

Sluttrappport DOCMAR

Delprosjekt: Marint kalsium

Marian K. Malde¹, Ingvild Eide Graff¹ og Jan I. Pedersen²

¹Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning (NIFES),
Postboks 2029 Nordnes, 5817 Bergen, Norge.



²Avdeling for ernæringsvitenskap, Universitetet i Oslo, Oslo.



Kontaktperson:

Marian Kjellevoid Malde
NIFES
Postboks 2029 Nordnes
5817 Bergen
Telefonnummer: 55905116
Epost: marian.malde@nifes.no

Samarbeidspartnere:

- NIFES
 - Professor Kåre Julshamn
- Den Kongelige veterinær- og landbohøjskole, København (Københavns universitet)
 - Dr Susanne Bügel
 - Forskningsassistent Mette Kristensen
- MTT Agrifood Research Finland
 - Dr Jarmo Valaja
 - Forskningsassistent E Venäläinen
 - Dr H Sijander-Rasi

Følgende bedrifter har bidratt:

- Biomega
 - Enzymrenset laksebein
- Maritex
 - Enzymrenset torskebeinmel
- Fiskeriforskning (Bergen)
 - Fôrproduksjon og gjennomføring av første griseforsøk
- Rigshospitalet, København
 - Isotopmålinger humanstudien
- Nycomed
 - Faglige innspill

Prosjektet har vært delfinansiert av Rubin (www.rubin.no), Innovasjon Norge (www.invanor.no) og NIFES (www.nifes.no)

Bakgrunn:

Kalsium er det grunnstoffet som vi har mest av i kroppen. Omtrent 99% av kalsiummengden foreligger sammen med hovedsakelig fosfat som kalsiumsalter i skjelettet og tennene. Den resterende mengden (1%) er fordelt mellom blodplasma, ekstracellulær væske, intracellulære strukturer og cellemembranen. Konsentrasjonen av kalsium i blodplasma holdes innenfor snevre grenser ved hormonell kontroll. Kalsiumionet er nødvendig for at alle kroppens celler skal fungere, og ionet har en evne til å redusere permeabiliteten til cellemembraner. Kalsium aktiverer også mange intracelleulære enzymer som en ”sekundær budbringer”. På grunn av disse sentrale rollene regnes kalsium som et essensielt grunnstoff (Nes et al. 2001).

En gradvis reduksjon i beinmasse er en naturlig følge av det å bli eldre. Osteoporose kjennetegnes ved at reduksjonen i beinmassen blir så stor at beinets mekaniske styrke reduseres. Osteoporose påvirker livskvaliteten, fordi benbrudd medfører smerter, deformiteter og fører til at man blir pleietrengende. Gjennom livet øker beinmassen frem til man passerer 30-årsalderen, og jo høyere beinmasse man har på dette tidspunktet dess mer har man å tære på når beinmassen begynner å avta. Et tilstrekkelig kalsiuminntak og moderat fysisk aktivitet er sannsynligvis viktig, men også andre livsstilsfaktorer påvirker om man senere i livet utvikler osteoporose (Ettinger 2003; Matkovic *et al.* 2004). Intervensjonsstudier har vist, at daglig tilskudd på 1-2 g kalsium til en viss grad kan nedsette det aldersbestemte beintapet (Dawson-Hughes 1991; Reid *et al.* 1993; Devine *et al.* 1997; Peacock *et al.* 2000). Kalsiumtilskudd gis rutinemessig til osteoporosepasienter i tillegg til vitamin D preparat og ulike medisiner.

Uten melk eller ost i kosten er det svært vanskelig å få dekket det anbefalte daglige kalsiuminntaket (800-1200 mg/dag). Bearbeidede fiskebein eller fisk som spises hel kan være et godt alternativ for de som har problemer med å få dekket kalsiuminntaket gjennom melkeprodukter. Innholdet av kalsium i fisk er artsavhengig, men ligger i området 10-15% av totalvekten. Undersøkelser fra Danmark viser at kalsium fra soltørket småfisk som spises hele med bein absorberes like godt som kalsium fra melk (Hansen et al. 1998; Larsen et al. 2000).

Det er først de siste årene at det har blitt satt fokus på norske biprodukter. Den norske fiskeindustrien har de siste årene produsert mer enn 600 000 tonn biprodukter (Rubin, 2006). Denne mengden tilsvarer mer enn 20% av all fangst og oppdrett. Mesteparten av produktene brukes som råstoffer i fôrproduksjon, mens 166 000 tonn fremdeles dumpes i sjøen. Det finnes i dag teknologi for å produsere proteinhydrolysat fra fiskeavskjær ved hjelp av

industrifremstilte enzytblendinger (Gildberg, 1993, Liaset et al, 2003, Sandnes et al, 2003). Fra denne prosessen oppstår det en beinfraksjon (10-15%) som i dag brukes i fôr.

Prosjekt mål:

1. Finne potensielle marine kalsiumkilder og analysere næringsinnholdet i disse.
2. Sammenligne absorpsjonen av marint kalsium med kommersielt tilgjengelig kalsiumtilskudd.

Marine kalsiumkilder:

I en serie på tre absorpsjonsstudier har vi sammenlignet absorpsjon av bein fra laks, torsk og sei med kommersielt tilgjengelig kalsiumkarbonat. Vi ønsket å teste både laks og torsk fordi beinstrukturen til disse artene er ulike. Laks har en cellulær beinoppbygning der beincellene (osteocytene) ligger fordelt i matriks og osteoblastene ligger på overflaten av beinet. Torsk og sei mangler osteocytter i beinmatriks og har acellulært bein (Kryvi og Totland, 1997).

Vi fikk enzymbehandlet bein fra fersk laks fra Biomega AS på Sotra. Biomega AS bruker industrifremstilte enzymer til å fjerne muskel- og bløtvev fra fiskeavskjæret (Sandnes et al, 2003). Selve enzytblendingen er en bedriftshemmelighet, men skal ligne produktet Protamex som produseres av Novozymes AS (Bagsvaerd, Danmark). En detaljert beskrivelse av hvordan Protamex virker er beskrevet hos Liaset et al. (2003). Laksebeinene som ble rensset ved koking, ble også hentet hos Biomega AS for å sikre et mest mulig likt utgangsmateriale for de to behandlingene (koking versus enzymatisk). Laksebeinene som skulle kokes, ble kokt i 100 °C i 15 minutter. Når det gjelder begge behandlinger gikk det med mye tid til å fjerne rester av muskel- og annet bløtvev ved hjelp av pinsett og kaldt springvann. Prøvene ble deretter frysetørket i to døgn (Hetosicc, Heto, Danmark). I det første absorpsjonsforsøket på gris ble kalsiumkildene (Weifa kalsium, kokt – eller enzymbehandlede laksebein) tørket i ovn (104 °C i 20 timer) fordi beinene hadde en fuktig konsistens etter frysetørkingen. Videre tørking i ovn resulterte imidlertid ikke i tørrere prøver slik at konsistensen skyldes mest sannsynlig fettinnholdet i prøvene. Derfor ble fiskebeinene kun frysetørket i de to andre absorpsjonsforsøkene. De tørre fiskebeinene ble malt i mølle (Knifetec mill, Foss Tecator). Vi klarte ikke å male laksebeinene til pulver og melet fra kokt laksebein fikk en grovere konsistens enn laksemelet fra enzymbehandlede bein. Beinmel fra enzymbehandlede torskebein fikk vi levert fra Maritex AS. Seibeinmelet fikk vi av Bjørn Liaset (NIFES) og dette var behandlet med Protamex (Novozymes AS, Bagsvaerd, Danmark) på samme måte

som beskrevet i Liaset et al. (2003). Både torske – og seibeinmelet hadde pulverkonsistens og hadde derfor betydelig mindre partikkelstørrelse enn fiskebeinmelene fra den fetere laksen. De ulike kalsiumkildene ble brukt i tre absorpsjonsforsøk og oversikt over noen av næringsstoffene samt uønskede elementer er oppgitt i Tabell 1. Laksebeinene behandlet med enzym er den eneste marine kalsiumkilden som går igjen i alle tre forsøkene.

Tabell 1: Innhold av næringsstoffer og uønskede elementer i de ulike kalsiumkildene brukt i forsøkene.

	Griseforsøk 1			Kalsium- karbonat	Griseforsøk 2		
	Weifa kalsium	Laks kokt	Laks*		Laks*	Sei	Torsk
Ash (g/100g)	78,9	43,0	55,5	98,6	52,2	65,1	67,8
Protein (g/100g)	0,56	35,7	36,0	0,53	32,1	27,6	26,6
Fat (g/100g)	0	17,8	3,0	0	5,1	0	0
<i>Mineraler</i> (g/kg tørrvekt)							
Ca	324	157	208	373	195	237	261
P	0,8	89	156	0	113	146	151
<i>Uønskede elementer</i> (mg/kg tørrvekt)							
As	1,1	1,5	0,34	0,28	0,22	0,10	0,11
Cd	0,08	<0,01	<0,01	0,03	<0,01	<0,01	<0,01
Hg	<0,01	0,02	0,01	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Pb	0,09	0,05	0,11	1,58	<0,04	0,07	<0,04

*Enzymbehandlet

Absorpsjonsforsøk – gris:

Det ble gjennomført to absorpsjonsforsøk på gris. I Griseforsøk 1 testet vi ut tilsynelatende absorpsjon (differanse mellom kalsium i fôr og utskillelse med feces) fra tre ulike kalsiumkilder; Weifa kalsiumtabletter, kokte laksebein og enzymbehandlede laksebein (Tabell 1 og 2). Forsøket samt fôrproduksjon ble gjennomført på Fiskeriforskings fasiliteter i Bergen. Tolv grisunger (gjennomsnittlig kroppsvekt på 10,8±1,4 kg) ble tilfeldig fordelt på én av de tre forsøksdiettene. Grisene ble oppstallet enkeltvis, med kontroll på fôrintak og fri tilgang på vann. Kalsiummengden i fôrene tilsvarte behovet for gris (0,7%), og det ble benyttet fôringredienser som var naturlig lave i kalsiuminnhold slik at de eksperimentelle kalsiumkildene skulle utgjøre mest mulig av den totale kalsiummengden (~86%). Siden det var usikkert om vi kunne få til fullstendig oppsamling av feces og urin ble fôret tilsatt yttriumoksid (0,01% våtvektsbasis) som inert markør. Forsøket gikk over 19 dager og det ble

samlet opp representative prøver av feces de seks siste dagene. For å kunne måle markører for beinmetabolisme ble det i løpet av forsøket tatt én spotprøve av urin, og tre fastende blodprøver.

Tabell 2: Innhold av næringsstoffer i de eksperimentelle fôrene som ble brukt i de to absorpsjonsforsøkene på gris. Kolonneoverskrift i andre rad angir kalsiumkilden i de ulike fôrene. ”Weifa kalsium” og ”Kalsiumkarbonat” er kontrollgruppene i henholdsvis første og andre griseforsøk. Bortsett fra ”Laks kokt” ble alle de andre fiskebeinene renset enzymatisk.

	Griseforsøk 1				Griseforsøk 2		
	Weifa kalsium	Laks Kokt	Laks	Kalsiumkarbonat	Laks	Sei	Torsk
Fett (g/100 g)	5,0	5,8	5,1	2,0	2,0	1,9	2,0
Protein (g/100 g)	22,6	23,2	23,2	19,6	20,2	20,5	19,8
Aske (g/100 g)	5,3	4,6	5,1	5,2	4,7	4,6	5,5
Ca (g/kg)	7,5	6,5	7,8	7,2	8,0	7,8	10,8
P (g/kg)	5,3	6,9	8,5	9,3	8,5	8,0	9,9
Y (mg/kg)	75	85	81	70	68	70	71

Griseforsøk 2 ble gjennomført på Agrifood Research Finland (MTT). I dette forsøket valgte vi et randomisert overkrysningsdesign der alle 8 grisene fikk de fire forsøksdiettene i tilfeldig rekkefølge. De ulike kalsiumkildene var kalsiumkarbonat og enzymbehandlet bein fra laks, torsk og sei (Tabell 1 og 2). Også i dette forsøket ble det brukt fôringredienser lave i naturlig kalsium, og fôret ble tilsatt yttriumoksid (0,01% våtvektsbasis) slik at vi kunne validere det først griseforsøket. Grisene (gjennomsnittlig kroppsvekt på 10,8±0,9 kg) ble enkeltvis oppstallet i metabolismebåser og vi fikk dermed en fullstendig oppsamling av både feces og urin. Grisene ble gitt nøyaktig samme mengde fôr (pair-fed) og hadde fri tilgang på vann. Hver eksperimentelle periode varte i 12 dager og det ble daglig samlet opp feces og urin de fire siste dagene i hver periode. Det ble tatt fastende blodprøve mellom periodene for å kunne måle markører for beinmetabolisme.

Begge forsøkene var godkjent av de lokale forsøksdyrutvalgene.

Absorpsjonsforsøk – menneske:

Kalsium fra tre ulike kalsiumkilder; kalsiumkarbonat (kontroll) og enzymbehandlet laks- og torskbein (Tabell 1) ble bakt inn i rundstykker og gitt som frokost til 10 unge, friske menn. Rundstykkene ble påført en liten mengde radioaktivt kalsium (^{47}Ca) som kunne måles i en helkroppsmåler på Rigshospitalet i København. Det ble benyttet en overkrysningsmodell der forsøkspersonene fikk alle de tre ulike kalsiumkildene i tilfeldig rekkefølge. Det ble tatt fastende blodprøver før testmåltidet for analyse av biokjemiske parametere. Forsøkspersonene startet med et daglig vitamin D tilskudd (10 $\mu\text{g}/\text{d}$) to måneder før forsøkets start og fortsatte å ta tilskudd gjennom hele forsøksperioden. Det var ikke tillatt å ta andre typer tilskudd. Bortsett fra uken de fikk forsøksmåltidet spiste forsøkspersonene sin vanlige kost. I forsøksuken fikk alle en standardisert kost. Energiinnholdet i kosten denne uken ble bestemt ut ifra vekt og aktivitetsnivå.

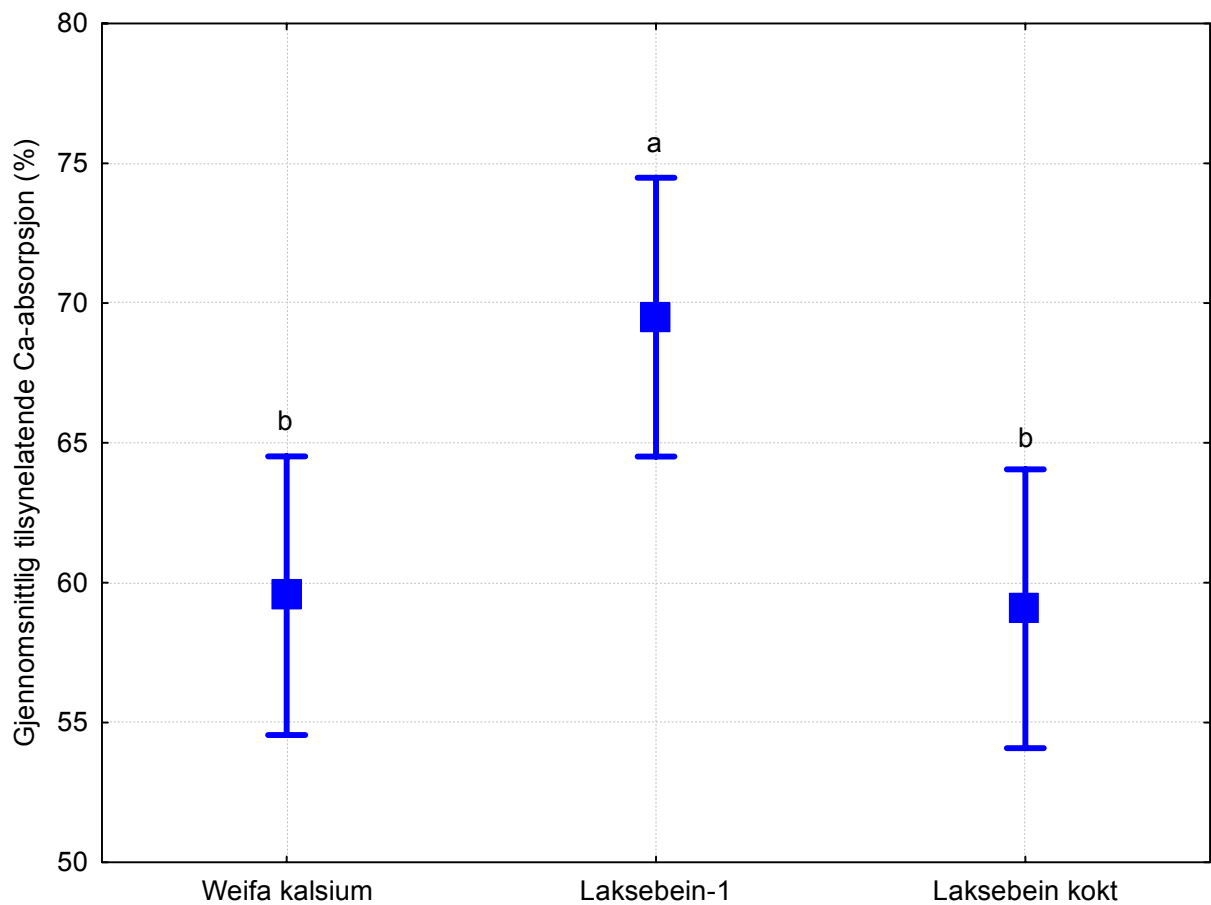
I alle tre testmåltidene ble det tilsatt 800 mg kalsium fra kalsiumkildene som skulle testes. Forsøkspersonene fikk en standardisert mengde ionebyttet vann sammen med måltidet. Alle testmåltidene ble inntatt på Institutt for human ernæring, København Universitet, Danmark.

Helkroppsmålingene ble gjennomført i helkroppsmåler på Avdeling for klinisk fysiologi og nuklearmedisin, Rigshospitalet i København, Danmark. Det ble gjennomført fire målinger i hver av de tre testperiodene: én måling før forsøksmåling (baseline), og deretter på dag 13, 20 og 23. Alle bestemmelser av ^{47}Ca vil bli korrigert for radioaktiv nedbrytning tilbake til inntaket av testmåltidet på dag 0.

Resultater og diskusjon - absorpsjonsforsøk på gris:

De to griseforsøkene viser at kalsium fra fiskebein absorberes like godt som kalsiumkarbonat (Figur 1 og 2). I det første forsøket fant vi best absorpsjon hos dyrene som fikk enzymbehandlede laksebein (Figur 1). Også i griseforsøk 2 ble funnet en noe høyere gjennomsnittlig kalsiumabsorpsjon den perioden dyrene fikk enzymbehandlet laksebein. Forskjellen mellom laksebeinsgruppen og kalsiumkarbonatkontrollen var imidlertid ikke statistisk signifikant (Figur 2). Grisene har lavest kalsiumabsorpsjon den perioden de får enzymbehandlede torskbein, men det er bare signifikant forskjell mellom laksebeinsgruppen og torskbeinsgruppen. Fôret med enzymbehandlet torskbein inneholdt mer kalsium enn de andre fôrene og grisene fikk derfor et kalsiuminntak i denne perioden som lå over behovet. Ved høyt kalsiuminntak nedreguleres absorpsjonen (Miller 1989; Fernández 1995), og derfor er det ikke uventet at absorpsjonen er lavest i denne gruppen. Årsaken til denne svakheten i

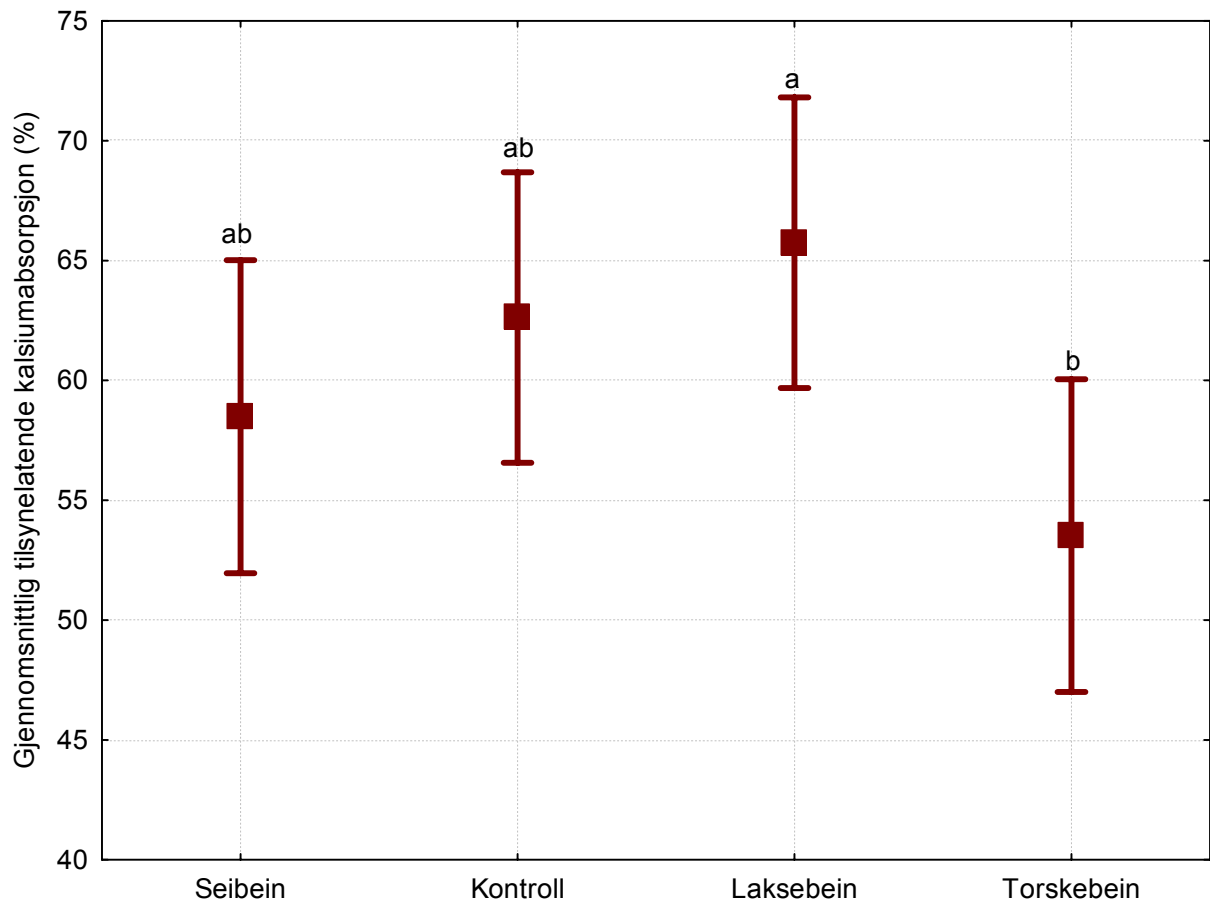
forsøksopsettet ligger i at vi fikk opplyst feil kalsiuminnhold fra produsenten og vi kontrollanalyserte ikke torskebeinsprøven før vi lagde fôret.



Figur 1: Griseforsøk 1. Tilsynelatende absorpsjon av kalsium (%) hos griser som får tre ulike kalsiumkilder; kontroll (Weifa kalsium), enzymbehandlet (Laksebein-1) eller kokt (Laksebein kokt) laksebein. Resultatene er gitt som gjennomsnitt \pm SEM. Signifikante forskjeller er markert med ulik bokstav i figuren ($p=0,014$).

I det første griseforsøket var det forskjellig fosfatinnhold i fôrene. I utgangspunktet skulle det vært tilsatt ekstra fosfat til kontrollfôret, men analyseresultatene tyder på at dette ikke ble gjort. Forsøk har vist at absorpsjonen nedsettes når fosfatinnholdet er høyere enn kalsiumnivået i en diett som i utgangspunktet har et tilstrekkelig kalsiumnivå. Det er tilfelle for begge laksebeindiettene (Tabell 2) og forskjellen er størst hos gruppen som fikk laksebein behandlet med enzymer. Det er en svakhet ved denne første studien at grisene fikk fri tilgang på mat. Resultatene viser imidlertid at det er ingen forskjell i matinntak mellom kalsiumkarbonatgruppen og gruppen som fikk enzymbehandlede laksebein. Det betyr at forskjellen i absorpsjonen som er funnet mellom disse to gruppene ikke kan skyldes designet

på forsøket. Når det gjelder gruppen som fikk kokt laksebein, er det flere faktorer som kan forklare dårligere absorpsjon enn gruppen som fikk enzymbehandlede laksebein; noe dårligere vekst, lavere fôrintak, større partikkelstørrelse på laksebeinsmelet, og høyere kalsiuminnhold i fôret.



Figur 2: Griseforsøk 2. Tilsynelatende absorpsjon av kalsium (%) hos griser som får fire ulike kalsiumkilder; kontroll (kalsiumkarbonat), enzymbehandlet seibein (Seibein), enzymbehandlet laksebein (Laksebein), eller enzymbehandlet torskebein (Torskebein). Resultatene er gitt som gjennomsnitt \pm SEM. Signifikante forskjeller er markert med ulike bokstaver i figuren ($p=0,014$).

Et overraskende, men interessant resultat, var forskjellen i vekst som ble funnet i griseforsøk 2 (Tabell 3). Grisene vokste signifikant bedre de periodene de fikk fiskebein som kalsiumkilde. Det var ingen vekstforskjell mellom de ulike fiskebeinsgruppene og alle hadde bedre vekst enn kontrollfôret med kalsiumkarbonat som kalsiumkilde. Vekstforskjellen er derfor mest sannsynlig forårsaket av en komponent som er felles for fiskebeinmelene. Kalsium kan reagere med fett og felles ut som såpe i feces. Hvis dette hadde vært tilfelle for

kontrolldietten, ville man ha funnet et høyer kalsium- og fettinnhold i fecesprøvene til grisene som har fått kalsiumkarbonatfôret. Analyseresultater støtter imidlertid ikke denne hypotesen. Tilsvarende vekstresultater er funnet i fiskeforsøk (Toppe et al. 2006), men i disse forsøkene var det høyere fôrinntak i gruppene som vokste best, og resultatene kan derfor skyldes ulikt fôrinntak. Vekstforskjellene som ble funnet i griseforsøket er spesielt interessante siden fiskebeinskilder kun er tilsatt i små mengder til fôrene (ca 0,8%).

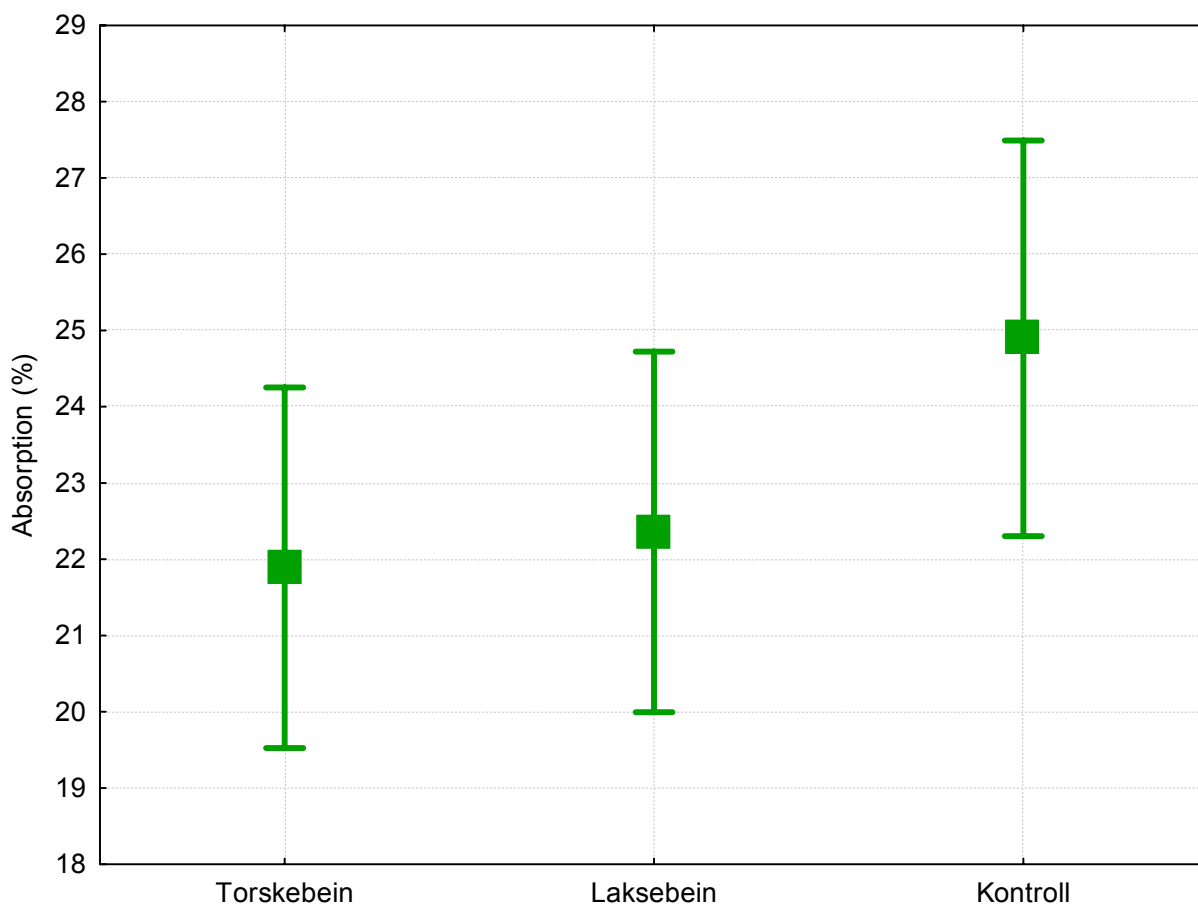
Tabell 3: Vekst hos gris gitt tre ulike kalsiumkilder i fôret: kommersielt tilgjengelig kalsiumkarbonat (Weifa kalsium), kokt laksebein (Laks Kokt) eller enzymbehandlet bein fra laks (Laks), sei (Sei) og torsk (Torsk)

g/dag	Griseforsøk 1				Griseforsøk 2		
	Weifa kalsium	Laks Kokt	Laks	Kalsiumkarbonat	Laks	Sei	Torsk
N	4	4	4	8	8	7	7
Matinntak	525	514	538	975	975	975	973
Daglig vektøkning	330	250	370	518	569	557	559

Resultat humant absorpsjonsforsøk:

Absorpsjonsforsøket på menneske viste ingen signifikante forskjeller mellom de ulike behandlingene (Figur 3), men forsøkspersonene hadde en tendens til bedre absorpsjon den perioden de fikk kalsiumkarbonat (kontroll) sammenlignet med periodene de fikk fiskebeinsprøvene. En undersøkelse som sammenlignet kalsiumabsorpsjon fra melk, et måltid og en kalsiumtablett, fant absorpsjon på henholdsvis 24, 18 og 29% (Werner et al., 1999). I en oversiktsartikkel skrevet av (Guéguan and Pointillart 2000) konkluderes det med at kalsiumabsorpsjon fra kalsiumsalter varierer mellom 23 og 37% hos menneske. Resultatene fra vårt forsøk ligger innenfor disse intervallene.

Selv om fiskebeinmelene kommer litt dårligere ut i forsøket på menneske, viser de tre absorpsjonsforsøkene at bein fra laks, torsk og sei absorberes omtrent like godt som kalsiumkarbonat. Mange forsøk har opp gjennom tidene sammenlignet ulike kalsiumkilder, og det er ingen enkeltprodukter som peker seg ut som en mye bedre kilde enn andre. Fiskebeinmel har den fordel at det også inneholder andre viktige næringsstoffer.



Figur 3: Absorpsjon av kalsium (%) hos unge menn som får fire ulike kalsiumkilder; kontroll (kalsiumkarbonat), enzymbehandlet laksebein (Laksebein) eller enzymbehandlet torskebein (Torskebein). Resultatene er gitt som gjennomsnitt \pm SEM. Det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene ($p=0,190$).

Diskusjon og kommersialiseringspotensiale:

Kalsiuminnholdet i fiskebein er en viktig faktor for hvor godt råvaren egner seg som kosttilskudd. Hvis kalsiuminnholdet (eller mer spesifikt, tettheten) er for lavt vil en enkelt tablett bli for stor til at den kan svelges. Da må man ta flere tabletter for å få et tilstrekkelig inntak av kalsium for å få et høyt nok tilskudd. Kalsiumkarbonat, som er det kalsiumsaltet som i størst grad benyttes som kalsiumtilskudd, inneholder omtrent 40 % kalsium. Fiskebeinsprøvene som har blitt benyttet i våre forsøk varierer fra 16 til 26 % (Tabell 1). Beinprøvene ligger noe lavere enn kalsiumkarbonat, men kan sammenlignes med andre kalsiumsalter som kalsiumcitrat, -gluconat, -lactat og -acetat. Disse saltene har et kalsiuminnhold mellom 9 og 25% (Weast, 1979).

Som ingrediens i fôr eller næringsmidler vil kalsiuminnholdet spille mindre rolle fordi bruken vil være annerledes og man kan variere hvor mye man vil sette til. Partikkelstørrelsen vil her viktig, men det viktigste aspektet vil være biotilgjengeligheten. Generelt avhenger den for kalsiumsalter både av løselighet, magesyreproduksjon og om saltet inntas alene eller sammen med et måltid. Et eksempel på dette er kalsiumkarbonat som trenger syre for å løses i magen. Hos personer med lav magesyreproduksjon har det vist seg at kun 4 % av kalsiumet absorberes på fastende mage, mot 45 % hvis supplementet inntas sammen med et måltid (Recker, 1985). Et annet forsøk viser imidlertid ingen forskjell på om kalsium inntas i et måltid eller alene. Dette forsøket ble utført på friske voksne menn og testet ut melk, frokost og et supplement bestående av kalsiumkarbonat og kalsium laktoglukonat (Werner et al., 1999). En meta-analyse av 15 studier (184 friske forsøkspersoner) viser at absorpsjonen er best når kalsiumkilden inntas sammen med et måltid (Sakhaee et al. 1999). Heaney et al. (1989) fant at kalsiumabsorpsjonen økte fra både kalsiumkarbonat og kalsiumcitrat når produktene ble tatt i forbindelse med måltid. Dette kan være interessant å merke seg i forhold til markedet innen ”functional food”.

For oss var det en utfordring å få til et finmalt mel av laksebeinsprøvene. I absorpsjonsforsøket på mennesker førte den grovkornete konsistensen på laksebeinmelet til at forsøksrundstykket med laksebein knaste når man spiste den. Siden forsøkspersonen ikke skulle vite hvilken kalsiumkilde som var i rundstykket, ble rundstykket servert med bringebærsyltetøy. Verken fiskelukt eller –smak var noe problem i forhold til dette forsøket. Vi har senere fått vite at Fiskeriforskning har klart å lage mel av laksebein som tilsvarer partikkelstørrelsen som var i torsk- og seibeinmel (Jogeir Toppe, personlig kommunikasjon).

Vekstforskjellene som ble funnet i griseforsøk 2 er interessante. Det bør gjennomføres flere forsøk for å finne ut mer om sammenhengen mellom vekst hos dyrene og fiskebein i dyrefôr.

Siden fiskebeinmel har vist seg å være en god og tilgjengelig kalsiumkilde og siden det inneholder flere essensielle næringsstoffer, burde fiskebein være en aktuell ingrediens både i dyrefôr og i næringsmidler.

Publisering:

Alle arbeidene vil bli publisert i internasjonale peer-reviewed journaler. Det første absorpsjonsforsøket på gris er sent til vurdering, og har også vært presentert som ”poster” på ”The 6th International Symposium on Nutritional Aspects of Osteoporosis” i Lausanne, Sveits, 4.-6. mai 2006. Det andre absorpsjonsforsøket på gris vil bli sendt til vurdering i løpet av sommeren 2007. Når det gjelder absorpsjonsforsøket på menneske er det fremdeles en del metodiske spørsmål som må avklares før manuskriptet er klart.

Referanseliste:

Fernández, J. A. (1995). "Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs. I. Absorption and balance studies." Livestock Production Science **41**: 233-241.

Gildberg, A. (1993). "Enzymic processing of marine raw material". Process Biochemistry **28**: 1-15.

Guéguan, L. and Pointillart, A. (2000). "The bioavailability of dietary calcium." Journal of the American College of Nutrition **19**(2): 119S-136S.

Hansen, M., Thilsted, S. H., Sandström, B., Kongsbak, K., T., L., Jensen, M. and Sørensen, S. S. (1998). "Calcium absorption from small soft-boned fish." Journal of Trace Elements in Medicine and Biology **12**: 148-154.

Heaney, R.P., Smith, K.T., Recker, R.R. and Hinders, S.M. (1989). "Meal effects on calcium absorption". American Journal of Clinical Nutrition **49**: 372-376.

Kryvi, H. and Totland, G.K. (1997). "Fiskeanatomy" Høyskoleforlaget, Kristiansand, Norge, 332 sider.

Larsen, T., Thilsted, S. H., Kongsbak, K. and Hansen, M. (2000). "Whole small fish as a rich calcium source." British Journal of Nutrition **83**: 191-196.

Liaset, B., Julshamn, K. and Espe, M. (2003). "Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fraction from enzymic hydrolysis of salmon frames with Protamex TM." Process Biochemistry **38**(12): 1747-1759.

Sandnes, K., Pedersen, K. and Hagen, H. (2003). "Kontinuerlig enzymprosessering av ferske marine biprodukter." Rapport nr 4503/108, Stiftelsen Rubin, www.rubin.no.

Miller, D. (1989). "Calcium in the diet: food sources, recommended intakes, and nutritional bioavailability." Advances in Food and Nutrition Research **33**: 103-156.

Nes, M., Müller, H. and Pedersen, J. (2001). Ernæringslære. Oslo, Landsforeningen for kosthold og helse.

Recker, R.R. (1985). "Calcium absorption and achlorhydria". New England Journal of Medicine **313**: 70-73.

Sakhaee, K., Bhuket, T., Adams-Huet, B. and Rao, D. (1999). "Meta-analysis of calcium bioavailability: a comparison of calcium citrate and calcium carbonate." American Journal of Therapeutics **6**: 313-321.

Toppe, J., Aksnes, A., Hope, B. and Albrektsen, S. (2006). "Inclusion of fish bone and crab by-products in diets for Atlantic cod, *Gadus morhua*." Aquaculture **253**: 636-645.

Weast, R.C. (1979). "Handbook of chemistry and physics" CRC Press, Boca Ration, Florida.

Werner, E., Hansen, Ch., Roth, P. and Kaltwasser, J.P. (1999). "Intestinal absorption of calcium from foodstuffs as compared to a pharmaceutical preparation." Isotopes Environ. Health Stud. **35**: 111-118.