

Eiko Thiessen und Eberhard Hartung

# Online-Fettbestimmung im Fisch mit Ultraschall

Bei der Fischmast in modernen Kreislaufanlagen ist eine Bestimmung der Fleischzusammensetzung während der Mast interessant, um durch eine angepasste Fütterung Veränderungen der Fleischzusammensetzung bewirken zu können. Für eine Online-Ermittlung des Fettgehaltes kann die Ultraschallmethode eingesetzt werden, da die Ultraschallausbreitungsgeschwindigkeit vom Fettgehalt abhängt. Im nachfolgend beschriebenen Projekt wurde ergänzend geprüft, inwieweit eine Signalanalyse mit dem Fettgehalt korreliert. Speziell dazu wurde ein Messsystem entwickelt, welches von einer aufgelegten Fischprobe die Dicke, Temperatur und das transmittierte Ultraschallsignal misst. Bei den durchgeführten Untersuchungen zeigten sich gute Ergebnisse, wenn die transmittierte Signalform zur Vorhersage des Fettgehaltes verwendet wird; der Vorhersagefehler lag unter 1 % Fett in der Frischmasse.

## Schlüsselwörter

Ultraschall, Fett, Kreislaufanlagen

## Keywords

Ultrasound, fat, recirculation aquaculture system

## Abstract

Thiessen, Eiko and Hartung, Eberhard

## Online estimation of lipids in fish by means of ultrasound

Landtechnik 68(2), 2013, pp. 95–98, 4 figures, 5 references

The estimation of the fish composition is of interest in modern recirculation aquaculture systems during mast for reacting possibly on changes in composition with an adequate feeding. For an online estimation of lipids ultrasound can be used because velocity of ultrasound propagation is influenced by the fat content. In the following described project the correlation between the signal shape and fat content is checked additionally. For that purpose a measuring system was developed especially which measures the thickness, temperature and transmitted ultrasound signal of a fish sample placed on the sensor. The realised investigations show good results if the transmitted signal shape is used for predicting the fat content. The prediction error is less than 1 % fat in fresh mass.

Der Fettanteil von Fisch ist ein wichtiges Qualitätsmerkmal und kann nach dem Schlachten oder stichprobenartig während der Mast jeweils invasiv nasschemisch bestimmt werden. Eine non-invasive Bestimmung des Fettanteils im Fisch beruht meist auf der indirekten Messung des Wassergehaltes und der Ausnutzung der Wasser-Fett-Korrelation [1]. So wird beispielsweise beim Handmessgerät „Distell Fish Fatmeter“ [2] Mikrowellenstrahlung verwendet, welche sensibel auf den Wassergehalt reagiert.

Ultraschall als Untersuchungsmethode zur Fettbestimmung hat den Vorteil, dass er sich im Wasser sehr gut ausbreitet und der Fisch somit nicht zwingend, wie bei Mikrowellen- oder Nahinfrarotstrahlung, als Probe aus dem Becken entnommen werden muss. Da die Ultraschallgeschwindigkeit wasserabhängig ist, kann sie ebenfalls zur Bestimmung der Wasser-Fett-Korrelation herangezogen werden: In reinem Fischöl beträgt die Ausbreitungsgeschwindigkeit bei 12 °C 1500 m/s, in reinem Wasser 1450 m/s [3]. Aufgrund dieses Geschwindigkeitsunterschiedes erscheint es grundsätzlich möglich, ein Gemisch aus Fett, Wasser und Protein – wie es im Fischfleisch auftritt – bei bekannter Temperatur zu quantifizieren. Der Zusammenhang der Anteile an Fett  $l$ , Wasser  $w$  und Protein  $p$  zu den jeweiligen Ultraschallgeschwindigkeiten  $c$  wird näherungsweise durch folgende Gleichung beschrieben [4]:

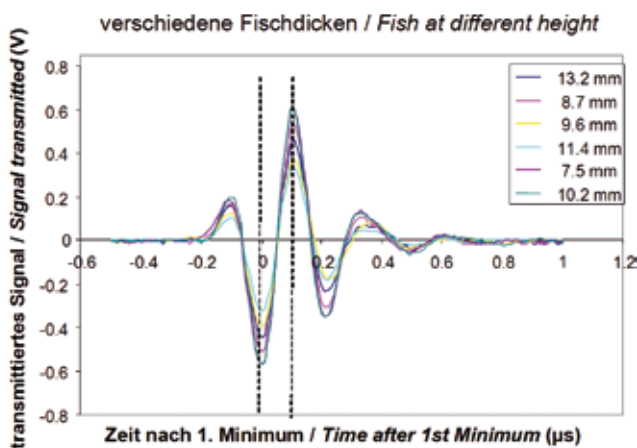
$$\frac{1}{c_{fish}^2} = \frac{l}{c_{lipid}^2} + \frac{p}{c_{protein}^2} + \frac{w}{c_{water}^2} \quad (\text{Gl. 1})$$

Im vorliegenden Artikel sollen Ergebnisse und Möglichkeiten präsentiert werden, den Fettgehalt von Steinbutt aus Kreislaufanlagen – vorerst nach der Schlachtung ohne Probenaufbereitung – durch Ultraschall zu ermitteln.

## Material und Methode

Zur Messung der Ultraschallgeschwindigkeit lateral zum Fischkörper wurde ein spezielles Messsystem entwickelt, welches die Fischdicke und die Temperatur misst und gleichzeitig einen kurzen Ultraschallimpuls (7 ns) mit 5 MHz durch die Probe sendet und das transmittierte Signal aufzeichnet. Der untersuchte Probenausschnitt, der aufgrund der verwendeten Ultraschallköpfe zylinderförmig ist, hat einen Durchmesser von 12,7 mm und eine variable Höhe  $s$  (Fischdicke). Aus der zu durchlaufenden Strecke  $s$  und der benötigten Zeit  $t$  lässt sich die Ultraschallgeschwindigkeit  $v = s/t$  berechnen. Zusätzlich steht die transmittierte Signalform als sogenannter Transient zur nachfolgenden Signalanalyse zur Verfügung. Der „wahre“ Fettgehalt wird abschließend mit einer nasschemischen Standardmethode, z. B. nach [5], als Referenz ermittelt.

Abb. 1



Ultraschallsignale unterschiedlicher Fische mit verschobener Zeitachse

Fig. 1: Ultrasound signals from different fish with shifted timeline

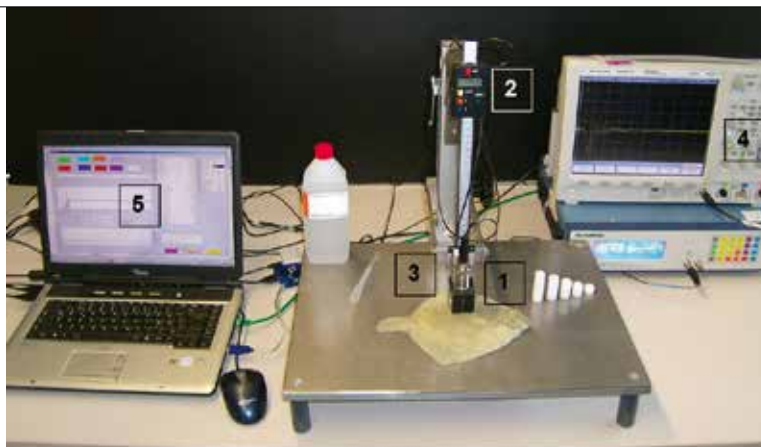
Durch die Messung der Transmission durchläuft das Ultraschallsignal die Probe vor der Datenaufnahme nur einmal und eine evtl. vorhandene Dispersion, d. h. eine Veränderung der Signalform mit der Lauflänge, wird somit minimiert. **Abbildung 1** zeigt die Ultraschallsignale für einige ausgewählte Fischproben. Die Signale werden mit ihrem ersten Minimum der Transmission jeweils auf den Zeitpunkt „Null“ gelegt, um die restlichen Nulldurchgänge zeitlich vergleichen zu können; es zeigt sich eine gute zeitliche Übereinstimmung der Ultraschallsignale von Fischproben unterschiedlicher Dicke. Es ist also davon auszugehen, dass die Dicke der Fischprobe nicht die Signalform bezüglich der Frequenz beeinflusst.

Das Gesamtsystem besteht aus folgenden Komponenten (**Abbildung 2**):

- Ultraschallsender und -empfänger (Olympus Panametrics 5800, 100 µJ) mit 5 MHz Köpfen (Imersion Transducer V326-SU) mit 12,7 mm Durchmesser
- Micrometerschraube (Mitutoyo 164-163 mit 1 µm Genauigkeit) zur Bestimmung der Probendicke
- Temperatursensor PT100
- Digitaloszilloskop (Agilent MS07054A 500 MHz) zum Digitalisieren der Ultraschallsignale, Abtastintervall 0,25 ns
- Laptop mit MatLab R2010a zum Steuern und Dokumentieren

Die Laufzeit der Ultraschallsignale wird durch die Steuerungssoftware MatLab R2010a bestimmt, indem zunächst das erste charakteristische Minimum der Ultraschallwelle durch numerische Ermittlung eines Annäherungspolynoms 7. Ordnung ermittelt wird. Die aus jeder Ultraschallmessung resultierende zeitliche Signalform wird für die nachfolgende multivariate Analyse so aufbereitet und abgespeichert, dass 150 Datenpunkte über 10 ns gemittelt um das zuvor ermittelte erste Minimum extrahiert werden. Dieses Postprocessing wird mit chemometrischen Methoden der Software The Unscrambler 9.6 durchgeführt.

Abb. 2



Ultraschallmesssystem: 1 Ultraschallsender und -empfänger, 2 Micrometerschraube, 3 Temperatursensor, 4 Digitaloszilloskop, 5 Steuerungssoftware

Fig. 2: Ultrasound measure system: 1 ultrasound transducer, 2 micrometer calliper, 3 temperature sensor, 4 digital oscilloscope, 5 control software (Foto: Thiessen)

Durch die zeitliche Normierung wird sichergestellt, dass die eigentliche Laufzeit und damit die von der Fischdicke abhängige, unterschiedlich lange Laufstrecke keinen Einfluss auf die Signalformauswertung hat. Der systembedingte Offset der Ultraschallgeschwindigkeitsmessung – die aufgezeichnete Zeit vom Senden des Impulses bis zur Detektion beträgt bei 0 mm Probendicke mehr als  $0 \mu\text{s}$  – wird durch Messung von mehreren Distanzstücken von bekannter Dicke und Ultraschallgeschwindigkeit berücksichtigt und kompensiert.

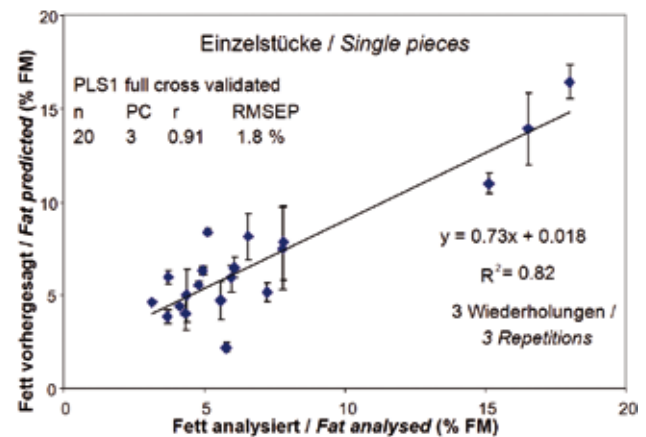
### Versuchsdurchführung und Ergebnisse

Prinzipiell wurde zunächst eine Kalibrierung des Systems an Einzelstücken und abschließend eine Validierung an ganzen Fischen durchgeführt. Durch die Verwendung von Einzelstücken mit einem Durchmesser von 12,7 mm konnten die Stoffeigenschaften von der gemessenen Probe genau bestimmt werden. Die Kalibration wurde dann auf ganze Fische angewendet, indem an mehreren Stellen gemessen wurde und die berechneten Fettgehalte gemittelt wurden. Diese wurden in Relation zur Referenzfettanalyse einer Mischprobe, die bei den durchgeführten Untersuchungen über 3 Fische bestimmt wurde, gesetzt.

Zur Kalibrierung des Messsystems wurden 20 Steinbutte unterschiedlicher Größe (0,1–1,2 kg) verwendet, indem an verschiedenen Stellen Messungen in dreifacher Wiederholung durchgeführt wurden und anschließend genau von diesen Stellen durch Herausstanzen und Bestimmung der Trockenmasse auf den Fettgehalt geschlossen wurde. Eigene Versuche zuvor ergaben eine Korrelation von 0,91 zwischen Trockenmasseanteil und Fettanteil mit der funktionalen Beziehung  $\text{Fett [\% FM]} = 0,7 \cdot \text{Trockenmasse} - 12 \text{ \% FM}$  (ähnlich wie z. B. in [1]). Dieser Umweg wurde gewählt, da die direkte nasschemische Ermittlung des Fettgehaltes von den kleinen ca. 1 g schweren Proben zu großen Messfehlern führt [5]. Die Zuordnung der so ermittelten Fettgehalte mit einer Spannweite von 3 bis 18 % Fett in der Frischmasse zu den Ultraschallgeschwindigkeiten lieferte zufriedenstellende Resultate mit einer Korrelation von 0,91. Aus den Transienten wurde zudem ein multivariates Regressionsmodell mittels einer Partial-Least-Square-Regression (PLS1) mit 3 Hauptkomponenten erstellt, dessen Kreuzvalidierungsparameter (full cross validation) in **Abbildung 3** dargestellt sind. Durch die Wiederholungsmessung zeigte sich zwar eine Streuung in den vorhergesagten Fettgehalten; diese liegt jedoch innerhalb der Vorhersagegenauigkeit des Modells. Entscheidend bei dieser Vorgehensweise der Kalibrierung auf Einzelstücke ist, dass Heterogenitäten innerhalb eines Fisches berücksichtigt werden, sodass Proben mit extremen Fettgehalten, wie die Proben mit bis zu 18 % Fettanteil in der Frischmasse (**Abbildung 3**), mit ihren zugehörigen Ultraschallsignalen in das Modell mit einfließen. Bei einer Kalibrierung des Fettgehaltes durch Mischproben würde ein nicht dem Einzelstück, auf dem die Ultraschallmessung stattfand, entsprechender mittlerer Fettgehalt der jeweiligen Ultraschallmessung zugeordnet.

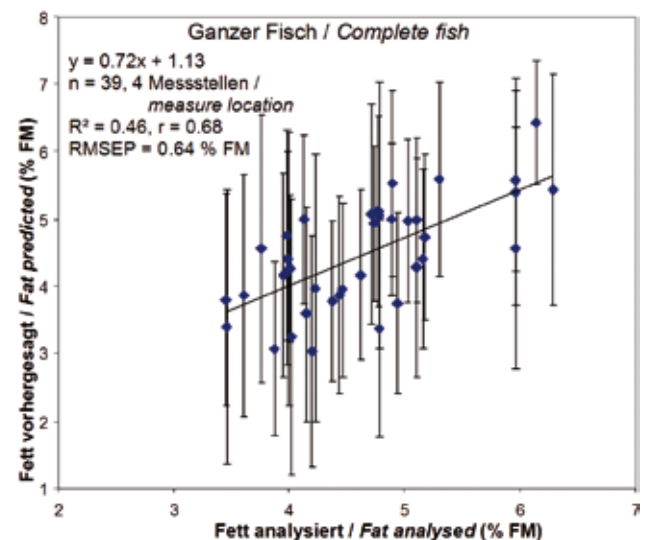
Mithilfe des erstellten multivariaten Regressionsmodells wurde in einem Validierungsversuch mit Steinbutten aus einem Fütterungsversuch mit abschließender Ganzkörper-Fettanalyse der Fettgehalt der einzelnen Messstellen vorhergesagt und über den ganzen Fisch gemittelt. Dabei wurden die Fische nach dem Töten im Hälterungswasser vor der Ultraschallmes-

Abb. 3



Aus der Signalform vorhergesagte Fettgehalte in Abhängigkeit vom analysiertem Fettgehalt (berechnet aus dem Trockenmasseanteil) der Messungen an Einzelstücken. FM: Frischmasse, PC: Anzahl der Hauptkomponenten, RMSEP: Standardfehler der Vorhersage  
 Fig. 3: Fat content of single pieces predicted with the transients versus the analysed fat content (calculated from the dry matter content). FM: fresh mass, PC: number of principle components, RMSEP: root mean square error of prediction

Abb. 4



Aus der Signalform berechnete Fettgehalte in Abhängigkeit vom analysierten Fettanteil der Ganzkörperanalyse. FM: Frischmasse, RMSEP: Standardfehler der Vorhersage  
 Fig. 4: Fat content predicted with the transients versus the analysed fat content of the whole fish. FM: fresh mass, RMSEP: root mean square error of prediction

sung durch eine geregelte Heizung auf 25 °C gehalten. Die Proben temperatur während der Messung wurde zusätzlich erfasst. Es fanden je drei Ultraschallmessungen an vier verschiedenen Stellen am Fischkörper (zwei am Rücken, zwei in der Mitte) von je drei Einzelfischen aus 39 Becken statt, d. h. insgesamt von 117 Fischen. Die Fettanalyse fand nach der Gefrierdrying einer Mischprobe der drei Fische aus jedem Becken statt und ergab also insgesamt 39 Fettanalysewerte. **Abbildung 4** zeigt die so ermittelte Abhängigkeit der vorhergesagten Fettgehalte – gemittelt über die Messstellen der drei Fische einer Mischprobe – zu den analysierten Referenzfettgehalten. Die hohe Streuung der vorhergesagten Fettgehalte liegt in der Heterogenität der Fettverteilung innerhalb der Fische begründet. Die Mittelwerte, welche auch nasschemisch ermittelt wurden, stimmen jedoch insgesamt gut mit den Referenzwerten überein. Der recht hohe Offset von etwa 1,1% Fett in der Frischmasse ist wahrscheinlich dadurch begründet, dass die Einzelstück-Proben für die Kalibration aus einem anderem Fischbestand stammen als die Ganzkörper-Proben für die Validation.

### Schlussfolgerungen

Die Genauigkeit der Ultraschallmethode erscheint mit einem Vorhersagefehler von 0,64% Fett in der Frischmasse bei einer Spannweite von etwa 3–7% recht gering. Sie ist jedoch mit der Referenzmethode ins Verhältnis zu setzen, welche bei einer Dreifach-Bestimmung in diesem Versuch im Bereich von 0,6% Fettanteil in der Frischmasse lag. Außerdem scheint der Steinbutt mit seinem geringen Fettgehalt kein geeigneter Kandidat für diese Methode zu sein. Untersuchungen an Fischen

mit einem höheren absoluten Fettgehalt und damit auch einem größeren Spannungsbereich stehen noch aus. Nichtsdestotrotz ist die Ultraschallmethode geeignet, non-invasiv den Fettgehalt von Fischen abzuschätzen und kann wahrscheinlich auch an die Messung von freischwimmenden Fischen angepasst werden, da Ultraschall im Wasser keinen direkten Kontakt des Sensors zur Probe voraussetzt.

### Literatur

- [1] Kent, M. (1990): Hand-held instrument for fat/water determination in whole fish. *Food Control* 1(1), pp. 47–53
- [2] Nielsen, D.; Hyldig, G.; Nielsen, J.; Nielsen, H. H. (2005): Lipid content in herring (*Clupea harengus* L.) – influence of biological factors and comparison of different methods of analyses: solvent extraction, Fatmeter, NIR and NMR. *LWT – Food Science and Technology* 38, pp. 537–548
- [3] Shannon, R. A.; Probert-Smith, P. J.; Lines, J.; Mayia, F. (2004): Ultrasound velocity measurement to determine lipid content in salmon muscle; the effects of myosepta. *Food Research International* 37, pp. 611–620
- [4] McClements, D. J. (1991): Ultrasonic characterization of emulsions and suspensions. *Advances in Colloid and Interface Science* 37, pp. 33–72
- [5] Sedlmeier, H.; Stolle, A.; Klein, J. (1991): Zur Vereinfachung der Bestimmungsmethoden für Wasser, Fett und Asche in Fleisch und Fleischerzeugnissen. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung* 193, S. 445–448

### Autoren

**Dr. Eiko Thiessen** ist wissenschaftlicher Mitarbeiter und **Prof. Dr. Eberhard Hartung** ist Direktor des Institutes für Landwirtschaftliche Verfahrenstechnik an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Max-Eyth-Str. 6, 24118 Kiel, E-Mail: ethiessen@ilv.uni-kiel.de

### Danksagung

Dieses Projekt war Teil von MASY Aquaculture Competence Center Projekt und wurde gefördert durch das Ministerium für Wissenschaft, Wirtschaft und Verkehr des Landes Schleswig-Holsteins.