

Hur odlingen styr molekylvikten hos β -glukan i havre (pilotprojekt, 1 år)

Bakgrund

Ungefär 10% av den havre som produceras i Sverige används i dag som livsmedel. Det ger en humankonsumtionen på ca 1,2 kg per person och år (2002). Godkännande av hälsopåståenden för havre- β -glukan (FDA, 1997) och de positiva hälsoeffekter av fullkorn som rapporterats (Richardson, 2003) har bidragit till ett ökat intresse för havre som livsmedelsråvara. Det hälsopåstående om havre som har uttalats av motsvarigheten till livsmedelsverket i USA (Food and Drug Administration, FDA), bygger på 37 kliniska studier om havre- β -glukans kolesterolsänkande effekt. Det lyder som följer: "Lösliga kostfibrer från livsmedel som havrekli, som är en del av en kost med lågt innehåll av mättat fett och kolesterol, kan minska risken för hjärt/kärlsjukdom." Hälsopåståenden för havre- β -glukan har nyligen också godkänts i Sverige och Storbritannien (Duss, 2004). Dessutom har havre- β -glukan visats ha en insulin- och glukossänkande effekt, vilket kan minska risken för typ2-diabetes (Bourdon et al, 1999; Wood et al, 1990, 1994a, 2000). Både kolesterolsänkning och insulin- och glukossänkning är kopplat till ökad viskositet av taminnehållet (Story et al, 1979; Wood et al, 1994b). Två viktiga faktorer som påverkar viskositeten är koncentrationen av β -glukan samt molekylvikten hos β -glukan. Därför är dessa två faktorer viktiga för hälsoeffekterna (Wood et al, 1991).

De flesta studier av hur olika odlingsförutsättningar påverkar havre- β -glukan handlar om innehållet. Det har visats att β -glukan-innehållet kan variera två till tre gånger i olika havresorter (Lim et al, 1992; Peterson, 1992; Ajithkumar et al, 2005). Årsmån och odlingsplats kan också påverka β -glukanhalten. Brunner & Fred (1994) visade att mycket regn under kärnfyllnads- och mognadsperioden gav lägre β -glukanhalt än lite regn, medan Peterson (1991) fann att odlingsplatser med mycket olika förhållanden i USA gav signifikant olika β -glukanhalt. En annan miljöfaktor som kan påverka innehållet av β -glukan och andra egenskaper hos havre är jordens kvävelevererande förmåga. Vissa studier har visat att β -glukanhalten i havre ökar med ökad kvävenivå (Baur and Geisler, 1996; Welch et al, 1991), medan andra studier inte har visat på någon signifikant effekt av kvävenivå på β -glukanhalt (Humphreys et al., 1994). Dessa motsägande resultat angående respons av β -glukan på gödslingstrategi har också visats av Weightman et al (2004). I en nyligen gjord studie där kvävenivåns och jordtypens inverkan på β -glukanhalt har studerats, visades en samspelseffekt mellan kvävegiva och sort (Mannerstedt Fogelfors et al., 2004; Sohl, 2005). I fältförsök kan det vara svårt att hitta samband mellan kväveinnehåll i jorden och koncentration av vissa beståndsdelar i kärnan. Men, när samband mellan sort och odlingsmiljö ska studeras är dock fältförsök att föredra.

En preliminär studie av Ajithkumar et al (2005) har visat att molekylvikten hos β -glukan verkar kontrolleras mer av miljöfaktorer än av genetiken, vilket kan ses som ett första steg inom detta viktiga område. Denna orienterande studie var dock inte designad för att undersöka odlingsmiljön eller samspelet mellan sort och odlingsmiljö, utan bara för att studera skillnader mellan sorter och olika år. Studien visade på ett stort behov av att ytterligare undersöka hur molekylvikten hos β -glukan kan påverkas med hjälp av odlingsmetodiken, vilket är ett av syftena med det pågående projektet.

Material och metoder

Projektet har pågått under ett år där odlingsmiljöns påverkan på beta-glukan hos havre har studeras i fältförsök. Projektet har fokuserat på sortens, svampbehandlingseffektens och vädrets inverkan på halt och molekylviktsfördelning hos β -glukan.

Fältförsök

För att förstå hur odlingsmiljön och genetiska faktorer påverkar molekylvikten hos β -glukan i havre har fyra olika havresorter (Ingeborg, Ivory, Kerstin och SW01168) samlats in från ordinarie sortförsök vid fyra olika platser i Sverige (Bålsta, Vreta, Falköping och Ödåkra) under år 2006. Både svampbehandlade och obehandlade prover ifrån två upprepningar samlades in. Före urvalet av aktuella sorter gjordes en screening av sortmaterial från 2005 års sortförsök för att kunna välja ut sorter med olika molekylvikt. Urvalet skedde i samarbete med Rickard Jonsson, Svalöf Weibull AB samt Staffan Larsson, ansvarig för sortprovningen vid SLU. Klimatet (nederbörd, temperatur och solinstrålning) vid varje plats (jordmån) har registreras med befintlig väderutrustning (LantMet respektive SMHI) under växtsäsongen. Övriga uppgifter som så- och mognadsdatum, skörd, rymdvikt och proteinhalt har i förekommande fall erhållits från sortprovningen. Eftersom projektet bara pågått under ett år är det svårt att generalisera resultaten, t ex samspel mellan sort och odlingsmiljö, och att förklara skillnader mellan olika platser. Projektet ska dock pågå i ytterligare två år, och då kan interaktioner mellan sort och odlingsmiljö troligtvis ge mer information om responsen för β -glukan på odlingsförutsättningarna.

Analyser

Före analys maldes representativa prover på en Tecator cyklon kvarn till 0,5 mm partikelstorlek. Torrsubstanshalt bestämdes efter torkning i ugn vid 105°C i 16 timmar.

Medelmolekylvikten och molekylviktsfördelningen hos β -glukan analyserades med ett unikt HPSEC-system (High Performance Size Exclusion Chromatography) med fluorescence detektion (Rimsten et al, 2003). β -Glukan extraheras först med hett vatten och värmestabilt α -amylas, och separeras därefter med gelfiltrering (size-exclusion chromatography), för att sedan blandas med Calcofluor. Komplexet som bildas av β -glukan och Calcofluor ger en ökning av den fluorescerande intensiteten som kan detekteras. Närvaron av andra polysackarider stör inte detektionen, eftersom Calcofluor är specifikt för β -glukan.

Innehåll av total β -glukanhalt analyserades enzymatiskt med Megazymes kit (Megazyme International Inc., Ireland) enligt AACC-metod 32-23 (AACC, 2000).

Statistiska analyser

Resultaten utvärderades med variansanalys (ANOVA i Excel och GLM proceduren och Fischers parvisa test i Minitab) för att studera skillnader mellan sorter och platser. Platserna behandlas i analysen som slumpvisa variabler medan sorterna är fixa. Regressionsanalys i Excel användes för att hitta eventuella samband mellan olika variabler.

Resultat och diskussion

Screening av 2005 års material

Tretton sorter från ett sortförsök i Märsta 2005 analyserades med avseende på molekylviktsfördelning hos β -glukan för att välja ut sorter med olika molekylvikt för vidare studier. Både svampbehandlade och obehandlade prover analyserades. Resultaten visade att β -glukan i de behandlade proverna hade signifikant högre medel-molekylvikt än de obehandlade (tabell 1) ($p < 0,001$), vilket tyder på att det går att påverka molekylvikten genom odlingsåtgärder. Fyra sorter med så olika molekylvikt hos β -glukan som möjligt valdes ut för odling under 2006 vid fyra platser i olika delar av Sverige. Valet påverkades av att alla fyra sorterna måste finnas på fyra olika platser med normal skördenivå och litet försöksfel. Dessutom bedömdes intresset för sorterna eftersom de måste ingå i sortprovningens försök ytterligare två år.

Analys av 2006 års material

Jordmån och väderdata redovisas i tabell 2. Analysresultat och data från sortförsöken redovisas i tabell 3. En första statistisk analys (ANOVA) av materialet visade att det generellt inte fanns några signifikanta skillnader mellan upprepningar (block) eller mellan obehandlade och behandlade prover för någon av variablerna. Därför användes dessa värden som replikat vid fortsatta statistiska analyser. Resultaten från 2005 års försök där det fanns en tydlig skillnad mellan behandlade och obehandlade prover visade sig alltså inte gälla för 2006 års prover. Det kan förklaras av att sommaren 2006 var mycket gynnsam med lågt svamptryck, och att behandlingen därför inte hade någon effekt. Behandling hade generellt inte heller någon effekt på skördenivån år 2006, vilket den hade år 2005.

Skörden varierade mellan 4360 och 7160 kg/ha för de olika platserna och sorterna. Det fanns en signifikant skillnad mellan olika platser för skördenivå ($p < 0,001$), medan sort och sampelseffekt inte visade några signifikanta skillnader (tabell 4). Skörden var lägst i Falköping och högst i Vreta och Ödåkra (tabell 5). Rymdvikten varierade mellan 470 och 580 g/l och proteinhalten mellan 11.5 och 14.1% (tabell 3). Det fanns en signifikant skillnad mellan platser för både rymdsvikt och proteinhalt, som båda var högre i Bålsta än vid de andra platserna. Det fanns inga samband mellan rymdsvikt och övriga variabler, eller mellan proteinhalt och övriga variabler.

β -Glukanhalten varierade mellan 2.4 och 3.2% (tabell 3). Det fanns en signifikant skillnad för både sort och plats ($p < 0,001$), men ingen samspelseffekt (tabell 4). Ett parvist test (Fischers) visade att halten var signifikant lägre i Vreta (2.7%) än på de övriga tre platserna (3.0-3.1%) (tabell 5). Vid en jämförelse mellan sorter visade det sig att Ivory hade en signifikant lägre β -glukanhalt (2.7%) än de tre övriga sorterna (3.0-3.1%) (tabell 6). Dessa resultat stämmer med tidigare undersökningar, där man visat att både sort och odlingsplats påverkar β -glukanhalten (Peterson, 1991; Brunner & Fred, 1994).

Medelmolekylvikten hos β -glukan varierade mellan 1.93 och 2.06×10^6 g/mol för olika prover (tabell 3). Det fanns en signifikant skillnad mellan sorter ($p < 0,05$), men inte mellan platser och ingen samspelseffekt (tabell 4). Molekylvikten hos β -glukan var signifikant högre för SW01168 än för de tre övriga sorterna (tabell 6). Enligt Ajithkumar et al (2005) verkade molekylvikten hos β -glukan kontrolleras mer av miljöfaktorer än av genetiken, men det var bara skillnader mellan år som studerades i det försöket. En jämförelse mellan år 2005 och 2006 för fyra sorter odlade i samma område (Märsta och Bålsta) tyder på att det finns skillnader mellan dessa båda år (tabell 7) också i denna studie.

Resultaten visar att det finns signifikanta skillnader mellan sorter och platser för β -glukanhalt och mellan sorter för medelmolekylvikt hos β -glukan år 2006. Årsmånen påverkar dock både kvalitet och avkastning kraftigt varför det är riskabelt att dra slutsatser från endast en odlingsår. Siffror från den officiella sortprovningen visar t ex att under en femårsperiod avkastade mätarsorten som lägst 6480 kg/ha och högst 7200 kg/ha. Spridningen är också stor för kvalitetsegenskaper betydelsefulla för lönsamheten samt behandlingseffekter som påverkar avkastningspotentialen (Larsson et al, 2006). Pilotstudien visar på intressanta skillnader i materialet.

Slutsatser

Slutsatsen så här långt är att molekylvikten för β -glukan påverkas av svampbehandling år 2005, men inte år 2006, och av sort år 2006. β -Glukanhalten påverkades av både sort och plats år 2006. Det finns en potential för att enskilda faktorer inverkan på molekylvikten kan identifieras och därmed påverkas. En styrning mot olika molekylvikter bedöms vara möjlig utifrån pilotstudien genom t ex sortval. För att dra generella slutsatser, och att ytterligare utvärdera möjligheten för lantbrukaren att producera en nischprodukt i form av högkvalitativ funktionell havre till livsmedelsindustrin, krävs dock resultat från fältförsök under ytterligare två säsonger.

Tabell 1. Medelmolekylvikt ($\text{g/mol} \times 10^6$) hos β -glukan i olika havresorter behandlade mot svamp eller obehandlade, från ett sortförsök i Märsta 2005

	Medelmolekylvikt hos β -glukan ($\text{g/mol} \times 10^6$)	
	Obehandlat	Behandlat
Ser Chantilly	1,79	1,98
SW Kerstin	1,80	1,96
NS Ivory	1,85	1,99
SW Sang	1,85	2,05
SW Matilda	1,85	2,01
SW 02388	1,86	2,04
SW Betania	1,86	2,02
SW Belinda	1,86	2,03
Freddy	1,87	1,93
SW Ingeborg	1,87	2,02
Se Paddock	1,90	1,99
SW Cilla	1,93	2,05
SW 01168	1,96	2,01

Tabell 2. Väderdata och jordmån för de fyra olika odlingsplatserna

	Total regnmängd (mm)	Temperatur- summa (graddagar)	Jordmån
Bålsta	97	1340	*
Vreta	137	1180	*
Falköping	142	1260	mmh mo LL
Ödåkra	138	1210	Nmh mo LL

Tabell 3. Analysresultat och data från sortprovningen för fyra olika havresorter, behandlade mot svamp eller obehandlade, odlade vid fyra olika platser i Sverige år 2006

Plats	Sort	Obeh/beh ^a	Skörd (kg/ha)	Rymdvikt (g/l)	Proteinhalt (%)	β-glukanhalt (%)	Medelmolekylvikt β- glukan (g/mol×10 ⁶)
Bålsta	Ingeborg	obeh	5380	573	13,9	3,0	1,93
		beh	5120	570	14,1	3,0	1,95
	Ivory	obeh	5500	577	13,5	2,7	1,96
		beh	4780	587	13,5	2,8	1,94
	Kerstin	obeh	5700	577	12,7	2,9	1,94
		beh	5550	578	13,2	3,0	1,94
	SW01168	obeh	6120	581	13,2	3,2	1,97
		beh	5450	576	14,1	3,3	1,97
Vreta	Ingeborg	obeh	6490	488	12,1	2,6	1,93
		beh	6310	497	12,3	2,8	1,94
	Ivory	obeh	7160	522	11,8	2,4	2,01
		beh	6780	517	12,2	2,4	1,96
	Kerstin	obeh	6110	483	11,5	2,6	2,00
		beh	6330	503	11,6	2,6	2,00
	SW01168	obeh	6090	488	11,9	3,0	2,01
		beh	6590	488	11,6	2,8	1,99
Falköping	Ingeborg	obeh	4370	509	12,6	3,1	1,99
		beh	4790	513	12,1	3,1	1,94
	Ivory	obeh	4370	515	13,1	2,7	1,99
		beh	4620	520	13,1	2,8	2,02
	Kerstin	obeh	4360	470	12,4	3,2	1,97
		beh	4560	499	11,9	3,3	1,96
	SW01168	obeh	4520	498	11,7	3,2	2,01
		beh	4580	506	12,3	3,2	2,03
Ödåkra	Ingeborg	obeh	6070	*	*	3,1	1,92
		beh	6170	*	12,9	3,0	1,97
	Ivory	obeh	6270	*	*	2,8	1,94
		beh	6210	*	12,9	2,6	1,90
	Kerstin	obeh	6260	*	*	3,0	1,99
		beh	5720	*	12,6	3,0	1,95
	SW01168	obeh	6570	*	*	3,3	2,06
		beh	6160	*	12,5	3,1	1,99

a) beh=behandlade mot svamp, obeh=obehandlade

*)ej analyserat

Tabell 4. Variansanalys av effekter av sort och plats på olika variabler. Signifikansnivåer: * = P<0.05, *** = P< 0.001, ns=ej signifikant

	Sort	Plats	Sort*Plats
Skörd (kg/ha)	ns	***	ns
β-glukanhalt (%)	***	***	ns
Medelmolekylvikt β-glukan (g/mol×10 ⁶)	*	ns	ns

Tabell 5. Medelvärden±standardavvikelse för skörd och β-glukanhalt i alla sorter vid olika platser. Värden i samma kolumn med olika bokstäver är signifikant olika

	Skörd (kg/ha)	β-glukanhalt (%)
Bålsta	5450 ^a	3.0 ^a
Vreta	6482 ^b	2.7 ^b
Falköping	4521 ^c	3.1 ^a
Ödåkra	6179 ^b	3.0 ^a

Tabell 6. Medelvärden±standardavvikelse för β-glukanhalt och medelmolekylvikt för β-glukan vid alla platser i olika sorter. Värden i samma kolumn med olika bokstäver är signifikant olika

	β-glukanhalt (%)	Medelmolekylvikt β-glukan (g/mol×10 ⁶)
Ingeborg	3.0 ^a	1.95 ^a
Ivory	2.7 ^b	1.96 ^a
Kerstin	3.0 ^a	1.97 ^a
SW01168	3.1 ^a	2.00 ^b

Tabell 7. En jämförelse av medelmolekylvikt hos β-glukan (g/mol×10⁶) från två försök i samma område från år 2005 respektive 2006 i behandlade led

Havresort	Märsta 2005	Bålsta 2006
Ingeborg	2,02	1,94
Ivory	1,99	1,92
Kerstin	1,96	1,89
SW01168	2,01	1,99

Publicering och övrig resultatsförmedling

Eftersom projektet bara pågått ett år har inga resultat publicerats ännu. Projektet har blivit omskrivet i tidningen "Lantbrukets affärer"(nr 11, 2006) av Markus Hoffman. Cerealtekniska arbetsgruppen vid SLU, Swedish Oat Fiber och Lantmännen har informerats om projektet.

Information om projektet finns på Institutionen för livsmedelsvetenskaps hemsida (avdelningen för växtproduktlära), länk: http://vpl.lmv.slu.se/ShowPage.cfm?OrgenhetSida_ID=7386

Referenser

- AACC. 2000. *Approved methods of the AACC, 10th ed.*, method 32-23. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Ajithkumar, A., Andersson, R. and Åman, P. 2005. Content and molecular weight of extractable β -glucan in American and Swedish oat samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (53) 1205-1209.
- Baur, S.K. and Geisler G. 1996. β -Glucan content in caryopses of oat varieties with regard to cultivation year and nitrogen level. *Journal of Agronomy and Crop Science* (176), 5-14.
- Bourdon, I., Yokoyama, W and Davis, P. 1999. Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan. *American Journal of Clinical Nutrition* (48) 465-474.
- Brunner and Fred. 1991. Oat grain β -glucan content as affected by nitrogen level, location and year. *Crop Science* (34) 473-476.
- Duss, R. 2004. Oat soluble fibers (β -glucans) as a source for healthy snack and breakfast foods. *Cereal Foods World* (49) 320-325.
- Humphreys, D.G., Smith, D.L. and Mather, D.E. 1994. Nitrogen fertilizer and seeding date induced changes in protein, oil and β -glucan contents of four oat cultivars. *Journal of Cereal Science* (20), 283-290.
- Larsson, S., Hagman, J. och Ericson, E. 2006. *Sortval 2006, Stråsäd Trindsäd Oljeväxter Potatis*. Institutionen för växtproduktionsekologi respektive norrländsk jordbruksvetenskap, SLU. Uppsala.
- Lim, H.S., White, P.J. and Frey, K.J. 1992. Genotypic effects on β -glucan content of oat lines grown in two consecutive years. *Cereal Chemistry* (69), 262-265.
- Mannerstedt-Fogelfors, B., Sohl, J., Ahlström, S. And Peterson, D. M. 2004. Antioxidant and β -glucan content in oats as affected by soil type and N-level, in: Peltonen-Saino, P. and Topi-Hulmi, M. (eds), *Proceedings 7th International Oat Conference*, Agrifood Research Reports 51, Jokioinen, Finland.
- Peterson, D. 1991. Genotype and environment effects on oat β -glucan concentration. *Crop Science* (31) 1517-1520.
- Peterson, D. M. 1992. Composition and nutritional characteristics of oat grain and products. In: *Oat Science and Technology*. Agronomy Monograph (33), pp.265-292.
- Pettersson, D. and Åman, P. 1993. Effects of feeding diets based on wheat bread or oat bran bread to broiler chickens. *Journal of Cereal Sciences* (17) 157-168.
- Richardson, D. P. 2003. Wholegrain health claims in Europe. *Proceedings of the Nutrition Society* (62) 161-169.
- Rimsten, L., Stenberg, T., Andersson, R., Andersson, AAM. and Åman, P. 2003. Determination of β -glucan molecular weight using SEC with calcofluor detection in cereal extracts. *Cereal Chemistry* (80) 485-490.
- Sohl, J. 2005. Mark- och odlingsfaktorers inverkan på antioxidanter och β -glukan i havre (*Avena sativa* L.) och på dess symbionter. Examensarbete, 81, Institutionen för ekologi och växtproduktionslära, SLU, Uppsala.
- Weightman, RM., Heywood, C., Wade, A. and South, JB. 2004. Relationship between grain (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan concentration and the response of winter-sown oats to contrasting forms of applied nitrogen. *Journal of Cereal Science* (40) 81-86.

- Welch, R.W., Leggett, J.M. and Lloyd, J.D. 1991. Variation in the kernel (1→3)(1→4)-β-D-glucan content of oat cultivars and wild *Avena* species and its relationship to other characteristics. *Journal of Cereal Science* (13) 173-178.
- Wood, P.J., Braaten, J.T., Scott, F.W., Riedel, D. and Poste, L.M. 1990. Comparison of viscous properties of oat and guar gum and the effects of these and oat bran on glycemic index. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (38) 753-757.
- Wood, P.J., Weisz, J. and Blackwell, B.A. 1991. Molecular characterization of cereal β-D-glucans. Structural analysis of oat β-D-glucan and rapid structural evaluation of β-D-glucans from different sources by high-performance liquid chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chemistry* (68) 31-39.
- Wood, P.J., Weisz, J. and Blackwell, B.A. 1994. Structural studies of (1→3),(1→4)-β-D-glucans by ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-Exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chemistry* (71) 301-307.
- Wood, P. J., Beer, M. U. and Butler, G. 2000. Evaluation of role of concentration and molecular weight of oat beta-glucan in determination effect of viscosity on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *British Journal of Nutrition* (84) 19-23.