



(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
23.05.2018 Patentblatt 2018/21

(51) Int Cl.:
A01K 11/00 (2006.01) **A01K 61/95** (2017.01)
G06K 19/06 (2006.01) **G06K 19/077** (2006.01)
G06K 19/04 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **17401113.0**

(22) Anmeldetag: **07.11.2017**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
Benannte Erstreckungsstaaten:
BA ME
Benannte Validierungsstaaten:
MA MD

(72) Erfinder:
• **Rapp, Bastian**
76135 Karlsruhe (DE)
• **Sachsenheimer, Kai**
76297 Stutensee (DE)
• **Foulkes, Nicholas**
76344 Eggenstein-Leopoldshafen (DE)
• **Peravali, Ravindra**
76297 Stutensee (DE)
• **Loosli, Felix**
69231 Rauenberg (DE)

(30) Priorität: **17.11.2016 DE 102016122113**

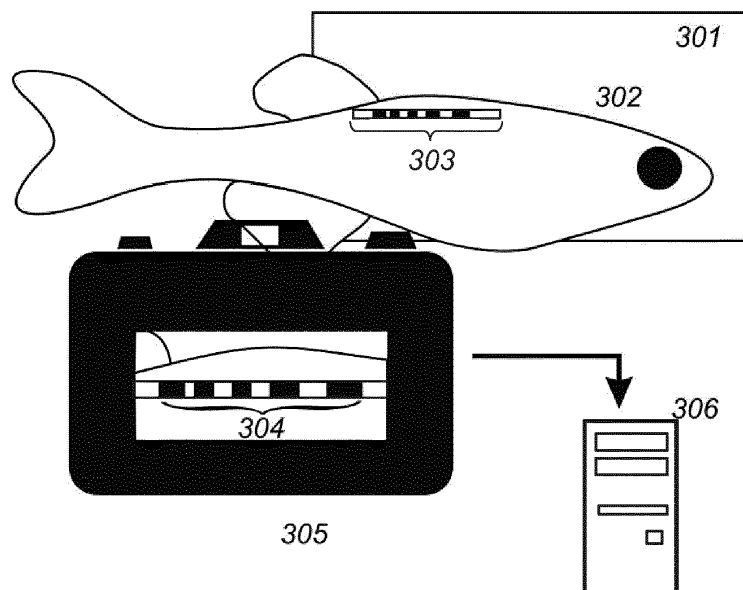
(71) Anmelder: **Karlsruher Institut für Technologie**
76131 Karlsruhe (DE)

(54) **VORRICHTUNG ZUR IDENTIFIKATION VON GEGENSTÄNDEN UND LEBEWESEN IN WASSER SOWIE VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG UND ANWENDUNG DER VORRICHTUNG UND DEREN VERWENDUNG**

(57) Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Identifikation von Gegenständen und Lebewesen in Wasser. Dazu wird eine Vorrichtung, aufgebaut aus einem Grundkörper und beschichtet mit einem im sichtbaren und oder IR - auslesbares Barcodemuster, beschrieben. Ebenfalls

wird ein Verfahren zur Herstellung der Vorrichtung und ein Verfahren zur Anwendung, sowie die Verwendung der Vorrichtung zur Identifikation von Gegenständen und Lebewesen in Wasser vorgeschlagen.

Fig. 3



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Identifikation von Gegenständen und Lebewesen in Wasser sowie Verfahren zur Herstellung und Anwendung der Vorrichtung und die Verwendung der Vorrichtung. Die Erfindung befindet sich auf dem Gebiet der Grundlagenbiologie und Verhaltensforschung.

[0002] Fische sind eines der wichtigsten Modellsysteme für die Grundlagenbiologie. Sie werden vermehrt zur Studie von Verhaltensmerkmalen als Konsequenz genetischer Eigen- und Besonderheiten eingesetzt. Da Fische Schwarmtiere sind, ist es notwendig, die einzelnen Tiere in einer Population korrekt zu identifizieren und zuzuordnen. Dies ist vor allem dann wichtig, wenn gewisse genetische Merkmale an einer Subpopulation verändert wurden. Die daraus resultierenden Verhaltensänderungen sind nur dann eindeutig mit den genetischen Merkmalen zu verknüpfen, wenn eindeutig nachweisbar ist, um welches Individuum es sich handelt.

[0003] Es gibt eine Reihe etablierter Methoden, einzelne Tiere in einer Herde oder einem Schwarm zu markieren. Die meisten dieser Lösungen basieren dabei auf aktiven Transpondersystemen und nutzen beispielsweise die RFID-Technik. Die verhältnismäßig große Abmessung dieser Geräte machen sie für den Einsatz in Fischen ungeeignet. Darüber hinaus stellt die Markierung einzelner Fische vor allem für die Anwendung in ihrem natürlichen Habitat ein weiteres Problem dar: die hohe dielektrische Umgebung. Bedingt durch die sehr hohe Dielektrizitätskonstante von Wasser (ca. 81) haben elektrische Felder nur eine sehr begrenzte Eindringtiefe. Das führt vor allem dazu, dass klassische Lösungen auf der Grundlage von Funktechnik unter Wasser nicht eingesetzt werden können.

[0004] Eine weitverbreitete Methode, Fische zu markieren sind die sogenannten "visible implant elastomers" (VIE), Elastomere mit Farbpigmenten versehene Polymere, die den Tieren unter die Haut gespritzt werden. Das Problem dieser Systeme ist die sehr ungenaue Applizierbarkeit und die damit einhergehende visuelle Änderung der Pigmentierung, die von Artgenossen wahrgenommen wird. Dadurch sind Verhaltensänderungen sehr wahrscheinlich, was diese Systeme für Verhaltensstudien nur sehr eingeschränkt verwendbar macht.

[0005] US20050011470A1 beschreibt ein System zur eindeutigen Identifizierung von Individuum aus einer Population anhand externer Merkmale. Diese Merkmale werden mit Daten aus einer Datenbank abgeglichen und anhand eines Vergleiches mit diesen Daten kann das Individuum identifiziert werden. Dieses Vorgehen ist für viele Fische nicht anwendbar, weil sich die Fische äußerlich nicht ausreichend unterscheiden.

[0006] US4392236A beschreibt ein System zur Identifizierung von Fischen mittels Röntgenstrahlung unter Verwendung von Tags, die aus Elementen höherer Ordnungszahl (40-83) zusammengesetzt sind und daher ein charakteristisches Röntgenfluoreszenzspektrum auf-

weisen. Allerdings werden bei diesem Verfahren die Fische einer hohen Strahlenbelastung ausgesetzt.

[0007] Darauf aufbauend war es Aufgabe der Erfindung eine Vorrichtung zu entwickeln mit deren Hilfe Gegenstände und/oder Lebewesen zweifelsfrei in einem Schwarm oder Verbund identifiziert werden. Des Weiteren war es Aufgabe ein Verfahren zur Herstellung solcher Vorrichtung vorzuschlagen sowie ein Verfahren zur Anwendung der Vorrichtung.

[0008] Die Aufgabe wird durch die in Anspruch 1 vorgeschlagene Vorrichtung und durch die in Anspruch 8 und 10 vorgeschlagenen Verfahren sowie der in Anspruch 11 vorgeschlagenen Verwendung gelöst. Unteransprüche stellen vorteilhafte Ausführungsformen dar.

[0009] Informationsübertragung unter Wasser kann in erster Linie nur bei höheren Wellenlängen erfolgen, beispielsweise durch Schall oder Licht. Lichtwellen können unterschiedlich tief in Wasser eindringen, wobei niederfrequentes Licht (UV) durch Wasser stark absorbiert wird. Sichtbares Licht und vor allem infrarotes (IR) Licht hingegen können in Wasser sehr weit transportiert werden.

[0010] Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur Identifikation von Gegenständen und Lebewesen in Wasser umfasst mindestens einen axialsymmetrischen, global konvexen Abschnitt A in einem Grundkörper aus einem Material, welches im sichtbaren und/oder infrarotem Licht transparent ist und eine zumindest teilweise auf den Abschnitt A des Grundkörpers (GK) aufgebrachte Barcode-Schicht (BS) aus einem im sichtbaren und/oder infrarotem Licht undurchsichtigen Material. Die BS ist so auf den Grundkörper aufgebracht, dass ein Barcode-Muster (BM) aus gleich oder verschieden breiten Bereichen der BS auf dem Abschnitt A des GK entsteht. In einer Ausgestaltung entspricht der Abschnitt A dem GK.

[0011] Der Abschnitt A weist eine axialsymmetrisch, global konvexe Geometrie auf, das heißt er weist keine Hinterschnitte auf. Hinterschnitte würden den Blick auf Bereiche des BM verdecken und somit zu Fehinformationen führen. Bevorzugt weist der Abschnitt A eine Form ausgewählt aus folgender Liste auf: Zylinder, Kegel, Kegelstumpf, Pyramide, Pyramidenstumpf, Quader, Prisma, bevorzugt ausgewählt aus folgender Liste: Zylinder, gerader Kegel, gerader Kegelstumpf, gerade Pyramide, gerader Pyramidenstumpf, Quader, gerades Prisma. In einer Ausgestaltung mit mehr als einem Abschnitt A weisen die verschiedenen Abschnitte A gleiche oder unterschiedliche Geometrie auf.

[0012] Die Vorrichtung ermöglicht die Identifikation von Gegenständen, die zumindest im Bereich der eingebrachten erfindungsgemäßen Vorrichtung aus einem im sichtbaren und/oder IR-Licht transparentem Material bestehen oder auch von Lebewesen, wie z.B. Fische, Delfine, Muscheln oder auch der Mensch, da diese im Bereich des niederwelligen Infrarot und/oder sichtbaren Licht eine gewisse Transparenz aufweisen.

[0013] Die erfindungsgemäße Vorrichtung wird genutzt, um eine passiv agierende, einbringbare/implan-

tierbare Markierungen zu generieren, die ein im sichtbaren oder im IR-Licht ablesbares BM zeigt.

[0014] BM bestehen im Allgemeinen aus einer sogenannten einleitenden und ausleitenden Ruhezone, in der keine Information codiert ist. Der Code wird mit einem Startcode eingeleitet und mit einem Stoppcode ausgeleitet. Dazwischen liegt der Informationsbereich, in welchem eine variable Anzahl an Bits, d.h. an lesbaren Informationen codiert ist. Diese BM finden beispielsweise in der Markierung von Produkten in Kaufhäusern und Supermärkten ebenso Verwendung, wie zur Markierung von Büchern.

[0015] Etablierte Barcodesysteme weisen neben der eigentlichen Markierungsinformation meist weitere Information in Form weiterer Bits auf. Diese Bits werden verwendet, um zu überprüfen, ob der Barcode korrekt gelesen wurde. Sie werden daher auch als "error detection bits" bezeichnet. Wurde beim Ablesen des Barcodes ein Bit falsch interpretiert, kann anhand dieser Bits mitunter sogar überprüft werden, welche Bereiche des Barcodes nicht korrekt gelesen wurden. Dies ermöglicht mitunter die Rekonstruktion des nicht korrekt zurückgelesenen Bereiches und somit nicht nur "error detection" sondern auch "error correction". Die Rate an falsch zurückgelesenen Bits ist im sichtbaren Licht deutlich höher als im IR-Bereich, da die meisten Lebewesen, wie Fische, im sichtbaren Bereich deutlich weniger transparent sind.

[0016] In der erfindungsgemäßen Vorrichtung wird ein BM zur eindeutigen Identifizierung eines einzelnen Gegenstandes aus einer Menge gleicher oder ähnlicher Gegenstände oder eines Lebewesens in einer Population, bevorzugt eines Fisches in einem Schwarm genutzt. Abhängig von der Länge des Codes wird dabei eine anpassbare Informationstiefe und somit eine wählbare Anzahl an Gegenständen oder Lebewesen eindeutig codiert. Wird ein BM mit 10 Bit Information gewählt, um Fische in einem Schwarm zu markieren und identifizieren, so können $2^{10} = 1024$ Fische eindeutig markiert werden.

[0017] Aus der Literatur sind zahlreiche mögliche Barcodesysteme bekannt. Aus Gründen der besseren Handhabung weist das gewählte BM in einer vorteilhaften Ausgestaltung zwei Eigenschaften auf: Es ist rein binär ausgeführt, codiert also keine Information in Grauwerten, und es ist eindimensional. Grauwerte hängen immer stark vom Kontrast ab. Die Ausgestaltung eines rein binären BM hat den Vorteil, dass eine hohe Ablesesicherheit besteht. Selbst schräg von der Seite betrachtet, können binäre BM richtig ausgelesen werden. Ein nicht-binäres BM, das schräg abgelesen wird, kann fehlerhaft interpretiert werden, da man nicht weiß, ob es sich um den von der Kamera entfernten Bereich des BM um Grauwerte oder um sehr schwach erkennbare weiße Bereiche handelt. Lineare Barcodes haben im Vergleich zu flächigen Barcodes den Vorteil, dass sie richtungsunabhängig ausgelesen werden, wohingegen flächige Barcodes einen möglichst senkrechten Blickwinkel benötigen.

[0018] In einer bevorzugten Ausgestaltung liegt das

BM in Form von gleich oder unterschiedlich breiten Linien der BS senkrecht zur Längsachse des Abschnitts A des GK vor. Dabei verlaufen die Linien der BS um den Abschnitt A herum. Eine solche Ausgestaltung ermöglicht, dass die codierte Information unabhängig vom aktuellen Rotations- oder Torsionswinkel des GK eindeutig ablesbar ist. Das ist insofern von Vorteil, da man die genaue Lage der Vorrichtung zur Identifikation im gewählten Gegenstand oder Lebewesen und die Lage des Gegenstands oder Lebewesen nicht bestimmen kann und mit dieser Vorrichtung auch nicht bestimmen muss.

[0019] Bei der Verwendung eines Zylinders oder eines Quaders ist die Längsachse die Achse, die durch die Mittelpunkte von zwei sich gegenüberliegenden Flächen gezogen wird und die der längsten Ausdehnung des Zylinders oder des Quaders entspricht. Bei der Verwendung eines Kegels, einer Pyramide, eines Kegelstumpfs oder eines Pyramidenstumpfs ist die Längsachse die Achse, die von der Spitze zum Mittelpunkt der Grundfläche bzw. durch die Mittelpunkte der Grund- und Deckfläche gezogen wird.

[0020] Bei der Verwendung eines Prismas ist die Längsachse die Achse, die durch den geometrischen Flächenschwerpunkt gezogen wird und der längsten Ausdehnung des Prismas entspricht.

[0021] Eine bevorzugte Ausgestaltung sieht eine Vorrichtung vor, deren Abschnitt A des GK im IR durchsichtig ist und das BS, welches das BM erzeugt, im IR undurchsichtig. Die Rücklesbarkeit des Barcodes im IR ist vorteilhaft, da viele Lebewesen, wie auch Fische meist eine höhere Transparenz im IR-Bereich aufweisen als im sichtbaren Bereich. Im sichtbaren Wellenlängenbereich interferiert z.B. die Pigmentierung eines Lebewesens (z. B. eines Fisches) oder die Farbgestaltung eines Gegenstandes mit dem Muster des zurücklesbaren Barcodes.

[0022] In der Verhaltensbiologie werden verschiedene Fischmodellsysteme eingesetzt, die häufigsten sind hierbei Zebrafisch (*Danio rerio*), Medaka (*Oryzias latipes*), Stichling (*Gasterosteidae*), elektrischer Aal (*Electrophorus electricus*), Blindfische (*Amblyopsidae*), Forelle (*Salmo trutta*) und Nilhechte (*Mormyridae*). Im Allgemeinen geht man davon aus, dass Markierungen, Implantate oder ähnliche Modifikationen eines Fisches im Bereich unter 2 % des Körpergewichts liegen sollten und das Tier nicht an der Fortbewegung hindern dürfen. Daher sollte das Gesamtvolumen der Markierung im Bereich weniger Prozent der Körperlänge bzw. der Körperbreite liegen, idealerweise bei weniger als 20 %, bevorzugt weniger als 10%. Bei den in der Verhaltensbiologie häufig eingesetzten Fischarten Medaka die eine Länge von 30 mm und eine Breite (an der breitesten Stelle) von 4 mm aufweisen, wird eine Markierung verwendet, die maximal 3 mm lang und 300 μm breit ist.

[0023] In einer Ausgestaltung ist der GK und das BS aus je mindestens einem flexiblen Material. Das ist besonders bei der Einbringung der Vorrichtung in Lebewesen und biegsame Gegenstände vorteilhaft, da die Vorrichtung sich dann der Bewegung des Lebewesens oder

des Gegenstands anpasst und keinen Widerstand bietet.

[0024] Die Herstellung einer Vorrichtung zur Identifikation von Fischen mit einem BM wird durch das folgende Verfahren beschrieben. Zunächst wird in einem Verfahrensschritt a) ein GK mit mindestens einen axialsymmetrischen, global konvexen Abschnitt A aus einem Material, welches im sichtbaren und/oder infraroten Licht transparent ist bereitgestellt. In einem Verfahrensschritt b) wird eine BS auf zumindest einen Teil des Abschnitts A aufgebracht. Diese BS wird so aufgebracht, dass ein BM aus gleich oder verschiedenen breiten Bereichen der BS auf dem mindestens einen Abschnitt A entsteht. Anschließend erfolgt in einem Verfahrensschritt c) die Entnahme der Vorrichtung.

[0025] Das Aufbringen der BS auf den mindestens einen Abschnitt A des GK muss so erfolgen, dass dabei ein BM erzeugt wird. Das BM wird in einer Ausgestaltung erzeugt, indem zunächst die BS auf den Abschnitt A des GK aufgebracht wird. Dann wird auf die BS eine Schicht eines photoreaktiven Materials aufgebracht, eines sogenannten Photoresists. Diese Materialien verändern ihre Löslichkeit in einer Entwicklerlösung infolge der Belichtung mit Licht einer geeigneten Wellenlänge. Bei einem Positiv-Photoresist wird die Löslichkeit durch die Belichtung erhöht, bei einem Negativ-Photoresist wird sie reduziert. Anschließend wird das photoreaktive Material mittels eines lithographischen Aufbaus belichtet; entweder mittels Photomaske, welche intransparent und transparente Bereiche aufweist, die den Barcode definieren, oder maskenlos. Der Aufbau besteht in einer vorteilhaften Ausgestaltung aus einer maskenlosen Projektionseinheit, die die Definierung eines Lichtmusters mittels Software ermöglicht. Dies ist vorteilhaft, da die Herstellung eindeutiger Barcodes für jeden Code eine neue Maske notwendig macht. Während der Belichtung wird entweder der GK kontinuierlich gedreht oder die Lichtquelle um den GK. Auf diese Weise entsteht ein Muster, welches sich. Infolge der Belichtung werden auf der photoreaktiven Beschichtung Bereiche erhalten, die belichtet wurden und solche, die nicht belichtet wurden. Die Löslichkeit dieser Bereiche in einem geeigneten Lösungsmittel ist infolge der Belichtung verändert. Im nächsten Schritt werden entweder die belichteten (Positiv-Photoresist) oder die nicht-belichteten (Negativ-Photoresist) Bereiche selektiv in einem Lösungsmittel entfernt. Daraufhin wird die lichtabsorbierende BS strukturiert. Hierfür wird ein Bad aus einem Ätzmittel verwendet, welches in der Lage ist, die BS selektiv zu zersetzen. Die Bereiche der BS, die durch die noch vorhandenen Strukturen des Photoresist geschützt sind, werden dabei vom Angriff des Ätzmittels geschützt. Dadurch wird das vorher zunächst nur in Photoresist sichtbare BM in eine Struktur der BS übersetzt. Die Reste des Photoresist werden im letzten Schritt entfernt. Nun liegt ein GK mit einem Abschnitt A vor, der transparente und intransparente Bereiche aufweist und der als Barcode senkrecht zur Symmetrieachse winkelnunabhängig zurückgelesen werden kann.

[0026] In einer alternativen Ausgestaltung wird die BS mittels eines ablatierenden Verfahrens selektiv abgetragen. Hierfür steht beispielsweise der mechanische Abtrag mittels Schleifen, Fräsen oder eines ähnlichen Verfahrens zur Verfügung. Darüber hinaus ist eine direkt Ablatierung durch hochenergetische, räumlich strukturierte Beaufschlagung möglich, beispielsweise unter Verwendung eines Lasers.

[0027] Eine weitere alternative Ausgestaltung des Herstellungsverfahrens ist die selektive Aufbringung der BS, beispielsweise unter Verwendung einer Maske, die selektiv gewisse Bereiche des GK vor der Aufbringung der BS schützt und somit die räumliche Strukturierung ermöglicht.

[0028] In einer vorteilhaften Ausgestaltung bestehen der GK oder die BS aus einem biokompatiblen Material, da somit Abstoßungsreaktionen im Lebewesen vermieden werden. In einer besonders vorteilhaften Ausgestaltung, bestehen sowohl GK als auch BS aus einem biokompatiblen Material.

[0029] Als Grundkörper für den Barcode ist ein möglichst flexibles Material zu wählen, welches im IR- und/oder sichtbaren Wellenlängenbereich transparent ist (101). Als Materialien für den GK eignen sich Polymere ausgewählt aus der Liste Cyclo-Olefin-Copolymeren (COC), gesättigte alkanische teil- oder perfluorierte oder teil- oder perchlorierte Polymeren wie Polyethylene, Polypropylene, Polybutylene oder Polystyrol, Polyester wie Polyethylentherphthalat (PET), Polycaprolacton, Polyglycolid oder Polylactid, Polysulfone (PSU), Polyarylate sowie Polyether, Polytetrafluoroethylene oder Polyurethane, Polysiloxane, Polyphosphazene, Polysilazane, Poly(ethylenoxid), Polyacrylatn, Polymethacrylate, Polyethylenimine, thiolhaltige Polymere, oder Gemische aus zwei oder mehreren davon.

[0030] Das BS besteht bevorzugt aus Metallen, kristallinen oder teilkristallinen Polymeren mit oder ohne Partikelfüllung sowie IR absorbierenden Keramiken oder Mischungen daraus. Als BS eignet sich insbesondere Gold. Gold kann mittels physikalischer Beschichtungstechnik, beispielsweise mittels Sputtern aufgebracht werden. Hierbei ist eine nur sehr dünne Schicht notwendig, weil Gold bereits ab Schichtdicken von wenigen Nanometern intransparent ist. Gold lässt sich mit einem Bad aus Kaliumiodid/Jod als Ätzmittel entfernen.

[0031] Wurden als GK und/oder als BS kein biokompatibles Material verwendet, so wird in einer vorteilhaften Ausgestaltung in einem Verfahrensschritt b1) der hergestellte Barcode mit einem Film aus einem biokompatiblen Material versehen. Das erfolgt in einer Ausgestaltung mittels eines chemischen Beschichtungsprozesses mit einem biokompatiblen Schutzfilm. Als Schutzfilm hierfür wird bevorzugt ein Material der Liste Parylen C, fluorierte Polymere, eine Glasschicht, COC, Polyetheretherketon oder Polystyrol oder Mischungen daraus verwendet. Die Wahl des Materials ist lediglich dadurch eingeschränkt, dass das Material die Elastizität des GK nicht signifikant verringert und im Bereich der verwendeten

Wellenlänge optisch transparent sein sollte. Ein Überzug mit einem biokompatiblen Film verringert Abstoßungsreaktionen im Lebewesen.

[0032] Um erfindungsgemäß verwendet zu werden, muss die Vorrichtung zunächst gemäß einem Verfahrensschritt u) in Gegenstände oder Lebewesen, in einer bevorzugten Ausgestaltung in Fische eingebracht oder implantiert, wobei jeder Gegenstand oder jedes Lebewesen einen eindeutig zuordenbaren Barcode erhält. Der Gegenstand oder das Lebewesen mit dem implantierten Barcode bewegt sich im Wasser ins Sichtfeld der sichtbaren- und/oder IR-Licht-Quelle und wird in einem Verfahrensschritt v) mit sichtbaren und/oder IR-Licht bestrahlt und dabei mit einer (IR)-Kamera aufgenommen. In einer Ausgestaltung handelt es sich bei der IR-Quelle um einen flächigen IR-Strahler, der permanent oder intermediär aktiv ist. Mittels der Kamera ist der Barcode als Streifenmuster zu erkennen (304). Das Bild wird im Schritt w) mittels eines angeschlossenen Eingabe-Verarbeitung-Ausgabesystem-Systems (z.B. Computer) verarbeitet und der Barcode zurückgelesen. Dadurch ist die eindeutige Identifikation des Fisches möglich.

[0033] In einer Ausgestaltung wird ein solches System so angebracht werden, dass es in unmittelbarer Nähe von Orten hoher Aufenthaltswahrscheinlichkeiten, wie z. B. einer Futterquelle angebracht ist. In einer weiteren Ausgestaltung werden eine Vielzahl von Identifikationseinheiten räumlich um ein mit Wasser gefülltes Gefäß, im Besonderen ein Aquarium so verteilt, dass alle Raumrichtungen überwacht werden. In einer bevorzugten Ausgestaltung ist das System im permanenten Einsatz. Dadurch wird es möglich, Gegenstände oder Lebewesen, bevorzugt Fische, mittels der Richtungsinformation der Identifikation zu verfolgen und ihre Bewegung über der Zeit aufzuzeichnen. In einer weiteren Ausgestaltung werden geeignete (IR)Kamerasysteme und Lichtquellen im Wasser platziert.

[0034] Ausgestaltungen können frei miteinander kombiniert werden.

[0035] Mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung liegt ein robustes System zur Markierung und Identifikation individueller Gegenstände aus einer Menge gleicher oder ähnlicher Gegenstände oder Lebewesen in einer Population vor. Im Speziellen vereint das System bei der Anwendung zur Identifikation von Lebewesen, wie Fischen folgende Vorteile:

- Das System ermöglicht die eindeutige individuelle Erkennung einer Vielzahl von Gegenständen oder Lebewesen (>100).
- Die Lösung ist ein rein passives System. Es ist keine Energieversorgung notwendig. Der Barcode kann über die gesamte Lebenszeit des Tieres zurückgelesen werden. Wartungsarbeiten sind nicht nötig.
- Volumen- und Gewichtseintrag des Markierungs-

systems sind vernachlässigbar. Der Barcode selber wiegt wenige Milligramm und nimmt einen verschwindend geringen Teil des Körpervolumens ein.

5 Der Barcode behindert das Tier nicht in der Bewegung.

Das System ist überaus kostengünstig und einfach zu implementieren.

10 **[0036]** Folgende Vorteile ergeben sich zusätzlich, wenn das System auf eine Rücklesbarkeit im IR ausgelegt wird:

15 Der Barcode ist im sichtbaren Wellenlängenbereich von außen nahezu nicht zu sehen. Dies ist vor allem deswegen sinnvoll, weil Änderung der Markierung bzw. der Pigmentierung des Fisches potentiell von anderen Mitgliedern des Schwarms bemerkt und dadurch eine Verhaltensänderung begünstigt wird.

20 Fische können IR-Licht nahezu nicht wahrnehmen. Dies ermöglicht eine Messung ohne die natürliche Verhaltensweise der Tiere zu ändern.

25 Das System ist problemfrei im Wasser einsetzbar, auch über weitere Strecken, wenn eine ausreichend hochauflösende IR-Quelle und IR-Kamera verwendet wird. Dies liegt vor allem darin begründet, dass IR-Licht sowohl im Wasser als auch im Gewebe der Fische nur gering absorbiert und daher das Ablesen des Barcodes nicht behindert.

30 **[0037]** Die Erfindung wird mit den nachfolgenden Figuren und Ausführungsbeispielen näher erläutert.

[0038] Fig. 1 zeigt ein Beispiel eines eindimensionalen Barcodes. Hierbei handelt es sich um einen sogenannten EAN-Code, der eine "No Return to Zero (NRZ)" Struktur aufweist. Dabei ist eine reflektierende (nicht-transparente) Fläche eine logische 0 und eine nichtreflektierende (transparente) Fläche eine logische 1. Eine einleitende (10) und ausleitende Ruhezone (14), in denen keine Information vorliegt schließen den eigentlichen Barcode ein. Dieser beginnt mit einem Startcode (11) und endet mit einem Stoppcode (13). Dazwischen liegt der eigentliche Informationsbereich des Codes (12).

35 **[0039]** Das prinzipielle Vorgehen zur Herstellung eines rotationssymmetrischen Barcodes in der Ausgestaltung mittels Photolithographie auf einem transparenten flexiblen GK wird in Fig. 2 gezeigt. a) Ausgang bildet der GK mit einem Abschnitt A (101). b) In einem zweiten Schritt wird dieser Abschnitt mit einer intransparenten BS (102) beschichtet. c) Auf diese Schicht wird eine photoreaktive Substanz (PS) (103) aufgebracht. d) Die PS wird unter Verwendung einer geeigneten Vorrichtung zur Strukturierung von Licht, beispielsweise einer Photomaske (202) mit intransparenten (203) und transparenten (204)

Bereichen, die die Struktur des Barcodes festlegen, belichtet. Während der Belichtung wird entweder der GK um die Achse rotiert oder die Belichtungsquelle (205) um den GK. e) Infolge der Belichtung kommt es zu einer chemischen Änderung in der PS, der je nach Natur der PS nach Belichtung mehr (Positiv-PS) oder weniger (Negativ-PS) löslich in einem Lösungsmittel wird. Im gezeigten Beispiel wird eine Negativ-PS verwendet. Die belichteten Bereiche (207) sind schlechter löslich als die unbelichteten Bereiche (208). f) Nach Entwicklung bleiben Bereiche der BS (102) durch die PS (207) geschützte. g) Die intransparente BS (102) wird im nächsten Schritt durch einen Ätzschritt angegriffen. Die Bereiche, die noch durch die PS (207) geschützt sind, bleiben vom Angriff des Ätzmediums verschont. Die Struktur des Barcodes wird in die intransparent BS (102) übertragen. In den freiliegenden Bereichen wird das transparente Material des GK freigelegt. h) Nach Entfernen der PS liegt der Barcode als eine rotationssymmetrische Struktur von intransparenten (BS, 102) und transparenten (GK, 101) Bereichen vor.

[0040] Die Fische werden wie in **Fig. 3** gezeigt identifiziert. Der Fisch (302) mit der implantierten Vorrichtung (303) schwimmt zwischen einem flächigen IR-Strahler (301) und einer IR-Kamera (305). Die Kamera erkennt den IR-Code als Streifenmuster (304). Ein angeschlossenes EVA-System (306) liest den Code zurück und identifiziert den Fisch.

[0041] **Fig. 4** zeigt einen Aufbau, indem die Identifikationseinheit (404) aus IR-Quelle und IR-Kamera in einem Fischtank (401) in der Nähe einer Futterquelle (405) angebracht ist. Die Fische (302) mit der implantierten Vorrichtung zur Identifikation (303) werden beim Annähern an die Futterquelle identifiziert. Die Fische (302) werden den Bereich vor der Futterquelle mit hoher Wahrscheinlichkeit frequentieren.

[0042] **Fig. 5** zeigt ein rotationssymmetrisches BM auf einem Polymerfaden. Der GK (101) besteht aus dem Polymer PET und die BS (102) aus Gold.

[0043] **Fig. 6** zeigt die Transmission von Licht (T/R%) unterschiedlicher Wellenlänge (W in nm) durch den Fisch *Medaka* und **Fig. 7** die Transmission im Zebrafisch. Beide Fische weisen eine ausreichende Transparenz im IR-Bereich auf, nicht jedoch im sichtbaren Spektralbereich.

[0044] **Fig. 8** zeigt eine in einem mit Wasser gefüllten Gefäß liegende Vorrichtung aufgenommen mit IR (farbinvertiert). Der Barcode ist gut zu erkennen. Der verwendete Barcode bestand aus einem reinen Streifenmuster mit einer Linienbreite von 100 µm.

[0045] **Fig. 9** zeigt das Bild einer IR-Kamera, das mit dem Transmissionsspektrum des gelesenen Barcodes unterlegt ist. Der Barcode ist über das Muster eindeutig rücklesbar.

[0046] **Fig. 10** zeigt einen in einen *Medaka* (der zuvor per Hypothermieschock getötet wurde) implantierter Barcode. Im optischen Transmissionsspektrum kann das Muster des Barcodes erkannt werden.

Ausführungsbeispiele

Vorrichtung zur Identifikation von Fischen im IR

5 **[0047]** Zum Nachweis der Funktionalität wurde ein rotationssymmetrisches BM auf einen zylindrischen GK aus PET (300 µm Durchmesser, 3 mm), welches hohe IR-Transparenz aufweist, aufgebracht. Auf diesen GK wurde Gold (30 nm Schichtdicke) als BS aufgesputtert, auf welches eine Schicht eines Positiv-Photoresists (AZ Lack, 3 µm Schichtdicke) aufgebracht wurde.

10 **[0048]** Die Belichtung erfolgte in einem selbstentwickelten maskenlosen Projektionslithographiesystem (365 nm, 4 min). Die Breite der Streifen des Barcodes betragen mindestens 100 µm. Nach der Belichtung wurde der GK entwickelt und einem Bad aus Kaliumiodid/Iod
15 geätzt. Nach Entfernen der PS wurde die Vorrichtung in einem zusätzlichen Schritt mit einer 100 nm dicken Parylene-C-Schicht mittels eines CVD-Prozesses beschichtet. Somit wurde die in **Abbildung 5** gezeigte Vorrichtung erhalten.

[0049] Zunächst wurde die IR-Transparenz der beiden verwendeten Fischarten getestet. Hierfür wurden die Fische im Aquarium vor einem flächigen IR-Strahler platziert und die Transmission mit einem Spektrometer gemessen. Die Ergebnisse sind in **Abbildungen 6** und **7** gezeigt. Beide Fische weisen eine ausreichende Transparenz im IR-Licht auf, nicht jedoch im sichtbaren Licht.

[0050] Im nächsten Schritt wurden die Barcodes in die Fische implantiert (**Fig. 10**) und mittels einer Kombination aus flächiger IR-Quelle und IR Kamera ausgelesen. Die Codierung kann korrekt zurückgelesen werden.

Bezugszeichenliste

35 **[0051]**

- 10 einleitende Ruhezone
- 11 Startcode
- 40 12 Informationsbereich des Codes
- 13 Stoppcode
- 14 ausleitende Ruhezone
- 101 Abschnitt A des Grundkörpers
- 102 Barcode-Schicht
- 45 103 photoreaktive Substanz
- 202 Photomaske
- 203 intransparenter Bereich
- 204 transparenter Bereich
- 207 belichteter Bereich
- 208 unbelichteter Bereich
- 50 301 flächiger IR-Strahler
- 302 Fisch
- 303 Vorrichtung
- 304 Barcode-Muster
- 55 305 IR-Kamera
- 306 EVA-System
- 401 Fischtank
- 404 Identifikationseinheit

405 Futterquelle

ner Glasschicht, COC, Polyetheretherketon oder Polystyrol besteht.

Patentansprüche

1. Vorrichtung (303) zur Identifikation von Gegenständen oder Lebewesen in Wasser umfassend

- einen Grundkörper umfassend mindestens einen axialsymmetrisch, global konvexen Abschnitt A (101) aus einem im sichtbaren und/oder infrarotem Licht transparenten Material,

- eine zumindest teilweise auf den mindestens einen Abschnitt A (101) des Grundkörpers aufgebraute Barcode-Schicht (102) aus einem im sichtbaren und/oder infrarotem Licht undurchsichtigen Material, wobei die Barcode-Schicht (102) derart auf den mindestens einen Abschnitt A (101) aufgebracht ist, dass ein Barcode-Muster (304) aus gleich oder verschieden breiten Bereichen der Barcode-Schicht (102) auf dem mindestens einen Abschnitt A (101) entsteht.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei das Barcode-Muster aus gleich oder unterschiedlich breiten Linien der Barcode-Schicht (102), die senkrecht zur Längsachse um den Abschnitt A (101) des Grundkörpers herum verlaufen, besteht.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Grundkörper und/oder die Barcode-Schicht (102) aus einem biokompatiblen Material bestehen

4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei der Grundkörper und/oder die Barcode-Schicht (102) mit einem Film aus einem biokompatiblen Material beschichtet sind.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei der Grundkörper aus einem Polymer besteht ausgewählt aus der Liste: Cyclo-Olefin-Copolymeren (COC), gesättigte alkanische teil- oder perfluorierte oder teil- oder perchlorierte Polymeren, Polyester, Polysulfone, Polyarylate, Polyethern, Polyurethane, Polysiloxane, Polyphosphazene, Polysilazane, Polyacrylate, Polymethacrylate, Polyethylenimine, thiolhaltigen Polymeren oder Gemischen aus zwei oder mehreren davon.

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei die Barcode-Schicht (102) aus Metallen, kristallinen oder teilkristallinen Polymeren mit oder ohne Partikelfüllung, oder IR absorbierenden Keramiken besteht.

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 4 bis 6, wobei der Film aus Parylen, fluorierten Polymeren, ei-

8. Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung zur Identifikation von Gegenständen oder Lebewesen in Wasser nach einem der Ansprüche 1 bis 7 mit den Verfahrensschritten:

a) Bereitstellen eines Grundkörpers umfassend mindestens einen axialsymmetrischen, global konvexen Abschnitt A (101) aus einem Material, welches im sichtbaren und/oder infrarotem Licht transparent ist,

b) Aufbringen einer Barcode-Schicht (102) auf zumindest einen Teil des Abschnitts A (101) des Grundkörpers, derart, dass ein Barcode-Muster (304) aus gleich oder verschieden breiten Bereichen der Barcode-Schicht (102) auf dem mindestens einen Abschnitt A (101) entsteht.

c) Entnahme der Vorrichtung (303)

9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei nach dem Verfahrensschritt b) das Aufbringen eines biokompatiblen Films auf den Grundkörper und/oder die Barcode-Schicht erfolgt.

10. Verfahren zur Identifikation von im sichtbaren und/oder infrarotem Licht transparenten Gegenständen oder Lebewesen in Wasser mit einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 mit den Verfahrensschritten

u) Einbringen der Vorrichtung (303) mit einem vorgegebenen Barcode-Muster (304) in einem im sichtbaren und/oder infrarotem Licht transparenten Teil eines Gegenstands oder Lebewesens,

v) Bestrahlung des Gegenstands oder Lebewesens im Wasser mit einer Infrarotlichtquelle und Aufnahme des Transmissions- oder Reflektionsmusters mit einer Kamera,

w) Auslesen des Barcode-Musters (304) und Identifikation Gegenstands oder Lebewesens mittels EVA-System

11. Verwendung der Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Identifikation von Fischen in einem Schwarm in Wasser.

Fig. 1

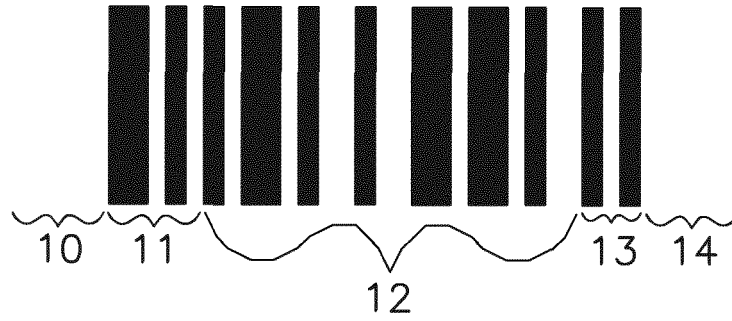


Fig. 2

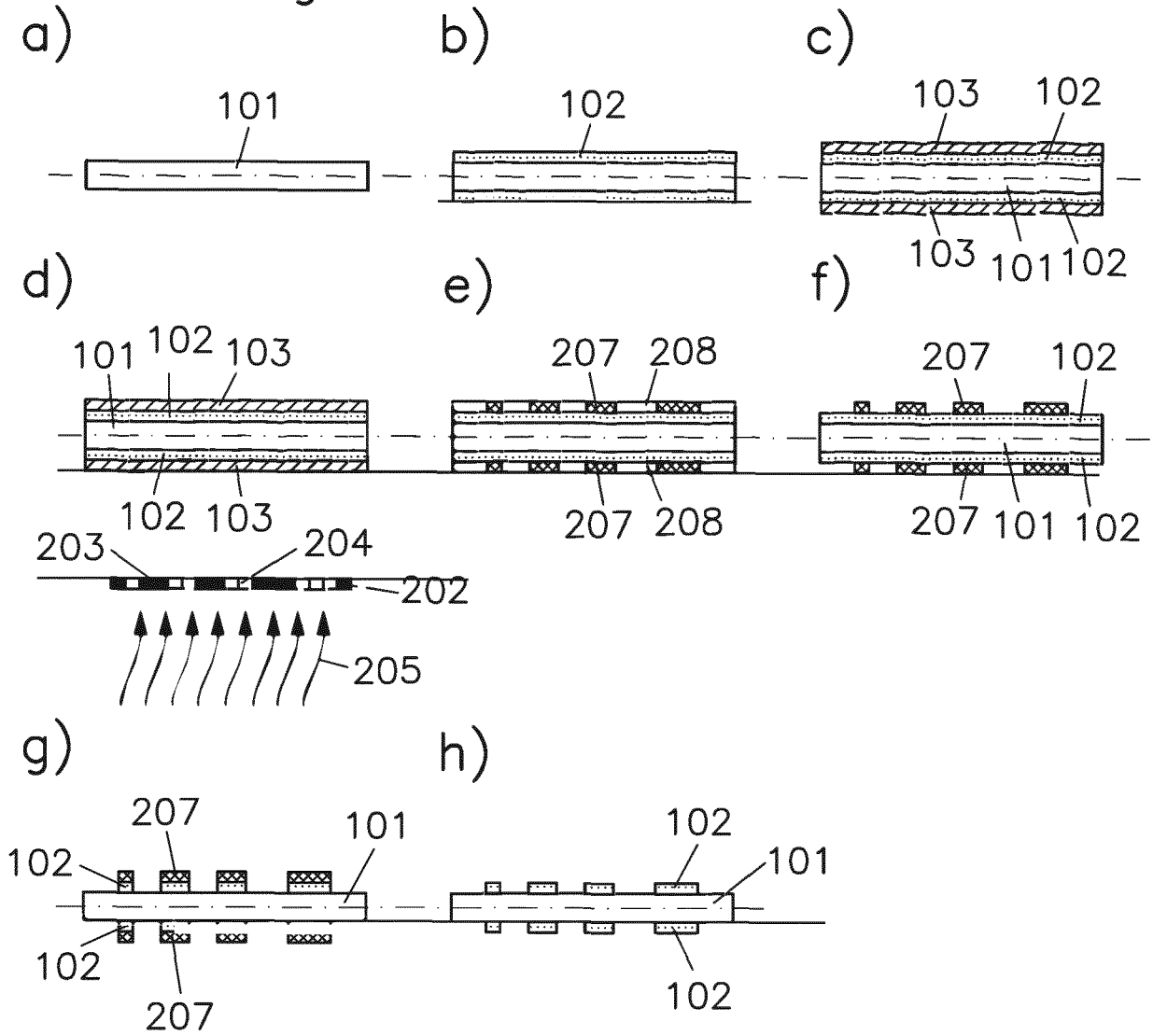


Fig. 3

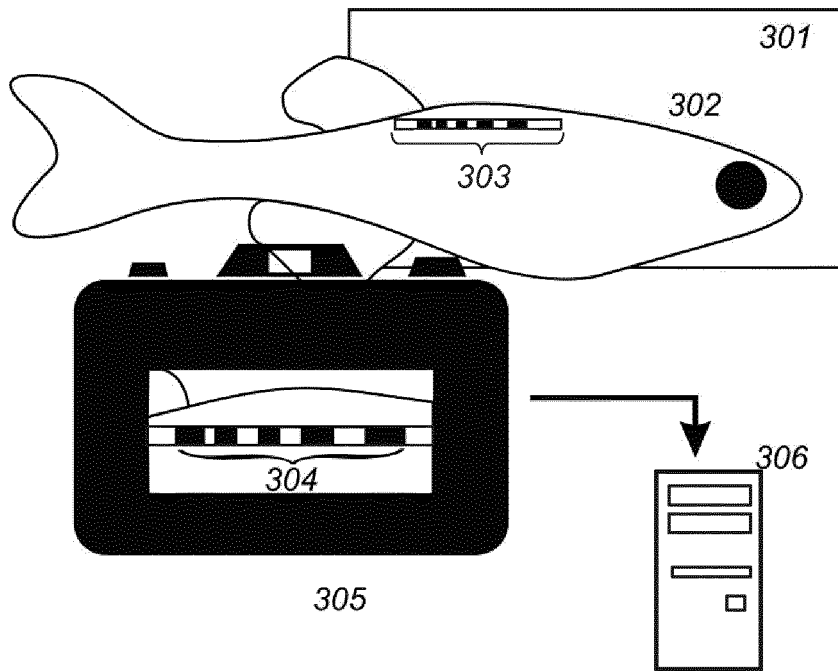


Fig. 4

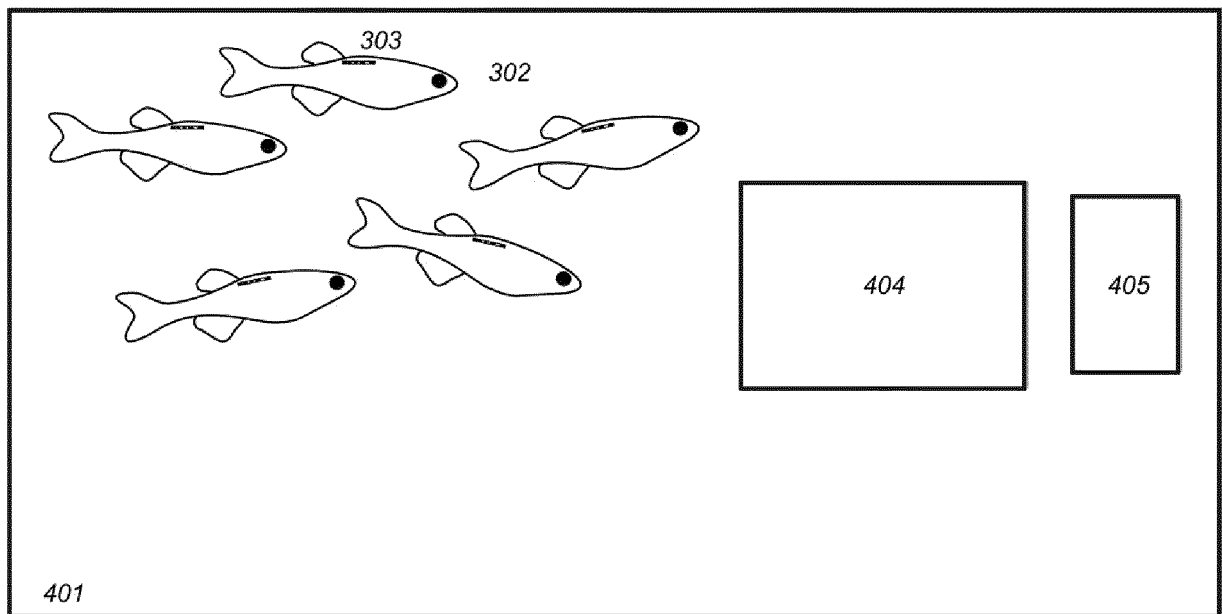


Fig. 5

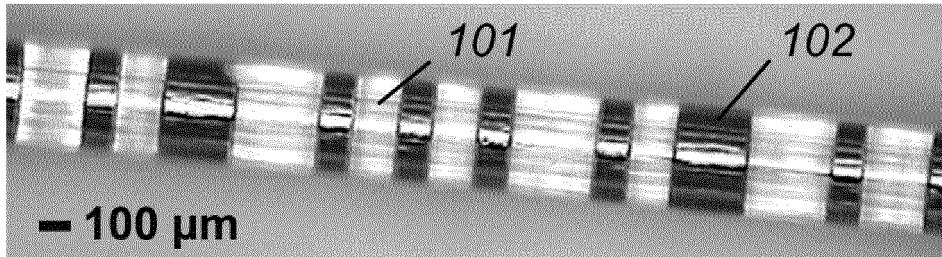


Fig. 6

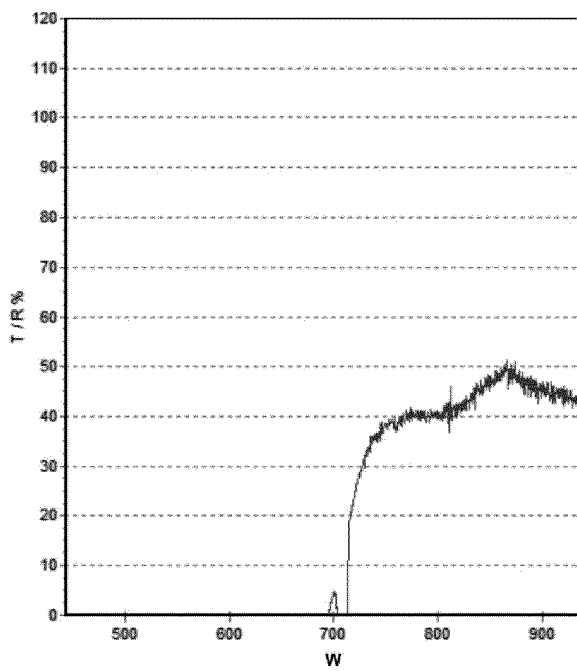


Fig. 7

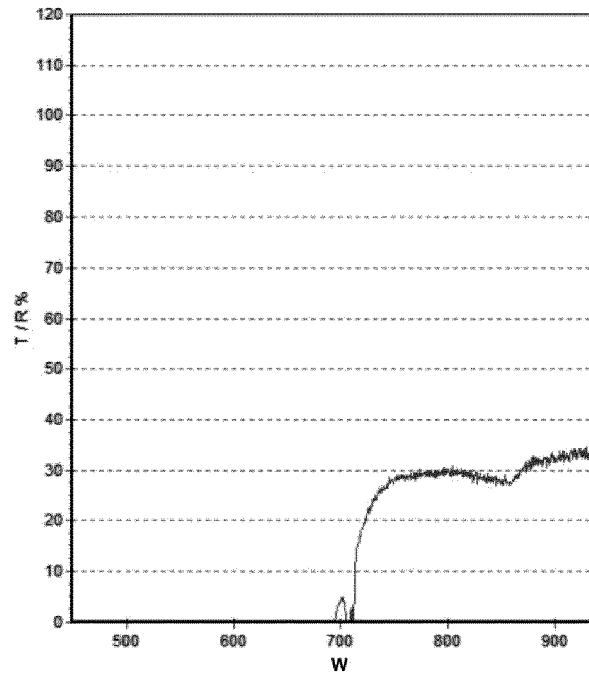


Fig. 8



Fig. 9

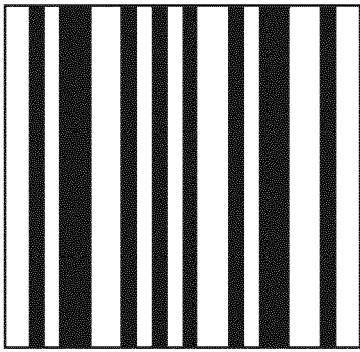
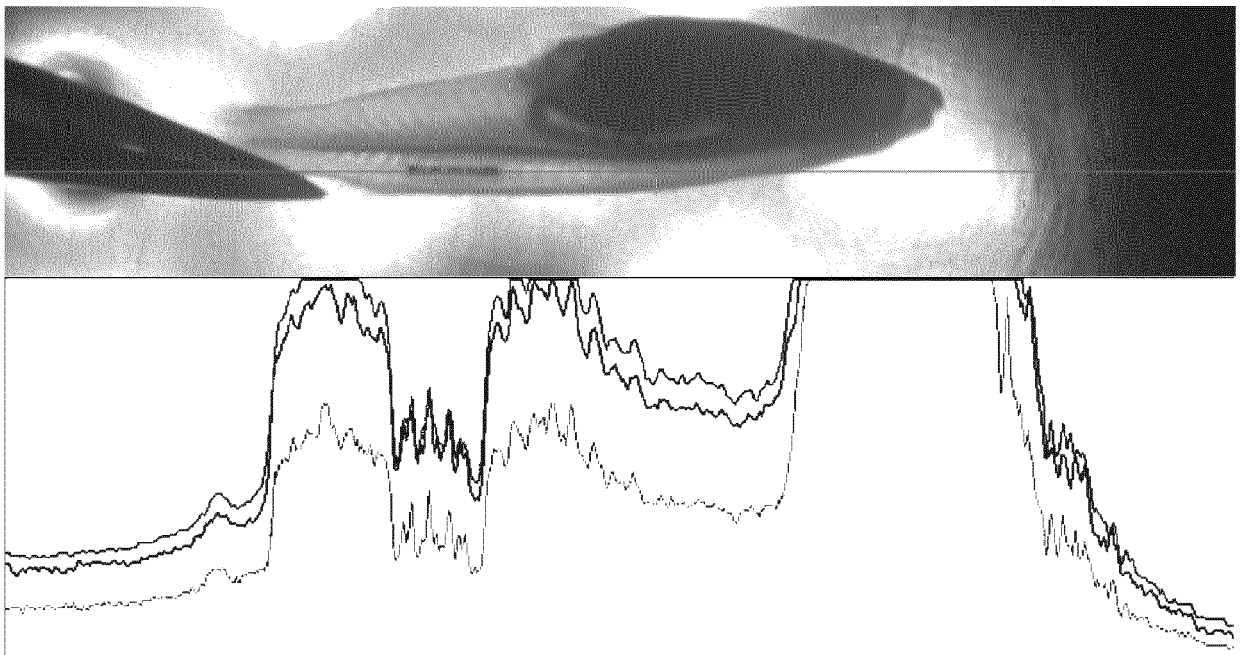


Fig. 10





EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 17 40 1113

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	US 2008/091178 A1 (SUNALP MURAD A [US] ET AL) 17. April 2008 (2008-04-17) * Abbildungen 1-8 * * Absatz [0013] - Absatz [0015] * * Absatz [0037] - Absatz [0054] *	1-5,7-9	INV. A01K11/00 A01K61/95 G06K19/06 G06K19/077 G06K19/04
A	US 4 750 490 A (HAW FRANK [US] ET AL) 14. Juni 1988 (1988-06-14) * Spalte 3, Zeile 66 - Spalte 5, Zeile 50 * * Abbildungen 1-6 *	1,8,10,11	
A	US 4 713 315 A (SMITH DAVID V [US]) 15. Dezember 1987 (1987-12-15) * Spalte 1, Zeile 6 - Zeile 10 * * Spalte 3, Zeile 13 - Spalte 6, Zeile 29 * * Abbildungen 1-6 *	1,8,10,11	
A	US 3 545 405 A (JEFFERTS KEITH B) 8. Dezember 1970 (1970-12-08) * Abbildungen 1,2 * * Spalte 2, Zeile 33 - Spalte 3, Zeile 6 *	1,8,10,11	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
			A01K G06K
Recherchenort Den Haag		Abschlußdatum der Recherche 29. März 2018	Prüfer Millward, Richard
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 17 40 1113

5 In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

29-03-2018

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2008091178 A1	17-04-2008	KEINE	
US 4750490 A	14-06-1988	AU 592740 B2 CA 1300990 C DK 262088 A GB 2204774 A JP H0522488 B2 JP S6455130 A NO 882086 A US 4750490 A	18-01-1990 19-05-1992 19-11-1988 23-11-1988 29-03-1993 02-03-1989 21-11-1988 14-06-1988
US 4713315 A	15-12-1987	KEINE	
US 3545405 A	08-12-1970	KEINE	

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- US 20050011470 A1 [0005]
- US 4392236 A [0006]