

Validering av ny metode for råtrevler

ANKOM²⁰⁰⁰ Fiberanalysator

Tor-Arne Krakeli





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på seks ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsgate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5828 Bergen

Sundalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835

Rapport

	ISBN: 978-82-8296-365-7 (trykt) ISBN: 978-82-8296-366-4 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Tittel:</i> Validering av ny metode for råtvler ANKOM ²⁰⁰⁰ Fiberanalysator	<i>Rapportnr.:</i> 11/2016
	<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Tor-Arne Krakeli	<i>Dato:</i> 26. februar 2016
<i>Avdeling:</i> BioLab	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 16+33
<i>Oppdragsgiver:</i>	<i>Oppdragsgivers ref.:</i>
<i>Stikkord:</i> Råtvler, ufordøyelig fiber, ANKOM, fiberanalysator	<i>Prosjektnr.:</i> 21149
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i> <p>På bakgrunn av en økt interesse for analyse av råtvler har Nofima BioLab gått til innkjøp av en automatisert fiberanalysator (ANKOM²⁰⁰⁰). Noe av den økte interessen skyldes ønske om å bestemme fordøyelighet hos fisk med råtvler som inert indikator. Denne nye metoden skal kunne avlaste en arbeidskrevende manuell metode som benyttes i dag.</p> <p>Den nye metoden skal kunne gi oss en pålitelig repeterbarhet med replikater, og det antas at den totale måleusikkerheten blir bedre.</p> <p>Metoden deles inn i to måleområder: Et nedre område på 0,1 – 1,9%, og et øvre område på 2,0 - 30%. Den totale måleusikkerheten er henholdsvis 59% og 12%.</p>	
<i>English summary/recommendation:</i> <p>There has been an increased interest for crude fiber analyzes, and because of that, Nofima's BioLab has bought an automated fiberanalyzer (ANKOM²⁰⁰⁰). Some of the requests originate from the interest in digestion among fish. The new method is going to relieve the current method that is very time consuming</p> <p>The new method should give us a reliable repeatability with replicas and it is assumed that the total uncertainty will be better.</p> <p>The method is divided in two measurement areas: a lower area on 0,1 – 1,9% and a higher area on 2,0 – 30%. The total measurement uncertainty is 59% and 12%, respectively.</p>	

Innhold

1	Innledning.....	1
2	Teori.....	2
2.1	Prinsippet i metoden.....	2
2.2	Grad av ekstern validering og nødvendig verifisering.....	2
2.3	Valideringsplan.....	2
2.3.1	Riktighet.....	2
2.3.2	Presisjon.....	3
2.3.3	Robusthet.....	3
2.3.4	Måleområde.....	3
2.3.5	Måleusikkerhet.....	4
2.4	T-test, F-test.....	4
3	Eksperimentelt.....	6
3.1	Riktighet.....	6
3.2	Presisjon.....	6
3.3	Test av metodeparametere (Robusthet).....	6
3.3.1	Tørketid varmeskap.....	6
3.3.2	Forasking.....	6
3.3.3	Avkjøling i tørr atmosfære.....	6
3.3.4	Ulike innveiinger.....	7
3.3.5	Bruk av aceton ved tørking.....	7
3.4	Måleområde.....	7
3.5	Prøvematriks.....	7
4	Resultat og diskusjon.....	8
4.1	Riktighet.....	8
4.2	Presisjon.....	9
4.3	Test av metodeparametere (Robusthet).....	10
4.3.1	Tørketid varmeskap.....	10
4.3.2	Forasking.....	10
4.3.3	Avkjøling i tørr atmosfære.....	10
4.3.4	Ulike innveiinger.....	11
4.3.5	Bruk av aceton ved tørking.....	12
4.4	Måleområde.....	12
4.5	Måleusikkerhet.....	13
4.5.1	Nedre område 0,1 – 1,9%.....	13
4.5.2	Øvre område 2,0% - 30%.....	13
4.5.3	Akseptert avvik mellom paralleller.....	13
4.5.4	Måleusikkerhetsbidrag.....	14
5	Konklusjon.....	15
6	Litteratur.....	16

Vedlegg

Vedlegg 1: Valideringsplan råtrevler	1
Vedlegg 2: Kollaborativ metodeavprøving (ANKOM Technology)	3
Vedlegg 3: Ringtester benyttet i valideringen	4
Vedlegg 4: Tørketid varmeskap	5
Vedlegg 5: F-test, t-test ved tørketid i varmeskap	7
Vedlegg 6: Variasjon temperatur og forbrenningstid i askeovn	8
Vedlegg 7: F-test, t-test ved ulike temperaturer og tid i askeovn.....	11
Vedlegg 8: Måling av repeterbarhet	12
Vedlegg 9: Avkjøling av tørket prøve silicaposer, eksikator.....	13
Vedlegg 10: F-test, t-test ved avkjøling i silicaposer, eksikator.....	15
Vedlegg 11: Ulike innveinger	16
Vedlegg 12: F-test, t-test ved ulike innveinger.....	17
Vedlegg 13: Fortørking med aceton	18
Vedlegg 14: F-test, t-test ved bruk av aceton til fortørking	20
Vedlegg 15: Analyse ved Nofima BioLab av prøver analysert ved ANKOM	21
Vedlegg 16: Måleusikkerhet i det nedre området 0,1 – 1,9%.....	22
Vedlegg 17: Måleusikkerhet i det øvre området 2,0% - 30%.....	24
Vedlegg 18: Prøvematriks feces	26
Vedlegg 19: Analyse feces ved fiberpose F57	27
Vedlegg 20: Analyse feces ved fiberpose F58	28
Vedlegg 21: Analyse av feces ved BioLab Metode A 80	29
Vedlegg 22: F-test, t-test ved analyse av feces	30
Vedlegg 23: Repeterbarhetsgrense feces	31
Vedlegg 24: Negative askeverdier, F57 vs F58	32
Vedlegg 25: Askediglene blir oppbevart uten eksikator før bruk	34
Vedlegg 26: Askedigler blir forvarmet (2 timer) og oppbevart i eksikator før bruk.....	35
Vedlegg 27: Benytter vekt med elektrostatisk utladning	36
Vedlegg 28: Benytter vekt med elektrostatisk utladning og varierer avkjølingstid i eksikator.....	37
Vedlegg 29: Analyse med nye F58 filterposer	38
Vedlegg 30: F-test, t-test	39
Vedlegg 31: Prøvematriks feces – gjentak	40
Vedlegg 32: Analyse av feces ved fiberpose F58.....	41

1 Innledning

I den senere tid har det vært interesse for å benytte analysen av rårevler i forbindelse med undersøkelser/kontroll av fordøyelighet. Dette er et bruksområde som har mulighet til å øke etterspørselen etter denne typen analyse. I dag utføres denne målingen etter en manuell metode (AOAC 978.10, 1979) som er arbeidskrevende, og den totale måleusikkerheten er ikke undersøkt grundig nok.

For å kunne øke kapasiteten har det blitt besluttet å kjøpe inn en automatisert fiberanalysator fra ANKOM Technology (ANKOM2000). Denne skal med den nye metoden (AOCS Ba 6a-05, 2005) kunne gi en bedre måleusikkerhet.

Metoden har tidligere blitt testet ut gjennom en kollaborativ metodeavprøving arrangert av ANKOM Technology (vedlegg 1). Denne valideringen tar sikte på å gi et statistisk grunnlag for den totale måleusikkerheten, og samtidig teste ut metodeparameterne for å tilpasse det til en praktisk gjennomførelse hos Nofima BioLab.

2 Teori

2.1 Prinsippet i metoden

Prøven blir etter innveing avfettet. Etter dette blir prøven hydrolysert med syre og base via instrumentet ANKOM²⁰⁰⁰ Fiberanalysator. Dette vil vaske vekk de fleste forbindelser med unntak av de som ikke er fordøyelige. Dette er hovedsakelig protein, sukker, stivelse, deler av de strukturelle karbohydratene og lignin. Etter dette blir prøven tørket og så forbrent i en askeovn. Råtvlerinnholdet til prøven bestemmes på bakgrunn av denne metoden. For beregning se formel 2.1.

$$\text{Råtvler}\% = \frac{100 \cdot (W_3 - (W_1 \cdot C_1))}{W_2} \quad (2.1)$$

W_1 = tara vekt fiberpose

W_2 = prøvevekt

W_3 = Vekt av tapt organisk materiale ved forbrenning av fiberpose og prøve.

C_1 = Korreksjonsfaktor ved forbrenning av tom fiberpose

2.2 Grad av ekstern validering og nødvendig verifisering

Metodebeskrivelsen oppgitt av instrumentleverandøren (AOCS Ba 6a-05, 2005) er en metode beregnet for analyse av råtvler ved bruk av en automatisert fiberanalysator (ANKOM²⁰⁰, ANKOM²⁰⁰⁰) og filterposer (F57, F58) fra ANKOM Technology. Metoden har blitt testet ut gjennom en kollaborativ metodeavprøving arrangert av ANKOM Technology (vedlegg 1). I metodeavprøvingen deltok 11 laboratorier som utførte analyse på 11 ulike prøver med AOCS Ba 6a-05, og 3 laboratorier som analyserte de samme 11 prøvene, men med metode AOCS Ba 6-84 / 962.09. AOCS Ba 6-84 er en tilsvarende metodikk som er brukt av ANKOM Technology, men det er basert på en automatisert fiberanalysator fra Labconco Corp.

Siden metodikken er ekstern validert gjennom den kollaborativ metodeavprøvingen begrenser denne valideringen seg til kun å se på parameterne riktighet, presisjon, robusthet og arbeids- og konsentrasjonsområde (NMKL, 2009).

2.3 Valideringsplan

Valideringsplanen (vedlegg 2) oppgir hvilke parametere som skal evalueres. Disse parametere er oppgitt i de påfølgende underavsnittene. Den eksperimentelle utførelsen og resultatet er oppgitt i henholdsvis kapittel 3 og 4.

2.3.1 Riktighet

'Riktighet er graden av overenstemmelse mellom en prøves sanne innhold av en bestemt analytt og resultatet av en analyse' (NMKL 2009).

En prøves sanne innhold er ofte en ukjent størrelse, som igjen er avhengig av hvilken metode som er benyttet ved analyse. Det er vanlig å velge enten en referanseprøve med et sertifisert innhold, en

prøve fra en sammenliknende laboratorieprøving (SLP) eller en prøve fra en kollaborativ metodeavprøving. Siden ingen av disse referanseprøvene var tilgjengelige for denne metoden ble 5 prøver (derav 3 SLP-prøver fra vår manuelle metode Nofima BioLab, 2006) sendt inn til ANKOM i USA for analyse. Disse prøvene ble så analysert ved Nofima Biolab ved bruk av fiberanalysatoren for å teste ut riktigheten.

2.3.2 Presisjon

Presisjon er definert som *'graden av overenstemmelse mellom uavhengige analyseresultater framkommet under spesifikke forhold'* (NMKL, 2009). Begrepet må ikke forveksles med riktighet, som er nevnt i avsnitt 2.3.1. Presisjonen uttrykkes vanligvis som standardavviket til analyseresultatet. Det er to måter å bestemme presisjonen på:

- **Repeterbarhet:** Resultatene er framskaffet av å analysere den samme prøven, med det samme utstyret og innenfor et relativt kort tidsrom.
- **Reproduserbarhet:** Resultatene er framskaffet ved å analysere den samme prøven og den samme metoden, men på ulike laboratorier.

Repeterbarheten uttrykkes ofte som repeterbarhetsgrensen (r), som er et uttrykk for den absolutte differansen mellom to uavhengige analyser med et konfidensintervall oppnådd med like betingelser (ISO, 1994 a). Slike beregninger kalles dobbeltbestemmelser (NMKL, 2009). r beregnes som vist i formell 2.2:

$$r = f \sqrt{2} S_r \quad (2.2)$$

f er den kritiske utvalgsfaktoren som er avhengig av valg av konfidensintervall. S_r er standardavviket til repeterbarheten (ISO, 1994 b), og beregnes som vist i formel 2.3:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2}{2n}} \quad (2.3)$$

x_i og y_i er de to målingene fra dobbeltbestemmelsen, og n er antall par av dobbeltbestemmelser (NMKL, 2009). Vanligvis antas det en normal distribusjon og et konfidensintervall på 95%, som gir en verdi $f = 1,96$. r beregnes da som vist i formel 2.4:

$$r = 2,8 S_r \quad (2.4)$$

2.3.3 Robusthet

Robustheten til en metode testes ved eksempelvis å variere på de eksperimentelle parameterne, utførende analytiker og tidsrommet metoden utføres ved. Robusthet er ikke dokumentert fra leverandøren sin side.

2.3.4 Måleområde

'Måleområdet er det området hvor metoden er validert og gir akseptabel riktighet og presisjon' (NMKL, 2009).

Deteksjonsgrensen (LOD) er definert som den nedre grensen for deteksjon for å fastslå med en viss grad av sikkerhet at analytten er tilstede i prøven. Kvantifiseringsgrensen (LOQ) er definert som den nedre grensen for kvantifisering av analytten i prøven med en viss grad av sikkerhet. I denne valideringen fokuseres det på LOQ.

2.3.5 Måleusikkerhet

Den totale måleusikkerheten (U_{LAB}) beregnes som kombinert måleusikkerhet (U_c) av den erfarte spredningen med repeterte analyser og differansen mellom interne og eksterne resultater ($U_{LAB-\bar{x}}$). Det benyttes en dekningsfaktor på 2, som tilsvarer et 95% konfidensintervall. Beregningene følger formel 2.5:

$$U_c = k * \sqrt{U_{LAB}^2 + U_{LAB-\bar{x}}^2} \quad (2.5)$$

U_{LAB} er Nofima Biolab sitt interne standardavvik for repeterbarhet, og tilsvarer S_r i formel 2.4. Verdien bestemmes ut ifra differansen mellom dobbeltbestemmelser i prøvematerialer med resultater i normalområdet.

$U_{LAB-\bar{x}}$ er standardavviket mellom snittresultatene fra Nofima Biolab og verdiene til den eksterne kilden. Den eksterne kilden er vanligvis en ringtest, men siden dette var vanskelig å oppdrive for den nye metoden ble resultat fra en sammenligning med leverandøren ANKOM benyttet. $U_{LAB-\bar{x}}$ beregnes også ut i fra formel 2.3.

2.4 T-test, F-test

Når en ny metode skal valideres er det vanlig å sammenligne et resultatsett fra den eldre metoden mot den nye, for å se om det er signifikante forskjeller mellom datasettene. En sammenligning mellom to datasett kan foregå på to måter: t-test og f-test (Jefferey et al., 1989).

T-testen gir et mål for om det er signifikant forskjell mellom resultatene i de to datasettene. Ved å beregne t-verdien for datasettene og sammenligne denne verdien mot en tabellverdi for t kan det bestemmes om datasettene har signifikant forskjell. Tabellverdien for t avhenger av valgt konfidensintervall og antall frihetsgrader. For at t-testen skal godkjennes må den beregnede t-verdien være lavere enn tabellverdien. Se formel 2.6 for beregning av t-testen:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}} \quad (2.6)$$

x_1 = snitt fra datasett 1

x_2 = snitt fra datasett 2

S_p = sammenslått standardavvik for datasett 1 og 2

n_1 = antall datapunkter i datasett 1

n_2 = antall datapunkter i datasett 2

S_p berignes igjen ut ifra formel 2.7:

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{n_1+n_2-2}} \quad (2.7)$$

s_1^2 = Standardavvik for datasett 1

s_2^2 = Standardavvik for datasett 2

En f-test oppgir om det er signifikant forskjell mellom presisjonene til de to datasettene, og denne bør i tillegg til t-testen være godkjent. F-testen beregner forholdet mellom standardavviket til de to datasettene. Det standardavviket som er størst vil alltid være i teller-posisjon. For beregning se formel 2.8:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad (2.8)$$

Tabellverdien for F er avhengig av valgt usikkerhetsområde og antall frihetsgrader. For at testen skal være godkjent må den beregnede verdien være mindre enn den avleste tabellverdien.

3 Eksperimentelt

Metoden fra AOCS sin metodereferanse Ba 6a-05 er i denne valideringsrapporten henvist til som den standardiserte metoden.

3.1 Riktighet

Det ble sendt inn 5 prøver til ANKOM sine testlokaler i USA. Disse prøvene har tidligere blitt analysert hos Nofima Biolab med metode A 80 som er basert på AOAC 978.10. Prøvene ble igjen analysert ved Nofima Biolab ved bruk av fiberanalysatoren ANKOM²⁰⁰⁰ og metoden AOCS Ba 6a-05. Resultatene ble brukt ved vurdering av riktigheten.

3.2 Presisjon

Presisjonen ble vurdert med bakgrunn i måling av repeterbarheten ved analyse av 20 replikater av ringtesten merket 2013-1143-01 (AAFCO). Analysene ble utført i henhold til metodebeskrivelsen.

3.3 Test av metodeparametere (Robusthet)

Den benyttede metoden oppgitt fra leverandøren (AOCS Ba 6a-05, 2005) inneholdt flere elementer der det av praktiske grunner ble gjort endringer. Disse endringene er testet ut og beskrevet i kapitlene under.

3.3.1 Tørketid varmeskap

Prøven merket 2013-1143-01 ble veid inn med 20 replikater. Metoden ble utført som beskrevet med unntak av tørketiden i varmeskap for å fjerne vann. Etter at prøvene var hydrolysert ble 10 av prøvene tørket i varmeskap i 2 timer, mens de 10 siste prøvene ble tørket i 4 timer.

3.3.2 Forasking

Prøven merket 2014-1353-01 ble veid inn med 20 replikater. Samtlige av prøvene ble analysert etter metodebeskrivelsen fram til trinnet med fullstendig forbrenning i askeovn. 10 av replikatene ble forbrent etter metoden (600°C, 2 timer), mens de 10 siste parallellene ble forbrent etter Nofima BioLab sin vanlige prosedyre ved forbrenning i askeovn (550°C, 16 timer) (Nofima BioLab, 2006).

3.3.3 Avkjøling i tørr atmosfære

De to prøvene merket 2014-1353-01 og 2014-1355-01 ble veid inn med 10 replikater hver. For 5 av replikatene fra hver prøve ble metodebeskrivelsen fulgt. Det vil si at prøvene ble avkjølt via lukkeposer med silica gel innhold etter tørking i varmeskap. For de siste 5 replikatene ble metodebeskrivelsen fulgt, men med en variasjon i trinnet som omhandler avkjølingen. Prøvene ble avkjølt i en eksikator.

Dette ble gjentatt en gang til for prøven merket 2014-1353-01, men det ble nå veid ut 20 replikater, hvorav 10 ble avkjølt i lukkeposene, og 10 ble avkjølt i en eksikator.

3.3.4 Ulike innveinger

Prøven merket 2014-1355-01 ble veid inn med 7 ulike prøvemengder mellom 0,2 g til 2,0 g, og 3 replikater ved hver mengde. Analysene ble utført i henhold til metodebeskrivelsen.

3.3.5 Bruk av aceton ved tørking

Prøvene merket 2014-1143-01 og 2014-2512-01 ble veid inn med 10 replikater hver. For 5 av replikatene fra hver prøve ble metodebeskrivelsen fulgt. Dette innebærer at etter hydrolyseringen blir replikatene fortørket med å bløtes 5 min i aceton, lufttørket og så tørket i varmeskap. De siste 5 replikatene for hver prøve ble ikke fortørket med aceton, men de gikk direkte fra hydrolyseringen til varmeskap.

Dette ble gjentatt, men da kun med prøven merket 2013-1143-01. Det ble veid inn 20 replikater der 10 ble fortørket ved bruk av aceton, mens 10 ikke ble fortørket.

3.4 Måleområde

Metodebeskrivelsen oppgir ingen nedre eller øvre grense ved verken relativ- eller faktisk kvantifisering, men prøvene i den kollaborative metodeavprøvingen (se vedlegg 1) kan benyttes til sammenligning med hensyn til nivå. Siden metodeutførelsen er begrenset til å veie inn en prøvemengde på 0,95 – 1,0 vil den faktiske kvantifiseringen følge begrensningene til den relative kvantifiseringen. Det ble analysert et utvalg av prøver for å se på spredning ved ulike nivå, og for å sammenligne resultatene mellom ulike laboratorier.

3.5 Prøvematriks

De analyserte prøvene inneholdt ulike typer fôr og mel. Se Tabell 1 for oversikt over prøvematerialer.

Tabell 1 Oversikt over prøvematerialer benyttet under valideringen

Prøve nummer	Prøvemateriale
2013-1143-01	Grisefôr
2013-1355-01	Fiskefôr
2013-1353-01	Gluten fôr
2013-1886-01	Fiskefôr
2013-2512-01	Solsikkemel

I valideringen har det også blitt analysert på fiskefeces med den hensikt å kunne utføre analyser på denne typen prøver. Dette er ikke fullført, men det vil arbeides videre med dette.

4 Resultat og diskusjon

4.1 Riktighet

Resultatene for de 5 prøvene analysert ved ANKOM og Nofima er vist i Tabell 2. Her er det oppgitt resultater ved bruk av fiberanalysatoren ANKOM²⁰⁰⁰ ved både ANKOM Technology og Nofima, og den manuelle metoden A 80 ved Nofima og ringtestarrangørens resultater for de aktuelle ringtestene (AAFCO, Masterlab). Resultatene oppgitt i forbindelse med bruk av fiberanalysatoren ved Nofima BioLab er oppnådd under uttestingen av metodeparameterne under kapittel 3.3. Det ble oppnådd akseptable resultater mellom replikatene i samme analyseserie, men det ble observert små nivåforskjeller mellom de ulike prøveseriene. For rådata se vedlegg 3 , 4 og 6.

Tabell 2 Resultater for fiberanalysatoren ved ANKOM og Nofima, metoden A 80 ved Nofima og ringtestarrangørens resultater fra ringtestene

		2013-1143-01	2013-1355-01	2013-1353-01	2013-1886-01	2013-2512-01
Nofima Biolab	Replikater	1	1	1	1	1
A 80	Råtrevler [%]	2,4	3,5	0,3	2,3	20,3
Ringtester (Middelverdier)	Råtrevler [%]	2,85	3,23	0,84		
	Std. avvik_r	0,43	0,64	0,74		
	RSD_r [%]	15,1	19,8	88,1		
ANKOM (USA)	Replikater	3	3	3	3	3
	Råtrevler [%]	2,3	3,4	0,7	2,2	17,9
	Std. avvik_r	0,06	0,08	0,05	0,14	0,47
	RSD_r [%]	2,61	2,35	7,14	6,36	2,63
Nofima Biolab	Replikater	20	6	19	3	5
ANKOM²⁰⁰⁰	Råtrevler [%]	2,08	3,28	0,48	2,50	17,6
	Std. avvik_r	0,15	0,25	0,09	0,08	0,31
	RSD_r [%]	7,21	7,62	18,8	3,20	1,76

Differansen i prosent mellom de gjentakende analysene for hver enkelt prøve er vist i Tabell 3.

Tabell 3 Avvik i resultater fra sammenligningen mellom resultater fra bruk av fiberanalysatoren ved ANKOM og Nofima, metode A 80 ved Nofima og ringtester. Avvikene er oppgitt i prosent i forhold til resultatet for fiberanalysatoren ved Nofima

	Nofima Biolab A 80 Avvik [%]	Ringtester (Middelverdier) Avvik [%]	ANKOM (USA) Avvik [%]
2013-1143-01	15,4	37,0	10,6
2013-1355-01	6,70	-1,50	-3,66
2013-1353-01	-37,5	75,0	45,8
2013-1886-01	-8,00		-12,0
2013-2512-01	15,3		1,70

Metoden A 80 for analyse av Råtvler ved Nofima Biolab er ikke tidligere validert med tanke på riktighet, og kan derfor ikke gi en fullverdig sammenligning. Deltagelse i ulike ringtester (vedlegg 3) kan brukes som argumentasjon for en akseptabel riktighet. Disse ringtestene har derimot et høyt standardavvik, noe som ikke gjør de relevante til å benytte som en referanseverdi for validering av råtvleanalyse. Fokuset for sammenligning av riktighet bør her være mot ANKOM sine resultater ved bruk av fiberanalysatoren.

Prøven merket 2013-1353-01 ble ved analyse med fiberanalysatoren ved Nofima Biolab målt til å ha et lavt råtvleinnhold på 0,48%. Ut ifra Tabell 3 er det en differanse på 45,8% mellom målingene ved ANKOM sammenlignet mot Nofima Biolab. Ved å ta hensyn til repeterbarheten i metoden og den lave verdien av råtvleinnholdet, se avsnitt 4.5, er ikke denne verdien foruroligende. De resterende differansene mellom ANKOM og Nofima Biolab ved bruk av fiberanalysatoren kan forklares ut ifra en større RSD_r ved lavere innhold av råtvler i prøvene. Dette kan igjen skyldes homogeniteten i prøvene.

4.2 Presisjon

Ringtesten merket 2013-1143-01 ble analysert med 20 replikater. Resultatet er gitt i Tabell 4:

Tabell 4 Prøven merket 2013-1143-01 ble analysert etter metoden AOCs Ba 6a-05

Replikater	Gj.snitt råtvler [%]	Standardavvik	RSD [%]	r (Formel 2.3)
20	1,9	0,10	5,3	0,28

Den kollaborative undersøkelsen organisert av ANKOM omfattet 11 ulike prøvetyper der de ulike r verdiene ligger i området 0,26 – 1,23. Se vedlegg 1. Repeterbarhetsgrensen beregnet i tabell 4 anses dermed for å være akseptabel.

I Tabell 2 har prøvene analysert ved Nofima Biolab ved bruk av fiberanalysatoren en større RSD_r ved lavere innhold av råtvler. For å få det beste sammenligningsgrunnlaget sees disse spredningene mot resultatene fra den kollaborative metodeavprøvingen til ANKOM. Se Tabell 5.

Tabell 5 Utdrag fra den kollaborative metodeavprøvingen for ANKOM²⁰⁰⁰ arrangert av ANKOM Technology

Prøvens merking	Whole Corn	Cattle Feed	Alfalfa	Whole Soy	Poultry Starter	Calf Starter	Swine Feed	Horse Feed	Soy Meal	Pig Starter	Dog Food
Antall deltagere	11	10	11	10	11	11	9	10	11	11	10
Antall replikater	22	20	22	20	22	22	18	20	22	22	20
Snittverdi	1,69	14,44	22,62	9,60	4,65	10,73	17,27	6,21	3,70	2,83	1,25
RSD _r [%]	9,6	3,1	1,6	3,3	5,5	2,6	1,1	1,6	5,3	3,3	18,1
RSD _R [%]	11,4	3,1	2,9	5,0	5,8	3,1	1,6	4,3	6,0	6,0	24,5

I den kollaborative metodeavprøvingen gir de lavere verdiene et større RSD. Flere av prøvene analysert i denne valideringen befinner seg i lave områder, og enkelte har betydelig lavere verdi av RSD_r enn i den kollaborative metodeavprøvingen (13-1553-01). Ved en sammenligning ser det ut til at spredningen oppnådd ved bruk av fiberanalysatoren ANKOM²⁰⁰⁰ ved Nofima sammenfaller med

spredningen oppnådd ved den kollaborative metodeavprøvingen arrangert av ANKOM. Ut i fra de tilgjengelige statistiske dataene ser spredningen ut til å være god for de ulike prøvematerialene.

4.3 Test av metodeparametere (Robusthet)

Uttesting av variasjon i metodeparametere utført over et lengre tidsrom bidro til å gi et uttrykk for robustheten til metoden. Samtlige av variasjonene hadde liten eller ingen betydning på sluttresultatet.

4.3.1 Tørketid varmeskap

I en prøveserie ble det analysert 10 prøver etter metodebeskrivelsen, der tørketiden i varmeskap var 4 timer. I den samme prøveserien ble det utført en analyse 10 prøver med tørketid i varmeskap på 2 timer. Resultatene er vist i Tabell 6.

Tabell 6 Prøven merket 20 2013-1143-01 analysert etter metoden AOCS Ba 6a-05, men med variasjon i tørketid i varmeskap

Tørketid varmeskap [timer]	Replikater	Gj.snitt råtvler [%]	Standardavvik	RSD [%]
2	10	2,0	0,18	9,0
4	10	2,1	0,11	5,2

Det er relativt liten differanse mellom resultatene for de to metodevariasjonene. Det ble beregnet en t-test som gav ingen signifikante avvik mellom de to resultatsettene. Se vedlegg 4 og 5.

4.3.2 Forasking

I den samme prøveserien ble 10 av prøvene forbrent i askeovnen etter metodebeskrivelsen ved 600°C i 2 timer, og 10 prøver ble forbrent i askeovnen ved 550°C i 16 timer. Resultatene er vist i Tabell 7.

Tabell 7 Prøven merket 2013-1353-01 analysert etter metoden AOCS Ba 61-05, men med variasjon i forbrenningstiden og -temperaturen

Prøve nr.	Replikater	Temperatur i askeovn [°C]	Antall timer i askeovn [timer]	Gj.snitt råtvler [%]	Standardavvik	RSD [%]
2013-1353-01	10	600	2	0,5	0,08	16
2013-1353-01	10	550	16	0,5	0,11	22

Differansen i forbrenningstemperatur på 50°C og forbrenningstiden ble mistenkt å ha en minimal betydning på resultatet. Rutinen med forbrenningen ved 550°C ved 16 timer antas å stamme fra den praktiske tilretteleggingen med andre metoder som benytter den samme askeovnen. Resultatene bekrefter da også dette. Det ble utført en t-test mellom de to resultatsettene og det gav ingen signifikante avvik. Se vedlegg 6 og 7.

4.3.3 Avkjøling i tørr atmosfære

I følge metoden skal fiberposene med prøvemateriell gjennom en hydrolysering, tørking og så avkjøling i tørr atmosfære. Metoden til ANKOM beskriver spesifikt at denne avkjølingen skal foregå i lukkede zip

poser med silica gel materiale. Nofima BioLab sine metoder benytter eksikator ved sine avkjølinger i tørr atmosfære. For resultatene fra de to analyseseriene se Tabell 8 og Tabell 9.

Tabell 8 Prøvene merket 2013-1353-01 og 20 2013-1355-01 ble analysert etter metoden AOCS Ba 6a-05, men med variasjon i type utstyr for nedkjøling etter varmeskap

Prøve nr	Replikater	Tørr atmosfære	Gj.snitt råtrevler [%]	Standardavvik	RSD [%]
20131353-01	5	Silicapose	0,4	0,16	40
2013-1353-01	5	Eksikator	0,2	0,04	20
2013-1355-01	5	Silicapose	3,9	0,39	10
2013-1355-01	5	Eksikator	3,8	0,38	10

Tabell 9 Prøve 2013- 2013-1353-01 ble analysert etter metoden AOCS Ba 6a-05, men med variasjon i utstyr for nedkjøling etter varmeskap

Prøve nr	Replikater	Tørr atmosfære	Gj.snitt råtrevler [%]	Standardavvik	RSD [%]
20131353-01	10	Silicapose	0,5	0,06	12
2013-1353-01	10	Eksikator	0,5	0,04	8

Differansen mellom de to parameterendringene er relativt små både i verdi og standardavvik. Det ble utført en t-test for å se på avviket, og resultatene fra Tabell 8 og Tabell 9 ble kombinert. T-testen viste ingen signifikante avvik. Se vedlegg 9 og 10.

4.3.4 Ulike innveieringer

Metodebeskrivelsen ved bruk av fiberanalysatoren (AOCS Ba 6a-05, 2005) begrenser innveid prøve til å ligge mellom 0,95-1,0 g. Ved analyse av enkelte prøver vil det ikke være nok prøvemengde tilgjengelig, og av den grunn vil det være av interesse å vite om det kan veies inn mindre mengder prøve. Dette ble testet ut og resultatet er oppgitt i Tabell 10.

Tabell 10 Prøven merket 2013-1355-01 ble analysert etter metoden AOCS Ba 6a-05, men med variasjon i innveid prøvemengde

Replikater	Innveid mengde [g]	Gj.snitt råtrevler [%]	Standardavvik	RSD [%]
3	2,0	4,3	0,19	4,4
3	1,5	4,0	0,46	11,5
3	1,0	3,7	0,20	5,4
3	0,8	3,6	0,27	7,5
3	0,6	3,1	0,29	9,4
3	0,4	3,3	0,30	9,1
3	0,2	3,1	0,23	7,4

Resultatene viser en tydelig trend på lavere innhold av råtrevler når innveid mengde prøve blir redusert. Forskjellen på innholdet av råtrevler ved de laveste og de høyeste innveide mengdene prøve er 30%. For rådata se vedlegg 11.

Det ble utført en t-test og en f-test som sammenligner disse resultatene mot resultatet for riktigheten fra Tabell 2. Det ble funnet signifikante avvik mellom resultatene. For beregningene se vedlegg 12. Ved bruk av fiberanalysatoren ANKOM²⁰⁰⁰ skal mengde innveid prøve være som beskrevet i metoden.

4.3.5 Bruk av aceton ved tørking

Den oppgitte metoden ved bruk av fiberanalysatoren inneholder et fortørkettrinn som involverer aceton. På bakgrunn av kjemikaliebesparelse og HMS hensyn benyttes ikke dette trinnet, og av den grunn ble det utført en sammenligning. Resultatene fra den første uttestingen hadde noe variasjon i resultatene, se Tabell 11. Analysene ble gjentatt med kun en prøve, men med flere replikater. Se Tabell 12.

Tabell 11 Prøvene merket 2013- 2013-1143-01 og 2013- 2013-2512-01 ble analysert etter metoden AOCs Ba 6a-05, men med variasjon i fortørkettrinnet med aceton

Prøve nr	Replikater	Fortørking	Gj.snitt råtevler [%]	Standardavvik	RSD [%]
2013-1143-01	5	Aceton	2,0	0,3	15
2013-1143-01	5	Ingen	2,2	0,07	3,2
2013-2512-01	5	Aceton	17,4	0,34	2,4
2013-2512-01	5	Ingen	18,0	0,85	4,7

Tabell 12 Prøven merket 2013-1143-01 ble analysert etter metoden AOCs Ba 6a-05, men med variasjon i fortørkettrinnet med aceton

Prøve nr	Replikater	Fortørking	Gj.snitt råtevler [%]	Standardavvik	RSD [%]
2013-1143-01	9	Aceton	2,2	0,18	8,2
2013-1143-01	10	Ingen	2,3	0,15	6,5

Det ble beregnet en F-test og t-test med et konfidensintervall på 95% som ga ingen signifikante avvik for prøven 2013-2512-01, men det ga et signifikant avvik ved F-test for prøven 2013-1143-01. Beregningen for 2013-1143-01 er basert på en sammenslåing av resultatene fra begge analyseseriene. Beregningene ga en F-verdi på 2,94, mens den avleste tabellverdien var 2,51. Differansen mellom verdiene var ikke betydelig. Under de samme betingelsene ga t-testen ingen signifikante avvik. Ved beregning med et konfidensintervall på 99% ble det ingen signifikante avvik for både f-test og t-test. For rådata og beregninger se vedlegg 13 og 14.

4.4 Måleområde

Ved undersøkelse av presisjonen til metoden ble repeterbarheten funnet til å være godkjent ved å sammenligne mot spredning i ANKOM sin kollaborative metodeavprøving. De tre prøvene 2013-1143-01, 2013-1353-01 og 2013-2512-01 er på ulike nivå med råtevler-innhold, og de gir alle en akseptabel spredning (vedlegg 15). I forbindelse med valideringen ble de tre prøvene analysert opptil flere ganger under like betingelser, men over en lengre periode, for å se på reproducerbarheten. Se Tabell 13.

Tabell 13 Prøvene merket 2013-1143-01, 2013-1353-01 og 2013-2512-01 analysert etter metoden AOCS Ba 6a-05 ved Nofima Biolab

Prøve nr.	Replikater	Gjennomsnitt råtvler [%]	RSD _R [%]
2013-1353-01	54	0,49	26,5
2013-1143-01	81	2,09	9,57
2013-2512-01	28	17,7	2,42

RSD_R viser en tydelig tendens til å øke ved lavere nivå av råtvler. Fra den kollaborative metodeavprøvingen i Tabell 5 har prøven med det laveste råtvler-nivået har et snitt på 1,25%, og en RSD_R på 24,5. Sammenlignet med Nofima Biolabs resultat for RSD på 26,0 er dette en relativt lik spredning.

Selv om spredningen stemmer overens med det som kan forventes er det fortsatt en relativt stor økning i RSD_R ved konsentrasjoner av råtvler på 2,0% og lavere. Repeterbarheten er fortsatt ok, men reproduserbarheten har stor spredning og vil gi en større usikkerhet i dette området. Av den grunn deles måleområdet i to deler. En nedre del ved 0,1 - 1,9%, og en øvre del ved 2,0 - 30%. Det har ikke blitt kommentert i metoden eller i den kollaborative metodeavprøvingen hvor høyt råtvler-innhold som kan analyseres, men den høyeste analyserte verdien i metodeavprøvingen er på 22,67%. Det antas at usikkerheten også vil være gjeldende med høyere verdier. Tidligere har Nofima Biolab analysert råtvlerinnhold opp til 29,1% på fiskefôrprøver ved metode A 80. Av den grunn settes den øvre kvantifiseringsgrensen på den nye metoden til 30%.

4.5 Måleusikkerhet

I denne valideringen er det kun den eksperimentelle måleusikkerheten som blir beregnet. I avsnitt 4.4 ble måleområdet delt i to deler. Måleusikkerheten beregnes for hvert måleområde.

4.5.1 Nedre område 0,1 – 1,9%

Beregningene ble utført på bakgrunn av gjentatte analyser av den samme prøven (13-1353-01). U_{LAB} ble beregnet ut ifra 52 identiske analyser spredt over 4 ulike dager. Den totale måleusikkerheten (U_c) ble funnet til å være 59%. Beregningene ble utført ved bruk av formel 2.3 og formel 2.5. For beregningene se vedlegg 16.

4.5.2 Øvre område 2,0% - 30%

Beregningene ble utført på bakgrunn av gjentatte analyser av de fire prøvene 2013-1143-01, 2013-1355-01, 2013-1886-01 og 2013-2512-01. Den totale måleusikkerheten (U_c) ble funnet til å være 12%. Beregningene ble utført ved bruk av formel 2.3 og formel 2.5. For beregningene se vedlegg 17.

4.5.3 Akseptert avvik mellom paralleller

Ved bruk av denne metoden vil det bli analysert 2 replikater for hver prøve. Dette er for å opprettholde en kontroll over presisjonen i resultatene. Ved bruk av formel 2.2 ble repeterbarheten r beregnet for de to måleområdene. Se Tabell 14.

Tabell 14 Den beregnede repeterbarheten r for de to måleområdene

Måleområde	S_r	r
0,1 – 1,9%	0,061	0,172
2,0 – 30%	0,314	0,889

Den beregnede repeterbarheten for det nedre området er kun basert på den ene prøven (13-1353-01), og den befinner seg i det nedre sjiktet i måleområdet. Repeterbarhetsgrensen på 0,172 er i praksis for streng med tanke på gjennomføring av metoden, og på bakgrunn av den høye måleusikkerheten settes repeterbarhetsgrensen til 0,300.

Den beregnede repeterbarheten for det øvre området er basert på flere prøver med ulike nivåer. De fleste prøvene analysert ved Nofima Biolab vil ligge i det nedre sjiktet i det øvre området, og en repeterbarhetsgrense på 0,889 vil være for høy. Denne repeterbarhetsgrensen settes til 0,500.

4.5.4 Måleusikkerhetsbidrag

Det ble foretatt en vurdering av bidrag til måleusikkerheten i metoden. Det ble satt opp fire punkter som er kritisk i forhold til metodeutførelsen. Se Tabell 15.

Tabell 15 Bidrag til måleusikkerheten ved analyse av råtrevler med fiberanalysator

Kilde til måleusikkerhet	Bidrag til måleusikkerhet		
	Lite bidrag	Middels bidrag	Stort bidrag
1 Tillaging H_2SO_4 , NaOH	X		
2 Avfetting		X	
3 Bruk av analysevekt			X
4 Bruk av ANKOM ²⁰⁰⁰	X		

Tillaging av løsninger vil ha liten betydning for måleusikkerheten på grunn av det relativt store volumet prøvene blir hydrolysert med.

Ved avfetting kan små partikler under 25 μm gå gjennom fiberposen, og dermed kan det forårsake et avvik på opptil 0,5% (AOCS Ba 6a-05, 2005). For at dette skal ha påvirkning på resultatet må det være råtrevler som passerer gjennom fiberposene, da andre typer materiale vil passere gjennom under hydrolyseringen.

Etter forbrenning i askeovnen er det relativt lite prøvemateriale igjen. Ved veiing av prøven ved dette trinnet vil usikkerheten til vekten utgjøre et stort bidrag. Usikkerheten vil likevel ikke påvirke resultatet nevneverdig,

Programvaren til ANKOM²⁰⁰⁰ er brukervennlig, og det er enkelt å starte en analyse. For å gjøre feil her må feil type program velges, og de er ulike programmene er navngitt i instrumentet.

5 Konklusjon

Ut ifra det statistiske grunnlaget fra de utførte analysene hos Nofima Biolab, ANKOM og den kollaborative metodeavprøvingen (arrangør ANKOM) anses riktigheten og presisjonen til å være godkjent.

Metoden er delt inn i to måleområder med ulike måleusikkerheter og godkjente differanser mellom paralleller. En oversikt over de to områdene og tilknyttede begrensinger er vist i Tabell 16.

Tabell 16 Oversikt over total måleusikkerhet (U_c) og godkjente avvik mellom paralleller for måleområdene

Måleområde [%]	Total måleusikkerhet (U _c) [%]	Godkjent avvik mellom paralleller
0,1 – 1,9	59	0,3
2,0 – 30,0	12	0,5

Av praktiske årsaker ble det ble testet ut en del endringer i metodeutførelsen til AOCS Ba 6a-05, og de fleste av disse ble funnet til ikke å forårsake signifikante avvik Ved bruk av ANKOM²⁰⁰⁰ ved Nofima Biolab skal parameterne under 'Nofima Biolab' i Tabell 17 benyttes.

Tabell 17 Oppsummering over variasjon av metodeparametere

Metodeparameter	AOCS Ba 6a-05	Nofima Biolab	Signifikante avvik t-test
Tørketid varmeskap	4 timer	2 timer	Nei
Forasking	600°C, 2 timer	550°C, 16 timer	Nei
Avkjøling i tørr atmosfære	Bruk av lukkeposer med silicagel poser	Bruk av eksikator	Nei
Ulike innveinger	0,95 – 1,0 g	0,95 – 1,0 g	Ja
Bruk av aceton ved tørking	Bruk av aceton	Ikke bruker av aceton	Ja

Gjenstående arbeid med metoden er videre uttesting rundt analyser av fiskefeces.

Metoden er ferdig validert og gyldig fra og med 10.10.14 for prøvetyper av fôr, fôringredienser og mel.

6 Litteratur

Association of Official Agriculture Chemists (AOAC), 978.10, 'Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food', sist redigert 1979.

American Oil Chemists' Society (AOAC), Ba 6a-05, 'Crude Fiber Analysis in Feeds by Filter Bag Technique, godkjent 2005.'

NMKL (Nordisk metodikkomitè for næringsmidler), (2009), NMKL-Prosedyre NR.4, "Validering av kjemiske analysemetoder", 46 s.

ISO (1994 a), Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions (5725-1), International Organization for Standardization, 17 s.

ISO (1994 b), Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 6: Use in practice of accuracy values (5725-6), International Organization for Standardization, 41 s.

G.H.Jeffery, J.Basset, J.Mendham, R.C.Denney, 'Textbook of Quantitative Chemical Analysis', 5th Edition, 1989, Longman Scientific & Technical.

Nofima BioLab, 'A 80 Råtvler', 2006.

VEDLEGG

Vedlegg 1: Valideringsplan råtrevler

	Analysemetode:	Råtrevler
	Metode nr.:	A80
	Metodeansvarlig:	Tor-Arne Krakeli
	Metodereferanse:	Gammel metode: AOAC 978.10, Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food. Ny metodereferanse: AOCS Ba 6a-05, Crude Fiber Analysis in Feeds by Filter Bag Technique.
	Trinn	
1	Grad av tidligere ekstern validering:	Instrumentet er utprøvd på en metode (AOAC Ba 6a-05) hos produsenten, som det har blitt utført et kollaborativt studie på. Dette gjelder Filter Bag teknologien. Denne metoden har også sammenlignet resultatene med laboratorier som utfører metoden AOCS Ba 6-84, AOCS 962.09. Dette gjelder da Crude Fiber.
2	Valideringsomfang:	<p>1. Presisjon</p> <ul style="list-style-type: none"> • Repeterbarhet: Vurdere resultatene av 5 stk analyser av ringtestene 13-1355-01 og 13-1353-01. Sammenlign med tidligere oppnådd resultater og benytte måleusikkerheten (U_{SSF}) for de respektive ringtestene. <p>2. Riktighet</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vurdere resultatene av ringtestene 13-1143-01 og 12-4950-01. Sammenlign med den tidligere måleusikkerheten (U_{SLP}) for ringtestene. <p>3. Nedre- og øvre måleområde</p> <ul style="list-style-type: none"> • En ringtest med et lavt innhold av råtrevler (13-1353-01) og en ringtest med et høyt innhold av råtrevler (12-2012-01) analyseres for å teste de yttre måleområdene. <p>4. Sammenligning:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reanalysering av prøver som tidligere har blitt analysert på metoden A80 Råtrevler og med fiberanalysatoren 'ANKOM²⁰⁰⁰ Fiber Analyzer' ved ANKOM. Dette utføres på 'ANKOM²⁰⁰⁰ Fiber Analyzer' ved laboratoriene til Nofima BioLab. 3 Stk av 13-1143-01, 13-1353-01, 13-1355-01, 13-1731-01, 13-1886-01, 13-1197-01 og 13-2512-01.

3	Avvik fra metodereferanse:	Nye metodereferanse. Bruk av Filter Bag teknologi.		
Punkt	Valideringspunkter	Aktivitet og krav	Utføres av:	Tidsplan:
1	Repeterbarhet	Repeterbarheten skal ligge innenfor kravene til måleusikkerhet i tidligere utført ringtester (U_{SSF}).	TAK	⁴¹² Uke 3/4 TAK 17.10.14
2	Riktighet	Resultatene av ringtestprøvene skal ligge innenfor kravene for måleusikkerhet (U_{SLP}) til ringtestene.	TAK	⁴¹² Uke 3/4 TAK 17.10.14
3	Nedre og øvre område	De to ringtestprøvene skal ligge innenfor kravene til måleusikkerhet i ringtestene.	TAK	⁴¹² Uke 3/4 TAK 17.10.14
4	Sammenligning	Resultatene skal ligge innenfor standardavviket til tidligere analyser fra ANKOM.	TAK	⁴¹² Uke 3/4 TAK 17.10.14

Skal leses av	Initialer	Dato	Signatur
Kvalitetsleder:	BB	1.10.14	BB
Leder A-lab.:	AB	06.01.2014	AB
Nestleder A-lab.:			

Vedlegg 2: Kollaborativ metodeavprøving (ANKOM Technology)



Crude Fiber Method

Method 1

Table 1. Results of the international collaborative study of the Filter Bag Technique for crude fiber compared with three laboratories using an Official Crude Fiber Method.

Collaborative Laboratory No.	Rep	Whole Corn	Cattle Feed	Alfalfa	Whole Soy	Poultry Starter	Calf Starter	Swine Feed	Horse Feed	Soy Meal	Pig Starter	Dog Food
% Crude Fiber												
1	1	2.1	14.5	22.6	9.8	4.7	11.0	17.5	6.4	3.7	2.8	1.3
	2	1.8	14.2	22.4	9.9	4.9	10.7	17.2	6.5	4.0	2.9	1.3
2	1	1.7	14.8 C	22.5	7.2 C	4.4	10.4	17.4	5.8	3.4	2.6	7.1 C
	2	2.0	20.2 C	23.0	10.1 C	4.7	11.1	17.4	6.0	3.5	2.8	1.0 C
3	1	1.6	14.1	22.5	10.1	4.6	10.8	17.6	6.6	3.9	3.1	2.0
	2	1.9	14.6	22.5	10.3	4.7	10.9	17.6	6.8	4.0	3.2	1.6
4	1	1.6	14.2	22.2	9.5	4.4	10.6	17.1	6.2	3.4	3.0	1.3
	2	1.7	14.7	22.2	9.9	4.7	10.5	16.9	6.4	3.7	2.9	1.3
5	1	1.5	13.9	22.7	9.5	4.8	10.5	17.3	5.9	3.6	2.8	1.3
	2	1.8	14.5	22.4	10.1	4.7	10.5	17.6	6.0	3.5	2.7	1.4
6	1	1.8	14.1	22.6	9.3	4.7	10.9	17.2	6.3	3.7	2.8	1.2
	2	2.0	14.3	21.9	9.4	4.5	10.4	17.2	6.1	3.8	3.0	1.3
7	1	1.7	14.5	24.0	10.0	4.8	10.7	17.4	6.1	3.7	3.0	1.2
	2	1.5	14.8	23.6	10.0	4.3	10.4	17.4	6.2	4.0	2.9	1.1
8	1	1.6	15.0	22.3	9.3	4.6	10.7	17.4 C	6.0 C	3.7	2.5	0.5
	2	1.6	14.4	22.9	10.0	4.3	10.8	2.4 C	5.2 C	3.4	2.6	1.1
9	1	1.4	14.4	21.9	8.9	4.6	10.4	17.0	5.9	3.4	2.7	1.3
	2	1.8	14.3	22.6	9.6	4.2	10.4	16.6	5.9	3.7	2.7	1.2
10	1	1.7	14.1	21.4	9.3	4.5	10.8	17.0	6.3	3.8	2.9	1.4
	2	1.7	14.2	22.1	9.8	4.8	10.9	17.3	6.3	3.6	2.8	1.4
11	1	1.4	14.3	23.3	8.5	4.7	10.9	17.7 C	6.1	3.6	2.8	1.3
	2	1.5	15.9	24.1	8.9	5.5	11.9	19.1 C	6.2	4.2	2.9	0.6
Mean		1.69	14.44	22.62	9.60	4.65	10.73	17.27	6.21	3.70	2.83	1.25
Official Method Laboratories ^a												
% Crude Fiber												
Central Analytical		1.8	14.5	23.0	10.2	4.4	9.3 G	14.7 G	6.8	2.9	1.9 G	3.4 G
Hahn Laboratories, Inc.		2.0	14.0	21.2	8.4	4.2	10.6	17.4	5.7	4.2	2.9	1.6
SDSU Olson Bio. Lab		2.4	14.2	23.8	10.1	4.6	10.8	17.4	6.8	4.1	2.8	1.3
Mean		2.05	14.23	22.67	9.57	4.40	10.70	17.40	6.43	3.73	2.85	1.45

Outliers: C-Chochran, G-Grubbs, DG-Double Grubbs

^a AOCS Official Method Ba 6-84, AOAC 962.09

Table 2. Summary of the statistical analysis of the Filter Bag Technique crude fiber collaborative study, including comparison with the Official Method.

Sample type	Whole Corn	Cattle Feed	Alfalfa	Whole Soy	Poultry Starter	Calf Starter	Swine Feed	Horse Feed	Soy Meal	Pig Starter	Dog Food
Number of laboratories	11	10	11	10	11	11	9	10	11	11	10
Number of replicates	22	20	22	20	22	22	18	20	22	22	20
Overall FBT mean	1.69	14.44	22.62	9.60	4.65	10.73	17.27	6.21	3.70	2.83	1.25
Official Method mean ^a	2.05	14.23	22.67	9.57	4.40	10.70	17.40	6.43	3.73	2.85	1.45
S _p	0.16	0.44	0.36	0.32	0.26	0.28	0.18	0.10	0.20	0.09	0.23
S _R	0.19	0.44	0.67	0.48	0.27	0.33	0.28	0.27	0.22	0.17	0.31
RSD _p , %	9.6	3.1	1.6	3.3	5.5	2.6	1.1	1.6	5.3	3.3	18.1
RSD _R , %	11.4	3.1	2.9	5.0	5.8	3.1	1.6	4.3	6.0	6.0	24.5
r	0.46	1.23	1.00	0.88	0.72	0.80	0.51	0.27	0.55	0.26	0.64
R	0.54	1.23	1.86	1.34	0.75	0.94	0.78	0.75	0.62	0.48	0.86
HORRAT VALUE	3.07	1.14	1.18	1.75	1.82	1.11	0.62	1.42	1.83	1.75	6.34

^a Official Method AOCS Ba 6-84/AOAC 962.09

Vedlegg 4: Tørketid varmeskap

Dato:	19.05.2014	01 - 10 =2 t tørk
Signatur	JSJ	11 - 20 =4 t tørk
C1:	0,9880	

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedigel	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5086		30,3271	30,3271	0,5027	0	0,5027	-		
2	Blank	0,4805		25,0619	25,0631	0,4749	0,0012	0,4737	-		
3	Blank	0,5054		30,6053	30,6055	0,4989	0,0002	0,4987	-		
4	1143-01	0,542	0,9968	26,7693	26,7721	0,557	0,0028	0,5542	1,9		
5	1143-02	0,4906	1,0035	28,9034	28,9069	0,5097	0,0035	0,5062	2,1		
6	1143-03	0,5039	0,9743	25,5019	25,5043	0,5205	0,0024	0,5181	2,1		
7	1143-04	0,5076	0,9839	25,7598	25,7627	0,5236	0,0029	0,5207	2,0		
8	1143-05	0,5254	0,9642	30,5038	30,5064	0,5403	0,0026	0,5377	1,9		
9	1143-06	0,5242	0,9721	33,5201	33,5254	0,5472	0,0053	0,5419	2,5		
10	1143-07	0,5062	0,9983	25,0584	25,0629	0,5261	0,0045	0,5216	2,2		
11	1143-08	0,4932	0,9936	32,2545	32,2572	0,5096	0,0027	0,5069	2,0		
12	1143-09	0,4955	0,984	29,7698	29,7729	0,5109	0,0031	0,5078	1,9		
13	1143-10	0,5376	0,9549	25,0399	25,042	0,5524	0,0021	0,5503	2,0	2,0	0,18
14	1143-11	0,5097	0,9754	26,1445	26,149	0,5311	0,0045	0,5266	2,4		
15	1143-12	0,5243	0,965	26,1932	26,1962	0,5423	0,003	0,5393	2,2		
16	1143-13	0,5098	0,9997	25,0446	25,0471	0,5271	0,0025	0,5246	2,1		
17	1143-14	0,4997	0,9746	30,3937	30,3969	0,518	0,0032	0,5148	2,2		
18	1143-15	0,5118	0,9537	26,1395	26,1427	0,529	0,0032	0,5258	2,1		
19	1143-16	0,5356	0,991	29,8607	29,8645	0,5537	0,0038	0,5499	2,1		
20	1143-17	0,5107	0,9992	25,861	25,8641	0,5286	0,0031	0,5255	2,1		
21	1143-18	0,4969	0,9729	26,7164	26,7188	0,5127	0,0024	0,5103	2,0		
22	1143-19	0,544	0,9958	25,6644	25,6675	0,5608	0,0031	0,5577	2,0		
23	1143-20	0,5257	1,0013	30,7682	30,7711	0,5424	0,0029	0,5395	2,0	2,1	0,11

Prøvene merket 13-1143-01, 13-1355-01, 13-1886-01 og 13-2512-01 er analysert i den samme prøveserien. Variasjon i tørketid i varmeskap. Ikke benyttet i vurdering av tørketid varmeskap på grunn av for få paralleller.

Dato: 24.03.201
4
Signatur: JSJ

C1: 0,9949

Askeovn
550°C
01-03 Tørketid varmeskap 2 timer
04-06 Tørketid varmeskap 4 timer

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedige l	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5113		29,6648	29,6646	0,5092	-0,0002	0,5094	-		
2	Blank	0,5064		27,9335	27,934	0,503	0,0005	0,5025	-		
3	Blank	0,5028		29,2849	29,284	0,5	-0,0009	0,5009	-		
4	1143-01	0,5294	0,997	33,3328	33,3341	0,5517	0,0013	0,5504	2,4		
5	1143-02	0,5087	1,0186	31,1192	31,1228	0,5332	0,0036	0,5296	2,3		
6	1143-03	0,5262	0,9998	25,0636	25,0652	0,5474	0,0016	0,5458	2,2	2,3	0,07
7	1143-04	0,5053	1,0112	34,9598	34,9611	0,5252	0,0013	0,5239	2,1		
8	1143-05	0,5305	0,9963	25,0403	25,0417	0,5493	0,0014	0,5479	2,0		
9	1143-06	0,5087	1,0179	32,8662	32,8679	0,5299	0,0017	0,5282	2,2	2,1	0,08
10	1355-01	0,5495	1,0146	30,5045	30,5057	0,5858	0,0012	0,5846	3,7		
11	1355-02	0,5283	1,0004	26,1342	26,1357	0,5591	0,0015	0,5576	3,2		
12	1355-03	0,5177	0,9932	25,472	25,4736	0,5488	0,0016	0,5472	3,2	3,4	0,30
13	1355-04	0,5307	0,9773	30,8076	30,808	0,5611	0,0004	0,5607	3,3		
14	1355-05	0,5324	0,9632	33,4182	33,419	0,561	0,0008	0,5602	3,2		
15	1355-06	0,5326	1,0096	26,1463	26,1471	0,5609	0,0008	0,5601	3,0	3,2	0,18
16	1886-01	0,5378	1,0071	25,8605	25,8618	0,5617	0,0013	0,5604	2,5		
17	1886-02	0,4887	1,0019	30,8254	30,8259	0,511	0,0005	0,5105	2,4		
18	1886-03	0,5397	0,9871	30,0587	30,0596	0,5633	0,0009	0,5624	2,6	2,5	0,08
19	2512-01										
20	2512-02	0,5306	0,9717	25,0444	25,0475	0,6991	0,0031	0,696	17,3		
21	2512-03	0,5303	0,9815	30,0431	30,0461	0,7043	0,003	0,7013	17,7	17,5	0,28
22	2512-04	0,5002	0,9874	30,6069	30,6091	0,671	0,0022	0,6688	17,3		
23	2512-05	0,5262	0,9921	31,5529	31,5554	0,7032	0,0025	0,7007	17,9		
24	2512-06	0,5279	0,9983	26,1408	26,1441	0,7081	0,0033	0,7048	18,0	17,7	0,35

Vedlegg 5: F-test, t-test ved tørketid i varmeskap

2 timer varmeskap		4 timer varmeskap	
Mean (X_1)	2,000	Mean (X_2)	2,100
Standardavvik (S_1)	0,180	Standardavvik (S_2)	0,11
Antall (n_1)	10	Antall (n_2)	10

F-test	2,68
Avlest F-verdi tabell (5%)	3,18
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller
"Pooled" standardavvik (S_p)	0,15
t-test (5%)	1,50
Ant. Frihetsgrader	18
Avlest t-verdi tabell	2,10
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller

Vedlegg 6: Variasjon temperatur og forbrenningstid i askeovn

Parallellene fra prøven merket 13-1353-01 er behandlet fra den samme analyseserien.
Variasjon i forbrenning i askeovn.

Dato:	26.05.2014	01 - 10 550°C
Signatur	JSJ	11 - 20 600°C
C1:	0,9872	

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedigel	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,526		31,1032	31,1019	0,5181	-0,0013	0,5194	-		
2	Blank	0,5011		37,5775	37,5761	0,4937	-0,0014	0,4951	-		
3	Blank	0,5154		39,9696	39,9692	0,5079	-0,0004	0,5083	-		
4	1353-01	0,5008	0,9796	40,2998	40,2989	0,4997	-0,0009	0,5006	0,6		
5	1353-02	0,5266	0,9916	38,8771	38,8771	0,5245	0	0,5245	0,5		
6	1353-03	0,5155	0,9856	39,437	39,4371	0,5136	0,0001	0,5135	0,5		
7	1353-04	0,5129	0,984	37,2805	37,2808	0,5115	0,0003	0,5112	0,5		
8	1353-05	0,5062	0,983	40,536	40,5366	0,5048	0,0006	0,5042	0,5		
9	1353-06	0,5118	0,9661	40,609	40,6695	0,5102	0,0605	0,4497	-5,8		
10	1353-07	0,5097	0,9943	38,7481	38,749	0,5074	0,0009	0,5065	0,3		
11	1353-08	0,4984	1,01	39,2228	39,224	0,4968	0,0012	0,4956	0,4		
12	1353-09	0,5218	0,9853	40,8287	40,8274	0,5204	-0,0013	0,5217	0,7		
13	1353-10	0,4944	0,9918	39,34	39,3412	0,4931	0,0012	0,4919	0,4	0,5	0,11
14	1353-11	0,4878	0,9957	39,0005	39,0015	0,4861	0,001	0,4851	0,4		
15	1353-12	0,5144	0,9992	40,6678	40,6688	0,5127	0,001	0,5117	0,4		
16	1353-13	0,4895	1,0076	40,0264	40,0271	0,4885	0,0007	0,4878	0,5		
17	1353-14	0,5609	0,9774	40,8927	40,8933	0,5592	0,0006	0,5586	0,5		
18	1353-15	0,5366	0,9977	39,4954	39,4961	0,5355	0,0007	0,5348	0,5		
19	1353-16	0,5161	0,9879	37,3823	37,3821	0,5147	-0,0002	0,5149	0,5		
20	1353-17	0,5095	0,9568	39,526	39,5251	0,5072	-0,0009	0,5081	0,5		
21	1353-18	0,49	1,0056	39,2469	39,2456	0,4883	-0,0013	0,4896	0,6		
22	1353-19	0,5052	0,9784	40,105	40,1039	0,503	-0,0011	0,5041	0,5		
23	1353-20	0,5327	0,9929	31,1184	31,116	0,5291	-0,0024	0,5315	0,6	0,5	0,08

Prøvene merket 13-1355-01 og 13-2512-01. Prøvene analysert ved ulike forbrenningsbetingelser er behandlet fra ulike analyseserier.

Dato: 09.04.2014
 Signatur: JSJ
 C1: 0,9886
 Askeovn
 550°C

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedige l	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest forasking	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5371		34,959	34,9603	0,5308	0,0013	0,5295	-		
2	Blank	0,5385		29,2847	29,2844	0,531	-0,0003	0,5313	-		
3	Blank	0,5289		25,0625	25,0641	0,5269	0,0016	0,5253	-		
4	1355-01	0,5126	0,9716	27,9321	27,9342	0,5419	0,0021	0,5398	3,4		
5	1355-02	0,4905	1,0072	29,6637	29,6661	0,5196	0,0024	0,5172	3,2		
6	1355-03	0,5006	0,9905	31,1181	31,1191	0,5308	0,001	0,5298	3,5		
7	1355-04	0,5166	0,9651	31,5517	31,5542	0,5429	0,0025	0,5404	3,1		
8	1355-05	0,5172	1,0035	33,3323	33,3338	0,5472	0,0015	0,5457	3,4	3,3	0,18
9	2512-01	0,5279	0,9977	25,0438	25,0498	0,7143	0,006	0,7083	18,7		
10	2512-02										
11	2512-03	0,5171	0,9978	25,8605	25,8644	0,6865	0,0039	0,6826	17,2		
12	2512-04	0,5147	0,9824	30,8303	30,8306	0,6856	0,0003	0,6853	18,0		
13	2512-05	0,514	0,992	30,043	30,0472	0,6908	0,0042	0,6866	18,0	18,0	0,62

Dato: 08.04.2014
 Signatur: JSJ

Askeovn
 600°C

C1: 0,9958

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedige l	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5247		26,7407	26,7408	0,5215	1E-04	0,5214	-		
2	Blank	0,5307		32,9078	32,9075	0,5278	-0,0003	0,5281	-		
3	Blank	0,5218		29,2206	29,22	0,5205	-0,0006	0,5211	-		
4	1355-01	0,5489	1,0129	26,3611	26,362	0,5877	0,0009	0,5868	4,0		
5	1355-02	0,5506	0,9998	24,811	24,8115	0,5798	0,0005	0,5793	3,1		
6	1355-03	0,5351	1,015	26,7159	26,7178	0,5728	0,0019	0,5709	3,7		
7	1355-04	0,5248	1,0139	33,5221	33,5232	0,5652	0,0011	0,5641	4,1		
8	1355-05	0,5258	0,957	29,7697	29,771	0,5563	0,0013	0,555	3,3	3,6	0,43
9	2512-01	0,5404	0,9768	32,6383	32,641	0,7131	0,0027	0,7104	17,6		
10	2512-02	0,5406	0,9987	26,5939	26,598	0,7291	0,0041	0,725	18,7		
11	2512-03	0,523	1,0025	25,6826	25,6859	0,7053	0,0033	0,702	18,1		
12	2512-04	0,5378	1,0119	29,4698	29,472	0,7186	0,0022	0,7164	17,9		
13	2512-05	0,5199	1,0061	29,8605	29,8648	0,7058	0,0043	0,7015	18,3	18,2	0,20

Vedlegg 7: F-test, t-test ved ulike temperaturer og tid i askeovn

Askeovn 550°C		Askeovn 600°C	
Mean (X_1)	0,500	Mean (X_2)	0,500
Standardavvik (S_1)	0,110	Standardavvik (S_2)	0,08
Antall (n_1)	10	Antall (n_2)	10

F-test	1,89
Avlest F-verdi tabell (5%)	3,18
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller
"Pooled" standardavvik (S_p)	0,10
t-test (5%)	0,00
Ant. Frihetsgrader	18
Avlest t-verdi tabell	2,10
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller

Vedlegg 8: Måling av repeterbarhet

Dato: 25.04.2014
 Signatur: JSJ
 C1: 0,9825
 20 like m/acetone

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedigel	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5422	-	30,3936	30,3963	0,5351	0,0027	0,5324	-		
2	Blank	0,5271	-	25,7597	25,7635	0,5222	0,0038	0,5184	-		
3	Blank	0,5363	-	30,3391	30,342	0,5296	0,0029	0,5267	-		
4	1143-01	0,541	0,9766	29,7174	29,7208	0,5529	0,0034	0,5495	1,8		
5	1143-02	0,523	0,9717	32,256	32,2599	0,5368	0,0039	0,5329	2,0		
6	1143-03	0,538	0,9617	25,4728	25,4754	0,5497	0,0026	0,5471	1,9		
7	1143-04	0,5369	0,9862	25,0586	25,0624	0,55	0,0038	0,5462	1,9		
8	1143-05	0,5041	0,9643	26,7702	26,7736	0,5172	0,0034	0,5138	1,9		
9	1143-06	0,517	0,9914	25,0401	25,0435	0,5289	0,0034	0,5255	1,8		
10	1143-07	0,5105	0,9857	30,6072	30,6093	0,5225	0,0021	0,5204	1,9		
11	1143-08	0,4884	0,9564	25,6656	25,6686	0,4996	0,003	0,4966	1,8		
12	1143-09	0,5189	0,9953	30,7683	30,7726	0,5319	0,0043	0,5276	1,8		
13	1143-10	0,5364	0,967	31,104	31,1078	0,5493	0,0038	0,5455	1,9		
14	1143-11	0,4884	0,9735	26,1337	26,138	0,502	0,0043	0,4977	1,8		
15	1143-12	0,5015	0,9734	26,1409	26,1446	0,5156	0,0037	0,5119	2,0		
16	1143-13	0,5001	0,9728	28,9035	28,9069	0,5133	0,0034	0,5099	1,9		
17	1143-14	0,5189	0,9742	25,6831	25,6867	0,532	0,0036	0,5284	1,9		
18	1143-15	0,4953	0,9682	33,521	33,5255	0,5087	0,0045	0,5042	1,8		
19	1143-16	0,5103	0,9563	29,7437	29,7469	0,5223	0,0032	0,5191	1,9		
20	1143-17	0,5154	0,9812	26,7735	26,7742	0,5285	0,0007	0,5278	2,2		
21	1143-18	0,5105	0,9991	26,1921	26,1956	0,523	0,0035	0,5195	1,8		
22	1143-19	0,5085	0,9578	32,6381	32,6424	0,5219	0,0043	0,5176	1,9		
23	1143-20	0,5095	0,9874	30,3262	30,3297	0,5218	0,0035	0,5183	1,8	1,9	0,10
24							0	0	#DIV/0!		

Vedlegg 9: Avkjøling av tørket prøve silicaposer, eksikator.

Dato:	10.04.2014	
Signatur	JSJ	01-05 Silicaposer
C1:	0,9969	06-10 Eksikator

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedigel	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest forasking	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,529		26,7398	26,7406	0,5255	0,0008	0,5247	-		
2	Blank	0,5265		26,5942	26,5949	0,5248	0,0007	0,5241	-		
3	Blank	0,5244		32,9075	32,9076	0,5262	0,0001	0,5261	-		
4	1353-01	0,5235	0,9883	29,2202	29,2201	0,5271	-1E-04	0,5272	0,5		
5	1353-02	0,4922	0,9889	29,4689	29,4692	0,4975	0,0003	0,4972	0,7		
6	1353-03	0,5228	1,0068	29,8602	29,8605	0,5252	0,0003	0,5249	0,4		
7	1353-04	0,5069	1,0055	25,6827	25,6826	0,5084	-1E-04	0,5085	0,3		
8	1353-05	0,52	1,0084	32,6386	32,6386	0,5213	0	0,5213	0,3	0,4	0,16
9	1353-06	0,5439	0,9942	24,8104	24,8105	0,5445	1E-04	0,5444	0,2		
10	1353-07	0,5158	1,0021	26,1402	26,1406	0,5167	0,0004	0,5163	0,2		
11	1353-08	0,5332	0,9938	26,7158	26,7164	0,5352	0,0006	0,5346	0,3		
12	1353-09	0,5408	0,9883	33,5212	33,5213	0,5416	1E-04	0,5415	0,2		
13	1353-10									0,2	0,04
14	1355-01	0,5047	1,0054	29,7697	29,7711	0,5479	0,0014	0,5465	4,3		
15	1355-02	0,5375	1,0145	26,1341	26,1347	0,5702	0,0006	0,5696	3,3		
16	1355-03	0,5235	0,9924	30,0584	30,0583	0,5591	-1E-04	0,5592	3,8		
17	1355-04	0,5268	1,011	30,807	30,8076	0,5683	0,0006	0,5677	4,2		
18	1355-05	0,5322	0,9922	26,361	26,3617	0,5712	0,0007	0,5705	4,0	3,9	0,39
19	1355-06	0,5332	1,0015	29,6121	29,6125	0,5685	0,0004	0,5681	3,7		
20	1355-07	0,5255	1,0067	30,5043	30,505	0,5611	0,0007	0,5604	3,6		
21	1355-08	0,529	0,9509	32,8662	32,8666	0,5597	0,0004	0,5593	3,4		
22	1355-09	0,5083	1,0135	26,1454	26,1464	0,5464	0,001	0,5454	3,8		
23	1355-10	0,5292	0,9775	33,418	33,4194	0,5717	0,0014	0,5703	4,4	3,8	0,38

Dato: 27.05.20
14

Signatur: JSJ

C1: 0,9846

Tørketid =
4 timer
01 - 10
silica
11 - 20
eksikator

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedigel	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5168		30,3934	?	0,5081	#VERDI!	#VERDI!	-		
2	Blank	0,5158		29,8613	29,8607	0,5076	-0,0006	0,5082	-		
3	Blank	0,5337		26,7697	26,7697	0,5251	0	0,5251	-		
4	1353-01	0,5438	1,0034	33,4162	33,4171	0,5416	0,0009	0,5407	0,5		
5	1353-02	0,5165	1,0075	29,7429	29,7436	0,5145	0,0007	0,5138	0,5		
6	1353-03	0,52	0,9652	26,7158	26,7169	0,5163	0,0011	0,5152	0,3		
7	1353-04	0,499	0,9618	25,0435	25,0447	0,4967	0,0012	0,4955	0,4		
8	1353-05	0,5177	0,9726	26,1334	26,1344	0,5154	0,001	0,5144	0,5		
9	1353-06	0,5119	0,9815	30,6051	30,6056	0,5094	0,0005	0,5089	0,5		
10	1353-07	0,4899	0,9955	26,7396	26,7407	0,4883	0,0011	0,4872	0,5		
11	1353-08	0,5326	1,0094	26,1921	26,1931	0,5299	0,001	0,5289	0,4		
12	1353-09	0,5332	0,9622	29,7851	29,7857	0,5304	0,0006	0,5298	0,5		
13	1353-10	0,5222	0,991	30,8232	30,8237	0,5193	0,0005	0,5188	0,5	0,5	0,06
14	1353-11	0,5269	0,9747	30,7688	30,7685	0,5232	-0,0003	0,5235	0,5		
15	1353-12	0,5176	0,9713	29,7702	29,7704	0,5149	0,0002	0,5147	0,5		
16	1353-13	0,4929	0,9728	30,3386	30,3394	0,4913	0,0008	0,4905	0,5		
17	1353-14	0,5476	0,9675	28,9038	28,9037	0,545	-1E-04	0,5451	0,6		
18	1353-15	0,5318	0,9857	29,6633	29,6639	0,5297	0,0006	0,5291	0,6		
19	1353-16	0,5017	0,9693	32,9074	32,9076	0,499	0,0002	0,4988	0,5		
20	1353-17	0,5031	0,9731	30,0422	30,043	0,5008	0,0008	0,5	0,5		
21	1353-18	0,5055	0,951	32,6381	32,6384	0,5027	0,0003	0,5024	0,5		
22	1353-19	0,5157	0,9708	31,5524	31,5525	0,5124	1E-04	0,5123	0,5		
23	1353-20	0,5113	0,9812	29,7167	29,7171	0,5092	0,0004	0,5088	0,5	0,5	0,04

Vedlegg 10: F-test, t-test ved avkjøling i silicaposer, eksikator

13-1353-01:

Silicaposer		Eksikator	
Mean (X_1)	0,450	Mean (X_2)	0,440
Standardavvik (S_1)	0,100	Standardavvik (S_2)	0,14
Antall (n_1)	15	Antall (n_2)	14

F-test	1,96
Avlest F-verdi tabell (5%)	2,55
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller
"Pooled" standardavvik (S_p)	0,12
t-test (5%)	0,22
Ant. Frihetsgrader	27
Avlest t-verdi tabell	2,05
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller

13-1355-01:

Silicapose		Eksikator	
Mean (X_1)	3,920	Mean (X_2)	3,780
Standardavvik (S_1)	0,400	Standardavvik (S_2)	0,38
Antall (n_1)	5	Antall (n_2)	5

F-test	1,11
Avlest F-verdi tabell (5%)	6,39
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller
"Pooled" standardavvik (S_p)	0,39
t-test (5%)	0,57
Ant. Frihetsgrader	8
Avlest t-verdi tabell	2,31
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller

	13-1353-01		13-1355-01	
	Silicaposer	Eksikator	Silicaposer	Eksikator
	0,5	0,2	4,3	3,7
	0,7	0,2	3,3	3,6
	0,4	0,3	3,8	3,4
	0,3	0,2	4,2	3,8
	0,3	0,5	4	4,4
	0,5	0,5		
	0,5	0,5		
	0,3	0,6		
	0,4	0,6		
	0,5	0,5		
	0,5	0,5		
	0,5	0,5		
	0,4	0,5		
	0,5	0,5		
	0,5			
Snitt	0,45	0,44	3,92	3,78
Std	0,10	0,14	0,40	0,38
Replikater	15	14	5	5

Vedlegg 11: Ulike innveinger

Dato: 03.06.2014
 Signatur: JSJ
 C1: 0,9952

Ulik innveing

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedige l	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5239		29,7692	29,7712	0,5227	0,002	0,5207	-		
2	Blank	0,5144		26,1338	26,1351	0,5135	0,0013	0,5122	-		
3	Blank	0,5327		25,0435	25,045	0,5321	0,0015	0,5306	-		
4	1355-01	0,5451	2,0074	28,9034	28,9087	0,6372	0,0053	0,6319	4,5		
5	1355-02	0,5132	2,0122	30,823	30,8271	0,6016	0,0041	0,5975	4,3		
6	1355-03	0,5026	2,0171	26,7161	26,7214	0,5879	0,0053	0,5826	4,1	4,3	0,19
7	1355-04	0,5431	1,5156	32,6378	32,6411	0,5998	0,0033	0,5965	3,7		
8	1355-05	0,5238	1,5029	30,7682	30,7708	0,5803	0,0026	0,5777	3,8		
9	1355-06	0,5364	1,5233	29,785	29,788	0,6058	0,003	0,6028	4,5	4,0	0,46
10	1355-07	0,5337	0,9956	29,6632	29,6659	0,5669	0,0027	0,5642	3,3		
11	1355-08	0,5341	1,0166	29,7165	29,7186	0,5711	0,0021	0,569	3,7		
12	1355-09	0,5159	1,0129	29,7431	29,745	0,5494	0,0019	0,5475	3,4	3,7	0,20
13	1355-10	0,5281	0,8099	30,3931	30,3955	0,5565	0,0024	0,5541	3,5		
14	1355-11	0,5408	0,8006	29,8609	29,8624	0,5667	0,0015	0,5652	3,4		
15	1355-12	0,5158	0,8003	30,0423	30,0439	0,5461	0,0016	0,5445	3,9	3,6	0,27
16	1355-13	0,5511	0,6024	30,6053	30,6069	0,5683	0,0016	0,5667	3,0		
17	1355-14	0,5453	0,6011	30,3389	30,341	0,5655	0,0021	0,5634	3,4		
18	1355-15	0,5029	0,6075	26,7694	26,7711	0,5197	0,0017	0,518	2,9	3,1	0,29
19	1355-16	0,5358	0,3973	33,4166	33,4183	0,5473	0,0017	0,5456	3,1		
20	1355-17	0,5162	0,4004	32,9071	32,909	0,5286	0,0019	0,5267	3,2		
21	1355-18	0,5054	0,3963	26,74	26,7417	0,5193	0,0017	0,5176	3,7	3,3	0,30
22	1355-19	0,5307	0,22	26,1924	26,1938	0,5359	0,0014	0,5345	2,9		
23	1355-20	0,5194	0,21	31,5522	31,5534	0,5251	0,0012	0,5239	3,3		
24	1355-21	0,5448	0,1953	33,3312	33,3338	0,5506	0,0026	0,548	3,0	3,1	0,23

Vedlegg 12: F-test, t-test ved ulike innveiinger

13-1355-01:		13-1355-01 (riktighet)	
Silicapose		Eksikator	
Mean (X_1)	3,550	Mean (X_2)	3,280
Standardavvik (S_1)	0,480	Standardavvik (S_2)	0,25
Antall (n_1)	21	Antall (n_2)	6

F-test	3,69
Avlest F-verdi tabell (5%)	2,03
Metodene har lik presisjon	Signifikant forskjell
"Pooled" standardavvik (S_p)	Signifikant forskjell
t-test (5%)	Signifikant forskjell
Ant. Frihetsgrader	25
Avlest t-verdi tabell	2,01
Metodene har lik presisjon	Signifikant forskjell

4,5

4,3

4,1

3,7

3,8

4,5

3,3

3,7

3,4

3,5

3,4

3,9

3,0

3,4

2,9

3,1

3,2

3,7

2,9

3,3

3,0

Snitt	3,55
Std.avvik	0,48
Replikater	21

Vedlegg 13: Fortørking med aceton

Dato: 22.04.2014
 Signatur: JSJ
 C1: 0,9905

01-05 Med aceton
 06-10 Uten aceton

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterposere (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedigel	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5284		31,5528	31,5496	0,5209	-0,0032	0,5241	-		
2	Blank	0,5203		33,3325	33,33	0,5129	-0,0025	0,5154	-		
3	Blank	0,5155		25,0445	25,0426	0,508	-0,0019	0,5099	-		
4	1143-01	0,5205	0,9941	25,5032	25,5065	0,5424	0,0033	0,5391	2,4		
5	1143-02	0,5178	0,9819	25,8613	25,8625	0,5307	0,0012	0,5295	1,7		
6	1143-03	0,5299	0,9767	29,2841	29,2863	0,5464	0,0022	0,5442	2,0		
7	1143-04	0,5293	0,9736	27,9326	27,9345	0,5428	0,0019	0,5409	1,7		
8	1143-05	0,567	0,9899	29,6642	29,6645	0,584	0,0003	0,5837	2,2	2,0	0,30
9	1143-06	0,5289	0,9934	31,12	31,1186	0,5444	-0,0014	0,5458	2,2		
10	1143-07	0,5386	0,9683	30,8267	30,8263	0,5528	-0,0004	0,5532	2,0		
11	1143-08	0,5373	0,9842	30,0436	30,0432	0,5531	-0,0004	0,5535	2,2		
12	1143-09	0,5256	0,9678	25,0638	25,0658	0,5439	0,002	0,5419	2,2		
13	1143-10	0,5383	0,9638	34,96	34,9591	0,5533	-0,0009	0,5542	2,2	2,2	0,07
14	2512-01	0,5286	0,9582	26,7405	26,7419	0,6912	0,0014	0,6898	17,3		
15	2512-02	0,5238	0,9636	26,1464	26,1476	0,686	0,0012	0,6848	17,2		
16	2512-03	0,5501	0,964	26,5948	26,5966	0,7203	0,0018	0,7185	18,0		
17	2512-04	0,5262	0,9819	30,5049	30,506	0,6943	0,0011	0,6932	17,5		
18	2512-05	0,5412	0,9795	26,7164	26,7179	0,7055	0,0015	0,704	17,1	17,4	0,34
19	2512-06	0,5181	0,9829	29,7703	29,772	0,6924	0,0017	0,6907	18,1		
20	2512-07	0,5311	0,9805	29,8621	29,8623	0,697	0,0002	0,6968	17,4		
21	2512-08	0,5482	0,9927	33,4199	33,4198	0,7131	-1E-04	0,7132	17,1		
22	2512-09										
23	2512-10	0,5278	0,9914	29,7864	29,7883	0,703	0,0019	0,7011	18,0	17,7	0,44

Dato: 02.06.20
14

Signatur JSJ

01 - 10
Uten acetone

11 - 20
Med acetone

C1: 0,9820

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpos e (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedigel	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5013		39,4368	39,439	0,4949	0,0022	0,4927	-		
2	Blank	0,5047		40,2994	40,3016	0,498	0,0022	0,4958	-		
3	Blank	0,519		37,28	37,2823	0,5114	0,0023	0,5091	-		
4	1143-01										
5	1143-02	0,5008	1,0053	39,2227	39,2278	0,5199	0,0051	0,5148	2,3		
6	1143-03	0,5055	0,9654	38,8771	38,8829	0,5263	0,0058	0,5205	2,5		
7	1143-04	0,5207	0,9865	40,6685	40,6737	0,5389	0,0052	0,5337	2,3		
8	1143-05	0,4989	0,9637	40,5361	40,5395	0,5135	0,0034	0,5101	2,1		
9	1143-06	0,5299	0,9817	39,3396	39,3451	0,5488	0,0055	0,5433	2,3		
10	1143-07	0,497	0,9698	37,5774	37,5815	0,5139	0,0041	0,5098	2,2		
11	1143-08	0,5085	0,9703	38,7477	38,7534	0,5296	0,0057	0,5239	2,5		
12	1143-09	0,4972	0,9705	40,8283	40,833	0,515	0,0047	0,5103	2,3		
13	1143-10	0,4909	0,9648	37,79	37,7934	0,5059	0,0034	0,5025	2,1	2,3	0,15
14	1143-11	0,5333	1,0045	25,472	25,4754	0,5465	0,0034	0,5431	1,9		
15	1143-12	0,5129	0,9988	32,2554	32,2592	0,5284	0,0038	0,5246	2,1		
16	1143-13	0,5305	0,9959	25,6832	25,6882	0,5492	0,005	0,5442	2,3		
17	1143-14	0,5248	0,9794	26,1398	26,1435	0,5397	0,0037	0,536	2,1		
18	1143-15	0,519	0,9751	26,771	26,7752	0,5355	0,0042	0,5313	2,2		
19	1143-16	0,516	0,9773	25,0396	25,0443	0,5352	0,0047	0,5305	2,4		
20	1143-17	0,5158	0,9575	27,9302	27,9344	0,531	0,0042	0,5268	2,1		
21	1143-18	0,5209	0,9612	37,224	37,2295	0,5414	0,0055	0,5359	2,5		
22	1143-19	0,5234	0,966	25,5021	25,507	0,542	0,0049	0,5371	2,4		
23	1143-20	0,5037	0,9752	26,5947	26,5991	0,5208	0,0044	0,5164	2,2	2,2	0,18

Vedlegg 14: F-test, t-test ved bruk av aceton til fortørking

13-1143-01			
Med aceton		Uten aceton	
Mean (X_1)	2,150	Mean (X_2)	2,240
Standardavvik (S_1)	0,240	Standardavvik (S_2)	0,14
Antall (n_1)	15	Antall (n_2)	14

F-test	2,94	F-test	2,94
Avlest F-verdi tabell (5%)	2,51	Avlest F-verdi tabell (1%)	3,8
Metodene har lik presisjon	Signifikant forskjell	Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller
"Pooled" standardavvik (S_p)	Signifikant forskjell	"Pooled" standardavvik (S_p)	0,20
t-test	Signifikant forskjell	t-test	1,21
Ant. Frihetsgrader	27	Ant. Frihetsgrader	27
Avlest t-verdi tabell (5%)	2,05	Avlest t-verdi tabell (1%)	2,47
Metodene har lik presisjon	Signifikant forskjell	Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller

13-2512-01			
Med aceton		Uten aceton	
Mean (X_1)	17,420	Mean (X_2)	17,650
Standardavvik (S_1)	0,360	Standardavvik (S_2)	0,48
Antall (n_1)	5	Antall (n_2)	4

F-test	1,78		
Avlest F-verdi tabell (5%)	9,12		
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller		
"Pooled" standardavvik (S_p)	0,42		
t-test (5%)	0,82		
Ant. Frihetsgrader	7		
Avlest t-verdi tabell	2,37		
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller		

	13-1143-01		13-2512-01	
	Med aceton	Uten aceton	Med aceton	Uten aceton
	2,4	2,2	17,3	18,1
	1,7	2	17,2	17,4
	2	2,2	18	17,1
	1,7	2,2	17,5	18
	2,2	2,2	17,1	
	1,9	2,3		
	2,1	2,5		
	2,3	2,3		
	2,1	2,1		
	2,2	2,3		
	2,4	2,2		
	2,1	2,5		
	2,5	2,3		
	2,4	2,1		
	2,2			
Snitt	2,15	2,24	17,42	17,65
Std	0,24	0,14	0,36	0,48
Replikater	15	14	5	4

Vedlegg 15: Analyse ved Nofima BioLab av prøver analysert ved ANKOM

	13-1143-01	13-1353-01	13-1355-01	13-1886-01	13-2512-01
	2,38 1,79 2,23 2,38	0,80 0,55 0,22	3,73 3,28	2,51	17,30 17,33
	2,30 1,88 2,21 2,30	0,71 0,63 0,21	3,20 3,73	2,42	17,70 17,86
	2,23 2,14 2,03 2,23	0,57 0,47 0,31	3,23 3,20	2,58	17,33 17,99
	2,09 2,08 2,16 2,09	0,61 0,46 0,24	3,34 3,23	2,51	17,86
	2,02 1,95 2,20 2,02	0,68 0,49	3,17 3,34	2,42	17,99
	2,17 1,93 2,18 2,17	0,74 0,45	2,99 3,17	2,58	17,35
	1,84 2,47 2,29	0,53 0,33	4,32 2,99		17,22
	1,96 2,15 2,49	0,52 0,35	3,33		18,01
	1,92 1,98 2,27	0,33 0,67	3,76		17,52
	1,90 1,86 2,09	0,44 0,38	4,21		17,14
	1,92 2,01 2,33	0,48 0,35	4,03		18,06
	1,77 2,36 2,24	0,50 0,39	3,65		17,41
	1,91 2,21 2,53	0,49 0,45	3,63		17,14
	1,75 2,09 2,27	0,45 0,50	3,36		17,98
	1,79 2,17 2,12	0,50 0,51	3,82		18,69
	1,91 2,11 1,93	0,47 0,55	4,38		17,18
	1,83 2,09 2,09	0,48 0,53	3,40		17,97
	1,97 2,10 2,33	0,52 0,58	3,21		17,99
	1,91 1,99 2,11	0,53 0,55	3,53		17,63
	1,91 2,03 2,22	0,61 0,56	3,08		18,69
	1,81 2,01 2,43	0,56 0,54	3,43		18,07
	1,85 2,37 2,12	0,50 0,66	3,97		17,87
	2,18 1,69 2,53	0,48 0,37	3,10		18,27
	1,79 1,98 2,39	0,49 0,32	3,75		17,30
	1,88 1,71 2,23	0,47 0,29	4,09		17,70
Snitt:	2,09	0,49	3,52	2,50	17,73
Std.:	0,20	0,13	0,39	0,07	0,43
Rsd [%]:	9,57	26,5	11,08	2,76	2,42
Antall:	81	54	32	6	28

Vedlegg 16: Måleusikkerhet i det nedre området 0,1 – 1,9%

Beregning av standardavviket S_r , U_{LAB} , for det nedre området 0,1 – 1,9% ved bruk av dobbeltbestemmelser.

Prøve nr.	Dato	Resultat 1	Resultat 2	Diff.	Diff ²	Snitt	Antall, n
13-1353-01	24.03.2014	0,801	0,706	0,09	0,0090	0,75	1
		0,574	0,605	-0,03	0,0010	0,59	2
		0,684	0,742	-0,06	0,0033	0,71	3
13-1353-01	27.05.2014	0,527	0,523	0,00	0,0000	0,52	4
		0,334	0,436	-0,10	0,0105	0,39	5
		0,482	0,499	-0,02	0,0003	0,49	6
		0,488	0,447	0,04	0,0016	0,47	7
		0,501	0,470	0,03	0,0010	0,49	8
		0,485	0,523	-0,04	0,0015	0,50	9
		0,535	0,615	-0,08	0,0064	0,57	10
		0,558	0,499	0,06	0,0035	0,53	11
		0,479	0,494	-0,02	0,0002	0,49	12
		0,469	0,549	-0,08	0,0064	0,51	13
13-1353-01	26.05.2014	0,632	0,466	0,17	0,0276	0,55	14
		0,465	0,493	-0,03	0,0008	0,48	15
		0,333	0,353	-0,02	0,0004	0,34	16
		0,666	0,384	0,28	0,0793	0,53	17
		0,354	0,387	-0,03	0,0011	0,37	18
		0,451	0,497	-0,05	0,0021	0,47	19
		0,506	0,545	-0,04	0,0015	0,53	20
		0,533	0,582	-0,05	0,0024	0,56	21
		0,547	0,564	-0,02	0,0003	0,56	22
13-1353-01	10.04.2014	0,541	0,662	-0,12	0,0147	0,60	23
		0,372	0,318	0,05	0,0029	0,34	24
		0,291	0,223	0,07	0,0047	0,26	25
		0,212	0,310	-0,10	0,0096	0,26	26

n= 26

SUM D²= 0,192

Snitt= 0,49

Repeterbarhet	
$S_r = \text{ROT}(\text{SUM}(D^2)/2K)$	0,061
$r = 2.8 * S_r$	0,172
$\%CV_{S_r}$	12,293

Den totale målusikkerheten U_c beregnet for det nedre området 0,1 – 1,9%.

Prøve nr.	Nofima 'snitt'	Ant. Replikater	ANKOM	Diff.	Diff^2	Snitt	Antall
13-1353-01	0,471	10	0,738	-0,27	0,0713	0,60	1
13-1353-01	0,521	10	0,641	-0,12	0,0144	0,58	2
13-1353-01	0,437	5	0,677	-0,24	0,0576	0,56	3
n= 3		SUM D^2= 0,143		Snitt= 0,58			

Repeterbarhet			
Gjennomsnitt:		0,58	Sr = ROT(SUM(D*D)/2K) 0,155
LAB-"SNITT"	%CV _{Sr} =	26,61	
LAB	%CV _{Sr} =	12,29	
u(LAB-SNITT)		0,15	
u(LAB)		0,07	
u_c		0,17	
U (+/- 2s)		0,34	
%RSD (+/- 2s)		59	

Vedlegg 17: Måleusikkerhet i det øvre området 2,0% - 30%

Beregning av standardavviket S_r , U_{LAB} , for det øvre området 2,0% - 30% ved bruk av dobbeltbestemmelser.

Prøve nr.	Dato	Resultat 1	Resultat 2	Diff.	Diff ²	Snitt	Antall, n
13-1143-01	24.03.2014	2,375	2,305	0,07	0,0050	2,34	1
		2,227	2,093	0,13	0,0181	2,16	2
		2,016	2,169	-0,15	0,0233	2,09	3
13-1355-01	24.03.2014	3,734	3,196	0,54	0,2889	3,47	4
		3,234	3,345	-0,11	0,0122	3,29	5
		3,166	2,991	0,18	0,0307	3,08	6
13-1886-01	24.03.2014	2,515	2,423	0,09	0,0084	2,47	7
13-2512-01	24.03.2014	17,298	17,696	-0,40	0,1582	17,50	8
		17,332	17,858	-0,53	0,2765	17,59	9
13-1143-01	25.04.2014	1,839	1,960	-0,12	0,0146	1,90	10
		1,925	1,895	0,03	0,0009	1,91	11
		1,920	1,770	0,15	0,0227	1,85	12
		1,910	1,751	0,16	0,0255	1,83	13
		1,786	1,911	-0,13	0,0157	1,85	14
		1,833	1,970	-0,14	0,0187	1,90	15
		1,907	1,907	0,00	0,0000	1,91	16
		1,814	1,854	-0,04	0,0016	1,83	17
		2,183	1,795	0,39	0,1505	1,99	18
		1,879	1,794	0,08	0,0072	1,84	19
13-1355-01	10.04.2014	4,316	3,331	0,98	0,9696	3,82	20
		3,763	4,210	-0,45	0,1990	3,99	21
		4,029	3,652	0,38	0,1418	3,84	22
		3,631	3,362	0,27	0,0726	3,50	23
		3,818	4,375	-0,56	0,3098	4,10	24
13-1355-01	09.04.2014	3,403	3,208	0,20	0,0380	3,31	25
		3,526	3,079	0,45	0,2005	3,30	26
13-2512-01	09.04.2014	18,687	17,179	1,51	2,2727	17,93	27
		17,965	17,992	-0,03	0,0007	17,98	28
13-2512-01	08.04.2014	17,635	18,690	-1,06	1,1136	18,16	29
		18,073	17,872	0,20	0,0405	17,97	30
13-1143-01	02.06.2014	2,287	2,494	-0,21	0,0428	2,39	31
		2,265	2,092	0,17	0,0302	2,18	32
		2,334	2,240	0,09	0,0089	2,29	33

n= 33

SUM D²= 6,519

Snitt= 5,38

Repeterbarhet	
$S_r = \text{ROT}(\text{SUM}(D \cdot D)/2K)$	0,314
$r = 2.8 \cdot S_r$	0,889
$\%CV_{S_r}$	5,842

Den totale målusikkerheten U_c beregnet for det øvre området 2,0% - 30%.

Prøve nr.	Nofima	Ant.replikater	ANKOM	Ant Replikater	Diff.	Diff^2	Snitt	Antall
13-1143-01	2,09	81	2,27	3	-0,18	0,0324	2,18	1
13-1355-01	3,52	32	3,35	3	0,17	0,0276	3,44	2
13-1886-01	2,51	6	2,25	3	0,26	0,0671	2,38	3
13-2512-01	17,73	28	17,89	3	-0,16	0,0246	17,81	4

$n = 4$

$SUM D^2 = 0,152$

$Snitt = 6,45$

Repeterbarhet			
Gjennomsnitt:		6,45	$Sr = \sqrt{ROT(SUM(D^2)/2K)}$
			0,138
LAB-"SNITT"	$\%CV_{Sr} =$	2,13	
LAB	$\%CV_{Sr} =$	5,84	
$u(LAB-SNITT)$		0,14	
$u(LAB)$		0,38	
u_c		0,40	
$U (+/- 2s)$		0,80	
$\%RSD (+/- 2s)$		12	

Vedlegg 18: Prøvematriks feces

I valideringsrapporten for den nye metoden (AOCS Ba 6a-05) med ANKOM²⁰⁰⁰ fiberanalysator ble ikke feces som prøvematriks sluttført. Dette skyldes blant annet lite tilgjengelig prøvemateriale. 20 stk ulike fecesprøver ble samlet til en prøve og homogenisert ved bruk av en finkvern.

Ved analyse med fiberanalysatoren var det utfordringer som dårlig repeterbarhet og ulike resultat ved ulike innveier ved analyse av replikater på innveier som 0.2, 0.5 og 1.0 g (se vedlegg 19). Ved lavere innveier desto lavere resultat. Det ble benyttet en standard fiberpose (F57) fra ANKOM Technology, som er beregnet for de fleste typer prøver. Det er denne fiberposen som har blitt benyttet gjennom hele valideringen.

Under avfettingstrinnet av feces prøvene med petroleumseter ble det observert partikler i eteren. Disse partiklene har gått gjennom fiberposen, og dette kan ha påvirket både repeterbarheten og nivået på resultatet.

ANKOM Technology tilbyr en alternativ fiberpose (F58) med finere porestørrelser. Analyse av ulike innveier av feces ble gjentatt med F58. Repeterbarheten ble betydelig bedre, og de ulike nivåene på resultatet ved ulike innveier er ikke like markante. Se vedlegg 20 for resultater. Ved innveing av 0.2 og 0.5 g prøvemateriale er det ingen signifikante forskjeller, men det er en liten nivåendring av resultatet (0.9%) ved 1.0 g innveing.

Ved BioLab blir råtrevler analysert ved metoden A 80, som baserer seg på metodereferansen AOAC 978.10. Denne gjennomføres uten paralleller. På grunn av tilgjengelig prøvemateriale blir feces prøver veid inn ved redusert innveing i henhold til metoden. Innveing av feces foregår ved 0.5 g. Resultater fra tilsvarende tilfeller har blitt benyttet i publikasjon (Krontveit et. al., *'Field monitoring of feed digestibility in Atlantic salmon farming using crude fiber as an inert marker'*, *Aquaculture*, 2014).

Den samlede feces prøven ble analysert med 8 replikater på metode A 80 (vedlegg 21). En t-test ble utført mellom analyseserien for A 80 og fra fiberanalysatoren med F58 ved innveingene 0.2 og 0.5 g. Det var ingen signifikante forskjeller. Se vedlegg 22.

Ut ifra de nevnte vurderingene er metoden fra og med 23.10.14 godkjent for å analysere prøvematrikser med feces. Feces prøvene er godkjent for innveing mellom 0,2 g til 0,5 g, men det anbefales å holde innveingen på ca 0.35 g. Ved denne innveingen vil da innholdet av råtrevler i fôr og feces være relativt likt.

Fiberposen merket F58 gir markant bedre repeterbarhet enn F57 på feces prøver, pga små partikler, men resultatet ligger fortsatt på det samme nivået. I metodereferansen er både F57 og F58 likestilt. På bakgrunn av dette blir feces prøver kun godkjent ved bruk av fiberposen F58. Samtidig vil alle analyser gå over til å utføres ved bruk av fiberposen F58.

Ut ifra analyseresultatene ved innveing på 0.2 g og 0.5 g for feces prøven ble repeterbarhetsgrensen beregnet. Se vedlegg 23 for beregninger. Repeterbarhetsgrensen (r) ble funne til å være 1,45. I likhet med tidligere vurdering av repeterbarhetsgrensen i avsnitt 4.5.3 er også denne beregnede repeterbarheten for høy, og den settes ned til 0,800.

Vedlegg 19: Analyse feces ved fiberpose F57

Dato: 22.09.2014
 Signatur: JSJ

Uten acetone, 2 timer tørkeskap

C1: 0,9896

Filter nr.	Prøve nr.	Tara filterpose (W1)	Vekt prøve (W2)	Tara askedigel	Askedigel/prøve forasket	Filterpose før forasking	Rest foraskin g	Tapt materiale (W3)	Crude Fiber (%)	Snitt	Std
1	Blank	0,5334		33,3309	33,3325	0,5277	0,0016	0,5261	-		
2	Blank	0,5386		30,8228	30,8242	0,5335	0,0014	0,5321	-		
3	Blank	0,5453		26,7405	26,7422	0,5393	0,0017	0,5376	-		
4	Feces 1	0,5337	0,9967	30,6038	30,6124	0,6354	0,0086	0,6268	9,9		
5	Feces 2	0,5403	0,9997	32,2542	32,2705	0,6623	0,0163	0,646	11,1		
6	Feces 3	0,5547	1,0042	37,2246	37,2306	0,646	0,006	0,64	9,1		
7	Feces 4	0,5664	1,0015	26,7719	26,7897	0,6996	0,0178	0,6818	12,1		
8	Feces 5	0,528	1,0025	30,043	30,0485	0,613	0,0055	0,6075	8,5		
9	Feces 6	0,5443	1,0017	33,5217	33,5265	0,6221	0,0048	0,6173	7,9		
10	Feces 7	0,5459	1,0023	25,4739	25,4892	0,6617	0,0153	0,6464	10,6		
11	Feces 8	0,523	1,0002	29,7888	29,796	0,6167	0,0072	0,6095	9,2		
12	Feces 9	0,5292	1,004	25,5018	25,5175	0,6476	0,0157	0,6319	10,8		
13	Feces 10	0,5564	1,0056	40,8934	40,9025	0,6603	0,0091	0,6512	10,0	9,9	1,29
14	Feces 11	0,5154	0,506	38,8813	38,8862	0,5684	0,0049	0,5635	10,6		
15	Feces 12	0,5238	0,5028	29,7441	29,7462	0,5615	0,0021	0,5594	8,2		
16	Feces 13	0,5335	0,5018	31,1191	31,1247	0,5839	0,0056	0,5783	10,0		
17	Feces 14	0,5288	0,5148	25,0637	25,0674	0,5733	0,0037	0,5696	9,0		
18	Feces 15	0,5429	0,5001	25,6651	25,6677	0,5783	0,0026	0,5757	7,7		
19	Feces 16	0,5086	0,5032	30,3955	30,3985	0,5471	0,003	0,5441	8,1	8,9	1,16
20	Feces 17	0,5236	0,2086	26,1348	26,1373	0,534	0,0025	0,5315	6,4		
21	Feces 18	0,5333	0,2038	30,34	30,3427	0,546	0,0027	0,5433	7,6		
22	Feces 19	0,5033	0,212	26,1397	26,142	0,5162	0,0023	0,5139	7,5		
23	Feces 20	0,5251	0,2046	29,7706	29,7732	0,5376	0,0026	0,535	7,5		
24	Feces 21	0,5341	0,2038	38,7481	38,7509	0,5478	0,0028	0,545	8,1	7,4	0,62

Vedlegg 20: Analyse feces ved fiberpose F58

Trevler (ANKOM) (BioLab-metode) - **Under arbeid**

Versjon 1.0

NB: Pose F58

Brukerens
initialer:

JSJ

Ferdig dato
(DD.MM.ÅÅ) :

15.10
.2014

Innveid dato (DD.MM.ÅÅ):

14.10.2014

Kontrollprøve godkjent

:

Vekt ID:

479

Faktor

C₁:

0,9760

Prøvenr.	Digel- merke	Tara digel (g)	Tara filterpose W ₁ (g)	Innveid prøve, W ₂ (g)	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g)	Trevler (%)	Gjennom- snitt (%)	Diffe- ranse	St.av- vik
Blank		33,5212	0,3683		33,8819	33,5225				
		25,6643	0,3537		26,0107	25,6654				
4316-01		32,2542	0,3552	0,2066	32,6189	32,2556	8,04		0,719	
		37,2243	0,3571	0,2130	37,5929	37,2257	8,76			
4316-01		32,6384	0,3648	0,2311	33,0150	32,6397	8,33		1,454	
		39,4987	0,3677	0,1995	39,8786	39,5002	9,78			
4316-01		26,1937	0,3595	0,1941	26,5639	26,1950	9,28		0,565	
		39,4403	0,3678	0,1929	39,8176	39,4418	8,72			
4316-01		40,0283	0,3646	0,2016	40,4031	40,0301	8,50	8,77	0,078	0,632
		40,5376	0,3612	0,4982	40,9345	40,5400	8,42			
4316-01		40,1063	0,3657	0,5027	40,5086	40,1091	8,47		0,137	
		40,6696	0,3709	0,4915	41,0763	40,6720	8,60			
4316-01		30,3948	0,3621	0,4923	30,7999	30,3993	9,58		0,841	
		33,3315	0,3675	0,4893	33,7475	33,3378	10,42			
4316-01		30,8230	0,3702	0,5053	31,2306	30,8257	8,62	8,98	0,125	0,66
		30,6041	0,3623	0,5062	31,0045	30,6066	8,75			
4316-01		38,8805	0,3614	1,0034	39,3263	38,8839	8,94		0,063	
		29,7437	0,3660	1,0039	30,1942	29,7479	8,87			
4316-01		26,7407	0,3624	1,0039	27,2046	26,7482	10,23		0,892	
		31,1184	0,3703	1,0022	31,5801	31,1251	9,34			
4316-01		26,7717	0,3664	1,0034	27,2225	26,7755	8,91		2,672	
		30,0431	0,3746	0,9972	30,5402	30,0591	11,58			
4316-01		31,5511	0,3683	1,0014	32,0215	31,5584	10,35	9,77	0,402	0,95
		39,2252	0,3670	0,9943	39,6935	39,2364	9,95			

Vedlegg 21: Analyse av feces ved BioLab Metode A 80

Råtrevler A 80

Samle feces prøve, 2014-4316-01

Replikant nr	Råtrevle%
1	8,45
2	8,72
3	9,13
4	8,77
5	8,05
6	8,61
7	8,76
8	9,01
Gjennomsnitt	8,69
St.avvik	0,33

Vedlegg 22: F-test, t-test ved analyse av feces

Ny metode (ANKOM, AOCS Ba 6a-05)		Gammel metode (BioLab, A 80)	
Mean (X_1)	8,88	Mean (X_2)	8,69
Standardavvik (S_1)	0,66	Standardavvik (S_2)	0,33
Antall (n_1)	14	Antall (n_2)	8

F-test	3,86
Avlest F-verdi tabell (1%)	5,56
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller
"Pooled" standardavvik (S_p)	0,56
t-test	0,75
Ant. Frihetsgrader	20
Avlest t-verdi tabell (5%)	2,09
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller

Vedlegg 23: Repeterbarhetsgrense feces

Beregning av repeterbarhetsgrensen for prøvematrikser med feces. Benytter analyseresultater fra prøven 14-4316-01 med innveiing på 0.2 g og 0.5 g.

Prøve nr.	Dato	Resultat 1	Resultat 2	Diff.	Diff ²	Snitt	Antall, n
14-4316-01	15.10.2014	8,04	8,76	-0,72	0,5166	8,40	1
		8,33	9,78	-1,45	2,1134	9,05	2
		9,28	8,72	0,56	0,3192	9,00	3
		8,50	8,42	0,08	0,0061	8,46	4
		8,47	8,60	-0,14	0,0187	8,53	5
		9,58	10,42	-0,84	0,7079	10,00	6
		8,62	8,75	-0,13	0,0156	8,68	7

n= SUM D²= 3,698 Snitt= 8,88

Repeterbarhet	
Sr = ROT(SUM(D*D)/2K)	0,514
r = 2.8 * Sr	1,454

Vedlegg 24: Negative askeverdier, F57 vs F58

I vedlegg 18 til 23 ble det foretatt en validering av fiskefeces som prøvematriks. Konklusjonen fra disse vedleggene er at ved bruk av filterposene F58 ble fiskefeces godkjent som prøvematriks fra og med 23.10.14. Denne typen filterpose har mindre porestørrelse. Samtidig ble det besluttet at alle prøver skal analyseres ved bruk av disse posene.

Metoden viste seg å ha noen gjenstående utfordringer og derfor har ikke fiberanalysatoren ANKOM²⁰⁰⁰ vært i bruk siden 23.10.14. I januar 2017 ble validering av metoden gjenopptatt og det var to hovedutfordringer som dukket opp: forekomst av resultater med åpenbar feil og negative verdier etter veiing av askedigler med forasket prøve.

I de første analyseseriene (Vedlegg 25 og 26) ble det benyttet en prøve merket KP 1 og 2 som bestod av oppmalt hvetemel. Videre i valideringen ble det laget til en kontrollprøve (2016-04586-01) av sammalt hvete fra Möllerens, og det er den som ble brukt i den resterende valideringen. Denne prøven ble analysert for råtrevler ved metode A 80 Råtrevler (2,5%). Det antas at det vil være en differanse mellom den manuelle metoden A 80 og denne metoden med den automatiserte fiberanalysatoren ANKOM²⁰⁰⁰. Siden det tidligere ikke er gjennomført tilsvarende validering for A 80 kan ikke en fullverdig sammenligning gjennomføres. Se avsnitt 4.1.

Negative verdier

Etter trinnet med forasking veies askedigelen med askerestene, og ved å trekke fra tareringsvekten til askedigelen fås vekten av askerestene. Det er her det kan oppstå en negativ verdi, som antyder at vekten til askedigel med askerest er lettere enn tara til askedigel. Dette er med på å gi uttrykk for robustheten til metoden. I det tidligere valideringsarbeidet var det ikke fokus på disse negative verdiene, men det ble klart under gjenåpningen av valideringen at store feil her kunne på en større betydning for resultatet. Resultatet fra denne valideringen vil føre til noen endringer i metoden:

Forvarming askedigler:

Askediglene som skal benyttes må forvarmes minst 2 timer i varmeskap (ca. 100°C) før bruk. Deretter må de oppbevares i varmeskap til romtemperatur. Dette har vist seg å gi noe høyere verdi for askerester (se vedlegg 25 og 26). Dette kan forårsakes av fukt i askediglene. Nye askedigler har i tillegg blitt kjøpt inn for å minke denne risikoen.

Elektrostatisk ladning:

Det er en mulighet for elektrostatisk oppladning i askediglene, og det må benyttes en vekt som foretar en utladning av dette. Det har ikke blitt dokumentert hva denne utladningen har å si for resultatene før og etter, men i de analyseserien det har blitt benyttet så har det gitt en høyere verdi for askerester (se vedlegg 27 og 29).

Avkjølingstid i eksikator:

Etter foraskingen oppbevares askediglene med askerester i eksikator. Avkjølingstiden til diglene mistenkes å ha vært for kort (ca 30 minutter), og dette ble også diskutert med ANKOM (mailkorrespondanse 10.02.17). Hvis diglene fortsatt er varme kan det gi utslag med lavere vekt enn det som er reelt. For uttesting ble en analyseserie utført der halvparten av prøvene ble oppbevart i en eksikator i 45 minutter, mens den andre halvdel ble oppbevart

i 65 minutter (vedlegg 29). Verdien av askerestene befant seg på det samme nivået. Det besluttes dermed at avkjølingstiden må holdes til minimum 45 minutter. Rett etter utveiling av askediglene ble selve askerestene veid separat for å kunne se hva den reell verdien for askerester var. Det viser at de verdiene for askerestene som benyttes i beregningene stemmer overens med de faktiske verdiene fra den separate veiingen.

Det kan ikke dokumenteres hvor mye hver en av disse tre punktene utgjør for kvalitetssikringen av resultatene, men kombinasjonen av disse tre har ført til verdier av askerester som ligger i et område som stemmer overens med det som forventes ut ifra den separate veiing av askerestene.

For videre å teste ut verdiene av de faktisk askerestene ble to filterposer av både F57 og F58 med 1 g kontrollprøve levert inn til analyse for A 02 Aske. Resultatet ble på henholdsvis 0,9% og 1%. Dette utgjorde ca 14 mg for begge posetyperne. Askerestene som oppnås under ANKOM²⁰⁰⁰ ligger på ca 2 mg. Differansen antas å skyldes tap av materiale gjennom hydrolysetrinnet.

Forekomst av resultater med åpenbar feil

Fiberposen F58 ble benyttet innledningsvis i valideringen, men i en analyseserie bestående av 22 individuelle prøver var det alltid 2-3 resultat som avvek betydelig fra de resterende resultatene. Disse er merket med K i vedlegg 25 og 26. Det ble opprettet en kommunikasjon med teknisk support ved ANKOM og flere elementer i metodeutførelsen ble gjennomgått. Deriblant forsegling av filterposer.

Via ANKOM sine nettsider ble det opplyst om at batchen med F58 poser som var ved BioLab kunne potensielt ha en produksjonsdefekt. Etter en forespørsel til ANKOM ble F58 poser av nyere dato ettersendt til BioLab. Videre analysering viste også den samme trenden i disse filterposene (Vedlegg 29).

I den tidligere valideringen har F57 posene blitt benyttet og godkjent. For å kunne sammenligne ble disse filterposene benyttet videre i denne valideringen. Under disse seriene var trenden med avvikende resultater fraværende (Vedlegg 27 og 28) og repeterbarheten var tilsvarende det som ble observert ved bruk av F58 posene. Se Tabell 1. Beregningene foretatt for filterposene F58 har trukket fra de resultatene med store avvik.

Tabell 1: F57, F58 filterposer gjennomsnitt og standardavvik

Dato:	Filterposer	Gjennomsnitt	Standardavvik
14.03.17	F57	1,94	0,160
04.04.17	F57	2,06	0,092
09.03.17	F58	2,25	0,150
14.12.16	F58	2,15	0,094
03.01.17	F58	2,24	0,105

Det er en forskjell i resultatene oppnådd ved bruk av filterposene F57 og F58. I den siste analyseserien med bruk av de nye F58 filterposene (Vedlegg 29) ble snittverdien på 2,25%. I de siste to analyseseriene ved bruk av F57 filterposene er snittverdiene henholdsvis 1,94% og 2,06%. Ved beregning av f-test og t-test er det et signifikant avvik i t-testen (Vedlegg 30). Overgangen fra F58 til F57 godtas likevel, men med bakgrunn i metodebeskrivelsen AOCS Ba 6a-05. Her står det beskrevet at ved bruk av filterposen F57 kan det for finmalte prøver resultere i et resultat som er 0,5% enheter lavere. Metoden A 104 Råtevler (ANKOM) er klar til bruk fra og med 21.04.17.

Vedlegg 25: Askediglene blir oppbevart uten eksikator før bruk

Trevler
(ANKOM)
(BioLab-
metode) -
Under arbeid

Versjon 1.0

Brukerens
initialer:
Innveid dato
(DD.MM.ÅÅ):

JSJ

14.12.2016

Vekt ID:

010

Faktor C₁:

0,9830

Ferdig dato
(DD.MM.ÅÅ) :
Kontrollprøve
godkjent :

16.12.2016

Prøvenr.	Nr.	Digel- merke	Tara digel (g)	Tara filterpose, W1 (g)	Innveid prøve, W2 (g)	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g)	Rest forasking (g)	Tapt materieell W3 (g)	Trevler (%)	Gjennomsnitt (%)	Differanse	
BLANK	1		31,4018	0,3603	BLANK	31,7554	31,4012	-0,0006	0,3542				
	2		30,4299	0,3672		30,7904	30,4295	-0,0004	0,3609				
KP 1, F58	3		32,4118	0,3665	1,0070	32,7826	32,4122	0,0004	0,3704	1,01	1,5	K	1,0
	4		32,1143	0,3523	1,0055	32,4803	32,1136	-0,0007	0,3667	2,03			
KP 1, F58	5		34,7803	0,3543	1,0035	35,1267	34,7772	-0,0031	0,3495	0,12	1,0	K	1,8
	6		33,8249	0,3628	0,9987	34,2013	33,8252	0,0003	0,3761	1,95			
KP 1, F58	7		35,2148	0,3460	0,9958	35,5756	35,2143	-0,0005	0,3613	2,13	2,1		0,0
	8		34,5629	0,3512	1,0005	34,9299	34,5636	0,0007	0,3663	2,11			
KP 1, F58	9		30,2594	0,3470	0,9961	30,6204	30,2592	-0,0002	0,3612	2,02	1,1	K	1,8
	10		31,6221	0,3460	1,0071	31,9642	31,6215	-0,0006	0,3427	0,26			
KP 1, F58	11		33,7583	0,3536	1,0012	34,1043	33,7571	-0,0012	0,3472	-0,04	1,1	K	2,2
	12		35,4324	0,3625	0,9930	35,8079	35,4298	-0,0026	0,3781	2,19			
KP 1, F58	13		31,3233	0,3589	1,0040	31,6958	31,3224	-0,0009	0,3734	2,05	1,6	K	0,9
	14		39,2478	0,3595	1,0046	39,6056	39,2408	-0,0070	0,3648	1,14			
KP 1, F58	15		31,0828	0,3507	0,9934	31,4474	31,0813	-0,0015	0,3661	2,15	2,1		0,1
	16		32,8972	0,3469	0,9984	33,2595	32,8976	0,0004	0,3619	2,09			
KP 1, F58	17		33,4523	0,3565	0,9961	33,8249	33,4521	-0,0002	0,3728	2,25	2,2		0,0
	18		35,6250	0,3582	0,9963	35,9966	35,6226	-0,0024	0,3740	2,20			
KP 1, F58	19		35,9861	0,3515	1,0068	36,3536	35,9854	-0,0007	0,3682	2,25	2,2		0,0
	20		38,5496	0,3524	0,9961	38,9171	38,5484	-0,0012	0,3687	2,24			
KP 1, F58	21		31,9459	0,3510	0,9955	32,3087	31,9426	-0,0033	0,3661	2,12	2,2		0,1
	22		33,0770	0,3485	1,0004	33,4407	33,0757	-0,0013	0,3650	2,24			
KP 1, F58	23		33,5705	0,3523	1,0028	33,9394	33,5710	0,0005	0,3684	2,20	2,2		0,1
	24		38,7786	0,3613	0,9968	39,1542	38,7762	-0,0024	0,3780	2,29			

Snitt: 2,15 (trukket ut de tre verdiene under nr 10, 11 og 14)

St.avvik: 0,094 (trukket ut de tre verdiene under nr 10, 11 og 14)

Vedlegg 26: Askedigler blir forvarmet (2 timer) og oppbevart i eksikator før bruk

Trevler (ANKOM) (BioLab-metode) - Under arbeid

Versjon 1.0

Brukerens initialer:

JSJ

Ferdig dato (DD.MM.ÅÅ) :

04.01.2017

Innveid dato (DD.MM.ÅÅ):

03.01.2017

Kontrollprøve godkjent :

Vekt ID:

010

Faktor C₁:

0,9659

Prøvenr.	Nr.	Digel-merke	Tara digel (g)	Tara filterpose, W1 (g)	Innveid prøve, W ₂ (g)	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g)	Rest forasking (g)	Tappt materiell W3 (g)	Trevler (%)	Gjennomsnitt (%)	Differanse	
BLANK	1		31,4003	0,3489	BLANK	31,7383	31,4019	0,0016	0,3364				
	2		30,4284	0,3495		30,7678	30,4296	0,0012	0,3382				
KP 2, F58	3		32,4114	0,3636	0,9984	32,7835	32,4126	0,0012	0,3709	1,97	2,0	0,1	
	4		32,1119	0,3531	0,9984	32,4754	32,1137	0,0018	0,3617	2,07			
KP 2, F58	5		34,7766	0,3542	0,9892	35,1411	34,7781	0,0015	0,3630	2,11	2,1	0,0	
	6		33,8238	0,3472	0,9943	34,1824	33,8256	0,0018	0,3568	2,16			
KP 2, F58	7		35,2135	0,3552	1,0028	35,5790	35,2147	0,0012	0,3643	2,11	2,2	0,1	
	8		34,5620	0,3546	0,9891	34,9284	34,5642	0,0022	0,3642	2,19			
KP 2, F58	9		30,2588	0,3592	1,0091	30,6214	30,2596	0,0008	0,3618	1,47	1,8	K	0,7
	10		31,6219	0,3477	0,9999	31,9800	31,6226	0,0007	0,3574	2,16			
KP 2, F58	11		33,7572	0,3540	0,9855	34,1145	33,7578	0,0006	0,3567	1,50	1,9	K	0,8
	12		35,4297	0,3616	1,0099	35,8032	35,4312	0,0015	0,3720	2,25			
KP 2, F58	13		31,3212	0,3518	1,0016	31,6862	31,3230	0,0018	0,3632	2,34	2,0	K	0,7
	14		39,2410	0,3520	1,0050	39,5976	39,2411	0,0001	0,3565	1,64			
KP 2, F58	15		31,0808	0,3515	0,9959	31,4445	31,0817	0,0009	0,3628	2,34	2,3		0,2
	16		32,8978	0,3586	1,0023	33,2668	32,8985	0,0007	0,3683	2,19			
KP 2, F58	17		33,4518	0,3576	1,0082	33,8198	33,4520	0,0002	0,3678	2,22	2,2		0,0
	18		35,6223	0,3506	1,0000	35,9839	35,6232	0,0009	0,3607	2,20			
KP 2, F58	19		35,9857	0,3632	1,0055	36,3598	35,9857	0,0000	0,3741	2,32	2,3		0,0
	20		38,5484	0,3554	0,9976	38,9152	38,5488	0,0004	0,3664	2,32			
KP 2, F58	21		31,9420	0,3655	0,9978	32,3188	31,9423	0,0003	0,3765	2,35	2,3		0,0
	22		33,0752	0,3537	0,9932	33,4406	33,0760	0,0008	0,3646	2,31			
KP 2, F58	23		33,5704	0,3617	0,9950	33,9430	33,5707	0,0003	0,3723	2,30	2,3		0,0
	24		38,7754	0,3500	1,0137	39,1373	38,7756	0,0002	0,3617	2,33			

Snitt 2,24 (trukket ut de tre verdiene under nr 19, 11 og 14)

St.avvik 0,105 (trukket ut de tre verdiene under nr 19, 11 og 14)

Vedlegg 27: Benytter vekt med elektrostatisk utlading

Trevler (ANKOM) (BioLab-metode) - Under arbeid

Versjon 1.0

Brukerens initialer:	TAK
Innveid dato (DD.MM.ÅÅ):	14.03.17
Vekt ID:	15-1301
Faktor C ₁ :	0,9831

Ferdig dato (DD.MM.ÅÅ):

Kontrollprøve godkjent:

Prøvenr.	Nr.	Tara digel (g)	Tara filterposse, W ₁ (g)	Innveid prøve, W ₂ (g)	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g)	Rest foraskinng (g)	Tapt materiel i W ₃ (g)	Trevler (%)	Gjennomsnitt (%)	Differanse	Veid ut etter ordinære beregninger		
												Digel m/aske (60 min)	Digel uten askepartikler	Aske
BLANK	1	31,4016	0,4974	BLANK	31,8916	31,4027	0,0011	0,4889				31,4027	31,4013	0,0014
	2	30,4295	0,5387		30,9601	30,4304	0,0009	0,5297					30,4311	30,4295
F57	3	32,4114	0,5341	0,9726	32,9566	32,4132	0,0018	0,5434	1,88			32,4134	32,4124	0,0010
	4	32,1130	0,5294	0,9804	32,6536	32,1146	0,0016	0,5390	1,89	1,9	0,0	32,115	32,1131	0,0019
F57	5	34,7770	0,5230	0,9528	35,3107	34,7791	0,0021	0,5316	1,83			34,7792	34,7775	0,0017
	6	33,8245	0,5219	0,9663	34,3570	33,8262	0,0017	0,5308	1,83		1,8	0,0	33,8267	33,8246
F57	7	35,2141	0,5040	0,9675	35,7310	35,2157	0,0016	0,5153	2,05			35,2159	35,2142	0,0017
	8	34,5627	0,5077	0,9704	35,0810	34,5645	0,0018	0,5165	1,79		1,9	0,3	34,5647	34,5631
F57	9	30,2590	0,5168	0,9859	30,7883	30,2610	0,0020	0,5273	1,95			30,2613	30,2593	0,0020
	10	31,6217	0,5345	0,9981	32,1666	31,6224	0,0007	0,5442	1,88		1,9	0,1	31,6228	31,6222
F57	11	33,7576	0,5208	0,9794	34,2898	33,7585	0,0009	0,5313	1,97			33,759	33,7572	0,0018
	12	35,4297	0,4972	0,9553	35,9432	35,4315	0,0018	0,5117	2,40		2,2	0,4	35,4322	35,4304
F57	13	31,3209	0,5261	0,9906	31,8641	31,3236	0,0027	0,5405	2,35			31,3244	31,3223	0,0021
	14	39,2412	0,5350	0,9924	39,7874	39,2426	0,0014	0,5448	1,90		2,1	0,5	39,2431	39,2411
F57	15	31,0813	0,5155	0,9906	31,6080	31,0824	0,0011	0,5256	1,90			31,0828	31,0814	0,0014
	16	32,8979	0,5261	0,9816	33,4352	32,8993	0,0014	0,5359	1,90		1,9	0,0	32,8998	32,8981
F57	17	33,4521	0,5225	0,9652	33,9863	33,4535	0,0014	0,5328	1,98			33,4539	33,4521	0,0018
	18	35,6222	0,5374	0,9575	36,1691	35,6237	0,0015	0,5454	1,78		1,9	0,2	35,6241	35,6224
F57	19	35,9855	0,5156	0,9580	36,5121	35,9872	0,0017	0,5249	1,88			35,9877	35,9855	0,0022
	20	38,5481	0,5200	0,9957	39,0786	38,5497	0,0016	0,5289	1,78		1,8	0,1	38,5502	38,5482
F57	21	31,9422	0,5240	0,9819	32,4776	31,9430	0,0008	0,5346	1,98			31,9436	31,9421	0,0015
	22	33,0747	0,5297	0,9681	33,6152	33,0758	0,0011	0,5394	1,93		2,0	0,1	33,0763	33,0748
F57	23	33,5694	0,5209	0,9890	34,1008	33,5712	0,0018	0,5296	1,77			33,5718	33,5697	0,0021
	24	38,7753	0,4982	0,9732	39,2856	38,7768	0,0015	0,5088	1,95		1,9	0,2	38,778	38,7754

Snitt 1,94
St.avvik: 0,160

Vedlegg 28: Benytter vekt med elektrostatisk utlading og varierer avkjølingstid i eksikator

Trevler (ANKOM) (BioLab-metode) -
Under arbeid

Versjon
1.0

Brukerens initialer:	TAK
Innveid dato (DD.MM.ÅÅ):	04.04.17
Vekt ID:	15-1301
Faktor C ₁ :	0,9843

Ferdig dato (DD.MM.ÅÅ):	05.04.17
Kontrollprøve godkjent:	

Prøvenr	Nr	Tara digel (g)	Tara filterposse, W1 (g)	Innveid prøve, W ₂ (g)	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g) (45 min)	Rest foraskin g (g)	Tapt materiel l W ₃ (g)	Trevler (%)	Gjenno msnitt (%)	Differ anse	Veid ut etter ordinære beregninger		
												Digel m/aske (65 min)	Digel uten askepartik ler	Aske
BLANK	1	31,4012	0,5383	BLANK	31,9317	31,4023	0,0011	0,5294				31,4009	0,0014	
	2	30,4294	0,5315		30,9550	30,4314	0,0020	0,5236				30,429	0,0024	
F57	3	32,4114	0,5199	0,9799	32,9452	32,4137	0,0023	0,5315	2,02			32,4112	0,0025	
	4	32,1126	0,5173	0,9576	32,6451	32,1146	0,0020	0,5305	2,23	2,1	0,2	32,1122	0,0024	
F57	5	34,7773	0,5294	0,9650	35,3194	34,7782	0,0009	0,5412	2,08			34,7765	0,0017	
	6	33,8242	0,5369	0,9997	34,3747	33,8261	0,0019	0,5486	2,01	2,0	0,1	33,824	0,0021	
F57	7	35,2140	0,5180	0,9711	35,7464	35,2163	0,0023	0,5301	2,08			35,2135	0,0028	
	8	34,5629	0,5193	0,9956	35,0964	34,5649	0,0020	0,5315	2,04	2,1	0,0	34,5629	0,0020	
F57	9	30,2590	0,5166	0,9801	30,7900	30,2609	0,0019	0,5291	2,10			30,2589	0,0020	
	10	31,6219	0,5000	1,0000	32,1370	31,6234	0,0015	0,5136	2,14	2,1	0,0	31,6213	0,0021	
F57	11	33,7569	0,5364	0,9772	34,3077	33,7593	0,0024	0,5484	2,09			33,7568	0,0025	
	12	35,4298	0,5269	0,9710	35,9704	35,4320	0,0022	0,5384	2,04	2,1	0,1	35,4297	0,0023	
F57	13	31,3217	0,5202	0,9871	31,8559	31,3244	0,0027	0,5315	1,97			31,3215	0,0029	
	14	39,2399	0,5385	0,9810	39,7918		0,0034	0,5485	1,88	1,9	0,1	39,2433	39,2408	0,0025
F57	15	31,0812	0,5446	0,9685	31,6394		0,0018	0,5564	2,10			31,083	31,0805	0,0025
	16	32,8980	0,5220	0,9886	33,4345		0,0020	0,5345	2,09	2,1	0,0	32,9	32,8979	0,0021
F57	17	33,4513	0,5240	0,9825	33,9890		0,0024	0,5353	1,99	2,0	0,1	33,4537	33,4517	0,0020
	18	35,6220	0,5198	0,9713	36,1564		0,0029	0,5315	2,04			35,6249	35,6226	0,0023
F57	19	35,9857	0,5168	0,9882	36,5157		0,0025	0,5275	1,90	2,0	0,2	35,9882	35,9855	0,0027
	20	38,5481	0,5256	0,9914	39,0880		0,0019	0,5380	2,08			38,55	38,5481	0,0019
F57	21	31,9419	0,5094	1,0030	32,4661		0,0030	0,5212	1,97	2,0	0,1	31,9449	31,9421	0,0028
	22	33,0743	0,5401	0,9556	33,6281		0,0026	0,5512	2,05			33,0769	33,0748	0,0021
F57	23	33,5698	0,5063	0,9797	34,0914		0,0020	0,5196	2,17	2,2	0,1	33,5718	33,5694	0,0024
	24	38,7751	0,5346	0,9543	39,3254		0,0025	0,5478	2,26			38,7776	38,775	0,0026

Snitt 2,06

St.avvik 0,092

Vedlegg 29: Analyse med nye F58 filterposer

Trevler (ANKOM) (BioLab-metode) -

Under arbeid

Versjon
1.0

Brukerens
initialer:

TAK

Innveid dato
(DD.MM.ÅÅ):

09.03.17

Vekt ID:

1301

Faktor C₁:

0,9762

Ferdig dato
(DD.MM.ÅÅ) :

10.03.
17

Kontrollprøve
godkjent :

Prøvenr.	Nr.	Tara digel (g)	Tara filterpos e, W1 (g)	Innveid prøve, W ₂ (g)	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g)	Rest foraskin g (g)	Tapt materiell W ₃ (g)	Trevler (%)	Gjenno msnitt (%)	Diffe rans e	Digel m/aske	Digel uten askepartik ler	Aske
BLANK	1	31,4012	0,3645	BLANK	31,7567	31,4012	0,0000	0,3555					31,4006	0,0006
	2	30,4294	0,3971		30,8176	30,4296	0,0002	0,3880						30,4289
F58	3	32,4116	0,3763	0,9715	32,8010	32,4125	0,0009	0,3885	2,18				32,4115	0,0010
	4	32,1128	0,3628	0,9899	32,4899	32,1135	0,0007	0,3764	2,25	2,2	0,1		32,1124	0,0011
F58	5	34,7772	0,3696	0,9716	35,1617	34,7774	0,0002	0,3843	2,42				34,7764	0,0010
	6	33,8245	0,3991	1,0020	34,2353	33,8247	0,0002	0,4106	2,10	2,3	0,3	33,8261	33,8245	0,0016
F58	7	35,2143	0,3980	0,9624	35,6034	35,2147	0,0004	0,3887	0,02				35,2134	0,0013
	8	34,5628	0,3743	0,9565	34,9499	34,5637	0,0009	0,3862	2,18	1,1	K 2,2		34,5624	0,0013
F58	9	30,2592	0,3934	0,9571	30,6669	30,2590	-0,0002	0,4079	2,49			30,2604	30,2589	0,0015
	10	31,6218	0,3900	0,9788	32,0226	31,6228	0,0010	0,3998	1,95	2,2	0,5		31,6209	0,0019
F58	11	33,7580	0,3783	0,9730	34,1513	33,7576	-0,0004	0,3937	2,51				33,7566	0,0010
	12	35,4302	0,3821	0,9811	35,8258	35,4304	0,0002	0,3954	2,28	2,4	0,2	35,4317	35,4304	0,0013
F58	13	31,3221	0,3908	0,9877	31,7255	31,3222	0,0001	0,4033	2,21			31,3236	31,322	0,0016
	14	39,2415	0,3937	1,0079	39,6489	39,2413	-0,0002	0,4076	2,31	2,3	0,1		39,2402	0,0011
F58	15	31,0811	0,3627	0,9804	31,4587	31,0816	0,0005	0,3771	2,35				31,0809	0,0007
	16	32,8979	0,3639	0,9737	33,2740	32,8981	0,0002	0,3759	2,12	2,2	0,2	32,8991	32,8977	0,0014
F58	17	33,4517	0,4106	1,4643	33,8772	33,4527	0,0010	0,4245	1,62				33,4516	0,0011
	18	35,6222	0,3760	0,9944	36,0102	35,6227	0,0005	0,3875	2,06	1,8	K 0,4		35,6218	0,0009
F58	19	35,9854	0,3596	0,9762	36,3599	35,9855	0,0001	0,3744	2,39				35,9844	0,0011
	20	38,5474	0,3513	1,0016	38,9137	38,5480	0,0006	0,3657	2,27	2,3	0,1	38,5493	38,5479	0,0014
F58	21	31,9420	0,3742	0,9626	32,3076	31,9423	0,0003	0,3653	0,00				31,9412	0,0011
	22	33,0747	0,3753	0,9906	33,4631	33,0750	0,0003	0,3881	2,19	1,1	K 2,2		33,0739	0,0011
F58	23	33,5700	0,3651	0,9715	33,9479	33,5686	-0,0014	0,3793	2,36					
	24	38,7746	0,3846	0,9793	39,1704	38,7749	0,0003	0,3955	2,05	2,2	0,3		38,7743	0,0006

Snitt: 2,25 (trukket ut de tre verdiene under nr 7, 17, 21)

Vedlegg 30: F-test, t-test

Filterposene F58		Filterposene F57	
Mean (X_1)	2,250	Mean (X_2)	2,060
Standardavvik (S_1)	0,150	Standardavvik (S_2)	0,0918
Antall (n_1)	19	Antall (n_2)	22

F-test	2,65	
Avlest F-verdi tabell	2,964	1 %
Metodene har lik presisjon	Ingen signifikante forskjeller	
"Pooled" standardavvik (S_p)	0,12	
t-test	4,98	
Ant. Frihetsgrader	39	
Avlest t-verdi tabell	2,02	5 %
Metodene har lik presisjon	Signifikant forskjell	

Vedlegg 31: Prøvematriks feces – gjentak

I vedlegg 18 ble det besluttet at fiber i prøvematriksen feces kunne analyseres ved bruk av fiberposen F58 på innveiingsnivået 0,35 g. Resultatene ble sammenlignet mot den manuelle metoden A 80 Råtrevler som BioLab utfører. Det ble også besluttet at samtlige prøver kunne analyseres ved bruk av fiberposen F58. Fiberposene F57 var ikke ønskelig til bruk ved analyse av feces siden mindre partikler gikk igjennom fiberposen. Dette viste seg visuelt under avfettingen og på det noe lavere resultatet.

Etter oppstart av analysemetoden ble det observert mange feil underveis i hver prøveserie, og en av årsakene var fiberposen F58. Det ble aldri helt klart hva som var grunnen, men det mistenktes at fiberposene åpnet seg underveis i analysen. Derfor ble det besluttet i vedlegg 24 å gå vekk fra F58 og tilbake til F57. På bakgrunn av dette har det ikke vært ønskelig å analysere prøvematriksen feces ved bruk av F57.

I den senere tid har det vært et økt ønske om å kunne analysere fiberinnholdet i feces, og saken med fiberposene F58 ble tatt opp igjen. Det ble laget til en blandeprøve (2019-00753-01) bestående av 22 stk feces prøver. Det ble gjennomført en analyseserie med 10 stk innveiinger fordelt på tre ulike nivå (0,2 g, 0,5 g, 1,0 g) av 2019-00753-01 med fiberpose F58. Det viste seg at flere av prøvene åpnet seg underveis i prosessen. Det ble antatt at problemet var sveisingen av fiberposene. En tilsvarende analyseserie ble gjennomført, men denne gangen ble det benyttet et kraftigere sveiseapparat der vi visuelt så at posene var lukket. Se vedlegg 32 for resultatene.

I den siste analyseserien med F58 ble det observert de samme trendene som ved vedlegg 18. Det vil si at ved de tre innveiingsnivåene var fiberinnholdet ved 0,2 g og 0,5 g like, mens for 1,0 g innveiing var det en nivåendring. Dette stemmer overens med det som ble funnet i tidligere i vedlegg 18. Det ble ikke observert store feil i analyseserien som tilsa at det var noe problem med lukkingen av posene. Kontrollprøven ble godkjent innenfor kravene satt av kontrollkortet.

På bakgrunn av resultatene i denne analyseserien ser det ut til at problemene som oppstod etter valideringen i vedlegg 18 kom på grunn av ikke tilstrekkelig lukking av fiberposene. Ved å benytte et kraftigere sveiseapparat forsvant dette problemet. Siden resultatene også stemmer overens med trenden av resultatene i vedlegg 18 besluttet det at den opprinnelige konklusjonen om å bruke fiberposene F58 for prøvematriksen feces er igjen gyldig. Dette gjelder fra og med 13.02.2019. For ordinære prøver benyttes fortsatt fiberposene F57, men det anbefales å gjøre en vurdering om dette også kan fases over til F58.

Vedlegg 32: Analyse av feces ved fiberpose F58

Fiber (ANKOM) (Biolab-metode)
 Versjon 1.1

Brukerens initialer: nf
 Innevid dato (DD.MM.ÅÅ): 08.02.19
 Vekt ID: 1223
 Faktor C₁: 0,9789

0,9789

NB: Benyttet annen verdi for blank, F58

Ferdig dato (DD.MM.ÅÅ) : 13.02.2019
 Kontrollprøve godkjent : 13.02.19

13.02.2019
13.02.19

Prøvenr.	Nr.	Digel- melke	Tara digel (g)	Tara filterpose, W ₁ (g)	Innevid prøve, W ₂ (g)	Digel med prøve før forasking (g)	Digel med prøve etter forasking (g)	Trevler (%)	Gjennomsnitt (%)	Differanse
Blank	1		31,4100	0,3646		31,7683	31,4105			
	2		30,4378	0,3752		30,8048	30,4384			
	3		32,4203	0,3585	0,9900	32,7965	32,4213	2,45		
kp 8	4		34,8984	0,3734	0,9928	35,2884	34,8990	2,40	2,4	0,0
	5		34,7863	0,4101	0,5123	35,2291	34,7887	7,60		0,4
753-1	6		33,8345	0,3758	0,5049	34,2406	33,8364	7,19	7,4	
	7		35,2226	0,3829	0,5203	35,6376	35,2243	7,39	7,4	0,1
753-1	8		34,5711	0,3979	0,5012	34,9995	34,5725	7,48		
	9		30,2666	0,3754	0,2071	30,6503	30,2674	7,44		0,4
753-1	10		31,6292	0,3778	0,2177	32,0175	31,6307	7,79	7,6	
	11		33,7645	0,3774	0,2233	34,1514	33,7655	7,36	8,5	2,2
753-1	12		35,4377	0,3532	1,0032	35,8899	35,4484	9,54		
	13		31,3273	0,3912	1,0017	31,8337	31,3465	10,41		
753-1	14		39,2470	0,3799	1,0039	39,7536	39,2752	10,61	10,5	0,2
	15									
	16									
	17									
	18									
	19									
	20									
	21									
	22									
	23									
	24									

