



ET FORLØB OMKRING
FØDEVARER & MIKROBIOLOGI



Indhold

Introduktion

Side 4

Bakterier, gær og skimmel

Side 6

Introduktion til fermentering

Side 13

Hvad sker under fermentering?

Side 14

Mærkning af fødevarer: "Sidste anvendelsesdato" og "Bedst før"

Side 16

Mikroorganismers næringsbehov og vækstbetingelser

Side 19

Konservering af fødevarer

Side 20

Konservering af fødevarer – Eksempel på forsøg med biobeskyttende kulturer

Side 26

Mikrobiologiske undersøgelser

Side 31

Eksempler på selektive medier

Side 33

Mikroorganismer bliver synlige

Side 35

Vigtige teknikker ved pladespredning

Side 36

Inspiration til at arbejde med fødevaremikrobiologi, som en del af de fællesfaglige fokusområder

Side 48

Introduktion

Fødevarer og mikrobiologi

En forunderlig og spiselig mikroverden!

Har du nogensinde overvejet, at du hver dag spiser kæmpe mængder af baktier? Du ved med garanti allerede, at baktier kan gøre dig syg - og i slemme tilfælde slå dig ihjel! Og du har sikkert allerede prøvet at få en madforgiftning, hvor du har spist noget dårligt mad, og toilettet pludselig bliver din bedste ven. Men ved du også, at der findes utallige gode bakterier, som vi slet ikke kan undvære i vores mad. Ved du, at man kan bruge sin viden omkring bakterier og mikrobiologiske processer til f.eks. at forlænge holdbarheden på vores fødevarer, og dermed være med til at mindske madspild?

Et eksempel på sådan en mikrobiologisk proces er fermentering. Faktisk er en tredjedel af al den mad, vi spiser verden over fermenteret, og produktionen af fermenterede fødevarer udgør en af verdens største industrier. Oprindeligt blev fermentering primært brugt som en metode til at opbevare fødevarer i længere tid. Men siden da har man opdaget endnu flere gode egenskaber ved fermentering, som for eksempel at fremhæve smagsnuancer, ændre tekstur eller producere alkohol. Noma, som er en af Danmarks bedste restauranter, har f.eks. gjort sig til eksperter i at bruge fermentering i deres madlavning.

Du vil gennem dette materiale få et indblik i hele den mikrobiologiske verden, som er uløseligt knyttet til vores fødevarer. Du vil samtidig få en fornemmelse af, hvordan man arbejder med mad og biologi på højt universitetsniveau, og hvordan hele emnet har direkte indflydelse på din egen hverdag og madmæssige fremtid.

Og hvis du f.eks. drømmer om at blive stjernekok, forsker i fødevarer, eller smagsudvikler af nye spiselige produkter, så kommer du helt sikkert til at arbejde meget mere med indholdet i dette materiale.

Vi håber, at du vil med på rejsen helt ind i selv de mindste celler og vildeste processer - En rejse der for mange stadig er et ukendt territorium! Og vi håber, at du efterfølgende har fået et nyt perspektiv på og forståelse af madens og mikrobiologiens univers.

Sådan bruger du materialet

Materialet er bygget op, så du først og fremmest får en hel masse forskellige oplysninger og fakta omkring mikrobiologi og fødevarer. Det er samtidig meningen, at du efter arbejdet med emnet skal kunne bruge materialet som et teoretisk leksikon, hvor du altid kan gå tilbage og finde svar på de mange forskellige aspekter og sammenhænge, der er mellem mikrobiologien og det, vi spiser.

Vi har med vilje valgt at bruge et meget teoretisk sprog. Det sprog som vi "professionelle" selv bruger, når vi arbejder med emnet. Det kan fra en start virke lidt forvirrende, nørdet eller svært. Men det er efterfølgende med til at gøre dig endnu skarpere til selv at kunne beskrive og forklare de mange fagbegreber bedst muligt. Og samtidig giver det dig et indblik i, hvordan man kommunikerer på højt videnskabeligt niveau. Sidst men ikke mindst er det med til at gøre dig klar til at imponere din lærer og censor til den fællesfaglige naturfagseksamen.

Når du støder på begreber eller udtryk, som du ikke kender i forvejen, vil det være en rigtig god idé, at lave dit eget tilhørende opslagsværk, hvor du selv kort laver en lille beskrivelse af det, som du endnu ikke kendte til. Det kan gøres ved at søge hjælp på nettet, hos din lærer, i fagbøger etc. Det kan desuden være en fordel at gøre det i fællesskab med én eller flere klassekammerater, så I samtidig har mulighed for at øve jer i at forklare den nye viden for hinanden.

Supplerende materiale, opgaver og eksamen

For at du får mest muligt ud af arbejdet med dette emne, er der udover dette materiale 3 andre publikationer som er lavet af Fødevarestyrelsen. Her finder du ekstra information, sjove opgaver og gode illustrationer, som er med til at gøre dig til ekspert i fødevarebiologi.

De 3 publikationer er:

- Mad, hygiejne og mikroorganismer 1 (MHM1)
- Mad, hygiejne og mikroorganismer 2 (MHM2)
- Fakta om fødevarehygiejne – Bakterier (FFB)

Når du læser dig igennem dette materiale, vil der ved hvert kapitel komme forslag til, hvor du kan finde ekstra information i de 3 forskellige publikationer. Derudover vil der komme henvisninger til opgaver i publikationerne, som du kan løse undervejs. Det kan også være idéer til gode eksperimenter, I kan udføre sammen i klassen.

I indholdsfortegnelsen kan du altid danne dig overblik over de forskellige emner. så ved du præcis, hvor du skal slå op eller søge, hvis du

får brug for at vende tilbage eller har brug for inspiration til opgaver eller eksperimenter. Det kan f.eks. være i forbindelse med, at du skal lave en synopsis til de fællesfaglige fokusområder. Og ellers kan materialet naturligvis også bruges i forbindelse med forberedelse og repetition til eksamen.

Til slut i materialet vil der komme inspiration til, hvordan man kan bruge emnet omkring fødevare-mikrobiologi i forbindelse med et af de 6 obligatoriske fællesfaglige fokusområder, som danner udgangspunkt for eksamen i fysik/kemi, biologi og geografi i 9. klasse. Så når du arbejder med dette materiale, kan du med fordel løbende overveje, hvordan de forskellige emner, eksperimenter og opgaver i materialet, kan tænkes sammen med både fysik/kemi og geografiske perspektiver.

Nu skal du i gang - Glæd dig til at blive meget klogere på hele den mikrobiologiske verden, som hænger uløseligt sammen med al den mad, vi går og spiser til dagligt - Rigtig god arbejdslyst!

ISI FOOD PROTECTION

Hvem er vi?

Vi er en virksomhed, der arbejder med fødevaresikkerhed. Vi hjælper bl.a. fødevareindustrien med:

- at optimere fødevarers holdbarhed
- at minimere risikoen for sygdomsfremkaldende mikroorganismer
- udvikling af moderne madkonserver
- hvordan man bruger mikroorganismer til at opnå sikker og velsmagende mad

Bakterier, gær og skimmel

(Læs MHM2 side 3-4)

Prokaryoter og Eukaryoter

Cellestrukturer kan inddeles i to forskellige typer: Prokaryoter og Eukaryoter.

Bakterieceller hører under betegnelsen prokaryoter.

Gær og skimmel hører under eukaryoter.

Prokaryotiske celler er meget mindre og har en meget mere simpelt struktur end eukaryoter. En af forskellene er, at eukaryoters DNA ligger i en afgrænset cellekerne, mens prokaryoters DNA ikke gør.

Størrelse på gær, skimmel og bakterier

Gær- og skimmelceller kan have en diameter på 0,01 – 0,2 mm.

Bakterier er oftest meget mindre. Nogle bakterieceller har en diameter på 0,0002 mm, mens andre har en diameter på helt op til 0,7 mm. De fleste bakterier er mellem 0,0005 og 0,004 mm brede og mindre end 0,015 mm lange.

Bakteriers former

Bakterier kan vokse som kokker/kugler (engelsk: coccus), stave (engelsk: rods/bacillus). De kan også være skrueformede. Hos nogle bakterier kan man se på navnet, hvilken form cellerne har. For eksempel er bakterien *Lactococcus* kugleformet og *Lactobacillus* stavformet. Bakterier kan også vokse som diplokokker (to kokker/kugler sammen), staphylococcer (mange kokker sammen) og kæder af bacillus.

Nogle bakterier er også bevægelige. De bevæger sig ved hjælp af flageller. Flageller er lange tynde proteinstrukturer, som sidder fast som en "hale" på bakteriecellen. Det er en lille "hale", som roterer som en motor og gør dem i stand til at svømme gennem en væske.

Nedenfor ser du billeder af flageller, og hvor de kan være placeret på en bakteriecelle.

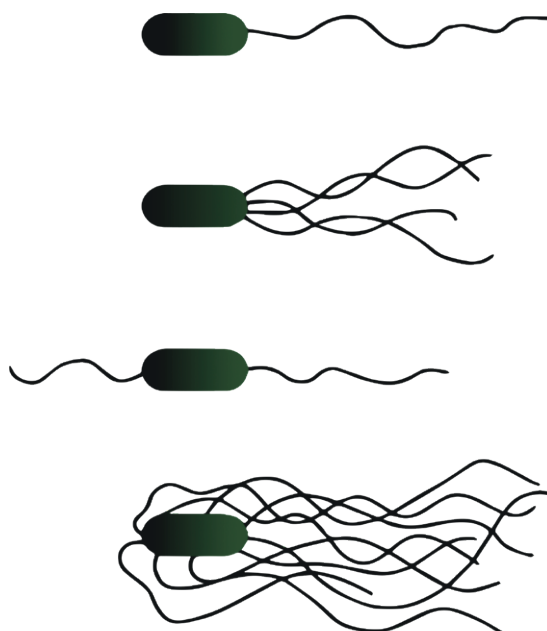
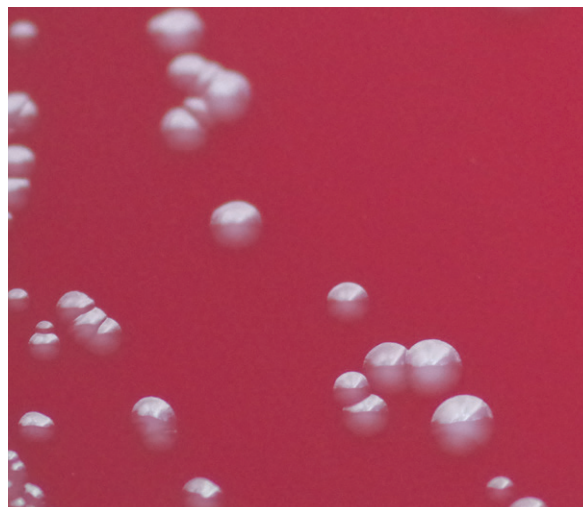
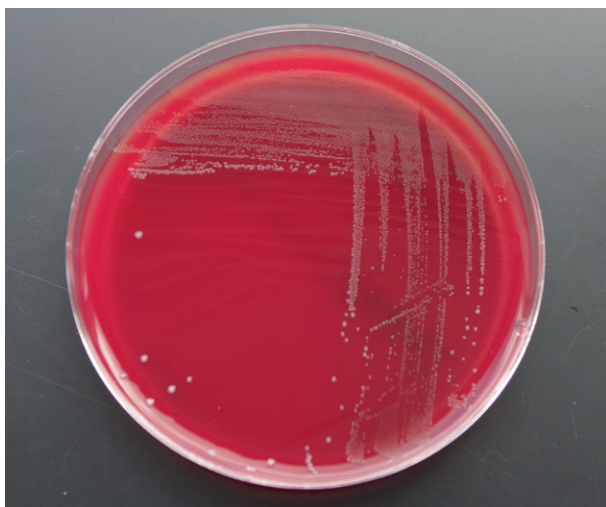


Illustration af flageller og de forskellige positioner de kan have på bakteriecellen.

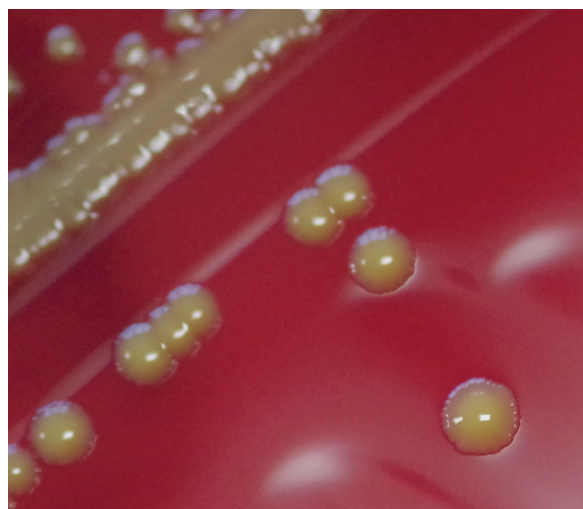
Bakterier, gær og skimmel i laboratoriet

På de næste sider kan du se billeder af bakterier, gær og skimmel.

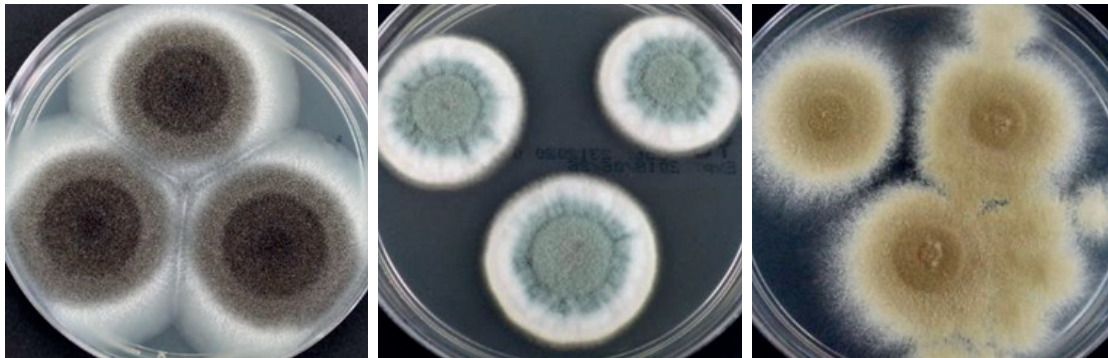
De første billeder viser, hvordan gær, skimmel og bakterier ser ud, når de vokser på kontaktplader i laboratoriet. Bemærk hvordan de forskellige bakterier kan have forskellig farve, størrelse og form på pladerne. Det samme gælder for gær og skimmel.



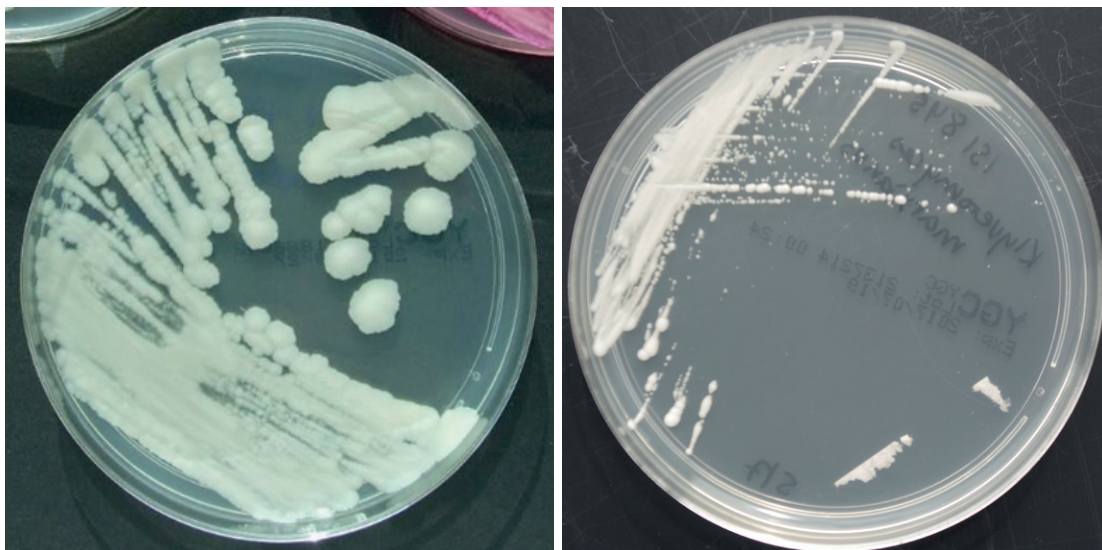
Eksempel på bakterievækst på plade. Billedet viser mælkesyrebakterien *Lactococcus lactis*. Forskellige bakterier vil give forskellige størrelser, form og farve (muligvis også lugt), når de kommer ud på en agarplade. Billederne er fra ISI-FP's eget arkiv.



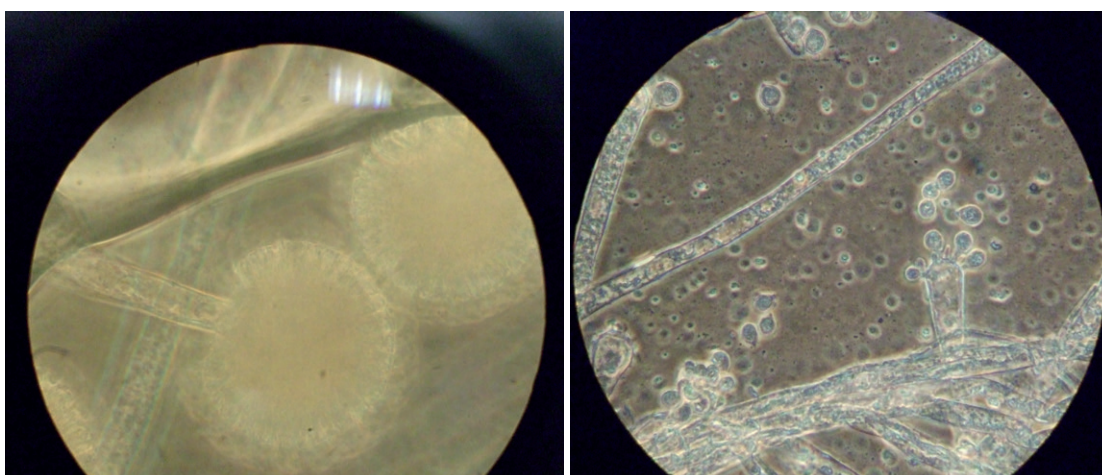
Eksempel på bakterievækst på agarplade. Billedet viser vækst af *Microbacterium testaceum*. Forskellige bakterier vil give forskellige størrelser, form og farve (muligvis også lugt), når de kommer ud på en agarplade. Billederne er fra ISI-FP's eget arkiv.



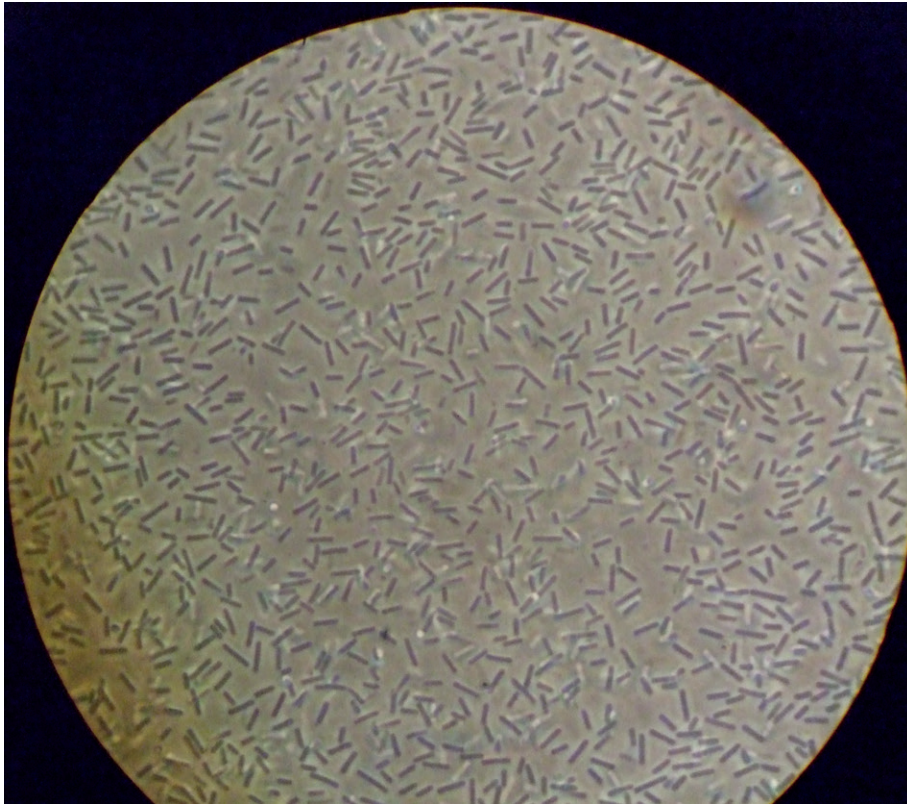
Billeder af tre forskellige skimmeler. Billederne er fra ISI-FP's eget arkiv.



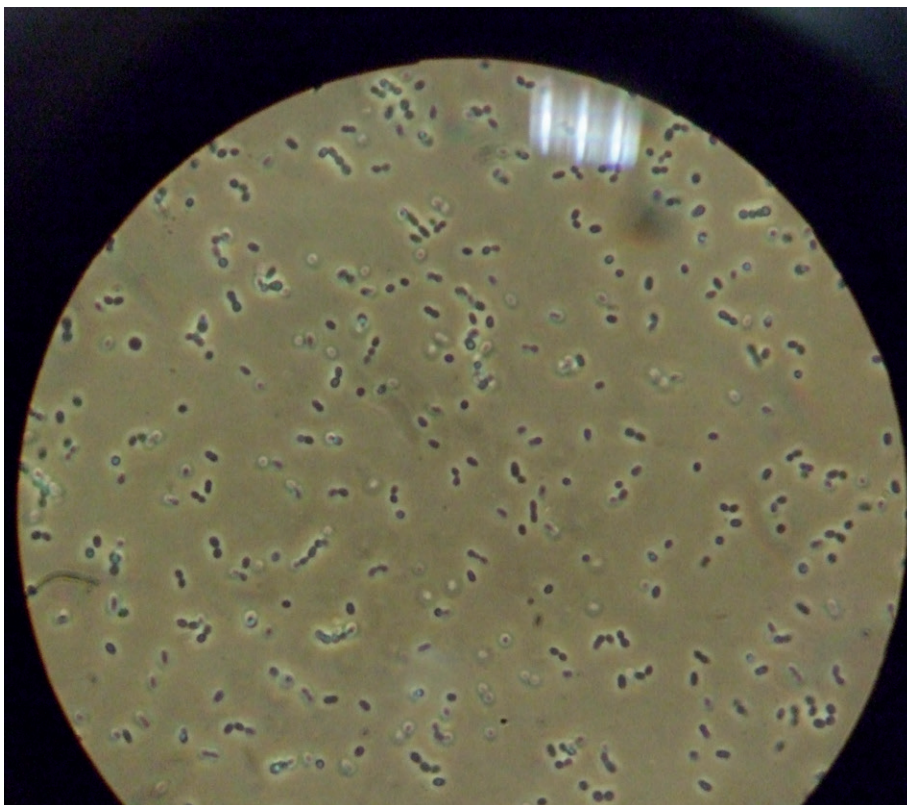
Billeder af to forskellige slags gær. Billederne er fra ISI-FP's eget arkiv.



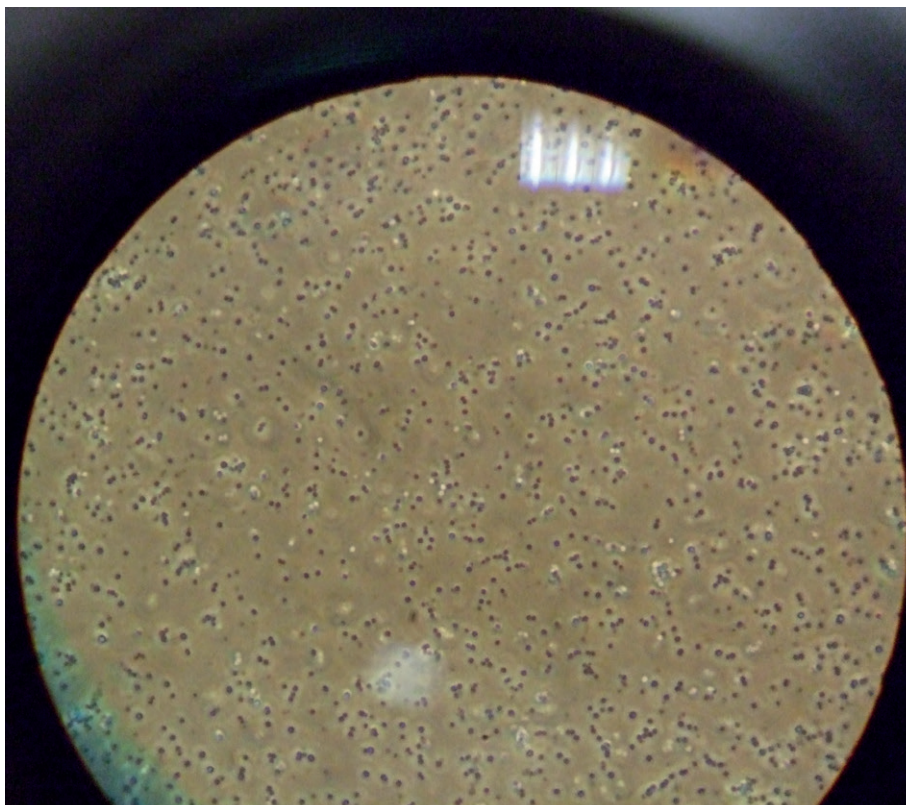
Mikroskopibilleder af to forskellige skimmeler. De lange "grene" kaldes for hyfer, mens de små omkringliggende kugler kaldes for sporer. Billederne er fra ISI-FP's eget arkiv.



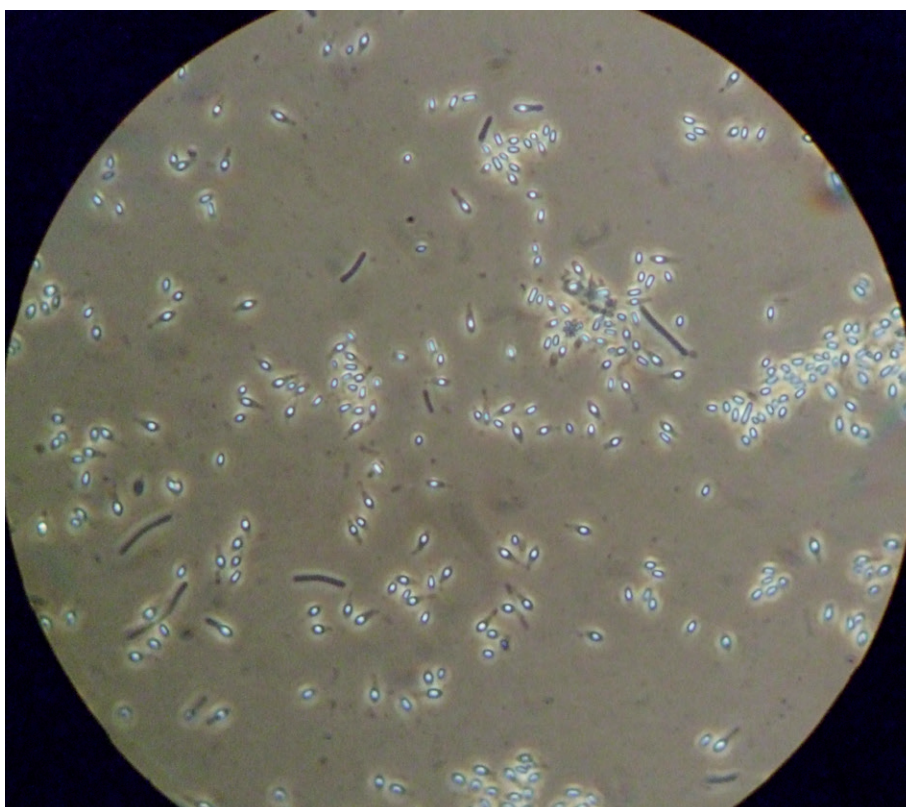
Mikroskopibillede (x 100 forstørrelse) af en stavformet bakterie. Billedet er fra ISI-FP's eget arkiv.



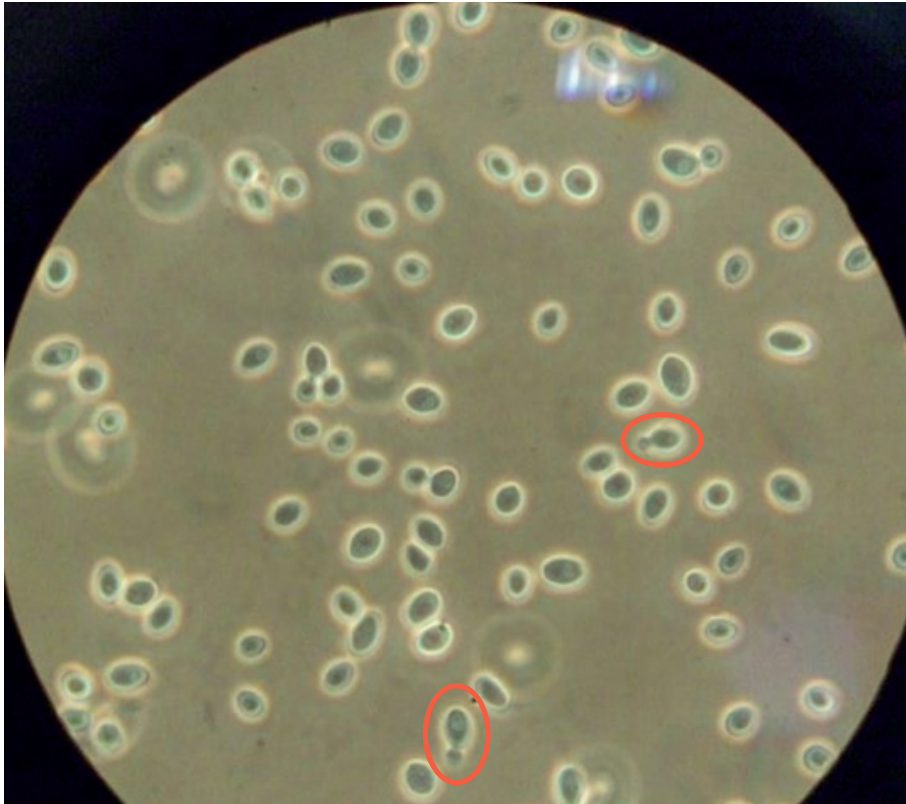
Mikroskopibillede (x 100 forstørrelse) af den kugleformede bakterie *Lactococcus lactis*. Bemærk, at formen også fremgår af "coccus" i bakteriens navn. *Lactococcus lactis* lægger sig ofte i kæder af kugleformede bakterier. Billedet er fra ISI-FP's eget arkiv.



Mikroskopibillede (x 100 forstørrelse) af den kugleformede bakterie *Staphylococcus aureus*. Bemærk at formen også fremgår af "coccus" i bakteriens navn. Billedet er fra ISI-FP's eget arkiv.



Mikroskopibillede (x 100 forstørrelse) af en sporedannende bakterie. De hvide prikker er sporer. Billedet er fra ISI-FP's eget arkiv.



Mikroskopibillede (x 100 forstørrelse) af gærceller. Bemærk, hvor meget større gærcellerne er i forhold til bakteriecellerne på de foregående billeder. Læg også mærke til at et par af gærcellerne er ved at knopskyde/formere sig (markeret med cirkel). Billedet er fra ISI-FP's eget arkiv.

Hvor findes mikroorganismer, og hvordan kommer de i maden? Læs MHM1 s. 12

Opfølgende opgaver

01 Se på gær i mikroskop – MHM2 side 21

02 Mikroorganismer bliver synlige (undersøgelse vha. kontaktplader) - MHM 2, side 19

03 Mikroorganismer i mad

Forbind fødevarerne nedenfor med det rigtige antal af mikroorganismer per gram til venstre

300.000.000 (3×10^8) per gram

500 (5×10^2) per gram

20.000 (2×10^4) per gram

1.000.000.000 (1×10^9) per gram

< 10 per gram

100 (1×10^2) per gram

50.000.000 (5×10^7) per gram

7.000 (7×10^3) per gram



Bonusspørgsmål: Hvad tror du?

Hvor mange bakterier om dagen anbefales vi at spise? _____ 

Hvor mange bakterier indtager en gennemsnitlig europæer om dagen? _____ 

Hvor mange bakterier indtager en gennemsnitlig amerikaner om dagen? _____ 

Introduktion

Fermentering

(Læs MHM1: side 14 + MHM2: side 5)

Fermentering: en anaerob process

Fermentering er en proces, der foregår anaerobt, dvs. uden ilt.

Under fermenteringen bruges mikroorganismer og deres enzymer til at opnå ønskede egenskaber i fødevarer.

Fermentering kan forbedre kvaliteten

Med fermentering kan maden opnå:

- en bestemt smag og konsistens
- en øget næringsværdi
- flere vitaminer
- længere holdbarhed

Maden opnår en øget næringsværdi, fordi fedt, proteiner og kulhydrater bliver nedbrudt, så de lettere kan fordøjes og optages i kroppen.

Nogle mikroorganismer kan også producere vitaminer under fermentering.

Derudover øger fermentering fødevarers holdbarhed. Hvis fermenteringen er kontrolleret, kan den også øge fødevarens sikkerhed.

Hvilke mikroorganismer kan fermentere?

Bakterier, gær og skimmel kan fermentere. Gærceller anvendes i alkoholfermentering til produktion af alkohol. Mælkesyrebakterier anvendes i mælkesyrefermentering, hvor der dannes mælkesyre, ethanol, carbondioxid og smagfulde stoffer. Alkohol- og mælkesyrefermenteringer er de mest almindelige.

Det er sjældent, at det kun er én bakterieart eller gærart, som står for fermenteringen. Oftest vil flere mikroorganismer være til stede enten på samme tid eller i forlængelse af hinanden. Hver mikroorganisme bidrager med sit helt eget præg til fermenteringen.

Forskellige slags fermenteringer

En fermentering beskrives ud fra de produkter som dannes.

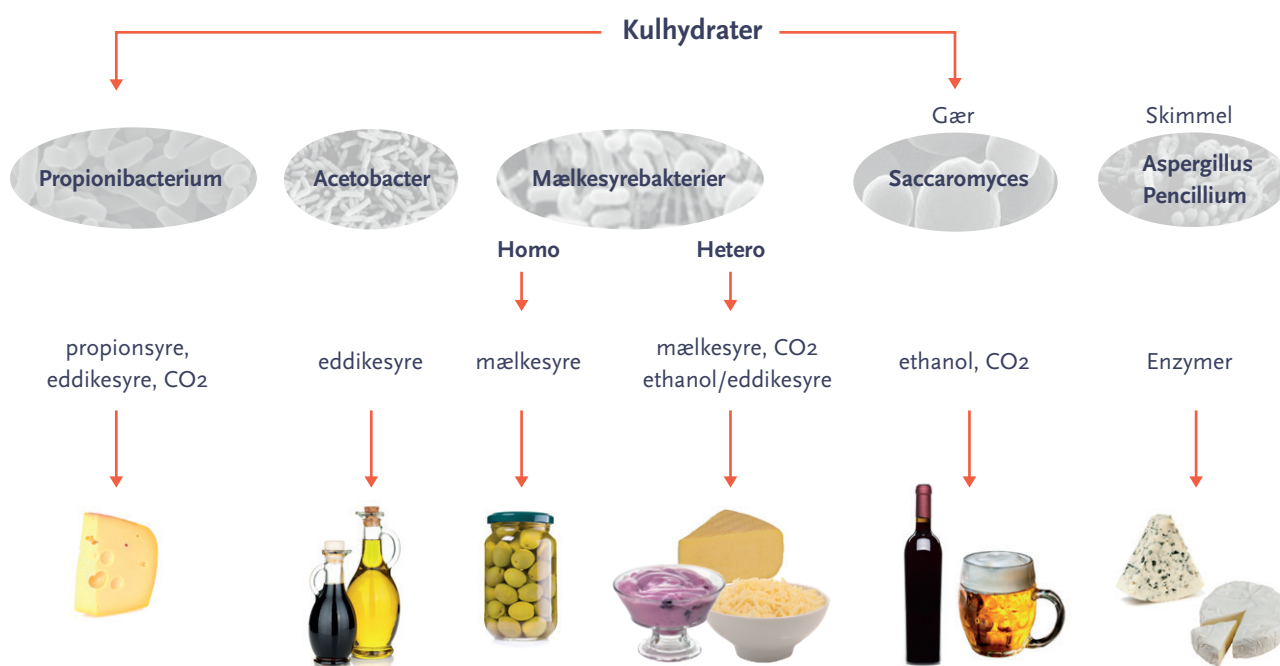
For eksempel dannes der hovedsageligt mælkesyre under en mælkesyre-fermentering, alkohol under en alkoholisk fermentering, eddike under en eddikesyre-fermentering.

Fælles for alle fermenteringer er, at startproduktet er kulhydrater.

Nogle mikroorganismer kan fermentere simple kulhydrater som glukose, mens andre (f.eks. øl/vin/bagegær) kan fermentere mere komplekse kulhydrater som sukrose (alm. køkkensukker). Skimmel kan ikke omdanne kulhydrat til andre biprodukter, men skaber derimod en række enzymatiske reaktioner, som ændrer fødevarens kvalitet. Reaktioner kaldes enzymatiske, når der er enzymer, som fremmer dannelsen af produktet.

Hvad sker under fermentering?

Fødevarerelevante fermenteringer



I figuren ses eksempler på forskellige fermenteringer, hvilke mikroorganismer der styrer dem, og hvilke produkter de typisk findes i.

I figuren er det vist, at mælkesyrebakterier kan deltage i to forskellige fermenteringsprocesser, som kaldes homofermentativ og heterofermentativ. Fermenteringsprodukterne er ikke helt ens i de to processer.

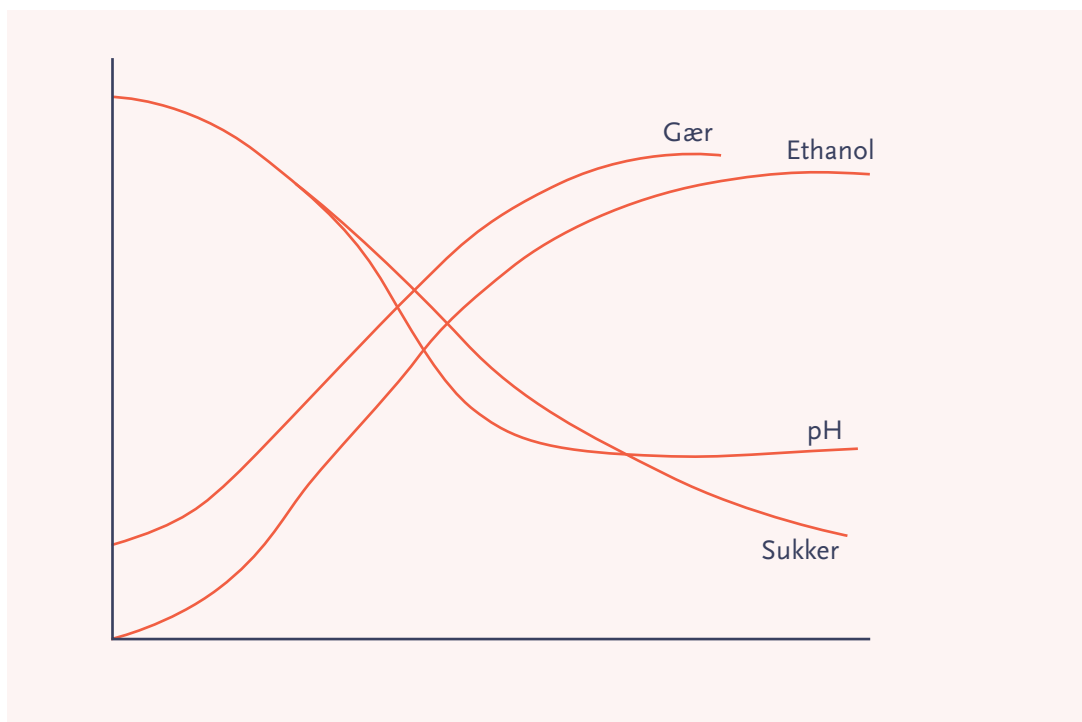
Alkoholisk fermentering

Under den alkoholiske fermentering omdannes et sukker molekyle til to molekyler af ethanol (alkohol) og CO₂:



Til langt de fleste alkoholiske fermenteringer og brødprodukter bruges gæren *Saccharomyces cerevisiae* (sukkersvamp), som er en af de gærarter, der er mest tolerant over for høje mængder af syre, alkohol og CO₂.

Eksempel på en klassisk fermenteringskurve ses nedenfor:



Under en normal fermentering vokser niveauet af gæren fra ca. 1.000.000 gærceller per gram til 100.000.000 gærceller per gram. Samtidig falder sukkerniveauet og pH, mens indholdet af alkohol og CO₂ stiger.

Naturlige og kontrollerede fermenteringer

Der tales ofte om "naturlige fermenteringer". Dette begreb dækker over fermenteringer, hvor der ikke er tilsat en starterkultur. En starterkultur er typisk en blanding af mælkesyrebakterier eller gær. Når man tilsætter en starterkultur til sin fermentering, ved man præcis, hvilket slutprodukt man får!

Når der ikke tilsættes en starterkultur, vil fermenteringen blive kontrolleret af de bakterier, som er naturligt til stede på den råvare, man vil fermentere.

Argumentationerne for at bruge naturlige fermenteringer er, at smagen bliver mere

"egnsspecifik" og forskellig fra gang til gang. Ulempen ved en naturlig fermentering er dog netop, at den ikke er kontrolleret! Selv om det vrirler med gode mikroorganismer, findes der også dårlige mikroorganismer, som er i stand til at fermentere og i værste fald gøre os syge.

Det vil sige, at sikkerheden ved en naturlig fermentering ikke er lige så høj som sikkerheden ved en kontrolleret fermentering. Derudover, er der mange mikroorganismer, som kan danne slim og andre uønskede egenskaber som dårlig smag og lugt, som kan ødelægge fermenteringen.

Mærkning af fødevarer: "Sidste anvendelsesdato" og "Bedst før"

Sidste anvendelsesdato

Sidste anvendelsesdato anvendes til letfordærlige fødevarer, som efter udløb af anvendelsesdatoen kan udgøre en sundhedsrisiko for forbrugeren. Derfor skal sådan en fødevare altid smides ud. Dette inkluderer f.eks. kød- og fiskeprodukter.

Bedst før

"Bedst før" anvendes til ikke letfordærlige fødevarer, som ikke umiddelbart udgør en sundhedsrisiko hvis de indtages efter overskredet dato. Frem til "Bedst-før" datoen garanterer producenten, at fødevaren bevarer sin oprindelige kvalitet. Ofte kan fødevaren dog stadig spises – og her er det vigtigt at bruge sine sanser.

Mikrobiologisk fordærv

Mikrobiologisk fordærv, som ikke er synlig, kan være subjektiv: det som for en person er fordærvet kan sagtens være spiseligt for en anden. Nogen vil for eksempel mene, at en overmoden ost er fordærvet og skal smides ud, mens en anden kun synes den er blevet bedre med alderen. Generelt for mikrobiologisk fordærv er, at det pludseligt bliver synligt: fra den ene dag til den anden kan der pludselig være kommet skimmel på overfladen, slimproduktion, dårlig smag, lugt eller klumper.

Dette er blandt andet fordi:



De fordærvende mikroorganismer typisk skal vokse til mere end 1.000.000 celler per gram, før fødevaren er synligt fordærvet eller smager dårligt



Alle aromaer, som giver dårlig (og god) lugt og smag, har en tærskelværdi. Så længe aromastofferne er under tærskelværdien, kan man hverken smage eller lugte noget. Men så snart niveauet i fødevaren har passeret tærskelværdien, vil fødevaren fremstå som fordærvet. Og dette kan ske fra den ene dag til den anden.

Supplerende materiale

Hvis du har lyst til at vide mere om mærkning af fødevarer, **kan du finde information her.**

Opfølgende opgaver

1 Har du styr på fermentering?

Besvar følgende spørgsmål:

1. Hvor mange fermenterede fødevarer kender du? (Prøv først at besvare dette uden at bruge internettet)
2. Hvor mange forskellige fermenterede fødevarer kan du finde? Brug gerne internettet.
3. Udvælg 3 – 5 fermenterede fødevarer og beskriv, hvilken slags fermentering der er brugt. Er der brugt gær, skimmel eller bakterier eller en blanding? Se, om du kan finde navnene på de mikroorganismer, som er brugt.
4. Hvad sker der under en fermentering?
5. Hvad er forskellen på en naturlig og en kontrolleret fermentering, og hvad skal man være opmærksom på, når man laver en naturlig fermentering?

2 Fermenterings-projekt

Dette er en gruppeopgave, som kan laves forud for et skolebesøg hos ISI Food Protection. Jeres lærer vil give jer vejledning og instrukser omkring projektet. Men du kan også prøve kræfter med fermentering derhjemme. Der findes mange superlækre og nemme opskrifter på nettet. Har du f.eks. nogensinde lavet Kimchi, som er nationalret i Korea - Det smager genialt!

3 Mærkning af fødevarer: "Sidste anvendelsesdato" og "Bedst før"

Besvar følgende spørgsmål:

1. Hvilke fødevarer er typisk mærket med "Sidste anvendelsesdato" - og er det en god idé at spise disse, når datoen er overskredet? Hvorfor?
2. Hvilke fødevarer er typisk mærket med "Bedst før" - og er det en god idé at spise disse, når datoen er overskredet? Hvorfor?

Undersøg dit køleskab derhjemme:

3. Hvilke fødevarer er mærket med "Sidste anvendelsesdato", og hvilke er mærket "Bedst før?"

Kom med eksempler herunder:

4. Er der nogen fødevarer, der har overskredet anvendelsesdatoen/bedst før dato?

Hvis ja, hvilke?

5. Hvad gør I hjemme hos dig med dato-overskredne fødevarer?

4

Sygdomsfremkaldende bakterier: 3 cases. Hvad gik galt? - MHM 2, side 26-27

Mikroorganismers næringsbehov og vækstbetingelser

(Læs MHM 1: side. 17 + MHM 2: side. 9 – 10)

Fødevarens indre og ydre faktorer

Udover vigtige næringsstoffer, spiller fødevarens indre og ydre faktorer en vigtig rolle for væksten af mikroorganismer!

De indre faktorer er fødevarens fysiske og kemiske egenskaber, som for eksempel:

Næringsstoffer

Vandaktivitet (a_w):

Vandaktiviteten er et udtryk for, hvor meget frit tilgængeligt/ikke-bundet vand der er i fødevaren. Rent vand har en vandaktivitet på 1,000. Jo mere tilgængeligt vand der er, jo højere er vandaktiviteten og des bedre er vækstbetingelserne for mikroorganismer.

Vandaktiviteten påvirkes af alle komponenter, som binder vand. I fødevarer er det hovedsageligt salt og sukker, der binder vand.

Lav vandaktivitet kan også opnås ved at fjerne vandet fra fødevaren, ved for eksempel bagning og tørring.

pH:

Mængden af syre i fødevaren har stor indflydelse på, hvor hurtigt mikroorganismer kan vokse.

Konserveringsstoffer/antimikrobielle stoffer

De ydre faktorer beskriver, hvordan fødevaren er pakket og opbevaret. Det vil sige:

Temperatur

Ilt:

aerobt (med ilt)

anaerobt (uden ilt)

vakuum = uden ilt

MAP = modificeret atmosfære pakning = en blanding af gasarter i pakningen, typisk en blanding af CO₂ og N₂

Konservering af fødevarer

(Læs supplerende i MHM 2: side 29 – 38 + evt. side 47 – 58)

Introduktion

Konservering kan øge holdbarheden på fødevarer. Nogle fødevarer behøver ikke blive konserveret særlig meget, fordi deres pH og vandaktivitet i sig selv udelukker vækst af patogener og fordærvere.

I forhold til konservering er det vigtigt at understrege at:

1. En konserveret fødevarer som regel ikke er steril!

Det vil sige, at der stadig er mikroorganismer tilstede, men i acceptable niveauer.

2. Konservering af fødevarer betyder ikke, at intet kan vokse i fødevarer!

Konserveringen gør vækst umulig for nogen mikroorganismer, mens væksten for andre bliver markant langsommere. Konservering sørger dermed for, at de tilstedeværende mikroorganismer ikke kan vokse til kritiske niveauer i løbet af holdbarhedsperioden.

3. Konservering kan ikke erstatte god køkkenhygiejne!

Konservering hæmmer vækst og sikrer fødevarsikkerhed og fødevarerholdbarhed, så længe fødevarer opbevares og behandles korrekt! Det er derfor meget vigtigt, at en kølevarer opbevares på køl, og at frostvarer

ikke optøs ved stuetemperatur. Der må ikke komme uønskede mikroorganismer fra omgivelserne ned i fødevarer. Mikroorganismer må heller ikke komme fra fødevarer over på andre fødevarer.

Derfor:

- Vask hænder grundigt og ofte
- Arbejdet udføres på rene overflader
- Urter og grøntsager vaskes omhyggeligt af for jord
- Kød og grøntsager holdes adskilte. Det gælder ved rå og tilberedt tilstand
- Kølevarer opbevares på køl
- Frostvarer optøs ikke ved stuetemperatur

Valg af konserveringsform og brug af hurdle-teknik

Det er sjældent at kun én enkelt konserveringsform bruges. Hvis en fødevarer skulle stabiliseres udelukkende vha. salt eller syre, ville den blive uspiselig!

Ved at kombinere forskellige konserveringsformer, er det muligt at bruge mindre og dermed påvirke fødevarerens kvalitet i mindre grad. Denne teknik kaldes for hurdle-teknik (se illustration nedenfor). Bemærk at hurdle betyder forhindring.

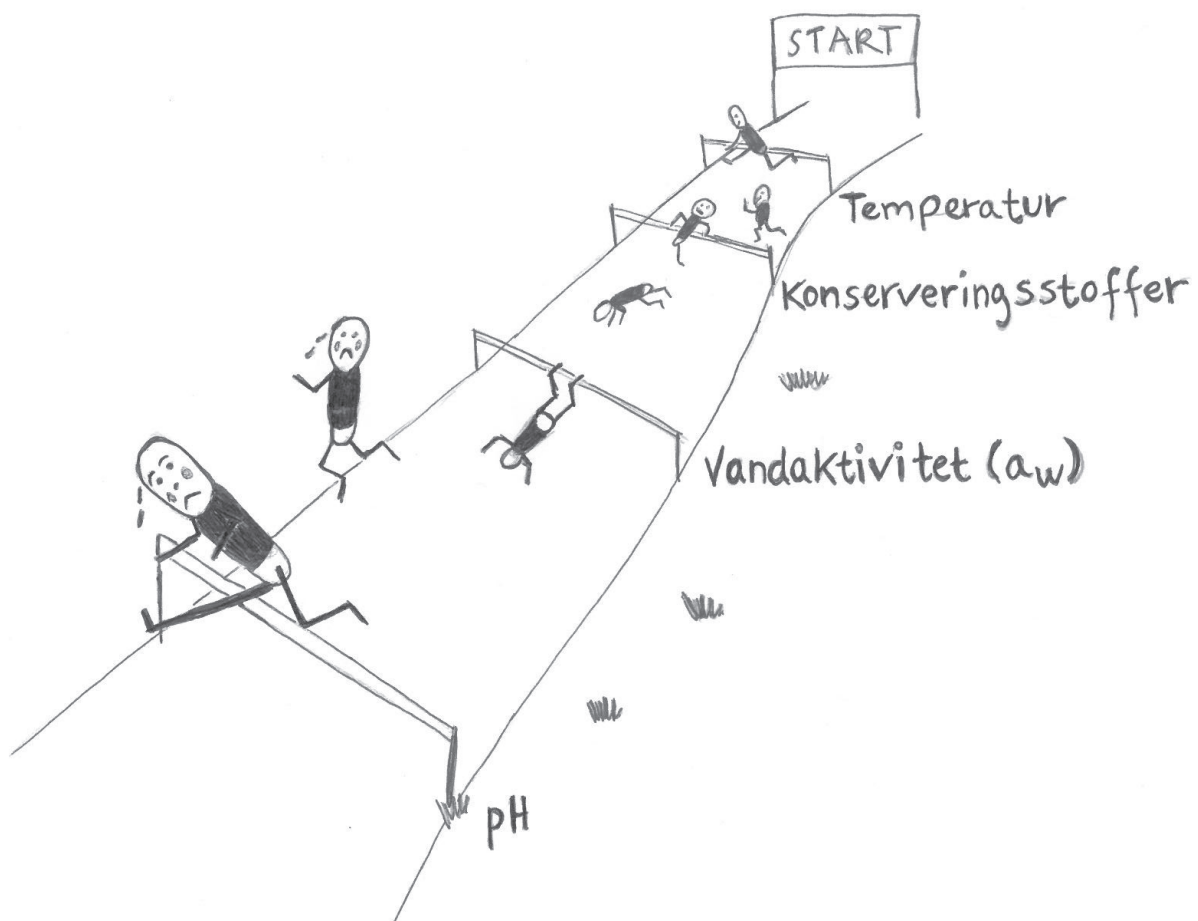


Illustration af hurdle-teknikken brugt inden for konservering. I stedet for at bruge meget af én konserveringsform, benytter man flere i kombination med hinanden. På den måde giver man mikroorganismerne mange små forhindringer (= hurdles) i stedet for én stor.

Fødevarer typen og forventet holdbarhed afgør valg af konserveringsform. Nogle fødevarer kan tåle varmebehandling, mens andre bliver ødelagte af det. Konserveringsformen afhænger også af, hvilke mikroorganismer der skal uskadeliggøres. I nogle fødevarer er det nok at konservere for at hæmme væksten af fordærvende mikroorganismer. Det vil sige, at de gerne må være der, men de må ikke vokse for meget under holdbarhedsperioden.

I andre fødevarer kan der til gengæld være risiko for vækst af patogene bakterier, som er så farlige, at de absolut ikke må være til stede!

Det er bedst, hvis fødevarer kan konserveres så lidt som muligt, både for at spare tid og penge, og for at undgå at ændre fødevarens kvalitet for meget. Derfor er det vigtigt med god hygiejne – også hjemme i køkkenet.

Eksempler på anvendte konserveringsformer

Nogle af de mest anvendte konserveringsformer er listet herunder. Der forskes dog hele tiden i andre, mildere og mere naturlige konserveringsformer.

De mest anvendte konserveringsformer er:

- Varmebehandling
- Nedkøling/frysning
- Konserverings/tilsætningsstoffer (E-numre)
- Tørring
- Syltning (med salt og sukker)
- Røgning
- Indpakning
- Bestråling
- Planteekstrakter og andre essentielle olier
- Fermentering og brug af biobeskyttende kulturer (se næste kapitel for mere information om biobeskyttende kulturer)

Varmebehandling

Når fødevarer bliver varmebehandlet, bliver nogen af de tilstedeværende mikroorganismer slået ihjel. Hvilken form for varmebehandling, der benyttes, afhænger af det enkelte produkt, den ønskede holdbarhed, opbevaringstemperaturen under holdbarhedsperioden, og af hvilke mikroorganismer der ønskes slået ihjel.

For eksempel kræver konserveresmad med høj pH og lang holdbarhed ved stuetemperatur en hårdere varmebehandling end en mælk, som har en holdbarhed på 10 dage på køl.

Desuden er nogen mikroorganismer mere følsomme over for varme end andre. De fleste mikroorganismer bliver slået ihjel ved temperaturer omkring 60 – 80 °C. Nogle mikroorganismer, og især sporer, er særligt varmeresistente og kræver derfor temperaturer helt op mod 120 °C. En generel guideline til varmebehandling af fødevarer er:

- > 70 °C i 2 minutter (eller tilsvarende) til kølevarer med en holdbarhed på op til 10 dage
- > 90 °C i 10 minutter til kølevarer med en holdbarhed på over 10 dage
- > 121 °C i 2.5 minutter for fødevarer med en lang holdbarhed ved stuetemperatur

Pasteurisering

Et eksempel på en varmebehandling er pasteurisering. Pasteurisering bruges til en lang række fødevarer, for eksempel mælk, juice og æg. Under en pasteurisering bliver fødevarer typisk varmebehandlet ved 60 – 80 °C i op til et par minutter. Formålet er at slå patogene bakterier ihjel som *Listeria* og *Salmonella*.

Botulinum cook

Nogle gange er en pasteurisering ikke nok. I konserveresmad med pH over 4,5 er risiko-organismen *Clostridium botulinum*. *C. botulinum*, som kan give pølseforgiftning. Den fjernes ved varmebehandling ved 121 °C i 3 minutter. Behandlingen kaldes Botulinum cook.

Frysning

Frysning er en god løsning til langtidskonservering af fødevarer. Under frysning bliver næringsværdien i fødevarer stort set bevaret, mens tekstur og udseende ikke ændres markant. Under frysning bliver nogen mikroorganismer slået ihjel, mens andre bare stopper med at vokse. Især sporer vil overleve frysning. Derfor er det vigtigt at frosne fødevarer ikke bliver optøet ved stuetemperatur. Hvis optøning foregår ved stuetemperatur, kan det give optimale vækstforhold for de mikroorganismer, som overlevede frysning. Optøning af frosne varer skal foregå i køleskab, eller ved at lade den frosne emballage ligge i en skål med koldt vand, hvilket øger optøningshastigheden.

Konserveringsstoffer

Konserveringsstoffer kan enten slå mikroorganismer ihjel eller hæmme/forsinke deres vækst. Om mikroorganismerne bliver hæmmet eller slået ihjel, er ofte et spørgsmål om, hvor meget af konserveringsstoffet der tilsættes. De niveauer, som er tilladte i fødevarer, vil ofte kun hæmme væksten.

Lovgivning omkring konserveringsstoffer

Det er vigtigt at huske på, at alle konserveringsstoffer er godkendte og regulerede i forhold til, hvor meget der må tilsættes af dem og i hvilke fødevarer de må tilsættes.

De europæiske regler for konserveringsstoffer kan findes på følgende link:

https://webgate.ec.europa.eu/foods_system/main/index.cfm

Under fanen "Additives" er det muligt at søge på konserveringsstoffets E-nummer eller navn (Skal være på engelsk), og få oplysninger om de tilladte værdier af konserveringsstoffet i EU.

Organiske syrer

De konserveringsstoffer, der som regel tilsættes for at hæmme vækst af mikroorganismer i fødevarer, hører under gruppen af organiske syrer.

Nedenfor er angivet eksempler på nogle af de mest anvendte organiske syrer i fødevarer og deres tilsvarende E-numre:

Syre	E-nummer
Propionic acid (propionsyre)	E280
Sorbic acid (sorbinsyre)	E200
Acetic acid (eddikesyre)	E260
Benzoic acid (benzoesyre)	E210
Lactic acid (mælkesyre)	E270
Citric acid (citrinsyre)	E330
Phosphoric acid (fosforsyre)	E338

Effektivitet og pKa-værdier

Når organiske syrer bruges til konservering, er fødevarens pH altafgørende for, hvor meget der skal tilsættes, og hvor effektiv den organiske syre er.

Effektiviteten af en organisk syre afhænger af fødevarens pH-værdi og syrens pKa-værdi.

pKa-værdien angiver den pH, hvor 50 % af syren findes på ikke-dissocieret form. I forbindelse med konservering, er det den ikke-dissocierede form af syren, som er interessant.

Det er nemlig den form, som kan trænge igennem mikroorganismernes cellemembran og dermed give konserveringsstoffets hæmmende effekt.

Organiske syrer er mest effektive som konserveringsstoffer, når fødevaren har en pH-værdi under syrens pKa-værdi. Når pH-værdien bliver lavere end pKa-værdien på 4,8, vil der være mere af den ikke-dissocierede syre end den dissocierede.

Eksempler på de mest anvendte organiske syrer og deres pKa-værdier er vist nedenfor:

Syre	pKa
Propionic acid (propionsyre)	4,87
Sorbic acid (sorbinsyre)	4,75
Acetic acid (eddikesyre)	4,75
Benzoic acid (benzoesyre)	4,19
Lactic acid (mælkesyre)	3,86
Citric acid (citrinsyre)	3,14
Phosphoric acid (fosforsyre)	2,16

Som det kan ses fra tabellen med organiske syrer, så har stærke syrer som fosforsyre en lav pKa-værdi, mens svage syrer som for eksempel propionsyre og eddikesyre har højere pKa-værdier.

Derfor er de stærke syrer mest effektive i fødevarer med lav pH, mens svage syrer er effektive i fødevarer med knap så lav pH.

Som det også kan ses fra tabellen, har de fleste organiske syrer pKa-værdier under 5,0. I fødevarer, hvor pH-værdien er over 5,5 er det derfor svært at finde organiske syrer, som er effektive ved lave koncentrationer.

Valg af organiske syrer

Når en organisk syre skal bruges som konserveringsstof, er det en god tommelfingerregel at vælge en syre med en pKa-værdi $\pm 0,5$ i forhold til fødevarens pH-værdi.

Derudover er det også vigtigt at forholde sig til, hvilke mikroorganismer der skal hæmmes, da ikke alle organiske syrer er lige effektive mod alle mikroorganismer. For eksempel er benzoesyre mere effektiv over for gær og skimmel, mens sorbinsyre også er effektiv mod en del bakterier.

Andre konserveringsformer

I tabellen nedenfor er virkningsmekanismerne bag andre anvendte konserveringsformer beskrevet:

Konserveringsform	Virkningsmekanisme
Tørring	Fordamper vandet i fødevaren og sænker dermed vandaktiviteten.
Syltning med salt og sukker	Salt og sukker binder frit tilgængeligt vand i fødevaren og gør det utilgængeligt for mikroorganismene. Syltning sænker dermed fødevarens vandaktivitet.
Røgning	Røg udtørre fødevarens overflade og sænker dermed vandaktiviteten. Derudover indeholder røg nogle kemiske stoffer kaldet fenoler og formaldehyder som er giftige for nogle mikroorganismer.
Indpakning	Pakning af fødevarer kan være aerob eller anaerob. Anaerob pakning kan enten være vakuumpakning eller modificeret atmosfære pakning (MAP), hvor en blanding af CO ₂ og N ₂ normalt bruges. Ved at pakke anaerobt udelukkes vækst af mikroorganismer, som kræver ilt for at vokse og mange andre mikroorganismer vil også vokse langsommere uden ilt. Derudover har CO ₂ i sig selv en hæmmende effekt på mikroorganismer.
Bestråling	Bestråling dræber mikroorganismene i fødevaren.
Planteekstrakter og andre essentielle olier	Indeholder komponenter, som er giftige over for nogle typer af mikroorganismer.

Konservering af fødevarer – Eksempel på forsøg med biobeskyttende kulturer

Hvad er en biobeskyttende kultur?

En biobeskyttende kultur er en kultur bestående af mælkesyrebakterier. Den biobeskyttende kultur tilsættes i høje mængder til fødevaren, så den dominerer over de andre mikroorganismer som er til stede.

Der findes mange forskellige biobeskyttende kulturer.

Hvad er fordelene ved at bruge en biobeskyttende kultur?

Når den biobeskyttende kultur dominerer, vil den udkonkurrere både patogener og fordærvere. Det vil sige, at den bidrager til sikkerheden.

Derudover kan den biobeskyttende kultur sænke fødevarens pH, og producere nogle stoffer som er giftige for nogle af de patogene bakterier, for eksempel *Listeria monocytogenes*. Disse stoffer hedder bacteriociner.

Den biobeskyttende kultur kan også bidrage positivt til fødevarens smag, duft og tekstur. Den biobeskyttende kultur kan altså bruges til at øge sikkerheden, forlænge holdbarheden og forbedre kvaliteten af en fødevare.

Et forsøg med en biobeskyttende kultur i hytteost

ISI Food Protection har lavet et holdbarhedsforsøg på hytteost tilsat biobeskyttende kultur.

Fremgangsmåden var:

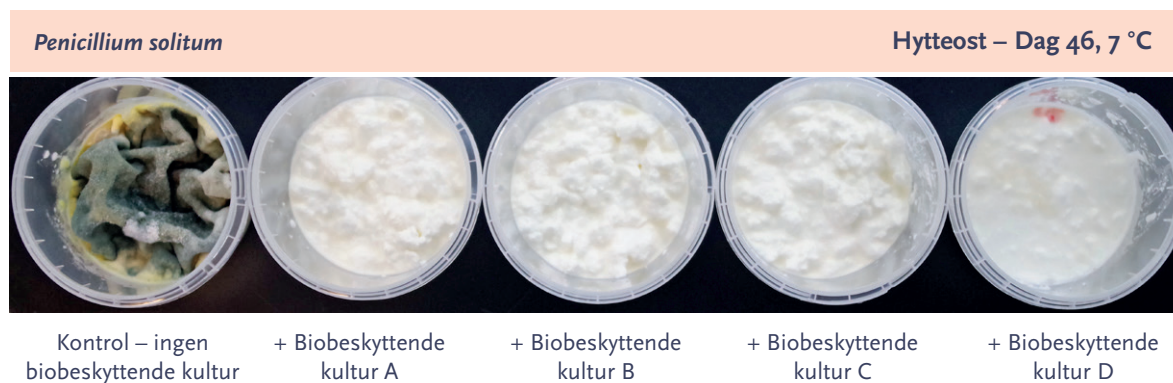
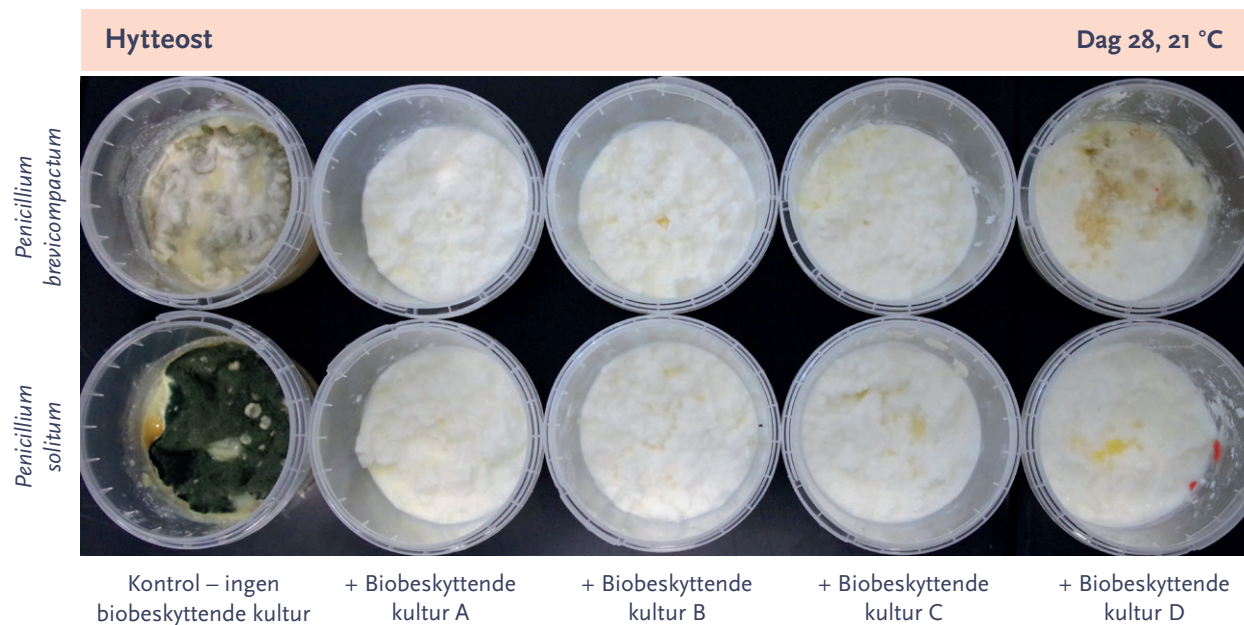
1. Produktion af almindelig hytteost
2. Tilsætning og iblanding af 4 forskellige biobeskyttende kulturer: A, B, C, D + en kontrol uden tilsat biobeskyttende kultur
3. Oven på hver prøve blev der tilsat 20 µl væske indeholdende skimmelarterne *Penicillium brevicompactum* eller *Penicillium solitum*
4. Prøverne blev stillet ved både 7 og 21 °C og skimmelvæksten blev fulgt over tid og dokumenteret med billeder

Resultaterne for hytteost ved 21 °C viste at (se billeder på næste side):

- Efter få dage var kontrollerne allerede dækket med skimmel, og dermed uspiselige!
- Efter 28 dage var prøverne med biobeskyttende kultur A og B stadig uden skimmel! Ved hjælp af disse kulturer kunne holdbarheden af hytteosten forlænges med 3 uger.

Resultaterne for hytteost ved 7 °C viste at (se billeder på næste side):

- Efter et par uger var kontrollerne allerede dækket med skimmel, og dermed uspiselige!
- Efter 46 dage var prøverne med biobeskyttende kultur A, B og C stadig uden skimmel! Ved hjælp af disse kulturer kunne holdbarheden af hytteosten forlænges med en måned.



Opfølgende opgaver

- 1 Hvad får gær til at vokse hurtigt? - MHM 2: side 22
- 2 Hvordan vokser gær uden sukker? - MHM 2: side 23
- 3 Fødevarers pH-værdi – målt med indikatorpapir - MHM 2: side 45
- 4 Fødevarens indre og ydre faktorer

Formålet med dette forsøg er at undersøge, hvilken indflydelse en fødevares indre og ydre faktorer har på mikrobiologisk fordærv.

Først skal du svare på følgende spørgsmål:

1. Giv eksempler på en fødevares indre faktorer
2. Giv eksempler på en fødevares ydre faktorer
3. Hvordan påvirker salt og sukker fødevarers indre faktorer?
4. Hvordan påvirker citron fødevarers indre faktorer?
5. Hvordan kan temperatur påvirke mikrobiologisk fordærv?

Til dit forsøg skal du bruge:

- ☒ En letfordærlig fødevare
- ☒ Små bægre, eventuelt med låg
- ☒ Salt
- ☒ Sukker
- ☒ Citron

Sådan udfører du forsøget

1. Beslut dig for, hvor mange faktorer du vil undersøge. Vælg mellem
 - a. Salt – her kan du undersøge effekten af forskellige saltmængder
 - b. Sukker – her kan du undersøge effekten af forskellige suktermængder
 - c. Citron – her kan du undersøge effekten af forskellige mængder citron
2. For hver faktor du vil undersøge, skal du bruge minimum 2 bægre:
 - a. Ét til kontrol
 - b. Ét eller flere bægre til forsøgene. Hvor mange du vælger her, afhænger af, hvor mange forskellige mængder af salt/sukker/citron du vil undersøge.
3. Fordel små mængder af din letfordærlige fødevare i de små bægre
4. I dine forsøgsbægre (ikke kontrollen) kan du nu fordele forskellige mængder salt/sukker/citron. Husk at notere på dine bægre, hvad du kommer i og hvor meget!
5. Læg eventuelt låg på bægrene og stil dem ved stuetemperatur.
6. Følg fødevareren over tid. Og besvar følgende spørgsmål:
 - a. Hvad sker der i kontrollen?
 - b. Hvad sker der i de andre bægre med tilsat salt, sukker eller citron?
 - c. Noter alle vigtige observationer. Du kan evt. også tage billeder.
Et eksempel på en forsøgsopstilling kan se således ud:



- 5 Konservering af fødevarer - MHM 2: side 39
- 6 Hvor lang holdbarhed har fødevarer før og efter åbning?
Og hvorfor? - MHM 2: side 40
- 7 Hvorfor konserverer vi fødevarer?: Opfølgende spørgsmål
til konservering

Besvar følgende spørgsmål:

1. Hvad er formålet med konservering?
2. Er en konserveret fødevare steril? Forklar!
3. Hvad skal man være opmærksom på, efter man har åbnet fødevaren?
4. Hvilken metode/teknik bruges oftest til konservering af fødevarer? Hvorfor?

Mikrobiologiske undersøgelser

Pladespredning: tælling af bakterier, gær og skimmel

Ofte er man ikke kun interesseret i at vide, hvilke mikroorganismer der er til stede i fødevarer. Typisk vil man også gerne vide, hvor mange mikroorganismer der er til stede. Det kan enten være det totale antal af gær, skimmel og bakterier eller mere specifikt, såsom hvor mange mælkesyrebakterier, hvor mange gær og skimmel eller hvor mange *Listeria monocytogenes*.

Men hvordan er det muligt at tælle noget, som ikke kan ses med det blotte øje?

Agarplader: selektive og ikke-selektive

I fødevaremikrobiologi er pladespredning en af de mest brugte metoder til tælling af mikroorganismer.

Ved pladespredning lader man mikroorganismerne vokse på agarplader. Agarpladerne, også kaldet medier, består typisk af en blanding af næringsstoffer og agar. Næringsstofferne giver mikroorganismerne mulighed for at vokse, og agar får det næringsrige medie til at størkne, så mikroorganismerne kan vokse på overfladen og blive synlige.

Nogle medier indeholder også vækstfremmende og/eller væksthæmmende komponenter (dele). Sådanne medier kaldes også for selektive medier og bruges, når man kun vil have en bestemt gruppe af mikroorganismer til vokse. De selektive komponenter kan for eksempel være ekstra næring, antibiotika eller en farveindikator.

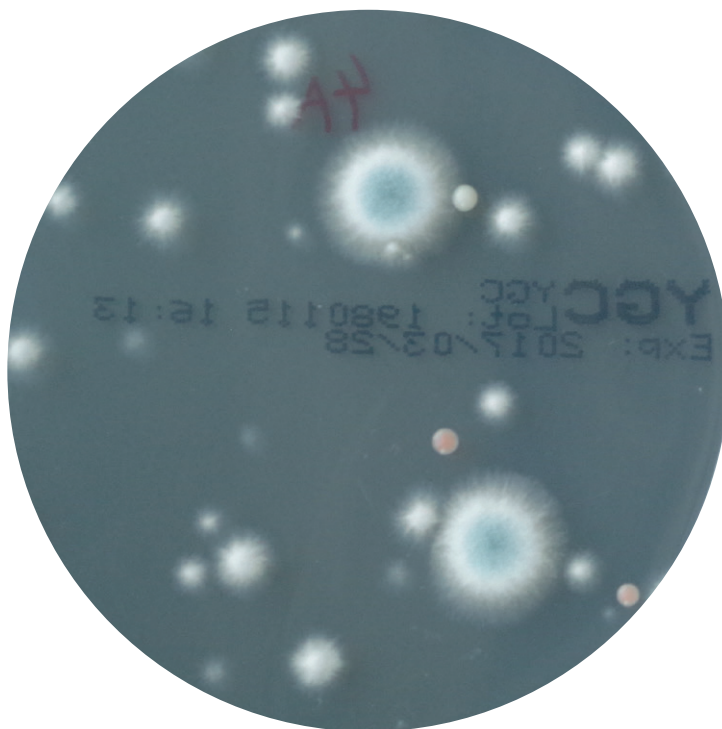
Hvis ikke mediet indeholder særlige komponenter, vil alle mikroorganismer i teorien vokse derpå, og mediet er derfor ikke-selektivt.

Herunder ses to eksempler på agarplader, som bruges rigtig meget i et fødevaremikrobiologisk laboratorium.

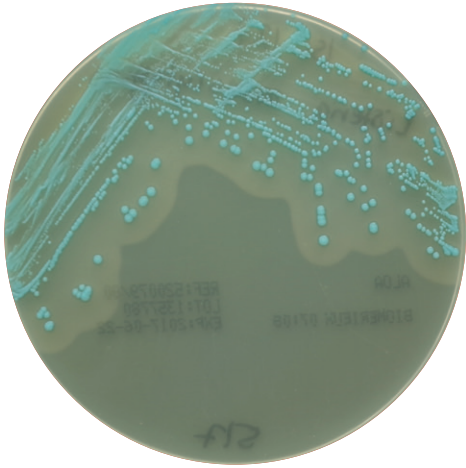


Den røde plade kaldes en blodplade, men hedder rigtigt TSA-SB, som står for Trypticase Soy Agar with Sheep Blood. Blodpladen er et **ikke-selektivt medie**, og tillader derfor vækst af de fleste mikroorganismer. Som det også kan ses på billedet, så vokser der meget forskelligt på pladen.

Den transparente plade heder YGC, som står for Yeast Extract Glucose Chloramphenicol, som er et **selektivt medie** til tælling af gær og skimmel. Som det kan ses på billedet, så vokser der ikke nær så meget forskelligt som på TSA-SB. På billedet kan man se to slags gær (en hvid og en rød) og én slags skimmel (de store grønne/hvide).

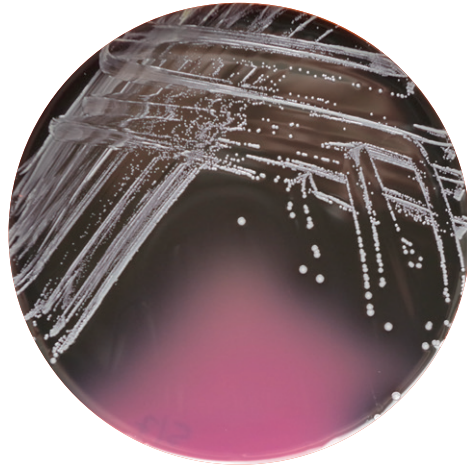


Eksempler på selektive medier



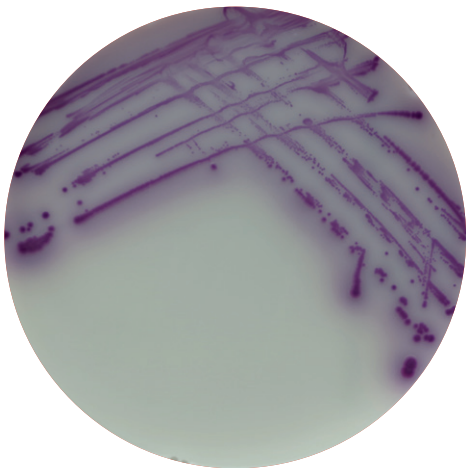
ALOA

Selektivt medie til *Listeria monocytogenes*



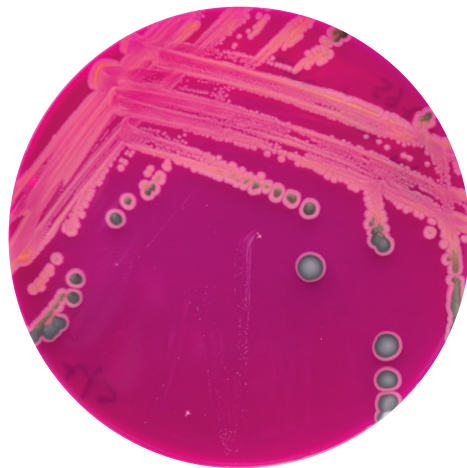
Palcam

Selektivt medie til *Listeria monocytogenes*



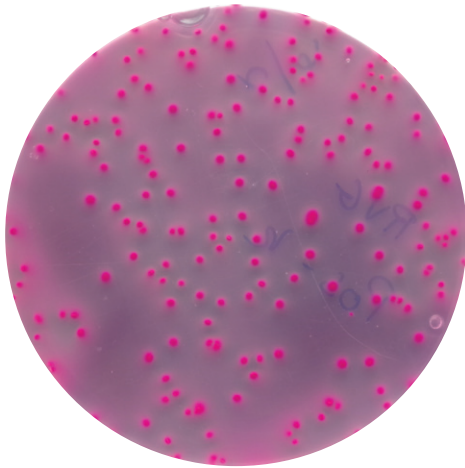
SCA

Selektivt medie til *Salmonella*

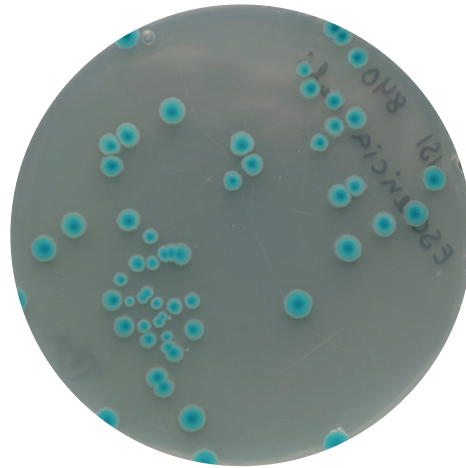


XLD

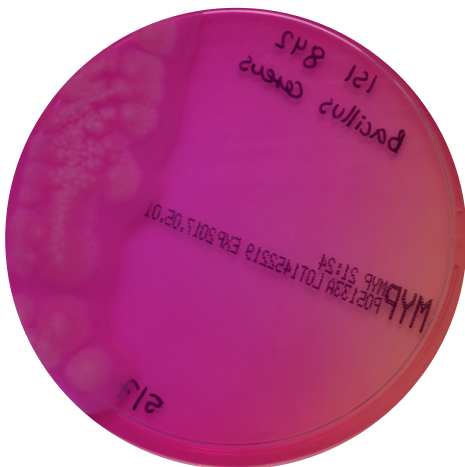
Selektivt medie til *Salmonella*



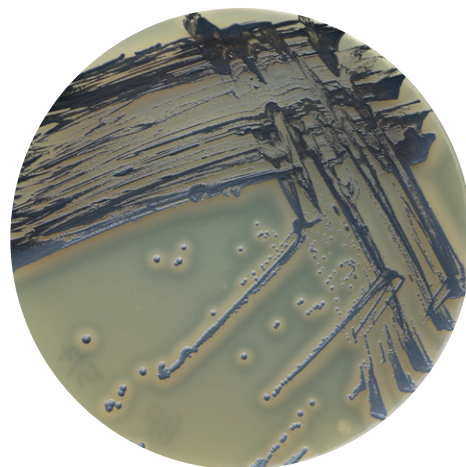
RVG
Selektivt medie til coliforme



TBX
Selektivt medie til E. coli



MYP
Selektivt medie til Bacillus cereus



BP
Selektivt medie til Staphylococcus aureus

Mikroorganismer bliver synlige: én levende celle bliver til én koloni

De runde prikker i forskellige størrelse og farve som bliver synlige på pladerne kaldes for kolonier. På blodpladerne herunder er der for eksempel 8 kolonier på pladen til venstre, og på pladen til højre er der så mange kolonier, at det bliver umuligt at tælle!



Hver koloni på pladen er startet som én levende celle. Den ene celle er ved hjælp af næringen i mediet blevet til rigtig mange celler, som har lagt sig sammen i den klump, vi ser som en koloni. Én koloni kan bestå af op til 10.000.000 celler!

Dette udnyttes i laboratoriet, når man skal bestemme hvor mange mikroorganismer der er i en fødevare. Fordi enkelte celler er så små, at de ikke kan tælles med det blotte øje, bruger man i stedet antallet af kolonier til at beskrive, hvor mange mikroorganismer der er til stede i en prøve. Så husk på at: én koloni består af mange celler, men stammer fra én levende celle.

Kolonier på plader bliver til colony forming units (cfu)

Når man tæller kolonier på en plade, udtrykker man resultatet som colony forming units, forkortet cfu. Cf u betyder koloniformende enheder.



Når antallet af mikroorganismer i en fødevare skal angives, bruges enheden cfu/g. Dette tal angiver, hvor mange mikroorganismer der er i ét gram af fødevareren. Ved at bruge antallet for ét gram, er det muligt at sammenligne mængden af mikroorganismer i forskellige fødevarer, også selvom de ikke vejer det samme.

Kolonier på plader: tællegrænser

Som det kan ses på blodpladerne ovenfor, kan det være ret svært at få et præcist tal, hvis der er alt for mange kolonier på en plade.

Som tommelfingerregel siger man derfor, at der skal være mellem 30 og 300 kolonier på en plade. Dette interval hedder tællegrænsen. Tællegrænsen kan godt variere mellem forskellige medier: for eksempel er tællegrænsen på TSA-SB/blodplader 10 – 150, mens den på YGC plader er tællegrænsen 10 – 100.

Vigtige teknikker ved pladespredning

Fortyndingsrække

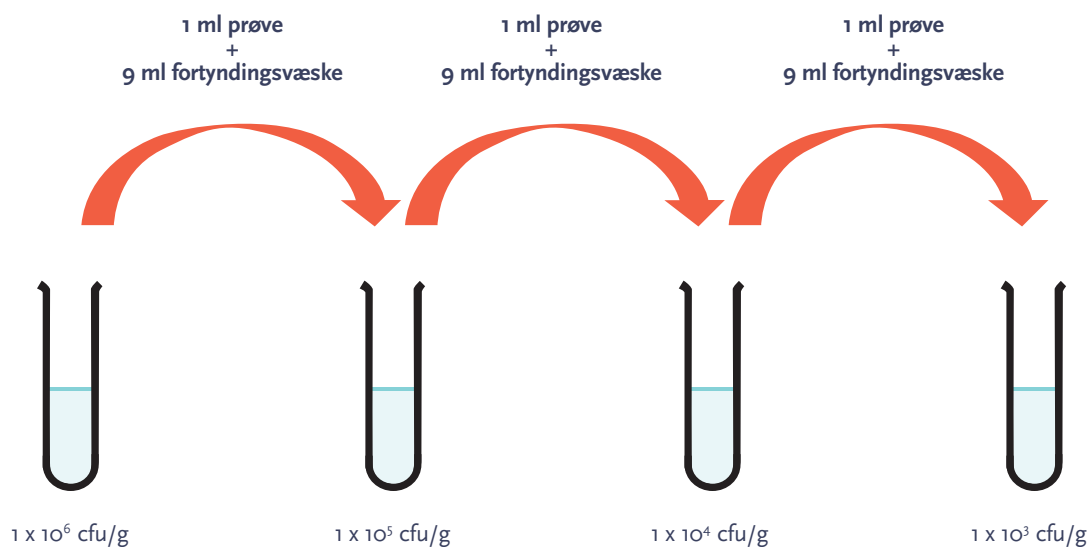
Før en analyse af en fødevarer kan påbegyndes, er der en teknik, som er vigtig at have styr på. Den hedder en fortyndingsrække, og laves før enhver mikrobiologisk analyse.

Formålet med en fortyndingsrække er, at fortynde koncentrationen af mikroorganismer i en fødevarer, så man hverken får for mange kolonier på en plade eller for få. Fortyndingsrækken består af én eller flere 10-foldsfortyndinger. En 10-foldsfortynding betyder at koncentrationen bliver fortyndet 10 gange.

Et eksempel er vist herunder:

Startkoncentrationen er 1×10^6 cfu/g, og efter 3 x 10-foldsfortyndinger er slutkoncentrationen 1×10^3 cfu/g.

I alt er start-koncentrationen blevet fortyndet 10^3 gange, dvs. 1000 gange.



Bemærk:

En 10-foldsfortynding laves ved at blande prøvemateriale med fortyndingsvæske i forholdet 1:9, som også vist i eksemplet.

Beregning af cfu/g:

Når man har talt antal kolonier (cfu) på sin plade og vil regne tilbage til, hvor mange cfu/g der var i prøven, skal man huske at tage højde for, hvor meget prøven er fortyndet!

Følgende formel kan bruges til denne beregning:

$$\text{cfu/g} = \text{antal kolonier på pladen} \times 10^{\text{(antal 10-foldsfortyndinger)}}$$

Regneeksempel:

Hvor mange cfu/g er der i en fødevarer, hvis der er blevet talt 75 kolonier på pladen og der er blevet lavet i alt 6 x 10-foldsfortyndinger af fødevareren?

$$\text{cfu/g} = 75 \times 10^6 = 7,5 \times 10^7$$



Bemærk:

Ved beregning af cfu/g bruges videnskabelig notation. Det vil sige, vi skriver $7,5 \times 10^7$ i stedet for 75.000.000.

Hvor meget skal prøven fortyndes?

Før man begynder på sin fortyndingsrække, er det vigtigt at have besluttet sig for, hvor meget prøven skal fortyndes. Som beskrevet under afsnittet om tællegrænser, er det jo vigtigt, at antallet af kolonier på pladen er inden for tællegrænsen.

Regneeksempel:

Hvor mange 10-foldsfortyndinger skal der laves, hvis man har en prøve med ca. 1×10^6 cfu/g og man gerne vil have ca. 100 kolonier på sin plade?

For at beregne dette, skal man besvare et af følgende spørgsmål:

- 1) Hvor mange gange skal 1×10^6 cfu/g (= 1.000.000 cfu/g) divideres med 10, for at få 100?
- 2) Eller, hvor mange nuller skal der fjernes, for at få 100?

Svaret på spørgsmålene er 4. Det vil sige, at der i alt skal laves fire 10-foldsfortyndinger på prøven.



Du har nu styr på fortyndingsrække, beregning af cfu/g og hvor meget prøven skal fortyndes. Du er nu klar til at lave en pladespredning af din prøve!

Analyse af en fødevare: pladespredning

Når man vil vide, hvor mange cfu/g der er i en fødevare, kan man benytte pladespredning.

En komplet analyse inkluderer følgende trin (alle trin vil blive forklaret i detaljer):

1. Udtagning af prøvemateriale
2. Første 10-foldsfortynding af prøvemateriale
3. Homogenisering
4. Fortyndingsrækker
5. Udpladning
6. Inkubation
7. Tælling af kolonier og beregning af cfu/g

1. Udtagning

Udtagning betyder, at kun en del af fødevaren udtages til analyse. Der bruges typisk 10 – 20 gram af fødevaren til en analyse.

Hvis fødevaren er homogen, det vil sige at den er ens overalt, kan de 10 – 20 gram tages hvor som helst. En homogen fødevare kan for eksempel være fars og yoghurt. Hvis ikke fødevaren er homogen, men inhomogen, og indeholder mange forskellige dele, skal man sørge for at få lidt af det hele med i de 10 – 20 gram. Ellers kan man risikere at overse nogle vigtige mikroorganismer! En inhomogen fødevare kan for eksempel være en blandet salat.

2. Første 10-foldsfortynding

Efter prøven er udtaget, skal den første 10-foldsfortynding laves.

Her blandes prøvematerialet med fortyndingsvæske i forholdet 1:9. Det vil sige 1 del prøve og 9 dele fortyndingsvæske. Hvis prøven vejer 10 gram, skal der tilføjes 90 gram fortyndingsvæske.

Fortyndingsvæsken er typisk en blanding af vand, salt og peptone. Den sørger for at forhindre vækst af mikroorganismer under analysen, samtidig med den sørger for maksimal overlevelse af de levende mikroorganismer i prøven.

Mange laboratorier bruger fortyndingsvæsken SPO, som står for Saltvands Pepton Opløsning.



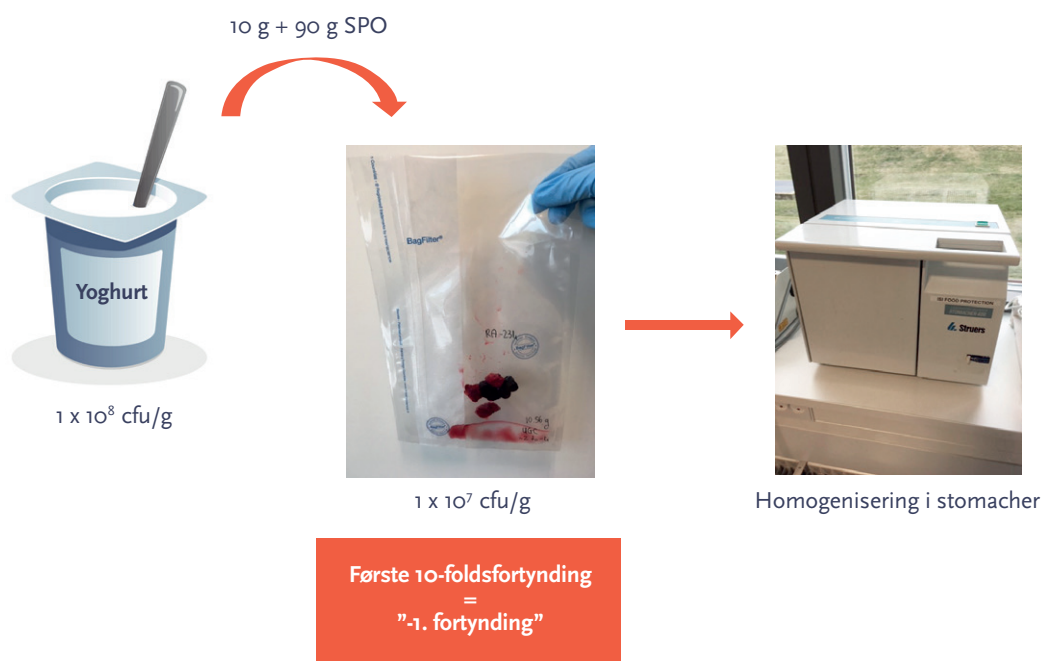
Bemærk: Den første 10-foldsfortynding kaldes også for en "-1. fortynding" (minus første fortynding)

3. Homogenisering

For at trække mikroorganismene fra fødevaren ud i fortyndingsvæsken, skal prøven og saltvandet homogeniseres. Det vil sige at fødevareprøven skal bankes i stykker og blandes godt og grundigt med fortyndingsvæsken.

Dette gøres i en Stomacher. Inde i stomacheren sidder der plader, som bokser til posen med prøve og fortyndingsvæske. Typisk tager det 1 minut, men hvis fødevaren er svær at homogenisere, kan det godt tage længere tid. Posen hvori blandingen af prøve og fortyndingsvæske bliver lavet hedder en stomacherpose.

Herunder ses en illustration af en prøve (yoghurt) og den første 10-foldsfortynding og efterfølgende homogenisering i stomacher



4. Fortyndingsrækker

Når prøven er homogeniseret og mikroorganismene er blevet trukket ud i fortyndingsvæsken, skal man have besluttet følgende:

- Hvad er det forventede niveau af cfu/g i prøven?
- Hvor mange ekstra 10-foldsfortyndinger skal der laves?

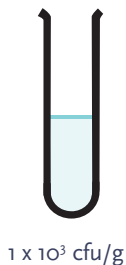
5. Udpladning

Når man har besluttet sig for, hvilken fortynding man vil bruge, er man klar til udpladning. Udpladning betyder at man tager 0,1 ml af sin valgte fortynding, og spreder den ud på overfladen af en agarplade.

Udtagningen af 0,1 ml foregår med en pipette, og udpladningen laver man med en drigalski spatel. Bemærk at også udtagningerne til fortyndingsrækkerne bliver foretaget med en pipette. En illustration af udpladningen kan ses herunder.



0,1 ml udtages med en pipette...



...og spredes ud på en agarplade med en drigalskispattel

6. Inkubation

Nu skal pladen inkuberes. Det betyder at den skal opbevares ved en bestemt temperatur i et bestemt stykke tid, indtil mikroorganismene er vokset frem og kan tælles som kolonier.

Tiden og temperaturen kaldes også for inkubationstiden og inkubationstemperaturen. Inkubationstiden og inkubationstemperaturen sørger for at mikroorganismene får optimale vækstbetingelser, så de kan vokse frem til flotte kolonier på pladen.

For blodplader er inkubationstemperaturen typisk 30 °C og inkubationstiden er 2 dage. For YGC plader er inkubationstemperaturen typisk 25 °C og inkubationstiden er 3 – 7 dage.

7. Aflæsning af plade og beregning af cfu/g i fødevaren

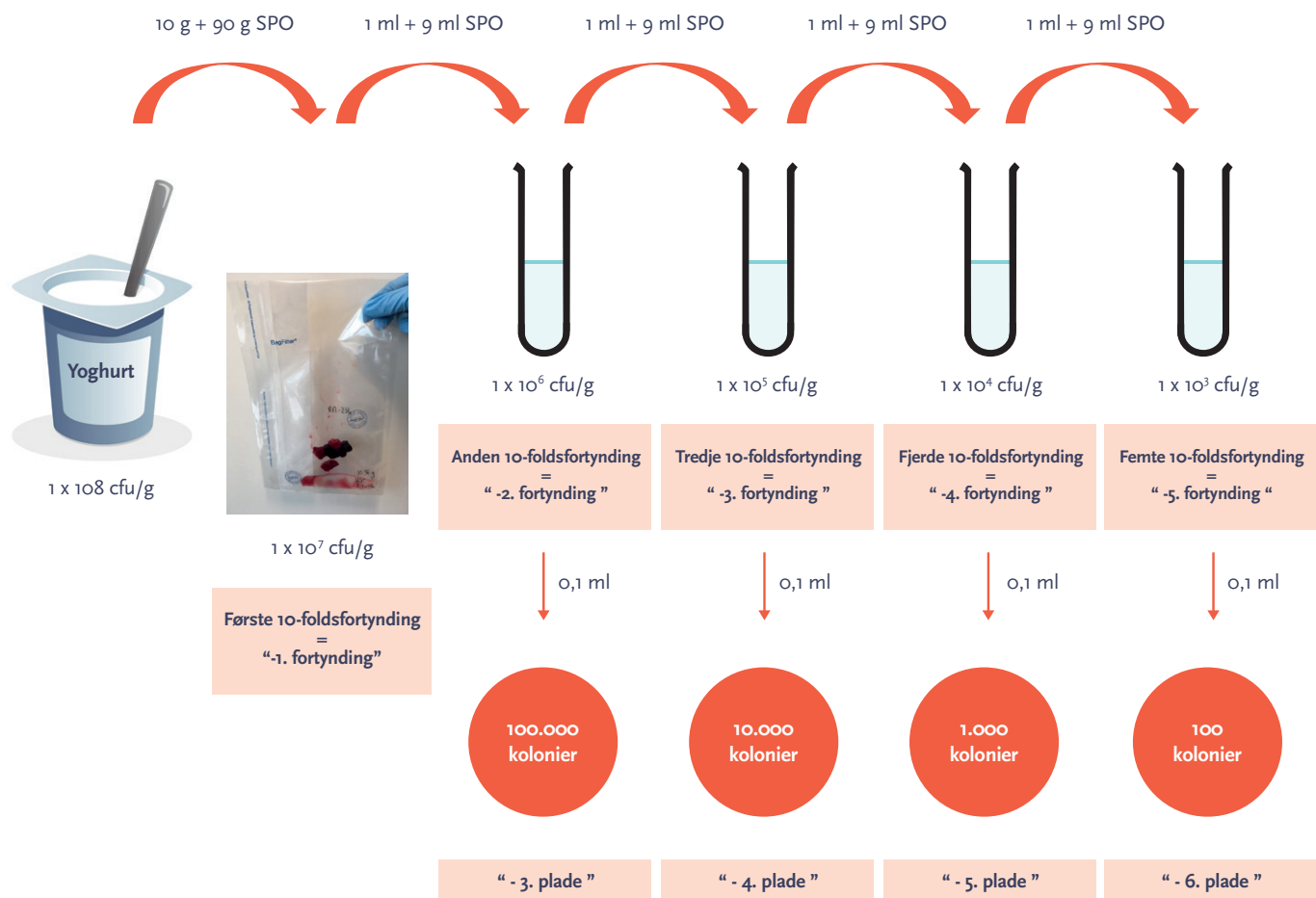
Når inkubationstiden er overstået, er pladen klar til at blive aflæst. Dvs. antallet af kolonier tælles og der beregnes, hvor mange cfu/g der oprindeligt var i fødevaren.

Du er nu klar til at lave en pladespredning selv! Det kan du få lov at prøve kræfter med hos ISI Food Protection.

En samlet figur over alle trinnene i analysen kan ses herunder.

Og HUSK! Det forventes ikke at du kan forstå det hele med det samme!

En mikrobiologisk analyse er svær at forstå, de første mange gange man skal lave den, og det kræver at tungen holdes lige i munden.



Bemærkninger til figur over analyse



Når der kun udtages 0,1 ml til pladespredning, svarer det faktisk til en ekstra 10-foldsfortynding. Derfor bliver pladen fra "-2. fortyndingen" også kaldt for "-3. pladen". Dette gælder også for alle de andre fortyndinger og plader. Se nedenfor.



Dette er vigtigt at huske, når man skal beregne, hvor mange 10-foldsfortyndinger man skal lave!

Vi har tidligere beregnet, at der skulle laves i alt fire 10-foldsfortyndinger for at komme fra 106 cfu/g til 100 kolonier på en plade. Disse i alt fire 10-foldsfortyndinger inkluderer:

- ☒ Den første 10-foldsfortynding af prøven = -1. fortynding
- ☒ 2 x 10-foldsfortyndinger i fortyndingsrækken = -2. fortynding + -3. fortynding
- ☒ Udpladning fra -3. fortynding på plade = -4. fortynding

Det første og sidste trin vil altid være der. Det eneste trin som kan variere er, hvor mange fortyndinger der skal laves i fortyndingsrækken.

Opfølgende opgaver

1 Tælling af bakterier, gær og skimmel

Besvar følgende spørgsmål

(Svarene kan bruges som forberedelse til besøget hos ISI Food Protection)

1. Hvad er en agarplade?
2. Hvad er forskellen på et selektivt og et ikke-selektivt medie?
3. Nævn et eksempel på et selektivt og et ikke-selektivt medie. Hvad kan der vokse på dem?
4. Hvad er en koloni?
5. Hvorfor bruges antallet af kolonier til at beskrive vækst?
6. Hvilket begreb bruges til at udtrykke antallet af mikroorganismer per gram i en fødevare?
7. Hvad giver tællegrænsen udtryk for?
8. Hvad er tællegrænserne for TSA-SB og YGC?

2 Øvelse i videnskabelig notation

Når man analyserer for antallet af mikroorganismer i en fødevare, bruger man altid videnskabelig notation. Det gør man fordi tallene ofte er meget store, som for eksempel 2.000.000.000 eller 35.000.000. Når man bruger videnskabelig notation, bliver tallene mere overskuelige at se på.

Her er et par eksempler på, hvordan almindelige tal laves om til videnskabelig notation.

Bemærk at tallet er det samme! Det er bare en anden måde at skrive det på.

Fremgangsmåden er:

1. Man tæller antallet af nuller og skriver det som $10^{\text{(antallet af nuller)}}$
2. Tallet foran nulleterne skriver man foran $10^{\text{(antallet af nuller)}}$ som tal $\times 10^{\text{(antallet af nuller)}}$

Eksempel 1:

Tallet 2.000.000.000 har 9 nuller og skal derfor skrives som 2×10^9

Det er det samme som at skrive $2 \times 1.000.000.000$

Eksempel 2:

Tallet 37.000.000 har 6 nuller og kan derfor skrives som 37×10^6

Bemærk at sådan et tal skrives som $3,7 \times 10^7$

Det er det samme som $3,7 \times 10.000.000$

Nu er det din tur! Skriv følgende tal med videnskabelig notation

1. 10.000

2. 12.000

3. 30.000.000

4. 35.000.000

5. 7.000.000.000

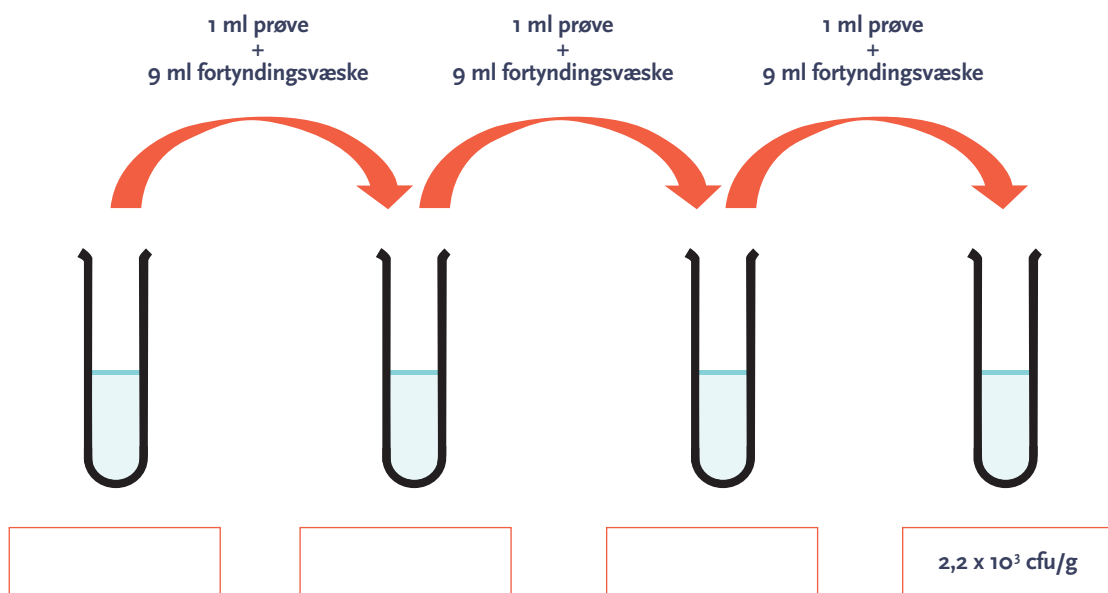
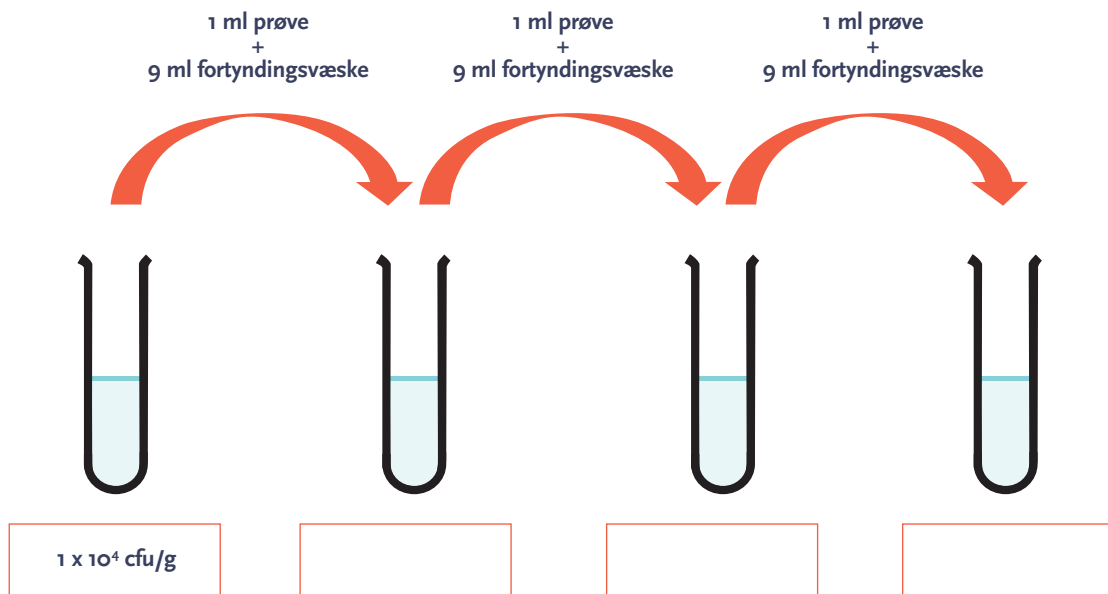
6. 7.200.000.000

7. 900.000.000

8. 930.000.000

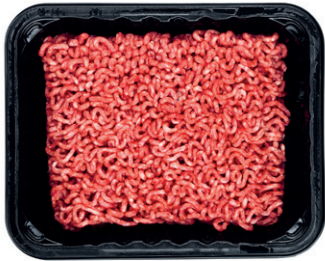
3 Øvelse i fortyndingsrækker

Udfyld de tomme felter i fortyndingsrækkerne. Brug videnskabelig notation.



Hvor mange 10-foldsfortyndinger skal der til for at få 100 cfu/g i følgende prøver:

1. Fars med et startniveau på 7×10^3 cfu/g



2. Frisk salat med et startniveau på 2×10^4 cfu/g



3. Yoghurt med et startniveau på 1×10^9 cfu/g



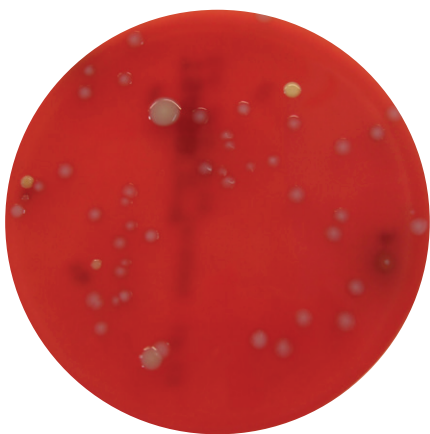
4. Hamburgerryg med et startniveau på 5×10^3 cfu/g



4 Beregning af cfu/g i fødevarer

Tæl antallet af kolonier på agarpladen.

Brug antallet af 10-foldsfortyndinger til at beregne hvor mange cfu/g er der i fødevaren.

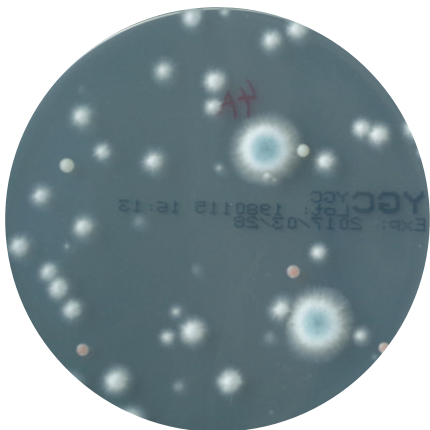


Fødevarer 1:

Antal 10-foldsfortyndinger	=	7
----------------------------	---	---

Antal kolonier	=	
----------------	---	--

cfu/g i fødevare 1	=	
--------------------	---	--



Fødevarer 2:

Antal 10-foldsfortyndinger	=	7
----------------------------	---	---

Antal kolonier	=	
----------------	---	--

cfu/g i fødevare 2	=	
--------------------	---	--

Inspiration til arbejde med fødevaremikrobiologi, som en del af de fællesfaglige fokusområder

Fokusområder og eksamen

I løbet af undervisningen fra 7. til 9. klasse skal du i naturfagene fysik/kemi, biologi og geografi arbejde med minimum 6 forskellige fællesfaglige fokusområder, som indgår som en del af den afsluttende eksamen. Der er både nogle frivillige og nogle obligatoriske fokusområder, hvor I på tværs af fagene skal arbejde med samme overordnede emne. En af grundene til dette er, at du gennem de fællesfaglige forløb skal øve dig i at kunne se naturfaglige sammenhænge på tværs af et specifikt emne.

Et af de 6 mulige fokusområder, som er beskrevet for fagene, er: **Teknologiens betydning for menneskers sundhed og levevilkår.**

Her vil det naturligvis give god mening at inddrage din nye viden omkring fødevarer og mikrobiologi. Du har gennem materialet her fået mange mulige vinkler og perspektiver, som du kan tilpasse i forhold til din valgte naturfaglige problemstilling.

Geografi

Idéer til at inddrage geografiske vinkler og perspektiver i forhold til ovenstående fokusområde, kunne være at se på f.eks.:

- Bæredygtig udvikling – Globalisering og produktionskæder indenfor fødevarer
- Mad i Fremtiden – Hvordan laver vi en bæredygtig produktion?
- Industrialiseret landbrug og genmodificerede afgrøder

Fysik/kemi

Idéer til at inddrage fysik/kemi vinkler og perspektiver i forhold til ovenstående fokusområde, kunne være at se på f.eks.:

- Madens kemi – Undersøgelse af f.eks. tilsætnings- og næringsstoffer
- Syrer og baser – Katalysatorer og enzymer
- Undersøgelser af teknologiens udvikling i industri og landbrug

Afslutning og besøg

Ovenstående er blot forslag til, hvordan man kan skabe sammenhæng. Mulighederne for at finde åbne problemstillinger og fælles perspektiver, hvor emnet fødevaremikrobiologi kan inddrages med de andre naturfaglige fag, er mange.

Vi håber i hvert fald, at du nu har fået masser af ny viden og forståelse for, hvordan mikrobiologien og vores fødevarer hænger sammen. Vi håber også, at du i fremtiden naturligt vil komme til at tænke over, hvor tæt knyttet maden og naturvidenskaben er, når du f.eks. sætter tænderne i et nyt måltid.

Desuden ser vi meget frem til, at du og dine klassekammerater kommer på besøg hos os i ISI Food Protection. Her vil vi gøre vores yderste for at inspirere og motivere dig til at begive dig endnu længere ud i den biologiske og naturvidenskabelige verden. Der findes nemlig masser af områder, som vi stadig ikke har fået undersøgt til bunds, eller for den sags skyld har opdaget endnu.

Og hvem ved...? Måske er det pludselig dig, der en dag opfinder fremtidens ny fantastiske fødevarer på baggrund af mikrobiologiske undersøgelser og eksperimenter!

BØRN OG UNGE
Aarhus Kommune



*Dette materiale er udviklet i et samarbejde mellem
ISI FOOD PROTECTION og Aarhus Kommune*

Støttet af:



BØRNE- OG
UNDERVISNINGSMINISTERIET

Aarhus, 2019