

Icke-destruktiva mätningar av fröers fuktinnehåll för att avgöra minimumtorktiden för fröer som ska långtidbevaras.

Non-destructive measurements of seed moisture content to estimate the minimum drying time of seeds intended for long-term storage.

David Nimblad Svensson



Icke-destruktiva mätningar av fröers fukttinhåll för att avgöra minimumtorktiden för fröer som ska långtidbevaras

Non-destructive measurements of seed moisture content to estimate the minimum drying time of seeds intended for long-term storage.

David Nimblad Svensson

Handledare: Jonatan Leo, SLU, Institutionen för Växtförädling

Btr handledare: Jette Nydam Hansen och Johan Axelsson på NordGen

Examinator: Li-Hua Zhu, SLU, Institutionen för Växtförädling

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: G2E

Kurstitel: Kandidatarbete i biologi

Kurskod: EX0493

Program/utbildning: Hortonomprogrammet

Utgivningsort: Alnarp

Utgivningsår: 2018

Omslagsbild: David Nimblad Svensson

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: ERH EMC fukttinhåll frö långtidsbevaring genbank torkningskurvor hygrometer

Förord

Ett stort tack till Jette Nydam Hansen och Johan Axelsson på NordGen för förfrågan att göra arbetet och för ert stöd under arbetets gång. Jag hoppas att arbetet kommer att vara till nytta. Jag vill också rikta ett varmt tack till min handledare Jonatan Leo som varit mycket hjälpsam och motiverande, speciellt under skrivandeprocessen när jag var i störst behov av handling. Tack också till Jordbruksverkets utsädesenhet som utförde fuktinnehållsmätningar åt mig.

Den 2 januari 2018

David Nimblad Svensson

Sammanfattning

För långtidsbevarandet av fröer har fuktinnehållet stor betydelse. Hos genbanker är mängden frö ofta begränsat vilket gör att en icke-destruktiv metod är önskvärd. En sådan metod utnyttjar att fröers fuktinnehåll förändras utefter vad luftfuktigheten är i den omgivande miljön. Jämvikten som luftfuktigheten kring fröer i en försluten miljö när kan därför mätas med en hygrometer och relateras till fuktinnehållet. Detta värde som mäts med hygrometern kallas för ERH ('Equilibrium relative humidity').

Genbanken NordGen vill att fröer ska ha ett fuktinnehåll under 7 % innan de långtidsbevaras och frågeställningen var därför efter hur lång tid och vid vilket ERH detta uppnås för korn (*Hordeum vulgare*), foderlost (*Bromus inermis*) och raps (*Brassica napus*).

I arbetet användes hygrometern Rotronic HC2-AW-USB probe (Rotronic AG, 2011). Fröerna var placerade i bägare i torkrummet som höll 15° C och 10 % relativ luftfuktighet och mättes en gång i veckan. Vid tre tillfällen skickades prover till jordbruksverkets utsädesenhet för mätningar av det totala vatteninnehållet.

Torkningskurvor gjordes för de tre olika typerna av frö och förhållandet mellan ERH och fuktinnehåll jämfördes med Cromartys ekvation. *H. vulgare* jämfördes även med ekvationen Modified Henderson.

H. vulgare kom ner till 7,6 % fuktinnehåll på två månader och behöver därför längre tid än så i torkrummet. För *B. inermis* räcker två veckor för att fröerna ska komma under 7 % fuktinnehåll. Fröer av *B. napus* var under 7 % fuktinnehåll redan efter en vecka i torkrummet.

Abstract

Moisture content is an important factor in the long-term storage of seeds. In gene banks where the amount of seed is often limited, a non-destructive method for measuring the seed moisture content is desirable. The seed moisture content changes depending on the relative humidity of the surrounding atmosphere, until equilibrium is reached. This equilibrium relative humidity, ERH, can be used to measure if the seeds are ready for long-term storage and can be measured in an enclosed container. The genebank NordGen has previously determined that seed moisture content must be below 7 % before long term storage. The purpose of this study was therefore to find out after how long and at what ERH this occurs, for Barley (*Hordeum vulgare*), smooth brome grass (*Bromus inermis*) and rapeseed (*Brassica napus*).

In this study, the hygrometer Rotronic HC2-AW-USB probe (Rotronic AG, 2011) was used. The seeds of the three species were kept in the drying room set to 15° C and 10 % relative humidity. Measurements were carried out once a week. On three occasions, seeds were sent to the Swedish board of agriculture's seed unit to measure moisture content. Drying profiles were made for all three types of seeds and the ability of Cromarty's equation to fit the ERH/moisture content data was investigated. The Modified Henderson's equation was used for *H. vulgare*.

H. vulgare reached 7,6 % moisture content after two months and therefore requires longer time in the drying room. For *B. inermis*, two weeks was enough for the seeds to fall below a moisture content of 7 %. For seeds of *B. napus* one week was enough.

Innehållsförteckning

Bakgrund	1
Ändamål och Syfte	5
Material och metoder	6
Resultat	9
Diskussion	13
Slutsats.....	17
Litteraturlista	18

Bakgrund

Långtidsbevarandet av fröer sker hos genbanker världen över och säkerställer att de genetiska resurserna finns tillgängliga för såväl växtförädlare som odlare. Det är en säkerhet för kommande generationer att sorter, som i framtiden kan vara av stor betydelse, finns väl bevarade. Det finns ett tydligt kvantitativt samband mellan fröers fukttinnehåll och hur länge de kan bevaras. Lågt fukttinnehåll innebär längre hållbarhet, vilket är av stor betydelse för mänsklighetens försörjning och distribution av fröer och även bevaringen av genetiska resurser (Finch-Savage, 2003).

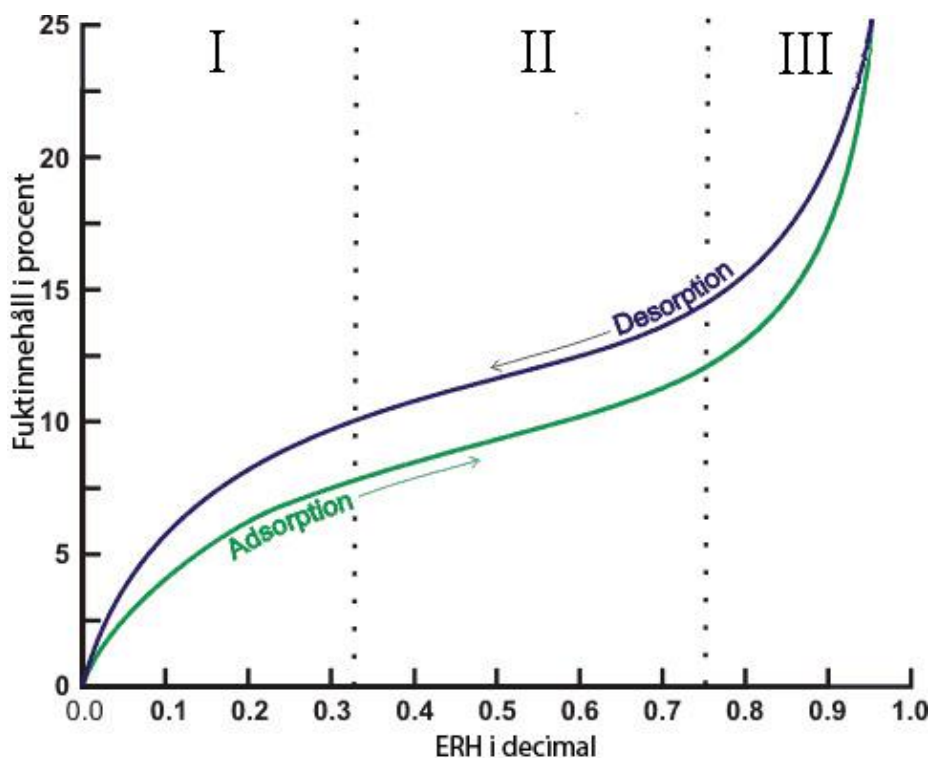
Ortodoxa fröer kallas fröer som kan torkas till ett väldigt lågt fukttinnehåll ($\leq 3-7\%$ färskvikt) (Roberts, 1973). Sådana fröer får en ökad livslängd om de bevaras vid ett lågt fukttinnehåll (McDonald, 2007). Genbanken NordGen har som standard att torka fröer till under sju procent. Torkning sker som ett naturligt förprogrammerat sista stadie i ortodoxa fröers utveckling före spridning. Recalcitranta fröer saknar detta utvecklingsstadium och tolererar därmed inte vattenförlust i så hög utsträckning. Termerna ortodox och recalcitrant baseras dock på hur länge fröerna överlever och inte torktolerans. Indelning går inte att göra baserat på hur torktåliga de är eftersom att det finns ett överskridande mellan ortodoxa och recalcitranta arter (Finch-Savage, 2003).

Fröers fukttinnehåll förändras utefter vad luftfuktigheten är i den miljön som de befinner sig i eftersom att fröer är hygroskopiska och absorberar/desorberar vatten tills de har nått en jämvikt med atmosfären (Probert et al., 2003; McDonald, 2007).

Den relativa luftfuktigheten runt om fröna kallas för ERH (*'Equilibrium relative humidity'*) när en jämvikt uppstår. Detta värde som är i procent relativ luftfuktighet kan relateras till fukttinnehåll. Fukttinnehållet kallas vid jämvikt för EMC (*'Equilibrium moisture content'*). ERH talar om den maximala relativa luftfuktigheten som kan uppnås i luften runt fröerna vid ett visst fukttinnehåll. Tvärtom talar EMC om vid vilket fukttinnehåll ett frö når jämvikt när det utsätts för en viss temperatur och luftfuktighet. EMC är beroende av temperatur, luftfuktighet och fröets karaktär (Maciel et al., 2015).

Fröers affinitet för vatten (tendens att binda) påverkas främst av de tre typerna av lagringsstrukturer proteiner, stärkelse och lipider. Proteiner har en något högre affinitet för vatten än stärkelse. Lipider saknar polära grupper och har ingen attraktion för vatten (McDonald, 2007). Fröer med hög lipidhalt har därför lägre affinitet för vatten och ett lägre EMC vid ett specifikt ERH jämfört med fröer med låg lipidhalt.

Förhållandet mellan hur mycket fukt ett frö kan absorbera vid en viss luftfuktighet och en konstant temperatur beskrivs av en bakåtvänd S-formad kurva (Figur 1) som kallas för en isoterm (McDonald, 2007). Kurvan kan delas in i tre olika delar. I den första fasen där det är låg fuktighet är det mesta utav vattnet bundet till polära områden på proteiner och stärkelse. I denna region är fröna relativt inerta (det sker alltså väldigt lite fysiologisk aktivitet).



Figur 1. Isoterm som beskriver förhållandet mellan ERH och EMC. De tre faserna är utmärkta, där vatten är som hårdast bundet i den första fasen. Hysteresiseffekten illustreras av två sorptionskurvor. Modifierad från (Chaplin, 2017).

I den andra delen kan åldringsprocesser ske (McDonald, 2007; Gold och Hay, 2007). Åldringsprocesser innebär olika cellulära, metaboliska och kemiska förändringar som har skadande effekter i fröet. Exempel på sådana processer är lipidnedbrytning, membranslitning, DNA skador och försvagning av RNA- och proteinsyntes (Abidi, 2015). DNA skador kan ske till följd av fragmentering (Osborne et al., 1981) eller DNA oxidering (Slupphaug et al., 2003).

I den sista fasen sker en snabb upptagning av vatten vid 80 % relativ luftfuktighet och 15 % fukttinnehåll. Vattnet som tas upp binder till det befintliga vattnet som är bundet till proteiner och stärkelse. Detta vatten betraktas som fritt vatten som enkelt kan föras bort från systemet (McDonald, 2007). Normala metaboliska processer kan ske, men groning sker först vid 100 % relativ luftfuktighet. Om det finns tillgång till syre så kan skador från åldringsprocesser repareras (Gold och Hay, 2007). För lagringssyfte är det önskvärt att fröerna befinner sig i den första fasen.

Beroende på om ett frö absorberar eller desorberar fukt skiljer sig EMC. Denna effekt kallas för hysteres. Fukttinnehållet vid samma relativa fuktighet är aningen högre när ett frö avger fukt än när det tar upp. Detta tros bero på att vatten som tillkommer fastnar i tertiära proteinstrukturer och därför är svårare att föra bort än det är att lägga till i ett icke veckat protein (Harrington, 1972).

Fler än 200 ekvationer har utvecklats för att beskriva förhållandet mellan ERH och EMC. Ingen ekvation har dock visat sig fungera väl för alla typer av fröer eller över ett större spann av temperatur och luftfuktighet. Det finns därför ett behov att för varje typ av frö undersöka vilken ekvation som passar bäst (Sun och Woods, 1993). Enligt Sun och Byrne, (1998) är ekvationen Modified Halsey den mest lämpade för raps (*Brassica napus*). En av de bättre ekvationerna för korn (*Hordeum vulgare*) är Modified Henderson (Chen och Morey, 1989; ASAE, 1995).

För foderlösa (*Bromus inermis*) finns inte någon studie om vilken ekvation som passar bäst. Däremot så kan Cromartys ekvation användas när det inte finns experimentella data. I denna ekvation är oljeinnehållet en parameter. Oljeinnehållet har stor påverkan på den hygroskopiska jämvikten (ju högre oljeinnehåll, desto lägre EMC). ERH skiljer sig därför mycket mellan olika sorter av oljerika fröer där

oljeinnehållet kan skilja sig kraftigt (Maciel et al., 2015). Ekvationen är lämplig att använda i luftfuktigheter mellan 10-70 % (Cromarty et al., 1982). Cromartys ekvation används exempelvis i Kews frödatadatabas, SID (Royal Botanic Gardens Kew, 2017).

Den vanligaste metoden för att mäta fukttinnehållet i frön involverar torkning i ugn i temperaturer över 100°C (ISTA, 1985). Denna metod används för att den är exakt och ger ett värde (fukttinnehåll i procent per färskvikt) som är oberoende av typ av frö. Nackdelen med den metoden är att den är destruktiv. För en genbank där mängden frö ofta är begränsad är detta inte alltid en lämplig metod. Metoden är också arbetsintensiv. För att följa torkningsförloppet är det i de flesta fröbankernas intresse att finna en metod som är snabb och icke-destruktiv. Metoden ska dock vara lika tillförlitlig som metoden enligt ISTA, (1985). Icke destruktiva metoder utnyttjar fröers hygroskopiska egenskaper (Probert et al., 2003). Tillexempel så kan ERH mätas med en hygrometer som sedan kan relateras till EMC vid behov. Metoden introducerades av Pixton och Warburton, (1973) men blev inte populär förrän mycket senare än så (Chen, 2000; de Souza et al., 2013). Anledningen till det är den ökande tillgängligheten av hygrometrar som är tillförlitliga och lättanvända (Zhang et al., 2017).

Ändamål och syfte

Eftersom att NordGen vill att frön ska ha ett fuktinnehåll under 7 % innan de långtidsbevaras var frågeställningen därför efter hur lång tid och vid vilket ERH detta uppnås.

Syftet med arbetet var att

1. Undersöka frötorkningsförloppet för *H. vulgare*, *B. inermis* och *B. napus* med hjälp av ERH för att se hur lång tid det tar att torka dessa frön vid 15° C och 10 % relativ luftfuktighet.
2. Använda mätvärden av ERH till att göra torkningskurvor som i framtiden kan användas för att uppskatta hur lång tid dessa typer av fröer behöver i torkrummet.
3. Jämföra värden från ERH-mätningar med fuktighetsmätningar som utfördes av Jordbruksverket. Detta gjordes för att kunna relatera ERH till EMC för att upprätta riktvärden för NordGens verksamhet.

Material och metoder

Fröna i projektet odlades i Alnarp, Skåne och skördades 2–3 veckor innan den första mätningen. Fram tills första mätningen bevarades de i rumstemperatur.

I arbetet användes hygrometern Rotronic HC2-AW-USB probe (Figur 2) som var kopplad till en PC med mjukvaran HW4 (Rotronic AG, 2011), där snabbprogrammet AWquick användes. AWquick använder en algoritm för att förutspå jämviktswärdet (ERH) istället för att vänta på att jämvikt för fuktigheten och temperatur ska uppnås. En mätning tar ungefär fem minuter med detta läge, till skillnad från det långa programmet AwE som tar minst 30 minuter. Detta möjliggjorde att göra tre replikat per typ av frö. Det antogs att det skulle vara bättre med fler replikat av det korta programmet än att köra det långa programmet med bara ett replikat. Noggrannheten är enligt tillverkaren ungefär ± 0.8 % RH för båda programmen (Rotronic AG, 2011). Innan mätningarna påbörjades jämfördes AwQuick och AwE och AwQuick bedömdes tillfredsställande mätresultat. Hygrometern kalibrerades enligt tillverkarens instruktioner vid 21°C, men temperaturen i frölabbet hölls inte konstant.

Tre bägare (PS-40 av Rotronic) för varje typ av frö gjordes iordning. Bägarna fylldes ungefär till linjen (Figur 2). Vikt exklusive bägaren; *H. vulgare*; 26,79 \pm 0,02g, *B. inermis*; 9,52 \pm 0,01g, *B. napus*; 25,93 \pm 0,01g. Tre bägare fylldes också för varje typ av frö för att skickas till jordbruksverkets utsädesenhet för mätningar av det totala vatteninnehållet vid tre olika tillfällen. På jordbruksverkets utsädesenhet görs sådana mätningar rutinmässigt.

Vid första mätningen förslöts en bägare med varje typ av frö i en laminerad aluminiumpåse för att behålla fuktinnehållet. Resterande prover ställdes in i torkrummet som var inställt på 10 % RH och 15°C. Mätningarna upprepades med ungefär en veckas mellanrum. Dagen innan mätningen förslöts bägarna med fröer i laminerade aluminiumpåsar och ställdes ut i rummet där hygrometern var placerad, så att fröerna fick samma temperatur som det var i rummet.

Vid mätningarna efter 28 dagar och 57 dagar förslöts också en av bågarna ämnade för att skickas till jordbruksverket av varje sorts frö i en laminerad aluminiumpåse. På Jordbruksverket utfördes standardiserade tester av fukttinnehåll enligt ISTA, (1985) för noll och 28 dagar vid ett tillfälle och 57 dagar vid ett annat tillfälle. För *B. napus* misslyckades mätningen efter 57 dagar och därför skickades ett till prov efter 71 dagar. Proven som skickades till jordbruksverket kontrollerades med hygrometern för att säkerställa att de motsvarade värdena för de bågarna som rutinmässigt mättes.



Figur 2. Hygrometern kopplad till en PC och fröer i bågare.

Eftersom fukttinnehållet anges per färskvikt enligt ISTA så användes en formel för att omvandla den till per torrsvikt:

$$MC_{db} = \frac{MC_{wb}}{1 - MC_{wb}}$$

Där MCdb är fukttinnehållet per torrsvikt och MCwb är fukttinnehållet per färskvikt.

För alla tre typer av frö användes Cromartys ekvation.

$$M = \frac{[(1 - D_o)\sqrt{\{-440 \times \ln(1 - RH)\}}]}{\{1.1 + (\frac{T}{90})\}}$$

Där RH är Relativ luftfuktighet i decimal, M är fukttinnehåll i decimal per torrsvikt, T är temperatur (°C) och D_o är fröets oljeinnehåll i decimal per torrsvikt

Oljeinnehållet som användes var för *H. vulgare* 1,70 % (Cromarty et al., 1982), för *B. napus* 36,40 % och 41,60 % (Barclay och Earle, 1974; Earle och Jones, 1962) och för *B.inermis* 1,50 % (Earle och Jones, 1962). Mätvärdena av fuktinnehåll från Jordbruksverket plottades mot ERH i tre punkter för varje typ av frö.

För *H. vulgare* användes även ekvationen Modified Henderson

$$M = \frac{1}{100} * \left[\frac{\ln(1 - RH)}{-K * (T + C)} \right]^{1/N}$$

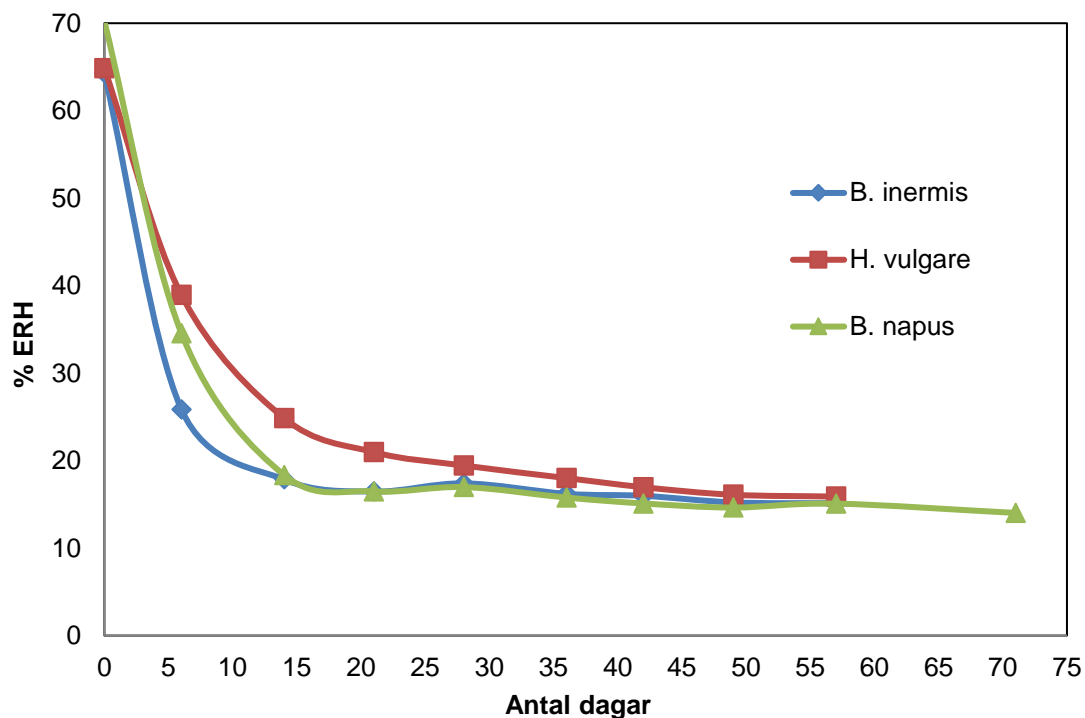
Där M är fuktinnehåll i decimal per torrsvikt, T är temperatur (°C), RH är relativ luftfuktighet i decimal och K, C och N är konstanter.

De tre värdena av fuktinnehåll från jordbruksverket användes ihop med motsvarande ERH för att skatta parametrarna i ekvationen. Ekvationen förenklades genom att slå ihop K, T och C. Sedan användes mjukvaran minitab 18 till att göra en icke-linjär regressionsanpassning. Kurvan ritades i excel. En icke förenklad kurva gjordes också med litteraturvärden för konstanterna (ASAE, 1995).

Resultat

Medelvärden av ERH-mätningarna plottades mot antalet dagar (Figur 3). Efter en månad var alla fröer under 20 % ERH.

Uppmätta ERH-värden steg för *B. napus* mellan 21–28 dagar samt mellan 59–57 dagar. För *B. inermis* steg ERH mellan 21–28 dagar.



Figur 3. Torkningskurvor för *B. inermis*, *H. vulgare* och *B. napus*. Notera att ERH steg för *B. napus* mellan 21–28 dagar samt mellan 59–57 dagar och för *B. inermis* mellan 21–28 dagar.

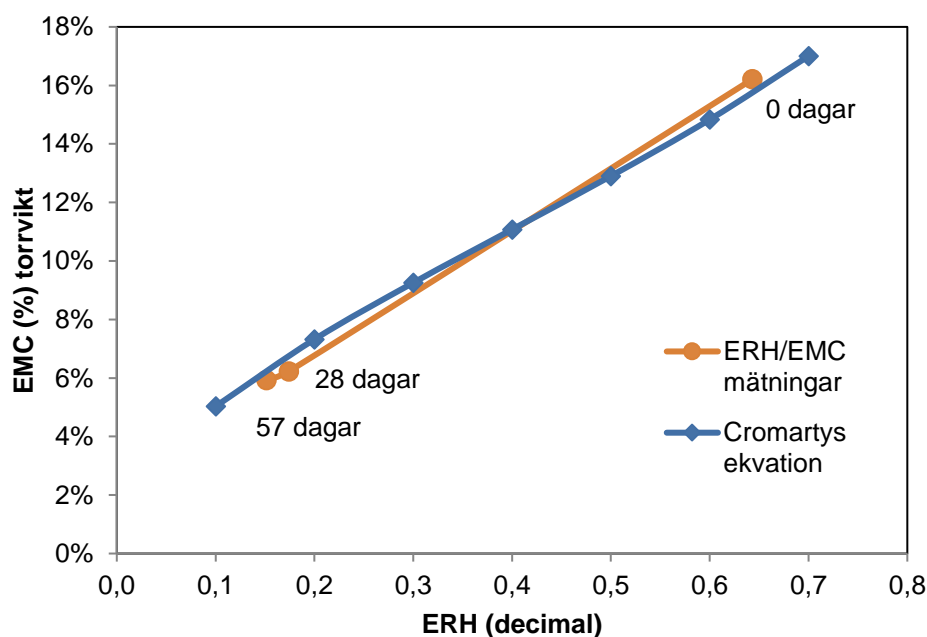
Temperaturen som den inbyggda termometern i hygrometern visade var konstant högre än de 21°C som hygrometern kalibrerats efter (Tabell 1). Fuktinnehåll i torr- och färskvikt från mätningarna på Jordbruksverket är angivna i samma tabell.

Tabell 1. Fuktinnehåll per färsk- och torrsvikt i procent och hygrometers temperatur (°C).

Antal dagar	Fuktinnehåll i färsksvikt och torrsvikt inom parantes (%)			Temperatur (°C)		
	<i>B. napus</i>	<i>B. inermis</i>	<i>H. vulgare</i>	<i>B. napus</i>	<i>B. inermis</i>	<i>H. vulgare</i>
0	9,27 (10,22)	13,95 (16,21)	14,87 (17,47)	22,56±0,04	22,33±0,11	22,02±0,14
6	-	-	-	22,4±0,15	22,95±0,07	22,71±0,08
14	-	-	-	23,71±0,07	23±0,17	23,43±0,13
21	-	-	-	22,21±0,05	22,05±0,05	21,8±0,10
28	3,76 (3,91)	5,86 (6,22)	8,24 (8,98)	22,58±0,12	22,19±0,12	21,87±0,10
36	-	-	-	22,11±0,06	22,33±0,08	22,54±0,06
42	-	-	-	22,89±0,05	22,76±0,05	22,63±0,05
49	-	-	-	22,96±0,05	22,81±0,05	22,65±0,07
57	-	5,6 (5,93)	7,6 (8,23)	21,64±0,12	22,14±0,08	22,38±0,05
71	3,6 (3,73)	-	-	22,14±0,07	-	-

B. Inermis

Cromartys ekvation gav en kurva som stämde väl överens med de plottade ERH/EMC-punkterna (Figur 4).

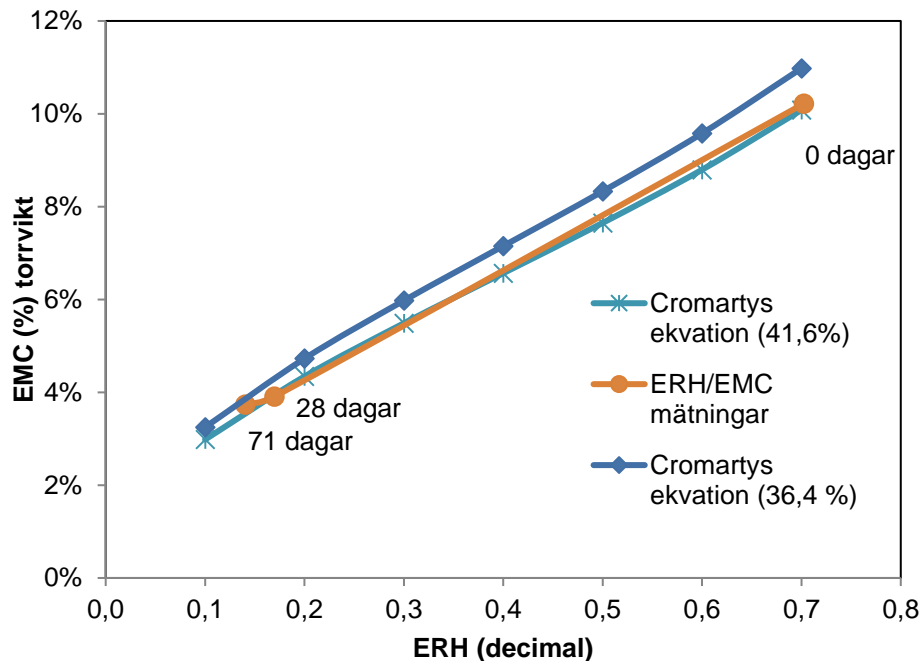


Figur 4. Cromartys ekvation och ERH/EMC-mätningar för *B. inermis* vid 0, 28 och 57 dagar.

Fuktinnehållet 7 % per färsksvikt (7,53 % per torrsvikt) uppnås vid 21,03 % ERH vid 21°C för Cromartys ekvation. Detta ERH uppnåddes mellan 6 och 14 dagar i torkrummet.

B.napus

ERH/EMC-mätningarna för *B. napus* stämde mer väl överens med Cromartys ekvation för fröer med oljeinnehållet 41,6 % än 36,4 % (Figur 5).

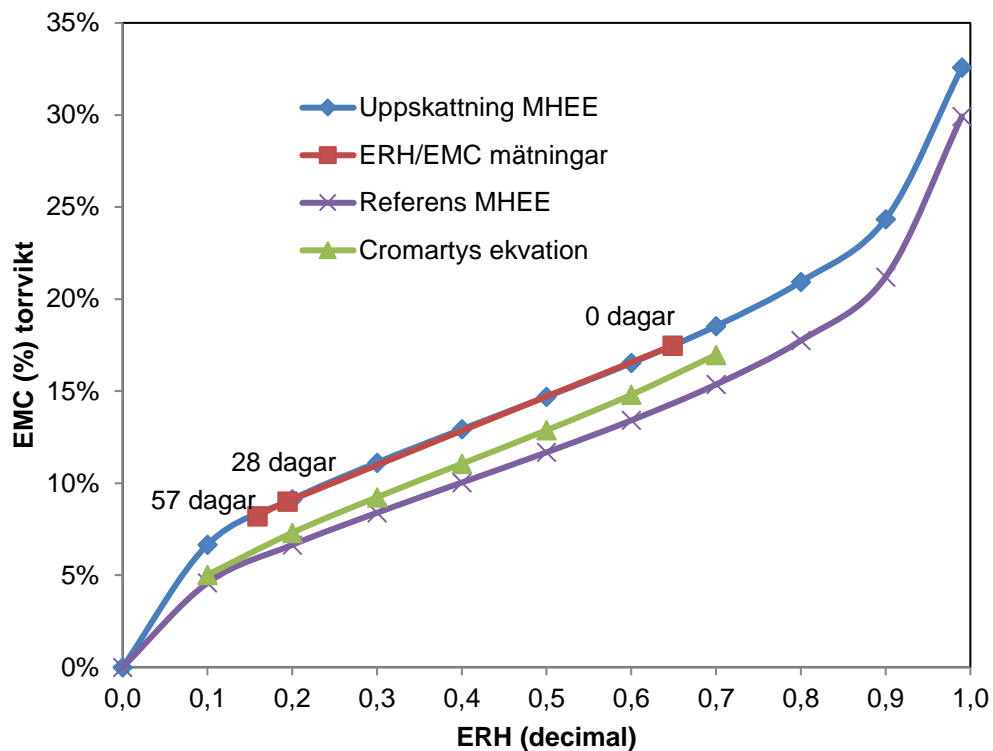


Figur 5. Cromartys ekvation för *B. napus* med oljeinnehåll 41,6 % och 36,4 % vid 21°C samt ERH/EMC-mätningar vid 0, 28 och 57 dagar.

Ett fuktinnehåll under 7 % per färsksvikt uppnås vid 21°C för Cromartys ekvation för 41,6% lipidhalt vid ERH 48,92% och för 36,4% lipidhalt vid ERH 43,24%.

H. Vulgare

Modified Henderson-ekvationen (MHEE) som användes för att ta fram förhållandet mellan ERH och EMC för *H. vulgare* producerade en bakåtvänd s-formad kurva (Figur 6). Såväl Modified Henderson som Cromartys ekvation producerade en kurva som höll sig under ERH/EMC-mätvärdena och följaktligen den uppskattade kurvan.



Figur 6. Förhållandet mellan ERH vid 21°C och EMC för *H. Vulgare*. Dels för Modified Henderson-ekvationen för ERH/EMC-mätningarna och referensvärden (ASAE, 1995) och dels för Cromartys ekvation.

Ett fuktinnehåll på 7 % per färskvikt motsvarar 13,16% ERH vid 21°C enligt uppskattningen med Modified Henderson. Det låga ERH-värdet uppnåddes inte på två månader. För referensvärdet (ASAE, 1995) motsvarar 7 % fuktinnehåll 24,93% ERH och för Cromartys ekvation 21,11 % ERH.

Diskussion

Metod

Få studier har publicerats som relaterat EMC med ERH genom att ta prover under själva torkningen. Orsaken är att de flesta studier har fokuserat på att ta fram isotermer och inte samtidigt torkningstiden.

Det finns metoder som är mycket precisa. En vanlig metod, som föreslagits som referensmetod (Wolf et al., 1985), för att ta fram värden för förhållandet mellan ERH och EMC är att skapa olika relativa luftfuktigheter och låta fröerna nå jämvikt. Detta görs med hjälp av salter som blandas med vatten. I saltlösningssmetoden (Saturated salt slurry method) används mättade lösningar med olika salter. Men ett salt (t.ex. LiCl) kan också användas i olika koncentrationer (Khedher Agha et al., 2013; Gold och Hay, 2007). En lufttät behållare fylls med saltlösningen som en bägare med frön placeras i, på något föremål för att inte vara i kontakt med vätskan. Fröernas vikt undersöks regelbundet och när vikten inte längre ändrar sig har provet nått jämvikt. När jämvikt har uppstått så mäts fukttinnehållet. Hur lång tid det tar för jämvikt att inträffa beror på frösor. För rågvete (*Triticale rimpauitog*) tog det i genomsnitt 10 veckor (Khedher Agha et al., 2013). I det här kandidatarbetet fanns inte tid för att utföra sådana behandlingar. De hade varit användbara i syftet att undersöka metodens tillförlitlighet. Saltlösningssmetoden kan inte användas för att följa ERH under torkningen utan endast för att ta fram isotermer. Flera studier har jämfört saltlösningssmetoden med ERH-mätningar. Tillexempel fann Chen, (2000) ingen signifikant skillnad på metoderna för jordnötter (*Arachis hypogaea*).

Ett sätt att undvika att behöva göra fler än en mätning av fukttinnehållet för att relatera ERH till fukttinnehållet är att väga proverna under torkning (Hay och Timple, 2016). Startvikten relateras till fukttinnehåll och därefter så kan fukttinnehållet beräknas utifrån fröernas förändring i vikt. En klar fördel med detta tillvägagångssätt är att det blir lätt att få många datapunkter. Vid varje ERH-mätning skulle bägarna med frön bara behöva vägas. Fler datapunkter skulle förbättra uppskattningen av konstanterna i Modified Hendersons ekvation och även gjort det lönt att jämföra flera ekvationer.

Enligt Lingington och Manger, (2014) är 15 % ERH vid 15°C ett lämpligt värde för långtidsbevaring. Detta motsvarar 3-7 % fukttinhåll (per färskvikt) beroende på typ av frö. En metod som inte användes på grund av bekvämliga skäl är att ha hygrometern ståendes i torkrummet och göra mätningarna där inne. Då skulle det vara möjligt att torka fröerna till 15 % ERH och därefter anse att proven är lagom torra. Fukttinhållet hade kunnat mätas för att säkerställa att de höll rätt nivå.

Den stora fördelen med den använda metoden är att ERH enkelt kan användas för att följa torkningsförloppet. Om fukttinhållet mäts vid start och relateras till fröernas vikt kan ERH direkt plottas mot EMC för att ta fram en isoterm.

Hystereseffekten

Saltlösningmetoden görs vanligtvis genom att använda helt torra fröer och låta dessa återfuktas i de olika relativa luftfuktigheterna (Gold och Hay, 2007). Detta producerar en absorberings-isoterm som kommer ge ett lägre fukttinhåll än för fröer som torkar. I denna studie var fröerna troligtvis på sin torkningskurva, varför de högre värdena för *H. vulgare* delvis skulle kunna förklaras jämfört med referenskurvan. Studier har visat att skillnaden mellan absorption och desorption beror på produkten. Men generellt gäller att för RH mellan 20-80 % är EMC mellan 0,5-1% högre för torkande fröer än fröer som tar upp fukt. För RH under 20 % eller över 80 % är skillnaderna mindre än 0,5 % och försumbara nära 0 % eller 100 % (Mazza et al., 1990). Hystereseffekten är enligt Henderson, (1987) som mest en procent i *H. vulgare*.

Det är dock inte möjligt att vara helt säker på att fröerna inte hade börjat ta åt sig fukt och därmed bytt till en absorberingskurva. Tiden som gick från dess att aluminiumpåsarna öppnats till dess att prov två och tre hade mätts var eventuellt tillräcklig för att påbörja processen. Prov två och tre ligger något högre, kanske till följd av just detta. Ett sätt att komma runt problemet hade varit att försluta varje bägare i egna aluminiumpåsar. Dessutom så togs fröerna ut från torkrummet innan de förslutits och under den tiden var de exponerade för temperaturen och fuktighetsförhållandena i frölabbet. Fukten som de eventuellt skulle hunnit ta upp under den korta tiden är troligtvis försumbar och dessutom densamma för alla

bägare. Däremot kanske tiden var tillräcklig för att förändra fröernas biologiska aktivitet från att avge fukt till att börja ta upp fukt.

Mätning av ERH

Enligt Probert et al., (2003) har torkande fröer en vattenpotentialsgradient mellan det inre och det yttre och rekommenderar därför att tillräckligt med tid ges för att hela fröet ska hinna nå jämvikt inuti hygrometern. Noggranna jämförelser mellan Aw-quick och AwE rekommenderas, speciellt för stora fröer eller fröer med ogenomträngliga fröskal.

I det här arbetet gjordes mätningarna med ungefär en veckas mellanrum vilket resulterade i en ojämn spridning av datapunkter. En jämn spridning uppnådde exempelvis Cardoso och da Silva Pena, (2014) genom att utföra mätningarna av ERH mer frekvent i början av torkningen i en exsickator. EMC-mätningarna blev också ojämnt spridda eftersom torkningen gick mycket fortare i början än mot slutet. På grund av det så borde den andra mätningen av EMC gjorts tidigare för att få en jämnare spridning av punkterna.

Felaktiga värden kan bero på heterogena prov (Schmidt och Lee, 2012). I dagsläget finns inte någon enkel metod för att avgöra hur lång tid prover behöver homogeniseras innan ERH-mätningar görs. Tiden avgörs vanligtvis från empirisk data som har bekräftats med saltlösningmetoden (Zhang et al., 2017). En bättre noggrannhet skulle eventuellt uppnås om proverna för varje ERH-mätning tillåts att homogeniseras en längre tid. Tiden för homogenisering skiljer sig troligtvis mellan olika fröer. I en studie med *B. napus*, lin (*Linum usitatissimum*) och solros (*Helianthus annuus*) tillåts proven homogeniseras i slutna påsar i två dagar innan ERH-mätningarna utfördes (Lazouk et al., 2015). Homogeniseringstiden bör undersökas för olika typer av fröer.

Enligt tillverkaren är det tillräckligt att fylla bägaren till en tredjedel (Rotronic AG, 2011). Enligt Probert et al., (2003) bör bägaren fyllas maximalt för att uppnå det mest noggranna värdet. Provet behöver absorbera eller avge fukt från kammarens atmosfär innan jämvikt nås. Därför blir det en skillnad i vattenaktiviteten som är större ju mindre fylld bägaren är och denna skillnad är försumbar om luftrummet är litet. I

det här arbetet kunde bågarna med *H. vulgare* och *B. inermis* fyllas upp helt till den rekommenderade nivån. För *B. napus* blev de antingen mindre fyllda och bågarna som skickades till Jordbruksverket bara fyllda till hälften. Beslutet att fylla just bågarna som skulle skickas till Jordbruksverket till hälften togs för att dessa från början inte var tänkta att mätas i hygrometern. Det gjordes dock ändå, för att kunna säkerställa att de laminerade aluminiumpåsarna bevarat fröernas fukt.

Val av ekvation

Cromartys ekvation uppskattar isotermen med hjälp av oljeinnehållet i fröet. Eftersom att det i det här arbetet endast fanns tre punkter med kända ERH/EMC-värden så var den det bästa alternativet till alla tre typer av fröer. För ett bättre resultat bör oljeinnehållet i de använda fröerna bestämmas experimentellt.

De andra ekvationerna innehåller konstanter som behöver uppskattas ifrån punkter. Modified Henderson gick att använda förenklat med tre punkter och möjligtvis så skulle likaså Modified Halsey kunna användas för *B. napus*. Anledningen varför det inte gjordes var delvis att det inte fanns tid, men också för att tre punkter inte ansågs tillfredsställande.

Resultatets felkällor

Stigningarna i ERH under torkningen kan eventuellt ha berott på hystereseffekten. En annan möjlig orsak är att temperaturen och luftfuktigheten ändrades i antingen torkrummet eller i frölaboratoriet där mätningarna utfördes.

Enligt tillverkarens kalibreringsinstruktioner kan 1K temperaturskillnad mellan fuktighetsstandarderna och sensorn resultera i upp till 6 % felmätning (Rotronic AG). Eftersom en isoterm förutsätter att temperaturen hålls konstant kan den avvikande temperaturen haft betydelse på resultatet.

Det avvikande resultatet för *H. vulgare* från referensvärdet och Cromarty's ekvation kan bero på flera saker. Hystereseffekten är inte tillräckligt stor för att enbart förklara resultatet. Temperaturavvikelsen från kalibreringen kan vara en bidragande faktor. Att proven inte hunnit homogeniseras är ytterligare en möjlig orsak som kan styrkas

med att *H. vulgare* som är större än *B. inermis* och *B. napus* borde behöva längre homogeniseringstid. Det är också möjligt att fröerna inte var i jämvikt med sig själva.

Slutsats

Hordeum vulgare kom ner till 7,6 % fukttinhåll på två månader och behöver därför längre tid än så i torkrummet.

För *Bromus inermis* räcker två veckor för att fröerna ska komma under sju procent fukttinhåll. För att ha lite marginal skulle ett ERH på 20 % vid 21°C kunna användas som riktvärde.

Oavsett lipidhalt så var fröerna av *Brassica napus* under 7 % fukttinhåll redan efter en vecka i torkrummet. Tillexempel rekommenderar Lingington och Manger, (2014) ett betydligt lägre ERH-värde än vad som motsvarar 7 % fukttinhåll för *B. napus*. Det kan vara värt att undersöka om under 7 % är ett för högt riktvärde för oljerika fröer.

Enligt teorin behöver fröer som har hög lipidhalt och/eller är små till storleken som *B. napus* kortare tid i torkrummet än större fröer med låg lipidhalt som *H. vulgare*, vilket också resultatet visade.

Många felkällor såsom homogeniseringstid, hysteresseffekt och temperatursvängningar försvinner om provtagningen görs i torkrummet. Riktvärden blir också enklare att ta fram. Tillexempel kan rekommendationen 15 % ERH vid 15°C av Lingington och Manger, (2014) testas.

Litteraturlista

- Abidi, M.S.B.A., 2015. Physiological and biochemical changes during seed deterioration: a review. *International J. Recent Sci. Res.* 6, 3416–3422.
- ASAE D245.4., 1995. Moisture relationship of grains, ASAE standards (42nd ed.). MI, USA: St. Joseph
- Barclay, A., Earle, F., 1974. Chemical analyses of seeds iii oil and protein content of 1253 species. *Econ. Bot.* 28, 178–236.
- Cardoso, J.M., da Silva Pena, R., 2014. Hygroscopic behavior of banana (*Musa* ssp. AAA) flour in different ripening stages. *Food Bioprod. Process.* 92, 73–79.
- Chaplin, Martin, 2017. Water Activity Tillgänglig: http://www1.lsbu.ac.uk/water/water_activity.html#top [2017-12-16]
- Chen, C., 2000. A rapid method to determine the sorption isotherms of peanuts. *J. Agric. Eng. Res.* 75, 401–408.
- Chen, C.C., Morey, R.V., 1989. Comparison of Four EMC/ERH Equations. *Trans. ASAE* 32, 0983–0990. <https://doi.org/10.13031/2013.31103>
- Cromarty, A., Ellis, R.H., Roberts, E.H., 1982. The design of seed storage facilities for genetic conservation. *Des. Seed Storage Facil. Genet. Conserv.*
- de Souza, T.C.L., de Souza, H.A.L., Pena, R. da S., 2013. A rapid method to obtaining moisture sorption isotherms of a starchy product. *Starch-Stärke* 65, 433–436.
- Earle, F., Jones, Q., 1962. Analyses of seed samples from 113 plant families. *Econ. Bot.* 16, 221–250. <https://doi.org/10.1007/BF02860181>
- Finch-Savage, W., 2003. SEED DEVELOPMENT| Onset of Desiccation Tolerance, in: *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*. Elsevier Acad. Press, pp. 1279–1284.
- Gold, K., Hay, F., 2007. Equilibrating seeds to specific moisture levels. Technical Information Sheet 09. Millenn. Seed Bank Proj. Kew UK.
- Harrington, J.F., 1972. Seed storage and longevity. *Seed Biol.* 3, 145–245.
- Hay, F.R., Timple, S., 2016. The longevity of desorbing and adsorbing rice seeds 26, 306–316. <https://doi.org/10.1017/S0960258516000222>
- Henderson, S., 1987. Moisture transfer between mixed wet and dry barley grains. *J. Agric. Eng. Res.* 37, 163–170.
- International Seed Testing Association, 1985. International rules for seed testing. Rules 1985. *Seed Sci. Technol.* 13, 356–513.
- Khedher Agha, M., Lee, W.S., Bucklin, R., Teixeira, A., Blount, A., 2013. Equilibrium Moisture Content of Triticale Seed. <https://doi.org/10.13031/aim.20131620333>
- Lazouk, M.-A., Savoie, R., Kaddour, A., Castello, J., Lanoisellé, J.-L., Van Hecke, E., Thomasset, B., 2015. Oilseeds sorption isotherms, mechanical properties and pressing: Global view of water impact. *J. Food Eng.* 153, 73–80.
- Lingington, S., Manger, K., 2014. Seed bank design: seed drying rooms. Tech. Inf. Sheet11 R. Bot. Gard. Kew UK.
- Maciel, G., de la Torre, D., Izquierdo, N., Cendoya, G., Bartosik, R., 2015. Effect of oil content of sunflower seeds on the equilibrium moisture relationship and the safe storage condition.
- Mazza, G., Jayas, D.S., White, N.D.G., 1990. Moisture sorption isotherms of flax seed. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.* 33, 1313–1318. <https://doi.org/10.13031/2013.31475>
- McDonald, M.B., 2007. Seed Moisture and the Equilibrium Seed Moisture Content Curve. *Seed Technol.* 29, 7–18.

- Osborne, D.J., Sharon, R., Ben-Ishai, R., 1980. Studies on DNA integrity and DNA repair in germinating embryos of rye (*Secale cereale*). *Israel Journal of Botany*, 29(1-4), pp.259-272.
- Pixton, S., Warburton, S., 1973. The influence of the method used for moisture adjustment on the equilibrium relative humidity of stored products. *J. Stored Prod. Res.* 9, 189–197.
- Probert, R.J., Manger, K.R., Adams, J., Smith, R., Dickie, J., Linington, S., Pritchard, H., 2003. Non-destructive measurement of seed moisture. *Seed Conserv. Turn. Sci. Pract.* RD Smith JB Dickie SH Linington HW Pritchard RJ Probert Pp 367–387.
- Roberts, E.H., 1973. Predicting the storage life of seeds. Presented at the Proceedings.
- Rotronic AG., 2011 Water Activity and Temperature Probe HC2-AW-USB: User Guide 2011-2012; E-M-HC2-AW-USB-V1_11 Tillgänglig: <https://www.rotronic.com/en/productattachments/index/download?id=496> [2018-01-02]
- Rotronic AG.,(uå) Calibration instructions Tillgänglig: <https://www.rotronic.com/en/productattachments/index/download?id=306> [2018-01-02]
- Royal Botanic Gardens Kew., 2017 Seed Information Database (SID). Version 7.1. Tillgänglig: <http://data.kew.org/sid/> [2017-12-15]
- Schmidt, S.J., Lee, J.W., 2012. Comparison between water vapor sorption isotherms obtained using the new dynamic dewpoint isotherm method and those obtained using the standard saturated salt slurry method. *Int. J. Food Prop.* 15, 236–248.
- Slupphaug G, Kavli B, Krokan HE. The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage, *Mutation Research* , 2003, vol. 531 (pg. 231-251)
- Sun, D.-W., Byrne, C., 1998. Selection of EMC/ERH Isotherm Equations for Rapeseed. *J. Agric. Eng. Res.* 69, 307–315. <https://doi.org/10.1006/jaer.1997.0249>
- Sun, D.-W., Woods, J.L., 1993. The Moisture Content/Relative Humidity Equilibrium Relationship Of Wheat - A Review. *Dry. Technol.* 11, 1523–1551. <https://doi.org/10.1080/07373939308916918>
- Wolf, W., Spiess, W., Jung, G., 1985. Standardisation of isotherm measurements (Cost-project 90 and 90bis). *Properties of water in foods*, Nato AISI series no. 90.
- Zhang, L., Sun, D.-W., Zhang, Z., 2017. Methods for measuring water activity (aw) of foods and its applications to moisture sorption isotherm studies. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57, 1052–1058.