

Exposition von Zellsuspensionen

Anlage 1 zum Abschlussbericht zum Projekt „*Untersuchung zu Mechanismen an Zellen unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunktechnologie*“

Projektleitung: Prof. Dr. Jan Gimsa
Lehrstuhl für Biophysik
am Institut für Biowissenschaften

Text: Dr. Jan Sakowski, Prof. Dr. Jan Gimsa

Laufzeit: 01.07. 2003 – 15.09. 2006

Verlängerung: 01.01. 2007 – 30.06. 2007

1 Vorbemerkung

Diese Anlage beschreibt hauptsächlich Arbeiten zur Exposition von Erythrozytensuspensionen, die auf Grund von BfS-Nachforderungen zusätzlich, nach Ablauf der Projektförderung durchgeführt wurden. Der vorgestellte Ansatz ist neu und wurde durch uns zusätzlich in die Projektbearbeitung aufgenommen. Wie die Arbeiten gezeigt haben, sind geplanter Versuchsaufbau und die Versuchsdurchführung erheblich aufwendiger als zunächst angenommen. Die beabsichtigte Klärung der Frage, ob die EMF-Exposition über den rein thermischen Effekt hinaus zu einem erhöhten, feldinduzierten Ionenverlust der Zellen führt, ist trotz einer Reihe von Verbesserungen an Versuchsaufbau und -durchführung auf Grund der technisch bedingten Messungenauigkeiten (noch) nicht möglich.

2 Einleitung und prinzipieller Versuchsaufbau

Die Erfassung des zellulären Ionenverlusts feldexponierter Zellsuspensionen bei niedriger Ionenstärke wurde als unabhängiger Ansatz zur Untersuchung der EMF-Wirkung, neben den Arbeiten an Neurosensorchips, durchgeführt. Ziel war die Erfassung einer Erhöhung des zytoplasmatischen Ionenverlusts über die Zellmembran durch den thermischen Feldeffekt und eines möglicherweise darüber hinaus gehenden, zusätzlich feldinduzierten, spezifischen Effektes. Die Messung der Kinetik des Ionenverlusts sollte über den Anstieg der Suspensionsmedienleitfähigkeit erfolgen [GDG89].

Die Suspensionsmedienleitfähigkeit wurde ursprünglich durch Reflexionsfaktormessung bestimmt. Ein entsprechender Messaufbau wurde in Kooperation mit dem Lehrstuhl für Theoretische Elektrotechnik entwickelt (Abb. 1). Die Messungen erfolgten mit einem Netzwerkanalysator HP 4396A des Instituts für Allgemeine Elektrotechnik der Universität Rostock. Das Gerät sendet ein Messsignal an die Fluidkammer und registriert das Spektrum des reflektierten Signalanteils zwischen 100 kHz und 1,8 GHz als höchster Messfrequenz (Abb. 1).

Die für die Messungen entwickelte Expositionskammer ist für geringe Fluidmengen von 150 µl geeignet (Abb. 2). Ihre technische Realisierung erfolgte in Form eines speziellen Endsteckers für das Koaxialmesskabel. Die Expositionskammer war somit

gleichzeitig Endstecker, Expositions- und Messkammer. Der zwischen Innen- und Außenleiter des koaxialen Endsteckers gebildete Hohlzylinder nimmt die Zellsuspension auf. Bei angelegtem EMF wirkt die Expositions-kammer als Zylinderkondensator und die Zellsuspension als verlustbehaftetes Dielektrikum. Da die Probenkammer klein gegen die Wellenlänge des EMF ist, verhält sie sich wie ein kompakter Abschlusswiderstand, an welchem ein bestimmter Feldanteil reflektiert wird. Ausgangspunkt der Modellierung ist der komplexe Leitwert $Y = G + j\omega C$, mit G als Ohmschem Leitwert der Suspension, $j\omega C$ als kapazitiver Leitwert des Zylinderkondensators (ω - Kreisfrequenz, $f^2 = -1$). Die Impedanz Z des Gesamtsystems wird über den Betrag $|Z|$ und den Phasenwinkel φ gemessen, so dass sich der Reflexionsfaktor r bestimmen lässt (Gleichungen (1) bis (3)). Aus den Gleichungen ist ersichtlich, dass r sowohl von der Geometrie der Expositions-kammer (Radius des Innenleiters r_i und des Außenleiters r_a , Länge der Expositions-kammer l) als auch von den zu ermittelnden dielektrischen Eigenschaften der Zellsuspension (Leitfähigkeit $\sigma(\omega)$ und Permittivität $\epsilon_r(\omega)$) abhängt. Die Expositions-kammer war also prinzipiell dazu geeignet, die Spektren der passiven elektrischen Suspensionseigenschaften, d.h. ihrer Impedanzen mit den entsprechenden Dispersionen zu erfassen. Dazu mussten zunächst die Geometriefaktoren in Glg.1 optimiert werden.

$$Y = G + j\omega C = \frac{1}{R(r_a, r_i, l, \sigma(\omega))} + j\omega C(r_a, r_i, l, \epsilon_r(\omega))$$

$$= \frac{\pi(r_a^2 - r_i^2) \sigma(\omega)}{l} + j\omega \frac{2\pi\epsilon_0 \epsilon_r(\omega) l}{\ln\left\{\frac{r_a}{r_i}\right\}} \quad (A)$$

$$Z = |Z| e^{i\varphi} = \frac{G}{|Y|^2} - j\omega \frac{C}{|Y|^2} = (G - j\omega C) |Z|^2 \quad (B)$$

$$r = \frac{Z - Z_0}{Z + Z_0}, \quad Z_0 = 50 \Omega \quad (C)$$

(1)

Im niederfrequenten Bereich läßt sich der Einfluß der zytoplasmatischen Leitfähigkeit vernachlässigen, so dass sich aus der zeitlichen Änderung der Gleichstromwerte des Reflexionsfaktors (σ_{DC} , ϵ_{DC}) die Leitfähigkeit des Suspensionsfluids (σ_{DC}) bestimmen läßt.

Da der Netzwerkanalysator HP 4396A unterhalb von 20 MHz jedoch nicht ausreichend genau kalibrierbar war, wurde für die hier vorgestellten weiterführenden Messungen zur Erfassung der Leitfähigkeit des Suspensionsfluids ein Solatron SI 1260 Impedance/Gain-Phase-Analyzer eingesetzt, der insbesondere für Impedanzmessungen unterhalb von 100 kHz ausgelegt ist.

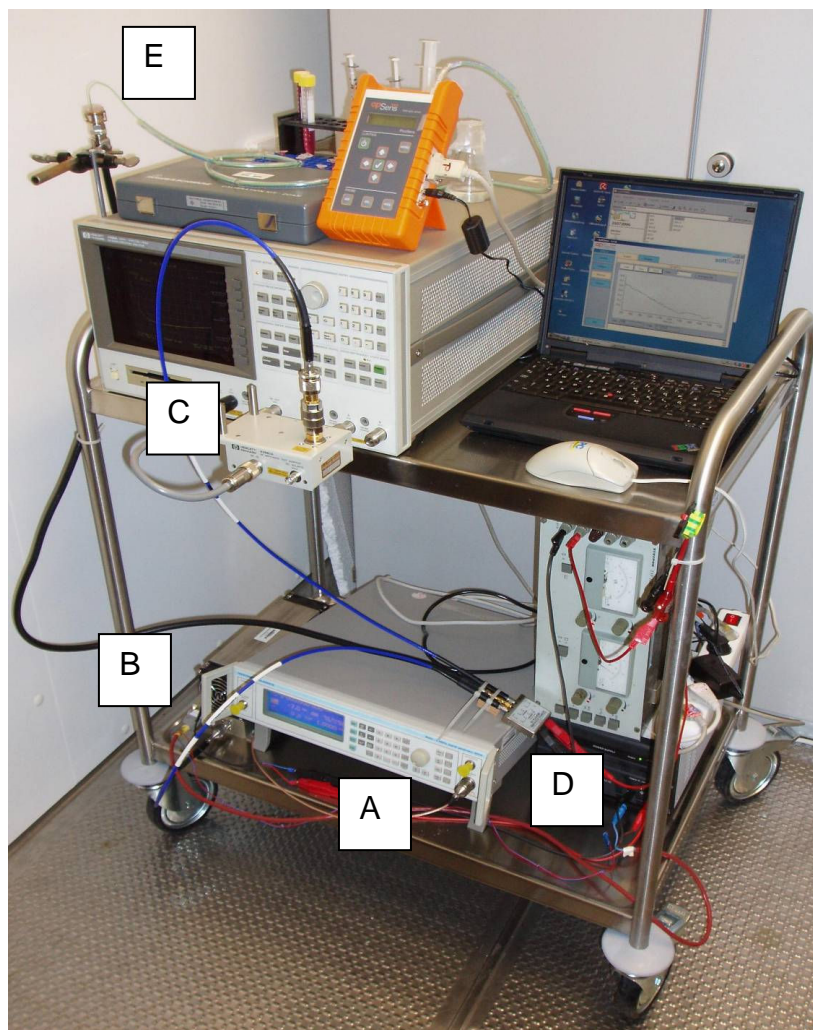


Abb. 1: Aufbau zur kombinierten EMF-Exposition und Messung der dielektrischen Eigenschaften von Zellsuspensionen bis 1,8 GHz. Zu erkennen sind der Expositionsweig mit CW-Generator Marconi 2024 (A), Mikrowellenverstärker MWA AM81 (MA-LTD, Bristol, GB) mit Dämpfungsstücken (B) sowie der Messweig mit Netzwerkanalysator HP 4396A (C). Beide Zweige konnten wahlweise über eine Hochfrequenzweiche MSP2TA-18 (D) auf die koaxiale Fluidkammer (E) geschaltet werden. Während der Exposition und der

Reflexionsfaktormessung wurde die Temperatur im Suspensionsfluid on-line registriert.

Koaxiales Zwischenstück und Messkammer mit Temperatursensor

Für den definierten Abschluss der Fluidkammer und reproduzierbare Flüssigkeitsstände dient eine Plexiglasplatte mit planer Kontaktfläche. Eine Bohrung von 1,9 mm Durchmesser, im Bereich zwischen Innen- und Aussenleiter der Koaxialkammer, nahm den Glasfasertemperatursensor auf (Abb. 2).

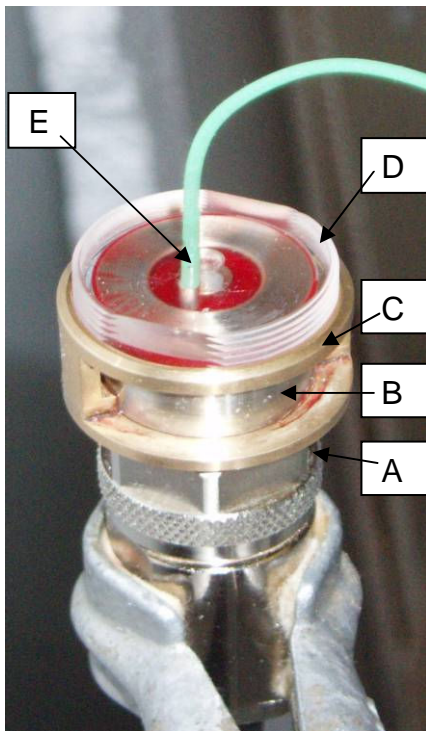


Abb. 2: Koaxiale Fluidmesszelle zur Exposition von Zellsuspensionen und Messung ihrer dielektrischen Eigenschaften bis 1,8 GHz. Zu erkennen sind das koaxiale Leitungsende (A), das koaxiale Zwischenstück (B), die Verschlussmanschette (C) sowie der Deckel mit Aussengewinde (D) zum definierten Abschluss der Fluidkammer und zur Integration eines Glasfasersensors (E) (Opsens, Quebec, Canada).

Als Adapter zwischen kalibrierter Leitungsstrecke und eigentlicher Fluidkammer ist ein koaxiales Zwischenstück notwendig. Es wurde berechnet, gebaut und als vollständiger elektrischer Fehlervierpol bis 1,8 GHz charakterisiert. Modellrechnungen und Programmierungen zur

Datenauswertung sind Teil der Diplomarbeit von Herrn Dipl.-Ing. Robert Fischer (Fis06).

3 Erste Expositionsmessungen an humanen Erythrozyten

Erste Experimente an Erythrozytensuspensionen wurden mit dem Aufbau entsprechend der Abbn.1 und 2 durchgeführt. Dazu wurden aus frischen Blutkonserven je 3 Proben vorbereitet, von denen jeweils eine mit CW-EMF exponiert und zwei als nichtexponierte Referenzproben mitgeführt wurden. Bei einer Gesamtversuchszeit von 960 s wurden zunächst 160 s als Einstellzeit abgewartet und danach das 2 GHz CW-EMF mit einer Effektivleistung von 200 mW zyklisch für jeweils 160 s ein- und ausgeschaltet. Im selben Takt erfolgte das Umschalten zwischen Expositions- und Messzweig. Im Messzweig wurde das Spektrum des

Reflexionsfaktors erfasst. Während der gesamten Versuchsdauer wurde die Temperatur der Suspension mit einem Glasfasersensor verfolgt (Abb. 3).

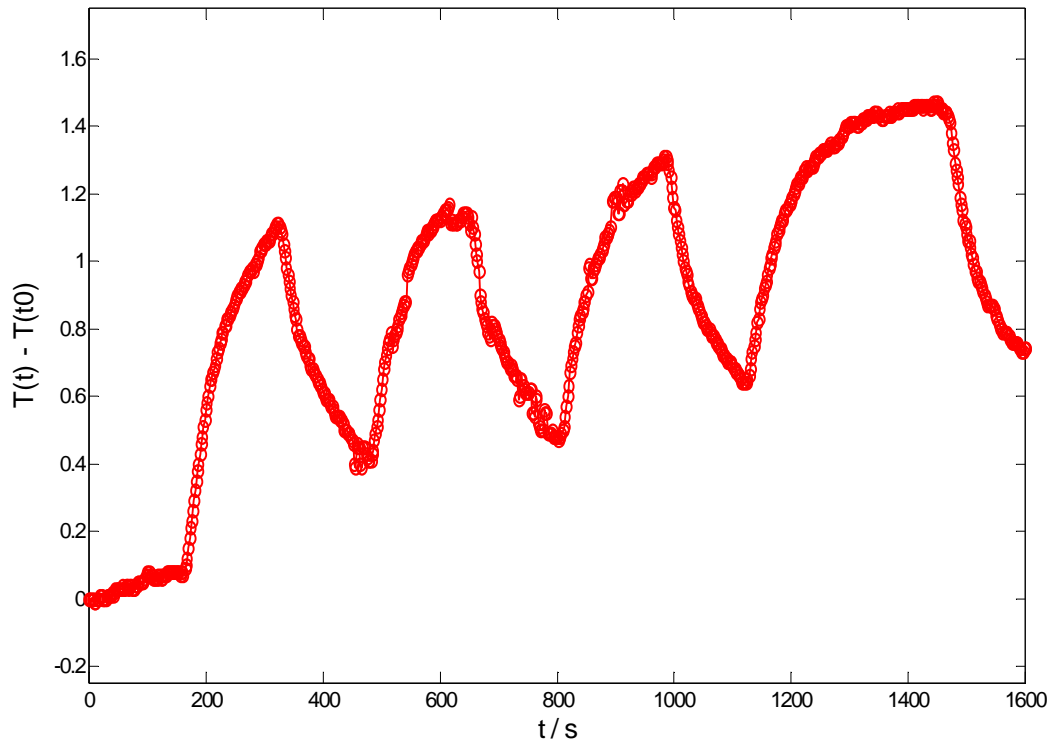


Abb. 3: Beispielhafter Temperaturverlauf während der ersten Expositionsversuche an humanen Erythrozyten. Erkennbar sind ein exponentieller Anstieg während der Exposition mit 200 mW, 2 GHz CW-EMF, ein exponentieller Abfall während der Reflexionsfaktormessung sowie eine kontinuierliche Zunahme der mittleren Kammertemperatur.

Mit dem Netzwerkanalysator HP 4396A wurden Spektren zwischen 100 kHz und 50 MHz registriert (Abb. 4). Für Exposition und als Referenz wurden Suspensionen gleicher Zusammensetzung hergestellt. Wie erwartet, sind die Spektren des reinen Mediums in diesem Bereich frequenzunabhängig. In den Suspensionsproben ist oberhalb von 1 MHz eine Dispersion klar erkennbar. Die wesentliche Ursache hierfür ist die kapazitive Brückung der Zellmembran beginnend bei ca. 300 kHz. Bei dieser Frequenz wird die zytoplasmatische Leitfähigkeit in der Messung bereits anteilig mit erfasst. Unterhalb von 300 kHz ist der Unterschied zwischen exponierten und nichtexponierten Erythrozytensuspensionen deutlich (Abb. 4 unten). Die erhöhte spezifische Leitfähigkeit der exponierten Suspensionen ist auf die erhöhte äussere Ionenleitfähigkeit (trotz verringerter Innenleitfähigkeit durch zytoplasmatische

Ionenverluste) zurückzuführen. Ab 10 MHz ist die kapazitive Membranbrückung vollständig und die Kurven verschmelzen.

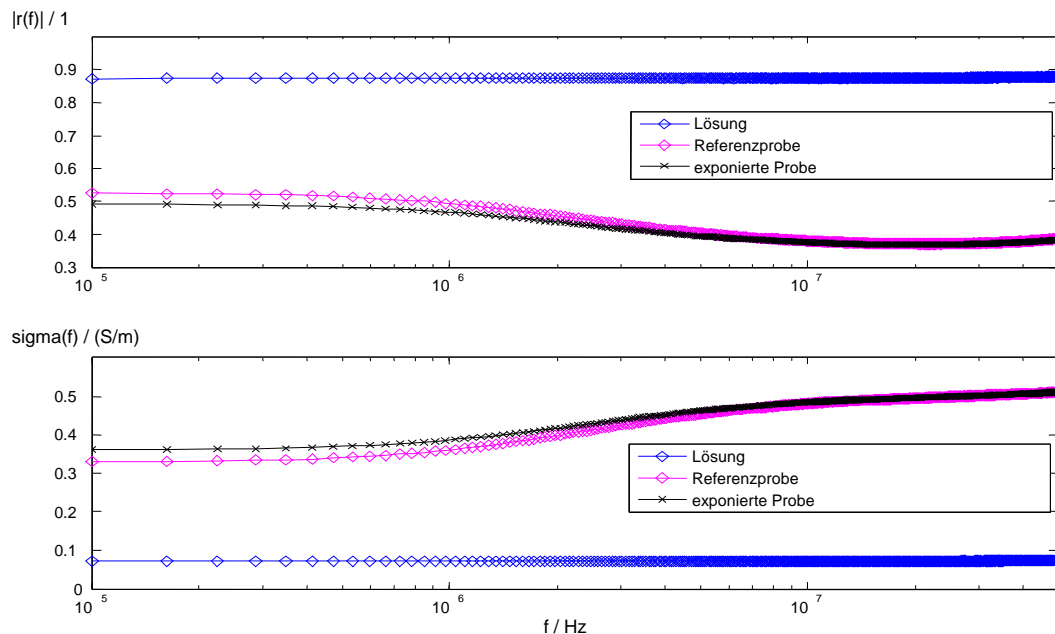


Abb. 4: Vergleich der Spektren humaner Erythrozytensuspensionen in einer isotonen Natriumchlorid-Saccharose-Lösung (Leitfähigkeit 0,07 S/m, Hämatokrit ca. 50%, pH 6,8) anhand von Reflexionsfaktor (oben) und nach Glg. 1 extrahierter Leitfähigkeit (unten).

Feld- und SAR-Verteilung in der koaxialen Messkammer

Für die analytische und numerische (FEM-Lab 3.3) Berechnung der radialen Verteilungen für Feldstärke und SAR (CW-EMF) wurden eine Frequenz von 2 GHz und eine Erythrozytensuspension in der Messkammer angenommen (Abb. 5). Durch die zentralsymmetrische Hohlzylinderform erhält man im Meßvolumen eine einfache Radiusabhängigkeit von Feldstärke und SAR. Beide Parameter nehmen mit dem Abstand von der Zentralelektrode ab. Zu beachten ist, dass die absorbierte Leistung und die SAR-Werte mit dem Quadrat der Feldstärke skalieren, d.h. bei 400 mW verdoppeln sich alle Werte der unteren Kurve und so fort.

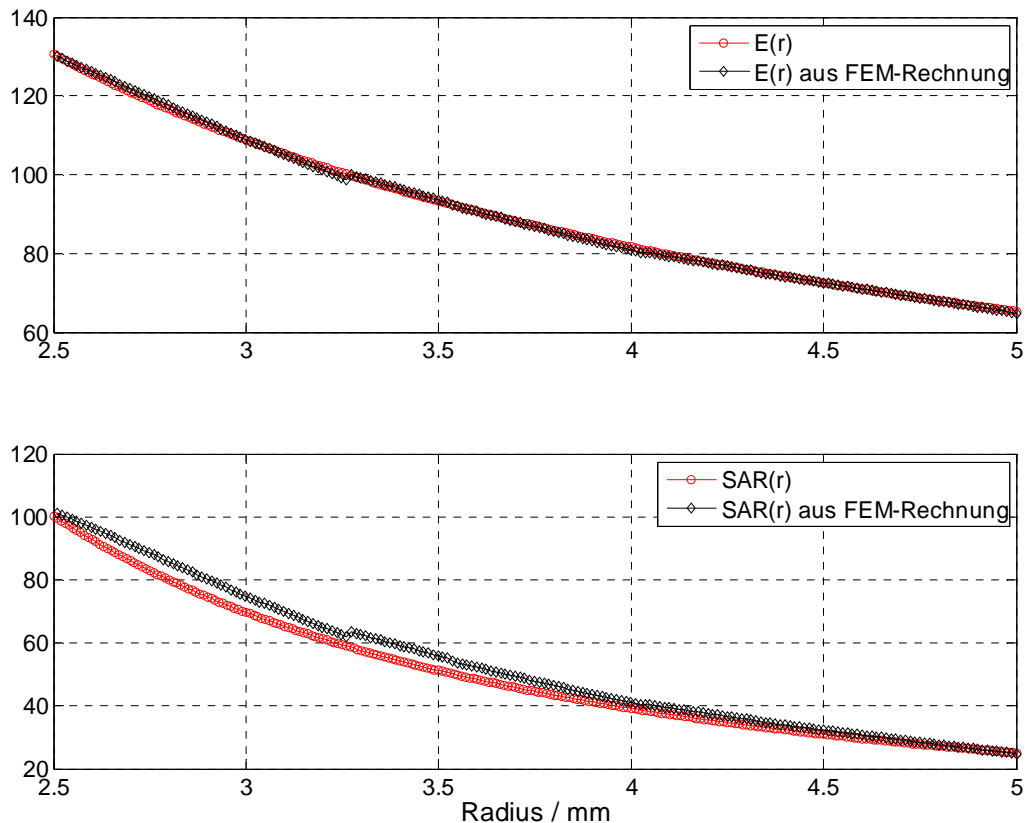


Abb. 5: Berechneter radialer Verlauf der effektiven Feldstärke in V/m (oben) und der SAR in W/kg (unten) in der Koaxialkammer bei der Exposition von 150 μ l humaner Erythrozyten mit 200 mW CW-EMF bei 2 GHz. Die numerische Lösung (schwarz) stimmt weitgehend mit der analytischen (rot) überein.

Probleme mit dem anfänglichen Messaufbau

Entscheidend für eine genaue Feld-, SAR- und Leitfähigkeits-Bestimmung im anfänglichen Messaufbau ist die genaue Bestimmung des Reflexionsfaktors. Dieser konnte mit der vorhandenen Messtechnik bis 1,8 GHz gemessen werden. Oberhalb von 1,4 GHz zeigte der Reflexionsfaktor leichte Oszillationen, die von einer leichten Fehlanpassung zwischen Leitung und Messkammer herrührten.

Im Vergleich zu nicht exponierten Proben zeigten exponierte Proben bei einem Hämatokritwert von ca. 50 % einen expositionsbedingt erhöhten zytoplasmatischen Ionenverlust bei 2 GHz (Abb. 4). Allerdings wiesen einige exponierte Proben eine deutliche Färbung ihres Überstandes auf, was für eine moderate Hämolyse, also eine deutliche Zellschädigung, in der Expositionskammer sprach. Da dieser Effekt völlig unerwartet war, wurde eine Reihe von Verbesserungen am Messaufbau vorgenommen, um mögliche Fehlerquellen zu beseitigen. Hauptursache der

beobachteten Hämolyse war jedoch offenbar ein defektes Dämpfungsstück, was zu einer erhöhten applizierten Feldleistung führte. Der Ausfall wurde zunächst nicht bemerkt, da die Temperatur bei diesen Messungen nicht verfolgt wurde, um die Temperatursensoröffnung der Probenkammer aus messtechnischen Gründen und zur Vermeidung von Verdunstung verschliessen zu können. Nach diesen Erfahrungen wurde die Temperatur bei den neuen Messungen stets verfolgt. Es ist wahrscheinlich, dass auch der deutliche Auslaufeffekt in der Abb. 4 durch eine erhöhte applizierte Feldleistung hervorgerufen wurde.

Gegenüber der Darstellung in Abb. 5 ist insbesondere an den Elektrodenkanten des Innenleiters der Messkammer mit deutlich erhöhten Feldstärken zu rechnen. Diese Kanten wurden deshalb nachgearbeitet, um die unvermeidliche Feldüberhöhung an den Kanten nicht durch zusätzlichen Grat und ein Herausragen der Elektrode aus dem Dielektrikum zu verstärken.

4 Verbesserung und Optimierung des Versuchsaufbaus

Im neuen Versuchsaufbau wurde der HP 4396A Spektrum-Analyzer durch ein Solatron SI 1260 Impedance/Gain-Phase-Analyzer ersetzt, mit dem die Leitfähigkeit nicht über den Reflexionsfaktor, sondern direkt gemessen werden konnte. Vorversuche zeigten, dass die Erfassung des Impedanzspektrums mit diesem Gerät nur bis 40 kHz möglich ist. Ursache hierfür ist die Masseführung über die HF-Weiche. Dieses Problem könnte nur durch eine Neukonstruktion der Weiche, oder eine separate, unababhängig temperierbare Leitfähigkeitsmesskammer im Messaufbau beseitigt werden. Wie unten deutlich wird, wäre letzteres im Sinne einer erhöhten Messgenauigkeit allerdings die sinnvollere Lösung. Nach Kalibration des Aufbaus konnten Impedanzspektren bis 40 kHz aufgenommen werden. Diese Frequenz liegt deutlich über den in Leitfähigkeitsmessgeräten üblicherweise verwendeten Frequenzen (<10 kHz), wäre also bei Verwendung einer für niedrige Messfrequenzen geeigneten Messzelle völlig ausreichend, um die Kinetik des Ionenverlusts zu erfassen.

Festlegung der Messfrequenz zur Registrierung des zellulären Ionenverlusts

Mit dem verbesserten Messaufbau wurden zunächst je zwei kommerzielle Leitfähigkeitsstandards und zwei NaCl-Saccharose-Lösungen zwischen 100 Hz und

40 kHz vermessen (Abb. 6, Tab. 1). Die Lösungen sollten die Verhältnisse für vollständig ausgelaufene Zellen nachstellen. Dazu wurden zu isotonen Saccharose-Lösungen Anteile einer 154 mM NaCl-Lösung von 2% (NaCl-Saccharose-Lösung-2%, entspr. Hämatokrit 2%), bzw. 5% (NaCl-Saccharose-Lösung-5%, entspr. Hämatokrit 5%) gegeben.

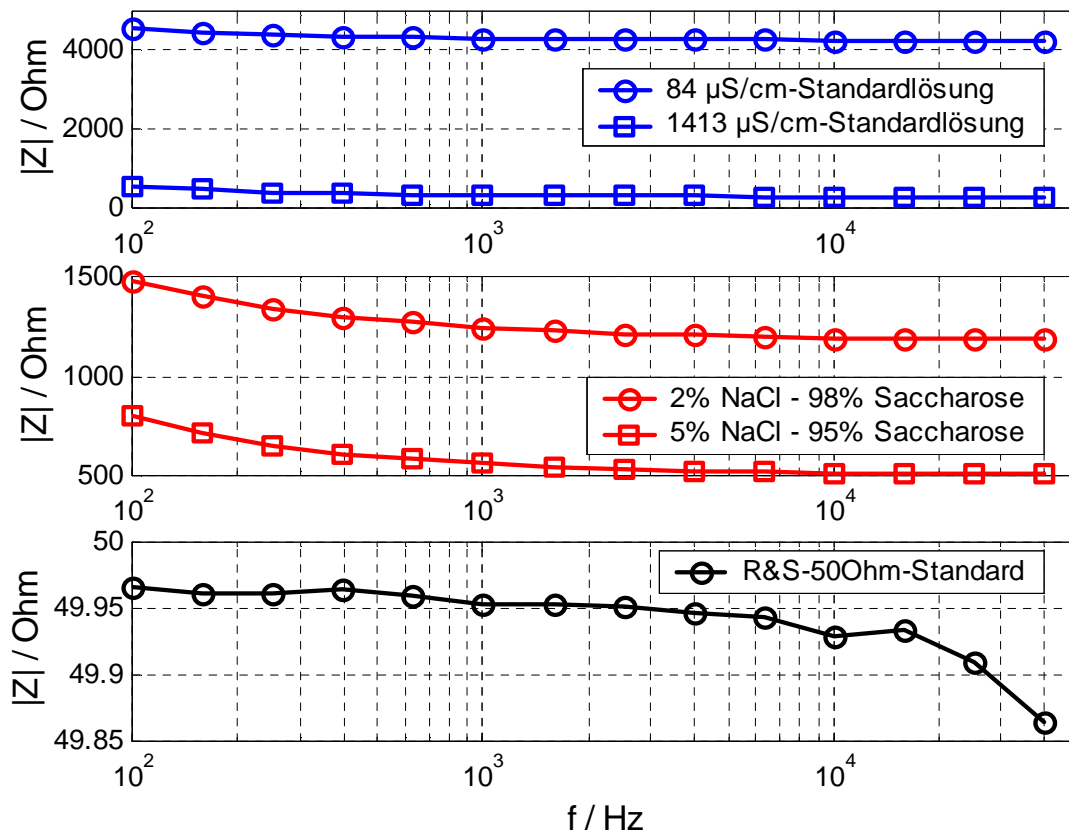


Abb. 6: Impedanzspektren der in Tab. 1 aufgeführten Lösungen in der Messzelle. Unten: Kalibrierung mit 50 Ohm-Abschlußwiderstand.

Als Messfrequenz zur Erfassung der Auslaufkinetik wurde 10 kHz gewählt. Bei dieser Frequenz ist der Messfehler durch den Versuchsaufbau noch gering (Abb. 6, unten) und Elektrodeneffekte klingen bereits ab. Zum anderen ist die Frequenz ausreichend niedrig, um im verwendeten Aussenleitfähigkeitsbereich (0,3 mS/cm-1,4 mS/cm) die kapazitive Brückung der Membran zu vermeiden (Dispersionsfrequenz der humanen Erythrozytenmembran bei 0,3 mS/cm ca. 350 kHz [GSZ94]). Dadurch ist der Einfluss der membranisierten, zytoplasmatischen Ionen auf die Messung vernachlässigbar.

Durch Georgiewa et al. [GDG89] wurde ein Hämatokrit von 2% genutzt. In ersten Messungen wurde der gleiche Wert verwendet. Durch diesen relativ niedrigen Hämatokritwert sollten Elektrodeneffekte, auch durch Zellen auf der

Elektrodenoberfläche, gering gehalten werden. Darüber hinaus sollte der Einfluß des membranumhüllten, von der Leitfähigkeitsmessung ausgeschlossenen Zellvolumenanteils möglichst gering sein. Da die Zellen nach Überführung in Lösungen geringer Ionenstärke zytoplasmatische Ionen verlieren, wird ihr osmotischer Wert zunächst sinken, was zur Schrumpfung und somit einer leichten Überbewertung des Leitfähigkeitsanstiegs führen wird. Bei geringen Zellkonzentrationen wird der Einfluß zellulärer Volumenänderungen verringert, die zu einer Änderung des von der Stromleitung ausgeschlossenen Volumenanteils führen.

Messungen zur Ermittlung der optimalen Zellkonzentration

Zur Bestimmung der optimalen Messbedingungen wurden verschiedene Zellkonzentrationen und Messtemperaturen getestet. Die Messungen erfolgten mit der Messzelle des Leitfähigkeitsmessgeräts LF539 im Wassermantelgefäß mit Magnetrührer entsprechend der Abb. 7: Zum Zeitpunkt 0 s erfolgte die Zugabe der Zellen. Im mittleren Bereich waren alle Auslaufkurven linear. Die Endwertbestimmung erfolgte durch Tritonhämolyse.

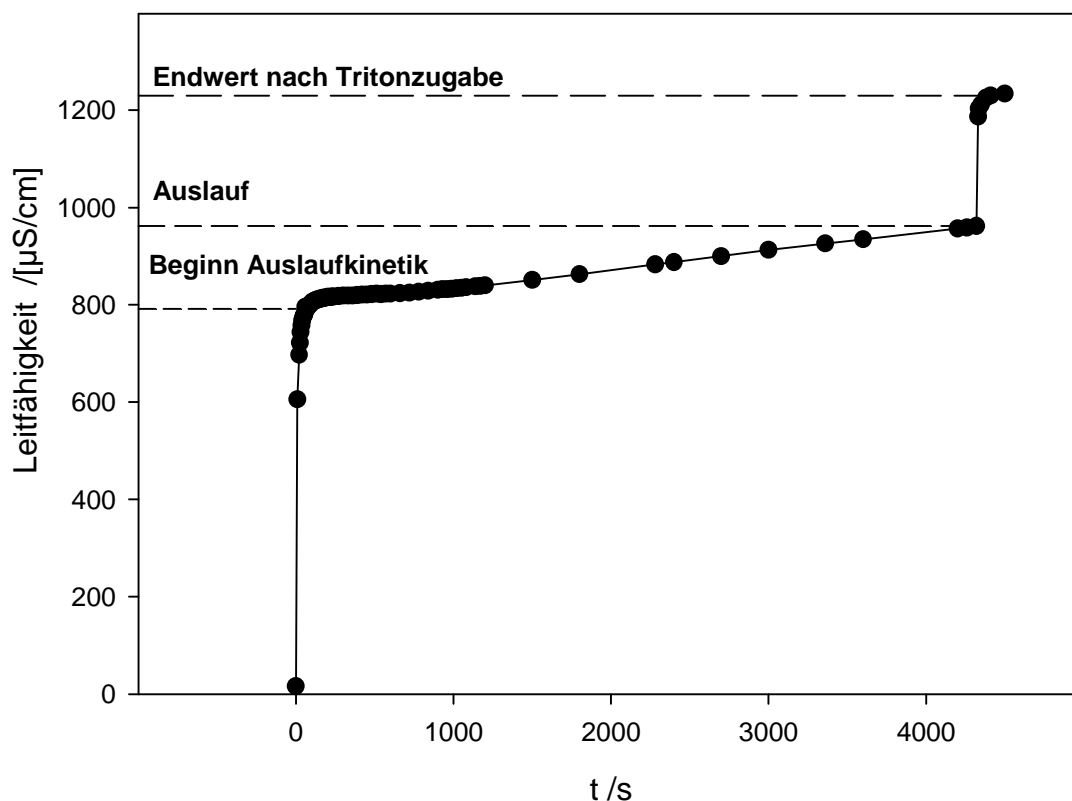


Abb. 7: Beispiel zur Auslaufkinetik einer Erythrozytensuspension (5% Hämatokrit) in einer 300 mOsm Sacharose/1 mM Phosphatpuffer-Lösung.

Als Kriterium für eine hohe Stabilität der Zellsuspension ohne Feldbeeinflussung wurde für jede Meßbedingung der Wert der Gesamtleitfähigkeitsänderung durch den Anstieg im linearen Bereich dividiert. Die Gesamtleitfähigkeitsänderung ergab sich aus der Differenz der Leitfähigkeit nach Tritonhämolyse und der durch Extrapolation des linearen Bereichs auf die Zeit 0 s extrapolierten Leitfähigkeit. Durch die Division erhält man einen effektiven Wert für die Zeit, die für „vollständiges Auslaufen“ ohne Feldbeeinflussung benötigt wird.

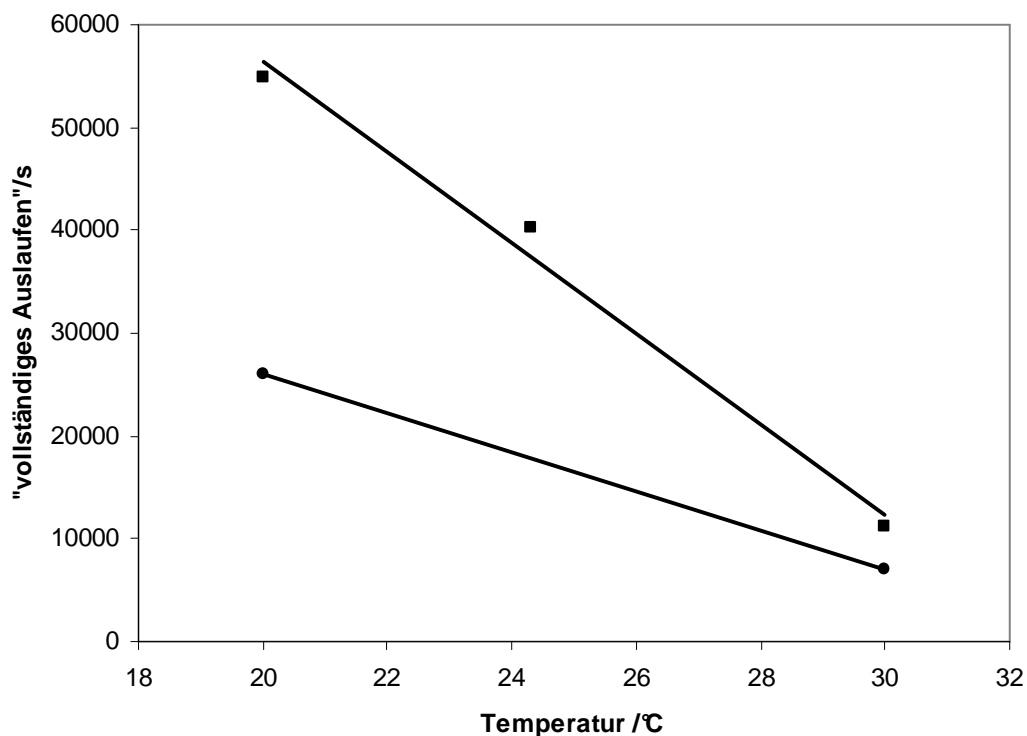


Abb. 8: Relative Temperaturempfindlichkeit des Ionenverlusts von Erythrozytensuspensionen (2%-Kreise, 5%-Quadrate) in einer 300 mOsm Sacharose/1 mM NaCl-Lösung.

Wie aus Abb. 8 deutlich wird, erhielten wir bei einem Hämatokritwert von 5% eine deutlich bessere Stabilität der Zellsuspension (eine längere effektive Zeit für „vollständiges Auslaufen“) als bei der ursprünglich verwendeten Konzentration von 2%. Eine Temperaturerhöhung von 20 °C auf 30 °C führt zu einer deutlich verkürzten effektiven Auslaufzeit.

Experimentell ermittelte Zellkonstante der koaxialen Messzelle

Als nächster Schritt wurde die koaxiale Messzelle für 10 kHz kalibriert und ihre Zellkonstante experimentell bestimmt. Für die in Tab. 1 aufgeführten Lösungen

wurden die Ohmschen Leitwerte gemessen und zu den bekannten Leitfähigkeiten korreliert. Dabei wurden alle Leitfähigkeiten $\sigma(T)$ nach Gleichung (2) auf die gleiche Temperatur T_i normiert:

$$\sigma_{st}(T_i) = \sigma_{st,25} \left[1 + \frac{\alpha_{25}}{100} (T_i - 25^\circ\text{C}) \right] \quad (2)$$

α_{25} steht für die prozentuale Änderung der Leitfähigkeit je $^\circ\text{C}$ ausgehend von der Referenztemperatur 25°C .

Tab. 1: Verwendete Lösungen zur Kalibrierung der koaxialen Messzelle

Lösung	84 $\mu\text{S}/\text{cm}$ -Standard bei 25°C , Angabe des Herstellers	NaCl-Saccharose-2%, Referenzmessung mit kalibriertem LF 539	NaCl-Saccharose-5%, Referenzmessung mit kalibriertem LF 539	1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ -Standard bei 25°C (0,01 mol/l KCl-Lösung), Angabe des Herstellers
α_{25}	1,98 %/ $^\circ\text{C}$	1,98 %/ $^\circ\text{C}$	1,98 %/ $^\circ\text{C}$	1,91 %/ $^\circ\text{C}$

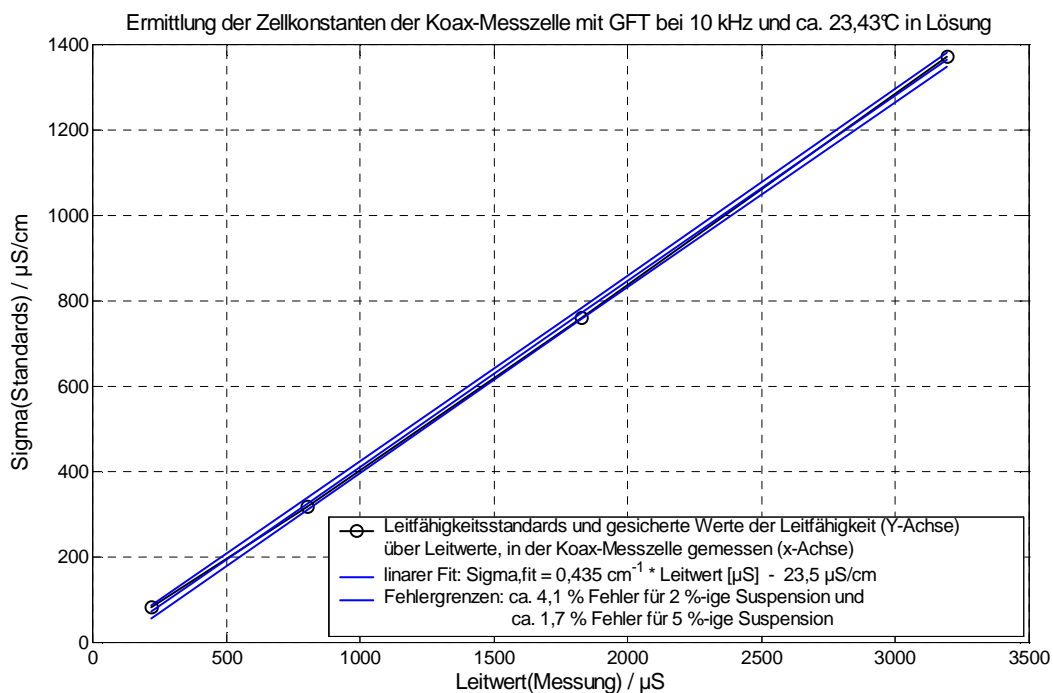


Abb. 9: Korrelation zwischen gemessenem Ohmschen Leitwert und der Leitfähigkeit bekannter Lösungen (Tab. 1). Die aus der Korrelation folgenden Fehlergrenzen sind in Tab. 2 aufgelistet.

Die Zellkonstante der koaxialen Messzelle $K_{\text{koax}}=0,435/\text{cm}$ bei einer Messfrequenz von 10 kHz ergibt sich aus der Korrelation zwischen Leitfähigkeit und Leitwert bei einer Temperatur von $T_0=\langle T_i \rangle=23,43^\circ\text{C} \pm 0,08^\circ\text{C}$ (Abb. 9).

Ermittlung der Leitfähigkeiten von Suspensionen mit der coaxialen Messzelle

Im Folgenden wurden alle über der Zeit bei der Temperatur $T(t_i) = T_i$ gemessenen Leitwerte auf die Bezugstemperatur T_0 korrigiert:

$$G(T_0) = G(T_i) \left[1 + \frac{\alpha_{25}}{100} (T_0 - T_i) \right] \quad (3)$$

und in die Kalibrationsgleichung:

$$\hat{\sigma}(T_0) = K_{koax} G(T_0) - \hat{\sigma}(G = 0), \quad K_{koax} = 0,435 / cm, \quad \hat{\sigma}(G = 0) = -23,5 \mu S / cm \quad (4)$$

eingesetzt. So konnten temperaturabhängige Leitfähigkeitsänderungen während des Auslaufexperiments eliminiert werden. In Abhängigkeit vom gemessenen Leitwert lassen sich relative Fehler angeben (Tab. 2).

Tab. 2: Größen aus Gleichungen (2) bis (4) und relativer Fehler der Leitfähigkeit für die Lösungen aus Tab. 1

	84 $\mu S/cm$ -Standard	NaCl-Saccharose-2%,	NaCl-Saccharose-5%,	1413 $\mu S/cm$ -Standard
$G / \mu S$ nach Glg. (3)	219,6	800,8	1812,7	3192,5
$\sigma / \mu S/cm$ nach Glg. (3)	72	324,7	771	1364,7
$\sigma_{st} / \mu S/cm$ bei 23,45 °C nach Glg. (2)	81,4	318,6	761	1371,2
$\Delta\sigma/\sigma / \pm\%$	19,91	4,08	1,67	1,12

Die Werte in der grau unterlegten Spalte sind mit denen für Erythrozytensuspensionen in Saccharose bei 5 % Hämatokrit vergleichbar. Alle Expositionsversuche wurden an solchen Suspensionen durchgeführt und sind somit mindestens mit einem Fehler von 1,7 % behaftet. Zu beachten ist, dass dieser Fehler sich bereits aus der Kalibrierung der coaxialen Messzelle für reine Eichlösungen ergibt und zusätzliche Probleme durch den Zellgehalt oder Elektrodeneffekte (s.u.) nicht berücksichtigt.

Geometrische Zellkonstante der koaxialen Messzelle

Aus der radialsymmetrischen Geometrie lässt sich die Zellkonstante K_{geo} auch analytisch ermitteln (Gleichungen (5) und (6)). Diese geometrische und die experimentell ermittelte Zellkonstante stimmen bis auf 2,4 % Abweichung überein.

$$Y = G + j\omega C = \frac{1}{R(r_a, r_i, l, \sigma(\omega))} + j\omega C(r_a, r_i, l, \epsilon_r(\omega))$$

$$= \frac{\pi(r_a^2 - r_i^2) \sigma(\omega)}{l} + j\omega \frac{2\pi\epsilon_0\epsilon_r(\omega) l}{\ln\left\{\frac{r_a}{r_i}\right\}} \quad (5)$$

$$\frac{1}{K_{geo}} = \frac{\pi(r_a^2 - r_i^2)}{l} = \frac{\pi((0,5cm)^2 - (0,25cm)^2)}{(0,25cm)^2} = 2,356cm \quad (6)$$

$$K_{geo} = \frac{0,4244}{cm} .$$

Vergleichsexperiment mit Leitfähigkeitsstandard

Als zusätzliche Kontrolle der Zellkonstanten wurde die koaxiale Messzelle direkt an das Leitfähigkeitsmessgerät LF539 angeschlossen (eingestellte Zellkonstante $K_{LF539}=1,068 \text{ cm}^{-1}$, Messfrequenz 400 Hz). Es gilt: $\sigma'(T_i)=G'(T_i)*K_{LF539}$, mit $\sigma'(T_i)$ als Ablesewert und $G'(T_i)$ als Leitwert der Lösung in der koaxialen Messzelle.

$$\sigma(T_i) = K_{koax} G(T_i) - \hat{\sigma}(G=0), \quad \text{mit} \quad G'(T_i) = \frac{\sigma'(T_i)}{K_{LF539}} \quad \text{und} \quad K_{LF539} = \frac{1,068}{cm} \quad (7)$$

Der Vergleich für die 0,01 mM KCl- Leitfähigkeitsstandardlösung bei zwei verschiedenen Temperaturen ergab:

$$\text{bei } T_1=28 \text{ }^\circ\text{C: } 3430 \mu\text{S/cm} / 1,068 \text{ cm}^{-1} * 0,435 \text{ cm}^{-1} - 23,5 \mu\text{S/cm} = 1374 \mu\text{S/cm}$$

mit einer Abweichung von ca. 8 % vom theoretischen Wert 1494 $\mu\text{S/cm}$, und

$$\text{bei } T_2=23,8 \text{ }^\circ\text{C: } 3140 \mu\text{S/cm} / 1,068 \text{ cm}^{-1} * 0,435 \text{ cm}^{-1} - 23,5 \mu\text{S/cm} = 1255 \mu\text{S/cm}$$

mit ca. 6,2 % Abweichung vom theoretischen Wert 1338 $\mu\text{S/cm}$.

Dieser Vergleich wurde als qualitativer Test durchgeführt und berücksichtigt die Unterschiede in der Elektrodenpolarisierbarkeit und Messfrequenz beider Leitfähigkeitsmesssysteme nicht. Hier werden bereits Probleme bei der Verwendung der koaxialen Messzelle als Leitfähigkeitsmesszelle deutlich. Hauptproblem ist die

Elektrodenpolarisation, die zu niedrigen Frequenzen hin zunimmt. Dies führt zu einer wachsenden Elektrodenimpedanz und somit zu den beobachteten zu niedrigen Leitfähigkeitswerten. Diese Eigenschaften können driften und somit zu einer Zeitabhängigkeit des Messwerts führen [GHS05].

Untersuchung der Stabilität der Messbedingungen

Für die NaCl-Saccharose-Lösung-5% ergab sich mit dem LF539 eine Leitfähigkeit von 830 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Osmolarität und pH-Wert waren wie bei den untersuchten Erythrozytensuspensionen. In der koaxialen Messzelle wurde die Leitfähigkeit dieser Lösung unter verschiedenen Bedingungen (Frequenz & Amplitude des Messsignals), über der Zeit registriert (Abb. 10).

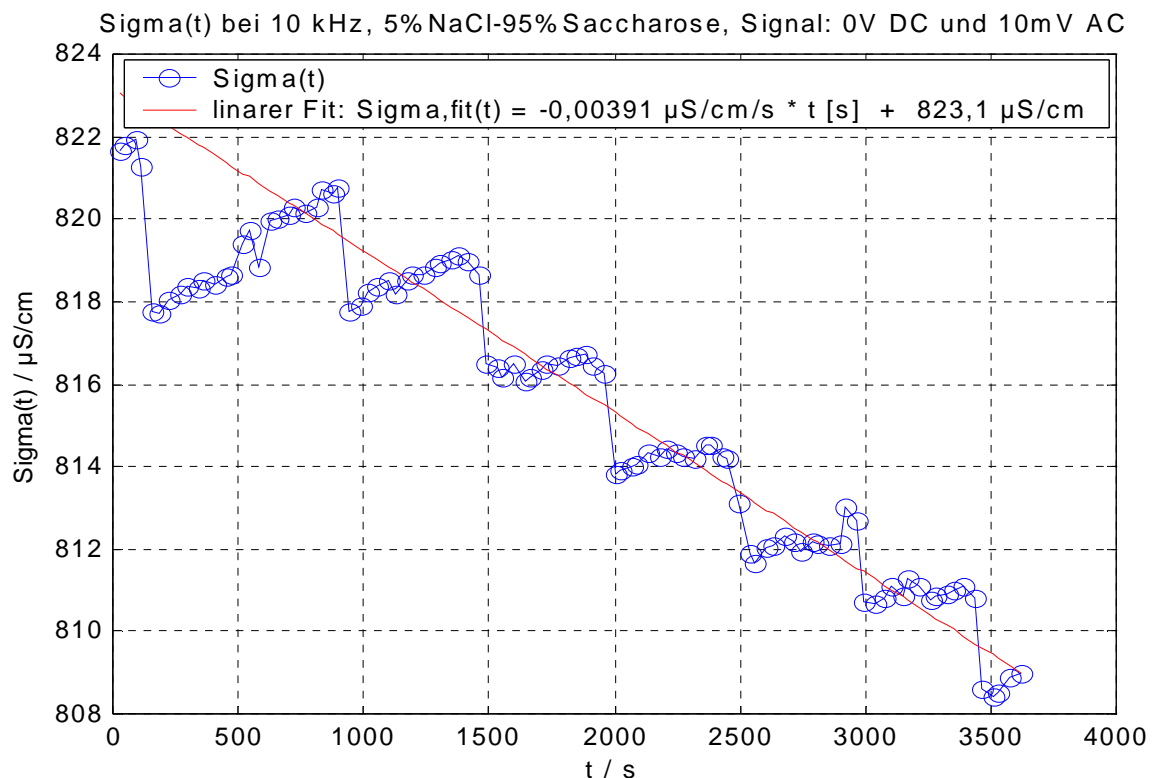


Abb. 10: Verlauf der Leitfähigkeit einer NaCl-Saccharose-Lösung-5% in der koaxialen Messzelle ohne Exposition. Temperaturabhängige Änderungen wurden korrigiert. Der beobachtete Stufeneffekt verursachte einen negativen Anstieg von etwa $-4 \text{ nS}/\text{cm}/\text{s}$.

Die Stufen in den Verläufen (Abb. 10 und 11) sind offenbar Digitalisierungseffekten bzw. dem internen Umschalten zwischen verschiedenen Messbereichen im Solatron SI 1260 zuzuordnen. Dadurch könnten sie entweder direkt durch Messungenauigkeiten des Gerätes oder durch eine tatsächliche Drift der

Doppelschichteigenschaften der Messkammerelektroden hervorgerufen werden. Diese Drift könnte z. B. durch stufenweise Änderung des Messstroms hervorgerufen werden (siehe Text unten und vgl. Abbn. 18 und 19). Mit einer Programmroutine konnte der den stufenförmigen Veränderungen unterlegte Verlauf deutlicher sichtbar gemacht werden (blaue Kurve in Abb. 11, oben).

Nach Befüllen der koaxiale Messzelle scheinen, neben dem Temperatenausgleich, zeitabhängige Polarisierungseffekte an den Elektroden, besonders in den ersten Minuten eine wichtige Rolle zu spielen (Abbn. 11 und 12).

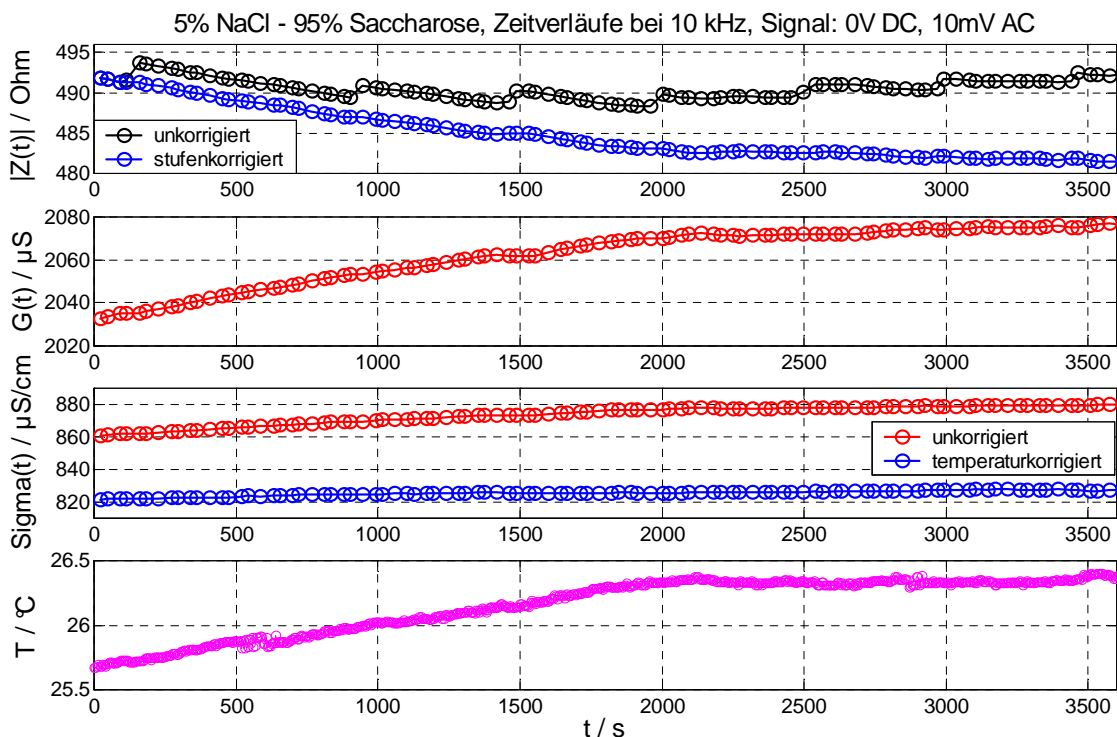


Abb. 11: Von oben nach unten: Impedanz- (unkorrigiert-schwarz und stufengefiltert - blau), Leitwert- und Leitfähigkeitsverläufe (stufengefiltert - rot, stufengefiltert und temperaturkorrigiert - blau) der NaCl-Saccharose-Lösung-5% ohne Exposition. Ganz unten: Temperaturverlauf nach Befüllen der Messzelle.

Nach 10 Minuten, bereits vor der vollständigen Temperaturangleichung, wurde eine vernachlässigbare Drift der temperaturkorrigierten Leitfähigkeit (etwa 1 nS/cm/s, rote Gerade in Abb. 12) beobachtet, so dass nahezu stabile Verhältnisse vorlagen (Abb. 12). Sind die Leitfähigkeitsänderungen durch Ionenverlust hinreichend gering (z. B. für reine Lösungen), ist vor Erreichen des linearen Verlaufes ein Einschwingverhalten in den ersten fünf bis zehn Minuten zu beobachten.

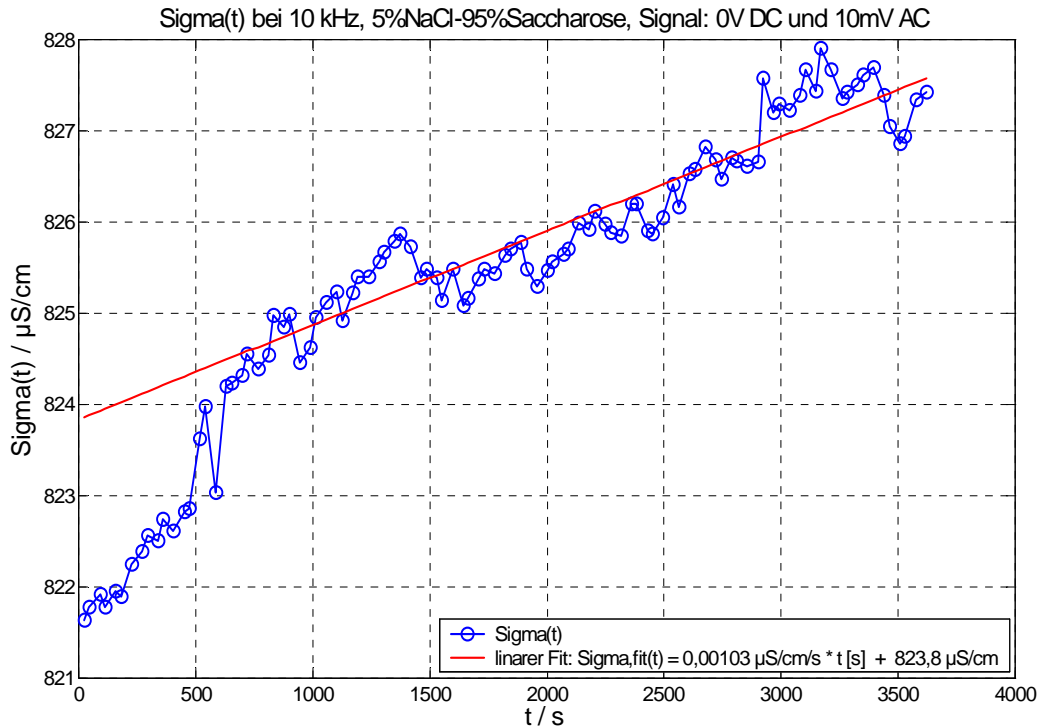


Abb. 12: Temperaturkorrigierter Leitfähigkeitsverlauf der NaCl-Saccharose-Lösung-5% ohne Exposition (gespreizte Darstellung der Funktion aus Abb. 11).

Da die Erythrozytensuspensionen bis ca. 800 mW exponiert werden sollten, erfolgte der Stabilitätstest auch unter diesen Bedingungen. Ziel war, die Temperatur- und Zeitabhängigkeit der Elektrodenimpedanz der koaxialen Messzelle zu testen. Exponiert wurde mit 2 GHz CW-EMF bei 800 mW. Nach einer Vorlaufzeit von ca. 10 Minuten folgten 3 Zyklen, in denen die Lösung zunächst ca. 4 Minuten exponiert und danach ca. 9 Minuten die Impedanz gemessen wurde (Abb. 13).

Da sich während der Exposition die Impedanz nicht registrieren liess, weist der Zeitverlauf Sprungstellen auf. Jedoch konnte die Temperatur kontinuierlich verfolgt werden. Aus der Impedanz wurde die spezifische Leitfähigkeit über die experimentell ermittelte Kammerkonstante der koaxialen Messzelle errechnet. Alle Werte wurden mit Gleichung 3 temperaturkorrigiert.

Im Gegensatz zu 200 und 400 mW wurden bei 800 mW regelmässig Luftbläschen in der Messzelle beobachtet. Es konnte nicht eindeutig geklärt werden, ob die Ursache der Bildung der Bläschen in der Suspension oder in der Verdunstung zu suchen ist. Da bei 2 GHz (*entsprechend der klassischen Sicht, die den Elektrodendurchtritt durch die Elektrodenoberfläche, nicht aber Feldabsorptionseffekte in der*

Doppelschicht betrachtet) nicht mit elektrochemischen Elektrodeneffekten zu rechnen ist, ist die wahrscheinlichste Erklärung die temperaturbedingte Verringerung der Gaslöslichkeit, die bei höheren Temperaturen zur Bläschenbildung führt.

Entsprechend des wachsenden Volumenanteils der Luftbläschen sinkt der Volumenanteil der Lösung (bzw. Suspension). Die effektive Elektrodenoberfläche für die Impedanzmessung der Lösung sinkt ebenfalls, während die Zellkonstante im gleichen Maße steigt. Da nur die Zellkonstante für eine vollständig gefüllte Messzelle bekannt ist, wird mit wachsendem Bläschenvolumen eine absinkende Leitfähigkeit gemessen (Sigma(t) in Abb. 13 und Abb. 14).

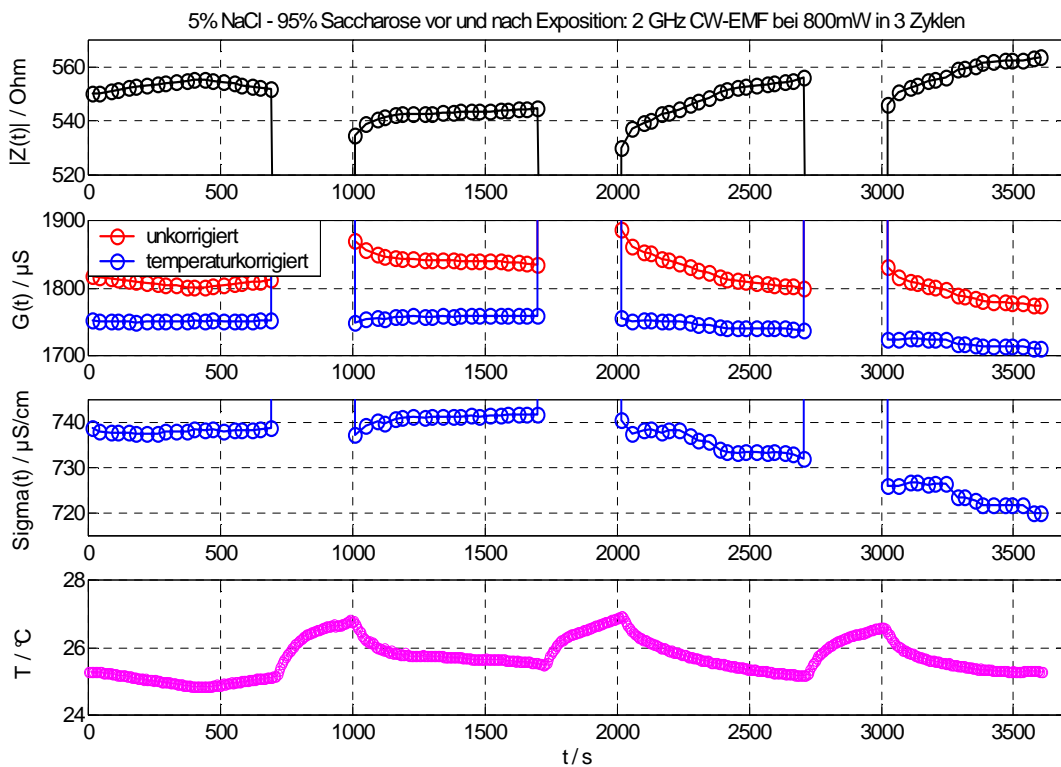


Abb. 13: Zeitverläufe der Impedanzmessung vor und nach Exposition einer NaCl-Saccharose-Lösung-5% in der koaxialen Messzelle mit 800 mW. Von oben nach unten: Betrag der Impedanz, unkorrigierter und temperaturkorrigierter Leitwert, temperaturkorrigierte Leitfähigkeit und Temperatur.

Das im Beispiel in Abb. 13 nach Versuchsende beobachtete Gasbläschen schien sich nach der zweiten Exposition gebildet zu haben und über die Zeit gewachsen zu sein. Dies zeigen die stark negativen Anstiege in der Leitfähigkeit nach etwa 2000 s (Abb. 14). Bei der Bläschenentstehung erfolgt die Überwindung der Grenzflächenspannung *sprunghaft*, während das Bläschenwachstum *allmählich* abläuft. Eine relative Volumenabschätzung zur koaxialen Messzelle zeigt, dass das

Bläschen mit einem Startvolumen von 0,2 % bei 2030 s, sich nach ca. 2700 s auf 1,2 % ausgedehnt hatte und auf ein finales Volumen von 2,9 % wuchs (volumenkorierte Verläufe in Abb. 14). Der kontinuierliche Anstieg der temperaturkompensierten Leitfähigkeit hängt offenbar mit den oben erwähnten Elektrodenpolarisationseffekten zusammen.

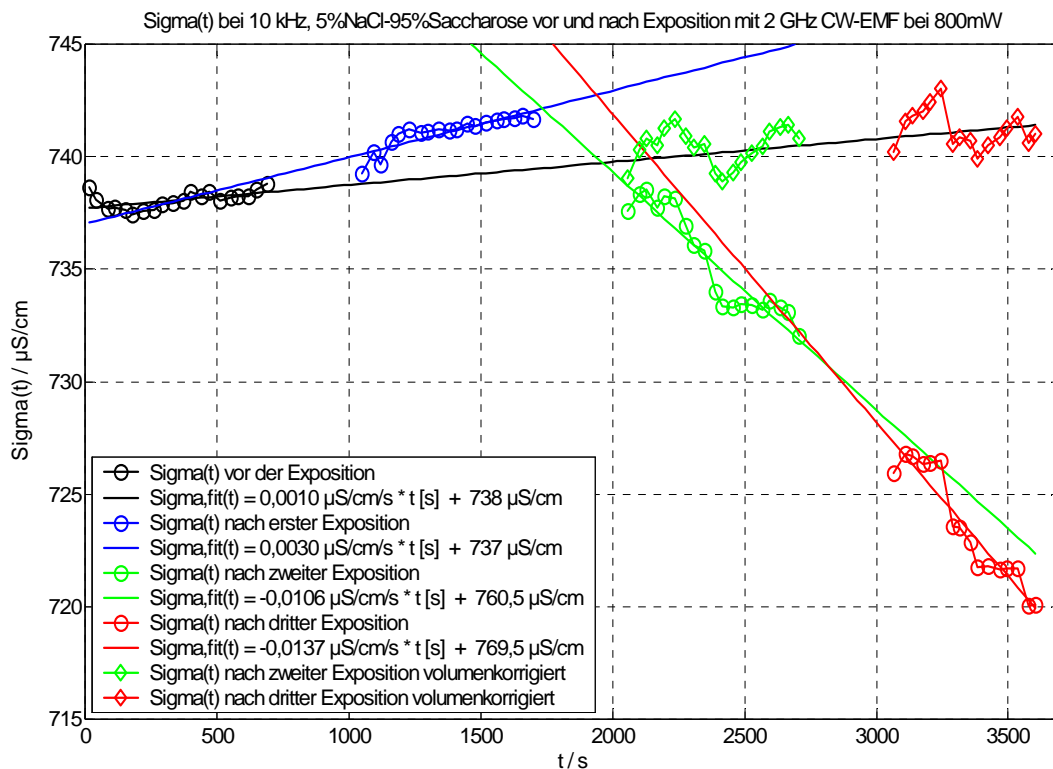


Abb. 14: Zeitverlauf der temperaturkorrigierten Leitfähigkeit einer NaCl-Saccharose-Lösung-5% vor und nach Exposition mit 2 GHz CW-EMF bei ca. 800 mW (Ausschnitt aus Abb. 13). Die Verläufe mit Rauten basieren auf einer Korrektur für den Volumeneffekt eines Gasbläschens, das sich bei etwa 2030 s gebildet hatte und dessen Anteil am Kammervolumen linear wuchs.

Um den Effekt der Gasbläschenbildung zu reduzieren, wurden Versuche mit abgedichteter koaxialer Messzelle durchgeführt. Dabei wurde der Glasfasersensor mit Silikonfett abgedichtet. Dadurch wurde sowohl die Verdunstung verringert als auch der mögliche Druck im Lösungsvolumen erhöht. Im Ergebnis wurden Gasbläschen nur noch selten beobachtet und die Stabilität der Leitfähigkeitsmessung verbessert. Nach jeder Exposition wurde jedoch ein „Einschwingen“ der Impedanz innerhalb von ca. 60 s beobachtet (Abb. 15). Die Ursache hierfür sind wahrscheinlich die sehr komplexen Vorgänge in der elektrischen Elektroden Doppelschicht, vielleicht hervorgerufen durch eine ungleichmäßige Temperaturverteilung in der

Messkammer, die durch unterschiedliche SAR-Werte in Lösungsvolumen und Elektrodennähe (z. B. an Kanten oder in der elektrischen Doppelschicht) hervorgerufen wurden.

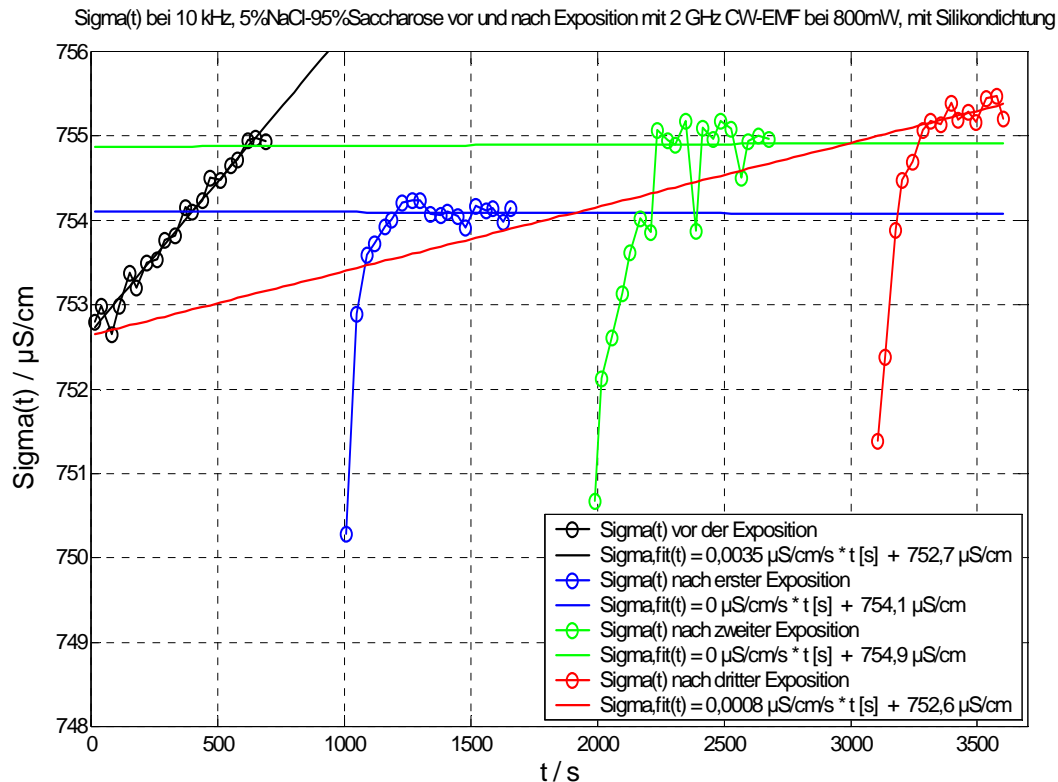


Abb. 15: Zeitverlauf der temperaturkorrigierten Leitfähigkeit vor und nach 3 Expositionszyklen mit 2 GHz CW-EMF bei 800 mW in der mit Silikonfett verschlossenen coaxialen Messzelle.

Obwohl sich der Effekt der Gasbläschenbildung qualitativ verrechnen liess, brachte er bei den 800 mW-Expositionen eine zusätzliche Messungenauigkeit. Die Abdichtung der Messkammer konnte die Bläschenbildung nicht zuverlässig unterdrücken. Wesentliches Ergebnis ist, dass die Ungenauigkeiten der Impedanzmessungen an reinen Lösungen und ihre expositionsbedingten Veränderungen die Möglichkeit der Erfassbarkeit eines spezifisch feldinduzierten zusätzlichen Ionenverlusts an Zellen stark einschränkt. Die Stabilitätstests ergaben, dass Anstiege im Leitfähigkeitsverlauf von +/-4 nS/cm/s im Fehlerbereich liegen und erst Leitfähigkeitsänderungen oberhalb von 7 nS/cm/s auflösbar sind. Darüber hinaus ist die Versuchsanordnung durch die Bläschenbildung auf maximal 800 mW Feldleistung begrenzt.

5 Vergleichsexperimente an Erythrozytensuspensionen ohne Exposition

Da es bei Erythrozyten in Saccharose-Lösungen auch ohne Exposition zum temperaturabhängigen Ionenverlust kommt, sollte dieser in Parallelversuchen in der temperierbaren LF539-Messzelle und der koaxialen Messzelle quantitativ bestimmt werden. Weiterhin sollte die Vergleichbarkeit zur Leitfähigkeitskinetik in der koaxialen Messzelle getestet werden.

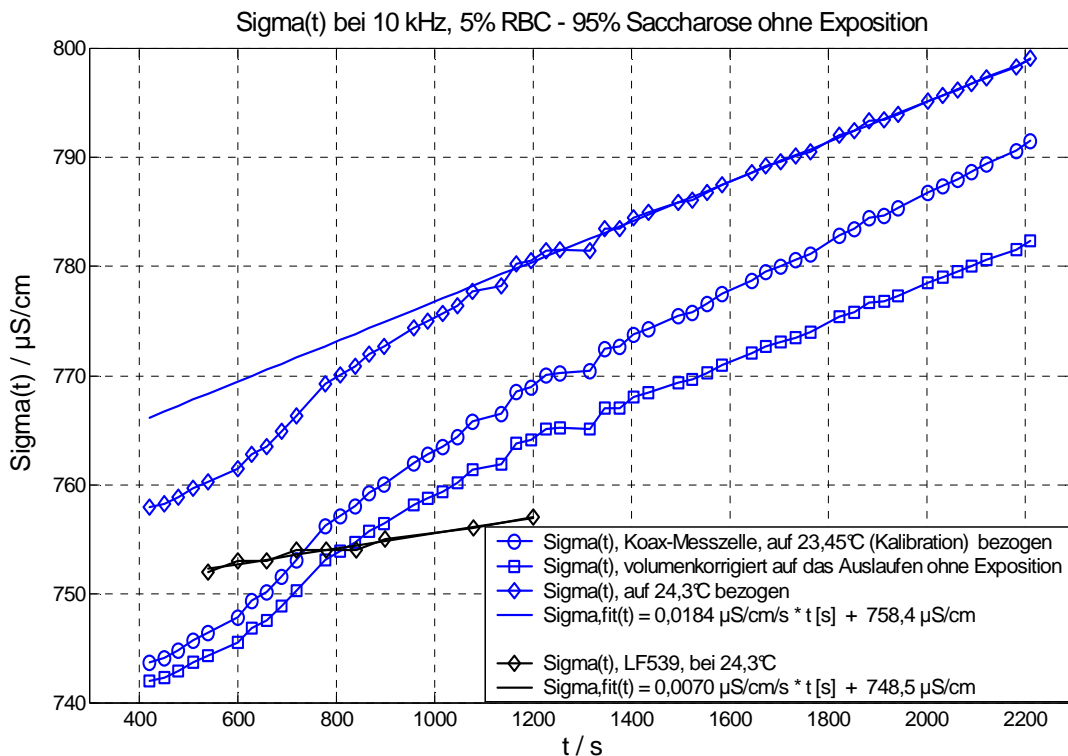


Abb. 16: Vergleich parallel gemessener Leitfähigkeitsverläufe derselben Erythrozytensuspension (5 % Hämatokrit). Die blauen Graphen zeigen die Leitfähigkeit in der koaxialen Messzelle (Solatronmesssignal: 170 mV AC, 0 V DC) bezogen auf 23,5 °C (Kreise), bei Korrektur für die Volumenabnahme durch das „Auslaufen“ der Erythrozyten ohne Exposition (Rhomben) und anschließende Umrechnung auf die Temperatur der Vergleichsmessung von 24,3 °C (Quadrate). Der schwarze Graph gibt die Parallelmessung in der LF539-Messzelle wieder. Für die Regressionsgleichungen wurde eine lineare Kinetik angenommen.

Dazu wurden die Erythrozyten in der temperierbaren Kammer suspendiert, der genaue Hämatokritwert ermittelt und der Zeitverlauf der Leitfähigkeit bei 20 °C, 24,3 °C und bei 30 °C mit dem Leitfähigkeitsmessgerät LF539 aufgenommen. Nach ca. 10 bis 15 Minuten, wenn der Leitfähigkeitsverlauf näherungsweise linear war, wurde eine Probe der jeweiligen Suspension entnommen, in die koaxiale Messzelle gefüllt und mit dem Solatron SI 1260 der Impedanzverlauf gemessen.

Der Leitfähigkeitsverlauf wurde durch Korrektur der temperaturabhängigen Leitfähigkeitsänderung und durch Normierung auf ein zeitabhängiges Fluidvolumen v_{fl} ausgewertet (Abb. 16). Dieses ergibt sich dadurch, dass durch den Ionenverlust der osmotische Wert des Zytoplasmas sinkt und die Zellen schrumpfen was das bei 10 kHz von der Messung abgeschirmte Zellvolumen verringert. Entsprechend sollte die gemessene Leitfähigkeit steigen. Um den feldinduzierten Leitfähigkeitsanstieg von diesem Effekt zu separieren, wurde ein relatives Ausgangsvolumen der Zellen nach Suspension und dessen Verringerung durch den Ionenfluss pro Zeiteinheit abgeschätzt. Dafür wurde vereinfachend eine lineare Abnahme des Zellvolumens über der Zeit angenommen und mit den Literaturwerten nach [GSZ94] ausgewertet:

$$v_{fl}(t) = 1 - v_{c0} + \frac{dv_c}{dt} \Delta t = 1 - v_{c0} + \frac{dv_c}{(t_e - t_a)} (t - t_a), \quad v_{c0} = \frac{V_{Cell}}{V_{Koax}} = 4,43 \cdot 10^{-2},$$

$$dv_c = 0,00975, \quad t_a = 0, \quad t_e = 2200 \text{ s} \quad . \quad (8)$$

Dabei ist v_{c0} das relative Zellvolumen zum Zeitpunkt $t=t_a=0$ s, dv_c die maximale Zunahme des relativen Zellvolumens und $t_e=2200$ s. Trotz dieser zusätzlichen Korrektur ergab der Vergleich keine Übereinstimmung zwischen dem Leitfähigkeitsverlauf in der LF539-Messzelle bei 24,3 °C und dem auf 24,3 °C normierten in der koaxialen Messzelle. Offenbar existieren in Erythrozytensuspensionen weitere Effekte, die alle durchgeführten Korrekturen überdecken und in der koaxialen Messzelle zu deutlich stärkeren Anstiegen führen (Abb. 16). Prozesse der Elektrodenpolarisation, die stark temperaturabhängig sind, von der Ionenstärke des Außenmediums abhängen, durch die Anwesenheit der Zellen selbst und durch oberflächenaktive organische Moleküle beeinflusst werden, waren im gegebenen Messaufbau nicht zu quantifizieren. Untersuchungen an exponierten Erythrozytensuspensionen können deshalb nur qualitativ diskutiert werden.

Bestimmung des Triton-Endwerts in der koaxialen Messzelle

Analog zu Abb. 7 sollten ursprünglich Triton-Endwerte auch in der koaxialen Messzelle bestimmt werden. In Abb. 17 ist ein Beispiel dargestellt. Im Anschluss an eine Exposition bei 400 mW wurde hier ca. 1 µl Triton in die Öffnung des Glasfasersensors gegeben.

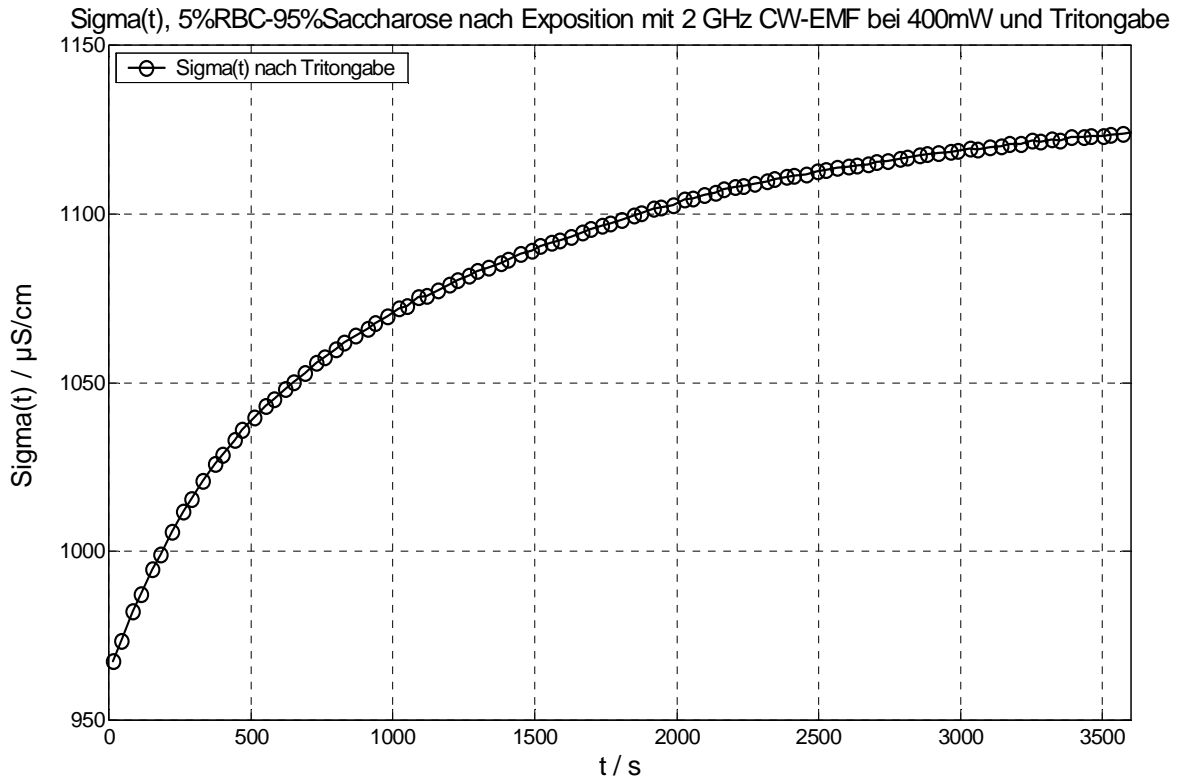


Abb. 17: Zeitverlauf der Leitfähigkeit bezogen auf 23,4 °C nach Tritongabe im Anschluss an die Exposition mit 2 GHz CW-EMF bei ca. 400 mW. Solatronsinal: 170 mV AC, 0 V DC.

Auf Grund der Diffusionslimitation durch den fehlenden Rührer verteilte sich das Triton nur sehr langsam, was zu einem exponentiell ansteigenden Leitfähigkeitsverlauf führte, der sich nach etwa einer Stunde auf den gefitteten Sättigungswert von 1160 µS/cm für 24,3 °C zu bewegte. In der LF539-Messzelle wurde der Triton-Endwert mit 1200 µS/cm bei 24,3 °C bestimmt. Die Abweichung beider Werte entspricht ca. 3,3 %.

In den folgenden Messungen wurde festgestellt, dass die Reinigung der coaxialen Messzelle nach der Verwendung von Triton sehr kritisch ist. Tritonreste führten in nachfolgenden Messungen zu verstärktem Ionenverlust, wenn die Messzelle nicht vollständig demontiert und gesäubert wurde. Aus diesem Grund wurde im Weiteren auf die Triton-Endwertbestimmung verzichtet.

6 Exposition von Erythrozytensuspensionen

Der Zeitverlauf der Leitfähigkeit der Erythrozytensuspensionen wurde in der auf 24,3 °C temperierten Messzelle des Leitfähigkeitsmessgeräts LF539 aufgenommen. Für jede Suspension wurde der Hämatokritwert bestimmt. Wie in den Versuchen ohne Exposition wurde nach 10 bis 15 Minuten, im linearen Bereich des Leitfähigkeitsverlaufs, ein Teil der jeweiligen Suspension entnommen und in die koaxiale Messzelle überführt. Hier erfolgten Messungen des Impedanzverlaufs mit dem Solatron SI 1260 vor und nach der Exposition.

Exponiert wurde mit CW-EMF bei 2 GHz und Leistungen von 200, 400 und 800 mW. Die Messungen erfolgten in bis zu 3 Zyklen, in denen die Suspension zunächst ca. 4 Minuten exponiert und danach für ca. 9 Minuten ihre Impedanz gemessen wurde. Beispielhaft sind die Leitfähigkeitsverläufe vor und nach Expositionen mit 200 mW (Abbn. 16, 18 und 19), 400 mW (Abb. 20) und 800 mW (Abb. 21) dargestellt.

Ein feldinduzierter Effekt läge „augenscheinlich“ vor, wenn der Anstieg nach Exposition anstiege. Setzte sich hingegen derselbe Anstieg auf einem Leitfähigkeitsniveau fort, das höher als das extrapolierte Niveau ist, dann wäre der Ionenverlust lediglich während der Exposition erhöht. Verringerte sich dagegen das Leitfähigkeitsniveau und der Anstieg durch die Exposition wie in den repräsentativen Beispielmessungen Abbn. 18 und 19, wäre Bläschenbildung (in diesen Messungen nicht beobachtet) oder Änderungen in der Elektroden Doppelschicht anzunehmen.

Die größeren Anstiege der temperaturkorrigierten Leitfähigkeitsverläufe für 200 mW vor der Exposition sprechen gegen den Effekt eines zusätzlichen, feldinduzierten Ionenverlusts. Interessant ist auch, dass die Schwankungen der Messpunkte von der Höhe des Messsignals (Abb. 18: 170 mV, Abb. 19: 10 mV) abhängen. Dies ist ein starker Hinweis auf elektrochemische Effekte in den Doppelschichten der Edelstahl Elektroden der koaxialen Messkammer [GHS05].

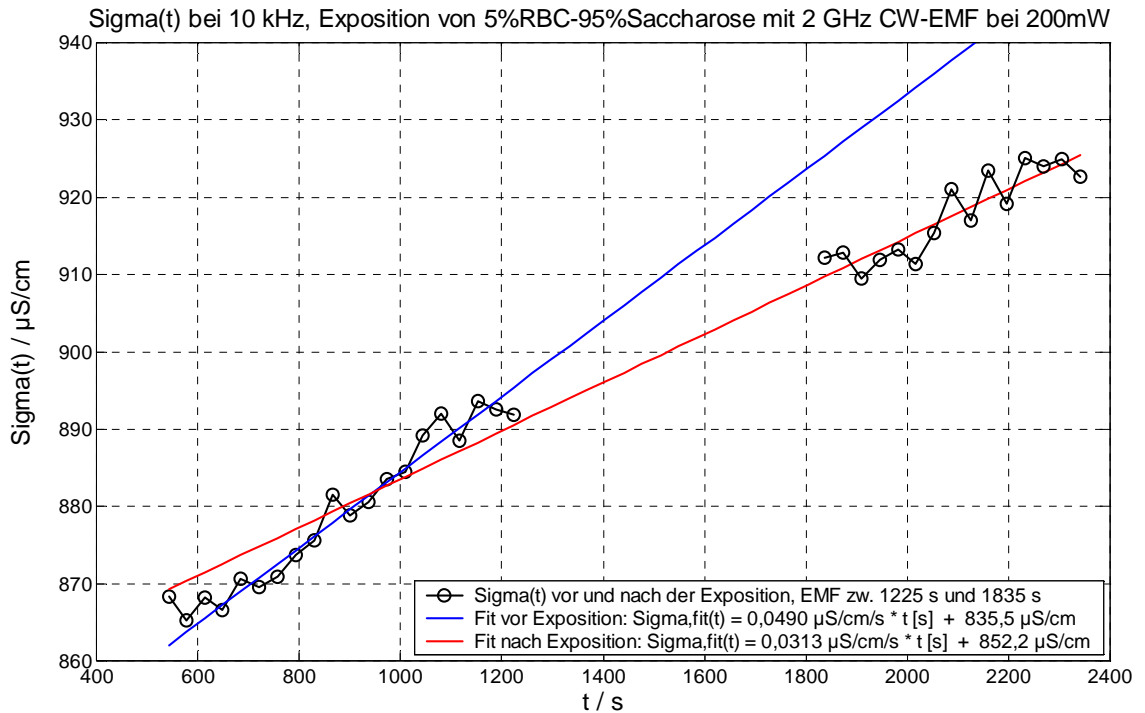


Abb. 18: Zeitverlauf der Leitfähigkeit vor und nach Exposition mit 2 GHz CW-EMF bei 200 mW. Solatronmesssignal: 170 mV AC, 0 V DC

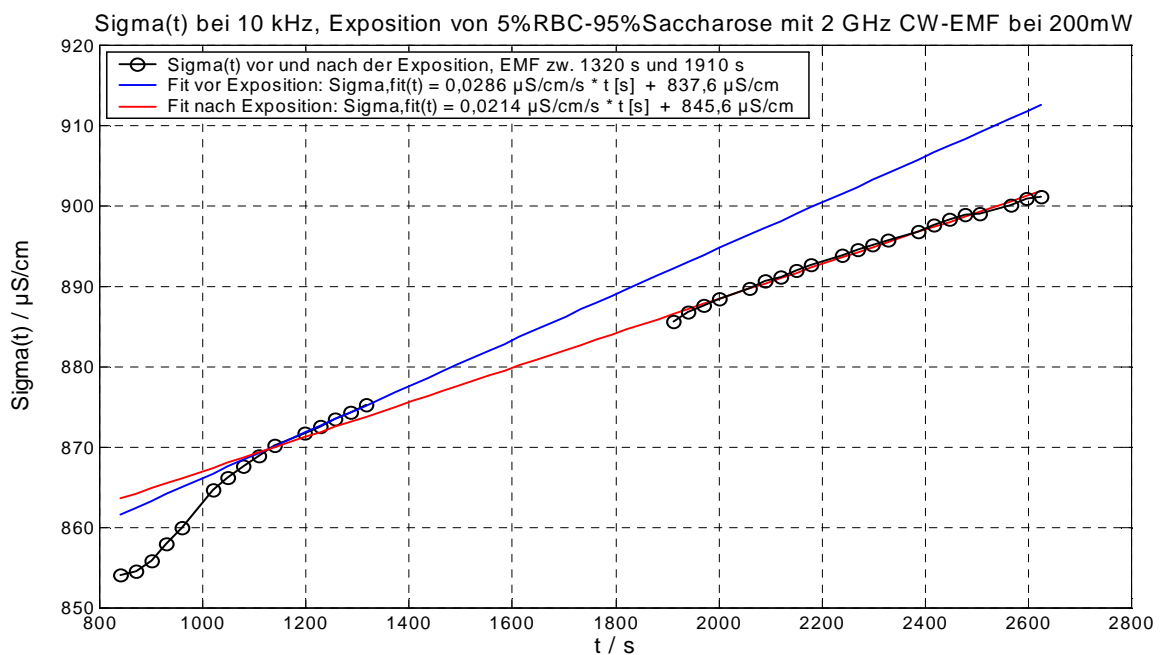


Abb. 19: Zeitverlauf der Leitfähigkeit vor und nach Exposition mit 2 GHz CW-EMF bei 200 mW. Solatronmesssignal: 10 mV AC, 0 V DC.

Ein ähnliches Verhalten wurde bei 400 mW beobachtet (Abb. 20). Nach jeder Exposition nahm der Anstieg im Leitfähigkeitsverlauf ab. Auch hier lassen sich Bläschenbildung (nicht beobachtet) oder Änderungen in der Elektrodendoppelschicht annehmen, die zu einer merklichen Verringerung der erwarteten Leitfähigkeitszunahme führen. Der gemessene Verlauf der Zunahme innerhalb jeder Expositionspause ist jedoch wieder erstaunlich linear (Abbn. 18-21).

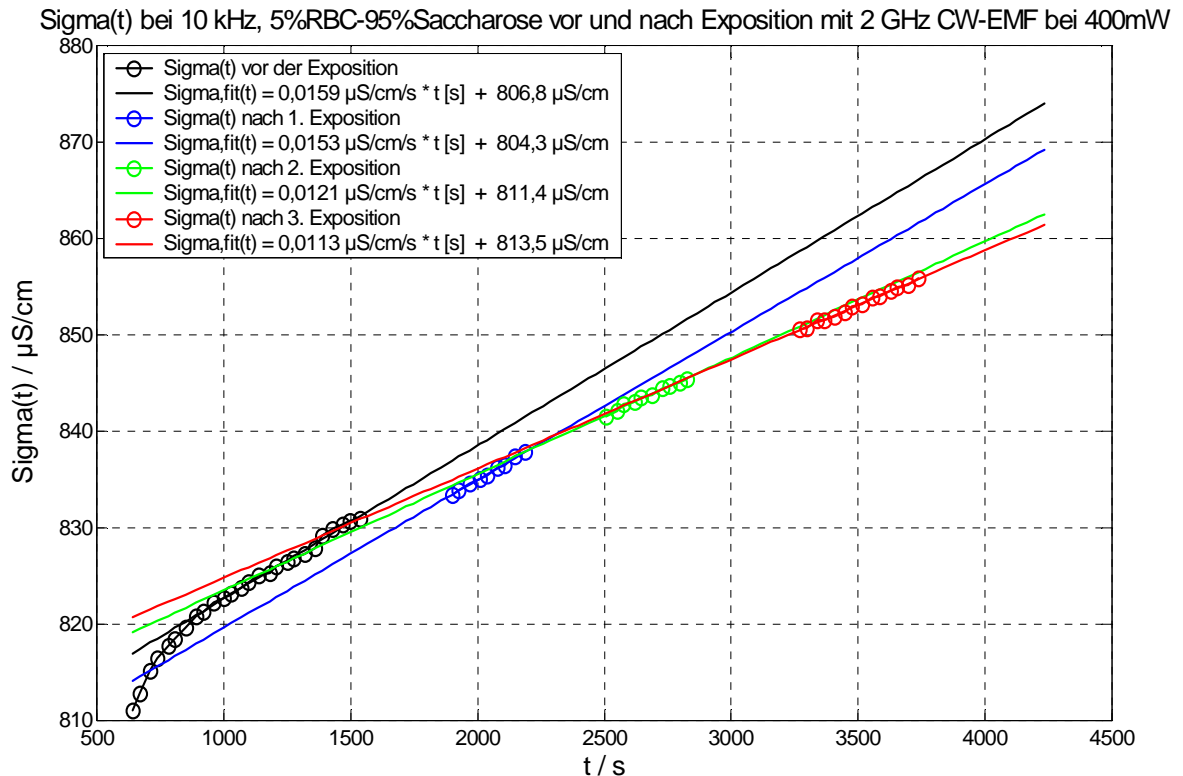


Abb. 20: Zeitverlauf der Leitfähigkeit vor und nach Exposition mit 2 GHz CW-EMF bei ca. 400 mW. Solatronmesssignal: 170 mV AC, 0 V DC.

Auch bei 800 mW lag ein qualitativ gleiches Verhalten vor (Abb. 21). In diesem Fall wurden jedoch auch Gasbläschen beobachtet (vgl. Abb. 14). Eine entsprechende Korrektur bis zu einem linearen Gesamtverlauf war möglich. Andererseits erscheint aber eine derart starke Korrektur nach Vergleich mit den 200 mW- und 400 mW-Verläufen nicht gerechtfertigt, da in diesen Messungen trotz der Abwesenheit von Gasbläschen ebenfalls kein linearer Gesamtverlauf gemessen wurde.

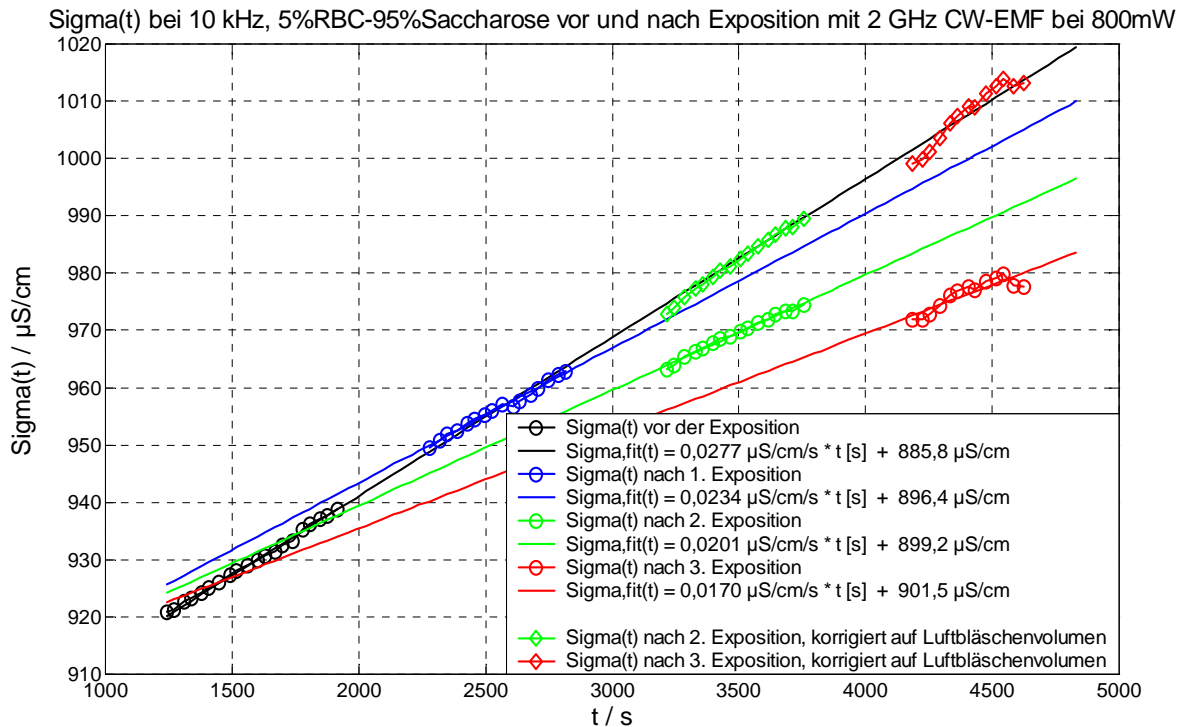


Abb. 21: Zeitverlauf der Leitfähigkeit vor und nach Exposition mit 2 GHz CW-EMF bei ca. 800 mW. Solatronmesssignal: 170 mV AC, 0 V DC. Das Wachstum des Volumens eines beobachteten Gasbläschens wurde so angepasst, dass ein lineares Auslaufverhalten entstand (oberste Gerade).

Offensichtlich gibt es bei allen Leistungen Effekte die den Prozess des Aussenleitfähigkeitsanstiegs durch den zellulären Ionenverlust stark überlagern und zu den beobachteten Sprüngen in dem Absolutwert und dem nachfolgenden Anstieg der Auslaufkurve führen. Sehr wahrscheinlich sind diese Effekte in temperaturabhängigen Elektrodenpolarisationsprozessen zu suchen.

7 Zusammenfassung

Als Ergebnis unserer Untersuchungen ist zusammenzufassen, dass mit dem vorliegenden Versuchsaufbau im Rahmen der experimentellen Möglichkeiten bis 400 mW kein zusätzlicher, feldinduzierter Ionenverlust messbar ist. Im Gegenteil, nach jeder Feldexposition war die gemessene temperaturkorrigierte Leitfähigkeit geringer als erwartet und der Anstieg der Auslaufkurve nahm ab. Dieser Effekt muss sehr wahrscheinlich durch Vorgänge in der elektrischen Doppelschicht der Elektroden erklärt werden, die von sehr komplexer Natur sind. Dies ist möglicherweise eine sehr interessante Beobachtung, deren nähere Betrachtung (auch in zellfreien Systemen) sich schon deshalb lohnen mag, da auch biologische

Membranen als Reaktionsoberflächen mit Ladungsträgerdurchtritt aufgefasst werden können.

Durch die Komplexität der beobachteten Probleme kann der vorgestellte Ansatz nach unserer Auffassung nur als eigenständiges Projekt und nach einer Reihe weiterer Änderungen am Aufbau zum Erfolg geführt werden. Diese Verbesserungen müssten mindestens eine hochgenaue Thermostatierung der Meßkammer, einen Verdunstungsschutz, eine Verbesserung der Weiche zur Umschaltung vom Expositions- auf den Meßmodus (die z. B. die Massefreiheit der Messkammer im Messmodus gewährleistet), der Masseleitungsführung zwischen allen Geräten und die Platinierung der Meßkammerelektroden zur Reduzierung der Elektrodenpolarisation beinhalten. Die alternative Integration einer separaten Leitfähigkeitsmesskammer in den Aufbau würde diesen zwar verkomplizieren, wäre aber im Sinne einer erhöhten Messgenauigkeit (und der Vermeidung der EMF-Exposition der Elektrodendoppelschichten vor der Messung) sicher sinnvoll. UMTS-Messungen oberhalb von 2 GHz erforderten die weitere HF-technische Verbesserung der Anpassung zwischen der koaxialen Zuleitung und der Messkammer. Die Versuche mit humanen Erythrozyten haben gezeigt, dass für die Stabilität der Messungen eine Zellvolumenkonzentrationen von 5% optimal ist.

Für die Kontrollmessungen mit der Messzelle des Leitfähigkeitsmessgeräts LF539 ist ein minimales Messvolumen von 4 ml notwendig. Entsprechende Versuche mit zerebralen Zellen hätten deshalb mehr Tiertötungen erfordert als ursprünglich vorgesehen und beantragt waren und waren aus Sicht der Probleme mit den Messungen an humanen Erythrozyten nicht gerechtfertigt.

8 Literatur

- Fis06: Fischer R. 2006. Entwicklung und Test von Hochfrequenz-Expositionseinrichtungen im GHz-Bereich. Diplomarbeit am Institut für Allgemeine Elektrotechnik und am Lehrstuhl für Biophysik an der Universität Rostock.
- GDG89: Georgiewa R., E. Donath, J. Gimsa, U. Löwe, R. Glaser. 1989. AC-field-induced KCl leakage from human red cells at low ionic strengths – Implications for electrorotation measurements. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 22:255-270.
- GSZ94: Gimsa J., T. Schnelle, G. Zechel, R. Glaser, 1994. Dielectric spectroscopy of human erythrocytes: Investigations under the influence of nystatin. *Biophys. J.* 66:1244-1253.
- GHS05: Gimsa J., B. Habel, U. Schreiber, U. van Rienen, U. Strauss, U. Gimsa. 2005. Choosing electrodes for deep brain stimulation experiments – electrochemical considerations. *J. Neurosci. Meth.* 142:251-265.