

Eine Formmessung von Schleppnetzen mit Hilfe von Videobeobachtungen erfordert intensive Vorbereitungen und kann ein Ergebnis erst nach langwierigen Auswertungen liefern. Mögliche Fehler während des Versuchsablaufs können somit nicht sofort an Bord erkannt und korrigiert werden. Dafür liefert diese Methode bei hinreichendem Bildmaterial Formdaten höchster Genauigkeit.

Da das Rundum-Sonar dem Institut bisher nicht zur Verfügung steht, wurden die ersten Versuche zur Formermittlung von Schleppnetzen im April d.J. während der 89. Reise des FFS "Walther Herwig" mit dem institutseigenen Unterwasser-Videosystem durchgeführt. Dazu wurde ein besonders konstruiertes pelagisches Schleppnetz an bestimmten Punkten mit Identifizierungsmarken so gekennzeichnet, daß sich aus den Videoaufzeichnungen ein Satz von lückenlos überdeckenden Einzelaufnahmen des gesamten Netzes mit einer hinreichenden Anzahl ausgezeichnete Punkte ableiten läßt. Die Aufnahmen mußten bei einem möglichst großen Kamera-Abstand gemacht werden, um so die Anzahl der auszuwertenden Video-Einzelbilder auf ein Minimum zu drücken. Das ist für die spätere rechnergestützte Auswertung von entscheidender Bedeutung, da die zur Verfügung stehenden Rechnerkapazitäten schon bei einer geringen Anzahl Bilder ausgeschöpft werden. Wegen der erforderlichen Sichtweite unter Wasser wurden die TV-Untersuchungen in einem ausgesuchten Gebiet bei Madeira durchgeführt. Bei diesen Untersuchungen wurde das Schleppnetz segmentweise von den Flügelspitzen bis zum Steert mit dem Geräteträger abgefahren, Bilddaten mit Hilfe der TV-Anlage (Abb.) aufgenommen und auf ein Band zur späteren Auswertung aufgezeichnet. Über die Ergebnisse der noch ausstehenden Auswertung wird zu gegebener Zeit berichtet.

M.Kroeger
Institut für Fangtechnik
Hamburg

FISCH ALS LEBENSMITTEL

Gaschromatographische Bestimmung von Dimethyl- und Trimethylamin in Fisch und Fischerzeugnissen

Die Bestimmung von Di- und Trimethylamin (DMA, TMA) gehört zu den gebräuchlichen analytischen Verfahren bei Qualitätsuntersuchungen von Fisch und Fischerzeugnissen. Für die Ermittlung der Gehalte gibt es eine Reihe von Möglichkeiten: als schon klassisch können die kolorimetrischen Methoden von DYER (1945) für TMA (als gelbes Pikratsalz) und DYER und MOUNSEY (1945) für DMA (als ebenfalls gelbgefärbtes Kupferdimethyldithiocarbamat-Salz) bezeichnet werden.

Die Gaschromatographie erfordert eine weitaus aufwendigere apparative Ausstattung. Sie bietet jedoch auch erhebliche Vorteile: Im Gegensatz zu den photometrischen Verfahren gibt es keine Unterschiede bei der Probenaufbereitung für DMA- und TMA-Analysen, die Auftrennung (und gemeinsame quantitative Erfassung) erfolgt erst auf der Säule. Weiterhin werden Störungen ausgeschlossen, die bei der kolorimetrischen TMA-Bestimmung in Gegenwart hoher DMA-Gehalte auftreten und zu hohe Werte vortäuschen können.

In der Literatur werden eine Mehrzahl von Verfahren für die gaschromatographische Aminbestimmung in Fisch beschrieben, die reichhaltige Auswahlmöglichkeiten sowohl für die Probenvorbereitung als auch für die apparative Durchführung bieten (u.a. RITSKES, 1975; TOKUNAGA, IIDA und MIWA, 1977; LUNDSTROM und RACICOT, 1983).

Die von uns gewählte Methode ist demzufolge nicht grundsätzlich neu, sondern eine Verbindung und Anpassung größtenteils veröffentlichter Verfahrensschritte aufgrund vorher definierter Zielvorstellungen: In Anbetracht der zu erwartenden Analysenzahlen sollte der Aufwand für die Probenaufarbeitung gering und die gaschromatographische Bestimmung möglichst störungsunanfällig und automatisierbar sein.

Gaschromatographische Bedingungen:

Gaschromatograph VARIAN 3700 mit stickstoffspezifischem Detektor und Autosampler; SHIMADZU C-R2AX-Integrator; Trägergas: N_2 (15 ml/min)

Säule: 2 m x 1/8" 4% Carbowax 20 M + 0,8% KOH
auf Carbowax B (60/80 mesh)

Temperaturen: Injektor: 190°C
Detektor: 220°C
Säulen-Ofen: 60°C (8 min) - max. Aufheizrate - 170°C (2 min)

Probenvolumen: 2 μ l

Probenaufarbeitung:

1. Extraktion der Amine aus dem Probenmaterial
20 g Homogenisat + 180 ml 6% [v/v] wäßrige $HClO_4$
- homogenisieren (ULTRA-TURRAX o.ä.) - 30 min Kühlschrank
- filtrieren: klarer $HClO_4$ -Extrakt
2. Extraktion der Amine aus dem $HClO_4$ -Extrakt
2 ml $HClO_4$ -Extrakt + 5 ml Amylalkohol + interner Standard
+ 1,5 ml 50% [g/v] NaOH
- in Reagenzglas pipettieren, sofort verschließen - mischen (Reagenzglasschüttler mit hoher Frequenz; 30 sec - Unterbrechung - 30 sec) - 30 min Kühlschrank - Phasentrennung.
3. 2 ml der organischen Phase werden in ein GC-Autosampler-Gläschen überführt (Schraubverschluß mit Kopfbohrung für teflonbeschichtetes Septum).

Standardlösungen:

Aus getrockneten Hydrochloriden von DMA und TMA werden Stammlösungen mit 0,25 g Amin-N/L 6% $HClO_4$ hergestellt, daraus durch Verdünnung mit 6% $HClO_4$ Standardlösungen für die Bereiche 0,025 mg - 3,75 mg DMA-N/100 ml (\cong 0,25 mg - 36,75 mg DMA-N/100 g Fisch) und 0,02 mg - 5,0 mg TMA-N/100 ml (\cong 0,2 mg - 50,0 mg TMA-N/100 g Fisch). Der interne Standard n-Propylamin enthält 0,5 g N/L 6% $HClO_4$.

Eichkurven:

Die Standardlösungen werden nach Vorschrift extrahiert und gaschromatographisch bestimmt. Ausgewertet werden die Peakflächen-Verhältnisse bezogen auf den internen Standard.

Bei der Berechnung der DMA und TMA-Gehalte muß der Wassergehalt im Probenmaterial berücksichtigt werden (zusätzlicher Beitrag zum Extraktvolumen).

Wiederfindungsraten:

Ausgehend von einem Homogenat aus Kabeljaufilet wurden $HClO_4$ -Extrakte mit definierten Zusätzen an DMA und TMA hergestellt und nach Vorschrift aufgearbeitet.

Lagerung von $HClO_4$ -Fischextrakten:

Da die $HClO_4$ -Extrakte nicht in jedem Fall sofort eingesetzt werden, wurde ein größerer Ansatz aufgeteilt und bei verschiedenen Temperaturen drei Wochen gelagert. Einige Proben wurden mehrfach aufgetaut und wieder eingefroren.

Tabelle 1: Wiederfindungsraten für DMA und TMA aus Kabeljau-Extrakten (mg N/100 g Fisch)

DMA			TMA		
Zusatz	Bestimmt	WF %	Zusatz	Bestimmt	WF %
<u>0</u>	1.51 1.51 1.45 1.38		<u>0</u>	0.64 0.52 0.52 0.64	
	1.46 ± 0.05	—		0.58 ± 0.06	—
<u>0.64</u>	2.22 2.22 2.02 1.95		<u>0.20</u>	0.64 0.69 0.80 0.91	
	2.12 ± 0.15	102 %		0.76 ± 0.12	75 %
<u>1.57</u>	2.73 2.87 3.07 3.14		<u>0.98</u>	1.50 1.50 1.50 1.55	
	2.95 ± 0.19	95 %		1.51 ± 0.03	95 %
<u>4.90</u>	6.41 6.08 5.72 6.41		<u>4.90</u>	5.26 5.20 5.09 5.20	
	6.16 ± 0.33	96 %		5.19 ± 0.07	94 %
<u>10.8</u>	12.8 12.6 11.9 12.4		<u>24.5</u>	23.7 25.1 25.4 25.2	
	12.4 ± 0.4	102 %		24.9 ± 0.8	99 %
<u>18.6</u>	20.7 22.1 19.9 20.4		<u>49.0</u>	47.6 51.9 50.9 50.5	
	20.8 ± 0.9	103 %		50.2 ± 1.9	101 %

Ergebnisse:

DMA, TMA und n-Propylamin eluieren bei den gewählten GC-Bedingungen nach 1,1, 1,8 und 4,0 min vor dem Lösungsmittelpeak. Die Dauer eines Probendurchlaufs bis zur nächsten Einspritzung (d.h. inklusive Abkühlphase des Ofens) beträgt rund 20 min.

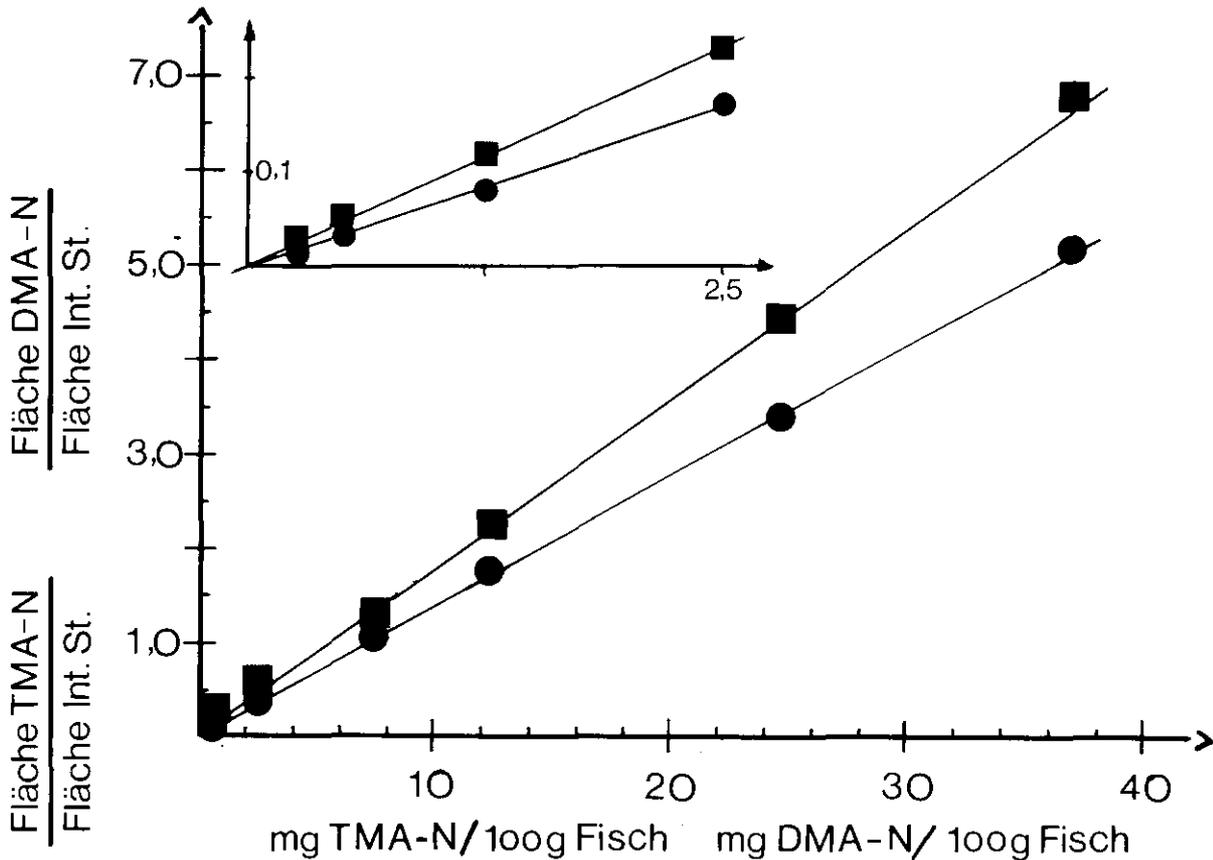


Abb. 1: Eichkurven für DMA (●) und TMA (■) mit Ausschnittsvergrößerung für den Bereich bis 2,5 mg N/100 g Fisch.

Die Eichkurve verläuft linear (Abb. 1). Wenn eine Beschränkung auf einen enger gefaßten Konzentrationsbereich möglich ist, sollten die Eichwerte und die Konzentration des internen Standards dementsprechend gewählt werden.

Die Wiederfindungsraten für die Kabeljauproben mit bekannten Zusätzen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Für die Ermittlung der Gehalte werden die jeweiligen Peakflächen-Quotienten in die Regressionsgeradengleichung eingesetzt, die sich aufgrund der Eichung berechnen läßt.

Bei unabhängig voneinander durchgeführten Analysenserien (Tabelle 2) war statistisch kein Unterschied nachweisbar (Vorzeichen-Test; $p = 0,95$, $f = 4$).

Tabelle 2: Ergebnisse von Analysenwiederholungen und Mehrfacheinspritzungen (Autosampler); HClO_4 -Extrakt von Kabeljau-Filet

	DMA-4 mg/100 g Fisch	TMA-N mg/100 g Fisch
5 Einzelnextraktionen	6.36 ± 0.33	5.35 ± 0.12
dto. 1 Woche später	5.97 ± 0.21	5.45 ± 0.13
5-fache Einspritzung (Amylalkohol-Phase)	5.84 ± 0.11	5.39 ± 0.08

Tabelle 3: Einfluß der Lagertemperatur auf die DMA und TMA-Gehalte (mg N/100 g Fisch) von HClO₄-Extrakten, hergestellt aus homogenisiertem Kabeljaufilet. Es wurden jeweils 2 Proben extrahiert

Lagerung Woche Temp.	DMA				TMA			
	0	1	2	3	0	1	2	3
ca. 18° C (Raumtemp.)	3.5	3.6	3.9	3.4	6.3	6.0	6.3	5.8
ca. 6° C (Kühlschrank)	3.5	3.6	3.7	3.5	6.3	6.5	6.3	6.1
- 30° C	3.5	3.6	3.9	3.8	6.3	6.4	6.7	6.9
	3.5*	→	3.9	3.6	6.3*	→	6.5	6.7
	3.5**	→	→	3.6	6.3**	→	→	6.5

* Auftauen nach 2 Wochen
 ** Auftauen nach 3 Wochen

Bei kurzfristiger Lagerung von Probenextrakten lassen die Ergebnisse der Tabelle 3 keine zwingende Notwendigkeit für eine der gewählten Lagerformen erkennen, vorausgesetzt, es handelt sich um einen klaren Extrakt ohne weitere Nachfällungen. Tiefgefroren gelagerte Extrakte sollten jedoch nicht mehrmals aufgetaut und eingefroren werden, bevor eine Aminbestimmung durchgeführt wird.

Das hier beschriebene Verfahren wird seit ca. 4 Jahren für die Untersuchung von Fischen und Krebstieren sowie daraus hergestellten Produkten eingesetzt. Für Routineanalysen wurde inzwischen eine Vereinfachung eingeführt, da sich eine Beschränkung auf eine 3-Punkt-Eichung mit einem DMA/TMA-Standardgemisch in den zu erwartenden Konzentrationsbereichen bewährte. Die Carbowax-Säule mußte bisher noch nicht ersetzt werden, auch nach rd. 10 000 Einspritzungen zeigt sie eine unverändert gute Trennleistung.

Zitierte Literatur:

DYER, W.J.: Amines in fish muscle. I. Colorimetric determination of TMA as the picrate salt. J.Fish.Res.Bd Can. 6: 351-358, 1945.
 DYER, W.J.; MOUNSEY, Y.A.: Amines in fish muscle. II. Development of trimethylamine and other amines. J.Fish.Res.Bd Can. 6: 359-367, 1945.
 LUNDSTROM, R.C.; RACICOT, L.D.: Gas chromatographic determination of dimethylamine and trimethylamine in seafoods. J.Assoc. Off. Anal. Chem 66: 1158-1163, 1983.
 RITSKES, T.M.: The gas chromatographic determination of trimethylamine and dimethylamine in fish, fishery products and other foodstuffs. J.Fd Technol. 10: 221-228, 1975.
 TOKUNAGA, T.; IIDA, H.; MIWA, K.: The gas chromatographic analysis of amines in fish. Bull.Jap.Soc.Sci. Fish 43: 219-227, 1977.