



Bestämning av sockerhalten i vallfoder för hästar med glukosstickor och refraktometer

Linnea Järnström

Examensarbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Institution för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd
Agronom Djur
Uppsala 2026



Bestämning av sockerhalten i vallfoder för hästar med glukosstickor och refraktometer

Determination of sugar content in forages for horses using glucose test strips and a refractometer

Linnea Järnström

Handledare: Cecilia Müller, Sveriges lantbruksuniversitet, Institution för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd
Examinator: Johan Bröjer, Sveriges lantbruksuniversitet, institutionen för kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp
Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E
Kurstitel: Självständigt arbete i husdjursvetenskap för agronomer
Kurskod: EX1023
Program/utbildning: Agronom djur
Kursansvarig inst.: Institutionen för husdjurens biovetenskaper
Utgivningsort: Uppsala
Utgivningsår: 2026
Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: extraktion, fruktan, grovfoder, hö, hösilage, ensilage, provpreparering, sukros

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd

Sammanfattning

I den här studien undersöktes om glukosstickor och refraktometri kan användas som enkla och lättillgängliga metoder för uppskattning av sockerhalten i skördat vallfoder, där resultaten jämfördes med enzymatiskt-spektrofotometriskt analyserade värden för lättlösliga kolhydrater (water-soluble carbohydrates, WSC). Intresset för sockerhalten i vallfoder har ökat i samband med metabola sjukdomstillstånd hos häst, såsom ekvint metabolt syndrom (EMS), pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) och polysaccharide storage myopathy (PSSM), där ett högt intag av lättlösliga kolhydrater kan resultera i sjukdomsepisoder. Enzymatiska laboratorieanalyser används rutinmässigt för bestämning av WSC-halten med spektrofotometri men är ofta kostsamma och tidskrävande, vilket motiverar behovet av enklare metoder. I den här studien användes 261 vallfoderprover med en WSC-halt från 3 till 500 g per kg torrsubstans, där total WSC och dess ingående fraktioner glukos, fruktos, sukros och fruktaner bestämts med enzymatisk-spektrofotometrisk analys. Först gjordes en metodtest för att utvärdera vilken typ av extraktion som gav lägst variationskoefficient vid upprepade mätningar. Därefter extraherades proverna med den valda metoden och glukosstickor och refraktometri användes för bestämning av glukoskoncentration respektive Brixgrader i extrakten. De erhållna mätvärdena jämfördes med de analyserade koncentrationerna av total WSC samt de individuella sockerfraktionerna (glukos, fruktos, sukros och fruktaner). Sambanden mellan metoderna undersöktes med korrelations- och regressionsanalyser, medan Bland–Altman-analyser användes för att utvärdera överensstämmelse mellan metoderna. Resultaten visade att glukosstickorna generellt uppvisade högre korrelationer med analyserade sockerkoncentrationer än refraktometern, framför allt med analyserad glukoshalt och total WSC-halt. Sambanden var dock generellt måttliga till svaga och stor spridning observerades i glukosstickornas precision. Refraktometrisk mätvärden uppvisade genomgående låg förklaringsgrad och svaga samband med analyserade koncentrationer av total WSC samt de individuella sockerfraktionerna glukos, fruktos, sukros och fruktaner. Bland–Altman-analyserna visade att båda mätmetoderna hade begränsad överensstämmelse med de analyserade värdena av de olika fraktionerna och totala WSC-halten. Sammanfattningsvis indikerade resultaten att varken glukosstickor eller refraktometer kan ersätta enzymatisk-spektrofotometrisk analys för bestämning av total WSC-halt eller dess fraktioner i vallfoder. Glukosstickorna uppvisade dock starkare samband med analyserade sockerkoncentrationer än vad refraktometern gjorde och kan potentiellt ha ett värde som ett enkelt screeningverktyg för att skilja mellan vallfoder med relativt låg respektive hög koncentration av lättlösliga kolhydrater, exempelvis vid klassificering av vallfoder med analyserade WSC-koncentrationer under eller över 100 g/kg torrsubstans.

Nyckelord: extraktion, fruktan, grovfoder, hö, hösilage, ensilage, provpreparering, sukros

Abstract

This study investigated whether glucose test strips and refractometry can be used as simple and easily accessible methods for estimating the sugar content of harvested forage, with the results compared to enzymatic–spectrophotometric analyses of water-soluble carbohydrates (WSC). Interest in the sugar content of forage has increased in relation to metabolic disorders in horses, such as equine metabolic syndrome (EMS), pituitary pars intermedia dysfunction (PPID), and polysaccharide storage myopathy (PSSM), in which a high intake of water-soluble carbohydrates may trigger disease episodes. Enzymatic laboratory analyses using spectrophotometry are routinely employed for determination of WSC concentration, but these analyses are often costly and time-consuming, which motivates the need for simpler methods. In this study, 261 forage

samples with WSC concentrations ranging from 3 to 500 g per kg dry matter were used. Total WSC and the constituent fractions glucose, fructose, sucrose, and fructans had previously been determined by enzymatic–spectrophotometric analysis. A preliminary method test was first conducted to evaluate which extraction procedure produced the lowest coefficient of variation during repeated measurements. The samples were subsequently extracted using the selected method, and glucose test strips and refractometry were used to determine glucose concentration and Brix values in the extracts, respectively. The measurements obtained were compared with analyzed concentrations of total WSC and the individual sugar fractions (glucose, fructose, sucrose, and fructans). Relationships between methods were investigated using correlation and regression analyses, while Bland–Altman analyses were used to evaluate agreement between methods. The results showed that glucose test strips generally demonstrated higher correlations with analyzed sugar concentrations than the refractometer, particularly with analyzed glucose concentration and total WSC concentration. However, the relationships were generally moderate to weak, and substantial variation was observed in the precision of the glucose test strips. Refractometric measurements consistently showed low explanatory power and weak relationships with analyzed concentrations of total WSC and the individual sugar fractions glucose, fructose, sucrose, and fructans. Bland–Altman analyses demonstrated that both measurement methods showed limited agreement with the analyzed values of the different sugar fractions and total WSC concentration. In conclusion, the results indicated that neither glucose test strips nor refractometry can replace enzymatic–spectrophotometric analyses for determination of total WSC concentration or its constituent fractions in forage. However, glucose test strips demonstrated stronger relationships with analyzed sugar concentrations than the refractometer and may potentially have value as a simple screening tool for distinguishing between forage samples with relatively low and high concentrations of water-soluble carbohydrates, for example when classifying forage with analyzed WSC concentrations below or above 100 g/kg dry matter.

Keywords: extraction, fructan, forage, hay, haylage, silage, sample preparation, sucrose

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	7
Figurförteckning	9
Förkortningar	10
1. Inledning	11
2. Metod för litteraturstudien	12
3. Litteraturstudie	13
3.1 Sockerarter	13
3.1.1 Digestion och absorption av olika sockerarter hos häst	13
3.1.2 Analytiska kolhydratfraktioner i vallfoder	14
3.2 Faktorer som påverkar sockerhalten i betesgräs	15
3.2.1 Växtfysiologiska mekanismer och inlagring av sockerarter och fruktaner	15
3.2.2 Miljöfaktorer och reglering av WSC-ackumulering	15
3.2.3 Dygns- och säsongsvariation i WSC	16
3.2.4 Variation i WSC mellan gräsarter	17
3.3 Variation i sockerhalten i konserverat grovfoder	19
3.3.1 Effekt av konserveringsmetod på sockerhalten	19
3.3.2 Skördetidpunkt, mognadsstadium och variation inom parti	19
3.3.3 Praktiska åtgärder för att reducera sockerhalten	20
3.4 Analysmetoder för bestämning av lättlösliga kolhydrater	21
3.4.1 Analytisk avgränsning av kolhydratfraktioner	21
3.4.2 Referensmetoder för bestämning av lättlösliga kolhydrater	21
3.4.3 Extraktionsmetoder och metodologiska felkällor	22
3.4.4 Indirekta analysmetoder för bestämning av kolhydratinnehåll	23
3.4.5 Fältbaserade metoder för uppskattning av sockerininnehåll	23
3.4.6 Princip för glukosstickor	24
3.5 Metabola sjukdomar hos häst och betydelsen av sockerintag hos dessa	24
3.5.1 Ekvint metabolt syndrom	24
3.5.2 Pituitary <i>Pars Intermedia</i> Dysfunction	25
3.5.3 Polysaccharide Storage Myopathy	26
4. Material och metod för experimentell studie	27
4.1 Material	27
4.2 Metodtest för extraktberedning	28
4.2.1 Omräkning av analysvärden	29
4.2.2 Statistisk analys av metodtest	29
4.3 Val av metod för provberedning	31
4.3.1 Provberedning och extraktion	32

4.3.2	Mätning med refraktometer.....	32
4.3.3	Analys med glukossticka	32
4.4	Databearbetning och statistisk analys	33
5.	Resultat	34
5.1	Beskrivning av vallfoderproverna.....	34
5.2	Samband mellan mätmetoder och analyserade sockerfraktioner	34
5.3	Bland-Altman-analyser.....	38
5.4	Klassificering i fyra WSC- kategorier	38
5.5	Klassificering av låg och hög WSC-halt.....	39
6.	Diskussion	41
6.1	Diskussion av litteratur och teoretisk bakgrund	41
6.2	Diskussion av studiens resultat.....	43
7.	Slutsatser.....	49
	Referenser.....	50
	Populärvetenskaplig sammanfattning	55

Tabellförteckning

Tabell 1. Dygnsvariation i glukos, fruktos, sukros och fruktaner i engelskt rajgräs (<i>Lolium perenne</i> L.) under ett dygn i juni. Enhet gram per kg torrs substans (Waite et al., 1953a).....	17
Tabell 2. Medelkoncentrationen av icke-strukturella kolhydrater, glukos, sukros och fruktaner i rörsvingel (<i>Festuca arundinacea</i> Schreb.) vid olika skördetillfällen under maj till september. Värdena angivna i gram per kg torrs substans (Shewmaker et al., 2006).....	17
Tabell 3. Sukroskoncentration i blad hos timotej (<i>Phleum pratense</i> L.), ängssvingel (<i>Festuca pratensis</i> Huds.), hundäxing (<i>Dactylis glomerata</i> L.) och engelskt rajgräs (<i>Lolium perenne</i> L.), med värden för år 1 och år 2. Angivna i gram per kg torrs substans (Waite & Boyd 1953a).....	18
Tabell 4. Fruktankoncentration i stjälk hos timotej (<i>Phleum pratense</i> L.), ängssvingel (<i>Festuca pratensis</i> Huds.), hundäxing (<i>Dactylis glomerata</i> L.) och engelskt rajgräs (<i>Lolium perenne</i> L.), med värden för år 1 och år 2. Angivna i gram per kg torrs substans (Waite et al., 1953a).....	18
Tabell 5. Förändring i koncentrationen av olika sockerarter i hö efter blötläggning i procent av ursprungligt innehåll före blötläggning (Müller et al., 2016).....	21
Tabell 6. Extraktberedningar som testades vid metodutveckling för analys av sockerhalt i vallfoder med refraktometer och glukosstickor	28
Tabell 7. P-värden för effekten av olika provberedningsfaktorer i metodtestet för analys av sockerhalt i vallfoder med refraktometer och glukossticka	30
Tabell 8. Mätvärden från metodtestet för glukossticka och refraktometer vid olika provberedningsmetoder. Värden anges som medelvärde $\pm$ standardavvikelse (SD) i gram per kg torrs substans.....	30
Tabell 9. Variationskoefficient (CV) för glukosstickor och refraktometer vid olika provberedningsbehandlingsmetoder i metodtest. Värden anges som medel $\pm$ standardavvikelse (SD).....	31
Tabell 10. Beskrivande statistik för analyserade sockerfraktioner, refraktometervärden och glukosstickornas mätvärden i vallfoderprover.....	34
Tabell 11. Korrelationskoefficienter mellan analyserade värden av de olika fraktionerna av WSC samt total WSC i vallfoderprov och mätningar gjorda med refraktometer (Pearsons korrelationskoefficient, r) i Brixgrader och omräknat till g per kg torrs substans (ts), eller glukossticka (Spearman's rangkorrelationskoefficient, ρ).....	35

Tabell 12. Samband mellan glukosandel (% av total WSC) och glukosstickans skattade koncentration (g/kg torrs substans), korrelationskoefficienter och förklaringsgrader	37
---	----

Figurförteckning

- Figur 1a-c. Samband mellan glukosstickans skattade koncentration av glukos(g/kg torrs substans, ts) och analyserade koncentrationer av (a) total WSC, (b) glukos samt (c) summan av glukos och sukros i vallfoderprov. Helt dragen linje visar regressionslinjen och streckade linjer visar 95 % prediktionsgränser. 36
- Figur 2. Bland–Altman-plott som visar överensstämmelsen mellan glukosstickans skattade koncentration (g/kg torrs substans) och analyserad glukoskoncentration i vallfoderprov. Mittlinjen representerar medelskillnaden mellan metoderna (bias), medan de övre och nedre streckade linjerna representerar gränserna för överensstämmelse (LOA; $\pm 1,96$ standardavvikelser från bias). 38
- Figur 3. ROC-kurva för glukosstickans förmåga att klassificera vallfoderprover med ≤ 100 respektive >100 g WSC per kg torrs substans. Den diagonala linjen visar en klassificering som inte är bättre än slumpen (AUC = 0,5), medan kurvor som ligger längre från diagonalen indikerar bättre diskrimineringsförmåga. Den observerade ROC-kurvan hade ett AUC-värde på 0,68, vilket indikerar en begränsad men bättre än slumpmässig förmåga att skilja mellan prover med låg respektive hög WSC-koncentration. 40

Förkortningar

Förkortning	Betydelse
ACTH	Adrenokortikotropt hormon
ADF	Acid detergent fiber
ATP	Adenosintrifosfat
CV	Variationskoefficient
EMS	Ekvint metabolt syndrom
ER	Exertional rhabdomyolysis
ESC	Etanollösliga kolhydrater
GLUT5	Glukostransportör 5
GYS1	Glykogensyntasgen 1
HPLC	High-performance liquid chromatography
NADP	Nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADPH	Nikotinamid-adenin-dinukleotidfosfat
NDF	Neutral detergent fiber
NIRS	Near-infrared spektroskopi
NSC	Icke-strukturella kolhydrater
POMC	Pro-opiomelanokortin
PPID	Pituitary pars intermedia dysfunction
PSSM	Polysaccharide storage myopathy
SGLT1	Natrium-glukos-kotransportör 1
WSC	Lättlösliga kolhydrater (water-soluble carbohydrates)

1. Inledning

Hästen är en strikt herbivor vars digestionssystem och födosöksbeteende är anpassade till ett regelbundet intag av fiberrikt växtmaterial över stora delar av dygnet (Duncan 1980). Grovfoder utgör grunden i hästens foderstat och har central betydelse för energi- och näringsförsörjning samt för normal mag- och tarmfunktion och födosöksbeteende. Vallfoder, vilket omfattar både betesgräs och konserverade former såsom hö, hösilage och ensilage, kan uppvisa betydande variation i koncentrationen av lättlösliga kolhydrater. Innehållet av lättlösliga kolhydrater i vallfoder är särskilt relevant vid utfodring av hästar med tillstånd såsom ekvint metabolt syndrom (EMS), pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) och polysaccharide storage myopathy (PSSM). Hästar med EMS och/eller PPID kan drabbas av fång och hästar med PSSM kan drabbas av korsförflamning (Borgia et al. 2011) om intaget av lättlösliga kolhydrater blir för högt. Vallfodrets innehåll av lättlösliga kolhydrater kan därför vara en viktig faktor att beakta vid utfodring av hästar med dessa tillstånd. Samtidigt kan koncentrationen av lättlösliga kolhydrater i vallfoder påverkas av flera faktorer, såsom växtart, utvecklingsstadium samt skörde- och konserveringsförhållanden, vilket kan leda till variation mellan olika foderpartier, skördetillfällen och tidpunkter under växtsäsongen (Kagan et al. 2011; 2020). För bestämning av koncentrationen av lättlösliga kolhydrater används enzymatiskt-spektrofotometriska analysmetoder, men dessa analyser kan vara tidskrävande och kostsamma. Detta kan begränsa möjligheten till upprepade analyser i praktiska sammanhang och innebära att utfodringsbeslut behöver baseras på begränsad information om vallfodrets aktuella innehåll av lättlösliga kolhydrater. Mot bakgrund av begränsningarna hos etablerade analysmetoder finns ett behov av enklare och snabbare metoder för uppskattning av halten lättlösliga kolhydrater i vallfoder, exempelvis refraktometri och glukosstickor. Den vetenskapliga valideringen av dessa metoder i vallfoder är dock begränsad (Billman et al. 2024).

Syftet med denna studie var därför att undersöka om glukosstickor och refraktometri kan användas för uppskattning av sockerhalten i vallfoder genom jämförelse med enzymatiskt-spektrofotometriskt analyserade WSC-värden. Vidare syftade studien till att analysera samband mellan metoderna och bedöma deras precision och reproducerbarhet. Hypotesen var att glukosstickor skulle uppvisa ett starkare samband med analyserad glukoshalt, medan refraktometri förväntades uppvisa ett starkare samband med analyserad total WSC-halt.

2. Metod för litteraturstudien

En litteraturstudie genomfördes som baserades på vetenskapliga artiklar identifierade genom sökningar i databaserna Web of Science, PubMed och Google Scholar. Sökningar genomfördes med olika kombinationer av sökord relaterade till sockerarter och fruktaner i vallfoder, analysmetoder samt metabola sjukdomstillstånd hos häst.

Exempel på använda sökord och sökkombinationer inkluderade *“water-soluble carbohydrates”, “WSC”, “ethanol-soluble carbohydrates”, “ESC”, “non-structural carbohydrates”, “NSC”, “glucose”, “fructose”, “sucrose”, “fructans”, “pasture grass”, “grass”, “forage”, “roughage”, “hay”, “haylage”, “silage”, “horse”, “equine”, “equine metabolic syndrome”, “EMS”, “pituitary pars intermedia dysfunction”, “PPID”, “polysaccharide storage myopathy”, “PSSM”, “laminitis”, “insulin dysregulation”, “hyperinsulinemia”, “glucose strips”, “glucometer”, “refractometer”, “Brix”, “carbohydrate analysis”, “enzymatic analysis” och “high performance liquid chromatography”, “HPLC”.*

Endast vetenskapligt granskade artiklar (*peer-reviewed*) inkluderades i litteraturstudien. Fokus låg på studier som behandlade sockerarter och fruktaner i vallfoder, analysmetoder för lättlösliga kolhydrater samt samband mellan intag av lättlösliga kolhydrater, glukos- och insulinreglering samt tillstånd såsom EMS, PPID och PSSM hos häst. Primärt användes ursprungliga forskningsartiklar, medan översiktsartiklar huvudsakligen användes för att identifiera relevanta förstahandskällor. Studier som inte bedömdes relevanta för häst eller vallfoder exkluderades, liksom artiklar med begränsad metodbeskrivning eller otillräcklig resultatredovisning. Både engelskspråkig och svenskspråkig litteratur inkluderades när den bedömdes relevant för studiens frågeställningar. Referenslistor i relevanta artiklar användes även för att identifiera ytterligare källor.

3. Litteraturstudie

3.1 Sockerarter

Sockerarter utgör en grupp av kolhydrater och är organiska föreningar bestående av kol, väte och syre. I vallfoder förekommer de främst som mono-, di-, och polysackarider, vilka skiljer sig åt vad gäller molekylstorlek, bindningstyper och egenskaper såsom löslighet och fermenterbarhet. Dessa strukturella egenskaper är avgörande för sockerarternas biologiska funktion och deras nedbrytning i hästens mag-tarmkanal (Hall 2003; McDonald et al. 2022). Utifrån kemisk struktur och funktion kan kolhydrater även delas in i sockerarter och icke-sockerarter. Socker omfattar mono- och disackarider, såsom glukos, fruktos och sukros, vilka är lösliga och relativt snabbt tillgängliga för enzymatisk nedbrytning i hästens tunntarm. Icke-socker utgörs av mer komplexa kolhydrater och kan delas in i lagringspolysackarider, såsom stärkelse och fruktaner, samt strukturella kolhydrater, såsom cellulosa och hemicellulosa (McDonald et al. 2022).

Monosackarider, såsom glukos och fruktos, utgör de enklaste kolhydraterna och består av enskilda sockerenheter med fem eller sex kolatomer. Dessa förekommer i lösning huvudsakligen i cykliska former och kan existera i olika stereoisomeriska former, där D-isomererna är biologiskt relevanta. Disackarider, såsom sukros, består av två monosackarider sammanbundna via specifika glykosidbindningar, vilket påverkar deras hydrolys och tillgänglighet vid digestion (McDonald et al. 2022). Polysackarider utgörs av längre kedjor av monosackarider med varierande grad av förgreningar och polymerisering, vilket påverkar deras löslighet, nedbrytning och fysiologiska funktion. Strukturella polysackarider, såsom cellulosa och hemicellulosa, ingår i växtens cellvägg och kännetecknas av β -glykosidbindningar som gör dem resistent mot enzymatisk nedbrytning i tunntarmen. Icke-strukturella polysackarider inkluderar lagringskolhydrater såsom fruktaner, vilka består av fruktosenheter med varierande polymeriseringsgrad och bindningstyper. Dessa strukturella variationer påverkar löslighet, tillgänglighet och nedbrytningsväg för dessa kolhydrater, vilket i sin tur har betydelse för den fysiologiska effekten hos hästen (Longland & Byrd 2006; Kagan 2022; McDonald et al. 2022).

3.1.1 Digestion och absorption av olika sockerarter hos häst

Digestionen av kolhydrater hos häst sker i både tunntarm och grovtarm och är beroende av kolhydratens struktur och löslighet. Enzymatisk nedbrytning av lösliga kolhydrater sker huvudsakligen i tunntarmen, där disackarider hydrolyseras till monosackarider av borstbrämsenzymer. De resulterande monosackariderna absorberas över enterocyterna, där glukos transporteras via

natrium-glukos-kotransportör 1 (SGLT1) och fruktos via faciliterad diffusion genom glukotransportör 5 (GLUT5) (Dyer et al. 2002). Den pre-caecala digestionen är dock begränsad i kapacitet, vilket innebär att en del lättlösliga kolhydrater kan passera vidare till grovtarmen.

Kolhydrater som inte bryts ned och absorberas i tunntarmen, inklusive strukturella polysackarider och en varierande andel fruktaner och stärkelse, når caecum och kolon där de fermenteras av mikroorganismer. Den mikrobiella nedbrytningen resulterar i bildning av flyktiga fettsyror, främst acetat, propionat och butyrat, vilka absorberas över grovtarmens epitel och utgör en viktig energikälla för hästen. Tidigare studier har även visat att absorption av flyktiga fettsyror i grovtarmen är nära kopplad till absorption av vatten och elektrolyter, vilket understryker deras betydelse för hästens grovtarmsfunktion (Argenzio & Stevens 1975; Longland & Byrd 2006). Fermentationsprocessen påverkas av substrattillgång, mikrosammansättningen och kolhydratens fermenterbarhet, där de icke-strukturella kolhydraterna generellt fermenteras snabbare än de strukturella. En ökad tillförsel av lätt fermenterbara kolhydrater till grovtarmen kan leda till en snabb och ökad produktion av kortkedjiga organiska syror och en sänkning av pH-värdet, vilket påverkar den mikrobiella sammansättningen (Bailey et al. 2004). Fördelningen mellan pre-caecalt nedbrutna och mikrobiellt fermenterade kolhydrater i caecum och kolon avgör i vilken utsträckning energi utvinns via direkt absorption av monosackarider i tunntarmen respektive via absorption av fermentationsprodukter i grovtarmen.

3.1.2 Analytiska kolhydratfraktioner i vallfoder

För att karakterisera kolhydratinnehållet i vallfoder används flera analytiska begrepp, vilka baseras på extraktionsmetod och analysprincip snarare än strikt fysiologisk funktion. Detta innebär att analyser av WSC, ESC (etanollösliga kolhydrater) och icke-strukturella kolhydrater (non-structural carbohydrates, NSC) inte nödvändigtvis motsvarar hur olika sockerarter och andra lättlösliga kolhydrater bryts ned och tas upp i hästens mag-tarmkanal, utan främst baseras på ämnenas kemiska egenskaper och löslighet (Hall 2003).

Lättlösliga kolhydrater utgör en av de mest använda analyserna för bestämning av innehållet av WSC i vallfoder och omfattar monosackarider (glukos och fruktos), disackarider (sukros) samt fruktaner. Summan av dessa benämns total WSC. Begreppet WSC utgör därmed en heterogen grupp av lättlösliga kolhydrater med olika kemisk struktur och nedbrytningsvägar i hästens mag-tarmkanal (Kagan 2022). Etanollösliga kolhydrater (ESC) definieras som de kolhydrater som kan extraheras med etanol och omfattar främst mono- och disackarider samt kortkedjiga fruktaner. Etanollösliga kolhydrater anses därför i större utsträckning

representera de enklare sockerfraktionerna jämfört med WSC, eftersom de längre fruktankedjorna inte kan extraheras med etanol i samma grad som med vatten (Hall et al. 1999; Kagan 2022).

3.2 Faktorer som påverkar sockerhalten i betesgräs

3.2.1 Växtfysiologiska mekanismer och inlagring av sockerarter och fruktaner

Koncentrationen av olika sockerarter och fruktaner i betesgräs påverkas av samspelet mellan fotosyntes, respiration och plantans tillväxt. Genom fotosyntesen omvandlas ljusenergi och koldioxid till olika sockerarter, främst glukos, fruktos och sukros. När produktionen av dessa sockerarter överstiger växtens omedelbara behov för tillväxt och energiförbrukning lagras överskottet i form av reservsubstanser. I tempererade gräsarter lagras detta överskott främst i form av fruktaner, som utgör en stor del av sockerarterna i gräset (Longland & Byrd 2006).

Fruktaner syntetiseras från sukros när fotosyntesen producerar mer socker än vad som omedelbart används för tillväxt och respiration, och ackumuleras främst i basala växtdelar såsom bladslidor och stjälkbas. Denna lagringsstrategi möjliggör en flexibel energireserv där lagrade fruktaner och lagrade sockerarter kan mobiliseras vid perioder av ökad energiefterfrågan, exempelvis under återväxt efter avbetning eller vid olika stressförhållanden (Longland & Byrd 2006). Fruktaner har även kopplats till reglering av växtens vattenbalans och till ökad tolerans mot abiotiska stressfaktorer såsom kyla och torka (Livingston et al. 2009).

Strukturella variationer i fruktaner, såsom polymeriseringsgrad och bindningstyper, skiljer sig åt mellan olika gräsarter och sorter. Rajgräsarter (*Lolium spp.*) uppvisar generellt högre koncentrationer av fruktaner än exempelvis timotej (*Phleum pratense* L.) och hundäxing (*Dactylis glomerata* L.) (Longland & Byrd 2006). Denna variation kan vara av betydelse i nutritionella sammanhang eftersom fruktanernas struktur i in vitro-studier har visats påverka fermentationsmönstret hos mikroorganismer från hästens grovtarm. Kortkedjiga fruktaner fermenterades snabbare än långkedjiga, vilket i försöksmiljön associerades med snabbare produktion av organiska syror och förändringar i pH (Harlow et al. 2017).

3.2.2 Miljöfaktorer och reglering av WSC-ackumulering

Koncentrationen av WSC i gräs bestäms av balansen mellan fotosyntetisk produktion och växtens konsumtion av desamma. Denna balans är starkt beroende

av miljöfaktorer såsom ljusintensitet, temperatur, vattenstatus och näringstillgång. Ljusintensitet är en primär drivkraft för fotosyntesen, och därmed för produktionen av sockerarter. Mackenzie & Wylam (1957) visade att reducerad ljusexponering ledde till en snabb minskning av sukroskoncentrationen i engelskt rajgräs (*Lolium perenne* L.), medan ökad exponering för solljus resulterade i högre sukroskoncentrationer.

Temperaturen påverkar främst genom sin effekt på växtens tillväxt och respiration. Vid låga temperaturer begränsas tillväxtprocessen i större utsträckning än fotosyntesen, vilket leder till en nettoackumulering av lättlösliga kolhydrater och fruktaner. Höga koncentrationer av WSC observeras ofta vid kombinationen hög ljusintensitet och låg temperatur (Kagan 2022). Växtens tillväxthastighet påverkar därmed i hög grad koncentrationen av sockerarter och fruktaner i gräset. Under perioder av snabb tillväxt används en större andel av de producerade lättlösliga kolhydraterna för strukturell uppbyggnad, vilket resulterar i lägre koncentrationer av WSC. Omvänt kan tillväxtbegränsning, exempelvis till följd av torka eller kvävebrist, leda till ackumulering av lättlösliga kolhydrater (Kagan 2022).

Koncentrationen av olika sockerarter och fruktaner påverkas även av växtens utvecklingsstadium och vävnadssammansättning. Waite & Boyd (1953b) visade att koncentrationerna av glukos, fruktos, sukros och fruktaner varierade mellan olika växtdelar och över växtsäsongen hos flera tempererade gräsarter. Fruktankoncentrationen var generellt högre i stjälk än i blad, medan koncentrationerna av glukos och fruktos var högre i bladvävnad.

3.2.3 Dygns- och säsongsvariation i WSC

Sockerhalten i betesgräs uppvisar en tydlig dygnsvariation som reflekterar växtens fotosyntetiska aktivitet. Under natten används inlagrade lättlösliga kolhydrater för respiration, vilket resulterar i lägre koncentrationer av WSC på morgonen. Under dagen sker en successiv ackumulering av sockerarter, och koncentrationerna är generellt högst under eftermiddag och tidig kväll (Kagan et al. 2011). Tidiga experimentella studier av Waite & Boyd (1953a) visade att sukroskoncentrationen i engelskt rajgräs ökade under dagen och nådde sitt maximum under eftermiddagen, medan halterna av glukos och fruktos uppvisade mindre variation (tabell 1). Fruktankoncentrationen visade en mer oregelbunden variation över dygnet jämfört med glukos och sukros, vilket tyder på att olika kolhydratfraktioner kan skilja sig åt avseende syntes, lagring och mobilisering i växten. Medan glukos och sukros är nära kopplade till den aktuella fotosyntesen fungerar fruktaner främst som lagringskolhydrater och kan därför uppvisa ett annat variationsmönster.

Tabell 1. Dygnsvariation i glukos, fruktos, sukros och fruktaner i engelskt rajgräs (*Lolium perenne* L.) under ett dygn i juni. Enhet gram per kg torrsbstans (Waite et al., 1953a)

Klockslag	Glukos och Fruktos	Sukros	Fruktaner
09.00	29	53	164
12.00	25	63	174
15.00	24	70	161
18.00	28	70	158
21.00	27	66	159
24.00	26	66	166
03.00	28	54	169
06.00	29	53	169

Säsongsvariationer är lika betydelsefulla och styrs av samspelet mellan klimat och växtens utvecklingsstadium. Generellt observeras högre koncentrationer av enkla sockerarter under tidiga utvecklingsstadier, medan deras koncentration minskar med ökande plantmognad. Samtidigt kan fruktankoncentrationen öka i senare stadier, vilket indikerar en omfördelning mellan olika kolhydratfraktioner snarare än en generell minskning av kolinnehållet (Chatterton et al. 2006). I en studie i Idaho, USA, undersökte Shewmaker et al. (2006) åtta sorter av rörsvingel (*Festuca arundinacea* Schreb.) och visade att koncentrationerna av total WSC, fruktaner, glukos och sukros varierade mellan olika skördetillfällen under växstsäsongen. Den totala koncentrationen av icke-strukturella kolhydrater var högre under de tidiga skördeperioderna och minskade senare under säsongen. Fruktankoncentrationen var högst under juli, medan koncentrationerna av glukos och sukros var högst under maj (tabell 2) (Shewmaker et al. 2006).

Tabell 2. Medelkoncentrationen av icke-strukturella kolhydrater, glukos, sukros och fruktaner i rörsvingel (*Festuca arundinacea* Schreb.) vid olika skördetillfällen under maj till september. Värdena angivna i gram per kg torrsbstans (Shewmaker et al., 2006)

Koncentration	17 Maj	6 Juli	8 Augusti	13 September
Icke-strukturell kolhydrater	238	232	141	121
Glukos	46	22	41	27
Sukros	79	55	42	46
Fruktaner	64	116	35	27

3.2.4 Variation i WSC mellan gräsarter

Variation i koncentrationen av WSC mellan gräsarter har påvisats i tidigare studier och kan bero på artspecifika skillnader i kolhydratmetabolism, lagringsstrategier och kolallokering. Waite & Boyd (1953a) visade att engelskt rajgräs (*Lolium perenne* L.) generellt uppvisade högre koncentrationer av både

sukros och fruktaner än timotej (*Phleum pratense* L.), ängssvingel (*Festuca pratensis* Huds.) och hundäxing (*Dactylis glomerata* L.). Koncentrationerna av sukros och fruktaner varierade dock både mellan gräsarter och över växtsäsongen (Tabell 3 och 4).

Tabell 3. Sukroskoncentration i blad hos timotej (*Phleum pratense* L.), ängssvingel (*Festuca pratensis* Huds.), hundäxing (*Dactylis glomerata* L.) och engelskt rajgräs (*Lolium perenne* L.), med värden för år 1 och år 2. Angivna i gram per kg torrs substans (Waite & Boyd 1953a)

Art	April	Maj	Juni	Juli	Augusti
Timotej	80/20	60/20	30/60	20/40	19/18
Ängssvingel	40/39	62/40	38/60	20/20	2/5
Hundäxing	20/20	40/40	20/55	19/20	8/0
Engelskt rajgräs	60/40	100/80	40/60	20/20	10/10

Tabell 4. Frukthankoncentration i stjälk hos timotej (*Phleum pratense* L.), ängssvingel (*Festuca pratensis* Huds.), hundäxing (*Dactylis glomerata* L.) och engelskt rajgräs (*Lolium perenne* L.), med värden för år 1 och år 2. Angivna i gram per kg torrs substans (Waite et al., 1953a)

Art	April	Maj	Juni	Juli	Augusti
Timotej	150/80	170/50	100/100	140/260	250/340
Ängssvingel	90/80	230/100	110/120	140/160	60/80
Hundäxing	60/40	140/70	200/100	220/100	240/80
Engelskt rajgräs	80/80	200/190	280/320	200/260	180/230

I en experimentell studie med betesgräs visade Calvache et al. (2020) att engelskt rajgräs (*Lolium perenne* L.) uppvisade högre koncentrationer av lättlösliga kolhydrater än bromusarter (*Bromus valdivianus* Phil.), både under aktiv tillväxt och efter avbetning. Detta indikerade att variationen mellan gräsarter inte enbart omfattade skillnader i den totala koncentrationen av WSC, utan även skillnader i omsättning och återackumulering av olika sockerarter och fruktaner efter avbetning.

Även Chatterton et al. (1990; 2006) rapporterade högre koncentrationer av icke-strukturella kolhydrater hos arter inom släktet rajgräs (*Lolium* spp.) jämfört med flera andra undersökta tempererade gräsarter. Detta mönster kvarstod även under varierande temperaturförhållanden, vilket indikerade att variationen i WSC-halt till stor del var genetiskt betingad. Skillnaderna mellan gräsarterna omfattade emellertid inte enbart den totala koncentrationen av WSC utan även sammansättningen av olika sockerarter och fruktaner samt deras relativa proportioner. Enligt Kagan (2022) domineras WSC-fraktionen i många

rajgräsarter av fruktaner, medan andra gräsarter i större utsträckning innehåller mono- och disackarider. Även Stang et al. (2023) rapporterade tydliga skillnader i proportionerna av fruktaner, glukos, fruktos och sukros mellan olika gräsarter och utvecklingsstadier. Författarna visade dessutom att utvecklingen av total WSC och dess ingående sockerfraktioner varierade mellan olika gräsarter i takt med ökande plantmognad, samtidigt som fiberkoncentrationen generellt ökade. Arter med hög WSC-koncentration, såsom engelskt rajgräs (*Lolium perenne* L.), tenderar att lagra en större andel kol i lösform, medan andra arter i större utsträckning allokera kol till strukturella komponenter såsom cellulosa och hemicellulosa (Longland & Byrd, 2006).

3.3 Variation i sockerhalten i konserverat grovfoder

3.3.1 Effekt av konserveringsmetod på sockerhalten

Vid konservering av vallfoder påverkas koncentrationen av lättlösliga kolhydrater genom både växtens egen metabolism och mikrobiella processer. Efter skörd fortsätter växtcellernas respiration, vilket innebär att sockerarter såsom glukos, fruktos och sukros används som substrat för växtens energimetabolism. Detta leder till produktion av koldioxid, vatten och värme samt successiva förluster av lättlösliga kolhydrater. Omfattningen av dessa förluster påverkas bland annat av syretillgång, vattenhalt och torkningsförhållanden, där snabb torkning begränsar respirationsförlusterna medan långsam torkning medför större nedbrytning av WSC (McDonald et al. 2022; Wróbel et al. 2023).

Vid ensilering används lättlösliga kolhydrater som substrat av epifytiska mjölksyrabakterier, vilka omvandlar sockerarter till organiska syror, huvudsakligen mjölksyra. Detta medför en successiv minskning av koncentrationen av WSC samtidigt som pH sjunker, vilket bidrar till konservering av fodret (Chen et al. 2023). Om ensileringsförhållandena är ogynnsamma kan oönskade mikroorganismer tillväxa, vilket kan öka nedbrytningen av lättlösliga kolhydrater och därmed leda till större förluster av WSC under lagring (McDonald et al. 2022; Wróbel et al. 2023).

3.3.2 Skördetidpunkt, mognadsstadium och variation inom parti

Skördetidpunkt och växtens utvecklingsstadium påverkar den kemiska sammansättningen i konserverat vallfoder och därmed även koncentrationen av lättlösliga kolhydrater efter konservering. Stang et al. (2023) rapporterade att koncentrationen av lättlösliga kolhydrater och proportionerna mellan olika fraktioner av WSC varierade mellan olika utvecklingsstadier hos flera tempererade gräsarter under den primära tillväxten. Studien visade även att fiberfraktionerna generellt ökade med ökande mognadsgrad. Skillnader i det

skördade växtmaterialet påverkar även förutsättningarna för ensileringsprocessen och därmed den slutliga kemiska sammansättningen i det konserverade vallfodret. Under konserveringsprocessen kan koncentrationen av sockerarter, fiberfraktioner såsom neutral detergent fiber (NDF) och acid detergent fiber (ADF), samt olika fermentationsprodukter förändras. Förändringar i växtens kemiska sammansättning vid senare skörd kan även påverka koncentrationen av fermenterbara sockerarter och därmed förutsättningarna för ensilering. Vallfoder med låg koncentration av WSC kan få en långsammare pH-sänkning under ensileringsprocessen, vilket kan öka risken för oönskad mikrobiell aktivitet och större torrsubstansförluster (McDonald et al. 2022).

Variation i sockerhalten inom foderpartier kan uppstå till följd av skillnader i växtsammansättning, återväxtstadium, blad–stjälk-förhållande samt variationer i skörde- och konserveringsförhållanden. Även under lagring kan den kemiska sammansättningen förändras till följd av fortsatt mikrobiell aktivitet (Wróbel et al. 2023). Skillnader i vattenhalt, packningsgrad och syretillgång påverkar fermentationsprocesserna i ensilage och hösilage och kan leda till variation i koncentrationen av lättlösliga kolhydrater mellan olika delar av samma foderparti (Schenck et al. 2019).

3.3.3 Praktiska åtgärder för att reducera sockerhalten

För att minska hästens exponering för lättlösliga kolhydrater används olika strategier i praktiken, där blötläggning av hö är en vanligt förekommande metod för att reducera koncentrationen av socker genom urlakning. Müller et al. (2016) undersökte effekterna av lagringstid, konserveringsmetod, blötläggning och användning av bakteriella inokulanter på koncentrationen av sockerarter i hö, hösilage och ensilage. Studien visade att ensilering som sådan hade störst påverkan på koncentrationen av lättlösliga kolhydrater och att både ensilage och hösilage generellt innehöll lägre koncentrationer av WSC än hö, när samma gröda användes för alla tre fodertyper. Blötläggning reducerade koncentrationen av lättlösliga kolhydrater i samtliga fodertyper, även om effekten varierade mellan olika sockerfraktioner och konserveringsmetoder (Müller et al., 2016). I samma studie observerades särskilt stora minskningar av fruktos och glukos vid blötläggning av hö, medan reduktionen av sukros var mer begränsad (tabell 5). Müller et al. (2016) rapporterade däremot ingen tydlig effekt av varierande lagringstid för vallfoder på koncentrationen av lättlösliga kolhydrater. Blötläggning av konserverat vallfoder kan påverka fodrets näringsmässiga sammansättning genom att reducera koncentrationen av lättlösliga kolhydrater, men även genom förluster av andra näringsämnen, exempelvis råprotein och vissa mineraler (Moore-Colyer 1996; Müller et al. 2016), vilket behöver tas hänsyn till i foderstatsberäkning.

Tabell 5. Förändring i koncentrationen av olika sockerarter i hö efter blötläggning i procent av ursprungligt innehåll före blötläggning (Müller et al., 2016)

Sockerart	Förändring efter blötläggning
Glukos	-50 %
Fruktos	-70 %
Sukros	-15 %
Fruktaner	-40 %

3.4 Analysmetoder för bestämning av lättlösliga kolhydrater

3.4.1 Analytisk avgränsning av kolhydratfraktioner

Analys av lättlösliga kolhydrater i vallfoder är inte standardiserat eftersom olika metoder används vilka kan inkludera olika typer av kolhydrater i analysen. Detta innebär att samma vallfoderprov kan få olika resultat beroende på vilken metod som används. De vanligaste analytiska fraktionerna är WSC, ESC och NSC. Fraktionerna skiljer sig åt genom vilka kolhydratkomponenter som ingår, såsom glukos, fruktos, sukros, fruktaner och stärkelse (Knudsen 1997; Hall et al. 1999; Hall 2003).

Lättlösliga kolhydrater (WSC) omfattar enkla sockerarter såsom monosackariderna glukos och fruktos samt disackariden sukros, men även fruktaner. Etanollösliga kolhydrater (ESC) utgör en mer selektiv fraktion som huvudsakligen omfattar glukos, fruktos, sukros och vissa kortkedjiga fruktaner, men inte längre fruktankedjor eftersom de inte kan extraheras med etanol (Hall et al. 1999; Kramer et al. 2021). Icke-strukturella kolhydrater (NSC) används ofta som ett samlingsbegrepp för lättillgängliga kolhydrater och inkluderar vanligen sockerarter, fruktaner och stärkelse. Någon enhetlig analytisk definition saknas dock, och NSC kan definieras på olika sätt mellan olika laboratorier, exempelvis som summan av WSC och stärkelse eller ESC och stärkelse. Skillnader i definition och analysmetodik kan därför påverka jämförelser mellan resultat från olika studier och laboratorier (Hall 2003).

3.4.2 Referensmetoder för bestämning av lättlösliga kolhydrater

Laboratoriebaserade våtkemiska analyser används vanligtvis som referensmetoder för bestämning av halten lättlösliga kolhydrater i vallfoder. Metoderna omfattar främst enzymatisk–spektrofotometrisk analys samt kromatografiska tekniker såsom high-performance liquid chromatography (HPLC). Gemensamt för dessa metoder är att de möjliggör kvantifiering av specifika kolhydratfraktioner med hög analytisk precision (Hall et al. 1999).

Vid enzymatisk–spektrofotometriska analyser används specifika enzymer för att selektivt hydrolysera eller omvandla olika kolhydratkomponenter till mätbara produkter i flera steg. Kvantifieringen baseras vanligen på förändringar i ljusabsorption där bildning eller förbrukning av kofaktorer såsom NAD(P)H mäts vid specifika våglängder. Metoden möjliggör analys av individuella kolhydratkomponenter såsom glukos, fruktos, sukros och fruktaner då den utförs stegvis (Hall 2003). Dessa summeras för att ge total koncentration av lösliga kolhydrater.

Kromatografiska metoder, såsom high-performance liquid chromatography (HPLC), används främst i forskningssammanhang och möjliggör separation och kvantifiering av individuella kolhydrater med hög precision. Separationen baseras på molekylstorlek, polaritet och interaktion med stationär fas, vilket möjliggör differentiering av monosackarider, disackarider och fruktaner med varierande grad av polymerisering. Till skillnad från enzymatiska metoder möjliggör HPLC direkt kvantifiering av enskilda kolhydrater utan behov av summering, vilket minskar risken för kumulativa fel. Metoden är särskilt relevant vid analys av fruktaner eftersom dessa utgör en heterogen grupp av molekyler med varierande kedjelängd och struktur, vilket kan påverka hur de identifieras och kvantifieras analytiskt (Knudsen 1997; Kagan 2022). För växt- och fodermaterial har HPLC påvisats möjliggöra snabb, känslig och reproducerbar analys av flera individuella sockerarter samtidigt, inklusive mono-, di- och oligosackarider samt fruktaner (Weiß & Alt 2017).

3.4.3 Extraktionsmetoder och metodologiska felkällor

Val av extraktionsmetod påverkar vilka sockerarter och fruktaner som löses upp och därmed kan kvantifieras av analysen. Vattenextraktion, ofta vid en temperatur omkring 80 °C, används för att bestämma WSC-halten och extraherar både monosackarider, disackarider och fruktaner. Etanolextraktion med cirka 80 % etanol används i stället vid analys av ESC och extraherar huvudsakligen mono- och disackarider, men även vissa kortkedjiga fruktaner kan inkluderas beroende på deras löslighet och molekylstruktur. Fruktaner med högre polymerisationsgrad exkluderas i större utsträckning på grund av deras begränsade löslighet i etanol (Hall et al., 1999; Hall, 2003). Variation i extraktionsparametrar såsom temperatur, lösningsmedel, partikelstorlek och extraktionstid kan leda till systematiska skillnader i resultaten. Det har påvisats att metodologiska variationer kan ge betydande skillnader i rapporterade WSC-värden, vilket innebär att analyser från olika laboratorier inte alltid är direkt jämförbara med varandra (Knudsen 1997; Hall 2003). Provberedningen utgör ytterligare en potentiell felkälla vid analys av kolhydrater i vallfoder. Faktorer såsom torkning och malning av prover kan påverka innehållet av sockerarter och fruktaner genom

fortsatt enzymatisk aktivitet eller förändringar i provets kemiska sammansättning före analys. Standardiserad provhantering är därför viktig för att säkerställa reproducerbara och jämförbara resultat mellan olika laboratorier.

3.4.4 Indirekta analysmetoder för bestämning av kolhydratinnehåll

Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) används rutinmässigt inom kommersiell vallfoderanalys som ett snabbt alternativ till traditionella våtkemiska analyser. Till skillnad från referensmetoder, där specifika kolhydratkomponenter analyseras direkt, bygger NIRS på indirekt uppskattning av kemiskt innehåll med hjälp av spektrala egenskaper och matematiska kalibreringsmodeller. Metoden baseras på att kemiska bindningar i organiska molekyler, exempelvis kol–väte- (C–H), syre–väte- (O–H) och kväve–vätebindningar (N–H), absorberar ljus vid specifika våglängder. De reflekterade signalerna jämförs därefter med kalibreringsmodeller som utvecklats med hjälp av referensanalyser från tidigare prov (Harris et al. 2018). För att NIRS ska ge tillförlitliga resultat krävs att kalibreringsmodellerna utvecklats för det specifika provmaterial som analyseras. Harris et al. (2018) rapporterade att överensstämmelsen mellan NIRS och våtkemiska analyser generellt var god för flera näringsparametrar, men att större variation observerades för just sockerfraktionerna. Thomson et al. (2018) visade även att befintliga kalibreringsmodeller kunde ge sämre precision när de användes på provmaterial som skilde sig från det material modellerna ursprungligen utvecklats för. Le Cocq et al. (2022) jämförde fyra kommersiellt tillgängliga NIRS-metoder med traditionella våtkemiska referensanalyser för bestämning av näringsinnehåll i hösilage för hästar. För WSC observerades betydande skillnader mellan NIRS-prediktioner och våtkemiska analyser, där avvikelserna varierade mellan olika kommersiella kalibreringsmodeller. Författarna framhöll att även om korrelationerna i vissa fall var acceptabla kunde enskilda prover uppvisa betydande avvikelser från de laboratorieanalyserade värdena. Detta indikerar att goda korrelationer på gruppnivå inte nödvändigtvis innebär hög precision på individnivå, vilket kan begränsa metodens användbarhet vid praktiska utfodringsbeslut.

3.4.5 Fältbaserade metoder för uppskattning av sockerininnehåll

Förutom laboriebaserade analyser har enklare metoder föreslagits för snabb uppskattning av sockerininnehåll i växtmaterial. Refraktometri bygger på mätning av en lösnings brytningsindex, det vill säga hur mycket ljus ändrar riktning när det passerar genom en lösning. Resultaten uttrycks vanligen i Brixgrader (°Bx), vilket motsvarar mängden lösta fasta ämnen i en lösning (Magwaza & Opara 2015; Billman et al. 2024). Eftersom refraktometri mäter den totala mängden lösta ämnen snarare än enbart sockerarter kan andra komponenter, exempelvis

organiska syror, aminosyror, mineraler och andra lösliga ämnen, påverka resultaten. Billman et al. (2024) visade att Brixvärden inte konsekvent kunde prediktera koncentrationen av individuella eller totala sockerarter i vallväxter och att sambanden varierade för olika växtarter och provtagningstidpunkter. Variationerna förklarades sannolikt av skillnader i växtmaterialens kemiska sammansättning samt av att flera olika ämnen bidrar till lösningens brytningsindex.

3.4.6 Princip för glukosstickor

Glukosstickor används för semikvantitativ bestämning av glukoskoncentration i biologiska vätskor såsom urin. Metoden bygger på en glukosoxidas–peroxidas–kromogen metod, där glukos reagerar med reagens i testfältet och ger upphov till en färgförändring som relateras till glukoskoncentrationen i provet. Resultaten rapporteras vanligen som koncentrationsintervall eller kategoriska nivåer snarare än som exakta koncentrationer (Li & Huang 1997).

3.5 Metabola sjukdomar hos häst och betydelsen av sockerintag hos dessa

Metabola och endokrina sjukdomstillstånd hos häst utgör ett betydande kliniskt problem där utfodringen, särskilt intaget av lösliga kolhydrater (glukos, fruktos, sukros och fruktaner) samt stärkelse, har stor betydelse vid hantering av flera tillstånd och kan behöva kontrolleras. Grovfoder utgör basen i hästens foderstat men varierar i koncentrationen av lösliga kolhydrater, vilket betyder att det för utfodring av hästar med exempelvis EMS, PPID och PSSM behövs metoder för att enkelt ta reda på vallfodrets halt av WSC och andra icke-strukturella kolhydrater (Harris et al. 2017).

3.5.1 Ekvint metabolt syndrom

Ekvint metabolt syndrom karakteriseras av insulindysreglering, ökad adipositet och en ökad risk för utveckling av endokrin fäng (Frank et al. 2010; Durham et al. 2019). Insulindysreglering avser en störd reglering av insulin-, glukos- och lipidhomeostasen och kan manifestera sig som hyperinsulinemi, överdrivna insulinresponser efter intag av icke-strukturella kolhydrater såsom olika sockerarter och stärkelse, samt nedsatt vävnadskänslighet för insulin (Durham et al. 2019). I en experimentell studie visade Asplin et al. (2007) att långvarigt förhöjda insulinkoncentrationer kunde inducera fäng även i frånvaro av hyperglykemi.

Dietär hantering utgör en grundläggande del av behandling och förebyggande av EMS. Restriktion av intaget av NSC rekommenderas för att begränsa den

postprandiala insulinresponsen, och för hästar med insulindysreglering rekommenderas grovfoder med låga koncentrationer av socker och stärkelse, ofta med ett sammanlagt innehåll av NSC ≤ 10 % av torrsubstansen (Durham et al. 2019). Lindåse et al. (2018) rapporterade ett positivt samband mellan NSC-halten i hösilage och den postprandiala insulinresponsen hos kliniskt friska hästar utan tidigare känd insulindysreglering. Resultaten indikerade även att individuella skillnader i metabol status och insulinkänslighet kan påverka insulinresponsens storlek (Lindåse et al. 2018). Vidare visade Lindåse et al. (2016) att viktuppgång inducerad av ett foder med lågt innehåll av stärkelse och socker inte medförde någon ytterligare försämring av insulinkänsligheten hos de undersökta hästarna jämfört med före viktuppgången. Resultaten indikerade att utvecklingen av insulinresistens och hyperinsulinemi inte enbart påverkas av kroppsvikt/hull utan även av fodrets sammansättning och hästens individuella metabola status (Lindåse et al. 2016)

3.5.2 Pituitary *Pars Intermedia* Dysfunction

Pituitary *pars intermedia* dysfunction (PPID) är en kronisk, progressiv och åldersrelaterad neurodegenerativ sjukdom som främst drabbar äldre hästar. Sjukdomen uppstår till följd av degeneration av dopaminerga neuron i hypotalamus (McFarlane 2011; Menzies-Gow 2025). När den dopaminerga regleringen minskar ökar aktiviteten i hypofysens *pars intermedia*, vilket medför en ökad produktion av pro-opiomelanokortin (POMC)-deriverade peptider, däribland adrenokortikotropt hormon (ACTH) (McFarlane 2011). Pituitary *pars intermedia* dysfunction är den vanligaste endokrina sjukdomen hos äldre hästar, där prevalensen hos hästar äldre än 15 år har rapporterats uppgå till cirka 21–27 % (Ireland & McGowan 2018; Stewart et al. 2023). Kliniska tecken varierar mellan individer och sjukdomsstadier men inkluderar bland annat fördröjd eller ofullständig fällning av vinterpäls, onormal eller ökad hårväxt (hypertrikos), muskelförtvining, förändrad fettfördelning, ökad urinproduktion (polyuri), ökad törst (polydipsi) och fång (Ireland & McGowan 2018).

Pituitary *pars intermedia* dysfunction och EMS är separata endokrina sjukdomstillstånd men kan förekomma samtidigt, med viss överlappning avseende insulinreglering (Durham et al. 2019; Horn & Bertin 2019). Pituitary *pars intermedia* dysfunction medför inte nödvändigtvis störningar i insulinmetabolismen, men en del hästar utvecklar samtidig insulindysreglering, vilket har associerats med ökad risk för endokrin fång (Horn & Bertin 2019). Hos hästar med PPID förefaller risken för fång vara starkare associerad med samtidig hyperinsulinemi än med förhöjda ACTH-koncentrationer (Menzies-Gow et al. 2024). Hos hästar med PPID och samtidig insulindysreglering kan begränsning av intaget av NSC vara av betydelse för att minska den postprandiala

insulinresponsen och därmed potentiellt reducera risken för fång (Durham et al. 2019).

3.5.3 Polysaccharide Storage Myopathy

Polysaccharide storage myopathy (PSSM) är en muskelsjukdom som kännetecknas av onormal ackumulering av glykogen och polysackarider i skelettmuskulaturen. Sjukdomen delas vanligen in i typ 1 (PSSM1) och typ 2 (PSSM2). Polysaccharide storage myopathy typ 1 orsakas av en mutation i glykogensyntasgenen (*GYS1*), vilket leder till ökad aktivitet hos enzymet glykogensyntas och därmed ökad glykogeninlagring i muskelceller. Polysaccharide storage myopathy typ 2 utgör en mer heterogen grupp där de bakomliggande mekanismerna ännu inte är fullständigt klarlagda (McCue et al. 2008; Firshman & Valberg 2025). Vid PSSM förekommer förändringar i glukosupptag och glykogenmetabolism i skelettmuskulaturen. Studier har visat att hästar med PSSM uppvisar snabbare glukosc Clearance från blodet och ökat insulinmedierat glukosupptag jämfört med friska hästar (Corte et al. 1999; Annandale et al. 2004). Kliniska tecken varierar mellan individer och mellan olika former av PSSM men omfattar bland annat muskelstelhet, muskelsmärta, nedsatt prestationsförmåga samt återkommande ansträngningsutlösta muskelskador (exertional rhabdomyolysis, ER) (Valberg et al. 2011; Firshman & Valberg 2025). Dietens sammansättning har en viktig betydelse vid hantering av PSSM, särskilt hos hästar med PSSM1. Foder med högre innehåll av NSC kan ge upphov till högre postprandial glukos- och insulinrespons (Borgia et al. 2011). I en studie av Borgia et al. (2011) gav hö med 17 % NSC högre insulinrespons än hö med 4 % NSC hos både friska hästar och hästar med PSSM. Dietära strategier bygger därför vanligen på att begränsa intaget av socker och stärkelse samtidigt som en större andel av energin vid behov tillförs via fettkällor (Ribeiro et al. 2004; Valberg et al. 2011). Koncentrationen av lättlösliga kolhydrater i vallfoder kan därför vara relevant vid utfodring av hästar med PSSM eftersom olika sockerarter och stärkelse bidrar till den totala mängden NSC i foderstaten

4. Material och metod för experimentell studie

4.1 Material

Prover bestående av hö, hösilage, ensilage och betesgräs användes i studien. Provmaterialet utgjordes av foderprover från ett foderprovsbibliotek vid Foderlaboratoriet, Institutionen för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd, SLU, där innehåll av WSC och andra näringskomponenter tidigare analyserats med standardiserade laboratoriemetoder. De prover som användes i huvudstudien utgjordes av torkat och malet material från foderprovsbiblioteket. Proverna hade tidigare analyserats med den enzymatisk-spektrofotometriska metoden enligt Udén (2006), och referensvärden för total WSC samt dess ingående fraktioner glukos, fruktos, sukros och fruktaner fanns därför tillgängliga. För analys av total WSC och dess fraktioner glukos, fruktos, sukros och fruktaner användes en enzymatisk-spektrofotometrisk metod enligt Udén (2006). Metoden bygger på enzymatisk bestämning av olika kolhydratfraktioner där glukos och fruktos bestäms direkt i extraktet, medan sukros och fruktaner först hydrolyseras. Den enzymatiska slutbestämningen baseras på fosforylering av glukos och fruktos med hexokinas i närvaro av adenosintrifosfat (ATP), följt av oxidation av glukos-6-fosfat med glukos-6-fosfatdehydrogenas i närvaro av nikotinamidadenindinukleotidfosfat (NADP). För bestämning av fruktos omvandlas fruktos-6-fosfat till glukos-6-fosfat med hjälp av fosfoglukosisomeras. Under reaktionen reduceras NADP till NADPH, vars absorbans mäts spektrofotometriskt vid 340 nm. Mängden bildad NADPH är direkt proportionell mot koncentrationen av respektive monosackarid i provet (Udén 2006). Dessa analysvärden användes som referensvärden vid jämförelse med resultaten från refraktometri med avläsning av Brixgrader samt glukosstickor med semikvantitativa koncentrationsnivåer från 100 till ≥ 2000 milligram per deciliter (mg/dl). Totalt analyserades 261 foderprov. Proverna valdes ut från tillgängligt provmaterial för att inkludera ett brett spektrum av vallfodertyper och skapa stor variation i koncentrationen av WSC och individuella sockerfraktioner. Materialet omfattade prover från olika projekt, skördetillfällen och vallfodertyper för att representera variation som förekommer i praktiska utfodringssituationer.

Material och utrustning som användes under studien omfattade glukosstickor (Urine Strip 1, Dialab, Wiener Neudorf, Österrike), refraktometer (Buch & Holm, Handrefraktometer RBO, mätområde 0–32 °Brix), engångspipett (100–1000 μ L), glasbägare (100 ml), kaffekvarn (Menuett, Julia AB, Skara, Sverige), vattenkokare (Menuett, Julia AB, Skara, Sverige), handhållen fruktpress, kaffefilter (Menuett,

Jula AB, Skara, Sverige), druvsocker (Dextrosol) som positiv kontroll (Classic Sticks 47 g, Dextro Energy, Krefeld, Tyskland) samt termometer.

4.2 Metodtest för extraktberedning

En inledande metodtestning genomfördes på tio foderprov i syfte att identifiera en praktiskt genomförbar och reproducerbar extraktberedningsmetod för bestämning av sockerhalten i vallfoderprov med hjälp av refraktometer och glukosstickor. De prover som användes vid metodtestet utgjordes av frysta vallfoderprover som ännu inte genomgått laboratoriets ordinarie torkning och malning. Proverna användes för att utvärdera effekten av olika provberedningsmetoder innan den slutliga provberedningsmetoden fastställdes för huvudstudien. I metodutvecklingen undersöktes hur provets fysiska form (malt eller långstråigt), extraktionstemperatur (kallt eller varmt) och filtrering påverkade resultaten från de båda mätmetoderna. Kallt vatten motsvarade rumstempererat vatten ($\sim 20^\circ\text{C}$), medan varmt vatten utgjordes av kokande vatten direkt från en vattenkokare. För samtliga behandlingar användes 10 g foderprov och 50 ml vatten (extraktionsförhållande 1:5, vikt/volym). De olika provberedningsbehandlingarna som ingick i metodtestet presenteras i tabell 6.

Tabell 6. Extraktberedningar som testades vid metodutveckling för analys av sockerhalt i vallfoder med refraktometer och glukosstickor

Behandling	Provberedning
A	Långstråigt + kallt vatten
B	Långstråigt + varmt vatten
C	Malt + kallt vatten
D	Malt + varmt vatten
E	Långstråigt + kallt vatten + filtrering
F	Långstråigt + varmt vatten + filtrering
G	Malt + kallt vatten + filtrering
H	Malt + varmt vatten + filtrering

Behandling A, B, E och F (tabell 6) innebar att provet lades i varmt respektive kallt vatten under tio minuter. Behandlingarna C, D, G och H med malt material (tabell 6) innebar att provet maldes i en elektrisk kaffekvarn före extraktion med vatten under fem minuter. Efter extraktion pressades provet i samtliga behandlingar med en handhållen fruktpress för att erhålla vätska till analys. I behandlingar med filtrering (E–H) filtrerades extraktet dessutom genom ett kaffefilter efter pressning i fruktpressen. Filtrering inkluderades för att undersöka om avlägsnande av partiklar påverkade mätresultatet eller metodernas reproducerbarhet.

För varje extraktberedningsvariant analyserades extraktet med både refraktometer och glukosstickor. Tre upprepade mätningar utfördes med respektive mätmetod för att bedöma metodernas reproducerbarhet, och variationskoefficienten ($CV = \text{standardavvikelse}/\text{medelvärde} \times 100$) beräknades för respektive behandling. Den slutliga provberedningsmetoden valdes utifrån kriterierna praktisk genomförbarhet, tillräcklig mängd extrakt för mätning samt låg variationskoefficient mellan upprepade mätningar.

4.2.1 Omräkning av analysvärden

Resultaten från glukosstickor och refraktometer registrerades initialt i enheterna mg/dl respektive °Brix. För att möjliggöra jämförelser mellan mätmetoderna samt mellan prover med olika torrsubstanshalt omräknades resultaten till gram per kg torrsubstans (g/kg ts). Vid extraktionen användes 10 g foderprov och 50 ml kranvatten. Torrsubstanshalten för respektive prov (som bestämts i tidigare analys av provet) användes därefter för att relatera de uppmätta koncentrationerna till mängden torrsubstans i provet. Samtliga omräkningar genomfördes i Microsoft Excel före statistisk analys.

Värden från glukosstickorna omräknades från mg/dl till g/kg ts genom korrigering för extraktionsvolym och provets torrsubstanshalt. Omräkningen baserades på koncentrationen i extraktet, extraktionsvolymen samt mängden torrsubstans i provet enligt:

$$\text{Glukossticka} \left(\frac{g}{kg} \text{ ts} \right) = \frac{(C_{sticka} \times V_{extrakt} \times 10)}{(m_{prov} \times ts)}$$

där C_{sticka} motsvarar koncentrationen uppmätt med glukosstickan (mg/dl), $V_{extrakt}$ är extraktionsvolymen (l), m_{prov} är mängden foderprov (g) och ts är provets torrsubstanshalt uttryckt som decimal. Refraktometervärden uttryckta i °Brix användes som ett mått på koncentrationen av lösta ämnen i extraktet. Eftersom °Brix anger gram lösta ämnen per 100 g lösning omräknades värdena till g/kg ts med hänsyn till extraktionsförhållandet och provets torrsubstanshalt enligt:

$$\text{Refraktometer} \left(\frac{g}{kg} \text{ ts} \right) = \frac{(Brix \times m_{lösning} \times 10)}{(100 \times m_{prov} \times ts)}$$

där $Brix$ motsvarar refraktometervärdet i °Brix och $m_{lösning}$ är lösningens massa (g) och ts är provets torrsubstanshalt uttryckt som decimal.

4.2.2 Statistisk analys av metodtest

De omräknade analysvärdena användes därefter i den statistiska analysen av metodtestet. Statistiska analyser genomfördes i SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) med PROC MIXED. I den övergripande analysen inkluderades behandling som fast effekt och provID som upprepad faktor för att beakta att flera

behandlingar utfördes på samma foderprov. Skillnader mellan behandlingar analyserades med Tukey-korrigerade parvisa jämförelser. $P > 0.05$ betraktades som statistiskt säkerställda skillnader mellan medelvärden.

För att undersöka effekten av de enskilda behandlingsfaktorerna analyserades mätresultaten från refraktometern och glukosstickorna även separat med avseende på struktur (malt respektive långstråigt material), extraktionstemperatur (kallt respektive varmt vatten) och filtrering (med eller utan filtrering). Resultaten från dessa analyser presenteras i tabell 7 och 8.

Tabell 7. P-värden för effekten av olika provberedningsfaktorer i metodtestet för analys av sockerhalt i vallfoder med refraktometer och glukossticka

Provberedningsfaktor	Refraktometer	Glukossticka
Struktur, malt vs långstråigt material	$P < 0,0001$	$P = 0,0001$
Temperatur, varmt vs kallt vatten	$P < 0,0001$	$P = 0,1059$
Filtrering, med vs utan filtrering	$P = 0,9577$	$P = 0,8622$

I metodtestet gav malning högre mätvärden än långstråigt material för både glukossticka och refraktometer. Effekten av struktur var signifikant för både glukossticka ($p = 0,0001$) och refraktometer ($p < 0,0001$). Temperatur hade ingen signifikant effekt på glukosstickans mätvärden ($p = 0,1059$), men varm extraktion gav högre refraktometervärden än kall extraktion ($p < 0,0001$). Filtrering hade ingen signifikant effekt på mätvärdena för vare sig glukossticka ($p = 0,8622$) eller refraktometer ($p = 0,9577$).

Tabell 8. Mätvärden från metodtestet för glukossticka och refraktometer vid olika provberedningsmetoder. Värden anges som medelvärde $\pm$ standardavvikelse (SD) i gram per kg torrsustans.

Struktur	Temperatur	Filter	Refraktometer	Glukossticka
Långstråigt	Varmt	Ja	$14,12 \pm 5,79$	$48,83 \pm 18,47$
Långstråigt	Varmt	Nej	$15,49 \pm 5,97$	$48,83 \pm 18,47$
Mald	Kallt	Ja	$24,52 \pm 13,45$	$109,24 \pm 14,18$
Mald	Kallt	Nej	$21,29 \pm 7,11$	$108,49 \pm 14,65$
Mald	Varmt	Ja	$28,06 \pm 13,41$	$139,65 \pm 22,75$
Mald	Varmt	Nej	$28,53 \pm 13,51$	$139,63 \pm 22,69$

För att bedöma reproducerbarheten mellan upprepade mätningar beräknades variationskoefficienten (CV) för varje behandling enligt:

$$CV (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

Där SD representerar standardavvikelsen och $\bar{x}$ medelvärdet för de upprepade mätningarna. Resultaten från CV-beräkningarna presenteras i tabell 9. Behandling

A och E saknade användbara CV-värden eftersom extraktion med kallt vatten i långstråigt material gav mycket låga eller ej mätbara värden.

Tabell 9. Variationskoefficient (CV) för glukosstickor och refraktometer vid olika provberedningsbehandlingar i metodtest. Värden anges som medel $\pm$ standardavvikelse (SD)

Behandling	Provberedning	CV glukossticka (%)	CV refraktometer (%)
A	Långstråigt + kallt vatten	-	-
B	Långstråigt + varmt vatten	29,44 $\pm$ 20,49	0,00 $\pm$ 0,00
C	Malt + kallt vatten	6,97 $\pm$ 22,03	0,00 $\pm$ 0,00
D	Malt + varmt vatten	4,33 $\pm$ 13,69	0,00 $\pm$ 0,00
E	Långstråigt + kallt vatten + filtrering	-	-
F	Långstråigt + varmt vatten + filtrering	15,01 $\pm$ 24,97	0,00 $\pm$ 0,00
G	Malt + kallt vatten + filtrering	12,12 $\pm$ 19,66	0,00 $\pm$ 0,00
H	Malt + varmt vatten + filtrering	7,79 $\pm$ 16,56	0,00 $\pm$ 0,00

Refraktometern uppvisade genomgående mycket låga variationskoefficienter mellan upprepade mätningar, medan glukosstickorna generellt uppvisade högre variation mellan replikat (tabell 9). Vid tolkning av resultaten beaktades att endast mald struktur förekom vid kall extraktionstemperatur, vilket innebar att effekterna av struktur och temperatur delvis var sammanblandade och därför inte helt kunde tolkas oberoende av varandra.

4.3 Val av metod för provberedning

Baserat på resultaten från provberedningstestet valdes den metod (D) där foderprovet maldes före extraktion med varmt vatten och därefter pressades för att erhålla vätska till mätning. Valet grundades på att malda prover generellt gav tydligare och högre uppmätta koncentrationer än långstråigt material för både refraktometer och glukosstickor, samtidigt som varm extraktion gav högre mätvärden än kall extraktion, särskilt vid analys med refraktometer. Filtrering visade ingen effekt på resultaten för någon av mätmetoderna och inkluderades därför inte i den slutliga metodiken då så få steg som möjligt var önskvärt för att metoden skall kunna användas fältmässigt. Den valda metoden bedömdes ge en god kombination av reproducerbarhet, praktisk hanterbarhet och tillräcklig mängd extrakt för mätning och användes därför i den fortsatta studien.

4.3.1 Provberedning och extraktion

Samtliga foderprov bereddades enligt den valda metod D. För varje prov vägdes 10 g malt foder upp och placerades i en glasbägare (100 ml). Därefter tillsattes 50 ml kokande vatten från en vattenkokare. Blandningen fick extrahera under 20 minuter i rumstemperatur. Efter extraktion absorberade det malda foderprovet en stor del av vätskan. För att återvinna extraktet pressades därför provet med hjälp av en handhållen fruktpress, varvid vätskan samlades upp i en ny glasbägare för mätning med refraktometer och glukossticka. Varje foderprov analyserades en gång med respektive mätmetod.

4.3.2 Mätning med refraktometer

En till två droppar av extraktet applicerades på refraktometerns prisma med hjälp av en engångspipett och mätningen utfördes med en handhållen refraktometer enligt tillverkarens instruktioner. Instrumentets nollpunkt kontrollerades före varje analysdag med destillerat vatten, vilket även användes som negativ kontroll. Som positiv kontroll användes en arbetslösning beredd från Dextrosol (89 % druvsocker). Stocklösningen framställdes genom att 10,00 g Dextrosol löstes i destillerat vatten och spädades till 100 ml. Därefter pipetterades 1,0 ml av stocklösningen och spädades till 100 ml med destillerat vatten, vilket gav en slutlig glukoskoncentration på 89 mg/dl. Den positiva kontrollen analyserades i början av varje analysdag för att kontrollera instrumentets stabilitet. Prismat rengjordes mellan proverna med destillerat vatten och mjukt papper för att undvika kontaminering, och Brixvärdet avlästes en gång för varje foderprov.

4.3.3 Analys med glukossticka

För analys med glukosstickor doppades stickan i extraktet, varefter överskottsvätska avlägsnades genom att stickan fördes mot kanten på glasbägaren. Glukosstickan placerades därefter på absorberande papper med reagensfältet uppåt. Avläsning utfördes efter cirka 30 sekunder genom jämförelse med färgskalan enligt tillverkarens instruktioner. Glukosstickorna hade ett semikvantitativt mätintervall på 100 - $\geq$ 2000 mg/dl. Resultatet noterades enligt den koncentrationsnivå som bäst motsvarade färgförändringen på stickan. Varje foderprov analyserades en gång med glukosstickorna.

Vid öppning av varje ny burk med glukosstickor utfördes både positiv och negativ kontroll. Destillerat vatten användes som negativ kontroll. Som positiv kontroll användes en arbetslösning beredd från Dextrosol (89 % druvsocker), där 10,00 g Dextrosol löstes i destillerat vatten och spädades till 100 ml för framställning av en stocklösning. Därefter pipetterades 1,0 ml av stocklösningen och spädades till 100 ml med destillerat vatten, vilket gav en slutlig glukoskoncentration på 89 mg/dl.

4.4 Databearbetning och statistisk analys

Samtliga data sammanställdes och bearbetades i Microsoft Excel innan statistisk analys genomfördes i SAS 9.4. Totalt inkluderades 261 foderprover i den slutliga databearbetningen. Resultaten från refraktometermätning och glukosstickor omräknades från direkt avlästa värden (°Brix respektive mg/dl) till gram per kg torrsubstans (g/kg ts) för att möjliggöra jämförelse med laboratorieanalyserade värden för lösliga kolhydrater (WSC). För refraktometern användes både direkt uppmätta Brix-värden samt omräknade värden uttryckta i g/kg ts i de statistiska analyserna.

Pearson-korrelationer användes för att undersöka samband mellan refraktometervärden och laboratorieanalyserade värden för total WSC, glukos, sukros, glukos + sukros samt fruktan. Spearman-korrelationer användes för glukosstickornas mätvärden eftersom dessa gav semikvantitativa nivåer snarare än kontinuerliga mätvärden. Regressionsanalyser genomfördes för att undersöka hur väl refraktometri och glukosstickor kunde prediktera analyserade värden för total WSC, glukos samt glukos + sukros.

För att utvärdera överensstämmelsen mellan metoderna och laboratorieanalyserade värden användes även Bland–Altman-analyser. Dessutom genomfördes logistiska regressionsanalyser där WSC-halten klassificerades som över eller under 100 g/kg ts för att undersöka mätmetodernas potential som screeningverktyg för identifiering av foder med hög sockerhalt (över 100 g per kg ts). För att ytterligare undersöka sambandet mellan mätmetoderna och analyserad total WSC-koncentration delades proverna in i fyra WSC-kategorier; ≤ 50 , 51–100, 101–150 och >150 g WSC/kg ts. Därefter användes ordinal logistisk regression för att analysera sambanden mellan refraktometer, glukosstickor och de olika WSC-kategorierna. Skillnader och samband bedömdes som statistiskt säkerställda vid $p < 0,05$.

5. Resultat

5.1 Beskrivning av vallfoderproverna

De analyserade vallfoderproverna uppvisade stor variation i koncentrationen av olika sockerfraktioner och total WSC. Glukosstickornas mätvärden fördelades över flera mätintervall. Beskrivande statistik för analyserade värden och indirekta mätmetoder presenteras i tabell 10.

Tabell 10. Beskrivande statistik för analyserade sockerfraktioner, refraktometervärden och glukosstickornas mätvärden i vallfoderprover

Variabel	Minimum	Maximum	Medel	SD
Enzymatisk-spektrofotometrisk analys				
Glukos, g/kg ts	-0,25	289,91	52,78	53,45
Sukros, g/kg ts	-1,43	251,97	19,87	29,64
Fruktaner, g/kg ts	-0,64	251,97	31,30	42,55
Total WSC, g/kg ts	3,02	499,90	151,14	123,63
WSC				
Glukos, % av total WSC	-1,79	93,80	34,80	19,90
Sukros, % av total WSC	-0,55	86,50	20,01	17,39
Fruktaner, % av total WSC	-0,71	72,73	15,64	14,39
Refraktometri				
Brixgrader (°Bx)	10,00	35,00	20,57	4,14
Refraktometer, g/kg ts	76,70	390,99	161,96	49,39
Glukossticka				
Glukossticka, g/kg ts	0,00	52,00	15,43	8,21

5.2 Samband mellan mätmetoder och analyserade sockerfraktioner

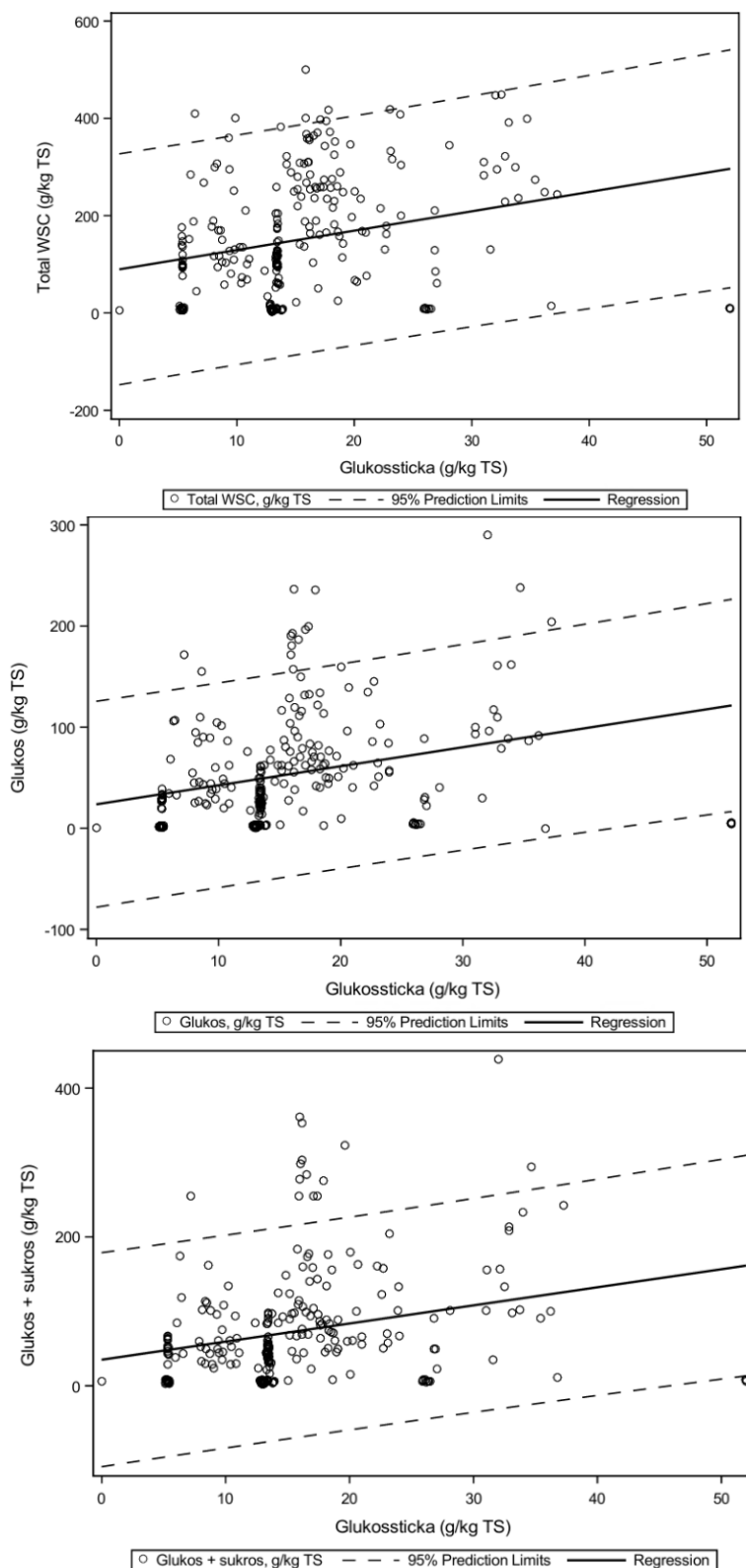
Samband mellan resultaten från mätningar med refraktometer och glukosstickor och resultaten från den enzymatisk-spektrofotometriska analysen av glukos, sukros och fruktaner samt total WSC undersöktes med Pearsons korrelation för refraktometermätningarna då de utgjorde kontinuerliga data, och med Spearmans rangkorrelation för glukosstickor eftersom dessa gav intervallbaserade snarare än kontinuerliga mätvärden. Resultaten presenteras i tabell 11.

Tabell 11. Korrelationskoefficienter mellan analyserade värden av de olika fraktionerna av WSC samt total WSC i vallfoderprov och mätningar gjorda med refraktometer (Pearsons korrelationskoefficient, r) i Brixgrader och omräknat till g per kg torrsubstans (ts), eller glukossticka (Spearman's rangkorrelationskoefficient, ρ)

Variabel	Mätmetod	Enhet	Korrelationskoefficient	P-värde
Glukos	Refraktometer	g/kg ts	0,27	<0,001
Sukros	Refraktometer	g/kg ts	0,03	0,624
Fruktaner	Refraktometer	g/kg ts	0,0003	0,997
Glukos + sukros	Refraktometer	g/kg ts	0,21	0,0007
Total WSC	Refraktometer	g/kg ts	0,21	0,0007
Glukos	Refraktometer	°Bx	-0,05	0,442
Sukros	Refraktometer	°Bx	-0,01	0,868
Fruktaner	Refraktometer	°Bx	-0,09	0,135
Glukos + sukros	Refraktometer	°Bx	-0,04	0,539
Total WSC	Refraktometer	°Bx	-0,15	0,015
Glukos	Glukosstick	g/kg ts	0,45	<0,0001
Glukos + sukros	Glukossticka	g/kg ts	0,41	<0,0001
Total WSC	Glukossticka	g/kg ts	0,42	<0,0001

[#]Korrelationskoefficient avser Pearsons korrelationskoefficient (r) för refraktometermätningar och Spearman's rangkorrelationskoefficient (ρ) för glukosstickor.

Refraktometervärdena visade genomgående svaga samband med de analyserade sockerfraktionerna både då de uppmätta Brixgraderna användes och då de räknats om till g per kg ts (tabell 11). Svaga men statistiskt säkerställda positiva samband observerades mellan refraktometermätningarna och total WSC-koncentration samt mellan refraktometermätningarna och analyserad glukoshalt då enheten var g per kg ts. Däremot sågs inga tydliga samband mellan refraktometermätningarna och koncentrationen av sukros eller fruktan i enheten g per kg ts. När de direkt uppmätta Brixgraderna användes i stället blev sambanden generellt ännu svagare (tabell 11). Inga spridningsdiagram eller regressioner beräknades därför för refraktometervärdena då korrelationen ansågs vara för svag. Glukosstickorna uppvisade starkare samband med de analyserade sockerfraktionerna jämfört med refraktometern, och visade måttligt starka positiva samband med total WSC-koncentration, glukoshalt samt den sammanlagda koncentrationen av glukos + sukros (tabell 11). Spridningsdiagram för dessa visade dock fortsatt stor spridning mellan glukosstickornas mätresultat och de analyserade värdena (Figur 1a-c).



Figur 1a-c. Samband mellan glukosstickans skattade koncentration av glukos (g/kg torrsubstans, ts) och analyserade koncentrationer av (a) total WSC, (b) glukos samt (c) summan av glukos och sukros i vallfoderprov. Helledragen linje visar regressionslinjen och streckade linjer visar 95 % prediktionsgränser.

För att undersöka den procentuella andelen av glukos av total WSC gentemot glukosstickornas mätvärden analyserades glukosandelen (% av total WSC) i relation till glukosstickornas skattade koncentration. Resultaten visas i tabell 12.

Tabell 12. Samband mellan glukosandel (% av total WSC) och glukosstickans skattade koncentration (g/kg torrs substans), korrelationskoefficienter och förklaringsgrader

Statistisk analys	Jämförelse	Värde
Pearson-korrelation	Glukosandel (%) vs glukossticka	$r = 0,234$
Spearman-rangkorrelation	Glukosandel (%) vs glukossticka	$\rho = 0,276$
Enkel regression	Glukosandel $\rightarrow$ glukossticka	$R^2 = 0,055$
Multipel regression	Total WSC + glukosandel $\rightarrow$ glukossticka	$R^2 = 0,124$

r = Pearsons korrelationskoefficient, ρ = Spearmans rangkorrelationskoefficient och R^2 = modellens förklaringsgrad

Eftersom glukosstickorna uppvisade starkare samband med analyserade sockerfraktioner än refraktometern analyserades dessa vidare med linjära regressionsmodeller. Regressionsanalyser genomfördes för koncentrationen av total WSC, glukos samt glukos + sukros. För sambandet mellan glukossticka och total WSC erhöles regressionslikvationen:

$$WSC - halt (g/kg ts) = 89.85 + 3.97 \times \text{glukosstickans mätvärde}$$

Modellen var statistiskt säkerställd ($p < 0,0001$) men hade låg förklaringsgrad ($R^2 = 0,07$), vilket innebär att cirka 7 % av variationen i analyserad total WSC-koncentration kunde förklaras av glukosstickans värde.

För sambandet mellan glukossticka och analyserad glukoshalt erhöles regressionslikvationen:

$$Glukos (g/kg ts) = 23.77 + 1.88 \times \text{glukosstickans mätvärde}$$

Även denna modell var statistiskt säkerställd ($p < 0,0001$) men hade låg förklaringsgrad ($R^2 = 0,08$). För sambandet mellan glukossticka och summan av analyserade halter av glukos + sukros erhöles regressionslikvationen:

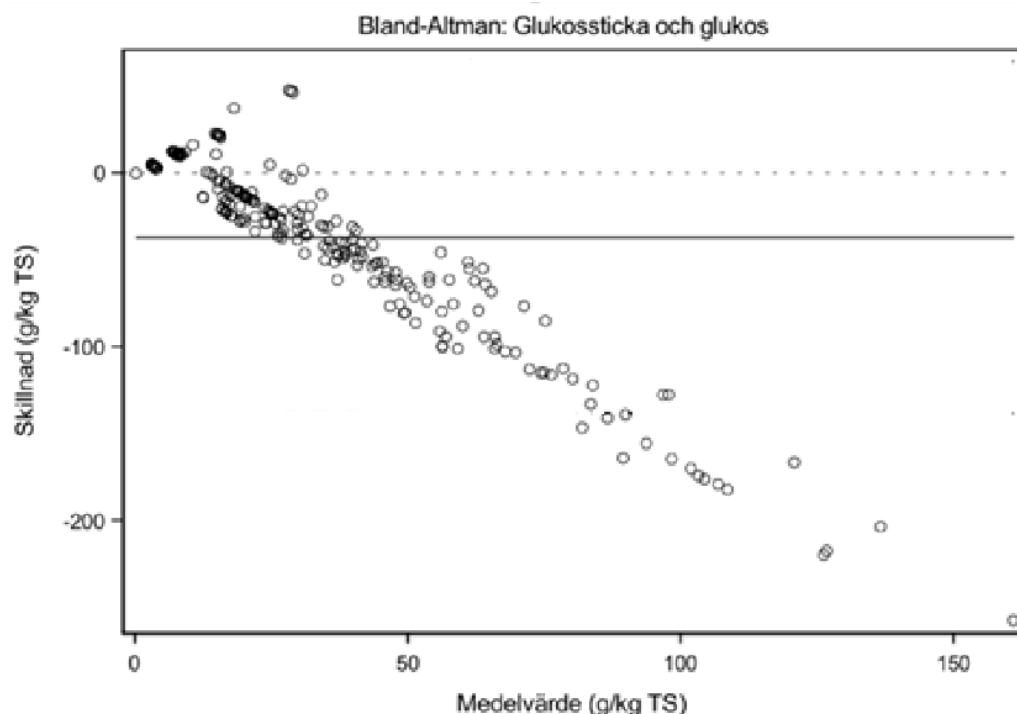
$$Glukos + sukros (g/kg ts) = 35.13 + 2.43 \times \text{glukosstickans mätvärde}$$

Modellen var statistiskt säkerställd ($p < 0,0001$) med en förklaringsgrad på $R^2 = 0,07$. Spridningsdiagrammen visade generellt stor spridning kring regressionslinjerna för samtliga modeller, vilket indikerade stor variation i de analyserade värdena vid samma mätvärde och därmed en begränsad precision hos

mätmetoderna. Refraktometern visade lägre förklaringsgrad än glukosstickorna och analyserades därför inte vidare i regressionsmodellerna

5.3 Bland-Altman-analyser

Bland–Altman-analys genomfördes för att undersöka överensstämmelsen mellan glukosstickornas mätvärden och analyserad glukoskoncentration i vallfoderprover (Figur 2). Analysen visade en bias på $-37,3$ g/kg torrsubstans, vilket indikerar att glukosstickorna i genomsnitt skattade lägre koncentrationer än de enzymatiskt-spektrofotometriskt analyserade glukosvärdena. Bland–Altman-plottarna visade en betydande spridning mellan individuella observationer, vilket tyder på begränsad överensstämmelse mellan glukosstickornas mätvärden och analyserad glukoshalt.



Figur 2. Bland–Altman-plott som visar överensstämmelsen mellan glukosstickans skattade koncentration (g/kg torrsubstans) och analyserad glukoskoncentration i vallfoderprov. Den heldragna linjen visar medelskillnaden mellan metoderna (bias) och den streckade linjen visar nollskillnad mellan metoderna.

5.4 Klassificering i fyra WSC- kategorier

För att undersöka metodernas förmåga att identifiera olika nivåer av WSC delades proverna in i fyra kategorier: ≤ 50 g WSC/kg TS, 51–100 g WSC/kg TS, 101–150 g WSC/kg TS samt ≥ 150 g WSC/kg TS.

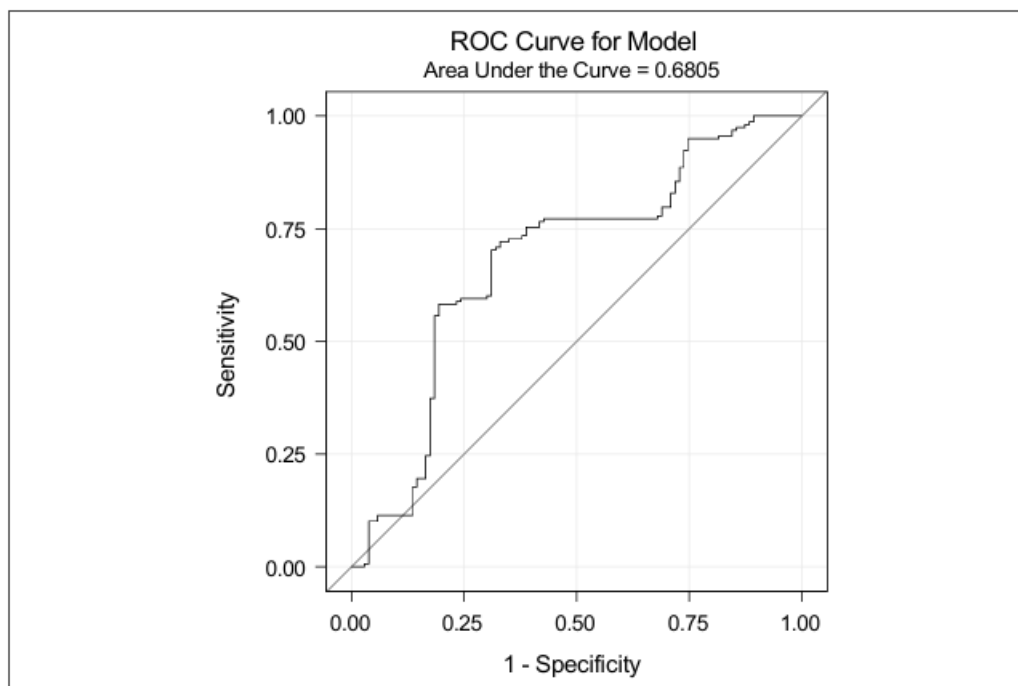
Ordinal logistisk regression användes initialt för analyserna. Glukosstickorna visade högst diskrimineringsförmåga med ett c-värde på cirka 0,685, där c-värdet beskriver modellens förmåga att skilja mellan observationer i olika kategorier och kan variera mellan 0,5 (ingen diskrimineringsförmåga) och 1,0 (perfekt diskrimineringsförmåga). Refraktometern gav lägre c-värden med både Brixgrader och omräknade värden till g per kg ts.

För modellerna baserade på glukosstickor och Brix-värden uppfylldes dock inte proportional odds-antagandet, vilket indikerade att sambanden mellan prediktorer och WSC-kategorier inte var konstanta mellan kategorigränserna. Därför testades även multinomial logistisk regression som alternativ modell. Vid multinomial logistisk regression uppstod varningar om nästan fullständig separation (quasi-complete separation) i vissa modeller, särskilt när glukosstickornas nivåer användes direkt som kategorisk variabel. Detta indikerade att vissa sticknivåer nästan helt förutsade vissa WSC-kategorier, vilket gjorde modellerna instabila.

5.5 Klassificering av låg och hög WSC-halt

För att undersöka om mätmetoderna kunde användas för att skilja mellan foder med låg respektive hög sockerhalt delades proverna in i två grupper: ≤ 100 g WSC per kg torrs substans och > 100 g WSC per kg torrs substans. Gränsen 100 g WSC per kg torrs substans valdes eftersom denna nivå ofta används praktiskt vid bedömning av lämpligheten av vallfoder till hästar med metabola störningar, även om vetenskapligt underlag för denna är begränsat. Logistisk regression användes för att undersöka om mätmetoderna kunde identifiera prover med låg respektive hög WSC-halt.

I ROC-analysen uppvisade glukosstickorna den högsta diskrimineringsförmågan för klassificering av vallfoderprover med ≤ 100 respektive > 100 g WSC per kg torrs substans, med ett AUC-värde (area under kurvan) på cirka 0,68 (Figur 3). Motsvarande värden för refraktometern var cirka 0,62 när omräknade värden i g/kg torrs substans användes och cirka 0,59 när direkt uppmätta Brixgrader användes. Ett AUC-värde beskriver modellens förmåga att korrekt klassificera prover i de två grupperna, där ett värde på 0,5 motsvarar ingen diskrimineringsförmåga och ett värde på 1,0 motsvarar perfekt diskriminering.



Figur 3. ROC-kurva för glukosstickans förmåga att klassificera vallfoderprover med ≤ 100 respektive > 100 g WSC per kg torrs substans. Den diagonala linjen visar en klassificering som inte är bättre än slumpen ($AUC = 0,5$), medan kurvor som ligger längre från diagonalen indikerar bättre diskrimineringsförmåga. Den observerade ROC-kurvan hade ett AUC-värde på 0,68, vilket indikerar en begränsad men bättre än slumpmässig förmåga att skilja mellan prover med låg respektive hög WSC-koncentration.

Kombinationen av refraktometer och glukossticka förbättrade inte modellen nämnvärt jämfört med glukosstickan ensam.

6. Diskussion

6.1 Diskussion av litteratur och teoretisk bakgrund

Bestämning av sockerhalten i vallfoder kompliceras av att lättlösliga kolhydrater inte utgör en enhetlig kemisk fraktion utan omfattar flera olika sockerfraktioner med varierande struktur och egenskaper. Lättlösliga kolhydrater inkluderar monosackarider såsom glukos och fruktos, disackarider såsom sukros samt fruktaner med varierande grad av polymerisering (Hall et al., 1999; Hall, 2003). Detta innebär att två vallfoder kan uppvisa liknande total WSC-koncentration samtidigt som de skiljer sig betydligt avseende den relativa fördelningen mellan glukos, fruktos, sukros och fruktaner. Denna heterogenitet bidrar till svårigheten att utveckla enkla indirekta metoder för uppskattning av vallfodrets sockerhalt. Exempelvis är det rimligt att anta att metoder som bygger på detektion av en enskild sockerfraktion, såsom glukosstickor som specifikt reagerar på glukos, eller metoder som baseras på ospecifika fysikaliska egenskaper, såsom refraktometri, påverkas av variation i provens kemiska sammansättning. Medan glukosstickornas respons sannolikt främst påverkas av förhållandet mellan olika sockerarter, kan refraktometriska mätningar även påverkas av andra vattenlösliga komponenter som bidrar till lösningens brytningsindex. Två vallfoder med liknande total WSC-koncentration skulle därmed kunna ge olika mätresultat vid användning av glukosstickor eller refraktometri beroende på om den dominerande fraktionen utgörs av glukos, sukros eller fruktaner. Detta skulle kunna bidra till den stora spridning som observerades kring regressionslinjerna i denna studie och delvis förklara de relativt svaga sambanden mellan de indirekta mätmetoderna och analyserade koncentrationer av total WSC. Skillnaderna är även biologiskt relevanta eftersom glukos, fruktos, sukros och fruktaner skiljer sig åt avseende digestion och absorption i hästens mag-tarmkanal, vilket i sin tur potentiellt även påverkar hästens energimetabolism och postprandiala glukos- och insulinrespons. Glukos, fruktos och sukros hydrolyseras och absorberas huvudsakligen i tunntarmen, medan fruktaner inte kan hydrolyseras av hästens endogena enzymer i tunntarmen. Fruktaner har därför traditionellt ansetts passera vidare till grovtarmen, där de fermenteras av den mikrobiella populationen till framför allt flyktiga fettsyror såsom acetat, propionat och butyrat, vilka därefter kan absorberas och användas som energikälla av hästen (Longland & Byrd, 2006). Nyare studier har dock indikerat att vissa fruktaner från gräs delvis kan försvinna före blindtarmen, vilket antyder att omsättningen av fruktaner hos häst kan vara mer komplex än vad som tidigare antagits (Stang et al., 2023). Det finns indikationer på att en del fruktaner eller deras nedbrytningsprodukter inte återfinns i samma omfattning före blindtarmen, men det är ännu oklart i vilken utsträckning dessa produkter absorberas över tarmepitelet, används av

mikroorganismer eller transporteras vidare till grovtarmen för fortsatt fermentation. För att kunna klarlägga dessa processer krävs mer avancerade studier med spårbara molekyler, exempelvis isotop- eller radioaktivt märkta substrat. Eftersom fruktaner dessutom utgör en heterogen grupp av molekyler med varierande struktur och polymerisationsgrad är deras metabola effekter och betydelse för hästens näringsförsörjning ännu inte fullständigt klarlagda.

Litteraturen visar att koncentrationen och sammansättningen av lättlösliga kolhydrater i vallfoder påverkas av flera faktorer, däribland växtart, sort inom art, utvecklingsstadium, temperatur, ljusintensitet och tillväxtförhållanden (Longland & Byrd 2006; Shewmaker et al. 2006; Kagan 2022; Stang et al. 2023). Fruktaner utgör exempelvis en stor andel av de lättlösliga kolhydraterna i många tempererade gräsarter, medan andra tempererade gräsarter i större utsträckning kan innehålla högre andelar glukos och sukros. Dessutom varierar förhållandet mellan fruktaner, glukos och sukros både över dygnet och under växtens utveckling (Longland & Byrd, 2006; Kagan, 2022). Detta skulle kunna vara relevant vid användning av de indirekta mätmetoderna i denna studie eftersom metoderna bygger på olika analysprinciper och inte direkt kvantifierar samtliga komponenter som ingår i WSC-fraktionen. Glukosstickorna reagerar specifikt på glukos, medan refraktometern uppskattar den totala mängden lösta ämnen i extraktet utan att särskilja mellan olika sockerfraktioner och andra lösta ämnen. Utöver variation i växtmaterialets sammansättning kan även konserveringsmetoden påverka den kemiska sammansättningen i vallfoder. Tidigare studier har visat att hö, hösilage och ensilage kan skilja sig avseende både koncentration och sammansättning av lättlösliga kolhydrater till följd av skillnader i respirationsförluster och mikrobiell fermentation under konserveringsprocessen (McDonald et al., 2022; Müller et al., 2016). Konserveringsprocessen kan även påverka proportionerna mellan olika sockerfraktioner. Under ensileringsprocessen används exempelvis glukos, fruktos och sukros som substrat vid mikrobiell fermentation, vilket kan förändra den relativa fördelningen mellan enkla sockerarter och fruktaner i det färdiga fodret (McDonald et al., 2022). Detta skulle kunna vara relevant vid användning av indirekta metoder eftersom förändringar i proportionerna mellan olika sockerfraktioner kan påverka mätresultaten. Exempelvis skulle en minskad andel glukos i förhållande till total WSC under konserveringsprocessen potentiellt kunna medföra ett lägre utslag på glukosstickorna, trots att den totala koncentrationen av lättlösliga kolhydrater är oförändrad.

Förutom biologisk variation finns även analytiska skillnader mellan olika metoder. Lättlösliga kolhydrater utgör en analytisk fraktion vars sammansättning påverkas av val av extraktionsförhållanden och analysmetod (Hall et al., 1999;

Hall, 2003). Variationer i exempelvis temperatur, extraktionstid, lösningsmedel och partikelstorlek kan påverka vilka kolhydratfraktioner som extraheras och kvantifieras. Det innebär att analyser från olika laboratorier eller med olika metodik inte nödvändigtvis är direkt jämförbara. Laboratiebaserade analyser möjliggör kvantifiering av specifika kolhydratfraktioner med hög analytisk precision. Enzymatiska–spektrofotometriska metoder använder specifika enzymreaktioner för att bestämma enskilda sockerfraktioner, medan kromatografiska metoder såsom HPLC möjliggör direkt separation och kvantifiering av individuella kolhydrater. Gemensamt för dessa metoder är att de bygger på kemiskt specifika analysprinciper. Indirekta metoder skiljer sig däremot från laboratiebaserade analyser genom att de inte mäter den kemiska koncentrationen av specifika kolhydratfraktioner direkt. I stället bygger dessa metoder på fysikaliska eller indirekta samband mellan provets egenskaper och dess kemiska sammansättning. Detta innebär att metodernas precision kan påverkas av flera faktorer utöver den faktiska sockerkoncentrationen, exempelvis variation i den relativa sammansättningen mellan olika sockerfraktioner och andra vattenlösliga komponenter i provet. Detta stöds även av Billman et al. (2024), som rapporterade att Brixvärden via refraktometri inte konsekvent kunde prediktera koncentrationen av individuella eller totala sockerarter i prov av vallväxter och att sambanden varierade mellan växtarter och provtagningstidpunkter.

Betydelsen av att kunna uppskatta vallfodrets sockerhalt blir särskilt tydlig vid utfodring av hästar med metabola sjukdomstillstånd såsom EMS, PPID och PSSM. Litteraturen visar att kontroll av intaget av lättlösliga och icke-strukturella kolhydrater kan vara en viktig del av den dietära hanteringen vid dessa tillstånd (Durham et al., 2019; Valberg et al., 2011). Samtidigt illustrerar resultaten från denna studie den praktiska utmaningen att utveckla enkla fältmetoder som samtidigt uppvisar tillräcklig precision och tillförlitlighet.

6.2 Diskussion av studiens resultat

Resultaten i denna studie visade att glukosstickornas mätvärden uppvisade starkare samband än refraktometerns mätvärden med analyserade koncentrationer av olika sockerfraktioner, även om sambanden generellt var relativt svaga och stor spridning observerades kring regressionslinjerna, vilket indikerade begränsad precision i skattningen av de analyserade koncentrationerna. Refraktometerns mätvärden uppvisade genomgående lägre förklaringsgrad och svagare samband, vilket sannolikt kan förklaras av att metoden bygger på mätning av lösningens brytningsindex. Mätvärdena påverkas därmed av den samlade koncentrationen av lösta komponenter i extraktet snarare än av specifika sockerfraktioner såsom glukos, fruktos, sukros eller fruktaner, vilket sannolikt minskar metodens specificitet för uppskattning av lättlösliga kolhydrater.

Till skillnad från laboratiebaserade referensmetoder mäter refraktometern inte specifika sockerarter utan lösningens brytningsindex, vilket påverkas av den samlade koncentrationen av lösta ämnen i provet. Eftersom växtextrakt från vallfoder, utöver sockerarter, även innehåller organiska syror, aminosyror, lösliga proteiner och mineraler kan dessa komponenter bidra till mätvärdet och därmed minska metodens specificitet för uppskattning av lättlösliga kolhydrater. Det innebär att två prover med samma koncentration av WSC potentiellt kan ge olika Brixvärden beroende på skillnader i övrig kemisk sammansättning. Eftersom olika ämnen kan påverka lösningens brytningsindex i varierande grad är det inte heller säkert att deras bidrag är proportionellt mot respektive koncentration. Detta kan bidra till att förklara de svaga sambanden mellan refraktometerns mätvärden och analyserade sockerfraktioner. Detta överensstämmer med resultaten från Billman et al. (2024), som rapporterade att Brixvärden inte konsekvent kunde prediktera koncentrationen av vare sig de individuella sockerarterna eller den totala sockerhalten i vallväxter. Sambanden varierade mellan olika växtarter och mellan olika provtagningstidpunkter. Författarna föreslog att variationen sannolikt förklarades av skillnader i växtmaterialets kemiska sammansättning samt av att flera olika ämnen bidrog till lösningens brytningsindex. Detta är särskilt relevant i den här studien eftersom provmaterialet omfattade ett brett spektrum av vallfodertyper med varierande skördetidpunkter och sannolikt även varierande botanisk sammansättning.

Glukosstickornas mätvärden baserades ursprungligen på semikvantitativa koncentrationsintervall snarare än kontinuerliga mätvärden. Efter omräkning till g/kg torrsubstans erhöles dock samband i spridningsdiagrammen som uppvisade en ungefär linjär form. Därför genomfördes även Pearsons korrelationsanalys som en kompletterande analys till Spearmans rangkorrelation. Pearsons korrelationskoefficienter var dock genomgående lägre än motsvarande Spearmankorrelationer och vid test av normalfördelning påvisades att glukosstickornas omräknade värden inte var normalfördelade. Resultaten talar därför för att Spearmans rangkorrelation är den mest lämpliga metoden för att beskriva sambanden i detta dataset. Regressionsanalyserna inkluderades främst som ett deskriptivt verktyg för att illustrera sambanden mellan glukosstickornas mätvärden och de analyserade koncentrationerna och bör därför tolkas med försiktighet.

Glukosstickornas mätvärden uppvisade starkare samband med de analyserade koncentrationerna av socker jämfört med refraktometerns, vilket sannolikt kan förklaras av att metoden bygger på en mer specifik analysprincip. Stickorna detekterar glukos genom en enzymatisk reaktion som ger upphov till en

färgförändring relaterad till glukoskoncentrationen. Sambanden mellan glukosstickornas mätvärden och total WSC var däremot svagare, vilket var förväntat eftersom glukos endast utgör en del av den totala WSC-fraktionen. Två vallfoderprov med liknande total WSC-koncentration kan därför innehålla olika mängder glukos beroende på den relativa fördelningen mellan glukos, fruktos, sukros och fruktaner. Detta kan bidra till att förklara varför glukosstickornas mätvärden endast förklarade en begränsad del av variationen i analyserad total WSC.

Detta stöddes av de kompletterande analyserna där glukosandelen, uttryckt som procent av total WSC, uppvisade ett svagt positivt samband med glukosstickornas mätvärden (Pearsons $r = 0,234$; Spearmans $\rho = 0,276$). När glukosandelen inkluderades tillsammans med total WSC i regressionsmodellen ökade förklaringsgraden från $R^2 = 0,055$ till $R^2 = 0,124$, vilket indikerar att den relativa andelen glukos delvis kan bidra till variationen i glukosstickornas skattningar. Resultaten indikerar därmed att glukosstickornas mätvärden sannolikt inte enbart påverkas av den totala koncentrationen av lättlösliga kolhydrater utan även av den relativa sammansättningen av olika sockerfraktioner. Eftersom glukos utgör en varierande andel av den totala WSC-fraktionen kan sambandet mellan glukosstickornas mätvärden och total WSC försvagas. Vallfoderprov med liknande total WSC-koncentration kan innehålla olika mängder glukos beroende på den relativa fördelningen mellan glukos, fruktos, sukros och fruktaner, vilket begränsar möjligheten att använda glukosstickor för uppskattning av total WSC. Detta skulle kunna bidra till att förklara en del av den observerade variationen mellan glukosstickornas mätvärden och analyserad total WSC. Samtidigt bör det tas hänsyn till att glukosstickorna är semikvantitativa och visar koncentrationsintervall snarare än kontinuerliga numeriska värden. Detta innebär att mindre skillnader mellan prover inte nödvändigtvis registreras som olika resultat. Vidare bygger metoden på visuell avläsning av en färgskala, vilket kan innebära ytterligare osäkerhet eftersom gränserna mellan olika färgnivåer kan vara svåra att skilja åt. Små skillnader i belysning, subjektiv bedömning och avläsningstid kan potentiellt påverka resultatet och bidra till variation mellan mätningar.

Den stora spridningen i spridningsdiagrammen och de breda graderna av överensstämmelse som observerades i Bland–Altman-analyserna indikerar dessutom att glukosstickorna inte kan betraktas som direkt utbytbara mot enzymatiskt-spektrofotometriska analyser. Korrelations- och regressionsanalyser användes för att undersöka om ett samband mellan metoderna förelåg, men dessa analyser är inte tillräckliga för att avgöra om två metoder kan användas utbytbart. Två metoder kan uppvisa stark korrelation samtidigt som de systematiskt skiljer

sig åt i sina mätvärden. Bland–Altman-analyser användes därför för att undersöka överensstämmelsen mellan metoderna och identifiera eventuell systematisk bias samt storleken på de individuella avvikelserna mellan mätningarna. Resultaten tyder på att variationen i hur väl glukosstickorna skattade de analyserade koncentrationerna sannolikt påverkades av flera samverkande faktorer, däribland variation i sammansättningen av lättlösliga kolhydrater, biologiska skillnader mellan olika vallfodertyper samt metodologiska faktorer kopplade till extraktionsförfarandet, exempelvis skillnader i mängden återvunnet extrakt efter pressning och variation i extraktets sammansättning. En ytterligare faktor som sannolikt påverkade resultaten är att de använda glukosstickorna utvecklats för urinalanalys och inte för analys av växtextrakt. Växtextrakt skiljer sig från urin avseende bland annat kemisk sammansättning, färg, pH och koncentration av potentiellt interfererande ämnen. Detta kan potentiellt påverka stickornas enzymatiska reaktion eller färgutveckling och därmed bidra till den observerade variationen.

Ytterligare felkällor i denna studie kan ha uppstått under provberedning och extraktion. Eftersom analysmetoderna baserades på ett standardiserat extraktionsförfarande med 10 g foderprov och 50 ml vatten kan små avvikelser i invägd provmängd eller tillsatt vattenvolym ha påverkat koncentrationen i det slutliga extraktet. En överslagsberäkning baserad på förändringar i förhållandet mellan provmängd och vattenvolym indikerar dock att mindre mätfel sannolikt endast skulle ge upphov till begränsade förändringar i de uppskattade koncentrationerna. Exempelvis skulle en avvikelse på ± 1 g i invägd provmängd vid användning av 10 g prov motsvara en förändring på cirka ± 10 %, medan en avvikelse på ± 2 ml tillsatt vatten vid användning av 50 ml vatten skulle motsvara en förändring på cirka ± 4 %. Det är därför osannolikt att mindre mätfel vid vägning eller volymmätning ensamt kan förklara den stora spridning som observerades i resultaten. Även skillnader i graden av pressning vid återvinning av extraktet kan ha påverkat hur stor andel av de lösta komponenterna som extraherades. Eftersom det malda materialet absorberade en stor del av vätskan kan variation i mängden återvunnet extrakt mellan prover dessutom ha bidragit till ytterligare variation i mätresultaten.

Resultaten från ROC-analyserna indikerade samtidigt att glukosstickorna hade viss förmåga att skilja mellan prover med ≤ 100 respektive > 100 g WSC/kg torrsubstans. Ett AUC-värde på cirka 0,68 indikerar en måttlig diskrimineringsförmåga, vilket innebär att glukosstickorna hade bättre förmåga att skilja mellan prover med låg och hög koncentration av lättlösliga kolhydrater än vad som skulle förväntas av en slump, men att klassificeringsförmågan fortfarande var begränsad. Detta skulle kunna indikera att glukosstickor har större

potential som ett praktiskt screeningverktyg än som en metod för kvantitativ bestämning glukoshalten. Vid praktisk användning skulle metoden kunna användas för en första uppskattning av vallfodrets glukoshalt. Eftersom glukos utgör en del av WSC-fraktionen kan mätvärdet samtidigt ge en grov indikation på om vallfodret sannolikt har en relativt låg eller hög koncentration av lättlösliga kolhydrater. För vallfoder med koncentrationer nära gränsvärdet på 100 g WSC/kg torrsubstans är dock sannolikheten för felklassificering sannolikt större, eftersom små skillnader i mätvärde kan medföra att prover placeras i olika kategorier. Detta skulle kunna begränsa metodens användbarhet vid situationer där en mer exakt uppskattning av koncentrationen krävs, exempelvis vid foderbedömning till hästar med ökad känslighet för lättlösliga kolhydrater, såsom hästar med EMS eller PPID. Resultaten indikerar dock att precisionen är begränsad, vilket innebär att resultaten bör tolkas med försiktighet vid praktisk användning.

En styrka med denna studie var det relativt stora antalet prover samt att materialet omfattade ett brett spektrum av vallfodertyper och WSC-koncentrationer. Ett brett variationsintervall är viktigt vid metodutvärdering eftersom det möjliggör undersökning av metodernas funktion över ett större koncentrationsområde. Samtidigt innebär ett heterogent provmaterial även vissa begränsningar. Skillnader i gräsarter, botanisk sammansättning, skördetidpunkt och konserveringsmetod kan bidra till ökad biologisk variation och därmed påverka styrkan i observerade samband. Samtidigt representerar denna variation sannolikt den heterogenitet som förekommer i olika vallfoderpartier i praktiken, där vallfodrets sammansättning ofta varierar både inom och mellan partier. Om indirekta mätmetoder ska ha praktisk användbarhet behöver de därför kunna ge tillförlitliga resultat även under varierande förhållanden och inte enbart i homogena försöksmaterial.

Flera metodologiska förbättringar skulle kunna övervägas i framtida studier. Digital avläsning av glukosstickor skulle kunna minska variation relaterad till visuell bedömning av färgförändringar och samtidigt ge mer kontinuerliga mätvärden. Det skulle även vara av intresse att undersöka om resultaten påverkas av ytterligare standardisering av extraktionsförhållanden. Studier med mer homogena provmaterial, exempelvis enskilda gräsarter eller specifika konserveringsmetoder, skulle dessutom kunna användas för att bättre identifiera vilka faktorer som påverkar mätmetodernas precision. Eftersom vallfoder i praktiken ofta uppvisar stor variation i sammansättning är det dock viktigt att även framtida studier inkluderar ett brett spektrum av vallfodertyper för att utvärdera metodernas praktiska användbarhet.

Resultaten tyder på att varken refraktometri eller glukosstickor kan ersätta enzymatisk-spektrofotometriska analyser för bestämning av total WSC- eller glukoskoncentration i vallfoder. Glukosstickorna uppvisade dock starkare samband med analyserade värden av olika sockerfraktioner än vad refraktometern gjorde och kan potentiellt ha större värde som ett snabbt screeningverktyg. I framtida studier bör det undersökas om resultaten kan förbättras genom digital avläsning av glukosstickor eller genom användning av alternativa indirekta metoder, såsom NIRS-baserade analyser. Tidigare studier har dock visat att även NIRS-metoder kan uppvisa begränsad precision vid uppskattning av WSC-koncentrationer och att resultaten kan påverkas av faktorer såsom provberedning, provtyp och de kalibreringsmodeller som används (Harris et al., 2018; Le Cocq et al., 2022). Detta indikerar att ytterligare metodutveckling sannolikt krävs för att uppnå en tillräcklig noggrannhet vid uppskattning av sockerhalten i vallfoder.

Resultaten stödde delvis studiens hypotes. Hypotesen att glukosstickor skulle uppvisa ett starkare samband med analyserad glukoshalt stöddes av resultaten, då glukosstickorna uppvisade starkare samband med analyserad glukoskoncentration än med övriga analyserade sockerfraktioner. Däremot stöddes inte hypotesen att refraktometri skulle uppvisa ett starkare samband med total WSC-halt, eftersom refraktometern genomgående uppvisade svaga samband och låg förklaringsgrad i relation till både total WSC och individuella sockerfraktioner.

7. Slutsatser

Syftet med denna studie var att undersöka om glukosstickor och refraktometer kunde användas för uppskattning av sockerhalten i vallfoder i relation till enzymatiskt-spektrofotometriskt analyserade värden för lösliga kolhydrater (WSC). Resultaten visade att glukosstickornas mätvärden uppvisade högre samband med analyserade sockerfraktioner jämfört med refraktometerns värden, särskilt för koncentrationen av glukos och total WSC, men att sambanden generellt var måttliga till svaga och att stor spridning observerades kring regressionslinjerna, vilket indikerade begränsad precision i skattningen av de analyserade koncentrationerna. Refraktometern uppvisade genomgående låg förklaringsgrad och begränsad överensstämmelse med analyserade värden. Resultaten stödde därmed delvis studiens hypotes, eftersom glukosstickorna uppvisade starkare samband med glukoskoncentrationer, medan hypotesen om ett starkare samband mellan refraktometern och total WSC inte stöddes. Varken glukosstickor eller refraktometer bedöms därför kunna ersätta enzymatisk-spektrofotometrisk analys för bestämning av total WSC-halt eller dess fraktioner i vallfoder. Glukosstickorna kan däremot potentiellt ha ett värde som ett enkelt screeningverktyg för att särskilja prover med relativt låg respektive hög WSC-koncentration, men resultaten bör tolkas med försiktighet med hänsyn till metodens begränsade precision samt att glukosstickorna bygger på avläsning av koncentrationsintervall snarare än kontinuerliga mätvärden.

Referenser

- Annandale, E.J., Valberg, S.J., Mickelson, J.R. & Seaquist, E.R. (2004). Insulin sensitivity and skeletal muscle glucose transport in horses with equine polysaccharide storage myopathy. *Neuromuscular Disorders*, 14 (10), 666–674. <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2004.05.007>
- Argenzio, R. & Stevens, C. (1975). Cyclic changes in ionic composition of digesta in the equine intestinal tract. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 228 (4), 1224–1230. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1975.228.4.1224>
- Asplin, K.E., Sillence, M.N., Pollitt, C.C. & McGowan, C.M. (2007). Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *The Veterinary Journal*, 174 (3), 530–535. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.003>
- Bailey, S.R., Marr, C.M. & Elliott, J. (2004). Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse. *The Veterinary Journal*, 167 (2), 129–142. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00120-5)
- Billman, E.D., Soder, K.J., Horst, J., Hafla, A. & Balk, K. (2024). Validation of Brix for predicting sugar concentrations of alfalfa and orchardgrass*. *Applied Animal Science*, 40 (4), 437–445. <https://doi.org/10.15232/aas.2024-02552>
- Borgia, L., Valberg, S., McCue, M., Watts, K. & Pagan, J. (2011). Glycaemic and insulinaemic responses to feeding hay with different non-structural carbohydrate content in control and polysaccharide storage myopathy-affected horses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95 (6), 798–807. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01116.x>
- Calvache, I., Balocchi, O., Alonso, M., Keim, J.P. & López, I. (2020). Water-Soluble Carbohydrate Recovery in Pastures of Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.) and Pasture Brome (*Bromus valdivianus* Phil.) Under Two Defoliation Frequencies Determined by Thermal Time. *Agriculture*, 10 (11), 563. <https://doi.org/10.3390/agriculture10110563>
- Chatterton, N.J., Harrison, P.A., Thornley, W.R. & Draper, E.A. (1990). Oligosaccharides in Foliage of Agropyron, Bromus, Dactylis, Festuca, Lolium and Phleum. *The New Phytologist*, 114 (2), 167–171
- Chatterton, N.J., Watts, K.A., Jensen, K.B., Harrison, P.A. & Horton, W.H. (2006). Nonstructural Carbohydrates in Oat Forage. *The Journal of Nutrition*, 136 (7), 2111S–2113S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.7.2111S>
- Chen, L., Wang, Y., Li, X., MacAdam, J.W. & Zhang, Y. (2023). Interaction between plants and epiphytic lactic acid bacteria that affect plant silage fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1164904>
- Corte, F.D.D.L., Valberg, S.J., MacLeay, J.M., Williamson, S.E. & Mickelson, J.R. (1999). Glucose uptake in horses with polysaccharide storage myopathy. *American Journal of Veterinary Research*, 60 (4), 458–462. <https://doi.org/10.2460/ajvr.1999.60.04.458>
- Duncan, P. (1980). Time-Budgets of Camargue Horses: II. Time-Budgets of Adult Horses and Weaned Sub-Adults. *Behaviour*, 72 (1/2), 26–49
- Durham, A.E., Frank, N., McGowan, C.M., Menzies-Gow, N.J., Roelfsema, E., Vervuert, I., Feige, K. & Fey, K. (2019). ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33 (2), 335–349. <https://doi.org/10.1111/jvim.15423>
- Dyer, J., Merediz, E.F.-C., Salmon, K.S.H., Proudman, C.J., Edwards, G.B. & Shirazi-Beechey, S.P. (2002). Molecular characterisation of carbohydrate

- digestion and absorption in equine small intestine. *Equine Veterinary Journal*, 34 (4), 349–358. <https://doi.org/10.2746/042516402776249209>
- Firstman, A.M. & Valberg, S.J. (2025). Polysaccharide Storage Myopathy. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 41 (1), 125–137. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2024.11.004>
- Frank, N., Geor, R.J., Bailey, S.R., Durham, A.E. & Johnson, P.J. (2010). Equine Metabolic Syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24 (3), 467–475. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0503.x>
- Hall, M.B. (2003). Challenges with nonfiber carbohydrate methods1,2. *Journal of Animal Science*, 81 (12), 3226–3232. <https://doi.org/10.2527/2003.81123226x>
- Hall, M.B., Hoover, W.H., Jennings, J.P. & Webster, T.K.M. (1999). A method for partitioning neutral detergent-soluble carbohydrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79 (15), 2079–2086. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199912\)79:15%3C2079::AID-JSFA502%3E3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199912)79:15%3C2079::AID-JSFA502%3E3.0.CO;2-Z)
- Harlow, B.E., Kagan, I.A., Lawrence, L.M. & Flythe, M.D. (2017). Effects of Inulin Chain Length on Fermentation by Equine Fecal Bacteria and *Streptococcus bovis*. *Journal of Equine Veterinary Science*, 48, 113–120.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.11.010>
- Harris, P.A., Ellis, A.D., Fradinho, M.J., Jansson, A., Julliand, V., Luthersson, N., Santos, A.S. & Vervuert, I. (2017). Review: Feeding conserved forage to horses: recent advances and recommendations. *Animal*, 11 (6), 958–967. <https://doi.org/10.1017/S1751731116002469>
- Harris, P.A., Nelson, S., Carslake, H.B., Argo, C.McG., Wolf, R., Fabri, F.B., Brotsma, K.M., van Oostrum, M.J. & Ellis, A.D. (2018). Comparison of NIRS and Wet Chemistry Methods for the Nutritional Analysis of Haylages for Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 71, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.08.013>
- Horn, R. & Bertin, F.-R. (2019). Evaluation of combined testing to simultaneously diagnose pituitary pars intermedia dysfunction and insulin dysregulation in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33 (5), 2249–2256. <https://doi.org/10.1111/jvim.15617>
- Ireland, J.L. & McGowan, C.M. (2018). Epidemiology of pituitary pars intermedia dysfunction: A systematic literature review of clinical presentation, disease prevalence and risk factors. *The Veterinary Journal*, 235, 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.03.002>
- Kagan, I.A. (2022). Water- and Ethanol-Soluble Carbohydrates of Temperate Grass Pastures: a Review of Factors Affecting Concentration and Composition. *Journal of Equine Veterinary Science*, 110, 103866. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.103866>
- Kagan, I.A., Anderson, M.L., Kramer, K.J., Seman, D.H., Lawrence, L.M. & Smith, S.R. (2020). Seasonal and Diurnal Variation in Water-Soluble Carbohydrate Concentrations of Repeatedly Defoliated Red and White Clovers in Central Kentucky. *Journal of Equine Veterinary Science*, 84, 102858. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.102858>
- Kagan, I.A., Kirch, B.H., Thatcher, C.D., Strickland, J.R., Teutsch, C.D., Elvinger, F. & Pleasant, R.S. (2011). Seasonal and Diurnal Variation in Simple Sugar and Fructan Composition of Orchardgrass Pasture and Hay in the Piedmont Region of the United States. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31 (8), 488–497. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.03.004>
- Knudsen, K.E.B. (1997). Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 67 (4), 319–338. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00009-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00009-6)

- Kramer, K.J., Kagan, I.A., Lawrence, L.M. & Smith, S.R. (2021). Ethanol-Soluble Carbohydrates of Cool-Season Grasses: Prediction of Concentration by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) and Evaluation of Effects of Cultivar and Management. *Journal of Equine Veterinary Science*, 101, 103421. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103421>
- Le Cocq, K., Harris, P., Bell, N., Burden, F.A., Lee, M.R.F. & Davies, D.R. (2022). Comparisons of commercially available NIRS-based analyte predictions of haylage quality for equid nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 283, 115158. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115158>
- Li, K.-L. & Huang, H.-S. (1997). Comparing Urinary Reagent Strips for Detecting Glycosuria in Patients With Diabetes Mellitus. *Laboratory Medicine*, 28 (6), 397–401. <https://doi.org/10.1093/labmed/28.6.397>
- Lindåse, S., Müller, C., Nostell, K. & Bröjer, J. (2018). Evaluation of glucose and insulin response to haylage diets with different content of nonstructural carbohydrates in 2 breeds of horses. *Domestic Animal Endocrinology*, 64, 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2018.03.006>
- Lindåse, S.S., Nostell, K.E., Müller, C.E., Jensen-Waern, M. & Bröjer, J.T. (2016). Effects of diet-induced weight gain and turnout to pasture on insulin sensitivity in moderately insulin resistant horses. *American Journal of Veterinary Research*, 77 (3), 300–309. <https://doi.org/10.2460/ajvr.77.3.300>
- Livingston, D.P., Hinch, D.K. & Heyer, A.G. (2009). Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66 (13), 2007–2023. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0002-x>
- Longland, A.C. & Byrd, B.M. (2006). Pasture Nonstructural Carbohydrates and Equine Laminitis. *The Journal of Nutrition*, 136 (7), 2099S-2102S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.7.2099S>
- Mackenzie, D.J. & Wylam, C.B. (1957). Analytical studies on the carbohydrates of grasses and clovers. VIII.—Changes in carbohydrate composition during the growth of perennial rye-grass. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 8 (1), 38–45. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740080107>
- Magwaza, L.S. & Opara, U.L. (2015). Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products—A review. *Scientia Horticulturae*, 184, 179–192. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.001>
- McCue, M.E., Valberg, S.J., Miller, M.B., Wade, C., DiMauro, S., Akman, H.O. & Mickelson, J.R. (2008). Glycogen synthase (GYS1) mutation causes a novel skeletal muscle glycogenosis. *Genomics*, 91 (5), 458–466. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2008.01.011>
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A. & Wilkinson, R.G. (2022). *Animal nutrition*. Eighth edition. Pearson.
- McFarlane, D. (2011). Equine Pituitary Pars Intermedia Dysfunction. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 27 (1), 93–113. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.12.007>
- Menzies-Gow, N.J. (2025). Equine Pituitary Pars Intermedia Dysfunction. *Veterinary Sciences*, 12 (8), 780. <https://doi.org/10.3390/vetsci12080780>
- Menzies-Gow, N.J., Banse, H.E., Duff, A., Hart, N., Ireland, J.L., Knowles, E.J., McFarlane, D. & Rendle, D. (2024). BEVA primary care clinical guidelines: Diagnosis and management of equine pituitary pars intermedia dysfunction. *Equine Veterinary Journal*, 56 (2), 220–242. <https://doi.org/10.1111/evj.14009>
- Moore-Colyer, M.J.S. (1996). Effects of soaking hay fodder for horses on dust and mineral content. *Animal Science*, 63 (2), 337–342. <https://doi.org/10.1017/S1357729800014892>

- Müller, C.E., Nostell, K. & Bröjer, J. (2016). Methods for reduction of water soluble carbohydrate content in grass forages for horses. *Livestock Science*, 186, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.06.011>
- Ribeiro, W.P., Valberg, S.J., Pagan, J.D. & Gustavsson, B.E. (2004). The effect of varying dietary starch and fat content on serum creatine kinase activity and substrate availability in equine polysaccharide storage myopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18 (6), 887–894. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2004\)18%3C887:teovds%3E2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2004)18%3C887:teovds%3E2.0.co;2)
- Schenck, J., Müller, C., Djurle, A., Jensen, D.F., O'Brien, M., Johansen, A., Rasmussen, P.H. & Spörndly, R. (2019). Occurrence of filamentous fungi and mycotoxins in wrapped forages in Sweden and Norway and their relation to chemical composition and management. *Grass and Forage Science*, 74 (4), 613–625. <https://doi.org/10.1111/gfs.12453>
- Shewmaker, G.E., Mayland, H.F., Roberts, C.A., Harrison, P.A., Chatterton, N.J. & Sleper, D.A. (2006). Daily carbohydrate accumulation in eight tall fescue cultivars. *Grass and Forage Science*, 61 (4), 413–421. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2006.00550.x>
- Sousa, D.O., Murphy, M., Hatfield, R. & Nadeau, E. (2021). Effects of harvest date and grass species on silage cell wall components and lactation performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104 (5), 5391–5404. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19362>
- Stang, F.L., Bjerregaard, R., Müller, C.E., Ergon, Å., Halling, M., Thorring, N.W., Kidane, A. & Jensen, R.B. (2023). The effect of harvest time of forage on carbohydrate digestion in horses quantified by in vitro and mobile bag techniques. *Journal of Animal Science*, 101, skac422. <https://doi.org/10.1093/jas/skac422>
- Stewart, A.J., Ireland, J.L., Durham, A.E. & McGowan, C.M. (2023). Diagnosis of equine pituitary pars intermedia dysfunction. *The Veterinary Journal*, 300–302, 106036. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2023.106036>
- Thomson, A.L., Humphries, D.J., Rymer, C., Archer, J.E., Grant, N.W. & Reynolds, C.K. (2018). Assessing the accuracy of current near infra-red reflectance spectroscopy analysis for fresh grass-clover mixture silages and development of new equations for this purpose. *Animal Feed Science and Technology*, 239, 94–106. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.03.009>
- Udén, P. (2006). In vitro studies on microbial efficiency from two cuts of ryegrass (*Lolium perenne* cv Aberdart) with different proportions of sugars and proteins. *Animal Feed Science and Technology*, 126, 145–156
- Valberg, S.J., McCue, M.E. & Mickelson, J.R. (2011). The Interplay of Genetics, Exercise, and Nutrition in Polysaccharide Storage Myopathy. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31 (5), 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.03.001>
- Waite, R. & Boyd, J. (1953a). The water-soluble carbohydrates of grasses. I.—Changes occurring during the normal life-cycle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 4 (4), 197–204. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740040408>
- Waite, R. & Boyd, J. (1953b). The water-soluble carbohydrates of grasses. II.—Grasses cut at grazing height several times during the growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 4 (6), 257–261. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740040601>
- Weiß, K. & Alt, M. (2017). Determination of Single Sugars, Including Inulin, in Plants and Feed Materials by High-Performance Liquid Chromatography and Refraction Index Detection. *Fermentation*, 3 (3), 36. <https://doi.org/10.3390/fermentation3030036>

Wróbel, B., Nowak, J., Fabiszewska, A., Paszkiewicz-Jasińska, A. & Przystupa, W. (2023). Dry Matter Losses in Silages Resulting from Epiphytic Microbiota Activity—A Comprehensive Study. *Agronomy*, 13 (2), 450. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020450>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Sockerhalten i vallfoder har blivit en allt viktigare fråga inom hästutfodring, särskilt för hästar med ämnesomsättningsrelaterade sjukdomar såsom ekvint metabolt syndrom (EMS), pituitary *pars intermedia* dysfunction (PPID) och polysaccharide storage myopathy (PSSM). För dessa hästar kan ett högt intag av socker påverka hälsan negativt och i vissa fall öka risken för fång (EMS, PPID) eller korsförämning (PSSM). Därför är kunskap om vallfodrets sockerhalt viktig för att kunna anpassa utfodringen så att den fungerar även för dessa hästgrupper. I dag bestäms sockerhalten i vallfoder främst genom laboratorieanalyser. Dessa analyser ger tillförlitliga resultat men kan vara både kostsamma och tidskrävande. I praktiken analyseras därför inte alla foderpartier, vilket innebär att beslut om utfodring ibland fattas med begränsad information. Det finns därför ett intresse av enklare metoder att få reda på fodrets sockerhalt som snabbt kan användas direkt i fält. Syftet med denna studie var att undersöka om glukosstickor och refraktometri skulle kunna användas som enklare alternativ för att uppskatta sockerhalten i vallfoder för häst.

Glukosstickor används vanligtvis för analys av glukos i urin och fungerar genom att en färgförändring uppstår på stickan vid kontakt med glukos. En refraktometer mäter i stället hur ljus bryts i en lösning och används ofta för att uppskatta koncentrationen av lösta ämnen, exempelvis socker. I studien användes totalt 261 vallfoderprover. Resultaten från glukosstickor och en refraktometer jämfördes med laboratorieanalyserade värden för koncentrationen av lättlösliga kolhydrater (WSC). Glukos, fruktos, sukros och fruktaner inkluderas i lättlösliga kolhydrater. Resultaten visade att glukosstickorna hade starkare samband med de analyserade sockerhalterna av de olika fraktionerna i WSC och med den totala WSC-koncentrationen jämfört med refraktometerns mätvärde. Sambanden var dock generellt relativt svaga och stor spridning observerades kring sambanden mellan de indirekta mätmetoderna och de analyserade koncentrationerna av total WSC och olika sockerfraktioner.

Refraktometern visade låg överensstämmelse med de analyserade värdena. Detta kan sannolikt förklaras av att refraktometern inte endast påverkas av innehållet av socker utan även av andra ämnen i växtextraktet, exempelvis organiska syror, proteiner och mineraler. Studien visade att varken glukosstickor eller refraktometer kan ersätta laboratorieanalyser för att bestämma sockerhalten. Glukosstickorna skulle däremot kunna ha viss praktisk användning som ett enkelt hjälpmedel för att skilja mellan foder med relativt låg och hög sockerhalt. Resultaten behöver dock tolkas med försiktighet eftersom metodernas precision var begränsad.

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU kan publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver i sådana fall godkänna publiceringen. I samband med att du godkänner publicering kommer SLU även att behandla dina personuppgifter (namn) för att göra arbetet sökbart på internet. Du kan närsomhelst återkalla ditt godkännande genom att kontakta biblioteket.

Även om du väljer att inte publicera arbetet eller återkallar ditt godkännande så kommer det arkiveras digitalt enligt arkivlagstiftningen.

Du hittar länkar till SLU:s publiceringsavtal och SLU:s behandling av personuppgifter och dina rättigheter på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>

☒ JA, jag, Linnea Järnström har läst och godkänner avtalet för publicering samt den personuppgiftsbehandling som sker i samband med detta

☐ NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse till att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.