



Lunds tekniska högskola
Kurskod YTHL05, Kandidatarbete i livsmedelsteknik
15 högskolepoäng
Handledare: Jeanette Purhagen & Åsa Håkansson
Examinator: Maria Glantz

En undersökning av hur fysikaliska- och mikrobiologiska egenskaper kan påverka grobarheten i vete

Skriven av Pamela Ingvarsson & Martin Brown

2024-05-23

Sammanfattning

Vete är vårt mest odlade spannmål och har i tusentals år använts som människoföda, men i samma takt som befolkningen ökar blir också efterfrågan på spannmål större. Utmaningar som vi står inför idag är att mängden odlingsbar åkermark minskar, att klimatförändringar påverkar skördarnas avkastning samtidigt som människors oro växer för användningen av kemiska bekämpningsmedel. Det är därav stort intresse att finna mer objektiva och snabbare metoder för att bedöma utsädets kvalitet samtidigt som man tar hänsyn till miljö, hälsa och ekonomi.

Syftet med den här studien var att undersöka om man kunde finna fysikaliska eller mikrobiella skillnader som påverkar vetets grobarhet, och om man därigenom kunde finna en metod för att bedöma utsädets kvalitet snabbare än med dagens metoder.

Den här studien baseras på ett urval av studier som belyser bedömningen av vetets kvalitet samt mikroorganismers effekt på grobarhet. Informationsmaterialet i studien kommer främst ifrån sökningar i databasen Lubsearch, men också genom sökningar i övriga sökmotorer såsom Google. Det har även utförts praktiska analyser av vetekärnans fysikaliska egenskaper samt analyser av den mikrobiella floran som förekommer i vetekärnans olika gröningsstadier.

Resultatet av denna studie visar att vissa bakterier, särskilt *Bacillus*, har en betydelsefull roll i de vetekärnor som har grott bra. Samtidigt verkar vissa ofördelaktiga bakterier inom familjen *Enterobacteriaceae* samt jäst och mögel ha dominant tillväxt i de vetekärnor som inte har grott alls. I de fysikaliska analyserna som gjorts har man funnit att det finns ett visst samband mellan bland annat kärnstorlek och grobarhet.

Fastän undersökningens arena är bred krävs det fler analyser av mikroorganismer, fysikaliska mätningar av vetekärnors egenskaper samt flera sorters vete från olika batcher för att kunna hitta signifikanta skillnader som påverkar grobarheten. Fler analyser krävs också för att hitta en tillförlitlig metod för att bestämma utsädets kvalitet snabbare än dagens metoder.

Nyckelord: *Vete, Grobarhet, Utsäde, Mikroorganismer, Mikrobiologiska, Fysikaliska*

Abstract

Wheat is our most cultivated grain and has been used as human food for thousands of years, but as the population increases, so does the demand for grain. Challenges that we face today are that the amount of cultivable arable land is decreasing, that climate change is affecting crop yields, while people's concerns are growing about the use of chemical pesticides. It is therefore of great interest to find more objective and faster methods to assess the quality of the seed while taking the environment, health and economy into account.

The purpose of this study was to investigate whether physical or microbial differences that affect wheat germination could be found, and whether a method could thereby be found to assess seed quality faster than with current methods.

This study is based on a selection of studies that highlight the assessment of wheat quality and the effect of microorganisms on germination. The information material in the study comes mainly from searches in the database Lubsearch, but also through searches in other search engines such as Google. Practical analyzes of the physical properties of the wheat grain have also been carried out, as well as analyzes of the microbial flora that occur in the various germination stages of the wheat grain.

The result of this study shows that certain bacteria, especially *Bacillus*, have an important role in the wheat grains that have germinated well. At the same time, certain unfavorable bacteria within the *Enterobacteriaceae* family as well as yeast and mold appear to have dominant growth in the wheat grains that have not germinated at all. In the physical analyzes that have been carried out, it has been found that there is a certain relationship between, among other things, grain size and germination.

Although the arena of the investigation is broad, more analyzes of microorganisms, physical measurements of the properties of the wheat grain and several types of wheat from different batches are required to be able to find significant differences that affect germination. More analyzes are also required to find a reliable method to determine seed quality faster than current methods.

Keywords: *Wheat, Growth, Seeds, Microorganisms, Microbiological, Physical*

Innehållsförteckning

Sammanfattning	2
Abstract	3
Inledning	6
Syfte	9
Hypotes	9
Frågeställningar.....	9
Bakgrund och teori.....	10
Vete.....	10
En ny design för kontroll av utsädets kvalitet.....	11
NIR Infratec TM (FOSS) / Vattenaktivitet (aqualab)	11
Sequential Precision Divider (SPD).....	12
Paddy Check	12
TVT 6700 - texturmätare	12
Odling av vetekärnor.....	13
Mikroorganismer.....	13
Mikroorganismernas betydelse för växttillväxt	13
Mikrobiell odling	14
Mätning av mikrobiell tillväxt	15
Violet Red Bile Dextrose (VRBD)	16
Bacillus Chromoselct (BCS).....	16
Malt agar (MA).....	16
MRS & Rogosa.....	16
Tryptic soya agar (TSA)	17
Material och undersökningsmetoder.....	17
Metod del 1: litteratursökning och bearbetning av data.....	17
Metod del 2: urval, textur-, vattenhalt-, aw- och bildanalyser.....	17
Material	17
Tillvägagångssätt för mätning av vattenhalt med NIR Infratec TM (FOSS).....	17
Tillvägagångssätt för mätning av vattenaktivitet med Aqua Lab	18
Tillvägagångssätt för urval med Sequential Precision Divider (SPD).....	18
Tillvägagångssätt för bildanalys med Paddy Check	18
Tillvägagångssätt för texturmätning av TVT 6700 (Perten Instruments).....	18
Metod del 3: odling av vetekärnor	20
Tillvägagångssätt för odling av vetekärnor.....	20
Metod del 4: odling och avläsning av mikroorganismer	21
Mikrobiell provtagning	21
Tillvägagångssätt för framställning av odlingsmedium Chrome Select, VRBD och Rogosa.....	22
Tillvägagångssätt för framställning av odlingsmedium TSA, MRS och MA	22

Tillvägagångssätt för framställning av peptonvatten	22
Tillvägagångssätt för spridning av mikroorganismer	22
Tillvägagångssätt för avläsning av mikroorganismer	23
Resultat	23
NIR-test och vattenaktivitet	23
Paddy Check	23
Textur	26
Grobarhet	28
Test av teori - har mindre vetekärnor sämre grobarhet?	29
Grobarhet	29
Paddy Check	29
Mikrobiell avläsning	30
Diskussion	34
Analys av vattenhalt och vattenaktivitet	34
Bildanalys och texturmätning	34
Grobarhet	35
Test av teori	35
Mikrobiella analyser	35
Felkällor	37
Analyser som kan förlänga resultatet av studien i framtiden	38
Slutsats	38
Referenslista	39

Inledning

Cerealier är ett samlingsnamn för olika sädesslag, även kallat spannmål, som är en gammal benämning för det hinkmått som förr användes när säden användes till att betala skatt. Cerealier har i tusentals år använts som livsmedel och foder där de ofta har värmebehandlats och konsumerats som gröt. Dagens utbredda teknik för att framställa mjöl, gryn eller flingor av cerealierna har lett till nya typer av livsmedel där de kan användas som de är, eller som ingredienser i andra livsmedel. Exempel på cerealiernas användningsområden är i bland annat müsliblandningar, bröd, pasta och redningar och sädesslag som vete, havre, råg och korn hör till några av de sorter som vanligen odlas i Sverige. De flesta sädesslagen härstammar från Asien och Mellanöstern men har numera global odling, varav vete är det som odlas på störst yta av världsarealen följt av ris, majs och korn (Marklinder, I., 2014).

Av världens cerealieproduktion är det ungefär 55 % som används främst för människors konsumtion av mat och dryck, därefter cirka 36 % som används till djurfoder och slutligen används cirka 9 % till industriell stärkelseproduktion eller framställning av bioetanol som fordonsbränsle (Wrigley, C., och Taylor, J., 2023). Wrigley och Taylor (2023) menar vidare att den världsomfattande produktionen av cerealier har ökat under årens gång för att möta efterfrågan hos en växande befolkning. Detta har medfört ett intresse och ökat behov av att snabbt och effektivt kunna bedöma utsädets kvalitet. I nutid används främst manuella eller delvis manuella metoder för stora delar inom cerealieindustrin, vilket både är tidsförödande och genererar subjektiva bedömningar. En bedömning av grobarheten för exempelvis vete kan göras enligt en guide utgiven av Finska Livsmedelsverket. I den beskrivs att man kan provgro exempelvis 100 stycken vetekärnor av utsädet och därefter analysera hur många av dem som har grott. Den totala mängden vetekärnor som har grott utgör sedan en procentuell grobarhet som representerar hela utsädespartiet. Både förberedelser inför grobarhetstestet för att avbryta kärnornas gröningsvila och tiden för dem att gro tar tillsammans mer än en vecka och kräver en del arbete. Det beror på att testerna först genomförs i inomhusklimat på papper, vilket också gör det svårt att bedöma hur många som faktiskt kommer att klara sig ute på åkrarna. Även Lantmännen (a) beskriver en metod på deras webbsida som kallas för skjutkraftstest, som innebär att vetekärnor för vårutsäde och förbehandlat höstutsäde placeras i hårt packad jord under kallare temperaturer än sex grader Celsius för att efterlikna verkliga förhållanden vid sådd. På så vis kan skjutkraften i utsädet analyseras och svagare partier som inte hade upptäckts med traditionellt papperstest kan sorteras bort.

Risodlare i världen har också haft problem att kvalitetsbestämma sitt ris, men i detta fall i den andra delen av odlingskedjan. Traditionellt så måste riset skalas och poleras för att man ska kunna utvärdera dess kvalitet, vilket slutligen avgör priset som bönderna kan begära för sin skörd. Detta är en process som kan ta veckor, därför har forskare i samarbete med Perten Instruments utvecklat och framställt en Paddy Check, en maskin som gör det möjligt för bönderna att själva kontrollera kvaliteten på ris redan ute i odlingsfälten. Kvaliteten på ris kan numera bestämmas med hjälp av maskinens funktioner som bland annat omfattar genomlysning, form- och storleksmätning samt texturmätning av riskornets hårdhet. De utvecklade metoderna för att mäta risets kvalitet har lett till mindre manuell hantering och

samtidigt mer objektiva och samstämmiga bedömningar (Purhagen, J., *et al.*, 2018). Fördelen med att använda Paddy Check för att testa riskornets egenskaper är att det inte finns något behov av att skala eller polera proverna, vilket gör metoden särskilt användbar för användare med hög genomströmning såsom odlare och handlare. Paddy Check är främst framtagen för risodling, men har exempelvis flertalet discar som är anpassade för olika kärnstorlekar. Den har dessutom funktioner i mjukvaran som gör att den eventuellt skulle kunna användas på fler och andra typer av cerealier. De framgångar som Paddy Check har genererat inom risodlingen har nu lett till att man vill ta forskningen ett steg längre. Därför kommer det här examensarbetet ta avstamp i tidigare beprövad erfarenhet och forskning om ris, samtidigt som nya områden kommer utforskas i samband med groddning av *vetekärnor*.

De vanligt förekommande metoderna för kvalitetsbedömning av vete som nämnts tidigare har en del nackdelar eftersom de inte bara är tidskrävande, utan också genererar subjektiva resultat som påverkas av klimat och omgivning när testerna utförs. För att försöka få fram objektiva resultat av grobarheten i vete kommer Paddy Check främst att användas som ett verktyg för bildanalys av kärnans färg, form och stärkelsens packningsgrad i kärnan. Undersökningen kompletteras därefter med användning av en TVT-texturmätare, vilken kan göra fysikaliska texturmätningar på kärnorna. Genom en manuell inställning i mjukvaran kan maskinen utföra mätningar i två cykler och utifrån bestämda parametrar och den data som införskaffas, kan resultatet sedan bearbetas med hjälp av matematiska formler. Resultatet kommer därefter användas för att jämföra vetekärnor mot varandra.

För att förlänga hållbarheten och få så god skörd som möjligt av utsädet kan det i vissa fall förbehandlas innan det planteras i jorden. Detta kan göras med bland annat kemikalier eller Thermoseed, som är en metod beskriven på Lantmännens webbsida där kärnorna pastöriseras med ånga, kyls ned och därefter torkas för att motverka uppkomsten av sjukdomar och svampar (Lantmännen, b.; 2021). Behandlingsmetoden medför att den yttre mikrobiella floran på utsädet kan minimeras, medan den inre floran kvarstår. Uhlig, E. *et al.*, (2021) har i sin studie undersökt möjligheten att behandla växtfrön med främjande mikrober innan sådd för få en mer hälsosam slutprodukt. I studien kom hon fram till att man kan behandla spenatfrö med fördelaktiga bakteriestammar för att sänka halten av en sjukdomsframkallande bakterie inom familjen *Enterobacteriaceae* i den sedan ätfärdiga produkten. Hennes arbete har väckt tankar på hur man kan använda mikrober redan vid sådd för att påverka vetets grobarhet, men också kvaliteten i en framtida slutprodukt.

Enligt Marklinder, I. (2014) används för det mesta kemiska metoder för att bekämpa angrepp av skadedjur och oönskade mikroorganismer, ett mer hållbart alternativ i framtiden hade därmed kunnat vara *mikrobiell kontroll* som innebär att goda mikroorganismer nyttjas för att bibehålla växternas kvalitet i stället för att använda kemiska bekämpningsmedel och energikrävande förädlingsprocesser. Enligt Maheshwari, D. (2011) är mikroorganismer en viktig källa för jordbruk för att kunna bemöta komplexiteten av en växande befolkning och den samtidigt begränsade tillgången av åkermark. Samtidigt pågår människors växande oro för användningen av bekämpningsmedel och fördelarna med att använda mikroorganismer för att gynna växterna i jämförelse med kemiska metoder är många. Bland annat är de

miljövänliga på grund av att de ämnen som de producerar är biologiskt nedbrytbara, har lägre toxicitet och har förmågan att förbli biologiskt aktiva i ett brett spektrum av pH-värden och temperaturer (Bacon, C., och Hinton, D., 2011). Därav är det också av intresse att ta reda på vilka mikrober som finns i de vetekärnor som gror bra, mindre bra eller inte gror alls.

Syfte

Istället för att så vetekärnor och se hur många av dem som gro, är syftet med undersökningen att försöka hitta nya tidseffektiva-, miljövänliga- och mer ekonomiska metoder för att bestämma om utsädet är av god kvalitet. Genom att även inkludera analys av mikrofloran ska undersökningen också försöka belysa om det finns andra nya sätt att påverka kvaliteten på utsäde.

Hypotes

- 1) Paddy Check är en maskin framtagen för att objektivt kunna bedöma kvaliteten på ris. Eftersom maskinen kan mäta flera parametrar som exempelvis längd, bredd, och mörk area är hypotesen att maskinen kan användas för att bedöma kvaliteten på vetekärnor.
- 2) Eftersom det finns studier om bakterier och hur de interagerar med växter samt hur det påverkar växters förmåga att gro, är hypotesen att det kommer att finnas tydliga skillnader mellan de kärnor som har grott och de som inte har grott.

Frågeställningar

- 1) Finns det ett mikrobiellt samband i de olika kategorierna för grobarhet?
- 2) Kan man med hjälp av fysikaliska- och mikrobiologiska analyser bedöma utsädets kvalitet snabbare än dagens metoder?
- 3) Används något liknande i andra områden redan idag?

Bakgrund och teori

Vete

En grov beskrivning av vetekärnans anatomiska struktur är att den utgörs av den *inre endospermen* som till stor del innehåller stärkelse, *aleuronen* som är ett yttre skikt av endospermen och *embryot*, som ofta kallas "grodden" vilken är den som gror och växer till en ny växt. Vetekärnan består också av yttre lager som tillsammans med aleuronen bildar det som kallas "*kli*" (Wrigley, C., och Taylor, J., 2023). Vetekärnans vanligt förekommande dimensioner är enligt Shewry, P., *et.al.*, (2023) cirka 5,0-8,0 mm lång, 2,5-4,5 mm bred och 2,4-3,9 mm tjock.

För odling av cerealier i allmänhet är klimatet av stor betydelse. Köldtåliga växter som råg, korn och havre är anpassade till att trivas i de svalare temperaturer som råder i Sverige, medan vete däremot trivs i varmare klimat. På grund av att vete är en växt som föredrar högre temperaturer är höstvete vanligast att odla i Sverige medan vårvete är betydligt vanligare i länder med varmare klimat och de världsledande områdena för odling av vete är Indien, Kina, Ryssland och Europa (Marklinder, I., 2014; Wrigley, C. och Taylor, J., 2023).

Idag står livsmedelsproducenter inför den stora utmaningen att kunna tillgodose världens befolkning med spannmål under de rådande klimatförändringarna. Det kan bli problematiskt för jordbruket som omfattas av cerealieproduktion att kunna stå emot temperaturväxlingar, torka och översvämningar och det medför i sin tur att produktionsmetoderna behöver ändras för att klara av omställningarna till hållbara jordbrukssystem som genererar cerealier med högre avkastning (Wrigley, C. och Taylor, J., 2023). Samtidigt finns ett växande behov av att odling sker utan oacceptabla kemikalier och utan att göra avkall på kvalitet (Maheshwari, D., 2011). Metoderna för att analysera utsädet kvaliteten idag innebär ofta att man provgror vetekärnor på papper i inomhusklimat, eller i hårt packad jord vid en kallare temperatur. Tiden för att avbryta vetekärnornas groningsvila och tiden det tar för dem att gro tar tillsammans mer än en vecka, och det är omständligt att undersöka större volymer utan att det kräver en hel del manuell hantering som också genererar subjektiva bedömningar världen över.

I den här studien har vi valt att titta närmare på vete och undersöker möjligheterna att finna en metod som kortar ner den tid det i dag tar att bedöma dess grobarhet. Vete är den grödan som är störst i världen sett till både odlingsareal och produktion och utgör ungefär 20 % av kaloriintaget i människors kost. Det är också en viktig källa till proteiner, kolhydrater, kostfiber, mineraler och vitaminer (Marklinder, I., 2014; Gooding, J., 2023). Det finns därmed många goda anledningar till att vi har valt att undersöka möjligheterna för just den här grödan.

En ny design för kontroll av utsädets kvalitet

Efter att ha studerat litteratur i ämnet så har en ny metod för groning av vetekärnor tagits fram i den här undersökningen med stöd av bland annat Finska Livsmedelsverket och Eurofins, som beskriver hur man går tillväga för att provgro bland annat spannmål. När groddarna i den här undersökningen skulle bedömas så var det däremot svårt att hitta en standard gällande skillnaden mellan en abnorm och en välutvecklad grodd. Det medförde att en egen bedömning utformades vid den här undersökningens första provgrodd, där det bestämdes att om en kärna hade över en centimeter grodd och tre rötter eller fler så skulle det betraktas som en välutvecklad kärna. Även Beneduzi, A., och Passaglia, L. (2011) redogör för att en snabb etablering av rötter som innebär att de primära rötterna förlängs eller blir fler i antal, är fördelaktigt för unga plantor eftersom det ökar deras chanser att överleva i jorden.

Eftersom undersökningen inte genomfördes under säsong för hantering av utsäde så var de enda vetekärnor som gick att få tag på avsedda att användas inom mjölindustrin. En hypotes gällande de kärnor som använts för undersökningen var att det skulle kunna visa på större skillnader i särskilt de mikrobiologiska testerna som beskrivs längre fram, eftersom kärnorna inte är behandlade eller kontrollerade på samma sätt som utsäde normalt sett är. Eftersom undersökningen av grobarheten är primär för arbetet fanns en förhoppning om att grobarheten för obehandlat utsäde skulle vara sämre än 85%, vilket utgör det krav på grobarhet som behandlat utsäde vanligen har (Eurofins, 2018).

NIR Infratec TM (FOSS) / Vattenaktivitet (aqualab)

På ytan av alla sädesslag finns mikroorganismer som kan innebära skada för hållbarheten på spannmålet. Om utsädets vatteninnehåll är lägre än 14% vid skörd kan det medföra en vattenaktivitet som är för låg för mikrobiell aktivitet. Om vatteninnehållet däremot är högre kan det finnas förekomst av mögelsvampar som kan innebära kvalitetsförsämringar och risk för bildning av giftiga mykotoxiner. Därav torkas säden efter skörd till en vattenhalt <14% för att undvika utveckling av mögelsvampar (Thougaard, H., *et al.*, 2007). Enligt Livsmedelsverket (2017) medför torkning av ett livsmedel en lägre vattenaktivitet, och om livsmedel har en vattenaktivitet som är cirka <0,75 medför det en lägre risk för tillväxt av mikroorganismer, men möjligheten för tillväxt av torrälskande jäst-och mögelsvampar kan kvarstå. Furugren, B. (2015) menar att vattenhalt avser hur mycket vatten som finns i ett prov, och att vattenaktivitet avser hur tillgängligt vattnet är i ett prov eller på provets yta. Vatten kan vara fritt eller bundet till andra molekyler, som till exempel kolhydrater. Furugren redogör också för att vatten kan vara inneslutet i celler, blåsor och andra små utrymmen och blir därmed inte lika tillgängligt för mikroorganismer trots en hög vattenhalt.

En NIR-maskin kan med hjälp av nära infraröd reflektans analysera vattenhalten i ett prov. Utöver vattenhalt kan även *protein*, *gluten*, *stärkelse*, *ergosterol* och *rymdvikt* analyseras. I framtida undersökningar kan det vara av intresse att titta vidare på den informationen, särskilt förekomsten av ergosterol i ett prov, eftersom det är ett kvalitetsmått och ergosterol är enligt Karolinska Institutets webbsida en typ av steroid som finns i cellväggarna på svamparter. I den här studien räckte tyvärr tiden inte till för vidare undersökningar inom dessa områden. En

vattenaktivitetsmätare kan med hjälp av termo-elektronik analysera vattenaktiviteten i ett prov, och i den här studien användes Aqua lab 3 TE för att utföra den här typen av analys.

Sequential Precision Divider (SPD)

En SPD är ett enkelt hjälpmedel för att ta ut ett slumpmässigt provmaterial av utsäde. Maskinen kan halvera mängden vetekärnor i flera steg för att nå en önskad provmängd i slutsteget. Materialet som man önskar en slumpmässigt utvald provmängd ifrån, hålls i toppen av enheten och med hjälp av tyngdkraften faller materialet ner genom flera våningar som halverar materialet i varje steg och önskat urval samlas upp i en behållare i botten.

Paddy Check

Paddy Check är en liten portabel maskin som har flera diskar med hål som är anpassade för olika kärnstorlekar. Diskarna är utformade för att mata in en kärna i taget i en analyskammare där de fotograferas och texturen på dem mäts. De parametrar som kan analyseras i en Paddy Check presenteras i Tabell 1.

Tabell 1: Parametrar som kan analyseras med Paddy Check med hjälp av texturmätaren och med hjälp av kameran.

Analys med texturmätaren	Analys med kameran	Analys med kameran
Tjocklek (mm)	Polariserad Röd	Visuell Röd
Arean under kraftkurvan (g*mm)	Polariserad Grön	Visuell Grön
Distans vid högsta kraft (mm)	Polariserad Blå	Visuell Blå
Volym (mm ³) (kombination av både texturmätaren och kameran)	Längd (mm)	Arean (mm ²)
	Bredd (mm)	Mörk area %

TVT 6700 - texturmätare

TVT är en texturmätare som kan mäta många olika livsmedelsprover som kan vara hårda, mjuka eller flytande. Maskinen fungerar genom att en prob, som är fäst på en arm, trycker ner eller drar upp ett livsmedel som antingen ligger på eller är fast vid en lastcell. När maskinen pressar ner så kan olika tillbehör som till exempel kompressionsplatta, cylinderprob, nålprob, konprob, och olika former av knivar användas. Några vanliga mätmetoder är kompression och TPA (Texture Profile Analysis). De parametrar som kan analyseras med TPA presenteras i Tabell 2. *Adhesion* kan användas för att mäta vidhäftningen i ett prov, *penetrerande mätning* sker genom att en nålprob sticks ned i ett prov, *sträckning* används för att analysera bristningsgränsen genom att dra isär ett prov, och slutligen kan *brytbarheten* användas till hårda prov för att analysera kraften det tar innan det knäcks.

Tabell 2: Parametrar som kan analyseras i TVT 6700 med TPA.

Provets förmåga att motstå deformation	Hur väl provet försöker återta ursprungliga form	Provets förmåga att fastna på proben efter deformation	Kraften som krävs för att deformera provet	Skillnaden i provets struktur mellan första och andra kompressionen	Hur väl provet fysiskt fjädrar tillbaka	Provets höjd
Hårdhet (gram)	Resiliens	Vidhäftningsförmåga (J)	Gummighet (gram)	Sammanhållning	Fjädring	Höjd (mm)
Kraft A (gram)		Klibbighet (gram)	Tuggbarhet (gram)			
Kraft B (gram)		Trådighet (mm)				

Odling av vetekärnor

Vanliga metoder för att odla vetekärnor är som tidigare beskrivet i papper eller i jord. I den här studien ordnades en ny odlingsmetod genom att så vetekärnorna i äggkartonger.

Mikroorganismer

Mikroorganismer är små levande organismer som förekommer överallt i naturen och dess storlek varierar från 0,0002 μm - 300 μm vilket gör att de därför inte ses med blotta ögat. De har en avgörande betydelse för både växt- och djurliv, men många gånger uppfattas de enbart som något farligt som bör bekämpas. Fastän det finns arter som kan skada oss och orsaka sjukdom får det inte glömmas bort att utan mikroorganismer skulle allt liv på jorden dö ut (Thougaard, H., *et. al.*, 2007).

Mikroorganismernas betydelse för växttillväxt

Enligt Beneduzi, A. och Passaglias, L., (2011) kan rhizosfären förklaras av en mängd jord som är specifikt påverkad av växtens rötter. På grund av att växter utsöndrar bland annat aminosyror och sockerarter utgör de en viktig näringskälla för mikroorganismer, därav är tillväxten högre i rhizosfären än i resten av den omgivande jorden. Om växter trivs och mår bra, gynnas också tillväxten av rhizobakterier. I rhizosfären pågår en ständig konkurrens av mikroorganismer på grund av tillgången till mängden näringsämnen som utsöndras av växtens rötter, och interaktionen mellan bakterier och växtrötter kan vara fördelaktig, skadlig eller neutral för växten. De bakterier som lever inuti eller i närheten av växtrötter och har en gynnsam effekt på växttillväxt kallas i allmänhet för PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). I många fall pågår tillväxtfrämjande aktiviteter i denna konkurrerande mikroflora såsom dess förmåga att minska eller förhindra tillväxt av jordburna växtpatogener. Dock kan effekten av dem variera som en naturlig konsekvens av markförhållandena. För att ge ett exempel så kan de bakterier som i vanliga fall gynnar växttillväxt genom att bland annat fixera kväve i jorden, inte tillföra någon märkbar nytta om fixerat kväve istället tillförs marken på andra sätt. (Beneduzi, A. och Passaglias, L., 2011; Borriss, R., 2011).

Det är särskilt de bakterier som lever utanför växten, men nära rötterna, som har en betydande roll i främjandet av växttillväxt genom att skydda den från sjukdomar och förse den med näringsämnen från den omgivande marken. Många arter av särskilt *Bacillus* har identifierats som framgångsrika mikroorganismer för växttillväxt och används som medel för biologisk kontroll mot fytopatogener. Även bakteriesläkten inom familjen *Enterobacteriaceae* har visat sig vara tillväxtfrämjande och några av dem är exempelvis *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia* och *Klebsiella*, men vissa av dessa släkten innehåller också arter som har rapporterats vara växtpatogener, bland annat *Erwinia carotovora* (Chaitanya, K., *et. al.*, 2011).

PGPR kan upplevas som en ny metod för mikrobiell kontroll, men fanns att tillgå redan på slutet av 1800 talet där gödsel som ympats med *Bacillus subtilis* ökade avkastningen på skördarna med upp till 40%. Många *Bacillus* arter har förmågan att fixera kväve, vilket är positivt för upprätthållande av jordens bördighet och därmed har markorganismerna en stor och betydelsefull roll för hållbart jordbruk. Samtidigt är effekten och säkerheten med användningen av *Bacillus* begränsad av möjligheten för den tillväxt som stammarna kan åstadkomma i miljön de placeras i. En framgångsrik applicering av dessa kräver därmed bättre kunskap om dem, och är viktig för identifieringen av nya stammar i sammansättningen av ympmedel samt för att kunna bestämma i vilken typ av plantage de kan göra bäst nytta (Beneduzi, A. och Passaglias, L., 2011; Borriss, R., 2011). Om man dessutom tittar ett steg längre för användningen av biologisk kontroll som ett led för att förbättra livsmedelssäkerheten i en framtida produkt, bör de mikrober som växterna eller dess frön ympas med också vara säkra för oss människor (Uhlig, E., *et.al.*, 2021).

I Kina har flera kända stammar av *Bacillus* använts för att främja växttillväxt och för kontroll av svampsjukdomar som kan påverka veterötter, där särskilt användning av kulturer med *B. cereus* ökade veteproduktionen med 11% (Beneduzi, A. och Passaglias, L., 2011). Man har också sett att *E. cloacae* har en skyddande effekt mot växtinfektioner när den har applicerats på bland annat vetekärnor (Chaitanya, K., *et.al.*, 2011).

Mikrobiell odling

Fastän mikroorganismer är mycket små varelser behöver de också tillgodogöra sig näringsämnen för att kunna växa. På ett laboratorium kan man odla mikroorganismer i ett substrat, även kallat odlingsmedium, som består av alla de essentiella näringsämnen som de behöver. Protein är ett av de näringsämnen som inte alla mikroorganismer kan bryta ned på grund av avsaknad av rätt sorts nedbrytningsenzymer, även kallat proteaser. Därav används ofta nedbrutet protein i form av pepton eller trypton i odlingsmedium för att tillgodose mikroorganismerna med mer lättillgängliga aminosyror. Mikroorganismernas metabolism skiljer sig mellan olika arter vilket också medför att de har olika behov där en del arter kräver tillgång till syre, medan andra arter hämmas eller dör på grund av fritt syre. Mikroorganismernas överlevnad är också pH-, tid- och temperaturberoende, därav behöver vissa arter odlas under syrerika eller syrefria förhållanden samt i olika temperaturer, tider och odlingsmedium med olika pH i laboratorium (Thougaard, H. *et.al.*, 2007).

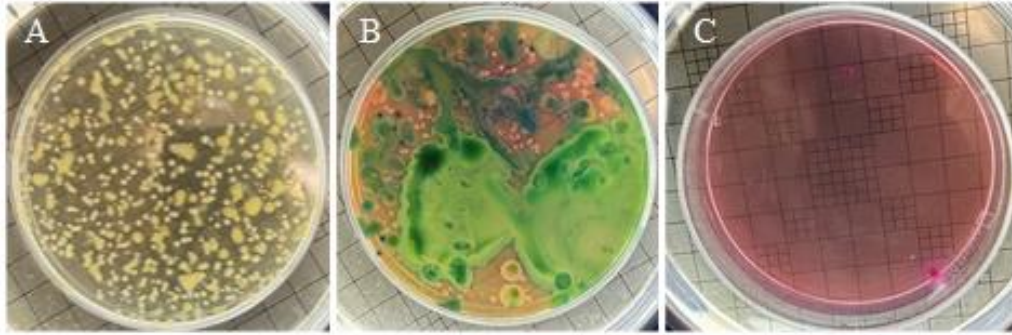
Mätning av mikrobiell tillväxt

Tillväxt av både levande och döda mikroorganismer kan mätas på flera olika sätt, bland annat genom räkning av antalet celler i mikroskop eller med hjälp av ljus för att mäta grumligheten i en buljongkultur där mikroorganismerna minskar ljusmängden. Oftast är man intresserad av att enbart analysera levande celler och dessa kan mätas med hjälp av en utspädningsteknik kallad *Kochs plattspridningsmetod* där exempelvis ett prov späds ut ett antal gånger, vanligen från 1:10 till 1:10⁶. Därefter kan de utspädda proven ympas i odlingsmedium med näring och inkuberas under lämpliga förhållanden varpå det går att räkna de uppvuxna kolonierna av mikroorganismer efter färdig inkuberingstid (Thougaard, H., *et al.*, 2007). Den sistnämnda metoden är den som används och beskrivs i metoddelen för den här undersökningen av förekommande mikroorganismer i vetekärnor. För att beräkna antalet bakteriekolonier även kallat colony-forming unit (CFU) per gram i ett prov används Ekvation 1.

$$\frac{CFU}{g} = \frac{n \cdot p \cdot sf}{f} \quad (1)$$

I Ekvation (1) motsvarar n antalet bakteriekolonier vi har kunnat se och räkna, p motsvarar vilken spädning i en 1:10 spädningsserie som använts, sf motsvarar vätska i ml som överförs mellan provrören i spädningsserie och slutligen f som motsvarar den vätska i ml som överförs från provrör till odlingsmedium. För att uppnå en hög noggrannhet används vanligen en 1:10 spädserie som innebär att en del provmängd förs i ett provrör med nio delar lämplig spädningvätska. Lösningen späds därefter vidare i ytterligare provrör och blandas väl med hjälp av en vortex tills önskad spädningsgrad är uppnådd. Detta resulterar i att man uppnår en provrörsserie med spädningfaktorerna 1:10, 1:100, 1:1000 och så vidare, varpå dessa också kan beskrivas med logaritmer som 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} och så vidare. Har man exempelvis använt sig av spädningen 1:1000, eller 10^{-3} som är samma sak, kan detta enkelt beskrivas som att man har använt sig av en “-3 spädning” (Vetbact, 2021). Resultatet är sedan presenterat i \log_{10} för att enkelt kunna jämföra de olika kategorierna med varandra. Det är dessa uttryck som används i det här arbetet vid beskrivning av metod och resultat för undersökningen av mikrobiell förekomst i vetekärnor. Spädningvätskan som används vid den här undersökningen utgörs av peptonvatten.

Problematik med spridning och avläsning kan vara att det ej blir tillräcklig spridning av provmaterialet, att provet skadas av kondens, att kolonier växer över varandra eller att man valt en spädning med för hög tillväxt som gör att antalet kolonier blir för många att räkna. I Figur 3 anges exempel på hur den här problematiken kommer att benämnas vid presentationen av analysresultaten: too numerous to count (TNTC), att provet ej är representativt (ER) eller har låg/ingen tillväxt (IT).



Figur 1: Bilderna A = (TNTC) på Trypton Soy agar, B = (ER) på Bacillus ChromoSelect och C = (IT) på Violet Red Bile Dextrose ger en visuell beskrivning av olika och selektiva odlingsmedium som inte går att avläsa och ge ett tillförlitligt resultat.

Violet Red Bile Dextrose (VRBD)

VRBD är ett selektivt odlingsmedium som rekommenderas för att snabbt undersöka och räkna bakteriekolonier inom familjen *Enterobacteriaceae*. Odlingsmediet består av agar och som vanligen innehåller pepton från gelatin, jästextrakt, natriumklorid, glukos och kristallviolett. Detta odlingsmedium detekterar särskilt de galltoleranta och gramnegativa bakterier som kan förekomma i livsmedel (Merck KGaA, 2022, 2024).

Bacillus Chromoselect (BCS)

För att undersöka *Bacillus* släktet finns *Bacillus ChromoSelect*. Det är ett odlingsmedium som är framtaget för en snabb och selektiv analysering av *Bacillus* arter när de förekommer i vissa livsmedel. Odlingsmediet består av agar med peptisk smältning av animaliska vävnader och köttextrakt samt mannitol. I odlingsmediet finns en kromogen blandning som kan klyvas av β -glukosidas, vilket är ett enzym som finns i *B. cereus*. Det resulterar i att tillväxten av den här arten visar sig som blå kolonier. Eftersom *B. thuringiensis* är biokemiskt identiskt med *B. cereus* kommer även denna art att visa sig som blå-grönaktiga kolonier vid tillväxt på detta medium. För att selektivt kunna urskilja dessa två arter krävs det att polymyxin B tillsätts aseptiskt i odlingsmediet. Mannitol fungerar som fermenterbara kolhydrater som kan utnyttjas av till exempel *B. megaterium*, vilket ger guldfärgade kolonier på odlingsmediet. Ytterligare arter som tillväxer i samma odlingsmedium är *B. coagulans* och *B. subtilis*. Den förstnämnda visar sig som små rosa och upphöjda kolonier och den sistnämnda som ljusgröna till klargröna kolonier. (Merck KGaA, 2018).

Malt agar (MA)

På MA växer det både jäst och mögel, vilket kan påverka kvaliteten negativt på spannmål (Thougaard, H., *et al.*, 2007). MA innehåller polysackarider som energikälla, mykologiskt pepton är källan till kväve och sen agar som är gelbildande (Merck KGaA, 2018)

MRS & Rogosa

MRS och Rogosa är två agar för att odla fram laktobaciller eller mjölksyrabakterier i en aerob miljö. Skillnaden är att Rogosa är mer selektiv än MRS genom att man sänker pH värdet till

5,5 vid beredning. En annan skillnad utgörs om inkubering av ett prov sker i en anaerob miljö då det bara är bifidobakterier som växer till (Merck KGaK, 2018, 2019).

Tryptic soya agar (TSA)

TSA är ett odlingssubstrat som används för att få en överblick av hur mycket mikroorganismer som finns i det material man testar. Totalantalet mikroorganismer kan ge en viss indikation om provets skick, men ger ingen information om vilka mikroorganismer som förekommer i provet eller om de som finns i provet kan orsaka förskämning (Livsmedelsverket, 2023).

Material och undersökningsmetoder

Ett medvetet val har gjorts att dela in metodavsnittet i fyra delar eftersom analyserna sker vid olika tillfällen, kräver olika redskap och tillvägagångssätt samt ger information på olika områden även om analysresultaten hänger samman i slutändan.

Metod del 1: litteratursökning och bearbetning av data

Litteratursökning för undersökningen har gjorts i sökmotorer som Google och databaser som Lubsearch. Sökord som använts för studien är: grobarhet, vete, provgro vete, grobarhetstest, kontroll av utsäde, *Enterobacteriaceae* in plants, wheat quality. Annan relevant information har eftersökts i kurslitteratur för de ämnen som berör undersökningen.

Mjukvaruprogrammen i de olika maskinerna samlade in data från analyserna som sedan överfördes till Excel för bearbetning. De medelvärden, standardavvikelse och p-värden (t-test) som finns med i studiens resultatdel har räknats ut med hjälp av funktioner i Excel. Diagram och tabeller som presenteras i studiens resultatdel har också utformats med Excel där även outliners identifierades.

Metod del 2: urval, textur-, vattenhalt-, a_w - och bildanalyser

Material

I den här undersökningen har det använts ca 2k utsäde som Läntmännen i Malmö har bidragit med. Kontroll av utsädets vattenhalt och vattenaktivitet analyserades för att försäkra att utsädet inte var i riskzonen för oönskad tillväxt av mikroorganismer.

Tillvägagångssätt för mätning av vattenhalt med NIR Infratec TM (FOSS)

Vattenhalten analyserades med hjälp av en NIR (FOSS, Infratec, Danmark) lånad av Läntmännen i Malmö. Cirka 500 g av utsädet placerades i en NIR och i förprogrammerade inställningar i maskinens mjukvara valdes att hela vetekärnor skulle analyseras. När hela provmaterialet hade analyserats redovisades resultatet på maskinens display och noterades.

Tillvägagångssätt för mätning av vattenaktivitet med Aqua Lab

Vattenaktiviteten analyserades på Lunds universitet med en Aqua Lab (Decagon 3 TE, AquaLab, USA). Först startades maskinen och rätt temperatur väntades in. Under tiden mortlades en liten del av utsädet till ett fint pulver. Maskinen kalibrerades med hjälp av en saltlösning på 13,41 M som visade en a_w på 0,25 och en saltlösning på 6,00 M som visade en a_w på 0,76. När kalibreringen var färdig fördelades det mortlade vetet i tre provkoppar och analyserades i sex minuter per test. Resultatet redovisades på maskinens display och noterades. Excel användes i efterföljande steg för att beräkna medelvärdet av analyserna.

Tillvägagångssätt för urval med Sequential Precision Divider (SPD)

För att få ett oberoende urval har vetet sorterats ut med en SPD (SPD 4200, PerkinElmer/Perten Instruments, Sverige) som halverar utsädet i varje steg. Planen var att göra tre odlingar och ha en i reserv, därför delades vår totala mängd om cirka 2 kg utsäde på 4. För att få fram 100 stycken (ca 4.6g) slumpmässigt utvalda vetekärnor halverades varje del 7 gånger, men eftersom resultatet varierade så fick viss manuell justering genomföras för att få exakt 100 st. vetekärnor.

Tillvägagångssätt för bildanalys med Paddy Check

Med Paddy Check (PC 6800, Perkin Elmer/Perten Instruments, Sverige) genomfördes två typer av analyser i den här studien. Den ena var genomlysning som mätte hur opak vetekärnan var. Informationen berättar hur stor del i procent mörk area som kärnan har, vilket ger information om hur strukturen är inuti kärnan. Den andra analysen var fotografering som gav en tydlig bild på kärnan samt mått på dess längd och bredd i millimeter.

Vetekärnorna placerades en och en i en Paddy Check (PC) som genomlyste och fotograferade dem. I turordning lades därefter kärnorna i provrör och gavs en individuell ID-märkning. Insamlad data fördes över från Paddy Check till en USB-sticka och kunde analyseras med hjälp av tillhörande mjukvara (Singulator Plus) i en vanlig dator. Datan bearbetades därefter i Excel. Efter att vetekärnorna testats individuellt i Paddy Checken fick de en ID-märkning för att enkelt kunna följa dem genom hela undersökningen.

Tillvägagångssätt för texturmätning av TVT 6700 (Perten Instruments)

Texturmätaren som används i den här studien är en TVT 6700 (Perten Instruments, Sverige). Den kan mäta väldigt små förändringar i texturen mellan två kompressioner. I studien användes just en dubbel kompression för att undersöka om man kunde notera en skillnad mellan kurvorna på friska vetekärnor och vetekärnor som inte grott. Inställningarna för de testparametrar som används i undersökningen kan läsas i Tabell 3.

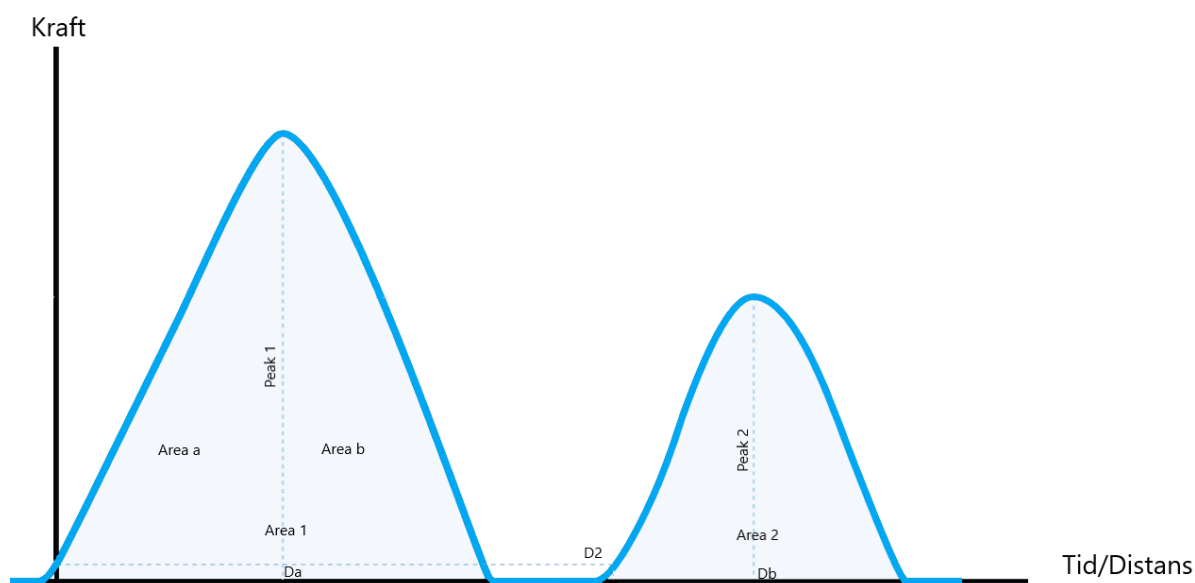
Tabell 3: Värden som har ställts in och använts för alla tester som genomförts med TPA (Texture Profile Analysis).

TVT 6700	
Sample height	2 mm
Starting distance from sample	5 mm
Number of cycles	2
T Compression	20 % av höjden på vetekärnan
Pause	0 s
Distance above trigger	0 mm
Initial speed	0.5 mm/s
Test speed	0.5 mm/s
Retract speed	0.5 mm/s
Trigger force	5 g
Data rate	200 pps

Samtliga parametrar som nämns i Tabell 4 har undersökts för att få fram objektiva mätvärden på vetekärnorna. I de inställningar som valts för den här undersökningen får man reda på kärnans höjd, hur väl kärnan försöker motstå deformation, hur väl kärnan tål andra deformationen i förhållande till första deformationen, hur väl kärnan fysiskt fjädrar tillbaka efter deformationen, vilken ansträngning som krävs för att deformera kärnan samt hur väl kärnan försöker återta sin ursprungliga position (Perten Instruments, 2017). Figur 2 kompletterar Tabell 4 med att förklara var de olika värdena kommer ifrån.

Tabell 4: Data som tagits ut och vidare analyserats

Höjd (mm)	Vetekärnans höjd
Topp 1 (g)	Max kraft första kompressionen
Topp 2 (g)	Max kraft andra kompressionen
Area 1 (g f mm)	Arean på första kurvan
Area 2 (g f mm)	Arean på andra kurvan
Fjädring	Db-D2/Da
Sammanhållning	Area 2 ÷ Area 1
Tuggbarhet	Produkten av Peak 1, cohesiveness och springiness
Resiliens	Area b ÷ Area a



Figur 2: En illustration av hur mätbara kurvor kan uppenbara sig i mjukvaran som tillhör texturmätaren, samt förklaring till variablerna i tabell 4.

Mjukvaran (TexCalc) användes där önskade värden fördes in i mjukvarans inställningar och en ny testprofil skapades. Textur-mätaren kalibrerades med 32 mm prob och en kalibreringsvikt på exakt 1 kg. Därefter utfördes individuella mätningar i turordning på de ID-märkta vetekärnorna genom att en kärna i taget placerades på bordet. Data analyserades i mjukvaran och konverterades därefter till en Excel-fil för vidare bearbetning.

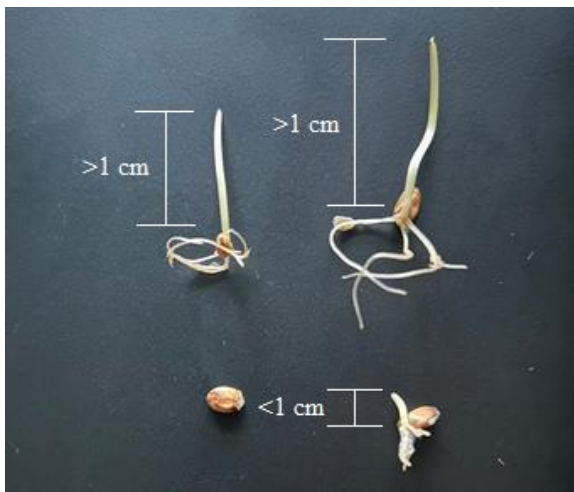
Metod del 3: odling av vetekärnor

Tillvägagångssätt för odling av vetekärnor

Äggkartongerna klipptes till rätt storlek som genererade 50 st fack och blötlades för att behålla fukten bättre. Därefter desinficerades dem i ugn på 100 °C i 10 min med ånga för att inte ha oönskade mikroorganismer som kan kontaminera proven inför de efterföljande mikrobiella analyserna (Thougaard, H., *et al.*, 2007). Efter att äggkartongerna svalnat något placerades kärnorna en och en i facken som kan ses i Figur 3. Vetekärnorna förvarades mörkt i ugnformarna under en låda med små hål för lite luftgenomströmning. Kärnorna vattnades varannan dag under en veckas groddning. Därefter delades groddarna in i tre kategorier utifrån groddens längd och antal rötter. Kärnor med en grodd >1 cm och fler än tre rötter benämndes som >1 cm, kärnor med en grodd <1 cm och färre än tre rötter benämndes som Abnorma och kärnor som inte hade varken grodd eller rötter benämndes som Ej grott. I Figur 4 återges en visuell bild av hur kärnorna såg ut när de delades in i kategorierna.



Figur 3: Till vänster visas när vetekärnorna precis är sådda och till höger visas hur groddarna ser ut efter en vecka.



Figur 4: Bilden visar hur vetekärnorna såg ut vid indelning av kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott.

Metod del 4: odling och avläsning av mikroorganismer

Mikrobiell provtagning

Slutligen gjordes mikrobiell provtagning på kärnorna för att analysera om någon tydlig skillnad i förekomst av levande bakterier kunde detekteras mellan de olika kategorierna som representerar kärnornas goda eller mindre goda grobarhet. De begränsningar som studien har förhållit sig till är framtagna i samråd med handledare och universitetets utbud för mikrobiell provtagning. De substrat som har använts är Violet Red Bile Dextrose (VRBD), Bacillus Chromoselect, Tryptic soy agar (TSA), Malt agar (MA), Man Rogosa Sharpe (MRS) och Rogosa. För att undvika kontaminering via redskap som användes vid spridning på agarplattor har mortlar och skedar steriliserats vid 121 °C under tryck i en autoklav innan de användes.

Tillvägagångssätt för framställning av odlingsmedium Chrome Select, VRBD och Rogosa

Agar vägdes upp i vågskepp och fördes över i E-kolv med destillerat vatten. En magnetloppa tillsattes i E-kolven som placerades på en värmeplatta med omrörningsfunktion, där vätskan blandades tills agarn var helt upplöst och uppnådde kokpunkt. Den färdigblandade agarn fördes över till rena flaskor med skruvkork och placerades i vattenbad med en temperatur på 50 °C för avsvälning. Vid uppnådd temperatur hälldes odlingsmediet över i petriskålar som omslötts av tillhörande lock i steril miljö. När odlingsmediet stelnat förpackades de färdiggjutna plattorna i plastpåsar och förseglades med tejp i steril miljö. Därefter förflyttades de till kylrum och förvarades <8 °C i högst 14 dagar under användningstiden. Innan Rogosan sattes i vattenbadet justerades pH halten till 5,5 med hjälp av ättiksyra.

Tillvägagångssätt för framställning av odlingsmedium TSA, MRS och MA

Agar vägdes upp i vågskepp och fördes över i E-kolv med destillerat vatten. En magnetloppa tillsattes i E-kolven som placerades på en värmeplatta med omrörningsfunktion, där vätskan blandades tills agarn var helt upplöst och uppnådde kokpunkt. Den färdigblandade agarn fördes över till flaskor med skruvkork och placerades i en autoklav och värmebehandlades under tryck med en temperatur på 121 °C i 15 minuter. När tryck och temperatur sjunkit till säker nivå lyftes flaskorna upp ur autoklaven och i direkt efterföljande steg placerades de i vattenbad med en temperatur på 50 °C för avsvälning. Vid uppnådd temperatur hälldes odlingsmediet över i petriskålar som omslötts av tillhörande lock i steril miljö. När odlingsmediet stelnat förpackades de färdiggjutna plattorna i plastpåsar och förseglades med tejp i steril miljö. Därefter förflyttades de till kylrum och förvarades <8 °C i högst 30 dagar under användningstiden.

Tillvägagångssätt för framställning av peptonvatten

Pepton, natriumklorid och avjoniserat vatten hälldes ned i en E-kolv och blandades runt med hjälp av en magnetloppa och magnetomrörare tills blandningen hade lösts upp. 9 ml färdig peptonvätska fördes ner i provrör med hjälp av doseringspump och förseglades med lock. Därefter autoklaverades provrören i 121 °C i 15 minuter. Till sist förflyttades de till kylrum och förvarades <8 °C i högst 30 dagar under användningstiden.

Tillvägagångssätt för spridning av mikroorganismer

Spädningsrör med 9 ml peptonvatten placerades i provrörsställ. Provmaterial av vetekärnor mortlades med hjälp av autoklaverade redskap och 1 g provmängd fördes ner i ett av provrören. Proceduren upprepades för de tre kategorierna (>1 cm, Abnorma och Ej grott). De tre provrören placerades i en Transonic i 10 minuter. 1 ml stamlösning tillsattes i ett spädningsrör med 9 ml peptonvatten med hjälp av doseringspipett och därefter vortexades. Processen upprepades från föregående spädning tills spädning -6 var uppnådd. Detta moment utfördes på samtliga kategorier. Från provrören togs 0,1 ml provmängd från respektive vald spädning och fördes över till respektive agarplatta med tillhörande kontrollplatta och sterila glaskulor användes för spridning av provet. Agarplattorna placerades i förslutna påsar och vardera sort inkuberades enligt tillverkarens riktlinjer för agarsubstraten.

Tillvägagångssätt för avläsning av mikroorganismer

Agarplattorna placerades i en koloniräknare för avläsning. Kolonierna prickades av med hjälp av en markeringspenna. Antalet kolonier från provtagningsplatta och kontrollplatta adderades och gav ett medelvärde som användes för vidare bearbetning av data.

Mer information om material, maskiner och kemikalier finns i bilaga 1.

Resultat

NIR-test och vattenaktivitet

I Tabell 5 visar enkelvärden från NIR-test på ca 500 g vetekärnor att vattenhalten är under den godkända gränsen på 14%. Ergosterol och rymdvikt är med för det kan vara av intresse för framtida studier.

I malda vetekärnor visade resultatet för a_w 0,42 med en standardavvikelse på 0,009 och utgör ett godkänt medelvärde för samtliga tre mätningar som utfördes.

Tabell 5: Det resultat som ett NIR-test visade på ca 500 g utsäde.

Vattenhalt	11,3%
Ergosterol	12,7%
Rymdvikt	799,8 g/L

Paddy Check

Resultaten som presenteras för analyserna med Paddy Check är baserade på 97 vetekärnor som är fördelade i olika kategorier på följande vis: 84 kärnor med en bra grodd >1 cm och 3 rötter, 6 abnorma kärnor med en grodd <1 cm och 3 eller färre rötter och slutligen 7 kärnor som inte har grott.

I Tabell 6 presenteras medelvärden och standardavvikelser på data som registrerats i Paddy Check. Tabellen visar att medelvärdet för mörk area inom kategorin >1 cm är lägst, och att medelvärdet för kärnans längd och bredd inom samma kategori är högst. Medelvärdet för kärnans längd och bredd är lägst inom kategori Ej grott, medan medelvärdet av mörk area är högre än kategori >1 cm samt lägre än kategori Abnorm. Inom kategorin Abnorm är medelvärdet för mörk area högst medan kärnans längd och bredd inom den här kategorin ligger mellan medelvärdena för kategorierna >1 cm och Ej grott. Standardavvikelsen som presenteras inom kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott visar på spridningen av högre eller lägre avvikande värden från parametrarnas medelvärden.

Tabell 6: Medelvärdet samt standardavvikelse på 97 vetekärnor från de olika kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott vid olika parametrar för Paddy Check.

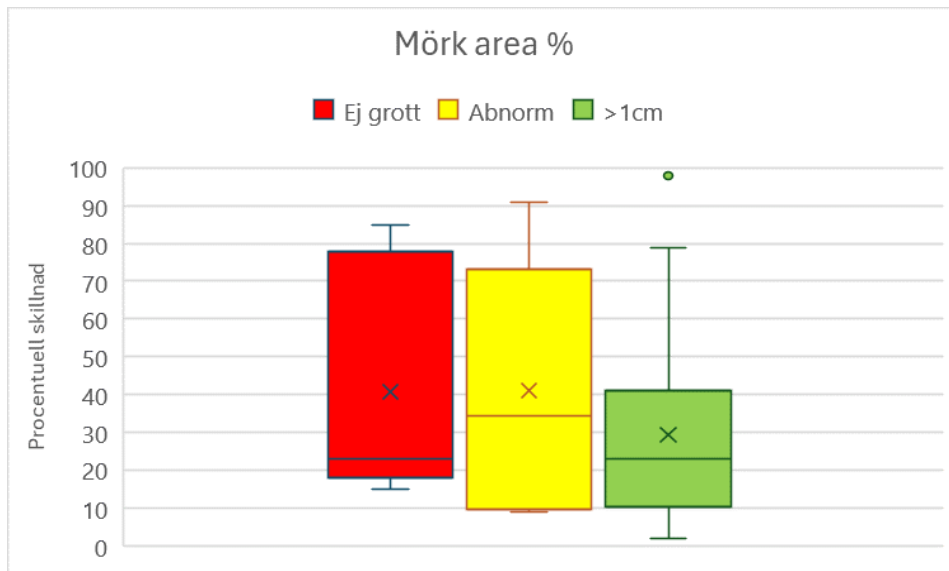
Medelvärde / Standaravvikelse	Mörk area %	Längd mm	Bredd mm
Ej grott (medel)	40,7	5,76	3,04
(standardavvikelse)	29,9	0,38	0,53
Abnorm (medel)	41,0	5,89	3,26
(standardavvikelse)	33,7	0,44	0,16
> 1 cm (medel)	29,4	6,03	3,36
(standardavvikelse)	23,5	0,43	0,39

I Tabell 7 kan man se att vid t-test som har gjorts på data från Paddy Check-analyserna syns ingen signifikant skillnad ($p \geq 0.05$). Närmast en signifikant skillnad är längden ($p=0.061$) och bredden ($p=0.080$).

Tabell 7: Redogörelse för t-test mellan de olika kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott.

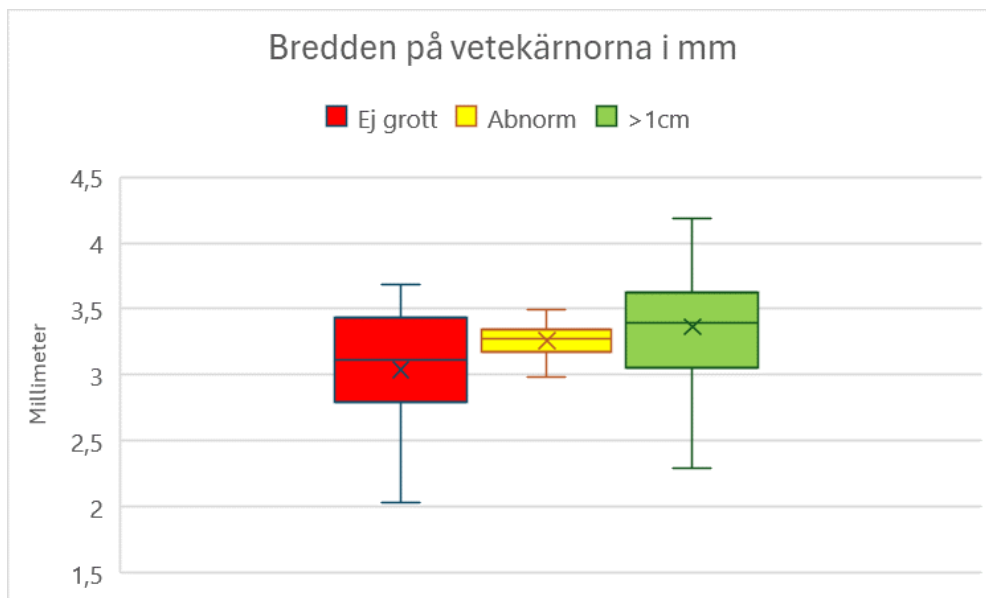
T-test		Mörk area %	Längd mm	Bredd mm
Ej grott	> 1 cm	0,181	0,061	0,080
Abnorm	Ej grott	0,494	0,305	0,165
> 1 cm	Abnorm	0,220	0,236	0,110

I Figur 5 presenteras resultaten av hur många procent mörk area som förekom på vetekärnorna vid analysen med Paddy Check. Medelvärdet (\bar{x}) för mörk area är högst i kategorin Abnorm och lägst för kategorin >1 cm. För kärnorna inom kategorierna Ej grott och Abnorm visar figuren att spridningen av mörk area är stor, och att kärnorna inom kategorin >1 cm har både det lägsta och högsta uppmätta värdet med en outliner på nästan 100%.



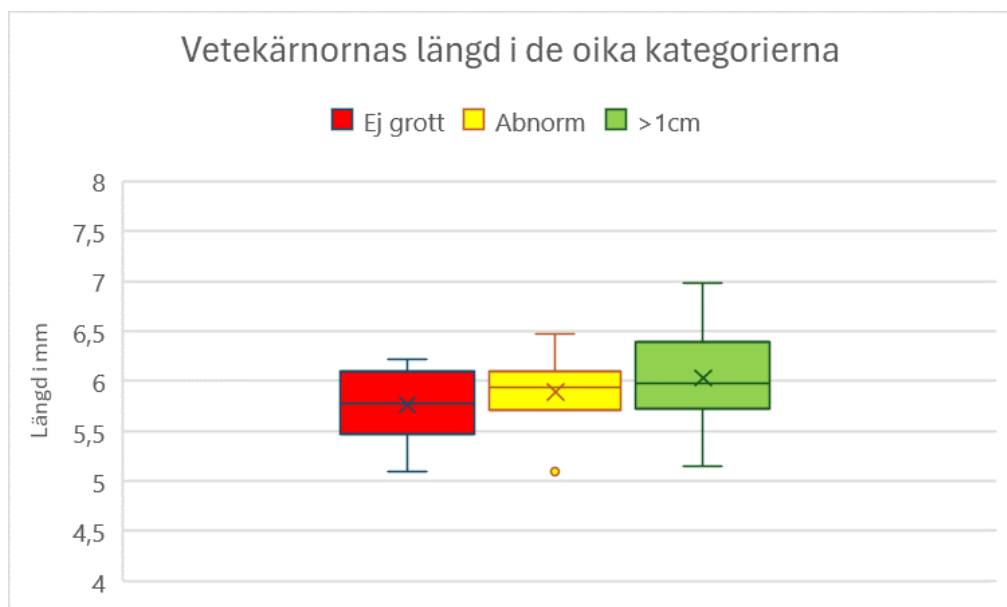
Figur 5: Illustrerar procentuell mörk area på 97 st vetekärnor analyserade i Paddy Check.

I Figur 6 presenteras resultatet av bredden på vetekärnorna som registrerades vid analysen med Paddy Check. Bredden för kärnorna i kategorin Ej grott hade ett lägre max-, minsta-, median- och medelvärde jämfört med kärnorna i kategorin >1 cm. Inom kategorin Abnorm ligger värdena mitt emellan de som presenteras för kategorierna Ej grott och >1 cm.



Figur 6: I figuren illustreras de 97 st vetekärnornas bredd i mm i kategorierna Ej grott, Abnorm och >1 cm.

Figur 7 visar att kärnorna inom kategorin Ej grott är kortare i högsta uppmätta värde samt medelvärde och delar det kortaste uppmätta värdet med kategorin Abnorm. Skillnaden mellan den kortaste uppmätta längden för kategori Ej grott är inte mycket större än för kategorin >1 cm. Kategorin Abnorm har en outliner som är likvärdig den lägsta längden på kärnorna som förekommer i de andra kategorierna.



Figur 7: I diagrammet illustreras vetekärnornas längd i mm i de olika kategorierna Ej grott, Abnorm och >1 cm.

Textur

Resultaten som presenteras för analyserna med textur-mätaren är baserade på 198 vetekärnor som är fördelade i olika kategorier på följande vis: 11 som inte har grott, 16 abnorma och 171 som har en grodd >1 cm och 3 rötter eller fler.

I Tabell 8 redovisas medelvärdet av de tre olika kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott samt de parametrar som valdes ut för analys i texturmätaren. I tabellen framgår att kärnorna inom kategorin Ej grott urskiljer sig från de andra två kategorierna med att antingen ha lägst eller högst värde i alla mätningar med undantag för parametern resiliens vars värde ligger i mitten för den kategorin. Standardavvikelsen som presenteras inom kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott visar på spridningen av högre eller lägre avvikande värden från parametrarnas medelvärden.

Tabell 8: Medelvärdet samt standardavvikelse på de olika kategorierna vid olika bestämda parametrar på texturmätaren.

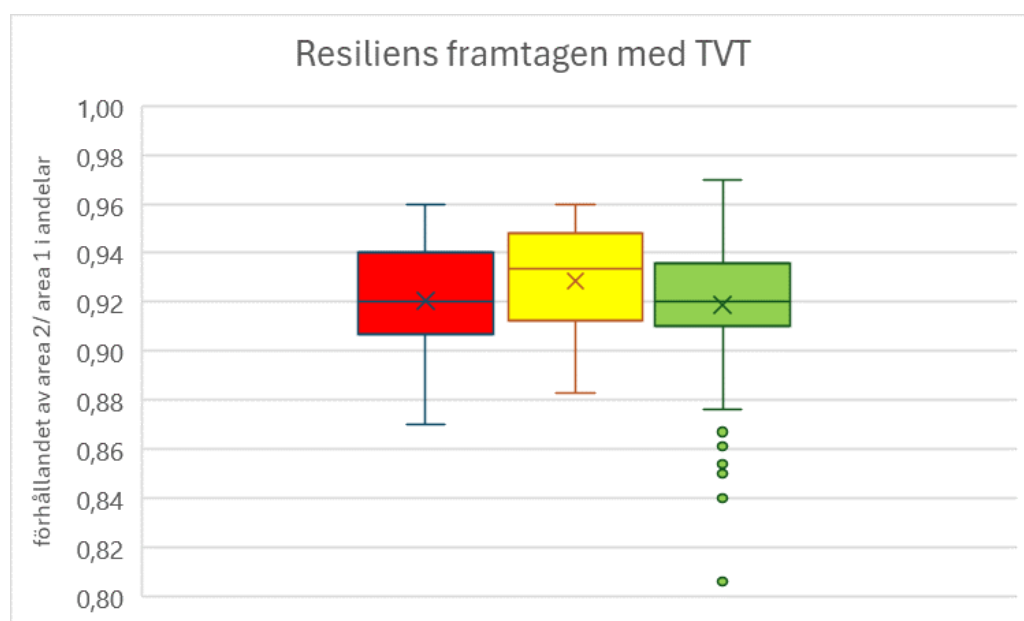
Medelvärde / Standardavvikelse	Höjd (mm)	Topp 1 (g)	Topp 2 (g)	Area 1 (g f mm)	Area 2 (g f mm)	Fjädring	Sammanhållning	Tuggbarhet	Resiliens
Ej grott (medel)	2.84	5128	5099	2597	2573	0,99	0,97	5625	0.92
(standardavvikelse)	0,29	1004	1004	792	1065	0,02	0,02	295	0,03
Abnorm (medel)	2.94	5592	5565	2941	2882	0,99	0,98	5441	0.93
(standardavvikelse)	0,20	488	481	456	433	0,02	0,02	472	0,02
>1 cm (medel)	2.97	5581	5550	2994	2900	0,99	0,97	5396	0.92
(standardavvikelse)	0,23	575	569	550	537	0,02	0,02	567	0,03

I Tabell 9 presenteras resultatet för t-test mellan de tre olika kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott samt de parametrar som bestämdes i texturmätaren. Resultatet visar ingen signifikant skillnad ($p \geq 0.05$) på samtliga analyser, varav värdet för resiliensen mellan kategorierna Abnorm och >1 cm är närmast en signifikant skillnad ($p=0.055$).

Tabell 9: Redogörelse för T-test mellan de olika kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott.

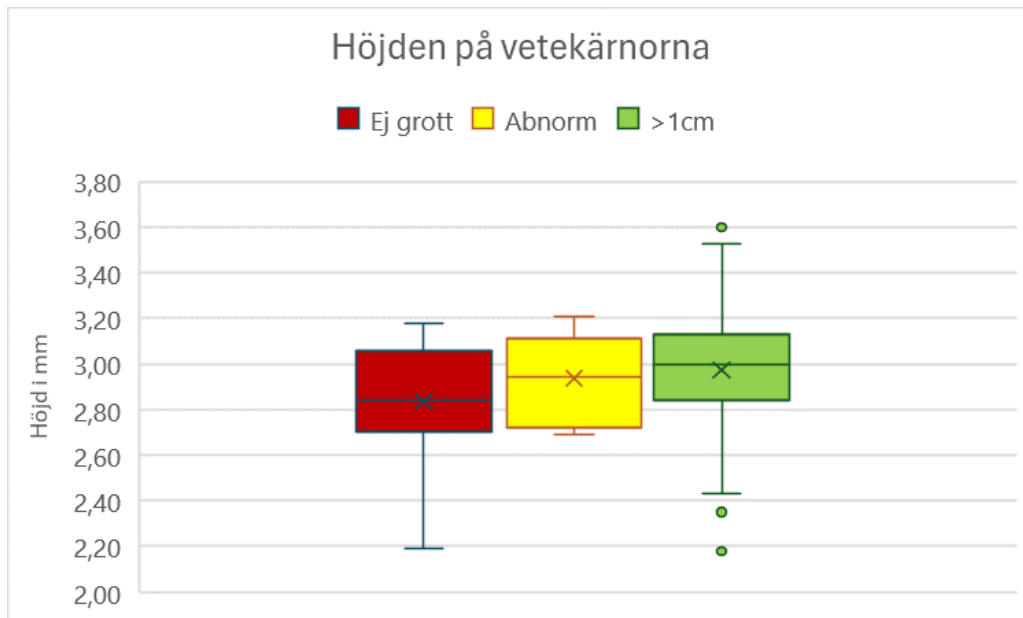
T-test		Höjd (mm)	Topp 1 (g)	Topp 2 (g)	Area 1 (g f mm)	Area 2 (g f mm)	Fjädring	Sammanhållning	Tuggbarhet	Resiliens
Ej grott	>1 cm	0,07	0,08	0,09	0,07	0,27	0,27	0,41	0,11	0,42
Abnorm	>1 cm	0,24	0,47	0,45	0,39	0,44	0,40	0,14	0,36	0,06
Abnorm	Ej grott	0,16	0,09	0,09	0,11	0,28	0,38	0,17	0,18	0,20

I Figur 8 presenteras resultatet av resiliensen av de olika kategorierna >1 cm, Abnorm och Ej grott. Merparten av testresultaten är ganska jämna mellan de tre kategorierna med undantag för några outliers inom kategorin >1 cm.



Figur 8: Diagrammet illustrerar resiliensen i de olika kategorierna Ej grott, Abnorm och >1 cm. Resiliensen är förhållandet mellan area 2 dividerat med area 1.

I Figur 9 redovisas höjdskillnaden mellan kategorierna och spridningen av vetekärnornas höjd inom varje enskild kategori. Av resultatet framgår att de högsta och lägsta uppmätta värdena av kärnornas höjd finns i kategori >1 cm och spridningen av höjdskillnader på kärnorna inom denna kategori är större än för de andra kategorierna. I diagrammet framgår att höjden på kärnorna inom kategorin Ej grott är betydligt lägre än för de andra kategorierna och att kategorin Abnorm har den minsta spridningen av kärnornas höjd.

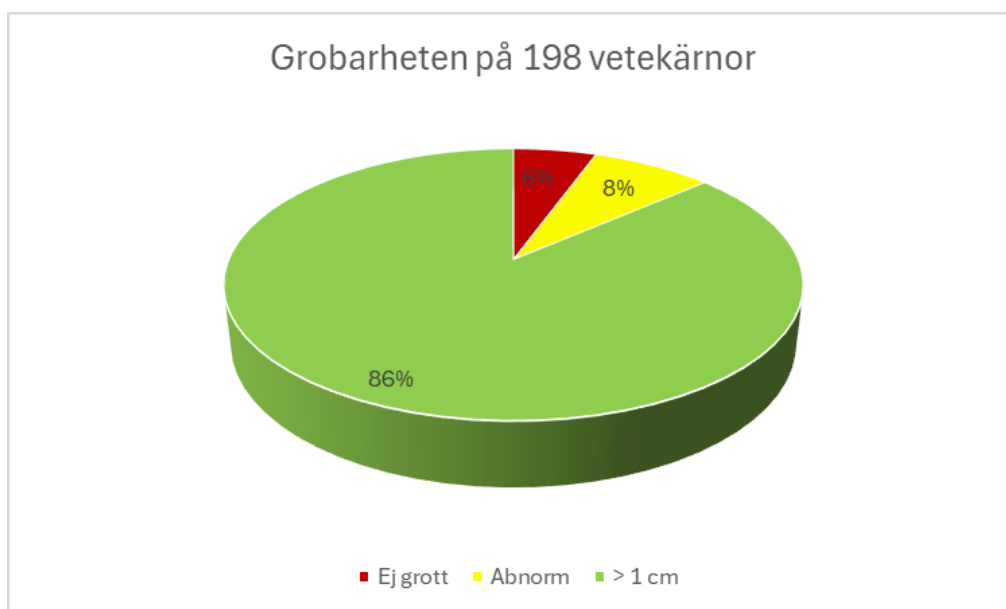


Figur 9: Diagrammet illustrerar höjdskillnaden mellan kategorierna Ej grott, Abnorm och >1 cm.

Grobarhet

Grobarheten utvärderades efter två test av sammanlagt 198 vetekärnor. Det var 11 kärnor som inte hade grott, 16 kärnor som var abnorma och 171 kärnor som hade en grodd >1 cm och 3 rötter eller fler. Vid det första odlingsförsöket valdes två kärnor bort för att den ena knäcktes i textur-mätaren, och den andra på grund av att kärnan hade två groddar och passade inte in i någon av de bestämda kategorierna som valts ut för studien.

I Figur 10 presenteras resultatet för grobarheten varav 6% av kärnorna hade inte grott alls, 8% var abnorma och hade grott, men inte så bra och sist 86% som har grott bra. De ger en grobarhet på 94% vilket är 9% över det värde som är godkänt för utsäde.



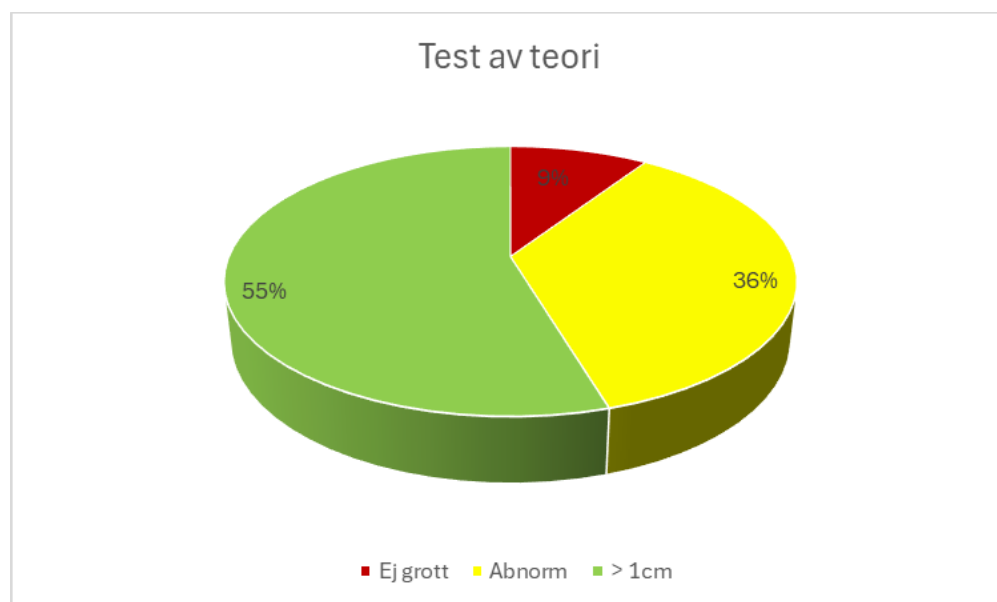
Figur 10: Redogörelse för grobarheten vid de två första försöken på totalt 198 vetekärnor.

Test av teori - har mindre vetekärnor sämre grobarhet?

Efter att data analyserats från både texturmätaren och Paddy Check kunde ett mönster observeras där vetekärnor som inte hade grott tenderade att vara mindre i bredd, längd och höjd. För att testa sannolikheten av att små vetekärnor skulle gro sämre valdes det ut vetekärnor som ansågs vara små bara genom en okulär bedömning. För att få en liknande provmängd som vid tidigare tester, där kärnorna valts ut slumpmässigt med SPD, så analyserades 200 vetekärnor med hjälp av Paddy Check men antalet kärnor som räknades och genomgick en analys blev totalt 247 stycken.

Grobarhet

I Figur 11 redovisas resultatet efter att de 247 vetekärnorna såtts. En total grobarhet på 91% kan noteras, varav 55% av vetekärnorna hade en grodd >1 cm, 36% en grodd <1 cm och 9% som inte grodde alls. Den största skillnaden noteras i kategorin >1 cm med en minskning från 86 % till 55 %, därefter är det vetekärnorna inom kategorin Abnorm som ökade från 8% till 36% och sist de kärnor som inte har grott som ökat från 6% till 9%. Jämfört med de första försöken som hade en grobarhet på 94%, så blev grobarheten i detta försök något sämre men fortfarande över grobarhetsgränsen för utsäde på 85% (Eurofins, 2018).



Figur 11: Diagrammet redogör för grobarheten vid det sista försöket på totalt 247 vetekärnor.

Paddy Check

I Tabell 10 jämförs det sammanlagda resultatet från de två första två grobarhetsförsöken med resultatet av grobarhetsförsöket där teorin var att små vetekärnor kunde gro sämre. Skillnaden mellan försöken är inte så stor i mörk area som i längd och bredd. Om storleken jämförs i Tabell 10 ser man att längden på kärnorna är 0,59 mm kortare och tjockleken 0,63 mm smalare i test av teori än de kärnorna i kategorin Ej grott från de tidigare testerna som presenteras i Tabell 6. Resultatet från test av teorin visar att det inte är storleken på vetekärnor som har betydelse för grobarheten.

Tabell 10: Jämförelse av bildanalyser mellan alla kategorier från de första testerna av vetekärnorna och de vetekärnor som vid senare utfört test valts ut manuellt utifrån mindre kärnstorlek.

De första 198 vetekärnorna	Längd mm	Bredd mm
Medel	6,0	3,3
Standardavvikelse	0,4	0,4
Test av teori	Längd mm	Bredd mm
Medel	5,2	2,4
Standardavvikelse	0,5	0,3

Mikrobiell avläsning

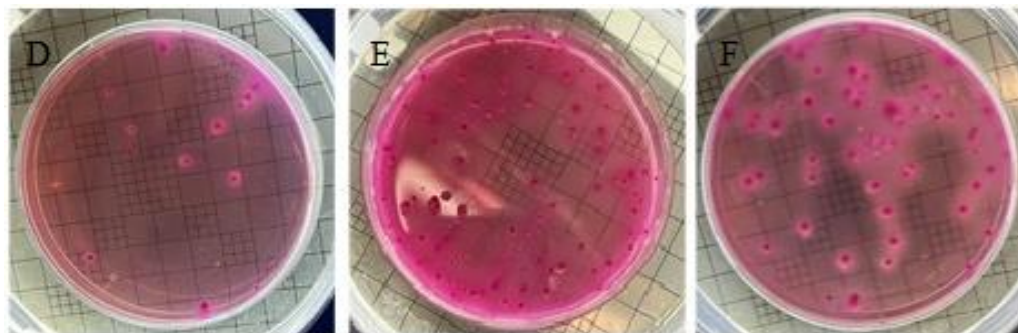
De mikrobiella resultaten är baserade på endast ett försök och två plattor per kategori av vetets växtfaser. I Tabell 11 skildras en översiktlig bild av hur olika bakterier tillväxer i vetets olika kategorier. Resultatet visar att det finns mer tillväxt av de olika Bacillusarterna och mindre tillväxt av de andra arterna på kategorin >1 cm. I övrigt ser man att det är mest tillväxt på de som inte grott och generellt mindre tillväxt på kategorin >1 cm även om de är ganska lika med resultaten på abnorma. Minst tillväxt är det på utsädet på samtliga agar och på MRS och Rogosa var det ingen tillväxt alls.

Tabell 11: En sammanställning av medelvärde och Log₁₀ CFU/ gram gällande hur olika bakterier tillväxer i de olika kategorierna av vetets växtfaser.

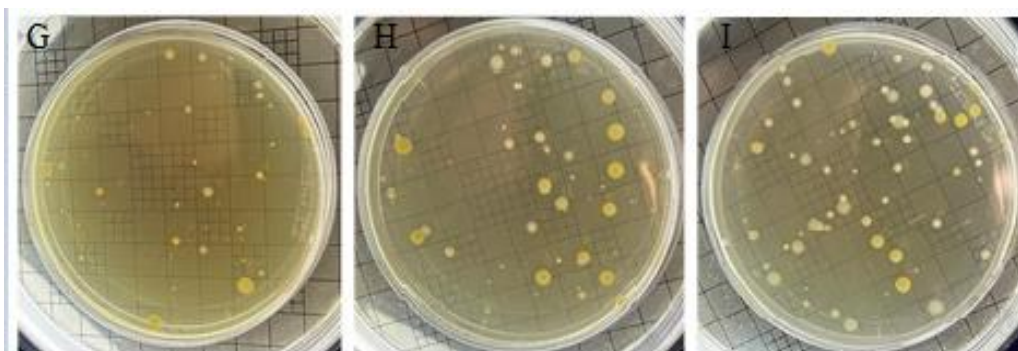
Log ₁₀ CFU/g	Utsäde	Ej grott	Abnorm	>1 cm
VRBD	4,2	9,2	8	7,8
TSA	5,7	9,1	8,7	8,9
MA	4,8	9,1	8,3	8,3
MRS	*IT	7,3	5,1	4,4
Rogosa	*IT	7,1	3,7	3,2
BCS	4,7	**ER	8,3	8,7

*IT = Ingen tillväxt. **ER = Ej representativt prov.

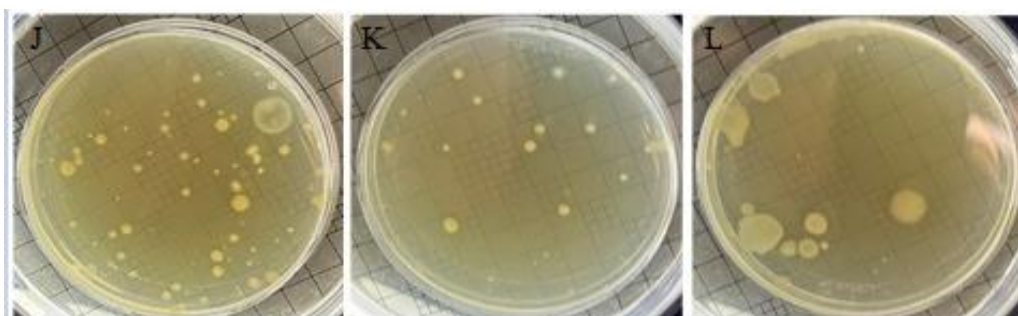
I Figur 12 tydliggörs tillväxten av *Enterobacteriaceae* på VRBD-agar där minst antal bakteriekolonier noterades på utsäde och något fler kolonier fanns inom kategorin Abnorm än för >1 cm. I Figur 13 tydliggörs tillväxten av det totala antalet bakterier på TSA-agar där minst antal bakteriekolonier noterades på utsäde och något fler fanns inom kategorin >1 cm än för Abnorm. I Figur 14 tydliggörs tillväxt av jäst och mögel på MA-agar där minst antal kolonier noterades på utsäde och likvärdig tillväxt fanns inom kategorierna Abnorm och >1 cm.



Figur 12: Tillväxt på VRBD där: D = spädning -1 (Utsäde), E = Spädning -4 (Abnorm), F= Spädning -4 (> 1 cm).

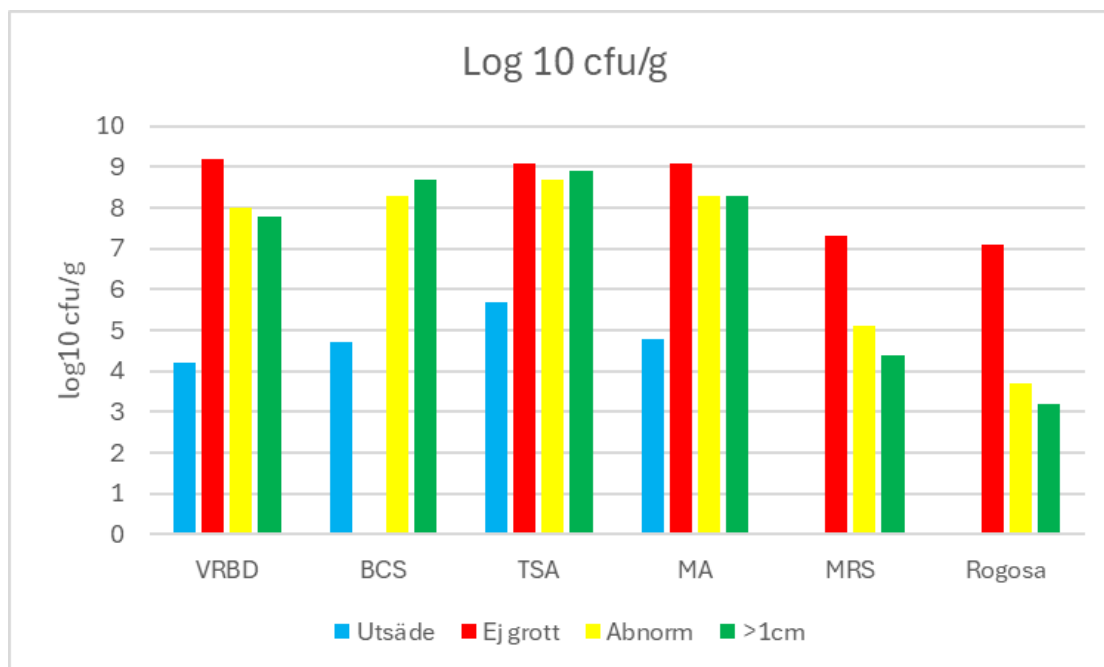


Figur 13: Tillväxt på TSA där G =spädning -2 (Utsäde), H = spädning -5 (Abnorm), I = Spädning -5 (>1 cm).



Figur 14: Tillväxt på MA där J = spädning -1 (Utsäde), K = spädning -5 (Abnorm), L = spädning -5 (>1 cm).

I Figur 15 visas resultatet av olika framodlade mikroorganismer med hjälp av olika agar. VRBD visar främst tillväxten av gramnegativa och galltolleranta bakterier inom familjen *Enterobacteriaceae*. Bacillus ChromoSelect visar främst 5 identifierbara arter av *Bacillus* och som presenteras ytterligare i Tabell 12 och Figur 16. TSA visar det totala antalet mikroorganismer som tillväxer i detta medium, men inga identifierbara arter. MA visar tillväxt av jäst och mögel och slutligen visar MRS och Rogosa tillväxten av baciller såsom bifidobakterier och mjölksyrabakterier. Resultatet tydliggör att vetekärnorna inom kategorin Ej grott har mest tillväxt på samtliga agar som har gett ett representativt resultat. Tillväxt av mängden mikroorganismer i kategorierna Abnorm och >1 cm är likvärdigt för alla representativa resultat. Kategorin utsäde har minst tillväxt av mikroorganismer för alla representativa resultat.



Figur 15: Redovisar skillnaden av mikrobiell tillväxt på de olika agarsubstraten som använts i studien. På VRBD ser man tillväxten av *Enterobacteriaceae*, på BCS ser man tillväxten av 5 olika *Bacillus* arter. TSA visar det totala antalet mikrober i provmaterialet, MA visar både jäst och mögel, på MRS och Rogosa visas hur mycket bifidobakterier och mjölksyrabakterier som förekommer i de olika kategorierna.

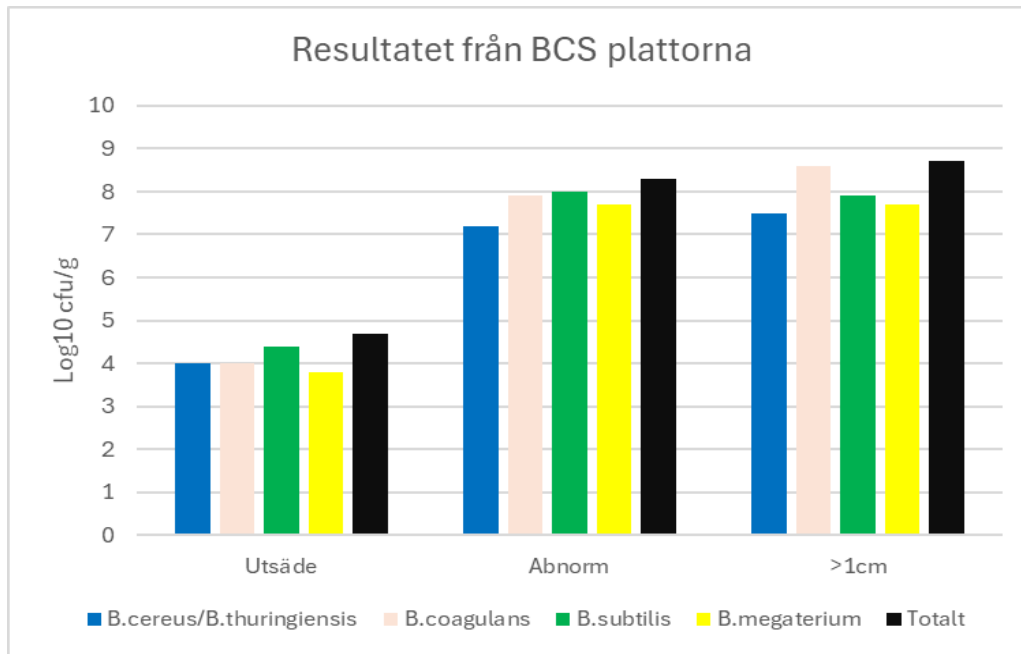
I Tabell 12 illustreras tillväxten av de olika *Bacillus* arterna inom de olika kategorierna Utsäde, Abnorm, >1 cm och Ej grott. Resultatet visar på mer tillväxt av samtliga arter av *Bacillus* inom kategorin >1 cm än för de övriga kategorierna, med undantag för likvärdig tillväxt av *B. megaterium* och mer tillväxt av *B. subtilis* i jämförelse med kategorin Abnorm.

Tabell 12: Visar de fem *Bacillus* arterna *B. cereus* & *B. thuringiensis* (blå), *B. coagulans* (rosa), *B. subtilis* (grön) och *B. megaterium* (gul) som växer på *Bacillus* ChromoSelect agar.

log ₁₀ cfu/g	Utsäde	Ej grott	Abnorm	>1 cm
<i>B. cereus</i> / <i>B. thuringiensis</i>	4	*ER	7.2	7.5
<i>B. coagulans</i>	4	*ER	7.9	8.6
<i>B. subtilis</i>	4.4	*ER	8	7.9
<i>B. megaterium</i>	3.8	*ER	7.7	7.7
Totalt	4.7	*ER	8.3	8.7

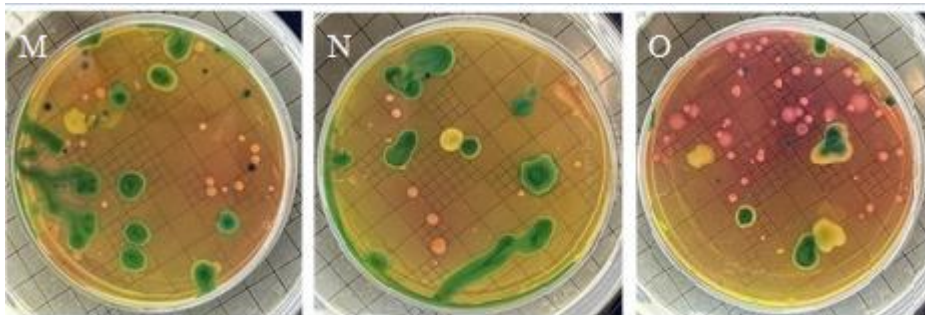
*ER = Ej representativt prov

I Figur 16 skildras tillväxten av de fem nämnda *Bacillus* arter både enskilt och i ett sammanställt resultat av alla arterna inom respektive kategori. Resultatet visar på mer tillväxt totalt av de fem nämnda *Bacillus* arterna inom kategorin >1 cm än för de övriga kategorierna. Arten *B. coagulans* är den som har visat på mest tillväxt inom den kategori som har grott bäst, och tillväxt av arten *B. subtilis* har varit högst i kategorin utsäde.

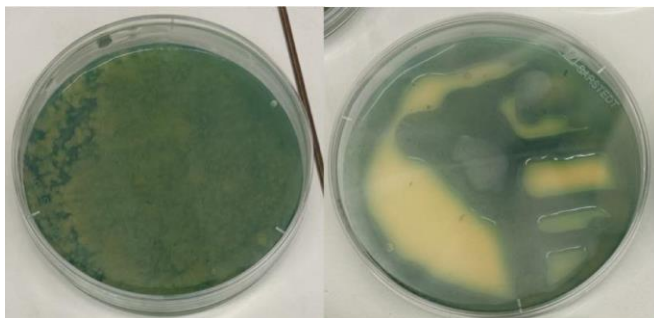


Figur 16: Tillväxt inom de olika kategorierna av arterna *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. megaterium* och *B. coagulans* på som odlats på Bacillus ChromoSelect agar.

I Figur 17 återges en visuell bild av hur tillväxten av *Bacillus* skiljer sig åt mellan de olika kategorierna. Kategorin Ej grott har inte gett något representativt resultat och Figur 18 visar hur plattorna med Bacillus ChromoSelect agar såg ut för denna kategori.



Figur 17: Bilderna M = spädning -1 (Utsäde), N = spädning -5 (Abnorm) och O = spädning -5 (>1 cm) ger en visuell beskrivning av tillväxt av *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. megaterium* och *B. coagulans* på Bacillus ChromoSelect agar.



Figur 18: Bilder på ej representativa prov (ER) inom kategorin Ej grott på Bacillus ChromoSelect agar.

Diskussion

Analys av vattenhalt och vattenaktivitet

Analysen för vattenhalten i provmaterialet visade <14 % och analysen för vattenaktivitet visade <0,75, vilket innebär att vetekärnorna som användes i studien höll sig inom godkända gränsvärden för oönskad tillväxt av mikroorganismer (Thougaard *et. al.*, 2007; Livsmedelsverket, 2017). Detta gav en betryggande information till att gå vidare med de resterande bild-, textur- och mikrobiella analyser som studien innefattade.

Bildanalys och texturmätning

Resultatet från Paddy Check och texturmätaren visade att det inte fanns någon enskild faktor som gjorde att vetekärnor grodde sämre eftersom det fanns skillnader i de flesta analyser som gjordes. En anledning till varför ingen signifikant skillnad fanns kan bero på att det inte fanns tillräckligt många kärnor som inte hade grott.

Det fanns en tanke om att mörk area kunde spela roll gällande vetets grobarhet, eftersom det är ett effektivt sätt att bedöma kvaliteten på riskorn med hjälp av Paddy Check (Purhagen, *et. al.*, 2018). Dock visade resultatet att medelvärdet av mörk area på abnorma vetekärnor och de kärnor som inte hade grott var ganska lika, medan de kärnor som kategoriserats som >1 cm endast hade cirka 10% mindre mörk area än de andra kategorierna. Standardavvikelsen visar också att det är väldigt stor spridning av mörk area inom de olika kategorierna, och för att förtydliga denna spridning togs outliners med i resultatet.

Resultatet från texturmätaren visade inte heller någon signifikant skillnad, och närmast var resiliensen mellan abnorma vetekärnor och >1 cm med ett p-värde på 0,055. Även höjden i kategorierna Ej grott och >1 cm var ganska nära en signifikant skillnad med ett p-värde på 0,071. Ur ett helhetsperspektiv fanns det många noterbara skillnader mellan vetekärnorna, och kategorin Ej grott stack ut på många parametrar vid texturmätningen. Likväl som resultatet visade för Paddy Check, hade det kanske funnits en signifikant skillnad även vid texturmätningen om det hade funnits fler kärnor som inte hade grott och därmed hade funnits mer data att analysera. Den inställningen som valdes för att pressa kärnorna 20% av sin höjd kan ha varit för mycket vid texturmätningen. Detta är något som kan ha spelat roll vid grobarheten eftersom kärnorna pressades ganska hårt, vilket kan ha ökat vetekärnornas möjlighet att gro och som gjorde att resultaten inte skildes åt särskilt mycket. I de presenterade resultaten av textur-mätningen kan man se att det är några outliners som kan ha påverkat resultatet, men eftersom tester av cirka 200 vetekärnor möjligen inte ger tillräckligt med data, anges därmed outliners för att visa att det är väldigt stor spridning inom de olika kategorierna Ej grott, Abnorm och >1 cm.

Det tydligaste sambandet som resultaten från både Paddy Check och texturmätaren visade, var att de kärnor som inte grott hade en tendens att vara mindre i storlek än i övriga kategorier. Därmed stämmer inte hypotesen om att Paddy Check kan användas för att bedöma

kvaliteten av vetekärnor i just den här studien, men fler undersökningar behöver göras för att kunna dra säkra slutsatser om maskinens användbarhet för andra cerealier än ris.

Grobarhet

Grobarheten i samtliga tester var förvånansvärt hög vilket ställde till det eftersom det hade varit bra med mer data från kärnor som inte hade grott. Under tiden som studien pågick blev det varmare ute, och eftersom även rummet blev varmare där vetekärnorna odlades, så kan vetekärnorna ha grott bättre eftersom antalet abnorma kärnor blev något färre vid andra groningsförsöket.

Test av teori

Eftersom det fanns en tendens att små kärnor grodde sämre ville den teorin testas. Det motbevisades dock av resultatet som visade att även om grobarheten blev sämre, var den fortfarande långt över den grobarhetsgräns på 85% som Eurofins (2018) anger är godkänt för utsäde. Enligt Shewry, P. et. al. (2023) är vanliga dimensioner för vetekärnor 5,0-8,0 mm lång, 2,5-4,5 mm bred och 2,4-3,9 mm tjock. De kärnor som slumpmässigt har valts ut med en SPD och har analyserats i den här studien är 5,09 mm- 6,98 mm långa, 2,03-4,19 mm breda och har slutligen en tjocklek, som i undersökningen har valts att kalla för höjd, mellan 2,18-3,60 mm. Det tyder på att utsädet som användes i studien håller sig inom spannet av vetekärnors vanligt förekommande storlek gällande längd, men vissa av kärnorna hade mindre bredd och höjd än den teoretiskt angivna storleken på vetekärnor. Däremot för de kärnor som okulärt valdes ut för hand på grund av sin mindre storlek var medeldimensionerna 5,17 mm lång och 2,41 mm bred varpå måtten av kärnornas medelhöjd uteblev eftersom textur-mätningen fick uteslutas vid det sista odlingsförsöket för att hinna testa så många vetekärnor som möjligt. Jämför man de små kärnornas dimensioner med de tidigare försöken, så skiljer det 12% i medelbredd och 25% medellängd. Trots detta sjönk grobarheten vid test av teorin med bara 3%. Den tydligaste skillnaden mellan test av teori och de tidigare odlingsförsöken var förändringen av antalet kärnor inom de olika kategorierna. När resultatet från test av teori jämförs med resultatet från de tidigare odlingsförsöken har antalet vetekärnor i kategorin >1 cm minskat från 86% till 55%, därefter har kärnor i kategorin Abnorm ökat från 8% till 36% och slutligen har även en ökning skett i kategorin Ej grott från 6% till 9%. Fastän tydliga skillnader kan noteras inom de olika kategorierna så blev inte skillnaden i den totala grobarheten särskilt stor. Därmed behövs fler tester som också inkluderar fler vetekärnor.

Mikrobiella analyser

I resultatet går det att följa hur olika bakterier växer olika i vetets olika växtfaser. Värt att notera är hur lite mikrobiell tillväxt det är i utsädet som inte är sått och hur det ökar kraftigt i takt som kärnorna gror, men också i de kärnor som såtts och inte har grott alls. Därmed stämmer den andra hypotesen för studien, eftersom det går att se skillnader av mikrobiell tillväxt för de kärnor som har grott bra och de som inte har grott alls.

Vetekärnor som har grott bra vid sådd har visat på hög tillväxt av mikroorganismer som framodlas med Bacillus ChromoSelect-agar. Man kan notera hur variationen av *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. megaterium* och *B. coagulans* uppenbarar sig i de olika kategorierna, men särskilt dominant är arten *B. coagulans* i kategorin >1 cm. Då studier har visat att olika arter av *Bacillus* har en fördelaktig påverkan på växttillväxt kan man möjligen dra en slutsats att *B. coagulans*, men också vissa arter inom familjen *Enterobacteriaceae*, kan ha en positiv inverkan på vetets grobarhet och baseras på att samma kategori även hade hög tillväxt på odlingsplattor med VRBD-agar. Kategorin >1 cm hade också hög tillväxt på TSA-plattorna som skulle kunna förklaras av att de oidentifierbara mikrober som finns på dessa agarplattor kan ha en gynnsam effekt på vetets grobarhet. Samtidigt hade kategorin Ej grott högst tillväxt på TSA-plattorna som likväl här kan förklaras av att andra mikroorganismer, som inte kan identifieras till någon specifik art på den här typen av agar, istället kan ha negativ inverkan på vetets grobarhet.

Resultatet visar också att särskilt inom kategorin Ej grott finns hög tillväxt av bakterier som odlats på alla selektiva odlingsmedium. I denna kategori finns högst tillväxt på MA-plattorna och stärker det som Thougard *et. al.*, (2007) nämner om att jäst och mögel orsakar kvalitetsförsämringar i vete. Med tanke på att mikroorganismer enligt Beneduzi, A. och Passaglias, L. (2011) kan ha både neutral, fördelaktig eller negativ påverkan på växter, kan man antaga att mikroorganismer som påverkar växten negativt eller möjligen neutralt finns på de vetekärnor som inte har grott. I kategorin Ej grott finns också särskilt hög tillväxt av arter inom familjen *Enterobacteriaceae*. Chaitanya, K., *et.al.* (2011) redogör för att arter inom familjen *Enterobacteriaceae* kan vara växtpatogener, exempelvis *Erwinia carotovora*, och eftersom VRBD-agar endast ger en generell bakteriell tillväxt behövs fler studier för att ta reda på vilka andra arter inom denna familj som är fördelaktiga respektive negativa för just vetets grobarhet.

Kategorin Abnorm har lägre mikrobiell tillväxt än Ej grott, men samtidigt högre tillväxt på odlingsplattorna med selektiv agar av VRBD, MRS och Rogosa än för kategorin >1 cm. Det skulle kunna tyda på att det finns en större mängd mikroorganismer inom denna kategori som påverkar växten mer negativt eller neutralt än för kategorin >1 cm. Arten *B. subtilis* är dominant i kategorierna utsäde och Abnorm (se Tabell 12), men också i kategorin Ej grott, vilket man kan se fastän provet inte är representativt (se Figur 18 och jämför med artvariationen i Figur 1). Detta resultat motsäger den teori som Beneduzi, A. och Passaglias, L., (2011) beskriver om att just *B. subtilis* ska vara fördelaktig för vetets växttillväxt, motverka att vete angrips av jäst-och mögel samt öka vetets avkastning. Därav råder en samstämmighet med Borriss, R. (2011) som säger att om en framgångsrik applicering av *Bacillus* ska kunna göras, krävs det bättre kunskap om dem. Borriss, R. (2011) menar att det behövs för att kunna identifiera de mest fördelaktiga stammarna i sammansättningen av ympmedel, samt för att kunna bestämma i vilken typ av plantage de kan göra bäst nytta i framtiden. Även om den här studien inte är så stor och inte heller har testat många olika typer av vete, ger resultatet en indikation på att fler studier och mer kunskap verkligen behövs. Det verkar ännu inte vara etablerat att använda sig av mikroorganismer som både är fördelaktiga i växtstadiet och slutligen i en ätfärdig produkt, därav finns det goda anledningar till att

instämna med Uhlig, E., *et. al.*, (2021) om att de mikrober som växterna eller dess frön behandlas med, också bör vara säkra för oss människor.

Felkällor

Det uppstod ett tekniskt problem med Paddy Check som visade ett resultat på maskinens display, och sedan ett annat i mjukvaruprogrammet när erhållen data om de första 100 kärnorna från den första sådden skulle analyseras. Detta gjorde det omöjligt att hålla individuell koll på de vetekärnorna vid just den undersökningen. Eftersom kärnorna som hade analyserats med Paddy Check vid det tillfället redan var sådda när problemet upptäcktes, användes endast den data av kärnorna som erhållits från textur-mätaren och dessa utgjorde även provmaterialet vidare i de mikrobiella analyserna. Totalt såddes 200 vetekärnor vid de första två odlingsförsöken, men på grund av att en kärna knäcktes i textur-mätaren och gav avvikande resultat samt att på en annan kärna växte det två groddar gjorde att dessa kärnor inte passade in i någon kategori och därmed valdes bort. Av de 198 resterande vetekärnorna som analyserats i texturmätaren är det endast data från 97 av dem som presenteras i resultatet för Paddy Check. Det beror på att av de 100 vetekärnor som framgångsrikt lyckades analyseras i Paddy Check, erhöles ingen data från tre stycken av dem då dessa blev registrerade som "bad shape" vid analysen av kärnorna i mjukvaruprogrammet i datorn.

Vetekärnor som till synes såg friska ut, men som ändå inte har grott, kan bero på att de fortfarande befinner sig i groningsvila (Eurofins, 2018). Felkällor som ägde rum under odlingen var bland annat att kärnorna inte odlades under exakta förhållanden gällande temperatur, och inte heller fanns tid eller plats till att förvara dem svalt vid cirka +10 °C under en vecka för att avbryta groningsvilan före sådd i äggkartongerna. Med anledning av detta hade grobarheten troligen varit ännu högre om vetekärnorna hade fått avbryta groningsvilan under förberedande förhållanden.

Två kärnor valdes medvetet bort i de mikrobiologiska testerna för att de visade synlig tillväxt av mögel efter sådd, och som möjligen hade kunnat ge ett missvisande resultat på hela batchen eftersom inte alla kärnor hade en synlig tillväxt av mögel. En felkälla som ägde rum vid första mikrobiella odlingen på plattor med Rogosa- och MRS-agar var att det förekom hög tillväxt av mögel som gav ett resultat som inte var representativt (ER), därav finns inte heller bilder på dessa plattor. En misstanke fanns om att det skulle fortsätta växa jäst-och mögel på dessa plattor, eftersom det förekom tydliga resultat vid selektiv odling av dessa mikroorganismer på plattor med MA. På grund kontamineringen av jäst- och mögeltillväxt på Rogosa- och MRS-plattorna valdes därmed fortsättningsvis att inkubera dem i enbart anaerob miljö för att få fram ett resultat överhuvudtaget. I anaerob inkubering växer främst bifidobakterier (Merck KGaK, 2018, 2019). Vid både första och andra mikrobiella odlingen, även om den andra ägde rum anaerobt, fortsatte kontaminering av jäst-och mögel förekomma på plattor med Rogosa- och MRS-agar, vilket ledde till att odlingsförsöket på utsäde som inte var sått fick ett resultat som inte var representativt (ER). För att få en bredare bild av vilka andra typer av baciller som kan förekomma och som kan ha en positiv-, neutral- eller negativ inverkan på vetets grobarhet, behöver fler tester utföras (Beneduzi, A. och Passaglias, L.,

2011). På grund av tidsbrist gjordes inte heller tillräckligt många odlingsförsök, vilket tyvärr inte gav något representativt resultat för tillväxt på kategorin Ej grott som odlades på plattor med *Bacillus* ChromoSelect-agar.

Analysen som kan förlänga resultatet av studien i framtiden

Tiden är en av de faktorer som har begränsat resultaten mest i denna studie, och en önskan hade varit att vidare analysera fler parametrar. Studiens resultat visar att det finns skillnader i de tester som gjorts och i de odlingkategorier som valts ut, men då ingen signifikant skillnad kunde finnas i de resultat som presenteras skulle det vara intressant att titta på andra saker som kan ha betydelse för grobarheten. Det finns fler värden att analysera vidare från Paddy Check som mäter olika färgskalor, där det också kan finnas något att titta vidare på. Andra inställningar och andra parametrar i texturmätaren kan också vara intressant att titta vidare på. Några andra områden att analysera är exempelvis rymdvikt, ergosterol och fler batcher av olika vetekärnor att jämföra med. I de mikrobiella analyser som gjorts har skillnader också noterats, men även här skulle fler batcher att analysera göra det möjligt att se om det är någon signifikant skillnad i utsäde som groer bra jämfört med utsäde som groer sämre. Slutligen hade man kunnat få mer trovärdiga resultat om man hade använt sig av exempelvis Lantmännens skjutkraftsmetod istället för att odla kärnorna i äggkartonger. Detta hade också kunnat stärka bevisen ytterligare om man finner signifikanta resultat som påverkar grobarheten med en ny metod, för att se om de kärnor som valts ut för bättre eller sämre grobarhet hade klarat sig i en miljö som efterliknar naturliga förhållanden. På så vis hade även denna metod kunnat fasas ut framöver och ersättas med en ny och mer tidseffektiv metod som har ett objektiva och samstämmigt sätt att bedöma utsädets kvalitet.

Slutsats

Resultaten visar att det finns både fysikaliska- och mikrobiella skillnader mellan de olika kategorierna. De vetekärnor som har grott bra tenderar att vara större än de som inte har grott, även om det inte är en signifikant skillnad mellan dem.

Skadliga mikroorganismer såsom *Enterobacteriaceae*, jäst och mögel tenderade att ha större tillväxt i vetekärnor som inte grott jämfört med de som har grott. Det fanns en märkbart större tillväxt av goda bakterier, särskilt *Bacillus*, i de vetekärnor som har grott bra jämfört med de kärnor som klassades som abnormala. Även om ingen signifikant skillnad kunde hittas i resultaten och som med säkerhet kan avgöra utsädets kvalitet snabbare än dagens metoder, så har det upptäckts både fysikaliska och mikrobiella skillnader som kan vara till nytta för framtida forskning för att komma fram till en mer effektiv och hållbar metod för att kvalitetsbestämma utsäde.

Referenslista

- Beneduzi, A., och Passaglia, L.M.P., (2011) Genetic and Phenotypic Diversity of Plant Growth Promoting Bacilli. I Maheshwari, Dinesh K. (red.) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*, ss. 1-20. [Elektronisk resurs]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-20332-9
- Borriss, Rainer (2011) Use of Plant-Associated Bacillus Strains as Biofertilizers and Biocontrol Agents in Agriculture. I Maheshwari, Dinesh K. (red.) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*, ss. 41-76. [Elektronisk resurs]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-20332-9
- Chaitanya, K., J., Abhinav, A., Patel, B.,V., Maheshwari, D., K., och Saraf, M., (2011) Enterobacter: Role in Plant Growth Promotion. I Maheshwari, Dinesh K. (red.) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*, ss. 159-182. [Elektronisk resurs]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-20332-9
- Colin W. Wrigley, John R.N. Taylor (2023) Origin, evolution, production, and utilization of cereals. I Guzmán, Carlos; Iba, Maria Itria (red.) *ICC Handbook of 21st Century Cereal Science and Technology*. ss.1-15. Academic Press. <https://www-sciencedirect-com.ludwig.lub.lu.se/science/article/pii/B9780323952958000162> doi: 10.1016/B978-0-323-95295-8.00020-4
- Eurofins (2018) *Utsädesanalyser för lantbrukare*. <https://cdnmedia.eurofins.com/european-east/media/2507009/utsaede180627.pdf> [2024-04-25].
- Finnish Food Authority (u.å.) *Anvisningar för självjord granskning av gårdens eget utsäde*. <https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/laboratoriopalvelut/kasvitutkimukset/kylvosiemen-ja-siemenperuna/siemenlaboratorio/kylvosiemenet/analyysipalvelut-viljelijoille/anvisningar-for-sjalvgjord-granskning-av-gardens-eget-utsade.pdf> [2024-04-25].
- Furugren, Bo (2015). *Livsmedelskemi och matkunskap - Matkemi med kemiska grunder*. Lund: KFS
- Gooding, J., M. (2023) Wheat. I Guzmán, Carlos; Iba, Maria Itria (red.) *ICC Handbook of 21st Century Cereal Science and Technology*. ss. 121-130. Academic Press. <https://www-sciencedirect-com.ludwig.lub.lu.se/science/article/pii/B9780323952958000162> doi: 10.1016/B978-0-323-95295-8.00020-4
- Karolinska institutet (u.å.) <https://mesh.kib.ki.se/term/D004875/ergosterol> [2024-05-09]
- Lantmännen (a) *Skjutkraftstest – för säker grobarhet*. <https://www.lantmannenlantbrukmaskin.se/vaxtodling/skjutkraftstest--for-saker-grobarhet/> [2024-04-05].

Lantmännen (b) *ThermoSeed – miljövänlig behandling av utsäde*.
<https://www.lantmannenlantbrukmaskin.se/om-oss/hallbarhet-och-innovation/thermoseed/>
[2024-04-05].

Lantmännen (2021) *Processen för utsädesbehandling med ThermoSeed*.
<https://www.lantmannenbioagri.se/thermoseed/thermoseed-process/> [2024-05-02]

Livsmedelsverket (2017) *Inläggning, gravning, syring och konservering: Riskhanteringsrapport*. (Rapport 8 del 1).
https://www.livsmedelsverket.se/globalassets/publikationsdatabas/rapporter/2017/rikshanteringsrapport_inlaggning-gravning-syrning-och-konservering-livsmedelsverket-rapport-8-2017del-1.pdf Uppsala: Livsmedelsverket. [2024-05-03].

Livsmedelsverket (2023) *Aeroba mikroorganismer (totalantal)*.
<https://kontrollwiki.livsmedelsverket.se/artikel/151/aeroba-mikroorganismer-totalantal->
Uppsala: Livsmedelsverket. [2024-04-30].

Maheshwari, Dinesh K. (2011). *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*
[Elektronisk resurs]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-20332-9

Marklinder, I. (2014) Cerealier. I Nylander, Annica, Jonsson, Lena, Marklinder, Ingela & Nydahl, Margaretha (red.) *Livsmedelsvetenskap*. 2., ss. 67-96 [rev. upplaga] Lund: Studentlitteratur

Merck KGaA (2018) 92325 *Bacillus ChromoSelect Agar*.
<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/150/988/92325dat.pdf> [2024-04-17].

Merck KGaA (2018) *GranuCult[®] MA (Malt extract agar)*.
<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/422/419/70145dat.pdf> [2024-05-08]

Merck KGaA (2018) *Rogosa agar*.
<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/133/294/83920dat.pdf> [2024-05-08]

Merck KGaA (2019) *GranuCult[®] MRS (Man, Rogosa and Sharpe) agar*.
<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/116/881/tn110660en-mk.pdf> [2024-05-08]

Merck KGaA (2022) *Specification GranuCult[®] VRBD (Violet Red Bile Dextrose) agar*.
<https://www.sigmaaldrich.com/SE/en/specification-sheet/SPEC/MDA/CHEM/1.10275/1102755000> [2024-04-18].

- Merck KGaA (2024) *GranuCult® VRBD (Violet Red Bile Dextrose) agar*.
<https://www.sigmaaldrich.com/SE/en/product/mm/110275#product-documentation> [2024-04-18]
- Perten Instruments (2017) *TVT 6700 installation and operation manual*. [Internt material].
- Purhagen, J., Loosme, R., Wihlborg, N., *et. al.*, (2018) PaddyCheck - An Instrument for Rice Quality Determination. *Instruments* 2018, 2(3), s.11 <https://www.mdpi.com/2410-390X/2/3/11> doi: <https://doi.org/10.3390/instruments2030011>
- Shewry, P., R., *et. al.*, (2023) Structure and development of cereal grains. I Guzmán, Carlos; Ibba, Maria Itria (red.) *ICC Handbook of 21st Century Cereal Science and Technology*. ss. 17-30. Academic Press. <https://www-sciencedirect-com.ludwig.lub.lu.se/science/article/pii/B9780323952958000162> doi: 10.1016/B978-0-323-95295-8.00020-4
- Thougaard, Herluf *et. al.*, (2007). *Grundläggande mikrobiologi med livsmedelsapplikationer*. 2., uppdaterade och utök. uppl. Lund: Studentlitteratur
- Uhlig, Elisabeth (2021). *Microbiological hygiene and biological control of leafy green vegetables*. Lund: Lunds universitet, 2021 <https://lup.lub.lu.se/search/publication/837826ac-1511-4187-8116-2aec57d700cc>
- Vetbact (2021) *Logaritmer och spädningar*.
<https://www.vetbact.org/index.php?displayterms=1#id135> [2024-04-29].

Bilaga 1

Maskiner

NIR (nära infraröd reflektans) FOSS Infratec, Danmark
Vattenaktivitetsmätare Aqualab 3 TE, Decagon AquaLab, USA
Sequential Precision Divider SPD 4200, PerkinElmer/ Perten Instruments, Sverige
Paddy Check PC 6800, PerkinElmer/Perten Instruments, Sverige
Texturmätare TVT 6700, PerkinElmer/ Perten Instruments, Sverige
SelfCooking Center, Rational, Tyskland
Transsonic 570/H, Elma Instruments AB, Sverige
Vortex - genie 2, Scientific Industries, USA
Vattenbad, LAUDA Scientific GmbH, Tyskland
Värmeplatta med omrörningsfunktion, Fisherbrand/ Fisher Scientific, Sverige
CertoClav Sterilizer GmbH, A 4050, CertoClav, Österrike
Precisionsvåg Traveler, Ohaus, Schweiz
Koloniräknare, Gerber Instruments AG, Schweiz

Kemikalier

de Man, Rogosa and Sharpe (MRS), Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland
Rogosa, Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland
Malt extract (MA), Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Violet Red Bile Dextrose (VRBD), Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland
Trypton soja-agar (TSA), Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
Bacillus ChromoSelect (BCS), Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland
Ättiksyra 90%, Avantor/ VWR Chemicals, USA
Ethanol 70 %, Solveco, Rosersberg, Sweden
Oxoid Peptone Bacteriologica, Thermo Fisher Scientific, Auckland, New Zealand
Finkornigt salt utan jod (NaCl), Falksalt, Salinity AB, Göteborg
NaCl 0,760 a_w / 6.00 mol, Metergroup, USA
LiCl 0,250 a_w /13.41 mol, Metergroup, USA

Material

Utsäde (vetekärnor), Lantmännen Malmö, Sverige
Doseringspipetter 1ml och 0,01ml
Sterila glaskulor
Magnetloppa
Petriskålar, plate count agar (PCA)
500 ml E-kolv
500 ml flaska
Doseringspump för peptonvatten (inställd på 9ml)