

# LA VITAMINA C NELL'ALIMENTAZIONE DEI PESCI <sup>1</sup>

AMERIO M. & BENVENUTI L.

Istituto di Scienze della Nutrizione, Facoltà di Agraria, U.C.S.C., Via Emilia Parmense 84, 29100 Piacenza

<sup>1</sup> Sintesi di una rassegna bibliografica svolta nell'ambito delle ricerche finanziate dal Ministero Marina Mercantile (2° piano triennale, legge 41-82).

In molte specie di pesci la ridotta capacità di sintetizzare l'acido ascorbico o vitamina C giustifica la necessità di integrare la loro dieta con quantità più o meno elevate della suddetta vitamina. Tale necessità dipende dal particolare corredo enzimatico dei pesci, caratterizzato da una scarsa attività dell'enzima L-gulonolattone ossidasi (Chatterjee, 1978) che catalizza la conversione del glucosio in acido ascorbico.

La vitamina C si presenta sotto due forme: ridotta come acido-L-ascorbico ed ossidata come acido deidroascorbico. La forma ridotta prevale ma le due forme sono biologicamente reversibili ed esplicano entrambe attività vitaminica pur con diversa efficacia. Il prodotto della ulteriore ossidazione dell'acido deidroascorbico, l'acido dichetogluconico, è invece sprovvisto di attività vitaminica e la reazione che porta alla sua sintesi è irreversibile.

L'acido-L-ascorbico agisce nell'organismo come riducente biologico nel trasporto dell'idrogeno. È coinvolto in diversi processi enzimatici per l'idrossilazione, nei processi di detossificazione di composti aromatici e nella sintesi degli ormoni adrenergici. La vitamina C è necessaria per la produzione del collagene, delle cartilagini e per la formazione e la riparazione delle ossa; agisce in sinergia con la vitamina E per il mantenimento degli antiossidanti intracellulari e delle trappole per i radicali liberi; concorre alla maturazione degli eritrociti ed a mantenere il loro tasso entro i limiti della normalità; è altresì coinvolta, sempre in sinergia con la vitamina E e selenio, nell'attività degli enzimi glutatione perossidasi e superossido dismutasi (Halver, 1989).

La vitamina C interviene anche nel metabolismo del ferro per convertire la transferrina dalla forma ossidata alla forma ridotta, nel metabolismo della tirosina e nella conversione dell'acido folico in folinico.

Hilton (1984) ha evidenziato che la vitamina C partecipa alle reazioni del metabolismo del rame e dello zinco riducendo l'assorbimento ed aumentando l'escrezione di questi elementi.

Sembra inoltre che crescenti livelli di vitamina C riducano la tossicità del cadmio. Diete caratterizzate da un livello di acido-L-ascorbico o deidroascorbico equivalenti a 600 mg/kg hanno la capacità di ridurre notevolmente la mortalità di trote allevate in un bacino contenente acqua con 0,14 mg Cd/l (Yamamoto e Inoue, 1985).

Nei pesci di mare è stata osservata una funzione disintossicante nei confronti dei nitriti (Scarano et al., 1991).

In generale quindi si può affermare che l'acido ascorbico svolge un ruolo protettivo nei confronti di varie sostanze tossiche e delle patologie ad esse collegate.

Nell'uomo il classico sintomo da carenza di vitamina C è rappresentato dallo scorbuto; nei pesci i sintomi legati a tale deficienza sono molteplici e possono essere riassunti in uno scarso accrescimento corporeo, in deformità a carico della colonna vertebrale, in una lenta cicatrizzazione delle ferite oltre che in un notevole incremento della mortalità (Tab. 1).

Molti dei sintomi tipici legati alla carenza di vitamina C nei pesci sono da mettere in relazione ad una deficiente od incompleta sintesi del collagene e quindi della cartilagine, delle branchie, dei vasi sanguigni, della pelle, delle pinne e dei tessuti cicatriziali.

Nel rombo (*Scophthalmus maximus*) e nell'orata (*Sparus aurata*) è stata osservata la granulomatosi, conseguente ad un insufficiente utilizzo dell'aminoacido tirosina, che si manifesta attraverso la formazione di tipici noduli bianchi. Tali noduli sono composti da cristalli di tirosina ed hanno dimensioni variabili da 20 a 40  $\mu\text{m}$  di diametro. In questa patologia opportune dosi di vitamina C, somministrate attraverso la dieta o iniettate, hanno la capacità di riportare alla normalità il metabolismo alterato della tirosina (Messenger, 1986).

**TAB. 1. Principali sintomi da carenza di vitamina C in alcune specie di pesci**

<b>Trota</b>	<b>Carpa</b>	<b>Pesce gatto</b>	<b>Anguilla</b>	<b>Branzino</b>
Scarso accrescimento	Scoliosi	Scarso accrescimento	Scarso accrescimento	Scarso accrescimento
Inefficiente utilizzazione dell'alimento	Lesioni delle branchie negli avannotti	Lordosi Scoliosi	Perdita di appetito	Perdita di appetito
Lordosi, scoliosi		Frattura della colonna vertebrale	Emorragia delle branchie, pelle, testa	Colore scuro delle pinne
Deformazione delle cartilagini		Emorragia		Erosione della pinna caudale
Anemia, emorragia in vari organi				Emorragia delle branchie
Lenta cicatrizzazione delle ferite				Deformazioni della colonna vertebrale
Incremento della mortalità				Perdita di equilibrio

Da Steffens (1989b) e "Proceedings of the People's Republic of China" Aquaculture and Feed workshop, pp. 83.

Li e Lovell (1985) hanno evidenziato che nel pesce gatto la vitamina C svolge un ruolo importante nei confronti della resistenza alle infezioni batteriche. Infatti diete caratterizzate da livelli di vitamina C crescenti (da 0 a 3000 mg/kg di dieta) provocano una evidente riduzione della mortalità nelle infezioni sostenute da *Edwardsiella ictaluri*. Anche nella trota iridea è stato messo in evidenza il rapporto tra resistenza alle infezioni batteriche e contenuto in vitamina C; in questa specie un livello di vitamina C corrispondente a 1000 mg/kg (circa dieci volte il fabbisogno normale) è in grado di aumentare notevolmente il livello degli anticorpi nelle infezioni sostenute di *Vibrio anguillarum*.

Da alcuni studi condotti su ciprinidi indiani è emerso che la più alta concentrazione di acido ascorbico si riscontra nella milza, nel rene, nelle gonadi e nel fegato, mentre nel cuore e nel sangue si osservano livelli inferiori (Agrawal e Mahajan, 1980). Una riserva di acido ascorbico è anche presente nel cervello ed interviene nei momenti di particolare stress (Tucker et al., 1987).

Allo scopo di quantificare il livello della vitamina C sembra che sia sufficiente determinare la concentrazione dell'acido ascorbico nel fegato (Steffen, 1989a). A questo proposito livelli inferiori a 20-30 microgrammi/g nel fegato della trota e del pesce gatto sono indicativi di un insufficiente apporto dietetico di vitamina C (Hilton et. al., 1978; Lim e Lowell, 1978).

L'acido-L-ascorbico e il suo analogo acido deidroascorbico si presentano come cristalli bianchi di piccole dimensioni, privi di odore, solubili in acqua ma insolubili in solventi grassi. Le due forme sono particolarmente sensibili all'ossidazione, ed il calore e l'umidità caratteristiche delle fasi di preparazione dei mangimi possono provocare un rapido decadimento. A questo proposito è stato determinato il livello di acido ascorbico in alcuni mangimi e la percentuale residua dopo che gli stessi hanno subito i vari trattamenti tecnologici (Soliman et al., 1987).

Prove relative alla stabilità dell'acido ascorbico presente in alcuni mangimi commerciali sono stati condotti anche nel nostro Istituto; i risultati di queste prove evidenziano un'estrema variabilità nel grado di stabilità nel tempo dei vari prodotti commerciali disponibili oggi in Italia (Tab. 2).

La constatazione che l'acido ascorbico va soggetto ad una rapida denaturazione ha spinto molti centri di ricerca ed industrie mangimistiche ad individuare forme di vitamina C più stabili, capaci cioè di resistere ai processi tecnologici a cui vengono sottoposti i mangimi ed ai successivi periodi di conservazione.

Attualmente con la disponibilità di prodotti «stabilizzati o protetti» aventi quale principio attivo l'acido ascorbico si è riusciti a limitare il problema del decadimento della vitamina C.

Prove comparative condotte utilizzando tali prodotti hanno evidenziato come le perdite di vitamina C dovute ai processi tecnologici e alla successiva conservazione dei mangimi nonché al cosiddetto «leaching» (perdita conseguente al contatto con l'acqua del mangime al momento della distribuzione,

dovuta all'estrema solubilità della vitamina C) possano essere concretamente ridotte.

**TAB. 2. Mangimi sperimentali integrati con diverse forme di vitamina C**

Tesi	Principio attivo	Titolo del prodotto	Integrazione in principio attivo	Lab 2 Premix 0 gg	Controlli Lab 1 30-50 gg	Analitici Lab 2 30-50 gg	Lab 2 80-100 gg	Lab 3 80-100 gg
TESI 1	Ac. L-Ascorbico	99 %	300 mg/kg (dichiar)	60,00 ppm	72,55 ppm	60,00 ppm	60,00 ppm	68,25 ppm
TESI 2			2000 mg/kg	1630,00 ppm	1090,00 ppm	1460,00 ppm	1070,00 ppm	735,95 ppm
TESI 3	Ac. Ascorbico Silicon Coated	97 %	2000 mg/kg	1870,00 ppm	1516,00 ppm	1630,00 ppm	1490,00 ppm	1070,00 ppm
TESI 4	Ac. Ascorbico liquido	10 %	2000 mg/kg	n.d.	10,19 ppm	n.d.	n.d.	n.d.
TESI 5	Ac. Ascorbico Solfato	52 %	2000 mg/kg	n.d.	56,08 ppm	n.d.	n.d.	n.d.
TESI 6	Ac. Ascorbico Fosfato di Mg	90 %	2000 mg/kg	n.d.	68,24 ppm	n.d.	n.d.	n.d.

Si parla di «stabilizzazione» quando la molecola originaria viene salificata formando un sale meno sensibile all'ossidazione, mentre si ha la «protezione» quando le molecole di acido ascorbico vengono rivestite da altre molecole in grado di proteggerne l'integrità.

Le forme «stabilizzate» sono solfati e fosfati del radicale dell'acido ascorbico, aventi caratteristiche chimico-fisiche di grande interesse per l'uso zootecnico in quanto particolarmente resistenti al calore, alla luce e all'ossidazione e quindi adatte ai processi industriali ed allo stoccaggio dei mangimi, con riduzione delle perdite dovute al «leaching» in quanto meno solubili.

Le forme «protette» sono ottenute ricoprendo dei granuli della vitamina C con pellicole di acidi grassi o siliconi impermeabili sia all'ossigeno che ai catalizzatori metallici; la maggiore stabilità è, in questo caso, determinata dall'integrità dell'involucro che può essere minata dalle sollecitazioni meccaniche delle lavorazioni industriali.

Tsujimara et al. (1981) hanno utilizzato come fonte di vitamina C l'ascorbato-2-solfato (forma stabilizzata) che risulta essere rapidamente convertito in acido- L-ascorbico.

La relazione esistente tra acido ascorbico e acido ascorbico-2-solfato è stata ampiamente studiata nella trota.

Secondo Tucker e Halver (1984) l'acido ascorbico-2-solfato è la forma sotto cui viene immagazzinato l'acido-L-ascorbico, mentre Benitez e Halver (1982) hanno sottolineato che la conversione dell'acido ascorbico-2-solfato in acido-L-ascorbico si verifica in caso di necessità, per mezzo della ascorbato-2-solfata- si presente nei tessuti.

Questo enzima, insieme all'enzima complementare ascorbato-2-solfatosintetasi, è inibito dall'acido ascorbico che quindi agisce come un modulatore nel controllo della sua stessa sintesi, in modo di evitare l'accumulo di eccessivi livelli di acido ascorbico.

Halver et al. (1975) e Halver (1982) nella trota iridea hanno impiegato l'ascorbato-2-solfato mentre Albrektsen et al. (1988) nella stessa specie hanno utilizzato l'ascorbil-palmitato.

Nella dieta dell'*Oreochromis niloticus* sono stati ottenuti buoni risultati con il sodio ascorbato (Soliman et al., 1986a).

Dobbiamo però precisare che alcuni studi hanno ridimensionato il ruolo che l'ascorbato-solfato svolgerebbe nell'alimentazione di specie ittiche quale alternativa all'acido ascorbico.

A questo proposito una recente comunicazione dell'Istituto delle Vitamine richiama l'attenzione sulle conclusioni a cui sono giunti vari autori di scuole diverse e cioè:

- 1) l'acido-ascorbico-solfato non è la naturale forma sotto cui viene immagazzinato l'acido ascorbico;
- 2) l'acido ascorbico ingerito oltre o al di sotto i fabbisogni specifici delle varie specie di pesci (trota e pesce gatto) non viene convertito in acido-ascorbico- solfato.

A sostegno di quest'ultima tesi Dabrowsky (nella trota) non è stato in grado di dimostrare l'induzione

dell'attività dell'enzima ascorbico-solfato-solfidrolasi quando veniva somministrata una dieta contenente esclusivamente acido ascorbico solfato. Di conseguenza appare improbabile secondo tale autore che la trota sia capace di utilizzare l'acido ascorbico solfato come fonte di vitamina C.

Le integrazioni di vitamina C consigliate devono necessariamente rispettare i fabbisogni dei pesci che variano in funzione di fattori esogeni quali la temperatura dell'acqua, la densità in allevamento ecc. , nonché dalla specie, dall'età e dallo stato fisiologico del pesce.

Un livello particolarmente alto di L-gulonolattone ossidasi e quindi un modesto fabbisogno in acido ascorbico, è stato riscontrato nella carpa, mentre solo il 5-10% di tale livello è presente nell'*Oreochromis aureus* e *Mugil cephalus* e questo comporta la necessità di effettuare opportune integrazioni in vitamina C (Yamamoto e! al. 1978; Thomas, 1984).

Sato et al (1978) hanno evidenziato che il fabbisogno in vitamina C decresce con l'età in quanto trote di 6 settimane di età alimentate con una dieta priva di vitamina C presentavano macroscopici sintomi di carenza, mentre in trote di 19 mesi non fu osservato alcun sintomo tipico della carenza di acido ascorbico.

Anche la composizione della dieta sembra rivestire una certa importanza, in particolare il tenore lipidico.

Come già accennato, tanto maggiori sono i fattori che possono provocare stress tanto più sostenuto sarà il fabbisogno in vitamina C.

Soliman et al. (1986b) in prove condotte su avannotti di *Oreochromis mossambicus*, hanno messo in relazione il dosaggio di vitamina C presente nella dieta con l'incremento di peso giornaliero e l'indice di conversione alimentare.

Da tali prove risulta che una integrazione di 1250 mg/kg di vitamina C riduce sensibilmente (da 2.36 - dieta senza vitamina C -a 1.08 -dieta con 1250 mg/kg di vitamina C) l'indice di conversione alimentare.

Per quanto riguarda le integrazioni consigliate per i pesci di mare è necessario far presente che le informazioni disponibili al riguardo sono piuttosto scarse e spesso si fa riferimento all'esperienza acquisita con i pesci di acqua dolce, in particolare i salmonidi.

Nell'orata (*Sparus aurata*), l'integrazione di vitamina C ritenuta opportuna è di circa 200 mg/kg di mangime secco; l'azione protettiva nei confronti di un agente tossico quale l'azoto nitroso si esplicherebbe a partire da integrazioni non inferiori ai 400 mg/kg di mangime secco (Scarano et al., 1991).

Allo scopo di evidenziare precocemente la carenza nutrizionale di vitamina C (denominata CDS) Saroglia suggerisce di effettuare periodicamente l'analisi dell'ascorbato totale immagazzinato nel tessuto epatico.

Concentrazioni dell'ordine di 10 µg/g indicherebbero la probabile comparsa di una sindrome da CDS (Saroglia et al., 1991).

Nel caso particolare dei gamberi i fabbisogni di vitamina C e quindi le integrazioni consigliate sono particolarmente difficili da determinare a causa delle abitudini alimentari di queste specie. I gamberi infatti mangiano lentamente e quindi l'alimento rimane nell'acqua per un periodo di tempo piuttosto lungo ed è quindi particolarmente soggetto al cosiddetto «leaching».

I sintomi di deficienza di vitamina C nei gamberi includono una sindrome chiamata «*Black death*» caratterizzata da alterato metabolismo dei melanociti nei tessuti cartilaginei e ridotta capacità riproduttiva.

I livelli di integrazione consigliati variano da 100 a 1000 mg/kg di mangime (Akuyama e Dominy, 1989).

Come risulta da questa breve rassegna, sono state svolte numerose ricerche sul ruolo e gli effetti che la vitamina C esplica nel metabolismo delle specie ittiche. Una sensibile carenza di informazioni è comunque rilevabile a proposito dei pesci di mare, branzino ed orata in particolare, frequentemente allevati nella nostra area mediterranea.

È in questo senso che si auspica vengano realizzate le prossime ricerche.

## Bibliografia

- AGRAWAL N.K. & MAHAJAN C.L. (1980). Comparative tissue ascorbic acid studies in fishes. *J. Fish Biol.* 17: 135-141.
- AKUYAMA D.M. & DOMINY W.G. (1989). Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. *Proceedings of the People's Republic of China Aquaculture and Feed Workshop*, p. 189.
- ALBREKTSSEN S., LIE O. & SANDNES K. (1988). Ascorbyl-palmitate as a dietary vitamin C source for rainbow trout. *Aquaculture* 71: 359-368.
- BENITEZ L.V. & HALVER J.E. (1982). Ascorbic acid sulfate sulfo-hydrolase: the modulator of cellular levels of L-ascorbic acid in rainbow trout. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 5445-5449.
- CHATTERJEE I.B. (1978). Ascorbic acid metabolism. *World Rev. Nutr. Diet* 30: 69-87.
- HALVER J.E. (1982). The vitamins required for cultivated salmonids. *Comp. Biochem. Physiol.* 73: 43-50.
- HALVER J.E. (1989). *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego.
- HALVER J.E., SMITH R.R., TOLBERT B.M. & BAKER E.M. (1975). Utilisation of ascorbic acid in fish. *Ann. New York Acad. Sci.* 258: 81-102.
- HILTON J.W. (1984). Ascorbic acid-mineral interactions in fish. In: *Ascorbic Acid in Domestic Animals*, Royal Danish Agric. Soc., Copenhagen.
- HILTON J.W., CHO C.Y. & SLINGER S.J. (1978). Effect of graded levels of supplemental ascorbic acid in practical diets of rainbow trout. *J. Fish. Res. Board Can.* 35: 431-436.
- Istituto delle Vitamine*, comunicazione contenente i seguenti riferimenti bibliografici:
- DABROWSKI & KOCH (1989), Dabrowski et al. (1989), *Inst. Zoology, University Innsbruck*.
- GUERIN & LOVELL (1988), *Dept. Fisheries, Allied Aquacultures, Auburn University*.
- MURAI et al. (1978), *Coll. Agric., University of Georgia*.
- SANDNES (1989), *Inst. Nutr. Dir. Fisheries in Norway*.
- STREIF et al. (1989), *Roche, Basel*.
- LIY. & LOVELL R.T. (1985). Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. *J. Nutrition* 115: 123-131.
- LIM C. & LOVELL R.T. (1978). Pathology of vitamin C deficiency syndrome in channel catfish. *J. Nutrition* 108: 1137-1146.
- MESSAGER J.L. (1986). Influence de l'acide ascorbique sur l'hypertyrosinémie granulomateuse du turbot d'élevage. In: *Pathologie in Marine Aquaculture*, pp. 381-390.
- SAROGLIA M., SCARANO G., SCIARAFFIA F. & MASSARI M. (1991). Essenzialità della vitamina C in diete per spigola (*Dicentrarchus labrax*, L.). II-Induzione sperimentale di una sindrome da carenza. *Atti IX Congr. Naz. Assoc. Sci. Prod. Anim.*, voi. II, Roma 3-7 giugno.
- SCARANO G., SAROGLIA M. & SCIARAFFIA F. (1991). Ruolo protettivo dell'acido ascorbico verso intossicazioni da nitriti in spigola, *Dicentrarchus labrax*, L. *Riv. Ital. Acquacol.* 26: 95-102.
- SATO M., YOSHINAKA R. & YAMAMOTO S. (1978). Non essentiality of ascorbic acid in the diet of carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 44: 1151-1156.
- SOLIMAN A.K., JAUNCEY K. & ROBERTS R.J. (1986a). The effects of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias. *Aquaculture* 52: 1-10.
- SOLIMAN A.K., JAUNCEY K. & ROBERTS R.J. (1986b). The effects of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture* 59: 197-208.
- SOLIMAN A.K., JAUNCEY K. & ROBERTS R.J. (1987). Stability of L-ascorbic acid and its forms in fish feeds during processing, storage and leaching. *Aquaculture* 60: 73-83.
- STEFFEN W. (1989a). *Principles of Fish Nutrition*. Ellis Horwood, pp. 253-265.
- STEFFEN W. (1989b). *Principles of Fish Nutrition*. Ellis Horwood, pp. 268-269.
- THOMAS P. (1984). Influence of some environmental variables on the ascorbic acid status of mullet, *Mugil cephalus* L., tissues. I. Seasonal fluctuations and biosynthetic ability. *J. Fish Biol.* 25: 711-720.
- TSUJIMURA M., FUKUDA T., KASAI T. & KITAMURA S. (1987). Hydrolysis of L-ascorbic acid sulfate to L-ascorbic acid in freshwater fishes. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 47: 435.
- TUCKER B.W. & HALVER J.E. (1984). Distribution of ascorbate-2-sulfate and distribution, half life and turnover rates of ascorbic acid in rainbow trout. *J. Nutrition* 114: 991-1000.
- TUCKER B.W., TOLBERT B.M., HALVER J.E. & BALABAN M. (1987). Brain ascorbate depletion

as a response to stress. *Intern. J. Vit. Nutr. Res.* 57: 289-295.

YAMAMOTO Y. & INOUE M. (1985). Effects of dietary ascorbic acid and dehydroascorbic acid on the acute cadmium toxicity in rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 51: 1299-1303.

YAMAMOTO Y., SATO L. & IKEDA S. (1978). Existence of L-gulonolactone oxidase in some teleosts. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 44: 775-779.