

FISCH ALS LEBENSMITTEL

WEFTA-Laborvergleichsuntersuchung zur pH-Bestimmung in Fischerei-Erzeugnissen Eine gemeinsame Aktion der Western European Fish Technologists' Association

WEFTA Inter-laboratory comparison exercise on pH determination in fishery products A co-operation of the Western European Fish Technologists' Association

Jörg Oehlenschläger^{&1}, Peter Bossier², Piotr Bykowski³, Monique Etienne⁴, Almudena Huidobro⁵,
Horst Karl¹, Joop Luten⁹, Rogerio Mendes⁶, Heida Palmadottir⁷, Göran Åkesson⁸

Die Messung von pH-Werten in Fischerei-Erzeugnissen zur Qualitätskontrolle ist eine in der Fischindustrie weit verbreitete Methode. So ist bei Frischfisch ein pH-Wert, der sich dem Wert 7,0 nähert, ein sicheres Indiz für einen nicht mehr frischen Fisch (Oehlenschläger 1995). Aber auch bei Erzeugnissen wie Marinaden, Fischsalaten, Geleeware, im Färbbad bei der Herstellung von Lachsersatz und anderen Erzeugnissen ist die Kontrolle des richtigen pH-Wertes wichtig.

Die „Leitsätze für Fische, Krebs- und Weichtiere und Erzeugnisse daraus“ schreiben beispielsweise (Anon. 2002) unter „II. H. Fischerzeugnisse in Gelee und unter II. F. Marinaden“ vor, dass der pH-Wert im Gelee bzw. im abgetropften Fischfleisch unter 4,8 liegen soll. Die richtige Messung des pH-Wertes in Fischerzeugnissen, die eine proteinreiche Matrix darstellen, ist von vielen Faktoren abhängig. Von besonderer Wichtigkeit ist die Auswahl der Elektrode und ihre regelmäßige Eichung. Glaselektroden mit hohem Proteinfehler sind nicht geeignet. Auch andere Elektroden überziehen sich bei längerem Gebrauch mit einer Proteinschicht, die die Messungen verfälscht und die regelmäßig durch Behandlung der Elektroden in einem proteolytischen Bad entfernt werden müssen. Wegen der Wichtigkeit der pH-Wert-Messung und um einen Überblick darüber zu erhalten, wie genau der pH-Wert in identischen Proben von verschiedenen europäischen Laboratorien mit unterschiedlichen kommerziellen pH-Metern und -Elektroden gemessen werden kann, entschloss sich die Arbeitsgruppe „Fische und Fischerzeugnisse“ der WEFTA eine Laborvergleichsanalyse mit Fischerzeugnissen und Salzlösungen durchzuführen.

Material und Methoden / Material and Methods

Im August 2000 wurden die Proben für den Versuch im Institut für Biochemie und Technologie der Bundesforschungsanstalt für Fischerei hergestellt. Insgesamt wur-

WEFTA Inter-laboratory comparison exercise on pH determination in fishery products – A co-operation of the Western European Fish Technologists' Association

12 samples (6 original samples and 6 diluted samples) were analysed by 14 WEFTA laboratories for their pH values in an inter-laboratory comparison exercise. As a result it can be stated that the majority of participating laboratories could determine the pH values very exactly. The pH values obtained are ranging only little around the calculated mean (less than 0.1 pH unit). It could also be demonstrated that the participating institutes could analyse both, pH values in fishery products and aqueous salt solutions. However, also in this exercise a number of outliers and deviating values have been detected. Therefore it is of utmost importance to calibrate the pH electrodes in regular intervals and to maintain them carefully. Intra-laboratory comparison measurements are recommended to detect weak points.

Tabelle 1: Für die Laborvergleichsuntersuchung hergestellte Proben.
Samples prepared for inter-laboratory comparison exercise.

den 6 Proben pro teilnehmendem Labor zum Versand vorbereitet. Dazu wurden die reinen Salzlösungen (EXDL und AGLU) nicht weiter behandelt, die übrigen Proben, zwei Dauerkonserven, ein tiefgefrorener Magerfisch (Leng) und eine Marinade (Bismarckhering) wurden mit einem Stabmixer homogenisiert, in verschraubbare Reagenzgläsern abgefüllt und dann in diesen locker verschlossen sterilisiert. Unmittelbar nach dem Sterilisieren wurden die Reagenzgläser noch heiß verschraubt. Jeweils 5 Reagenzgläser einer Probe wurden im Hamburger Laboratorium auf Homogenität (einheitliche pH-Werte) hin untersucht. Die gefundenen pH-Werte variierten bei gleicher Temperatur und unter gleichen Bedingungen um weniger als 0,02 pH-Einheiten. Die Proben wurden mit einem Code versehen (Tabelle 1) und mit normaler Post an die Teilnehmer versendet. In Tabelle 1 sind die Proben und ihre Vorbereitung und Behandlung aufgelistet.

Es nahmen insgesamt 14 Teilnehmer aus 9 europäischen WEFTA -Instituten, die auf Fischuntersuchungen spezialisiert sind, teil. In einigen Instituten beteiligten sich mehrere Abteilungen an der Vergleichsuntersuchung, so dass insgesamt eine Teilnehmerzahl von 14 erreicht wurde. Zusammen mit den Proben erhielten die Teilnehmer ein Formular, auf dem die Ergebnisse eingetragen werden sollten und auf dem detaillierte Hinweise für die Vorgehensweise gegeben wurden:

- Die Proben sollten auf Raumtemperatur eingestellt und bei Raumtemperatur geöffnet werden. Vor dem Öffnen sollten die Proben gut geschüttelt, nach dem Öffnen umgerührt werden.
- Danach sollten die Proben in ein Becherglas geeigneter Größe überführt werden. Die Elektrode sollte unmittelbar vor der Messung in einem Bereich zwischen pH 5 und 8 geeicht werden.
- Die Elektrode sollte dann in die Probe eingeführt werden und nach Rühren sollte nach genau 20 Sekunden der pH-Wert abgelesen werden (Oehlschlager 1991a und b). Die Messung sollte zweimal wiederholt werden und alle drei Ergebnisse in das Ergebnisprotokoll eingetragen werden.

- Danach sollten alle Proben 1:1 mit destilliertem Wasser verdünnt werden, gründlich gerührt werden und die Messungen sollten wiederholt werden. Durch die Verdünnung der sechs Proben ergab sich eine Gesamtprobenzahl von 12. Auch diese drei Ergebnisse sollten auf dem Ergebnisprotokoll eingetragen werden.
- Weiterhin sollte die Temperatur zur Zeit der Messung, der Typ und Hersteller der Elektrode und des pH-Meters angegeben werden.

Eine Übersicht über die verwendeten pH-Meter und Elektroden gibt Tabelle 2. Aus der Tabelle 2 kann nicht auf die Reihenfolge der Laboratorien, wie sie auf den Abbildungen 1 bis 12 erscheinen, geschlossen werden.

Ergebnisse / Results

Die Ergebnisse werden alle in Form von Abbildungen präsentiert, die zeigen, wie weit entfernt die einzelnen Ergebnisse vom arithmetischen Mittelwert, der aus allen Ergebnissen nach Ausschluss der Ausreißer errechnet wurde, liegen. Dabei werden immer die Ergebnisse der jeweiligen Originalprobe und die der daraus hergestellten verdünnten Probe verglichen.

Wässrige Lösung aus 3 M Natriumsulfat und 2 M Magnesiumnitrat / Aqueous solution of 3 M Sodium sulphate and 2 M magnesium nitrate

Die Abbildung 1 zeigt, dass die Werte der Teilnehmer mit Ausnahme Zweier (Ausreißer) gut in der Nähe des Mittelwertes von pH 5,28 liegen. Die Werte streuen zwischen pH 5,19 und 5,48. 9 Laboratorien liegen um weniger als 0,1 pH vom Mittelwert entfernt. In der verdünnten Probe lag der Mittelwert ohne Ausreißer bei pH 5,33 (etwas höher als in der unverdünnten). Drei Laboratorien wurden als Ausreißer ermittelt. Die restlichen 10 Laboratorien schwanken zwischen pH 5,24 und pH 5,48. Dies ist fast mit der Schwankung in der unverdünnten Probe identisch.

Tabelle 2: Beim Laborvergleichsversuch von den Teilnehmern eingesetzte pH-Meter und -Elektroden.
pH meters and electrodes used by the participating laboratories.

***Hering in Tomatensoße /
Hering in tomato sauce***

Diese Probe scheint schwieriger zu messen gewesen zu sein. Laboratorium 3 ist ein Ausreißer, die Laboratorien 4, 5 und 14 lieferten keine Werte. Die restlichen 9 Laboratorien hatten aber keine Schwierigkeiten und kamen alle um weniger als 0,1 pH-Einheiten an den Mittelwert von pH 5,0 heran, die Werte variierten lediglich zwischen pH 4,94 und pH 5,1 (Abbildung 3). In der verdünnten Probe ging der pH-Wert auf einen Mittelwert von 4,97 zurück (Abbildung 4). 12 Laboratorien lieferten hier brauchbare Werte, die nur wenig mehr um den Mittelwert schwankten (pH 4,85 bis pH 5,02) als bei der Originalprobe.

***Tiefgefrorener Leng /
Deep frozen ling***

Die originale Lengprobe konnten 10 Laboratorien ohne Schwierigkeiten messen, ein Laboratorium wurde als Ausreißer ermittelt (3), zwei lieferten keine Werte. In Abbildung 5 ist ersichtlich, dass 9 Laboratorien sehr nahe am Mittelwert (pH 6,28) liegen (weniger als 0,1 pH-Einheit entfernt), ein Teilnehmer liegt etwas entfernter bei pH 6,47. Die verdünnte Probe (Abbildung 6)

konnten 13 Teilnehmer messen, einer wurde als Ausreißer ermittelt. Auch hier liegen alle gültigen Teilnehmer dicht am Mittelwert von pH 6,35. Beim Verdünnen ist der pH-Wert um 0,07 Einheiten nach oben gerutscht.

***Wässrige Lösung von 3 M Natriumacetat und 2 M Natriumsulfat /
Aqueous solution of 3 M sodium acetate and 2 M sodium sulphate***

Die zweite künstlich hergestellte wässrige Salzlösung brachte für zwei Teilnehmer (3 und 13) in der Originalkonzentration und als verdünnte Lösung Schwierigkeiten, sie wurden als Ausreißer ermittelt. Die anderen 12 Teilnehmer lagen sowohl bei der Originalprobe (Abbildung 7) als auch bei der verdünnten Probe (Abbildung 8) zumeist dicht ($\pm 0,1$ pH) am Mittelwert von pH 7,60 bzw. pH 7,51.

***Hering in exotischer Soße, India, Dauerkonserve /
Canned hering in exotic saice, India***

Probe 9 konnte von 9 Teilnehmern problemlos gemessen werden, Teilnehmer 3 wurde als Ausreißer ermittelt, Teilnehmer 4 und 5 lieferten keine Werte. Bei die-

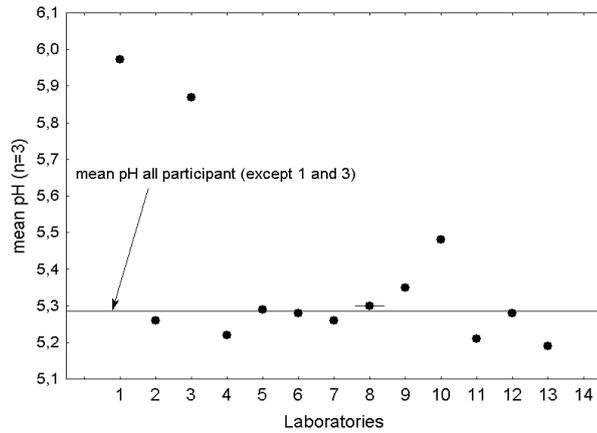


Abbildung 1: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 1 (3 M $(\text{Na})_2\text{SO}_4$ und 2 M $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ in bidestilliertem Wasser), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 1 (3 M $(\text{Na})_2\text{SO}_4$ and 2 M $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ in bidest. aqua), arithmetic means of three measurements of individual participants.

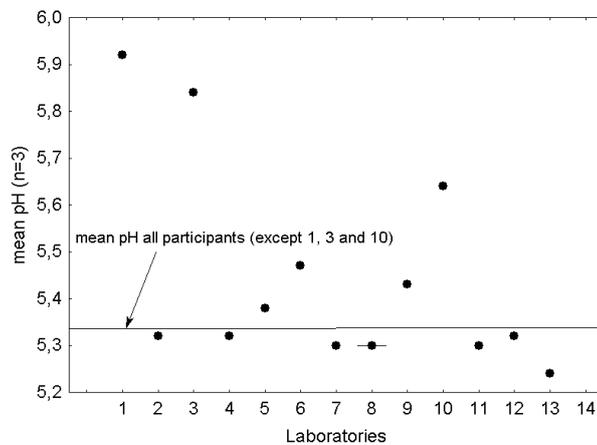


Abbildung 2: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 2 (3 M $(\text{Na})_2\text{SO}_4$ und 2 M $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ in bidestilliertem Wasser, mit destilliertem Wasser beim Teilnehmer 1:1 verdünnt), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 2 (3 M $(\text{Na})_2\text{SO}_4$ and 2 M $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ in bidest. aqua, diluted in the participant's laboratory with distilled water 1:1), arithmetic means of three measurements of individual participants.

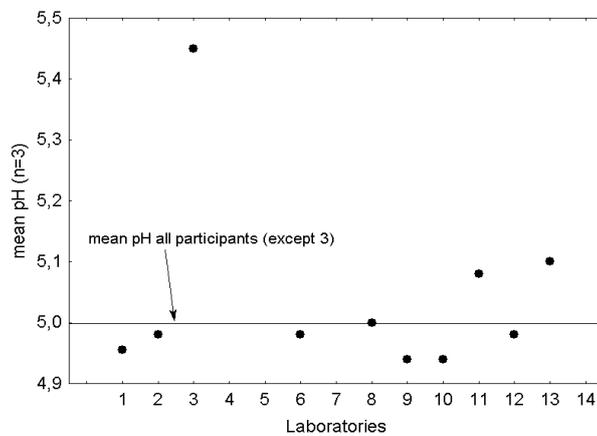


Abbildung 3: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 3 (Hering in Tomatensoße, homogenisiert und sterilisiert), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 3 (Herring in tomato sauce, canned, homogenised and sterilised), arithmetic means of three measurements of individual participants.

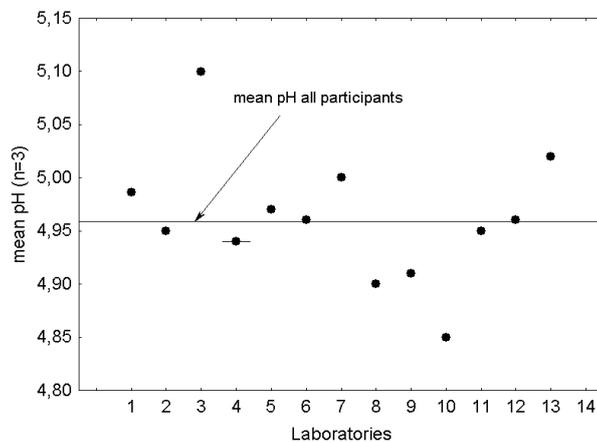


Abbildung 4: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 4 (Hering in Tomatensoße, homogenisiert und sterilisiert, mit destilliertem Wasser beim Teilnehmer 1:1 verdünnt), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of interlaboratory comparison exercise with sample 4 (Herring in tomato sauce, canned, homogenised and sterilised, diluted in the participant's laboratory with distilled water 1:1), arithmetic means of three measurements of individual participants.

Abbildung 5: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 5 (tiefgefrorener Leng, aufgetaut, 10% Kochsalz zugefügt, homogenisiert und sterilisiert), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 5 (deep frozen ling, thawed, 10% NaCl added, homogenised and sterilised), arithmetic means of three measurements of individual participants

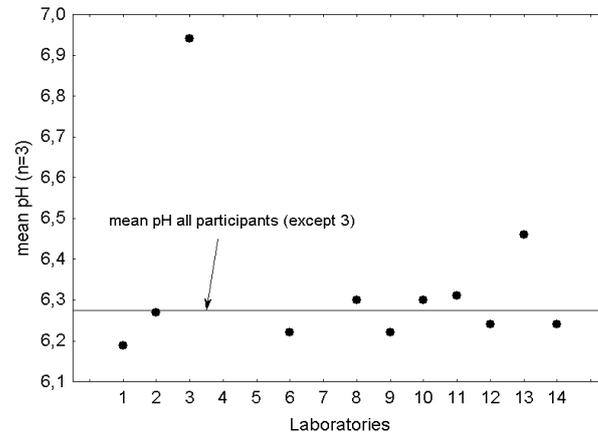


Abbildung 6: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 6 (tiefgefrorener Leng, aufgetaut, 10% Kochsalz zugefügt, homogenisiert und sterilisiert, beim Teilnehmer 1:1 mit dest. Wasser verdünnt), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 6 (deep frozen ling, thawed, 10% NaCl added, homogenised and sterilised, diluted 1:1 with distilled water in the participant's laboratory), arithmetic means of three measurements of individual participants.

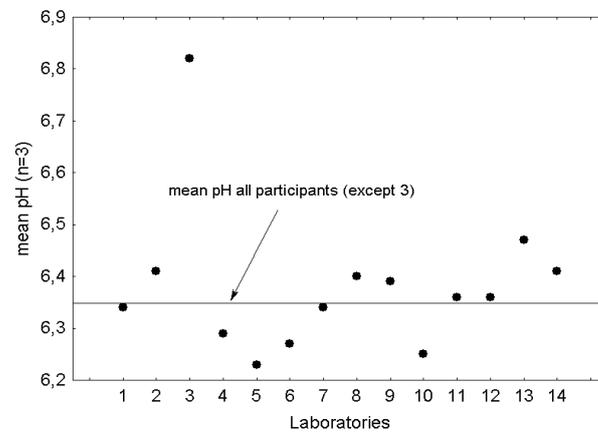


Abbildung 7: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 7 (3 M NaAc und 2 M Na₂SO₄ in bidist. aqua, arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 7 (3 M NaAc and 2 M Na₂SO₄ in bidist. aqua), arithmetic means of three measurements of individual participants.

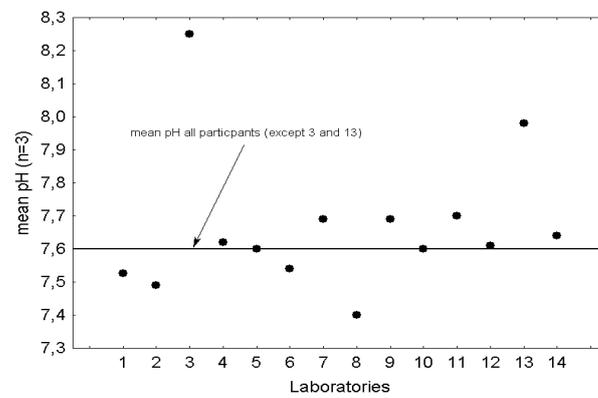
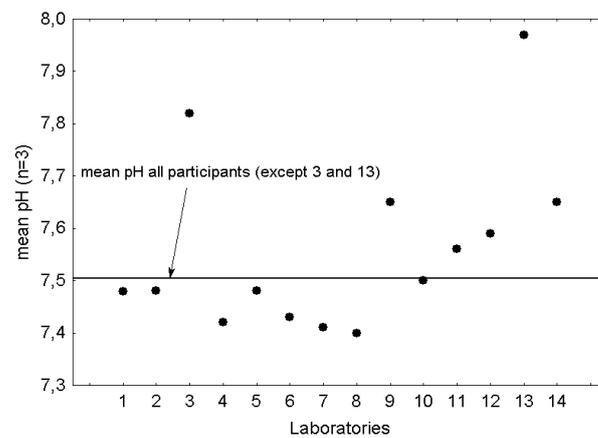


Abbildung 8: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 8 (3 M NaAc und 2 M Na₂SO₄ in bidist. Aqua, beim Teilnehmer 1:1 mit dest. Wasser verdünnt), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 8 (3 M NaAc and 2 M Na₂SO₄ in bidist. aqua, diluted 1:1 with distilled water in the participant's laboratory), arithmetic means of three measurements of individual participants.



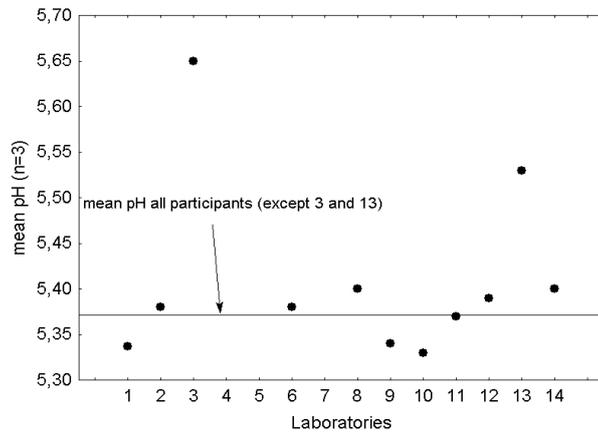


Abbildung 9: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 9 (Hering in exotischer Soße (India), Dauerkonserve, homogenisiert, sterilisiert), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 9 (Herring in exotic sauce (India), canned, homogenised, sterilised), arithmetic means of three measurements of individual participants.

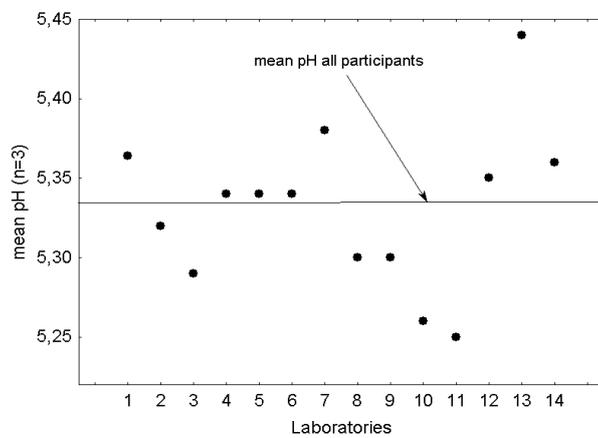


Abbildung 10: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 10 (7 (Hering in exotischer Soße (India), Dauerkonserve, homogenisiert, sterilisiert, beim Teilnehmer 1:1 mit dest. Wasser verdünnt), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 10 (Herring in exotic sauce (India), canned, homogenised, sterilised, diluted in the participant's laboratory with dist. water 1:1), arithmetic means of three measurements of individual participants.

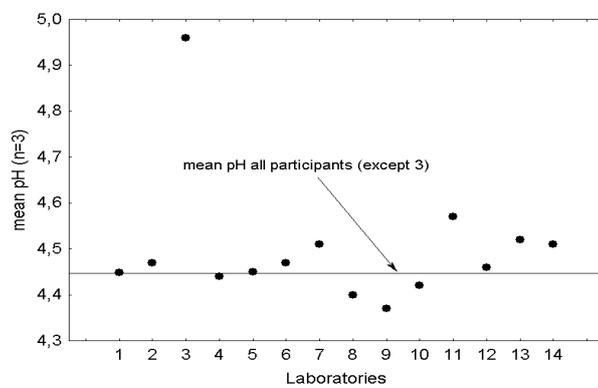


Abbildung 11: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 11 (marinierter Hering (Bismarckhering), homogenisiert, sterilisiert), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer).

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 11 (marinated herring (Bismarckhering), homogenised, sterilised), arithmetic means of three measurements of individual participants.

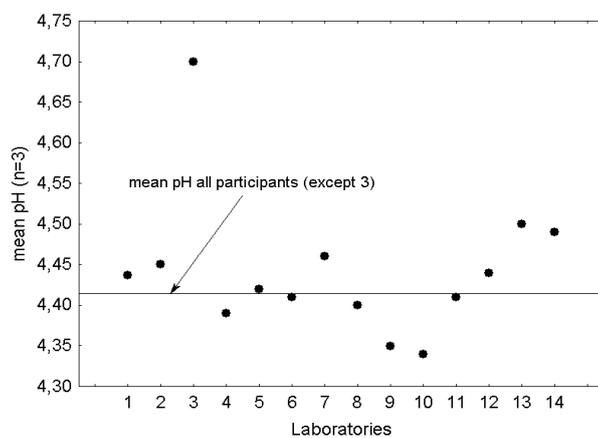


Abbildung 12: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung mit Probe 12 (marinierter Hering (Bismarckhering), homogenisiert, sterilisiert, beim Teilnehmer 1:1 mit dest. Wasser verdünnt), arithmetischer Mittelwert der drei Messungen der einzelnen Teilnehmer.

Results of inter-laboratory comparison exercise with sample 12 (Marinated herring (Bismarckhering), homogenised, sterilised, diluted in the participant's laboratory with dist. water 1:1), arithmetic means of three measurements of individual participants.

ser Probe weichen die 9 Teilnehmer alle um höchstens 0,05 pH-Einheiten vom Mittelwert der Originalprobe (pH 5,37, Abbildung 9) ab. Dies ist das beste Ergebnis des Versuchs. Bei der verdünnten Probe konnten alle Teilnehmer berücksichtigt werden. Drei liegen etwa 0,1 pH-Einheiten vom Mittelwert (pH 5,33) entfernt. Die anderen liegen wie bei der Originalprobe höchstens um 0,05 pH-Einheiten entfernt.

Marinierter Hering (Bismarckhering) Marinated herring (Bismarck herring)

Mit einem Mittelwert (aus 13 Laboratorien, 1 Ausreißer) von pH 4,45 war Probe 11 die sauerste. Alle gültigen Werte liegen um $\pm 0,1$ pH-Einheit um den Mittelwert entfernt, die Werte von 4 Teilnehmern liegen genau bei 4,45 (Abbildung 11). Die verdünnte Probe war noch etwas saurer (Mittelwert pH 4,425). Bis auf zwei Werte lagen alle Teilnehmer genau so gut wie bei der unverdünnten Probe.

Diskussion / Discussion

Die Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung zur pH-Messung an Fischereierzeugnissen und wässrigen Lösungen haben ergeben, dass die überwiegende Mehrheit der Teilnehmer die pH-Werte der Originalproben und der verdünnten Proben sehr präzise ermitteln kann. Die Abweichungen der überwiegenden Zahl der von den Teilnehmer gemessenen pH-Werte vom errechneten arithmetischen Mittelwert (nach Ausschluss der Ausreißer) liegen bei allen Proben bei 0,1 pH-Einheiten oder sogar darunter. Dabei hatte die Art der Probe (Fischerzeugnis oder Salzlösung) bei den meisten Teilnehmern keinen Einfluss auf ihre Messgenauigkeit. Einige wenige Teilnehmer hatten allerdings Schwierigkeiten mit den unverdünnten Originalproben der Fischerzeugnisse, was wahrscheinlich an den verwendeten Glaselektroden (Proteinfelder durch hohe Proteinkonzentration in der Probe, Galster 1990) lag. Erstaunlich war, dass die Mehrzahl der Laboratorien die teilweise schwierig zu messenden Proben von Fischerzeugnissen durchweg mit der gleichen Präzision messen konnte wie wässrige Salzlösungen. Laboratorium 3 konnte nur 1 Probe richtig messen, bei allen anderen Proben konnte es als Ausreißer nicht berücksichtigt werden. Bei diesem Teilnehmer muss ein systematischer Fehler oder eine Fehlfunktion des pH-Meters bzw. der Elektrode vorgelegen haben. Insgesamt beweisen die Ergebnisse, dass die WEFTA Laboratorien in dem pH-Bereich, in dem Fischerzeugnisse zumeist liegen (pH 4,5 bis pH 7), gute Ergebnisse erzielen.

Abschließende Bemerkungen / Final remarks

13 von 14 Laboratorien der WEFTA konnten die Mehrzahl der 12 Proben messen und variierten in ihren Er-

gebnissen nur wenig um den berechneten Mittelwert. Da ein Labor völlig falsche Werte lieferte und da einige Laboratorien nicht in der Lage waren, unverdünnte Fischerzeugnisse zu messen, scheint es geraten, auch innerhalb der Laboratorien von Zeit zu Zeit interne pH-Wert Messungen zumachen, um sicherzugehen, dass die ermittelten pH-Werte richtig sind.

13 out of 14 WEFTA laboratories could measure the majority of the 12 samples without any problems. However, one participant delivered completely erroneous results and some more laboratories were not able to measure the pH value in undiluted fishery products. Therefore it seems to be appropriate to measure the pH also from time to time within the laboratories to be sure that the pH values measured and delivered to customers are correct.

Zitierte Literatur / Cited literature

- Anon., 2002: Deutsches Lebensmittelbuch, Leitsätze 2002. Bundesanzeiger Verlag, Köln
- Gakster, H., 1990: pH-Messung, Grundlagen, Methoden, Anwendungen, Geräte. Weinheim: VCH, 322 S.
- Oehlenschläger, J., 1991a: pH-Werte in Filets von fangfrischen Seefischen aus der Nordsee. *Infn Fischw.* 38: 109–113 und (1992) *Der Lebensmittelkontrolleur* 7: 68–69
- Oehlenschläger, J., 1991b: Zum pH-Wert in fetten und mageren Seefischen. *Infn Fischw.* 38: 143–146
- Oehlenschläger, J., 1995: Bewertung von Frische- und Verderbsindikatoren bei der Eislagerung von Schollen (*Pleuronectes platessa*). *Inf. Fischwirtsch.* 42:94–102.

Danksagung/Acknowledgement

Den zahlreichen Laborant(inn)en, technischen Assistent(inn)en und Hilfskräften, die die pH-Bestimmungen in den verschiedenen europäischen Laboratorien vor Ort durchführten, sei an dieser Stelle ausdrücklich gedankt.

Adressen der Autoren / Authors' addresses:

- & Corresponding author.
E-mail: joerg.oehlenschlaeger@ibt.bfa-fisch.de
- ¹ Bundesforschungsanstalt für Fischerei, Institut für Fischereitechnik und Fischqualität, Palmaille 9, 22767 Hamburg, Germany
- ² CLO Sea Fisheries Department, Ankerstraat 1, 8400 Oostende, Belgium
- ³ Sea Fisheries Institute, Department of fish processing technology, 1 Kollataja Street, 81-332 Gdynia, Poland
- ⁴ IREMER, Rue de L'île de'Yeu, BP 1105, 44311 Nantes Cedex 03, France
- ⁵ Instituto del Frio (CSIC), c/ Jose Antonio Novais N° 10, 28040 Madrid, Spain
- ⁶ RIVO-DLO, P.O. Box 68, 1970 AD IJmuiden, The Netherlands
- ⁷ IPIMAR, Avenue de Brasilia, 1401 Lisboa, Portugal
- ⁷ The Icelandic Fisheries Laboratories, P.O. Box 1390, Skulagata 4, 121 Reykjavik, Iceland
- ⁸ SIK, Box 5401, S-40229 Göteborg, Sweden