



UiT Norges arktiske universitet

Norges Fiskerihøgskole
Fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi

En sammenligning av tran fra oppdrettet- og vill torsk (*Gadus morhua*)

Med fokus på fett og fettsyresammensetning

Malin Sesilie A. Samuelsen

Masteroppgave i Fiskeri og Havbruksvitenskap FSK-3960 (60 stp.), Mai 2023

En sammenligning av tran fra oppdrettet- og vill torsk (*Gadus morhua*) – med fokus på fett og fettsyresammensetning

Malin Sesilie A. Samuelsen
Masteroppgave i fiskeri og havbruksvitenskap (FSK-3960)

Norges fiskerihøgskole
Fakultetet for biovitenskap, fiskeri og økonomi
UiT Norges Arktiske Universitet



Tromsø
Våren 2023

Forord

Denne masteroppgaven markerer slutten på fem fine år på Norges Fiskerihøgskole. Fem år fylt med kunnskap, vennskap, latter, glede og en del frustrasjon. Nå ser jeg frem til nye spennende utfordringer etter endt studietid, men først ønsker jeg å takke de som har hjulpet meg å ferdigstille denne prosessen.

En stor takk går til mine veiledere, Karl-Erik Eilertsen og Mari Johannessen Walquist. Tusen takk for all faglig støtte, gode og konstruktive tilbakemeldinger, støttende ord og ellers blide vesen som har gitt ro i en ellers krevende tid. Tusen takk til Sjømatgruppa ved Norges fiskerihøgskole, særlig Guro Edvinsen og Tone Friis Aune for all hjelp og veiledning på laboratoriet og Ragnar Olsen for gode innspill og råd på veien. Tusen takk for at dere alltid har holdt døren til kontoret deres åpen og ingen spørsmål har vært for dumme.

Videre ønsker jeg å takke mine gode samarbeidspartnere. Tusen takk til Vesterålen Marine Olje, særlig min kontaktperson Lena Carlsen, for et godt samarbeid gjennom hele prosessen. Setter stor pris på all hjelp med anskaffelse av prøvemateriale, gode samtaler og for at dere åpnet og lot meg komme inn i deres produksjon. Tusen takk til Nofima og Vesterålen Havbruk som lot meg se nærmere på deres oppdrettstorsk, gitt prøvemateriale til oppgaven og tålmodigheten dere har vist. Uten dere ville ikke oppgaven vært like interessant å arbeide med.

Avsluttende ønsker jeg å takke familie og venner for kjærlighet, støtte og oppmuntrende ord. En særlig spesiell takk til gode studievenner for fem flotte år. Studietiden ville ikke vært like minnerik uten, og jeg ser frem til å gå inn i sjømatnæringen sammen med dere og alle fremtidige eventyr.

Hiv og hoi!

Tromsø, mai 2023

Malin Sesilie A. Samuelsen.

Innholdsfortegnelse

1	Innledning.....	1
1.1	Formålet med oppgaven	3
1.2	Bakgrunn	4
1.2.1	Lipider	4
1.2.2	Marine lipider	5
1.2.3	Lipider og fettsyresammensetning i torskens matkilder	7
1.2.4	Torskelever – et organ for stoffomsetning og energi	8
1.2.5	Tran – historie frem til dagens produksjon	9
1.2.1	Lipidkvalitet i tran	11
2	Materiale og metode.....	15
2.1	Materiale.....	15
2.1.1	Leverprøver	15
2.1.2	Tran fra Vesterålen Marine Olje	18
2.1.3	Industrielt oppdrettsfôr til torsk.....	19
2.1.4	Kjemikalier.....	19
2.2	Metode.....	20
2.2.1	Bestemmelse av fettinnhold med etylacetatmetoden	20
2.2.2	Bestemmelse av fettinnhold med Folchs-metode.....	21
2.2.3	Metylering og analyse av fettsyresammensetning	22
2.2.4	Bestemmelse av fettklasser	23
2.2.5	Bestemmelse av oppdrettstorskens hepatosomatisk indeks	24
2.2.6	Kommersiell produksjon av råtran.....	25
2.2.7	Labskala produksjon av råtran fra torskelever	26
3	Resultater.....	27
3.1	Fettinnhold i torskelever.....	27
3.2	Sammenligning av metoder for fett ekstraksjon	28
3.3	Bestemmelse av undersøkt oppdrettstorskens hepatosomatiske indeks	29
3.4	Fettsyresammensetning i torskelever	30
3.5	Fettsyresammensetning i råtran produsert av VMO	33
3.6	Oljeutbytte i torskelever og dens fettsyresammensetning.....	37
3.7	Sammenligning av ulike utfellingsmetoder.....	39
3.8	Bestemmelse av fettklasser i råtran og ekstrahert fett fra oppdrettet torskelever	41
3.9	Fettinnhold og fettsyresammensetning i oppdrettsfôr til torsk.....	45
4	Diskusjon.....	47
4.1	Sammenligning av fettsyresammensetningen i lever og råtran.....	47

4.2	Observasjoner gjort ved analyser på torskelever.....	50
4.2.1	Påvirkninger på fettutbytte i torskelever fra ulike ekstraksjonsmetoder.....	51
4.3	Bestemmelse av fettklasser	52
4.4	Begrensninger i studiet og fremtidig forskning.....	53
5	Konklusjon	55
	Referanseliste	56

Tabelliste

Tabell 1 Oversikt over rundvekt, levervekt og lengde på fisken levert fra Nofima (n=6) som ble brukt i undersøkelsene.....	15
Tabell 2 Oversikt over rundvekt (men bløgget), levervekt og lengde på fisken donert fra Vesterålen Havbruk (n=5) som ble brukt i undersøkelsene.	17
Tabell 3 Oversikt over levervekt til undersøkt skei: antall og vekt (g) (n=5).....	18
Tabell 4 Gradientprofil for HPLC-programmet. Mobilfase A = isooktan/etylacetat (99,8:0,2, v/v), mobilfase B = aceton/etylacetat (2:1) 0,15 % eddiksyre og mobilfase C = isopropanol/H ₂ O (85:15).	24
Tabell 5 Sammenligning av ekstraksjonmetode; ekstraksjons med etylacetat og Folchs-metode med ulike modifikasjoner gjennomført på lever fra Nofima-torsk 1,	28
Tabell 6 Oppdrettstorskens (Nofima og VHP) rundvekt (kg), levervekt (g) og HSI%	29
Tabell 7: Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i lever fra oppdrettstorsk fra to ulike leverandører: Nofima (n=6) og Vesterålen Havbruk (n=5), samt vill skrei (n=5). Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av en lever (n) med tre paralleller. ND = not detected.....	31
Tabell 8: Sammenligning av fettsyresammensetning (mg fettsyre per gram prøve) i lever Nofima og Vesterålen Havbruk, samt vill skrei. Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av tre paralleller. ND = ikke påvist.	32
Tabell 9 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i tran produsert av Vesterålen Marine Olje, tran fra oppdrettstorsk (VHP) og villfanget skrei. Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av tre paralleller for hver prøve. ND = ikke påvist.....	34
Tabell 10 Sammenligning av mengde fettsyrer (mg) per gram råtran produsert av VMO: med lever fra oppdrettstorsk (VHP) og vill skrei. Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av tre paralleller av n=1 flaske råolje fra hver gruppe. ND = ikke påvist.....	35
Tabell 11 Oversikt over oljeutbytte fra prøvemateriale fra Nofima-lever (n=6), VHP-lever (n=5) og skrei-lever (n=5).	37
Tabell 12 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) råtran fra leverprøver fra Nofima (n=6), VHP (n=5) og vill skrei (n=6).	38
Tabell 13 Kvantitativ bestemmelse av fettklasser (TAG, DAG, FFA, WE og EE) identifisert i fett ekstrahert fra torskelever fra Nofima og Vesterålen Havbruk (oppdrettstorsk), og vill skrei. Analysert med metoden for HPLC.	44

Tabell 14 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i en fôrprøve av industrielt oppdrettsfôr for torsk brukt på Nofimas sjøanlegg for torsk. Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av tre paralleller fra en fôrbatch.	46
--	----

Figurliste

Figur 1 Kvantum vill torsk (kg rund vekt) levert på sluttseddel pr måned gjennom 2022 fra norske fartøy. Data hentet fra Råfisklagets statistikkbank (Råfisklaget 2022).	1
Figur 2 Skjematisk skisse over biosyntesen av C20 og C22 LC PUFA fra n-3-, n-6 og n-9 C18 substratene (de metabolske forløperne) hos beinfisk (teleoster). Elovl = elongaser (forlenger) og ΔX = desaturaser (setter inn dobbeltbindinger). Modifisert fra Tocher (2003) og Garrido, Kabeya et al. (2019).	5
Figur 3 Eksempler som viser variasjon av torskelever, oppdrett kontra vill. a: Oppdrett, b: Oppdrett, c: Linefanget skrei. Hentet fra: Heide, Ageeva et al. (2022)	9
Figur 4 Forenklet flytskjema som viser produksjonen av fiskemel og fiskeolje. Hentet fra Lynum (2005).	10
Figur 5 Oksidasjon av en umettet fettsyre vist med i de første stegene i en oksidasjonsprosess, initiering og propagering. Modifisert fra Olsen (2017).	13
Figur 6 Dannelse av frie fettsyrer hos lagret sild ved ulike temperaturer Hentet fra: Huss, Boerresen et al. (1998).	14
Figur 7 Lever fra Nofimas oppdrettstorsk. A: lever 4, B: lever 5.	16
Figur 8 Lever fra oppdrettstorsk fra Vesterålen Havbruk. A: lever 1, B: lever 4.	17
Figur 9 Forenklet flytskjema over Vesterålen Marine Oljes produksjon av råtran.	25
Figur 10 Gjennomsnittlig fettinnhold (g/100 g lever) i lever fra oppdrettstorsk fra to ulike leverandører: Nofima (n=6) og VHP (n=5), og skrei (n=5). Resultatene viser et gjennomsnittlig fettinnhold på 72,6±1,2 g/100 g lever (N), 68,9±2,9 g/100g (VHP) og 56,6±4,8 g/100 g lever (skrei)	27
Figur 11 Sammenligning av gjennomsnittlig hepatosomatisk indeks for oppdrettstorsk fra Nofima (n=6) og fra VHP (n=5)	29
Figur 12 Oversikt over grupperingene SFA, MUFA, PUFA og LC-PUFA n-3i undersøkt batch av oppdretts- og konvensjonell tran produsert av VMO og EFSAS kostholdsråd anbefalinger på 250-500 mg LC-PUFA (i stiplet linje) per dag (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies 2012).	36

Figur 13 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i råtran av torskefisk produsert av VMO med isoelektrisk utfelling og labskalaprodusert råtran av dampbehandlet skrei-lever..	39
Figur 14 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i råtran av oppdrettstorsk produsert av VMO med isoelektrisk utfelling og labskalaprodusert råtran av dampbehandlet VHP-lever	40
Figur 15 Representativ tynnsjiktplate som viser standarder og fettklasser i fem ulike råtranprøver. Følgende rekkefølge på appliserte prøver på platen (fra venstre) 1: DAG, 2: 18-5 A(TLC-standard), 3: MAG, 4: Råtran fra oppdrettstorsk (VMO), 5: Råtran fra vill torskefisk (VMO), 6: Råtran kokt på Nofima-lever, 7: Råtran kokt på VHP-lever, 8: Råtran kokt på skrei-lever.....	41
Figur 16 Representativ tynnsjiktplate som viser standarder og fettklassene i ulike prøver ekstrahert fra lever fra oppdrettstorsk. Følgende rekkefølge på appliserte prøver på platen (fra venstre) 1: 18-5 A(TLC-standard), 2: Nofima lever, 3: Nofima-lever, 4: Nofima-lever, 5: VHP-lever, 6: VHP-lever, 7: VHP-lever, 8: 18-5 A (TLC-standard).	42
Figur 17 Kromotogram fra HPLC-analyse, kromotogram a: MAG-standard, kromotogram b: analyse av fett fra skrei lever 1 parallell A, kromotogram c: HPLC-standarder for DAG, FFA, TAG og MAG	43
Figur 18 Mengde TAG, DAG, FFA, WE og EE per mg fett i lever fra oppdrettstorsk produsert av Nofima (n=3), VHP (n=3) og vill skrei (n=2).....	44

Forkortelser

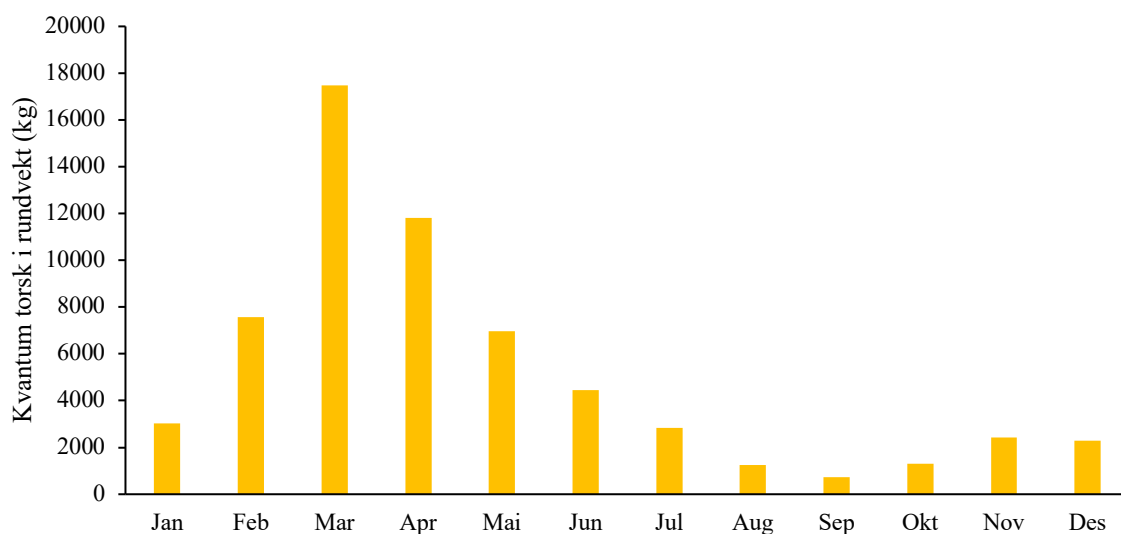
ALA	α -linolensyre (C18:3 n-3)
ARA	Arakidonsyre (C20:4 n-6)
DAG	Diacylglyserol
DHA	Dokosaheksaensyre (C22:6 n-3)
EE	Etylester
EFA	Essensielle fettsyrer
EP	European Pharmacopoeia
EPA	Eicosapentaensyre (C20:5 n-3)
FA	Fettsyre
FAME	Fettsyremetylester
FFA	Frie fettsyrer
GC	Gasskromatografi
HPLC	Høypresisjonsvæskeskromatografi
HSI	Hepatosomatisk indeks
HUFA	Svært utmettede fettsyrer (Highly unsaturated fatty acids)
IS	Internstandard (Heptadekansyre, C17:0)
LA	Linolsyre (C18:2 n-6)
MAG	Monoacylglyserol
MUFA	Enumettede fettsyrer (Monounsaturated fatty acid)
N	Nofima
n-3	Omega-3
n-3 LC-PUFA	Langkjedede n-3 flerumettede fettsyrer (n-3 Long-chain polysaturated fatty acid)
n-6	Omega-6
PL	Fosfolipider
PUFA	Flerumettet fettsyre (Polyunsaturated fatty acids)
S	Skrei
SFA	Mettede fettsyrer (Saturated fatty acid)
TAG	Triacylglyserol
VHP	Vesterålen Havbruk AS
VMO	Vesterålen Marine Olje
WE	Voksester

Sammendrag

I dag opplever vi en ny optimisme i oppdrettsnæringen og en økende satsning på torsk. Satsningen har som formål å fremme innovasjon og skal virke som et tilskudd til det tradisjonelle fiskeriet. Med en kontinuerlig tilgang på råstoff vil vi få en økt mengde restråstoff med stort potensial for anvendelse, kanskje særlig for torskeleveren og tran-produkter. For å være i stand til å utnytte oppdrettstorskens fulle potensiale er det viktig å med oppdatert kunnskap på fiskens sammensetning og fettprofil. Hensikten med denne oppgaven var å sammenligne tran fra oppdrettet og vill torsk (*Gadus morhua*) med følgende problemstilling: hvordan ser fettprofilen i tran fra oppdrettstorsk ut sammenlignet med vill torsk i forhold til fettsyresammensetning og kvalitetsparametere? Sammenligningene ble gjort ved å undersøke rå torskelever fra to oppdrettsproduksjoner, lever av vill skrei, råtran produsert av Vesterålen Marine Olje samt industrielt oppdrettsfôr for torsk. Lever fra oppdrettstorsk hadde et høyere fettinnhold (ca. 70 g fett per 100 gram lever), oljeutbytte (ca. 66 %) og en stor lever sammenlignet med vill torskefisk. Både lever og råtran fra vill torsk hadde større andel av de n-3 langkjedede n-3 flerumettede fettsyrene EPA og DHA, samt et lavt n-6/n-3 sammenlignet med oppdrettstorsk. Råtran av oppdrettstorsk viste å ha en høy andel fettsyrer karakteristisk for vegetabiliske oljer, særlig C18:1 n-9, men også en høy andel av de ønskede n-3 LC-PUFA. Resultatene bekrefter at man finner igjen fettsyresammensetningen i fiskens næringskilder i fiskens fettrike vev. Fett ekstrahert fra undersøkt skreilever hadde et forhøyet innhold av frie fettsyrer og viste seg som et godt eksempel på at marine lipider er særlig sårbare for kvalitetsforringelser grunnet sine lange hydrokarbonkjeder og mange dobbeltbindinger. Ved sammenligning av produksjonsmetoder viste torskelever seg å være lite påvirket når eksponert for varme og/eller syre. Ved fremtidig forskning vil det være aktuelt å se nærmere på valg av ekstraksjonsmetode da dette kan påvirke fettutbytte fra torskeleveren. Basert på resultatene kan man konkludere med at råtran av oppdrettstorsk er en god kilde til n-3 LC-PUFA og er meget godt egnet til å sikre anbefalt daglig dose på 250-500 mg, og var innenfor grenseverdier for innholdet av EPA og DHA i ferdigraffinert tranolje.

1 Innledning

Gjennom historien har atlantisk torsk (*Gadus morhua*) vært en av de viktigste artene for fiskeriene i store deler av Nord-Atlanteren og bidratt til næringsliv og vekst langs kysten (Puvanendran, Mortensen et al. 2022). I norske farvann er det vanlig å dele torskebestanden i forvaltningssammenheng: kysttorsk sør og nord for 62 °N og nordøstarktisk torsk, populært kalt skrei. Hva som skiller de ulike bestandene fra hverandre har lenge vært omdiskutert, men den primære forskjellen er bestandenes genetik som gir fiskene ulike karaktertrekk, livssykluser og habitatspreferanser (Dahle, Jørstad et al. 2011, Breistein, Dahle et al. 2022). Den nordøstarktiske skreien er verdens største torskebestand, og holder primært til i Barentshavet. I vintermånedene januar til april migrerer gyteklar skrei sørover langs norskekysten til sine viktigste gyteområder utenfor Vesterålen og Lofoten. Dette påvirker fiskeriet og kystflåten i stor grad da det fører til store sesongvariasjoner hvor ressursen hovedsakelig blir høstet i torskens gytesesong (se Figur 1) (Havforskningsintitutet 2019).



Figur 1 Kvantum vill torsk (kg rund vekt) levert på sluttseddel pr måned gjennom 2022 fra norske fartøy. Data hentet fra Råfisklagets statistikkbank (Råfisklaget 2022).

De store sesongvariasjonene har vært med å true torskens rolle som stabilt råstoff ved flere anledninger (Feng, Huang et al. 2020). Som ressurs er skrei en fisk av god kvalitet, med en høy økonomisk og ernæringsmessig verdi. For å jevne ut de uforutsigbare utfordringene som følger av den sesongvariable tilgangen har virkningen av diverse tiltak som: ressursforvaltning av viltbestanden, fange og holde den ville fangsten levende i såkalt fangstbasert akvakultur eller satse på et intensivt torskeoppdrett ved avl og kultivering (Puvanendran, Mortensen et al. 2022). På tidlig 2000-tallet opplevde man en økende interesse for å investere i torskeoppdrett, og det var ønskelig å fremme utvikling for å jevne ut de kjente utfordringene. Grunnet markedsmessige forhold møtte imidlertid datidens oppdrettsproduksjon på en tilsynelatende kollaps med flere konkurser og en tilnærmet utradering av satsningen. Siden den gang har næringen lært av fortiden og jobbet videre med et omfattende avlsarbeid for å avle frem en torsk bedre egnet for oppdrett etter dagens standard, hvor dagens generasjon oppdrettstorsk evner å oppnå en slaktevekt på 3,5-4 kg i løpet av en produksjonssyklus på 18-22 måneder (Heide, Ageeva et al. 2022). I dag ser vi igjen en ny optimisme med flere kommersielle aktører som velger å satse på en storskala produksjon av kultivert torsk (Henriksen, Heide et al. 2018). Tall fra Grefsrud, Andersen et al. (2022) viser at det i 2021 var en stående biomasse på 7000 tonn oppdrettstorsk fordelt på 11 tillatelser i Norge. Sammenlignet med dagens lakse- og ørretproduksjon i sjø er næringen foreløpig relativt liten, men tall fra Fiskeridirektoratet (per 2. 2. 2022) viser en økende optimisme i næringen hvor 41 søknader om etablering av torskeoppdrett i sjø med en totalkapasitet på over 121 000 tonn lå inne til behandling (Grefsrud, Andersen et al. 2022).

I 2022 ble omtrent 5000 tonn rund oppdrettstorsk slaktet og primært solgt videre som filet (Fiskeridirektoratet 2023). Hovedvekten på filetproduksjon innebærer at bare ca. 50 % fisken som helhet går inn i oppdrettstorskens hovedprodukt (Aas, Barnung et al. 2011). De resterende delene av fisken går gjerne inn under begrepene biprodukter og/eller annet restråstoff. Tradisjonelt har restråstoffet blitt brukt til produkter av lav verdi som fôr til oppdrettsdyr, gjødsel eller kassert (Olsen, Toppe et al. 2014). Sett bort i fra torskens velsmakende filet er fisken fra et anatomisk perspektiv gitt en relativt stor og næringsrik lever. Normalt tilsvarer leveren rundt 13 % av fiskens totalvekt og er et organ rikt på marint fett (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008, Aas, Barnung et al. 2011). Tradisjonelt går leveren fra villtorsk inn i produksjon av leverolje, bedre kjent som tran, og har gjennom historien vært et velkjent kommersielt helsekostprodukt i store deler av Nord-Europa (Aas, Kjerstad et al. 2016). For å heve leverproduktets kommersielle verdi ser man stor nytte i å utvikle gode strategier for best mulig

utnyttelse av torskens marine lipider (Hansen, Berge et al. 2008). På denne måten vil man oppnå en bedre utnyttelse av ressursene i havet samt fremme en fremtidsrettet og bærekraftig utvikling. I dag ser vi en stor etterspørsel etter marine oljer grunnet begrenset tilgang på slike oljer som råvare i markedet, som igjen blant annet påvirker industriell produksjon av fiskefôr. Tran fra oppdrettstorsk som fettkilde kan være med å bidra til en økt lønnsomhet både brukt som kosttilskudd eller og mulig industriellfôrproduksjon. Parallelt spiller avgjørende faktorer som produktets fettsyresammensetning og oksidasjonsstatus inn i oljens potensielle bruk (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008).

1.1 Formålet med oppgaven

Formålet med denne oppgaven var å sammenligne tran fra oppdrettet og vill torsk (*Gadus morhua*) med følgende problemstilling:

- Hvordan ser fettprofilen i tran fra oppdrettstorsk ut sammenlignet med vill torsk i forhold til fettsyresammensetning og kvalitetsparametere?

Følgende spørsmål (delmål) ble også undersøkt:

- Er det betydelige variasjoner i fettprofilen til råtran laget ved ulike produksjonsmetoder (labskala trankoking og industriell framstilling med isoelektrisk felling) av lever fra oppdrettstorsk og villtorsk?
- Kan man knytte generelle sammenhenger mellom fiskens næringskilder og fettprofil?
- I hvilken grad varierer fettprofilen fra rå lever kontra olje?
- Påvirker valg av ekstraksjonsmetode (Folchs vs. etylacetatmetode) fettutbytte fra torskelever?

1.2 Bakgrunn

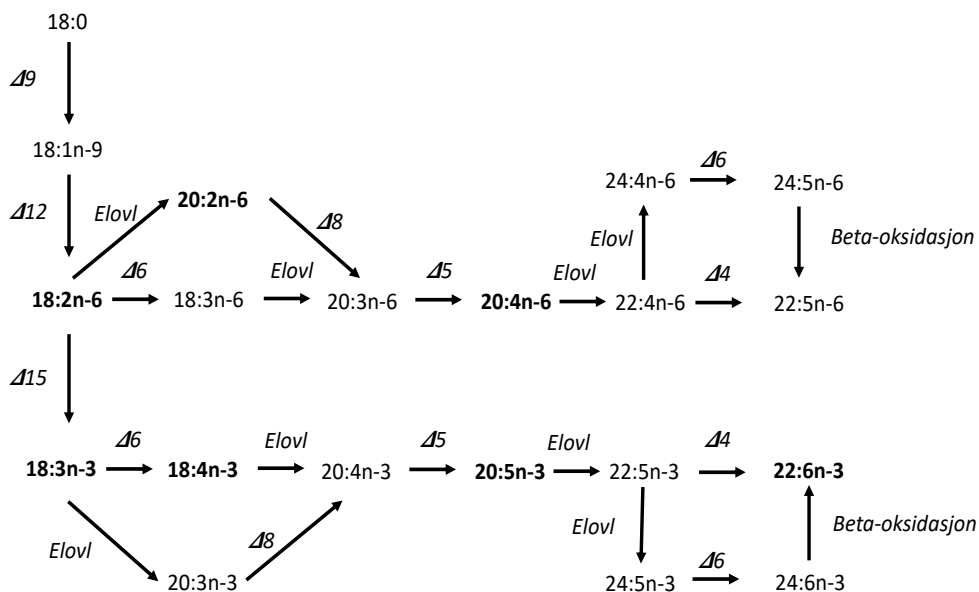
1.2.1 Lipider

Lipider er en heterogen gruppe av biologiske stoffer med fellestrekk at de kan løses opp i organiske væsker og tilnærmet uløselig i vann. Funksjonelt kan lipidene deles inn i tre hovedgrupper: depotfett, membranlipider og biologisk aktive lipider. Depotfettets hovedfunksjon er å tjene som opplagsnæring og består i all hovedsak av triacylglycerol (TAG) (Olsen 2017). Triacylglycerol er et nøytralt lipid og utgjør den største fettklassen i planteoljer og annet animalsk fett. Lipidet består av glyserol bundet til tre fettsyrer. Andre eksempler på nøytrale lipider er diacylglycerol (DAG) som består av glyserol og to fettsyrer og monoacylglycerol (MAG) med glyserol og en fettsyre. Fett og olje er to begreper for lipider, som begge hovedsakelig består av TAG, men olje er fett som er flytende ved romtemperatur. Andre eksempler på lipider er fosfolipider (PL), glykolipider, voksesterer og steroler (Olsen 2017).

Fettsyrer (FA) er alifatiske karboksylsyrer som består av en hydrokarbonkjede og en karboksylgruppe. Fettsyrene kan ha en hydrokarbonkjede som enten er med eller uten dobbeltbindinger. Mettede fettsyrer har en karbonkjede uten dobbeltbindinger, forkortes til SFA fra det engelske saturated fatty acids. Umettede fettsyrer har dobbeltbindinger i karbonkjeden og deles inn i to grupper: en-umettede fettsyrer (MUFA fra engelsk monounsaturated fatty acids) og flerumettede fettsyrer (PUFA, fra engelsk polyunsaturated fatty acids). De vanligste fettsyrene har 12 til 22 karbonatomer (C-atomer), hvor det første C-atomet etter karboksylgruppen blir betegnet som α (gresk alfa). Det siste C-atomet i hydrokarbonkjeden blir sett på som metyl/omega-endens karbonatom, og benevnes med omega eller n (Olsen 2017). For flerumettede fettsyrer er det slik at hvis fettsyrens dobbeltbinding er plassert på C-atom nummer 3 (regnet fra metylenden; $-CH_3$) er det en n-3 PUFA, mens fettsyrer med første dobbeltbinding på C-atom 6 fra metylenden er en n-6 PUFA (Olsen 2017).

1.2.2 Marine lipider

For at vi mennesker skal fungere som organisme er det viktig å få tilført de essensielle fettsyrene (EFA) linolsyre (LA; C18:2 n-6) og α -linolensyre (ALA; C18:3 n-3). Dette er fettsyrer som verken mennesker og andre dyr, inkludert fisk, kan syntetisere selv og er essensiell å få tilført gjennom kosten. I hvilken grad organismer har evnen til å utføre omdannelsen fra egne syntetiserte fettsyrer til lengre mettede fettsyrer som LA og ALA avhenger av tilstedeværelsen av fettsyreelongaser og -desaturaser, som f. eks Δ 6- og Δ 5-desaturase. Ved tilstedeværelsen av disse evner fettsyrer å forlenge sin egen hydrokarbonkjede samt mette seg ytterligere og omdanne seg til f.eks. fettsyrene eicosapentaensyre (EPA; C20:5 n-3) og dokosaheksaensyre (DHA; C22:6 n-3) (se Figur 2) (Tocher 2003, Olsen 2017, Garrido, Kabeya et al. 2019). Dette er langkjedede n-3 PUFA (n-3 LC-PUFA) som primært finnes lavere planter som fytoplankton, men ikke naturlig i virveldyr grunnet fraværet av nevnte enzymer (Larsen, Stormo et al. 2010).



Figur 2 Skjematisk skisse over biosyntesen av C20 og C22 LC PUFA fra n-3-, n-6 og n-9 C18 substratene (de metabolske forløperne) hos beinfisk (teleoster). Elov1 = elongaser (forlenger) og Δ X = desaturaser (setter inn dobbeltbindinger). Modifisert fra Tocher (2003) og Garrido, Kabeya et al. (2019).

Interessen for EPA og DHA ble for alvor vekket i perioden 1970-1980 særlig påvirket av studier gjort av Bang, Dyerberg og Sinclair (1980). Studiene viste til at det var en større sammenheng mellom kosthold og dødelighetsraten blant tilfeller av hjerteinfarkt. Undersøkelsene avdekket færre dødsfall som følger av hjerteinfarkt blant inuitter med kosthold bestående av et høyt innhold n-3 LC-PUFA sammenlignet med inuitter bosatt i Danmark med kosthold bestående av en lavere andel EPA og DHA (Dyerberg, Bang et al. 1978, Bang, Dyerberg et al. 1980). Påstanden har siden blitt bekreftet i en rekke andre undersøkelser (Liao, Xiong et al. 2022, Zheng, Qiu et al. 2022). Slike undersøkelser har vist at de bioaktive n-3 LC-PUFA virker å være positiv for flere av kroppens viktige metabolske funksjoner, blant annet opprettholdelsen av fysiologisk homeostase. Spesielt inkorporering av DHA virker å være nødvendig for at cellemembranene skal fungere optimalt (Liao, Xiong et al. 2022). De langkjedede n-3 LC-PUFA kan også virke betennelsesdempende og positiv mot enkelte mentale sykdommer. Under graviditet og utviklingen av fosters hjerne, samt barns kognitive utvikling har EPA og DHA vist seg å være svært viktig (Jobling and Leknes 2010, Tocher 2015, Olsen 2017, Durmus 2019).

Hvor mye n-3 LC-PUFA vi burde innta per dag blir basert på kardiovaskulære risikovurderinger av institusjoner som blant annet det europeiske panelet for diettiske produkter og allergier (EFSA). I dag er den anbefalte mengden EPA og DHA for europeiske voksne 250-500 mg per dag (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies 2012).

Hva forholdet mellom mengden n-6 og n-3 PUFA (n-6/n-3) er i et ernæringsmessig perspektiv er interessant å se nærmere på. Tidligere studier på tema har vist at ved forhold hvor det er en høy andel n-6, kan være med å påvirke kroppens lipidmetabolisme og betennelser i en negativforstand. I en studie av Yang et. al (2016) ble det optimale n-6/n-3 anbefalt å være 5:1 (Yang, Song et al. 2016). I dag ligger n-6/n-3 befolkningen i vesten omtrent på 20:1, altså fire ganger så høyt som forholdet anbefalt av Yang et. al. (2016). For å rette opp skeivfordelingen av n-6 kontra n-3 er det anbefalt å øke inntaket av n-3, særlig fettsyrene EPA og DHA (Jobling and Leknes 2010, Olsen 2017).

1.2.3 Lipider og fettsyresammensetning i torskens matkilder

Fettsyresammensetningen i fiskens vev kan påvirkes av ulike faktorer som f.eks.: årstid, størrelse, alder, kjønnsmodning og andre genetiske forskjeller mellom arter/bestander. En særlig viktig faktor er fiskens kosthold (Standal, Praël et al. 2008). Tidligere studier har gitt indikasjoner på at fettsyreprofilen i fiskens næringskilder kan gjenspeiles i fiskens depotfett og/eller andre fettrike vev (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008, Sissener 2018, Xu, Turchini et al. 2020).

Vill torsk er en altetende fisk som primært lever av annen fisk som: mindre torskefisk, lodde, brisling, sild, men også krepsdyr og diverse muslinger (Standal, Praël et al. 2008). Oppdrettsorsk følger gjerne et fastsatt fôrregime og blir fôret med et industrielt fiskefôr (Olsen 2017). Før år 2000 besto industrielt fiskefôr fortrinnsvis av 40-60 % fiskemel og 20-30 % fiskeolje. Fiskeoljene som ble benyttet var hovedsakelig produsert på lavtrofiske pelagiske arter som kolmule, øyepål, tobis og lodde og har gjennom flere tiår vært en stødig råvarekilde til fôrindustrien (Ytrestøyl, Aas et al. 2015, Olsen 2017). I dag er majoriteten av verdens fiskeressurser utnyttet til det fulle, som gjør det problematisk å produsere marinbaserte fôringredienser med hensyn til bærekraftig forvaltning av ressursene i havet (Ytrestøyl, Aas et al. 2015). Det har derfor vært viktig å se på alternative lipidkilder til industriell fôrproduksjon, og vegetabiliske oljer har med tiden fått en mer sentral posisjon oppdrettsfisks kosthold. I dag består industrielt oppdrettsfôr til torsk av råstoff både av marin og vegetabilisk opprinnelse. Vanlige vegetabiliske oljer å bruke i oppdrettsfôr er blant annet soya-, palme- og rapsolje (Olsen 2017). I dag produseres det om lag 100 millioner tonn planteoljer årlig, og gir et kostnadsbesparende fortrinn og lave pris sammenlignet med marint fett. I 2011 var prisen for planteoljer 10-25 % rimeligere enn marineråvarer, og prisdifferansen fortsetter å øke år for år. Med marine proteiner og lipidkilder som sin primærkilde til næring akkumulerer i vill torsk de gode n-3 LC-PUFA EPA og DHA i sitt depotfett (Olsen 2017). Planteoljer inneholder gjerne ikke n-3 LC-PUFA (20:3 n-3, 22:5 n-3 og 22:6 n-3), men ofte store mengder C18:2 n-6 (LA) og noe C18:3 n-3 (ALA). I motsetning til fiskeoljer som inneholder lite LA (< 2 %), finnes den i betydelige mengder i de vegetabiliske oljene som soya-, solsikke- og rapsolje. Fisk fôret med et fôr bestående av et høyt innhold av vegetabiliske oljer, gjerne et forhøyet innhold av LA, vil ha stort forhold mellom n-6 og n-3 (n-6/n-3) (Olsen 2017). Dette kan være problematisk blant annet fordi den høye skeivfordelingen kan være med å gjøre endringer i lipidmetabolismen

(Yang, Song et al. 2016). Tilstedeværelsen av LA i ekstrahert fett kan brukes som en indikator i hvilken grad fisken har fått tilført planteoljer gjennom kosten (Olsen 2017).

Observasjoner gjort av Mørkøre, Ytrestøyl et. al (2008) viste at det var store forskjeller på størrelse og fettinnhold i lever fra oppdrettstorsk kontra vill og indikerte at førsammensetning og fôringsregime har en vesentlig betydning på størrelse og sammensetning i torskeleveren (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008). En generell trend var at leverstørrelsen øke i takt med et økende fettinnhold i fôret, og at fisk som ble fôret med stor innblanding av planteoljer hadde et høyere innhold av typiske plantefettsyrer slik som LA, oljesyre (C18:1 n-9) og ALA i levervevet (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008).

1.2.4 Torskelever – et organ for stoffomsetning og energi

Torskens lever er et sentralt organ for omsetting av næringsstoffer. Her foregår det viktige prosesser som stoffomsetninger, produksjon av galle og lagring av fett og glykogen. Leveren er en særlig viktig ressurs blant torskefisk da de i all hovedsak lagrer all overskuddsenergi i organet, hvorav store deler av energien er lagret som TAG (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008). Ifølge matvaretabellen (2022) ligger rå lever fra villtorsk på et gjennomsnittlig fettinnhold på 59 gram fett per 100 gram matvare (Matvaretabellen 2022). Da torsken primært lagrer energien sin i levra er torskemuskelens lipidinnhold svært lav (< 0,8 %), og fungerer hovedsakelig som membranlipider (Olsen 2017). Som et metabolsk svært aktivt organ kan kvaliteten på leveren og dens fettsyresammensetning både påvirkes og styrkes gjennom valg av produksjonsregime og førsammensetning (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008).

Leveren hos oppdretts- og villtorsk skiller seg fra hverandre på størrelse og fettinnholdet. Lever hos oppdrettstorsk har blitt observert å utgjøre rundt 8-17 % av fiskens totalvekt, mens størrelsen på leveren hos villtorsken ofte lå rundt 3-8 % (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008, Jobling and Leknes 2010). I en rapport av Mørkøre et. al. (2008) viste resultater at oppdrettstorsk fôret med industrielt fiskefôr med et fettinnhold på 14-18 g fett/100 g fôr hadde en gjennomsnittlig lever som tilsvarte 8-14 % av fiskens totalvekt. Tilgang på mat og periode i livssyklus er gjerne faktorer som spiller en rolle i hvor stor leveren blir. Leveren hos villtorsk hatt god og kontinuerlig tilgang på næring kan gjerne være lik i størrelse som leveren til oppdrettstorsk. Hos en utgytt skrei derimot kan størrelsen på leveren utgjøre mindre enn 1 % av fiskens totalvekt (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008).

Fisken blir hva den spiser er et populært uttrykk med flere sannheter og viser seg gjeldende med at fettsyreprofilen i fiskens næringskilder og størrelse på leveren som påvirkes av tilgang på mat og uttrykket vises i sin sannhet (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008).

Lever fra oppdrettstorsk kan også gjenkjennes med problematikken med grønn misfarging som kan forekomme hos enkelte individer (se Figur 3, lever b). Hva som er årsaken til misfargingen er foreløpig ikke kjent, men er et fenomen som ikke er et utpreget blant villtorsk. Misfargingen påvirker dog ikke muligheten for å anvende råstoffer i produksjon av tran (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008).



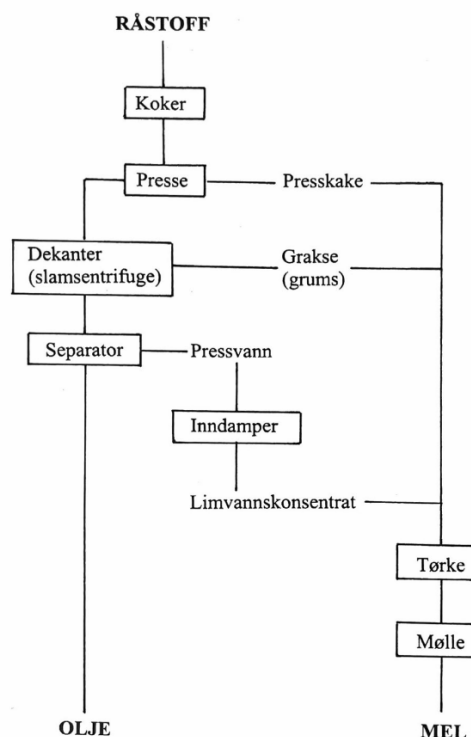
Figur 3 Eksempler som viser variasjon av torskelever, oppdrett kontra vill. a: Oppdrett, b: Oppdrett, c: Linefanget skrei. Hentet fra: Heide, Ageeva et al. (2022)

1.2.5 Tran – historie frem til dagens produksjon

Tran er en betegnelse på olje som fremstilles av lever fra torsk og annen hvitfisk. Av det totale innholdet av fettsyrer i tran er majoriteten umettede fettsyrer, og bare en andel mettede fettsyrer på 10-18 % (Pedersen 1983).

Tran fra torskefisk har siden middelalderen og frem til i dag blitt produsert og brukt til ulike formål. Historisk sett ble torskeleveren lagret i tønner hvor den naturlige nedbryting- og forråtnelsesprosessen løse opp levervevet og oljen skilte seg fra vevet og fløt opp til toppen (Pedersen 1983, Olsen 2017). Dette var en mørk olje med et illeluktende preg og gikk primært til industrielt bruk som smøreoljer eller maling (Lynum 2005, Olsen 2017). Senere oppdaget man at man kunne utvinne oljen av en betydelig bedre kvalitet ved å bruke mer moderne metoder for utfelling. I 1853 ble den første tranen med helsefremmende hensikt, kalt medisintan, produsert av apotekeren Peter Möller (Pedersen 1983). Möller introduserte sin

egen oppfinnelse og kalte metoden «*The steam process of preparing cod-liver oil*». Med å utsette leveren for damp skilte oljen seg effektivt fra vevet og man satt igjen med en blank olje med relativ god smak og lukt (Møller and Heyerdahl 1895, Olsen 2017). I dag er tran produksjonen i stadig utvikling og hvor produksjonen preges av strenge kvalitetskrav til både leVERRÅSTOFFET og valg av produksjonsmetode. Vanligvis utvinnes oljen etter Möllers metode med skånsom dampkoking med visse modifikasjoner (se flytskjema i Figur 4), men produksjonen kan variere fra produsent til produsent. Likt for alle er fokuset på å holde lav temperatur gjennom produksjon og lagring for å unngå igangsettingen av forringelsesprosesser, (Olsen 2017). Dette vil bli nærmere presentert senere.



Figur 4 Forenklet flytskjema som viser produksjonen av fiskemel og fiskeolje. Hentet fra Lynum (2005).

1.2.5.1 Vesterålen Marine Olje

Vesterålen Marine Olje (VMO) er en kommersiell aktør som produserer tran fra hvitfisk. Bedriften har siden 2005 produsert tranolje fra sine lokaler på Myre i Øksnes kommune. Produksjonen består av 11 faste ansatte som i 2022 produserte omtrent 1800 tonn tran. I 2022 ble VMO kjøpt opp av Orkla ASA og del av Orkla Health. Som bedrift brenner VMO for et godt råstoff, et bærekraftig hav og levende kystsamfunn og ønsker å ta vare på hele råstoffet å bygge kompetanse for fremtiden (Vesterålen Marine Olje U.å.)

1.2.1 Lipidkvalitet i tran

Ved matvareproduksjon er det ofte vanlig å snakke om produkter av god og dårlig kvalitet, men hva er egentlig kvalitet? Kvalitet som begrep kan være vanskelig å definere på en enkel måte, men Lylum og Rustad (1997) definerte begrepet blant annet som: *«den sum av egenskaper og kjennetegn et produkt har som vedrører dets evne til å tilfredsstille fastsatte krav eller behov...»* (Lylum and Rustad 1997). I denne oppgaven vil jeg knytte begrepet kvalitet opp mot lipidkvalitet og faktorer som kan påvirke trans fettprofil og helsefremmende egenskaper.

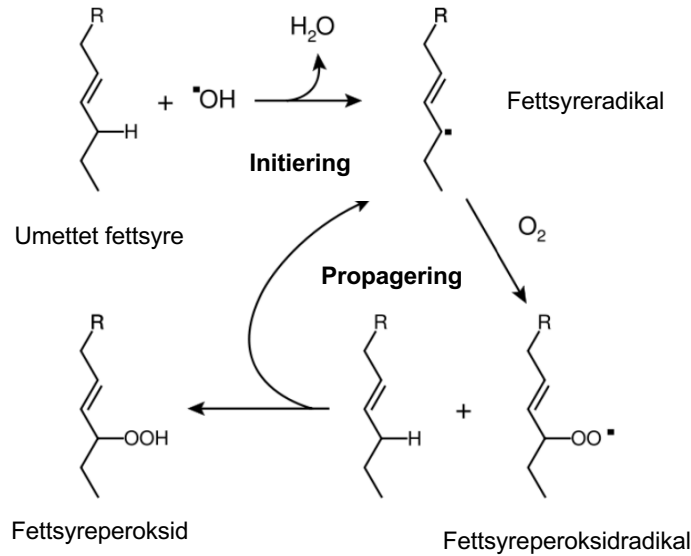
Hvilken kvalitet tran innehar etter endt produksjon er avhenger i stor grad av produksjonsprosess og råstoffkvaliteten på lever som blir brukt (Lylum 2005). I forskriften om kvalitet på fisk og fiskevarer står det forklart i §12 at framstilling av tran bare kan være av lever fra torsk, hyse og sei, eller en blanding av de tre. Lever som har gått i oppløsning skal ikke brukes til framstilling av tran. Fisk som blir betegnet som selvdød, harsk, syk eller lignende skal ikke gå til humant konsum (§14). Formålet med forskriften er å fremme god kvalitet på fisk og andre fiskevarer, og bidra til markedsadgang for norsk sjømat i utlandet (Forskrift om kvalitet på fisk og fiskevarer 2013). Med å slike forskrifter vil man oppleve en større kontroll på råstoffets som går inn i produksjonen og gir et godt utgangspunkt for god kvalitets tran (Lylum 2005). For ferdigraffinerte oljer finnes det forskjellige standarder som forteller om hva oljene skal inneholde av blant annet fettsyrer. Ifølge European Pharmacopoeia 9.0 (2018) skal raffinert tran fra oppdrettstorsk inneholde en samlet andel av EPA+DHA på 10-28 %. Oppdrettsfiske som går inn i den kommersielle tran produksjonen skal bare ha fått fôr med komponenter som er i trå med gjeldende regelverk og reguleringen innad i den Europeiske union (EU). For ferdigraffinert tran fra konvensjonell produksjon (villtorsk) ligger standarden på lavest grenseverdi for EPA på 7 % og øvrige på 16 %. For DHA ligger den laveste grenseverdien på 6 % og øvrige grense på 18 % (European Pharmacopoeia 2018).

Fiskeoljer er mer sårbar for oksidativ nedbryting sammenlignet med vegetabilsk eller annet animalsk fett. Årsaken for dette er fiskens høye andel LC-PUFA n-3 i fettvevet som er mer sårbar og enklere å ødelegge (Turner, McLean et al. 2006). Oksidativ nedbryting er et kritisk produksjonspunkt og har stor betydning for eventuell kvalitetsforringelse. Hos fiskelipider er det to reaksjoner som er av særlig betydning i denne sammenheng: oksidasjon og hydrolyse. Reaksjonene er et resultat av ulike sekundære stoffer som reagerer med hverandre og skaper

produkter som kan virke ubehagelig i form av ekkel smak og lukt (harsk) (Huss, Boerresen et al. 1998).

Lipidoksidasjon er en reaksjon som kan være katalysert av mikrobielle prosesser, enzymatiske prosesser og/eller ikke-enzymatiske prosesser (autooksidasjon). Sistnevnte er særlig aktuell ved produksjon av fisk og andre sjømatprodukter grunnet fiskelipidenes høye innhold av umettet fett. Her ødelegges dobbeltbindingene av den katalyserte autooksidasjonen og starter dannelsen av hydrogenperoksider (Lynum and Rustad 1997). Den tradisjonelle forklaringen av oksidasjonsprosessen er at primærproduktene i fett brytes ned til hydroperoksider og danner sekundære harskningsprodukter som blant annet aldehyder, ketoner, organiske syrer og andre hydrokarboner (Pike and O'Keefe 2017). Ved oppkuttingen av de lange fettsyrekjedene til mindre molekyler, som lett kan angripes av mikroorganismer, fører til at det harske fett er lettere utsatt for bakterievekst som er med å forringe produktets kvalitet ytterligere (Lynum and Rustad 1997).

Oksidasjon av fett og oljer som tran påvirkes hovedsakelig av en energitilførsel som starter og katalyserer prosessen. Dette kan være energi i form av lys, varme, sammensetning av fettsyrer, oksygen og mindre forbindelser som: metaller, pigmenter, PL, frie fettsyrer (FFA), MAG og DAG, termisk oksiderte forbindelser og antioksidanter. Historisk sett har det blitt gjort gode tiltak for å forbedre den oksidative stabiliteten til oljer gjennom systematiske observasjoner av effekten av faktorer. Tiltak som kan tas til betraktning for å forebygge eller sinke forringelsesprosessen kan være å holde lav temperatur, utelukke lys, oksygen og fjerne metaller og andre oksiderte forbindelser fra produktet. Det kan også virke positivt å bruke passende konsentrasjoner av antioksidanter for å sinke/forhindre en fortgang i oksidasjonen (Choe and Min 2006). Oksidasjons prosessen består av flere steg, hvorav reaksjonen starter med en initiering og propagering (se Figur 5).

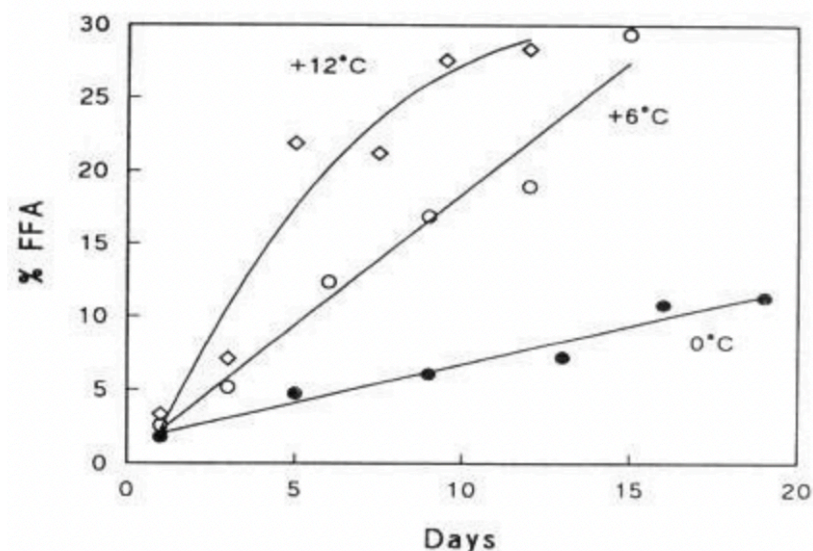


Figur 5 Oksidasjon av en umettet fettsyre vist med i de første stegene i en oksidasjonsprosess, initiering og propagering. Modifisert fra Olsen (2017).

I initieringsfasen reagerer et hydrogenatom i en umettet fettsyre med et radikal og danner et fettsyreradikal. Fettsyreradikalet er en særlig reaktiv del og vil sammen med oksygen danne et fettsyreperoksidradikal. Ved en reaksjon med en ny fettsyre vil fettsyreperoksidradikalet danne et nytt fettsyreperoksid. På dette punktet er propageringen, steg to i oksidasjonsprosessen, et faktum, og fettsyreperoksider vil starte å danne primære harskningsprodukter. Dette er ikke harskningsprodukter som oppleves med en ubehagelig lukt eller smak, men vil være ustabile og lett kunne brytes ned til nye fettsyreradikaler og fettsyrehydroksyradikaler. Disse fettsyreradikalene kan fragmenteres til mindre molekyler som: alkohol, aldehyder og ketoner, og vil fungere som sekundære harskningsprodukter. Dette er produkter som gir den harskepregede vonde smaken og lukt. Mengden fettsyreperoksider og oksidasjonsprodukter vil øke eksponentielt helt frem de starter å reagere med seg selv og går inn i oksidasjonens slutfase: termineringsfasen (Olsen 2017).

Oksidasjonsprosessen vil ikke bare kunne gjøre tranen harsk, men også ødelegge de essensielle fettsyrene EPA+DHA å produsere giftige forbindelser. Oksidasjon av tranen er derfor en svært viktig faktor å holde i sjakk eller sinke så mye som mulig grunnet dens ernæringsmessige kvalitet og eventuell toksisitet (Choe and Min 2006). Heldigvis vil mat med en høy harskhetsgrad som kan virke skadelig være av en så ubehagelig smak og lukt at det blir vanskelig å frivillig konsumere produktet (Olsen 2017). Kosttilskudd i kapselform kan dog være problematisk i denne sammenheng. Siden tran-kapsler skal svelges hele, kan produktet

inneholde for høye nivåer av harskningsprodukter uten at konsumenten nødvendigvis registrerer dette. Slike harskningsprodukter kan forringe kosttilskuddet å ødelegge tilskuddets helsefremmende effekt og i verste fall gjøre konsumenten syk (Turner, McLean et al. 2006). Hydrolyse av fett fører til at esterbindingene som binder fettsyrene til glyserol brytes og danner FFA. Dette er mest gjeldende for næringsmidler som inneholder kortkjedede og flyktige fettsyrer, og er ikke like problematisk hos sjømat. Frie fettsyrer oppstår dog i betydelige mengder ved lagring av diverse næringsmidler hvor enzymer eller andre mikroorganismer danner FFA fra TAG og andre membranlipider i den naturlige nedbrytningsprosessen post mortem (Olsen 2017). Dette er et større problem blant usløyet fisk som følge av eksponering for naturlige fordøyelsesenzymer eller lignende. Her skjer det en spalting av TAG i depotfettet av enzymet triglyseridlipase som opprinnelig stammer fra fiskens fordøyelseskanal eller ved utskilling fra mikroorganismer i innvollene. Denne enzymkatalyserte dannelsen av FFA er temperaturavhengig og økt temperatur gir økt mengde FFA (se Figur 6) (Huss, Boerresen et al. 1998). For at tran kan selges og anvendes som kosttilskudd må produktet renses. Raffineringsprosessen har som hensikt å fjerne eventuelle kvalitetsforringende produkter, men kan også redusere innholdet av de gode helsefremmende FA (EPA+DHA). Næringsmidlet vil da blant annet kunne oppleve å miste noe av dens antiinflammatoriske effekt mm. (Larsen, Stormo et al. 2010).



Figur 6 Dannelse av frie fettsyrer hos lagret sild ved ulike temperaturer Hentet fra: Huss, Boerresen et al. (1998).

2 Materiale og metode

2.1 Materiale

Råstoffet brukt denne oppgaven var lever og råtran fra arten atlantisk torsk (*Gadus morhua*). Undersøkt lever fra oppdrettstorsk kom fra to ulike leverandører, Vesterålen Havbruk AS (VHP) (n=5) og Nofima (n=6). Lever fra villskrei ble hentet av VMO på Myre fiskemottak (n=5). Ulike batcher råtran produsert av VMO og en batch industrielt oppdrettsfôr for torsk (ukjent produsent) ble også undersøkt.

2.1.1 Leverprøver

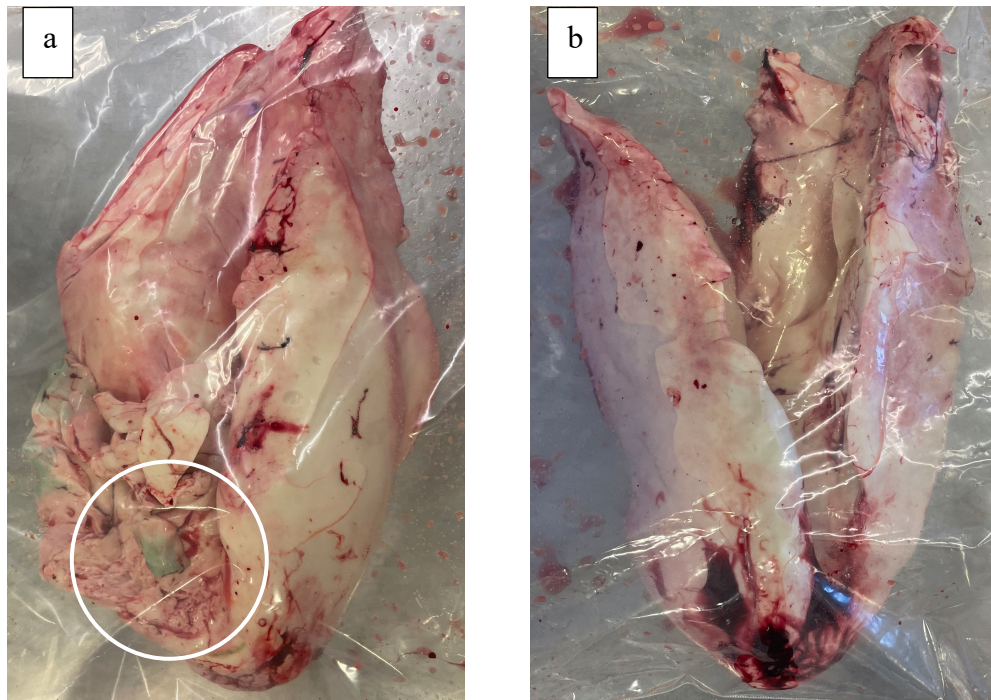
2.1.1.1 Nofima

Oppdrettstorsken fra Nofima var en del av Nofimas avlsprogram ved deres sjøanlegg for torsk på Ringvassøya utenfor Tromsø. Fisken var såkalt «B-fisk» som av ulike grunner ble sortert ut av avls-arbeidet. Torsken ble slaktet 10. oktober 2022, målt og veid før leveren ble tatt ut og veid (se Tabell 1). Leveren ble lagt på is og transportert til Norges Fiskerihøgskole, Tromsø før den ble homogenisert og fordelt i merkede prøveposer. Prøvene ble lagret ved -20°C frem til videre analyser

Tabell 1 Oversikt over rundvekt, levervekt og lengde på fisken levert fra Nofima (n=6) som ble brukt i undersøkelsene

Fisk	Rundvekt (kg)	Levervekt (g)	Lengde (cm)
1	6,3	1178	-
2	4	708	72,5
3	6,5	851	75
4	5,4	926	77
5	4,8	751	72,5
6	6,6	980	78

Den undersøkte torsken ble ikke bløgget ved slakt og var ikke ferdig utblødd når leveren ble fjernet. Overflødig blod ble skylt bort med vann før homogenisering, men enkelte klumper med koagulert blod ble med i prøven (se Figur 7, lever b). Hos to individer ble det observert områder med grønn misfarging (se Figur 7, lever a merket område).



Figur 7 Lever fra Nofimas oppdrettstorsk. A: lever 4, B: lever 5.

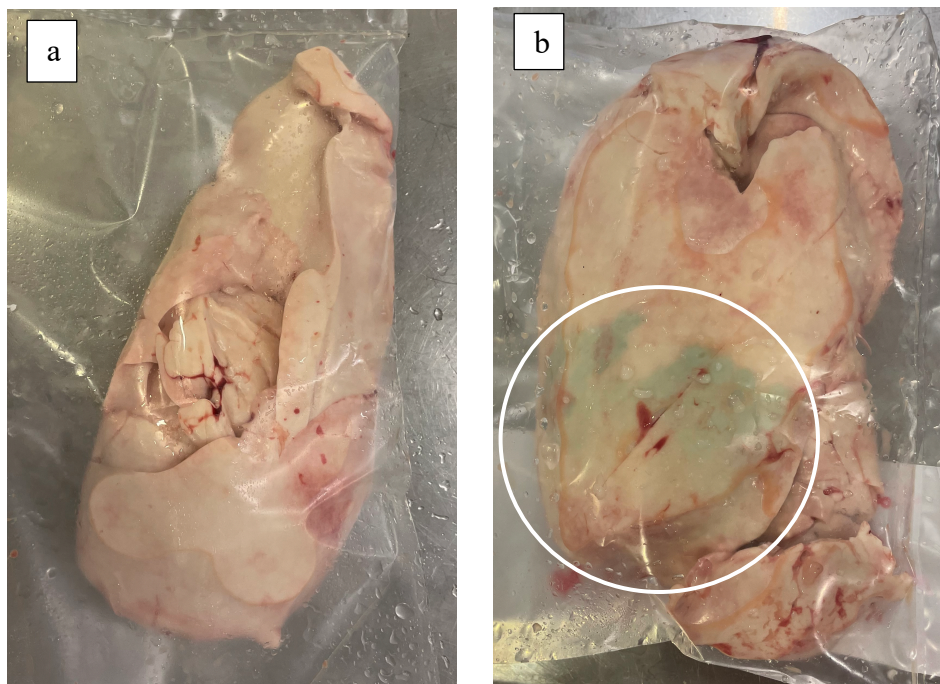
2.1.1.2 Vesterålen Havbruk

Oppdrettstorsk fra Vesterålen Havbruk AS ble slaktet 24. november 2022 etter endt produksjonssyklus. Torsken ble bløgget, veid rund og målt før leveren ble tatt ut og veid (se Tabell 2) på Vesterålen Havbruks slakteri for torsk i Bø kommune, Vesterålen. Leveren ble lagt på is og lagret kjølig (rundt 4°C) frem til 25. november 2022 før videre transport til Tromsø med fly.

Tabell 2 Oversikt over rundvekt (men bløgget), levervekt og lengde på fisken donert fra Vesterålen Havbruk (n=5) som ble brukt i undersøkelsene.

Fisk	Rundvekt (kg)	Levervekt (g)	Lengde (cm)
1	2,6	373	61
2	2,9	385	61
3	1,7	175	54
4	2,1	244	57
5	2,4	281	56

Ved fjerning av leveren var torskene ferdig utblødd og leveren hadde liten/ingen antydninger til blod (se Figur 8, lever a), men overflødig veske ble skylt bort med vann før homogenisering. Levermaterialet ble fordelt i merkede prøveposer og lagt til lagring på -20°C samme dag. Hos to individer ble det observert områder med grønn misfarging (se Figur 8, lever b merket område).



Figur 8 Lever fra oppdrettstorsk fra Vesterålen Havbruk. A: lever 1, B: lever 4.

2.1.1.3 Skrei lever

Lever fra villskrei ble anskaffet av Vesterålen Marine olje, fisket i området utenfor Vesterålen, og levert til Myre Fiskemottak i Øksnes kommune 11. mars, 2023. Torsken ble avlivet og bløgget ved fangst, og sløyd på Myre Fiskemottak ved levering. Informasjon om rundvekten og lengde til enkeltindividene den undersøkte leveren var fra var ikke mulig å innhente. Etter at leveren ble hentet fra fiskemottaket ble leveren utsatt for to reisedøgn (grunnet uvær og kansellert fly) lagret på ukjent temperatur uten is rundt materialet før pakken ankom Tromsø. Levervekten ble notert før videre homogenisering og overført til merkede prøveposer før lagt på frys (-20°C) (se Tabell 3).

Tabell 3 Oversikt over levervekt til undersøkt skei: antall og vekt (g) (n=5)

Lever	Levervekt (g)
1	529,3
2	381,5
3	112,5
4	108,3
5	75,9

2.1.2 Tran fra Vesterålen Marine Olje

To ulike batcher råtran utvinnet fra torskelever levert av Vesterålen Marine Olje. De to batchene råtran var:

Råolje batch A: Råolje produsert av oppdrettstorsk fra Vesterålen Havbruk

Råolje batch B: Råolje produsert av skrei fisket i tidsrommet mars 2023.

Ferdigprodusert råtran ble transportert via post i mørke, merkede glassflasker. Råtranen utvinnet fra VHP-lever ble produsert i uke 47, 2022 og ankom Tromsø 30. november 2022. Råtranen utvinnet av vill torskelever ble produsert i uke 8 og ankom Tromsø 1. mars, 2023. Flaskene ble lagret ved 4°C før og etter åpning.

2.1.3 Industrielt oppdrettsfôr til torsk

En batch industrielt oppdrettsfôr ble hentet fra Nofimas sjøanlegg for torsk 10. oktober 2022, og var brukt fôrkilde til undersøkt Nofima-torsk i ukjent periode før slakt. Ingen ytterligere detaljer som produsent, resept, lipidinnhold og fettsyresammensetning til fôret var tilgjengelig. Fôret ble overført til merkede prøveposer og lagret ved -20°C til videre analyser.

2.1.4 Kjemikalier

Kjemikaliene som ble brukt i undersøkelser i forbindelse med denne masteroppgaven var alle av pro analysis kvalitet. Heptan (99 %), diklormetan, isooktan (LC-klasse), etylacetat (LC-klasse) var fra VWR Chemicals (Randor, PA, USA), natriumsulfat, kobbersulfat, pentahydrat og orto-fosfosyre fra Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, USA), svovelsyre; H₂SO₄ (95-97 %) fra Honeywell Fluka (Charlotte, NC, USA). Metanol (100,0 %) og natriumklorid var fra VWR International S.A.S. (Rador, Pennsylvania, USA). Eddiksyre (99,8 %), kloroform (99,0-99,4 %) var produsert av Honeywell Fluka (Muskegon, MI, USA).

Fettsyrestandardene som ble brukt var GLC411 og GLC502 fra Nu-Check Prep, Inc., Elysian, MN, USA. Fettklassestandardene brukt ved HPLC- og TLC-analyser var fra Larodan AB, Solna, Sverige: Triacylglyserol (TAG; triolein), diacylglyserol (DAG; diolein), monoacylglyserol (MAG; monoolein) og 18-5 A (PL, Kolesterol, TAG, voks-og kolesterylester) fra Nu-Check Prep, Inc., Elysian, MN, USA, og heptadekansyre (C17:0) fra Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) ble brukt som fri fettsyre (FFA) og som internstandard (IS) ved FAME.

2.2 Metode

2.2.1 Bestemmelse av fettinnhold med etylacetatmetoden

Bestemmelse av prøvematerialets fettinnhold ble primært analysert med metoden for lipidekstraksjon med bruk av etylacetat som forklart av Norsk Standard (1994) med modifikasjoner (etylacetatmetode I). Analysen ble gjennomført i tre paralleller av hver prøve to ganger: en med og en uten tilsatt internstandard.

Tilnærmet 2 g fryst homogenisert torskelever ble veid i merkede 50 ml sentrifugerør. I sentrifugerørene ble 4 g natriumsulfat (Na_2SO_4) tilsatt og blandet godt inn i leverprøven. Videre ble 20 ml etylacetat og IS (C17:0 løst i etylacetat til en konsentrasjon på 10 mg/ml) tilsatt røret før prøvene ble satt i en Multi Reax ristemaskin (Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach, Tyskland) i avtrekkskap i 60 minutter. Prøvene ble så sentrifugert i en Heraeus Multifuge sentrifugemaskin 1 S_R (Thermo Scientific, Osterode, Tyskland) på 10 000 x g ved 20°C i 10 minutter. Av prøveløsningen ble 3 ml pipettert videre i forhåndsveide 4 ml glassrør med kork. Prøvene ble til slutt dampet tørr under nitrogengass (N_2 -gass) (Linde Gas AS, Oslo, Norge) i en Sample Concentrator SBHCONC/1 nitrogeninndampemaskin (Stuart Scientific, Staffordshire, England) til tørrhet. Glassrørene ble veid på nytt og prøvens fettinnhold (gram per. 100 gram) ble beregnet etter formel 1:

Formel 1

$$\% \text{ Fett} = \left(\frac{\text{Glassrør med innhold} - \text{Glassrør uten innhold} * \left(\frac{20}{3}\right)}{\text{Innveid mengde prøve}} \right) * 100$$

Tilsvarende metode ble brukt med ulike mengder prøvemateriale: Etylacetatmetode II (4 g lever, 8 g natriumsulfat, 20 ml etylacetat) og etylacetatmetode III (1 g lever, 2 g Na_2SO og 20 ml etylacetat (etylacetatmetode III). Sett bort fra nevnte modifikasjoner ble metoden fulgt likt som beskrevet. Ved lipidekstraksjon av industrielt oppdrettsfôr til torsk ble etylacetatmetode II anvendt.

Inndampede prøver ble veid og lagt på frys (-20 °C), før videre bruk til blant annet metylering, tynnsjikt- og høypresisjonsvæskrokromatografi.

2.2.2 Bestemmelse av fettinnhold med Folchs-metode

Bestemmelse av levermaterialets fettinnhold ble forsøkt analysert med metoden for lipidekstraksjon av Folchs et. al (1957) med modifikasjoner. Analysen ble gjennomført i tre paralleller på Nofima-lever 1. Tilnærmet 1 g fryst homogenisert torskelever ble veid og overført i merkede 15 ml sentrifugerør. I sentrifugerørene ble 19 ml Diklormetan/metanol (DCM:MeOH) og 1 ml IS løst ut i DCM:MeOH til en konsentrasjon på 10 mg/ml tilsatt. Prøvene sto så til risting i en Multi Reax ristemaskin (Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach, Tyskland) i avtrekkskap i ca. 30 minutter, før prøveløsningen ble filtrert gjennom et folderpapir over i nye sentrifugerør. Videre ble 4 ml 0,9 % NaCl tilsatt i sentrifugerørene og blandet godt før løsningen ble sentrifugert i en Heraeus Multifuge sentrifugemaskin 1 S_R (Thermo Scientific, Osterode, Tyskland) på 2000 x g ved 20°C i 10 minutter. Den øverste fasen (bestående av vann og mentol) ble fjernet, og diklormetan/lipidfasen ble pipettert over i forhåndsveide glassrør og dampet tørr under N₂-gass (Linde Gas AS, Oslo, Norge) i en Sample Concentrator SBHCONC/1 nitrogenindampemaskin (Stuart Scientific, Staffordshire, England). Glassrørene ble veid på nytt og prøvenes fettinnhold (gram per. 100 gram) ble beregnet etter formel 2:

Formel 2

$$\text{Fett \%} = \left(\frac{\text{Glassrør med innhold} - \text{Glassrør uten innhold}}{\text{Innveid mengde prøve}} \right) * 100$$

Bestemmelsen av levermaterialets fettinnhold ble også forsøkt analysert med Folchs-metode (1957) med modifikasjonen: dobbel sentrifugering. Tilnærmet 0,5 g fryst homogenisert torskelever ble veid og overført i merkede 15 ml sentrifugerør. I sentrifugerørene ble 8,25 ml DCM:MeOH og 1,75 ml IS løst ut i DCM:MeOH til en konsentrasjon på [10 mg/ml] tilsatt. Prøvene ble så ristet i en Multi Reax ristemaskin (Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach, Tyskland) i avtrekkskap i ca. 25 minutter. Løsningen ble så sentrifugert i en Heraeus Multifuge sentrifugemaskin 1 S_R (Thermo Scientific, Osterode, Tyskland) på 15 000 x g (rcf) ved 20°C i 10 minutter, før væskefasen ble helt over i nye 15 ml sentrifugerør. Videre ble 2,5 ml 0,9 % NaCl tilsatt løsningen og blandet godt. Prøvene ble igjen sentrifugert, denne gang på 4500 x g ved 20°C i 10 minutter. Den øverste vann/metanol-fasen ble fjernet før diklormetan/lipid-fasen ble overført til forhåndsveide glassrør og dampet tørr under N₂-gass

(Linde Gas AS, Oslo, Norge) i en Sample Concentrator SBHCONC/1 nitrogenindampemaskin (Stuart Scientific, Staffordshire, England). Glassrørene ble veid på nytt og prøvenes fettinnhold (gram per. 100 gram) ble beregnet etter formel 2.

2.2.3 Metylering og analyse av fettsyresammensetning

Metyleringen ble utført etter metoden utviklet av Christie (1989) for gasskromatografisk kvantifisering av fettsyremetylestere (FAME), med modifikasjoner. Ekstrahert fett og råtran ble løst ut i etylacetat til en konsentrasjon på 10 mg/ml. Av denne løsningen ble 100 µl prøve ble overført i glassrør (Duran) sammen med 0,9 ml diklormetan og 2 ml 2 % H₂SO₄ i metanol. Rørene ble overført til en Drybath Stdrd varmeblokk (Thermo Scientific Osterorde, Tyskland) i 60 minutter på ca. 100°C i avtrekkskap. Videre ble 3,5 ml heptan og 3,5 ml 5 % NaCl tilsatt før rørene ble blandet godt. Den øverste fasen med lipider og heptan ble pipettert over i nye 8 ml glassrør før de dampet tørr under N₂-gass (Linde Gas AS, Oslo, Norge) i en Sample Concentrator SBHCONC/1 nitrogenindampemaskin (Stuart Scientific, Staffordshire, England). Avslutningsvis ble de tørre prøvene løst ut i 100 µl heptan og overført i analyserør for videre analyse i en gasskromatograf (GC). Gasskromatografen brukt i denne oppgaven var en Aligent 6890N gasskromatograf, Aligent Technologies, Santa Clara, CA, USA, med en 7683B autoinjektor og flammeionisasjonsdetektor (FID), og helium ble brukt som bæregass. Fettsyrene ble identifiseres etter fettsyrens ulike og unike retensjonstid gjennom en Varian CP7419 kapillærkolonne (50 m x 250 µm x 0,25 nominal) på en temperatur på 240°C ved injektoren og 250°C ved detektoren. Retensjonstiden ble deretter sammenlignet med kjente standarder for identifisering av fettsyrer. Andelen enkelte fettsyrer ble bestemt som arealprosent (Formel 3) og mengde mg fettsyre per gram prøve (Formel 4).

Formel 3

$$\text{Sammensetning (\%)} = \frac{\text{Arealet til den enkelte fettsyren i kromatogrammet}}{\text{Totale arealet av alle fettsyretoppene}}$$

Formel 4

$$\text{Mengde fettsyre (mg) per g prøve} = \left(\frac{\text{Areal topp FA}}{\text{Areal topp IS}} * \frac{\text{Tilsatt IS}}{\text{Vekt prøve}} \right) * 1000 \text{ mg}$$

2.2.4 Bestemmelse av fettklasser

2.2.4.1 Tynnsjikt-kromatografi (TLC)

Tynnsjikt-kromatografi (TLC) er kvalitativ kromatisk metode som brukes for å separere ulike fettklasser i en prøve. Ekstrahert fett fra lever og råtran ble løst ut i etylacetat til en konsentrasjon på [25 mg/ml]. Høy-ytelses tynnsjikt-plater (HP-TLC) (Silica fel 60, Merck, Darmstadt, Tyskland) ble markert ca. 1 cm fra bunnen for å vise frem til hvor prøvene og kjente standarder skulle avsettes. 2 µl fra hver prøve ble avsatt på platen med kapillarrør, før platen videre ble plassert oppreist i et elueringskar fylt med 10 ml elueringsvæske bestående av heptan:dietyler:eddiksyre (70:30:1). Elueringsvæsken fikk trekke inn i platen til væsken var synlig opp til platens siste centimeter fra toppen. Videre ble platen tatt ut av karet, lufttørket før den ble sprayet med en kobberløsning (10 % kobbersulfat og 8 % fosforsyre i dH₂O). Etterfulgt av 10 min lufttørring ble platen satt i varmeskap (Termaks, Labolytics AS, Trondheim, Norge) på ca. 60°C før satt opp til 180°C.

2.2.4.2 Høyoppløselig væske-kromatografi (HPLC)

Høyoppløselig væske-kromatografi (HPLC) er en kvantitativ kromatisk metode som brukes for fettklasse separasjon og klassifisering. Fettklasser i fett ekstrahert fra torskelever ble analysert etter en metode basert på Abreu et al. (2017).

Fett ekstrahert fra torskelever ble fortynnet med mobilfase A (isooktan/etylacetat; 99.8:0.2)/kloroform (4:1, v/v) til konsentrasjonene [0,4 mg/ml] og [20 mg/ml] i 1,5 ml prøverør. Prøvene ble analysert ble utført med en Waters e2795 separasjonsmodul ved bruk av en Supelcobil LC-SI (25 cm x 4,6 mm) kolonne (Supelco HPLC produkter, Bellefonte, PA, USA) ved en arbeidstemperatur på 40°C og 40 ml injeksjonsvolum. Lipidene ble kvantifisert ved å bruke en Waters 2424 ELS-detektor med følgende innstillinger: forsterkning 100, nebulizer 30 %, oppvarmingseffektnivå, driftrør 45°C og trykk på 40 PSI (Dalheim 2021). Kjoretiden for prøvene var 41 minutter og HPLC'ens gradientprofil presenteres i Tabell 4.

Tabell 4 Gradientprofil for HPLC-programmet. Mobilfase A = isooktan/etylacetat (99,8:0,2, v/v), mobilfase B = acetone/etylacetat (2:1) 0,15 % eddiksyre og mobilfase C = isopropanol/H₂O (85:15).

Tid (min)	Mobilfase A (%)	Mobilfase B (%)	Mobilfase C (%)	Flow (ml/min)
0,0	100	0	0	1,5
1,5	100	0	0	1,5
1,6	97	3	0	1,5
6,0	94	6	0	1,5
8,0	50	50	0	1,5
8,1	46	39	15	1,5
14,0	43	30	27	1,5
14,1	43	30	27	1,5
18,0	40	0	60	1,5
23,0	40	0	60	1,5
24,0	0	100	0	1,5
25,0	0	100	0	2,0
27,0	0	100	0	2,0
27,1	100	0	0	2,0
36,0	100	0	0	2,0
36,1	100	0	0	1,5

2.2.5 Bestemmelse av oppdrettstorskens hepatosomatisk indeks

Undersøkt oppdrettstorsk leverindeks (hepatosomatisk indeks; HSI %) ble regnet ut ved bruk av Formel 5.

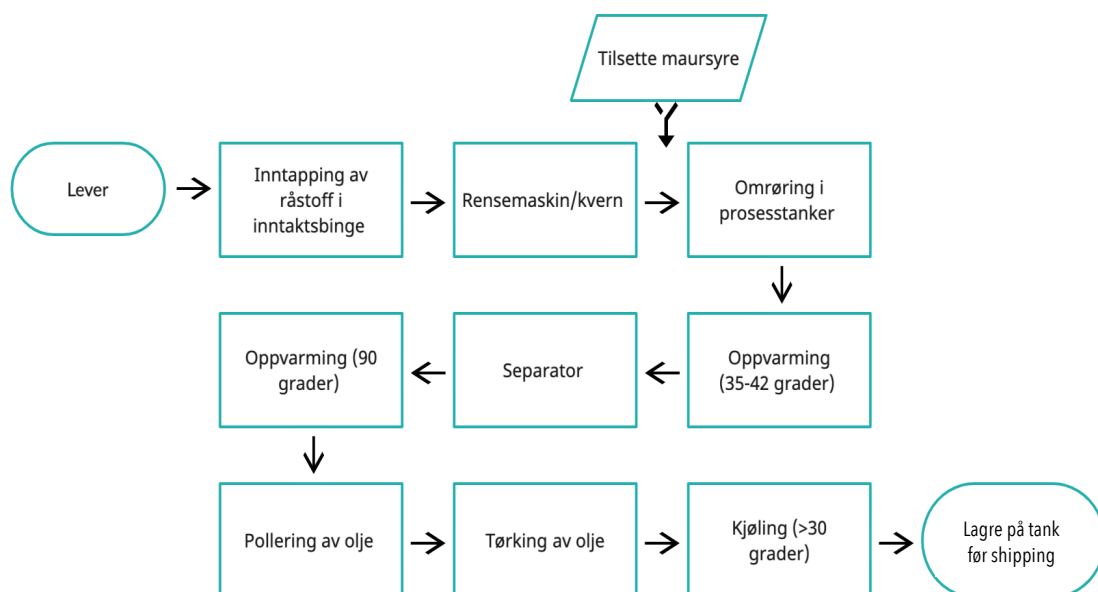
Formel 5

$$HSI \% = \frac{\text{Levervekt (g)}}{\text{Rund vekt (g)}} * 100$$

2.2.6 Kommersiell produksjon av råtran

For kommersiell produksjon av råtran finnes det en rekke ulike produksjonsmetoder. Råtranen undersøkt i forbindelse med dette arbeidet ble produsert i henhold til metoden utviklet av VMO med isoelektrisk utfelling. I denne metoden bruker man syre til fordel for varme for å skille ut proteinene og fett fra torskelever. Dette er en svært effektiv metode som både reduserer energikostnader og får en bedre råstoffutnyttelse (Olsen 2023).

Produksjonen (som vist ved Figur 9) starter med tilførsel av leverråstoff i en felles inntaksbinge. Leveren går videre inn i en kvern og blir utsatt for en mekanisk rensking og renses for uønskede partikler større enn 5 mm. Når leveren er kvernet går massen videre inn i en prosesstanke og tilsatt maursyre under omrøring. Her skjer en utfelling av protein og fett ved å senke pH-verdien ned til det isoelektriske punktet, og massen blir mer flytende og får en ny farge. Massen blir så varmet opp til en temperatur mellom 35-42°C, før den videre får inn i en sand og steinfelle hvor resterende partikler mindre enn 5 mm blir filtrert ut. Videre går massen igjennom en separator hvor olje, graske og andre faste stoffer blir separert fra levermassen. Oljen går videre til oppvarming hvor temperaturen øker til 90°C, poleres og filtreres en siste gang for fjerning av eventuelle vann og proteinrester. Avslutningsvis tørkes oljen for eventuelle vandamprester fra produksjon og avkjølt. Den ferdige råtranen lagres på tank med kontinuerlig tilførsel av nitrogen for trengsel av oksygen i avvente av videre shipping.



Figur 9 Forenklet flytskjema over Vesterålen Marine Oljes produksjon av råtran.

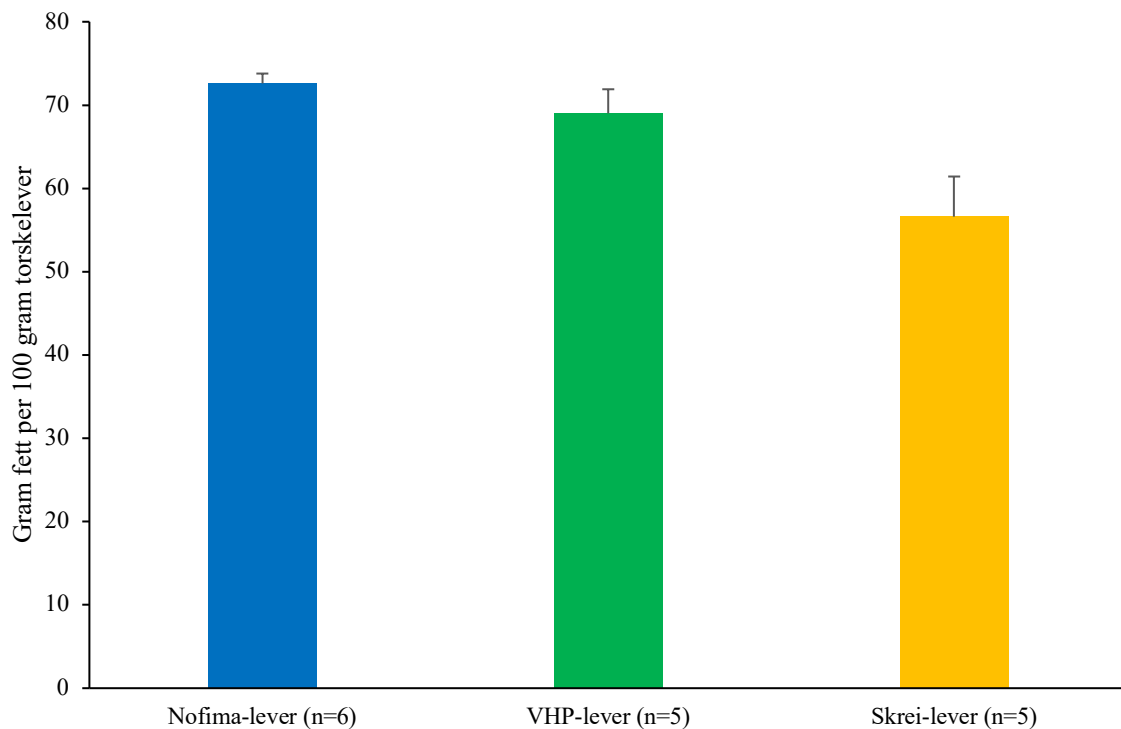
2.2.7 Labskala produksjon av råtran fra torskelever

30 g fryst homogenisert lever ble tint og overført til merkede 50 ml sentrifugerør (Falconrør). Rørene ble «kokt» i vannbad rundt 90°C i totalt 15 minutter. Hvert femte minutt ble rørene tatt opp og ristet godt. Rørene ble deretter sentrifugert i en Heraeus Multifuge sentrifugemaskin 1 S_R (Thermo Scientific, Osterode, Tyskland) på 15 000 xg i 15 minutter. Oljeinnholdet i rørene ble pipettert ut, filtrert ved behov, og avslutningsvis overført i nye forhåndsveide rør. Denne råtranen ble brukt som et sammenligningsgrunnlag for råtranen produsert av VMO produsert ved isoelektrisk utfelling mtp. fettsyreprofil og fettclassesammensetning, og opp mot sammensetningen i undersøkt rå levermateriale.

3 Resultater

3.1 Fettinnhold i torskelever

Fettinnholdet (ekstrahert med etylacetatmetoden) var høyere i lever fra oppdrettstorsk sammenlignet med vill skrei. Resultatene viste at det gjennomsnittlige fettinnhold på oppdrettstorsk fra Nofima var $72,6 \pm 1,2$ g fett/100 g lever, $68,9 \pm 2,9$ g fett /100 g lever fra VHP-oppdrettstorsk og $56,6 \pm 4,8$ g fett/100 g lever fra skrei (se Figur 10).



Figur 10 Gjennomsnittlig fettinnhold (g/100 g lever) i lever fra oppdrettstorsk fra to ulike leverandører: Nofima (n=6) og VHP (n=5), og skrei (n=5). Resultatene viser et gjennomsnittlig fettinnhold på $72,6 \pm 1,2$ g/100 g lever (N), $68,9 \pm 2,9$ g/100g (VHP) og $56,6 \pm 4,8$ g/100 g lever (skrei)

3.2 Sammenligning av metoder for fett ekstraksjon

Ved utprøving av hvilken metode for fett ekstraksjon som skulle brukes gjennom oppgaven ble ulike metoder forsøkt på prøvemateriale fra Nofima-lever 1. Her ble metoden for etylacetat I, II, III, Folchs og «dobbel»-Folchs utført (se Tabell 5).

Etylacetatmetode II viste å være metoden for lipide ekstraksjon som ekstraherte ut mest fett fra torsk leveren med lavest standardavvik ($75,6 \pm 0,6$ gram fett/100 gram lever) sammenlignet med etylacetatmetode I ($64,8 \pm 0,7$ gram fett/100 gram lever), etylacetatmetode III ($74,5 \pm 1,3$ gram fett/100 gram lever), Folchs ($72,6 \pm 1,5$ fett/100 gram lever) og dobbel-ekstraksjon med Folchs ($69,7 \pm 3,8$ gram fett/100 gram lever)

Tabell 5 Sammenligning av ekstraksjonsmetode; ekstraksjons med etylacetat og Folchs-metode med ulike modifikasjoner gjennomført på lever fra Nofima-torsk 1,

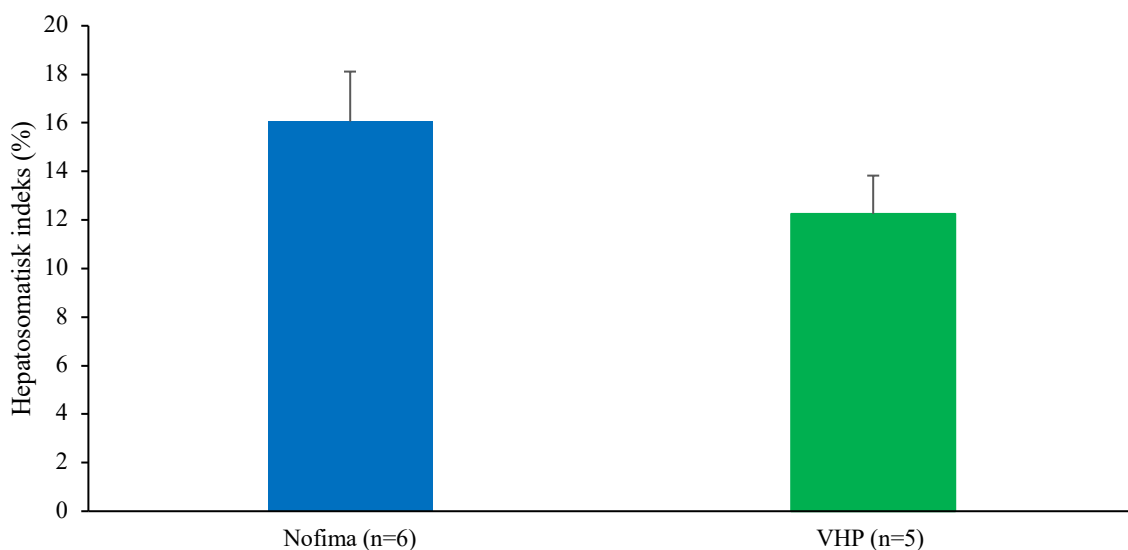
Ekstraksjonsmetode	Fettinnhold (gram fett/100 gram lever)
Etylacetat I (2 g lever, 4 g Na ₂ SO ₄ , 20 ml løsemiddel)	$75,6 \pm 0,6$
Etylacetat II (4 g lever, 8 g Na ₂ SO ₄ , 20 ml løsemiddel)	$64,8 \pm 0,7$
Etylacetat III (1 g lever, 2 g Na ₂ SO ₄ , 20 ml løsemiddel)	$74,5 \pm 1,3$
Folchs	$72,6 \pm 1,5$
Folchs med dobbel sentrifugering	$69,7 \pm 3,8$

3.3 Bestemmelse av undersøkt oppdrettstorsks hepatosomatiske indeks

Det var en god del variasjon i størrelse blant undersøkt oppdrettstorsk. Torsken produsert av Nofima (n=6) hadde en gjennomsnittlig rundvekt på 5,6 kg og levervekt på 899 g. Torsken levert av VHP (n=5) hadde en gjennomsnittlig rundvekt på 2,4 kg og levervekt på 292 g. Dette ga en gjennomsnittlig HSI% på 16,1 % og 12,3 % (se Tabell 6 og Figur 11):

Tabell 6 Oppdrettstorskens (Nofima og VHP) rundvekt (kg), levervekt (g) og HSI%

Fisk	Nofima (n=6)			VHP (n=5)		
	Rundvekt (kg)	Levervekt (g)	HSI%	Rundvekt (kg)	Levervekt (g)	HSI%
1	6,3	1178	18,7	2,6	373	14,4
2	4	708	17,7	2,9	385	13,3
3	6,5	851	13,1	1,7	175	10,3
4	5,4	926	17,2	2,1	244	11,6
5	4,8	751	15,6	2,4	281	11,7
6	6,6	980	14,9	-	-	-
Gj.sn.	5,6	899	16,1	2,3	292	12,3



Figur 11 Sammenligning av gjennomsnittlig hepatosomatisk indeks for oppdrettstorsk fra Nofima (n=6) og fra VHP (n=5)

3.4 Fettsyresammensetning i torskelever

Resultater fra analysene av torskeleverens fettsyresammensetning er presentert i Tabell 7. Nofima-lever inneholdt 27,14 % n-3 LC-PUFA, hvorav andelen EPA og DHA var henholdsvis 6,6 % og 10,1 %. Dette var relativt likt i VHP-lever hvor andelen n-3 LC-PUFA var 16,6 %, hvorav andelen EPA og DHA utgjorde 7,1 % og 8,5 %. I lever av vill skrei utgjorde andelen n-3 LC-PUFA 24,6 %, hvor andelen EPA og DHA utgjorde 9,8 og 13,4 %. Oljesyre (oleinsyre) C18:1 n-9 var den dominerende fettsyren i lever fra alle torsketypene, altså både fra Nofima, VHP og vill torsk (23,4 %; 27,9 % og 15,5 %), og MUFA utgjør størst andel i alle gruppene (48,7 %; 47,5% og 50,4 %). Den høye andelen MUFA i skreilever skyldes delvis at innholdet av C16:1 n-7 og C20:1 n-9 var relativt mye høyere (8,9 % og 11,5 %) enn lever fra N- (4,8 % og 7,4 %) og VHP-lever (4,6 % og 4,9 %). Forholdet mellom n-6 og n-3 var 0,3 i N-lever, 0,4 i VHP-lever og bare 0,1 % i skreilever. Den høyere andelen n-6 PUFA i oppdrettstorsken skyldes at disse hadde noe høyere andel LA (C18:2 n-6) (5,5 % [N] og 8,4 % [VHP]) sammenlignet med skreilever (2,0%).

Tabell 8 viser en sammenligning av beregnet mengde fettsyrer i de ulike torskeleverne (mg fettsyre per gram prøve). Nofima-leveren inneholdt 96,4 mg n-3 LC-PUFA per gram lever, hvorav EPA og DHA utgjorde 35,9 og 55,1 mg. I VHP-lever var det 98,3 mg n-3 LC-PUFA per gram lever, og EPA og DHA utgjorde 41,9 og 50,4 mg. I lever av skrei var det 116,6 mg n-3 LC-PUFA per gram prøve, hvorav mengden EPA og DHA utgjorde 46,4 og 63,9 mg.

Tabell 7: Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i lever fra oppdrettstorsk fra to ulike leverandører: Nofima (n=6) og Vesterålen Havbruk (n=5), samt vill skrei (n=5). Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av en lever (n) med tre paralleller. ND = not detected.

Fettsyrer	Oppdrett (N)	Oppdrett (VHP)	Vill Skrei
	Sammensetning (%) (n=6)	Sammensetning (%) (n=5)	Sammensetning (%) (n=5)
C14:0	3,1±0,5	2,5 ±0,1	3,6 ±0,2
C16:0	15,5 ±2,4	13,4 ±0,5	10,7 ±0,3
C18:0	5,5 ±0,9	6,2 ±0,9	2,6 ±0,4
Σ SFA	24,1±3,6	22,02±0,6	16,8±0,8
C16:1 n-7	4,8 ±0,3	4,6 ±0,3	8,9 ±1,4
C18:1 n-12	2 ±0,4	1,1 ±0,1	2,1 ±0
C18:1 n-9	23,4 ±0,5	27,9 ± 1,6	15,4 ±0,2
C18:1 n-7	4,4 ±0,2	4,8 ±0,2	5,4 ±0,3
C20:1 n-9	7,4 ±0,3	4,9 ±0,4	11,5 ±1,3
C22:1 n-11	6,2 ±0,4	3,8 ±0,5	6,7 ±1
C22:1 n-9	0,5 ±0,1	0,3 ±0,1	0,6 ±0,1
Σ MUFA	48,7±1,1	47,52±1,2	50,4±2,1
C18:2 n-6	5,5 ±0,4	8,4 ±0,4	2,01 ±0,1
C18:3 n-3	1,6 ±0,2	2,7 ±0,2	1,1 ±0,1
C18:4 n-3	2,4 ±1,1	2,8 ±0,2	4,2 ±0,8
C20:5 n-3	6,6 ±0,6	7,1 ±0,1	9,8 ±0,3
C22:5 n-3	1 ±0,1	1 ±0,04	1,3 ±0,1
C22:6 n-3	10,1 ±0,9	8,5 ±0,3	13,4 ±0,7
Σ PUFA	27,1±2,9	30,47±0,9	31,8±0,9
Σ LC-PUFA n-3	17,7±1,5	16,55±0,4	24,5±0,9
Udefinert	ND	ND	1,4±0
n-6/n-3	0,3	0,4	0,1

Tabell 8: Sammenligning av fettsyresammensetning (mg fettsyre per gram prøve) i lever Nofima og Vesterålen Havbruk, samt vill skrei. Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av tre paralleller. ND = ikke påvist.

Fettsyrer	Oppdrett (N)	Oppdrett (VHP)	Vill Skrei
	Sammensetning mg/gram	Sammensetning mg/gram	Sammensetning mg/gram
C14:0	16,5±1,3	14,8±1,2	18,4±1,1
C16:0	82,4±4,8	79,4±4,8	53,1±4,1
C18:0	28,9±3,9	36,6±5,03	12,4±2,2
Σ SFA	127,8±6,9	130,9±6,5	83,8±4,9
C16:1 n-7	26,3±4,9	27,6±2,1	39,9±14,6
C18:1 n-12	10,7±1,9	7,1±0,3	10,02±0,8
C18:1 n-9	126,8±19,3	165,4±8,4	72,1±9,7
C18:1 n-7	23,6±3,9	28,5±0,9	23,3±7,8
C20:1 n-9	40,3±6,6	28,9±2,9	54,9±11,8
C22:1 n-11	33,4±5,1	22,5±3,4	37,4±10,5
C22:1 n-9	2,7±0,6	2,02±0,4	3,02±0,5
Σ MUFA	263,8±40,2	281,9±9,9	240,7±33,5
C18:2 n-6	29,7±5,7	50,2±3,7	9,4±1,6
C18:3 n-3	8,9±2,1	15,9±1,4	5,2±0,5
C18:4 n-3	13,7±7,4	16,6±1,3	19,9±3,9
C20:5 n-3	35,9±7,7	41,9±1,9	46,4±7,01
C22:5 n-3	5,4±1,2	5,9±0,2	6,2±0,9
C22:6 n-3	55,1±11,6	50,4±2,3	63,9±7,4
Σ PUFA	148,7±35,1	181,1±10,3	150,9±16,5
Σ LC-PUFA n-3	96,4±20,5	98,3±4,4	116,6±15,1
Udefinert	ND	ND	6,5
n-6/n-3	0,3	0,4	0,1

3.5 Fettsyresammensetning i råtran produsert av VMO

Fettsyrefordelingen i kommersielt produsert råtran av oppdrettstorsk og vill torskefisk (konvensjonell produksjon) produsert av VMO ble analysert for å se om det var noen uttalte forskjeller mellom de ulike produksjonene (se Tabell 9). Den produserte råtranen av oppdrettstorsk inneholdt 15,7 % n-3 LC-PUFA, hvor EPA og DHA utgjorde 6,7 og 7,9 %. Dette var en god del lavere enn nivåene i den industrielt produserte råtrana fra skrei som inneholdt 22,8 % n-3 LC-PUFA. Av dette utgjorde henholdsvis 9,2 og 12,3 % EPA og DHA. Forholdet mellom n-6 og n-3 var likt med nivåene i lever (0,3 i oppdrettstorsken og 0,1 i skreien). Ett gram råtran av oppdrettstorsk inneholdt 132 mg n-3 LC-PUFA (se Tabell 10), og 56 mg EPA og 66 mg DHA per gram prøve. Ellers inneholdt råtranprøven 174 mg SFA, 347 mg MUFA og 284 mg PUFA per gram prøve. I råtranen fra vill torskefisk var det 199 mg n-3 LC-PUFA per gram prøve, hvorav EPA og DHA utgjorde 80 og 261 mg. Ellers inneholdt råtranprøven av vill torsk 162 mg SFA, 450 mg MUFA og 261 mg PUFA.

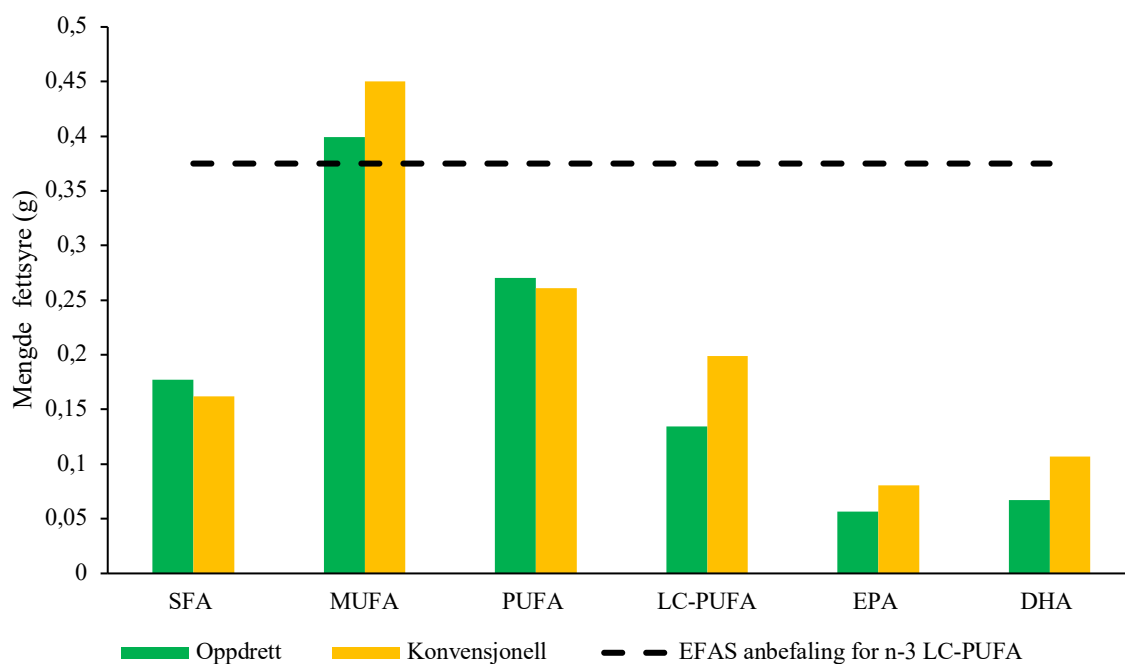
Tabell 9 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i tran produsert av Vesterålen Marine Olje, tran fra oppdrettstorsk (VHP) og vill torskefisk. Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av tre paralleller av n=1 flaske råolje fra hver gruppe. ND = ikke påvist.

Fettsyrer	Oppdrett (VHP)	Konvensjonell (Torskefisk)
	Sammensetning (%)	Sammensetning (%)
C14:0	2,4±0,1	3,5±0,1
C16:0	12,6±0,4	11,8±0,1
C18:0	5,7±0,2	3,2±0,03
Σ SFA	20,7±0,8	18,6±0,2
C16:1 n-7	4,5±0,03	8,6±0,04
C18:1 n-12	1,3±0,04	2,1±0,01
C18:1 n-9	26,9±0,2	16,5±0,1
C18:1 n-7	4,7±0,02	5,2±0,01
C20:1 n-9	4,9±0,04	11,3±0,04
C22:1 n-11	3,8±0,02	7,1±0,03
C22:1 n-9	0,4±0,2	0,8±0,01
Σ MUFA	46,6±0,3	51,6±0,1
C18:2 n-6	8,2±0,1	2,1±0,004
C18:3 n-3	4,9±0,1	1,3±0,03
C18:4 n-3	2,7±0,2	3,7±0,01
C20:5 n-3	6,6±0,2	9,2±0,06
C22:5 n-3	1,2±0,1	1,3±0,02
C22:6 n-3	7,9±0,4	12,3±0,1
Σ PUFA	31,5±0,6	29,9±0,2
Σ LC-PUFA n-3	15,7±0,6	22,8±0,2
Udefinert	1,2±0,4	ND
n-6/n-3	0,4	0,07

Tabell 10 Sammenligning av mengde fettsyrer (mg) per gram råtran produsert av VMO: med lever fra oppdrettstorsk (VHP) og vill torskefisk. Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av tre paralleller av n=1 flaske råolje fra hver gruppe. ND = ikke påvist

Fettsyrer	Oppdrett (VHP)	Konvensjonell (Torskefisk)
	Sammensetning mg/gram	Sammensetning mg/gram
C14:0	20,7±1,7	30,6±1,4
C16:0	107,8±6,5	103,4±2,8
C18:0	48,9±3,2	28,03±0,5
Σ SFA	177,3±11,3	162,1±4,6
C16:1 n-7	38,6±1,1	74,8±2
C18:1 n-12	10,9±0,7	18,6±0,4
C18:1 n-9	230,9±7,1	144,4±3,5
C18:1 n-7	40,4±1,3	45,3±1,1
C20:1 n-9	42,2±1,8	98,7±2,2
C22:1 n-11	32,9±1,0	6,6±0,1
C22:1 n-9	3,4±1,5	6,6±0,1
Σ MUFA	399,1±11,8	450,4±10,5
C18:2 n-6	70,6±1,8	18,6±0,4
C18:3 n-3	42,1±1,5	11,4±0,4
C18:4 n-3	23,3±2,2	32,1±0,6
C20:5 n-3	56,8±1,2	80,4±1,3
C22:5 n-3	10,1±0,5	11,2±0,2
C22:6 n-3	67,4±1,4	107,2±1,4
Σ PUFA	270,2±6,7	260,9±4,1
Σ LC-PUFA n-3	134,3±2,1	198,7±2,8
Udefinert	10,5±3,6	ND
n-6/n-3	0,3	0,07

Figur 12 viser en fordeling fettsyrer fordelt i gruppene: SFA, MUFA, PUFA og n-3 LC-PUFA fra oppdretts- eller konvensjonell tranproduksjon. Sammenligningen viser at de to gruppene har tilnærmet lik mengde PUFA per gram råtran, men en høyere andel MUFA, LC-PUFA, EPA og DHA i konvensjonell tran. Sett i lys av EFSAS kostholds anbefaling (250-500 mg LC-PUFA per dag) ligger man med inntak av 1 g råtran under anbefalt mengde for begge råtrangruppene.



Figur 12 Oversikt over grupperingene SFA, MUFA, PUFA og LC-PUFA n-3 i undersøkt batch av oppdretts- og konvensjonell tran produsert av VMO og EFSAS kostholdsråd anbefalinger på 250-500 mg LC-PUFA (i stiplede linje) per dag (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies 2012).

3.6 Oljeutbytte i torskelever og dens fettsyresammensetning

Ved eksponering av damp og varme ga N-lever 15 prøverør med råtran, 14 prøverør fra VHP-lever og 8 prøverør fra skrei-leveren. Råtran ekstrahert fra N-lever var en del grumsete og ble filtrert gjennom filterpapir. Oljen fra VHP- eller skrei-lever ble ikke filtrert. Resultatene fra metoden er fremstilt i Tabell 11. Gjennomsnittlig oljeutbytte var betraktelig høyere fra oppdrettstorsken enn villtorsk. Varmebehandlet N-lever ga 65,8 % råtran, VHP-lever ga 66,1 % og råtran fra skrei ga 50,6 % (se Tabell 11).

Tabell 11 Oversikt over oljeutbytte fra prøvemateriale fra Nofima-lever (n=6), VHP-lever (n=5) og skrei-lever (n=5).

	N-lever	VHP-lever	Skrei-lever
	(n=6)	(n=5)	(n=5)
Gjennomsnittlig innveid prøvemateriale (g)	30,3 g	29,8 g	30,2 g
Gjennomsnittlig veid tranmengde (g)	19,89 g	19,7 g	15,3 g
Gjennomsnittlig oljeutbytte (%)	65,8 %	66,1 %	50,6 %

Råtranen ekstrahert fra N-leveren inneholdt 18,4 % LC-PUFA n-3, her 6,9 og 10,5 % EPA og DHA (se Tabell 12). I råtran ekstrahert fra VHP-lever utgjorde andelen LC-PUFA n-3 15,6 %, hvorav andelen EPA og DHA var 6,8 % og 8,1 %. I råtran ekstrahert fra skrei-lever utgjorde andelen LC-PUFA n-3 24,7 %, hvorav andelen EPA og DHA var 9,5 % og 13,8 %. En særlig høy andel C18:1 n-9 (23,6 % og 27,3 %) ble detektert i begge gruppene oppdrettstorsk. For skreien var prosentandelen høy (14,2 %) sammenlignet med de andre fettsyrene i profilen, men lav i forhold til andelen registrert i oppdrettsleveren.

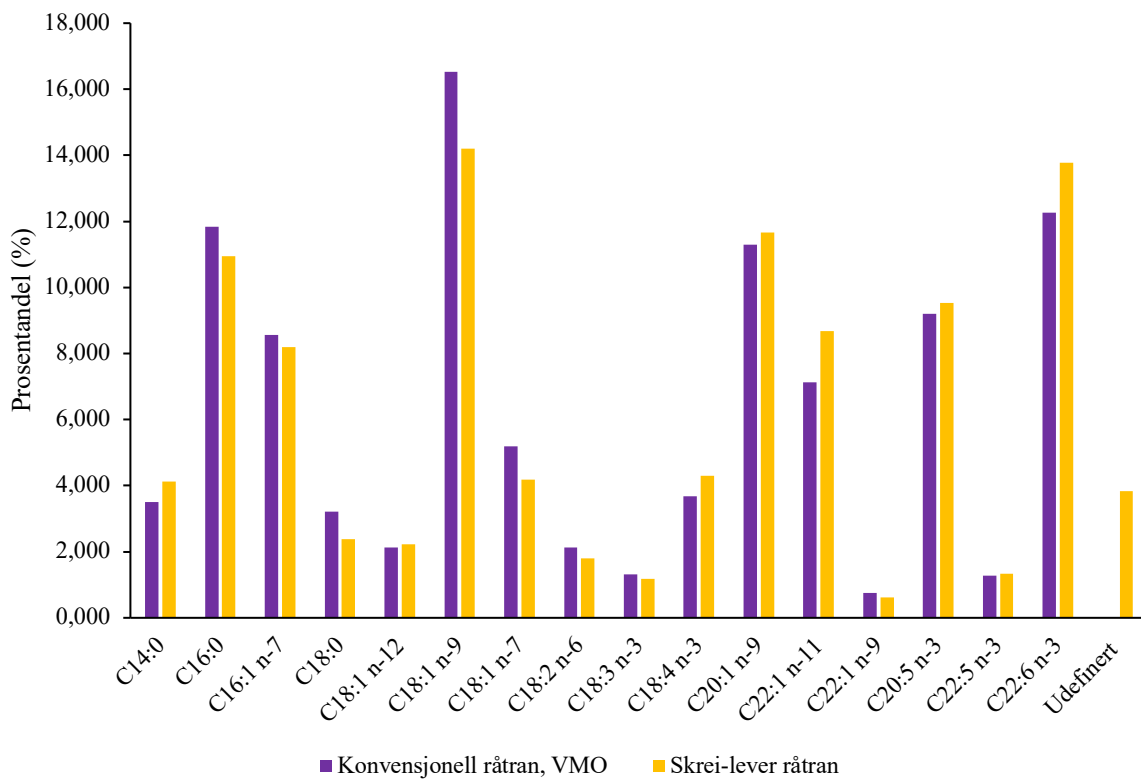
Råtran fra N-lever inneholdt 21,2 % SFA, 48,8 % MUFA og 29,7 % PUFA, og n-6/n-3 lå på 0,2. I råtran fra VHP-lever inneholdt det 21,3 % SFA, 46,5 % MUFA og 29,7 % PUFA. Forholdet mellom n-6 og n-3 lå på 0,4. I råtran fra skrei-lever inneholdt det 17,4 % SFA, 49,8 % MUFA og 31,9 % PUFA, og n-6/n-3 lå på 0,1.

Tabell 12 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) råtran fra labskalaproduisert råtran fra leverprøver fra Nofima (n=6), VHP (n=5) og vill skrei (n=6).

Fettsyrer	Oppdrett (N)	Oppdrett (VHP)	Vill Skrei
	Sammensetning (%)	Sammensetning (%)	Sammensetning (%)
C14:0	2,7±0,1	2,5±0,2	4,1±0,6
C16:0	13,6±0,5	13,2±0,6	10,9±0,7
C18:0	4,9±0,4	6,0±1	2,4±0,4
Σ SFA	21,2±0,7	21,8±0,9	17,5±1,5
C16:1 n-7	4,9±0,1	4,6±0,3	8,2±2,4
C18:1 n-12	1,8±0,3	1,1±0,04	2,2±0,3
C18:1 n-9	23,6±0,4	27,9±1,6	14,2±1,2
C18:1 n-7	4,4±0,1	4,7±0,3	4,2±1,4
C20:1 n-9	7,5±0,3	4,9±0,4	11,7±1,5
C22:1 n-11	6,2±0,3	3,7±0,5	8,7±2,9
C22:1 n-9	0,5±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1
Σ MUFA	41,2±0,5	47,5±1,3	49,8±3,2
C18:2 n-6	5,7±0,1	8,5±0,4	1,8±0,2
C18:3 n-3	1,7±0,1	2,7±0,2	1,2±0,2
C18:4 n-3	3,7±0,4	2,8±0,2	4,3±0,8
C20:5 n-3	6,9±0,2	6,9±0,1	9,5±0,5
C22:5 n-3	1,02±0,03	0,9±0,03	1,3±0,1
C22:6 n-3	10,5±0,2	8,2±0,2	13,8±1,6
Σ PUFA	29,5±0,6	30,3±1	31,9±2,3
Σ LC-PUFA n-3	18,4±0,4	16,2±0,3	24,7±2,1
Udefinert	0,8±0,2	0,9±0,5	2,03±2,9
n-6/n-3	0,2	0,4	0,1

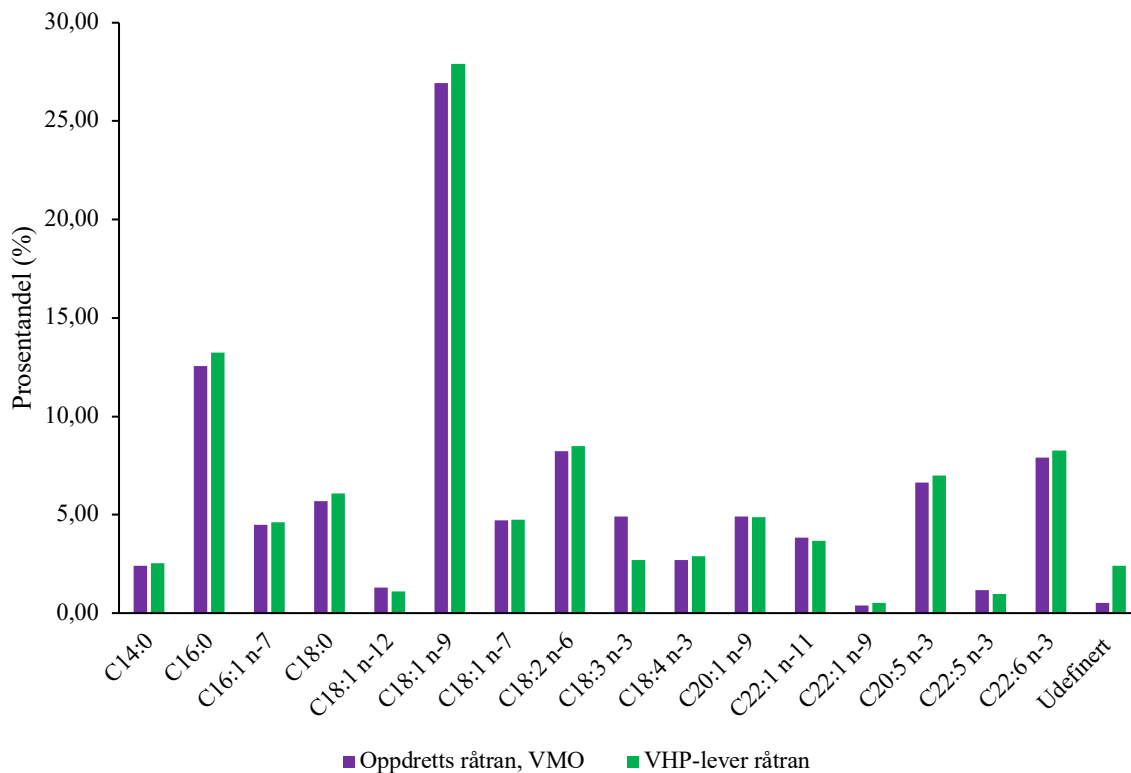
3.7 Sammenligning av ulike utfellingsmetoder

Sammenligningen av fettsyresammensetningen i råtran fra torskfisk produsert med isoelektrisk utfelling (VMO) og råtran av varmebehandlet skrei-lever (labskala produsert) viste seg å ha enkelte forskjeller i fettsyreprofilen (se Figur 13). Konvensjonell råtran fra VMO hadde en høyere andel C18:1 n-9 ($26,9\pm 0,2$ %) i forhold til dampbehandlet skrei-lever ($16,5\pm 0,1$ %). Skrei-leveren hadde en høyere andel DHA (C22:6 n-3) med $12,3\pm 0,1$ % kontra VMO-produsert råtran ($7,9\pm 0,4$ %). Råtran fra skrei-lever ble også registrert med en høyere andel udefinerte fettsyrer, hvorav den konvensjonelle råtranen fra VMO ikke hadde noen.



Figur 13 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i råtran av torskfisk produsert av VMO med isoelektrisk utfelling og labskalaprodusert råtran av dampbehandlet skrei-lever

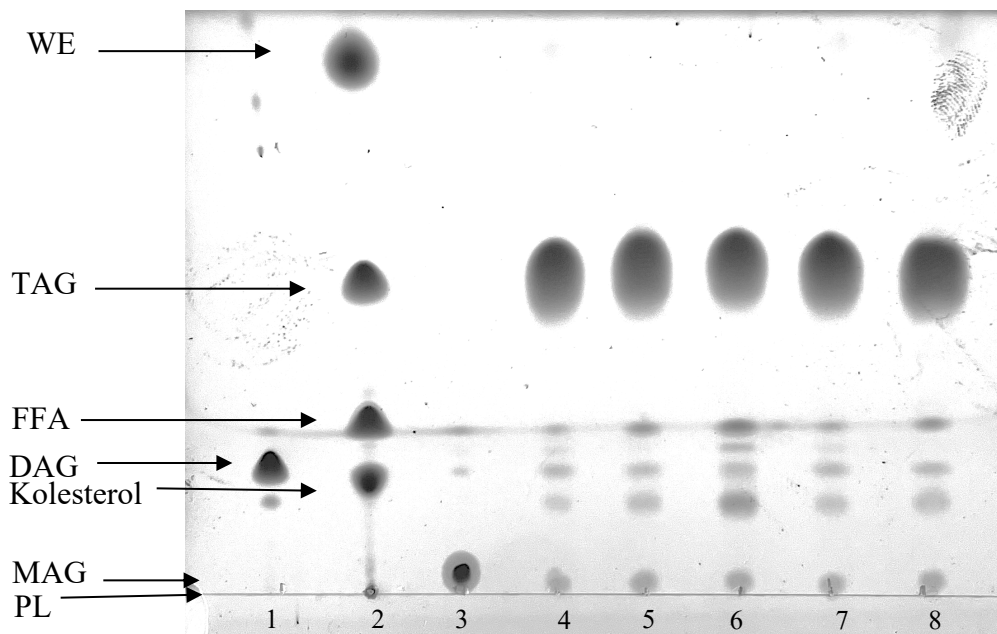
Ved sammenligning av fettsyresammensetningen i råtran fra oppdrettstorsk produsert med isoelektrisk utfelling (VMO) og råtran av varmebehandlet VHP-lever (labskala produsert) ble det observert små/ingen vesentlige forskjeller i fettsyresammensetningen (se Figur 14). Det ble dog registrert en høyere andel udefinerte fettsyrer sammenlignet med VMO-produsert råtran fra oppdrettstorsk.



Figur 14 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i råtran av oppdrettstorsk produsert av VMO med isoelektrisk utfelling og labskalaprodusert råtran av dampbehandlet VHP-lever

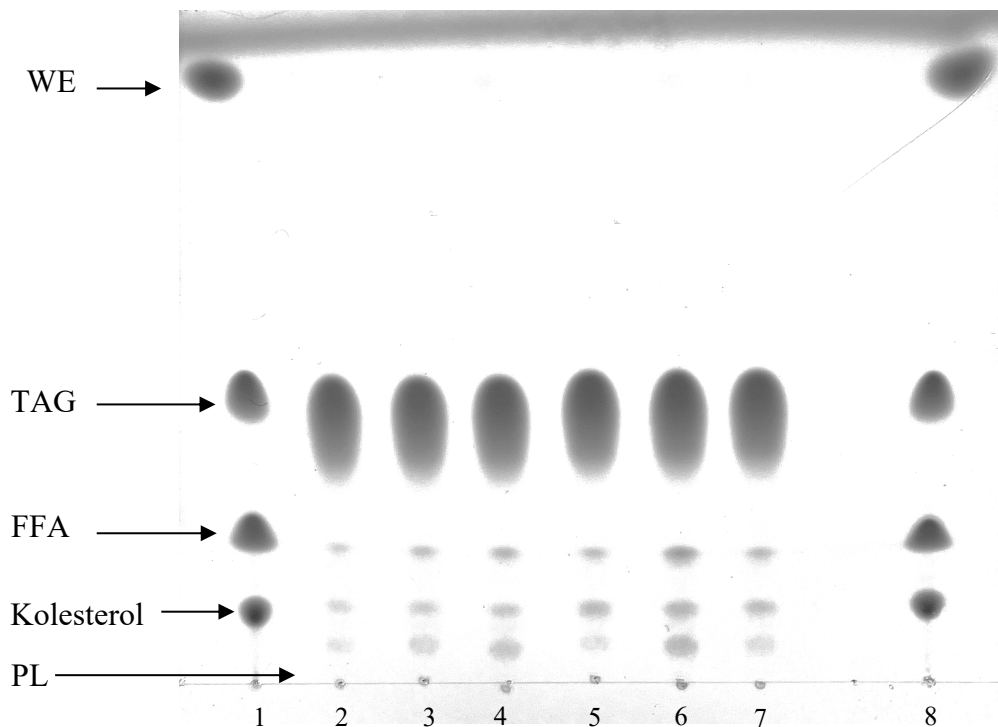
3.8 Bestemmelse av fettklasser i råtran og ekstrahert fett fra oppdrettet torskelever

En kvalitativ bestemmelse av fettclassesammensetning i råtran ble presentert på en TLC-plate (se Figur 15). Ved hjelp av kjente standarder ble markeringer for seks mulige fettklasser tydet. Analysen viste tilnærmet like resultater for samtlige råtranprøver, men intensiteten på flekkene varierte for enkelte prøver. Triacylglycerol (TAG) var den dominerende fettklassen for samtlige prøver, og figur 15 viste flekker som ser ut til å representere FFA, DAG, kolesterol, MAG og fosfolipider (PL). For råtranprøvene fra VMO produsert oppdrettstran og lab skala-produsert råtran av VHP- og skrei-lever var det en svak markering som muligens kan være WE.



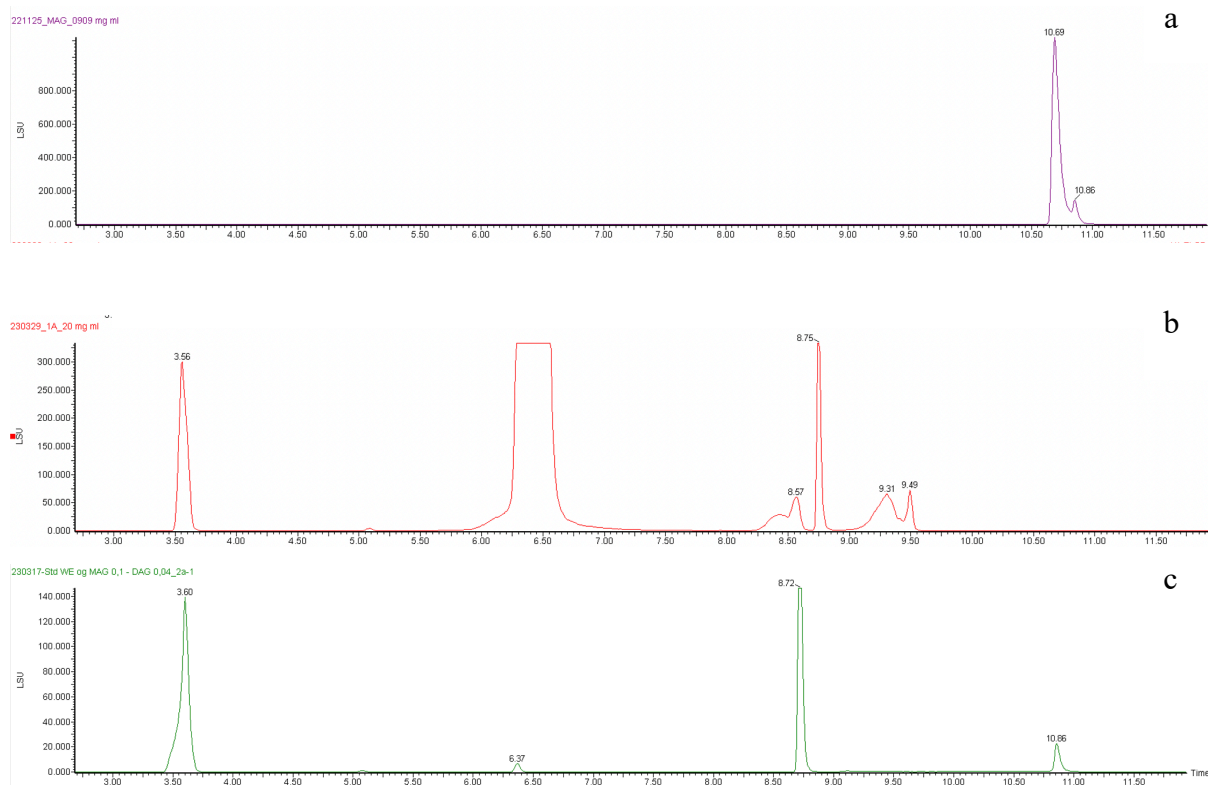
Figur 15 Representativ tynnsjiktplate som viser standarder og fettklasser i fem ulike råtranprøver. Følgende rekkefølge på appliserte prøver på platen (fra venstre) 1: DAG, 2: 18-5 A(TLC-standard), 3: MAG, 4: Råtran fra oppdrettstorsk (VMO), 5: Råtran fra vill torskefisk (VMO), 6: Råtran kokt på Nofima-lever, 7: Råtran kokt på VHP-lever, 8: Råtran kokt på skrei-lever.

I ekstrahert fett fra undersøkt oppdrettslever ble flekker for fem antatte fettklasser tydet (se Figur 16). Prøveplaten viser tilsynelatende likt resultat for samtlige leverprøver med en dominerende andel TAG og tilstedeværelse av FFA, kolesterol og PL. Undersøkt lever fra Nofima (lever 4) viser seg noe mer markert sammenlignet med andre avlesninger.



Figur 16 Representativ tynnsjiktplate som viser standarder og fettklassene i ulike prøver ekstrahert fra lever fra oppdrettstorsk. Følgende rekkefølge på appliserte prøver på platen (fra venstre) 1: 18-5 A(TLC-standard), 2: Nofima lever, 3: Nofima-lever, 4: Nofima-lever, 5: VHP-lever, 6: VHP-lever, 7: VHP-lever, 8: 18-5 A (TLC-standard).

Resultatene fra den kvantitative analysen er vist i et kromatogram (se Figur 17). Følgende retensjonstiden for de undersøkte prøvene var: WE=3,5 min, TAG= 6,5 min, DAG=8,7 min, FFA=9,5 min. En utflytende topp før avlesningen av mengden DAG ble avlest i samtlige. Denne toppen kan muligens være fettalkoholer, men kan dog ikke bekreftes grunnet manglende bruk av nødvendig standard.

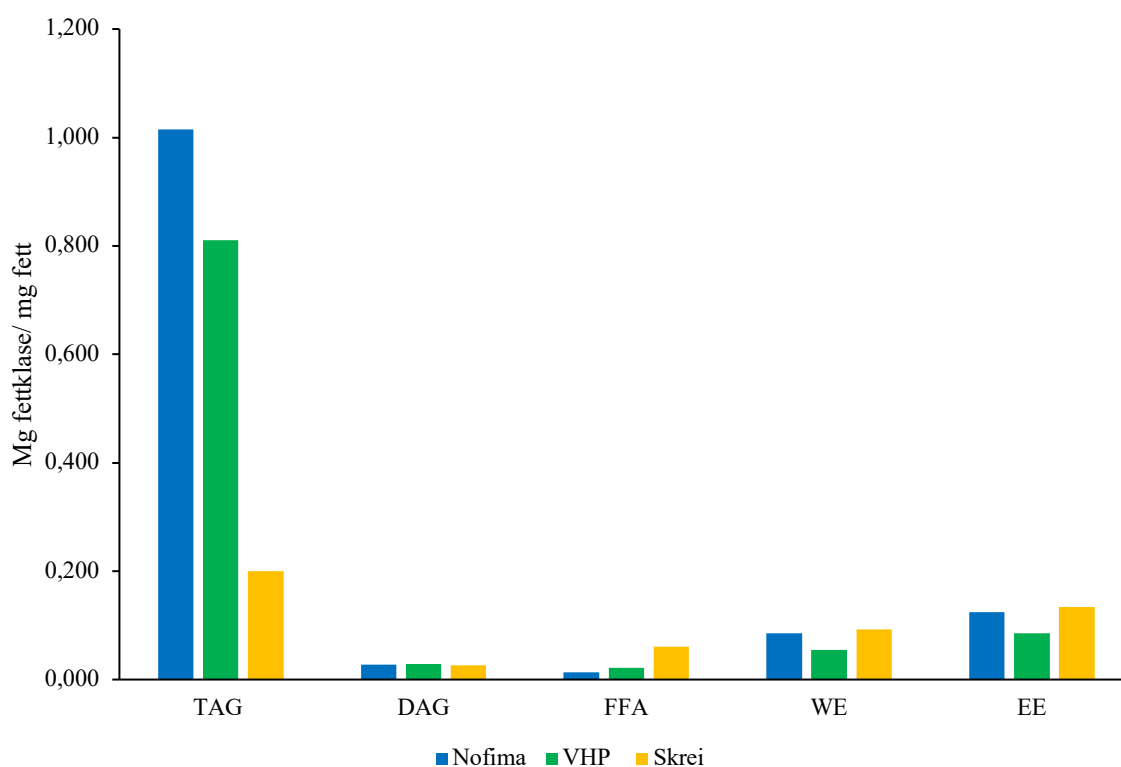


Figur 17 Kromotogram fra HPLC-analyse, kromotogram a: MAG-standard, kromotogram b: analyse av fett fra skrei lever 1 parallell A, kromotogram c: HPLC-standarder for DAG, FFA, TAG og MAG

En oppsummering av resultatene fra HPLC-analysen av fettklasser er presentert i Tabell 13 og Figur 18: hvor mengden av fettklassene TAG, DAG, FFA, WE og EE ble identifisert. Av disse var det TAG som dominerte samtlige prøver med 1,015 mg/mg fett (N), 0,811 mg/mg fett (VHP) og 0,20 mg/mg fett (skrei). Innholdet av DAG var likt i de tre gruppene med 0,03 mg/mg fett. Andelen WE var noe lavere i VHP-leveren med 0,054 mg/mg fett sammenlignet med lever fra Nofima og skreilever (hhv. 0,05 mg/mg fett og 0,09 mg/mg fett). Det samme forholdet ble observert for EE, med lavest innhold i VHP-leveren sammenlignet med lever fra Nofima og skrei (hhv. 0,09 mg/mg fett og 0,13 mg/mg fett) og skrei (0,134 mg/mg fett). Leveren fra skrei hadde et relativt høyt innhold FFA (0,061 mg/mg fett) i forhold til oppdrettsleveren (Nofimalever: 0,01 mg/mg fett og 0,02 mg/mg fett).

Tabell 13 Kvantitativ bestemmelse av fettklasser (TAG, DAG, FFA, WE og EE) identifisert i fett ekstrahert fra torskelerver fra Nofima og Vesterålen Havbruk (oppdrettstorsk), og vill skrei. Analysert med metoden for HPLC.

	Nofima (mg fettklasse/mg fett)	VHP (mg fettklasse/mg fett)	Skrei (mg fettklasse/mg fett)
TAG	1,015	0,811	0,2
DAG	0,027	0,029	0,026
FFA	0,014	0,021	0,061
WE	0,085	0,054	0,093
EE	0,125	0,086	0,134



Figur 18 Mengde TAG, DAG, FFA, WE og EE per mg fett i lever fra oppdrettstorsk produsert av Nofima (n=3), VHP (n=3) og vill skrei (n=2)

3.9 Fettinnhold og fettsyresammensetning i oppdrettsfôr til torsk

Resultater av undersøkt fettinnhold (ekstrahert med etylacetatmetoden) i en batch oppdrettsfôr viste å ha et gjennomsnittlig fettinnhold på $19,6 \pm 1,1$ g/100 g fôr.

Oppdrettsfôret inneholdt 22,2 % LC-PUFA n-3. Andelen EPA og DHA utgjorde 1,3 % og 12,1 % (se Tabell 14). Ellers inneholdt fôret 25,1 % SFA, 37,8 % MUFA og 31,9 % PUFA. I ett gram fôr inneholdt det 33,4 mg SFA, 50,3 mg MUFA, 42,5 mg PUFA, hvorav 29,5 mg av dem var LC-PUFA n-3. Forholdet mellom n-6 og n-3 lå på 0,2. Særlig fettsyrene C16:0 ($16,5 \pm 0,03$), C18:1 n-9 ($13,2 \pm 0,02$) og C22:6 n-3 ($12,1 \pm 0,002$) tar en stor plass i fôrets fettsyreprofil.

Tabell 14 Sammenligning av fettsyresammensetning (%) i en fôrprøve av industrielt oppdrettsfôr for torsk brukt på Nofimas sjøanlegg for torsk. Verdier for hver prøve er gjennomsnittet av tre paralleller fra n=1 fôrbatch.

Fôrprøve, Nofima		
Fettsyrer	Sammensetning (%)	Sammensetning mg/g
C14:0	5,4±0,1	0,9±0,04
C16:0	16,5±0,03	21,9±0,7
C18:0	3,2±0,02	4,2±0,1
Σ SFA	25,1±0,1	33,4±0,9
C16:1 n-7	5,2±0,01	6,9±0,2
C18:1 n-9	13,2±0,02	17,5±0,5
C18:1 n-7	2,4±0,02	3,1±0,1
C20:1 n-9	6,4±0,01	8,5±0,3
C22:1 n-11	9,9±0,1	13,1±0,3
C24:1 n-9	0,9±0,03	1,1±0,03
Σ MUFA	37,8±0,2	50,3±1,4
C18:2 n-6	4,5±0,01	6,03±0,2
C18:3 n-3	1,6±0,004	2,2±0,1
C18:4 n-3	3,6±0,001	4,8±0,1
C20:5 n-3	8,9±0,02	11,9±0,4
C22:5 n-3	1,3±0,01	1,5±0,1
C22:6 n-3	12,1±0,002	16,02±0,5
Σ PUFA	31,9±0,02	42,5±1,3
Udefinert	5,1±0,3	5,9±0,5
LC-PUFA n-3	22,2±0,02	29,5±0,9
n-6/n-3	0,2	0,2

4 Diskusjon

I dag opplever vi en ny optimisme i oppdrettsnæringen og en økende satsning på torsk. Satsningen har som formål å fremme innovasjon og skal kunne virke som et tilskudd til det tradisjonelle fiskeriet og vil gi en kontinuerlig tilgang på råstoff, ergo en økt mengde restråstoff. Restråstoffet i form av torskelever har et stort potensial og mulighetene for anvendelse er mange. For å være i stand til å utnytte oppdrettstorskens hele potensiale er det viktig å ha tilgang til oppdatert kunnskap. Lever fra vill skrei har siden 1800-tallet vært et kjent produkt med et høyt fettinnhold og en fettsyresammensetning som har vært godt egnet til å produsere tran med høyt innhold av n-3 LC-PUFA: EPA og DHA. Hensikten med denne oppgaven var å sammenligne fettinnholdet og fettsyresammensetning i lever og tran fra oppdrettstorsk med lever og tran fra vill skrei. Her var det interessant å se på prøvematerialets fettsyreprofil i sammenheng med fiskens næringskilder for å se om *fisken blir hva den spiser*, samt se om prøvematerialet lå innenfor kjente kvalitetsstandarder/kostholdsråd og etter eventuelle endringer i produkters fettsyreprofil.

4.1 Sammenligning av fettsyresammensetningen i lever og råtran

Resultatene viste merkbare variasjoner ved sammenligning av i fettsyresammensetningen i råtranproduktene fra oppdrettet og vill torskelever (produsert av VMO). Andelen n-3 LC-PUFA var høy for begge gruppene, men var likevel en markant forskjell med 45 % mer n-3 LC-PUFA i den konvensjonelle råtranen fra torskefisk ($22,9 \pm 0,2$ %) sammenlignet med råtran fra oppdrettstorsk ($15,7 \pm 0,6$ %). Her var mengden n-3 LC-PUFA på 134 ± 2 mg/gram råtran for oppdrettstorsk og 199 ± 3 mg n-3 LC-PUFA/gram konvensjonell råtran. Sett i lys av EFSAs anbefalt mengde n-3 LC-PUFA på 250-500 mg per dag er de undersøkte råtranprøvene en god kilde til de gode n-3 fettsyrene EPA, Docosapentaenoic syre (DPA) og DHA, og dekker anbefalt inntak selv ved små mengder. En teskje tran tilsvarende vanligvis en mengde på 5 gram, og er den kjente tranaktøren Möllers egne anbefalte daglige dose. En teskje VMO-produsert råtran fra oppdrettstorsk vil gi mer enn nok mengde for å dekke dagsbehovet for n-3 LC-PUFA i to dager, mens en teskje konvensjonell råtran vil være nok for å dekke dagsbehovet for tre dager. Med sin høye andel EPA og DHA er det tenkelig at tran fra oppdrettstorsk kan virke som et godt tilskudd som lipidkilde i industriell produksjon av oppdrettsfôr for en større innblanding marine ingredienser.

Det er viktig å merke seg at kostholds anbefalingene tar utgangspunkt i ferdig raffinerte tranoljer, ikke råtran brukt som i dette arbeidet. Som nevnt innledningsvis må råtran raffineres for eventuelle kontaminanter og/eller lignende noe som kan ødelegge eller påvirke produktets FA-profil. Dette er dog av en så liten mengde at tranen vil likevel være en god kilde på n-3 LC-PUFA. Av individuelle fettsyrer var andelen oljesyre (C18:1 n-9) dominerende i lever og VMO-produsert råtran av oppdrettstorsk. En høy andel oljesyre var også gjeldende i den analyserte batchen oppdrettsfôr (se Tabell 14). Innledningsvis ble det vist til at oljesyre en fin indikatorfettsyre på om fisken har fått tilførsel av planteoljer gjennom kosten. Resultatene fra dette arbeidet indikerer derfor at undersøkt oppdrettstorsk fikk i seg fôr med høyt innhold av planteoljer, som f.eks. raps, og er fettsyrer vi finner igjen i leverproduktene. Ved sammenligning av n-6/n-3 i oppdrettet og vilt opphav hadde produkter av vill torskefisk det laveste forholdet for samtlige undersøkte prøver. Forholdet n-6 og n-3 i produkter utvinnet fra oppdrettsfisk er sett i lys av gjennomganger av blant annet Yang et. al (2016) er dog likevel godt innenfor optimalt forhold på 5:1. Både undersøkt råtran fra oppdrettet og vill torskefisk er gode alternativer for å rette opp skeivfordelingen mellom n-6 og n-3 fettsyrer i det vestlige kostholdet. Det ble ikke registrert naturlige funn av fettsyren C17:0 i samtlige prøver og var derfor en god fettsyre å bruke som internstandard.

I en artikkel av Jobling & Leknes (2010) ble det foreslått at torsk har en begrenset evne til å bruke 18:2 n-6 og 18:3 n-3 for å syntetisere n-3 LC-PUFA, og det er en generell konsensus at marin viltlevende fisk har en begrenset kapasitet til å produsere EPA, DPA og DHA naturlig. De helsefremmende fettsyrene antydes likevel å være høye i industrielt torskefôr som har en vesentlig innblanding av planteoljer som soyaolje. Soyaolje i fôret har dog vist seg og ikke ha en negativ effekt på tekstur, gaping, væskeholdende kapasitet eller smak hos oppdrettstorsk fôret med planteoljen som sin primære lipidkilde (Mørkøre, Netteberg et al. 2007). Andre studier har rapportert at oppdrettsfisk fôret med vesentlige mengder soyaolje inneholdt mer C18:1 n-9 og C18:2 n-6, og mindre C20:5 n-3, C22:5 n-3 og C22:6 n-3, sammenlignet med fisk som fikk fôr med fiskeoljer som lipidkilde (Sargent, Bell et al. 1995). Som nevnt tidligere inneholdt skreilever en høyere andel EPA og DHA sammenlignet med tilsvarende produkter fra oppdrettstorskene. Dette stemmer godt overens med at dietten til vill torsk gjerne består av marine næringskilder med relativt høy andel EPA og DHA og liten andel av vegetabiliske fettsyrer. I Jobling & Leiknes artikkel (2010) viser de også til hvilke andeler det burde være av fettsyrene ALA, EPA og DHA i oppdrettsfôret til torsk for å oppnå en lever som ligger innenfor kravene for tran-produksjon på 2,5-12 % C18:2 n-6, 8-19,5 % C20:5 n-3 og 6-21 % for C22:6

n-3. I undersøkt fôr-batch var alle disse kravene innfridd med 4,5 % (ALA), 8,9 % (EPA) og 12,1 % (DHA).

Lipidkvalitet ble innledningsvis definert som summen egenskaper og kjennetegn som kan påvirke tranens fettprofil og andelen helsefremmende n-3 LC-PUFA. Råtranen produsert av VMO av oppdrettstorsk inneholdt 6,6 % EPA og 7,9 % DHA. Dette oppfyller EPs (2018) satte standard for tran fra oppdrettstorsk på en samlet andel EPA+DHA på 10-28 %. I konvensjonell tran fra VMO lå EPA og DHA andelen på 9,2 og 12,3 %, og ligger godt innenfor EPs standard (A/B) for torskelever olje (7-18 %) (European Pharmacopoeia 2018).

Ved sammenligning av konvensjonell råtran (VMO) og labskalaprodusert råtran av skreilever ble det observert enkelte variasjoner i fettsyreprofilen. Her var det ulikheter ved mengden oljesyre (C18:1 n-9) i den konvensjonelle råtranen med 16,6 % sammenlignet med den lab-produserte råtranen på 14,2 %. Andre forskjeller som viste seg gjeldende med at den lab-produserte råtranen hadde en høyere andel cetolsyre (C22:1 n-11) (8,7 %) og DHA (13,8 %) kontra den VMO-produserte råtranen (7,1 og 12,3%). Ellers var det en liten andel mer EPA (9,5 kontra 9,2 %) i den lab-produserte råtranen og tilsvarende like mengder ALA i begge gruppene basert på vilt råstoff. Variasjonene i fettsyreprofilene på de to gruppene kan forklares med at den konvensjonelle råtranen (VMO) inneholder en større variasjon av både individer, men også hvilken art som går inn i produksjonen. I konvensjonell tran-produksjonen blir lever fra både torsk, sei og hyse brukt noe som kan være med å gi variasjoner i resultatet. Levermateriale fra oppdrettstorsken fra VHP var råstoff som gikk direkte inn i VMOs tran-produksjon. Dette var derfor et godt utgangspunkt for å sammenligne ulike utfellingsmetoder for leverolje slik som varmebehandling (labskalaprodusert av tran) og isoelektrisk utfelling (benyttet metode av VMO), da både fôrregime og opphav var lik. Resultater fra undersøkt rå torsk lever sammenlignet med labskalaprodusert råtran viste tilsynelatende liten påvirkning på fettsyresammensetningen, hvor innholdet n-3 LC-PUFA var tilnærmet uendret og det var ingen forskjeller verdt å trekke frem (se Tabell 7 og Tabell 12). Dette kan indikere at fettsyreprofilen i torskelever påvirkes i liten grad på eksponering av varme og/eller syre. Et annet poeng å merke seg var at rester av koagulert blod festet til undersøkt Nofima-lever ble homogenisert blandet inn sammen med levermaterialet og kan ha vært med å påvirke leverens fettsyreprofil. Oppsummert ble det identifisert totalt 16 ulike definerte fettsyrer i mitt arbeid. I en gjennomgang av European Pharmacopoeia 9.0 (2018) ble det vist til at i ferdigaffinert tran, både av oppdrettet og vilt opphav, er det vanlig å identifisere 24 metylestere. De 7 fettsyrene

som ikke ble registrert gjennom mine analyser var: C15, C16:4 n-1, C20:2 n-6, 20:4 n-6, C20:3 n-3, C20:4 n-3 og C21:5 n-3.

4.2 Observasjoner gjort ved analyser på torskelever

I denne oppgaven ble lever fra skrei sammenlignet med lever fra oppdrettstorsken fra Nofima og VHP. Fettekstraksjon fra skreilever ga et gjennomsnittlig fettinnhold på 57 g/100 g lever. Dette stemmer godt overens med oppgitt fettinnhold fra matvaretabellen (59 g fett/100 g lever) (Matvaretabellen 2022). Lever fra oppdrettstorskene hadde et høyere fettinnhold på henholdsvis 70 (Nofima) og 69 (VHP) g fett/100 g lever. Dette samsvarer godt med analyser gjort på tidligere generasjoner oppdrettstorsk og dens lever fra 2010-tallet gjort av blant annet Mørkøre, Ytrestøyl et al. (2008) og Aas, Barnung et al. (2011). Resultatene i denne oppgaven viste at leveren til Nofima-torsken var litt større og fetere sammenlignet med leveren fra VHP, men begge oppdrettsfiskene hadde en fetere lever kontra den ville skreien. Det er verdt å merke seg at Nofima-torsken var mye større (gjennomsnittlig rundvekt på 5,6 kg) enn torsken fra VHP (gjennomsnittlig rundvekt på 2,4 kg). VHP-torsken ble slaktet etter endt produksjonssyklus og levra brukt til kommersiell/industriell tran-produksjon hos VMO. Torsken fra Nofima var en del av instituttets avlsprogram (såkalt «B»-fisk som ble sortert ut), som var stor av størrelse og avvek fra normal slaktevekt (rundt 3,5-4 kg (Heide, Ageeva et al. 2022)) grunnet avvik fra normal produksjon. Som nevnt innledningsvis utgjør leveren en stor del av fiskens totalvekt og levra vokser både i størrelse og i fettinnhold jo større fisken er. VHP-torskens HSI er i tråd med tidligere observasjoner hvor lever fra oppdrettstorsk har blitt registrert med størrelse rundt 8-17 % av fiskens totalvekt (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008, Jobling and Leknes 2010). Torsken fra Nofima hadde en stor variasjon i størrelse og en HSI-andel som spriket fra 13-19 %. Disse høye HSI-verdiene skyldes nok som nevnt Nofima-torskens rolle i instituttets avlsprogram og derfor avvek fra ordinær produksjonsprotokoll. Det ble dessverre ikke mulig å innhente individuelle data for rundvekt for skreien som ble brukt i dette arbeidet, men tidligere gjennomganger på villtorskens lever har vist at HSI-andelen ligger i området 3 til 8 % (Mørkøre, Ytrestøyl et al. 2008, Jobling and Leknes 2010). Leveren er torskens lager for opplagsnæring, og under produksjonen av gonader vil energien i lagrene brukes/tappes for å danne disse. Derfor reduseres HSI-andelen hos skreien betraktelig rundt gytesesongen hvor leverstørrelsen kan krympe ned til 1 % av fiskens totalvekt og vil påvirke leverens fettandel (Mello and Rose 2005, Alfredsen 2016). Samlet sett betyr dette at selve fettutbytte er betydelig større fra oppdrettstorsk sammenlignet med gyteklar skrei.

Ved sammenligning av gjennomsnittlig oljeutbytte i undersøkt oppdrettstorsk hadde torsken fra Nofima og VHP ble tilnærmet like mengder utskilt råtran. Råtranen av Nofima-lever ble observert til å være noe grumsete sammenlignet med råtran fra VHP- og skrei-lever, og derfor filtrert. Etter avkjøling forble den ufiltrerte råtranen klar, og det kan virke som at partikler fra den faste levermassen fra Nofima-torsken ble med ved overføringen av råtranen fra den faste levermassen etter sentrifugering. Metoden for labskalaproduert råtran ble først utprøvd på gruppen for Nofima torsken, dette kan ha vært med å påvirke resultatet da metoden ikke var fullstendig innøvd.

4.2.1 Påvirkninger på fettutbytte i torskelever fra ulike ekstraksjonsmetoder

For å se på fettinnholdet i prøvemateriale av lever og industrielt oppdrettsfôr for torsk ble metodene for ekstraksjon med Folchs og ekstraksjon med etylacetat brukt og sammenlignet. Flere forsøk med begge metoder ble utprøvd med ulike modifikasjoner for å finne frem til mengde prøvemateriale og løsemiddel gunstige for gode resultater passende til mitt prøvemateriale. I litteraturen blir Folchs-metode sett på som en allsidig og robust metode for ekstrahering av lipider fra det meste dyrevev med pålitelige resultater (Couturier, Michel et al. 2020). Forsøkene med ekstraksjon med Folchs-protokoll ga selv med gjentatte forsøk stor variasjon i resultatene gang for gang. Variasjonene kan forklares av det faktum at metoden ble opplevd som vanskelig hvor jeg ikke evnet å utføre metoden likt hver gang. Metoden viste seg også å være problematisk for å oppnå fullt fettutbytte. Ekstrahering med etylacetatmetoden ble oppfattet som en effektiv og robust ekstraksjonsprotokoll som resulterte i stabile resultater og høyt fettutbytte. Dette var også en metode som jeg mestret bedre med mindre rom for feilkilder. Ekstraksjon med etylacetat ble derfor det endelige valget av metode gjennom oppgaven.

4.3 Bestemmelse av fettklasser

Kommersiell tran består vanligvis av 98 % TAG. For å undersøke sammensetningen av fettklassene i råtranen fra VMO og labskalaprodusert råtran ble prøvene analysert kvalitativt (TLC) og en kvantitativ (HPLC) fremstilling for rå lever fra oppdrettstorsk og skreilever ble undersøkt. Tynnsjikt som separasjonsmetode kan ikke vise kvantifisert mengde av aktuell fettklasse i undersøkt prøve (Akoh 2017), noe som gjør det relativt krevende å gjennomføre analysene. Den dominerende fettklassen i undersøkt oppdrettslever og råtran (VMO- og labskalaprodusert) var TAG, og er veldig karakteristisk og derfor enkel å identifisere på tynnsjiktplaten. Ved analysen av råtranprøvene var det flekker som kunne indikere MAG og/eller PL i samtlige prøver. Standardene for MAG og PL overlappet hverandre på TLC-platen og var vanskelig å skille fra hverandre. Den kvantitative analysen (HPLC) bekreftet at TAG var den dominerende fettklassen, men MAG derimot ble ikke identifisert i noen av de analyserte prøvene. Dette indikerer at det ikke var MAG, men at de respektive flekkene på tynnsjiktplaten var PL. Under gjennomføringen tynnsjiktanalysene ble TLC-platene påført mindre riper, skrapemerker og annet støy (fingermerker eller lignende) på enkelte områder av platene (se Figur 15). Dette gjorde det utfordrende å tyde om enkelte merker på platene var flekker som representerte fettklasser f.eks. WE, eller annet støy. HPLC-analysen bekreftet at samtlige prøver hadde en viss andel WE og EE som underbygger at de aktuelle flekkene på TLC-platen var WE.

Den kvantitative HPLC-analysen av fett ekstrahert fra torskelever ble gjennomført på fett ekstrahert av lever fra 8 ulike individer (3 N-lever, 3 VHP-torsk, 2 skrei) med konsentrasjon både på [0,4 mg/ml] og [20 mg/ml]. I denne undersøkelsen viste lever fra Nofima-torsken seg å ha en TAG-andel på 1,015 mg per mg fett. Ved avlesning av TAG-andelen i de undersøkte prøvene havnet standardkurven for TAG dessverre utenfor kalibreringskurvens gyldighetsområde. Dette medfører til at TAG-toppen i kromatogrammene «kuttet» og vi får ikke et fullstendig bilde (areal) over prøvenes TAG-innhold (se Figur 17). For å unngå dette og komme innenfor metodens gyldighetsområde skulle nevnte prøve blitt fortynnet til > [0,4 mg/ml]. Ved å summere de ulike lipidklassene som ble kvantifisert ble det funnet ca. 80 % TAG i lever fra begge oppdrettstorskene, mens lipidene fra skreilever bare inneholdt 0,2 mg TAG/mg fett. Det er nok lite sannsynlig at dette fettene er så hydrolysert som TAG-mengden skulle tilsi, særlig ettersom det ikke er en tilsvarende økning i de andre fettklassene (DAG/MAG og FFA). Dette ble dessverre ikke mulig å verifisere HPLC-resultatene ytterligere, men

resultatene er likefullt en god indikasjon på at fettene fra de undersøkte leverne inneholder en viss andel andre lipidklasser enn TAG.

Frie fettsyrer ønsker man ikke i tran eller andre omega-3 oljer, men ble identifisert i samtlige prøver, både ved den kvalitative og kvantitative analysen i dette arbeidet. Resultatene viste relativt store variasjoner blant gruppene. Særlig fettene ekstrahert fra skreilever inneholdt en viss økning i andelen fire fettsyrer. Dette har en sammenheng med utfordringer knyttet til innsamling og transporten av leveren frem til laboratoriet. Leveren fra Nofima (0,014 mg FFA/mg fett) ble homogenisert og lagt på frys samme dag som slakt. Leveren fra VHP (0,021 mg FFA/mg fett) hadde 1 reisedøgn etter slakt. Både i påvente av og under transport ble prøvematerialet lagret i en eske i kalde omgivelser (rundt 4 °C) på is før prøvematerialet ble håndtert. Leveren fra skrei (0,061 mg FFA/mg fett) hadde 2 reisedøgn, lagret på ukjent temperatur og uten is i esken, før prøvematerialet ble håndtert og lagt på frys. Fet fisk og andre fettrike sjømatprodukter også er spesielt utsatt for lipidnedbrytning (Huss, Boerresen et al. 1998), og transporttid og mulig eksponering for høyere temperaturer fra omgivelsene fra slakt/levering ved mottak frem til prøvematerialet ble frosset ned har vært gjeldende for analysens resultater.

4.4 Begrensninger i studiet og fremtidig forskning

Analysene som ble gjort i forbindelse med dette arbeidet var basert på et relativt lite prøvemateriale: lever fra 5-6 individer torsk fra hver prøvegruppe, samt enkelt batcher av kommersielt produsert råtran og oppdrettsfôr. Forsøkene må derfor vurderes ut fra dette, hvor resultatene mine kan ikke gi en generell vurdering eller anbefaling for alle lignende produkter. Da torskens lipidsammensetning endres gjennom livssyklus og årstidsvariasjoner vil forekomme vil resultatene fra disse undersøkelsene bare gi et bilde for de undersøkte individene som ble undersøkt i perioden oktober 2022 - april 2023. Mine resultater vil kunne gi et generaliserende bilde på fettinnholdet/sammensetning av prøvemateriale som ble analysert, og ikke generelt for all oppdrettstorsk og skrei som helhet. For å få et helhetlig bilde, med mulighet for etterprøving, ville det være interessant med et større undersøkelses grunnlag med flere individer, tran fra flere produksjonsbatcher og analysert flere paralleller. Forsøkene utført til dette arbeidet ble gjennomført i en begrenset tidsperiode. Dette har vært å påvirke innøving av metodene som ble brukt og det ble bare foretatt nødvendig antall forsøk for å kunne samle et grunnlag for gjennomsnittlig resultatgrunnlag.

For å gå videre fra funnene fra denne oppgaven ville det vært interessant å sammenligne fettprofilen til ferdigraffinerte tran-produkter produsert av lever fra oppdretts- og villtorsk. I den forbindelse ville det være spennende å se på eventuelt innhold av kontaminanter, tungmetaller og lignende og hvordan disse varierer for de ulike produktene. Her tenker jeg det ville være interessant å se på hvor mye FA som går tapt under raffineringprosessen. Ellers kunne det vært spennende å se på muligheten for å bruke tran fra oppdrettstorsk som lipidkilde i industrielt oppdrettsfôr.

Til fremtidig forskning kan det være interessant å arbeide mer med metodeutvikling. Til denne oppgaven ble brukt mye tid til metodeprøving for å ekstrahere fett ut fra prøvematerialet. Det ville også vært interessant å se nærmere på og optimalisere kjente ekstraksjonsmetoder med særlig vekt på grønne ekstraksjonsmetoder som kan gi optimal ekstraksjon av fettriakt prøvemateriale som torskelever og tran er.

5 Konklusjon

Formålet med denne oppgaven var å sammenligne tran fra oppdrettet og vill torsk med å se på hvordan fettsyreprofilen i tran fra oppdrettstorsk skilte seg ut fra så vill torsk sett i lys av fett- og fettsyreinnehold samt kvalitetsparametere. Dette arbeidet viste variasjoner i fettprofilen i råtran av oppdrettstorsk kontra råtran av vill torskefisk. Mye av variasjonene kan spores tilbake til fiskens næringskilder, og man ser en større andel n-3 LC-PUFA i produkter av vill torskefisk med marine proteiner og lipider som primær næringskilde. Fettsyrene i råtran fra oppdrettstorsk viste en større andel fettsyrer karakteristisk for vegetabiliske oljer, som også var gjeldende i undersøkt oppdrettsfôr til torsk, sammenlignet med produkter av vill torsk. Funnene viser dog at råtran både fra oppdretts- og villtorsk er gode kilder til de essensielle fettsyrene EPA og DHA og innfrir anbefalt daglig mengde n-3 LC-PUFA selv ved små mengder. Både undersøkt råtran fra oppdrettstorsk og vill torskefisk produsert av VMO ligger godt innenfor European Pharmacopoeias (2018) grenseverdier for hvor mye EPA og DHA raffinert tran skal inneholde. Fettsyreprofilen i undersøkt torskelever, VMO-produsert og labskalaprodusert råtran viste seg å bli lite påvirket ved eksponering av varme og syre. Dette indikerer at valg av produksjonsmetode for tran virker ikke til å skade tranens fettsyreinnehold. Fett ekstrahert fra undersøkt skreilever viste seg som et godt eksempel på at marine lipider er særlig sårbare for kvalitetsforringelser grunnet sine lange kjeder og mange dobbeltbindinger og er et kritisk produksjonspunkt som man må være obs på.

Ved fremtidig forskning vil det være aktuelt å se nærmere på valg av ekstraksjonsmetode da dette kan være med å påvirke fettutbytte fra torskeleveren. I hvilken grad metodene er innøvd og hvordan en å evner å utføre metodene er avgjørende og kan være med å påvirke resultatene i en negativ forstand.

Referanseliste

- Aas, G. H., T. Barnung & M. Kjerstad (2011). Biråstoff fra oppdrettstorsk. Kvalitet, holdbarhet og marked for lever Møreforskning 46.
- Aas, G. H., M. Kjerstad & T. Barnung (2016). "Quality and Shelf Life of Liver of Farmed Cod (*Gadus morhua*)." *Journal of Aquatic Food Product Technology* **25**(7): 1064-1072. <https://doi.org/10.1080/10498850.2015.1010245>
- Abreu, S., Solgadi, A. & Chaminade, P. (2017) Optimization of normal phase chromatographic conditions for lipid analysis and comparison of associated detection techniques. *Journal of Chromatography A*, 1514, 54-71.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.07.063>
- Alfredsen, O. (2016). Torsk fanget på ulike tider av året. Vekt-og kvalitetsendringer når torsken levendelagres uten fôring, UiT The Arctic University of Norway.
- Bang, H., J. Dyerberg and H. M. Sinclair (1980). "The composition of the Eskimo food in north western Greenland." *The American journal of clinical nutrition* **33**(12): 2657-2661. <https://doi.org/10.1093/ajcn/33.12.2657>
- Breistein, B., G. Dahle, T. Johansen, F. Besnier, M. Quintela, P. E. Jorde, H. Knutsen, J. I. Westgaard, K. Nedreaas & E. Farestveit (2022). "Geographic variation in gene flow from a genetically distinct migratory ecotype drives population genetic structure of coastal Atlantic cod (*Gadus morhua* L.)." *Evolutionary Applications* **15**(7): 1162-1176. <https://doi.org/10.1111/eva.13422>
- Choe, E. & D. B. Min (2006). "Mechanisms and factors for edible oil oxidation." *Comprehensive reviews in food science and food safety* **5**(4): 169-186.
<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x>
- Couturier, L. I., L. N. Michel, T. Amaro, S. M. Budge, E. Da Costa, M. De Troch, V. Di Dato, P. Fink, C. Giraldo & F. Le Grand (2020). "State of art and best practices for fatty acid analysis in aquatic sciences." *ICES Journal of Marine Science* **77**(7-8): 2375-2395. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa121>
- Christie, W.W. & Han, X., (2010) The preparation of methyl and other esters of fatty acids. *Lipid Analysis*. 4th edition; Oily Press; Dundee, Scotland.: pp. 146-152
- Dahle, G., K. E. Jørstad, T. van der Meeren & T. Svåsand (2011). Oppdrettet torsk sin innflytelse på vill torsk og mulige løsninger for overvåkning. Bergen Havforskningsinstituttet: 19.

- Dalheim, L. (2021). Porosira glacialis as a possible source of lipids for human consumption and aquaculture feed, UiT The Arctic University of Norway, Faculty of Biosciences, Fisheries and Economics, The Norwegian College of Fishery Science.
- Durmus, M. (2019). "Fish oil for human health: omega-3 fatty acid profiles of marine seafood species." *Food Science and Technology* **39**: 454-461. <https://doi.org/10.1590/fst.21318>
- Dyerberg, J., H. Bang, E. Stoffersen, S. Moncada & J. Vane (1978). "Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis?" *The Lancet* **312**(8081): 117-119. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(78\)91505-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(78)91505-2)
- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and Allergies (2012). "Scientific opinion on the tolerable upper intake level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA)." *EFSA Journal* **10**(7): 2815. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2815>
- European Pharmacopoeia (9.0th); Council of Europe, European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM): Strasbourg, France, 2018.
- Feng, H., X. Huang, J. Tai, X. Liang, F. Zhang & H. Zhang (2020). Lipids Analysis and Rapid Identification of Cod Products. Weinheim, Fed. Rep. of Germany :: 1900444. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900444>
- Fiskeridirektoratet (2023). "Uttak av slaktet torsk 2018-2023." Biomassestatistikk for torsk from <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Tall-og-analyse/Biomassestatistikk/biomassestatistikk-for-torsk>.
- Folch, J., Lees, M. & Stanley, G.H.S. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, **226**, 497-509.
- Forskrift om kvalitet på fisk og fiskevarer (2013). Forskrift om kvalitet på fisk og fiskevarer. **FOR-2013-06-28-844**.
- Garrido, D., N. Kabeya, M. B. Betancor, J. A. Pérez, N. G. Acosta, D. R. Tocher, C. Rodríguez & Ó. Monroig (2019). "Functional diversification of teleost Fads2 fatty acyl desaturases occurs independently of the trophic level." *Scientific reports* **9**(1): 11199. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47709-0>
- Grefsrud, E. S., L. B. Andersen, P. A. Bjørn, B. E. Grøsvik, P. K. Hansen, V. Husa, Ø. Karlsen, B. O. Kvamme, O. B. Samuelsen, N. Sandlund, M. F. Solberg & L. H. Stien (2022). Risikoreport norsk fiskeoppdrett 2022 - risikovurdering — Effekter på miljø og dyrevelferd i norsk fiskeoppdrett, Havforskningsinstituttet.

- Hansen, J. O., G. M. Berge, M. Hillestad, A. Krogdahl, T. F. Galloway, H. Holm, J. Holm & B. Ruyter (2008). "Apparent digestion and apparent retention of lipid and fatty acids in Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed increasing dietary lipid levels." *Aquaculture* **284**(1-4): 159-166. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.043>
- Havforskningsintitutet. (2019, 2023). "Torsk - nordøstarktisk (skrei) ", 2019, fra <https://www.hi.no/hi/temasider/arter/torsk-nordostarktisk-skrei>.
- Heide, M., T. N. Ageeva, M. Esaiassen, Ø. Hermansen, A. Hustad, S. Joensen, O. Johansen, S. Kristoffersen, E. Nikitina & G. Martinsen (2022). "Det kommersielle potensialet til oppdrettstorsk–Innledende undersøkelser om kvalitet, markedsoppfattelse og økonomi." Nofima rapportserie.
- Henriksen, E., M. Heide, Ø. J. Hansen & A. Mortensen (2018). "Kunnskaps-og erfaringsgrunnlag for torskeoppdrett." Nofima rapportserie.
- Huss, H. H., T. Boerresen, P. Dalgaard, L. Gram & B. Jensen (1998). "Quality and quality changes in fresh fish." FAO, Documento Tecnico de Pesca (FAO).
- Jobling, M. & O. Leknes (2010). "Cod liver oil: feed oil influences on fatty acid composition." *Aquaculture International* **18**(2): 223-230.
- Larsen, R., S. K. Stormo, K.-E. Eilertsen, H. K. Mæhre, I.-J. Jensen, B. Østerud & E. O. Elvevoll (2010). "Prosessering av sjømat–Endring i næringsinnhold, biotilgjengelighet og helseeffekter."
- Liao, J., Q. Xiong, Y. Yin, Z. Ling & S. Chen (2022). "The effects of fish oil on cardiovascular diseases: systematical evaluation and recent advance." *Frontiers in Cardiovascular Medicine* **8**: 1959. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.802306>
- Lynum, L. (2005). Videreførdling av fisk. Trondheim, Tapir akademisk forl.
- Lynum, L. & T. Rustad (1997). Fisk som råstoff : holdbarhet og kvalitetssikring. Trondheim, Tapir.
- Matvaretabellen. (2022). "Lever, torsk, rå ", 2023, fra <https://www.matvaretabellen.no/fisk-og-skalldyr-g4/lever-torsk-raa-04.051>.
- Mello, L. and G. Rose (2005). "Seasonal cycles in weight and condition in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) in relation to fisheries." *ICES Journal of Marine Science* **62**(5): 1006-1015. <https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2005.03.008>
- Møller, F. P. & P. M. Heyerdahl (1895). Cod-liver oil and chemistry, P. Möller.
- Mørkøre, T., C. Netteberg, L. Johnsson & J. Pickova (2007). "Impact of dietary oil source on product quality of farmed Atlantic cod, *Gadus morhua*." *Aquaculture* **267**(1-4): 236-247. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.01.033>

- Mørkøre, T., T. Ytrestøyl & B. Ruyter (2008). "Leverkvalitet hos oppdrettstorsk. Statusrapport." Nofima rapportserie.
- Olsen, G., Vesterålen Marine Olje (2023). Personlig kommunikasjon ved bedriftsbesøk.
- Olsen, R. L. (2017). Lipidkjemi : med vekt på fisk. Tromsø, Universitetet i Tromsø.
- Olsen, R. L., J. Toppe & I. Karunasagar (2014). "Challenges and realistic opportunities in the use of by-products from processing of fish and shellfish." *Trends in Food Science & Technology* **36**(2): 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.01.007>
- Pedersen, T. (1983). Prosesser og produkter i norsk fiskeindustri : 5 : Hermetisering, foredling av lodde, fiskemel og fiskeproteinkonsentrat, fiskeoljer og tran, biprodukter. Oslo, Universitetsforlaget.
- Pike, O. A. & S. O'Keefe (2017). "Fat characterization." *Food analysis*: 407-429.
- Puvanendran, V., A. Mortensen, L. H. Johansen, A. Kettunen, O. J. Hansen, E. Henriksen & M. Heide (2022). "Development of cod farming in Norway: Past and current biological and market status and future prospects and directions." *Reviews in Aquaculture* **14**(1): 308-342. <https://doi.org/10.1111/raq.12599>
- Råfisklaget. (2022). "Statistikk - Detaljer ", fra <https://www.rafisklaget.no/statistikk-detaljer>.
- Sargent, J., J. Bell, M. Bell, R. Henderson & D. Tocher (1995). "Requirement criteria for essential fatty acids." *Journal of applied Ichthyology* **11**(3/4): 183-198. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1995.tb00018.x>
- Sissener, N. H. (2018). "Are we what we eat? Changes to the feed fatty acid composition of farmed salmon and its effects through the food chain." *Journal of Experimental Biology* **221**(Suppl_1): jeb161521. <https://doi.org/10.1242/jeb.161521>
- Standal, I. B., A. Praël, L. McEvoy, D. E. Axelson & M. Aursand (2008). "Discrimination of cod liver oil according to wild/farmed and geographical origins by GC and ¹³C NMR." *Journal of the American Oil Chemists' Society* **85**: 105-112. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1174-x>
- Tocher, D. R. (2003). "Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish." *Reviews in fisheries science* **11**(2): 107-184. <https://doi.org/10.1080/713610925>
- Tocher, D. R. (2015). "Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective." *Aquaculture* **449**: 94-107. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.010>

- Turner, R., C. H. McLean & K. M. Silvers (2006). "Are the health benefits of fish oils limited by products of oxidation?" *Nutrition research reviews* **19**(1): 53-62.
<https://doi.org/10.1079/NRR2006117>
- Vesterålen Marine Olje. (U.å.). "Om Vesterålen Marine Olje ", fra
<https://vesteraalenmarineolje.no/om-oss/>.
- Xu, H., G. M. Turchini, D. S. Francis, M. Liang, T. S. Mock, A. Rombenso & Q. Ai (2020). "Are fish what they eat? A fatty acid's perspective." *Progress in Lipid Research* **80**: 101064. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2020.101064>
- Yang, L. G., Z. X. Song, H. Yin, Y. Y. Wang, G. F. Shu, H. X. Lu, S. K. Wang & G. J. Sun (2016). "Low n-6/n-3 PUFA ratio improves lipid metabolism, inflammation, oxidative stress and endothelial function in rats using plant oils as n-3 fatty acid source." *Lipids* **51**: 49-59. <https://doi.org/10.1007/s11745-015-4091-z>
- Ytrestøyl, T., T. S. Aas & T. Åsgård (2015). "Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway." *Aquaculture* **448**: 365-374.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.023>
- Zheng, S., M. Qiu, J. H. Wu, X.-f. Pan, X. Liu, L. Sun, H. Zhu, J. Wu & Y. Huang (2022). "Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of heart failure." *Therapeutic advances in chronic disease* **13**: 20406223221081616. [https://doi-org/10.1177/20406223221081616](https://doi.org/10.1177/20406223221081616)

