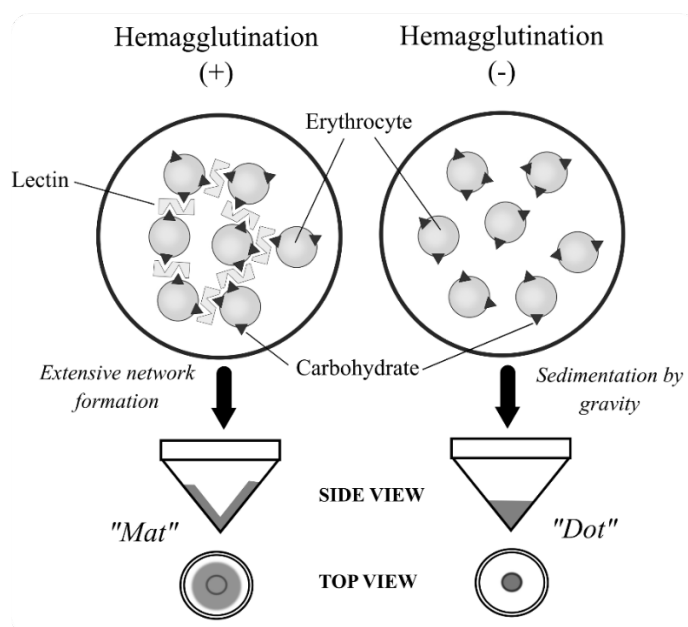


### Lektiner i hestebønner (*Vicia faba*)

Hestebønner har et højt naturligt indhold af lektiner. Lektiner, også kaldet hæmagglutinerer eller i hestebønner favin, er glykoproteiner, der består af en lille  $\alpha$ -kæde ( $M_w = 5.600$  Da), en større  $\beta$ -kæde ( $M_w = 20.000$  Da) og en mindre  $\beta'$ -kæde ( $M_w = 18.700$  Da), der holdes sammen af ikke-kovalente bindinger (Hemperly et al., 1979). Lektiner er pr definition proteiner der kan binde til suktermolekyler på en reversibel måde, fx med høj affinitet til mannose og glukose (Damme 2010). Lektiner i kosten betragtes som anti-næringsstoffer og kan forårsage madforgiftningssignende symptomer, såsom opustethed, kvalme, opkastning og diarré, når de indtages ubehandlet (Nurmi 2022). Disse symptomer er forårsaget af, at lektinerner evne til at binde sig til suktermolekyler på tyndtarmens epitel og dermed forringer nedbrydningen og optagelsen af næringsstoffer, såsom optagelsen af mineraler som calcium, jern, fosfor og zink (Amin et al. 2022; Muzquiz et al. 2012). Lektiner i hestebønner vil specifikt genkende kulhydrater såsom D-mannose og D-glukose (Damme 2010). For at reducere lektiner i hestebønner kan forbehandling som ristning, iblødsætning, kogning, fermentering mv. være effektive (Rahate et al., 2021). Ifølge Fødevarestyrelsen anbefales det, at hestebønner behandles ved at foretage udblødning i vand i 12 timer efterfulgt af kogning i 1 time for at inaktivere lektiner før indtagelse ([Slutrapport lektiner 2020-endelig.pdf \(foedevarestyrelsen.dk\)](#))

### Bestemmelse af lektiner ved hæmagglutineringsassay

Haemagglutineringsassay er en simpel metode til semikvantitativt at undersøge indholdet af aktive lektiner. Assayet er baseret på, at aktive lektiner vil få røde blodlegemer (erythrocytter, RBC) til at agglutinere ("klumpe sig sammen"), idet lektiner binder sig til kulhydrat på overfladen af røde blodlegemer, hvorved der dannes et netværk som vist i figur 1 (Hirabayashi 2014).



Figur 1. Haemagglutineringsassay med lektiner. Der er agglutineringsassay i figuren til venstre. Figuren er lavet med inspiration fra Hirabayashi (2014).

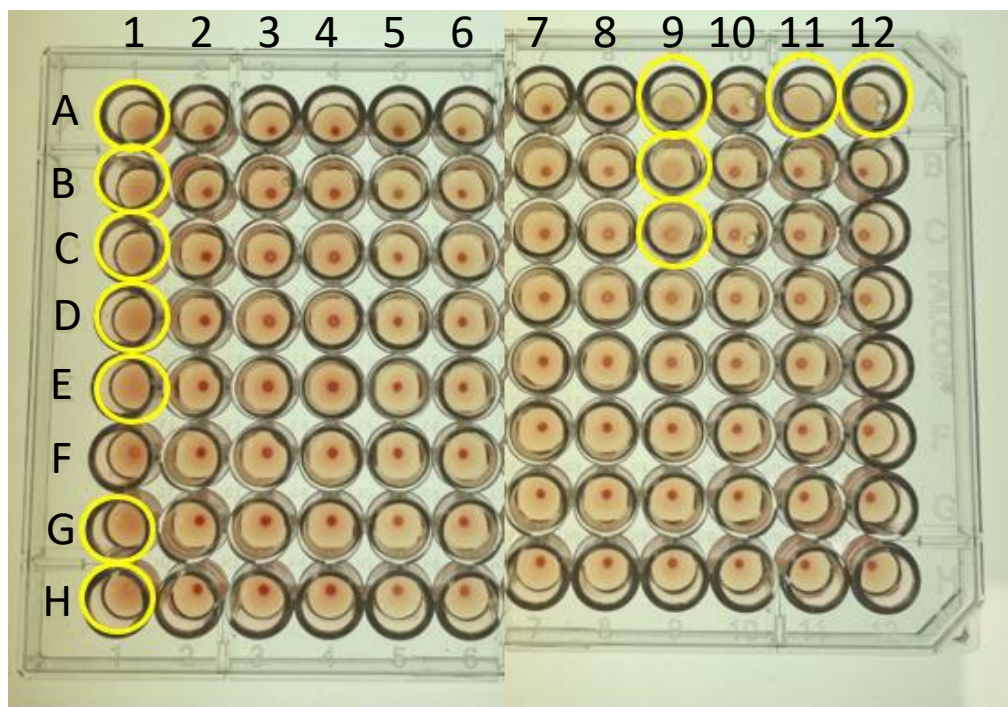
Agglutineringsprocessen omtales også som hæmagglutineringsassay, deraf navnet hæmagglutineringsassay. Ved at seriefortynde de lektinholdige prøver og tilføje en konstant mængde af røde blodlegemer, kan tilstedeværelsen af aktive lektiner semi-kvantificeres. Ved mangel af lektiner vil de røde

blodlegemer bundfældes i bunden af den konisk formede brønd og danne en tydelig rød prik (Gebreyes og Thakur 2011). Som vist i figur 1 vil der ved tilstedeværelsen af lektiner ses et mere utydeligt netværk i brønden.

### Indledende undersøgelser af lektinindhold i dansk producerede økologiske hestebønner

For at kvantificere indholdet af aktive lektiner i hestebønner anvendte vi haemagglutineringsassay ([Sheep Hemagglutination Assay Kit NBP3-05281 Manual \(novusbio.com\)](#)), som er baseret på røde blodceller fra fåreblod. Assayet blev udført som beskrevet i manualen og optimeret i forhold til tidligere udførte assay på hestebønner (Mayer et al., 2021; Nurmi 2022). Ekstrakt fra hestebønner blev tilføjet mikrotiterpladen i en fortyndingsrække og blandet med buffer og røde blodlegemer. Efter 2 timer ved stuetemperatur blev haemagglutineringsbestemt visuelt.

Nedenfor i figur 2 ses resultater fra haemagglutineringsassay udført på lektin standard, udvalgte sorter af rå hestebønner samt fraktioner af hestebønner fra vindsigtning. I den første kolonne er der forskellige fortyndinger af en lektin standard, undtagen brønd 1F, som kun indeholdt buffer og røde blodlegemer. I alle brønde med lektin standard ses positiv lektinaktivitet. I kolonne 2-8 ses hestebønner dyrket i forskellige områder eller fraktioner som blev udblødt og afskallet. Hver kolonne indeholder en fortyndingsrække fra 1:1 – 1:64 af samme prøve. Kolonne 2-6 indeholder sorten Fuego, kolonne 7-8 Tiffany, kolonne 9-10 Stella og kolonne 11-12 vindsigtning fraktioner fra sorten Fuego. Her ses lektinaktivitet i de mest koncentrerede ekstrakter af Tiffany (rå hele bønner), mens der ingen aktivitet observeres i kolonne 10 hvor Tiffany bønner er udblødt og afskallet. Endvidere ses lektinaktivitet i de proteinberigede vindsigtning fraktioner baseret på sorten Fuego. Kolonne 11 indeholder en fraktion med et proteinindhold på 63,19 % og fraktionen i kolonne 12 indeholder et proteinindhold på 64,40 %. Da lektin er et protein, forventedes det, at de proteinberigede fraktioner ville vise højere lektinaktivitet end de rå bønner. En mindre fortynding med vand (1:1) var dog nok til at sænke lektinaktiviteten til under et målbart niveau i kolonne 11 og 12 (Figur 2).



Figur 2: Resultater fra haemagglutinationsassay. De gule cirkler indikerer tilstedeværelsen af aktive lektiner. Foto af Kübra Yilmaz 2022.

Næste trin er at optimere og videreudvikle det semi-kvantitative assay for at se, om vi kan øge sensitiviteten. Endvidere ønskes det at undersøge flere sorter af dansk producerede økologiske hestebønner og vindsigtningfraktioner.

## Referencer

Damme, E. J. M. V. 2010. Plant Lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Critical Reviews in Plant Sciences* 17: 575-692.

Hemperly, J. J., et al. 1979. The chemical characterization of favin, a lectin isolated from *Vicia faba*. *Journal of Biological Chemistry* 254: 6803-6810.

Hirabayashi J. (ed.). 2014. *Lectins: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, vol. 1200, Springer Science and Business Media. New York.

Labba, I.-C. M., et al. 2021. Nutritional and antinutritional composition of fava bean (*Vicia faba* L., var. minor) cultivars. *Food Research International* 140: 110038-110038.

Muzquiz, M., et al. 2012. Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochemistry Reviews* 11: 227-244.

Nurmi, M. 2022. Variation of antinutrients in faba bean cultivars during seed development. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1480823/v1>

Rahate, K. A., et al. 2021. Nutritional composition, anti-nutritional factors, pretreatments-cum-processing impact and food formulation potential of faba bean (*Vicia faba* L.): A comprehensive review. *LWT - Food Science and Technology* 138: 110796.