

1. års-opgave

Analyse af grillpølse

af Kenneth Buchwald Johansen

21aba0108



← Fedtekstraktion

Kjeldahl-
destillation



stomacher til
homogenisering
af prøve til
mikrobiologisk
analyse →



Nærværende rapport er en del af 1. årsprøven
ved laborantuddannelsen, Nordjyllands
Erhvervsakademi, juni 2008.

Tema:

Levnedsmidler



TITEL:

Analyse af grillpølse

TEMA:

1. årsprøve, Levnedsmidler

FORFATTER:

Kenneth Buchwald Johansen

PROJEKT PERIODE:

Fra 4. juni 2008

Til 17. juni 2008

SEMESTER:

2. Semester

HOLD:

2laba0108

SYNOPSIS:

En grillpølse skal undersøges for antallet af aerobe mikroorganismer, koliforme bakterier og Staphylococcus aureus. Grillpølsens indhold af fedt og protein ønskes også bestemt.

Der benyttes analyseforskrifter fra Nordisk Metodikkomité for Næringsmidler til de mikrobiologiske analyser og tidligere udleverede forskrifter til de kemiske analyser.

Analyseresultaterne sammenlignes med vejledende grænseværdier.

Analyserne viser, at fedt-, protein- og kulhydratindhold svarer til normalindholdet for pølser. De mikrobiologiske analyser afslører et lavt indhold af aerobe mikroorganismer, og der kunne ikke påvises et indhold af hverken koliforme bakterier eller S. aureus. Varmebehandlingen af pølsen har altså haft den ønskede effekt.

FORORD

Nærværende rapport er dokumentationen for laboratoriearbejdet i sammenhæng med 1. årsprøven på laborantuddannelsens 2. semester ved Nordjyllands Erhvervsakademi.

I denne rapport vil henvisninger til litteratur fremgå med en identifikation og årstal, f.eks. Vejledende grænseværdier 2007, som henviser til analyseforskriften "*Vejledende grænseværdier for rutinemæssig kontrol i detailleret.*", som også findes som bilag A på side 15.

For at gøre indholdsfortegnelsen mere overskuelig, medtages der ikke under-underafsnit.

dato

Kenneth Buchwald Johansen

INDHOLDSFORTEGNELSE

Forord	II
1 Teori	1
1.1 Problemformulering	1
1.2 Mikrobiologiske analyser	1
1.3 Kemiske analyser	5
2 Resultater	8
2.1 Organoleptisk undersøgelse	8
2.2 Mikrobiologiske analyser	8
2.3 Kemiske analyser	8
2.4 Resultatskemaer	10
3 Diskussion	11
3.1 Mikrobiologiske analyser	11
3.2 Kemiske analyser	11
4 Konklusion	13
Litteratur	14
Bilag A Vejledende grænseværdier	15
Bilag B Vejledende indhold i pølser	16
Bilag C Sikkerhed	17
Bilag D Mikrobiologiske analyser	19
Bilag E Fedtstofbestemmelse	20
Bilag F Proteinbestemmelse	21
Bilag G Aske, tørstof og kulhydrat	23

Dette kapitel giver overblik over rapporten og analysernes formål. Metoder og principper beskrives nærmere. Kapitlet er delt op i et afsnit om de mikrobiologiske analyser og et afsnit om de kemiske analyser. Først præsenteres problemformuleringen.

1.1 Problemformulering

Opgaven er formuleret som følger:

Der foretages kemiske og mikrobiologiske undersøgelser på grill-pølse indkøbt ved en detailslagter.

Undersøgelsen skal mindst omfatte:

- *Organoleptisk undersøgelse*
- *Aerobe mikroorganismer, NMKL nr. 86*
- *Koliforme bakterier, NMKL nr. 44*
- *Staphylococcus aureus, NMKL nr. 66*
- *Fedtstof ved Büchi ekstraktion*
- *Protein ved bestemmelse af Kjeldahl N*

Ved forbehandling af prøven til mikrobiologiske undersøgelser skal proceduren til bestemmelse af gennemsnitsflora anvendes (NMKL 91, 7.3).

Der er altså tale om 4 mikrobiologiske og 2 kemiske analyser. Derudover laves der også tørstof- og askebestemmelse, idet det så er muligt at bestemme kulhydratindholdet. Derved findes altså indholdet af fedtstof, protein og kulhydrat, som tilsammen udgør en varedeklaration for grillpølsen.

1.2 Mikrobiologiske analyser

For at vide, hvor store fortyndinger, der skal laves, må man have nogle vejledende værdier for indholdet af mikroorganismer. Vejledende grænseværdier 2007 er nogle tidligere udleverede grænseværdier for mikrobiologisk indhold, som vil blive brugt i denne rapport. Der er dog ikke nogle grænseværdier, der direkte gælder for pølser, så i stedet vil værdierne for "Pålæg i skiver (løssalg)" blive brugt. Dette menes at kunne forsvares, da grillpølserne også bliver solgt som løssalg og derfor vil blive "udsat" for de samme mikroorganismer, som pålæg i skiver. Desuden er både pålægget og pølserne varmebehandlet inden salg.

Vejledende grænseværdier 2007 kan findes som bilag A på side 15.

Vejledende grænseværdier 2007 giver 2 vejledende grænseværdier for hver kimtalsparameter (f.eks. koliforme bakterier, Cl. perfringens osv.). Den ene grænse, m, kaldes i denne rapport *den acceptable grænse*. Hvis kimtallet er mindre end denne grænse, kan produktet sælges uden yderligere forbehold. Den anden grænse, M, kaldes i denne rapport *den kritiske grænse*. Hvis kimtallet er over denne grænse, er der en så væsentlig fejl på levnedsmidlet, at det ved almindelig anvendelse er uacceptabelt, og der bør (øjeblikkeligt) undersøges, hvad årsagen kan være. Imellem de to grænseværdier siges det, at levnedsmidlet er behæftet med fejl og årsagen hertil snarest bør undersøges. Levnedsmidlet kan dog stadig sælges. Det

er her vigtigt igen at påpege, at der er tale om vejledende grænseværdier, og altså ikke nogle værdier, der er vedtaget ved lov.

I denne rapport regnes fortyndinger ud efter den acceptable grænse i første omgang, idet det må forventes, at grillpølsen er egnet til salg. Det forsøges dog at tage hensyn til, at kimtallet kan ligge tættere på den kritiske grænse, og derfor bestræbes det, at mindst én af fortyndingerne vil være egnet til tælling, selvom kimtallet er tæt på den kritiske grænse.

Da prøven er fast, angives kimal som kim/g.

Til teorien om mikroorganismene er bogen Thouggaard 2007 blevet brugt.

1.2.1 Forbehandling af prøven

En grillpølse er ikke en specielt homogen sammensætning. NMKL91 bruges til at udtage en prøve, der er repræsentativ for gennemsnitsfloraen. Dette betyder, at der aseptisk skal udtages en prøve, på en sådan måde, at materiale fra både dybde og overflade er forholdsmæssigt repræsenteret.

Rent praktisk skæres der en skive ud fra midten af pølsen, således at der både medtages skind og fyld. Enderne af pølsen udgås, da enderne hovedsageligt består af skind, og derfor ikke vil være en "gennemsnitlig" prøve. Prøven overføres til en stomacherpose sammen med fortyningsvæske og homogeniseres (et stomacher-apparat kan ses på forsiden af denne rapport). Skindet vil ikke blive ødelagt så godt, men de bakterier, der er i pølsen, vil blive frigivet til fortyndingsvæsken. Derved haves en 10^{-1} -fortynding.

1.2.2 Aerobe mikroorganismer

Antallet af aerobe mikroorganismer giver et overblik over det samlede antal af levende mikroorganismer i prøven. Derfor udpodes der på et alsidigt præparat, nemlig PCA, som er beskrevet nærmere nedenfor. Ifølge Vejledende grænseværdier 2007 er den acceptable grænse 10^5 kim/g, og den kritiske grænse er 10^7 kim/g. Der benyttes analyseforskriften NMKL86 2006, som fortæller, at det er acceptabelt med 25-250 kim pr. plade. Derfor skal der laves fortyndingerne 10^{-3} , 10^{-4} og 10^{-5} , hvor der forventes at være 100, 10 og 1 kim pr. plade. I tilfældet af, at kimtallet ligger tæt på den kritiske grænse, vil 10^{-5} -fortyndingen være nyttig til tælling.

Forskriften lægger op til undersøgelsen af psykrotrofe kim ($6,5^{\circ}\text{C}$), men det kræver en inkubationstid på 10 døgn, hvilket der ikke er tid til her. I stedet vælges der at inkubere i 72 timer ved 30°C , idet der så direkte kan sammenlignes med de vejledende grænseværdier.

PCA

Plate-Count-Agar er en universalagar, som de fleste mikroorganismer kan vokse på. Det indeholder pepton (kvælstof-kilde), glucose (kulstof- og energikilde), gærekstrat, vækststoffer og mineralsalte. Det har desuden en neutral pH på 7,0.

1.2.3 Koliforme bakterier

Koliforme bakterier er en betegnelse for laktoseforgærende enterobakterier - det vil sige en del af slægten Enterobacteriaceae. Betegnelsen omfatter Escherichia coli samt nogle nærtstående arter og slægter, blandt andet Klebsiella. Enterobakterier betyder jo tarmbakterier, og det er derfor af stor betydning, hvor store mængder af koliforme bakterier, man finder i levnedsmidler. E. coli er normalt apatogen og findes normalt i tarmfloraen hos mennesker og dyr. Derfor er den i sig selv ikke interessant at påvise. Men E. coli er kun i stand til at leve i kortere tid udenfor tarmkanalen, og da den samtidig er let at påvise, bruges den som indikator for frisk fækal forurening. Klebsiella findes også som en normal bestanddel

af tarmfloraen, er også normalt apatogen, men er i stand til at formere sig udenfor tarmfloraen. Derfor kan Klebsiella ikke bruges som indikator for fækal forurening, og det betyder, at mængden af "koliforme bakterier" heller ikke direkte er indikator for fækal forurening. I stedet kan parameteren anvendes som udtryk for f.eks. korrekt varmebehandling og i visse tilfælde krydskontamination mellem rå og varmebehandlede produkter. Det skal dog nævnes, at hvis der påvises et højt indhold af koliforme bakterier, kan det alligevel godt være, at der har foregået fækal forurening, hvorfor levnedsmidlet bør undersøges nærmere (f.eks. en undersøgelse af indholdet af E. coli).

Om de koliforme bakterier gælder følgende:

1. Tilhører gruppen af fakultativt anaerobe, gramnegative stave,
2. Galdetolerante,
3. glucoseforgærende,
4. lactose+ (laktoseforgærende).

Ifølge Vejledende grænseværdier 2007 er den acceptable grænse 1000 kim/g i grillpølser. Den kritiske grænse er 10^5 kim/g. Der bruges analyseforskriften NMKL44 2004, som fortæller, at det ønskede kimal er 10-100 kim pr. plade. Derfor skal der laves fortyndingerne 10^{-1} og 10^{-2} , hvor der forventes at være 100 og 10 kim pr. plade eller mindre. Egentlig bør der også medtages en ufortyndet prøve, idet prøven er varmebehandlet og derfor ikke bør indholde så mange mikroorganismer, men det kan ikke lade sig gøre, da prøveforbehandlingen kræver, at prøven fortyndes.

Prøven indstøbes i TSA (Trypton-Soya-Agar), som er et alsidigt substrat, hvor stressede bakterier bakterier kan påbegynde vækst. Trypton er et delvist nedbrudt protein, som er let at nedbryde.

Efter præinkubationen hældes der et lag af RVG-agar over indstøbningssubstratet og inkuberes ved 37°C i 24 timer. Her er altså tale om dybdeudsæd. RVG beskrives nærmere nedenfor.

RVG (Rød-Violet-Galdeagar)

Substratet består ifølge Thougaard 1999 af grundsubstrat, crystalviolet, galdesalte, lactose og neutralrødt.

Koliforme bakterier, som er laktose+, danner (mørke-)røde kolonier med violet opklaringszone på dette substrat. Kolonierne er sædvanligvis 0,5mm i diameter eller større. De selektive og indikative principper for substratet kan ses i tabel 1.1.

Selektivt princip	Indikativt princip
Galdesalte og crystalviolet gør substratet selektivt, idet bakterien skal være galderesistent, for at kunne vokse på substratet. Agaren hæmmer grampositive bakterier, og tillader altså vækst af gramnegative enterobakterier.	Ved lactoseforgæringen sænkes pH på grund af syredannelse. Omkring kolonierne dannes der komplekser af galdesyre og substratets farvestoffer (crystalviolet og neutralrødt). Ikke-laktoseforgærende enterobakterier vokser derimod med blege kolonier (f.eks. Salmonella).

Tabel 1.1: *Selektive og indikative principper for RVG.*

Typiske eller mistænkelige kolonier bekræftes ved at overføre kolonimasse til brilliantgrønt-galdelactose-bouillion (BGLB), hvori der er et durhamrør. BGLB indeholder oksegalde, hvorfor kun galdetolerante bakterier kan vokse heri. Sammen med brilliantgrønt hæmmes stort set alle grampositive og gramnegative bakterier udover koliforme bakterier. De koliforme bakterier er laktoseforgærende og danner derfor gas, som kan ses som bobler i durhamrørene efter inkubation.

1.2.4 Staphylococcus aureus

Stafylokokker er en af de mest berygtede bakterier i Danmark. Dette skyldes først og fremmest den medieomtale, der har været, når der har været et udbrud af penicillinresistente stammer af stafylokokker på de danske sygehuse. Det er nemlig vanskeligt at bekæmpe en bakterie, der er penicillinresistent. Resistensen opstår fordi stafylokokker kan danne enzymet *penicillinase*, der ødelægger penicillin.

Stafylokokker vokser naturligt på hud og slimhinder hos mennesker og dyr, og kan derfor give anledning til en række infektioner, f.eks. bylder, bulne fingre, børnesår, skægpest, mellemørebetændelse og benmarvsbetændelse.

I fødevarer sammenhæng er *S. aureus* sandsynligvis den hyppigste årsag til fødevarerforgiftning herhjemme. Den kan nemlig opformere sig i fødevarer og danne et kraftigt toksin, *enterotoxin*. Det er dog sjældent at forgiftningen registreres. Dette kan skyldes, at selve forgiftningen - på trods af at den er voldsom og meget ubehagelig - er hurtigt overstået, så der sjældent søges læge. Symptomerne er stærk opkast, kvalme og diarré.

Stafylokokker vokser dårligt i konkurrence med andre bakterier, hvorimod de hurtigt kan formere sig i varmebehandlede varer, hvor der er få andre bakterier. Også i saltede kød- og fiskeprodukter kan stafylokokker opformeres, idet stafylokokker er salttolerante.

S. aureus kan findes i mange forskellige fødevarer som fx råt okse- og svinekød og råt fjerkræ. Den kan som nævnt også findes i varmebehandlede fødevarer som fx kogt skinke, bacon, fjerkræ- og fiskeprodukter samt ægholdige produkter som cremer og saucer. Årsagen til forgiftninger er oftest, at mennesker overfører bakterier fra f.eks. et sår, næsen eller via hænderne til maden under forarbejdningen, og at maden derefter ikke køles tilstrækkeligt. Bakterien kan så opformere sig og danne toksin. *S. aureus*-toksin er meget varmestabil og kan tåle mere end ½ times kogning.

Om *S. aureus* gælder følgende:

1. Tilhører gruppen af grampositive kokker,
2. Katalase+ (kan inaktivere cellegiften H_2O_2),
3. Fakultativt anaerob,
4. Salttolerant,
5. Koagulase+ (kan få blodplasma til at koagulere, dvs. stivne),
6. Hæmolytisk (springer de røde blodlegemer (hæmoglobin), hvilket ses ved hæmolysezone omkring kolonier (blodagar)),
7. Mannitol+ (forgærer kulhydrat og danner syre).

Til analysen benyttes NMKL66 2003, der ikke fortæller noget om det ønskede kimtal pr. plade. Der regnes derfor med 10-100 kim pr. plade. Vejledende grænseværdier 2007 fortæller ikke om en acceptabel værdi for *S. aureus*, så i stedet bruges den kritiske grænse på 1000 kim/g. Fortyndingerne bliver da 10^{-1} og 10^{-2} . I denne analyse laves der overfladeudsæd, og der skal derfor kun udpodes 0,1mL prøve, hvilket vil give en ekstra fortynding af prøven. For at kompensere for dette, udpodes 1mL på 3 plader (0,33mL pr. plade), der så aflæses som en plade. Der udpodes parallelt på Baird-Parker og blodagar. Disse to agare beskrives nærmere nedenfor.

BP (Baird-Parker)

Substratet består ifølge Thougard 1999 af grundsubstrat, Li-chlorid, K-tellurit, Na-pyruvat, glycin og æggeblommeemulsion.

S. aureus vokser frem som sorte/grå, konvekse og skinnende kolonier på substratet. Deres størrelse er ca. 1-1,5mm i diameter efter 1 døgn. Selektive og indikative egenskaber for BP kan ses i tabel 1.2.

Selektivt princip	Indikativt princip
Pyruvat og glycin fremmer væksten af <i>S. aureus</i> , men Li-chlorid og tellurit virker hæmmende på de fleste andre bakterier	Stafylokokker reducerer tellurit til tellur, der giver en sortfarvning af kolonierne. Efter 1-2 døgn har der forekommet en protein- og lecitinspaltning (fra æggeblommeemulsionen), hvilket giver opklarings- og udfældningszoner i substratet.

Tabel 1.2: *Selektive og indikative principper for BP.*

BA (Blodagar)

Blodagar indeholder, som navnet antyder, blod. Der er tale om fåre-, heste- eller, som i dette tilfælde, kalveblod. Substratet bruges til dyrkning af kræsnе bakterier samt til bestemmelse af hæmolyseområder. Der er tale om et substrat, der er specielt rigt på næringsstoffer, og giver derfor gode vækstbetingelser for mange bakterier.

S. aureus er hæmolytisk, og vil derfor give klare hæmolysezoner på BA. Den er også mannitol+, hvilket vil sige, at der dannes syre og laves gulfarvning.

Typiske og mistænkelige kolonier bør videredyrkes til konfirmering ved gramfarvning og test for koagulaseproduktion. Dette må dog undlades her, idet inkubationstiderne vil overskride den tilladte laboratorietid.

1.3 Kemiske analyser

Til de kemiske analyser benyttes der vejledende værdier for indhold af fedt, protein, aske og så videre. Disse vejledende værdier er taget fra opslagsværket Fødevareinstituttet 2008, som findes på internettet (bilag B på side 16). For at kunne bruge disse vejledende værdier, antages det at indholdet i grillpølsen svarer til indholdet af en wiener-/frankfurterpølse.

1.3.1 Forbehandling af prøven

Til de kemiske analyser anses det for acceptabelt at blende hele pølsen i en blender. Blenderen skal selvfølgelig være rengjort, så prøven ikke forurenes med ekstra fedt eller protein. Her udgås enderne af pølsen altså ikke, idet hele pølsen kan homogeniseres til en ensartet masse. Pølse-massen opbevares på frys i små poser indtil det skal bruges.

1.3.2 Fedtbestemmelse

Fedt er sammen med protein og kulhydrat en af de vigtigste energikilder for mennesker. Det er den energikilde, som mennesker også har flest problemer med, dels fordi vi spiser for meget fedt, dels fordi vi har svært ved at skelne mellem det sunde og det knapt så sunde fedt. Fedt er en nødvendig energikilde. Feks. ville mange vitaminer ikke kunne opløses og virke, hvis der ikke var fedt til stede i vores kost, og vi ville blive fejlernærede.

Fedtbestemmelse foretages her ved soxhlet-metoden, som henviser til en soxhlet ekstraktor (Büchi ekstraktor, som kan ses på forsiden af denne rapport) - det ekstraktionsapparat, der skal bruges til analysen. Analyseforskriften (NOEA 2007) er udleveret ved Levnedsmiddeltemaet.

Den afvejede prøvemængde skal svare til ca. 0,5% fedt, så der afvejes 4 homogeniserede prøver af 2-3g, idet der ifølge Fødevareinstituttet 2008 er ca. 23% fedt i pølsen. Prøve og sand blandes med en spatel, som aftørres med methanol på vat. Vattet anbringes ovenpå prøven. Sandets formål er at gøre prøvens overflade større, så tørring og ekstraktion går hurtigere.

Ekstraktionshætte med indhold tørres ved 135°C, og anbringes derefter i ekstraktionsapparatet. Der påfyldes petroleumsether. Der monteres cups, ekstraktionen startes og kører i 30 cycles. Efter endt ekstraktion og afdestillation af etheren, tørres cup'ene ved 105°C og vejes efter afkøling. Derved findes massen af den ekstraherede fedt, som ligger på bunden af cup'ene. Tørring og afvejning gentages indtil vægten er stabil - dog må fedtet ikke udsættes for for meget varme, da fedtet så kan omdannes til andre organiske forbindelser med større molmasse.

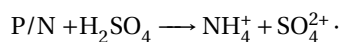
Både methanol og petroleumsether er giftige og dampene skal derfor undgås. Petroleumsether er også kræftfremkaldende, så analysen kræver stor forsigtighed. Der bruges altså stinkskab, sikkerhedsbriller og handsker. Faremærkninger kan ses i bilag C på side 17.

1.3.3 Proteinbestemmelse

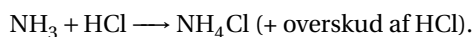
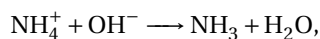
Proteiner er kroppens byggesten. Proteiner bruges til opbygning af muskler og indre organer, herunder hjernen.

Til bestemmelse af proteinindholdet benyttes Kjeldahl-metoden, som der tidligere er blevet udleveret en analyseforskrift på (NOEA 2007). Analysen går ud på at finde nitrogenindholdet af prøven og derefter regne det om til proteinindhold.

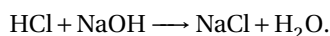
Prøven destrueres ved 420°C i koncentreret svovlsyre med kjeltabs som katalysator. Herved omdannes tilstedeværende nitrogen til ammoniumioner. Reaktionen forløber således:



Herefter tilsættes Kjeldahlud (NaOH) i overskud, og den dannede NH_3 destilleres over i et forlag af HCl:



Overskudet af HCl titreres med NaOH og Kjeldahlindikator. Titrerligningen er en gammel kending:



Kontroller og blindprøver behandles på samme måde som prøver. Som kontrol bruges trypton ($N=12,5 \pm 0,3\%$, $P=76,9 \pm 0,3\%$), og som blindprøve bruges saccharose, da evt. nitrat kun reduceres til ammonium ved tilstedeværelse af organisk stof. Der bruges blindprøver, fordi f.eks. svovlsyren kan indeholde nitrogen-forbindelser.

Til analysen indstilles HCl på TRIS, og NaOH indstilles på HCl.

Ved analysen skal der bruges en del farlige stoffer, nemlig kjeldahlud (32% NaOH), kjeltabs, koncentreret svovlsyre og en 0,5M NaOH. Der skal derfor bruges handsker, sikkerhedsbriller og så vidt muligt stinkskab. Efter prøverne er blevet destrueret, skal der tilsættes vand til destruktionsrørene, her skal man være forsigtig, idet man hælder vand direkte i koncentreret svovlsyre. Faremærkningerne kan ses i bilag C på side 17.

1.3.4 Aske, tørstof og kulhydrat

Som tidligere nævnt bestemmes aske- og tørstofindhold, så kulhydratindholdet kan bestemmes. Det hænger nemlig således sammen, at

$$\text{kulhydrat} = \text{tørstof} - (\text{protein} + \text{fedt} + \text{aske}).$$

Kulhydrat er endnu en primær biologisk måde at oplagre eller hente energi til kroppen. Feks. er sukker kulhydrater, som nedbrydes under stofskiftet.

For at finde aske- og tørstofindholdet, benyttes der analyseforskriften NMKL23 1991, som i al sin enkelthed går ud på at udtage prøve, som lægges i vejede digler og porcelænsskåle. Disse opvarmes i henholdsvis muffelovn ved 550°C og i varmeskab ved 105°C. Herefter vejes digler og skåle med afkølet prøve. Det er en god idé at opvarme diglerne langsomt (på en kogeplade), så prøven allerede er tørret en del, inden den skal i muffelovnen. Opvarmning og nedkøling gentages indtil vægten er stabil.

RESULTATER

I dette kapitel præsenteres resultaterne. En oversigt over resultater og vejledende værdier kan ses i tabel 2.1 og 2.2 på side 10.

2.1 Organoleptisk undersøgelse

Pølsen har en meget bleg lysebrun farve, som er meget normal for almindelige grillpølser. Duften er klassisk og meget kraftig. Pølsens konsistens er meget fast. Overfladen af pølsen er jævn og glat, og der er ingen synlige misfarvninger eller andre uregelmæssigheder.

2.2 Mikrobiologiske analyser

Ved analysen for aerobe mikroorganismer blev der kun fundet få kolonier på 10^{-3} -fortyndingen. Antallet af aerobe mikroorganismer estimeres til $6,5 \cdot 10^3$ kim/g. Til dette estimat hører et 95%-konfidensinterval på $[3,0 \cdot 10^3$ kim/g; $1,0 \cdot 10^4$ kim/g].

Analysen for koliforme bakterier viste nogle rødlige kolonier uden opklaringszone. Konfirmeringen viste, at det ikke var koliforme bakterier.

Der blev ikke fundet nogle kolonier af *S. aureus*. Til gengæld blev der fundet en stor grøn/brun koloni med hæmolysezone på blodagaren. Denne kan ses i figur 2.1.



Figur 2.1: Brunlig koloni på blodagar.

2.3 Kemiske analyser

2.3.1 Aske, tørstof og kulhydrat

Der blev fundet et askeindhold på 4,62g/100g, hvor den vejledende værdi er på 3,3g/100g. Præcisionen blev bestemt til 4,19%.

Tørstofindholdet blev 47,8g/100g imod den vejledende værdi 42,9g/100g. Præcisionen blev bestemt til 0,05%.

Kulhydratindholdet blev bestemt til 3,28g/100g. Den vejledende værdi er 3,0g/100g.

2.3.2 Fedtbestemmelse

Ved analysen blev fedtindholdet i pølsen bestemt til 26,1%. Den vejledende værdi er 23,2%. Analysen har givet en præcision på 0,79%.

2.3.3 Proteinbestemmelse

Der er blevet bestemt et proteinindhold på 13,8g/100g med en præcision på 1,09%. Den vejledende værdi er 13,4g/100g.

Kontrollerne, som bestod af saccharose, fik bestemt et proteinindhold på 73,9g/100g, hvor den vejledende værdi er 76,9g/100g.

2.4 Resultatskemaer

Analyse	Kimtal (kim/g)	Acceptabel grænse (kim/g)	Kritisk grænse (kim/g)	95%-konfidensinterval		Bilag
				nedre grænse (kim/g)	øvre grænse (kim/g)	
Aerobe mikroorganismer	$1,3 \cdot 10^4$ (est.)	100.000 (10^5)	10.000.000 (10^7)	$3,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^4$	D på side 19
Koliforme bakterier	< 10	1.000 (10^3)	100.000 (10^5)	-	-	D på side 19
S. aureus	< 10	-	1.000 (10^3)	-	-	D på side 19

Tabel 2.1: *Analyseresultater for mikrobiologiske analyser.*

Analyse	Metode	Enhed	Resultat	Vejledende værdi	Kontrol	CV%	RF%	Bilag
Fedtstof	Büchi ekstraktion	g fedt / 100g	26,1	23,2 (17,9-29,4)	-	0,79%	-	E på side 20
Protein	Kjeldahl	g protein / 100g	13,8	13,4 (10,9-15,5)	73,9	1,09	-3,91	F på side 21
Aske	Muffelovn	g aske / 100g	4,62 (est.)	3,3 (2,70-4,24)	-	4,19	-	G på side 23
Tørstof	Varmeskab	g tørstof / 100g	47,8	42,9 (37,1-49,5)	-	0,05	-	G på side 23
Kulhydrat	Differensmetoden	g kulhydrat / 100g	3,28 (est.)	3,0 (0-8)	-	-	-	G på side 23

Tabel 2.2: *Analyseresultater for kemiske analyser. Ved vejledende værdier er variationen af resultatet i parentes.*

DISKUSSION

3.1 Mikrobiologiske analyser

3.1.1 Aerobe mikroorganismer

Der var for få kim på pladerne til, at der kunne beregnes andet end et estimat af kimtallet. Der er altså færre kim i prøven end de vejledende grænseværdier tillader. Selv med et estimeret 95%-konfidensinterval, kommer kimtallet ikke tæt på grænseværdierne.

Under analysen opstod der tvivl om, om fortyndingsrækken blev fortyndet videre efter 10^{-3} -fortyndingen. Dette har gudskelov vist sig ikke at være noget problem, da der var meget få kim på 10^{-3} -pladerne, og der derfor ikke kunne forventes nogle kim på 10^{-4} - og 10^{-5} -fortyndingerne.

Udover den mulige fejl i fortyndingsrækken, har analysen ikke givet nogle problemer - den er nem og ligetil. Det trækker dog hårdt på den pressede tidsplan, at der er en inkuberingstid på 72 timer - der er simpelthen bare ikke tid til at lave analysen om, hvis noget går galt.

3.1.2 Koliforme bakterier

Der var en del kolonier på de mindst fortyndede RVG-plader. Disse kolonier faldt dog for kravet om opklaringszoner. Kolonierne blev dog alligevel testet for gasdannelse, men også denne test var negativ. Det er naturligvis positivt, at der ikke blev fundet koliforme bakterier i prøven.

3.1.3 Staphylococcus aureus

Der blev ikke fundet nogle mistænkelig kolonier hverken på BP eller på blodagar. Der blev dog fundet en stor brunlig koloni med hæmolysezone, som det blev vist i figur 2.1 på side 8. Kolonien har samme udseende som *Bacillus cereus* har på blodagar, og det antages derfor, at det er den, der er tale om. *B. cereus* er også patogen og altså ikke ønskelig i fødevarer. Her er dog kun tale om små mængder, som de vejledende grænseværdier tillader. Større mængder af *B. cereus* ville kunne give opkast og diarré.

Generelt må det siges, at varmebehandlingen har været succesfuld. Indholdet af mikroorganismer er mindre end de vejledende grænseværdier.

3.2 Kemiske analyser

3.2.1 Aske, tørstof og kulhydrat

Ved askebestemmelsen fortæller forskriften, at diglerne med prøven langsomt skal varmes op på kogeplade, inden de sættes i muffelov. Hvad forskriften ikke fortæller er, at nogle prøver også bør varmes over gasblus efter de har været på en kogeplade. Diglerne har stået på en kogeplade i omkring 5 timer, inden de blev overført til muffelov. Prøven var alligevel ikke blevet varmet nok, og da de kom ind ved 550°C , gik der ild i en af prøverne. Derfor kan askeindholdet kun regnes for at være et estimat. Derved bliver også kulhydratindholdet et estimat, da det beregnes på baggrund af askeindholdet.

Askeindholdet ligger lidt over normalindholdet i pølser til trods for fejlen ved opvarmningen. Diglerne fik i alt 2 døgn ved 550°C , hvor vægten var uændret det sidste døgn.

Tørstofindholdet blev bestemt uden komplikationer. Dog ser prøven stadig meget fugtig ud efter tørring, men det skyldes det store indhold af fedt. Analysen gav en meget lav CV%, og resultatet ligger indenfor variationsområdet, som er normalt for pølser.

Kulhydratindholdet er bestemt ved differensmetoden, og det fundne estimat ligger meget tæt på den vejledende værdi. Det kan altså godt siges at være et realistisk bud på kulhydratindholdet.

3.2.2 Fedtbestemmelse

Fedtindholdet ligger en lille smule over det forventede, men det er dog indenfor normalområdet. Under analysen blev ekstraktionsapparatet påfyldt for meget petroleumsether, men det lader ikke til at have haft større betydning for resultatet.

3.2.3 Proteinbestemmelse

Proteinindholdet ligger meget tæt på den vejledende værdi. Analysen har givet en CV% på 1,09, som er lidt høj.

Nøjagtigheden på kontrollen blev fundet til -3,91%, så tilsyneladende giver analysen et lidt for lavt proteinindhold. Dette er også helt i orden, da der sagtens kan være et større proteinindhold uden at prøven vil komme over de vejledende værdier.

KONKLUSION

De mikrobiologiske analyser har vist, at der hverken kunne findes koliforme bakterier eller *Staphylococcus aureus* ved en 10^{-1} -fortynding. Det betyder, at indholdet af disse to kimtalsparametre altså må være mindre end 10 km/g, hvilket er langt under de vejledende grænseværdier. Der blev dog fundet en enkelt koloni af, hvad der antages at være, *Bacillus cereus* i en af fortyndingerne, men dette er også helt acceptabelt i henhold til de vejledende grænseværdier.

Antallet af aerobe mikroorganismer er også meget lavere end de vejledende grænseværdier, og det må altså konkluderes, at varmebehandlingen har virket. Prøven er tilsyneladende heller ikke blevet kontamineret efter varmebehandlingen, og pølsen må altså siges at være salgseget.

De kemiske analyser har vist, at fedt-, protein- og kulhydratindhold stemmer godt overens med normalindholdet for en pølse. Fedtindholdet ligger en lille smule over gennemsnittet, men er dog stadig indenfor normalområdet.

Alt i alt kan pølsen betragtes som en gennemsnitlig grillpølse. I henhold til de vejledende grænseværdier og analyserne i denne rapport, er der intet i vejen for at sælge pølsen, og der er intet unormalt at bemærke.

LITTERATUR

Büchi, Labortechnik AG (2007). *Application Büchi. Büchi – Kjeldahl – Systems. Nitrogen and Protein Determination.*

Fødevarerinstitutionen (2008). *Pølser, wienerpølse, frankfurterpølse*. Bilag B. URL: http://www.foodcomp.dk/fvdb_details.asp?FoodId=0292.

NMKL23 (1991). *Vatten och aska. Gravimetrisk bestämning i kött och köttvaror*. 2. udg. Nordisk Metodikkommitté för Livsmedel.

NMKL44 (2004). *Koliforme bakterier. Bestemmelse i næringsmidler og fôr*. 6. udg. Nordisk Metodikkommitté for Næringsmidler.

NMKL66 (2003). *Staphylococcus aureus. Bestemmelse i næringsmidler*. 4. udg. Nordisk Metodikkommitté for Næringsmidler.

NMKL86 (2006). *Aerobe Mikroorganismer. Bestemmelse i næringsmidler ved 30°C, 20°C eller 6,5°C*. 4. udg. Nordisk Metodikkommitté for Næringsmidler.

NMKL91 (2002). *Prøveudtagning og forbehandling af levnedsmidler og foderstoffer til kvantitativ mikrobiologisk undersøgelse*. 4. udg. Nordisk Metodikkommitté for Næringsmidler.

NOEA (2007). *Levnedsmiddeltema 1 Efteråret 2007: Kemi*.

Thougaard, Varlund & Madsen (1999). *Praktisk Mikrobiologi*. 1. udg. Teknisk Forlag.

— (2007). *Mikrobiologi. Fødevarer. Hygiejne. Genteknologi*. 2. udg. Nyt Teknisk Forlag.

Vejledende grænseværdier, for rutinemæssig kontrol i detaljdet (2007). "Laboratorieklubben for Sjælland, Lolland-Falster og Bornholm". Bilag A.

BILAG A

VEJLEDENDE GRÆNSEVÆRDIER FOR RUTINEMÆSSIG KONTROL I DETAILLEDET

Vejledende grænseværdier (detailedet)	A		B		C		D		E		F	
	VARMEBEHANDLEDE KØDVARER											
	Fersk hakket kød og kødfars		Hele stykker, færdige retter		Pålæg i skiver (løssalg)		Vakuumpakkede pålægsvarer		Mayonnaise- salater		Kødsalater	
KIMTALSPARAMETRE	m	M	m	M	m	M	m	M	m	M	m	M
1.Kimtal 30°C, 1000/g	10.000		10	1.000	100	10.000	1.000	100.000	10	1.000	1.000	10.000
2.Psykrotrofe kim 1000/g	10.000		10	1.000	100	10.000	1.000	100.000				
3.Kimtal 21°C, JA, 1000/g												
4.H ₂ S-product. kim, JA, 1000/g												
5.Fremmede kim												
6.Mælkesyrebakt. 1000/g	+		+		+		+		+		+	
7. <i>Brochotrix. therm.</i> 1000/g							10	1.000				
8.Gær/skimmel 100/g									10/-	1.000/1	10/-	1.000/1
INDIKATORPARAMETRE												
9.Coliforme bakt. /g			100	10.000	1.000	100.000	100	10.000	1.000	100.000	1.000	100.000
10.Termotol. coliforme /g	100	10.000	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
11.Fækale strept. /g	1.000	100.000	100	10.000	1.000	100.000	1.000	100.000	1.000	100.000	1.000	100.000
PATOGENER												
12. <i>B.cereus</i> /g	1.000			10.000		10.000		10.000		10.000		10.000
13. <i>Staf.aureus</i> /g	1.000			1.000		1.000		1.000		1.000		1.000
14.Hæmolyt. strept. /g				1.000		1.000		1.000		1.000		1.000
15. <i>Cl.perfring.</i> /g				100		100		100		100		100

≤ m : Levnedsmidlet er acceptabelt og er uden forbehold salgseget.

m-M: Levnedsmidlets salgsegnethed er behæftet med fejl. Der foretages (snarest) en undersøgelse af årsagsforholdene.

≥ M: Levnedsmidlets salgsegnethed er behæftet med så væsentlige fejl, at det ved anvendelse på almindelig eller foreskrevet måde ikke umiddelbart er acceptabelt. Årsagen hertil må (øjeblikkelig) underkastes en nærmere undersøgelse.

VEJLEDENDE INDHOLD I PØLSER




- > Fødevaredatabanken
 - Søg fødevaredata
 - Om fødevaredata
 - Hent fødevaredata
 - Brug af fødevaredata
 - Ændringer i data
 - Specielle lister
 - Fødevaredatahistorie
 - Norfoods
 - LanguaL
 - EuroFIR
 - Andre netsteder
 - Kontakt os

 Food Composition




FVDB nr. 0292					
Pølser, wienerpølse, frankfurterpølse					
Pork, sausage, vienna/frankfurter type					
Svind: 0%					
Indhold pr. 100 g	Enhed	Indhold	Variation	Antal	Kilde
Energi	kJ	1135			00050
Protein, total [NCF: 6.25]	g	13.4	10.9 - 15.5	31	S0943
total-N	g	2.15	1.74 - 2.48	31	S0944
Fedt, total [FACF: 0.920]	g	23.2	17.9 - 29.4	35	S0945
mættede fedtsyrer	g	8.50			00050
monoumætt. fedtsyrer	g	9.81			00050
polyumætt. fedtsyrer	g	2.59			00050
Kulhydrat, total	g	3.0	0 - 8	31	S0947
kulhydrat, tilgængelig	g	2.8			00050
tilsat sukker	g	0			00000
kostfibre	g	0.2			00050
Alkohol	g	0			00000
Aske	g	3.3	2.70 - 4.24	31	S0948
Vand	g	57.1	50.5 - 62.9	31	S0949
A-vitamin	RE	0			00050
Retinol	µg	0	<6	2	00118
β-caroten	µg	0			00000
D-vitamin	µg	0.77			00050
D3 cholecalciferol	µg	0.19			06004
D2 ergocalciferol	µg	0			00000
25-hydroxycholecalciferol	µg	0.12			06004
E-vitamin	α-TE	0.10			00050
alfa-tokoferol	mg	0.10	0.10 - 0.12	2	00128
K-vitamin	µg	0			00000
B1-vitamin, thiamin	mg	0.140	0.110 - 0.196	11	00146
B2-vitamin, riboflavin	mg	0.200	0.135 - 0.310	11	00146
Niacin	NE	4.30			00050
niacin	mg	1.8	1.65 - 1.95	10	00112
tryptofans bidrag	mg	2.50			00050
B6-vitamin	mg	0.150	0.105 - 0.230	7	00119
Pantothensyre	mg	0.68			T0293
Biotin	µg	3.70			T0293
Folat	µg	4	2.3 - 5.5	4	00912
B12-vitamin	µg	1.1	0.85 - 1.40	5	00138
C-vitamin	mg	0			00000
L-ascorbinsyre	mg				
L-dehydroascorbins.	mg				
Natrium, Na	mg	1160	930 - 1510	31	S0950
Kalium, K	mg	157	111 - 225	31	S0951
Calcium, Ca	mg	15	9.51 - 20.3	6	00109
Magnesium, Mg	mg	21	12.1 - 32.3	3	00152
Phosphor, P	mg	211	160 - 301	17	S0952
Jern, Fe	mg	1.30	0.61 - 2.50	14	00137
Kobber, Cu	mg	0.07		1	00155
Zink, Zn	mg	1.40		1	00155
Jod, I	16 µg	14.0	2.7 - 25	6	00149
Mangan, Mn	mg	0.022	0.018 - 0.032	4	00806
Chrom, Cr	µg	6.0	4 - 7	4	00806

SIKKERHED

Fedtbestemmelse

Petroleumsether	Methanol	
		
Giftig	Meget brandfarlig	Giftig
<p>Brandfarlig. Kan fremkalde kræft. Farlig: kan give lun- geskade ved indtagelse. Holdes væk fra antændelseskil- der – Rygning forbudt. Træf foranstaltninger mod statisk elektricitet. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefin- dende er omgående lægebehandling nødvendig; vis eti- ketten, hvis det er muligt. Undgå enhver kontakt – ind- hent særlige anvisninger før brug. Emballagen skal hol- des tæt lukket. Brug CO₂-slukker ved brandslukning. Affaldsgruppe: C</p>	<p>Meget brandfarlig. Giftig ved indånding, ved hudkon- takt og ved indtagelse. Giftig: fare for varig alvorlig ska- de på helbred ved indånding, hudkontakt og indtagel- se. Emballagen skal holdes tæt lukket. Holdes væk fra antændelseskilder – Rygning forbudt. Brug særligt ar- bejdstøj og egnede beskyttelsehandsker. Ved ulykkes- tilfælde eller ved ildebefindende er omgående lægebe- handling nødvendig; vis etiketten, hvis det er muligt. Affaldsgruppe: C</p>	

Proteinbestemmelse

Svovlsyre (konc.)	Kjeltabs ($K_2SO_4 + CuSO_4 \cdot 5H_2O + TiO_2$)	
		
Ætsende	Sundhedsskadelig	Miljøskadelig
<p>Alvorlig ætsningsfare. Kommer stoffet i øjnene, skylles straks grundigt med vand og læge kontaktes. Hæld al- drig vand på eller i produktet. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende er omgående lægebehandling nød- vendig; vis etiketten, hvis det er muligt. Affaldsgruppe: X</p>	<p>Farlig ved indtagelse. Irriterer øjnene og huden. Meget giftig for organismer, der lever i vand; kan forårsage u- ønskede langtidsvirkninger i vandmiljøet. Undgå ind- ånding af støv. Dette materiale og dets beholder skal bortskaftes som farligt affald. Undgå udledning til mil- jøet. Se særlig vejledning / leverandørbrugsanvisning. Affaldsgruppe: X</p>	

NaOH 0,5M



Ætsende

Ætsningsfare. Kommer stoffet i øjnene, skylles straks grundigt med vand og læge kontaktes. Brug egnede beskyttelseshandsker og -briller / ansigtsskærm under arbejdet. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende er omgående lægebehandling nødvendig; vis etiketten, hvis det er muligt.
Affaldsgruppe: X

Kjeldahlud (32% NaOH)



Ætsende

Alvorlig ætsningsfare. Kommer stoffet i øjnene, skylles straks grundigt med vand og læge kontaktes. Brug egnede beskyttelseshandsker og -briller / ansigtsskærm under arbejdet. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende er omgående lægebehandling nødvendig; vis etiketten, hvis det er muligt.
Affaldsgruppe: X

BILAG D

MIKROBIOLOGISKE ANALYSER

Ved de mikrobiologiske analyser, blev der fundet følgende kimtal:

Agar	Fortynding					Kontrol
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
Aerobe mikroorganisme						
PCA	-	-	5	0	0	0
PCA	-	-	8	0	0	-
S. aureus						
BA	0	0	-	-	-	0
BP	0	0	-	-	-	0
Koliforme bakterier						
RVG	0	0	0	-	-	0
RVG	0	0	0	-	-	-

Tabel D.1: Kimtælling ved mikrobiologiske analyser.

Da antallet af kim på PCA-pladerne ikke lever op til kravet om 25-250 kim pr. plade, beregnes kimtallet som et estimat.

$$\text{Kimal (est.)} = \frac{\sum C}{\sum V} = \frac{5\text{kim} + 8\text{kim}}{2 \cdot 10^{-3}\text{mL}} = 6500\text{kim/mL} \approx 6,5 \cdot 10^3\text{kim/g. (est.)}$$

Der regnes et 95%'s konfidensinterval på estimatet:

$$\left[\text{Kimal} \pm 1,96 \cdot \frac{\sqrt{\sum C_i}}{\sum V_i} \right] = \left[6,5 \cdot 10^3\text{kim/g} \pm 1,96 \cdot \frac{\sqrt{5+8}}{2 \cdot 10^{-3}}\text{kim/g} \right]$$

$$= [2967\text{kim/g}; 10033\text{kim/g}] \approx [3,0 \cdot 10^3\text{kim/g}; 1,0 \cdot 10^4\text{kim/g}].$$

BILAG E

FEDTSTOFBESTEMMELSE

Mængden af fedtstof pr. 100g prøve bestemmes med formlen

$$\text{g fedt / 100g} = \frac{m_{\text{fedt}}}{m_{\text{prøve}}} \cdot 100.$$

Resultaterne af analysen og beregningerne kan ses i tabel E.1.

Prøve	$m_{\text{prøve}}$ (g)	m_{cup} (g)	$m_{\text{cup+fedt}}$ (g)	m_{fedt} (g)	m_{fedt} (g/100g prøve)	\bar{m}_{fedt} (g/100g prøve)	CV%
Cup 1	2,9483	85,3302	86,0905	0,7603	25,8	26,1	0,79%
Cup 2	3,1045	88,8342	89,6483	0,8141	26,2		
Cup 3	2,8120	85,0299	85,7628	0,7329	26,1		
Cup 4	3,0555	85,1069	85,9083	0,8014	26,2		

Tabel E.1: *Fedtbestemmelse*

BILAG F

PROTEINBESTEMMELSE

Først skal saltsyren indstilles på TRIS. Dette gøres ved hjælp af ligningen

$$c_{\text{HCl}} = \frac{m_{\text{TRIS}} \cdot 1000 \text{ mL/L}}{V_{\text{HCl}} \cdot 121,14 \text{ g/mol}}$$

Resultatet ses i tabel F.1.

m_{TRIS} (g)	V_{HCl} (mL)	$c_{\text{HCl, fort.}}$ (mol/L)	c_{HCl} (mol/L)	\bar{c}_{HCl} (mol/L)	CV%
0,2295	18,51	0,1024	0,512	0,511	0,23%
0,2407	19,42	0,1023	0,512		
0,2272	18,40	0,1019	0,510		

Tabel F.1: *Indstilling af 0,5M HCl*

Så skal NaOH'en indstilles på saltsyren (tabel F.2). Dette gøres med ligningen

$$c_{\text{NaOH}} = \frac{c_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}}}{V_{\text{NaOH}}}$$

V_{HCl} (mL)	V_{NaOH} (mL)	c_{NaOH} (mol/L)	\bar{c}_{NaOH} (mol/L)	CV%
20,0	19,50	0,524	0,525	0,20%
20,0	19,45	0,525		
20,0	19,42	0,526		
20,0	19,50	0,524		

Tabel F.2: *Indstilling af 0,5M NaOH*

Blindprøverne (saccharose) titreres, så mængden af forbrugt NaOH findes (tabel F.3).

Prøve	$m_{\text{prøve}}$ (g)	V_{NaOH} (mL)	\bar{V}_{NaOH} (mL)	CV%
Blind 1	0,1670	24,61	24,57	0,44%
Blind 2	0,2006	24,70		
Blind 3	0,1164	24,52		
Blind 4	0,1688	24,45		

Tabel F.3: *Titrering af protein-blindprøver (saccharose)*

Når prøver og kontroller er titreret, kan indholdet af nitrogen beregnes med formlen

$$\%N = \frac{(V_{\text{NaOH, blind}} - V_{\text{NaOH, prøve}}) \cdot c_{\text{NaOH}} \cdot 14,01}{1000 \text{ mL/L} \cdot m_{\text{prøve}}} \cdot 100.$$

Herefter kan resultatet ganges med en protein-faktor, så nitrogenindholdet omregnes til proteinindhold. Protein-faktoren findes i tabellen i Büchi 2007 under "Sausages" til 6,25. Altså:

$$\% \text{protein} = \text{g protein} / 100 \text{g} = \%N \cdot 6,25.$$

Titreringsresultater samt nitrogen- og proteinindhold kan ses i tabel F.4 på den følgende side.

Prøve	m _{prøve} (g)	V _{NaOH} (mL)	g N / 100g	g protein / 100g	Gennemsnit (g protein / 100g)	CV%	RF%
Kontrol 1	0,8325	11,92	11,18	69,8	73,9	4,89%	-3,91%
Kontrol 2	0,8252	11,12	12,0	74,9			
Kontrol 3	0,8250	10,78	12,3	76,8			
Kontrol 4	0,8311	-	-	-			
Prøve 1	1,5640	19,95	2,17	13,6	13,8	1,09%	-
Prøve 2	1,4382	20,21	2,23	13,9			
Prøve 3	1,5188	20,00	2,21	13,8			
Prøve 4	1,5522	19,92	2,20	13,8			

Tabel E4: *Titration af kontroller og prøver til proteinbestemmelse*

BILAG G

ASKE, TØRSTOF OG KULHYDRAT

Både aske og tørstof findes ved at bruge ligningen

$$m(\text{g}/100\text{g}) = \frac{m_{\text{aske/tørstof}}}{m_{\text{prøve}}} \cdot 100.$$

Aske

Vejningerne har givet resultaterne i tabel G.1.

m_{digel} (g)	$m_{\text{prøve}}$ (g)	$m_{\text{digel+prøve}}$ (g)	g. aske / 100g	Gennemsnit (g. aske / 100g)	CV%
28,7355	1,5923	28,8101	4,69	4,62	4,19 %
26,6683	1,9817	26,7384	4,40		
26,5771	2,1419	26,6531	4,77		

Tabel G.1: *Askeindhold*

Tørstof

Vejningerne har givet resultaterne i tabel G.2.

$m_{\text{skål}}$ (g)	$m_{\text{prøve}}$ (g)	$m_{\text{skål+prøve}}$ (g)	g. tørstof / 100g	Gennemsnit (g. tørstof / 100g)	CV%
83,6615	6,2088	86,6260	47,7	47,8	0,05 %
109,1317	6,6283	112,2957	47,7		
106,3207	5,9087	109,1440	47,8		

Tabel G.2: *Tørstofbestemmelse*

Kulhydrat

Kulhydratmængden bestemmes med

$$\begin{aligned} \text{kulhydrat} &= \text{tørstof} - (\text{protein} + \text{fedt} + \text{aske}). \\ &= 47,8\text{g}/100\text{g} - (13,8\text{g}/100\text{g} + 26,1\text{g}/100\text{g} + 4,62\text{g}/100\text{g}) \\ &= 3,28\text{g}/100\text{g}. \end{aligned}$$