

12



Fordøyelse og opptak av næringsstoffer

Henrik Sundh¹ og Rolf Erik Olsen²

¹Göteborgs universitet ²Norges tekniske-naturvitenskapelige universitet

SAMMENDRAG

I det følgende kapittelet vil fordøyelsen av de viktigste makronæringsstoffene bli beskrevet. I første del vil det beskrives hvor og hvordan de viktigste næringskomponentene i maten brytes ned. Så vil mekanismene for opptak av den nedbrutte maten gjennomgås, og kort om hvordan de transportereres videre i tarmcellene og ut i kroppen. Deretter vil det gis en introduksjon om måling av fordøyelighet og hvordan dette påvirkes av matens beskaffenhet som smeltepunkt for fett. Det vil gis en del eksempler på variasjoner mellom arter. Ett spesialtilfelle for pigmenter i ernæring vil også bli kort beskrevet.

12.1 NEDBRYTING AV MATKOMPONENTER

12.1.1 Munn

Generelt foregår det svært lite prosessering og nedbryting av mat i munnen på fisk. Det kan være noe knusing og bearbeiding av materiale, men enzymer for nedbryting er ikke vanlig. Se kapittel 11.

12.1.2 Øsofagus og mage

For maten er oppholdstiden i øsofagus kort. Med unntak av noen brusfisk er det ikke observert opptak i dette epitelet, men i flere arter er det funnet amylaser som bryter ned karbohydrater. I fisk med mage, er syreproduksjonen viktig ikke bare for å bryte ned cellevegger og denaturerte proteiner i byttet, men også for å inaktivere patogene agens og kontroll av tarmens mikrobiota. I herbivore fisk uten kråslignende strukturer (gizzard) er pH i dette området gjerne 1.9-4.3 som er tilstrekkelig for å bryte ned cellevegger til eksempelvis alger. I karnivore arter er pH gjerne høyere, ofte helt opp til 5.5. I atlantisk laks er pH omkring 4.8, regnbueørret 4.9. Det er sannsynligvis relativt store variasjoner avhengig av type diett og stadium i fordøyelsen. I havabbor (*Dicentrarchus labrax*) varierer pH fra 2.7-4.7, og i gyllen havkaruss (*Sparus aurata*) kan den variere mellom 2.0-6.0. De fleste arter fisk som er undersøkt til i dag produserer, i likhet med mange terrestriske dyr, pepsinogen i magen som aktiveres av syre til pepsin. Det kan skilles ut mange ulike typer av pepsin som fungerer best ved ulike pH verdier, typisk i området pH 1 til 5. Pepsin er en endopeptidase som betyr at den katalyserer delingen av en proteinkjede uten krav til hvor i kjeden aminosyrene er. Men peptidbindingen vil brytes ved aromatiske aminosyrer som fenylalanin, tryptofan og tyrosin. Noen arter produserer også kitinase i magen som kan fordøye eksoskjelettet til byttedyr som krill og amfipoder. Denne egenskapen er godt utviklet i torsk, men ikke i atlantisk laks hvor fordøyeligheten av kitin er svært lav. Karbohydrater er ikke ett viktig næringsmiddel for karnivore fisk og i mange er fordøyeligheten lav. Likevel er amylaseaktivitet, α -1,4-glukosidase, påvist i magen på mange kjøttende fiskearter. Men det er store forskjeller. I ett sammenlignende forsøk ble det konkludert med at snabeluer (*Sebastes mentella*) primært fordøyer vanlige karbohydrater i magen, mens piggvar (*Scophthalmus maximus*) fordøyer disse gjennom hele mage-tarmkanalen mens gyllen havkaruss bare fordøyer karbohydrat i tarmen. Lipase er også påvist i mageepitelet på mange fisk, men det er usikkert om disse er intracellulære komponenter som ikke deltar i fordøyelsen, eller om de er reelle lipaser som fordøyer fett i maten. I de fleste fisk som er undersøkt, er det lite reell nedbryting av fett i magen slik at de ikke vil ha biologisk funksjon slik som de har i pattedyr.

12.1.3 Midttarm

Når maten forlater magen tømmes galle inn i tarmen. Galle produseres i leveren og lagres i galleblæren før bruk. Den tømmes gjennom gallegangen like før blindsekkene dersom de finnes. Gallen inneholder bikarbonat som bufrer pH og nøytraliserer magesyren og bringer pH opp til området hvor fordøyelsesenzymene fungerer optimalt. Dette er normalt i området 7-9 som er en del høyere enn det man finner i pattedyr. I tillegg inneholder galle også fosfolipider, lipoproteiner og gallesalter. Gallesaltene lages i lever med utgangspunkt i kolesterol. De er konjugater av gallesyrer og aminosyrer som er nødvendig for å gjøre dem vannløselige og hindre gjenopptak i cellens membraner. De vanligste gallesyrene i fisk er basert på sidestrukturen og inkluderer C_{27} gallealkoholer, C_{27} gallesyrer, og C_{24} gallesyrer. Gallealkoholer konjugeres med sulfat mens gallesalter oftest konjugeres med taurin og i noen arter glysin. C_{27} gallealkohol finnes i mange dyr i naturen og dominerer i gamle pattedyrarter som elefant og neshorn. De er også de dominerende gallesaltene i bruskfisk (hai, skater, rokker), og flere herbivore benfisker som karpe. En av de mest vanlige gallealkoholene er 5 α -cyprinol som opprinnelig ble funnet i vanlig karpe (*Cyprinus carpio*). I bruskfisk dominerer 5 β -scymnol 27-sulfat. I høyere fisk som strålefinnefisk dominerer C_{24} gallesalter, og spesielt kolinsyre med varierende mengder chenodeoksykolinsyre. Kolinsyre er ofte helt dominerende i flere ordener som torskefisk (Gadiformes) og gjeddefisker (Esociformes). Andre ordener som laksefisk (Salmoniformes) og maller (Siluriformes) har også chenodeoksykolinsyre selv om kolinsyre ofte dominerer. I de fleste fisk inneholder galle også fosfolipider og spesielt fosfatidylkolin. Disse er svært viktige for den senere emulgeringen av fett i tarmen slik at fett kan angripes av lipaser for videre nedbryting. Galle inneholder også avfallsstoffer som går gjennom feces ut av tarmen. Eksempler på dette er det gule bilirubin som er ett nedbrytningsprodukt fra porfyrin i fiskens hemoglobin. Det gjøres vannløselig i leveren og skilles ut i tarmen. Gallesalter vil tas opp i bakre del av midttarm og i baktarmen og transporteres til lever slik at de kan benyttes på nytt. Dette kalles enterohepatisk sirkulasjon.

I pankreas eller bukspyttkjertelvevet produseres pankreassekretet i eksokrine celler kalt akinarceller. Utskillelsen skjer like før blindsekkene eller etter lukkemuskelen til magen. Samtlige proteaser i sekretet skilles ut i sin inaktive form som proenzym for å unngå skade på akinarcellene eller utførselsgangene. Eksempler på de viktigste enzymene i sekretet fra bukspyttkjertelen er gitt i **tabell 12.1**. Når sekretet kommer inn i tarmen og møter tarmslimhinnen klipper ett lokalt enzym, enterokinase, en spesifikk seksjon av trypsinogen (i mennesker etter lysin i peptidsekvensen Asp-Asp-Asp-Asp-Lys) slik at trypsin aktiveres. Trypsin vil dermed starte en kaskade med aktivering av fordøyelsesproteaser som elastase og karboksyptidaser. Lipase, amylase og andre enzymer er fullt funksjonelle i sekretet.

Tabell 12.1. De viktigste fordøyelsesenzymene i teleost fisk.

Organ	Enzym	Proenzym	Substrat	Kommentar
Mage	Pepsin	Ja	Protein og polypeptider	Ved aromatiske aminosyrer
Eksokrin pankreas	Trypsin	Ja	Protein og polypeptider	Ved arginin og lysin
	Kymotrypsin	Ja	Proteiner og polypeptider	Ved aromatiske aminosyrer
	Elastase	Ja	Elastin og proteiner	Ved alifatiske aminosyrer
	Karboksyptidase A	Ja	Polypeptider og proteiner	Karboksylden med aromatisk/forgrenet sidekjede
	Karboksyptidase B	Ja	Polypeptider og proteiner	Karboksylden med basisk sidekjede
	Gallestimulert lipase	Nei	Tri-/di-acylglyserol, estre (som voks)	Monoacylglycerol, frie fettsyrer
	Fosfolipase A ₂	Ja	Fosfolipider	1-lysofosfolipid, fettsyrer
	Pankreatisk lipase	Nei	Tri-/di-acylglyserol	Kun primitive fisk, bruskfisk, ikke laks
	Colipase	Ja	Aktiverer pankreatisk lipase	Kun primitive fisk, bruskfisk, ikke laks
	Pankreatisk α-amylase	Nei	Stivelse, maltose, dekstrin etc	α-1,4 bindinger
	Ribonuklease	Nei	RNA	Nukleotider
Deoxyribonuklease	Nei	DNA	Nukleotider	
Tarmceller	Enterokinase	Nei	Trypsinogen	Trypsin
	Aminopeptidaser	Nei	Polypeptider	N-terminal aminosyre fra peptid
	Dipeptidaser	Nei	Dipeptider	Splitter dipeptider
	Glukoamylase	Nei	Maltose, maltotriose	Danner glukoseenheter
	Sukrase	Nei	Sukrose	Deler i glukose og fruktose
	Lipaser	Nei	Monoacylglyserol og lysofosfolipid	Frie fettsyrer

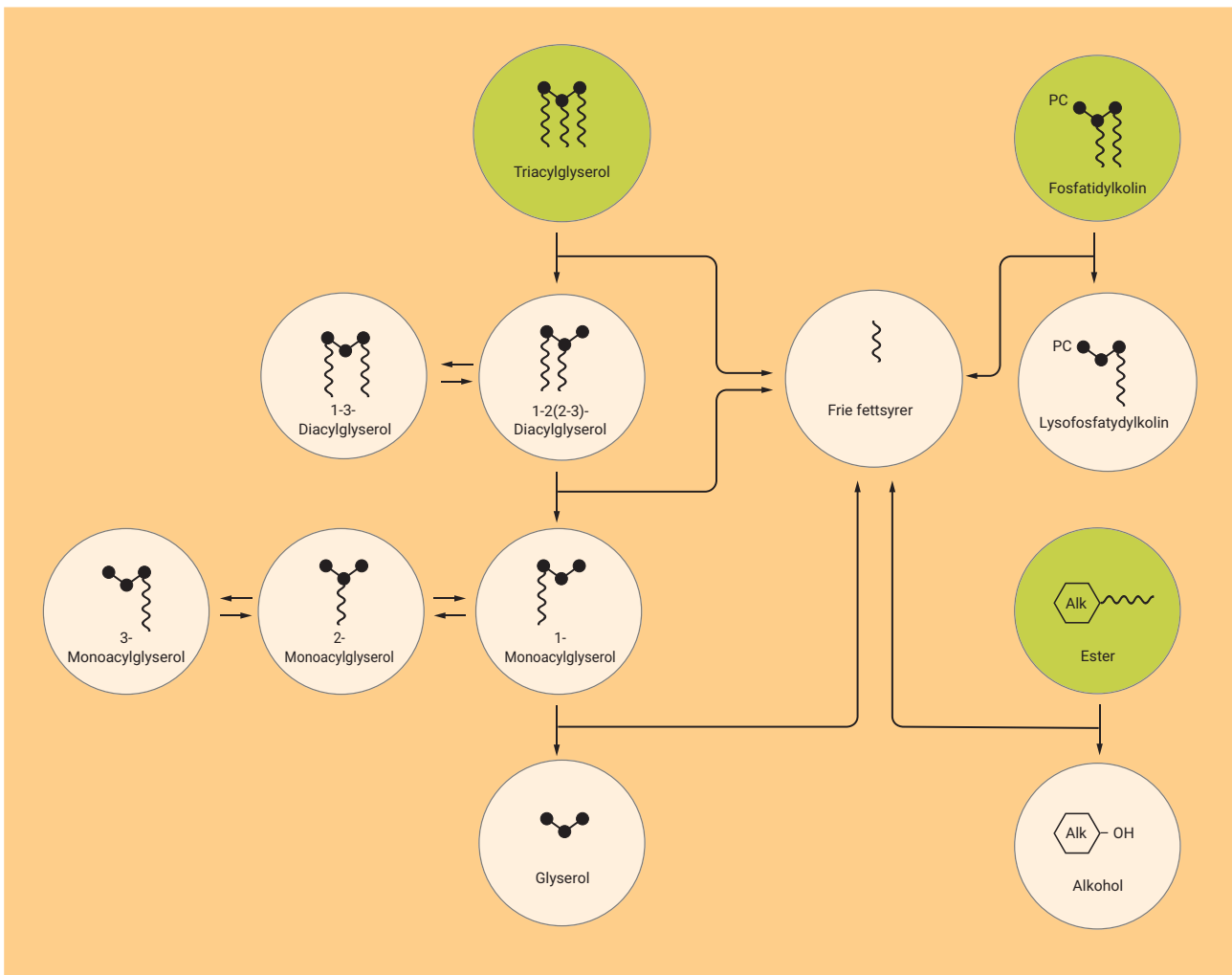
12.2 FORDØYELSE AV FETT

12.2.1 Lipaser

Det finnes minst tre forskjellige typer bukspyttkjertel (pankreatiske) lipaser; pankreatisk triacylglycerol lipase (PTL), gallestimulert triacylglycerol lipase (GTL) også kalt karboksyl ester lipase og fosfolipase A_2 (PLA_2). PTL aktiveres når det møter vann-olje flater og fungerer både på triacylglycerol og det delvis nedbrutte diacylglycerol, men har liten eller ingen aktivitet mot monoacylglycerol eller voksester. I tarmen inaktiveres enzymet av gallesaltene som sitter på overflaten av emulsjonene. Enzymet er helt avhengig av en ko-faktor, kolipase, som også skiller ut i sekretet fra bukspyttkjertelen i sin inaktive form, pro-kolipase. Når kolipase binder seg til PTL stabiliseres enzymet i den aktive konformasjonen og aktiviteten blir reaktivert. Aktiviteten overfor triacylglycerol er ofte 1,3-spesifikk slik at produktet i all hovedsak blir 2-monoacylglycerol og frie fettsyrer. PTL-kolipase systemet er viktig i primitive fisk som slimål, bruskfisk som havmus (*Chimera montrosa*), kloskate (*Raja radiata*) og håkjerring (*Somniosus microcephalus*) og sannsynligvis i enkelte primitive strålefinnefisk. I høyere fisk ser dette systemet ut til å bli faset ut til fordel for GTL. Det er i dag uklart hvorfor dette skal ha skjedd. En mulighet er at enzymet fungerer relativt dårlig mot langkjedede og høyt umettede fettsyrer som EPA og DHA som det finnes mye av i det marine miljø. Dette ble funnet i blåhai (*Prionace glauca*) hvor aktiviteten var lav mot marine fettsyrer.

I høyere fisk ser derfor GTL ut til å være den viktigste lipasen for fordøyelse av nøytralt fett. Enzymet er karakterisert ved at det har svært bred spesifisitet mot mange substrater som inneholder esterbindinger som triacylglycerol (TAG), diacylglycerol (DAG), monoacylglycerol (MAG), voksester (VE), kolesterolester (KE) og retinylester (RE) (**figur 12.1**). En annen karakteristisk egenskap er at det i seg selv har liten aktivitet mot kompliserte substrater som triacylglyceroler med lange fettsyrekjeder, men vil aktiveres av gallesalter som finnes i tarmen på de fleste fisk. GTL hydrolyserer effektivt TAG med marine langkjedede fettsyrer, og kan ha en spesifisitet for monoumettede og flerumettede fettsyrer fremfor mettede. I utgangspunktet ser enzymet ikke ut til å være posisjonsspesifikk i fordøyelsen av TAG. Det betyr at produktene vil være en blanding av 1-MAG, 2-MAG or 3-MAG og frie fettsyrer. Men dette kan være artsspesifikt, og det er foreslått at enzymet har en viss preferanse for 2-MAG i torsk og regnbueørret, men ikke like klar som for pankreatisk lipase.

Fosfolipase A_2 (PLA_2) hydrolyserer fettsyren som sitter i 2-posisjonen av fosfolipider som fosfatidylkolin og fosfatidyletanolamin og produserer lysofosfolipid og frie fettsyrer. Dette er også viktige komponenter i galleemulsjonene, spesielt i dannelsen av aggregatene som skal transportere det fordøyde fett til tarmoverflaten.

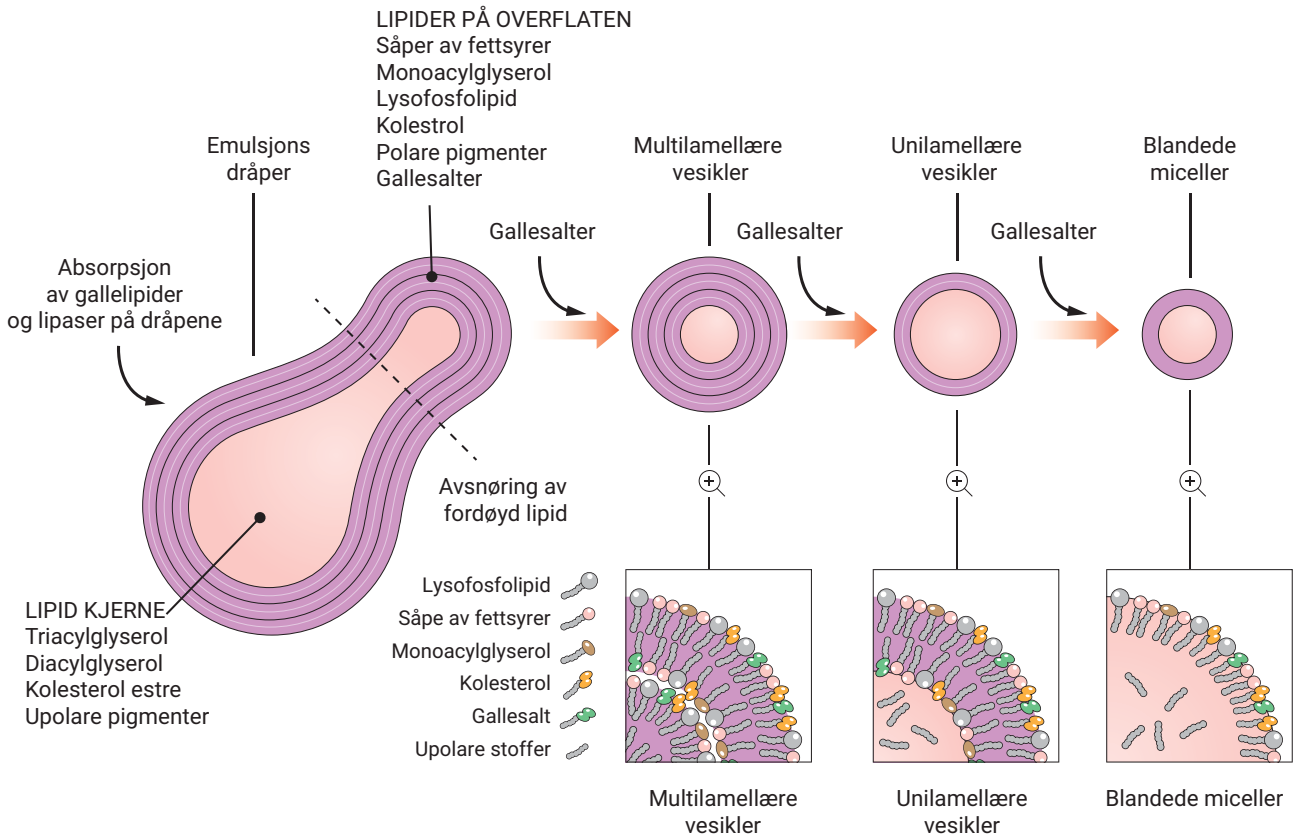


Figur 12.1. Nedbrytingen av de vanligste formene av fett i næringsmidlene. Triacylglycerol brytes ned av gallestimulert lipase til 1,3, 1,2 eller 2,3-DAG og frie fettsyrer. DAG fordøyes så videre til MAG. Med pankreatisk lipase lages svært mye 2-MAG som så kan tas opp i enterocytene, men med GTL dannes det oftest ulike MAG. Dersom disse utsettes for vann over lengre tid, vil de isomeriseres, dvs at fettsyrene flytter på seg og ender ofte opp i 3-MAG. PTL og lipaser produsert i tarmcellene kan bryte MAG videre ned til glyserol og frie fettsyrer. Dette er sannsynligvis en sidevei og betydningen er i dag ukjent. Fosfolipider som fosfatidylkolin brytes ned av fosfolipase A₂, slik at det dannes lysofosfolipid. Denne kan tas opp i enterocytene, eller kan brytes ned av lipaser skilt ut av tarmcellene, men betydningen av det er sannsynligvis liten. Estre som er bindinger mellom fettsyrer og en alkohol som vitamin A, astaxanthin, eller langkjedet alkohol (voksestre), brytes også ned av GTL og muligens andre hydrolaser. De frie fettsyrene tas opp som vanlig mens alkoholene tas opp etter hvilke stoffer de er. Noen har spesifikke transportere mens andre tas opp med diffusjon.

12.2.2 Funksjonen til galle

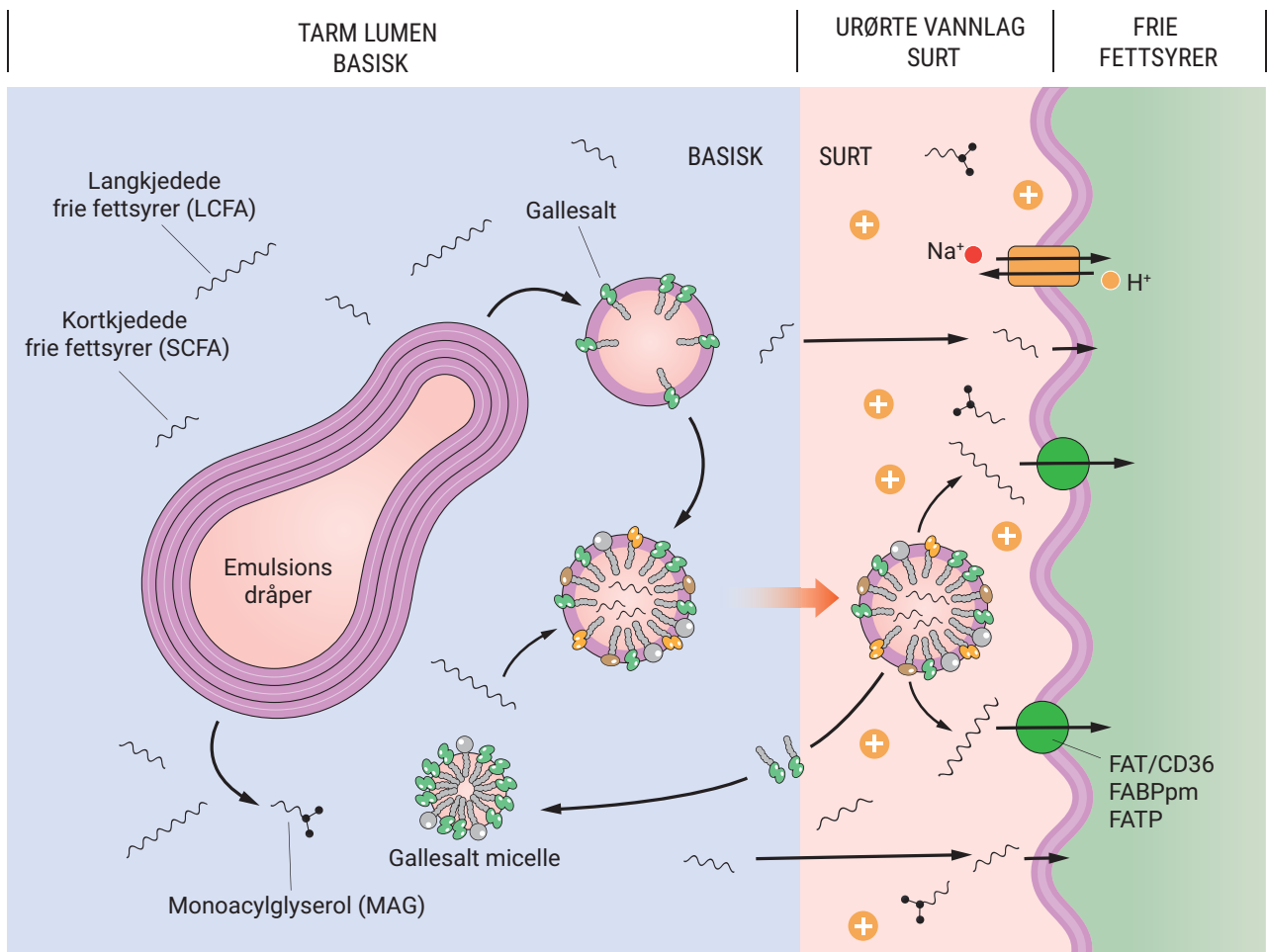
Når maten forlater magen, emulgeres fettene av gallsalter og fosfolipider i fremre del av tarmen eller i blindsekkene om de er til stede. En av de viktigste funksjonene til emulgeringen er at dråpestørrelsen reduseres slik at overflaten økes og de lettere kan angripes av lipasene som bryter ned fettene. Emulsjonen består av en kjerne av nøytralt fett som ikke er løselig i vann. Dette kan være lagringsfett som triacylglyceroler (TAG), voksestre (VE) eller kolesterolstre (KE). Overflaten vil hovedsakelig bestå av gallsalter, fosfolipid, kolesterol og peptider som både har vannløselige og fettløselige (amfipatiske) komponenter. I pattedyr blir dråpestørrelsen redusert til omkring 1 µm, og er sannsynligvis ikke veldig forskjellig til det vi finner i fisk. Men man kan regne med store forskjeller tatt i betraktning at det er så store variasjoner i gallsalter og fosfolipider i de ulike fiskeartene. Lipasene vil så feste seg på overflaten av disse emulsjonene. Etter hvert som fordøyelsen går fremover forbrukes stadig mer TAG og nye porsjoner hentes fra sentrum av emulsjonen som vil avta i størrelse. De amfipatiske lipidene (DAG, MAG, lyso-PL, FFA og kolesterol og noe gallsalter) akkumulerer og vil danne ett økende antall overflatelag på emulsjonene. Disse ligner på dobbeltmembraner hvor de ytre delene er de polare delene av de amfipatiske molekylene

og de upolare vil peke innover i dobbeltmembranene. Etter hvert som TAG forbruket øker avsnøres mindre multilamellære partikler. Gallsaltmicellene vil smelte sammen med disse strukturene slik at de først deles opp i enkeltmembran partikler, og så i enda mindre fat/skive-lignende aggregater kalt blandede miceller (mixed micelles) (**figur 12.2**). Disse micellene har ikke membranlignende struktur, men består av en ytre del bestående av polare partikler eller deler av de amfipatiske molekylene som frie fettsyrer og lysofosfolipider. Den upolare enden av molekylene vil så peke inn mot sentrum som også inneholder andre upolare stoffer som karotenoider.



Figur 12.2. Generell illustrasjon av nedbrytingen av lipider i tarmlumen hvor emulsjonene gradvis brytes ned til mindre og mindre vesikler for å ende i blandede miceller (mixed micelles) som diffunderer mot tarmen for opptak. De tidlige lamellene er multilamellære, mens blandede miceller ikke er det. Modifisert etter Boron 2016 med tillatelse.

De blandede micellene vil så diffundere mot børstesømmene (**figur 12.3**). Like før de kommer til børstesømmene passerer de ett område med spesielt liten væskestrøm kalt «the unstirred water layer». I mennesker har det en tykkelse på ca 40µm. Uten micellene vil ikke fordøyelsesproduktene ta seg gjennom dette laget. Noen få unntak er korte eller medium korte fettsyrer (< C₁₀), ikke minst acetylsyre, melkesyre, smørsyre og propionsyre som kan produseres av tarmens mikrobiota. De er vannløselige og vil lett gå over. På overflaten til tarmcellene, enterocytene, møtes micellene av en lav pH som dannes av Na⁺H⁺ anti-portere (exchangere, se **figur 12.3** og **11.22**) på celleoverflatene. Dette reduserer pH såpass mye at man antar at en god del av fettsyrene protonerer (erstatte natrium med hydrogen og blir veldig fettløselig) samtidig som gallestrukturen kollapser. Dette gir en veldig høy konsentrasjon av fett lokalt på ett lite område (opp mot 1 000 000 ganger høyere) slik at mye av opptaket kan skje ned en konsentrasjonsgradient (se kapittel 11). I noen arter er det mulig at de delvis nedbrutte lipidene lysofosfolipid og MAG kan modifiseres før de tas opp i tarmcellene. I brunørret (*Salmo trutta*) har man funnet at tarmcellene både skiller ut og har lipaser i membranene som kan hydrolysere disse fullstendig. Det er usikkert hvor viktig dette er i fordøyelsen i ørret og om det også er en egenskap som finnes i andre fisk.



Figur 12.3. Når de blandede micellene kommer inn i det urørte vannlaget over tarmepitelet (unstirred water layer) senkes pH og fettsyrer protoneres og blir dermed løselige i cellemembranen og kan transporteres ned en konsentrasjonsgradient. Opptaket av ulike fettløselige komponenter, inklusive mange langkjedede fettsyrer, og essensielle fettsyrer vil også hjelpes av ulike membranproteiner. Modifisert etter Boron 2016 med tillatelse.

12.3 FORDØYELSE AV PROTEIN

Fordøyelsen av proteiner starter for de fleste fisk i magen gjennom pepsin før maten transporteres ned i den midttarmen. Her skiller det ut mange pankreatiske proteaser i zymogen (inaktiv) form. Disse gjennomgår romlige endringer og fjerner også peptidbindinger som eksponerer de aktive setene og dermed aktiverer enzymet. De ulike proteasene bryter peptidkjedene på ulike steder av matproteinene slik at den samlede hastigheten av nedbryting blir veldig høy. Eksempelvis vil trypsin angripe proteinkjedene ved arginin og lysin mens kymotrypsin vil angripe ved aromatiske aminosyrer som tyrosin, fenylalanin og tryptofan. (**tabell 12.1**). Produktene av nedbrytingen er frie aminosyrer og små korte proteinkjeder, peptider. Siden disse i all hovedsak er vannløselige stoffer, vil de diffundere direkte mot tarmepitelet. Her vil også mange peptider fordøyes ytterligere av peptidaser som lages av tarmslimhinnene. Dette inkluderer enterokinase, dipeptidaser og aminopeptidaser som leucin aminopeptidase (LAP) og and dipeptidyl aminopeptidase (DAP).

Nedbrytingen av proteiner i tarmen kan påvirkes av en rekke faktorer. Artsforskjeller er relativt vanlige, men også utviklingsstadier og opprinnelse og kvalitet av proteinene. I moderne akvakultur vil også prosesseringsmetoder av fiskefødere være viktige for fordøyelighetsgraden av proteinet. Vanntemperatur har en direkte effekt på aktiviteten av proteasene og dermed fordøyelighet. Den optimale pH for de fleste proteaser er 6.5-9.5 som sammenfaller med pH i den bufrede midttarmen. Bakover i tarmen vil fordøyelsen av proteiner fortsette siden noen av proteasene også fungerer her. Selv om dette øker den totale fordøyeligheten av protein, er betydningen relativt liten i fisk som torsk eller laks.

I landdyr kan tarmens mikrobiota spille en viktig rolle for tarmens funksjon og metabolisme. I fisk er dette relativt lite utforsket, og det er usikkert hvor viktig disse mikroorganismene er. Det finnes noen indikasjoner fra *in vitro* studer som tyder på at protoeolytiske bakterier kan være til stede og aktiv i arter som tilapia og flere karpearter. Det er også funnet store mengder av protease-produserende bakterier av typen *Cetobacterium* spp. i tarmen hos kanalmalle (*Ictalurus punctatus*), lakseabbor (*Micropterus salmoides*) og blågjellet solabbor (*Lepomis macrochirus*). Selv om det er usikkert i hvor stor grad disse vil bidra i proteinfordøyelsen, er det sannsynlig at de i hvert fall gir ett visst bidrag.

12.4 FORDØYELSE AV KARBOHYDRAT

12.4.1 Amylaser

Som nevnt i kapittel 11, er det store variasjoner i de anatomiske strukturene til mage-tarmsystemet i ulike fiskearter. Disse forskjellene har en direkte innflytelse på deres evne til å fordøye karbohydrater. I mange arter finnes enzymer som kan fordøye karbohydrater allerede på larvestadiene. Fordøyelse av karbohydrater inkluderer to viktige enzymkategorier: pankreatisk α -amylase og disakkaridaser som er på epitelcellenes membraner. En generell observasjon er at villfisk som er planktonspisende eller omnivore har høyere amylase aktivitet enn de som er insektivore eller piskivore hvor byttedyrene har lite eller ingen karbohydrater. I vanlig karpe som er plantespiser, er innholdet av amylase i tarmen tierpotenser høyere enn i regnbueørret og 80 ganger høyere enn det man finner i gulhaler (*Seriola quinqueradiata*). Evolusjonsmessig ser det ut til at aktiviteten av α -amylase følger ett mønster mer betinget av fylogeni enn av diett. Den totale aktiviteten for nedbryting av karbohydrater i oppdrettet atlantisk laks, regnbueørret, havabbor eller gyllen havkaruss er betydelig lavere enn i tilapia. Omnivore fisk i oppdrett kan tilpasse seg og regulere amylase sekresjonen slik at den følger matens karbohydratinnhold. Denne egenskapen er ikke like utbredt i piscivore arter. I atlantisk laks endres ikke amylase sekresjonen om karbohydratinnholdet i diettene endres.

12.4.2 Disakkaridaser

Disakkarider (maltose, sukrose, galaktosider og trehalose) fordøyes i stor grad av disakkaridaser som er på mikrovilli-membranen. Aktiviteten er artsavhengig hvor herbivore fisk vanligvis har høyest aktivitet. Mat ser ut til å være en viktig regulator av enzymaktiviteten hvor sult svært raskt reduserer aktiviteten på membranene mens føring øker den.

12.4.3 Fordøyelse av ikke-stivelsesbaserte polysakkarider

Ikke stivelses-baserte polysakkarider (ISBP) som blant annet inkluderer karbohydrater med β -glykosidiske bindinger (som i cellulose) finnes i mange førkilder til fisk, spesielt hos herbivorer. På lik linje med terrestriske enmagede dyr, ser fisk ikke ut til å være i stand til å lage de nødvendige enzymene som cellulase, β -xylanase og β -glukanase som er nødvendige for å bryte ned disse karbohydratene. Man har derfor ofte avskrevet energien i disse som energitap når de blir gitt til fisk. Det ser imidlertid ut til at flere fisk kan fordøye i hvert fall noe av disse karbohydratene. I tilapia varierte fordøyeligheten av ISBP med mellom 0 og 70% avhengig av typen karbohydrater som ble gitt, og ISBP kunne bidra med opptil 17% av det fordøyelige energiinntaket. Fordøyelse av kitin krever kitinase. Også her varierer evnen til å fordøye kitin med arter. Mens både torsk og atlantisk laks har byttedyr med betydelig mengde kitin i kosten, er det bare torsk som klarer å fordøye betydelige mengder av det.

12.5 OPPTAK AV NÆRING OVER TARMEN

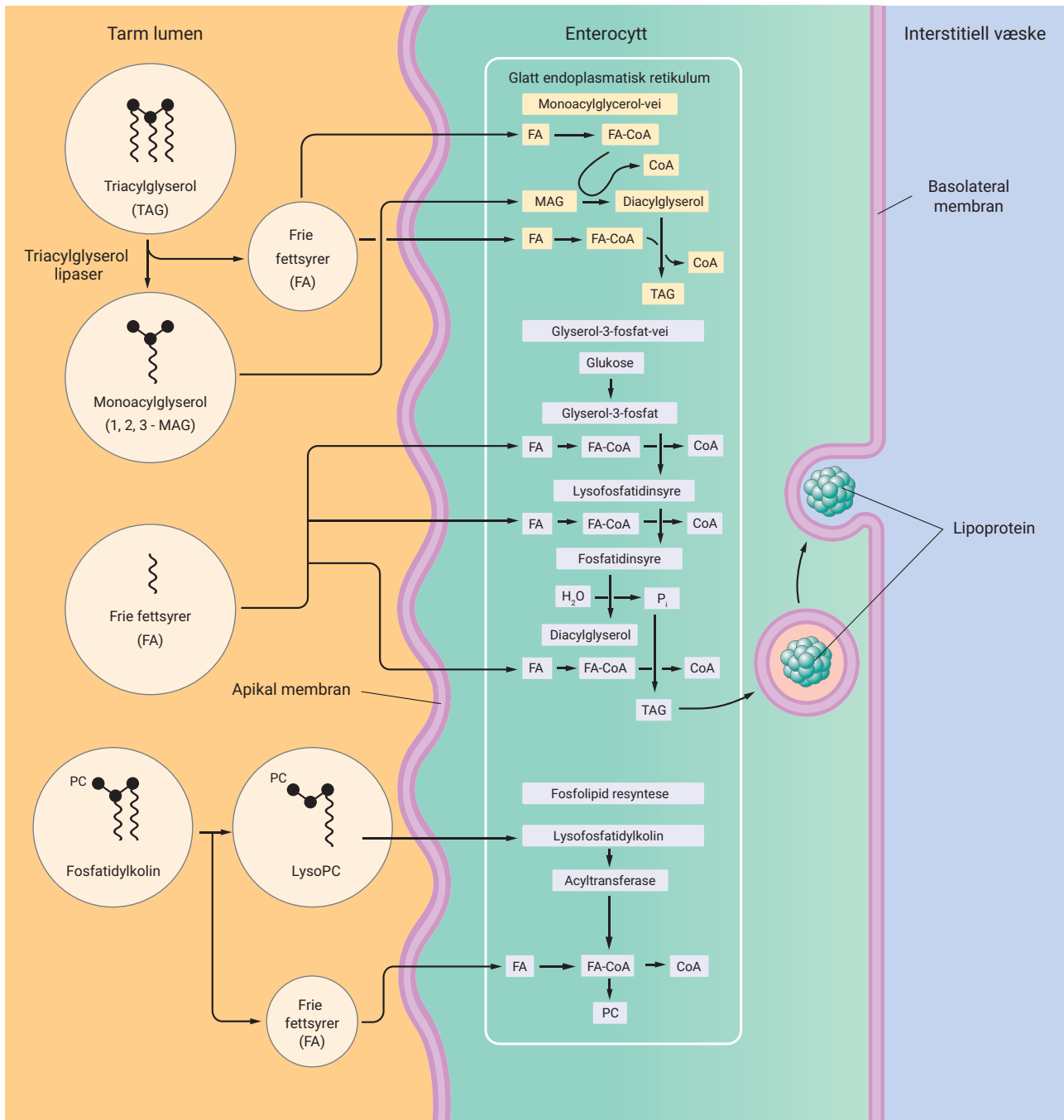
Som nevnt tidligere så kan næringsmidler transporteres over tarmepitelet på to måter; passiv transport med en konsentrasjonsgradient eller aktiv transport som går mot en konsentrasjonsgradient (se kapittel 11). Det finnes flere sekundært aktive transportører, « Na^+ -drevet opptak» for næringsstoffer som karbohydrater, aminosyrer (og peptider), og mange andre essensielle næringsstoffer. De kvantitativt viktigste makronæringsstoffene i mat er proteiner og deres byggesteiner peptider og aminosyrer, lipider og deres fordøyelsesprodukter diacylglyserol, monoacylglyserol, glyserol, fosfolipider, lysofosfolipider, frie fettsyrer, samt karbohydrater. Opptaket av mikronæringsstoffer vil ikke bli behandlet her, men nevnes kort i kapittel 12.5.5.

12.5.1 Absorpsjon av lipid

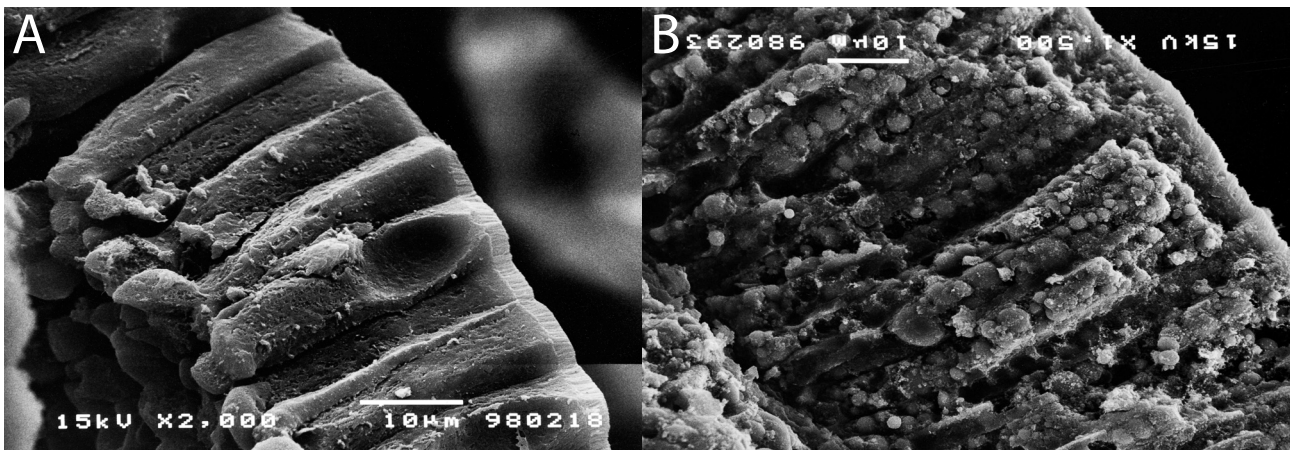
Tidligere antok man at opptaket av fett over membranen var basert på ren diffusjon ned en konsentrasjonsgradient. I dag er det mye som tyder på at en betydelig del av opptaket også kan skje ved hjelp av membranproteiner (**figur 12.3**). Noen er allerede identifisert, og det kan være store forskjeller mellom arter. Den viktigste ser ut til å være fettsyre translokase (FAT) også kalt SR-B2 eller CD36, fettsyrebindingsproteiner (FABPpm) og flere fettsyretransportproteiner (FATPs). Kolesterol og lysofosfolipid må også transporteres gjennom membranene. Kolesterol kan transporteres med proteiner kalt SR-B2 og Newmann-Pick-1 like 1 (NPC1L1). En god del av kolesterolet som blir tatt opp i tarmcellene blir transportert ut igjen ved hjelp av andre transporterproteiner som regulerer kolesterolemengden i cellene etter ett måltid. Disse proteinene hører til en klasse proteiner som heter ATP binding cassette (ABC) og som er viktige i fjerning av uønskede og giftige stoffer som tas opp under fordøyelsesprosessen. Disse transportørene vil også pumpe ut en del av gallesaltene som er tatt opp når micellene treffer tarmcellene. Gallesaltene tas oftest opp lenger ned i tarmen av spesielle transportørproteiner. Når fettsyrene kommer på den indre membranen til tarmcellene bindes de til ett av flere fettsyre bindingsproteiner (FABP) og transporteres til det glatte endoplasmatiske retikulum (GER) hvor resyntesen av TAG eller fosfolipid skjer. Noen av disse bindingsproteinene vil også binde seg godt til andre fettstoffer fra fordøyelsen som gallesalter, lysofosfolipider, kolesterol eller MAG.

På det GER kan resyntesen av TAG foregå på en av to måter (**figur 12.4**). Dersom 2-MAG er tilstede, vil enzymet MAG acyltransferase (MGAT) overføre fettsyrer fra de absorberte fettsyrene som acyl-Coa substrat til MAG slik at det dannes DAG. Dette vil igjen være substrat for DAG acyltransferase (DGAT) som overfører en ny fettsyre fra acyl-Coa med det endelige produktet som TAG. Selv om 2-MAG bare ser ut til å bli laget i primitive fisk som bruskfisk, finnes begge enzymene i alle fiskearter undersøkt til i dag. Det er imidlertid påvist i laksefisk at de fleste MAG substrater (1,2,3-MAG) deltar i syntesen av TAG. I ørret klarer tarmcellene å håndtere mellomproduktene i prosessen på en slik måte at TAG også dannes av eksempelvis 1-MAG, men bare litt tregere. Dersom MAG ikke er til stede, må resyntesen gå via den såkalte glyserol-3-fosfat acyltransferase (GPAT) veien. Her er utgangspunktet glyserol fra glykolysen. Denne får koblet på en fosforgruppe (fosforylering) slik at det dannes glyserol-fosfat som så får en fettsyre gjennom enzymet G-3P acyltransferase. Etter at en ny fettsyre kobles på fjernes fosforet og det dannes ett 1,2-DAG. Dette kan enten gå til TAG via DGAT, eller det kan fosforyleres til ett fosfolipid gjennom flere veier hvor den vanligste veien er til fosfatidylkolin via CDP kolin veien. Hvilke av disse synteseveiene som dominerer i fisk er avhengig av art og hvilke råstoffer man har. I TAG dietter vil det være tilstrekkelig MAG til at denne veien dominerer. Men om fisken får voksestre som substrat, dannes det bare en fettsyre og en alkohol. I disse tilfellene vil GPAT veien være av større betydning.

Når TAG er resyntetisert vandrer den inn i GER hvor det dannes en kjerne av TAG omgitt av en membran. Denne kjernen vil vokse til den avsnøres inn i cytosol som små lipiddråper. Deretter vil de få lagt på lipoproteiner og transporteres til den basale delen av cellen. Disse lipiddråpene kan også benyttes som intracellulære fettlagre slik at de kan inkorporeres i lipoproteiner senere. Siden disse dråpene også kan inneholde mange enzymer som kan lage TAG (MGAT, DGAT, acyl-Coa syntetase) og perilipin som beskytter mot nedbryting av fett fra lipase, kan størrelsen av dråpene bli veldig store og fylle store deler av cellene. Dersom de vokser mye kan de vokse seg for stor til å brukes som lipoproteiner. Det er også mulig at flere av disse dråpene kan smelte sammen og i røye har de blitt observert til å fylle mer enn 50% av cellevolumet (**figur 12.5**). Dette vil til slutt få alvorlige problemer for cellene. Tilførsel av fosfolipider i diettene som kan fornye membransstrukturene vil hindre vekst i dråpestørrelse i karpe, røye, sebrafisk, gyllen havkaruss og atlantisk laks. Dette illustrerer den viktige balansen i næringens sammensetning hvor ikke bare TAG er viktig, men dietten må også være godt balansert med fosfolipid. Utfordringen med lipiddråper er størst i tidligere livsstadier av fisk spesielt på marine arter som atlantisk torsk.



Figur 12.4. Ulike veier for opptak og re-esterifisering av fordøyd fett. TAG kan resyntetiseres ved hjelp av MGAT og DGAT dersom MAG er tilgjengelig. Hvis ikke må TAG resyntetiseres gjennom den energikrevende GPAT veien. Denne veien leder til dannelse av DAG som kan brukes til syntese av TAG via DGAT, eller til fosfolipidsyntese som PC eller andre fosfolipider. Fosfolipider resyntetiseres oftest fra lysofosfolipider gjennom lysofosfatidylkolin acyltransferase til for eksempel PC som vist i figuren over. Både fosfolipider og TAG vil så inkorporeres i lipoproteiner og transporteres videre i kroppen. Modifisert etter Boron 2016 med tillatelse.



Figur 12.5. Enterocytter fylt med fett. A. Normalt tarmepitel. B. Epitel fylt med store mengder fettdråper som ikke blir transportert ut av tarmen.

Etterhvert som TAG resyntetiseres i GER vil det transporteres av ett protein inn i ER lumen. Ett mikrosomalt transport protein (MTP) vil så overføre kolesterol, fosfolipid og noe TAG til ett apolipoprotein som sannsynligvis er apolipoprotein B100. I mennesker vil dette være apoB48, men de fleste fisk ser ikke ut til å lage dette proteinet. Deretter overføres store mengder nøytralt fett som TAG til den voksende partikkelen. Dette lager en partikkel med en sentral kjerne bestående av fettløselige stoffer som TAG og ett ytre lag bestående av proteiner og fosfolipid. Etter ytterligere modifiseringer transporteres de nå ferdige lipoproteinene ut av cellene og til blodet for å bli transportert til lever og vev. Disse vil være fettrike lipoproteiner som ikke sedimenterer godt i en sentrifuge. De er blitt nevnt som kylomikron som i mennesker eller veldig lav densitet lipoproteiner ut fra apolipoprotein sammensetningen. Fiskens tarm vil også produsere lipoproteiner med høy tetthet (high density lipoproteins, HDL). Disse har mye proteiner og fosfolipider og små mengder TAG. De vil derfor ha en høy tetthet i en sentrifuge og vandre mot bunnen av røret.

12.5.2 Proteinabsorpsjon

Aminosyreabsorpsjon

Det viktigste fordøyelsesproduktet av proteiner er aminosyrer. Etter ett måltid hvor mengden frie aminosyrer øker i lumen er opptaket av aminosyrer hovedsakelig transcellulært, altså gjennom cellene. Dette opptaket foregår for eksempel ved hjelp av en aktiv Na^+ -avhengig, sekundær kotransport som beskrevet i kapittel 11. Like etter ett måltid hvor konsentrasjonen av aminosyrer i lumen blir veldig høy, kan transporten også skje paracellulært gjennom en konsentrasjonsavhengig diffusjon.

Aminosyretransportørene er en bredt sammensatt gruppe membranproteiner som likevel deler flere felles egenskaper. De har typisk bred substratspesifisitet slik at flere aminosyrer kan bli transportert av samme protein. Det er mer enn 20 ulike aminosyrer som kan bli inndelt i sure, basiske, nøytrale og iminosyrer. I pattedyr ser det ut til at hver gruppe har sin spesifikke Na^+ -avhengige kotransporter. De molekylære mekanismene for transport av aminosyrer i fisk er mindre kartlagt, men de fire hovedgruppene av Na^+ -avhengige transportere vi kjenner fra pattedyr er også funnet i børstesømmen til fisk som ål (*Anguilla anguilla*), regnbueørret og havabbor (*Dicentrarchus labrax*), og havbrasmen okseøyefisk (*Boops salpa* (eller *Salpa salpa*) (se figur 11.23). Det er også påvist at fisk kan ha Na^+ -uavhengige aminosyretransportere i enterocytens børstesøm (for eksempel H^+ -avhengig nøytral aminosyre transporter) på lik linje som i pattedyr.

Når aminosyrene er tatt opp i epitelet, så kan de enten brukes til å lage proteiner, eller energi for bruk i cellen, eller de kan skilles ut for transport rundt i kroppen til steder det er behov for dem. Ekskresjon over den basolaterale membranen skjer gjennom passiv fasilitert diffusjon. Det finnes også flere aktive Na^+ -avhengige sekundære transportere på de basolaterale membranene. Den primære funksjonen til disse ser ut til å være å importere aminosyrer fra sirkulasjonen inn til cellen, sannsynligvis for å bidra til energi og proteinsyntese når cellen ikke kan bli forsynt via dietten, som ved sult eller mellom måltider. Glutamin er en spesielt viktig aminosyre for enterocytter. Den er den viktigste energikilden og forbrukes svært raskt i vev som har høy metabolisme.

Essensielle aminosyrer har generelt høyere opptakrater over tarmepitelet enn ikke-essensielle aminosyrer. Affiniteten til de Na^+ -avhengige aminosyretransportørene er også generelt høyere i fisk enn det man har funnet i pattedyr. Den høyere opptakseffektiviteten antas å være korrelert til den relativt korte tarmlengden i fisk sammenlignet med pattedyr.

Di- og tri-peptid absorpsjon

På tross av fordøyelsesproteasene er svært effektive, er ikke proteinene alltid fullstendig fordøyd før de tas opp i enterocytene. Mange vertebrater herunder fisk ser ut til å absorbere di- and tri-peptider over den apikale membranen. Mengden peptider som produseres bestemmes sannsynligvis av aminosyresammensetningen til proteinene som fordøyes. Dette opptaket skjer ved hjelp av ulike oligopeptid transportere. Oligopeptid transporter 1 (PepT1) transporterer di- og tri-peptider og har svært bred substratspesifisitet. Analyser av PepT1 fra pattedyr viser at den er en Na^+ -uavhengig transporter som er koblet til aktiv protontransport. Den responderer til en ekstracellulær pH med optimum på mellom 4.5 og 6.5 avhengig av netto ladning på substratet som blir transportert. De få PepT1 transportere som er karakterisert i fisk avviker noe fra dette mønsteret. Det ser ut til at hastigheten for transport øker ved basisk ekstracellulær pH. Fisk PepT1 kan transportere mer enn 400 ulike dipeptider og 8000 tripeptider. Etter at peptidene er tatt opp i cellene blir de normalt hydrolysert av cytoplasmiske peptidaser til frie aminosyrer. Noen små peptider ser imidlertid ut til å motstå hydrolyse og vil bli skilt ut over den basolaterale membranen og gå inn i systemisk sirkulasjon.

12.5.3 Absorpsjon av karbohydrat

Karbohydrater absorberes hovedsakelig som monosakkarider. Fisk kan absorbere de vanligste monosakkaridene som glukose, fruktose, galaktose og nedbrytningsproduktene fra kitin, N-acetyl-glucosamin. Glukose tas aktivt opp over børstesømmen ved hjelp av Na^+ /glukose kotransporter 1 (SGLT1). Fruktose tas opp ved fasilitert transport med GLUT5 (se **figur 11.22**). Ved ekstra høy belastning med karbohydrater vil ett annet protein av samme familie, GLUT2 bidra til økt opptak over børstesømmen inn i enterocytene. Opptaket skjer da ved fasilitert transport. Etter at karbohydratene er overført til den basolaterale membranen eksporteres de ut ved fasilitert transport av GLUT2 som er konstant uttrykt på denne membranen.

12.5.4 Regionalisering av absorpsjonen

Den vesentligste delen av næringsopptaket starter etter at maten forlater magen og kommer ned i tarmen og blindsekkene dersom fiskene har den. Det er en klar gradient for næringsopptak langs tarmen i alle fisk. Vannløselige næringsstoffer, unntatt store proteiner, absorberes i hovedsak i fremre del av tarmen og blindsekkene slik som i laksefisk og torskefisk. Molekylære studier av proteiner (immunohistokjemi) og genuttrykk har vist store likheter mellom de membranbundne transportørene som finnes i blindsekkene og i resten av midttarmen, noe som klart indikerer likheter i funksjon. Som nevnt over bidrar blindsekkene med ett stort overflateareal for absorpsjon av næringsstoffer, og jo større og flere blindsekker, jo mer av absorpsjonen vil skje her. I fisk med mange blindsekker som laks vil absorpsjonen av vannløselige stoffer som glukose, aminosyrer, di- og tri-peptider utgjøre opp mot 80% av det totale opptaket. Opptak av større proteiner skjer ofte i baktarm hos arter som laksefisk ved hjelp av endocytose. Det er usikkert hvor utbredt denne mekanismen er i andre fiskearter.

Absorpsjonen av fett følger i hovedsak det samme mønsteret som vannløselige næringsstoffer med høyt opptak av i blindsekkene. Men det er også mye som tyder på at noe av opptaket kan være regionalisert hvor kortere og medium lengde fettsyrer hovedsakelig tas opp i blindsekkene mens langkjedete fettsyrer også kan absorberes i midttarm spesielt dersom mengden fett i dietten er høy. Regionalisering blir også diskutert i kapittel 12.6.

I mange marine arter starter vann- og ione-opptaket i øsofagus. Først vil vann fra fiskens sirkulasjon diffundere ut i lumen av øsofagus for å utligne det høye osmotiske trykket i sjøvann. Diffusjonen av vann fra kroppsvæskene ut i lumen fortsetter i en viss grad også i magen. Når vannet går videre til tarmen, reduseres saliniteten til om lag 30 og 50% av saltmengden i sjøvann. I mange arter av fisk som Europeisk og Japansk ål, atlantisk laks og mange flyndrearter er det liten permeabilitet for vann i øsofagus men ett hurtig og aktivt opptak av Na^+ and Cl^- . Dette reduserer vanntapet fra sirkulasjonen samtidig som vannet avsøltes.

I tarmen er det også ett aktivt opptak av Na^+ og Cl^- . Dette skaper en osmotisk gradient på epitellaget slik at vann strømmer fra lumen og inn i epitelet. Dette ioneopptaket er større i den proksimale delen av tarmen. Opptak av divalente ioner kan skje både med aktivt og passivt opptak langs hele tarmen, men i mindre grad enn for Na^+ og Cl^- . Som en følge av dette synker konsentrasjonen av monovalente ioner nedover i tarmen, mens konsentrasjonen av divalente ioner øker.

12.5.5 Absorpsjon av mikronæringsstoffer

I tillegg til monovalente ioner, er flere divalente ioner og mineraler essensielle næringsstoffer for fisk. Disse ionene finnes ofte i svært små mengder og kalles derfor mikronæringsstoffer. Typiske eksempler på dette er kalsium, fosfor, sink, selen, jern, kobber og iod. I tillegg kommer mange vitaminer, hormoner og andre stoffer som er viktige for vekst og utvikling. De fleste mikronæringsstoffer er viktige for fisken. Derfor absorberes de essensielle stoffene ved hjelp av aktiv transport i tarmen. Ett spesielt tilfelle finner vi for kalsium. I motsetning til mange andre mikronæringsstoffer, så får fisk mesteparten av sin Ca^{2+} over gjellene ved hjelp av aktiv transport ved bruk av Ca-ATPaser lokalisert i kloridcellene. Kalsium er spesielt viktig for oppbygging av skjeletter og i muskelkontraksjoner som sammen med fosfat utgjør de viktigste mineralene i skjelettet. Forholdet i de fleste benfisk er kalsium: fosfat 2:1, hvor fosfat må tas opp via næringen.

Kunnskapsboks 1. Spesialtilfellet pigmenter

Pigmenter eller karotenoider er en spesiell type mikronæringsstoffer. De produseres bare av alger/planter og noen bakterier og sopp og karakteriseres blant lipidene siden de løser seg i organiske upolare løsningsmidler. I naturen kjenner man til over 750 naturlig forekommende karotenoider hvor over 250 er kjent i det marine miljøet. Kjemisk sett er karotenoidene sammensatt av en 40-karbon struktur basert på 8 isoprenenheter (samlet kalles de tetraterpener) hvor isopren er en forgrenet karbonkjede med 5 karbonatomer og to dobbeltbindinger. **Figur 12.6a** viser en detaljert struktur og en forenklet struktur hvor karbon og hydrogenatomene i isopren forutsettes kjent. **Figur 12.6b-c** viser det samme for zeaxanthin. Dobbeltbindingene i karotenoidene er konjugerte slik at de lett kan donere elektroner til frie radikaler og på den måten fungere som gode antioksidanter. Det høye antallet dobbeltbindinger gir en kraftig gul til rødaktig farge, som man blant annet kan se på bladene til trær og i mange fiskearter. Fargene varierer etter posisjonen til dobbeltbindingene og mengde og plassering av oksygen. Noen av de mest kjente er astaxanthin (rød), canthaxanthin (orange-rød), β -karoten (orange), tunaxanthin (gul), doradaxanthin (gul) og zeaxanthin (rød). Kjeden kan være rettkjedede som i lykopen, men mange av de som har interesse i akvakultursammenheng og tas opp i fisk har ofte sykliske avslutninger på en eller begge endene av kjedene (**figur 12.6c-e**). Karotenoidene deles ofte opp i karotener og xantofyller. Karotener er rene hydrokarbonkjeder som lykopen og β -karoten (**figur 12.6e**). Siden de er rene hydrokarboner er de svært upolare og vil blande seg godt i stoffer som fiskeolje. Xantofyller er oksygenert på ulike måter, ofte i sykliske områder med varierende grad av oksygen og plassering. Xantofyller vil derfor ha polare egenskaper og vil fordele seg i membraner og medier med polar ende ut mot vann og upolar del inn mot fett som fiskeolje. **Figur 12.6c-d** viser to xantofyller, zeaxanthin og astaxanthin. Zeaxanthin har to hydroksylgrupper, mens astaxanthin også har to ketogrupeer i tillegg og er derfor langt mer polart enn zeaxanthin.

Siden fisk ikke kan lage karotenoider må de få dem gjennom dietten. De har normalt også begrenset evne til å endre på dem. Gullfisk og karpe kan omdanne zeaxanthin til astaxanthin mens reke (*Penaeus japonicus*, som ikke er fisk) kan omdanne β -karoten til zeaxanthin og videre til astaxanthin. Men de vanligste oppdrettsfiskene som laks, ørret og rød havbrasme (*Pagrus major*) kan ikke gjøre slike endringer og må få de pigmentene de trenger gjennom føret. I dagens lakseoppdrett benyttes i all hovedsak astaxanthin som pigmentkilde.

Det er uenighet om karotenoidene skal defineres som essensielle næringsstoffer siden fisk i all hovedsak kan klare seg uten dem. (Unntaket er at noen kan omdannes

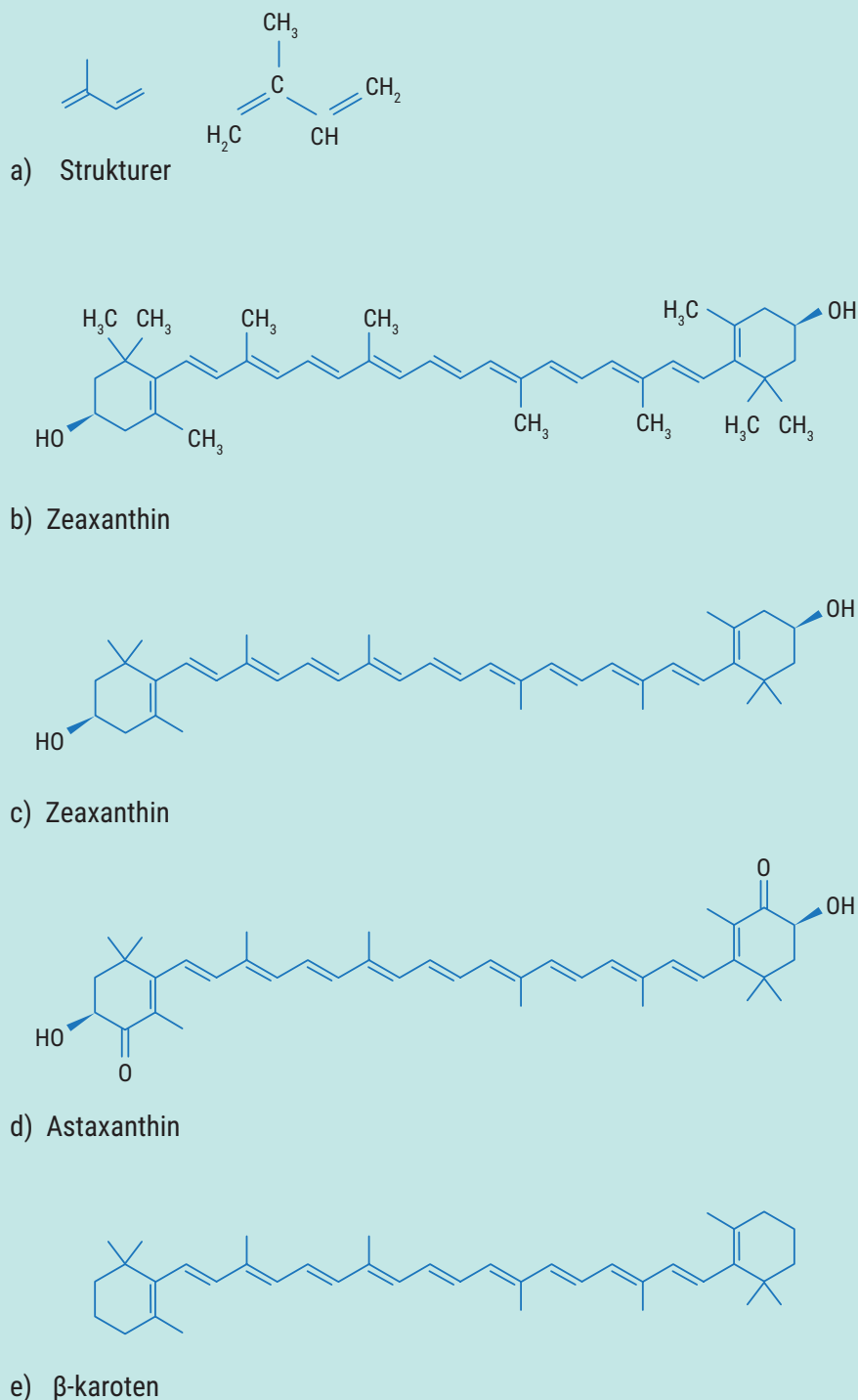
til vitamin A som er ett essensielt næringsstoff). Vitamin C og E er gode antioksidanter og essensielle næringsstoff for fisk, det er derfor uklart hvor viktig astaxanthin som antioksidant i tillegg til disse vitaminene hos laksefisk. I mange arter som torsk og laks overføres karotenoidene som astaxanthin også til rogn, og det er mye som tyder på at de bidrar til forbedret eggkvalitet og rognutvikling. Men gyting og larveutvikling vil også skje uten dem. I svært mange fisk vil de deponeres i skinnet og kan gi svært fargerike kombinasjoner (karpefisker, torsk (eg taretorsk), laks), spesielt i utviklingen av kjønnsdrakter. I de fleste fisk lagres pigmentene ikke i andre organer enn skinn og gonader, men i noen få arter med fisk som ørret og Atlantisk- og Stillehavs-laks (ikke sik, *Coreogonus*) så lagres de i hvit muskel og gir muskelen den karakteristiske røde fargen som er ett svært viktig kvalitetskriterium når laks selges på markedet. Derfor gis de fleste laksefisk i kommersielt oppdrett syntetisk astaxanthin innbakt i mikrokapsler nå ofte laget av lignosulfat for å sikre god innfarging. Det brukes i mindre grad naturlig astaxanthin (<5%), og mye av dette er forestret til en eller to fettsyrer, såkalte mono- og di-estre som fordøyes litt dårligere. Kildene på naturlige produkter kan være fra alger som *Hematococcus pluvialis* eller gjær som *Phaffia rhodozyma*. Fordøyeligheten av astaxanthin er generelt lav i fisk som atlantisk laks, gjerne 50% eller mindre. Dette er en utfordring siden pigmentene er relativt dyre og en vesentlig kostnadsdriver i fôrene. For laks bruker man om lag 50 mg astaxanthin pr kilo for en god innfarging i muskel. En del av forholdene bak den reduserte fordøyelsen diskuteres under.

Når maten fordøyes, så vil karotenoidene bli tatt opp i fettemulsjonene og de blandede micellene som dannes i tarmlumen. Det å overføre karotenoidene fra fettemulsjonene og inn i de blandede micellene er svært viktig for at de skal kunne transporteres til enterocytene for opptak. Overføringen fra emulsjonene og vesiklene til de blandede micellene bestemmes i stor grad av polariteten på karotenoidet. Nøytrale karotener vil ligge i den indre upolare kjernen og vil i mindre grad overføres til de blandede micellene mens de mer polare xantofyllene vil fordele seg bedre i de multilamellære vesiklene og blandede micellene og transporteres mot tarmcellene. I eksperimentelle systemer er det vist at bare 0.5 % av det rettkjedede og upolare karotenet lykopen vil overføres fra vesikler til blandede miceller (**figur 12.2 og 12.3**) sammenlignet med 19.8 % for det relativt polare xantofyllet astaxanthin. Dette er en forklaring til at karotener har lavere fordøyelighet enn xantofyller. Effekten av polaritetsforskjeller ser man også mellom xantofyller hvor det opptaket av det relativt upolare lutein (ligner på zeaxanthin) til lakseblod bare er en brøkdel sammenlignet med det relativt polare astaxanthin (mer enn 10 ganger lavere). Det er imidlertid viktig å huske på at dette er generelle regler, og det kan være relativt store artsforskjeller både i opptak og preferanse for enkelte karotenoider.

Når karotenoidene leveres til enterocyt-membranene, så kan opptaket skje ved passiv diffusjon, eller de kan bli hjulpet av transporterproteiner. De mest sannsynlige transporterne er som for beskrevet over for fettsyrer og kolesterol, SR-B1, SR-B2 og NPC1L1. SR-B1 er spesielt interessant siden det har lav substratspesifisitet og kan transportere alt fra karotenoider, vitaminer, kolesterol, fosfolipider og frie fettsyrer. Den er viktig for opptak av karotenoider i mange fugler, og er høyt uttrykt i laksetarm. En variant SR-B1-2, er foreslått som en markør (Quantitative Trait Locus, QTL) i laks som kan brukes til avl for forbedring av muskelfarge.

Når karotenoidene er tatt opp i enterocytene, så kan de prosesseres videre i på tre måter. For enterocytene så oppfattes karotenoidene som fremmedstoffer, og det er en gruppe transporter kalt ATP-binding cassette (ABC) transporter som sitter på den apikale membranen av polariserte celler som vil pumpe dem tilbake til tarmlumen. Fisk har flere familier av disse transporterne kalt ABCa, ABCB, ABCG og i noen arter ABCH. Hvilke transporter som er mest aktive mot karotenoider, er usikkert, men ABCB og ABCG er steroltransportere og gode kandidater. Høy grad av transport tilbake til tarmen vil også redusere den tilsynelatende fordøyeligheten av karotenoider. Karotenoidene vil også møte enzymer som bryter ned karotenoidene. De to mest kjente er β -karoten 15,15' oksygenase 1 (BCO1) and β -karoten 9',10' oksygenase 2 (BCO2). BCO1 deler karotenoidene opp i to symmetriske halvdelar ved

karbonene 15,15. Med β -karoten gir dette to all-trans retinal som er viktige for vitamin A-syntese. BCO2 kutter usymmetrisk ved 9.10' bindingen og lager mange ulike provitamin A og ikke-provitamin A karotenoider. Teleoster har minst 5 slike gener, to *bco1* og tre *bco2* gener. I tarmen til atlantisk laks er *bco1*-like and *bco2*-like gener høyt uttrykt. De nedbrutte karotenoidene vil ikke kunne bidra til innfarging i laksens muskel. De karotenoidene som ikke blir transportert tilbake til tarmlumen, og ikke brutt ned i enterocytene, vil inkorporeres i lipoproteiner og transporteres til lever og endelig til vev hvor de i atlantisk laks inkorporeres i hvit muskel.



Figur 12.6. Oversikt over xantofyller og karotener. A) viser en detaljert kjemisk struktur av en isopren-enhet og så en forenklet beskrivelse hvor karbon og hydrogen forventes kjent. B) viser en forenklet struktur av av xantofyllet zeaxanthin og C) viser samme struktur men mer forenklet. D) viser xantofyllet astaxanthin, legg merke til ekstra oksygen, og E) viser karotenet β -karoten. Merk fraværet av oksygen i karotener.

12.6 FORDØYELIGHET AV NÆRINGSSTOFFER I FISK

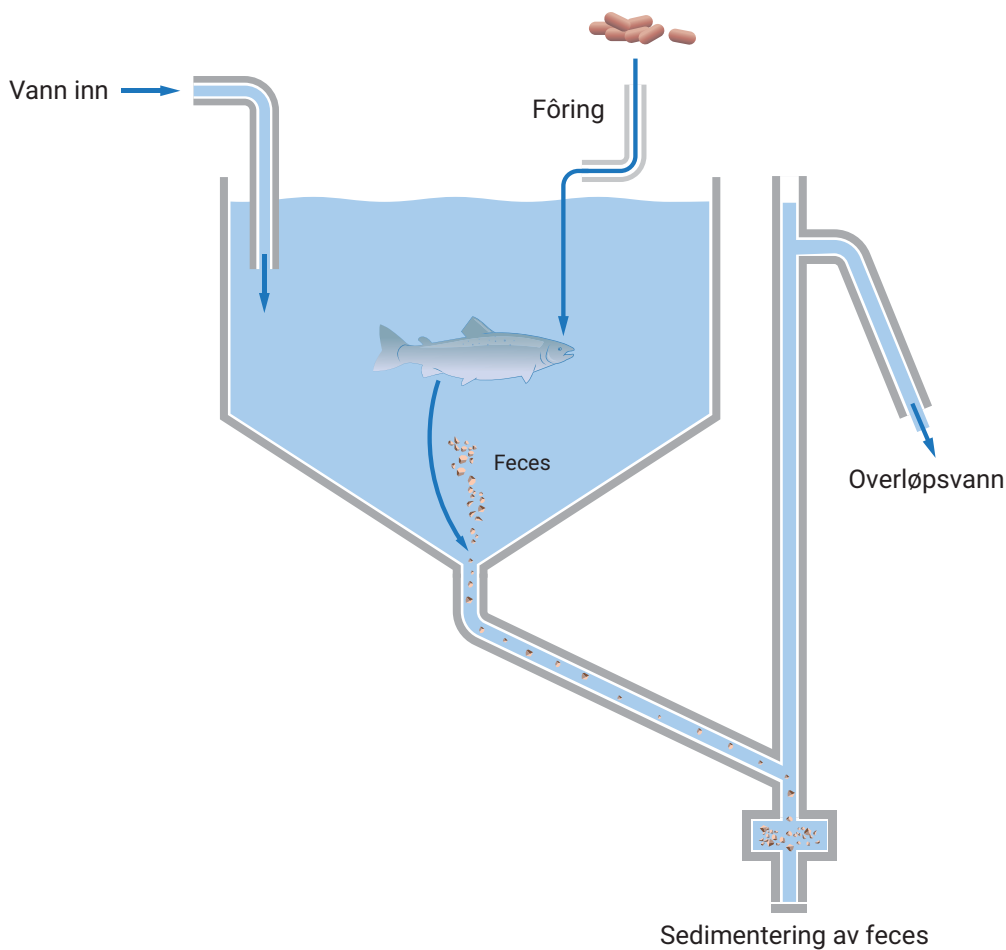
12.6.1 Metoder for å bestemme fordøyelighet

Fordøyelighet av et næringsstoff defineres som den prosentandelen av stoffet som blir absorbert i mage-tarmsystemet. Den vanligste tilnærmingen til dette, er å måle hvor mye som kommer ut i feces. Dersom fisken for eksempel gis 10g protein og 1g kommer ut i feces, så er fordøyeligheten på 90%. Problemet er at en god del av det som kommer ut i feces også er produkter som kommer fra fisken selv. Det kan være døde celler fra tarmen, urin eller avfallsprodukter som er skilt ut gjennom gallen. Det kan også være mikrobiota som har spist av maten på sin vei gjennom tarmen. Det å skille mellom matkomponenter og andre som kommer fra fisken selv er svært omstendelig, lite praktisk, og brukes derfor ikke under normale forhold.

Når man ikke justerer for reell fordøyelse, men kun beregner hvor mye av dietten som tilsynelatende kommer ut av tarmen, kalles det for "tilsynelatende fordøyelighet." Denne vil derfor alltid være lavere enn den reelle fordøyeligheten. Tilsynelatende fordøyelighet kalles også apparent digestibility (Fapp %), og den engelske forkortelsen ADC (Apparent Digestibility Coefficient) er svært godt innarbeid og brukes ofte i praksis. Betegnelsen absorpsjonskoeffisient (AE) er også brukt i enkelte miljøer.

Måling av fordøyelse i fisk har flere utfordringer om man sammenligner med landlevende dyr. For det første er det ofte veldig vanskelig å måle helt nøyaktig hvor mye fisken har spist. Deretter er det enda vanskeligere å samle opp all feces som kommer ut etter ett måltid. Dette skyldes delvis at den vil fragmentere i vannmassene og vil tape store mengder vannløselige komponenter på kort tid dersom det er strøm i karet som er nødvendig for arter som laks. Det kan være snakk om minutter før så mye stoffer er forsvunnet og målinger blir ubrukelige. I tillegg vil feces i de fleste fisk komme ut i porsjoner slik at man kontinuerlig må samle den opp. Dersom det er flere fisk, så vil passasjetiden av feces mellom ulike individer variere med flere timer.

Det aller viktigste når man skal måle fecesproduksjon og fordøyelse er derfor å benytte metoder hvor feces er kortest mulig kontakt med vannmassene. Hevertsystemer hvor man raskt tar ut feces etter hvert som den produseres, vil hindre mye tap av tørrstoff, men er arbeidskrevende og vil føre til ett betydelig stress på fisken som har stor påvirkning på fordøyeligheten. Derfor er de aller fleste systemer basert på oppsamling av feces som transporteres med vannet ut av karet og beskyttes for utvasking av tørrstoff. En av de mest brukte metodene, er den såkalte Guelph fellen (Guelph trap) siden den ble utviklet i Guelph i Canada (**figur 12.7**). Guelph fellen baserer seg på at feces transporteres ut av fiskekaret og sedimenterer i ett sedimentasjonskammer mens øvrig vann transporteres bort. Sedimentert feces omrøres ikke og vil ha relativt lite tap av tørrstoff. Denne metoden brukes en god del i forsøk med karpefisk med liten vanngjennomstrømming og gjerne liten biomasse i karene. For laks, så er dette ikke en praktisk metode siden fisken må ha stor vannstrøm for å unngå aggresjon i tillegg til at man ofte opererer med store biomasser. Her har man i stedet utviklet flere metoder hvor feces filtreres på siler, gjerne bevegelige siler eller belter, som transporterer feces bort fra vannstrømmen. En av de tidligste var den såkalte Choubert fellen som bruker bevegelige armer som konstant løfter bort feces partikler fra vannstrømmen. Men det er laget mange modifiseringer og tilpasninger (som beltesystemer) som stort sett fungerer etter prinsippet om at feces tas bort fra vannstrømmen så snart som mulig. Det er også vanlig å bedøve fisken for så å stryke feces direkte opp i målerør for videre analyse, eller man kan avlive fisken for så å dissekere ut feces. Ulempen med denne tilnærmingen er at gjenværende fisk i karet blir stresset og sterkt påvirket av behandlingen. Derfor kan dette bare gjøres noen få ganger i løpet av ett studie. Metoden er mest vanlig i laksefisk og en del arter med relativt rett baktarm. Med foldet baktarm eller en rett tarm som også inneholder ufordøyd materiale i midttarm, vil dette gi uriktige resultater. **Figur 12.8** viser de mest utbredte metodene til å samle feces i tre viktige oppdrettsarter atlantisk laks, vanlig karpe og gyllen havkaruss.



Figur 12.7. Prinsippet bak en Guelph felle. Feces transporteres ut av karet, og vil sedimenteres med minimalt med omrøring mens vannet går ut av ett avløp.

Selv om Guelph fellen eller sil-filtrering har potensiale til å samle opp all feces fra ett måltid, er det ett relativt komplisert og tidkrevende arbeid. For å omgå dette benytter man ofte såkalte fordøyelsesindikatorer. Dette er ufordøybare stoffer som legges inn i fôret. Disse vil så oppkonsentreres når andre næringsstoffer tas opp på sin vei gjennom tarmen. Da kan man beregne tilsynelatende fordøyelighet ut fra bare en liten prøve feces, som må være prøvetatt på riktig måte. Man bruker da formelen under:

$$\text{Tilsynelatende fordøyelighet (ADC)} = 100 - \left(100 \times \frac{\text{Stoff i feces}}{\text{Stoff i diett}} \times \frac{\text{Indikator i diett}}{\text{Indikator i feces}} \right)$$

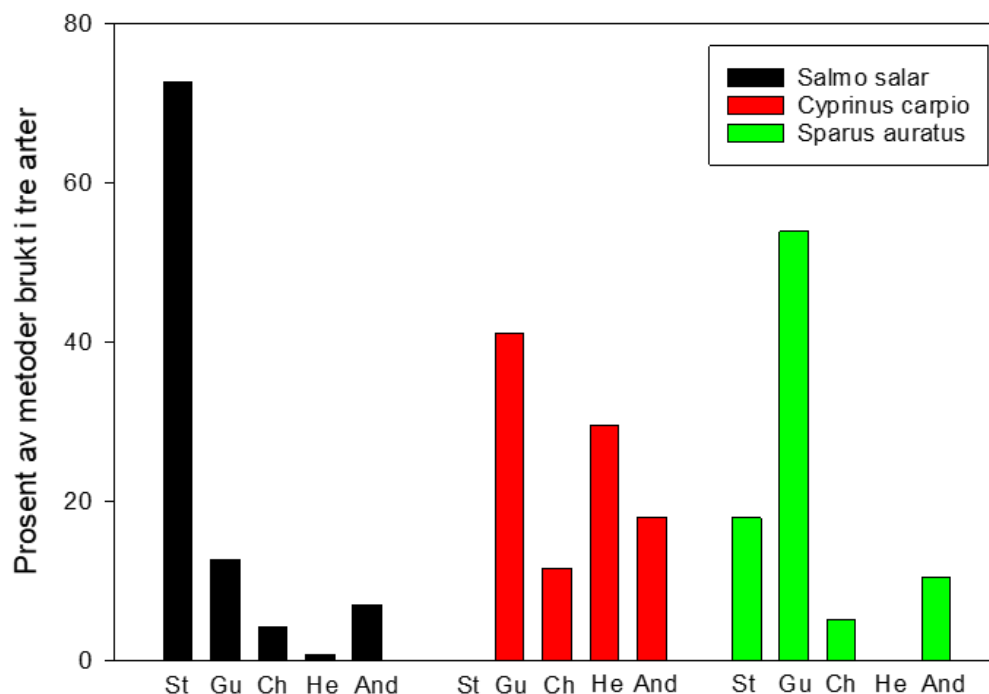
Under sees ett eksempel på beregning av fordøyeligheten av fett i ett forsøk hvor man har brukt kromoksyd. Alt er beregnet ut fra tørrstoff. Fettet er i prosent av tørrstoff, mens indikatoren er i mg/g tørrstoff. I dette tilfellet er fordøyeligheten av fett på over 90%, og det betegnes som veldig bra.

$$\text{ADC} = 95.16 = 100 - \left(100 \times \frac{\text{Fett i feces: } 5.06\%}{\text{Fett diett: } 25.6\%} \times \frac{\text{Indikator (Cr}_2\text{O}_3) \text{ i diett: } 67.8 \text{ mg}}{\text{Indikator (Cr}_2\text{O}_3) \text{ i feces: } 277 \text{ mg}} \right)$$

Legg merk til at man i den siste del av formelen regner ut relativ mengde ufordøyd fett, ganger med 100 for å få prosent og trekker verdien fra 100 slik at man får prosent fordøyd fett. I akvakulturforskningen var kromoksyd (Cr_2O_3) en av de tidligste markørene som ble brukt. Den gis ofte i relativt store mengder, 0.5-2%, og er relativt billig å analysere for forskningsgrupper med anstrengte budsjetter. Men resultater viste at den kunne bevege seg gjennom tarmen på en annerledes måte enn maten og dermed gi feil resultat på for-

Metode for oppsamling av feces

Figur 12.8. Metoder som ble brukt til oppsamling av feces i atlantisk laks, vanlig karpe og gyllen havkaruss i 250 publiserte arbeider i perioden 2000-2013. For hver art er summen av metodene 100%. Merk at i atlantisk laks er hovedsakelig stryking av feces (72.5%) benyttet mens det ikke gjøres i karpe. I karpe dominerer Guelph fellen (41%) og hevert (29.5), mens Guelph fellen også er vanligst i gyllen havkaruss (53.8) mens hevert ikke blir brukt. St=stryking, Gu=Guelph fellen, Ch=Choubert oppsamling, He=hevert fra kar, And=andre metoder inklusive disseksjon. Olsen upublisert.



døyelse. Det ble også vist at den kunne påvirke tarmens mikrobiota. Derfor gikk mange miljøer som arbeider med laks bort fra å bruke den. Men populariteten har holdt seg godt i forskning med andre arter som vanlig karpe og gyllen havkaruss. Selv om mange fordøyelsesindikatorer som metallpulver, isotoper og plastikk er undersøkt som alternativer til kromoksyd, er yttriumoksyd (Y_2O_3) mest brukt i dag. Den tilsettes bare i små mengder i fôret (typisk 0.01-0.1%) og er relativt lett å analysere sammen med andre metaller med metoder som «induktiv koblet plasma masse spektroskopi» (ICP-MS).

Tilsats av indikatorer i fiskens dietter kan normalt bare gjøres i kontrollerte forsøk av mindre skala. I kommersiell sammenheng er det ikke mulig da det vil være svært dyrt å legge dette inn i diettene, og man må få spesiallagde dietter som også øker kostnadene betydelig. Eksempelvis ville man i ett merd-forsøk med laks ha behov for mer enn 1 million kilo diett og 1000 kilo yttriumoksyd. Måling av tilsynelatende fordøyelighet under kommersielle forhold må derfor benytte seg av ingredienser som er naturlig forekommende i dietten og som har veldig lav fordøyelighet. Her brukes i dag metoder som total aske, ufordøyelige fibre eller cellulose. Hver av disse metodene har utfordringer, og det kan være store variasjoner i resultatene. Noe av asken (definert som det som er igjen etter forbrenning av prøven) kan for eksempel inneholde metaller som absorberes av fisken, mens fibre kan fermenteres i fisketarmen samtidig som passasjehastigheten kan være annen enn for fôrkomponentene. Temaet er viktig og er i rivende utvikling. I det siste har man også begynt å undersøke om en del tungmetaller som er naturlig til stede i råvarene kan brukes som indikator. Dette inkluderer lantanoiden lutetium. Dette er en interessant tilnærming, men utfordres ved at innholdet i diettene kan være for lavt til at man kan få pålitelige data.

12.6.2 Tilsynelatende fordøyelighet av næringsstoffer

Tilsynelatende fordøyelighet av næringsstoffer er summen av de prosessene som skjer fra næringen begynner å brytes ned til den er absorbert i enterocytene. Mesteparten av fordøyelsen og opptaket skjer i de fleste fisk i blindsekkene dersom de finnes eller i første del av midttarmen. Men mange av fordøyelsesenzymene, spesielt de membranbundne vil være til stede og bryte ned fôret slik at mat tas opp også langt ned i tarmen. I noen fisk som atlantisk laks kan også noe av maten tas opp i baktarmen ved endocytose. **Tabell 12.3** viser

opptaket av fett og protein langs mage-tarmkanalen hos endel vanlige oppdrettsarter som er gitt kommersielle fôrblandinger. Det som i tabellen kan se ut som fordøyelse i magen hos laks og ørret, skyldes metodiske utfordringer og ikke nødvendigvis fordøyelighet siden mage i disse artene ikke har ett velutviklet opptakssystem.

Tilsynelatende fordøyelse av næringsstoffer i noen kommersielle referansedieter er gitt i **tabell 12.4**. Disse diettene har høyt innhold av fiskemel og lett fordøyelige planteråstoffer som soyakonsentrat og rapsolje. Fett fordøyes normalt rundt 95-99% under slike forhold. Proteiner har også svært god fordøyelighet og ligger gjerne rundt 85-95%. Stivelse har dårligere fordøyelse, og ligger ofte en del lavere. Om man ser på tabellen, så ser vi at fordøyeligheten av tørrstoff er langt lavere enn for hovednæringsstoffene. Dette skyldes at det er flere komponenter i diettene som ikke fordøyes spesielt godt. Dette er stivelse som nevnt tidligere, men også ufordøyelige fibre som kommer fra planteproteiner, samt mineraler. Mange mineraler fra fiskemel vil ha dårlig fordøyelse siden de kan være bundet opp i skjelettdeler. I tillegg vil fisk i sjøvann drikke noe som fører til at mengden kalsium og magnesium vil akkumulere i tarmen slik at den tilsynelatende fordøyelighet i noen tilfeller kan bli negativ. Dette er en feil som ikke kompenseres for i de fleste forsøk.

Fordøyelighet i tarmsegmenter

	Mage	Pylorus	Midttarm	Baktarm	Rektum	Feces
Lipid						
Røye	0	70	81	88	-	
Regnbueørret	9	48	76	86	-	91
Atlantisk laks	29	40	76	84	90	-
Torsk	-	46	83	86	90	91
Kveite	-15	-	73	88	-	96
Bergylt	Ingen	Ingen	50	76	75	-
Protein						
Kanalmalle	62	Ingen	72	86	97	98
Regnbueørret	17	48	72	84	85	87
Atlantisk laks	6	61	74	83	88	-
Torsk	-	-	74	86	89	84
Kveite	-17	-	39	73	-	82
Bergylt	Ingen	Ingen	75	85	88	-

Tabell 12.3. Tilsynelatende fordøyelighet bakover i tarmen på utvalgte fiskeslag. Samling fra ulike kilder.

Overgang til plantebaserte proteiner har gitt mange utfordringer for fiskeernæring. Planteråstoffer inneholder store mengder antinæringsstoffer hvor mange er stoffer som skal hindre at de spises i naturen. Andre er stoffer som er naturlige komponenter i plantene. Alle vegetabiliske råvarer har en unik sammensetning av antinæringsstoffer som man må ta hensyn til ved sammensetning i fôr. For soya er dette protease inhibitorer, anti-vitaminer, fytinsyre, oligosakkarider, saponin og fytoøstrogener. Effektene av stoffene er mange, de mest alvorlige er de som reduserer fordøyeligheten av råstoffer og som skaper betennelser i tarmepitelet slik som saponin som punkterer membranene (se **tabell 12.4**). Men det er også stoffer som fytin i råvarene som binder opp fosfat slik at det ikke blir tilgjengelig for fisken. Dette vil føre til fosfatunderskudd som må kompenseres med økt tilsetning av fosfor som går ut i sjøen med feces. Planteråvarer har blitt veldig forbedret og innholdet av antinæringsstoffer sterkt redusert i løpet av de senere årene. Først og fremst bruker man i dag mange konsentrater som er produsert ved ulike metoder, men det er

økende tendenser å se på produkter som for eksempel soyaisolater (vannekstrahert) og flere fermenterte produkter. Konsentrater er utmerkede proteinkilder og gir lite eller ingen betennelsesreaksjoner (men inneholder noe antinæringsstoffer som noe fytin og saponin). For fôrutviklere er det konstante utfordringer som må tas hensyn til i utformingen av nye dietter. Viktig i fôrutvikling er at effekter av råvarer vil være forskjellig for ulike fiskearter. Omnivore vil ha en annen toleranse enn karnivore.

Tabell 12.4. Tilsynelatende fordøyelighet av referansedieter til ulike fiskeslag. I de fleste tilfellene er det benyttet fiskemel i referansediene. Nye fôrressurser kan påvirke fordøyeligheten mye og må undersøkes for hver komponent. Tabellen viser også effekten av ekstrahert soyamel og soyamel med redusert mengde antinæringsstoffer. *Ekstrahert soyamel i dietten med mye antinæringsstoffer, ** Soyakonsentrat med reduserte mengder antinæringsstoffer. Eksempler sammensatt fra ulike kilder.

Art	Tørrstoff	Fett	Protein	Stivelse	Energi
Atlantisk laks	80	96	89	72	88
*		83	84	62	72
**	86	94	86		81
Regnbueørret	89	99	92	98	95
Gyllen havkaruss		95	83	81	80

Fordøyeligheten av makronæringsstoffene fett og protein er påvirket av type råvare og prosessering. Når råvaren er av god kvalitet vil tilgjengeligheten av protein være god i råvarer som maisgluten, hvetegluten og noen fiskemel og insektsmel. Ved utvikling av nye råvarer er ikke bare pris og ernæringsverdi viktig, men også bærekraft og at råvarene ikke direkte konkurrerer med næringskjeden til mennesker. Slike råvarer kan være avskjær fra fiskeriene, slakteavfall fra kylling og svin og blodmel. Matvaresikkerhet, markedshensyn og religiøse begrensninger er også viktige å ta hensyn til ved utvikling av nye råvarer. Fremtidens fiskefôr vil i stor grad bruke biprodukter integrert i en sirkulær økonomi. Her vil kvaliteten på råvarene være viktig. Umiddelbar håndtering og behandling med enzymer for å lage hydrolysater med peptider gir ofte svært god kvalitet som er smaksforsterkere i laks. Om råvarene utsettes for nedbryting eller høye temperaturer vil det bli en del kryssbindinger mellom aminosyrer som gjør dem utilgjengelig for fisk. Om produktene i tillegg er utsatt for harskning vil tilgjengeligheten av ingrediensene være enda lavere siden det dannes kryssbindinger som ikke kan brytes. Det kan også genereres komponenter som ikke er sunn for fisken og som kan ha dårlig smakelighet.

Vi skal kort se på hvor mye typen råvare betyr for fordøyelsen av fett i fisk. I **tabell 11.5** kan vi se at viktige egenskaper er kjedelengden på fettsyrene, og hvor mettet de er. Korte fettsyrer fordøyes alltid bedre enn lange fettsyrer, og kan ligge under 50% når kjedelengden kommer opp i C₁₈, mens den er nær 100% når kjedelengden bare er på C₁₀. Mettet fett er lite løselig, stivner lett og er ofte krystallinske i micellene. De vil derfor ikke angripes like lett av lipaser og vil dermed ha dårligst fordøyelighet. I tabellen ser vi at fordøyeligheten øker med økende smeltepunkt som i dette tilfellet er det samme som at andelen mettede fettsyrer øker. Monoumettede fettsyrer har lavere smeltepunkt, og fordøyes rimelig godt, mens den tilsynelatende fordøyelsen av langkjededede flerumettede fettsyrer er svært god, ofte opp mot 100%. Normal fordøyelighet av fiskeoljer og planteoljer med mye umettet fett, er ofte 95-96%.

Fordøyeligheten av fett påvirkes også av hvordan type fett som fisken gis. Voksesterer er svært vanlig i det marine miljøet som opplagsnæring i marine krillarter og spesielt i raudåte (*Calanus finmarchicus*) som er en viktig næringsressurs i den nordlige Atlanteren. Voksesterer fordøyes langt senere i de fisk som er undersøkt når mengden i fett overstiger 40%. Når laks gis slike mengder med voksesterer vil den forsøke å kompensere med å øke produksjonen av galle for bedre emulgering i tarmen. Dette fungerer bare delvis og fettfordøyelsen synker i fisk som får oljer som voksesterer. Dette er litt merkelig da arter som torsk som spiser raudåte i tidlige livsstadier også har dårlig evne til å fordøye voksesterer. Økt temperatur er vist å øke fordøyeligheten i mange arter inklusive atlantisk laks. Dette gjelder spesielt i de tilfeller hvor fisken får mye mettet fett i dietten. Den økte temperaturen vil redusere krystalliseringen av mettet fett og gjøre den mer mottakelig for hydrolyse.

Råstoff	Smeltetemperatur	Fordøyelighet
Fiskeoljer		96
Fett med smeltepunkt	38°C	72
	45°C	53
	53°C	15
Individuelle fettsyrer		
14:0		94
16:0		90
18:0		59
18:1		96
22:1		91
24:1		82
18:2n-6		92
20:4n-6		96
18:3n-3		96
22:6n-3		97

Tabell 11.5. Tilsynelatende fordøyelighet av fett med ulikt smeltepunkt, og fettsyrer med ulik kjedelengde og mettetthet hos atlantisk laks. Data er samlet fra flere kilder og viser generelle trender i fordøyeligheten. Reelle verdier vil variere med eksempelvis mengden fett i diettene og temperatur.

12.7 LITTERATUR

12.7.1 Anbefalt litteratur

Hardy R and Kaushik SJ (eds.) 2021. Fish Nutrition. ISBN: 9780128195871

Olsen RE and Ringø E. 1997. Lipid digestibility in fish. A review. In: Recent Research Developments in Lipid Research, Transworld Research 1: 199.

Waagbø R, Espe M, Hamre K og Lie Ø (eds.). 2001. Fiskeernæring. Kystnæringen forlag & bokklubb, ISBN 82- 7595-020-1

12.7.2 Referanser til figurer og tabeller

Boron WF and Boulpaep EL (eds.) 2016. Chapter 45, Medical Physiology 3rd Edition. Hardback ISBN: 9781455743773.

ILLUSTRASJONER OG FIGURER.

Følgende har bidratt med figurer eller bilder til kapittel 12. Bidragsyterne beholder sine eventuelle copyrightrettigheter uten forkortelse.

Knut Gangåssæter, Doghouse: 12.1, 12.2, 12.3, 12.4, 12.6, 12.7

Rolf Erik Olsen, Einar Ringø, Reidar Myklebust: 12.5

Rolf Erik Olsen: 12.8