

Næringsinnhold i African catfish (*Clarias gariepinus*) beriket med taurin – tap ved tilberedning

av

Thomas Myrnes Robertsen



Mastergradsoppgave i fiskerifag
Studieretning marine næringsmidler
(60 stp)

Institutt for marin bioteknologi
Norges fiskerihøgskole
Universitetet i Tromsø

Mai 2008

Forord

Denne oppgaven representerer avslutningen på mine studier ved Norges fiskerihøgskole. Det har vært fem svært interessante og lærerike år. Det er mange som fortjener en takk for at jeg nå får muligheten til å prøve ut all kunnskapen i praksis.

Først og fremst en stor takk til min kjære Kathrine Alseen og vår nyankomne lille Emil. Studietiden ville ikke vært den samme uten Kathrine, og lille Emil har virkelig gitt meg et nytt perspektiv på livet.

Edel Elvevoll fortjener en stor takk for veldig god veiledning. Jeg setter stor pris på hennes evne til å alltid komme med positive tilbakemeldinger og til å ta seg tid selv når hun er opptatt.

En stor takk også til Hanne Mæhre for hjelp med analysene, korrekturlesing og for at hun alltid er tilgjengelig for både små og store spørsmål.

Jeg vil i tillegg takke alle på IMAB som har bidratt med svar på spørsmål og hjelp på laben. Jeg vil spesielt takke Rune Larsen for veiledning, Ida J. Jensen og Håvard Håkonsen for godt samarbeid på masterstudiet og for å skape god trivsel under arbeidet med masteroppgaven.

I forbindelse med oppdrett av prøvemateriale vil jeg takke Wageningen IMARES.

Sammendrag

Mangelen på marine råstoffer har ført til bruk av vegetabiliske råvarer i produksjon av fiskefôr. Innblanding av vegetabiliske råvarer i fiskefôr gjør for eksempel at oppdrettsfisken får et lavere innhold fordelaktige komponenter enn det som normalt finnes i vill fisk. Prosessering og tilberedning av mat påvirker også innholdet av næringsstoffer. Mange gunstige forbindelser påvirkes negativt av slik bearbeiding. Varmebehandling og renseprosesser kan føre til lavere tilgjengelighet eller tap av biologisk aktive komponenter.

Analysene i denne oppgaven ble utført med African catfish (*Clarias gariepinus*), som var oppdrettet hos Wageningen IMARES, Nederland. Der ble de delt i fem grupper og hver gruppe ble gitt fôr med ulikt innhold av taurin. Forsøkene var todelt, og i den første delen var formålet å utvide kunnskap om mulighet for dietær berikning av fiskefilet med taurin. I hvilken grad taurinberikningen påvirket innholdet av vann, fett, aske og protein, fettsyresammensetning og sammensetning av andre frie aminosyrer ble også undersøkt. Seks rå fileter fra hver gruppe ble analysert.

I den andre delen var formålet å kartlegge grad av tap av næringsstoffer fra fiskefilet beriket med taurin ved vanlige tilberedningsmetoder (koking og baking). Endringer i fettsyresammensetning ble også analysert. Det ble benyttet fisk fra to forskjellige grupper. Tre fisker fra hver gruppe ble undersøkt, der høyre filet ble tilberedt, mens venstre filet ble analysert rå (kontroll).

Korrelasjon mellom taurininnhold i fôret og taurininnhold målt i fiskemuskel viser at taurininnholdet i muskelen flater ut fra ca. 8 g taurin/kg fôr. Korrelasjonskoeffisienten bekrefter at en logaritmisk trendlinje ($R^2 = 0,94$) passer bedre enn en lineær trendlinje ($R^2 = 0,71$).

Tap ved tilberedning i forhold til rå filet varierte fra 18 til 37 % for taurin, 13-38 % for glysin, 16-34 % for alanin og 13-34 % for lysin mellom grupper og tilberedningsmetode. For begge gruppene viste resultatene en trend i at retensjonen for kokt filet var mindre enn hos bakt filet, men det var kun i en gruppe det var signifikante forskjeller for taurin, glysin og lysin mellom kokte og bakte fileter. Det var også en trend blant de bakte filetene at gruppen som fikk mest taurin i fôret hadde lavere retensjon enn den andre gruppen.

Summary

Deficiency of marine ingredients has led to use of vegetable ingredients in the production of fishfeed. The use of vegetable ingredients in fishfeed will for instance lower the content of beneficial components in farmed fish compared to wild fish. Processing and cooking also influence the nutritional value of food. Such preparations may influence favourable compounds in a negative way. Heating and purifying processes may lower the accessibility or lead to losses of bioactive compounds.

The analyses in this work were carried out using African catfish (*Clarias gariepinus*), farmed at Wageningen IMARES, Netherlands. The fish were divided into five groups, and each group was fed on a feed with different taurine content. The experimental work was divided in two main parts, and in the first part the aim was to expand the knowledge about the possibility of dietary modulation of fish fillets with taurine. Whether the taurine enrichment had any influence on the content of water, fat, ash and protein, fatty acid composition and composition of other free amino acids was also examined. Six fillets from each feeding group were analysed.

In the other part the aim was to determine the degree of losses of nutrients from fish fillets enriched with taurine when preparing with two traditional household techniques (boiling and baking). Changes in fatty acid composition were also analysed. Fish from two of the feeding groups were chosen for this purpose. Three fish from each group was analysed, the right fillet was prepared, while the left served as a control.

Correlation between taurine content in the feed and the taurine content measured in fish muscle showed that the taurine content in the muscle levelled off from about 8 g taurine/kg feed. The correlation coefficient confirmed that a logarithmic approach ($R^2 = 0.94$) fitted better than a linear approach ($R^2 = 0.71$).

Losses during preparation were 18-37 % for taurine, 13-38 % for glycine, 16-34 % for alanine and 13-34 % for lysine (between groups and cooking methods). For both groups there was a trend that retention for boiled fillets was lower than in baked fillets, but there were only significant differences between boiled and bakes fillets for taurine, glycine and lysine in one of the groups. Among the baked fillets it was a trend that the group fed with the highest concentration of taurine had lower retention than the other group.

Innholdsfortegnelse

Forord	I
Sammendrag	II
Summary	III
Innholdsfortegnelse	IV
1 Innledning.....	1
1.1 Sjømat og helse	2
1.1.1 Omega 3 fettsyrer	3
1.1.2 Taurin	4
1.1.3 Andre komponenter.....	6
1.2 Funksjonell mat	6
1.2.1 Dietær beriking av mat.....	7
1.3 Retensjon av næringsstoffer under prosessering og tilberedning.....	8
2 Materialer og metoder	10
2.1 Råmateriale.....	10
2.2 Forsøksdesign.....	10
2.3 Opparbeiding av prøver.....	11
2.4 Tilberedning av mat i husholdning.....	11
2.4.1 Koking.....	11
2.4.2 Baking	11
2.5 Analyser	12
2.5.1 Proteininnhold	12
2.5.2 Vanninnhold	12
2.5.3 Fettinnhold	13
2.5.4 Askeinnhold	13
2.5.5 Fettsyresammensetning	13
2.5.6 Frie aminosyrer	14
2.6 Statistikk.....	15
3 Resultater.....	16
3.1 Dietær berikning av fiskefileter med taurin	16
3.1.1 Vann-, protein-, fett- og askeinnhold	16
3.1.2 Fettsyresammensetning	17
3.1.3 Frie aminosyrer	18
3.2 Tap av næringsstoffer ved vanlige tilberedningsmetoder	19
3.2.1 Fettsyresammensetning	19
3.2.2 Frie aminosyrer	21
4 Diskusjon.....	23
4.1 Dietær berikning av fiskefileter med taurin	23
4.2 Lekkasje av taurin ved vanlige tilberedningsmetoder.....	25
4.3 Videre arbeid	26
5 Konklusjon	27
6 Litteraturliste	28

1 Innledning

Fokuset på å spise sunn mat er i dag større enn noen gang. Den generelle forbruker er blitt mer bevisst på at livsstilssykdommer som overvekt, diabetes og hjerte- og karsykdommer i mange tilfeller kan relateres til kostholdet. Dette har ført til økt fokus på sunne matvarer fra næringsmiddelindustrien, samt nye produktgrupper omtalt som funksjonell mat. Fisk og annen sjømat blir av enkelte omtalt som funksjonell mat. Dette på grunn av innholdet av en rekke bioaktive, helsefremmende komponenter utover det rent ernæringsmessige.

Mange av verdens fiskebestander er tilnærmet maksimalt utnyttet eller overbeskattet. Dette betyr at oppdrettet fisk har fått større betydning for å etterkomme økt etterspørsel etter fisk (EFF, 2008). Rent ernæringsmessig kan ulempene med oppdrettet fisk være at de ikke har tilgang til den samme føden som tilsvarende fisk i vill tilstand. Mangelen på marine råstoffer, først og fremst marin olje, men etter hvert også marint protein, har ført til bruk av vegetabiliske råvarer i produksjon av fiskefôr. Innblanding av vegetabilisk olje og protein i fiskefôr gjør for eksempel at oppdrettsfisken får et lavere innhold av omega 3 (n-3) fettsyrer (Seierstad *et al.*, 2005) og enkelte aminosyrer enn det som normalt finnes i vill fisk. Dette betyr at konsumentene kan gå glipp av noen av de viktige helsefremmende komponentene som har gjort fisk til mer enn bare et næringsmiddel. I de senere år er det derfor blitt initiert en rekke forskningsprosjekter som både forsøker å kartlegge betydningen av disse forskjellene, og strategier for å sikre at oppdrettsfisken inneholder tilstrekkelige mengder av slike biologisk aktive forbindelser. I forhold til human ernæring har disse arbeidene i hovedsak vært fokusert på betydningene av redusert innhold av n-3 fettsyrer, men etter hvert har også andre forbindelser fått oppmerksomhet. Aminosyren taurin er en slik forbindelse.

Taurin er en aminosyre som den senere tiden har fått stor oppmerksomhet på grunn av dens mange ulike roller i biologiske prosesser (Bouckenoghe *et al.*, 2006). Blant disse er å forebygge åreforkalkning (Yamori *et al.*, 2001; Yamori *et al.*, 2006), osmoregulator (Schaffer *et al.*, 2000; Bouckenoghe *et al.*, 2006), immunomodulator og antioksidant (Schuller-Levis og Park, 2004). Nandhini *et al.* (2005) har i tillegg foreslått taurin som hjelp mot diabetes type II, men andre har ikke kunnet finne denne sammenhengen (Brøns *et al.*, 2004)

Prosessering og tilberedning av mat påvirker også innholdet av næringsstoffer. Mange gunstige forbindelser påvirkes negativt av slik bearbeiding. Varmebehandling kan i noen tilfeller føre til lavere tilgjengelighet av aminosyrer, som følge av irreversible maillardreaksjoner. Renseprosesser, som ved raffinering av oljer, vil kunne fjerne en rekke

fordelaktig forbindelser som er til stede fra naturens side. I tillegg vil vannløselige, biologisk aktive komponenter, som taurin kunne tapes ved varmebehandling.

I dette arbeidet ble det tatt utgangspunkt i African catfish (*Clarias gariepinus*) som var beriket med taurin gjennom fôret. Sammenhengen mellom taurinkonsentrasjon i fôr og mengde taurin i fiskemuskel ble studert. I tillegg ble det undersøkt om dette påvirket innhold av vann, aske, protein, fett og fettsyresammensetning og innhold av andre frie aminosyrer.

Det ble også analysert på tap av frie aminosyrer (taurin, glysin, alanin og lysin) fra fiskemuskel ved vanlige tilberedningsmetoder, koking og baking. Betydningen av taurinkonsentrasjon i rå fiskemuskel for grad av tap, og endringer i fettsyresammensetning er også studert.

Formål:

- 1) Utvide kunnskap om mulighet for dietær berikning av fiskefilet med taurin
- 2) Kartlegge grad av tap av næringsstoffer fra fiskefilet, beriket med taurin, ved vanlige tilberedningsmetoder

1.1 Sjømat og helse

At sjømat er et sunt alternativ i kostholdet og dermed kan virke forebyggende på en rekke livsstillssykdommer er godt dokumentert. Sjømats positive omdømme som sunn kost har først og fremst bakgrunn i at det er rikt på de sunne langkjedede flerumettede omega 3 fettsyrene (LC¹ n-3 PUFA²). LC n-3 PUFA bidrar blant annet til å redusere fettinnholdet (triglyserider) i blodet, og er på den måten forebyggende mot hjerte- og karsykdommer (Schmidt *et al.*, 2005a; Mozaffarian og Rimm, 2006). Av den grunn har fet fisk, som for eksempel laks, fått størst oppmerksomhet som sunn sjømat. Relativt nye studier har for øvrig foreslått at det kan være andre komponenter i sjømat som har positiv effekt på helsen, både i seg selv eller i en synergieffekt med LC n-3 PUFA (He *et al.*, 2004b; Hooper *et al.*, 2006; Yamori *et al.*, 2006; Elvevoll *et al.*, 2008). Selv konsum av fisk så sjeldent som en gang i uken antas å virke forbyggende mot hjerte- og karsykdommer og hjerneslag (He *et al.*, 2004b; He *et al.*, 2004a). Det er også sett at mager fisk har hatt samme effekt på vekttap hos

¹ Long Chain

² Poly Unsaturated Fatty Acid

mennesker som fet fisk. Dette kan tyde på at andre komponenter enn LC n-3 PUFA står for denne effekten (Thorsdottir *et al.*, 2007).

I sjømat finnes det en rekke andre forbindelser som antas å ha positive tilleggseffekter. Som kjent er sjømat i tillegg rik på fett- og vannløselige vitaminer (A, D og B₁₂), lettfordøyelige proteiner som gjennom fordøyelse kan gi opphav til biologisk aktive peptider, aminosyrer, antioksidanter, mineraler og andre sporstoffer. Dette betyr at det kan være vanskelig å erstatte et fiskemåltid med kosttilskudd, med tanke på å få i seg alle slike fordelaktige forbindelser. Elvevoll *et al.* (2006) sammenlignet inntak av tran og kokt/røkt laks, og resultatene viste at opptaket av n-3 fettsyrer ble nesten tredoblet når det marine fettene ble konsumert som sjømat, sammenlignet med inntak som fiskeolje. I tillegg har konsum av sjømat en tilleggseffekt ved at en samtidig unngår inntak av usunne alternativer.

1.1.1 Omega 3 fettsyrer

Omega 3 fettsyrer deles vanligvis i to kategorier basert på om de stammer fra planter eller sjømat. Til den førstnevnte kategorien tilhører α -linolensyre (ALA, 18:3n-3). ALA er en essensiell fettsyre for mennesker og dyr, ved at det er kun planter, alger og noen sopp som kan syntetisere denne (Uauy og Valenzuela, 2000; Calder og Deckelbaum, 2008).

Eicosapentaensyre (EPA, 20:5n-3) og docosaheksaensyre (DHA, 22:6n-3) hører til den andre kategorien. Hos mennesker kan ALA, i begrenset grad, forlenges og tilføres flere dobbeltbindinger, og danne EPA og DHA (Schmidt *et al.*, 2005a; Calder og Deckelbaum, 2008). Flere faktorer gjør syntesen fra ALA til EPA og DHA svært ineffektiv. ALA benyttes i stor grad som energikilde gjennom oksidasjon (de Deckere *et al.*, 1998), og enzymene som er involvert i syntesen av EPA fra ALA påvirkes negativt av tilstedeværelse av linolsyre (18:2n-6, LA) (Uauy og Valenzuela, 2000). LA brukes blant annet til å syntetisere arakidonsyre (20:4n-6, ARA), og finnes som regel i overskudd ved vanlig konsum i vestlig del av verden (Curtis *et al.*, 2004). Bare omtrent 5 – 10 % av ALA tilført via dietten omdannes til EPA, og 2 – 5 % omdannes til DHA i friske voksne mennesker (Psota *et al.*, 2006). Dermed må EPA og DHA tilføres direkte via kosten, og sjømat er eneste naturlige kilde som er rik på disse.

Helseaspektene ved konsum av LC n-3 PUFA, EPA og DHA, er i stor grad forbundet med positiv effekt på hjerte- og karsykdommer, gjennom reduksjon av triglyserider i blodplasma (de Deckere *et al.*, 1998; Uauy og Valenzuela, 2000; Nilsen *et al.*, 2001; Schmidt

et al., 2005a) og en økning av HDL³ kolesterol (Nilsen *et al.*, 2001; Schmidt *et al.*, 2005a). LC n-3 PUFA er også viktig for å opprettholde en fordelaktig balanse i forholdet mellom n-6 og n-3. ARA og EPA er opphav til eicosanoider, fettsyrehormoner som blant annet er med på å styre blodkoagulasjon, betennelsesreaksjoner og sammentrekning av blodårer. Eicosanoidene trigger disse mekanismene på dramatisk forskjellig måte avhengig om opphavet er fra ARA eller EPA. Fra ARA dannes det flere hormoner som blant annet er betennelsesfremmende (prostaglandin E₂), hemmer blodproppdannelse (prostaglandin I₂) og trigger til blodproppdannelse (tromboxan A₂). Fra EPA dannes det tilsvarende hormoner, men de som fremmer betennelsesreaksjoner og blodproppdannelse har liten eller ingen aktivitet (Olsen, 2007). Balansen mellom n-6 og n-3 er derfor viktig. Det optimale forholdet for n-3/n-6 ligger mellom 1/1 og 1/4 (Simopoulos, 2004), mens WHO (2003) anbefaler en balanse mellom inntak av n-3 og n-6 på 1/4 - 1/5.

Studier de siste tiårene har vist en sterk sammenheng mellom inntak av LC n-3 PUFA og reduksjon i generelle hjerte- og karsykdommer, hjerteinfarkt og hjerneslag (de Deckere *et al.*, 1998; Uauy og Valenzuela, 2000; Simopoulos, 2004; Schmidt *et al.*, 2005b; Schmidt *et al.*, 2005a). Disse fettsyrene har både en rolle som forebyggende ved generelle hjerte- og karsykdommer og hjerneslag (Schmidt *et al.*, 2005a) og som en del av behandlingen i etterkant av et hjerteinfarkt (Schmidt *et al.*, 2005b).

1.1.2 Taurin

Taurin, 2-aminoethanesulfonic acid, er en aminosyre som er rikelig distribuert i animalsk vev (O'Flaherty *et al.*, 1997; Bouckenoghe *et al.*, 2006), med spesielt forhøyede konsentrasjoner i sjømat (Spitze *et al.*, 2003). Strengt tatt er ikke taurin en ekte aminosyre, men en sulfonsyre, på grunn av den manglende karboksylgruppen, men til tross for dette omtales taurin som en aminosyre. Dette er en aminosyre som kun finnes i fri form, ikke bundet i proteiner eller peptider (O'Flaherty *et al.*, 1997).

Taurin kan bli syntetisert fra cystein og metionin, men denne syntesen er lite effektiv hos voksne mennesker og fraværende hos spedbarn. Dermed er den viktigste tilgangen på taurin via kosten (Bouckenoghe *et al.*, 2006). Taurin er essensiell for spedbarn og tilsettes derfor i morsmelkerstatning, og under spesielle forhold regnes taurin som essensielt også for

³ High Density Lipoprotein

de voksne (Schuller-Levis og Park, 2004). Det er ikke etablert et anbefalt daglig inntak (ADI) av taurin (VKM, 2005), men Verdens Helseorganisasjon anbefaler et totalt inntak av sulfonerte aminosyrer (cystein + metionin + taurin) på 13 mg/kg/dag for voksne, samt 27 og 57 mg/kg/dag for henholdsvis barn og spedbarn (WHO, 2003).

Taurin ble lenge sett på som kun et sluttprodukt i metabolismen av svovelholdige aminosyrer, men det er nå enighet om at taurin spiller en rolle i flere biologiske prosesser (O'Flaherty *et al.*, 1997; Yamori *et al.*, 2001; Bouckenooghe *et al.*, 2006). Til tross for at mekanismene for mange av disse prosessene enda er lite kjent, er det godt dokumentert at taurin har en rolle i dannelsen av gallesalter, samt at det kan ha effekt som stimuli på syntese av gallesyre. Disse er blant annet forbundet med reduksjon av kolesterol i plasma. Akkumulasjon av kolesterol kan føre til åreforkalkning, som på sikt kan gi stopp i blodstrømmen (ischemia), som er en vanlig dødsårsak i vestlig del av verden (Yamori *et al.*, 2001; Bouckenooghe *et al.*, 2006; Yamori *et al.*, 2006). I tillegg er gallesalter essensielle ved absorpsjon og fordøyelse av lipider i tarmen (Bouckenooghe *et al.*, 2006).

Ved osmotisk stress benytter celler seg av mekanismer for å regulere cellevolumet til å tilpasse seg til en osmotisk ubalanse, for å unngå skader på blant annet cellemembranen. Taurin er ett av flere molekyler som spiller en sentral rolle i denne tilpasningen (Schaffer *et al.*, 2000; Bouckenooghe *et al.*, 2006). Faktisk er taurin en av de mest aktive molekylerne ved osmotisk regulering i hjernen (Bouckenooghe *et al.*, 2006). Taurin vil også kunne spare cellene for tap av andre viktige kationer (Schaffer *et al.*, 2000).

Taurin har antioksidativ effekt ved både å forsterke effekten av andre antioksidanter (Bouckenooghe *et al.*, 2006) og selv binde seg til reaktive molekyler (Schuller-Levis og Park, 2004; Bouckenooghe *et al.*, 2006). Taurin kan også virke som immunomodulator, for eksempel ved å nedregulere produksjon av forløpere til inflammatoriske stoffer i hvite blodceller (Schuller-Levis og Park, 2004). Det er foreslått at taurin kan fungere som hjelp mot type II diabetes. Dette i sammenheng med redusert insulinresistens, eller økt sensitivitet for insulin (Nandhini *et al.*, 2005). Taurins rolle i en slik prosess er det derimot ikke vitenskapelig enighet om. Brøns *et al.* (2004) kunne for eksempel ikke finne en sammenheng mellom taurin og diabetes. Brøns *et al.* (2004) gjorde for øvrig studiene på "friske" mennesker med genetisk og livsstilrelatert disposisjon for utvikling av diabetes type II.

1.1.3 Andre komponenter

Som tidligere nevnt finnes det også en rekke andre komponenter i sjømat med positiv virkning på helsen. Protein fra sjømat er opphav til mange biologisk aktive peptider med flere ulike roller. Blant annet er de opphav til hemmere av Angiotensin Converting Enzyme (ACE) som virker blodtrykksreducerende og forbindelser med antioksidativ kapasitet.

Sjømat er rik på flere vitaminer, som A, D, B₁₂ og andre B-vitaminer. Vitamin A inngår i flere viktige prosesser, som synsprosessen og i immunsystemet. Fisk og fiskeolje står for en betydelig del av vitamin D inntaket i de nordiske landene. Vitamin D er spesielt viktig for opptak av kalsium, som er nødvendig for normal beinmetabolisme. B vitaminene er viktige i energiomsetningen. I tillegg er enkelte arter (for eksempel krabbe) en god vitamin E kilde. Vitamin E fungerer først og fremst som antioksidant. Ubiquinone (koenzym Q₁₀) er en annen antioksidant som sjømat er god kilde til (VKM, 2006).

Fisk og annen sjømat er også kilder til mineraler, og særlig jod og selen. Selen er en viktig del i noen antioksidanter (Holben og Smith, 1999; Arthur, 2000; Moschos, 2000), essensielle hormoner for normal utvikling og vekst (Holben og Smith, 1999; Köhrle, 2000), redusert risiko for kreft (Duffield-Lillico *et al.*, 2003) og kan etterligne insulin (Stapleton, 2000). Jod er spesielt viktig for produksjon av hormoner som er forbundet med normal vekst og mental utvikling hos barn. Hos voksne kan mangel på jod føre til lavt stoffskifte, nedsatt blodtrykk og muskelsvakhet. Sjømat har et naturlig høyt innhold av jod (VKM, 2006).

I tillegg er sjømat en god kilde til lettfordøyelig protein, med høy kvalitet. Det vil si høyt innhold av essensielle aminosyrer (VKM, 2006).

1.2 Funksjonell mat

At mat har flere funksjoner enn det å dekke det primære næringsbehovet er de fleste enige om, med unntak av at det i enkelte deler av verden kun er det primære næringsbehovet som teller. Utover det ernæringsmessige skal mat smake godt og skape positive opplevelser. Den senere tiden har også mat med positive tilleggseffekter fått stor oppmerksomhet. Slike matvarer blir omtalt som smart eller funksjonell mat. Dette er ordinære matvarer som skal kunne inngå i et ernæringsmessig anbefalt kosthold ved regelmessig konsum, men at de ut over dette innehar dokumenterte fordelaktige helseeffekter. Det kan være slik at matvaren er beriket med komponenter som antas å bidra til bedre helse eller virker forebyggende mot sykdommer, eller der skadelige komponenter er fjernet. Eksempler på slike produkter er egg

eller yoghurt tilsatt EPA og DHA, kulturmilk tilsatt gunstige bakterier og hvetemel uten gluten.

Det er for øvrig både fordeler og ulemper knyttet til funksjonell mat. Ulempene er først og fremst ikke bundet direkte til matvarene, men at det ofte følger en helsepåstand med bruken av begrepet funksjonell mat. Næringsmiddelindustrien ser positivt på å kunne selge matvarer med helsepåstander, både ved at de kan øke salget og ta en høyere pris enn tilsvarende varer uten antatte tilleggseffekter. De fleste kostholdsekspertene, inkludert tilsynsmyndighetene, mener at det ikke er nødvendig med slike berikede produkter i et sammensatt og variert kosthold. Konsumentene betaler dermed en merverdi for noe de ikke trenger. Noen produkter inneholder lite av den/de helsefremmende forbindelsene. Ett eksempel kan være Tines yoghurt med n-3, der ett beger inneholder 150 mg n-3 (Tine, 2008). Til sammenligning er det i gjennomsnitt 4 g n-3/100 g oppdrettet atlantisk laks (Nifes, 2008a). Det vil si at en må spise over 50 beger med yoghurt for å få i seg samme mengde av n-3 fett som en finner i 200 g laks.

Et annet argument mot funksjonell mat er at det kan føre til at enkelte konsumenter baserer kosten på slike matvarer, og dermed kan gå glipp av næringsstoffer som variasjonen sørger for. Muligheten for å overskride maksimalt anbefalte doser er større når kosten er basert på få produkter med større innhold av enkelte forbindelser.

Fordelene ved disse matvarene er at de bidrar til en forbedret helse, uten at inntaket av næringsstoffer reduseres om de konsumeres som en del av et variert kosthold. De som i utgangspunktet har et dårlig sammensatt kosthold kan få i seg næringsstoffer de ellers ikke ville fått.

På grunn av store internasjonale forskjeller i regelverk for funksjonell mat er det vanskelig å anslå det globale markedet for slik mat, men det utgjør flere hundre milliarder US Dollar, og er fremdeles i sterk vekst (Bekkevold og Olafsen, 2007). EUs lovverk for bruk av helsepåstander gjelder også i Norge, som følge av EØS-avtalen. Dette er et lovverk som stadig er i utvikling som følge av stor vekst i marked for matvarer med helsepåstander.

1.2.1 Dietær beriking av mat

Dietær berikning er en metode der enn tilfører dyr ønskede komponenter via fôret. Det er flere grunner til å benytte seg av dette. En grunn kan være at en ønsker å gjøre en usunn matvare sunnere ved å erstatte enkelte komponenter i fôret med tilsvarende sunnere komponenter. For eksempel ved å bytte ut noe av fettene i fôret med LC n-3 PUFA ved

produksjon av svin. En annen grunn som vil være mer naturlig i oppdrett er å supplere fôret med komponenter fisken ville konsumert i vill tilstand. Dermed vil for eksempel oppdrettslaksen inneholde tilnærmet de samme næringsstoffene som den laksen som lever i naturen. En tredje grunn, som også er mest naturlig å benytte i oppdrett, er å skreddersy et fôr for å skape en matvare som kan fungere som forebyggende ”medisin”. Det er kanskje mest naturlig å rette seg mot sykdommer med stor allmenn utbredelse, for eksempel livsstilssykdommer. AquaMax er et EU finansiert prosjekt der en blant annet skal undersøke utviklingen av livstilsrelaterte sykdommer hos mor og barn, ved å la gravide konsumere en skreddersydd laks. Forbrukerholdninger til slike skreddersyde matvarer skal også undersøkes (Nifes, 2008b).

I dag finnes det en rekke matvarer hvor det er tilsatt komponenter som skal forbedre helsen. Hvilke slike komponenter som kan benyttes og i hvor store doser har tradisjonelt vært strengt regulert gjennom lovverk. For at det skulle bli gitt tillatelse for tilsetninger var det et krav om tilsetningen skulle kunne hjelpe mot ernæringsmessige mangler i hele eller deler av befolkningen. I dag kan en tilsette forbindelser som ikke utgjør noen risiko mot folkehelsen. Men en skal fremdeles sende inn søknad slik at myndighetene kan vurdere konsekvensene ved berikningene. Ved å benytte dietær berikning som metode kan en i noen tilfeller unngå dette lovverket. Dette fordi komponentene ikke er tilsatt i matvaren, men at de er ”naturlig” i matvaren som følge at fisken har fått disse gjennom føden. Det kan også være andre grunner til at dietær berikning er foretrukket fremfor tilsetning i matvaren. Blant annet kan disse tilsetningene være mer biotilgjengelige ved at de er innkorporert i matvaren og ikke bare tilsatt (Visioli *et al.*, 2003; Elvevoll *et al.*, 2006). I tillegg kan berikning via fôret bidra til større aksept blant konsumentene, nettopp med bakgrunn i at komponentene er en ”naturlig” del av matvaren.

1.3 Retensjon av næringsstoffer under prosessering og tilberedning

Prosessering og tilberedning av fisk og sjømat kan i enkelte tilfeller føre til store tap av fordelaktige forbindelser. Hvordan fisken er behandlet fra den ble fanget til den havner på middagsbordet har betydning for fiskens næringsinnhold. Rett temperatur og hygiene er viktig for å unngå bakteriell og enzymatisk degradering av fisken. Raffineringsprosessen av de marine oljene fjerner helt eller delvis en rekke fettløselige komponenter som finnes i oljene fra naturens side. Dette inkluderer antioksidanter som har en svært fordelaktig synergieffekt

Innledning

med LC n-3 PUFA. Eventuelle konserveringsmetoder kan føre til tap av næringsstoffer gjennom ulike prosesser. For eksempel kan frysing ødelegge cellemembraner og føre til drypptap av intracellulære vannløselige forbindelser ved tining.

Måten fisken blir tilberedt på har også betydning for retensjon av næringsstoffer. Både temperatur og tid ved tilberedning og hvilken tilberedningsmetode som benyttes har innvirkning (Chiou *et al.*, 2004; Mierke-Klemeyer *et al.*, 2008). Moderat varmebehandling forbedrer ofte fordøyelighet og biologisk tilgjengelighet av proteiner (Damodaran, 2008). Varmebehandling kan for øvrig også føre til tap av aminosyrer gjennom irreversible maillardreaksjoner med karbohydrater, samt at biologisk aktive komponenter kan bli deaktivert (Damodaran, 2008) og varmelabile vitaminer kan bli ødelagt. Varmebehandling fører også til denaturering av myofibrillproteiner, som bidrar til å holde på vannet. Dermed vil vannløselige, biologisk aktive komponenter lettere kunne tapes (Larsen, 2007).

2 Materialer og metoder

2.1 Råmateriale

Analysene i denne oppgaven ble utført med African catfish (*Clarias gariepinus*), som var levert av Fleuren-Nooijen BV, Nederland. Fisken var oppdrettet ved Wageningen IMARES, Nederland i 15 forskjellige kar med 26 fisk i hvert kar. Karene ble tilfeldig fordelt i fem grupper, og hver gruppe ble gitt fôr med ulikt innhold av taurin. Kontrollfôret (gruppe 1) ble produsert blant annet med basis i fiskemel. Dette fôret ble beriket med syntetisk taurin, og totalt taurininnhold ble målt i de fem forskjellige fôrgruppene (tabell 1).

Tabell 1 Innhold av taurin i de fem fôrgruppene. Gruppe 1 er kontrollfôr, og gruppe 2-5 er beriket med syntetisk taurin.

Gruppe:	Innhold av taurin (g/kg tørrvekt)
1 (kontroll)	1,9
2	5,7
3	8,0
4	10,8
5	22,2

Etter endt akklimatiseringsperiode på fem dager startet eksperimentell fôring, som varte i 42 dager. Deretter ble fiskene avlivet, filetert og vakuumpakket. Prøvene ble fryst ved -70 °C, fraktet til Norges fiskerihøgskole med fly og lagret i fryst tilstand inntil opparbeiding av prøvene.

2.2 Forsøksdesign

Forsøkene i denne oppgaven er todelt. I den første delen ble mulighet for, og effektivitet av dietær berikning av taurin i fiskefileter studert. Hvordan dette påvirket innholdet av vann, fett, aske og protein, fettsyresammensetning og innholdet av andre frie aminosyrer ble også undersøkt. Seks rå fileter fra hver gruppe ble analysert.

I den andre delen av dette arbeidet ble det analysert på tap av taurin og andre frie aminosyrer fra fiskefiletene etter koking og baking. Endringer i fettsyresammensetning ble også analysert. Det ble benyttet fisk fra to forskjellige grupper (gruppe 4 og 5). Tre fisker fra hver gruppe ble undersøkt etter koking og etter baking. Høyre filet fra hver fisk ble tilberedt, mens venstre filet ble analysert rå som kontroll.

Det ble analysert på tre repetisjoner fra hver prøve (filet) både i den første og andre delen av arbeidet.

2.3 Opparbeiding av prøver

Filetene ble tint (15-18 timer) i vakuumpakkene i kjøleskap, og eventuelle skinnrester ble fjernet. Filetene til undersøkelsene ved dietær berikning av taurin ble homogenisert sammen med tinedrypptapet i en vanlig kjøkkenmaskin (Braun electronics). Homogenatet ble veid ut i ”zip bags” til ulike analyser og disse ble oppbevart ved -55 °C inntil de ble analysert.

Filetene som ble benyttet til analysene for tap av bl.a. taurin ble veid uten tinedrypptap. Høyre filet ble tilberedt og avkjølt, og både høyre og venstre filet ble homogenisert hver for seg i kjøkkenmaskin og analysert uten mellomlagring.

2.4 Tilberedning av mat i husholdning

2.4.1 Koking

Filetene ble lagt i kokende vann med 5 % natriumklorid (NaCl), med forhold fisk/vann lik 1/5 (1g fisk ble regnet som 1ml vann). Filetene ble trukket i 10 minutter, avkjølt i et dørslag og veid. Det ble også sikret at filetene hadde en kjernetemperatur på mer enn 63 °C i 15 sekunder eller mer, som er et krav til matsikkerhet (FDA, 2005).

2.4.2 Baking

Filetene ble pakket inn i dobbelt lag med aluminiumsfolie og bakt i forvarmet ovn på 175 °C i 20 minutter. Filetene ble veid etter avkjøling.

2.5 Analyser

2.5.1 Proteininnhold

Proteininnhold ble bestemt med Kjeldahls metode, en modifisert metode av AOAC 981.10 (Cunniff, 1995).

Cirka ett gram av prøvene ble fordøyd med 10 ml konsentrert (95 – 97 %) svovelsyre (H_2SO_4) og en kjeltec tablett i varmeblokk (Kjeltec system 2020 digestor, Tecator Inc., Herndon, VA, USA) i to timer ved 420 °C. Alt nitrogen i proteinene blir da omformet til ammoniumion (NH_4^+). Prøvene ble så avkjølt, tilsatt 75 ml destillert vann og gjort sterkt alkalisk med 50 ml 30 % natriumhydroksid (NaOH). Nitrogenet i prøvene omdannes da til ammoniakk (NH_3), som lett lar seg destilleres. Prøvene ble destillert (Kjeltec system 1002 destilling unit, Tecator Inc., Herndon, VA, USA) over i 50 ml 0,1 M saltsyre (HCl) til 150 ml destillat (basisk NH_3 omdannes da til NH_4^+). Destillatet ble tilsatt 5 dråper indikator (0,1 % alkoholiske løsninger av metylrødt og metylenblått, blandet 2+1) og titrert mot 0,25 M NaOH til fargeomslag, fra rødt til grønt. Råprotein (%) ble beregnet slik som angitt under.

$$\text{Råprotein (\%)} = \frac{(A - B) \times C \times 14,01 \times 6,25}{\text{gram prøve}}$$

A = Mengde (ml) titrant forbrukt til blindprøve

B = Mengde (ml) titrant forbrukt til prøve

C = Konsentrasjon på titrant (0,25 M)

14,01 er molekylvekt til nitrogen

6,25 er omregningsfaktor fra nitrogen til råprotein

2.5.2 Vanninnhold

Vanninnhold ble beregnet ved å veie omkring 10 g av prøvene før og etter tørking i varmeskap, ved 105 °C, til stabil vekt (20 – 24 timer).

2.5.3 Fettinnhold

Bestemmelse av fettinnhold ble gjort med Soxhlets metode, modifisert utgave av AOCS Ba 3-38 (Gunstone, 1989). Tørrstoffet fra prøvene ble klippet opp i forhåndsveide hylser, veid på nytt og satt til ekstraksjon i to timer. Ekstraksjonen ble utført med Soxhlet ekstraksjonsutstyr (Behrotest TRS 200, Behrotest heizblock DET 11/E og extrationsstück E 2100, Labor Technik GmbH, Göttingen, Tyskland) ved 85 °C i 2 timer, med petroleumseter som ekstraksjonsmiddel. Etter ekstraksjon og tørking (105 °C) over natten ble hylsene veid og fettinnhold kunne beregnes.

2.5.4 Askeinnhold

Askeinnholdet ble bestemt ved at prøvene uten fett ble forbrent ved 500 °C i tolv timer, og deretter veid.

2.5.5 Fettsyresammensetning

Til fettekstraksjon ble det benyttet en modifisert metode beskrevet av Folch *et al.* (1957). Fettet ble ekstrahert fra ca. ett gram prøve med 20 ml kloroform/metanol (2/1), tilsatt 200 µl intern standard (10 mg/ml 17:0 løst i 2/1 kloroform/metanol) (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO, USA). Prøvene ble videre filtrert for gjenværende fiskemuskel og rensset for ikke-lipider med 4 ml vann tilsatt 0,9 % NaCl. Kloroform/metanol ble fordampet med rotavapor (Heidolph Labrota 4000, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Germany og Büchi vacuum controller B-721, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland), og fettet ble løst i forhåndsveide rør med 5 ml heptan og tørket inn med evaporator (N-evap, analytical evaporator, Organomation Associates Inc., Berlin, MA, USA). Fettet ble deretter veid og tilsatt 2/1 kloroform/metanol til konsentrasjon lik 10 mg fett per ml løsning.

Metylering ble utført med en modifisert metode beskrevet av Stoffel *et al.* (1959). Av prøvene ble 100 µl trykkokt (kokt i vannbad med tett kork) i en time sammen med 2 ml 2 % H₂SO₄ i metanol og 0,9 ml kloroform. Deretter ble prøvene tilsatt 3,5 ml heptan og 3,5 ml 5 % NaCl. Det dannes da to faser og heptanfasen ble overført til nye rør og tørket inn med evaporator. Fettet ble løst i 100 µl heptan og analysert i gasskromatograf (Agilent 6890N med 7683 autoinjektor og flammeionisasjonsdetektor, H/P Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) med helium som bæregass og injektor- og detektortemperatur på henholdsvis 240 og 250 °C. Kolonnen som ble brukt var en Varian CP7419 kapillærkolonne (50m * 250µm *

0,25µm nominal) (Varian Inc., Lake Forest, CA, USA). Det ble for alle analysene brukt 1 µl som injeksjonsvolum, foruten standardene PUFA no. 1 og no. 3 (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO, USA), hvor det brukt 2 µl. Analysene ble kjørt med følgende program:

- 50 °C i to minutter
- økning på 10 °C/min til 150 °C
- økning på 2 °C/min til 205 °C
- økning på 15 °C/min til 255 °C som ble holdt i 10 minutter

2.5.6 Frie aminosyrer

Det er i dette arbeidet fokusert på taurin, glysin, alanin og lysin av de frie aminosyrene. Dette skyldes at det var disse som det ble funnet mest av. Glysin og alanin er i tillegg komponenter som er forbundet med sjømatmaken (Chiou *et al.*, 2004), og lysin er en essensiell aminosyre. Innholdet av frie aminosyrer ble bestemt som beskrevet av Mierke-Klemeyer *et al.* (2008).

Cirka ett gram prøve ble veid ut og fortynnet med 9 ml milli-Q vann og tilsatt 1 ml 20 mM Norleucin som internstandard. De ble videre homogenisert med Ultra-turrax (T-25 basic, Ika werke GmbH & Co., Staufen, Tyskland) i 15 sekunder på ca. 19000 rpm. Prøvene ble surgjort med 1 ml 35 % sulfosalisylysyre (SSA) for å felle ut proteiner og peptider. Suspensjonen ble homogenisert på nytt i 15 sekunder og sentrifugert. Av supernatanten ble 200 µl fortynnet med 800 µl "loading buffer" (lithiumcitrat) og analysert med Biochrom 30 Amino Acid Analyzer (Biochrom Co., Cambridge, UK) med litiumcitrat ekvilibrert kolonne. Signalet ble analysert med Chromeleon programvare (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) og sammenlignet med A9906 physiological amino acids (Sigma Chemicals Co., St Louis, MO., USA). Innhold av FAA i filetene og retensjon ble beregnet som angitt under.

$$\text{Innhold FAA } (\mu\text{mol/g fisk}) = \frac{((\text{nmol FAA} / \text{nmol norleucin}) \times ([\text{norleucin}] \times \text{ml norleucin}))}{\text{g prøve}}$$

$$\text{Retensjon } (\%) = \frac{(\mu\text{mol FAA/g tilberedt filet} \times \text{g filet etter tilberedning})}{(\mu\text{mol FAA/g rå filet} \times \text{g filet før tilberedning})} \times 100$$

2.6 Statistikk

Resultater med større varians enn $2 \times$ standardavvik ble betraktet som ekstremverdier og ikke tatt med i de videre beregningene. For beregning av signifikans ble SPSS (versjon 15.0) benyttet som programvare. For undersøkelse av endringer i fettsyresammensetning og retensjon av frie aminosyrer ved tilberedning ble Tukey brukt som post hoc test. De øvrige resultatene kunne ikke tilfredsstillende krav om lik varians (alle $P > 0,05$ ved homogeneity of varians test), og det ble dermed benyttet Dunnett's T3 som post hoc test. Det ble benyttet signifikansnivå $P < 0,05$ for begge testene. Dog må det bemerkes at statistiske beregninger med tre paralleller, som i deler av dette arbeidet, er et absolutt minimum.

3 Resultater

3.1 Dietær berikning av fiskefileter med taurin

3.1.1 Vann-, protein-, fett- og askeinnhold

Innhold av vann, protein, fett og aske i filetene fra de fem gruppene er vist i tabell 2. Vann- og fettinnholdet varierte mellom gruppene fra henholdsvis 77,7 til 78,6 g/100g og 2,5 til 3,9 g/100g. Det var kun signifikant forskjell mellom gruppe 1 og 4 for vanninnholdet, mens for fettinnholdet var gruppe 2 og 3 signifikant forskjellig fra gruppe 4. Proteininnholdet varierte fra 17,7 til 18,2 g/100g mellom gruppene uten at disse forskjellene var signifikante, mens askeinnholdet var konstant på 1,3 g/100g.

Tabell 2 Vann-, protein-, fett- og askeinnhold i g/100g (gjennomsnitt \pm standardavvik) av fileter fra de fem forskjellige gruppene.

Forgruppe:	Vann	Protein	Fett	Aske
1	78,6 \pm 0,5a	17,7 \pm 0,6	3,2 \pm 1,1	1,3 \pm 0,1
2	78,8 \pm 0,7	18,0 \pm 0,8	2,5 \pm 0,2a	1,3 \pm 0,0
3	78,2 \pm 0,7	18,2 \pm 0,3	2,5 \pm 0,5a	1,3 \pm 0,1
4	77,7 \pm 0,3b	17,8 \pm 0,5	3,9 \pm 0,7b	1,3 \pm 0,1
5	78,0 \pm 0,7	18,2 \pm 0,4	2,9 \pm 0,8	1,3 \pm 0,0

1) a,b Verdier med ulik bokstav innenfor samme kolonne er signifikant forskjellig (Dunnett's T3, $P < 0,05$).

2) Innhold av taurin i fôret som ble gitt fiskene i de fem gruppene var henholdsvis 1,9 (1), 5,7 (2), 8,0 (3), 10,8 (4) og 22,2 (5) g/kg tørrvekt. n = 6 for alle gruppene.

3.1.2 Fettsyresammensetning

Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom gruppene for fettsyresammensetningen i dette arbeidet (tabell 3). Det var imidlertid en trend i resultatene at filetene inneholdt mest av mettet fett (SFA⁴), etterfulgt av enumettet fett (MUFA⁵) og PUFA. Fettsyrene 16:0 (palmitinsyre), 18:1n-9 (oljesyre) og 22:6n-3 (DHA) var de mest fremtredende. Forholdet mellom n-3 fettsyrene og n-6 fettsyrene varierer mellom 3,0 og 3,4.

Tabell 3 Fettsyresammensetning i mg FA/100 mg fett (gjennomsnitt ± standardavvik) for de fem forskjellige gruppene. Viser sum av mettet (SFA), enumettet (MUFA), flerumettet (PUFA), n-6, n-3, forholdet n-3/n-6 og fettsyrene EPA og DHA.

Gruppe:	∑ SFA	∑ MUFA	∑ PUFA	∑ n-6	∑ n-3	n-3/n-6	EPA	DHA
1	37,9 ± 1,9	34,1 ± 2,4	27,2 ± 2,3	6,5 ± 0,2	20,7 ± 2,1	3,2 ± 0,3	5,4 ± 0,2	10,9 ± 1,6
2	37,4 ± 1,6	32,5 ± 1,3	28,8 ± 1,7	6,9 ± 0,3	23,3 ± 1,8	3,4 ± 0,3	5,9 ± 0,4	12,4 ± 1,5
3	38,6 ± 2,1	31,7 ± 1,8	28,2 ± 0,8	6,9 ± 0,4	21,3 ± 0,6	3,1 ± 0,2	5,5 ± 0,1	11,8 ± 0,9
4	36,9 ± 0,8	34,7 ± 1,5	27,1 ± 2,1	6,8 ± 0,5	20,3 ± 1,6	3,0 ± 0,1	5,3 ± 0,4	10,5 ± 1,0
5	38,6 ± 1,0	32,2 ± 2,5	30,6 ± 2,5	6,9 ± 0,4	23,5 ± 2,0	3,3 ± 0,1	6,0 ± 0,4	12,8 ± 1,5
Total	37,8 ± 1,5	33,0 ± 2,2	28,3 ± 2,3	6,8 ± 0,4	21,7 ± 2,1	3,2 ± 0,3	5,6 ± 0,5	11,8 ± 1,6

1) Innhold av taurin i fôret som ble gitt fiskene i de fem gruppene var henholdsvis 1,9 (1), 5,7 (2), 8,0 (3), 10,8 (4) og 22,2 (5) g/kg tørrvekt. n = 6 for alle gruppene.

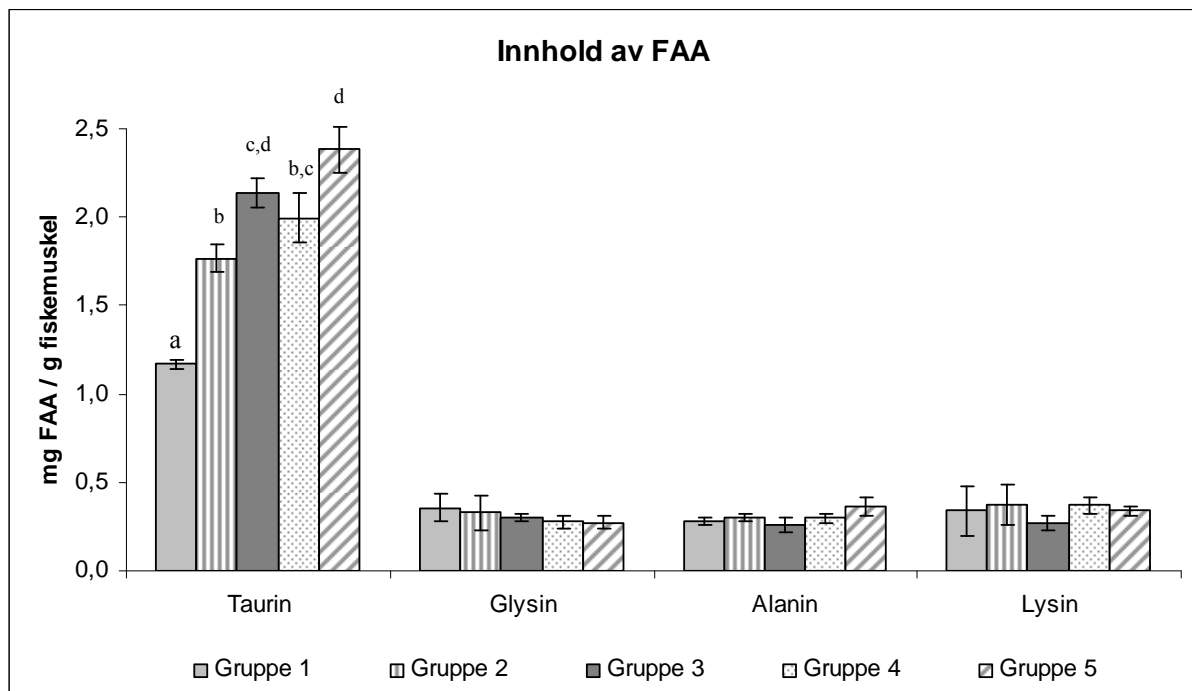
⁴ Saturated Fatty Acid

⁵ Mono Unsaturated Fatty Acid

3.1.3 Frie aminosyrer

I analysen av FAA ble det fokusert på taurin, glysin, alanin og lysin (figur 1). For glysin, alanin og lysin var det små og ikke signifikante forskjeller mellom gruppene. Glysin, alanin og lysin varierte fra 0,3 til 0,4 mg/g fiskemuskel.

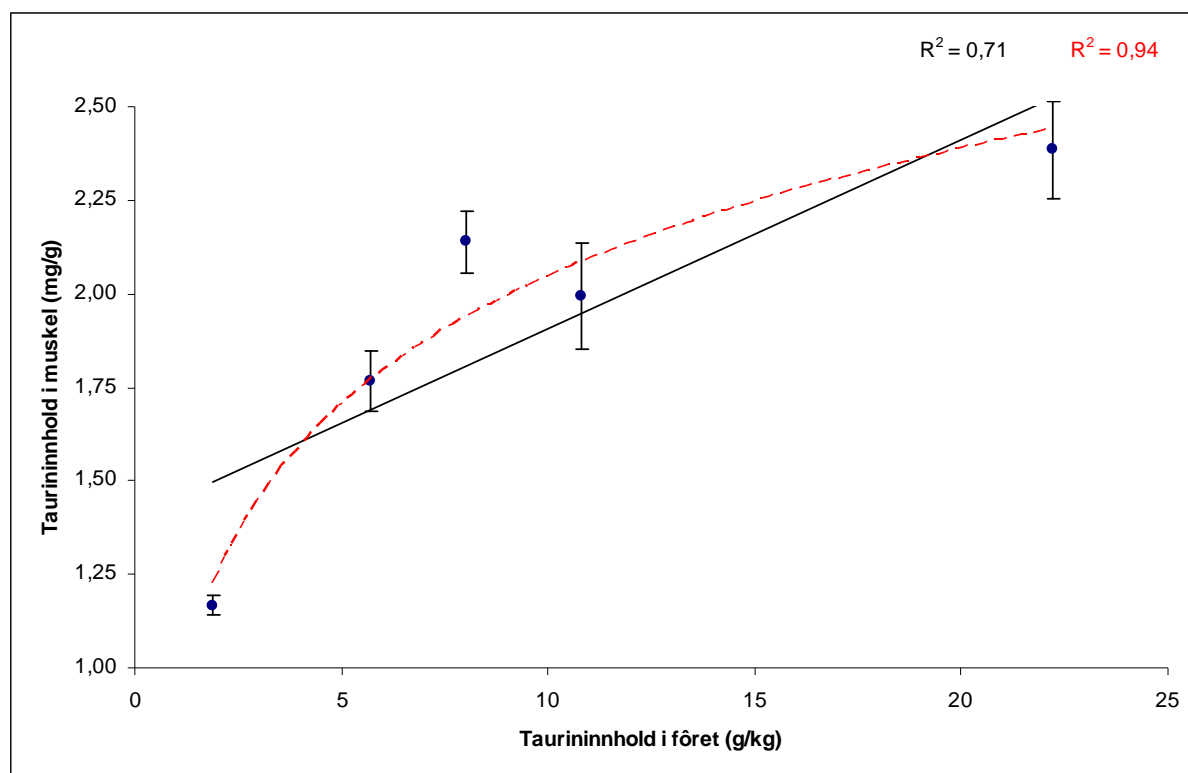
Taurininholdet var 1,2, 1,8, 2,1, 2,0 og 2,4 mg/g fiskemuskel for henholdsvis gruppe 1-5. Gruppe 1 var signifikant forskjellig fra alle de andre gruppene, mens gruppe 5 var signifikant forskjellig fra alle utenom gruppe 3. For gruppene 2,3 og 4 var det bare signifikant forskjell mellom gruppe 2 og 3, men filetene fra gruppe 4 hadde lavere innhold av taurin enn gruppe 3.



Figur 1 Innhold (gjennomsnitt \pm standardavvik) av frie aminosyrene taurin, glysin, alanin og lysin i mg/g fiskemuskel, fordelt på de fem gruppene. Verdier med ulik bokstav innenfor samme FAA er signifikant forskjellig (Dunnett's T3, $P < 0,05$). Innhold av taurin i fôret som ble gitt fiskene i de fem gruppene var henholdsvis 1,9 (1), 5,7 (2), 8,0 (3), 10,8 (4) og 22,2 (5) g/kg tørrvekt. $n = 6$ for alle gruppene.

Resultater

Korrelasjon mellom taurininnhold i fôret og taurininnhold målt i fiskemuskel er vist i figur 2. Taurininnholdet i muskelen flater ut fra ca. 8 g taurin/kg fôr. Korrelasjonskoeffisienten (R^2) for lineær regresjon er 0,71, mens R^2 for logaritmisk regresjon er 0,94. Det vil si at en logaritmisk tilnærming passer best for dette datasettet.



Figur 2 Korrelasjon mellom taurininnhold i fôret og taurininnhold målt i muskel. Verdier er gjennomsnitt \pm standardavvik. Linje og R^2 for lineær regresjon er i svart farge (heltrukket), og linje og R^2 for logaritmisk regresjon er farget rød (stiplet).

3.2 Tap av næringsstoffer ved vanlige tilberedningsmetoder

3.2.1 Fettsyresammensetning

Resultatene fra undersøkelsene av endringer i fettsyresammensetning ved tilberedning er presentert i tabell 4 og tabell 5. Filetene som ble analysert før og etter koking så ut til å ha fått en økt andel SFA i forhold til MUFA og PUFA, men disse forskjellene var ikke signifikante. I gruppe 4 økte SFA fra 39,7 til 41,0 mg/100 mg fett, mens MUFA og PUFA ble redusert henholdsvis fra 32,6 til 32,2 mg/100 mg fett og 27,7 til 26,8 mg/100 mg fett. I gruppe

Resultater

5 mistet filetene noe mer MUFA og PUFA, fra henholdsvis 31,6 og 30,9 mg/100 mg fett til 29,1 og 27,2 mg/100 mg fett, mens SFA økte fra 39,2 til 42,0 mg/100 mg fett. Forholdet n-3/n-6 var jevnt på 3,2-3,3 for de filetene som ble undersøkt etter koking. EPA+DHA ble noe redusert som følge av koking, men ikke signifikant.

Tabell 4 Fettsyresammensetning i mg FA/100 mg fett (gjennomsnitt ± standardavvik) for rå og kokt filet i gruppe 4 og 5. Tabellen viser sum av mettet (SFA), enumettet (MUFA), flerumettet (PUFA), n-6, n-3, forholdet n-3/n-6 og fettsyrene EPA og DHA.

Gruppe:	∑ SFA	∑ MUFA	∑ PUFA	∑ n-6	∑ n-3	n-3/n-6	EPA	DHA
4 – rå	39,7 ± 3,8	32,6 ± 2,7	27,7 ± 4,5	6,5 ± 0,8	21,3 ± 4,0	3,3 ± 0,5	5,5 ± 0,8	12,1 ± 2,6
4 – kokt	41,0 ± 0,6	32,2 ± 2,8	26,8 ± 3,1	6,3 ± 0,3	20,5 ± 2,8	3,3 ± 0,3	5,3 ± 0,7	11,6 ± 2,5
5 – rå	39,2 ± 1,1	31,6 ± 0,3	29,1 ± 1,4	6,8 ± 0,6	22,4 ± 0,8	3,3 ± 0,2	5,6 ± 0,4	12,7 ± 0,3
5 – kokt	42,0 ± 2,8	30,9 ± 1,2	27,2 ± 2,1	6,5 ± 0,8	20,6 ± 1,3	3,2 ± 0,2	5,2 ± 0,3	11,6 ± 0,6

1) Innhold av taurin i fôret som ble gitt fiskene i de to gruppene var henholdsvis 10,8 (4) og 22,2 (5) g/kg tørrvekt. n = 3 for alle gruppene.

Det var ingen slike forandringer hos de filetene som ble undersøkt før og etter baking, foruten at det så ut til at fileten i gruppe 5 fikk en økt andel PUFA etter baking (26,2 – 29,0 mg/100 mg fett). Forholdet n-3/n-6 var 2,9 - 3,4 for filetene som ble undersøkt før og etter baking. Andelen av EPA+DHA økte noe, men ikke signifikant, i bakt filet i forhold til rå.

Tabell 5 Fettsyresammensetning i mg FA/100 mg fett (gjennomsnitt ± standardavvik) for rå og bakt filet i gruppe 4 og 5. Tabellen viser sum av mettet (SFA), enumettet (MUFA), flerumettet (PUFA), n-6, n-3, forholdet n-3/n-6 og fettsyrene EPA og DHA.

Gruppe:	∑ SFA	∑ MUFA	∑ PUFA	∑ n-6	∑ n-3	n-3/n-6	EPA	DHA
4 – rå	42,5 ± 1,8	31,2 ± 1,1	26,3 ± 1,0	6,1 ± 0,3	20,2 ± 1,0	3,3 ± 0,3	5,3 ± 0,1	11,2 ± 0,8
4 – bakt	42,8 ± 2,0	30,8 ± 0,5	26,3 ± 2,1	6,0 ± 0,2	20,3 ± 2,3	3,4 ± 0,5	5,3 ± 0,4	11,6 ± 1,6
5 – rå	43,5 ± 2,6	30,3 ± 1,1	26,2 ± 2,8	6,7 ± 0,5	19,5 ± 2,3	2,9 ± 0,2	5,5 ± 0,6	10,5 ± 0,9
5 – bakt	40,3 ± 2,6	30,7 ± 1,8	29,0 ± 4,3	6,7 ± 0,4	22,3 ± 3,9	3,3 ± 0,4	5,7 ± 0,6	12,5 ± 2,4

1) Innhold av taurin i fôret som ble gitt fiskene i de to gruppene var henholdsvis 10,8 (4) og 22,2 (5) g/kg tørrvekt. n = 3 for alle gruppene.

3.2.2 Frie aminosyrer

Konsentrasjonene av FAA i kokte, bakte og korresponderende rå fileter, i tillegg til vektendring, er vist i tabell 6. Taurinkonsentrasjonen varierte fra 1,3 til 2,1 mg/g fiskemuskel, mens konsentrasjonen av glysin, alanin og lysin var 0,2 – 0,3 mg/g fiskemuskel. Det var en liten reduksjon i taurinkonsentrasjonen etter koking i forhold til rå filet i begge gruppene. Baking førte ikke til noen endring i taurinkonsentrasjon i fiskemusklene. Vektreduksjon etter tilberedning var 22 og 19 % for henholdsvis kokt og bakt filet i gruppe 4. I gruppe 5 var vektreduksjonen for kokt og bakt filet henholdsvis 21 og 25 %.

Tabell 6 Konsentrasjon (mg/g fiskemuskel, våtvekt) av taurin, glysin, alanin og lysin i rå, kokte og bakte fileter i gruppe 4 og gruppe 5 og vektendring (%) som følge av tilberedning.

Gruppe:	4a – rå	4a - kokt	4b - rå	4b - bakt	5a - rå	5a - kokt	5b - rå	5b - bakt
Taurin	1,7 ± 0,1	1,3 ± 0,1	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,1	1,7 ± 0,2	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,2
Glysin	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0
Alanin	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
Lysin	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Vektendring		-22 ± 1		-19 ± 4		-21 ± 4		-25 ± 1

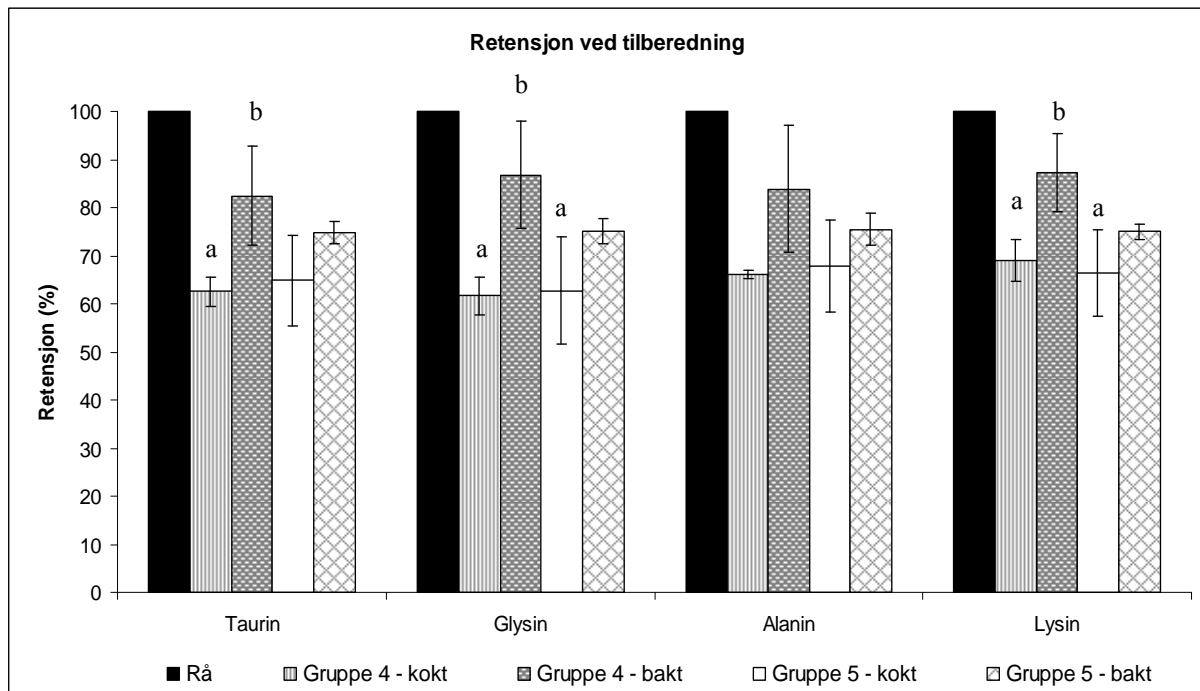
1) Innhold av taurin i fôret som ble gitt fiskene i de to gruppene var henholdsvis 10,8 (4) og 22,2 (5) g/kg tørrvekt. n = 3 for alle gruppene.

Resultater

Retensjon ble beregnet for taurin, glysin, alanin og lysin ved tilberedningsmetodene koking og baking. Resultatene fra disse beregningene er presentert i figur 3. Tap ved tilberedning i forhold til rå filet varierte fra 18 til 37 % for taurin, 13-38 % for glysin, 16-34 % for alanin og 13-34 % for lysin mellom grupper og tilberedningsmetode.

For begge gruppene viste resultatene en trend i at retensjonen for kokt filet var mindre enn hos bakt filet, altså filetene som ble bakt i ovn tapte mindre av disse aminosyrene enn de som ble kokt. Men det var kun i gruppe 4 for taurin, glysin og lysin at det var signifikante forskjeller mellom kokte og bakte fileter.

En trend i resultatene viste også at blant de bakte filetene så hadde gruppe 4 bedre retensjon enn gruppe 5, mens for de kokte filetene var det ingen slik trend.



Figur 3 Retensjon (gjennomsnitt \pm standardavvik) av taurin, glysin, alanin og lysin i filetene ved koking og baking i forhold til rå filet, for gruppe 4 og 5. Verdier med ulik bokstav innenfor samme FAA er signifikant forskjellig (Tukey, $P < 0,05$). Innhold av taurin i fôret som ble gitt fiskene i de to gruppene var henholdsvis 10,8 (4) og 22,2 (5) g/kg tørrvekt. $n = 3$ for alle gruppene.

4 Diskusjon

4.1 Dietær berikning av fiskefileter med taurin

Vann-, protein-, fett- og askeinnhold

Til tross for at det var enkelte signifikante forskjeller mellom de fem gruppene på innhold av vann og fett, er dette antatt å skyldes individuelle egenskaper hos fiskene. Dette fordi med bakgrunn i resultatene så var det ikke mulig å se noen sammenhenger mellom gruppene og variasjonene i innhold av vann, protein, fett og aske. Det har ikke vært mulig å finne tidligere arbeid som har rapportert slike undersøkelser, og dette skyldes sannsynligvis at taurinberikning ikke påvirker denne sammensetningen.

Gjennomsnittlig innhold i filetene var 78,3 % vann, 18,0 % protein, 3,0 % fett og 1,3 % akse. Dette samsvarer godt med tidligere resultater på African catfish presentert av Mierke-Klemeyer *et al.* (2008). Rosa *et al.* (2007) brukte større fisk som råmateriale. Det kan være at forskjellene til dette arbeidet skyldes at større fisk har et naturlig høyere fettinnhold. I tillegg vil eventuelle ulikheter i førsammensetningen gi forskjeller i resultatene (Seierstad *et al.*, 2005).

Totalt innhold av vann, protein, fett og aske er noe over 100 % (100,2 – 100,8) hos alle fem gruppene. Målingene på vann-, fett- og askeinnhold ble gjort etter hverandre i en og samme prosess, mens proteininnhold ble målt utenom, og et avvik på ikke mer enn 0,8 er svært nøyaktig.

Fettsyresammensetning

I dette arbeidet er fettsyresammensetningen presentert som mg FA/100 mg fett. Resultatene viser at det ikke er endringer i fettsyresammensetningen med bakgrunn i hvor mye taurin det var i føret. Det er for øvrig en trend i disse resultatene at filetene inneholder mest av SFA (36,9 – 38,6 mg/100 mg fett) etterfulgt av MUFA (31,7 – 34,7 mg/100 mg fett) og deretter PUFA (27,1 – 30,6 mg/100 mg fett). Det vil være svært vanskelig å sammenligne disse resultatene med det som er funnet i tidligere arbeid. Dette fordi fettsyresammensetningen fiskene har fått gjennom føret vil gjenspeiles i fisken fettsyreprofil (Seierstad *et al.*, 2005). Rosa *et al.* (2007) fant for eksempel omkring 67 % mer av LA (18:2n-6) i African catfish enn det som ble funnet i dette arbeidet. LA er en fettsyre med opphav fra planteriket, og det er stor sannsynlighet for at disse fiskene var gitt føre som var produsert med

langt mer vegetabiliske råvarer enn fiskene i dette arbeidet. Det kan med andre ord sies at også fisken ”er hva den spiser”.

Forholdet mellom n-3 og n-6 var langt høyere enn WHO's (2003) anbefaling, som er på ikke mer enn 1/4 (0,25). De fleste andre matvarene i kostholdet inneholder langt mer av n-6 enn n-3, noe som har gjort at forholdet mellom n-3 og n-6 blant befolkningen i den vestlige verden ligger på 1/10-20 (Simopoulos, 2004). Dette tatt i betraktning så vil et høyt n-3/n-6 fra fisk mest sannsynlig kun bidra positivt i et samlet kosthold.

Frie aminosyrer

I denne delen av arbeidet ble effekten av å berike fiskene med taurin via fôret undersøkt. Det var stor forskjell på innhold av taurin i muskel på fiskene som ble gitt fôr uten ekstra tilsatt taurin (1,9 g taurin/kg fôr) og gruppen med fisk som ble gitt fôr tilsatt den største konsentrasjon av taurin (22,2 g taurin/kg fôr), henholdsvis 1,2 mg/g fiskemuskel og 2,4 mg/g fiskemuskel. Selv i gruppen av fisk som ble gitt fôret med den minste tilsatte taurinmengden (5,7 g taurin/kg fôr) inneholdt signifikant mer taurin enn den gruppen som ble gitt fôr uten tilsatt taurin (1,8 mg/g fiskemuskel).

I undersøkelser på regnbueørret ble det funnet omkring 0,8 mg/g fisk i muskel, hvor fisken var gitt fôr med 1 % (10g/kg) taurin (Yokoyama og Nakazoe, 1992), mens Kim *et al.* (2005) fant 1,5 mg taurin/g fiskemuskel i yngel av Japansk flyndre når denne var gitt et fôr med 11 g taurin/kg. Begge disse er noe lavere enn det som ble analysert i denne oppgaven (2,0 mg/g) når fisken var gitt fôr med 10,8 g taurin/kg. Forskjellene er små tatt i betraktning at det er forskjellige arter og at fiskene i dette arbeidet er betydelig større.

For øvrig viser resultatene at økningen i taurinkonsentrasjon i muskel er like stor mellom filetene i gruppe 2 og 5, som mellom gruppe 1 og 2. Det kan bety at effekten av å tilsette taurin i fôret er stor i forhold til å ikke gjøre det, men at taurininnholdet i fiskemuskelen ikke øker proporsjonalt med økende konsentrasjon av tilsatt taurin i fôret. R^2 for trendlinjene (figur 2) viser at en logaritmisk tilnærming passer bedre enn lineær tilnærming for korrelasjon mellom taurininnhold i fôret og i fiskemuskelen. Det er dermed ingen lineær sammenheng mellom inntak og akkumulasjon av taurin i fiskemuskel. Derimot er det slik at når innhold av taurin i fôret når et visst nivå, så øker ikke taurinkonsentrasjonen i fiskemuskelen nevneverdig. Den samme utviklingen ble funnet ved forsøk på å berike yngel av Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) med taurin (Matsunari *et al.*, 2005). Forklaringen er at ved høyere konsentrasjon av taurin i fisken øker også utskillelsen av aminosyren, og at

utskillelsen blir aktiv først når akkumulasjonen av taurin når et visst nivå (Yokoyama og Nakazoe, 1992).

Innholdet av lysin og alanin ser ikke ut til å ha noen sammenheng med hvor mye taurin det er i fôret fiskene ble gitt. Derimot kan det virke som innholdet av glysin blir noe lavere når taurinkonsentrasjonen i fôret økes, men disse forskjellene er ikke signifikante.

Med bakgrunn i resultatene er det stilt spørsmål om gruppe 3 og gruppe 4 kan være byttet om. Dette kan på ingen måte bekreftes eller avkreftes og vil dermed ikke bli diskutert noe mer.

4.2 Lekkasje av taurin ved vanlige tilberedningsmetoder

Fettsyresammensetning

Det var i denne sammenhengen problemer med at total mengde fett som ble analysert var varierende og mg FA/g fiskemuskel ga ikke sammenlignbare resultater. Resultatene er derfor presentert som mg FA/100 mg fett, noe som betyr at det ikke var mulig å beregne retensjon.

Det ble ikke funnet signifikante endringer i fettsyresammensetningen ved tilberedning. Dette samsvarer godt med tidligere resultater (Rosa *et al.*, 2007; Mierke-Klemeyer *et al.*, 2008). Derimot var det en trend i at innholdet av SFA øker noe på bekostning av MUFA og PUFA når fisken kokes. Det var så å si ingen endring etter baking i forhold til rå for filetene i gruppe 4. I gruppe 5 ble innhold av SFA redusert og PUFA økte etter baking i forhold til rå.

Koking og baking har i dette arbeidet forskjellig effekt på innhold av EPA+DHA. Andelen av EPA+DHA reduseres noe ved koking i forhold til rå filet, uten at det er en signifikant endring. Dette samsvarer ikke helt med tidligere resultater. Rosa *et al.* (2007) fant ingen endringer ved koking, og Mierke-Klemeyer *et al.* (2008) fant en liten økning ved koking. Sistnevntes resultater på endringer av andelen EPA+DHA ved baking samsvarer derimot bra med resultatene i dette arbeidet. Men ingen av tilberedningene ga signifikante endringer, noe som viser seg også å være tilfelle ved analyser på andre fiskearter (Gladyshev *et al.*, 2006, 2007).

Forholdet mellom n-3 og n-6 har stort sett ikke endret seg som følge av tilberedning, og ligger på 3,2 – 3,3. Som sagt tidligere vil sannsynligvis et slikt høyt forhold kun bidra positivt i et samlet kosthold.

Frie aminosyrer

Konsentrasjon av taurin i fiskemuskel ble redusert som følge av koking, men ikke av baking. Disse resultatene forteller at filetene som ble analysert etter koking tapte mer taurin enn vektreduksjonen alene skulle tilsi, altså mer enn 22 og 21 % for henholdsvis gruppe 4 og gruppe 5. Kokt filet hadde også lavere retensjon enn bakt filet hos alle FAA som ble undersøkt i dette arbeidet, men det var kun signifikante forskjeller for taurin, glysin og lysin i gruppe 4. Mierke-Klemeyer *et al.* (2008) fant også bedre retensjon av taurin ved baking enn koking. Det er også funnet bedre retensjon av taurin, glysin og alanin i bakte fileter av torsk enn kokte fileter, til tross for at forskjellene for taurin var marginale (Larsen *et al.*, 2007). Aminosyrene som er analysert i dette arbeidet er vannløselige og i fri form (ikke bundet til peptider eller proteiner), noe som gjør at de derfor tapes lettere til vann under tilberedning, og det vil dermed være naturlig å finne bedre retensjon ved baking i forhold til koking.

Gruppe 5 hadde i utgangspunktet et høyere innhold av taurin i fiskemuskelen enn gruppe 4. Resultatene viser at de bakte filetene i gruppe 5 har dårligere retensjon enn filetene i gruppe 4, dog ikke signifikant lavere retensjon. Dette kan indikere at mengden taurin i filetene i utgangspunktet har betydning for retensjon av taurin ved baking, ved at et større innhold av taurin i filetene også fører til større tap. Men med denne forklaringen skulle man kunne forvente at det var små eller ingen forskjeller mellom gruppene for glysin, alanin og lysin. De bakte filetene i gruppe 5 viste for øvrig lavere retensjon enn i gruppe 4 også for disse aminosyrene.

4.3 Videre arbeid

Det har blitt klart at det trenges å gjøre videre undersøkelser på flere av emnene som er berørt i denne oppgaven. Først og fremst når det gjelder å se på endringer ved koking og baking (fettsyresammensetning og frie aminosyrer). Det anbefales å gjenta undersøkelsene med langt flere fisk. Individvariasjonene er store, inntil 10 %, og ved å bruke flere fisk enn tre i analysene kan en redusere variansen innad i gruppene. Dette vil i større grad kunne synliggjøre selv mindre forskjeller mellom de ulike gruppene og tilberedningsmetodene.

5 Konklusjon

Det er vist i dette arbeidet at det er mulig å berike fiskefilet med taurin via fôret, men at effekten av dietær berikning avtar med økende taurinkonsentrasjon i fôret. Det kan være forskjeller mellom fiskearter, og av økonomiske hensyn kan det være ønskelig å gjennomføre et pilotstudium for å finne rett nivå av taurin i fôret.

Bakte fileter hadde generelt bedre retensjon av FAA enn kokte fileter. Taurininnholdet hadde ingen betydning for retensjon i kokte fileter. For de bakte filetene var retensjon lavere for filetene med høyest taurininnhold.

Dietær berikning av fiskemuskel bidro ikke til endringer i fettsyresammensetning eller innhold av vann, fett, aske og protein.

6 Litteraturliste

- Arthur, J.R. (2000). The glutathione peroxidase. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57, 1825-1835.
- Bekkevold, S. og Olafsen, T. (2007). Marine biprodukter: Råvarer med muligheter. Stiftelsen RUBIN, Trondheim, Norge, s. 104.
- Bouckenooghe, T., Remacle, C. og Reusens, B. (2006). Is taurine a functional nutrient? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 9, 728-733.
- Brøns, C., Spohr, C., Storgaard, H., Dyerberg, J. og Vaag, A. (2004). Effect of taurine treatment on insulin secretion and action, and on serum lipid levels in overweight men with a genetic predisposition for type II diabetes mellitus. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58, 1239-1247.
- Calder, P.C. og Deckelbaum, R.J. (2008). Omega-3 fatty acids: time to get the messages right! *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 11, 91-93.
- Chiou, T.K., Tsai, C.Y. og Lan, H.L. (2004). Chemical, physical and sensory changes of small abalone meat during cooking. *Fisheries Science*, 70, 867-874.
- Cunniff, P. (1995). Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed, AOAC International, Gaithersburg, MD, USA
- Curtis, C.L., Harwood, J.L., Dent, C.M. og Caterson, B. (2004). Biological basis for the benefit of nutraceutical supplementation in arthritis. *Drug Discovery Today*, 9, 165-172.
- Damodaran, S. (2008). Amino Acids, Peptides, and Proteins. In *Fennema's Food Chemistry*, S. Damodaran, K. L. Parkin og O. R. Fennema, red. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, s. 302-303.
- de Deckere, E.A.M., Korver, O., Verschuren, P.M. og Katan, M.B. (1998). Health aspects of fish and n-3 polyunsaturated fatty acids from plant and marine origin. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52, 749-753.
- Duffield-Lillico, A.J., Dalkin, B.L., Reid, M.E., Turnbull, B.W., Slate, E.H., Jacobs, E.T., Marshall, J.R. og Clark, L.C. (2003). Selenium supplementation, baseline plasma selenium status and incidence of prostate cancer: an analysis of the complete treatment period of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *British Journal of Urology International*, 91, 608-612.
- EFF (Eksportutvalget for fisk) (2008). Verden og vi med tall og fakta for hele 2007, Tromsø, Norge, s. 15.
- Elvevoll, E.O., Barstad, H., Breimo, E.S., Brox, J., Eilertsen, K.E., Lund, T., Olsen, J.O. og Østerud, B. (2006). Enhanced incorporation of n-3 fatty acids from fish compared with fish oils. *Lipids*, 41, 1109-1114.
- Elvevoll, E.O., Eilertsen, K.E., Brox, J., Dragnes, B.T., Falkenberg, P., Olsen, J.O., Kirkhus, B., Lamglait, A. og Østerud, B. (2008). Seafood diets: Hypolipidemic and antiatherogenic effects of taurine and n-3 fatty acids. *Atherosclerosis*. In press doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.12.021
- FDA (United States Food and Drug Administration) (2005). Food Code: Recommendations of the United States Public Health Service, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Washington DC, USA, s. 72.
- Folch, J.J., Lees, M.M. og Sloane Stanley, G.G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.

- Gladyshev, M.I., Sushchik, N.N., Gubanenko, G.A., Demirchieva, S.M. og Kalachova, G.S. (2006). Effect of way of cooking on content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of humpback salmon (*Oncorhynchus gorbusha*). *Food Chemistry*, 96, 446-451.
- Gladyshev, M.I., Sushchik, N.N., Gubanenko, G.A., Demirchieva, S.M. og Kalachova, G.S. (2007). Effect of boiling and frying on the content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of four fish species. *Food Chemistry*, 101, 1694-1700.
- Gunstone, F. (1989). Official methods and recommended practices of the American oil chemist' society. 3rd ed, American Oil Chemist' Society, Urbana, IL, USA,
- He, K., Song, Y.Q., Daviglius, M.L., Liu, K., Van Horn, L., Dyer, A.R. og Greenland, P. (2004a). Accumulated evidence on fish consumption and coronary heart disease mortality - A meta-analysis of cohort studies. *Circulation*, 109, 2705-2711.
- He, K., Song, Y.Q., Daviglius, M.L., Liu, K., Van Horn, L., Dyer, A.R., Goldbourt, U. og Greenland, P. (2004b). Fish consumption and incidence of stroke - A meta-analysis of cohort studies. *Stroke*, 35, 1538-1542.
- Holben, D.H. og Smith, A.M. (1999). The Diverse Role of Selenium within Selenoproteins: A Review. *Journal of the American Dietetic Association*, 99, 836-843.
- Hooper, L., Thompson, R.L., Harrison, R.A., Summerbell, C.D., Ness, A.R., Moore, H., Worthington, H.V., Durrington, P.N., Higgins, J.P.T., Capps, N.E., Riemersma, R.A., Ebrahim, S.B. og Smith, G.D. (2006). Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *British Medical Journal*, 332, 752-755.
- Kim, S.K., Takeuchi, K.H., Akimoto, A., Furuita, A., Yamamoto, T., Yokoyama, M. og Murata, Y. (2005). Effect of taurine supplemented practical diet on growth performance and taurine contents in whole body and tissues of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science*, 71, 627-632.
- Köhrle, J. (2000). The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57, 1853-1863.
- Larsen, R. (2007). Influence of weak brines on technological, biochemical and nutritional properties of cod (*Gadus morhua* L.) muscle. Ph D thesis, doctor of philosophiae, University of Tromsø, Department of Marine Biotechnology, Tromsø, Norge, s. 13.
- Larsen, R., Stormo, S.K., Dragnes, B.T. og Elvevoll, E.O. (2007). Losses of taurine, creatine, glycine and alanine from cod (*Gadus morhua* L.) fillet during processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 396-402.
- Matsunari, H., Takeuchi, T., Takahashi, M. og Mushiake, K. (2005). Effect of dietary taurine supplementation on growth performance of yellowtail juveniles *Seriola quinqueradiata*. *Fisheries Science*, 71, 1131-1135.
- Mierke-Klemeyer, S., Larsen, R., Oehlenschläger, J., Maehre, H., Elvevoll, E.O., Bandarra, N.M., Parreira, R., Andrade, A.M., Nunes, M.L., Schram, E. og Lutén, J. (2008). Retention of health-related beneficial components during household preparation of selenium-enriched African catfish (*Clarias gariepinus*) fillets *European Food Research and Technology*. doi: 10.1007/s00217-007-0793-7
- Moschos, M.P. (2000). Selenoprotein P. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57, 1836-1845.
- Mozaffarian, D. og Rimm, E.B. (2006). Fish Intake, Contaminants, and Human Health - Evaluating the Risk and the Benefits. *The Journal of the American Medical Association*, 296, 1885-1899.
- Nandhini, A.T.A., Thirunavukkarasu, V. og Anuradha, C.V. (2005). Taurine modifies insulin signaling enzymes in the fructose-fed insulin resistant-rats. *Diabetes & Metabolism*, 31, 337-344.

- Nifes (2008a). Sjømatdata. Hentet 9. Mai 2008 fra:
http://www.nifes.no/index.php?page_id=168
- Nifes (2008b). Skal studere skreddersydd laks og allergiske reaksjoner. Hentet 22.mai fra:
http://www.nifes.no/index.php?page_id=320&article_id=2301
- Nilsen, D.W.T., Albrektsen, G., Landmark, K., Moen, S., Aarsland, T. og Woie, L. (2001). Effects of a high-dose concentrate of n-3 fatty acids or corn oil introduced early after an acute myocardial infarction on serum triacylglycerol and HDL cholesterol. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 50-56.
- O'Flaherty, L., Stapleton, P.P., Redmond, H.P. og BouchierHayes, D.J. (1997). Intestinal taurine transport: a review. *European Journal of Clinical Investigation*, 27, 873-880.
- Olsen, R.L. (2007). Lipidkjemi med vekt på fisk, Norges fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø, Norge, s. 40-41.
- Psota, T.L., Gebauer, S.K. og Kris-Etherton, P. (2006). Dietary omega-3 fatty acid intake and cardiovascular risk. *American Journal of Cardiology*, 98, 31-181.
- Rosa, R., Bandarra, N.M. og Nunes, M.L. (2007). Nutritional quality of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822): a positive criterion for the future development of the European production of Siluroidei. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 342-351.
- Schaffer, S., Takahashi, K. og Azuma, J. (2000). Role of osmoregulation in the actions of taurine. *Amino Acids*, 19, 527-546.
- Schmidt, E.B., Arnesen, H., de Caterina, R., Rasmussen, L.H. og Kristensen, S.D. (2005a). Marine n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease - Part I. Background, epidemiology, animal data, effects on risk factors and safety. *Thrombosis Research*, 115, 163-170.
- Schmidt, E.B., Arnesen, H., Christensen, J.H., Rasmussen, L.H., Kristensen, S.D. og De Caterina, R. (2005b). Marine n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease - Part II: Clinical trials and recommendations. *Thrombosis Research*, 115, 257-262.
- Schuller-Levis, G.B. og Park, E. (2004). Taurine and its chloramine: Modulators of immunity. *Neurochemical Research*, 29, 117-126.
- Seierstad, S.L., Seljeflot, I., Johansen, O., Hansen, R., Haugen, M., Rosenlund, G., Froyland, L. og Arnesen, H. (2005). Dietary intake of differently fed salmon; the influence on markers of human atherosclerosis. *European Journal of Clinical Investigation*, 35, 52-59.
- Simopoulos, A.P. (2004). Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. *Food Reviews International*, 20, 77-90.
- Spitze, A.R., Wong, D.L., Rogers, Q.R. og Fascetti, A.J. (2003). Taurine concentrations in animal feed ingredients; cooking influences taurine content. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 87, 251-262.
- Stapleton, S.R. (2000). Selenium: an insulin-mimetic. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57, 1874-1879.
- Stoffel, W., Chu, F. og Ahrens, E.H. (1959). Analysis of Long-Chain Fatty Acids by Gas-Liquid Chromatography - Micromethod for Preparation of Methyl Esters. *Analytical Chemistry*, 31, 307-308.
- Thorsdottir, I., Tomasson, H., Gunnarsdottir, I., Gisladdottir, E., Kiely, M., Parra, M.D., Bandarra, N.M., Schaafsma, G. og Martinez, J.A. (2007). Randomized trial of weight-loss-diets for young adults varying in fish and fish oil content. *International Journal of Obesity*, 31, 1560-1566.
- Tine (2008). Produkter, Tine yoghurt omega 3 blåbær. Hentet 9. Mai 2008 fra:
<http://www.tine.no/page?id=26&key=72577&cat=628>

- Uauy, R. og Valenzuela, A. (2000). Marine oils: the health benefits of n-3 fatty acids. *Nutrition*, 16, 680-684.
- Visioli, F., Rise, P., Barassi, M.C., Marangoni, F. og Galli, C. (2003). Dietary intake of fish vs. formulations leads to higher plasma concentrations of n-3 fatty acids. *Lipids*, 38, 415-418.
- VKM (Vitenskapskomiteen for mattrygghet) (2005). Risikovurdering av ”energidrikker” med koffein, taurin, glukuronolakton, inositol og vitaminer, rapport nr. 07/701-1, Oslo, Norge, s. 7.
- VKM (Vitenskapskomiteen for mattrygghet) (2006). Et helhetssyn på fisk og annen sjømat i norsk kosthold, Oslo, Norge, s. 46-51.
- WHO (World Health Organization) (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of WHO/FAO joint expert consultation, WHO technical report series 916, Geneve, Sveits, s. 89.
- Yamori, Y., Liu, L., Mizushima, S., Ikeda, K. og Nara, Y. (2006). Male cardiovascular mortality and dietary markers in 25 population samples of 16 countries. *Journal of Hypertension*, 24, 1499-1505.
- Yamori, Y., Liu, L.J., Ikeda, K., Miura, A., Mizushima, S., Miki, T. og Nara, Y. (2001). Distribution of twenty-four hour urinary taurine excretion and association with ischemic heart disease mortality in 24 populations of 16 countries: Results from the WHO-CARDIAC Study. *Hypertension Research*, 24, 453-457.
- Yokoyama, M. og Nakazoe, J. (1992). Accumulation and Excretion of Taurine in Rainbow-Trout (*Oncorhynchus-Mykiss*) Fed Diets Supplemented with Methionine, Cystine and Taurine. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102, 565-568.