



UiT Norges arktiske universitet

Norges Fiskerihøgskole

Påvirkning av biokjemisk sammensetning og påslag av lakselus i oppdrettslaks (*Salmo salar*) ved tilsetning av kiselalger (*Porosira glacialis*) i fôret.

Mads Melingen – FSK-3960

Masteroppgave i Fiskeri og Havbruksvitenskap (60 stp.). Mai 2024.

Innholdsfortegnelse

1	Sammendrag	10
2	Introduksjon	1
2.1	Lipider	3
2.2	Terrestriske ingredienser	5
2.3	Antinæringsstoffer	5
2.4	Aminosyrer	6
2.5	Kiselalger – <i>Porosira glacialis</i>	8
2.6	Fiskevelferd	9
2.6.1	Lakselus – <i>Lepeophtheirus salmonis</i>	9
2.7	Metaller og mineraler	11
2.8	Formål med oppgaven	12
3	Materiale og metode	12
3.1	Forsøksdesign	12
3.2	Prøveuttak	13
3.3	Fôrsammensetning og næringsinnhold	14
3.4	Kjemikalier	15
3.5	Vekst	15
3.6	Analysen for biokjemisk sammensetning	16
3.6.1	Vann- og askeinnhold	16
3.6.2	Proteininnhold – aminosyresammensetning	16
3.6.3	Lipidekstraksjon med etylacetat	17
3.6.4	Fettsyreinnhold	17
3.7	Lusesmitte	18
3.8	Mineral- og metallanalyse	18
3.9	Statistikk	19
4	Resultater	20

4.1	Biokjemisk sammensetning.....	20
4.2	Vekst.....	21
4.3	Fettsyreinnhold	23
4.4	Aminosyreinnhold	29
4.5	Lusesmitte.....	30
4.6	Mineral- og metallanalyse	31
5	Diskusjon.....	32
6	Konklusjon	37
7	Referanseliste	38

Tabeller

Tabell 1: Utdrag av Nofima sin oversikt over gjennomsnittlig fettsyre- og aminosyreinnhold i Norsk oppdrettslaks. Aminosyrer (%) i filét samlet inn sommer og vinter. Aminosyreene er gitt som dehydrerte residual (snitt \pm S.E.M., n=4). Fettsyrer i filét av laks samlet inn sommer og vinter (% av våtvekt, snitt \pm S.E.M., n=4) (Adoptert fra Aas et al., 2022).	4
Tabell 2: Tilstedeværelse av antinæringsstoffer i diverse plantemel, eksempelvis brukes flere som tilsetninger i fiskefôr. Bokstaven x indikerer en inhibitor som kan virke hemmende for vekst og helse for fisk (Utdrag fra Krogdahl et al., 2015, adoptert fra Tacon 1997 og Francis et al., 2001).	6
Tabell 3: Listeføring av essensielle aminosyrer (EAA) og ikke-essensielle aminosyrer (IEAA) (Adoptert fra Joblin, 2001).	7
Tabell 4: Oversikt over fettsyreprofil fra kiselalgen <i>Porosira glacialis</i> i arealprosent \pm standardavvik (Utdrag fra Svenning et al., 2020).	8
Tabell 5: Hendelsesforløp for forsøket. SV er forkortelse for saltvann. (Anette Hustad, personlig kommunikasjon, 5.4.2024).	13
Tabell 6: Sammensetning av fôr for gruppe A0, A1 og A3. Tabellen omfatter 6 forskjellige typer fôr som er tilpasset økning i fiskevekt, pelletstørrelse 4 og 7 mm. Mikroingredienser omhandler vitaminer, mineraler, aminosyrer, pigmenter etc. (Cargill; Anette Hustad, personlig kommunikasjon, 5.4.2024).	14
Tabell 7: Gjennomsnittlige verdier av vann-, aske-, fett- og proteininnhold ($\% \pm$ standardavvik) for A0 (0% tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr og A3 (3% tilsetning av alger i fôr). Ved de tre forskjellige datoene for uttak av forsøksindivider T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024).	20
Tabell 8: Gjennomsnittlige verdier og variasjon av lengde (cm), vekt (g), kondisjonsfaktor ($VL3 \times 100$) og SGR ($\ln VT2 - \ln VT0T2 - T0 \times 100$). Kondisjonsfaktor angir om hvorvidt fisken er fet ved å dividere vekt med lengde ³ . SGR er en vekstrate som setter tall på fiskens vekst over tid. Den regnes ut ved å subtrahere \ln (nåværende vekt) og \ln (startvekt) og dividere på antall dager (nåværende dato – startdato). Alle målene er basert på de tre uttakene T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Ved hvert uttak er tilfeldige forsøksindivider fra hver fôrgruppe A0 (0% tilsetning alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr) plukket ut for videre undersøkelser. Antall forsøksindivider (n=) varierer.	22

Tabell 9: Gjennomsnittlig fettsyreinnhold i areal (%) \pm standardavvik. Fettsyrer er ekstrahert fra filét fra forsøksindivider fra gruppene A0 (0 % tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr). Analyser er basert på tre uttak av fisk ved forskjellige tidspunkt: T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Forkortelser i tabell er som følger: SFA (metter fettsyre), MUFA (enumettete fettsyrer), PUFA (flerumettet fettsyre), FA (fettsyre), LC (langkjedet), ID (ikke identifisert fettsyre). Samtlige verdier er basert på sammenlagt data for 5 tilfeldige forsøksindivider fra adskilte kar. Til sammen over T0, T1 og T2 blir utgjør dette n=15. Verdiene for A0, A1 og A3 stammer fra 5 tilfeldige utvalgte forsøksindivider fra hvert uttak (derav n=15), hvor tre paralleller utgjør presentert verdi i et gjennomsnitt. 24

Tabell 10: Gjennomsnittlig fettsyreinnhold gram / 100 gram filét \pm standardavvik. Fettsyrer er ekstrahert fra filét fra forsøksindivider fra gruppene A0 (0 % tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr). Analyser er basert på tre uttak av fisk ved forskjellige tidspunkt: T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Forkortelser i tabell er som følger: SFA (metter fettsyre), MUFA (enumettet fettsyre), PUFA (flerumettet fettsyre), FA (fettsyre), LC (langkjedet), ID (ikke identifisert fettsyre). Samtlige verdier er basert på sammenlagt data for 5 tilfeldige forsøksindivider fra adskilte kar. Til sammen over T0, T1 og T2 blir utgjør dette n=15. Verdiene for A0, A1 og A3 stammer fra 5 tilfeldige utvalgte forsøksindivider fra hvert uttak (derav n=15), hvor tre paralleller for hvert forsøksindivid er regnet frem til et gjennomsnitt som utgjør verdi. 28

Tabell 11: Mengde aminosyrer målt i mg aminosyre / gram filét \pm standardavvik. Prøver fra homogenisert filét fra alle tre fiskegruppene A0 (0% tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr). Prøver er basert på uttak av fisk ved tre forskjellige tidspunkt T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Ved hvert uttak er fem tilfeldig utvalgte forsøksindivider fra hver fôrgruppe fjernet for analyse, til sammen tilsvarer dette n=15. Forkortelser i tabell er som følger: Σ EAA: Sum essensielle aminosyrer. Σ IEAA: Sum ikke-essensielle aminosyrer. Σ TAA: Sum totale aminosyrer. 30

Tabell 12 : Oversikt over mineraler og metaller i henholdsvis kiselalgen *Porosira glacialis* og fôrgruppene A0 (0% alger i fôr), A3 (3% alger tilsatt i fôr) og gjennomsnitt fra Norsk oppdrettsvirksomhet av Atlantisk laks. Alle forsøksindivider for følgende analyse er fra T2 (9.1.2024). Data hentet fra Sjømatdata.no og er basert på funn fra Havforskningsinstituttet (Bernard et al., 2022; NIFES, 2023). 31

Figurer

Figur 1: Global årlig vekstrate i akvakulturproduksjon fra 1990-2020 (FAO.org, 2022).....	2
Figur 2: Oversikt over hovedingredienser anvendt i Norsk akvakultur fra 1990 til 2020 i prosentandel. «Annet» utgjør mikroalger, fermenterte produkter, encellede proteiner og insektsmel (Ytrestøyl, et al., 2015; Aas et al., 2022).	2
Figur 3: Gjennomsnittlig vekst i gram for A0 (0% tilsetning av alger), A1 (1% tilsetning av alger) og A3 (3% tilsetning av alger) fordelt over uttaksdatoene T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024).....	23
Figur 4: Gjennomsnittlig fettinnhold i prosent fordelt i fôrgruppene A0 (0% tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr) fordelt på uttaksdatoene T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024).....	26
Figur 5: Innhold av PUFA (flerumettede) fettsyrer i % av totalt fettinnhold, inkludert sammenlagte verdier av PUFA for fôrgruppene A0 (0% tilsetning av alger i fôret), A1 (1% tilsetning av alger i fôret) og A3 (3% tilsetning av alger i fôret), fordelt på uttaksdatoene T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Linolsyre (LA) C18:2 n-6, lionolensyre (ALA) C18:3 n-3, stearionsyre (SDA) C18:4 n-3, eikosadiensyre (EDA) C20:2 n-6, eikosapentaensyre (EPA) C20:5 n-3, dokosapentaensyre (DPA) C22:5 n-3, dokosapentaheksaensyre (DHA) C22:6 n-3.....	27

**Påvirkning av biokjemisk sammensetning og påslag av lakselus i
oppdrettslaks (*Salmo salar*) ved tilsetning av kiselalger (*Porosira glacialis*) i
fôret.**

Mads Melingen

Masteroppgave i Fiskeri og Havbruksvitenskap (60 stp.). Mai 2024.

Norges Fiskerihøgskole

Fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi

UiT Norges arktiske universitet



Forord

Det er en lang liste med personer som skal ha en stor takk for bidrag og stor hjelp for fullførelsen av dette prosjektet. Edel O. Elvevoll har vært en veileder på nivå med Nils Gaup og kommet med gode forslag og tips i en ellers travel hverdag. Karl-Erik Eilertsen har vært en god støttespiller, spesielt angående statistikk og vist seg som det statistikk-geniet han er. Guro Kristine Edvinsen og Tone Friis Aune skal begge ha en stor takk for alle instruksene og hjelpen de har kommet med under arbeid på laboratoriet. Uten dem hadde ikke dette latt seg gjøre. Anette Hustad og teamet fra Nofima har vært gode hjelpere under ekskursionene til Kårvika og lært meg mye underveis. Mine medstudenter skal også ha en stor takk for motivasjon i utfordrende perioder. Familie og kjæreste skal også nevnes som gode støttespillere.

1 Sammendrag

Oppdrettsnæringen har opplevd en eventyrlig vekst, og etterspørselen etter bærekraftig proteinrik sjømat øker. Dette er vel og bra, men det finnes enda store utfordringer med dagens praksis. Høye produksjonskostnader og et lusepress man ikke vil være bekjent med er bare noen av dem. Samtidig er mye av fôret man bruker basert på villfiskbestander. Fôret man bruker har også en høy andel vegetabiliske ingredienser, noe som ikke er problemfritt for laksens biologi. De marine ingrediensene utgjør nå bare omkring 22% av fôrets sammensetning. Om akvakultur som industri skal øke i Norge vil det være fordelaktig å redusere andelen terrestriske ingredienser, og øke andelen marine. I denne studien ble tre grupper Atlantisk laks (*Salmo salar*) fôret opp med 3 forskjellige fôrsammensetninger bestående av forskjellige nivåer tilsetning av kiselalgen *Porosira glacialis*. Fôrgruppe A0 med 0% tilsetning, fôrgruppe A1 med 1% tilsetning og fôrgruppe A3 med 3% tilsetning, ble alle utsatt for lik behandling og prosedyre og utsatt for smitteforsøk med lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*). Fisk ble ved tre anledninger tatt ut fra kar for nærmere undersøkelser og for å overvåke utvikling av biokjemiske parametere. Formålet med forsøket var å undersøke hvilken påvirkning og i hvilken grad, innhold av *P. glacialis* ville ha for fett- og proteininnhold, aske- og vanninnhold, vekt, lengde og påfølgende data, og ikke minst smitte av lakselus. Prøver av filét fra fôrgruppe A0 og A3 ble også sendt til Havforskningsinstituttet i Bergen for metall- og mineralanalyse. Innhold av *P. glacialis* viste ingen forskjeller for vekst og lengde data og påfølgende K-faktor og spesifikk vekstrate, som indikerer at fôret utgjør er like godt som vanlig anvendt kommersielt laksefôr. Algefôret viste heller ingen forskjeller for aske- og vanninnhold eller generell fett- og proteinprosent av filét. Dette indikerer at fôr tilsatt alger vil resultere i lik funksjon for generell vekst som vanlig anvendt laksefôr. Ved spesifikke fettsyreanalyser ble det identifisert enkelte forskjeller. Andelen PUFA var signifikant høyere for fisk fôret med alger, spesielt for fôrgruppe A1. Det samme resultatet viste seg for n-3 LC PUFA. Ved spesifikke aminosyreanalyser kom det frem at Σ TAA viste høyere nivåer ved fôrgruppe A1 sammenlignet med fôrgruppe A0. Ved Σ EAA kom det frem at ved tidlige uttak av fisk, var det forskjeller mellom alle fôrgruppene, også her var fôrgruppe A1 representert med høyest andel. Ved lusesmitte viste fôrgruppe A1 og A3 forskjeller fra A0 med 35-40% mindre lusepåslag. Mineral- og metallanalyser av samleprøver viste et høyere innhold i fôrgruppe A3 sammenlignet med fôrgruppe A0 av elementer som viste høye verdier i *P. glacialis*.

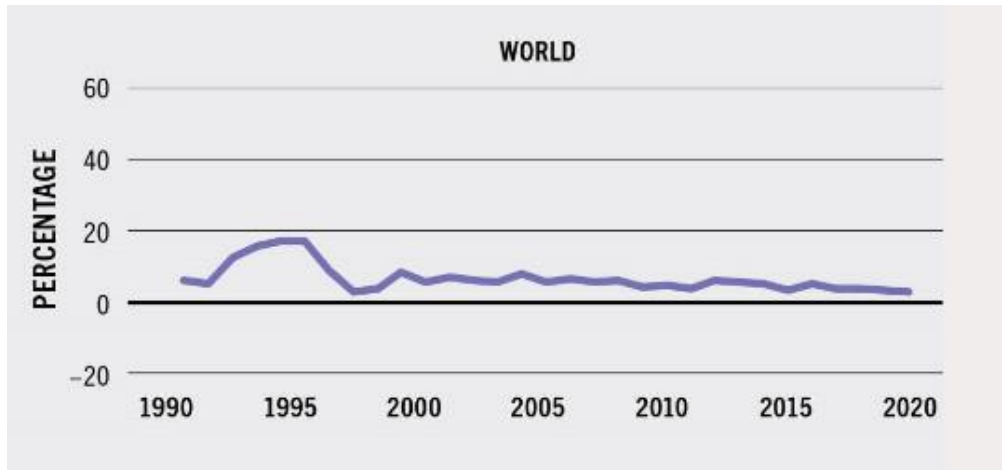
Abstract

The aquaculture industry has experienced a significant growth. Meanwhile, the demand for protein-rich seafood is increasing, which is good news, but there are still challenges related to other elements of production. High production costs and a significant challenge related to salmon lice infection to name a few. Meanwhile, much of the feed being used is based on wild stocks. The feed also contains a large degree of terrestrial ingredients, which poses a biological challenge for salmon. The marine ingredients constitute about 22% of the total feed composition. If the aquaculture industry is set on further expansion, it will be favorable to reduce the amount of terrestrial ingredients and increase marine composition. In this study, three groups of Atlantic salmon (*Salmo salar*) were fed using three different feed compositions with different levels of addition of the diatom *Porosira glacialis*. Feed group A0 with 0% addition, A1 with 1% and A3 with 3% were all treated equally and exposed to an infection study with salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*). On three occasions, fish were sampled from the holding tank for further analysis and to examine development of different biochemical parameters. The purpose of this project was to examine the effects, and to what extent, the inclusion of *P. glacialis* would play regarding fat- and protein content, ash- and water content, weight, length and sequential data, and last but not least – infection of salmon lice. The Institute of marine research performed metal- and mineral analysis for feed groups A0 and A3. The inclusion of *P. glacialis* made no difference regarding weight and length and the sequential factor of condition and specific growth rate, which indicates that the feed with algae provides an equal basis for growth compared to standard commercial salmon feed. The algae feed did not show any differences regarding ash- and water content, nor general fat- and protein content. Concerning specific fatty acid analysis, certain differences arose. The amount of PUFA was significantly higher in fish fed with algae, especially for feed group A1. The same result arose regarding content of n-3 LC PUFA. Regarding specific amino acid analysis, Σ TAA showed higher levels in feed group A1 compared to feed group A0. Σ EAA showed significant differences between all feed groups in earlier examinations (T0), with feed group A1 showing the highest levels. The results from salmon lice infection trials showed a significant lower level of infestation (35-40%) in feed groups A1 and A3 as opposed to feed group A0. Metal- and mineral analysis (pooled samples of A0 and A3) showed that elements which are present in *P. glacialis* were found in elevated levels in samples from feed group A3 compared to feed group A1.

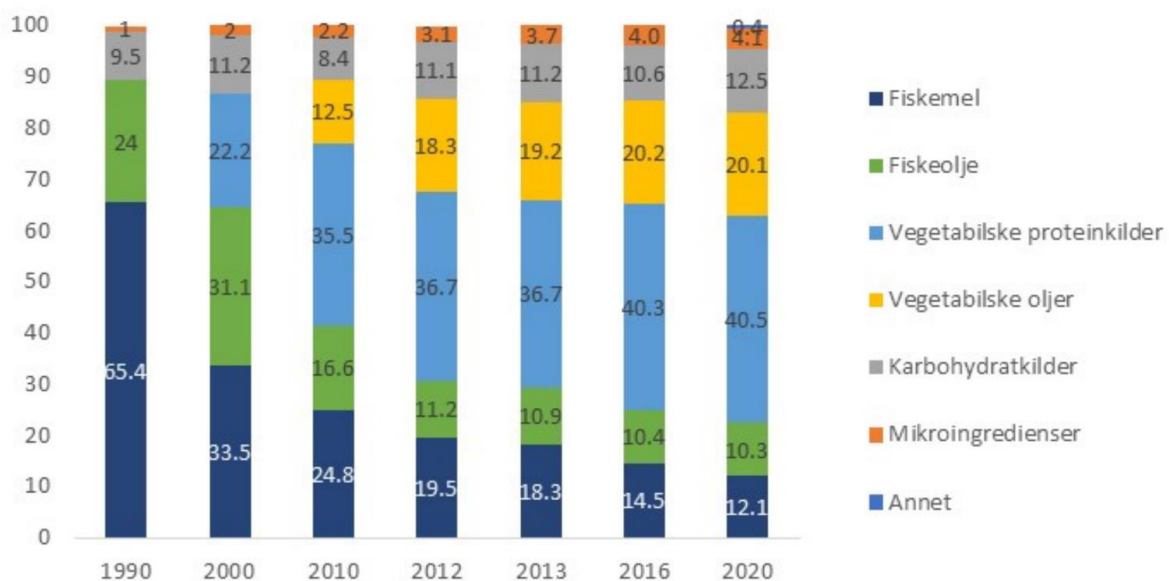
2 Introduksjon

Verdens befolkning øker stadig og dette er ikke uproblematisk. En økende befolkning vil kreve mer mat (Costello et al., 2020), og det anslås at det allerede er over 850 millioner mennesker som lever med underernæring (FAO, 2023). Fisk og andre akvatiske organismer er hovedkilden til protein for rundt 950 millioner mennesker verden over og spiller en viktig rolle i kostholdet til mange flere. Eksempelvis står fisk alene for omkring 16% av det animalske proteinet konsumert av mennesker (Pradeepkiran, 2019). Fra 1961 har konsum av sjømat økt årlig med 3%, sammenlignet med en årlig populasjonsvekst på ca. 1,6%, noe som resulterte i et globalt sjømatkonsum med 9,9 kg per person på 60-tallet. Trenden fortsatte i de påfølgende tiår med 11,4 kg per pers. på 70-tallet, 12,5 kg per pers. på 80-tallet og 14,4 kg per pers. på 90-tallet, 17,0 kg per pers. på 00-tallet, 19,6 kg per pers. på 10-tallet og rekordhøye 20,5 kg per pers. i 2019 (FAO, 2022). I de senere tiårene av 1900-tallet ble det globale konsumet av sjømat nærmest doblet. Etterspørselen etter sjømat har for lengst overgått verdens fiskerier og man er avhengig av akvakultur for å forsyne etterspørselen (FAO, 2022). Næringsinnhold, innhold av næringsstoffer (og fettsyresammensetning) er viktige parametere innenfor enhver produksjon av mat. I akvakultur har problemstillingen fått mye oppmerksomhet, da spesielt omhandlende bruk av planteproteiner og karbohydrater i fôr da det ikke er en naturlig del av Atlantisk laks sin diett (Panserat et al., 2013). Sammenlignet med konvensjonell oppdrettslaks, vil villaks i stor grad inneholde en større andel marine n-3 fettsyrer som EPA og DHA sammenlignet med den totale andelen FA (Jensen et al., 2020). I følge Nofima består et laksefôr anvendt i Norsk akvakultur av 40,5% vegetabiliske proteinkilder, 20,1% vegetabiliske oljer, 12,5% karbohydratkilder, 12,1% fiskemel, 10,3% fiskeolje, 4,1% mikroingredienser (vitaminer, mineraler, pigment etc.) og 0,4% insektmel/encellede proteiner/fermenterte produkter/mikroalger (Aas et al., 2022). Utfordringen for oppdrettsnæringen ligger her i å anskaffe seg marine næringsstoffer til en akseptabel pris og i tilstrekkelige mengder. Plantebaserte ingredienser har vist seg å være anvendbare fôringredienser, men produseres utenlands og må som en konsekvens importeres. Det er estimert at bare 8% av fôringrediensene som brukes i Norsk akvakultur er produsert innenlands (fiskemel og fiskeolje), mens de resterende ingrediensene er importert (Aas et al., 2022). Det er et generelt økende behov for bærekraft, lavere utslipp av klimagasser og foravtrykk i matvareindustrien, og spesielt iht. til dyreprodukter og kjøtt. Norsk akvakultur er intet unntak og dette setter spørsmålstegn til dagens praksis angående råvareingredienser. Burde det produseres mer lokalt? Burde man bruke mer marine råvarer? Marine råvarer har lenge vært å anse som mindre bærekraftige i fiskefôr-

sammenheng, men om en ingrediens er fra havet eller fra land, forteller lite om dens bærekraft. Bærekraft er et komplisert begrep og involverer flere variabler (Aas et al., 2022). I den sammenheng er det aktuelt å rette søkelyset mot alternative marine ingredienser, gjerne lavere i næringskjeden som vil kunne øke graden av bærekraft (Hauge et al., 2021).



Figur 1: Global årlig vekstrate i akvakulturproduksjon fra 1990-2020 (FAO.org, 2022).



Figur 2: Oversikt over hovedingredienser anvendt i Norsk akvakultur fra 1990 til 2020 i prosentandel. «Annet» utgjør mikroalger, fermenterte produkter, encellede proteiner og insektsmel (Ytrestøy, et al., 2015; Aas et al., 2022).

En annen utfordring for oppdrettsnæringen er det økende lusepresset oppdrettere lang kysten opplever (Nilsen et al., 2023). Lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) er en parasitt, hoppekreps eller kopepode, som angriper laksens hud og anriker seg på fiskens slimlag og blod. Lakselus og lusepåslag har eksistert i lang tid, også på vill fisk, men med storstilt oppdrett blir mengdene

problematiske iht. dyrevelferd. Teorien om at en algebasert diett vil påvirke påslaget av lakselus på Atlantisk laks har blitt testet tidligere (Eilertsen et al., 2021). Oksylipiner er metabolitter (fra fettsyrer) som er å finne i flere marine algevekster, og har vist tendenser til å virke avskrekkende på diverse krepsdyr av lignende art til lakselus (Ianora et al., 2010; Strønen Riise, 2019). Bekjempelse av lakselus er ikke noe nytt, Norske myndigheter har lagt press på Norske oppdrettere i et insentiv for å holde smittepresset på både oppdrett- og villfisk på et lavt, akseptabelt nivå. Av tiltak mot påslag av lakselus, bruker oppdrettere rensefisk og forskjellige former avlusningsmetoder. Tiltak mot lakselus er dyrt, både økonomisk og biologisk, og noen av metodene etisk betenkelige (Ellingsen-Dalskau, 2022). I 2017 ble det estimert at lakselus generelt utgjorde kostnader på 7,63 NOK per kg produsert, til sammen omkring 11,2 milliarder NOK (Kaldheim et al., 2019). Det er i den sammenheng ønskelig å undersøke om hvordan innblanding av en større mengde marine næringsstoffer i form av kiselalger fra Finnfjord AS, vil påvirke den biokjemiske sammensetningen av filét av Atlantisk laks, i tillegg til påvirkning på lusepåslag.

2.1 Lipider

Akvakultur blir ofte sett på som et mer miljøvennlig alternativ til villfisk, i et ledd for å hindre overfiske og artsutryddelse (Sintef u.å.) I teorien stemmer det, men akvakultur og fiskeri er i mange tilfeller uadskillelige fra konsumentens perspektiv, to produkter fra forskjellig opphav som ender i samme butikkhylle eller på samme restaurant. Etterspørselen etter den ene vil påvirke den andre, samtidig som akvakultur er avhengig av fiskeri for fiskeolje og andre marine næringsstoffer i fôr (Froehlich et al., 2023). Det produseres årlig rundt 1 million tonn fiskeolje på verdensbasis, hvor akvakultur bruker rundt 75% (Svenning et al., 2019). Fiskeoljen som brukes i dagens akvakulturindustri er produsert fra fangster av villfisk, som gir en næringsrik og god fettsyreprofil. Samtidig har populasjonene av villfisken man anvender stagnert siden 1980-tallet (Howell, 2020). Samtidig med en stagnerende populasjon av villfisk – registreres en signifikant økning i akvakulturproduksjon. Den økende produksjonen med nye land og nye aktører er ikke ventet å senke etterspørselen etter marine næringsstoffer til bruk i fôr (Costello, 2020; Howell, 2020).

Tabell 1: Utdrag av Nofima sin oversikt over gjennomsnittlig fettsyre- og aminosyreinnhold i Norsk oppdrettslaks. Aminosyrer (%) i filét samlet inn sommer og vinter. Aminosyrene er gitt som dehydrerte residual (snitt \pm S.E.M., n=4). Fettsyrer i filét av laks samlet inn sommer og vinter (% av våtvekt, snitt \pm S.E.M., n=4) (Adoptert fra Aas et al., 2022).

	Snitt		Snitt
Cys	0,16 \pm 0,01	C14:0	0,5
Asx*	1,52 \pm 0,02	C16:0	1,9 \pm 0,1
Met	0,49 \pm 0,01	C16:1 n-7	0,5
Thr	0,66 \pm 0,01	C16:2 n-6	0,0
Ser	0,60 \pm 0,01	C18:0	0,3 \pm 0,1
Glx*	2,19 \pm 0,03	C18:1 n-9	6,7 \pm 0,5
Gly	0,88 \pm 0,02	C18:1 n-7	0,5
Ala	0,93 \pm 0,01	C18:2 n-6	2,7 \pm 0,1
Val	0,88 \pm 0,02	C18:3 n-3	1,2 \pm 0,1
Ile	0,72 \pm 0,01	C20:0	0,1
Leu	1,12 \pm 0,02	C20:1 n-11	0,1
Tyr	0,55 \pm 0,01	C20:4 n-3	0,1
Phe	0,66 \pm 0,01	C20:1 n-9	0,7 \pm 0,1
His	0,43 \pm 0,01	C20:2 n-6	0,2
Lys	1,34 \pm 0,02	C20:4 n-6	0,1
Arg	0,97 \pm 0,02	C20:3 n-3	0,1
Pro	0,73 \pm 0,04	C22:1 n-7	0,2
Trp	0,18	C22:1 n-11	0,6 \pm 0,2
Sum	15,00 \pm 0,22	C22:1 n-9	0,1
		C20:5 n-3 (EPA)	0,6
		C24:1 n-9	0,1
		C22:5n-3	0,3
		C22:6n-3 (DHA)	0,9 \pm 0,1

- Aspargin og glutamin omdannes til henholdsvis aspartat og glutamat under kjemisk analyse. Asx representerer Asn+Asp og Glx representerer Gln+Glu.

Dette aktualiserer debatten angående nye alternativ for marine ingredienser og da spesielt oljer i akvakultur. Det vil ikke være bærekraftig på sikt å fortsette dagens praksis med tanke på det stadig økende presset på marine fiskearter. Det antas at produsert biomasse fra akvakultur vil øke drastisk i fremtiden, som kan ytterligere aktualisere problematikken (Costello et al., 2020). Samtidig vil ikke problemstillingen løses naturlig. På en side har man en stadig økende mengde produksjon fra akvakultur, som er i dag er avhengig av råvarer til fôr som stammer fra en stadig mindre bærekraftig fiskeindustri.

Etter hvert som oppdrettsnæringen har økt i omfang, har også andelen n-6 fettsyrer økt i forhold til n-3 (Aas et al., 2022; Hundal et al., 2020). Når man snakker om n-3 fettsyrer fra marin akvakultur er det for det meste EPA og DHA man omtaler. Disse fettsyrene er en del av flere nesten-essensielle fettsyrer, da menneskekroppen har lav kapasitet til å produsere dem selv, og

mennesker er i stor grad avhengige av å få disse tilført via diett. Den stadig økende andelen n-6 fettsyrer har gitt oppdrettsnæringen negativ omtale, hvor det anføres at det ikke er like helsefremmende som først antatt å konsumere Norsk laks fra oppdrett (Aas et al., 2022; Jensen 2020). Samtidig er det grunn til bekymring angående effekten av n-6 fettsyrer i selve laksen (Blaalid, 2018).

2.2 Terrestriske ingredienser

Plantebaserte ingredienser og karbohydrater i laksefôr er ikke nytt og har vært en standard praksis i lang tid allerede, og har vist seg å være anvendbart, til eksempel har karbohydrater vist å kunne fremme vekst hos karnivor fisk ved lave nivåer (Hemre et al., 1998). Resultatet vil samtidig variere stort avhengig av hvilken type stivelse som anvendes. Den vanligste kilden til stivelse i dagens fôr i Norsk akvakultur er hvete og hvetegluten. Det finnes flere fordeler ved å anvende hvete som en ingrediens (Nofima, 2018). Det er et rimeligere produkt sammenlignet med tradisjonelle marine råvarer og det kan redusere presset mot utrydningstruede villfiskbestander. Når det er sagt, finnes det en rekke negative sider ved bruk av hvete. Selve importen er miljøskadelig, og hvete kan forårsake problemer relatert til tarmhelse for laksefisker (Aas et al., 2022). Andre karbohydrater som brukes i Norsk akvakultur er fababønner og ertemel. Samtidig bruker man ingredienser som soyaproteinkonsentrat, hvetegluten, guarprotein, solsikke, erteprotein, maisgluten, rapsolje, linolje, soyaolje, kamelinaolje og kokosolje som alle er prosesserte fra terrestriske ingredienser (Aas et al., 2022). I en studie gjennomført i 2008 viste det seg at Atlantisk laks som ble fôret med 25% avfettet soyamel over en periode på 53 dager viste tegn til alvorlig tarminfeksjon (Knudsen et al., 2008). Samtidig viste en studie fra 1995 at Atlantisk laks som ble fôret med forskjellige mengder stivelse at en inkludering av 9% stivelse ga de beste resultatene for forsøksindividene. Studien viste også at problemene relatert til karbohydrater i tarm kom som følge av ufordøyd stivelse ved høye nivåer av stivelse i fôret. Den ufordøyde stivelsen viste å negativt påvirke lipidfordøyelsen (Hemre et al., 1995).

2.3 Antinæringsstoffer

Antinæringsstoffer er komponenter i råvarer som hindrer opptak av mineraler og proteiner, kort fortalt kan antinæringsstoffer gjøre næringsstoffer mindre biotilgjengelige (Vilarrasa, 2022). Antinæringsstoffer er naturlige forsvarsbarrierer plantevekster har som et motangrep for predatorer. Når proteiner fra planter i stor grad erstatter fiskemel, vil antinæringsstoffer ramme fisk i større grad. Antinæringsstoffer vil redusere fordøyeligheten av fôret, som igjen vil

reduere tilvekst og generell helse i den aktuelle fisken (Jacobsen et al., 2018). Samtidig kan antinæringsstoffer forårsake redusert mineralfordøyelse og tarmbetennelse for fisk (Jacobsen, et al., 2018).

Tabell 2: Tilstedeværelse av antinæringsstoffer i diverse plantemel, eksempelvis brukes flere som tilsetninger i fiskefôr. Bokstaven x indikerer en inhibitor som kan virke hemmende for vekst og helse for fisk (Utdrag fra Krogdahl et al., 2015, adoptert fra Tacon 1997 og Francis et al., 2001).

	Soybean	Kidney bean	Pea	Lupin	Sunflower	Cotton	Rape	Mustard	Sesame	Linseed	Alfalfa leaf
Protease inhibitors	x	x	x	x	x		x				x
Lectins	x	x	x								
Phytoestrogens	x	x		x		x				x	x
Phytic acid	x	x	x			x	x	x	x	x	
Gossypol						x					
Cyclopropenoic acid						x		x			
Glucosinolates	x						x	x			
Erucic acid							x	x			
Saponins	x	x	x	x	x						x
Alkaloids			x	x							

Ved produksjon av fiskefôr brukt i dagens akvakultur jobbes det aktivt for å redusere mengden antinæringsstoffer fra landbaserte råvarer som ender opp i det ferdige produktet fisken spiser (Krogdahl et al., 2015). Samtidig er antinæringsstoffers effekt på dyr relativt lite utforsket fordi det er dyrt å rense råvarer fullstendig for antinæringsstoffer, noe som gjør det utfordrende å undersøke (Krogdahl et al., 2015). Eksempelvis vil antinæringsstoffer i planter forårsake redusert vekst og potensiell tarminfeksjon hos sine naturlige predatorer, mens kiselalger produserer oksylipiner cytotoxiske forbindelser som har en toksisk effekt som forårsaker unormale egg og nauplii som dør som følge av toksisiteten (Ianora et al., 2009).

2.4 Aminosyrer

Aminosyrer er byggsteinene i proteiner, som igjen er byggsteinene for all muskelvekst (Li et al., 2009). Proteiner er store organiske komponenter bestående av lange kjeder av aminosyrer, og proteiner har en generell oppbygning hvor karbon utgjør 50-55%, oksygen 20-23%, nitrogen 15-18%, hydrogen 6-8% og sulfur 0-4% (Joblin, 2001). Aminosyrene som kan omdannes til proteiner har en kjemisk struktur bestående av en karboksylgruppe (COOH), en aminogruppe (-NH₂), samt en R-gruppe, som alle er festet til et α -karbonatom. R-gruppen representerer sidekjeden og vil variere i henhold til aminosyren (Joblin, 2001). Det skilles mellom essensielle og ikke-essensielle aminosyrer. Essensielle aminosyrer er aminosyrer som ikke kan syntetiseres, enten helt eller ikke i store nok mengder for å vedlikeholde vekst. Til

sammenligning er ikke-essensielle aminosyrer de aminosyrene som kan syntetiseres *de novo* (Joblin, 2001).

Tabell 3: Listeføring av essensielle aminosyrer (EAA) og ikke-essensielle aminosyrer (IEAA) (Adoptert fra Joblin, 2001).

Essensielle aminosyrer (EAA)	Ikke-essensielle aminosyrer (IEAA)
- Arginin (Arg)	- Alalin (Ala)
- Histidin (His)	- Asparagin (Asn)
- Isoleucin (Ile)	- Asparaginsyre (Asp)
- Leucin ((Leu)	- Glutamin (Gln)
- Lysin (Lys)	- Glutaminsyre (Glu)
- Metionin (Met)	- Cystetin (Cys)
- Fenylalanin (Phe)	- Tyrosin (Tyr)
- Treonin (Thr)	- Glycin (Gly)
- Tryptofan (Trp)	- Prolin (Pro)
- Valin (Val)	- Serin (Ser)

Proteiner utgjør den største andelen av organiske materialet i fiskevev/muskel, omtrent 65-75% av tørrvekt (Wilson, 2003). Samtidig er proteiner den mest kostbare komponenten i fiskefôr (Li et al., 2009). Aminosyrer og proteiner er helt essensielt å tilføre et fiskefôr fordi det blir brukt kontinuerlig av individene i en rekke viktige prosesser. Fisken må bygge nye proteiner for å vokse kontinuerlig, sikre reproduksjon, erstatte og vedlikeholde eksisterende proteiner. Feil sammensetning av- eller for lite protein i føde vil være et hinder for vekst som en følge av at proteiner blir dratt fra mindre viktige organer til mer essensielle prosesser (Wilson, 2003). Fisk har et varierende proteinbehov og det finnes ingen fast prosentandel proteiner et fiskefôr bør inneholde. Akvakultur er avansert biologi og det vil til enhver tid være viktige variabler som vekt, alder og temperatur som påvirker behovet for protein og aminosyrer. Proteinet bør i så måte inneholde en blanding av essensielle og ikke-essensielle aminosyrer (Wilson, 2003). Alder er en viktig parameter i denne sammenhengen. En yngre laksefisk vil behøve en betydelig høyere andel protein sammenlignet med en eldre. Eksempelvis vil behovet for en ung laksefisk tilsvare 45-50% av dietten, mens større fisk vil behøve mindre (25-35%) (Wilson et al., 1986). Under fordøyelse av protein frigjøres aminosyrene og blir til peptider, frie aminosyrer (FAA). De frie aminosyrene blir så brukt til å syntetisere nye proteiner. Fiskefôr inneholder en stor andel proteiner, noen ganger en for stor andel. I så tilfelle blir overskuddet omdannet til energi (Wilson et al., 1986). Det er fiskemel som står for den største andelen av marine proteiner i et standard fiskefôr, det øvrige proteinet vil bestå av soyaproteinkonsentrat og andre former for planteproteiner (Kaushik et al., 1995; Aas et al., 2022).

2.5 Kiselalger – *Porosira glacialis*

Mikroalger er hovedprodusenten av biomasse i verdens akvatiske miljøer. Mikroalger er tilstedeværende i alle akvatiske miljøer og er den fotoautotrofiske organismen i verden som vokser raskest (Svenning et al., 2019). Av mikroalger, er kiselalger den største gruppen med over 100 000 arter på verdensbasis (Svenning et al., 2019). Kiselalger eller diatomeer (*Bacillariophyta*) er små encellede mikroalger, eukaryote fytoplankton (Benoiston et al., 2017). Det er estimert at kiselalger står for en femtedel av verdens fotosyntese, da de finnes verden over hvor det er nok lys og næring (Armbrust, 2009). Årlig produserer kiselalger via fotosyntese like mye organisk karbon som all verdens regnskog til sammen, men ulikt fra regnskogens trær vil algene reproduseres hurtigere og utgjøre en matkilde for marine dyrearter (Nelson et al., 1995). Navnet kiselalger kommer av celleveggen til disse mikroalgene, bestående av silisium, fra gammelt av også kalt kisel. Kiselalgers størrelse varierer stort og de kan fremstå fra 2,8 til omkring 500 mikrometer i diameter eller lengde (Eiji et al., 2011). Kiselalger har de siste årene fått økt oppmerksomhet som følge av mulig anvendelse til en rekke formål; mat, fôr, rensing av organiske utslipp og spesifikke bioaktive komponenter (Yi et al., 2017). Kiselalger inneholder en rekke pigmenter som allerede er anvendt i matvareindustrien, kosmetikk og farmasøytiske produkter. Den største organiske komponent å finne i kiselalgene er lipider, som utgjør opptil 15-25% av tørket biomasse (Yi et al., 2017).

Tabell 4: Oversikt over fettsyreprofil fra kiselalgen *Porosira glacialis* i arealprosent \pm standardavvik (Utdrag fra Svenning et al., 2020).

Fettsyre	Areal %
C14:0	4.60 \pm 0.42
C16:0	7.03 \pm 3.81
C16:1n-7	11.16 \pm 1.02
C16:2n-4	3.21 \pm 0.56
C16:3n-4	6.32 \pm 1.12
C16:4n-1	31.38 \pm 4.62
C18:4n-3	4.69 \pm 0.73
C20:5n-3	28.68 \pm 5.24
C22:6n-3	2.93 \pm 1.54
ΣSFA	11.63 \pm 4.21
ΣPUFA	77.21 \pm 3.24

Kiselalgene lever som diploide celler (to sett kromosomer) som vokser og blir større av at de akkumulerer fotosyntetiske produkter. Cellene reproduseres ved av at de når en grense i

biomasse og deles vegetativt (Sabater, 2009). Avhengig av art og omgivelser, vil reproduksjon ta fra 0,3 til 5 dager. Det er få storskala studier av kaldtvanns-alger, spesielt kiselalger. De fleste studier omhandler varmtvannsalger. De få studiene som finnes, viser dog at kiselalgene produserer forholdsvis mye lipid med en høy andel flerumettede fettsyrer, som er ønskelig for videre bruk som ingrediens i spesielt fiskefôrproduksjon (Svenning et al., 2019).

2.6 Fiskevelferd

Dyrevelferd er definert som livskvalitet oppfattet av dyret selv (Noble et al., 2018). Det kan være utfordrende for oss mennesker å oppfatte hvordan laks, regnbueørret eller rognkjeks som svømmer i merdene opplever tilværelsen, i den sammenheng har man ved hjelp av ulike studier kommet frem til velferdsindikatorer (Noble et al., 2018). Henholdsvis observasjonelle velferdsindikatorer og laboratoriske velferdsindikatorer er mye anvendt for å gi mennesker som arbeider tett på produksjon av fisk for mat hjelp til å få frem et så realistisk bilde som mulig for hvordan fisken opplever sin tilværelse. Samtidig er antallet fisk stort, og dyrevelferdsloven fastsetter at fisk har krav på beskyttelse mot farer, sykdom, parasitter og rett til et godt miljø og riktig ernæring (Grefsrud et al., 2022). I tråd med en stadig mer omfattende modernisering av akvakulturnæringen og generell produksjon av mat fra levende organismer, har søkelyset på velferd økt. I 2023 ble det estimert at til sammen 71,6 millioner fisk fra Norsk akvakultur (sammenlagt Atlantisk laks og Regnbueørret) døde under produksjon (Mikkelsen, 2024). For 2023 utgjorde dette 15,86% dødelighet, og i april ligger dødeligheten for 2024 på 21,48% (Mikkelsen, 2024). Diskusjonen om hvorvidt næringen tar dødeligheten på alvor og hvor veien går videre og med hvilke tiltak har økt i volum (Misund, 2024). Norsk laks og ørret fra akvakultur er et viktig produkt for Norsk økonomi (Misund, 2024), og velferden i produksjonen blir omdiskutert i dyrevernorganisasjoner, hos myndigheter og ikke minst – blant forbrukere (Noble et al., 2018). Med dette i tankene er det klare insentiver til å finne nye løsninger på problemene næringen opplever.

2.6.1 Lakselus – *Lepeophtheirus salmonis*

Parasitter har blitt et stort problem for både for vill- og oppdrettsfisk i Norge, og det er særlig lus som får mest oppmerksomhet. Det finnes to typer lus som kan ramme laksefisk, lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) og skottelus (*Caligus elongatus*) (Noble et al., 2018). Det er spesielt lakselus som skaper hodebry for oppdrettsnæringen, representert med store velferdsproblemer, dyre avlusingsbehandlinger, økt dødelighet og negativt omdømme (Finstad et al., 2010; Johansen, 2017). For å bekjempe lakselus, både med bakgrunn i dyrevelferd og for å redusere

smittepress på vill fisk har norske myndigheter laget en forskrift - «Forskrift om bekjempelse av lus i akvakulturanlegg», også kalt luseforskriften. Forskriften fastsetter at andel lakselus i et akvakulturanlegg ikke skal overskride 0,5 kjønnsmodne lakselus per. lakseindivid, eller 3 eller flere bevegelige lakselus per. lakseindivid. I en avgrenset periode om våren er grensen 0,2 (Forskrift om lakselusbekjempelse, 2009, §8). I nyere tid har myndighetene etablert produksjonsområder som utgjør «Trafikklyssystemet». Systemet baserer seg på gjennomsnitt av lakselus-infestasjoner på villfisk i hvert produksjonsområde respektivt. Smitte på vill fisk i de respektive produksjonsområdene bestemmer om hvorvidt oppdrettere i disse områdene kan øke, senke eller vedlikeholde produksjonsvolumet (Fagerbakke, 2020). Avlusingsprosesser, spesielt termiske og mekaniske kan være belastende for fisken i merdene og andelen fisk som dør som følge av behandling mot lus er økende (Hoddevik, 2022). I tillegg brukes det mye rensfisk i form av Rognkjeks eller Leppefisk i Norske merder for å bekjempe smitte av lakselus (Grefsrud et al., 2022). Rensfisken brukes utelukkende som et tiltak mot smitte av lakselus, og blir destruert etter fullført produksjonssyklus av laksefisken. Praksisen ved å bruke titalls millioner av en art kun for å bedre helsen til en annen art for så å kvitte seg med all biomasse har fått mye kritikk (Mattilsynet, 2023). Fra en oppdretters perspektiv som vil hindre økt dødelighet, bevare fiskevelferd og samtidig sikre økonomisk fortjeneste, havner man i ugunstige dilemmaer. Ved å bekjempe lakselus må oppdretteren belage seg på avlusingsbehandlinger som medfører dødelighet og/eller bruke rensfisk som medfører dårlig velferd for Rognkjeks eller Leppefisk. Samtidig kan ikke oppdretteren la være å avluse fisken, skulle lusesmitten overskride myndighetenes lovlige grense (Forskrift om lakselusbekjempelse, 2009, §8). Dette fremmer insentiver for alternative metoder for å bekjempe lakse- og skottelus.

Lakselus er en hoppekreps som lever av hud, slim og blod ved å feste seg på laksefisk (Eichner et al., 2008). Andre arter hoppekreps lever av kiselalger, og som følge av dette har kiselalger utviklet en forsvarsmekanisme mot sine predatorer (Eilertsen et al., 2021). Kiselalger produserer flerumettede aldehyder, såkalte oksylipiner (Fontana et al., 2007) for å hindre å bli konsumert av hoppekreps og ved en studie ved Universitetet i Tromsø fra 2021 ble det dokumentert at man ved å inkludere kiselalger laksefôr, kan man redusere påslag av lakselus (Eilertsen et al., 2021). Kiselalgene produserer fettsyrer som ved nedbryting gir opphav til oksylipider, kortkjedede umettede aldehyder, hydroksyl-, keto- og epoksyhydroksyfettsyrederivater. Disse fettsyrederivatene forårsaker reproduksjonssvikt hos kopepoder i form av abort, misdannelser og redusert vekst (Fontana et al., 2007). Oksylipiner er fettsyrer som produserer enzymatisk flerumettede fettsyrer, da spesielt LC-PUFA (Eilertsen et al., 2021).

Som terminologi er oksylipin et begrep som omfatter «oksygenholdige forbindelser som er dannet av fettsyrer som følge av en eller flere reaksjoner som involverer minst ett trinn med mono- eller dioksygenasekatalysert oksygenering» (Gerwick et al., 1991), eventuelt «ethvert syklisk eller asyklisk produkt avledet ved inkorporering av oksygen i karbonkjedene til PUFA-er» (Cutigano et al., 2011). Okylipiners effekt mot lakselus i denne sammenheng er basert på en studie fra 2021 hvor man gikk ut fra hypotesen om at innslag av mikroalger i fôr til Atlantisk laks (*Salmo salar*) ville resultere i et redusert lusepåslag (Eilertsen et al., 2021). Det hadde blitt observert at samtidig som våroppblomstring av fytoplankton, hadde appetitten i lakseoppdrett og generelt lusepåslag hatt en merkbar nedgang (Eilertsen et al., 1995). Senere ble det oppdaget at dette var et resultat av oksylipiner fra mikroalgen *Phaeocystis pouchetii* (Hansen et al., 2004). En studie utført i Chile i 2011 viste at tilsetning av rene aldehyder (PUA) i laksefôr hadde en betydelig effekt mot lusepåslag og tilnærmet ingen toksisk effekt på laksen (Troncoso et al., 2011).

2.7 Metaller og mineraler

Inkludering av sjømat i kost vil tilføre viktige proteiner og flerumettede fettsyrer som man ikke finner andre steder (Duran et al., 2014) og som er direkte assosiert med normal vekst og utvikling av diverse organer (Elnabris et al., 2013). Samtidig er fisk og sjømat ansett å være en betydelig bidragsyter for økte andeler kjemiske kontaminanter i menneskelig konsum (Bae et al., 2017). Av mineraler, er Jod viktig for eksempelvis produksjon av skjoldbruskkjertelhormoner, og suboptimale jod-nivåer hos mennesker er et verdensomspennende problem med høyest prevalens i Europa (Levander et al., 1996; Zimmermann et al., 2012). Selen er ansett for å være et viktig mineral for mennesker, eksempelvis har Finland og Sverige gjort tiltak for å øke seleninnhold i kosthold. I Finland har man tilsatt selen i gjødsel, og i Sverige har man funnet ut at ved å tilsette mindre mengder selen i innsjøer har man redusert mengden metylkvikksølv i fisk med mer enn 75% på tre år (Nicholas et al., 2008). Jern spiller en viktig rolle i å tilrettelegge for oksygentransport i menneskekroppen. Jern er også relatert til vekst, immunologi, energiproduksjon i celler og DNA-syntese. Hemjern er en jernforbindelse som finnes mye av i sjømat, og ansees å være en mer biotilgjengelig variant av jern sammenlignet med jern fra plantevekster (McManus et al., 2011). Sink, selv i små mengder, spiller en viktig rolle som katalysator for mer enn hundre spesifikke enzymer som er nødvendig for metabolisme hos mennesker. Lave nivåer av sink er relatert til nedsatt vekst og sårbarhet for infeksjon (Ekweagwu et al., 2008). Sink binder seg til

protein, og sjømat som er rik på både sink og protein er en ypperlig kilde til biotilgjengelig sink (Alloway, 2009).

Under storskala produksjon av alger er det ikke uvanlig å oppleve høye nivåer av diverse tungmetaller og utfordringen er å anse som et stort problem (Becker, 2004). Samtidig er det et faktum at alle mikroorganismer, og da spesielt de med et marint opphav er i stand til å akkumulere betydelige konsentrasjoner av tungmetaller, og ofte høyere enn omkringliggende organismer (Becker, 2004). Dette gjør at tungmetall-innholdet i mikroalger vil være et direkte resultat av sitt respektive miljø (Eilertsen et al., 2022).

2.8 Formål med oppgaven

Dette arbeidet gjennomføres som en del av et større prosjekt. AlgOpti er finansiert av Innovasjon Norge som blant annet har som hypotese at tilsetning av kiselalger i laksefôr vil redusere lusepåslag. Denne oppgavens formål er å dokumentere de biokjemiske effekter av fôr med tilsetninger av kiselalgen *Porosira glacialis* på Atlantisk laksefilet. De biokjemiske effektene er i dette tilfellet fett- og fettsyreinnhold, proteininnhold og aminosyresammensetning og vann- og askeinnhold. Videre er sporstoffer, metaller og tungmetaller analysert. I tillegg til nevnte biokjemiske parametere, er vekst- og lengdedata samlet og resultatene fra smitteforsøket innhentet.

3 Materiale og metode

3.1 Forsøksdesign

Tre grupper med Atlantisk laks (*Salmo salar*) har blitt føret opp på tre forskjellige førsammensetninger i kontrollerte omgivelser. Førsammensetningene består av en kontrollgruppe med 0% alger tilsatt (A0), en gruppe med 1% tilsetning av alger i føret (A1) og en gruppe med 3% tilsetning av alger i føret (A3). Algemassen er dyrket hos Finnfjord AS, som er et smelteverk som bruker sine miljøgasser som ellers hadde blitt utslipp, som tilføringsgass under dyrkningen av algene. All tilvekst av forsøksindividene har foregått ved Havbruksstasjonen i Tromsø AS avdeling landanlegget i Kårvika. Anlegget eies 50% av Universitetet i Tromsø. Fiskens livsløp foregikk ved Havbruksstasjonen i Tromsø i Kårvika. Stasjonen befinner seg på Ringvassøy i Tromsø kommune. Ethvert uttak av fisk og filetering er gjort ved Havbruksstasjonen, mens alle forsøk og analyser er gjennomført ved laboratoriet ved Norges Fiskerihøgskole i Tromsø. Startføring fant sted den 14. juni 2022 og vanntemperaturen under forsøket ble vedlikeholdt på 10 grader celsius gjennom hele forsøket.

Det ble vedlikeholdt en 24 timers lysstyring med unntak av smoltifiseringsprosess. Det har allerede blitt fullført en masteroppgave om startfasen av prosjektet, hvor denne oppgaven vil belyse siste del av sjøsettingsfase og lusesmitteforsøk.

Tabell 5: Hendelsesforløp for forsøket. SV er forkortelse for saltvann. (Anette Hustad, personlig kommunikasjon, 5.4.2024).

Dato	Hendelsesforløp	Temp. (°C)	Lys (t)	Snittvekt
18.4.23	Uttak 4	10	24	129 g
18.4.23	Merking og flytting Fiskehelselaboratoriet (FHL) til smittelab.	10	24	133,5 g
18.4.23	Videreføring, oppfølging vekst ved FHL.	10	24	133,5 g
19.4.23	Lusesmitte	10	24	133.5 g
2.5.23	Avslutning lusesmitte, uttak 5	10	24	134,96 g
5.23	Nytt fôr, 4 mm	10	24	~140 g
11-12.7.23	Telling av lus	10	24	250 g
6.23	Videreføring av grupper	10 SV	24	~300 g
9.8.23	Intern flytting	10 SV	24	
31.8.23	Uttak 6, T0	10 SV	24	703 g
18.9.23	Nytt fôr, 7 mm	10 SV	24	~703 g
8.11.23	Uttak 7, T1	10 SV	24	1365,45 g
8-9.1.24	Uttak 8, T2	10 SV	24	2265,5 g

3.2 Prøveuttak

Det ble foretatt uttak av fisk ved Havbruksstasjonen ved tre anledninger. Den 31.8.2023, 8.11.2023 og den 9.1.2024. Uttakene foregikk med lik prosedyre ved hver anledning med enkelte tilpasninger iht. fiskens størrelse. Individene ble fjernet fra kar ved bruk av håv og avlivet umiddelbart ved et slag mot hjernen. Fisken ble så scannet elektronisk for identifikasjon, så veid og målt for kondisjonsfaktor. Det ble også gjennomført diverse andre forsøk ved hver uttaksdato for analysering av diverse organer før filét, lever og skinn ble separert og fryst for dette forsøket. Samtlige prøver ble adskilt i egne poser på is før materialet ble fraktet til UiT for nedfrysning. Prøvemateriale har blitt oppbevart i et fryserom som holder -20 grader celsius.

Det ble bestemt at 5 individer fra hver fôrgruppe, fra hvert uttak skulle gjennomgå undersøkelser, dette for å danne et representativt bilde av de potensielle forskjellene og likhetene.

3.3 Fôrsammensetning og næringsinnhold

Fôret er produsert av Cargill. Ved unntak av minimale forskjeller i fiskemel ($0,6\pm\%$ ved 4 mm, $1,0\pm\%$ ved 7 mm), vegetabiliske proteinkilder og bindinger ($2,5\pm\%$ ved 4 mm, $0,8\pm\%$ ved 7 mm), fiskeolje ($0,1\pm\%$ ved 4 mm og 7 mm) og vegetabilisk olje ($0,2\pm\%$ ved 7 mm) var fôrsammensetningene like ved unntak av algeinnholdet. Innhold av protein ($0,4\pm\%$ ved 4 mm, $0,1\pm\%$ ved 7 mm) og innhold av fett ($0,1\pm\%$ ved 4 mm) viser også minimal differanse. Fôrene skilte seg signifikant ved overgang fra 4 mm til 7 mm. Innhold av fiskemel hadde en nedgang fra 31,6-32,1% (4 mm) til 19,0-20,0% (7 mm). Vegetabiliske proteinkilder og bindere viste en oppgang fra 38,9-41,4% (4 mm) til 49,2-50,0% (7 mm). Mikronæringsstoffer viste en mindre nedgang fra 4,2% (4 mm) til 3,3% (7 mm). Fiskeoljen viste en halvering i innhold fra 16,2-16,3% (4 mm) til 8,0-8,1% (7 mm). Innhold av protein viste også en mindre nedgang fra 45,1-45,6% (4 mm) til 42,2-42,4% (7 mm), mens fettinnhold viste en økning fra 26,3-26,4% til 30% (7 mm). Det er verdt å nevne at mikronæringsstoffer sammenfattet vitaminer, mineraler, aminosyrer og pigmenter m.m.

Tabell 6: Sammensetning av fôr for gruppe A0, A1 og A3. Tabellen omfattet 6 forskjellige typer fôr som er tilpasset økning i fiskevekt, pelletstørrelse 4 og 7 mm. Mikroingredienser omhandler vitaminer, mineraler, aminosyrer, pigmenter etc. (Cargill; Anette Hustad, personlig kommunikasjon, 5.4.2024).

Pelletstørrelse (mm)	4	4	4	7	7	7
Fôrnummer	90019878	90019879	90019880	90019881	90019882	90019883
Fiskemel (%)	31,7	31,6	32,1	20	19,5	19
Veg. proteinkilder og bindere (%)	41,4	40,6	38,9	50	49,5	49,2
Mikroingredienser (%)	4,2	4,2	4,2	3,3	3,3	3,3
Fiskeolje (%)	16,3	16,2	15,2	8,1	8,1	8
Vegetabilisk olje (%)	6,4	6,4	6,4	18,7	18,7	18,5
Yttriumoksid (%)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Algemasse <i>Porosira glacialis</i> (%)	0	1	3	0	1	3
Sum (%)	100	100	100	100	100	100
Proteininnhold (%)	45,6	45,5	45,1	42,4	42,4	42,3
Fettinnhold (%)	26,4	26,3	26,3	30	30	30

3.4 Kjemikalier

Kjemikalier er anvendt under analyser av næringsstoffer fra forsøksindivider. Følgende kjemikalier har vært brukt:

- Diklormetan (VWR Chemicals, Radnor, PA, USA)
- Etylacetat (VWR Chemicals, Radnor, PA, USA)
- FAME-standard: GLC 502 (Nu-Chek Prep, Inc., Elysian, MN, USA)
- Internstandard C17:0 Heptadecanoic Acid (Supelco Analytical, Bellafonte, PA, USA)
- Internstandard DL-Norleucine (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)
- Lithium loading buffer (Biochrom Co., Cambridge, Storbritannia)
- Metanol (VWR Chemicals, Radnor, PA, USA)
- n-heptan (VWR Chemicals, Radnor, PA, USA)
- N₂-gass (Linde Gas AS, Oslo, Norge)
- Natriumklorid (VWR Chemicals, Radnor, PA, USA)
- Natriumsulfat (VWR Chemicals, Radnor, PA, USA)
- Saltsyre 37% (VWR Chemicals, Radnor, PA, USA)
- Svovelsyre (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

3.5 Vekst

Målinger for vekt og lengde har blitt utført ved samtlige uttak. Det vil henholdsvis vektlegges tall fra uttak T0, T1 og T2 da det ble utført grundigere undersøkelser ved disse anledningene. Antall fisker som ble målt ved hver anledning varierte konsekvent med behov, ettersom det var flere interessenter. Det ble målt vekt og lengde av samtlige individer som ble tatt ut for analyse. Basert på tallene finner man en kondisjonsfaktor (KF) ved å kalkulere basert på Fultons formel. Forkortelser i tabellen er som følger: V: vekt (gram), L: lengde (cm).

$$\text{Formel 1: Kondisjonsfaktor (KF)} = \frac{V}{L^3} \times 100$$

Spesifikk vekstrate (SGR) er en mye anvendt formel innen akvakultur som beskriver vekstraten over en gitt tidsperiode. VT2 og VT0 er angitt som vekt i gram ved gitte tidspunkt, i dette tilfellet første (T0) og siste (T2) uttak. T2 og T0 er en tidsperiode, angitt i antall dager – mellomrommet mellom T0, T1 og T2.

$$\text{Formel 2: Spesifikk vekstrate (SGR)} = \left[\frac{\ln VT_2 - \ln VT_0}{T_2 - T_0} \right] \times 100$$

3.6 Analyser for biokjemisk sammensetning

3.6.1 Vann- og askeinnhold

Vann og askeinnhold fastsettes for å finne ut hvor mye vann, og hvor mye vev som faktisk er til stede i prøvene. Resultatet kan være informativt iht. osmoregulering og andre biologiske funksjoner. Prosedyren i seg selv er relativt simpel, ved at man veier ut tre paralleller per individ på ca. 10 gram. Prøvene plasseres i forhåndsveide aluminiumbeger. Prøvene blir så plassert i et varmeskap av typen AOAC 950.46b Thermo Scientific Heratherm ovn (Langensfeld, Tyskland). Ovn holder en fast temperatur på 105 grader celsius som prøvene blir eksponert for i minimum et døgn, frem til prøvene har nådd en stabil vekt som tilsier at alt vanninnhold er fordampet. Den stabile vekten blir så notert, og ved å bruke følgende formel fastsettes vanninnhold:

$$\text{Formel 3: Vanninnhold \%} = \frac{\text{Vekt prøve (før tørking)}(\text{g}) - \text{Vekt prøve (etter tørking)}(\text{g})}{\text{Vekt prøve (før tørking)}(\text{g})} \times 100 \%$$

3.6.2 Proteininnhold – aminosyresammensetning

For å bestemme innhold av aminosyrer og aminosyresammensetning anvendes syrehydrolyse. Dette foregikk ved at det ble veid opp to paralleller med homogenisert filét fra hvert individ på ca. 200 mg. Prøvene ble plassert i 4 ml glassrør og tilsatt 0,5 ml destillert milli-Q H₂O i tillegg til 0,5 ml internstandard 20 mM N-leucine. Prøvene blir så tilsatt 1,2 ml saltsyre (37%). Prøvene ble så tilført N₂-gass for å fjerne tilstedeværelse av oksygen i prøvene. Rørene ble så lukket hurtig for å forhindre ny tilførsel av oksygen, dette var et tiltak for å motarbeide oksidasjon i prøvene. Prøvene ble så plassert på varmeblokk av typen Drybath Strdr, Thermo Scientific (Osterode, Tyskland) ved 105-110 grader celsius i 22-24 timer. Etter fullført varmebehandling ble rørene hurtig åpnet og avkjølt. 1000 µl ble så pipetert ut og plassert i sentrifugerør for sentrifugering på 14 000 rpm. (omdreininger = 18 400 x g i 5 minutter) for å fjerne grove partikler som ble formet under varmebehandlingen. Videre ble 100 µl pipetert ut til analyserør for å dampes med N₂-gass til fullstendig tørrhet var oppnådd. Videre ble prøvene løst opp i 1 ml av en lithium loading buffer ved pH 2,2. Prøvene var så klare for aminosyreanalysator. Prøvene for aminosyreanalyse ble analysert ved å bruke en Biochrom 30+ analysator (Biochrom Co., Cambridge, Storbritannia). Den er utstyrt med en litiumcitrat-ekvilibrert kolonne i tillegg til postkolonne-derivatisering. Her ble selve identifikasjonen av aminosyre gjort ved å sammenligne to fysiologiske aminosyrestandarder med standardkurve. Aminosyrene ble identifisert ved farging fra derivatisering med ninhydrin. Den angitte fargen

var proporsjonal med mengde aminosyre. Mengden ble så målt ved å angi lysabsorpsjon i et fotometer, som måler ved bølgelengdene 440 og 570 nm.

3.6.3 Lipidekstraksjon med etylacetat

Hensikten med lipidekstraksjon med etylacetat er å skille vannløselig materiale fra fettløselig. Dette gjøres trinnvis ved å kverne opp rene filébitar fra prøveindivider. Kvernet muskel i mengde 4 gram ble blandet med 8 gram Na₂SO₄ i 50 ml sentrifugerør i 3 paralleller. Massen ble så tilsatt 17 ml etylacetat og 3 ml internstandard (totalt 20 ml) ved konsentrasjon 10 mg/ml for å løse opp lipidene. Prøvene ble så plassert i vortex (VWR Collection Reax Top, Tyskland) i ca. 10 sekunder etterfulgt av ristemaskin av typen Heidolph Multi Reax (Schwabach, Tyskland) i en time ved 9 000 omdreiningar. Massen ble så filtrert i nye 50 ml sentrifugerør, den filtrerte væsken ble så pipettert ut i 3 ml alkivot til forhåndsveide 8 ml glassrør (VWR, Darmstadt, Tyskland). Denne væsken ble så dampet til gjenværende lipid ved N₂-gass. Prosessen ble avsluttet da massen oppnådde en stabil vekt. Fettinnholdet i prøven ble beregnet basert på følgende formel:

$$\text{Formel 4: Fett \%} = \frac{\text{Glassrør med innhold (g)} - \text{tomt glassrør (g)} \times \left(\frac{20}{3}\right)}{\text{innveid mengde prøve (g)}} \times 100 \%$$

Lipidekstraksjon med etylacetat ble gjennomført av forsøksindivider med noe varierende individvekt, noe som kan gi varierende resultater. Det er ikke uvanlig for laks å ha et høyere fettinnhold desto eldre individet er.

3.6.4 Fettsyreinnhold

Etter lipidekstraksjon ble de gjenværende lipidene løst opp i etylacetat i løysning 10 mg/ml. Avhengig av prosentandel fett måtte enkelte prøver løses opp i 20 mg/ml grunnet små glass. Prøvene ble fryst til neste dag da 100 ml prøve ble tatt ut (50 ml fra 20 mg/ml) og tilsatt metyleringsrør (Duran GL 18, Mainz, Tyskland). Prøvene ble så tilsatt 0,9 ml diklormetan og 2 ml 2% H₂SO₄ metanol. Metyleringsrørene ble så plassert i varmeblokk ved 100°C i 60 minutter. Så ble 3,5 ml heptan og 3,5 ml 5% NaCl tilsatt, noe som førte til at væsken skilte seg. Prøvene ble ristet godt og de to fasene skilte seg ytterligere. Blandingen resulterte i en øvre fase bestående av lipidene og heptan, denne fasen ble så overført til 8 ml analyserør for damping ved N₂-gass. Det resterende innholdet i de tørre 8 ml-glassene løses så opp i 100 µl heptan, hvor det var essensielt å skylle heptanen langs veggene for å dra med seg alt av resterende prøve. 100 µl av væsken ble så plassert i GC-rør og plassert i gasskromatografi for identifisering.

3.6.4.1 Gasskromotografi

For å identifisere fettsyrene fra fett ekstraksjonen må prøvene gjennom en Agilent 6890N gasskromatograf, også kjent som GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). GC-maskinen er utstyrt med flammeionisasjonsdetektor (FID) og en 7683B auto-injektor som injiserer små mengder prøvemateriale. Maskinen bruker gass, i dette tilfellet Helium, for å fastsette retensjonstid og vandringshastigheten til de forskjellige fettsyrene som er å oppdrive. Gassen fraktes sammen med prøvemateriale gjennom en kapillærkolonne av type Varian CP7414 (50 m x 250 µm). Resultatet fra GC kom i form av et kromatogram bestående av hver fettsyre og deres respektive mengder fra hver parallell. Kromatogrammet identifiserer de fettsyrene som finnes i standarden. Hver fettsyre blir beregnet ut ifra mengde per. 100 gram og areal (prosentandel av hver fettsyre i hver prøve), noe som må regnes på nytt med å subtrahere mengde og prosent av IS C17:0.

$$\text{Formel 5: Areal \%} = \frac{\text{Areal av respektiv fettsyre}}{\text{Sum areal av fettsyrer}} \times 100 \%$$

$$\text{Formel 6: Mengde FA per 100 gr.} = \left(\frac{\text{Areal FA}}{\text{Areal IS}} \right) \times \left(\frac{\text{Tilsatt mengde IS (g)}}{\text{Vekt prøve (g)}} \right) \times 100 \%$$

3.7 Lusesmitte

I prosjektet og i et samarbeid med Nofima og Finnfjord AS ble det utført smitteforsøk med lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) etter samme metodikk beskrevet i Eilertsen et al. (2021). Forsøkene fant sted ved Havbruksstasjonen i Tromsø ved Kårvika våren 2023. Atlantisk laks (*Salmo salar*) ble merket med alcian blue og flyttet til smitteceller ved FHL den 18.4.2024. For forsøket ble 90 individer fra hver fôrgruppe, A0 (0% algetilsetning i fôr), A1 (1% algetilsetning i fôr) og A3 (3% algetilsetning i fôr) (totalt 270 med gjennomsnittsvikt 133,5 gram) holdt i 2000 liters tanker med gjennomstrømning av saltvann. Smittecellene ble tilsatt en infektive copepoditter av *Lepeophtheirus salmonis* ved 10 grader sjøvann ved 24 timer lysstyring. Telling av lus ble foretatt den 2.5.2024.

3.8 Mineral- og metallanalyse

I samarbeid med Havforskningsinstituttet i Bergen ble det utført analyser for metaller og mineraler for henholdsvis fôrgruppene A0 og A3 for å potensielt påvise forskjeller fra kontroll- og algefôr. Fra hver av fôrgruppene ble det samlet 2 gram homogenisert filét, som igjen ble videre homogenisert og til sammen utgjorde 10 gram fra hver fôrgruppe. Prøvematerialet ble så frysetørket ved bruk av en Scanvac CoolSafe (LaboGene AS, Danmark). Prosessen foregår

ved at maskinen fjerner vann ved at trykket reduseres og at vanninnholdet (i form av is) i de frosne prøvene sublimeres. Det finnes lite informasjon om jod-innhold i alger, så dette ble lagt vekt på å identifisere. Analysene er utført hos Havforskningsinstituttet i Bergen som beskrevet i Reksten et al., 2020. Her ble først filéprøvene utsatt for våt fordøyelse i mikrobølgeovn (UltraWave, Milestone, Sorisole, Italia), som beskrevet i Julshamn et al., 2007. Konsentrasjonen av mineraler, metaller og sporstoffene som bly (Pb), kvikksølv (Hg), sink (Zn), selen (Se), kadmium (Cd), jod (I), arsen (As) og jern (Fe) var analysert ved induktiv plasma-masse-spektrometrisk analyse (iCapQ ICPMS) (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) som var utstyrt med automatisk prøveuttak (FAST SC-4Q DX) (Elemental Scientific, Omaha, NE, USA). Videre ble gull (Au) tilsatt for stabiliserende egenskaper iht. kvikksølv. Selve konsentrasjonene ble identifisert ved eksterne standardkurver og internstandarder. For jod ble tellur (Te). For metallene sink, jern, selen, arsen, kadmium, kvikksølv og bly ble rhodium (Rh) brukt som internstandard. I jod sitt tilfelle ble det først utført en basisk ekstraksjon som inkluderte tetrametylammoniumhydroksid (TMAH) etterfulgt av ICP-MS-analyse (Julshamn et al., 2001). Det ble utført analyser for metylkvikksølv (MeHg) ved å bruke GC isotopfortynning. Prøven analyseres så med GC-ICP-MS ved å bruke et Agilent 7500a ICP-MS instrument (Valdersnes et al., 2012). Påfølgende data var behandlet ved å bruke Agilent ChemStation ICP-MS (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) (Reksten et al., 2020).

3.9 Statistikk

Samtlige data er basert på tilfeldige utvalgte forsøksindivider fra alle fôrgruppene (A0, A1 og A3) ved de tre uttaksdatoene 31.8.2023 (T0), 8.11.2023 (T1) og 9.1.2024 (T2). Minst fem forsøksindivider ble analysert fra hver fôrgruppe fra hver uttaksdato for mål og identifikasjon av fett- og aminosyreinnhold. Unntaksvis er lengde, vekt, kondisjonsfaktor og SGR basert på betydelig flere individer ettersom lengde og vekt er målt fra samtlige individer fra hver fôrgruppe fra hver uttaksdato. Gjennomsnitt og påfølgende standardavvik er utarbeidet i Microsoft Excel (2402). Videre analyser som statistisk signifikans er fullført i GraphPad Prism (10.2.2). For å etablere normalfordeling ble det utført Shapiro Wilk's test i tillegg til QQ-plot. Statistisk signifikans ble etablert ved hjelp av toveis-anova for all data. Videre ble Tukey's multiple comparison test utført og undersøkt for å bekrefte/avkrefte signifikans og P-verdi. Signifikante forskjeller er markert med ulike bokstaver i tabeller (eks. A, B, C). Lik bokstav vil tilsi ingen statistisk signifikant forskjell. Videre informasjon angående signifikans er også å

finne i tabelltekst. Tabeller og figurer er konstruert ved hjelp av GraphPad Prism 10.2.2, Rstudio (4.2.2) og Microsoft Excel (2402).

4 Resultater

4.1 Biokjemisk sammensetning

Tabell 7 viser en oversikt over biokjemisk sammensetning, innhold av vann, aske, fett og protein. Tallene er et gjennomsnitt fordelt på de tre fôrgruppene A1, A2 og A3 ved uttaksdatoene T0, T1 og T2. En fellesnevner for alle fôrgruppene er at vanninnholdet var høyest ved T0 og viste en gradvis nedgang frem til T2 (9.1.2024) hvor det var en stor likhet i fôrgruppene. Gruppene viste størst forskjell for vanninnhold ved T1 (8.11.2024). For hver parameter ble fôrgruppene fordelt på uttaksdatoer testet for statistisk signifikans. Det ble ikke funnet noen statistiske signifikante forskjeller for vanninnhold mellom fôrgruppene ved samme uttaksdato (eks. A0:T0 vs. A3:T0). Alle fôrgruppene viste signifikant forskjell mellom uttaksdatoene, eksempelvis A0:T0 vs. A0:T2 ($p < 0.0165$), A1:T0 vs. A1:T2 ($p < 0.0165$) og A3:T0 vs. A3:T2 ($p < 0.0165$), men ingen av verdiene fra hverken A0, A1 eller A3 viste signifikant statistisk forskjell ved sammenligning mellom fôrgruppene. Da det er særlig forskjeller mellom fôrgruppene som er i fokus er det ikke markert i tabell.

Tabell 7: Gjennomsnittlige verdier av vann-, aske-, fett- og proteininnhold ($\% \pm$ standardavvik) for A0 (0% tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr). Ved de tre forskjellige datoene for uttak av forsøksindivider T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024).

Uttak		T0 (n=15)	T1 (n=15)	T2 (n=15)
Vann (%)	A0	61 \pm 1,45 ^a	58 \pm 2,60 ^a	55 \pm 2,77 ^a
	A1	62 \pm 1,45 ^a	57 \pm 2,39 ^a	55 \pm 0,89 ^a
	A3	61 \pm 0,68 ^a	60 \pm 1,65 ^a	55 \pm 2,15 ^a
Aske	A0	1,25 \pm 0,03 ^a	1,17 \pm 0,05 ^a	1,18 \pm 0,05 ^a
	A1	1,29 \pm 0,03 ^a	1,19 \pm 0,04 ^a	1,18 \pm 0,02 ^a
	A3	1,28 \pm 0,00 ^a	1,15 \pm 0,07 ^a	1,15 \pm 0,04 ^a
Fett (%)	A0	10,30 \pm 1,73 ^a	13,78 \pm 3,23 ^a	14,87 \pm 3,40 ^a
	A1	9,11 \pm 2,56 ^a	15,30 \pm 3,57 ^a	17,60 \pm 0,98 ^a
	A3	10,40 \pm 1,51 ^a	13,82 \pm 3,03 ^a	16,02 \pm 1,46 ^a
Protein (%)	A0	14,41 \pm 3,93 ^a	13,97 \pm 0,87 ^a	14,15 \pm 1,34 ^a
	A1	15,25 \pm 0,80 ^a	13,77 \pm 1,03 ^a	14,63 \pm 1,34 ^a
	A3	14,08 \pm 0,75 ^a	14,11 \pm 0,82 ^a	14,49 \pm 0,40 ^a

Gjennomsnittlig askeinnhold sank fra T0 for alle fôrgruppene. Askeinnholdet jevnet seg ut fra og med T1 til T2 med minimale endringer. Til sammenligning med vanninnhold ble det heller

ikke her påvist signifikante forskjeller mellom fôrgruppene, men statistisk signifikans ble funnet mellom uttaksdatoene (eks. A3:T0 vs. A3:T1, $p < 0.0373$). Askeinnhold var normalfordelt for hvert uttak. Gjennomsnittlig generelt fettinnhold viste en prosentvis økning for hver uttaksdato, hvor A1 viser en størst økning sammenlignet med A0 og A3. Fettinnhold er normalfordelt, men viste ingen statistisk signifikant forskjell mellom fôrgruppene. Fettinnhold viste statistisk signifikans mellom uttaksdatoene, men dette er forventet og derfor ikke presentert i tabell. Gjennomsnittlig proteininnhold viste endring fra T0 til T2. A0 og A1 viste en nedgang fra T0 til T1 før en økning til T2. Til sammenligning viste A3 en stabil, mindre økning fra gjennom T0, T1 og T2. Statistikk for proteininnhold var normalfordelt, men viste ingen statistisk signifikans forskjell mellom fôrgruppene. Gjennomsnittlig proteininnhold skilte seg fra andre parametere ved å heller ikke vise signifikante forskjeller mellom uttaksdatoer.

4.2 Vekst

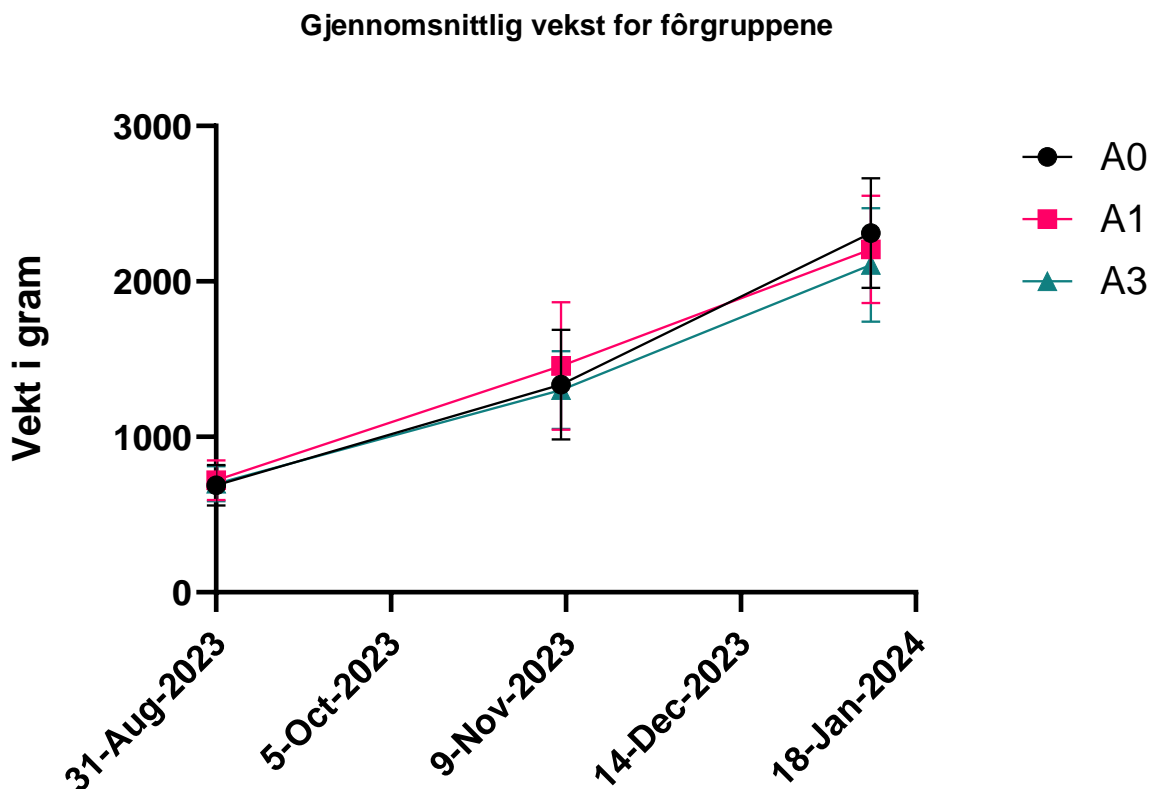
Forsøksindividene ble estimert å veie gjennomsnittlig i overkant av 700 gram ved første uttaksdato (T0). I **tabell 8** er det presentert en oversikt over de aktuelle data omhandlende vekstfaktorer som kondisjonsfaktor, vekstrate (SGR), vekt og lengde fordelt over fôrgruppene A0, A1 og A3. Verdi for kondisjonsfaktor var likt fordelt mellom uttaksdatoene (T0, T1 og T2). Alle data for kondisjonsfaktor var normalfordelt, og det ble ikke funnet noen statistisk signifikante forskjeller mellom fôrgruppene. Med unntak av A0 viste fôrgruppe A1 og A3 en økning i K-faktor fra T0 til T1, da spesielt A3, etterfulgt av en nesten tilsvarende nedgang ved T2. Dette gjorde også utslag i vekstrate og data for vekst. Data for vekstrate (SGR) for T0 er basert på siste kjente snittmåling av individene, som gjør det mulig å ha data for alle uttaksdatoene T0, T1 og T2. Verdier for vekstrate var likt fordelt mellom fôrgruppene, men A0 viste en stabil, høyere SGR sammenlignet med A1 og A3. A1 varierte fra 0,9 til 1,02 mens A3 varierte fra 0,94 til 1,3. Hvor A1 viser en høyest verdi ved T1, viste A3 en motsatt kurve ved lavest målt verdi for SGR på T1. Alle data for vekstrate (SGR) var normalfordelte, men viste heller ingen statistisk signifikante forskjeller mellom fôrgruppene. Ved T0 (31.8.2023) var snittvekt for de respektive fôrgruppene 689,0 gram for A0, 720,6 gram for A1 og 699,5 gram for A3. Fra og med T0 viste fôrgruppen A0 en størst økning og ved T2 opplevde denne gruppen den høyeste snittvekten på 2311,9 gram. Økning fra T0 til T1 for A0 tilsvarte en økning på 94%, økning fra T1 til T2 tilsvarte 72,9%. Totalt fra T0 til T2 økte fôrgruppe A0 med 235,5%. Til sammenligning viste A1 en mer moderat økning fra T0 til T2. Økning fra T0 til T1 tilsvarte en økning på 99,7%, mens økning fra T1 til T2 tilsvarte 51,4%. Total vekst for A1 fra T0 til T2 tilsvarte en økning på 206,1%. A3 viste en mindre økning i vekt totalt sett

sammenlignet med A0 og A1. Økning fra T0 til T1 tilsvarte en økning på 86.1%, mens økning fra T1 til T2 61,8%. Total vekst for A3 fra T0 til T2 tilsvarte en økning på 201,2%. Alle data for vekst i gram var normalfordelte, men viste ingen statistisk signifikante forskjeller mellom fôrgruppene. Vekst i gram er også representert i **figur 3**. Data for lengde målt i cm viste at selv om fôrgruppe A0 hadde en kortere gjennomsnittslengde sammenlignet med A1 og A3 ved T0, endte A0 opp med høyest gjennomsnittslengde ved T2. Dette samsvarer med data for SGR og kondisjonsfaktor, hvor A0:T2 har lavest kondisjonsfaktor av alle på T2, og den høyeste SGR på T2. Alle data for lengde var normalfordelt, men viste ingen statistiske signifikante forskjeller.

Tabell 8: Gjennomsnittlige verdier og variasjon av lengde (cm), vekt (g), kondisjonsfaktor ($\frac{V}{L^3} \times 100$) og SGR ($\left[\frac{\ln VT_2 - \ln VT_0}{T_2 - T_0}\right] \times 100$). Kondisjonsfaktor angir om hvorvidt fisken er fet ved å dividere vekt med lengde³. SGR er en vekstrate som setter tall på fiskens vekst over tid. Den regnes ut ved å subtrahere ln(nåværende vekt) og ln(startvekt) og dividere på antall dager (nåværende dato – startdato). Alle målene er basert på de tre uttakene T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Ved hvert uttak er tilfeldige forsøksindivider fra hver fôrgruppe A0 (0% tilsetning alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr) plukket ut for videre undersøkelser. Antall forsøksindivider (n=) varierer.

Uttak		T0(n=45)	T1(n=26)	T2(n=40)
Kondisjonsfaktor	A0	1,54 ± 0,30 ^a	1,54 ± 0,18 ^a	1,49 ± 0,10 ^a
	A1	1,44 ± 0,09 ^a	1,64 ± 0,09 ^a	1,54 ± 0,08 ^a
	A3	1,43 ± 0,09 ^a	1,80 ± 0,34 ^a	1,51 ± 0,07 ^a
SGR	A0	1,22 ^a	1,22 ^a	1,21 ^a
	A1	0,96 ^a	1,02 ^a	0,9 ^a
	A3	1,3 ^a	0,94 ^a	1,09 ^a
Vekt (g)	A0	689,0 ± 129,1 ^a	1337,0 ± 353,8 ^a	2311,9 ± 353,7 ^a
	A1	720,6 ± 136,6 ^a	1457,4 ± 411,2 ^a	2205,8 ± 346,2 ^a
	A3	699,5 ± 114,2 ^a	1302,0 ± 251,9 ^a	2106,8 ± 366,0 ^a
Lengde (cm)	A0	35,5 ± 1,3 ^a	43,9 ± 3,6 ^a	53,6 ± 2,9 ^a
	A1	36,8 ± 2,0 ^a	44,3 ± 4,6 ^a	52,3 ± 2,2 ^a
	A3	36,5 ± 1,9 ^a	41,7 ± 3,5 ^a	51,7 ± 2,9 ^a

Angående statistisk signifikans viste ingen av fôrgruppene noen signifikant forskjell ved noen av parametrene. Det forekom statistisk signifikant forskjell mellom uttakene (T0, T1 og T2) ved Kondisjonsfaktor, Vekt og Lengde, men dette er som forventet og er dermed ikke markert.



Figur 3: Gjennomsnittlig vekst i gram for A0 (0% tilsetning av alger), A1 (1% tilsetning av alger) og A3 (3% tilsetning av alger) fordelt over uttaksdatoene T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024).

4.3 Fettsyreinnhold

Gjennomsnittlig fettsyreinnhold er presentert i følgende orden; **tabell 9** presenterer fettsyreinnhold i arealprosent, **figur 4** presenterer gjennomsnittlig fettsyreinnhold, **figur 5** presenterer gjennomsnittlig PUFA-innhold fordelt på fettsyrer og **tabell 10** presenterer fettsyreinnhold i gram.

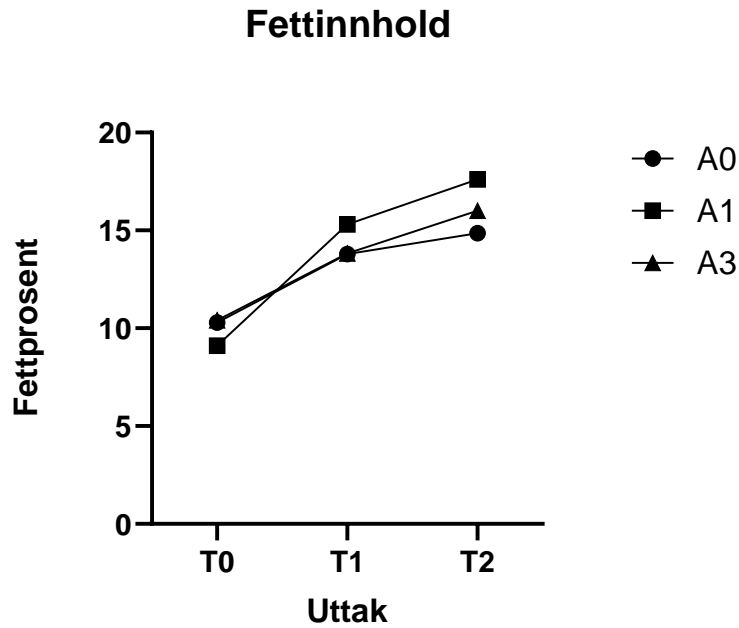
Tabell 9: Gjennomsnittlig fettsyreinnhold i areal (%) ± standardavvik. Fettsyrer er ekstrahert fra filét fra forsøksindivider fra gruppene A0 (0 % tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr). Analyser er basert på tre uttak av fisk ved forskjellige tidspunkt: T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Forkortelser i tabell er som følger: SFA (metter fettsyre), MUFA (enumettete fettsyrer), PUFA (flerumettet fettsyre), FA (fettsyre), LC (langkjedet), ID (ikke identifisert fettsyre). Samtlige verdier er basert på sammenlagt data for 5 tilfeldige forsøksindivider fra adskilte kar. Til sammen over T0, T1 og T2 blir utgjør dette n=15. Verdiene for A0, A1 og A3 stammer fra 5 tilfeldige utvalgte forsøksindivider fra hvert uttak (derav n=15), hvor tre paralleller utgjør presentert verdi i et gjennomsnitt.

Uttak	T0(n=15)			T1(n=15)			T2(n=15)		
Fettsyrer	A0	A1	A3	A0	A1	A3	A0	A1	A3
C14:0	4,3 ± 0,3	4,2 ± 0,1	4,4 ± 0,4	3,5 ± 0,3	3,2 ± 0,2	3,2 ± 0,2	2,4 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,7 ± 0,2
C16:0	13,9 ± 0,6	13,2 ± 0,4	13,3 ± 1,4	12,3 ± 0,7	12,0 ± 0,6	12,0 ± 0,7	12,0 ± 0,4	11,1 ± 0,2	11,9 ± 1,2
C18:0	2,9 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,3	2,7 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,9 ± 0,2	3,2 ± 0,2	2,9 ± 0,1	3,1 ± 0,3
C22:0	11,5 ± 0,2	11,5 ± 0,3	11,4 ± 0,3	8,7 ± 0,7	6,2 ± 2,9	7,0 ± 2,5	7,2 ± 0,2	6,8 ± 0,3	6,8 ± 0,2
Total SFA	32,5	31,6	31,7	27,2	24,3	25,1	24,8	23,6	24,5
C16:1 N-7	3,6 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,7 ± 0,0	2,9 ± 0,1	2,7 ± 0,3	2,8 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1
C18:1 N-7	2,5 ± 0,0	2,5 ± 0,0	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,0	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,0	2,7 ± 0,0	2,7 ± 0,1
C18:1 N-9	23,5 ± 0,4	23,1 ± 0,2	23,5 ± 0,7	31,0 ± 2,5	32,9 ± 1,9	32,4 ± 1,2	35,9 ± 0,5	36,0 ± 0,6	35,7 ± 1,3
C18:1 N-12	ID	1,5 ± 0,0	1,9 ± 0,4	ID	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,2	ID	ID	1,0 ± 0,0
C20:1 N-9	9,6 ± 0,2	9,7 ± 0,2	9,6 ± 0,2	8,1 ± 0,6	7,4 ± 0,4	7,5 ± 0,2	7,3 ± 0,1	7,1 ± 0,2	7,0 ± 0,3
C22:1 N-9	0,9 ± 0,0	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	ID	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	ID	ID	0,7 ± 0,1
C22:1 N-11	ID	1,2 ± 0,0	1,3 ± 0,3	0,7 ± 0,0	1,5 ± 0,3	1,2 ± 0,5	0,7 ± 0,0	0,8 ± 0,5	1,3 ± 0,4
C24:1 N-9	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	ID	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0
Total MUFA	40,9	43,4	44,3	45,8	49,7	49,1	48,9	49,6	51,5
C18:2 N-6	8,1 ± 0,2	8,0 ± 0,1	8,0 ± 0,2	11,1 ± 0,5	11,6 ± 0,6	11,2 ± 0,4	12,3 ± 0,2	12,7 ± 0,2	12,3 ± 0,5
C18:3 N-3	3,2 ± 0,1	3,3 ± 0,1	3,4 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,8 ± 0,1	4,1 ± 0,0	3,9 ± 0,2
C18:4 N-3	3,0 ± 0,0	2,9 ± 0,0	2,9 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,1 ± 0,2	2,1 ± 0,1	1,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1
C20:2 N-6	0,7 ± 0,0	0,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1
C20:5 N-3	3,1 ± 0,2 ^a	3,1 ± 0,2 ^a	3,2 ± 0,1 ^a	2,4 ± 0,3 ^a	2,1 ± 0,2 ^b	2,2 ± 0,1 ^b	1,9 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,1 ^a	1,8 ± 0,2 ^a
C22:5 N-3	1,2 ± 0,0 ^a	1,2 ± 0,0 ^a	1,2 ± 0,0 ^a	0,9 ± 0,1 ^a	0,9 ± 0,1 ^a	0,9 ± 0,0 ^a	0,8 ± 0,0 ^a	0,8 ± 0,1 ^a	0,8 ± 0,1 ^a
C22:6 N-3	7,3 ± 0,4 ^a	7,7 ± 0,4 ^a	7,7 ± 0,4 ^a	5,5 ± 0,4 ^a	5,0 ± 0,6 ^a	5,3 ± 0,2 ^a	4,4 ± 0,3 ^a	4,6 ± 0,2 ^a	4,8 ± 0,3 ^a
Total PUFA	26,6^a	27,0^a	27,3^a	26,9^a	26,5^a	26,6^a	26,4^a	27,1^b	26,8^b
Σ FA	100,00	102,01	103,20	100,00	100,48	100,84	100,00	100,38	102,80
Σ n-6 PUFA	8,9	8,8	8,8	12,1	12,7	12,3	13,5	13,9	13,5
Σ n-3 PUFA	17,7	18,2	18,5	14,9	13,9	14,3	12,8	13,2	13,3
Σ n-3 LC PUFA	11,6^a	12,0^a	12,1^a	8,8^a	8,0^b	8,4^b	7,1^a	7,4^a	7,5^a

- Total PUFA A0:T2 signifikant forskjellig fra A1:T2 p<0.0421.
- Σ n-3 LC PUFA A0:T1 signifikant forskjellig fra A1:T1 p<0.0170.
- C20:5 N-3 A0:T1 signifikant forskjellig fra A1:T1 p<0.0039.

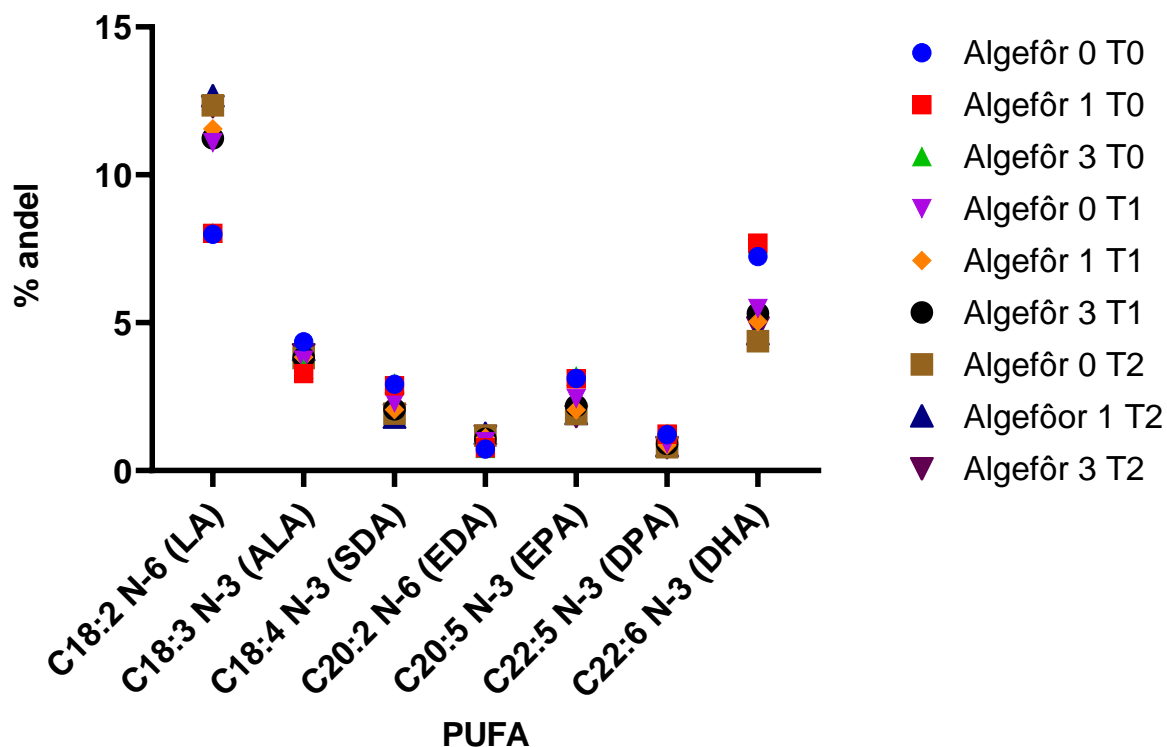
Fra **tabell 9** var Total PUFA, Σ n-6 PUFA, Σ n-3 PUFA og Σ n-3 LC PUFA alle normalfordelte, og det ble identifisert enkelte signifikante forskjeller mellom fôrgruppene. Alle fôrgruppene viste statistisk signifikante forskjeller mellom uttaksdatoene. Angående Total PUFA var det relativt stabile nivåer for alle fôrgruppene fordelt over T0, T1 og T2, hvor verdiene varierte fra 26,6% til 27,3% ved T0, fra 26,5% til 26,9% ved T1 og fra 26,4% til 27,1% ved T2. A0:T2 viste statistisk signifikant forskjell fra A1:T2 ($p < 0.0421$). For Σ n-6 PUFA var det en jevn økning for alle fôrgruppene A0, A1 og A2 fordelt på uttaksdatoene T0, T1 og T2. Verdiene varierte fra 8,8% til 8,9% ved T0, fra 12,1% til 12,7% ved T1 og fra 13,5% til 13,9% ved T2. Angående Σ n-3 PUFA var det en jevn nedgang for alle fôrgruppene fra T0 til T2. Verdiene varierte fra 17,7% til 18,5% ved T0, fra 13,9% til 14,9% ved T1 og fra 12,8% til 13,3% ved T2. Angående Σ n-3 LC PUFA var det også her en jevn nedgang fra T0 til T2. Verdiene varierte fra 11,6% til 12,1% ved T1, fra 8,0% til 8,8% ved T1 og fra 7,1% til 7,5% ved T2. Fôrgruppe A3 viste høyest innhold av samtlige fôrgrupper for prosentvis innhold av Σ n-3 PUFA og Σ n-3 LC PUFA ved T2. A0:T1 viste en statistisk signifikant forskjell fra A1:T1 ($p < 0.0170$).

Angående de essensielle fettsyrene linolsyre (C18:2 N-6) og linolensyre (C18:3 N-3) viste de begge relativt jevne verdier fordelt på fôrgruppene mellom uttaksdatoene. Ved T2 viste fôrgruppe A1 høyest prosentandel ved både linolsyre og linolensyre, henholdsvis 12,7% og 4,1%. Andelen for både linolsyre og linolensyre økte fra T0 til T2, hvor linolensyre økte noe mer. Angående generelt fettinnhold i prosent fra **figur 4** viste det seg at generell fettprosent endret seg over tid. Verdiene samsvarer med verdier for fett (%) i **tabell 7**. Fôrgruppe A1 viste lavest innhold ved T0 men viser også høyest innhold ved T1 og T2. Fôrgruppe A0 og A3 viste stabile økninger i fettprosent gjennom hele forsøket. Fôrgruppe A0 og A3 hadde en tilnærmet lik utvikling fra T0 til T2, men skilte seg i utvikling fra T1 til T2 hvor A3 viste en betydelig høyere fettprosent.



Figur 4: Gjennomsnittlig fettinnhold i prosent fordelt i fôrgruppene A0 (0% tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr) fordelt på uttaksdatoene T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024).

Figur 5 viser en oversikt over prosentvist fettsyreinnhold i fôrgruppene A0, A1 og A3 ved de tre uttaksdatoene T0, T1 og T2. De største avvikene i fettsyrenivåer var å finne for linolsyre (ILA, C18:2 N-6) og docosahexaensyre (DHA, C22:6 N-3). Av alle PUFA presentert er det disse to PUFA som viste størst endring fra T0 til T2. De resterende PUFA viste også endringer, men i betydelig mindre grad. Eksempelvis viste eikosapentosenyre (EPA, C20:5 N-3) en signifikant nedgang fra T0 til T2 som også er vist i **figur 5** og **tabell 9**, det samme gjelder stearidonsyre (C18:4 N-3).



Figur 5: Innhold av PUFA (flerummettede) fettsyrer i % av totalt fettinnhold, inkludert sammenlagte verdier av PUFA for fôrgruppene A0 (0% tilsetning av alger i fôret), A1 (1% tilsetning av alger i fôret) og A3 (3% tilsetning av alger i fôret), fordelt på uttaksdatoene T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Linolsyre (LA) C18:2 n-6, lionolensyre (ALA) C18:3 n-3, stearionsyre (SDA) C18:4 n-3, eikosadiensyre (EDA) C20:2 n-6, eikosapentaensyre (EPA) C20:5 n-3, dokosapentaensyre (DPA) C22:5 n-3, dokosapentaheksaensyre (DHA) C22:6 n-3.

I **tabell 10** er det presentert verdier for hver identifisert FA i gram per. 100 gram filét fra forsøksindividene i fôrgruppene A0, A1 og A3 fordelt på uttaksdatoene T0, T1 og T2. Σ FA fra tabellen angir totalt antall gram fett, summen av hver fettsyre for hver fôrgruppe og uttak. Total PUFA, Σ FA, Σ n-6 PUFA, Σ n-3 PUFA og Σ n-3 LC PUFA var alle normalfordelt, og det ble identifisert enkelte signifikante forskjeller mellom fôrgruppene. Alle fôrgruppene viste signifikante forskjeller ved de ulike uttaksdatoene for de nevnte parametere. For Total PUFA viste A0 en 60% økning fra T0 til T1, til sammenligning viste A1 en 79,8% økning fra T0 til T1 mens A3 viste en 47,2% økning. Fra T1 til T2 avtok økningen av andel PUFA – A0 viste en 2,1% nedgang, A1 viste en 29,2% økning og A3 en 5,9% økning. For Σ FA var det en jevn økning i verdier fra T0 til T1 hvor økningen stagnerte til T2. Fra T0 til T1 viste A0 en 59% økning, A1 viste en 71% økning mens A3 viste en 49,3% økning.

Tabell 10: Gjennomsnittlig fettsyreinnhold gram / 100 gram filét ± standardavvik. Fettsyrer er ekstrahert fra filét fra forsøksindivider fra gruppene A0 (0 % tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr. Analyser er basert på tre uttak av fisk ved forskjellige tidspunkt: T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Forkortelser i tabell er som følger: SFA (metter fettsyre), MUFA (enumettet fettsyre), PUFA (flerumettet fettsyre), FA (fettsyre), LC (langkjedet), ID (ikke identifisert fettsyre). Samtlige verdier er basert på sammenlagt data for 5 tilfeldige forsøksindivider fra adskilte kar. Til sammen over T0, T1 og T2 blir utgjør dette n=15. Verdiene for A0, A1 og A3 stammer fra 5 tilfeldige utvalgte forsøksindivider fra hvert uttak (derav n=15), hvor tre paralleller for hvert forsøksindivid er regnet frem til et gjennomsnitt som utgjør verdi.

Uttak	T0(n=15)			T1(n=15)			T2(n=15)		
Fettsyrer	A0	A1	A3	A0	A1	A3	A0	A1	A3
C14:0	0,29 ± 0,0	0,26 ± 0,1	0,31 ± 0,0	0,36 ± 0,1	0,35 ± 0,1	0,35 ± 0,1	0,26 ± 0,1	0,40 ± 0,0	0,31 ± 0,0
C16:0	0,94 ± 0,1	0,80 ± 0,4	0,94 ± 0,1	1,30 ± 0,3	1,34 ± 0,3	1,28 ± 0,3	1,28 ± 0,3	1,56 ± 0,1	1,35 ± 0,2
C18:0	0,20 ± 0,0	0,16 ± 0,1	0,19 ± 0,0	0,30 ± 0,1	0,33 ± 0,1	0,31 ± 0,1	0,34 ± 0,1	0,40 ± 0,0	0,36 ± 0,1
C22:0	0,77 ± 0,1	0,70 ± 0,4	0,72 ± 0,3	0,92 ± 0,2	0,66 ± 0,3	0,80 ± 0,4	0,77 ± 0,2	0,96 ± 0,1	0,77 ± 0,1
Total SFA	2,20	1,93	2,15	2,88	2,68	2,74	2,65	3,31	2,79
C16:1 N-7	0,25 ± 0,0	0,22 ± 0,1	0,26 ± 0,1	0,31 ± 0,1	0,30 ± 0,1	0,31 ± 0,1	0,25 ± 0,1	0,35 ± 0,0	0,28 ± 0,0
C18:1 N-7	0,17 ± 0,0	0,15 ± 0,1	0,18 ± 0,0	0,28 ± 0,1	0,29 ± 0,1	0,28 ± 0,1	0,29 ± 0,1	0,37 ± 0,0	0,30 ± 0,0
C18:1 N-9	1,58 ± 0,2	1,41 ± 0,6	1,69 ± 0,3	3,39 ± 1,2	3,66 ± 0,8	3,50 ± 0,8	3,85 ± 1,0	5,05 ± 0,4	4,06 ± 0,4
C18:1 N-12	ID	0,11 ± 0,0	0,13 ± 0,0	ID	0,14 ± 0,0	0,11 ± 0,0	ID	ID	0,11 ± 0,0
C20:1 N-9	0,64 ± 0,1	0,59 ± 0,3	0,69 ± 0,1	0,85 ± 0,2	0,83 ± 0,2	0,81 ± 0,2	0,79 ± 0,2	1,00 ± 0,1	0,80 ± 0,1
C22:1 N-9	ID	0,38 ± 0,0	0,06 ± 0,0	ID	0,17 ± 0,0	0,05 ± 0,0	ID	ID	0,08 ± 0,0
C22:1 N-11	0,06 ± 0,0	0,05 ± 0,3	0,10 ± 0,0	0,08 ± 0,0	0,08 ± 0,0	0,12 ± 0,1	0,07 ± 0,0	0,12 ± 0,1	0,14 ± 0,0
C24:1 N-9	0,05 ± 0,0	0,05 ± 0,0	0,06 ± 0,0	0,07 ± 0,0	0,07 ± 0,0	0,07 ± 0,0	ID	0,08 ± 0,0	0,07 ± 0,0
Total MUFA	2,75	2,97	3,17	4,96	5,54	5,25	5,24	6,98	5,85
C18:2 N-6	0,55 ± 0,1	0,49 ± 0,2	0,58 ± 0,1	1,20 ± 0,4	1,28 ± 0,3	1,21 ± 0,3	1,32 ± 0,3	1,78 ± 0,2	1,40 ± 0,1
C18:3 N-3	0,21 ± 0,0	0,20 ± 0,1	0,25 ± 0,1	0,40 ± 0,1	0,43 ± 0,1	0,41 ± 0,1	0,41 ± 0,1	0,57 ± 0,0	0,45 ± 0,0
C18:4 N-3	0,20 ± 0,0	0,17 ± 0,1	0,21 ± 0,0	0,24 ± 0,1	0,23 ± 0,1	0,23 ± 0,1	0,21 ± 0,0	0,25 ± 0,0	0,21 ± 0,0
C20:2 N-6	0,05 ± 0,0	0,05 ± 0,0	0,05 ± 0,0	0,11 ± 0,0	0,12 ± 0,0	0,11 ± 0,0	0,13 ± 0,0	0,17 ± 0,0	0,13 ± 0,0
C20:5 N-3	0,21 ± 0,0 ^a	0,19 ± 0,1 ^a	0,23 ± 0,0 ^a	0,25 ± 0,1 ^a	0,23 ± 0,1 ^a	0,24 ± 0,1 ^a	0,21 ± 0,1 ^a	0,27 ± 0,0 ^a	0,21 ± 0,0 ^a
C22:5 N-3	0,08 ± 0,0 ^a	0,07 ± 0,0 ^a	0,09 ± 0,0 ^a	0,10 ± 0,0 ^a	0,10 ± 0,0 ^a	0,10 ± 0,0 ^a	0,09 ± 0,0 ^a	0,12 ± 0,0 ^a	0,09 ± 0,0 ^a
C22:6 N-3	0,49 ± 0,1 ^a	0,46 ± 0,2 ^a	0,55 ± 0,1 ^a	0,58 ± 0,1 ^a	0,56 ± 0,1 ^a	0,58 ± 0,1 ^a	0,47 ± 0,1 ^a	0,65 ± 0,0 ^b	0,55 ± 0,1 ^b
Total PUFA	1,79^a	1,64^a	1,95^a	2,88^a	2,95^b	2,87^a	2,82^a	3,81^b	3,04^a
Σ FA	6,74	6,53	7,27	10,72	11,17	10,86	10,72	14,11	11,68
Σ n-6 PUFA	0,6	0,53	0,63	1,31	1,4	1,32	1,45	1,95	1,53
Σ n-3 PUFA	1,19	1,10	1,32	1,57	1,54	1,55	1,37	1,86	1,51
Σ n-3 LC PUFA	0,78^a	0,73^a	0,87^a	0,93^a	0,89^a	0,91^a	0,76^a	1,03^b	0,85^a

- Total PUFA A0:T1 signifikant forskjellig fra A1:T1 p<0.0075.
- Total PUFA A1:T1 signifikant forskjellig fra A3:T1 p<0.0075.
- Total PUFA A0:T2 signifikant forskjellig fra A1:T2 p<0.0001.
- Total PUFA A1:T2 signifikant forskjellig fra A3:T2 p<0.0001.
- C22:6 N-3 A0:T2 signifikant forskjellig fra A1:T2 p<0.0458.

Fra T1 til T2 viste A0 de samme verdiene ved begge anledninger for Σ FA, A1 viste en 26,3% økning og A3 en 7,5% økning til sammenligning. A0:T1 viste en statistisk signifikant forskjell fra A1:T1 ($p < 0.0075$) for Total PUFA. A1:T1 viste en statistisk signifikant forskjell fra A3:T1 ($p < 0.0075$) for Total PUFA. A0:T2 viste en statistisk signifikant forskjell fra A1:T2 ($p < 0.0001$) for Total PUFA. A1:T2 viste en statistisk signifikant forskjell fra A3:T2 ($p < 0.0001$) for Total PUFA. For Σ n-6 PUFA var det en økning fra T0 til T1 for alle fôrgruppene, før økningen stagnerte fra T1 til T2. Fra T0 til T1 viste A0 en 118,3% økning, A1 viste en 164,2% økning mens A3 viste en 109,5% økning. Fra T1 til T2 viste A0 en 10,7% økning, A1 viste en 39,2% økning mens A3 viste en 15,9% økning. For Σ n-3 PUFA var det en minimal økning fra T0 til T1 for alle fôrgruppene, før verdiene skiller seg. Fra T0 til T1 viste A0 en 31,9% økning, A1 viste en 40% økning mens A3 viste en 17,4% økning. Fra T1 til T2 viste A0 en 12,7% nedgang, A1 viste en 20,7% økning mens A3 viste en 2,5% nedgang. For Σ n-3 LC PUFA viste A0 en 19,2% økning, A1 viste en 21,9% økning mens A3 viste en 4,6% økning. Fra T1 til T2 viste A0 en 18,3% nedgang, A1 viste en 15,7% økning mens A3 viste en 6,6% nedgang. Ved samtlige statistiske parametere (Total PUFA, Σ FA, Σ n-6 PUFA, Σ n-3 PUFA og Σ n-3 LC PUFA) viste fôrgruppe A1 lavest verdi ved T0 og høyest verdi ved T2.

4.4 Aminosyreinnhold

Aminosyreinnhold fra forsøksindividene er presentert i **tabell 11** som viser aminosyrer i mg per. gram filét fra forsøksindividene i fôrgruppene A0, A1 og A3 fordelt over uttaksdatoene T0, T1 og T2. Beregnet generelt proteininnhold er vist i **tabell 7**. Parameterne Σ EAA, Σ IEAA og Σ TAA var alle normalfordelt. Det ble funnet enkelte statistisk signifikante forskjeller fordelt på fôrgruppene. Verdier for Σ EAA varierte for samtlige fôrgrupper fra T0 til T2, men viste det laveste gjennomsnittet ved T1. Den høyeste verdien for Σ EAA var A1:T0 ved 79,3 mg/g filét. Til sammenligning var den laveste verdien for Σ EAA A1:T1 ved 71,4 mg/g filét. For T0 var alle målingene signifikant forskjellig fra hverandre. Σ IEAA viste en lik utvikling fra T0 til T2. Samtlige fôrgrupper viste en nedgang fra T0 til T1 etterfulgt av en økning til T2. På sammen måte som ved Σ EAA var den høyeste verdien for Σ IEAA, A1:T0 ved 73,3 mg/g filét, og den laveste verdien A1:T1 ved 66,3 mg/g filét. Σ TAA viste en generell stagnasjon fra T0 til T1 med unntak av A3, og en økning for samtlige fôrgrupper fra T1 til T2. Den høyeste og den laveste verdien for Σ TAA var, på samme måte som ved Σ EAA og Σ IEAA, ved A1:T0 og ved A1:T1 med 152,5 mg/g filét og 137,7 mg/g filét respektivt. A1:T0 var statistisk signifikant høyere enn A3:T0. A0:T2 var også statistisk signifikant lavere enn A1:T2.

Tabell 11: Mengde aminosyrer målt i mg aminosyre / gram filét ± standardavvik. Prøver fra homogenisert filét fra alle tre fiskegruppene A0 (0% tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr). Prøver er basert på uttak av fisk ved tre forskjellige tidspunkt T0 (31.8.2023), T1 (8.11.2023) og T2 (9.1.2024). Ved hvert uttak er fem tilfeldig utvalgte forsøksindivider fra hver fôrgruppe fjernet for analyse, til sammen tilsvarer dette n=15. Forkortelser i tabell er som følger: Σ EAA: Sum essensielle aminosyrer. Σ IEAA: Sum ikke-essensielle aminosyrer. Σ TAA: Sum totale aminosyrer.

Uttak	T0 (n=15)			T1 (n=15)			T2 (n=15)		
	A0	A1	A3	A0	A1	A3	A0	A1	A3
Fiskegrupper									
Arginin	10,2 ± 0,9	8,1 ± 1,6	7,3 ± 1,2	7,1 ± 0,4	7,4 ± 1,0	7,8 ± 0,7	9,0 ± 1,2	9,1 ± 0,6	9,1 ± 0,5
Fenylalanin	6,9 ± 0,4	7,4 ± 0,3	6,8 ± 0,3	6,8 ± 0,4	6,7 ± 0,5	6,9 ± 0,4	6,8 ± 0,6	7,0 ± 0,1	7,0 ± 0,2
Histidin	4,1 ± 0,3	4,1 ± 0,5	3,9 ± 0,3	3,9 ± 0,3	3,0 ± 1,5	3,7 ± 0,4	3,9 ± 0,4	4,1 ± 0,2	3,4 ± 1,2
Isoleucin	7,2 ± 0,5	7,8 ± 0,1	7,2 ± 0,4	7,2 ± 0,3	7,2 ± 0,5	7,3 ± 0,4	6,9 ± 0,5	7,4 ± 0,1	7,4 ± 0,4
Leucin	11,9 ± 0,8	12,9 ± 0,4	11,9 ± 0,6	11,8 ± 0,6	11,7 ± 0,7	12,0 ± 0,8	11,8 ± 1,0	12,2 ± 0,1	12,2 ± 0,4
Lysin	15,1 ± 1,1	16,6 ± 0,7	15,2 ± 0,8	15,0 ± 0,8	15,0 ± 1,0	15,3 ± 1,1	15,0 ± 1,4	15,5 ± 0,2	15,4 ± 0,5
Metionin	5,0 ± 0,3	5,4 ± 0,3	5,0 ± 0,3	4,8 ± 0,4	4,7 ± 0,5	5,0 ± 0,3	5,0 ± 0,5	5,1 ± 0,1	4,9 ± 0,3
Treonin	7,4 ± 0,5	8,0 ± 0,4	7,4 ± 0,4	7,4 ± 0,4	7,3 ± 0,4	7,4 ± 0,5	7,5 ± 0,7	7,6 ± 0,2	7,8 ± 0,3
Valin	8,2 ± 0,7	8,9 ± 0,2	8,2 ± 0,4	8,4 ± 0,4	8,4 ± 0,6	8,5 ± 0,5	7,9 ± 0,5	8,4 ± 0,2	8,5 ± 0,5
Σ EAA	76,2^a	79,3^b	73,0^c	72,5^a	71,4^a	73,8^a	73,8^a	76,4^a	75,5^a
Alanine	8,7 ± 0,5	9,4 ± 0,3	8,8 ± 0,5	8,7 ± 0,4	8,7 ± 0,5	8,7 ± 0,6	8,6 ± 0,8	8,8 ± 0,2	8,9 ± 0,4
Asparginsyre	11,3 ± 0,8	12,2 ± 0,5	11,2 ± 0,6	11,2 ± 0,5	11,1 ± 0,7	11,3 ± 0,8	11,1 ± 1,0	11,6 ± 0,2	11,7 ± 0,4
Cystein	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,3	1,1 ± 0,1	0,9 ± 0,3	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,3
Glutaminsyre	23,7 ± 1,7	25,9 ± 1,0	23,7 ± 1,1	23,4 ± 1,2	23,0 ± 1,7	23,8 ± 1,7	23,4 ± 2,1	24,2 ± 0,3	24,2 ± 0,8
Glycin	6,7 ± 0,3	7,1 ± 0,2	6,7 ± 0,4	6,7 ± 0,3	6,6 ± 0,5	6,6 ± 0,4	6,7 ± 0,6	6,8 ± 0,2	6,9 ± 0,3
Prolin	5,4 ± 0,3	6,2 ± 0,4	5,7 ± 0,4	5,8 ± 0,3	5,8 ± 0,4	5,8 ± 0,4	5,6 ± 0,6	6,1 ± 0,4	6,2 ± 0,3
Serin	6,0 ± 0,4	6,5 ± 0,3	6,0 ± 0,3	5,9 ± 0,3	5,9 ± 0,4	5,9 ± 0,4	6,0 ± 0,6	6,1 ± 0,2	6,2 ± 0,2
Tyrosin	5,1 ± 0,6	4,9 ± 1,7	4,6 ± 2,0	4,4 ± 1,1	4,4 ± 1,6	4,4 ± 1,3	5,1 ± 1,2	5,1 ± 1,3	4,5 ± 1,4
Σ IEAA	67,9^a	73,3^a	67,8^a	67,3^a	66,3^a	67,4^a	67,7^a	69,9^a	69,4^a
Σ TAA	144,1^a	152,5^a	140,8^b	139,7^a	137,7^a	141,1^a	141,5^a	146,3^b	144,9^b

- Σ EAAA0:T0 statistisk signifikant forskjellig fra A1:T0 p<0.0325.
- Σ EAAA0:T0 statistisk signifikant forskjellig fra A3:T0 p<0.0286.
- Σ EAAA1:T0 statistisk signifikant forskjellig fra A3:T0 p<0.0001.
- Σ TAA A1:T0 statistisk signifikant forskjellig fra A3:T0 p<0.0248.
- Σ TAA A0:T2 statistisk signifikant forskjellig fra A1:T2 p<0.0220.

4.5 Lusesmitte

Resultat fra smitte av lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) for fôrgruppene A0 (0% tilsetning av alger i fôr), A1 (1% tilsetning av alger i fôr) og A3 (3% tilsetning av alger i fôr) viste at begge gruppene tilsatt kiselalgen *Porosira glacialis* i fôret hadde et statistisk signifikant mindre lusepåslag (35-40%) sammenlignet med fôrgruppe A0. Forsøket medførte ingen tilfeller av dødelighet for forsøksindivider (Personlig kommunikasjon, Hans Christian Eilertsen, Finnfjord AS).

4.6 Mineral- og metallanalyse

Resultatene fra mineral- og metallanalyse viste at ingen av fôrgruppene oversteg grenseverdiene for uønskede stoffer. Fra **tabell 12** er det mulig å se at selen (Se), kadmium (Cd), kvikksølv (Hg), og bly (Pb) viste et minimalt og likt innhold i begge fôrgruppene.

Tabell 12 : Oversikt over mineraler og metaller i henholdsvis kiselalgen *Porosira glacialis* og fôrgruppene A0 (0% alger i fôr), A3 (3% alger tilsatt i fôr) og gjennomsnitt fra Norsk oppdrettsvirksomhet av Atlantisk laks. Alle forsøksindivider for følgende analyse er fra T2 (9.1.2024). Data hentet fra Sjømatdata.no og er basert på funn fra Havforskningsinstituttet (Bernard et al., 2022; NIFES, 2023).

Parameter	<i>P. glacialis</i>	A0	A3	Snitt oppdrett (NIFES, 2023)
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Jern (Fe)	820	0,8	0,91	2,7
Sink (Zn)	93	1,1	1,2	4,2
Arsen (As)	0,76	0,62	0,5	0,57
Selen (Se)	0,34	0,057	0,057	0,21
Kadmium (Cd)	0,007	<0,0005	<0,0005	
Kvikksølv (Hg)	<0,007	0,011	0,01	0,014
Bly (Pb)	0,15	<0,002	<0,002	
Jod (I)	320	0,017	0,022	0,054

*Analysene er utført hos Havforskningsinstituttet i Bergen som beskrevet i Reksten et al., 2020.

For jern (Fe) var innholdet 12,9% høyere for A3 sammenlignet med A0, men betydelig lavere for både A0 og A3 sammenlignet med gjennomsnitt i filét fra oppdrettslaks i 2023 (Bernard et al., 2023) som var 196,7% høyere enn A3. For kobber (Cu) var innholdet 24% høyere for A3 sammenlignet med A0. For sink (Zn) var innholdet 8,7% høyere for A3 sammenlignet med A0, men også her betydelig lavere for både A0 og A3 sammenlignet med gjennomsnittet i oppdrettslaks i 2023. For arsen var innholdet 21,4% høyere for A0 sammenlignet med A3, og jevnt med gjennomsnittet i oppdrettslaks i 2023. For jod (I) var innholdet 25,6% høyere for A3 sammenlignet med A0, men betydelig lavere for både A0 og A3 sammenlignet med gjennomsnittet i oppdrettslaks i 2023.

5 Diskusjon

Dagens standard praksis for oppdrettsnæringen angående fôr og behandling av lakselus er utfordrende å forsvare (Bui et al., 2023). Etterspørselen etter bærekraftige fett- og proteinholdige marine ingredienser øker sammen med prisen, samtidig som tilgangen synker. De fleste marine ingredienser i akvakulturnæringens fôrforbruk importeres, og man vil kunne styrke næringens sikkerhet og posisjon ved å bytte til flere ingredienser som produseres i Norge (Strøm et al., 2022). Samtidig er det viktig å ivareta fiskehelse og motbevise negativt omdømme omhandlende fiskehelse, lakselus og dødelighet. Denne masteroppgaven hadde som mål å undersøke om tilsetning av kiselalger i form av *Porosira glacialis* kan være et alternativ som fremtidig fôringrediens i oppdrett av laksefisk. Atlantisk laks (*Salmo salar*) har blitt undersøkt for biokjemiske sammensetninger av filét. Tre fôrgrupper av forsøksfisk, A0, A1 og A3 ble fôret med tre forskjellige tilsetningsnivå av algemasse (0%, 1% og 3%) i fôret. Disse gruppene ble utsatt for lik behandling og sammenlignet med hverandre.

For de biokjemiske makronæringsstoffene vann-, aske-, fett- og proteininnhold ble det ikke målt noen statistisk signifikante forskjeller mellom A0, A1 og A3 som skulle indikere at ingen av diettene fungerte dårligere eller bedre sammenlignet med hverandre. **Tabell 7** viser et høyere innhold av vann i filét for samtlige fôrgrupper ved T0. Ved T2 hadde alle fôrgruppene et nærmest identisk vanninnhold, som forsterker inntrykket om lik funksjon. Ved første uttaksdato (T0) var det også små marginer som skilte fôrgruppene, de største forskjellene mellom fôrgruppene var å finne ved andre uttaksdato (T1) angående vanninnhold. Variasjonen mellom individene er også stor, så om man aner en trend er dette ikke nødvendigvis statistisk signifikant. Askeinnholdet i fisk reflekterer innholdet av mineraler som silisium (fra silika), magnesium, kalsium, kalium og sink (Ayanda et al., 2019). **Tabell 7** viser at det ikke er signifikante forskjeller i askeinnholdet mellom fôrgruppene ved noen av uttaksdatoene. Askeinnholdet stagnerte fra T0 til T2. Samtidig som askeinnholdet sank med tiden (T), sank også variasjonen mellom fôrgruppene. Ved tredje og siste uttaksdato (T2) hadde alle fôrgruppene A0, A1 og A3 et likt askeinnhold, kun små individuelle forskjeller. Kiselalgen *Porosira glacialis* har et relativt høyt askeinnhold på ca. 50% (Sommerlund, 2022), noe som gjør at man kunne forventet et høyere askeinnhold, spesielt for fôrgruppe A3. Det relativt lave innholdet av *P. glacialis* i fôrgruppe A1 og A3 på 1% og 3% i fôret kan, sammen med et lavt opptak av silisium/silica, bidra til at muskelen ikke vil reflektere kiselalgen sitt askeinnhold (Bashar et al., 2021). **Tabell 7** viser at variasjonen i fettinnhold i de tre fôrgruppene endret seg mellom uttaksdatoene. Fettinnholdet økte generelt over tid for alle fôrgruppene, som er naturlig

å forvente ettersom fisken vokser, men fettinnholdet i fôret økte også noe som også vil påvirke resultatet. Den høyeste målte andelen viste A3:T2 på 16,02%. Fra resultatene for proteininnhold i **tabell 7** er det jevne resultater mellom fôrgruppene og uttaksdatoene. Dette er interessant ettersom proteininnholdet i fôret ble redusert fra omkring 45% til omkring 42% ved bytte av fôr den 18.9.2023. Proteinene i fôret består av fiskemel, vegetabiliske proteinkilder og algemasse. Fiskemelet ble redusert med omkring 40% ved bytting av fôr fra 4 mm til 7 mm, mens det vegetabiliske proteinet økte med omkring 26%. Med en nedgang i totalt proteininnhold i fôret ville det ikke vært unaturlig å forvente en nedgang i proteininnhold i filét, men fôrgruppe A3 viste en liten økning. Dette kan være av en rekke forskjellige årsaker ettersom adekvat proteinnivå i fiskefôr varierer. Eksempelvis ble fisken eldre, noe som vil senke nødvendig protein i fôr (Craig et al., 2017).

Kondisjonsfaktoren anslår fiskens kondisjon og om hvor fet (eller ikke) den er, basert på Fultons formel. Tallene er basert på **tabell 8** og viser ingen statistiske signifikante forskjeller mellom fôrgruppene ved de enkelte uttakene. Den største variasjonen i K-faktor var for fôrgruppe A3 som viste 1,80 ved andre uttaksdato (T1). Dette tilsier at fisken ble betydelig fetere fra T0 til T1 med en forskjell på 0,37. Kondisjonsfaktor er basert på vekt og lengdemålinger. Fiskene i fôrgruppe A3 var kortere i lengde sammenlignet med A0 og A1 ved T1, noe som vil påvirke K-faktor. Den betydelig høyere K-faktor for A3 sammenlignet med A0 og A1 ved T1 kan sees i sammenheng med de aktuelle parametere, vekt og lengde. På samme måte som A3, viste A1 også en økning i K-faktor fra T0 til T1 etterfulgt av en nedgang ved T2. Dette er interessant i og med at fôrgruppene med tilsetning av kiselalger viser høyere K-faktor enn kontrollgruppen noe som kan indikere at kiselalger resulterer i fetere fisk. Silikapartikler brukes til å øke fettopptak, noe som har påvirket resultatet (Joyce et al., 2018). **Tabell 8** viser ingen forskjell i spesifikk vekstrate (SGR). I en studie fra 1993 fra Havforskningsinstituttet ble det dokumentert at spesifikk vekstrate for Atlantisk laks (*Salmo salar*) hadde en klar sammenheng med fisketetthet (Holm et al., 1993). Man dokumenterte at fisk over 1 kg viste redusert vekstrate korrelerende med antall fisk i hvert kar. I den sammenheng er det interessant at vekstraten for alle fôrgruppene varierte etter hvert som forsøket utløp. For hvert uttak var det mindre fisk i hvert kar og man kunne forventet en generell signifikant økning i vekstrate. Kun A3 viste tegn til dette fra T1 til T2 med en økning på 0,15. De resterende fôrgruppene stagnerte i vekstrate fra T1 til T2. Siden begynnelsen av forsøket har forsøksindividene økt betydelig i vekt. Det ble ikke målt noen signifikante forskjeller mellom fôrgruppene, som tilsier at de har hatt en lik utvikling. Standardavvikene i vektmålingene er store, noe som kompliserer

vurderingene av vekstrate. Samtidig vil en økning i standardavvikene for vekt videre indikere en jevn vektøkning. Målinger for lengde viste en jevn økning for alle fôrgruppene fra T0 til T2, men fra T0 til T1 var det større individuelle forskjeller for lengde.

Omega 3-fettsyrer (n-3 FA), spesielt langkjedete flerumettede omega 3-fettsyrer (LC n-3 PUFA) er de fettsyrene som er viktigst for menneskelig konsum i fisk generelt (VKM et al., 2022). Henholdsvis EPA og DHA er ansett å være gunstig for å bedre sirkulasjonssystemet og å motvirke depresjon og prematur fødsel for mennesker. Den anbefalte mengden for daglig konsum varierer fra 200 mg til 1-2 gram avhengig av en persons tilstand (Van Dael, 2021). Oppdrettslaks har som nevnt i innledning gjennomgått en endring til en signifikant økning i plantebasert innhold i sitt fôr. Dette vises spesielt i fettsyreprofilen, hvor resultatet er en høyere andel omega 6-fettsyrer (n-6 FA) sammenlignet med marine n-3 FA (Sissener, 2018). Basert på denne informasjonen er det naturlig å anta at n-3 FA-innholdet i oppdrettslaks vil vise en stagnasjon sammenlignet med villaks og at andelen n-6 FA-innhold vil være signifikant høyere i oppdrettslaks sammenlignet med villaks. En studie fra 2005 utført av Universitaire de Québec, Canada undersøkte nettopp dette, hvor målet var å sammenligne fettsyreprofilene mellom vill- og oppdrettslaks, i tillegg til regnbueørret. Prøvene ble analysert ved hjelp av gasskromatografi og viste en relativt lik Σ FAs (gram/100 gram), med 4,1 (oppdrett) og 4,0 (vill) respektivt. Til sammenligning viste resultatene at Σ n-3 PUFA var 31,1% (oppdrett) og 25,0% (vill) respektivt (% av total FA). Resultatene for Σ n-3/ Σ n-6 PUFA viste at forholdet var 3,6 (oppdrett) og 11,0 (vill) respektivt (Blanchet et al., 2005). Som **figur 2** viser, har andelen av visse fôringredienser, inklusive lipider, endret seg signifikant de siste 30 år. I den sammenheng vil det være aktuelt å sammenligne med et nyere studie. En lignende studie ble gjennomført av forskere ved Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet (NMBU) hvor man ville påvise forskjeller mellom fettsyreprofilen til oppdrettslaks og villaks. Resultatene viste at Σ n-6 var 15,02% (oppdrett) og 1,37% (vill), og Σ n-3 var 14,48% (oppdrett) og 24,68% (vill), som resulterer i n-3:n-6 på 0,96 (oppdrett) og 18,01 (vill) (Molversmyr et al., 2022). Sammenligningen av disse to studiene gir ingen fasit på om hvorvidt n-3 FA og n-6 FA-sammensetningene i generell akvakultur endrer seg. Det sammenligningen derimot gir, er et innblikk som bekrefter at den økende andelen av n-6 FA i fôret, vil gi et resultat i form av mer n-6 sammenlignet med n-3. Med andre ord er det grunn til å anta at et fôr basert på en økende grad av n-6 FA vil gi utslag i filét. Til eksempel viser **tabell 9** og **tabell 10** oversikt over identifiserte fettsyrer fra dette forsøket. Her kan fôrgruppe A0 (0% alger tilsatt i fôr) sammenlignes med fôrgruppene A1 (1% alger tilsatt i fôr) og A3 (3% alger tilsatt i fôr). De viktigste fettsyrene å ta hensyn til vil være n-3 LC PUFA,

samt forholdet mellom n-3 og n-6. Forholdet n3:n6 fra forsøket viste en betydelig nedgang fra T0 til T2. For T0 varierte n3:n6 fra 2,0 (A0) til 2,1 (A3) og ved T2 varierte n3:n6 fra 0,94 (A0) til 0,98 (A3). At A3 har høyest verdier kan potensielt være et resultat fra algeinnhold. Dette kan forklares ved at fra 4 mm pellets til 7 mm pellets ble andel fiskeolje halvert og andel vegetabilsk olje nærmest tredoblet, noe som forklarer den generelle nedgangen i n3:n6, men det forklarer ikke variasjonen mellom fôrgruppene. Angående n-3 LC PUFA var det også en klar nedgang som følge av høyere andel vegetabiliske fettsyrer i fôret. Med unntak av T1 var det også her A3 som hadde høyest innhold av n-3 LC PUFA, etterfulgt av A1 og A0. **Tabell 9** og **10** viser et forhold EPA:DHA på 0,43 for A0 (T2), 0,41 for A1 (T2) og 0,38 for A3 (T2). Fra dette er det interessant å sammenligne med utdrag fra **tabell 1** og **tabell 4** som henholdsvis viser fettsyreinnehold for gjennomsnittlig Norsk oppdrettslaks (*Salmo salar*) og for kiselalgen *Porosira glacialis*. Gjennomsnittlig oppdrettslaks viste et EPA:DHA-forhold på 0,67 og *P. glacialis* et EPA:DHA-forhold på 9,78. Det høye forholdet for *P. glacialis* skyldes i stor grad en høy andel EPA (28,68%). I den sammenheng ville det vært naturlig å forvente en noe høyere andel C20:5 N-3 (EPA) enn resultatet som kommer frem i **tabell 9** og **10**. Fra **tabell 4** er det også mulig å sammenligne med Total PUFA fra **tabell 9**. Her er det identifisert statistiske signifikante forskjeller. Total PUFA fra *P. glacialis* viste et prosentareal på 77,21%, som gjør det naturlig å forvente en høyere andel Total PUFA for fôrgruppene A1 og spesielt A3 ettersom de inneholdt en høyere andel algemasse (1% og 3%). Ved T2 var A1 signifikant høyere sammenlignet med A0, men ikke sammenlignet med A3.

Fra **tabell 11** er det mulig å danne seg en oversikt over variasjon i aminosyreinnholdet i de forskjellige fôrgruppene. Mikroalger inneholder et generelt høyt, men varierende innhold av proteiner fra 20% til 60% (Wang et al., 2021). Mikroalger anses å være ypperlige kilder til essensielle aminosyrer, og kan sammenlignes med anvendte proteinkilder i akvakultur (Eilertsen et al., 2022). Informasjon angående kiselalgen *P. glacialis* sitt spesifikke aminosyreinnhold kommer fra Eilertsen et al., 2022, som beskriver kultivering av kiselalgene og deres respektive aminosyreinnhold. Eilertsen et al., 2022 viser at *P. glacialis* har et EAA-innhold som utgjør 110,4-122,4 mg/gram av TAA. TAA utgjorde 300,3-339,2 mg/gram. *P. glacialis* viste høyest innhold av aminosyrene Glutaminsyre, Asparbinsyre, Leucin og Lysin. (Eilertsen et al., 2022). De nevnte aminosyrene viste også høyest innhold i **tabell 11**, men det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom fôrgruppene. Det forekom dog interessante funn mellom fôrgruppene ved andre parametere. Ved første uttaksdato (T0) var det signifikante forskjeller mellom samtlige fôrgrupper for Σ EAA. Fôrgruppe A1 viste høyest verdi (79,3 mg/g)

sammenlignet med fôrgruppe A0 (76,2 mg/g) og A3 (73,0 mg/g), de største forskjellene var i innholdet av Leucin og Lysin. Andelen fiskemel i fôret ble betydelig redusert fra 31-32% til 19-20% før andre uttaksdato (T1). Samtidig ble andelen vegetabiliske proteinkilder økt fra 38,9-41,4% til 49,2-50%. Sammenlagt utgjorde dette en nedgang i totalt proteininnhold i fôret. Fra **tabell 11** viser Σ TAA en nedgang for fôrgruppe A0 og A1 fra T0 til T1 som trolig er et resultat fra redusert protein i fôr. Nedgangen var etterfulgt av en økning i proteininnhold fra T1 til T2 for alle fôrgruppene. Kun fôrgruppe A3 viste en jevn økning i EAA og TAA gjennom hele forsøket. De resterende fôrgruppene A0 og A1 viste en observerbar nedgang fra T0 til T1, noe som er interessant i og med A3 inneholder høyest andel algemasse (3%).

Resultatene fra smitte av lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) viste at både fôrgruppe A1 og A3 med henholdsvis 1% og 3% tilsetning av alger i fôret, hadde 35-40% mindre smitte sammenlignet med fôrgruppe A0 (0% tilsetning av alger i fôret). Dette er interessant ettersom lakselus er et stort problem i dagens oppdrettsnæring (Havforskningsinstituttet, 2021). Det ville vært positivt for næringen sitt omdømme å redusere problematikken relatert til parasitter i akvakultur ved å bruke en organisk tilsetning i fôret heller enn en behandling som skader, stresser og medfører økt dødelighet for fisken. Forskingen har til gjengjeld å bli testet i stor skala i sjø, men resultatene er lovende og har gitt insentiver for videre testing. Videre testing bør også kunne påvise hvorvidt det er hypotesen om oksylipiner som forårsaker reduksjonen i smitte fra lakselus. Det finnes i dag allerede mye teknologi og en rekke behandlinger mot lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*), og enkelte fungerer godt. Det som kan oppleves problematisk med eksisterende praksis, og som et fôr tilsatt alger kan eliminere, er mengden utstyr, skade på fisk, kostnader i form av materiell og kostnader i form av redusert fiskehelse og/eller dødelighet.

Tabell 12 viser resultatene fra metall- og mineralanalyser av fôrgruppene A0 og A3 med henholdsvis 0% og 3% tilsetning av alger i fôret, sammenlignet med kiselalgen *Porosira glacialis*. Som nevnt i material og metode, finnes det lite informasjon om jod-innhold i alger, noe som aktualiserer resultatene. Fôret i seg selv er ikke blitt analysert, noe som gjør resultatene fra metall- og mineralanalysene mer betydningsfulle. De viser at selv om innholdet av jod i *P. glacialis* er på 320 mg/kg, noe som er over grenseverdien for tilsetning av jod i fôr som helhet (Sele et al., 2019). En 3% tilsetning av kiselalgen vil tilsvare 9,6 mg/kg som er under grenseverdien på 20 mg/kg, som muliggjør en tilsetning av *P. glacialis* på 6,25%. De øvrige metallene og mineralene var alle akseptable og under grenseverdiene, som øvrige øker insentivet for videre forskning og mulig bruk i større skala.

6 Konklusjon

Tilsettingen av kiselalgen *Porosira glacialis* i fôr ga ikke signifikante forskjeller for vekst- og lengdemålinger. Alle fôrgruppene, inklusive kontrollgruppen A0 hadde lik data for vekt, lengde, spesifikk vekstrate og kondisjonsfaktor ved alle uttaksdatoer. Det samme gjaldt for vann- og askeinnhold og generelt fett- og proteininnhold. Signifikante forskjeller mellom gruppene ble funnet både i sammensetning av fett- og aminosyrer. Kontrollgruppen hadde lavere innhold av langkjedete flerumettede omega 3-fettsyrer enn algefôrgruppene ved siste uttaksdato. Ved andre uttaksdato hadde kontrollgruppen A0 i midlertidig et høyere innhold av langkjedete omega 3-fettsyrer enn algefôrgruppene A1 og A3. Fôrgruppen A1 (1% tilsetting alger i fôr) inneholdt høyere konsentrasjoner (gram per 100 gram filét) av flerumettede fettsyrer, og langkjedete omega 3-fettsyrer sammenlignet med de resterende fôrgruppene ved siste uttak. Algefôrgruppene hadde et 2,9% høyere gjennomsnittlig innhold av totale aminosyrer og høyere proteininnhold ved siste uttaksdato. Algefôrgruppene ga signifikant mindre lusepåslag under smitteforsøk som indikerer at hypotesen om at oksylipiner, eller andre komponenter fra algene, har effekt mot lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*) fungerer i praksis. Metall- og mineralanalyse av en samleprøve fra fôrgruppene A0 og A3 ved siste uttak viste generelt lavt innhold av tungmetaller og at ingen grenseverdier for innhold ble oversteget. Fisk fôret med tilsetting av kiselalgen *P. glacialis* viser potensiale for menneskelig konsum og kiselalger viser potensiale som en alternativ ingrediens i kommersielt laksefôr. Resultatene fra dette prosjektet er et insentiv for videre forskning, da spesielt i større skala i oppdrett i sjø. Den biokjemiske påvirkningen og effekten mot påslag av lus er positiv.

7 Referanseliste

- Aas, T. S., Ytrestøyl, T., Åsgård, T. (2019). *Utilisation of feed resources in the production of Atlantic salmon (Salmo salar) in Norway: An update for 2016*. 15(Aquaculture Reports, Issue). Nofima. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100216>
- Aas, T. S., Ytrestøyl, T., Åsgård, T. (2022). Utnyttelse av fôrressurser i norsk oppdrett av laks og regnbueørret i 2020. Faglig sluttrapport. *Nofima*, 2/2022.
- Aas, T. S., Ytrestøyl, T., Åsgård, T. (2022). *Utilization of feed resources in the production of Atlantic salmon (Salmo salar) in Norway: An update for 2020* 26(Aquaculture Reports, Issue). Nofima. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101316>
- Alloway, B. J. (2009). Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environ. Geochem. Health*, 31, 537-548. <https://doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4>
- Aragão, C., Goncalves, A.T., Costas, B., Azerendo, R., Xavier, M.J., Engrola, S. (2022). Alternative Proteins for Fish Diets: Implications beyond Growth. *PubMed*, 12(9):1211. <https://doi.org/10.3390/ani12091211>
- Armbrust, E. (2009). The life of diatoms in the world's oceans. *Nature*, 459, s. 185–192 (2009).
- Ayanda, I. O., Ekhaton, U.I., Bello, O.A. (2019). Determination of selected heavy metal and analysis of proximate composition in some fish species from Ogun River, Southwestern Nigeria. *Heliyon*, 5 (2019) e02512.
- Bae, H.-S., Kang, I-G., Lee, S-G., Eom, S-Y., Kim, Y-D., Oh, S-Y., Kwon, H-J., Park, K-S., Kim, H., Choi, B-S., Yu, I-J., Park, J.D. (2017). Arsenic exposure and seafood intake in Korean adults. *Human & Experimental Toxicology*, 36(5), s. 451-460. <https://doi.org/10.1177/0960327116665673>
- Bashar, A., Hasan, N.A., Haque, M.M., Md Rohani, F., Md Hossain, S. (2021). Effects of Dietary Silica Nanoparticle on Growth Performance, Protein Digestibility, Hematology, Digestive Morphology, and Muscle Composition of Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus*. *Front. Mar. Sci. Sec. Marine Fisheries, Aquaculture and Living Resources*, 8(706179). <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.706179>
- Becker, W. (2004). Microalgae in Human and Animal Nutrition. I A. Richmond (Red.), *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology* (s. 312-351). Blackwell Publishing Ltd.
- Benoiston, A. S., Ibarbalz, F.M., Bittner, L., Guidi, L., Jahn, O., Dutkiewitz, S., Bowler, C. (2017). The evolution of diatoms and their biogeochemical functions. *Philos Trans R*

- Soc Lond B Biol Sci.*, 017 372(1728):20160397.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0397>
- Bernard, A., Azad, A.M., Hannisdal, R. (2023). *Monitoring program for pharmaceuticals, illegal substances, and contaminants in farmed fish - Annual report for 2022*. Havforskningsinstituttet.
- Blaalid, G. E. (2018). Bør begrense bruken av omega-6. *Kyst.no*.
<https://www.kyst.no/arkiv/br-begrense-bruken-av-omega-6/145292>
- Blanchet, C., Lucas, M., Julien, P., Morin, R., Gingras, S., Dewailly, E. (2005). Fatty acid composition of wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids*, 40(5): s. 529-31. <https://doi.org/10.1007/s11745-005-1414-0>
- Bui, S., Skern, R., Saito, T., Thompson, C. (2023). *Optimising delousing strategies: developing best practice recommendations for maximal efficacy and positive welfare - Final Report* (Havforskningsinstituttet, Issue 15769). Havforskningsinstituttet.
- Costello, C., Cao, L., Gelcich, S., Cisneros-Mata, M., Free, C.M., Froehlich, H.E., Goden, C.D., Ishimura, G., Maier, J., Macadam-Somer, I., Mangin, T., Melnychuk, M.C., Miyahara, M., de Moor, C.L., Naylor, R., Nøstbakken, L., Ojea, E., O'Reilly, E., Parma, A.M., Plantinga, A.J., Thilsted, S.H., Lubchenco, J. (2020). The future of food from the sea. *Nature*, 588(7836) s. 95-100. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2616-y>
- Craig, S., Helfrich, L. (2017). Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding. *Virginia Cooperative Extension*, 420(256).
- Cutigano, A., Lamari, N., d'ippolito, G., Manzo, E., Cimino, G., Fontana, A. (2011). LIPOXYGENASE PRODUCTS IN MARINE DIATOMS: A CONCISE ANALYTICAL METHOD TO EXPLORE THE FUNCTIONAL POTENTIAL OF OXYLIPINS (1). *J Phycol*, 47(2), s. 233-243. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.00972.x>
- Duran, A., Tuzen, M., Soylak, M. (2014). Assessment of trace metal concentrations in muscle tissue of certain commercially available fish species from Kayseri, Turkey. *Environ. Monit. Assess.*, 186, s. 4619-4628. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-3724-7>
- Eichner, C., Dysvik, B., Jonassen, I., Kristiansen, B., Nilsen, F. (2008). Salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) transcriptomes during post molting maturation and egg production, revealed using EST-sequencing and microarray analysis. *BMC Genomics* 9:126. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-126>

- Eiji, K., Shuji, K., Masahiro, S., Nobuhiro, Y. (2011). Numbers, Sizes and Types of Diatoms Around Estuaries for a Diatom Test. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 32(3), s. 269-274. <https://doi.org/10.1097/PAF.0b013e318221b857>
- Eilertsen, H. C., Raa, J. (1995). Toxins in seawater produced by a common phytoplankter: *Phaeocystis pouchetii*. *J. Mar Biotechnol.*, 3, s. 115-119.
- Eilertsen, H. C., Elvevoll, E., Giæver, I.H., Svenning, J.B., Dalheim, L., Svalheim, R.A., Vang, B., Siikavuopio, S., Dragøy, R., Ingebritsen, R.A., Hansen, E., Hustad, A., Eilertsen, K.E. (2021). Inclusion of photoautotrophic cultivated diatom biomass in salmon feed can deter lice. *PLOS ONE*, 16(7), e0255370. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255370>
- Eilertsen, H. C., Eriksen, G.K., Bergum, J.S., Strømholth, J., Elvevoll, E., Eilertsen, K.E., Heimstad, E.S., Giæver, I.H., Israelsen, L., Svenning, J.B., Dalheim, L., Osvik, R., Hansen, E., Ingebritsen, R.A., Aspen, T., Wintervoll, G.H. (2022). Mass Cultivation of Microalgae: I. Experiences with Vertical Column Airlift Photobioreactors, Diatoms and CO2 Sequestration. *Appl. Sci.*, 12(6), 3092. <https://doi.org/10.3390/app12063082>
- Ellingsen-Dalskau, K. (2022). Er det mulig å benytte termisk behandling mot lakselus i norsk oppdrettsnæring på en velferdsmessig forsvarlig måte? *Rådet for dyreetikk - Veterinærinstituttet*.
- Elnabris, K. J., Muzyed, S.K., El-Ashgar, N.M. (2013). Heavy metal concentrations in some commercially important fishes and their contribution to heavy metals exposure in Palestinian people of Gaza Strip (Palestine). *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, 13(1), s. 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.jaubas.2012.06.001>
- Ekweagwu, E., Agwu, A.E., Maduweke, E. (2008). The role of micronutrients in child health: A review of the literature. *African Journal of Biotechnology*, 7(21), s. 3004-3010. ISSN: 1684-5315.
- Fagerbakke, C. (2020). *Dette er trafikklyssystemet*. Havforskningsinstituttet.
- FAO. (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation*, Rome, FAO.
- FAO, I., UNICEF, WFP, WHO. (2023). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2023. Urbanization, agrifood systems transformation and healthy diets across the rural–urban continuum*. Rome, FAO.
- Finstad, B., Bjørn, P.A., Todd, C.D., Whoriskey, F., Gargan, P.G., Forde, G., Revie, C.W. (2010). The Effect of Sea Lice on Atlantic Salmon and other Salmonid Species. I Ø.

- Aas, Einum, S., Klemetsen, A., Skurdal, J. (Red.), *Atlantic Salmon Ecology* (s. 253-276). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781444327755>
- Forskrift om lakselusbekjempelse (2009). *Forskrift om bekjempelse av lus i akvakulturanlegg* (FOR-2012-12-05-1140). Lovdata. <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2012-12-05-1140>
- Fontana, A., d'Ippolito, G., Cutignano, A., Miralto, A., Ianora, A., Romano, G., Cimino, G. (2007). Chemistry of oxylipin pathways in marine diatoms*. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 79, No. 4, s. 481–490. <https://doi.org/10.1351/pac200779040481>
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3-4), s. 199-227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9)
- Froehlich, H. E., Montgomery, J.C., Williams, D.R., O'Hara, C., Kuempel, C.D., Halpern, B.S. (2023). Biological life-history and farming scenarios of marine aquaculture to help reduce wild marine fishing pressure. *Fish and Fisheries*, 24(6), s. 1034-1047. <https://doi-org.mime.uit.no/10.1111/faf.12783>
- Gerwick, W. H., Moghaddam, M., Hamberg, M. (1991). Oxylipin metabolism in the red alga *Gracilariopsis lemaneiformis*: Mechanism of formation of vicinal dihydroxy fatty acids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 290(2), s. 436-444.
- Grefsrud, E. S., Andersen, L.B., Bjørn, P.A., Grøsvik, B.E., Hansen, P.K., Husa, V., Karlsen, Ø., Kvamme, B.O., Samuelsen, O., Sandlund, N., Solberg, M.F., Stien, L.H. (2022). *Risikorapport norsk fiskeoppdrett 2022 - risikovurdering - Effekter på miljø og dyrevelferd i norsk fiskeoppdrett*, Issue. Havforskningsinstituttet.
- Hansen, E., Ernsten, A., Eilertsen, H.C. (2004). Isolation and characterisation of a cytotoxic polyunsaturated aldehyde from the marine phytoplankter *Phaeocystis pouchetii* (Hariot) Lagerheim. *Toxicology*, 1;199(2-3), s. 207-217. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.02.026>
- Hauge, J., Bjordal, M. (2021). Fôr for framtida - en ny næring tar form. [Brosjyre]. *Miljøstiftelsen Bellona*. https://network.bellona.org/content/uploads/sites/2/2021/08/R%C3%A5varel%C3%B8ftet_lav_oppslag.pdf
- Havforskningsinstituttet. (2021). *Tema: Lakselus*. Havforskningsinstituttet. <https://www.hi.no/hi/temasider/arter/lakselus>

- Hemre, G. I., Sandnes, K., Lie, Ø., Torrissen, O., Waagbø, R. (1995). Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: growth and feed utilization. *Aquaculture Research*, 26(3), s. 149-154. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1995.tb00896.x>
- Hemre, G. I., Hansen, T. (1998). Utilisation of different dietary starch sources and tolerance to glucose loading in Atlantic salmon (*Salmo salar*), during parr– smolt transformation. *Aquaculture*, 161(1-4), s. 145-157. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00266-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00266-4)
- Hoddevik, B. (2022). *Dårlig fiskehelse gjør at oppdrettslaks dør etter avlusing*. Havforskningsinstituttet. <https://www.hi.no/hi/nyheter/2022/mai/darlig-fiskehelse-gjor-at-oppdrettslaks-dor-etter-avlusing>
- Holm, J. C., Søreide, P.I. (1993). Tiltrådd tetthet for laks - Sluttrapport for fase 1 og 2 *Rapport fra senter for havbruk 1993 3*. Havforskningsinstituttet.
- Howell, M. (2020). Why fish oil alternatives are more important than fishmeal alternatives in aquafeeds. The Fish Site. <https://thefishsite.com/articles/why-fish-oil-alternatives-are-more-important-than-fishmeal-alternatives-in-aquafeeds>
- Hundal, B. K. (2022). *Optimisation of dietary n-3 and n-6 fatty acids for a robust Atlantic salmon (Salmo salar)* [Universitetet i Bergen]. Skipnes Kommunikasjon.
- Hundal, B. K., Liland, N.S., Rosenlund, G., Bou, M., Stubhaug, I., Sissener, N.H. (2021). Increasing dietary n-6 fatty acids while keeping n-3 fatty acids stable decreases EPA in polar lipids of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Br J Nutr.*, 14(125(1)), s. 10–25. <https://doi.org/10.1017/S0007114520002494>
- Ianora, A., Miralto, A. (2010). Toxigenic effects of diatoms on grazers, phytoplankton and other microbes: a review. *Ecotoxicology*, 19(3), s. 493-511. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0434-y>
- Jacobsen, H. J., Samuelsen, T.A., Girons, A., Kousoulaki, K. (2018). Different enzyme incorporation strategies in Atlantic salmon diet containing soybean meal: Effects on feed quality, fish performance, nutrient digestibility and distal intestinal morphology. *Aquaculture*, 491(1), s. 302-309. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.053>
- Jensen, I. J., Eilertsen, K.E., Otnæs, C.H.A., Mæhre, H.K., Elvevoll, E.O. (2020). An Update on the Content of Fatty Acids, Dioxins, PCBs and Heavy Metals in Farmed, Escaped and Wild Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *Foods*, 19;9(12)(1901). <https://doi.org/10.3390/foods9121901>

- Jobling, M. (2001). Feed Composition and Analysis. I D. Houlihan, Boujard, T., Jobling, M (Red.), *Food Intake in Fish* (s. 1-24). Blackwell Science Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9780470999516.ch1>
- Johansen, A. M. (2022). Dyrere lus og dyrere fôr. Nofima. <https://nofima.no/resultater/dyrere-lus-og-dyrere-for/>
- Joyce, P., Gustafsson, H., Prestidge, C.A. (2018). Enhancing the lipase-mediated bioaccessibility of omega-3 fatty acids by microencapsulation of fish oil droplets within porous silica particles. *Journal of Functional Foods*, 47, s. 491-502.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.015>
- Julshamn, K., Maage, A., Norli, H.S., Grobecker, K.H., Jorheim, L., Fecher, P. (2007). Determination of arsenic, cadmium, mercury, and lead by inductively coupled plasma/mass spectrometry in foods after pressure digestion: NMKL interlaboratory study. *J AOAC Int.*, 90(3), s. 844-856.
- Julshamn, K., Dahl, L., Eckhoff, K. (2001). Determination of iodine in seafood by inductively coupled plasma/mass spectrometry. *J AOAC Int.*, 84(6), s. 1976-1983.
- Kaldheim, O., Nordbotn, S. (2019). *Quantifying the economic impacts of sea lice and sea lice mitigation efforts on Norwegian salmonid aquaculture* [Universitetet i Stavanger].
- Kaushik, S. J., Cravedi, J.P., Lalles, J.P., Sumpter, J., Fauconneau, B., Laroche, M. (1995). Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 133(3-4), s. 257-274.
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00403-B](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00403-B)
- Knudsen, D., Jutfelt, F., Sundh, H., Sundell, K., Koppe, W., Frøkiær, H. (2008). Dietary soya saponins increase gut permeability and play a key role in the onset of soyabean-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). *Br J Nutr.*, 100(1), s. 120-129.
<https://doi.org/10.1017/S0007114507886338>
- Krogdahl, Å., Bakke, A.M. (2015). Antinutrients. I S. C. Lee, Lim, C., Gatlin III, D.M., Webster, C.D (Red.), *Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health* (s. 211-235). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781119005568>
- Levander, O. A., Whanger, P.D. (1996). Deliberations and Evaluations of the Approaches, Endpoints and Paradigms for Selenium and Iodine Dietary Recommendations. *The Journal of Nutrition*, 126(9), s. 2427-2434.
https://doi.org/10.1093/jn/126.suppl_9.2427S

- Li, P., Mai, K., Trushenski, J., Wu, G. (2009). New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*, 37, s. 43-53. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0171-1>
- Mattilsynet. (2023). *Nasjonal tilsynskampanje om velferd hos rensefisk 2018/2019*. Mattilsynet. <https://www.mattilsynet.no/fisk-og-akvakultur/rensefisk/nasjonal-tilsynskampanje-om-velferd-hos-rensefisk-2018-2019>
- Mikkelsen, E. (2024). *Fiskedødelighet og tap i produksjonen*. Nofima. <https://www.barentswatch.no/havbruk/fiskedodelighet-og-tap-i-produksjonen>
- Misund, B. (2024). Økonomien i god fiskevelferd og -helse. Intrafish.
- Moltersmyr, E., Devle, H.M., Naess-Andersen, C.F., Ekeberg, D. (2022). Identification and quantification of lipids in wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*), and salmon feed by GC-MS. *Food Science & Nutrition*, 10(9), s. 3117-3127. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2911>
- Nicholas, V. C., Ralston, Ph.D., Laura, J., Raymond, Ph.D. (2008). The truth about Selenium. *Global Seafood Alliance - Responsible Seafood Advocate*.
- Nilsen, R., Serra-Llinares, R.M., Sandvik, A.D., Karlsen, Ø., Uglem, I., Tonstad, A., Ambjørndalen, V., Lehmann, G.B., Skår, B. (2023). *Lakselusinfestasjon på vill laksefisk våren 2023 — Fremdriftsrapport til Mattilsynet*. Havforskningsinstituttet. Havforskningsinstituttet.
- Nelson, D. M., Treguer, P., Brzezinski, M.A., Leynaert, A., Queguiner, B. (1995). Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global Biogeochemical Cycles*, 9(3), s. 359-372. <https://doi.org/10.1029/95GB01070>
- NIFES. (2023). *Atlantisk laks filét (Salmo salar) Oppdrett*. NIFES – Nasjonalt Institutt for Ernærings- og Sjømatforskning. Havforskningsinstituttet. <https://sjomatdata.hi.no/#/seafood/11300>
- Noble, C., Nilsson, J., Stien, L.H., Iversen, M.H., Kolarevic, J., Gismervik, K. (2018). *Velferdsindikatorer for oppdrettslaks: Hvordan vurdere og dokumentere fiskevelferd*. 312 pp. Nofima.
- Nofima. (2018). Fôrsammensetning og opprinnelse. *Bærekraft i havbruk*. <https://www.barentswatch.no/havbruk/forsammensetning-og-opprinnelse>
- Panserat, S., Kaushik, S., Médale, F. (2013). Rainbow trout as a model for nutrition and nutrient metabolism studies. I S. Polakof, Moon, T.W (Red.), *Trout: from physiology*

- to conservation (Animal Science, Issues and Professions) 1st Edition* (1. utg., s. 131-153). Nova Science Publishers; Hauppauge, NY, USA.
- Pradeepkiran, J. A. (2019). Aquaculture role in global food security with nutritional value: a review. *Transl Anim Sci.*, *10*(3(2)), s. 903-910. <https://doi.org/10.1093/tas/txz012>
- Reksten, A. M., Bøkevoll, A., Frantzen, S., Lundebye, A.K., Kögel, T., Kolås, K., Aakre, I., Kjellebold, M. (2020). Sampling protocol for the determination of nutrients and contaminants in fish and other seafood – The EAF-Nansen Programme. *Methods X*, *7*. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.101063>
- Sabater, S. (2009). Diatoms. I G. E. Likens (Red.), *Encyclopedia of Inland Waters* (s. 149-156). Elsevier Inc.
- Sele, V., Sanden, M., Berntseen, M., Storesund, J., Lie, K.K., Espe, M., Lundebye, A-K., Hemre, G-I., Waagbø, R., Ørnsund, R. (2019). *Program for overvåking av fiskefôr - Årsrapport for prøver innsamlet i 2018* (Rapport fra havforskningen), Issue. Havforskningsinstituttet.
- Sintef. (u.å.). *Aquaculture Technology*. <https://www.sintef.no/en/sintef-research-areas/aquaculture-technology/>
- 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. *J Exp Biol.*, *7*((Pt Suppl 1): jeb161521.), s. 221. <https://doi.org/10.1242/jeb.161521>
- Sommerlund, R. O. (2022). *Mel av grisetang og mikroalger til bruk i fiskefôr? Kjemisk sammensetning og in vitro fordøyelse av protein* [Universitetet i Tromsø].
- Strøm, P., Olaisen, S.R., Karlsen, A.K. (2022). Vi bruker store summer på nye, bærekraftige ingredienser i laksefôr – men bruker svært lite av det. https://www.nrk.no/nordland/norge-forsker-pa-nye-ingredienser-til-laksefor_-men-bruker-dem-ikke-1.15927086
- Svenning, J. B., Dalheim, L., Eilertsen, H.C., Vasskog, T. (2019). Temperature dependent growth rate, lipid content and fatty acid composition of the marine cold-water diatom *Porosira glacialis*. *Algal Research*, *37*, s. 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.10.009>
- Svenning, J. B., Dalheim, L., Vasskog, T., Matricon, L., Vang, B., Olsen, R.L. (2020). Lipid yield from the diatom *Porosira glacialis* is determined by solvent choice and number of extractions, independent of cell disruption. *Scientific Reports*, *10*(22229). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79269-z>

- Tacon, A. G. J. (1997). Fishmeal replacers: review of antinutrients within oilseeds and pulses - a limiting factor for the aquafeed Green Revolution? *Cahiers Options Méditerranéennes*, 22(13), s. 153-182.
- Troncos, J., González, J., Pino, J., Ruhonen, K., El-Mowafi, A., González, J., Yany, G., Saavedra, J., Córdova, A. (2011). Efecto del aldehído poli-insaturado (A3) como ingrediente antiparasitario de *Caligus rogercresseyi* en la alimentación de salmón del atlántico, *Salmo salar*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 39(3), s. 439-448. <https://doi.org/10.4067/S0718-560X2011000300005>
- Valdersnes, S., Maage, A., Fliegel, D., Julshamn, K. (2012). A method for the routine determination of methylmercury in marine tissue by GC Isotope Dilution-ICP-MS. *J AOAC Int.*, 95, s. 1189-1194. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.11-133>
- Van Dael, P. (2021). Role of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in human nutrition and health: review of recent studies and recommendations. *Nutr Res Pract.*, 15(2), s. 137-159. <https://doi.org/10.4162/nrp.2021.15.2.137>
- Vilarrasa, A. (2022). Hvorfor er det viktig å vite hva antinæringsstoffer er? VeienTilHelse. <https://veientilhelse.no/hvorfor-er-det-viktig-a-vite-hva-antinaeringsstoffer-er/>
- VKM, A., L.F., Berstad, P., Bukhalova, B., Carlsen, M., Dahl, L., Goksøyr, A., Jakobsen, L.S., Knutsen, H.K., Kvestad, I., Lillegaard, I.T., Mangschou, B., Meyer, H., Parr, C.I., Rakkestad, K.E., Rasinger, J., Sengupta, S., Skeie, G., Starrfelt, J., Ulven, S.M., Agdestein, A., Bodin, J., Bruzell, E., Elvevoll, E., Hessen, D.O., Husøy, T., Krogdahl, Å., Nilsen, A.M., Skjerdal, T., Steffensen, I.L., Strand, T.A., Velle, G., Wasteson, Y., Alexander, J (2022). *Benefit and risk assessment of fish in the Norwegian diet. Scientific Opinion of the Scientific Steering Committee of the Norwegian Scientific Committee for Food and Environment (2535-4019)*. (VKM Report 2022, Issue. Norwegian Scientific Committee for Food and Environment (VKM).
- Wang, Y., Tibbetts, S.M., McGinn, P.J. (2021). Microalgae as Sources of High-Quality Protein for Human Food and Protein Supplements. *Foods*, 10 (12), 3002. <https://doi.org/10.3390/foods10123002>
- Wilson, R. P., Halver, J. E. (1986). Protein and amino acid requirements of fishes. *Annu Rev Nutr.*, 6, s. 225-244. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.06.070186.001301>
- Wilson, R. P. (2003). Amino Acids and Proteins. I J. E. Halver, Hardy, R.W (Red.), *Fish Nutrition - Thirs Edition* (s. 143-179). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-012319652-1/50004-5>

- Yi, Z., Xu, M., Di, X., Brynjolfson, S., Fu, W. (2017). Exploring Valuable Lipids in Diatoms. *Front. Mar. Sci. Sec. Marine Biotechnology*, 4.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00017>
- Ytrestøyl, T., Aas, T.S., Åsgård, T. (2015). Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *Aquaculture*, 448(1), 365-374.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.023>
- Zimmermann, M. B., Andersson, M. (2012). Update on iodine status worldwide. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, 19(5), s. 382-387.
<https://doi.org/10.1097/MED.0b013e328357271a>

