb. 4.4: Schaltung der OPV Subtrahierschaltung mit den Eingangsspannungen U_{e1} , U_{e2} und der Ausgangsspannung U_a zwischen den eingezeichneten Punkten und der Masse.

(Potential_1 und Potential_2) zwei Operationsverstärker OPA4277PA (IC10 A und B bzw. IC11 A und B) als Spannungsfolger geschaltet. Nach den Spannungsfolgern befinden sich Kondensatoren (C17, C18, C20, und C21) in Serie um den Gleichanteil aus den Spannungen zu filtern.

Um den Spannungsabfall zu erhalten ist es notwendig, die Spannung an Potential_2 von der Spannung an Potential_1 zu subtrahieren. Dies wird mit einer Operationsverstärker-Subtrahierschaltung durchgeführt, die mit einem OPA4277 aufgebaut ist (Abb. 4.4 zeigt die Subtrahierschaltung mit Ein- und Ausgangsspannungen). Da diese Schaltung die Signalquellen belastet, sind niedrige Ausgangswiderstände der Quellen notwendig. Diese Bedingung wird durch die vorgeschalteten Spannungsfolger erfüllt. Da keine Verstärkung der Spannungen erwünscht ist, lassen sich die Widerstandswerte wie folgt festlegen:

Ausgehend davon dass $R_{10} = R_{12}$ und $R_{11} = R_{13}$ ist, ergibt sich für die Ausgangsspannung die Formel

$$U_a = \frac{R_{13}}{R_{12}} \cdot (U_{e2} - U_{e1}) \quad (4.3)$$

und somit für die Verstärkung

$$V = \frac{R_{13}}{R_{12}}. \quad (4.4)$$

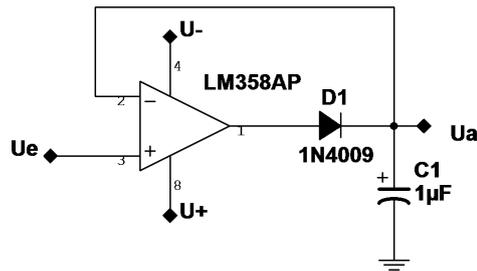


Abb. 4.5: Schaltung für einen einfachen Präzisionsgleichrichter.

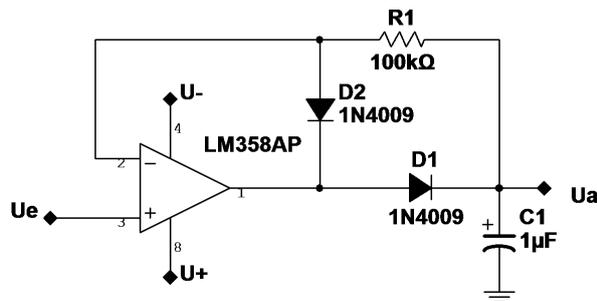


Abb. 4.6: Schaltung eines erweiterten Präzisionsgleichrichter.

Damit die Verstärkung gleich eins ist muss $R_{13} = R_{12}$ sein. Dies führt zu

$$R_{10} = R_{11} = R_{12} = R_{13}. \quad (4.5)$$

Für die Widerstände R10 bis R13 (Beschriftung des IC10C) und R16 bis R19 (Beschriftung des IC11C) wurden 10 kΩ Widerstände gewählt. Die Ausgangssignale der Subtrahierer müssen für den Mikrocontroller aufbereitet werden. Dieser benötigt zur Berechnung der Probenimpedanz die Amplituden und die Nulldurchgänge der Spannungen.

Um die **Amplituden** aus den Spannungen zu erhalten werden Spitzengleichrichter, Präzisionsgleichrichter mit Ladekondensatoren, verwendet. In Abb. 4.5 ist ein einfacher Präzisionsgleichrichter und der Ladekondensator (C1) dargestellt. Mit dem rückgekoppelten Operationsverstärker kann die Diode (D1) als ideal angesehen werden, da der Operationsverstärker die Durchlassspannung der Diode (circa 0,7 V) durch eine erhöhte Ausgangsspannung kompensiert.

Wird an diese Schaltung eine negative Eingangsspannung U_E angelegt, geht die Ausgangsspannung in Sättigung. Wird U_E wieder positiv, dauert es länger die richtige Spannung am Ausgang zu erhalten, da die Ausgangsspannung aus der Sättigungsspannung in den positiven Bereich gebracht werden muss. Um diesem Verhalten entgegenzuwirken wird die Schaltung erweitert. Dies ist in Abb. 4.6 dargestellt. Es wird eine zweite Diode (D2) hinzugefügt, die verhindert, dass der Operationsverstärker bei negativem U_E zu weit in den negativen Bereich aussteuert. Bei positiver Eingangsspannung lädt sich der Kondensator auf die Spitzenspannung auf und hält diese dann konstant. Wird die Eingangsspannung wieder negativ, sperrt der Gleichrichter, weiterhin kann es zu einem Stromfluss über D2 kommen, wenn die Ausgangsspannung des Operationsverstärkers niedriger als die Kondensatorspannung ist. Damit sich der Kondensator nicht komplett entleert, muss dieser Stromfluss mit dem Widerstand R1 (großer Widerstand um den Strom klein zu halten) begrenzt werden.

Neben der Amplitude ist, wie in Kapitel 3.2 beschrieben, die **Zeit zwischen den Nulldurchgängen** der beiden Spannungen notwendig um die Probenimpedanz berechnen zu können. Dazu

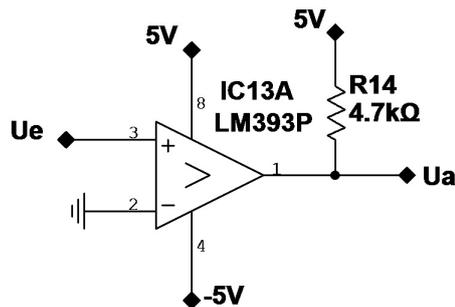


Abb. 4.7: Komparatorschaltung.

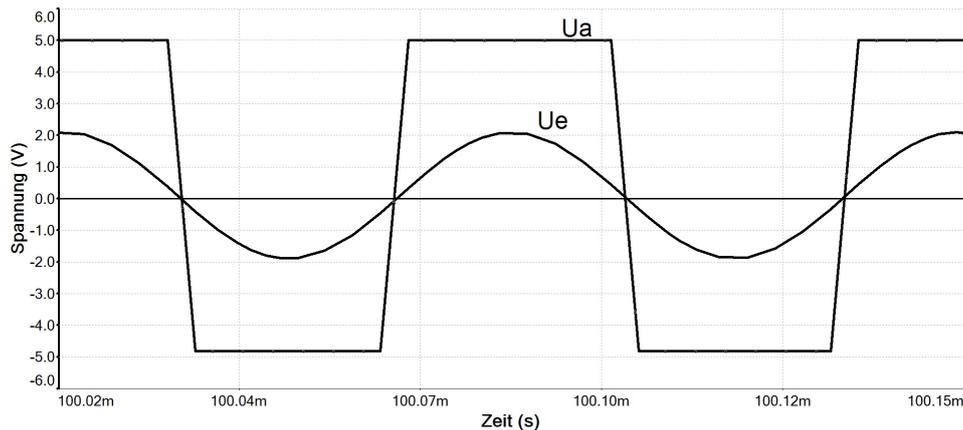


Abb. 4.8: Ein- und Ausgangsspannung des Komparators.

werden Komparatoren (IC13) genutzt, die aus den sinusförmigen Ausgangssignalen der Subtrahierer Rechtecksignale erzeugen. Nach den Komparatoren sind Pull-up Widerstände (R14 und R20) geschaltet, die notwendig sind um passende Spannungsniveaus für den Mikrocontroller zu erhalten. Die Schaltung ist in Abb. 4.7 und die dazu gehörigen Ein- und Ausgangssignale schematisch in der Abb. 4.8 dargestellt. Die Ausgangsspannung wird mittels Dioden (siehe Kapitel 4.4) vor dem Microcontroller gleichgerichtet.

4.4 Mikrocontroller und LCD Display

Mit den zuvor aufbereiteten Signalen (Amplituden und Nulldurchgänge, siehe Kapitel 4.3) wird mit einem Mikrocontroller die Impedanz und Phasenverschiebung (siehe Kapitel 3.2) berechnet und auf einem LCD Display ausgegeben. Die Schaltung ist in Abb.4.9 dargestellt.

Die Eingänge des Mikrocontrollers werden mit Schutzdioden gesichert, so dass keine zu hohe oder negative Spannung an den Eingängen anliegen kann (Spannungsbereich von $-0,5$ bis $5,5$ V). Da Standarddioden mit einer Schwellspannung von $0,7$ V für diesen Zweck ungeeignet wären, werden Schottkydioden (Schwellspannung von $0,3$ V) verwendet. Die Dioden D6 und D7 dienen neben ihrer Funktion als Schutzdioden auch als Gleichrichterioden für die rechteckförmigen Ausgangssignale der Komparatoren (siehe dazu Abb. 4.8).

Der gewählte Mikrocontroller ist ein ATmega324P der Firma Atmel. Dieser hat einen 32kByte Programmspeicher und 32 Ein-/Ausgänge, von denen 8 als Analog-Digital-Konverter genutzt werden können. Bei der Beschaltung des Mikrocontrollers handelt es sich um die Stan-

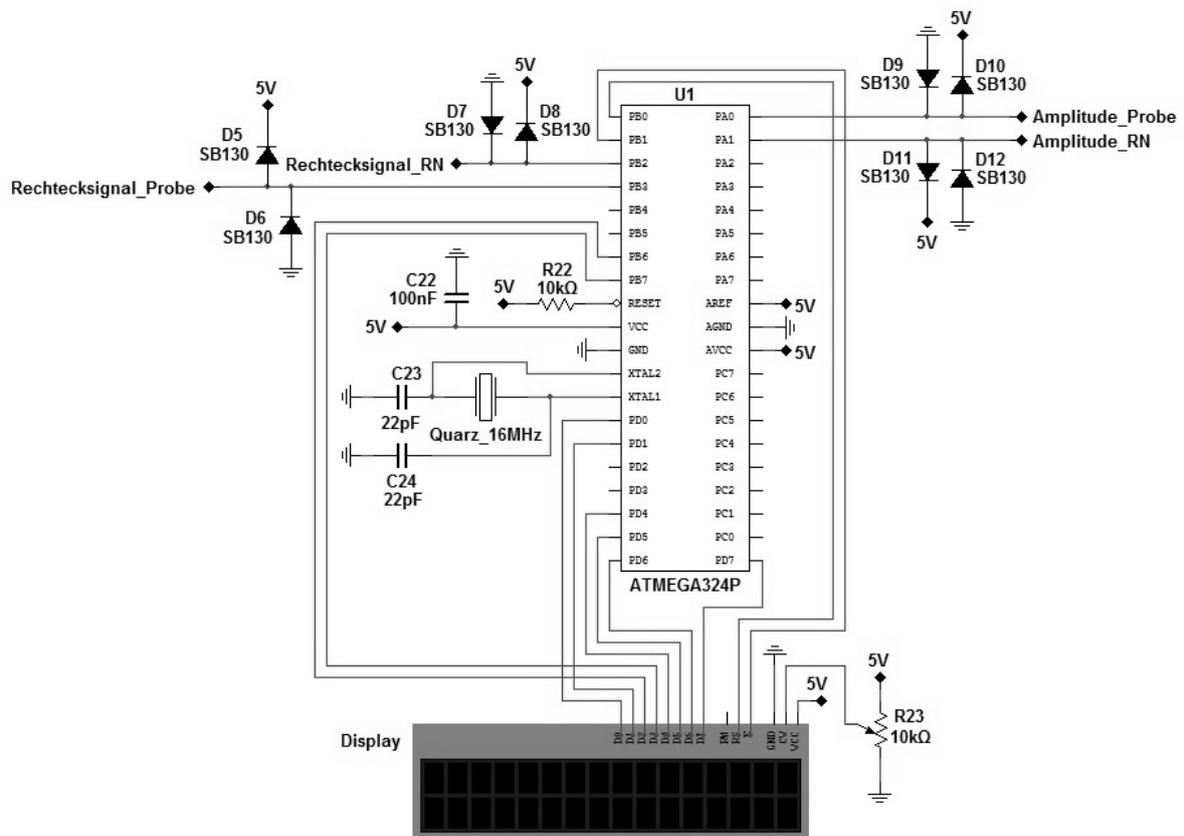


Abb. 4.9: Microcontroller und das LCD Display mit Beschaltung.

darbeschaltung entnommen aus dem Datenblatt. Da die interne Frequenz von 2 MHz zu gering für die Anwendung ist (Auflösung der Zeitmessung ($0,5 \mu\text{s}$) und Abtastrate der A/D-Konverter wären zu klein), ist eine externe Frequenzgebung mit einem 16 MHz Quarz (Maximalfrequenz des ATmega324) notwendig.

Die A/D-Konverter können analoge Signale in 10 bit große Daten umwandeln. Die Referenzspannung wurde auf 5 V festgelegt (gleich der Versorgungsspannung) was bedeutet, dass ein Bit einer Spannung von $4,88 \frac{\text{mV}}{\text{Bit}}$ ($\frac{5\text{V}}{1024\text{Bit}}$) entspricht. Die Amplituden werden an je einen A/D-Konverter-Eingang des Mikrocontrollers angeschlossen, die Rechtecksignale an Eingängen die mit den internen Timern verbunden sind.

Um das LCD-Display ansteuern zu können, werden 10 Ausgänge benötigt. Es sind 8 Ausgänge notwendig um dem LCD-Display-Treiber das anzuzeigende Symbol oder einen Befehl mitzuteilen (8 Bit Datenbus), ein Ausgang um dem Treiber mitzuteilen ob an dem Datenbus ein Befehl oder ein Symbol anliegt (RS) und ein „Enable“-Ausgang, welcher, wenn er umgeschaltet (von high auf low oder umgekehrt) wird, dem Treiber mitteilt dass er die Daten des Datenbusses übernehmen soll. Außerdem besitzt das Display einen Eingang, an dem die anliegende Spannung den Kontrast des Displays festlegt. Aus diesem Grund wurde ein Potentiometer (R23), das als Spannungsteiler dient, an diesen Eingang angeschlossen und der Kontrast wurde damit passend eingestellt.

Kapitel 5

Programmbeschreibung

In diesem Kapitel wird das Programm beschrieben. Dazu wird der Programmablauf in neun Punkte unterteilt und beschrieben.

Programmablauf

1. Definitionen, Deklarationen, und Initialisierungen durchführen
2. Periodendauer messen
3. Amplitude der zum Strom proportionalen Spannung messen
4. Amplitude der an der Probe abfallenden Spannung messen
5. Berechnen des Betrags der Impedanz
6. Phasenverschiebung messen
7. Verlustfaktor berechnen
8. Fehlerbit überprüfen, falls Fehler aufgetreten ist Fehlermeldung auf LCD Display ausgeben; ansonsten
9. Betrag der Impedanz, Phasenverschiebung in Grad, Verlustfaktor, und Frequenz auf dem LCD Display ausgeben

Nach den Definitionen, Deklarationen, und Initialisierungen (**Punkt 1**) folgt eine while-Schleife die, solange kein Fehler auftritt, wiederholt wird.

Bei den Messungen kommt es manchmal zu schwankenden Messergebnissen, selten auch zu einzelnen stark vom Mittelwert abweichenden Messfehlern. Um den Einfluss solcher Fehler zu vermeiden wird in der Programmschleife für die Periode, die Impedanz, und die Phasenverschiebung (in Grad) eine laufende Mittelwertbildung mit der Formel

$$M_{\text{neu}} = M_{\text{alt}} - \frac{M_{\text{Alt}} - M}{n} \quad (5.1)$$

(M_{neu} ... neuer Mittelwert, M_{alt} ... bisheriger Mittelwert, M ... neuer Messwert, n ... Anzahl der Werte) in der Funktion 'mean' durchgeführt. Diese laufende Mittelwertbildung hat gegenüber einer herkömmlichen Mittelwertbildung den Vorteil dass das Programm nicht verlangsamt durchgeführt wird. Nach 10 Durchläufen der Programmschleife wird n nicht weiter erhöht, da sonst der Mittelwert dem Verlauf der Messwerte zu langsam folgen und somit bei längerer Messdauer und sich verändernden Messwerten einen Fehler erzeugen würde.

Punkt 2: Die Periodendauer wird in der Funktion 'measure_periode' gemessen. Dabei werden 20 Messergebnisse gemittelt um Messfehler auszubessern. Sie wird aus dem rechteckförmigen Eingangssignal „Rechtecksignal_RN“ (siehe Abb. 4.9) ermittelt. Dazu wird der Status am Eingang beobachtet. Der Timer des Mikrocontroller wird gestartet (Funktion 'timer_start'), sobald es zu einer positiven Flanke am Eingang kommt und nach der nächsten positiven Flanke gestoppt (Funktion 'timer_stop'). Mit 'timer_out' wird die gemessene Zeit ausgelesen. Gleichzeitig rechnet 'timer_out' die gemessene Zeit von Bit mittels

$$t_{\mu s} = \frac{(t_{\text{gemessen}} - t_{\text{korrektur}}) \cdot \text{TIMEPERBIT}}{1000} \quad (5.2)$$

in μs um. Dabei ist $t_{\text{korrektur}}$ die Zeit, die das Aufrufen der Start- und Stoppfunktion des Timers benötigt um ausgeführt zu werden. Da es sich um einen Fehler in der Zeitmessung handelt, muss sie vom Messergebnis subtrahiert werden. *TIMEPERBIT* ist die Konstante, die sich durch den 10 Bit großen Speicher des Timers und die Frequenz des Microcontrollers (16 MHz) ergibt, dies bedeutet, dass ein Bit 62,5 ns entspricht. Im gesamten Programm wurde für die Zeit die Einheit μs gewählt, weshalb in der Formel 5.2 durch 1000 dividiert werden muss um von ns in μs umzurechnen. Vor weiteren Rechnungen wird die Periodendauer, wie zuvor beschrieben, mittels 'mean' laufend gemittelt.

Punkte 3 und 4: Die zum Strom proportionale Spannung (Spannungsabfall am Normalwiderstand R_N) und die Spannung an der Probe werden in der Funktion 'measure_voltage' ermittelt, wobei der Funktion mitgeteilt werden muss, welcher Analog-Digital-Konverter (ADC) genutzt wird. Bei Messungen zeigte sich, dass die Signale der gleichgerichteten Amplituden („Amplitude_RN“ und „Amplitude_Probe“ (siehe Abb. 4.9)) so stark (für die ADC Auflösung des Mikrocontrollers von $\frac{5V}{1024 \text{ Bit}} \approx 4,883 \text{ mV}$) schwanken dass eine Mittelwertbildung über viele Werte notwendig ist. Da im Mikrocontroller nicht viel Speicherplatz zur Verfügung steht, werden verschachtelte for-Schleifen genutzt, wobei in der inneren Schleife mittels 'read_adc' die eingelesenen Werte vom ADC in einem Array gespeichert und danach gemittelt werden. Das Array darf eine maximale Größe von 64 Einträgen (gewählt wurden 50) nicht überschreiten, da es ansonsten zu einem Überlauf der Integer-Variable kommt in der die summierten Ergebnisse gespeichert werden. Die äußere for-Schleife wird 10 mal durchlaufen, was zu einer Mittelwertbildung von 500 Messwerte führt. Bevor 'measure_voltage' die Spannung in Volt (als float) zurück gibt, wird in der Funktion 'correct_adc' eine Fehlerkorrektur des gemittelten ADC-Werts durchgeführt und in der Funktion 'adcinvolt' mit der Formel

$$\hat{U}_{\text{Volt}} = \hat{U}_{\text{Bit}} \cdot \frac{VCC}{1024 \text{ Bit}} \quad (5.3)$$

(\hat{U}_{Volt} ... zu berechnende Spannung in Volt, \hat{U}_{Bit} ... gemessene Spannung in Bits, VCC ... Versorgungs- und Referenzspannung des μC , 1024 Bit ... Maximale Größe eines mit dem ADC aufgenommenen Wertes) der ADC Wert in Volt umgerechnet.

Punkt 5: Der Betrag der Impedanz wird mit

$$|Z| = \frac{\hat{U}_{\text{Probe}}}{\frac{\hat{U}_{\text{RN}}}{R_N}} \quad (5.4)$$

in der Funktion 'calculate_impedance' berechnet. Bevor der Betrag der Impedanz als richtig angesehen werden kann, muss noch eine Fehlerkorrektur durchgeführt werden. Es wird ein

nicht linearer und frequenzabhängiger Offsetfehler ausgebessert, bevor er, wie zuvor beschrieben (siehe Seite 39), einer laufenden Mittelwertbildung ('mean') unterzogen wird. Der Fehler wurde mittels Messungen an Schweinelebern und anschließendem Vergleichen der Messergebnisse mit den Ergebnissen des „HP 4284A Präzisions LCR Meter“ festgestellt.

Punkt 6: Wie in Kapitel 3.2 beschrieben, lässt sich die Phasenverschiebung aus dem zeitlichen Abstand zwischen dem Spannungs- und Stromverlauf ermitteln. Dies wird in der Funktion 'measure_phaseshift_us' durchgeführt. Diese beobachtet das rechteckförmige Eingangssignal „Rechtecksignal_RN“ (siehe Abb. 4.9) und startet den Timer ('timer_start') nach einer positiven Flanke am Eingang. Nach dem der Timer gestartet wurde, wird der Eingang „Rechtecksignal_Probe“ (siehe Abb. 4.9) beobachtet, und sobald es an diesem zu einer positiven Flanke kommt, wird der Timer gestoppt ('timer_stop'). Der Timer hat die Phasenverschiebung in μs aufgenommen.

In der Funktion 'phaseshift_deg' wird die Phasenverschiebung von μs in Grad umgerechnet (siehe Formel 3.3a). Anschließend wird eine Fehlerkorrektur (linearer Fehler) durchgeführt und ein laufender Mittelwert gebildet ('mean', siehe Seite 39). Der Fehler wurde wie in Punkt 5 beschrieben ermittelt.

Punkt 7: Der Verlustfaktor wird in der Funktion 'calculate_loss_factor' mit der Formel

$$d = \cot(\varphi[\text{rad}]) = \frac{1}{\tan(\varphi[^\circ] \cdot \frac{\pi}{180^\circ})} \quad (5.5)$$

berechnet. Der Mikrocontroller kann keinen Kotangens direkt berechnen, daher wird er mit $\frac{1}{\tan}$ berechnet. Weiteres benötigt der Tangens den Wert der Phasenverschiebung in rad, weshalb $\varphi[^\circ]$ mittels Multiplikation mit $\frac{\pi}{180^\circ}$ in rad umgerechnet wird.

Punkt 8: Bevor die Impedanz, der Verlustfaktor und die Messfrequenz am LCD-Display ausgegeben werden wird überprüft ob die Elektroden an einer Messprobe angelegt sind oder ob die Probe eine zu hohe Impedanz aufweist. Dies ist dann der Fall wenn der Betrag größer als $20\text{ k}\Omega$ und die Phasenverschiebung kleiner als -75° beträgt. Diese Werte wurden nach Messungen ohne Proben festgelegt. Tritt dies auf, wird am Display „keine Probe? Z zu gross“ ausgegeben.

Punkt 9: Kommt es zu keinem Problem, wird auf der ersten Zeile des Displays die Impedanz und auf der zweiten Zeile der Verlustfaktor und die Frequenz ausgegeben.

Anschließend, egal ob Fehlermeldung oder Impedanzausgabe, wird 300 ms gewartet bevor die Programmschleife von vorne beginnt, damit die Anzeige lange genug am Display erscheint und es zu keinem Flimmern der Anzeige kommt.

Funktionen des LCD-Displays: Das Display wird mit einem 8 Bit breitem Datenbus, einer „Enable“- und einer „Register select“-Verbindung (RS) gesteuert. Der Vorgang um das Display anzusteuern bleibt der Gleiche, egal ob es sich um einen Befehl oder Daten (für die Ausgabe) handelt.

- Als erster Schritt muss dem Display mitgeteilt werden, ob es sich um einen Befehl (Display einschalten, Display löschen, Cursorposition ändern, etc.) oder um Daten handelt,

die auf dem Display ausgegeben werden sollen. Dazu wird RS auf 'low' (0 V am Ausgang) gesetzt, falls es sich um einen Befehl handelt oder auf 'high' (5 V am Ausgang) falls es sich um Daten handelt.

- Im nächsten Schritt muss das Byte (entweder Befehl oder Daten) auf den Datenbus gelegt werden. Dies geschieht in der Funktion 'lcd_db'.
- Um den Befehl durchzuführen oder die Daten in den Datenspeicher zu schreiben und auf dem Display auszugeben, muss die „Enable“-Verbindung umgeschaltet werden. Für das ist die Funktion 'lcd_toggle_enable' zuständig.

Wichtig ist hier noch zu beachten, dass die Ausführung eines Befehls eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt, weshalb sich immer wieder kurze Verzögerungen im Programm befinden.

Für Ausgaben von einzelnen Symbolen wird die Funktion 'lcd_write' genutzt, dem der auszugebende Buchstabe im ASCII Code übergeben werden kann. Zahlen werden entweder mit 'lcd_dec_unsigned_out' (vorzeichenlose Integer) oder mit 'lcd_float_out' (float) ausgegeben. Dabei werden Zahlen im Format float mit einer Nachkommastelle (gerundet) ausgegeben.

Kapitel 6

Messergebnisse

Mit dem entwickelten Gerät wurden mehrere Messungen durchgeführt. Die ersten Messergebnisse wurden mit denen des „HP 4284A Präzisions LCR Meter“ verglichen um Korrekturfaktoren bestimmen zu können. Weiteres wurden Messungen an Leberproben von Schweinen, Saiblingen und Karpfen durchgeführt um das Messgerät ausführlicher zu testen.

6.1 Vergleichsmessungen

Zum Testen des in dieser Arbeit entwickelten Geräts wurden zuerst Messserien an Leberproben, Saiblingen und Karpfen durchgeführt, da das grundsätzliche Verhalten der Impedanz von anderen Arbeiten bekannt ist. Diese Messungen wurden mit dem Messgerät und dem *HP 4284A Präzisions LCR Meter* (HP Messbrücke) durchgeführt und darauf geachtet, dass zwischen den Messungen der Messaufbau, im speziellen die Position der Messelektroden, nicht verändert wurde. Da im Microcontroller-Programm keine Unterscheidung bezüglich der Messelektroden gemacht wird, wurde dies in den Messungen nicht berücksichtigt. Da das Programm die Messfrequenz nachmisst, wurde der dadurch entstehende Unterschied bei den Korrekturfaktoren beachtet und es wurden frequenzabhängige Korrekturen durchgeführt.

In der Abb. 6.1 sind Vergleichsmessungen dargestellt. Es ist ersichtlich, dass das Messgerät bei der Impedanzmessung stärkere Schwankungen aufweist als bei der Phasenmessung. Messungen, deren Impedanz und Phase mit mehr als 10 % vom Sollwert (Messergebnis der HP Messbrücke) abweichen, wurden als Fehlmessungen definiert. Es treten allerdings vereinzelt Messungen auf bei denen entweder die Impedanz oder die Phasenverschiebung Abweichungen größer als 10 % aufweisen. Es wird davon ausgegangen, dass es durch die Veränderung des Messaufbaus (Umstecken der Elektroden zwischen Messgerät und HP Messbrücke, minimale Positionsveränderung der Elektroden) zu diesen Fehlern kam.

Die folgenden Messungen wurden mit dem entwickelten Gerät durchgeführt. Es wurden die Elektrodenhalterungen mit den runden Elektroden benutzt (siehe Kapitel 3.5. Folgend werden für die Elektroden mit dem größeren Abstand zwischen den inneren Elektroden ($D = 42\text{mm}$) als E-g und die mit dem kleineren Abstand ($D = 30\text{mm}$) als E-k bezeichnet, weiteres werden in den grafischen Darstellungen g und k als Indizes benutzt um anzuzeigen welche Elektrodenhalterung verwendet wurde. Zum Vergleichen der Elektroden wurde eine Messreihe an Saiblingen mit den flachen Elektroden durchgeführt. Abb.6.2 zeigt die verwendeten Elektrodenhalterungen.

6.2 Messungen an Leber-Proben

Zum Vergleich wurden zwei Leberproben vermessen, eine frische und eine eingefrorene und wieder aufgetaute Leber. Das Einfrieren einer Leber bewirkt dass die entstehenden Eiskristalle die Membranen der Zellen zerstören. Bei beiden Leberproben wurden die Messungen zum Vergleich mit den Elektroden E-g und E-k durchgeführt.

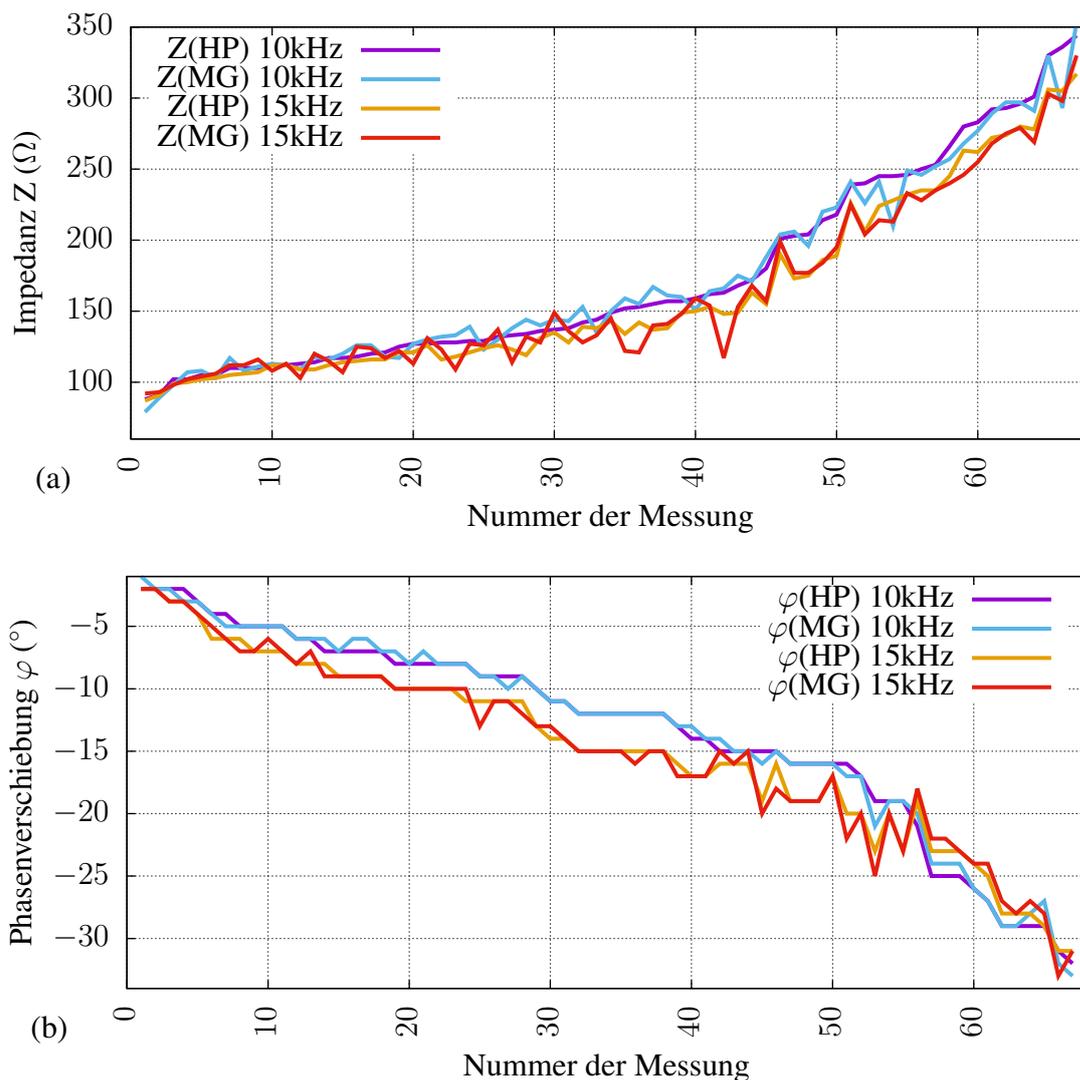


Abb. 6.1: Vergleichsmessungen zwischen dem entwickelten Messgerät (MG) und dem HP 4284A Präzisions LCR Meter (HP) an verschiedenen Medien (Leberproben vom Schwein, Saibling und Karpfen) zu verschiedenen Zeiten. Die Messungen wurden nach der Höhe des Betrags der Impedanz (bzw. der Phasenverschiebung), bei 10 kHz, gemessen mit der HP Messbrücke nummeriert und sortiert. (a) zeigt die Beträge der Impedanz und (b) die Phasenverschiebung.

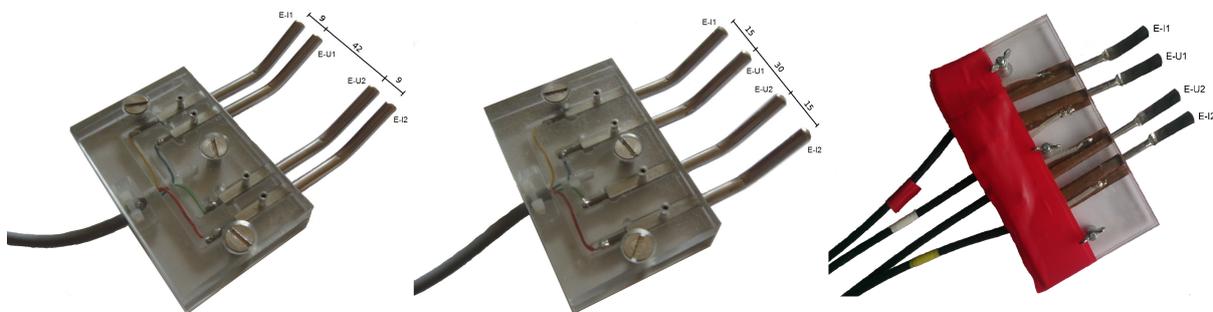


Abb. 6.2: Die verwendeten Elektroden. Links: Elektroden E-g (Abstand der inneren Elektroden $D = 42\text{mm}$), mitte: Elektroden E-k (Abstand der inneren Elektroden $D = 30\text{mm}$), rechts: flache Elektroden. (siehe auch Kapitel 3.5)

6.2.1 Messungen an frischer Leber:

Die Messergebnisse sind in den Tabellen 6.1 und 6.2 aufgelistet. Für die dazugehörigen grafischen Darstellungen siehe Abb. 6.3.

Tabelle 6.1: Messergebnisse einer frischen Leber über 74 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
0	12	258	-7,3	7,8	250	-9,3	6,1
2	9,3	226	-6,7	8,5	220	-8,9	6,4
4	10,1	284	-7,4	7,7	275	-9,5	6
23	8,9	271	-6,6	8,6	263	-8,5	6,7
25	11,5	253	-6,3	9,1	246	-8,1	7
27	11,5	247	-6,2	9,2	240	-7,9	7,2
47	8,8	266	-6,3	9,1	259	-8,1	7
49	9,8	252	-5,9	9,7	245	-7,6	7,5
51	10,8	237	-5,7	10	231	-7,4	7,7
72	9,5	240	-5,6	10,2	234	-7,3	7,8
74	10	233	-5,6	10,2	227	-7,2	7,9

Tabelle 6.2: Messergebnisse einer frischen Leber über 74 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
0	12	140	-6,2	9,2	137	-8	7,1
2	9,3	149	-6,6	8,6	145	-8,6	6,6
4	10,1	153	-6,4	8,9	149	-8,3	6,9
23	8,9	151	-6,3	9,1	147	-8,1	7
25	11,5	152	-6,4	8,9	148	-8,2	6,9
27	11,5	149	-6	9,5	145	-7,8	7,3
47	8,8	146	-5,9	9,7	143	-7,6	7,5
49	9,8	139	-5,5	10,4	136	-7,1	8
51	10,8	142	-5,5	10,4	139	-7,1	8
72	9,5	139	-5,2	11	136	-6,7	8,5
74	10	131	-5,4	10,6	128	-7	8,1

Der **Betrag der Impedanz** fällt, wie erwartet, über die postmortale Zeit, unabhängig von der Messfrequenz und dem Elektrodenabstand. Ein geringerer Messelektrodenabstand (Elektroden E-k) führt zu einem geringeren Betrag. Unterschiedliche Messfrequenzen haben (im Vergleich zum Einfluss durch den Elektrodenabstand) nur einen geringen Einfluss auf die Messergebnisse. Bei den Elektroden E-g liegt der Betrag bei 10 kHz durchschnittlich $7\ \Omega$ höher als bei 15 kHz, bei den Elektroden E-k ist der Betrag bei 10 kHz durchschnittlich um $3,5\ \Omega$ höher als bei 15 kHz.

Wie der Betrag, so steigt auch der **Phasenwinkel** und somit der **Verlustfaktors** bei der frischen Leber im Laufe der Zeit an. Anders als beim Betrag der Impedanz ist beim Winkel und Verlustfaktor die Messfrequenz ausschlaggebender als der Elektrodenabstand. Der Verlauf des Winkels und Verlustfaktors über der Zeit ist bei den Elektroden E-g ähnlich wie bei den Elektroden E-k, bei 10 kHz ist der Winkel und Verlustfaktor größer als bei 15 kHz. Weiteres fällt auf, dass der Abstand zwischen den beiden Verläufen, abhängig von der Frequenz, bei E-k geringer ist als bei Verwendung von E-g. Dies wird durch den geringeren Abstand zwischen den Messelektroden bei E-k hervorgerufen.

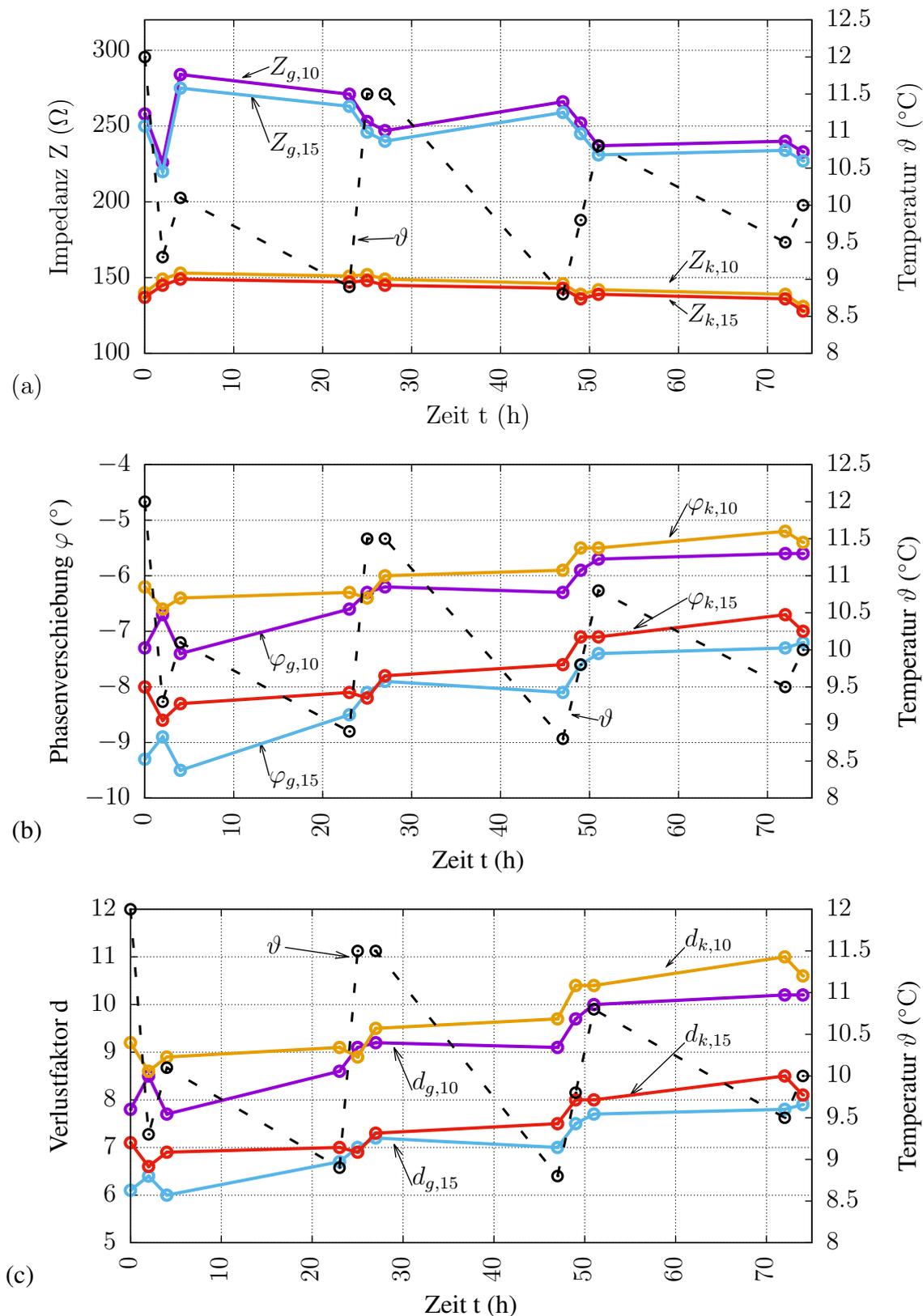


Abb. 6.3: Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (74 h), gemessen an zunächst frischem Lebergewebe. (a) Betrag der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 kHz und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.

6.2.2 Messungen an eingefrorener und wieder aufgetauter Leber:

Die Messergebnisse sind in den Tabellen 6.3 und 6.4 aufgelistet. Für die dazugehörigen grafischen Darstellungen siehe Abb. 6.4.

Tabelle 6.3: Messergebnisse einer drei Tage lang eingefrorenen und wieder aufgetauten Leber, gemessen über 74 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
0	14,9	215	-3,1	18,5	212	-4,2	13,6
2	12	258	-3,4	16,8	255	-4,6	12,4
4	8,3	260	-3,5	16,3	257	-4,7	12,2
23	8,2	273	-3,3	17,3	269	-4,5	12,7
25	11,6	255	-3,3	17,3	250	-4,5	12,7
27	11,8	245	-3,2	17,9	241	-4,4	13
47	8,3	300	-3,2	17,9	296	-4,4	13
49	10,2	286	-3,2	17,9	282	-4,4	13
51	11,9	264	-3,1	18,5	260	-4,2	13,6
72	8,1	279	-3,2	17,9	276	-4,4	13
74	10,4	288	-3,1	18,5	284	-4,2	13,6

Tabelle 6.4: Messergebnisse einer zuvor drei Tage lang eingefrorenen und wieder aufgetauten Leber, gemessen über 74 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
0	14,9	137	-3,1	18,5	135	-4,2	13,6
2	12	161	-3,3	17,3	159	-4,5	12,7
4	8,3	148	-3,8	15,1	147	-5,2	11
23	8,2	173	-3,4	16,8	170	-4,5	12,7
25	11,6	171	-3,3	17,3	169	-4,5	12,7
27	11,8	170	-3,3	17,3	168	-4,5	12,7
47	8,3	179	-3,3	17,3	177	-4,5	12,7
49	10,2	179	-3,3	17,3	176	-4,4	13
51	11,9	175	-3,3	17,3	173	-4,5	12,7
72	8,1	182	-3,2	17,9	180	-4,3	13,3
74	10,4	176	-3,1	18,5	174	-4,2	13,6

Betrachtet man die Messergebnisse, zeigen diese ein klares Bild einer bereits stark gealterten Leber, indem sich die Impedanz im Laufe der Zeit kaum ändert. Wie auch bei der frischen Leber sind die Messergebnisse von der Frequenz und dem Messelektrodenabstand abhängig. Der Betrag wird stark vom Elektrodenabstand, der Winkel und Verlustfaktor stark von der Frequenz beeinflusst.

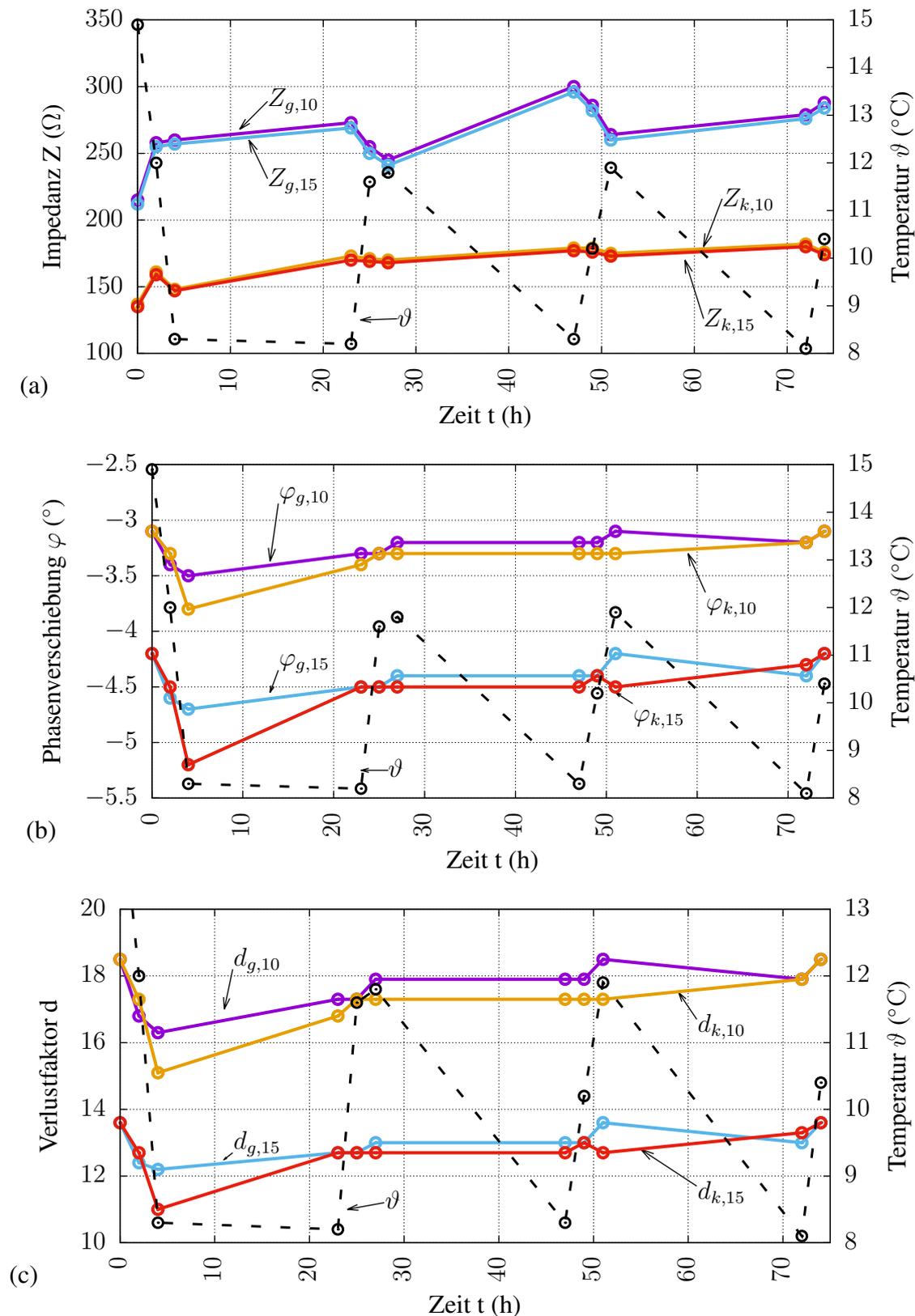


Abb. 6.4: Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (74 h), gemessen an eingefrorenen und wieder aufgetautem Lebergewebe. (a) Betrags der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.



Abb. 6.5: Messung der Impedanz eines Saiblingfilets mit den Elektroden E-k.

6.3 Messungen an Saiblingen

Der Saibling wurde an dem Tag der ersten Messungen lebend gekauft, vom Verkäufer getötet (erschlagen) und filetiert. In der Zeit zwischen den Messungen wurde er im Kühlschrank luftdicht verpackt aufbewahrt und nur für die Messungen aus dem Kühlschrank geholt. In Abb. 6.5 ist die Messung eines Saiblingfilets mit den Elektroden E-k gezeigt. In diesem Kapitel werden Saiblingfilets mit den runden und den flachen Elektroden vermessen um mögliche Unterschiede aufzuzeigen.

6.3.1 Messungen an Saiblingen mit runden Elektroden

Die Messergebnisse sind in den Tabellen 6.5 und 6.6 aufgelistet. Für die dazugehörigen grafischen Darstellungen siehe Abb. 6.6.

Beim Saibling ist der Betrag der **Impedanz** am zweiten Tag höher und die Phasenverschiebung niedriger als am ersten Tag. Dies lässt sich auf die eintretende Totenstarre zurückführen, wie bereits Cox Keith und Heintz Ron [28] feststellten. Der Grund ist, dass der Saibling sich premortal in einem Aquarium befand und am ersten Tag eine feuchtere Oberfläche aufwies als an den darauf folgenden Tagen, da er in der Zwischenzeit, im Kühlschrank gelagert, Feuchtigkeit verloren hat. Ab dem zweiten Tag weist der Verlauf der Impedanz erwartetes Verhalten auf (Betrag Z sinkt, Phasenverschiebung φ und somit auch der Verlustfaktor d steigen). Wie bereits bei der Leber festgestellt, ist der Wert des Betrages stärker vom Elektrodenabstand abhängig als von der Frequenz. Gemessen mit den Elektroden E-g liegt der Betrag bei 10 kHz durchschnittlich um etwa 24Ω , bei den Elektroden E-k 16Ω höher als bei 15 kHz.

In dieser Messreihe liegen die Ergebnisse der **Phasenverschiebung** und des **Verlustfaktors** nahe bei einander, es zeigt sich aber das gleiche Verhalten wie bei Messungen an Leberproben, die Phasenverschiebung und der Verlustfaktor werden stärker durch die Frequenz beeinflusst als vom Elektrodenabstand (niedrigere Phasenverschiebung und Verlustfaktor bei 15 kHz) und der Unterschied zwischen den Ergebnissen (Vergleich 10 kHz zu 15 kHz) ist bei Messungen mit den Elektroden E-k durch den kleineren Elektrodenabstand kleiner als bei Messungen mit den Elektroden E-g.

Tabelle 6.5: Messergebnisse eines Saiblings über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
2	13	234	-22,4	2,4	209	-22,1	2,5
4,5	9,4	256	-23,8	2,3	226	-23,6	2,3
7	9,3	268	-25,1	2,1	236	-24,9	2,2
24,5	9,2	371	-28,7	1,8	319	-30,5	1,7
26	10,3	305	-25,4	2,1	268	-26,5	2
28,5	11,3	338	-24,9	2,2	298	-26,7	2
31	9,5	274	-22,5	2,4	244	-23,8	2,3
48,5	10,9	263	-20,5	2,7	237	-22,5	2,4
50,5	10,3	266	-19,3	2,9	241	-21,3	2,6
52,5	9,5	229	-15,1	3,7	212	-17,4	3,2
54	10,7	209	-14,1	4	195	-16,2	3,4
72	9,7	234	-13	4,3	219	-15,2	3,7
74	9	218	-11,3	5	207	-13,7	4,1
76	9,8	176	-8,2	6,9	170	-10,1	5,6
78	11	176	-8,4	6,8	170	-10,1	5,6

Tabelle 6.6: Messergebnisse eines Saiblings über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
2	13	169	-22	2,5	151	-22,1	2,5
4,5	9,4	170	-22	2,5	152	-22	2,5
7	9,3	169	-23,5	2,3	150	-23,1	2,3
24,5	9,2	202	-26,6	2	175	-27,7	1,9
26	10,3	226	-23,8	2,3	198	-24,6	2,2
28,5	11,3	191	-25,7	2,1	167	-26,8	2
31	9,5	186	-23,6	2,3	165	-25,1	2,1
48,5	10,9	157	-19,3	2,9	141	-20,6	2,7
50,5	10,3	142	-17,7	3,1	129	-19,2	2,9
52,5	9,5	150	-16,5	3,4	137	-18,3	3
54	10,7	149	-15,9	3,5	137	-17,7	3,1
72	9,7	145	-12,7	4,4	136	-14,8	3,8
74	9	135	-11,1	5,1	127	-13,4	4,2
76	9,8	122	-8,1	7	118	-10,3	5,5
78	11	128	-9,1	6,2	123	-11,5	4,9

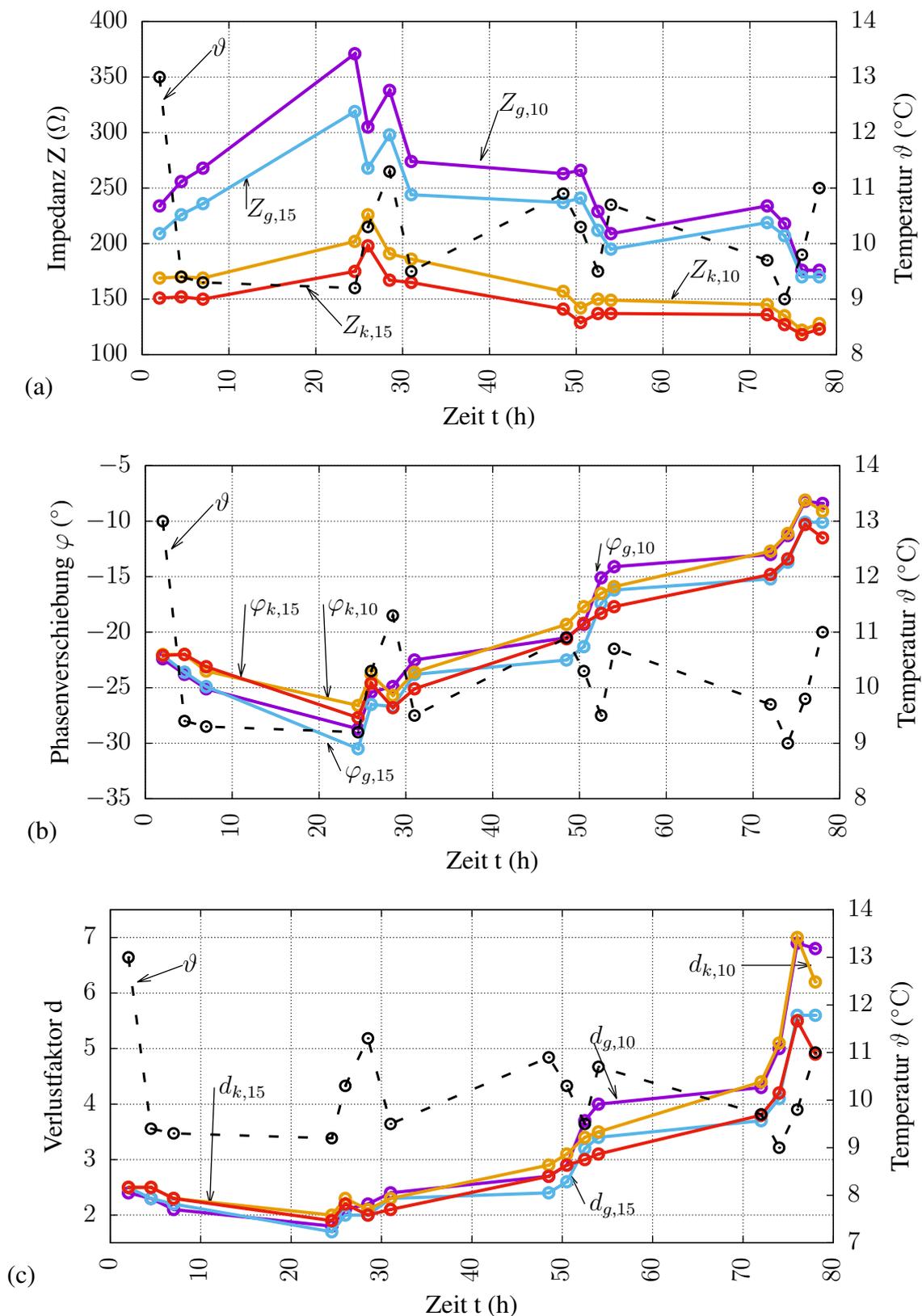


Abb. 6.6: Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (78 h), gemessen an einem Saibling. (a) Betrags der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.

6.3.2 Messungen an Saibling mit flachen Elektroden

Die Messergebnisse sind in der Tabelle 6.7 aufgelistet. Für die dazugehörigen grafischen Darstellungen siehe 6.7.

Tabelle 6.7: Messergebnisse eines Saiblings über 97 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den flachen Elektroden

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
2,5	11	128	-21	2.6	116	-19	2.9
4,5	10,2	152	-25.2	2.1	134	-23.3	2.3
6,5	9,8	157	-27.1	2	138	-25.2	2.1
26,5	8,8	214	-29.1	1.8	186	-28.3	1.9
28,5	9,8	240	-31.1	1.7	206	-31.5	1.6
30,5	9,8	204	-29.4	1.8	175	-29.3	1.8
50,5	9,7	163	-19.3	2.9	148	-20.3	2.7
52,5	10,2	133	-15.4	3.6	123	-14	4
54,5	9,1	153	-15.3	3.7	142	-16.8	3.3
74,5	9,2	127	-9.8	5.8	121	-11.5	4.9
76,5	10,2	121	-8.7	6.5	116	-10.4	5.5
78,5	9,8	110	-7.6	7.5	106	-9.1	6.2
95	8,8	125	-6.3	9.1	121	-8	7.1
97	10,4	110	-5.4	10.6	107	-6.7	8.5

Die Impedanz verhält sich wie bei der Messreihe mit den runden Elektroden. Am ersten Tag ist der Betrag niedriger und der Winkel (sowie der Verlustfaktor) größer als am zweiten Tag, ab dann verhält sich die Impedanz erwartungsgemäß. Auch hier lässt sich dies auf die premortale Lagerung im Aquarium zurückführen.

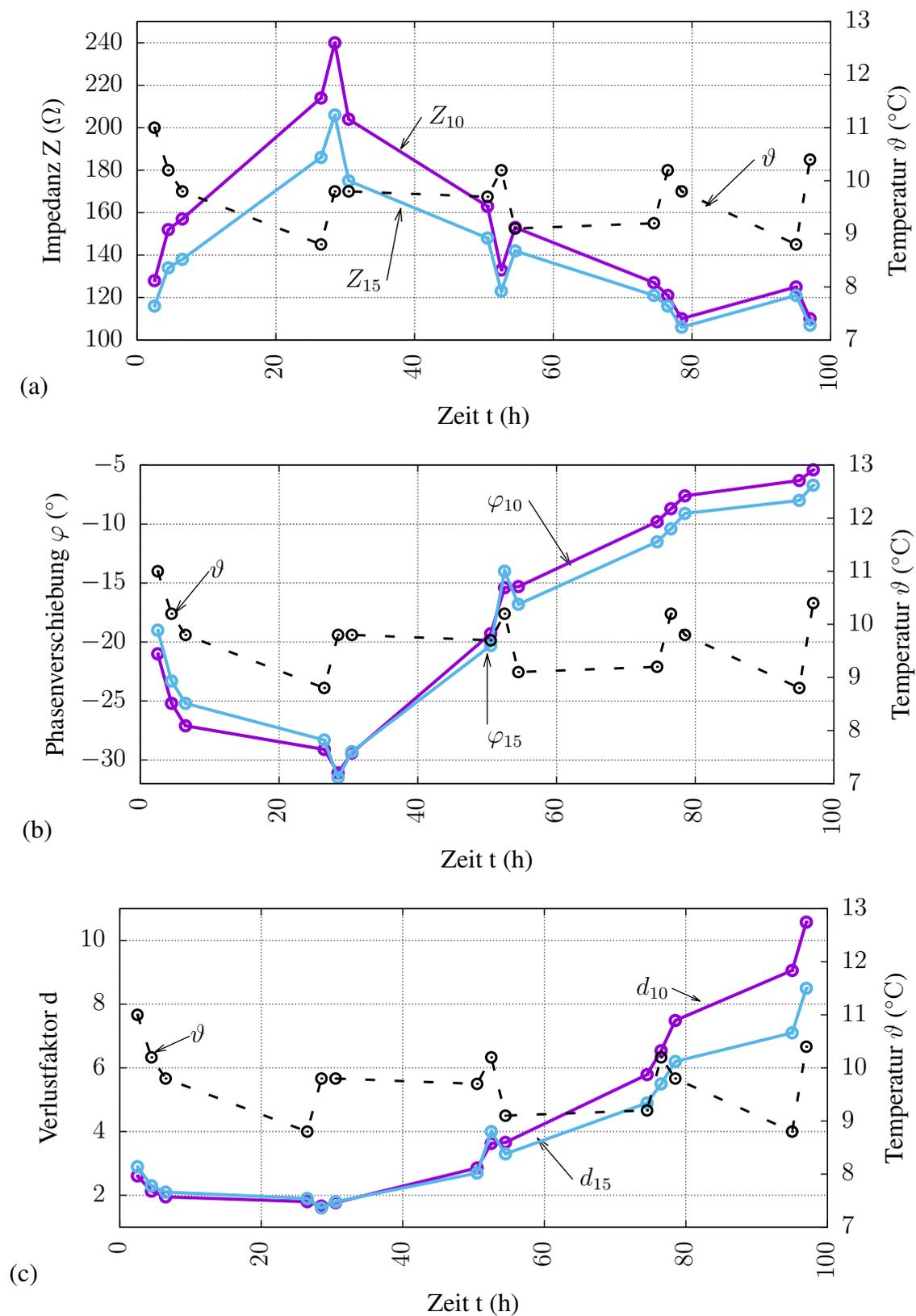


Abb. 6.7: Über der Zeit (97 h), mit flachen Elektroden an einem Saibling aufgenommener Verlauf (a) des Betrags der Impedanz, (b) der Phasenverschiebung und (c) des Verlustfaktors bei 10 kHz und 15 kHz und die dazu gehörige Temperatur. Gemessen wurde mit den flachen Elektroden, die Indizes geben die verwendeten Messfrequenz in kHz an.

6.4 Messungen an Karpfen

Der Karpfen wurden an dem Tag der ersten Messung lebend gekauft, vom Verkäufer erschlagen, filetiert und ein Filet wurde entschuppt. In der Zeit zwischen den Messungen wurden die Filets im Kühlschrank luftdicht verpackt aufbewahrt und nur für die Messungen aus dem Kühlschrank geholt. In Abb. 6.8 sind zwei Karpfenfilets dargestellt, das linke Filet ist nicht entschuppt und das rechte ist entschuppt.



Abb. 6.8: Zwei Karpfenfilets, links nicht entschuppt und rechts entschuppt.

6.4.1 Messungen am nicht entschuppten Karpfen

Die Messergebnisse sind in den Tabellen 6.8 und 6.9 aufgelistet. Für die dazugehörigen grafischen Darstellungen siehe Abb. 6.9.

Die Messergebnisse zeigen einen unerwarteten Verlauf. Der Betrag der Impedanz steigt und die Phasenverschiebung sowie der Verlustfaktor sinken über der Zeit. Dieser Verlauf ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass ein großer Fettgewebeanteil Auswirkungen auf die Impedanz und die Phasenverschiebung (somit auch auf den Verlustfaktor) hat. Der gemessene Verlauf lässt keine Bestimmung des Frischegrades zu. Allerdings ist, wie bei den anderen Messreihen, der Betrag stärker vom Elektrodenabstand als von der Frequenz und die Phasenverschiebung (sowie der Verlustfaktor) stärker von der Frequenz als vom Elektrodenabstand abhängig.

Tabelle 6.8: Messergebnisse eines nicht entschluppten Karpfens über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
2	13,6	348	-16	3,5	323	-19,5	2,8
4,5	9,7	415	-15,7	3,6	383	-21,2	2,6
7	9,5	390	-20,4	2,7	354	-23,8	2,3
24,5	9,6	422	-19,2	2,9	385	-23,6	2,3
26	9,8	436	-21	2,6	396	-24,9	2,2
28,5	9,5	419	-23	2,4	377	-27,6	1,9
31	10	434	-22,8	2,4	390	-26,8	2
48,5	9,5	484	-22,5	2,4	435	-25,8	2,1
50,5	9,4	465	-23,1	2,3	416	-26,8	2
52,5	10,8	376	-23,6	2,3	335	-26,7	2
54	11,7	425	-24,9	2,2	379	-29,2	1,8
72	8,3	561	-23,6	2,3	504	-27,3	1,9
74	9,3	542	-23,4	2,3	489	-27,8	1,9
76	10	479	-27,6	1,9	425	-32,6	1,6
78	11,6	500	-26,1	2	444	-30,2	1,7

Tabelle 6.9: Messergebnisse eines nicht entschluppten Karpfens über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
2	13,6	167	-16,9	3,3	155	-20,8	2,6
4,5	9,7	185	-16,7	3,3	171	-20,2	2,7
7	9,5	183	-18,2	3	168	-21,5	2,5
24,5	9,6	192	-19,6	2,8	175	-22,7	2,4
26	9,8	186	-20,9	2,6	169	-24	2,2
28,5	9,5	194	-20,1	2,7	176	-23,5	2,3
31	10	163	-20	2,7	148	-23,5	2,3
48,5	9,5	188	-21,9	2,5	170	-25,3	2,1
50,5	9,4	208	-21,2	2,6	189	-24,9	2,2
52,5	10,8	177	-22,6	2,4	158	-25	2,1
54	11,7	203	-20,9	2,6	184	-24,6	2,2
72	8,3	211	-24,3	2,2	188	-27	2
74	9,3	204	-28,2	1,9	180	-32	1,6
76	10	203	-24,7	2,2	181	-28,7	1,8
78	11,6	209	-23,1	2,3	189	-27,1	2

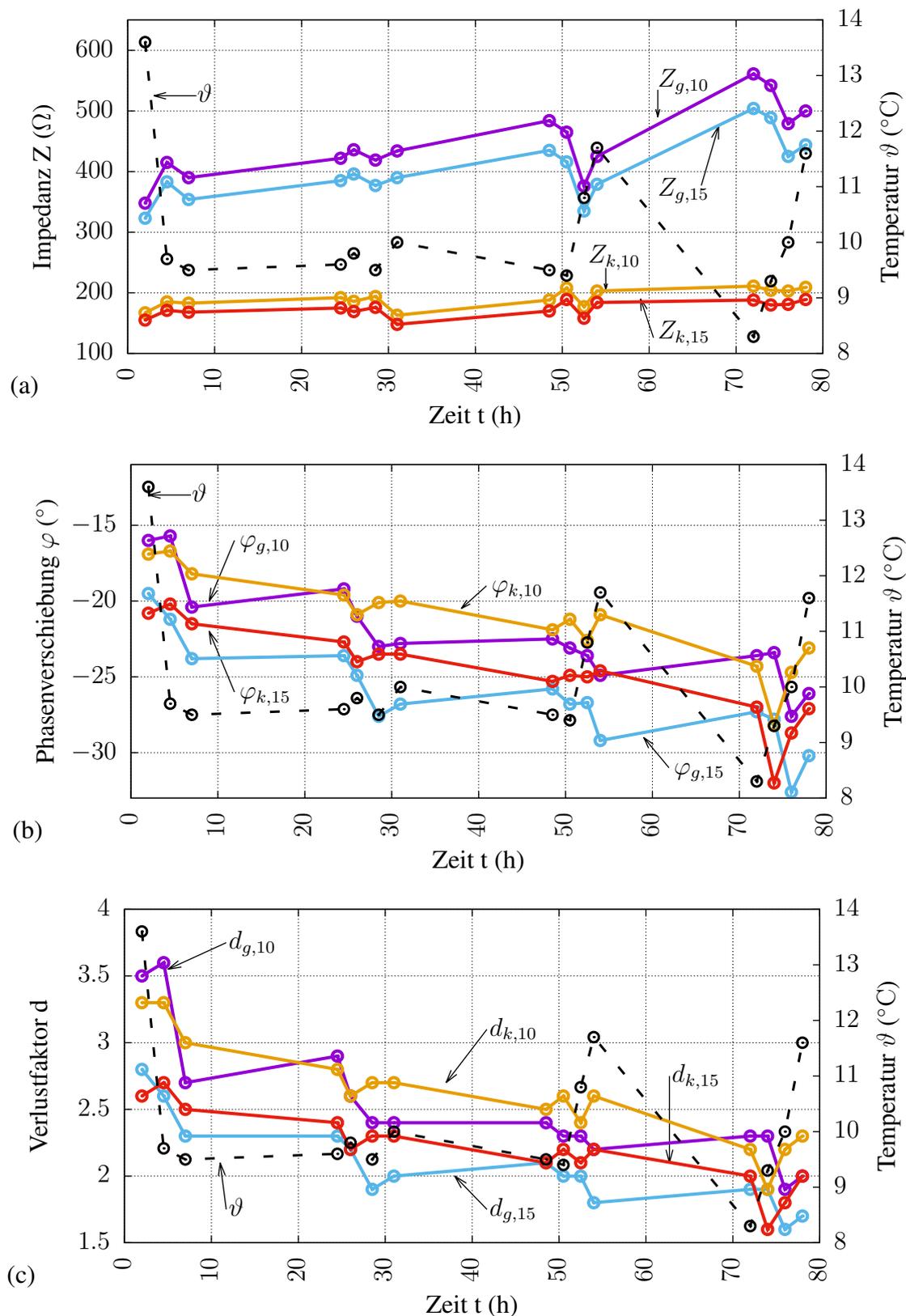


Abb. 6.9: Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (78 h), gemessen an einem nicht entschuppten Karpfens. (a) Beträge der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.

6.4.2 Messungen am entschuppten Karpfen

Die Messergebnisse sind in den Tabellen 6.10 und 6.11 aufgelistet. Für die dazugehörigen grafischen Darstellungen siehe Abb. 6.10.

Tabelle 6.10: Messergebnisse eines entschuppten Karpfens über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
2	13,6	224	-17,1	3,3	204	-19	2,9
4,5	9,7	245	-18	3,1	225	-19,7	2,8
7	9,5	253	-19	2,9	231	-20,7	2,6
24,5	9,6	299	-20,6	2,7	274	-22,3	2,4
26	9,8	296	-20,8	2,6	269	-22,3	2,4
28,5	9,5	316	-21,5	2,5	282	-23,1	2,3
31	10	346	-22,3	2,4	309	-24,3	2,2
48,5	9,5	366	-21,6	2,5	329	-23,8	2,3
50,5	9,4	375	-21,9	2,5	336	-24,1	2,2
52,5	10,8	335	-21,9	2,5	300	-24	2,2
54	11,7	276	-22,4	2,4	237	-24,6	2,2
72	8,3	399	-22	2,5	358	-24	2,2
74	9,3	382	-21,6	2,5	344	-23,7	2,3
76	10	364	-22,1	2,5	327	-24,5	2,2
78	11,6	376	-22,1	2,5	338	-24,6	2,2

Tabelle 6.11: Messergebnisse eines entschuppten Karpfens über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k)

Lagerzeit(h)	Temp.(°C)	10kHz			15kHz		
		Z (Ω)	φ (°)	d	Z (Ω)	φ (°)	d
2	13,6	119	-16,8	3,3	109	-18,4	3
4,5	9,7	126	-17,6	3,2	114	-19,1	2,9
7	9,5	134	-19	2,9	121	-20,6	2,7
24,5	9,6	149	-20,6	2,7	134	-21,9	2,5
26	9,8	153	-21,3	2,6	136	-22,8	2,4
28,5	9,5	180	-22	2,5	161	-23,9	2,3
31	10	154	-22,1	2,5	137	-24	2,2
48,5	9,5	177	-22,2	2,5	158	-24,1	2,2
50,5	9,4	171	-22,8	2,4	153	-24,7	2,2
52,5	10,8	196	-22	2,5	176	-24,4	2,2
54	11,7	175	-21	2,6	158	-23	2,4
72	8,3	193	-21,7	2,5	173	-23,6	2,3
74	9,3	206	-23,2	2,3	183	-25,2	2,1
76	10	205	-21,8	2,5	185	-24,2	2,2
78	11,6	204	-22	2,5	184	-24,2	2,2

Die Messergebnisse zeigen, wie beim nicht entschuppten Karpfen (siehe Kapitel 6.4.1) auch, einen unerwarteten Verlauf. Der Betrag der Impedanz steigt, die Phasenverschiebung und der Verlustfaktor sinken über der Zeit. Dieser Verlauf ist darauf zurückzuführen, dass ein großer Fettgewebeanteil Auswirkungen auf die Impedanz und den Verlustfaktor (sowie die Phasenverschiebung) hat. Der gemessene Verlauf lässt keine Bestimmung des Frischegrades zu. Allerdings ist, wie bei den anderen Messreihen, der Betrag stärker vom Elektrodenabstand als von der Frequenz und die Phasenverschiebung stärker von der Frequenz als vom Elektrodenabstand abhängig.

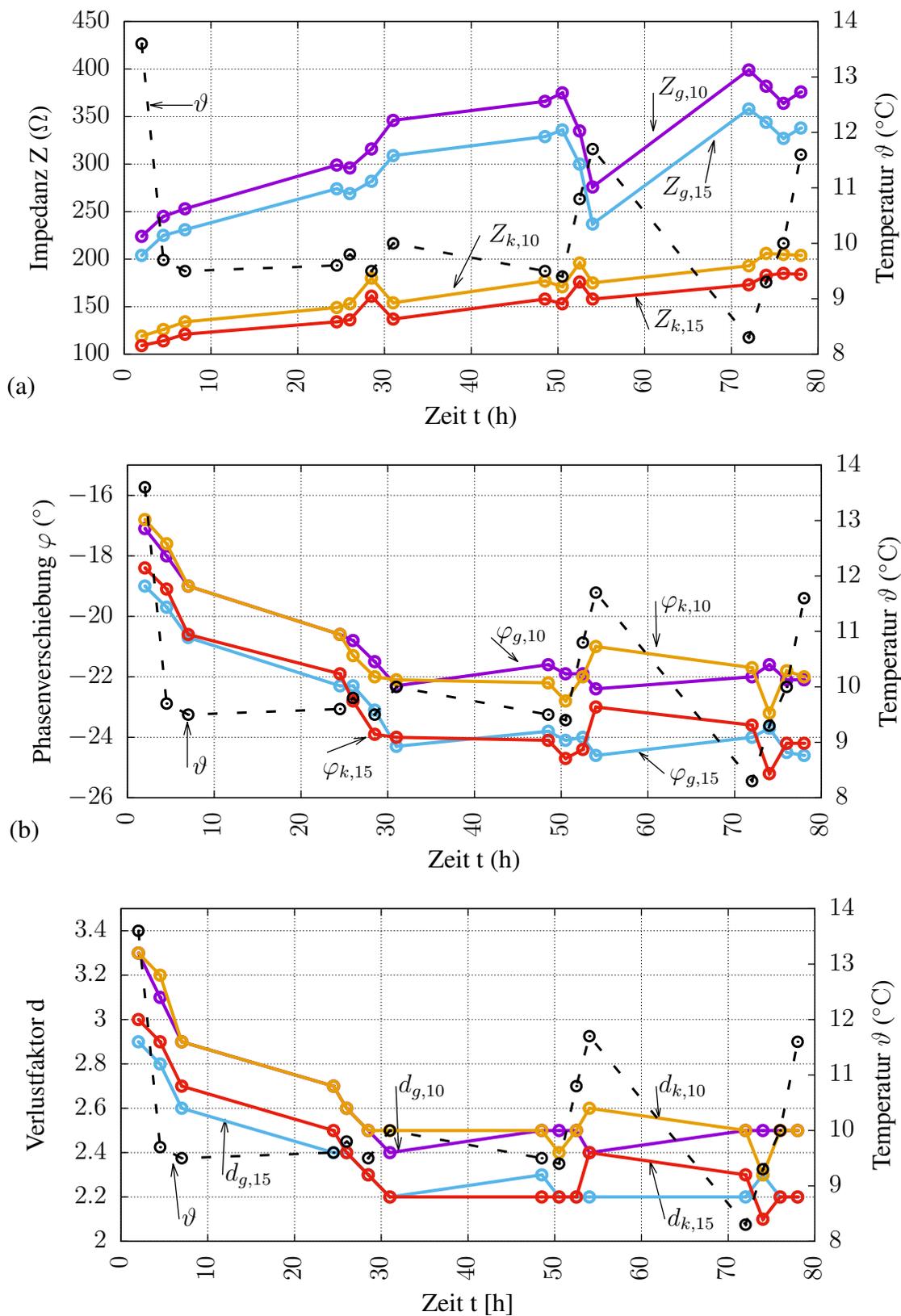


Abb. 6.10: Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (78 h), gemessen an einem entschuppten Karpfen. (a) Beträge der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.

Kapitel 7

Schlussfolgerung

Das Ziel dieser Arbeit war es ein für die Veterinärmedizin geeignetes Gerät zu entwickeln, das den dielektrischen Verlustfaktor von tierischem, postmortalem Gewebe messen kann, um auf dessen Zustand zu schließen. Das Gerät sollte Ergebnisse ohne den Einfluss von Elektrodenimpedanzen liefern. Weiteres sollte es nicht invasiv arbeiten und mehrere Messfrequenzen zur Verfügung stellen.

Durch die Verwendung der Vier-Elektroden-Methode haben Elektrodenimpedanzen hier nur vernachlässigbar kleinen Einfluss auf das Messergebnis. Durch die Verwendung von runden Elektroden, die außen an das Gewebe angelegt werden, und einen geringen Strom durch die Probe (1 mA) leiten, handelt es sich um eine nicht invasive Messung. Das Gerät generiert einen Strom mit einer Frequenz von 10 kHz oder 15 kHz, wählbar durch einen Umschalter.

Vergleichsmessungen (siehe Kap. 6.1) mit dem HP 4284A Präzisions LCR Meter weisen geringe Abweichungen der Messergebnisse auf. Sie sind auf die verwendete Schaltung zurückzuführen (bei der Entwicklung wurde ein Kompromiss zwischen Genauigkeit und Größe gemacht).

Es wurde der Einfluss der Temperatur und von mechanischer Belastung auf das Verhalten des Verlustfaktors gezeigt (siehe Kap. 6.1 und 6.2). Es wurde darauf geachtet, das Gewebe so wenig wie möglich mechanisch zu belasten. Eine genaue Betrachtung des Temperatureinflusses, mit dem eine Temperaturkompensation möglich wäre, wurde in dieser Arbeit nicht durchgeführt. Für diesen Zweck müssten weitere Messungen durchgeführt werden.

Endziel der Arbeit war es, das Messgerät zur Diagnostizierung an frischem tierischen Gewebe post mortem mit intakter zellulärer Struktur zu testen. Erste Messungen wurden an zunächst frischem Lebergewebe durchgeführt. Mit fortschreitender Alterung zeigte sich, im Laufe von drei Tagen Külschranklagerung, bei leicht fallendem Betrag der Impedanz Z ein deutlicher Anstieg der Phasenverschiebung φ (in Richtung positiven Bereich) und somit auch des Verlustfaktors d . Dies weist auf zelluläre Defekte hin und kann somit zur Erkennung langer Lagerung genutzt werden. An tiefgefrorener und wieder aufgetauter Leber zeigte sich von Beginn der Messreihe an ein hoher Verlustfaktor d , der sich im Laufe der Zeit kaum verändert. Wirklich frische Leber kann also an geringem d erkannt werden.

An zunächst frischen Saiblingen zeigte sich nach eintägiger Anfangsphase eine stetige Zunahme von d . Nach etwa vier Tagen erreichte d einen etwa fünffachen Wert, woraus auf (durch Verderbnis hervorgerufene) vollständig abgebaute Zellstruktur geschlossen werden kann.

Deutlich abweichendes Verhalten zeigte sich an Karpfen, wo der Verlustfaktor nicht anstieg, sondern nach vier Tagen auf etwa den halben Wert absank. Theoretisch deutet dies auf starke Einflüsse von Fettgewebeschichten hin, was nähere Untersuchungen nötig macht.

Literaturverzeichnis

- [1] J. Oehlenschläger, “The intellectron Fischtester vi – a neglected and underestimated determination,” *TAFT 2003 - First Joint Trans Atlantic Fisheries Technology Conference*, vol. 48, pp. 121–126, 2003.
- [2] J. Oehlenschläger, “Seafood quality assessment,” *Seafood Processing: Technology, Quality and Safety*, pp. 359–386, 2014.
- [3] K. Futschik, “LVA: Fachvertiefung-Biophysik Skriptum: Elektrische Aspekte,” 2010.
- [4] Wikipedia, “Vierleitermessung — Wikipedia, Die freie Enzyklopädie,” 2013, [Online; 12. November 2015]. [Online]. Available: <http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Vierleitermessung&oldid=122344988>
- [5] G. Magerl, “LVA: Messtechnik Version 9.0,” 2009.
- [6] A. Prechtel, *Vorlesungen über die Grundlagen der Elektrotechnik*. Springer-Verlag, 1995, vol. 2.
- [7] T. Geophysik und Systemtechnik GmbH, “Strom- und Potentiallinien im Halbraum bei einer Vier-Elektroden-Messung,” 2016, [Online; 14. November 2016]. [Online]. Available: <http://www.tricon-online.de/html/resisivity.html>
- [8] S. Kobel, “Entwicklung eines Gerätes zur Bestimmung des Dielektrischen Verlustfaktors von Muskelgewebe,” Master’s thesis, Technische Universität Wien, 1981.
- [9] A. Roberts, *Anatomie und Physiologie*. Dorling Kindersley Verlag, 2011.
- [10] R. Nickel and E. Seiferle, *Eingeweide. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere 2*. Georg Thieme Verlag, 2004, vol. 2.
- [11] G. Westheide, W. und Rieger, *Spezielle Zoologie. Teil 2: Wirbel- oder Schädeltiere*, ser. *Spezielle Zoologie / hrsg. von Wilfried Westheide*. Spektrum Akademischer Verlag, 2009. [Online]. Available: <https://books.google.at/books?id=8JaLBwAAQBAJ>
- [12] S. u. F. Haertel-Borer, “Der wundersame Fisch und seine Welt,” 2009. [Online]. Available: <http://www.fischereiberatung.ch/news/News2010/wunder.pdf>
- [13] A. Magurran, P. Irving, and P. Henderson, “Is there a fish alarm pheromone? a wild study and critique,” *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, vol. 263, no. 1376, pp. 1551–1556, 1996.
- [14] H. Pfützner, *Angewandte Biophysik*. Springer DE, 2011.
- [15] Ø. G. Martinsen, S. Grimnes, and P. Mirtaheri, “Non-invasive measurements of post-mortem changes in dielectric properties of haddock muscle—a pilot study,” *Journal of food engineering*, vol. 43, no. 3, pp. 189–192, 2000.

- [16] A. Hafs and K. Hartman, "Development of temperature correction equations for bioelectrical impedance analysis models for brook trout *salvelinus fontinalis*," *Journal of fish biology*, vol. 86, no. 1, pp. 304–316, 2015.
- [17] H. Pfützner, A. Kleibel, E. Fialik, and K. Futschik, "Einfluß von Kühl- und Gefrierlagerung von Leber auf ihren dielektrischen Verlustfaktor," *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, vol. 184, no. 3, pp. 210–214, 1987.
- [18] S. Vidaček, H. Medić, K. Botka-Petrak, J. Nežak, and T. Petrak, "Bioelectrical impedance analysis of frozen sea bass (*dicentrarchus labrax*)," *Journal of Food Engineering*, vol. 88, no. 2, pp. 263–271, 2008.
- [19] J. Oehlenschläger, "Die Qualitäts-Index-Methode (QIM), ein verlässliches Instrument zur sensorischen Bewertung der Frische von Fisch," *Informationen für die Fischwirtschaft aus der Fischereiforschung*, vol. 51, no. 1, pp. 27–31, 2004.
- [20] distell, "Torrymeter: User and Technical Manual Version 2.7," 2009.
- [21] H. Rehbein and J. Oehlenschläger, *Fishery products: Quality, safety and authenticity*. Wiley.com, 2009.
- [22] A. A. Azeriee, H. Hashim, R. Jarmin, and A. Ahmad, "A study on freshness of fish by using fish freshness meter," in *Signal Processing & Its Applications, 2009. CSPA 2009. 5th International Colloquium on*. IEEE, 2009, pp. 215–219.
- [23] V. Simat, A. Soldo, J. Marsic-Lucic, M. Tudor, and T. Bogdanovic, "Effekt of different storage conditions on the dielectric properties of the sea bass (*dicentrarchus labrax*, l.)," *Acta Adriatica - International Journal of Marine Sciences*, vol. 50, no. 1, pp. 5–10, 2009.
- [24] P. Howgate, A. Johnston, and K. Whittle, "Multilingual guide to EC freshness grades for fishery products. Torry Research Station, Food Safety Directorate, Ministry of Agriculture," *Fisheries and Food, Aberdeen, Scotland*, p. 32, 1992.
- [25] P. VAZ-PIRES, I. Araujo, and R. M. Kirby, "Physical measurement of the quality of fresh scad (*trachurus trachurus*) and rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) during ice storage using the rt freshmeter," *International journal of food science & technology*, vol. 30, no. 6, pp. 799–805, 1995.
- [26] Z. Jun, L. XiaoYu, W. Wei, and Z. Zhu, "Determination of freshness of freshwater fish based on bp-ann and bio-impedance characteristics," in *Intelligent Systems, 2009. GCIS'09. WRI Global Congress on*, vol. 4. IEEE, 2009, pp. 68–71.
- [27] Z. Jun, L. X. Yu, W. Wei, J. Shengjie, Z. Yi, and S. K. Mao, "Non-invasive assessment of fish freshness with bio-impedance and bp-ann method," in *Natural Computation, 2009. ICNC'09. Fifth International Conference on*, vol. 2. IEEE, 2009, pp. 232–235.
- [28] K. W. Cox and R. Heintz, "Electrical phase angle as a new method to measure fish condition," *Fishery Bulletin*, vol. 107, no. 4, pp. 477–487, 2009.

Abbildungsverzeichnis

1.1	Postmortales Verhalten eines schematisch dargestellten Teils eines Gewebes (zwei benachbarte Zellen) im Laufe der Zeit [3]: a) Gesunde Zellstruktur. b) Zellvolumen sinkt (die Membranoberfläche M nimmt ab), extrazellulärer Raum wächst (Abstand B zwischen Zellen steigt), was zu einer höheren Leitfähigkeit γ führt. c) Zellmembran löst sich auf, γ steigt weiter und Permittivität ε sinkt.	2
2.1	Modell der Phasengrenze nach Stern bestehend aus einer starren (adsorbierte Ladungsträger) und einer diffusen Schicht (Ausgleich der noch unkompensierten Ladung im Metall) [3].	4
2.2	Abhängigkeit des Betrages der Elektrodenimpedanz Z_E von der Stromstärke und der Frequenz. Ab einem Strom von 1 mA (entspricht bei dieser Messung etwa einer Stromdichte von $1 \frac{\text{mA}}{\text{cm}^2}$) kommt es zu einer Verringerung von Z_E , umso niedriger die Frequenz um so stärker fällt Z_E [3].	4
2.3	Einfaches elektrisches Ersatzschaltbild einer biologischen Probe mit der Probenimpedanz Z_M und den Elektrodenimpedanzen Z_E . Es ist bekannt, dass die Impedanzen ohmsch-kapazitives Verhalten aufweisen und auf keinen Fall induktives Verhalten zeigen werden, weshalb sie mittels Parallelschaltung von Widerstand und Kondensator dargestellt werden können.	4
2.4	Darstellung der Rasterelektrodenmethode mit eingezeichneten Stromlinien bei (a) gesamter und (b) halbierter Elektrodenfläche [3];	6
2.5	Ersatzschaltbild einer Dreileitermessung;	7
2.6	Ersatzschaltbild einer Vier-Elektroden-Messung;	8
2.7	Schematische Darstellung eines Ausschnitts eines Mediums mit eingezeichneten Stromlinien (durchgehende Linien) und den Äquipotentialflächen (strichliert)(abgewandelt aus [7]).	9
2.8	Aufbau der Fischhaut von echten Knochenfischen [12].	11
2.9	Schuppen eines Karpfens.	11
2.10	Schuppen eines Saiblings.	12
2.11	Typischer Verlauf der (a) Permittivität ε und (b) der Leitfähigkeit γ in Abhängigkeit zur Frequenz f [14].	13
2.12	Modell zur Erklärung der β -Dispersion. Zellen sind als Quadrate mit der Kantenlänge a und der Membrankapazität C_M dargestellt. Die Zellen befinden sich zwischen zwei Elektroden und es kommt zu einem Stromfluss durch die Extrazellulärspalte (S1) und durch die Zelle (S2). [14]	13
2.13	Die Temperaturabhängigkeit der Impedanz Z_M zeigt sich in dieser Kurzzeitmessung über etwa 2 h an einer Probe (Leber eines Schweines), gemessen mit dem HP 4284 Präzisions-LCR-Meter. (a) Betrag von Z_M im Vergleich zur Temperatur ϑ . (b) Phasenwinkel φ von Impedanz Z_M im Vergleich zur Temperatur ϑ . Während der kurzen Messzeit sind keine Gewebeveränderungen zu erwarten.	15

2.14	Mit dem TESTRON-MS gemessener Verlustfaktor von Schweinelebern (Spalte α) unmittelbar nach der Schlachtung, (Spalte β) nach einem Transport, (Spalte γ) nach dem Transport und viertägiger Lagerung bei 2°C, und im Hauptteil nach mehreren Tagen Tiefkühl Lagerung (−20°C und −38°C) [17].	16
2.15	Bilder des Intellectron Fischtester VI. Links: Anzeige des Fischtesters. Mitte: Der Fischtester zum Messen angelegt. Rechts: Gesamter Aufbau des Fischtesters. [1]	17
2.16	Verteilung der Messergebnisse von 155 Rotbarschen kurz nach dem Fang, gemessen mit dem Intellectron Fischtester VI. [1]	17
2.17	Zusammenhang zwischen den Messergebnissen des Fischtesters und der QIM Bewertung. [1]	18
2.18	Das Testron-MS-Testgerät in der Seitenansicht.	19
2.19	Verlustfaktoranzeige des TESTRON-MS-Testgeräts. Um bei kleinem Verlustfaktor eine bessere Auflösung zu erhalten, lässt sich die Skala auf einen kleineren Bereich (linke Skala) einstellen.	19
2.20	Zusammenhang zwischen der Phasenverschiebung φ , bzw. dem Verlustfaktor d und den zu leuchtenden LEDs des TESTRON-MS-Testgeräts (gemessen bei 20°C). [8]	20
2.21	Das Torrymeter im Einsatz. [20]	20
2.22	Typischer Verlauf des Widerstands, der Kapazität und des Q-Faktor (vom Torrymeter genutzter Wert) in Abhängigkeit der Lagertage auf Eis gelagert. [21] .	21
2.23	Mittlere Messergebnisse (in %) des Torrymeters in Abhängigkeit zu den Lagertagen im Kühlschrank. Eingezeichnet sind die Frischebereiche „sehr frisch“, „frisch“, „durchschnittlich“ und „ungenießbar“. [22]	22
2.24	a) Angezeigte Messergebnisse des RT-Freshmeters (inkl. Bereiche der EU (EC) Methode). b) Beurteilungen mit der EU (EC) Methode, in Abhängigkeit zur Zeit post mortem, von auf Eis gelagerten Bastardmakrelen. [25]	23
3.1	Zeitlicher Verlauf des Stroms und der Spannung an der Probe, schematisch dargestellt.	25
3.2	Blockschaltbild des Geräts mit eingezeichneter Position der Probe und der Elektroden (Stromelektroden E-I1, E-I2 und Messelektroden E-U1, E-U2).	26
3.3	Abbildung des Geräts in der Frontansicht.	27
3.4	Ausschnitt des Geräts mit dem Elektrodenanschluss, dem Display mit einem Messergebnis, dem Taster zum Messen und dem Kippschalter zum Frequenz einstellen (in diesem Fall sind 15 kHz eingestellt).	27
3.5	Geöffnetes Batteriefach mit zwei eingelegten 9 V Lithium-Ionen-Akkumulatoren.	28
3.6	LEMO Steckverbindung, oben: Stecker, unten: Buchse.	28
3.7	Elektrodenhalterung mit flachen Elektroden (geschliffene Löffel) und benannten Elektroden (Stromelektroden E-I und Messelektroden E-U).	28
3.8	Rundelektroden in Halterung mit benannten Elektroden (Stromelektroden E-I und Messelektroden E-U), Abstand zwischen inneren Elektroden (D) beträgt 42mm. Maße in mm. Im Folgenden als E-g bezeichnet	29
3.9	Rundelektroden in Halterung mit benannten Elektroden (Stromelektroden E-I und Messelektroden E-U), Abstand zwischen inneren Elektroden (D) beträgt 30mm. Maße in mm. Im Folgenden als E-k bezeichnet.	29
4.1	Die Spannungsversorgung des Geräts.	31

4.2	Sinusstromgenerator des Geräts.	32
4.3	Schaltung zum Messen und Aufbereiten der Spannung für den Mikrocontroller.	34
4.4	Schaltung der OPV Subtrahierschaltung mit den Eingangsspannungen U_{e1} , U_{e2} und der Ausgangsspannung U_a zwischen den eingezeichneten Punkten und der Masse.	34
4.5	Schaltung für einen einfachen Präzisionsgleichrichter.	35
4.6	Schaltung eines erweiterten Präzisionsgleichrichter.	35
4.7	Komparatorschaltung.	36
4.8	Ein- und Ausgangsspannung des Komparators.	36
4.9	Microcontroller und das LCD Display mit Beschaltung.	37
6.1	Vergleichsmessungen zwischen dem entwickelten Messgerät (MG) und dem HP 4284A Präzisions LCR Meter (HP) an verschiedenen Medien (Leberproben vom Schwein, Saibling und Karpfen) zu verschiedenen Zeiten. Die Messungen wurden nach der Höhe des Betrags der Impedanz (bzw. der Phasenverschiebung), bei 10 kHz, gemessen mit der HP Messbrücke nummeriert und sortiert. (a) zeigt die Beträge der Impedanz und (b) die Phasenverschiebung.	44
6.2	Die verwendeten Elektroden. Links: Elektroden E-g (Abstand der inneren Elektroden $D = 42\text{mm}$), mitte: Elektroden E-k (Abstand der inneren Elektroden $D = 30\text{mm}$), rechts: flache Elektroden. (siehe auch Kapitel 3.5)	44
6.3	Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (74 h), gemessen an zunächst frischem Lebergewebe. (a) Betrag der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 kHz und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.	46
6.4	Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (74 h), gemessen an eingefrorenen und wieder aufgetautem Lebergewebe. (a) Betrags der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.	48
6.5	Messung der Impedanz eines Saiblingfilets mit den Elektroden E-k.	49
6.6	Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (78 h), gemessen an einem Saibling. (a) Betrags der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.	51
6.7	Über der Zeit (97 h), mit flachen Elektroden an einem Saibling aufgenommener Verlauf (a) des Betrags der Impedanz, (b) der Phasenverschiebung und (c) des Verlustfaktors bei 10 kHz und 15 kHz und die dazu gehörige Temperatur. Gemessen wurde mit den flachen Elektroden, die Indizes geben die verwendeten Messfrequenz in kHz an.	53
6.8	Zwei Karpfenfilets, links nicht entschuppt und rechts entschuppt.	54
6.9	Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (78 h), gemessen an einem nicht entschuppten Karpfens. (a) Betrags der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.	56

6.10 Verlauf der Impedanz und der Temperatur über der Zeit (78 h), gemessen an einem entschuppten Karpfen. (a) Betrags der Impedanz, (b) Phasenverschiebung und (c) Verlustfaktors bei 10 und 15 kHz. Die Indizes geben die verwendeten Elektroden (g...großer Abstand der Spannungselektroden, k...kleiner Abstand der Spannungselektroden) und die Messfrequenz in kHz an.	58
--	----

Tabellenverzeichnis

2.1	Messergebnisse des Torrymeters (TM) im Vergleich zur EU Methode und zur QIM bei Messungen an Wolfsbarschen. Abgewandelt aus [23]	22
6.1	Messergebnisse einer frischen Leber über 74 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g	45
6.2	Messergebnisse einer frischen Leber über 74 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k	45
6.3	Messergebnisse einer drei Tage lang eingefrorenen und wieder aufgetauten Leber, gemessen über 74 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g	47
6.4	Messergebnisse einer zuvor drei Tage lang eingefrorenen und wieder aufgetauten Leber, gemessen über 74 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k	47
6.5	Messergebnisse eines Saiblings über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g	50
6.6	Messergebnisse eines Saiblings über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k	50
6.7	Messergebnisse eines Saiblings über 97 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den flachen Elektroden	52
6.8	Messergebnisse eines nicht entschuppten Karpfens über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g	55
6.9	Messergebnisse eines nicht entschuppten Karpfens über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k	55
6.10	Messergebnisse eines entschuppten Karpfens über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-g	57
6.11	Messergebnisse eines entschuppten Karpfens über 78 h, gelagert im Kühlschrank, gemessen mit den Elektroden E-k)	57

Danksagung

Zunächst möchte ich mich an dieser Stelle bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Diplomarbeit unterstützt und motiviert haben.

Zuerst gebührt mein Dank Herrn Univ.Prof. Helmut Pfützner, der meine Masterarbeit betreut und begutachtet hat. Ganz besonders möchte ich Herrn Dr.techn. Karl Futschik danken, der meine Arbeit durch seine fachliche und persönliche Unterstützung begleitet hat. Vielen Dank für die Geduld und Mühen.

Darüber hinaus möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mir durch ihre Unterstützung mein Studium ermöglicht haben.

Danken möchte ich außerdem meiner Freundin Carina Krall, die mich mit viel Geduld moralisch unterstützt haben.