

Rapport nr. 302/79

RUBIN-FÔRET

Sammenheng mellom ernæring og bindevevsstruktur hos fisk

En litteraturstudie



FØRINGSFORSØK
MARKEDSUTVIKLING

RAPPORT-TITTEL

RUBIN-fôret. Sammenheng mellom ernæring og bindevevsstruktur hos fisk. En litteraturstudie.

RAPPORTNUMMER	302/79	PROSJEKTNUMMER	302
UTGIVER	RUBIN	DATO	Juni 1998

UTFØRENDE INSTITUSJONER

Akvaforsk

Postboks 5010

1432 Ås

Tlf.: 64 94 95 00

Kontaktperson: Astrid Lande

SAMMENDRAG OG KONKLUSJONER

I forbindelse med prosjektet "Optimalisering av RUBIN-fôret" har det ved flere anledninger blitt stilt spørsmål omkring kvaliteten på den produserte laksen. Høsten 1996 ble det slaktet et parti fisk der skjelltapet var stort, og det man lurte på om dette kunne skyldes RUBIN-fôret.

Fiskeskjellene ligger i en bindevevskapsel. I en idedugnad ble det reist spørsmål om alginat, som brukes i RUBIN-fôr, kunne binde kobber som spiller en rolle ved dannelsen av bindevev. Videre ble det antydnet at det kunne være sammenheng mellom skjelltap og bindevevsstruktur i muskel. Dette var forholdsvis løst funderte antakelser. For å finne ut om det kunne være noen sammenhenger ble det initiert en litteraturgjennomgang som en oppgave i et hovedfagskurs ved Norges landbrukshøgskole.

Konklusjonen er at det ser ut til at en av de største ernæringsmessige påvirkningsfaktorene en har når det gjelder bindevevsstruktur og -styrke hos fisk, er balansen mellom antioksidanter (fortrinnsvis askorbinsyre) og prooksidanter som Fe og Cu. Det er viktig å kjenne til behovet for disse, og ta hensyn til samspillet som eksisterer mellom dem. Samspillet mellom askorbinsyre og antioksidanter og mellom askorbinsyre og prooksidantene er komplekst. Det vil være avhengig av flere faktorer som for eksempel hvilken form disse stoffene tilsettes fôret, lagringsstabilitet, tilgjengelighet i tarmen og i fisken, fiskens allmenne helsetilstand og eventuelle sårskader, stress, temperatur osv.

Noen av disse forholdene er undersøkt nærmere i forbindelse med en hovedoppgave om sammenheng mellom mineralbalanse i RUBIN-fôr og tørrfôr, og kvalitet av laks (RUBIN-rapport 302/80).

Stiftelsen RUBIN
Pirsenteret, Brattøra
7005 Trondheim

Telefon 73 51 82 15
Telefax 73 51 70 84

Sammenhenger mellom ernæring og bindevevsstruktur hos fisk

Astrid Lande, AKVAFORSK, 1432 Ås

Forord

I arbeidet med RUBIN-fôr har det ved flere anledninger blitt stilt spørsmål omkring kvaliteten på den produserte fisken. Høsten 1996 ble det slaktet et parti fisk der skjelltapet var stort, og det ble antydnet at dette kunne skyldes RUBIN-fôret.

Fiskeskjellene ligger i en bindevevskapsel. I en idedugnad ble det reist spørsmål om alginat, som brukes i RUBIN-fôr, kunne binde kobber som spiller en rolle ved dannelsen av bindevev. Videre ble det antydnet at det kunne være sammenheng mellom skjelltap og bindevevsstruktur i muskel. Dette var forholdsvis løst funderte antakelser. For å finne ut om det kunne være noen sammenhenger ble det initiert en litteraturgjennomgang. Dette ble foreslått som en oppgave i et hovedfagskurs ved Norges landbrukshøgskole. Astrid Lande tok på seg denne oppgava. Her presenteres resultatet. Oppgava er gjennomlest og korrigert på noen små punkter av Mette Sørensen og undertegnede.

Erland Austreng

Sammendrag

Bindevevet i muskel er hovedsakelig bygd opp av kollagene fibre, elastiske fibre og celler. Dette er omgitt av en grunnsubstans eller ekstracellulær matriks. Det er stort sett kollagenet som kan påvirkes av fôringen, enten gjennom kollagen-syntesen eller kryssbindingsdannelsen. Kryssbindinger oppstår innen et kollagenmolekyl (intramolekylært) eller mellom kollagen- eller kollagen / elastin-molekyler (intermolekylært). Disse kryssbindingene er viktige for bindevevets styrke, og derfor nødvendige for å holde muskelsegmentene sammen i fileten.

Askorbinsyre (vitamin-C) påvirker kryssbindingsdannelsen som cofaktor i hydroksylering av prolin og lysin. Disse hydroksylgruppene er viktige for dannelsen av kryssbindinger innen et kollagenmolekyl. Askorbinsyre påvirker i tillegg enzymet lysin oksidase, som er nødvendig for dannelsen av intermolekulære kryssbinding mellom kollagenfibre, og mellom kollagen og elastin. Dette enzymet er også avhengig av kobber (Cu). Flere faktorer påvirker behovet for og aktiviteten til askorbinsyre. Det kan være for eksempel innhold og aktivitet av andre antioksidanter, innhold av prooksidanter som jern og kobber og den kjemiske formen askorbinsyren tilsettes i fôret.

Sulting av fisken vil også kunne påvirke bindevevsstyrken og -strukturen. Langvarig sulting av torsk har vist seg å føre til tykkere og sterkere myocommata, antakelig pga. økt kollagenproduksjon og økning i antall kryssbindinger.

Det synes som om refôring etter en lengre sulteperiode også kan påvirke bindevevsstyrken. Hos torsk har en observert en økning i frekvensen av gaping ca. tre måneder etter at refôringen startet. Årsaken til dette kan være at fisken etter sulting overkompenserer for energitapet ved å øke glykogenlageret i muskulaturen til nivåer høyere enn før sulteperioden startet. Økningen i glykogen-mengden vil medføre til større fall i pH enn normalt etter slakt. Det er vist nær sammenheng mellom postmortem-pH og gaping hos torsk, hvor bindevevsstyrken avtar med synkende pH.

Innholdsfortegnelse

1.0 INNLEDNING.....	4
2.0 BINDEVEV.....	5
2.1 GRUNNSUBSTANS OG CELLER.	5
2.2 ELASTISKE FIBRE.....	4
2.2.1 Elastinets oppbygging og struktur	5
2.3 KOLLAGENE FIBRE.....	5
2.3.1 Kollagenets oppbygging og struktur.	5
3.0 ERNÆRINGSMESSIGE FAKTORER SOM KAN INNVIKKE PÅ BINDEVEVS- STRUKTUR OG STYRKE.	8
3.1 ASKORBINSYRE.....	8
3.1.1 Virkning av askorbinsyre på bindevevsstrukturen	9
3.1.2 Faktorer som kan påvirke fiskens behov og utnyttelse av askorbinsyre.	9
3.2 KOBBER.....	10
3.2.1 Faktorer som kan påvirke behov, opptak og utnyttelse av kobber.....	11
3.3 JERN	12
3.4 ANDRE ÅRSAKER.....	12
3.5 TRYPTOFAN	12
3.6 NÆRINGSSTATUS / SULTING.....	12
4.0 KONKLUSJON.....	15
5.0 LITTERATURLISTE	15

1.0 Innledning

Tekstur er en viktig del av produktkvaliteten både for kjøtt og fisk. Selve begrepet tekstur består av flere elementer som mørhet, saftighet, konsistens, tyggemotstand, osv. Det er mange faktorer som påvirker oppfattelsen av tekstur. Hos storfe for eksempel, er mørhet avhengig av både mengden av bindevev og bindevevsstruktur. Vi kjenner alle til at kjøttet fra en gammel ku er seigere enn kjøttet fra et ungdyr, og at indrefiletten er mørere enn flatbiffen. Hos fisk er derimot ikke slike forskjeller så tydelige. Vi merker sjelden noen forskjell i mørhet på stykker fra ulike deler av fisken. Alderen har heller ingen merkbar effekt på tekturen. Bindevevsstrukturen/-styrken har derimot stor betydning for produktkvaliteten i fiskeindustrien. Et problem er gaping hos torsk og laks, som hvert år påfører næringen store økonomiske tap. Gaping, eller muskelspalting, vil si at bindevevshinnen mellom muskelsegmentene er forsvaket av en eller annen grunn, og ikke lenger klarer å holde muskelsegmentene sammen.

Jeg skal i denne oppgaven diskutere om det kan være noen ernæringsmessige årsaker til svakheter i fiskens bindevev. Det er lite kjent hvilke muligheter en har for å kunne påvirke bindevevet under oppdrettet, det meste av kunnskapen som finnes omhandler forholdene rundt slaktingen.

2.0 Bindevev

Bindevevet er bygget opp av;

<i>fibrøse proteiner:</i>	kollagen, elastin og reticulin
<i>celler:</i>	fibroblaster, fettceller og makrofager
<i>grunnsustans:</i>	proteoglykaner og glykoproteiner

Mengden av de forskjellige komponenter vil variere alt etter hvilken funksjon bindevevet skal ivareta. Bindevev kan deles inn i klasser basert på vevstetthet og funksjon (Numedal et al., 1996).

<i>Ordinært bindevev</i>	løst bindevev (få fibre, mange celler)
	tett bindevev (mange fibre, få celler)
<i>Spesialisert bindevev</i>	sener og ligamenter (ikke hos fisk)
	fettvev
	brusk
	bein
	hemopoietisk (bloddannende) vev

Innholdet av bindevev i muskel er lavere hos fisk enn hos landlevende pattedyr. Hos fisk varierer det fra ca. 3% (beinfisk) opp til 10% (enkelte bruskfisk) av totalprotein (Dunajski 1979). Mengden av bindevev hos fisk er påvirket av faktorer som art, anatomi, alder, årstid og ernæringsmessig status (Venugopal 1996). Kollagene og elastiske fibre er de to hovedtypene av fibre vi finner i bindevev. I tillegg finnes det en tredje type som kalles reticulin.

2.1 Grunnsustans og celler

I tillegg til de fibrøse proteinene består ordinært bindevev av grunnsustans, ofte kalt ekstracellulær matriks (ECM) og spesifikke celler slik som fibroblaster, udifferensierte celler, makrofager og fettceller. Fibroblastene er de kollagenproduserende cellene. Tilsvarende finnes det kollagenproduserende celler i bruskvev (chondroblaster) og i beinvev (osteoblaster). ECM

er den massen som fibre og celler er innleiret i. Den består av proteoglykaner og glykoproteiner (Numedal et al. 1996). Bindevevet kan også inneholde fettceller (adipocytter). Det er funnet at atlantisk laks lagrer relativt mye fett i bindevevs-hinnen mellom muskelsegmentene (myocommata). Når en ser bort ifra innvolls fett og underhudsfett, er faktisk myocommata det største lagret for triglycider hos laks.

2.2 Elastiske fibre

Disse fibrene finner vi hovedsakelig i arterier og kapillærer men også i bindevevet i fiskemuskel (Dunajski 1979). Det er elastinet som gir bindevevet dets elastisitet, det vil si evne til å tåle deformasjon og gjenvinne sin opprinnelige form. Bindevev hos fisk inneholder mindre elastin enn hos landlevende pattedyr (Dunajski 1979).

2.2.1 Elastinets oppbygging og struktur

Elastin er et lite løselig protein. Aminosyresammensetningen likner kollagenets, men strukturen er forskjellig. Karakteristisk ved elastin er at det inneholder desmosin og isodesmosin som er kondenseringsprodukter hvor fire lysingrupper danner en kryssbinding. Det kobberavhengige enzymet lysin oksidase katalyserer reaksjonen hvor kryssbindingene blir laget.

Kryssbindingene, som både kan dannes innen en polypeptidkjede og mellom polypeptidkjeder, gir en smykkelignende struktur som er motstandsdyktig mot nedbrytning og som gir elastinet dets spesifikke egenskaper (Numedal et al. 1996). Enzymet er også nødvendig for kryssbindingsdannelse mellom kollagen og elastin, som også påvirker bindevevets mekaniske styrke. Aktiviteten til enzymet lysin oksidase reguleres av askorbinsyre.

2.3 Kollagene fibre

Kollagen er proteinet som gir bindevevets dets store strekkstyrke. Kollagen er det kvantitativt viktigste proteinet hos vertebrater, hvor det hos enkelte pattedyr utgjør opptil 25 prosent av total mengde protein (Numedal et al. 1996). Fisk har derimot et lavere innhold av kollagen enn landlevende pattedyr (Venugopal et al. 1996). Ironside et al. (1958), fant at innholdet av kollagen + elastin i muskel hos stor torsk varierte fra 0.68- 1.35% av total protein.

2.3.1 Kollagenets oppbygging og struktur

For å forstå ulike ernæringsfaktors innvirkning på bindevevsstrukturen, er det nødvendig å se på syntesen og modningen av kollagenet. Det finnes elleve ulike genetiske typer av kollagen, som til en viss grad er vevsspesifikke (Numedal et al. 1996). Alle kollagenvariantene foruten type II er funnet i muskel hos pattedyr (Ashgar et al. 1982). Aminosyresammensetningen i de

ulike kollagenvariantene er forskjellig, men har hovedtrekkene felles; 33% av proteinet er aminosyren glycin, den gjentas ca. hver tredje posisjon i kollagenmolekylet. Kollagenet inneholder i tillegg iminosyrene hydroksyprolin og hydroksylysin, som finnes i svært små mengder i andre proteiner. (Dette gjør at en kan finne mengden bindevev i kjøtt ved å analysere for mengde hydroksyprolin). Hydroksylysin er viktig i dannelsen av kryssbindinger mellom kollagenfibre, og er derfor viktig for stabiliteten av bindevevet. Innholdet av hydroksylysin i fiskekollagen er ca. 0,3 - 0,5% (Lynum 1994). Hydroksyleringen av prolin og lysin skjer etter selve syntesen vha. enzymene protokollagen- og lysin-hydroksylaser (Venogupal et al. 1996). Kollagen hos pattedyr inneholder lite essensielle aminosyrer og regnes som et ernæringsmessig mindreverdige protein. Kollagenet i fiskemuskel derimot, har signifikant høyere innhold av de essensielle aminosyrene (Sikorski et al. 1984).

Tabell 1. Innhold av noen aminosyrer i myocommata-kollagen hos fisk, sammenliknet med storfemuskel, antall aminosyrer / 1000, etter Sikorski et al. 1984.

Aminosyre	torsk	catfish	storfe, L.dorsi
hydroksyprolin	40.7	39.5	109
hydroksylysin	8.5	27.6	8
metionin	20.4	19.2	5
lysin	39.6	48.8	23
histidin	16.3	40.4	5

En kollagenfibrill er tropokollagenfibre som holdes sammen av hydrogen (H)-bindinger (Lynum 1994). H-bindingene kan vi få mellom en peptidgruppe i en polypeptid-kjede og en hydroksylgruppe i en annen (Ashgar et al. 1982). Disse hydroksylgruppene kommer i hovedsak fra hydroksyprolin og hydroksylysin, som derfor er meget viktige i kollagenfibrillenes styrke og struktur. Når tropokollagenmolekylene modnes, vil de ikke-kovalente elektrostatiske- og H-bindinger byttes ut med ulike typer kovalente bindinger. Dette skjer både mellom individuelle α -kjeder og mellom ulike tropokollagen-molekyler. Disse kovalente kryssbindingene er stort sett lysinbaserte. Aldehydgrupper i tropokollagenet har vist seg å være viktig i dannelsen av kryssbindinger, og de oppstår ved oksidativ deaminering av lysin vha. enzymet lysin oksidase.

Det er vist i forsøk at ved økende innhold av hydroksypolin øker bindevevets denatureringstemperatur, mens dets mekaniske styrke reduseres (Yamaguchi et al. 1976).

Tabell 2. Innhold av hydroksypolin og termisk denatureringstemperatur (°C) hos tre fiskearter. Etter Sikorsky et al. (1984).

fiskeart	<i>hydroksypolin</i>		<i>Denatureringstemp.</i>	
	myocommata	skinn	myocommata	skinn
Lysing	7,63	8,36	19,5	19,4
torsk	7,64	7,61	15,3	15,0
catfish	7,0	7,2	-	13,4

Det viste seg at de fiskeartene som hadde høyest andel av hydroksypolin i bindevevet, også hadde flest stabile intramolekylære kryssbindinger. Dette kan tyde på at disse bindinger ikke er så viktig for bindevevets mekaniske egenskaper, men har betydning for den termiske stabiliteten, se tabell 2 (Sikorski et al. 1984). Det er og vist for marine invertebrater at summen av iminosyrer er positivt korrelert med proteinets termiske stabilitet (Pikkarainen et al. 1968). Fiskekollagen inneholder både mindre hydroksypolin og hydroksylisin enn kollagenet hos pattedyr. Da disse spiller en viktig rolle i strukturen til proteinet, er fiskekollagenet både mindre varmestabilt og mer løselig enn annet animalsk kollagen (Dunajsky 1979).

Denaturerings-temperaturen for kollagen fra storfe er ca. 60 °C for ungdyr og 65-70°C for eldre dyr. Dette viser at kryssbindingenes antall er av stor betydning for kollagenets stabilitet, da vi vet at antallet varmestabile bindinger øker med økende alder hos storfe (Slinde 1996). Denatureringstemperaturen for fiskekollagen ligger på rundt 40 °C, og forandrer seg lite med økende alder og størrelse (Lynum 1994).

3.0 Ernæringsmessige faktorer som kan innvirke på bindevevs-struktur og styrke

3.1 Askorbinsyre

Askorbinsyre er et vannløselig vitamin som er meget ustabilt overfor varme og har lett for å oksidere. I sin aktive form er den en god antioksidant som bl.a. vil kunne stabilisere umettede

fettsyrer og hindre harskning av membranlipider. Den mest aktive formen er den reduserte askorbinsyre, som kan oksideres til dehydro-askorbinsyre. Askorbinsyre kan også danne salter som kan ha varierende grad av askorbat-aktivitet (Halver 1985). Siden askorbinsyre er så ustabil, må en tilsette et mer stabilt salt av denne i fôr til fisk, selv om saltet ikke alltid er like aktivt som den reduserte, rene formen.

Mange pattedyr kan selv syntetisere askorbinsyre fra glukuronsyre, men de fleste fiskeslag ser ut til å enten mangle eller ha liten evne til dette (Halver 1972). Endel fiskearter er derimot i stand til å lagre en del askorbinsyre. Hos laksefisk kan askorbinsyre fra fôret relativt raskt omdannes til askorbat-2-sulfat, som er en kjemisk stabil form for askorbat. Denne lagres bl.a. i bindevevet (Halver 1985).

3.1.1 Virkning av askorbinsyre på bindevevsstrukturen

Askorbinsyre er nødvendig for en rekke enzymatiske hydroksyleringsreaksjoner i fiskens metabolisme, bl.a. som cofaktor ved hydroksylering av prolin (Halver 1972; Halver 1985). Mangel vil føre til at enzymet prolin-hydroksylase blir hemmet. C-vitaminmangel fører som kjent til skjørbuk som hos fisk kan medføre misdannelser i skjelettet (Halver 1985). Mangel på vitaminet vil hos laksefisk kunne ytre seg som deformiteter i ryggbeinet, kalt lordose og skoliose. Deformiteten skyldes ufullstendig kollagensyntese (Jobling 1994). Forholdet hydroksyprolin/prolin kan benyttes som en indikator på eventuell C-vitaminmangel hos små fisk (Halver 1985).

Bindevevets mekaniske styrke er også avhengig av kryssbindinger mellom kollagen og elastin, som initieres gjennom aktiviteten hos enzymet lysin oksidase, som er et Cu-metalloenzym hvis aktivitet reguleres av askorbinsyre. Kryssbindinger i elastin involverer hydroksylisin, og elastinet vil derfor bli svakere ved mangelfull aktivitet av enzymet (Numedal et al. 1996).

Askorbinsyre er også nødvendig for sulfatisering av glycosaminoglykaner, som er en del av proteoglykanene i grunns substansen, og som i tillegg til kollagen og elastin er viktig for bindevevets struktur. Syntesen og distribusjonen av disse glykosaminoglykanene er regulert av arylsulfatase A og B, hvis aktivitet er styrt av askorbat.

3.1.2 Faktorer som kan påvirke fiskens behov og utnyttelse av askorbinsyre

Behovet for askorbinsyre er avhengig av mange faktorer. Stress og sårskader vil kunne øke

behovet fra 100mg/kg fôr til 500-1000mg/kg fôr (Halver 1985).

Absorpsjon og tilgjengelighet av askorbinsyre er avhengig av i hvilken form den tilsettes. Den rene reduserte formen er altfor ustabil til at den kan benyttes i fiskefôr, da den vil oksideres ganske raskt. Det kreves tilsetning med relativt store sikkerhetsmarginer for å kompensere tap ved lagring og lekkasje til vannet under fôring. Det er derfor viktig å bruke en form som er relativt stabil i fôret under lagring, redusert løselighet i vann, har et tilfredsstillende opptak, og ikke minst god biologisk tilgjengelighet i fisken. Askorbat-2-sulfat har god biotilgjengelighet i fisken men tas i liten grad opp i tarmen, og bør derfor ikke brukes som askorbattilsetning i fiskefôr. Det synes som om askorbatmonofosfat eller -polyfosfat er de som hittil er funnet best utfylle kravene og brukes i fiskefôrindustrien idag.

Siden askorbinsyre er en antioksidant, vil behovet være avhengig av innholdet av andre aktive antioksidanter og av fôrfettet; grad av umettethet, mengde og kvalitet.

Innhold av prooksidanter som Fe og Cu vil også påvirke behovet for askorbinsyre og totalt behov for antioksidanter. Dersom fôret inneholder mye prooksidanter, kan askorbinsyren forbrukes allerede før den kommer inn i fisken. Askorbinsyre vil også forbrukes inne i fisken dersom innholdet av Fe er høyt. Høyt innhold av Fe kan altså resultere i en slags sekundær C-vitaminmangel, da vitaminet vil gå med til å holde jernet i redusert form. I tillegg vil totalbehovet for antioksidanter øke (Wathne 1994). De syntetiske antioksidantene som brukes i fôr i dag, som etoxyquin, er mer stabile enn askorbinsyre. Askorbinsyre vil derfor forbrukes først. Det betyr at det må tilsettes askorbinsyre i relativt store mengder i fôret for å sikre at fisken får dekket behovet.

D-askorbinsyre (den optiske isomeren av den aktive L-formen) har ingen C-vitamin-aktivitet, men vil konkurrere med denne om bindingssteder i enzymatiske reaksjoner (Halver 1972).

3.2 Kobber

Det er antydning at det er en nær sammenheng mellom bindevevs-skader/sykdommer og kobbermangel. Kobber inngår i enzymet lysin oksidase, som er nødvendig for å oksidere aminogruppen hos lysin eller hydroksylisin til en aldehydform som så kan danne kryssbindinger med amino-gruppen fra et annet kollagenmolekyl. Kobbermangel vil føre til en reduksjonen i

antall aldehydgrupper i kollagen og elastin, noe som kan antyde at det er oksidasjonen av lysin som hemmes. Lysin oksidase er også nødvendig for dannelsen av desmosin og isodesmosin i elastin. Elastinet som syntetiseres ved mangel på kobber vil bli ufullstendig, uten de spesielle egenskaper som er nødvendig for å opprettholde elastisiteten.

Cu-mangel kan være primær eller sekundær. Primær Cu-mangel betyr at inntaket er for lavt, sekundær Cu-mangel at inntaket er tilstrekkelig, men at utnyttelsen eller tilgjengeligheten av Cu er for dårlig (Blood et al. 1989).

3.2.1 Faktorer som kan påvirke behov, opptak og utnyttelse av kobber

Opptaket av Cu fra tarmen avhenger av oksidasjonstrinn, da Cu II tas opp mer effektivt enn Cu I.

Det er flere stoffer som kan påvirke utnyttelse og opptak av Cu. Tilskudd av selen til lam på Cu-fattig beite har vist seg å øke kobberutnyttelsen og gi økt tilvekst. Mye sink (Zn) kan redusere plasmanivået av Cu. Høyt inntak av molybden (Mo) kan føre til Cu-mangel selv om fôret inneholder tilstrekkelige mengder. Tilsetting av Mo kan også benyttes for å redusere faren for Cu-forgiftning dersom fôret av en eller annen grunn inneholder store mengder Cu. Det er hovedsaklig absorpsjonen av Cu fra tarmen som påvirkes av Mo, men i tillegg kan Mo direkte hemme en rekke Cu-holdige enzymer, som cytochrome-oxidase og superoksid dismutase. Kritisk nivå av Cu:Mo hos pattedyr er 2. Lavere forholdstall kan føre til Cu-mangel, og høyere har vist seg fordelaktig. Molybden og sulfat kan også påvirke Cu-mobilisering fra lever og hemme Cu-opptak i vevet ved at det dannes et Cu-kompleks; CuMoS_4 (Blood et al. 1989). Store mengder askorbinsyre i fôret kan senke tilgjengeligheten av kobber.

Det finnes en teori om at Cu i våtfôr kan være lite tilgjengelig for fisken på grunn av ionebytting med Ca. I våtfôr brukes et bindemiddel, alginat, som tilsettes fôrblendingen som Na-alginat. Etter pelletering blir fôret badet i Ca-løsning, og det skjer en ionebytting mellom Na- og Ca-ioner. Ca-ionene gjør at pelleten geler og får en god konsistens. Teorien går ut på at det Cu som opprinnelig finnes i fôrblendingen, kan danne komplekser med alginatet, da Cu II er kraftigere enn Ca II. Hvilke av disse som vil inngå i komplekset med alginat, er avhengig av konsentrasjonene av de to ionene. Konsentrasjonen som skal til for å gi geling av alginat øker i rekkefølgen: $\text{Ba} < \text{Pb} < \text{Cu} < \text{Sr} < \text{Cd} < \text{Ca} < \text{Zn} < \text{Ni} < \text{Co} < \text{Mn}$. Dersom innholdet av Cu er høyt,

og/eller konsentrasjonen av Ca er lav, kan det medføre at kobberet kan bli utilgjengelig for fisken (pers.med Bjørn Olav Gabrielsen, Pronova).

3.3 Jern

Jern (Fe) kan indirekte påvirke på bindevevet ved interaksjoner med både askorbinsyre og kobber. Askorbinsyre kan stimulere opptaket av Fe fra tarmen, og kan også redusere Fe III til Fe II. Det betyr at høyt inntak av Fe III kan føre til oksidasjon av askorbinsyren til dehydro-askorbinsyre, som er lite tilgjengelig for fisken. Det er vist at bruk av blodmjøl i fôret kan føre til C-vitaminmangel hos fisken. Jern kan også hemme opptaket av kobber fra tarmen, ved at de har samme opptaksmekanismer.

3.4 Andre årsaker

Belgvekster av arten Lathyrus kan føre til lathyrisme, som er en skade i bindevevet hos fisk. Dette skyldes innhold av stoffet β -aminopropionitril, som kan hemme dannelsen av kryssbindinger i bindevevet ved å hemme enzymet lysin oksidase.

3.5 Tryptofan

I forsøk som ble gjort for å finne hvilke aminosyrer som var essensielle for laksefisk, utviklet sockeye salmon skoliose etter å ha blitt fôret med en diett fri for tryptofan i 4 uker (Shanks et al. 1962). Det samme symptomet viste seg på 25% av individene i et forsøk med regnbueørret. Symptomene forsvant derimot etter en tid med tilskudd av tryptofan (Halver et al.,1957). Det er ikke tryptofan i kollagen fra pattedyr (Venugopal et al. 1996).

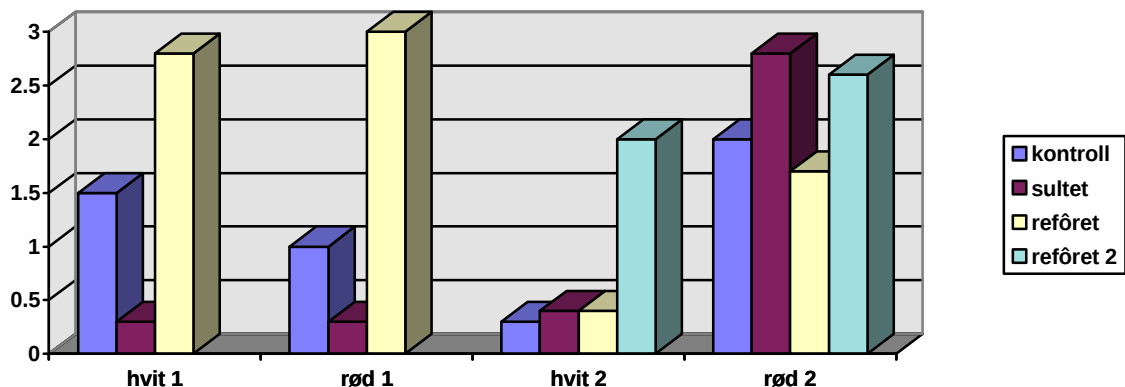
3.6 Næringsstatus / Sulting

Det er funnet at ved lengre perioder med sulting av fisk, blir albumin og myofibrillært protein nedbrutt, mens bindevevet forblir «ubrukt». Hos torsk ble det istedet deponert ekstra kollagen i myocommata og skinn. Jo mer sultet torsken var, jo tykkere og sterkere var myocommata (Love et al. 1976). De har også funnet at det er en relativt stor sesong-variasjon i myocommata-kollagen hos torsk, og at det kollagenet som er årsaken til økning i tykkelse av myocommata ved sulting, inneholder flere intermolekylære kryssbindinger enn det vi finner hos fôr fisk (Love et al. 1976). Men fordi det meste av kollagenet hos fisk fornyes årlig (Sikorski et al. 1984), vil kollagenet hos fisk aldri inneholde like mange stabile kryssbindinger som hos storfe, hvor kollagenet har lengre turnover-rate. Det vil si at kollagenet hos fisk fornyes oftere enn kollagenet hos pattedyr.

Ved lengre sulteperioder kan vi anta at det oppstår mangel på essensielle stoffer som mineraler og vannløselige vitaminer. Vi vet at de vannløselige vitaminene har liten evne til å lagres i vevet hos fisk, og derfor vil det kunne oppstå vitaminmangel. Under fôrstoppet i desember/januar her om året, ble det antydnet at frekvensen av vintersår var høyere enn normalt, noe som kan tyde på askorbinsyremangel.

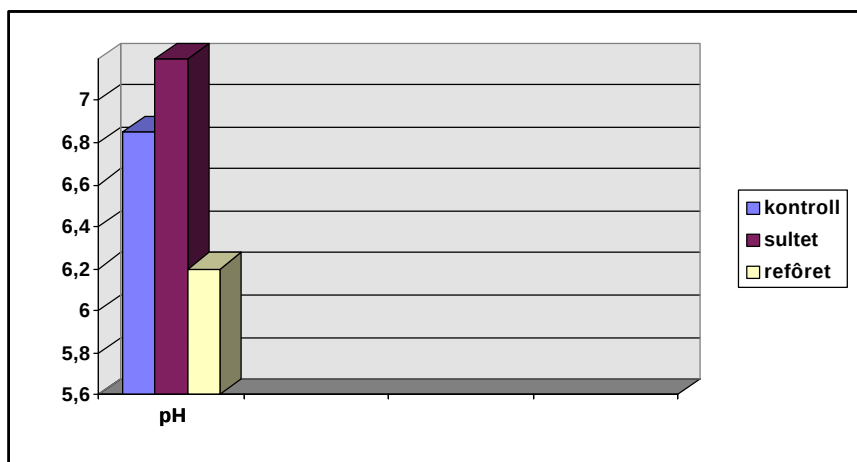
Det er vist at post-mortem pH har stor betydelse for gapingfrekvens hos torsk, og at pH-fallet er avhengig av glykogenlageret i muskulaturen før død. Det er observert en økning av gapingfrekvensen og reduksjon av pH med økende innhold av glykogen (Love 1992). Glykogen er fiskens energilager, og finnes både i lever og i muskulatur. Glykogenlageret kan i noen tilfeller påvirkes med næringstilgangen; ved fôring, sulting og refôring. Hos sockeye salmon er det vist at mengden av leverglykogen dobles under gytevandringen, selv om fisken ikke har tatt til seg fôr (Chang et al. 1960).

Black (1983) studerte glykogennivået hos regnbueørret og torsk ved sulting og refôring, og fant at hos torsk gikk glykogennivået i lever, hvit og rød muskel ned ved sulting. Ved refôring skjedde det en «overkompensasjon» som førte til overraskende høye verdier, langt over nivået før sulting. Dersom fôringa fortsatte, sank nivået til normalen ganske raskt. Ved liknende forsøk på regnbueørret, fant Black at leverglykogenet ble redusert ved sulting, men at glykogennivåene i hvit og rød muskel forble de samme, eller økte noe. Det ble altså ikke den samme graden av overkompensasjon hos regnbueørret som hos torsk, se fig. 1. Det viste seg at maksimal glykogenmengde og minimum pH opptredde ca. 100 dager etter at refôringa startet.



Figur 1. Glykogenlager i hvit og rød muskel hos torsk (hvit 1 og rød 1) og regnbueørret (hvit 2 og rød 2). Etter Black 1983.

Figur 2 viser hvordan glykogenmengden ved sulting og refôring vil påvirke postmortem-pH hos torsk; den vil øke i sulteperioden, og synke relativt mye etter refôring.



Figur 2. pH i hvit muskel hos torsk 24 t. etter død. Etter Black 1983.

Lavéty et al. (1988) fant derimot ingen signifikant forskjell på styrken til bindevevet hos atlantisk laks ved ulike pH, slik det er funnet hos torsk (Love 1972). Dette antas å ha sammenheng med at laksen har perioder i livet hvor den er ekstremt aktiv, som under gytevandringen. Det er derfor viktig at den kan mestre den pH-senkning som utvikles på grunn av opphopning av laktat, uten at bindevevet «kollapser». Det kan altså synes som om laksen har utviklet evne til å tåle lav pH uten at bindevevsstyrken reduseres i noen større grad (Lavéty et al. 1988).

Christiansen et al. (1992) antyder at perioder med rask somatisk vekst kan gi skader i muskelvevet, i overgangen mellom myotom og myosepter. Skadene kalles Growth-associated Muscle Damage (GMD). De mener årsaken er at endomysiet, dvs bindevevshinnen rundt hver enkelt muskelfiber, blir for trangt, da muskelfiberen vokser raskere enn bindevevet. Dette kan resultere i mekanisk ødeleggelse av muskelfibrene. Det ser altså ut som om forbindelsen mellom myocommata og muskelfibrene forsvakes i/etter perioder med rask somatisk vekst. Når veksthastigheten stagnerer, vil bindevevet gjenoppta sin styrke. Seintvoksende fisk ser ikke ut til å utvikle GMD.

4.0 Konklusjon

Det ser ut til at en av de største ernæringsmessige påvirkningsfaktorene vi har når det gjelder bindevevsstruktur og -styrke hos fisk er balansen mellom antioksidanter (fortrinnsvis askorbinsyre) og prooksidanter som Fe og Cu. Det er viktig å kjenne til behovet for disse, og ta hensyn til samspillet som eksisterer mellom dem. Samspillet mellom askorbinsyre og antioksidanter og mellom askorbinsyre og prooksidantene er komplekst. Det vil være avhengig av flere faktorer som for eksempel hvilken form disse stoffene tilsettes fôret, lagringsstabilitet, tilgjengelighet i tarmen og i fisken, fiskens allmenne helsetilstand og eventuelle sårskader, stress, temperatur osv. Under produksjon av fôr er det vanskelig å ta hensyn til alle disse faktorene.

5.0 Litteraturliste

Ashgar, A. and Henrickson, R.L. (1982). *Chemical, biochemical, functional and nutritional characteristics of collagen in food systems*. Advances in Food Research. 28, 231-372.

Black, D. (1983). *The metabolic response to starvation and refeeding in fish*. PhD Thesis, University of Aberdeen.

Blood, D.C., Radostits, O.M. (1989). *A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. Veterinary Medicine 7th. edt.

Chang, V.M. and Idler, D.R. (1960). *Biochemical studies on sockeye salmon during spawning migration: xii. Liver glycogen*. Can.J.Biochem.Physiol. 38, 553-558.

- Christiansen, J.S., Martinez, I., Jobling, M. and Amin, A.B. (1992). *Rapid somatic growth and muscle damage in a salmonid fish*. BAM 2(3): 235-239.
- Dunajski, E. (1979). *Texture of fish muscle*. J.of texture studies 10, 301-318.
- Halver, J.E. (1972). *Fish Nutrition*, Academic Press, Inc.
- Halver, J.E. (1985). *Recent advances in vitamin nutrition and metabolism in fish*. Nutrition and feeding of fish. Edt; Cowey, Mackie and Bell. 415-429.
- Halver, J.E., DeLong, D.C., and Mertz, E.T. (1957). J. Nutr. 63, 95-105.
- Ironside, J.I.M. and Love, R.M. (1958). *Studies on protein denaturation in frozen fish, I. Biological factors influencing the amount of soluble and insoluble protein present in the muscle of the North Sea cod*. J. Sci. Food Agr. 9, 597.
- Jobling, M. (1994). *Nutritional requirements. I: Fish bioenergetics*. Chapman & Hall, London. 31-56.
- Lavéty, J., Afolabi, O.A. and Love, M.R. (1988). *The connective tissues of fish. IC. Gaping in farmed species*. Int. J. Food Sci. Technol. 23, 23-40.
- Love, R.M., Yamaguchi, K., Créac'h, Y., and Lavéty, J. (1976). *The connective tissue and collagens of cod during starvation*. Comp.Biochem.Physiol. 55B, 487.
- Love, R.M., Lavéty, J., and Garcia, N.G. (1972). *The connective tissue of fish, IV. Mechanical studies on isolated myocommata*, J. Food. Technol. 7, 291.
- Love, R.M. (1992). *Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish*. Fish Processing Technology, 2nd.edt. Hall, G.M. editor. Chapman & Hall, London. 1-31.
- Lynum, L. (1994). *Fisk som råstoff*. Tapyr forlag. 261 s.
- Numedal, K. og Eggen, K.H. (1996). *Anatomi. Kjøtt og kjøtteknologi*. Tore Høyem edt. MATFORSK 9-29.
- Pikkarainen, J., Rantanen, J., Vastamaki, M., Lampiaho, A., Kari, A. and Kulonen, E. (1968). *On collagens of invertebrates with special reference to metylis edulis*. Eur. J. Biochem. 4, 555.
- Sikorski, Z.E., Scott, D.N. and Buisson, D.H. (1984). *The role of collagen in the quality and processing of fish*. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 20, 301-343.
- Slinde, E. (1996). *Kjøtt og mørhet*. Kjøtt og kjøtteknologi. Tore Høyem edt. MATFORSK, 53-61.
- Venugopal, V. and Shahidi, F. (1996). *Structure and composition of fish muscle*. Food Rev. Int. 12 (2), 175-197.

Wathne, E. (1994). *Mineraler med oksiderende eller reduserende effekt. Betydning og samspill i fôr og fisk*. Fagstil fiskeernæring.

Yamaguchi, K., Lavéty, J., and Love, R.M. (1976). *The connective tissues of fish. VIII. Comparative studies on hake, cod and catfish collagens*. J. Food Technol. 11, 389.