

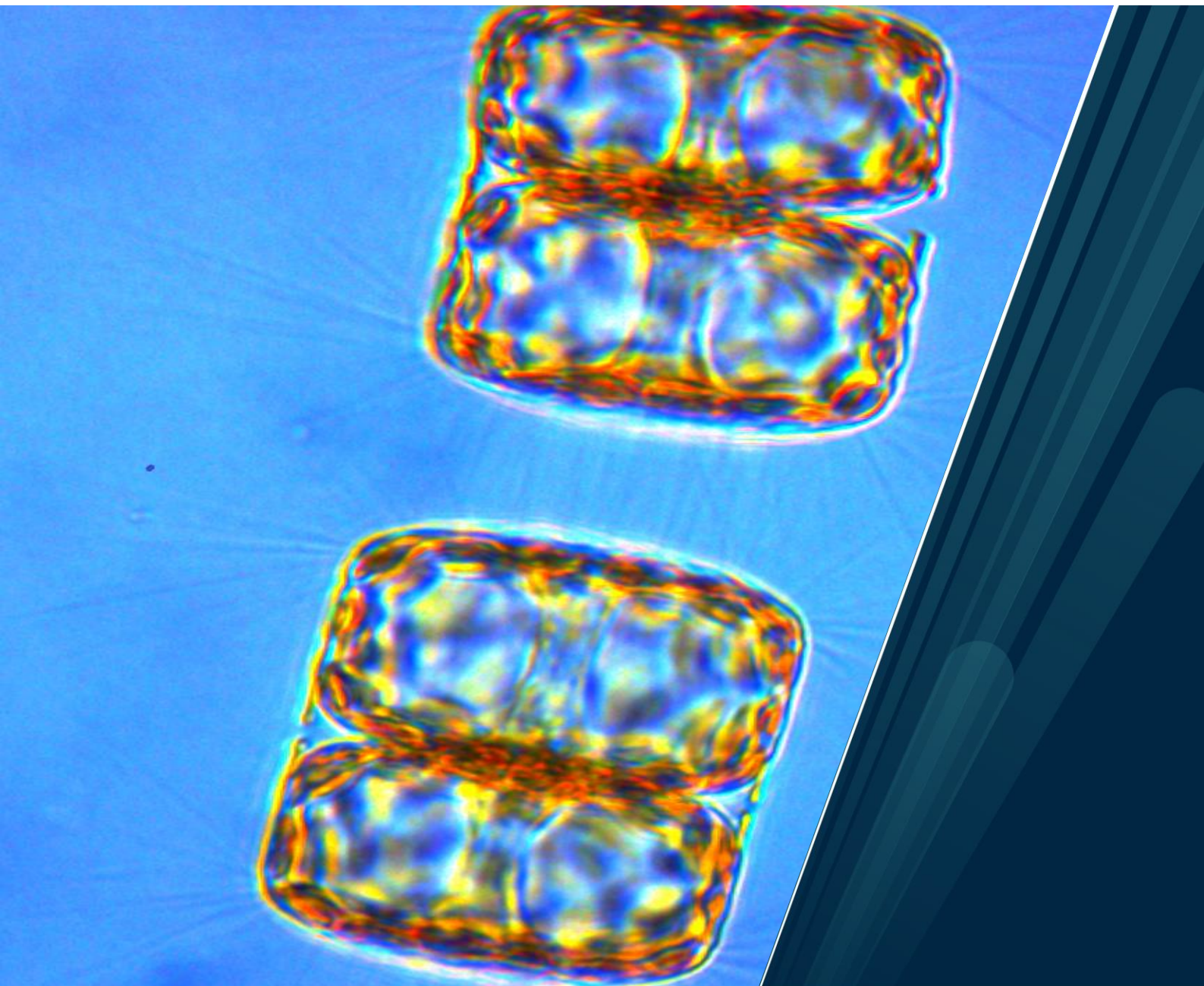


Fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi

**Påvirkning av sesongmessige variasjoner på den biokjemiske sammensetningen til
kiselalgen *Porosira glacialis***

Ola Drabløs Landa

Masteroppgave i Fiskeri- og havbruksvitenskap, FSK-3960, mai 2022



Forord

Først og fremst vil jeg takke Richard Andre Ingebrigtsen for god og konstruktiv veiledning gjennom hele denne intensive perioden. Jeg vil også takke Lars Dalheim og Edel Oddny Elvevoll for gode faglige innspill og at dere har tatt dere tid til å lese gjennom oppgaven min flere ganger. På vegne av alle oss studenter på sjømatgruppa vil jeg også takke Guro Kristine Edvinsen og Tone Friis Aune for god opplæring på lab og deres tålmodighet med oss. Videre må jeg også trekke fram alle som jobber ved algeprosjektet på Finnfjord: Gunilla, Ingeborg, Linn og Hans Christian. Jeg er veldig takknemlig for at jeg har fått muligheten til å jobbe på et så spennende og innovativt prosjekt. Det har vært en fin og lærerik erfaring jeg ikke ville vært foruten.

Til slutt vil jeg takke alle mine medstudenter, dere har vært en varm og inkluderende gjeng fra første dag på studiet og helt frem til nå, nesten fem år senere. Samholdet vi har hatt er det viktigste jeg tar med meg videre fra fem fine år i Tromsø.

Ola Drabløs Landa

Tromsø, mai 2022

Sammendrag

Langkjedete omega-3 fettsyrer er viktige fettsyrer i dietten til både laks og mennesker. For laks er ca. 2,2% av totalt fôr langkjedete omega-3 fettsyrer. Fiskeolje blir brukt i laksefôr for å tilsette omega-3 fettsyrer. Både fiskeolje og fiskemel brukt i laksefôr stammer fra pelagiske fiskerier. Disse fiskebestandene er utnyttet opp mot total bæreevne og det er ikke lenger mulig å høste mer av disse bestandene uten å risikere bestandskollaps. Oppdrett av laks og andre fiskearter er predikert til å vokse hurtig i årene fremover, og etterspørselen etter marine næringsstoffer vil derfor fortsette å vokse. Dermed har det oppstått et behov for finne alternative kilder til marine råstoffer. Mikroalger er primærprodusenter av de langkjedete omega-3 fettsyrene EPA og DHA. De er en god kilde til lipider, proteiner og karbohydrater, noe som gjør mikroalger til et attraktivt alternativ til tradisjonelle fôringredienser. Lys, CO₂ og uorganiske næringsstoffer er alt som skal til for å dyrke mikroalger. Hvordan sesongmessige variasjoner påvirker den biokjemiske sammensetningen til mikroalger er derimot lite undersøkt.

I denne masteravhandlingen ble kiselalgen *Porosira glacialis* dyrket for å undersøke hvordan sesongmessige variasjoner påvirket den biokjemiske sammensetningen. Delmålene var i) å sammenligne den biokjemiske sammensetningen til *P. glacialis* med andre fôrkomponenter, ii) undersøke variasjoner i lipidnivået og spesielt de langkjedete omega-3 fettsyrene EPA og DHA.

Andel fett i *P. glacialis* varierte mellom 8,9 – 12,3%, innholdet av flerumettet fett (PUFA) varierte mellom 66 – 81% og langkjedete omega-3 varierte mellom 30 – 40%. Proteininnholdet varierte mellom 18 – 32%, mens andel essensielle aminosyrer varierte mellom 41 - 48% av totale aminosyrer. Innholdet av flerumettede fettsyrer i *P. glacialis* var nært det dobbelte av hva som vanligvis finnes i fiskeolje og rapsolje. Andel EPA + DHA var også i snitt 35% i *P. glacialis*, sammenlignet med 25% i fiskeolje. Kvaliteten på proteinet har også tilvarende kvalitet som andre proteinkilder, det ble funnet i snitt 44% essensielle aminosyrer i *P. glacialis*, sammenlignet med andel EAA i soyaproteinkonsentrat og fiskemel som inneholdt henholdsvis 40 og 44%. Studiet viste at *P. glacialis* produserte verdifulle næringsstoffer gjennom en hel årssyklus, spesielt var det en god kilde til langkjedete omega-3 fettsyrer året rundt. Fremtidig forskning burde undersøke hvordan man kan optimalisere forholdene i algekulturen for å oppnå den beste nærings sammensetningen.

Abstract

Long-chained omega-3 fatty acids are important in the diet of both salmon and humans. About 2,2% of the total feed for salmon is long-chained omega-3 fatty acids. Fish oil is the main source of omega-3 fatty acids in salmon feed. Both fish meal and fish oil used in salmon feed stem from pelagic fisheries. These fish stocks are harvested at maximum sustainable yield, meaning that an increase in these fisheries increases the risk of fish stock collapse. Salmon aquaculture and aquaculture of other species are projected to continue to grow rapidly over the next decades. It has therefore appeared a need to find and develop new alternative sources for marine ingredients. Microalgae are primary producers of the long-chained omega-3 fatty acids EPA and DHA. They are a promising source of lipids, proteins and carbohydrates, which makes them an attractive alternative to common feed sources. Light, CO₂ and inorganic nutrient is needed to cultivate microalgae. However, how seasonal variations affects the biochemical composition of microalgae is not sufficiently researched.

In this master's thesis, the diatom microalgae *Porosira glacialis* was cultivated to research how seasonal variations affect the biochemical composition of the algae. The aims of the study was i) to compare the biochemical composition of *P. glacialis* with other feed components, ii) to analyze variations in lipid content, especially the long-chained omega-3 fatty acids EPA and DHA.

The amount of fat in *P. glacialis* varied between 8,9 – 12,3% and the content of multi-unsaturated fatty acids (PUFA) varied between 66 – 81%. The content of EPA + DHA varied between 30 – 40%. The total amount of protein varied between 18 – 32% and the amount of essential amino acids (EAA) varied between 41 – 48% of total amino acids (TAA). The amount of multi-unsaturated fatty acids was nearly twice the amount of fish oil. EPA + DHA were in total 35% on average in *P. glacialis*, compared to 25% in fish oil. The quality of protein was also comparable to that of other feed ingredients, on average 44% of total amino acids were essential in *P. glacialis* compared to 40 and 44% respectively in soy protein concentrate and fish meal. The study found that *P. glacialis* was a reliable source of nutrients regardless of seasonal variability in the environmental conditions. Future research should look further into how to optimize the conditions in the algae culture to achieve the most attractive composition of nutrients.

Innholdsfortegnelse

1	Innledning.....	1
2	Bakgrunn	4
2.1	Diatoméer	4
2.2	Fiskeernæring	6
2.3	Sesongmessige variasjoner	8
3	Materialer og metode	10
3.1	Kjemikalier	10
3.2	Kultivering og høsting av <i>P. glacialis</i>	10
3.3	Vann- og askeinnhold.....	11
3.4	Frysetørking.....	12
3.5	Totale aminosyrer	12
3.6	Fettinnhold.....	13
3.7	Fettsyremetylering og gasskromatografi	13
3.8	Data analyse og statistiske metoder	14
4	Resultater.....	16
4.1	Totale aminosyrer	17
4.2	Fettsyresammensetning	19
4.3	Sesongmessige variasjoner	24
4.3.1	Variansanalyse på innhold av Protein, Fett, PUFA og EPA	24
4.3.2	Multivariant analyse – PCA	24
5	Diskusjon.....	27
5.1	Protein- og aminosyreinnhold	28
5.2	Fettinnhold og fettsyresammensetning.....	31
6	Konklusjon	36
7	Referanseliste	37

Forkortelser og akronymer

AA	Aminosyre
ALA	α -Linolensyre (18:3 n-3)
ARA	Arakidonsyre (20:4 n-6)
DHA	Dokosaheksaensyre (22:6 n-3)
EAA	Essensielle aminosyrer
EPA	Eikosapentaensyre (20:5 n-3)
LA	Linolsyre (18:2 n-6)
LC-PUFA n-3	Langkjedete flerumettede omega-3 fettsyrer
LTB	Leukotrien
MUFA	En-umettede fettsyrer
NEAA	Ikke-essensielle aminosyrer
Nleu	DL-Norleucine
PCA	Principal Component Analysis
PG	Prostaglandin
PUFA	Flerumettede fettsyrer
SD	Standardavvik
SFA	Mettede fettsyrer
TAA	Totale aminosyrer

1 Innledning

Global befolkningsvekst har ført til økt matproduksjon over hele verden. Akvakultur er en av produksjonsformene med raskest vekst. Det antas at global akvakultur vil vokse fra ca. 82 millioner tonn som blir produsert i dag, til ca. 129 millioner tonn årlig i 2050 (Boyd et al., 2022). Det er flere grunner til at akvakultur egner seg godt til produksjon av mat, blant annet er det ofte mer bærekraftig å produsere sammenlignet med produksjon av kjøtt på land, med mindre klimagassutslipp og som samtidig er mer arealeffektivt (Costello et al., 2020). Fisk, som oppdrettslaks, er i tillegg en god kilde til sunne marine omega-3 fettsyrer. Fiskefôret har blitt optimalisert for å produsere fisk av høy kvalitet med lav fôrfaktor på 1,15 – 1,3 (Nagappan et al., 2021; Aas et al., 2019; Aas et al., 2022). Laks er en karnivor fisk som trenger store andeler protein av god kvalitet i fôret (Wilson, 2003). Presset på villfiskbestandene og økt vekst i akvakultur har gjort at fôrsammensetningen har gjennomgått store endringer de siste tiårene (FAO, 2020; Ytrestøyl et al., 2015). Fôret har tidligere vært primært sammensatt av marine råstoffer, men i løpet av de siste 30 årene har stadig større andel av marine råstoffer blitt erstattet av plantekomponenter (Aas et al., 2019). Disse proteinkildene har hovedsakelig kommet fra fiskemel tidligere. Fiskemel er en høyverdig proteinkilde med en god aminosyreprofil som inneholder alle essensielle aminosyrer (EAA) (Tacon & Metian, 2008). I tillegg til proteiner, trenger laksen marine oljer. Marine oljer er nemlig rike på omega-3 fettsyrer som er viktig for laks i da de har svært begrenset egenskap til syntese av omega-3 fettsyrer (Hastings et al., 2001).

En essensiell komponent i fiskefôr er langkjedete omega-3 fettsyrer (LC-PUFA n-3). Disse fettsyrene er viktige for en rekke kroppslige funksjoner og som kritiske komponenter i hjerne og nervesystemet (Sinclair, 2019). I tillegg er de en betydelig funksjon som fysiologiske regulatorer involvert i vekst, reproduksjon og utvikling for både fisk og mennesker (Hardy & Kaushik, 2021). Derfor er de viktige fettsyrer å inkludere i fôr for å sikre bedre vekst, velferd og robusthet for laksen (Ruyter et al., 2021; Sissener, 2018). LC-PUFA n-3 i dagens fiskefôr stammer fra fiskeolje, som i all hovedsak utvinnes fra villfisk (Aas et al., 2019). Utbyttet fra disse bestandene kan være uforutsigbart på grunn av overfiske, klima og værhendelser som El Niño, som kan påvirke bestander som anchoveta (Castro-Gutiérrez et al., 2021; Cury et al., 2000; Lehodey et al., 2006). Anchoveta blir brukt til produksjon av fiskemel og fiskeolje, og er en lavt priset og svært næringsrik fisk som kan egnes bedre direkte til humant konsum nå på

grunn av utviklingen av mer effektiv konserveringsteknologi (Fréon et al., 2013; Naylor & Burke, 2005; Willer et al., 2022) I tråd med økt etterspørsel av fiskemel og fiskeolje har prisen på disse ressursene økt (Gjørund et al., 2020; Jannathulla et al., 2019).

Av 1 976 709 tonn fôr brukt i 2020, stammet 1 445 098 tonn fra plantekomponenter (Aas et al., 2022). Terrestriske ingredienser ble introdusert som et billigere alternativ til fiskemel og fiskeolje uten å hemme vekst eller fiskehelse (Bell et al., 2004). Laksen trenger et minimumsnivå av eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA) i dietten på ca. 5-8% av totalt fett (Huyben et al., 2021; Lutfi Royo et al., 2022; Ruyter et al., 2019). Planteoljer inneholder store mengder omega-6 fettsyrer, i motsetning til fiskeolje som inneholder rikelige mengder omega-3 (Sissener, Ruyter, Torstensen, Østbye, Waagbø, & Jørgensen, 2016). Større mengder omega-6 i fôret påvirker fettsyresammensetningen i fileten til laksen, hvor andel omega-3 i fileten har blitt mindre samtidig som fettinnhold og omega-6 har økt (Jensen et al., 2020). Som en konsekvens av redusert mengde omega-3 fettsyrer i laksefileten har den ernæringsmessige verdien av å konsumere laks sunket (Jensen et al., 2020; Simopoulos, 2009). Med en begrenset tilgang til fiskeolje og fiskemel og en oppdrettsnæring i vekst, trengs det alternative kilder til marint råstoff for å forsyne en økt produksjon.

Mikroalger er primærprodusentene av marine LC-PUFA n-3 i det akvatiske miljø og er hovedkilden til de essensielle fettsyrene EPA og DHA i havet. I tillegg er de en god kilde til proteiner, vitaminer, pigmenter og essensielle aminosyrer (Kiron et al., 2012; Maltsev & Maltseva, 2021; Remize et al., 2021). Mikroalger har vist å egne seg godt som en alternativ kilde til fettsyrer og proteiner i fiskefôr (Shah et al., 2018). De kan kultiveres i storskala, siden mikroalger har god evne til å omgjøre CO₂ til næringsstoffer. Alt de trenger i tillegg til CO₂, er lys og uorganiske næringsstoffer for å vokse (Khan et al., 2018).

Teknologien for å produsere mikroalger til fôrproduksjon er lite utviklet og medfører per dags dato store kostnader (Chew et al., 2017; Eilertsen et al., 2022; Hemaiswarya et al., 2011). Det blir derfor ikke produsert store kvantum av fototrofiske mikroalger til bruk i kommersielt fiskefôr i dag. En forutsetning for å kunne produsere lønnsomt er at produksjonen foregår kontinuerlig året rundt (Svenning et al., 2019). Flere sesongbaserte faktorer som blant annet daglengde, vanntemperatur og pH kan påvirke både vekst og næringsinnhold i mikroalgene. I tillegg kan produksjon av sekundærmolekyler påvirkes av lys og temperatur, samt en rekke andre faktorer (Eilertsen et al., 2022). En slik storskala produksjon avhenger av at arten som

blir dyrket på er tilpasset varierende forhold uten at det går på bekostning av vekst og næringsinnhold.

I denne oppgaven er det gjort undersøkelser av den marine kiselalgen *Porosira glacialis*, dyrket ved Finnfjord AS, et smelteverk for produksjon av ferrosilisium. Hovedmålet med oppgaven er å undersøke sesongmessige variasjoner i den biokjemiske sammensetningen til *P. glacialis*. Dette inkluderer undersøkelser av fettinnhold, fettsyresammensetning, proteininnhold, aminosyrer (AA), samt vann- og askeinnhold. Videre ble næringsinnholdet til *P. glacialis* sammenlignet med ingredienser som brukes i kommersielt fiskefôr, spesielt med fokus på de langkjedete omega-3 fettsyrene EPA og DHA.

2 Bakgrunn

2.1 Diatoméer

Diatoméer, som kiselalgene kalles på fagspråket, er encellede eukaryote fytoplankton som lever i det akvatiske miljø. Disse algene er primærprodusenter i havet, ansvarlig for ca. 40% av primærproduksjonen i havet, som tilsvarer ca. 20% av global fotosyntese (Nelson et al., 1995). De er en av de mest vanlige typene planteplankton og finnes både i ferskvann, brakkvann og i alle verdens hav, men er mest vanlig i tempererte og kalde områder (Degerlund & Eilertsen, 2010; Seckbach & Kociolek, 2011). Et karakteristisk trekk ved diatoméer er deres cellevegg av silikat ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), diatoméer lever derfor i et hus av hydrert glass, som bidrar til å effektivt ta opp sollys (Armbrust, 2009). Diatoméer finnes som enkeltceller eller i cellekjeder, de kategoriseres ofte som pennate med en bilateral symmetri eller sentriske med radial symmetri (Medlin et al., 1993). Celleveggen har to halvdelar som passer sammen som en petriskål. Sett fra toppen vil cellene se runde ut, men fra siden vil de ha en mer rektangel form (Armbrust, 2009).

Diatoméers opprinnelse estimeres å ha skjedd helt tilbake mellom prekambrium og den sene juraalderen for rundt 650 - 140 millioner år siden (Sims et al., 2006). Rundt 12 000 arter av diatoméer har blitt beskrevet (Guiry, 2012) I dag estimeres det at det er mellom 20 000 til 200 000 forskjellige arter av diatoméer (Armbrust, 2009; Guiry, 2012; Mann & Vanormelingen, 2013). De kan variere i størrelse fra 5 μm til 200 μm . De eksisterer i områder med tilgjengelig lys og tilgang til jern, fosfor, silikat og CO_2 som diatoméer tar til seg (Morel & Price, 2003). Reproduksjon foregår gjennom binær fisjon, hvor to nye celler oppstår inne i foreldrecellen. Celledelingen kan skje fort, det gjør at oppblomstringer av enkelte arter kan oppstå i løpet av få dager (Degerlund & Eilertsen, 2010). Med økende daglengde rundt vårjevndøgn vil konsentrasjonen av diatoméer øke kraftig i vannmassene, dette kalles våroppblomstringen. Oppblomstringene av mikroalger kan bli svært store og spiller en viktig rolle i økosystemet. Diatoméer er mest dominerende i tempererte områder og ved iskanten, i områder som langs norskekysten og i Barentshavet er diatoméer svært prominente (Pabi et al., 2008).

Gjennom fotosyntese fikserer diatoméer store mengder karbon fra atmosfæren (Daneshvar et al., 2022; Nelson et al., 1995). Disse algene fikserer like mye karbon som de store terrestriske regnskogene gjør (Field et al., 1998). Hovedforskjellen er at mesteparten av det organiske

karbonet produsert av diatoméer blir til opplagsnæring i de marine næringskjedene (Armbrust, 2009; Field et al., 1998). Oksygen blir produsert i store mengder som et biprodukt i fotosyntesen. Diatoméers oksygenproduksjon har i stor grad bidratt i til den høye oksygenkonsentrasjonen i atmosfæren i dag (Falkowski et al., 2005).

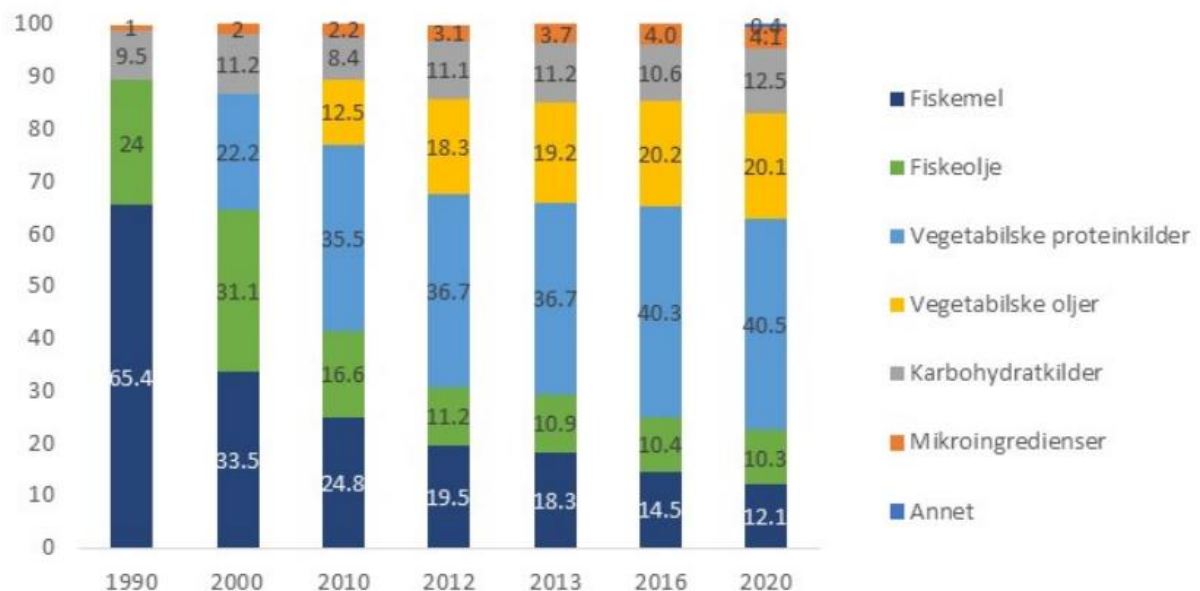
Diatoméer fikserer karbon så effektivt, at CO₂ i naturen ofte er en begrensende faktor for vekst (Hu & Gao, 2003). Ved å øke konsentrasjonen av CO₂, vil dermed primærproduksjonen også øke (Hein & Sand-Jensen, 1997; Pires et al., 2012). Dette gjør at de egner seg godt til kunstig dyrkning. I tillegg til tilgang til CO₂, er celledelingen avhengige av tilgjengelige næringsstoffer og lys. Under våroppblomstringer i arktiske strøk er det vanligvis nitrogen som begrenser vekst til slutt (de Baar, 1994). Med tilstrekkelig tilgang til lys, CO₂ og næringsstoffer ved kunstig dyrkning, kan man i praksis kultivere en kultur med en høy kontinuerlig produksjon av diatoméer. En kunstig produksjon av kiselalger, kan være en effektiv måte å produsere attraktive næringsstoffer på. Næringsstoffer produsert av mikroalger kan ha stor nytteverdi for å supplere både protein og olje i fiskefôr (Nagappan et al., 2021). Diatoméer inneholder høye andeler omega-3, spesielt EPA, i tillegg til at mesteparten av fettene er flerumettede fettsyrer (PUFA) (Sayanova et al., 2017). De fleste arter diatoméer inneholder nok LC-PUFA n-3 for å dekke behovet for essensielle fettsyrer i fisk (Sprague et al., 2016). Næringsinnholdet i forskjellige mikroalgearter kan variere, fra 20-60% protein, 10-40% lipid og 13-38% karbohydrater (Hemaiswarya et al., 2011). Flere arter mikroalger har også en balansert aminosyreprofil som oppfyller kravene satt av WHO, som betyr at alle de essensielle aminosyrene er like eller overstiger behovene i en diett for voksne individer (FAO, 2007; Wang et al., 2021). Tidligere studier har vist at inklusjon av diatoméer i fôr har kunne erstatte marine ingredienser til en viss grad uten å at det går utover fordøyeligheten til laksen, i tillegg til at det påvirke til lavere lusepåslaget (Eilertsen et al., 2021; Sørensen et al., 2016).

En kiselalge art som kan være egnet til dyrkning og som ingrediens i fiskefôr er *P. glacialis* (Grunow) (Dalheim, 2021; Eilertsen et al., 2022). *P. glacialis* er en marin kiselalge som finnes i tempererte strøk og nærme iskanten på den nordlige og sørlig halvkulen. *P. glacialis* har en sentrisk form og kan bli ganske store, rundt 30-40 µm i diameter (Thronsen et al., 2003). Et studie som undersøkte artssammensetning, mengde og biomasse av fytoplankton i Barentshavet, viste at i april 2019 var *P. glacialis* en av de største primærprodusentene i området (Makarevich et al., 2022). Dette kan indikere at *P. glacialis* kan være en viktig primærprodusent i nordlige strøk. Videre studier har vist at nordlige kiselalger som *P. glacialis*

inneholder et attraktivt næringsinnhold og har potensial til å substituere komponenter som fiskeolje og fiskemel i oppdrettsfôr i fremtiden (Artamonova et al., 2017a; Eilertsen et al., 2021).

2.2 Fiskeernæring

Fôrsammensetningen til norsk oppdrettslaks har vært preget av store endringer de siste tiårene. Fra å inneholde 90% marine råstoffer i 1990, i form av fiskemel og fiskeolje, har denne andelen blitt redusert til 22% i 2020 (Aas et al., 2022). Verdens produksjon av villfanget fisk har fra 1950 – 1990 økt fra 20 til 90 millioner tonn fisk. I 2018 var fangsten 96,4 millioner tonn (FAO, 2020). Endringen i fôrsammensetningen skyldes i stor grad at økt lakseproduksjon har ført til økt behov for fôr (Deutsch et al., 2007; Naylor et al., 2009; Ytrestøyl et al., 2015). Veksten i fiskeriene har stagnert og det er ikke lenger mulig å hente ut større andeler på en bærekraftig måte fra de tradisjonelle fiskeressursene (Gjøsund et al., 2020; Huntington & Hasan, 2009). Dette begrenser mengde fiskemel og fiskeolje tilgjengelig og fører derfor til økte priser, noe som begrenser mulighetene for videre vekst i akvakultur sektoren. Derfor har marint råstoff i fôr i større grad blitt erstattet med plantekomponenter. I 2020 inneholdt 73% av fôr plantekomponenter. Dette er blant annet planteproteinkilder som sto for 40% av fôrinholdet, som hovedsakelig stammer fra soya. 20% kom fra planteoljekilder som rapsolje (Aas et al., 2019).



Figur 1 Ingredienser brukt i norsk laksefôr fra 1990 til 2020, gitt som % av fôr. Figuren er hentet fra (Aas et al., 2022).

Ved å erstatte de marine føringrediensene med plantekilder har laksens tilgang på viktige næringsstoffer endret seg. De viktige omega-3 fettsyrene EPA og DHA finnes ikke i tradisjonelle planteingredienser, dette har ført til en reduksjon av inntaket av omega-3 fettsyrer i dietten til fisken (Ytrestøyl et al., 2015). Omega-3 fettsyrer er viktig for flere biologiske funksjoner for laksen. For eksempel er de langkjedete omega-3 fettsyrene EPA og DHA viktige i cellemembraner hos laks som er kaldtvannsfisk (Berge et al., 2019). Når temperaturen blir lav, har fisk behov for fleksibilitet og fluiditet i cellemembranen og trenger derfor flerumettede fettsyrer med lavt smeltepunkt (Hardy & Kaushik, 2021). LC-PUFA spiller videre en viktig rolle i homeostases og stressrespons. Disse responsene blir styrt av eikosanoider, det er oksygenerte produkter av arakidonsyre (ARA), EPA og DHA. N-6 eikosanoider produserer prostaglandin E₂ (PGE₂) og leukotrien B₄ (LTB₄), disse stoffene stimulerer proinflammatoriske cytokiner (Schmitz & Ecker, 2008). N-3 eikosanoider produserer PGE₃ og LTB₅ stimulerer betennelsesdempende cytokiner (Dennis & Norris, 2015). LC-PUFA konkurrerer om å binde seg til de samme enzymene, en overkant av ARA vil blokkere innflytelsen til EPA og *visa versa*. Det er derfor nødvendig å balansere inntaket av n-3 og n-6 LC-PUFA (Hardy & Kaushik, 2021; Lands, 2014).

Planteoljene som i stor grad har erstattet fiskeolje i laksefôret har en helt annen fettsyresammensetning enn fiskeolje (Ytrestøyl et al., 2015). I planteoljer er det store mengder omega-6 fettsyrer, rapsolje som er den mest brukte planteoljen i fiskefôr, består av ca. 20% linolsyre (18:2n-6) (Sissener, 2018). Linolsyre finnes omtrent ikke i fiskeolje. Endringen i fettsyresammensetningen i fôret har en påvirkning på fettinnholdet i laksen (Jensen et al., 2020). Fisk som blir fôret med vegetabiliske oljer har større andel omega-6 i fileten. En reduksjon av omega-3 fettsyrer som EPA og DHA gjør også helsegevinsten ved å konsumere laks mindre. Forholdet mellom omega-6 og omega-3 er ti ganger høyere i oppdrettslaks sammenlignet med villaks (Lundebye et al., 2017; Sissener, 2018). I tillegg har fettprosenten i laksefôret økt for å oppnå hurtigere vekst, dette har også ført til økt fettinnhold i laksefileten (Ruyter et al., 2021). Fettprosenten i laksefileten økte fra 12,3% til 17,9% fra 2010 til 2018, en økning på nesten 45% (Jensen et al., 2020)

Studier har vist at laks trenger EPA + DHA i fôret for å forbedre vekst, fiskevelferd og filetkvalitet. I dag er det gjennomsnittlig 2,2% EPA + DHA i fôret, men økt mengde LC-PUFA n-3 har vist seg å være mer optimalt for vekst og velferden til laks (Lutfi Royo et al., 2022; Ruyter et al., 2019; Selvam et al., 2022; Aas et al., 2022).

Protein er en spesielt viktig del av dietten til laksen, rundt 35 - 55% av fôr er protein (Andersen et al., 2016; National Research Council, 2011). Atlantisk laks har tradisjonelt spist fôr som inneholder store andeler fiskemel med en balansert mengde essensielle aminosyrer. Ved å erstatte fiskemel med andre proteinkilder som plantekilder har laks vist tendenser til redusert fôrintak og vekst (Espe et al., 2006). Laks har behov for en balansert profil av aminosyrer (Hardy & Kaushik, 2021). Attraktive alternative kilder til proteiner i fiskefôr trenger derfor å være av god kvalitet for å sikre effektivt fôrutnyttelse og vekst.

Med økende etterspørsel etter fiskeolje og fiskemel, og videre planer om vekst i oppdrett av atlantisk laks, er det behov for behov for bærekraftige alternative kilder til omega-3 fettsyrer og proteiner. Diatoméer har mulighet for å være et godt alternativ til marine råstoffer og plantekomponenter i fiskefôr. Næringsinnholdet i mikroalger har en gunstig blanding av lipider, proteiner og karbohydrater for å opprettholde god fiskehelse (Nagappan et al., 2021).

2.3 Sesongmessige variasjoner

Med en kontinuerlig produksjon av mikroalger er det viktig å kartlegge hvordan sesongmessige variasjoner påvirker den biokjemiske sammensetningen for å kunne kultivere på en måte som produserer den mest gunstige sammensetningen av næringsstoffer. En slik kultur er eksponert for miljøet utenfor og dette vil til gjengjeld ha en påvirkning på kulturen. I nordligere strøk er det store endringer i daglengde og sjøtemperatur. Både temperatur og lys påvirker vekst, fettinnhold og fettsyresammensetning i flere mikroalgearter (Mortensen et al., 1988; Svenning et al., 2019). Tidligere studier har vist at det er en korrelasjon mellom temperatur og fettsyresammensetning, ved lavere temperaturer vil andel PUFA kunne øke for å regulere fluiditet i membranen (Hu & Gao, 2006; Jiang & Gao, 2004; Svenning et al., 2019). Mikroalger har stressresponser til lave temperaturer, som kan føre til akkumulasjon av fettsyrer, dette vil også kunne begrense vekst (Teoh et al., 2013). Tidligere studier har vist at det er en klar sammenheng mellom daglengde og temperatur på fettsyresammensetning til mikroalger (Chen, 2012; Mortensen et al., 1988). Ved mindre tilgjengelig lys ville algene stoppe celledeling og akkumulere lipider, mens ved mer tilgjengelig lys vil veksten være høyere (Guihéneuf et al., 2008).

Mikroalgene må kunne tåle større variasjoner i parametere som temperatur, pH og lysintensitet og fortsatt inneholde høye nivåer av attraktive næringsstoffer. For eksempel er det en fordel om artene er euryterme, at den kan kultiveres og vokse på et bredt spekter av temperatur. Det er

flere faktorer enn temperatur og lysintensitet som vil variere og påvirke den biokjemiske sammensetningen. Høy CO₂-konsentrasjon i kulturen kan føre til økt vekstrate og fettinnhold (Artamonova et al., 2017b; Wu et al., 2015). Nitrogenbegrensende forhold vil også kunne påvirke fettsyresammensetningen ved å øke mengde mettede fettsyrer (SFA) og enumettede fettsyrer (MUFA) og senke mengden PUFA (Qiao et al., 2016). Det er også vist at ved ulike temperaturer og lysintensitet vil påvirke bioaktiviteten i *P. glacialis*, noe som kan bety at ulike kultiveringsforhold kan aktivere produksjonen av mer attraktive metabolitter enn andre (Ingebrigtsen et al., 2015). Ved å studere en rekke uttak gjennom hele året blir det mulig å kartlegge om den næringsmessige verdien holder seg konstant gjennom et helt år og hvilke miljøfaktorer som påvirker kulturen.

3 Materialer og metode

3.1 Kjemikalier

Diklormetan (DCM) (>99%), Saltsyre (37%) og Svovelsyre (95-97%) fra Sigma Aldrich, St Louis, Mo, USA. Metanol fra VWR Chemicals, Fontenat-sous-Bois, Frankrike. Heptan fra Honeywell, Muskegon, Mi, USA. Internstandard: Heptadekansyre (C17:0) og FAME standard GC (PUFA 1, PUFA 2 og PUFA 3) fra Spelco Analytical, Bellefonte, PA, USA. DL-Norleucine (Sigma-Aldrich katalog nr. N1398. Molekylvekt 131,17g/mol), Saltsyre (37%) fra Honeywell, Fluka, katalog nr. 30721. Lithium loading buffer, ph 2,2, Biochrom. Katalog nr. 80-2038-10)

3.2 Kultivering og høsting av *P. glacialis*

Prøvematerialet brukt i forsøkene ble høstet ved 12 uttak fra algedyrkningsanlegget på Finnfjord. I reaktoren (300 000L) var det en kontinuerlig kultivering av *P. glacialis* og kulturen var alltid i en eksponentiell vekstfase. Reaktoren sto ute, så kulturen var eksponert for de naturlige forholdene ved Finnfjordbotn, i tillegg var det vedvarende kunstig belysning inne i reaktoren, både ovenfor vannflaten og neddykket i kulturen. Kulturen fikk kontinuerlig tilsatt røyk med 6 - 12% CO₂ eller trykkluft med unntak av prøven høstet i august 2021. I tillegg ble det tilsatt næringsstoffer i form av Kristalon Flower fra Yara (Oslo, Norge) og natrium metasilikat pentahydrat fra Permakem (Bergen, Norge). pH i kulturen ble holdt mellom 6,8 og 8,3 og temperaturen varierte fra mellom 2 – 12 °C. Prøvene ble høstet ved at vann fra kulturen gikk inn i et trommelfilter for å fjerne det overflødig vannet, deretter ble uttaket fra kulturen sentrifugert for å oppnå en høyt konsentrert algebiomasse. Den sentrifugerte biomassen ble deretter fryst ned til lagring på – 20°C. Tabell 1 viser forholdene i kulturen ved høsting av biomasse ved de ulike uttakene.

Tabell 1 Forhold ved høsting for de ulike prøveuttakene. Tabellen viser dato, NAPIS, celletall per liter, temperatur ved høsting, lys-mørke syklus og pH ved høsting for prøveuttakene.

Forhold ved høsting					
Dato	Prøve ID	Cell/L	Temp (°C)	L-D Cycle	pH
16.01.2020	12665200	22205505	8,3	L24:D0	7,8
19.02.2020	12666217	17034360	6,2	L24:D0	7,9
18.03.2020	12665232	39341260	7,2	L24:D0	8,2
17.03.2021	12665255	19135710	4,4	L24:D0	7,8
21.04.2020	12665247	17744125	9,5	L24:D0	7,8
23.04.2021	12665271	9317715	8,3	L24:D0	7,5
14.05.2021	12665302	6503640	7,5	L24:D0	7,9
17.06.2021	12665302	8942320	9,8	L24:D0	7,8
27.08.2021	12665308	3952212	10,5	L24:D0	8,5
14.09.2021	12665319	10818555	11,8	L24:D0	7,7
14.11.2019	12665176	12116703	1,7	L24:D0	8,2
18.12.2019	12665192	17009520	7,3	L24:D0	6,8

For å regne ut vekst hastigheten i algekulturen ble formel 1 brukt. Denne dataen var bare tilgjengelig for prøvene fra 2021.

$$(1) \frac{Vann\ inn\ pr.\ time * 24}{Total\ volum(l)} + \log_2 x\ celletall\ pr.\ l - \log_2 x \frac{celletall\ pr.\ L}{Antall\ dager}$$

3.3 Vann- og askeinnhold

Det ble laget tre paralleller av hver prøve med våt biomasse av *P. glacialis* (ca. 5 g) på forhåndsveide aluminiums beger. Deretter ble prøvene satt i varmeskap (Heratherm OMS180, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) på 105°C til veksten var konstant. Vanninnhold ble regnet ut med formel 2.

$$(2) \frac{Vekt\ prøve(før\ tørking) - Vekt\ prøve(etter\ tørking)}{Vekt\ prøve(før\ tørking)} \times 100\%$$

Videre ble de vannfrie prøvene overført i forbrenningsovn (Nabertherm GmbH, Program Controller S27, Lilienthal, Tyskland) på 540 °C. Etter 16 timer i ovnen ble prøvene tatt ut og veid. Askeinnholdet kunne deretter bli beregnet prosentvis ved bruk av formel 3.

$$(3) \frac{Vekt\ prøve\ (etter\ tørking\ og\ forbrenning)}{Vekt\ (før\ tørking\ og\ forbrenning)} \times 100\%$$

3.4 Frysetørking

Ca. 80 g av hver prøve av *P. glacialis* ble frysetørket med bruk av Genesis EL35 FreezeDryer (VirTis SP Scientific, NY, USA). Prøvene av *P. glacialis* ble først fryst ned til -70°C før de ble frysetørket i 72 timer til all fuktigheten var fjernet.

3.5 Totale aminosyrer

Prøvene av *P. glacialis* brukt i analysen var frysetørket biomasse. Ca. 40 mg av det frysetørkede prøvematerialet ble veid opp og tilsatt i 4 mL glassrør, videre ble 0,7 mL destillert H_2O og 0,5 mL internstandard 20mM DL-norleucine (Sigma-Aldrich, MO, USA) tilsatt. Dette ble blandet med 1,2 mL saltsyre (37%) (Honeywell Fluka, NC, USA, katalog nr. 30721) i glassrør. Deretter ble prøvene flushet med N_2 -gass i ca. 10 sekunder for å hindre oksidasjon. Videre ble prøvene puttet i varmeskap for hydrolyse i 22-24 timer på 105°C . Deretter ble prøvene avkjølt og 1000 μl ble overført til eppendorf-rør. For å fjerne partikler ble prøvene sentrifugert (sentrifuge 5424 R, Eppendorf, Hamburg, Tyskland) ved 18 400 g i 5 minutter. 100 μl ble overført til analyserør og dampet til tørrhet i en nitrogeninndamper (Sample Concentrator SBHCONC/1, Stuart Equipment, Staffordshire, Storbritannia) ved 30°C . Videre ble prøvene løst ut i 1 mL loading buffer (Lithium loading buffer, pH 2,2, Biochrom, Cambridge, Storbritannia). Prøvene ble så analysert på en Biochrom 30+ aminosyreanalysator (Biochrom Co, Cambridge, Storbritannia).

For å kvantifisere aminosyrer, ble det brukt en ionebyttekromatograf, som er en type væskechromatograf. Her ble stoffene separert og fordelt mellom to faser, en mobil som er væske og en stasjonær som består av kolonnemateriale. Ved bruk av aminosyreanalysatoren separeres aminosyrer i kolonnen ved bruk av buffere med ulik pH og ionestyrke. Deretter farges aminosyrene ved at ninhydrin derivatiserer aminosyrene. Fargen var proporsjonal med den mengden aminosyre som er i prøven. Et fotometer målte absorbert lys i de fargende forbindelsene for å bestemme andel aminosyrer. Lysabsorpsjonen blir målt på 570 nm og 440 nm. På 570 nm ble de aminosyrene med en primær aminofunksjon absorbert. På 440 nm ble de sekundære aminosyrene prolin og hydroksyprolin absorbert.

Resultatet ble presentert i et kromatogram, med flere topper, hvor hver topp representerte en aminosyre med unik retensjonstid. Retensjonstidene ble sammenlignet med kjente standarder som kunne identifisere de ulike aminosyrene i prøvene. Internstandarden ble tilsatt i en gitt konsentrasjon og ble brukt for å regne ut mengden av de ulike aminosyrene i prøven. Mg aminosyre per g prøve ble regnet ved bruk av formel 4.

$$(4) \frac{\frac{AA \text{ mlom}}{Nleucine \text{ nmol}} \times \frac{Nleucine \text{ ml} \times Nleucine \text{ nM}}{Vekt \text{ prøve (g)}} \times \text{Molekylvekt AA}}{1000}$$

Totalproteinet (%) i prøvene ble utregnet ved at vannmolekylet ble trukket fra hver enkelt aminosyre. Utregningen vises i formel 5.

$$(5) \frac{AA \text{ (mg)}}{Vekt \text{ prøve (g)}} \times \frac{\text{Molekylvekt aminosyre} - \text{molekylvekt vann}}{\text{Molekylvekt aminosyre}} \times 100$$

3.6 Fettinnhold

Metoden for å bestemme fettinnhold i *P. glacialis* var en modifikasjon av Folch et al. (1957) metode, beskrevet i Svenning et al. (2020). Tre paralleller av 150 mg av frysetørket *P. glacialis* ble veid opp i 15 mL sentrifugerør. 3 mL diklormetan/metanol (DCM:MeOH) (2:1, v/v) og 3 mL NaCl i MiliQ Vann ble tilsatt i sentrifugerørene og ristet. Deretter ble prøvene sentrifugert i 5 min ved 3000 g. Den organiske fasen fra de sentrifugerte prøvene ble overført til de forhåndsveide rørene. 3 mL diklormetan/metanol (2:1, v/v) ble igjen tilsatt i sentrifugerørene og prøvene ble sentrifugert i 5 min ved 3000 g. Deretter ble siste del av den organiske fasen overført til prøverørene. Prøvene ble dampet av med nitrogen inndamper (Sample Concentrator SBHCONC/1, Stuart Equipment, Staffordshire, Storbritannia) i ca. en time før prøverørene ble veid. Andel fett (g) i prøvene ble regnet ved bruk av formel 6.

$$(6) \text{Prøverør etter inndamping (g)} - \text{forhåndveid prøverør (g)}$$

Videre ble fettinnhold (%) regnet ut ved bruk av formel 7.

$$(7) \frac{\text{Fett (g)}}{\text{Oppveid materiale (g)}} \times 100\%$$

Prøvene ble brukt videre til å bestemme fettsyresammensetning og måtte derfor løses ut til 10 mg/mL i DCM:MeOH (2:1, v/v).

3.7 Fettsyremetylering og gasskromatografi

Metoden for metylering av fettsyrer som ble brukt i dette forsøket ble utviklet av Stoffel et al. (1959) og modifisert av Svenning et al. (2020). 100 µl ekstrahert fett (10 mg/mL) ble overført til glassrør. 100 µl internstandard (Heptadekansyre (C17:0), 0,1 mg/mL i diklormetan), 800 µl diklormetan og 2 mL 10% H₂SO₄ ble tilsatt i glassrørene. Deretter ble prøvene overført til varmeblokk (Thermo Fisher Scientific, Osterode, Tyskland) ved 100°C i en time. Prøvene ble kjølt ned før 3 mL heptan og 3 mL 5% NaCl ble tilsatt. Prøvene ble vendt om noen ganger slik

at prøven ble homogenisert. Videre ble den øverste organiske fasen overført til 4 mL prøverør. Prøverørene ble dampet av i en nitrogen inndamper (Sample Concentrator SBHCONC/1, Stuart Equipment, Staffordshire, Storbritannia) på varmeblokk (Stuart Block Heater, Stuart®, Stone, Staffordshire, UK) ved 30°C til de ble tørre. Prøvene ble deretter løst ut i 100 µl heptan og overført til analyserør før det ble analysert med gasskromatografi.

En Agilent 6890N gasskromatograf utstyrt med en 7683B autoinjektor og flammeionisasjonsdetektor (FID) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) ble brukt for å analysere prøvene. Helium ble brukt som bærer-gass (1,6 mL min⁻¹). Fettsyrene ble bært gjennom en Varian CP7419 kapillærkolonne (L 50 m x ID 250 µm x FT 0,25 µm) og separert ved ulik vandrings-hastighet. Temperaturen ved injektoren var 240°C og 250°C ved FID. I begynnelsen holdt GC ovnen en temperatur på 60°C i et minutt, deretter ble temperaturen hevet til 130°C, deretter 195°C og til slutt opp til 240°C i 10 minutter. Fettsyrene ble identifisert ved å se på tiden fettsyrene brukte gjennom vandre-kolonnen og sammenlignet med kjente standarder. Kalibrering ble gjort ved å sammenligne ratio mellom individuelle fettsyrer og 7,8125-2000 µg mL⁻¹ gLC 502 (Nu-Chek. Prep, USA) og Heptadekansyre (C17:0) (Sigma Aldrich, USA) som internstandard. Utrekning for å finne arealprosent og mengde fettsyre per 100 g for hver fettsyre ble brukt for å bestemme andel fettsyrer. Arealprosent (%) ble bestemt ved bruk av formel 8.

$$(8) \frac{\text{Arealet av den enkelte fettsyretoppen i kromatogrammet}}{\text{Totale arealet av alle fettsyretoppene}} \times 100\%$$

Ved bruk av kalibreringskurven, ble mengde fettsyre mg/g lipid beregnet ved bruk av formel 9.

$$(9) \frac{\text{Areal topp FA}}{\text{Areal topp IS}} \times \frac{\text{Tilsatt mengde IS (g)}}{\text{Fettinnhold \%} \times \text{vekt prøve (g)}} \times 1000 \text{ mg}$$

3.8 Data analyse og statistiske metoder

I alle metoden for totale aminosyrer (TAA) ble det brukt to replikasjoner, i de resterende metodene ble det brukt tre replikanter. Videre i analysen ble parallellene brukt for å regne ut gjennomsnitt ± standardavvik, som videre ble brukt for å presentere resultatene i tabeller og/eller grafer. Alle enkle kalkulasjoner ble gjort med Excel Versjon 2108. Statistiske analyser som PCA, Shapiro-Wilk's, ANOVA og TukeyHSD brukt med hjelp av RStudio Versjon 4.2.0. PCA-plottet ble laget i R-studio ved bruk av pakken factoextra (Kassambara & Mundt, 2017)

Analysene gjort på RStudio er tilgjengelig på RPubs (https://rpubs.com/ola_d_landa/versjon1).

4 Resultater

Tabell 2 viser oversikten over den biokjemiske sammensetningen til *P. glacialis* bestemt fra 12 prøveuttak. Vanninnholdet varierte mellom $81,5 \pm 0,4$ til $90,5 \pm 0,2\%$. Det laveste registrerte vanninnholdet var fra uttaket i mai 2021, mens den største andelen var registrert i uttaket fra august 2021. Gjennomsnittet for vanninnholdet var $87,0 \pm 2,6\%$. Askeinnholdet hadde størst variasjon med et spenn på $34,6 \pm 0,1$ til $53,7 \pm 0,1\%$, med gjennomsnitt på $44,3 \pm 5,9\%$. Uttaket i april 2020 hadde lavest askeinnhold, mens uttaket i august 2021 hadde høyest askeinnhold. Fettinnholdet hadde minst variasjon av de målte parameterne med $8,9 \pm 0,2$ - $12,3 \pm 0,6\%$. Shapiro-Wilk's test for normalitet viste at fettinnholdet var normalfordelt ($W = 0,95, P > 0,05$). En enveis ANOVA ble utført for å teste om det var varians mellom beregnet fettinnhold fra de ulike prøveuttakene ($F = 7,7, P < 0,05$). Gjennomsnittlig fettinnhold ble påvist for å være forskjellig mellom minst to av prøvene. Tukey's HSD test for multiple sammenligninger viste at gjennomsnittlig fettprosent fra prøven av mars 2021, med et gjennomsnittlig fettinnhold på $12,3 \pm 0,6\%$ var signifikant forskjellig fra ti andre prøvene. Dette var den høyeste registrerte fettprosenten fra alle de 12 prøvene. Prøven fra desember 2019 hadde en fettprosent på $8,9 \pm 0,2\%$, dette var den laveste registrerte fettprosenten av de 12 prøvene og var signifikant forskjellig fra fem av de andre prøvene.

Innholdet av protein hadde et spenn på $18,3 \pm 0,4$ – $34,4 \pm 0,5\%$, med et gjennomsnitt på $26,5 \pm 4,3\%$. Shapiro-Wilk's test for normalitet viste at proteininnholdet var normalfordelt ($W = 0,97, P > 0,05$). En enveis ANOVA ble utført for å se om det var varians mellom målt proteininnhold i de forskjellige gruppene ($F = 93,1, P < 0,05$). Tukey's HSD Test for multiple sammenligninger viste at flertallet av prøvene hadde signifikant forskjellig proteininnhold fra minst et annet prøveuttak. Prøven fra august 2021 var den eneste prøven som var signifikant forskjellig fra alle de andre prøvene, dette var også den prøven med lavest påvist proteininnhold.

Tabell 2 Den biokjemiske sammensetningen til *P. glacialis*. Vanninnhold ble regnet utfra våtvekt, aske-, fettinnhold (n = 3 ± SD) og proteininnhold (n = 2 ± SD) ble regnet utfra tørrvekt.

	% av våtvekt		% av tørrvekt	
	Vann	Aske	Fett	Protein
Januar 2020	85,7 ± 0,1	40,1 ± 0,0	10,0 ± 0,5	27,2 ± 0,2
Februar 2020	87,0 ± 0,4	41,5 ± 0,1	10,7 ± 0,4	30,0 ± 0,1
Mars 2020	84,8 ± 0,0	39,6 ± 0,0	10,5 ± 0,2	32,1 ± 0,5
Mars 2021	90,3 ± 0,1	49,9 ± 0,1	12,3 ± 0,6	23,2 ± 0,3
April 2020	83,3 ± 0,4	34,6 ± 0,1	10,4 ± 0,1	34,4 ± 0,5
April 2021	88,1 ± 0,3	48,0 ± 0,1	9,7 ± 0,2	28,7 ± 0,3
Mai 2021	81,5 ± 0,3	36,7 ± 0,1	10,6 ± 0,4	27,7 ± 1,1
Juni 2021	87,3 ± 0,3	47,6 ± 0,1	9,8 ± 0,5	24,8 ± 0,0
August 2021	90,5 ± 0,2	53,7 ± 0,1	9,5 ± 0,4	18,3 ± 0,4
September 2021	88,2 ± 0,5	51,9 ± 0,1	10,5 ± 0,3	24,8 ± 0,1
November 2019	88,1 ± 0,2	43,1 ± 0,1	10,1 ± 0,6	24,4 ± 0,5
Desember 2019	89,0 ± 0,5	44,5 ± 0,2	8,9 ± 0,2	22,1 ± 0,3
Gjennomsnitt	87,0 ± 2,6	44,3 ± 5,9	10,3 ± 0,9	26,5 ± 4,3

4.1 Totale aminosyrer

Totale aminosyrer vises i tabell 3. TAA varierte fra 208,5 ± 4,8 til 370,5 ± 5,9 mg/g, med en gjennomsnittsverdi på 310 ± 50,7 mg/g for alle prøvene. Andel essensielle aminosyrer varierte mellom 99,9 ± 2,7 til 170,5 ± 4,9 mg/g, og gjennomsnittlig 136,4 ± 18,2 mg/g for alle prøvene. Uttaket i august 2021 hadde lavest innhold av totale aminosyrer og essensielle aminosyrer med henholdsvis 208,6 ± 4,8 mg/g TAA og 99,7 ± 2,7 mg/g EAA. Uttaket fra april 2020 hadde høyest andel TAA og EAA med henholdsvis 397,1 ± 5,9 mg/g og 170,5 ± 4,9 mg/g. Gjennomsnittsandelen av EAA fra alle prøvene var 44,2 ± 2,2% av TAA. Alle prøvene av *P. glacialis* utenom prøven november 2019 inneholdt alle de essensielle aminosyrene med unntak av tryptofan som ble denaturert av syrehydrolyse. Prøven fra november 2019 manglet i tillegg histidin, cystein og tyrosin. Glutaminsyre var den aminosyren det var høyest innhold av med 41,4 ± 8,2 mg/g av TAA. Innholdet av asparaginsyre, alanin og prolin var også høyt med i snitt 32,9 ± 5,6, 32,8 ± 7,3 og 20,8 ± 5,2 mg/g av TAA. Av EAA var det høyest andel av leucin og arginin med 24,4 ± 3,4 mg/g og 19,1 ± 5,4 mg/g av TAA.

Tabell 3 Aminosyresammensetning (mg/g) til *P. glacialis* for alle prøveuttakene (n = 2 ± SD)

Totale Aminosyrer <i>P. glacialis</i>												
	Januar 2020	Februar 2020	Mars 2020	Mars 2021	April 2020	April 2021	Mai 2021	Juni 2021	August 2021	September 2021	November 2019	Desember 2019
Essensielle Aminosyrer												
Arginin	9,9 ± 0,5	10,7 ± 0,7	15,5 ± 1,5	17,1 ± 0,4	26,3 ± 0,5	25,5 ± 0,0	18,4 ± 0,2	15,3 ± 0,8	19,2 ± 1,4	23,5 ± 1,8	25,5 ± 2,4	21,5 ± 2,1
Histidin	6,5 ± 0,0	6,9 ± 0,0	7,5 ± 0,2	5,2 ± 0,1	7,5 ± 0,2	6,2 ± 0,3	5,8 ± 2,9	5,5 ± 0,2	3,8 ± 0,1	5,0 ± 0,1		4,5 ± 0,1
Isoleucin	15,3 ± 0,4	16,7 ± 0,3	16,8 ± 0,0	12,2 ± 0,1	15,7 ± 0,5	14,4 ± 0,1	14,2 ± 0,2	13,7 ± 0,1	9,7 ± 0,0	13,2 ± 0,2	14 ± 0,1	11,9 ± 0,1
Leucin	26,0 ± 0,2	28,2 ± 0,2	28,5 ± 0,4	22,1 ± 0,3	29,5 ± 0,7	25,9 ± 0,2	25,0 ± 0,3	23,5 ± 0,2	17,1 ± 0,2	22,5 ± 0,2	23,5 ± 0,2	20,5 ± 0,1
Lysin	17,0 ± 0,1	17,3 ± 0,1	19,4 ± 0,2	15,7 ± 0,5	23,0 ± 0,7	19,1 ± 0,5	19,1 ± 0,1	17,8 ± 0,4	11,9 ± 0,2	16,4 ± 0,3	18,2 ± 0,2	15,4 ± 0,1
Metonin	8,5 ± 0,2	9,3 ± 0,0	9,7 ± 0,3	7,0 ± 0,2	10,4 ± 0,7	8,3 ± 0,2	9,4 ± 1,0	8,9 ± 0,1	6,1 ± 0,2	7,7 ± 0,4	7,3 ± 0,3	7,5 ± 0,2
Fenalanin	15,2 ± 0,1	17,2 ± 0,2	18,3 ± 0,4	14,7 ± 0,2	19,2 ± 0,5	16,9 ± 0,1	16,8 ± 0,5	16 ± 0,2	11,8 ± 0,1	15,1 ± 0,1	15 ± 0,4	13,5 ± 0,4
Treonin	17,1 ± 0,2	18,7 ± 0,2	18,8 ± 0,2	13,3 ± 0,4	19,4 ± 0,4	16,3 ± 0,0	16,4 ± 0,1	15,1 ± 0,2	10,0 ± 0,2	14 ± 0,0	15,5 ± 0,4	12,9 ± 0,0
Tryptofan												
Valin	17,0 ± 0,1	19,2 ± 0,2	19,5 ± 0,4	13,2 ± 0,2	19,3 ± 0,7	16,4 ± 0,2	16,5 ± 0,1	15,5 ± 0,3	10,3 ± 0,3	14,5 ± 0,2	15,7 ± 0,0	13,1 ± 0,1
Ikke- essensielle aminosyrer												
Alanin	35,0 ± 0,1	38,9 ± 0,3	42,0 ± 0,5	26,4 ± 0,5	42,0 ± 0,9	30,7 ± 0,0	37,8 ± 0,1	31,8 ± 0,7	16,9 ± 0,3	27,9 ± 0,3	38,2 ± 0,5	25,7 ± 0,2
Asparginsyre	36,8 ± 0,1	39,2 ± 0,2	37,7 ± 0,4	26,2 ± 0,4	40,3 ± 0,8	39,4 ± 0,1	32,7 ± 0,1	31,2 ± 0,5	22,9 ± 0,4	31,2 ± 0,2	31 ± 0,3	25,9 ± 0,1
Cystein	2,3 ± 0,1	2,9 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,1 ± 0,0	3,8 ± 0,2	2,4 ± 0,3	2,4 ± 1,2	1,9 ± 0,5	1,7 ± 0,0	2,4 ± 0,3		2,3 ± 0,3
Glycin	20,2 ± 0,0	22,4 ± 0,1	23,5 ± 0,3	16,8 ± 0,3	24,3 ± 0,7	20,5 ± 0,1	18,5 ± 0,1	18,4 ± 0,5	12,3 ± 0,3	16,5 ± 0,4	18,5 ± 0,5	15,8 ± 0,2
Glutaminsyre	42,0 ± 0,5	46,3 ± 0,3	49,1 ± 0,5	33,1 ± 0,9	57,1 ± 0,8	43,2 ± 0,3	50,4 ± 0,7	40,8 ± 0,9	26,2 ± 0,9	36,9 ± 0,3	39,2 ± 0,2	33 ± 0,3
Prolin	24,5 ± 0,1	28,3 ± 0,5	28,4 ± 0,3	18,5 ± 1,2	24,8 ± 2,5	16,8 ± 2,4	26,4 ± 0,1	19,2 ± 0,5	11,8 ± 0,5	16,7 ± 0,7	16,4 ± 0,3	17,2 ± 0,2
Serin	17,0 ± 0,1	18,3 ± 0,0	18,5 ± 0,3	12,9 ± 0,4	19,7 ± 0,4	16,5 ± 0,0	16,4 ± 0,5	14,9 ± 0,3	10,1 ± 0,2	14,3 ± 0,1	14,3 ± 0,5	13 ± 0,1
Tyrosin	11,2 ± 0,3	13,1 ± 0,2	14,5 ± 0,2	11,2 ± 0,4	14,5 ± 0,3	12,5 ± 0,0	11,1 ± 5,5	1,4 ± 3,9	6,5 ± 0,5	10,7 ± 0,7		7,8 ± 3,4
TAA	321,5 ± 2,3	353,5 ± 1,7	370,5 ± 6,3	267,8 ± 3,9	397,1 ± 5,9	331,4 ± 3,5	337,4 ± 12,8	290,8 ± 0,0	208,5 ± 4,8	288,5 ± 1,4	292,5 ± 5,7	261,7 ± 2,9
EAA	132,5 ± 1,8	144,2 ± 1,9	154,2 ± 3,7	120,5 ± 2,4	170,5 ± 4,9	149,1 ± 1,5	141,7 ± 5,4	131,4 ± 2,5	99,9 ± 2,7	132,1 ± 3,3	134,8 ± 4,0	121,1 ± 3,2
EAA%	41,2 ± 5,5	40,8 ± 6,0	41,5 ± 5,7	45,0 ± 4,8	42,9 ± 6,5	45,0 ± 6,3	42,0 ± 5,2	45,2 ± 4,8	47,9 ± 4,5	45,8 ± 5,7	46,1 ± 7,3	46,3 ± 5,1

4.2 Fettsyresammensetning

Fettsyresammensetning (%) vises i tabell 3 for alle prøveuttakene. Gjennomsnittlig fettinnhold av uttakene viser at $74,9 \pm 3,5\%$ av lipid var flerumettet med to eller flere dobbeltbindinger. Andel PUFA fra de ulike tiltakene varierte fra mellom $69,2 \pm 1,5\%$ til $80,2 \pm 0,9\%$. En Shapiro-Wilk's test for normalitet viste at de registrerte målingene av PUFA i de ulike prøvene var normalfordelte ($W = 0,98$. $P > 0,05$). En enveis ANOVA viste at det var signifikant forskjell i innhold av PUFA mellom minst to av prøveuttakene ($F = 23,8$. $P < 0,05$). Tukey's HSD test viste at flertallet av prøvene hadde signifikant forskjellig PUFA-innhold fra hverandre.

P. glacialis hadde jevnt høyt innhold av omega-3 med gjennomsnittlig $41,1 \pm 4,6\%$. På det laveste var $37,0 \pm 1,5\%$ av fettsyrene omega-3 og på det høyeste var det $47,8 \pm 1,7\%$, en Shapiro-Wilk's test for normalitet viste at målingene av omega-3 var normalfordelte ($W = 0,97$. $P > 0,05$). En enveis ANOVA viste at det var forskjell mellom mengde omega-3 mellom minst to av prøvene ($F = 15,8$. $P < 0,05$). En Tukey's HSD test viste at om lag av halvparten av prøvene var signifikant forskjellig fra hverandre.

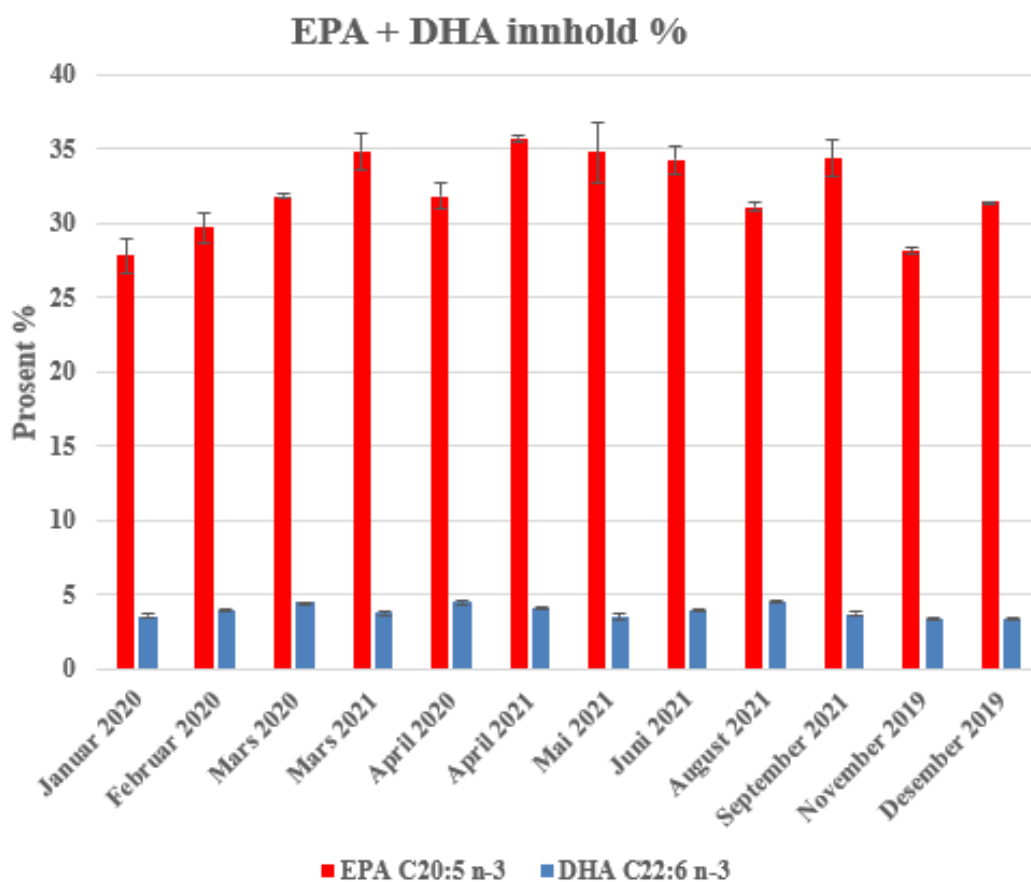
Det ble funnet spesielt store andeler EPA, det var gjennomgående den mest betydelige fettsyren i alle prøvene med en gjennomsnittsverdi på $32,1 \pm 2,7\%$. Andel EPA varierte fra ca. $27,8 \pm 1,1\%$ til $35,7 \pm 0,2\%$, med lavest andel påvist i prøven fra november 2019 og høyest andel funnet i april 2021. Shapiro-Wilk's test for normalitet viste at målingene av EPA i prøvene var normalfordelt ($W = 0,97$. $P > 0,05$). Andel DHA var betraktelig lavere med gjennomsnittlig andel $3,9 \pm 0,41\%$. 16:4 n-1 var etter EPA, den fettsyren funnet i størst andel, med gjennomsnittlig rundt $22,5 \pm 4,3\%$ av totale fettsyrer. Gjennomsnittlig n-6/n-3-ratio for alle prøvene var 0,008, rundt 125 ganger så mye omega-3 som omega-6 i prøvene av *P. glacialis*.

Tabell 3 Fettsyresammensetningen (%) til *P. glacialis* for alle prøveuttakene. I tabellen er det SFA presentert først, deretter MUFA, PUFA og til slutt omega-3 fettsyrene. Total mengde av SFA, MUFA, PUFA og omega-3 er summert i tabellen (n = 3 ± SD).

FETTSYRESAMMENSETNING % *P. glacialis*

Fettsyre	Januar 2020	Februar 2020	Mars 2020	Mars 2021	April 2020	April 2021	Mai 2021	Juni 2021	August 2021	September 2021	November 2019	Desember 2019
14:0	8,4 ± 1,2	8,2 ± 0,5	7,3 ± 0,0	4,8 ± 0,9	8,0 ± 0,7	7,9 ± 0,2	10,0 ± 0,7	8,3 ± 0,6	6,7 ± 0,2	8,7 ± 0,3	6,4 ± 0,0	7,9 ± 0,1
16:0	6,0 ± 0,1	5,8 ± 0,6	4,2 ± 0,0	6,6 ± 0,1	5,9 ± 0,1	4,7 ± 0,0	7,3 ± 0,5	6,3 ± 0,9	7,9 ± 0,4	8,0 ± 0,3	6,4 ± 0,4	5,7 ± 0,3
18:0	0,6 ± 0,1	1,0 ± 0,5	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,18 ± 0,1	0,6 ± 0,0	1,8 ± 0,1	1,5 ± 0,6	1,1 ± 0,1	2,2 ± 0,1	1,5 ± 0,4	1,1 ± 0,2
20:0	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1
22:0	0,2 ± 0,1		0,1 ± 0,1			0,3 ± 0,0		0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1		0,1 ± 0,1	
24:0	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,1		0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0
14:1 n-5		0,1 ± 0,1						0,1 ± 0,1				
16:1 n-7	10,1 ± 0,2	9,6 ± 0,3	7,1 ± 0,0	7,7 ± 0,1	12,5 ± 0,1	7,9 ± 0,0	10,2 ± 0,6	8,2 ± 0,0	8,1 ± 0,1	7,2 ± 0,2	8,7 ± 0,0	9,0 ± 0,1
18:1 n-7	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1		0,6 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1		0,3 ± 0,0	0,1 ± 0,1
16:2 n-4	3,1 ± 2,2	3,4 ± 2,4	5,0 ± 0,0				0,0 ± 0,0		2,2 ± 1,5	1,9 ± 2,6		
16:3 n-4	9,3 ± 0,3	5,5 ± 3,9	11,3 ± 0,0	9,2 ± 0,2	10,2 ± 0,1	10,4 ± 2,7	6,3 ± 4,4	12,4 ± 0,3	11,8 ± 0,1	11,4 ± 0,3	8,4 ± 0,1	5,8 ± 0,0
16:4 n-1	24,5 ± 0,8	26,4 ± 1,0	21,7 ± 0,0	23,1 ± 0,6	18,6 ± 0,2	21,4 ± 0,1	18,7 ± 1,4	19,2 ± 0,5	22,0 ± 0,1	15,2 ± 0,3	30,5 ± 0,3	28,6 ± 0,3
18:2 n-6	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,0		0,6 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,6 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,0
18:4 n-3	5,6 ± 0,2	5,4 ± 0,2	5,7 ± 0,0	9,2 ± 0,3	6,1 ± 0,1	5,6 ± 0,0	5,4 ± 0,4	4,5 ± 0,1	3,8 ± 0,0	6,4 ± 0,2	5,4 ± 0,0	6,0 ± 0,0
20:3 n-3					0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,1 ± 0,1				
20:4 n-6						0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,2	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1		
20:5 n-3	27,8 ± 1,1	29,7 ± 1,1	31,8 ± 0,1	34,8 ± 1,3	31,8 ± 0,9	35,7 ± 0,2	34,8 ± 2,0	34,2 ± 0,9	31,1 ± 0,2	34,4 ± 1,2	28,1 ± 0,2	31,4 ± 0,0
22:6 n-3	3,6 ± 0,2	4,0 ± 0,1	4,5 ± 0,0	3,8 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,1 ± 0,0	3,5 ± 0,2	4,0 ± 0,1	4,5 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,4 ± 0,0	3,5 ± 0,0
Σ SFA	15,4 ± 1,9	15,5 ± 1,6	12,7 ± 0,4	12,3 ± 1,0	14,7 ± 0,9	13,9 ± 0,3	19,6 ± 1,6	16,8 ± 2,3	16,3 ± 0,9	19,4 ± 0,8	15,0 ± 1,0	15,3 ± 0,8
Σ MUFA	10,4 ± 0,4	9,9 ± 0,5	7,1 ± 0,1	7,7 ± 0,1	13,0 ± 0,1	8,2 ± 0,0	10,5 ± 0,8	8,3 ± 0,2	8,2 ± 0,2	7,2 ± 0,2	19,3 ± 14,5	9,2 ± 0,2
Σ PUFA	74,1 ± 0,8	69,2 ± 1,5	80,2 ± 0,9	80,1 ± 0,9	72,3 ± 0,9	77,9 ± 0,2	69,8 ± 1,2	74,8 ± 1,9	75,5 ± 1,0	73,4 ± 0,7	76,0 ± 0,8	75,5 ± 0,3
Σ omega-3	37,0 ± 1,5	39,0 ± 1,4	42,0 ± 0,2	47,8 ± 1,7	42,7 ± 1,2	45,6 ± 0,3	44,1 ± 2,6	42,7 ± 1,2	39,4 ± 0,3	44,5 ± 1,5	37,0 ± 0,3	40,9 ± 0,1

En enveis ANOVA ble brukt for å teste variasjon i innholdet av EPA fra prøveuttakene viste at minst to av prøveuttakene hadde forskjellig innhold fra hverandre ($F = 15,32$. $P < 0,05$). En Tukey's HSD prosedyre ble utført på det for å teste om hvilke prøveuttak som var forskjellig fra hverandre. Innholdet av EPA varierte noe mellom prøvene og rundt 40% av prøvene hadde signifikant forskjellig EPA innhold fra hverandre. Enda en Tukey's HSD prosedyre ble brukt for å teste om det var forskjell i EPA-innholdet mellom 2019, 2020 og 2021. Resultatene viste at EPA-innholdet var høyere i prøvene fra 2021 sammenlignet med prøvene fra 2019 og 2020. Prøvene fra 2019 og 2020 hadde det samme EPA-innholdet. Figur 2 illustrerer variasjon i EPA og DHA for alle prøveuttakene.



Figur 2 Variasjon i innhold (% av fett) av EPA + DHA gjennom et helt år for prøveuttakene av *P. glacialis* ($n = 3 \pm SD$)

Fettsyresammensetningen (mg fettsyrer (FA)/g lipid) vises i tabell 4. Total mg fettsyre (FA) per g lipid var $115,3 \pm 22,6$ mg/g fett i snitt, den minste andelen funnet var $71,6 \pm 50,5$ mg/g lipid fra prøven fra februar 2020, mens den største andelen funnet var $150,6 \pm 13,5$ mg/g fett i mai 2021. I snitt var mengden SFA $18,7 \pm 5,7$ mg/g, og varierte fra $10,0 \pm 6,6$ til $28,7 \pm 13,0$

mg/g. Gjennomsnittlig MUFA var $11,3 \pm 4,9$ mg/g og varierte mellom $6,7 \pm 4,7 - 25,1 \pm 11$ mg/g. PUFA var i snitt 85 mg/g, på det minste $51,7 \pm 37,8$ mg/g og på det meste $102 \pm 38,3$ mg/g. Omega-3 var i snitt 48 mg/g med en variasjon på $26,5 \pm 18,1 - 63,4 \pm 6,9$ mg/g. Den fettsyren det ble funnet mest av var EPA, i snitt $36,6 \pm 8,5$ mg/g som varierte mellom $20,1 \pm 13,8 - 50 \pm 3,8$ mg/g.

Tabell 4: Fettsyresammensetningen (mg FA/g fetttsyre) til *P. glacialis* for alle prøveuttakene. I tabellen er SFA presentert først, deretter MUFA, PUFA og til slutt omega-3 fettsyrene. Total mengde av SFA, MUFA, PUFA og omega-3 er summert i tabellen (n = 3 ± SD).

FETTSYRESAMMENSETNING mg FA/g lipid *P. glacialis*

Fettsyre	Januar 2020	Februar 2020	Mars 2020	Mars 2021	April 2020	April 2021	Mai 2021	Juni 2021	August 2021	September 2021	November 2019	Desember 2019
14:0	8,0 ± 1,8	5,4 ± 3,6	8,7 ± 0,1	4 ± 0,8	10,5 ± 1,1	9,9 ± 0,6	14,4 ± 0,6	11,2 ± 2	8,9 ± 0,5	8,8 ± 0,3	6,9 ± 1,6	11,8 ± 1,6
16:0	5,8 ± 1,4	3,7 ± 2,5	5,1 ± 0,3	5,6 ± 0,1	7,7 ± 0,2	5,8 ± 0,3	10,5 ± 0,4	8,4 ± 0,8	10,5 ± 0,6	8,1 ± 0,1	7,0 ± 1,9	7,5 ± 1,6
18:0	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,7 ± 0,9	0,5 ± 0,0	0,2 ± 0,2	0,7 ± 0,0	2,6 ± 0,2	1,9 ± 0,4	1,5 ± 0,2	2,2 ± 0,1	1,7 ± 0,7	3,3 ± 2,4
20:0	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,1 ± 0,2	0,3 ± 0,1	2,5 ± 3,4
22:0	0,2 ± 0,2					0,3 ± 0,0			0,2 ± 0,1		0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,1
24:0	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,5 ± 0,2		0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	3,5 ± 3,9
14:1 n-5								0,1 ± 0,1				
16:1 n-7	9,9 ± 2,4	6,5 ± 4,5	8,5 ± 0,0	6,5 ± 0,2	16,3 ± 0,4	9,9 ± 0,4	14,7 ± 0,9	11,2 ± 2,4	10,8 ± 0,6	7,3 ± 0,1	9,4 ± 2,1	11,2 ± 3,9
18:1 n-7	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,0		8,8 ± 11,4	0,3 ± 0	0,4 ± 0,3	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,1		0,3 ± 0,1	2,7 ± 0,0
16:2 n-4	2,8 ± 2,2	3,2 ± 2,6	6,0 ± 0,4						2,9 ± 2,1	2,0 ± 2,8		
16:3 n-4	9,0 ± 2,2	3,9 ± 4,8	13,6 ± 0,0	7,7 ± 0,3	13,4 ± 0,3	12,9 ± 0,5	9,5 ± 6,8	16,9 ± 3,9	15,8 ± 1,0	11,5 ± 0,2	9,1 ± 2	8,3 ± 17,6
16:4 n-1	23,9 ± 5,7	17,9 ± 12,2	26,1 ± 0,1	19,4 ± 0,8	16,3 ± 11,0	26,7 ± 1	26,9 ± 1,9	26,3 ± 6,1	29,4 ± 1,4	15,3 ± 0,3	32,9 ± 7,3	31,3 ± 3,7
18:2 n-6	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1		0,8 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,8 ± 0,0	0,5 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,0 ± 0,1	3,5 ± 4,4
18:4 n-3	5,4 ± 1,4	3,7 ± 2,5	6,8 ± 1,3	7,7 ± 0,1	8,0 ± 0,1	6,9 ± 0,3	7,7 ± 0,6	6,1 ± 1,5	5,1 ± 0,2	6,5 ± 0,0	5,9 ± 1,3	8,8 ± 1,1
20:3 n-3					0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,7 ± 0,1					
20:4 n-6						0,2 ± 0,1	0,2 ± 22,7	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1		
20:5 n-3	27,2 ± 7,1	20,1 ± 13,8	38,2 ± 0,1	29,3 ± 0,7	41,7 ± 0,9	44,5 ± 1,6	50,0 ± 3,8	46,8 ± 11,0	41,7 ± 1,8	34,7 ± 0,5	30,3 ± 6,7	34,9 ± 18,6
22:6 n-3	3,5 ± 0,9	2,7 ± 1,8	5,4 ± 0,2	3,2 ± 0,1	5,9 ± 0,2	5,1 ± 0,2	5,0 ± 2,4	5,4 ± 1,3	6,0 ± 0,2	3,7 ± 0,1	3,7 ± 0,8	6,7 ± 2,1
SFA	15,0 ± 4	15,2 ± 1,7	10,0 ± 6,6	10,3 ± 0,9	19,1 ± 1,5	17,3 ± 0,9	28,3 ± 1,8	22,4 ± 3,4	21,7 ± 1,6	19,6 ± 0,8	16,3 ± 4,5	28,7 ± 13
MUFA	10,1 ± 2,6	8,6 ± 0,0	6,7 ± 4,7	6,5 ± 0,2	25,1 ± 11,8	10,2 ± 0,4	15,1 ± 1,2	11,4 ± 2,7	11,0 ± 0,7	7,3 ± 0,1	9,7 ± 2,2	13,9 ± 7,6
PUFA	72,0 ± 19,7	96,4 ± 2,2	51,7 ± 37,8	67,3 ± 2,0	86,4 ± 12,5	97,0 ± 3,8	100,8 ± 38,3	102,1 ± 24,0	101,2 ± 6,9	74,2 ± 4,0	81,9 ± 18,2	93,5 ± 45,1
omega-3	36,1 ± 9,4	50,4 ± 1,6	26,5 ± 18,1	40,2 ± 0,9	55,9 ± 1,2	56,8 ± 2,1	63,4 ± 6,9	58,3 ± 13,8	52,8 ± 2,2	44,9 ± 0,6	39,9 ± 8,8	50,4 ± 21,8

4.3 Sesongmessige variasjoner

4.3.1 Variansanalyse på innhold av Protein, Fett, PUFA og EPA

En enveis ANOVA test ble brukt for å sammenligne påvirkningen av pH, temperatur, lys, vekst, fluorescens, nitrat (NO_3), nitritt (NO_2), silikat (Si) og fosfat (PO_4) på protein, fett, PUFA-, EPA- og DHA-innholdet i prøvene. Testene ble gjort på prøvene fra 2021, siden de hadde tilstrekkelig data for vekst, lys, fluorescens, temperatur- og pH (syv dagers snitt). En Shapiro-Wilk's test ble gjort for å teste normaliteten på alle parameterne fra 2021 ($P > 0,05$).

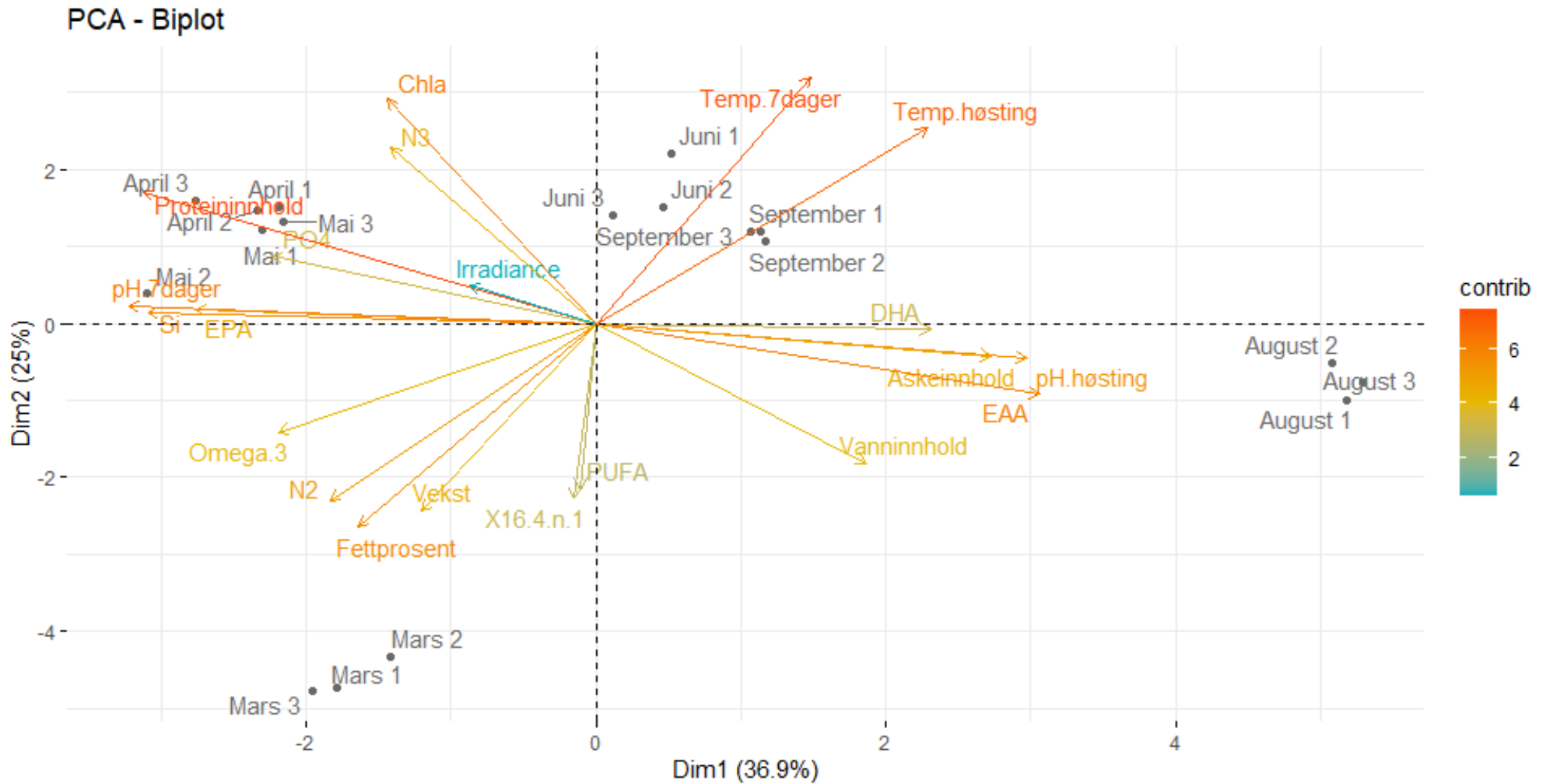
Variansanalysen viste at pH, fluorescens og vekst hadde en påvirkning på proteininnholdet ($P < 0,05$, $R^2 = 0,96$). Analysen gjort på fettinnholdet viste at veksthastighet var det eneste variabel med påvirkning ($P < 0,05$, $R^2 = 0,77$). Temperatur, lys, og veksthastighet hadde en påvirkning på andel PUFA ($P > 0,05$, $R^2 = 0,85$). For innholdet av EPA hadde verken lys, pH, temperatur eller veksthastighet noe signifikant påvirkning på innholdet av EPA i prøvene, $P > 0,05$ for hver faktor. $P < 0,05$ for den samlede analysen, $R^2 = 0,45$. Innholdet av DHA ble påvirket av temperatur, pH og vekst i kulturen ($P < 0,05$, $R^2 = 0,83$). Temperatur, pH, fluorescens og vekst påvirket innholdet av 16:4 n-1 ($P < 0,05$, $R^2 = 0,92$).

4.3.2 Multivariant analyse – PCA

For å få oversikt over korrelasjonen mellom de ulike variablene ble det gjort en PCA (Principal Component Analysis). Analysen tar utgangspunkt i alle prøvene fra 2021 som hadde tilstrekkelig data for å gjøre en helhetlig analyse. Tabell 5 viser hvordan de ulike variablene korrelerer med hverandre ved de fire første dimensjonene i PCA. Figur 3 illustrerer hvordan de ulike variablene korrelerer med de målte observasjonene med et PCA-Biplot.

Tabell 5 PCA gjort på 18 individer, beskrevet av 21 variabler. Viser korrelasjon-koeffisientene for variablene på de fire PC ekstrahert fra analysen av data fra individer. I radene for hver enkelt variabel viser verdien styrken av variabelen satt opp mot principal komponentene. Når verdien var større enn 0,5, ble de vurdert som viktige og markert i tykk skrift.

PCA resultater for variablene i dyrkningskulturen				
Variabel	PC1	PC2	PC3	PC4
Fettprosent	-0,45	-0,73	0,31	0,25
Vanninnhold	0,52	-0,50	-0,63	0,25
Askeinnhold	0,75	-0,12	-0,31	0,42
Proteininnhold	-0,86	0,47	-0,03	0,05
PUFA	-0,03	-0,59	-0,74	0,09
EPA	-0,76	0,05	-0,22	0,30
DHA	0,64	-0,02	-0,61	-0,33
16:4 n-1	-0,04	-0,63	-0,46	-0,57
Omega-3	-0,61	-0,39	-0,33	0,43
EAA	0,85	-0,25	-0,44	0,03
pH-7dager	-0,89	0,06	-0,04	0,21
Temp-7dager	0,41	0,88	-0,08	0,19
pH-høsting	0,82	-0,12	0,15	-0,52
Temp-høsting	0,63	0,70	0,02	0,28
N3	-0,39	0,63	-0,63	-0,21
N2	-0,51	-0,64	-0,25	-0,26
PO4	-0,62	0,24	-0,67	-0,27
Si	-0,85	0,04	-0,42	-0,22
Lys (Irradiance)	-0,24	0,14	0,70	-0,61
Fluorescens (Chla)	-0,40	0,80	-0,32	-0,10
Vekst	-0,33	-0,67	0,63	0,08
% av varians forklart	36,9	25,0	19,9	9,8



Figur 3 PCA – Biplot: Punktene på grafen representerer observasjonene på principal komponentene. Vektorene representerer koeffisientene til variablene plottet i henhold til pricipal komponentene. Den første komponenten forklarer 36,9% av variasjonen, mens den andre pricipal komponenten forklarer 25% av variasjonen. «Contrib» viser hvor mange % de enkelte variablene bidrar til PCA. Prøvene fra 2019 og 2020 manglet data for vekst, fluorescens, pH- og Temperatur syvdagers snitt. De ble derfor ikke inkludert i denne analysen.

5 Diskusjon

Kiselalger lever og vokser der det er tilgang til nok lys, nitrogen, fosfor og silikat. I løpet av flere årstider vil en algekultur være utsatt for en rekke forskjeller i pH, temperaturer, lys og tilgang til næringsstoffer. Det har blitt funnet at både lys og temperatur påvirker bioaktiviteten hos *P. glacialis*, bioaktiviteten er en indikator for biokjemisk sammensetning (Ingebrigtsen et al., 2015). Målet med oppgaven var å undersøke hvordan sesongmessige variasjoner påvirker den biokjemiske sammensetningen til den marine kiselalgen *P. glacialis*. Spesielt var det interessant å undersøke variasjoner i fettinnhold, særlig med tanke på de langkjedete omega-3 fettsyrene EPA og DHA. Hensikten var å undersøke om *P. glacialis* kan gi god tilgang til verdifulle næringsstoffer som EPA og DHA jevnt i løpet av hele året.

På Finnfjord skjer kultivering og høstingen av *P. glacialis* kontinuerlig. For at Finnfjord skal kunne produsere store mengder kiselalger til bruk i fiskefôr, er det avhengig av å kunne produsere året rundt (Eilertsen et al., 2022). Det er derfor av stor betydning at næringsinnholdet er av høy kvalitet kontinuerlig gjennom året og at det ikke er for store forskjeller i viktige parametere som fett- og proteininnhold.

Det var til tider store forskjeller i den biokjemiske sammensetningen i de forskjellige prøvene. Flere parametere kan påvirke den biokjemiske sammensetningen i kulturen, dette kan være faktorer styrt av vær og sesong, som lys og temperatur. Faktorer inne i kulturen som pH, tilgang til næringsstoffer og CO₂ vil også kunne ha en påvirkning på den biokjemiske sammensetningen (Artamonova et al., 2017b; Chen, 2012; Qiao et al., 2016; Teoh et al., 2013). I tillegg kan lagring over tid påvirke biomassen (Dalheim et al., 2021a). Med så mange parametere som kan påvirke den biokjemiske sammensetningen, er det viktig å kartlegge hva som forårsaker variasjoner i næringsinnholdet. Miljøet inne i kulturen kan i stor grad kontrolleres for å optimalisere produksjonen. Det som er mer avgjørende er at de parametere som ikke kan kontrolleres, som naturlig lys og temperatur, styrt av de sesongmessige variasjoner i været, ikke har en for stor negativ effekt på kulturen slik at det blir ugunstig å opprettholde en kontinuerlig produksjon gjennom en årssyklus.

Det målte vanninnholdet i prøvene varierte fra rundt 82 - 91%, med 87% i gjennomsnitt. Dette gir en betydelig forskjell i tørrstoff fra hver prøve på 9 - 18%. Forskjellen i vanninnhold kan i større grad forklares av faktorer i høstingsprosessen som trommelfilter og sentrifugering. Sentrifugering har særlig en stor påvirkning på vanninnhold som en konsekvens av at intensitet

og tid i sentrifugen kan føre til variasjoner mellom hver høsting (Eilertsen et al., 2022; Suparmaniam et al., 2019). Det mangler data for intensiteten på sentrifugeringen og hvordan dette påvirker vanninnhold og øvrig biokjemisk sammensetning. Dette bør etableres og undersøkes videre. Celletall/L har også en påvirkning på vanninnhold, ved at høye celletall fører til lavere vanninnhold i den høstede biomassen (Tan et al., 2018). Celletallene i prøveuttakene hadde også store forskjeller da de varierte mellom 3 952 212 celle/L til 39 341 260 celler/L.

Askeinnholdet varierte fra 35 – 54% med et snitt på 44%. Svenning et al. (2019), fant et snitt på 54%, mens Giæver (2020) fant et snitt på 44% i askeinnholdet til *P. glacialis*. Diatoméer har generelt store andeler aske i biomassen, det skyldes av at stoffene funnet i asken blir brukt i strukturen til algenes cellevegg (Courtois de Viçose et al., 2012). Aske inneholder mineraler som fosfor, kalsium, magnesium, silisium og flere mikronæringsstoffer som er viktig for fiskens overlevelse (Annamalai et al., 2021). Aske er lite fordøyelig sammenlignet med protein og lipider og det kan derfor være problematisk å inkludere store andeler mikroalger med høyt askeinnhold i fiskefôret (Sørensen et al., 2016; Wang et al., 2021).

5.1 Protein- og aminosyreinnhold

Proteininnholdet i *P. glacialis* er noe mindre undersøkt sammenlignet med fettinnhold. 18 - 34% protein ble funnet med en snittverdi på 27% for prøveuttakene i dette studiet. Eilertsen et al. (2022) fant et proteininnhold på 29% med røyk og 25% uten røyk. Giæver (2020) fant proteininnhold på 29% og et spenn på 19 - 34% for *P. glacialis*. Innholdet av protein funnet i dette studiet samstemmer med normalen i mikroalger. Forventet innhold av protein i mikroalger er mellom 20 – 60% av tørrstoff (Hemaiswarya et al., 2011; Wang et al., 2021).

Faktorene som påvirket proteininnholdet i *P. glacialis*, var pH og veksthastigheten i tankene. Ved høyere pH i bioreaktoren ble det også påvist høyere proteininnhold i prøvene fra kulturen. Det har tidligere blitt funnet en korrelasjon mellom pH og proteininnhold, hvor langvarig eksponering av både høye og for lave pH verdier fører til lavere proteininnhold (Scholz, 2014). pH i algetankene ved Finnfjord blir derimot sjelden utsatt for ekstreme verdier. Ved høye verdier for pH vil det tilsettes CO₂ i tanken for å få ned pH og ved lave verdier vil det bli tilsatt trykkluft for å få opp pH. pH i fotobioreaktoren i Finnfjord skal variere mellom 7,5 til 7,9 (Eilertsen et al., 2022). Den prøven med lavest innhold av protein, var prøven fra august 2021. Ved prøven fra august 2021 var det registrerte snittet for pH over en periode på syv dager 7,2,

utenfor det normale sjiktet og kan derfor antas å være utenfor hva som er optimalt for *P. glacialis* (Scholz, 2014).

Nivået av CO₂ har også en betydning for proteininnholdet i diatoméer (Wu et al., 2015). Prøven fra august 2021 var også den eneste prøvene dyrket uten tilsetning røyk. Innholdet av protein i denne prøven var 18%, 8,5% lavere enn gjennomsnittet for de resterende 11 prøvene dyrket med røyk. Påvirkning av røyk på proteininnholdet til *P. glacialis* har også blitt funnet i tidligere studier av (Eilertsen et al., 2022; Giæver, 2020). CO₂-konsentrasjonen som blir tilført i kulturen har i tillegg en påvirkning på veksten til mikroalgene (Singh & Singh, 2014). Diatoméer har en generell god evne til å fiksure CO₂, men dette kan variere mellom art til art (Lim et al., 2021). Et punkt verdt å undersøke er *P. glacialis* sin evne til å fiksure CO₂ og hvilken konsentrasjon som gir den mest gunstige kombinasjonen av vekst og proteininnhold.

På de prøvene med høyere veksthastighet ble det målt høyere andel protein sammenlignet med prøvene med lavere veksthastighet for *P. glacialis*. Tidligere studier har målt høyere proteininnhold ved den eksponentielle vekstfasen enn ved den stasjonære vekstfasen på artene *Tisochrysis lutea*, *Isochrysis*, *Pavlova lutheri* og *Nannochloropsis oculata* (Brown et al., 1993; da Costa et al., 2017; Wang et al., 2021). Vekstfasen har vist seg å være er en viktigste faktorene som bestemmer proteininnholdet i mikroalgearter generelt (Fidalgo et al., 1998). For *P. glacialis* som hadde et proteininnhold mellom 18 og 34%, kan store deler av variasjonen forklares av vekstfasen. Det kan derfor lønne seg å undersøke hvorvidt man kan samkjøre høstingsprosessen med når kulturen er i den eksponentielle vekstfasen for å optimalisere proteinutbyttet i biomassen.

Variasjon i innhold av protein og essensielle aminosyrer kan antagelig delvis også skyldes feilkilder på lab. Tyrosin og noen ganger metionin, histidin og cystein er sensitive aminosyrer som kan bli nedbrutt under syrehydrolyse hvis det er tilgang til oksygen i prøverørene. I prøvene fra november 2019 ble det ikke påvist histidin, cystein og tyrosin, det ble også påvist store mengder ammoniakk (NH₃). Ammoniakk er et nedbrytningsprodukt fra aminosyrer, det at mengden ammoniakk var så stor i disse prøvene tyder på at en stor del av aminosyrene var nedbrutt (Rutherford & Gilani, 2009).

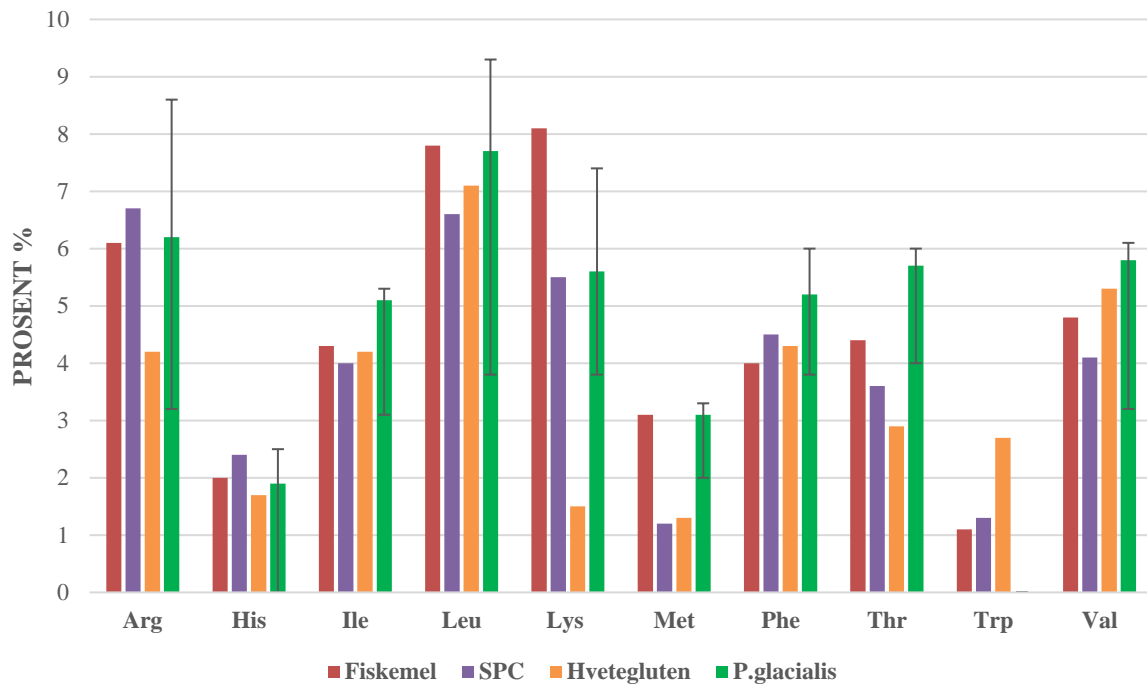
Forskjellige parametere blir brukt for å måle proteinkvalitet, prosent EAA av TAA og kjemisk verdi (CS) noen av de av de viktigste (Nagappan et al., 2021). Andel essensielle aminosyrer varierte mellom 42 – 49% av totale aminosyrene i alle prøveuttakene. CS måler profilen av

essensielle aminosyren opp mot en referanseverdi gitt av FAO (2007). Aminosyreprofilen til *P. glacialis* ga en CS > 1 på alle de essensielle aminosyrene som er en god indikator på at proteinet er av god kvalitet. Unntak var tryptofan for alle prøvene og cystein og histidin fra november 2019 som ble degradert under syrehydrolyse. Mikroalger har også tidligere vist seg å være god kilde til EAA og kan sammenlignes med andre kilder som soyabønner og pelagisk fiskearter (Becker, 2004; Eilertsen et al., 2022)

Protein inkluderes som ca. 1/3 av innholdet i fôret til laks (Andersen et al., 2016). De viktigste proteinkildene i dagens fôr er soyaproteinkonsentrat (SPC), fiskemel, og hvetegluten, det står for henholdsvis 19, 15 og 9% av totalt protein fiskefôr fra 2016 (Gjørund et al., 2020), fiskemel inneholder rundt 60 - 64% protein, soyaprotein rundt 57 - 65% og hvetegluten rundt 80%. Proteininnholdet i *P. glacialis* varierte fra 18 - 34%, en betydelig mindre andel. Dette er dog produkter som i stor grad har blitt prosessert for å inneholde store andeler protein. Dersom proteinet i *P. glacialis* skal egne seg som fiskefôr må kvaliteten være tilstrekkelig, det vil si at mengden EAA og CS må være tilpasset laksens behov.

Figur 4 sammenligner innholdet av essensielle aminosyrer av fiskemel, soyaproteinkonsentrat, hvetegluten og de målte observasjonene i *P. glacialis*. Viktige aminosyrer er spesielt lysin og metionin. Lysin er viktig for vekst og utvikling og har viktige funksjoner i nervesystemet til fisk, dette har blitt en begrenset AA i fiskefôr ettersom fiskemel har blitt erstattet av planteproteinkilder (Gatlin et al., 2007). Metionin er viktig for proteinsyntese, mangel på metionin kan føre til akkumulasjon av fett i leveren til laks (Espe et al., 2010). I *P. glacialis* ble det funnet 3,8 – 7,4 g/100 g lysin. I fiskemel, soyaproteinkonsentrat og hvete var det henholdsvis 6,5, 5,5 og 1,5 g/100 g lysin. Av metionin ble det funnet 2-3,4 g/100 g, dette er ca. det samme som fiskemel med 3,4 g/100 g og høyere enn både soyaproteinkonsentrat og hvetegluten som hadde 1,4 g/100 g metionin. Arginin er en essensiell aminosyre for fisk, på grunn av fisk mangler denne evnen til å produsere arginin endogent. Det er antageligvis siden fisk mangler enzymet pyrroline-5-karboksylate som konverterer glutamat, glutamin og prolin til citurilin som igjen blir konvertert til arginin (Andersen et al., 2016). Innholdet av arginin hadde høy variasjon fra 3,2 - 8,6 g/100 g som ble funnet i prøvene av *P. glacialis*. I fiskemel, soyaproteinkonsentrat, og hvete har det blitt funnet henholdsvis 6,4, 8,0 og 4,2 g/100 g.

Essensielle aminosyrer i vanlige fôringredienser



Figur 4 Andel essensielle aminosyrer av total mengde aminosyrer for fiskemel, soyaproteinkonsentrat (SPC) og hvetegluten sammenlignet med gjennomsnittlig innhold i *P. glacialis* (Min-Max). Data hentet fra Mohsen et al. (2009) og Gjøsund et al. (2020)

5.2 Fettinnhold og fettsyresammensetning

Med et samlet gjennomsnitt på 10,3% fett og et spenn på 8,9 – 12,3% for alle prøveuttakene samsvarer funnene i denne oppgaven med tidligere funn. Artamonova et al. (2017a) fant en lignende fettprosent på 10,6% uten røyk og 8,9% med røyk for *P. glacialis*. Eilertsen et al. (2022) fant derimot et lavere fettinnhold på 9,9% på prøvene dyrket med røyk og 10,3% for prøvene dyrket uten røyk. Prøven fra august 2021 som var den eneste prøven dyrket uten røyk, hadde et fettinnhold på 9,5% sammenlignet med 10,3% for prøvene dyrket med røyk. I likhet med Eilertsen et al. (2022), ble det heller ikke i dette studiet funnet noe signifikant påvirkning på fettinnhold ved tilsetting av CO₂. Tidligere funn har vist at tilsetting av CO₂ i kulturen kan føre til økt fettinnhold (Artamonova et al., 2017b; Widjaja et al., 2009). Eilertsen et al. (2022) argumenterer for at forskjeller fra andres resultater kan forklares i fysiologiske forskjeller mellom ulike arter. I tillegg til at Artamonova et al. (2017b) brukte ren CO₂, mens for både Eilertsen et al. (2022) og dette studiet brukte urensset fabrikkrøyk i kulturen.

Tidligere studier viser at diatoméer responderer ved variasjoner i temperatur ved å regulere innholdet av fett og flerumettede fettsyrer slik at andel fett og PUFA øker ved lavere

temperaturer (Dodson et al., 2013; Teoh et al., 2013). Resultater fra Svenning et al. (2019) viste også at det er en negativ korrelasjon mellom fett og temperatur i *P. glacialis*. Tukey's HSD-testen viste at de fleste prøvene i dette forsøket hadde likt fettinnhold med unntak av spesielt prøveuttaket fra mars 2021 som viste seg å være en uteligger fra resten av observasjonene. Dette kan delvis forklares ved at temperaturnivået syv dager før høsting var 3,2°C, langt lavere enn for de resterende prøvene, fettinnholdet var da 12,3%. Dette resultatet samsvarer med resultatene fra Svenning et al. (2019) hvor det ble funnet en fettprosent på 12,3% ved temperatur på 4°C ved høsting. Til tross for denne likheten, ble det ikke funnet noe signifikant påvirkning av temperaturnivået syv dager før høsting på fettinnholdet i prøvene fra 2021. Det kan antas at spennet i temperatur fra 3 - 12°C var for lite til å påvirke fettinnholdet i *P. glacialis*.

Næringsbegrensende forhold av nitrogen, fosfor og silikat kan begrense vekst og føre til akkumulasjon av lipider (Hoffmann et al., 2010). I prøvene fra dette forsøket førte ikke variasjon i noen av næringssaltene til noe påvirkning på fettinnhold ($P > 0,05$). Ved næringsfattige forhold vil mikroalger vanligvis akkumulere fett (Fields & Kociolek, 2015). En av grunnene til at det ikke ble påvist noe statistisk signifikant påvirkning fra næringsstoffene på fettinnholdet kan forklares ved at næringssaltmålingene ble gjort bare tre ganger i uken, noe som kan bety at observasjonene ikke ga et korrekt estimat av det faktiske ukentlige snittet for næringsalter. Videre kan dette være et evolusjonært trekk for hver art og stamme, noe som i næringsfattige kulturer ikke vil føre til akkumulasjon av lipider hos visse arter (Fields & Kociolek, 2015). Dette kan være et punkt verdt å undersøke videre om dette appellerer til *P. glacialis*. I fotobioreaktoren ved Finnfjord blir kontinuerlig tilsatt næringsstoffer i kulturen for å sikre god vekst. Kulturen skal dermed ikke bli utsatt for et næringsfattig miljø, det kan forklare hvorfor næringsstoffene ikke påvirket den biokjemiske sammensetningen til *P. glacialis* i prøvene fra dette studiet.

Vekstfasen i algekulturen var det eneste parametere som viste seg å ha en statistisk påvirkning på fettinnholdet ($P < 0,05$). Ved høyere veksthastighet var det større andel fettinnhold enn det var ved lavere vekst. Wahidin et al. (2013) fant også at høyere veksthastighet korrelerte med høyt lipidinnhold. Variasjonen i fettinnholdet funnet i dette studiet var imidlertid liten, bare 3,4%. Det kan dermed antas at ved alle forskjellige faktorene algekulturen på Finnfjord blir utsatt for gjennom et år, så vil det fortsatt bli produsert forutsigbare mengder fett fra den høstede kulturen. Når det er sagt, burde det fortsatt legges til rette for å få et maksimalt utbytte av fett

fra høstingsprosessen, ved å sikre at det er nok tilgang til CO₂, næringsstoffer og lys for å sikre god vekst. Dette er også faktorer som i stor grad kan kontrolleres i kulturen.

Av fettinnholdet var ca. 69 – 80% flerumettede fettsyrer, snittet for alle prøvene var 75%. Tidligere publiseringer har funnet et PUFA innhold på 77 og 80% i *P. glacialis* (Dalheim et al., 2021b; Svenning et al., 2020). Høyt innhold av PUFA er vanlig i kaldtvannstilpassede diatoméer, blant annet for å bevare fluiditet i cellemembranen ved lavere temperaturer (Dodson et al., 2013; Menard et al., 2017). Dette kan bidra til å forklare at det ble funnet høyere andel PUFA ved lavere temperaturer i prøvene fra dette studiet og ($P < 0,05$). Også høyere lysintensitet førte til økt andel PUFA, tidligere studier fra Chen (2012) bekrefter videre at kan være en korrelasjon mellom økt lysintensitet og andel PUFA for noen arter. Variasjonen i PUFA fra dette studiet var derimot på bare 11%, så selv på prøvene med lavest innhold av PUFA, er det fortsatt høyt sammenlignet med andre kilder til fett. Gjennom lengre tid vil lipider i biomassen bli degradert gjennom oksidasjon og lipolyse som vil bryte ned PUFA til frie fettsyrer (Dalheim et al., 2021a). Til tross for dette ble det ikke påvist noe forskjell i PUFA fra prøvene fra 2019, 2020 og 2021 i dette studiet. EPA-innholdet derimot viste antydning til degradering, innholdet var lavere i 2019 og 2020 sammenlignet med i 2021. Vekstfasen hadde også en påvirkning, ved høyere vekst ble det registrert lavere andel PUFA. Ved mindre optimale vekstforhold vil mikroalger kunne bli stresset og da akkumulere fettsyrer (Guihéneuf et al., 2008).

16:4 n-1 var etter EPA, den flerumettede fettsyren det var mest av, med et spenn på 15 – 30% og et gjennomsnitt på 22,5%. Dette er litt mindre enn det som har blitt funnet tidligere av Dalheim et al. (2021b) og Svenning et al. (2020). Denne fettsyren er viktig for algens anti-grazer forsvar mot zooplankton i sitt naturlige miljø og er derfor en av grunnene til at man finner store andeler av denne fettsyren i diatoméer og ikke i så mange andre organismer (Gardner et al., 2012; Pohnert, 2005).

Omega-3 innholdet var jevnt høyt i alle prøvene av *P. glacialis* fra 37 – 48%. Funnene i dette studiet samsvarer Eilertsen et al. (2022) sine funn som fant et omega-3 innhold på 46% med røyk og 42% uten røyk. Alle prøver inneholdt store andeler EPA, ca. 32% i snitt og lave andeler DHA, rundt 3,9% i snitt. Store andeler EPA og lavere andeler DHA er vanlig i diatoméer, spesielt for *P. glacialis* er det en høy andel EPA sammenlignet med andre kiselalger (Chen,

2012; Sayanova et al., 2017). EPA som varierte fra 28 - 36% stemmer overens med verdier funnet fra tidligere studier (Artamonova et al., 2017a; Svenning et al., 2019).

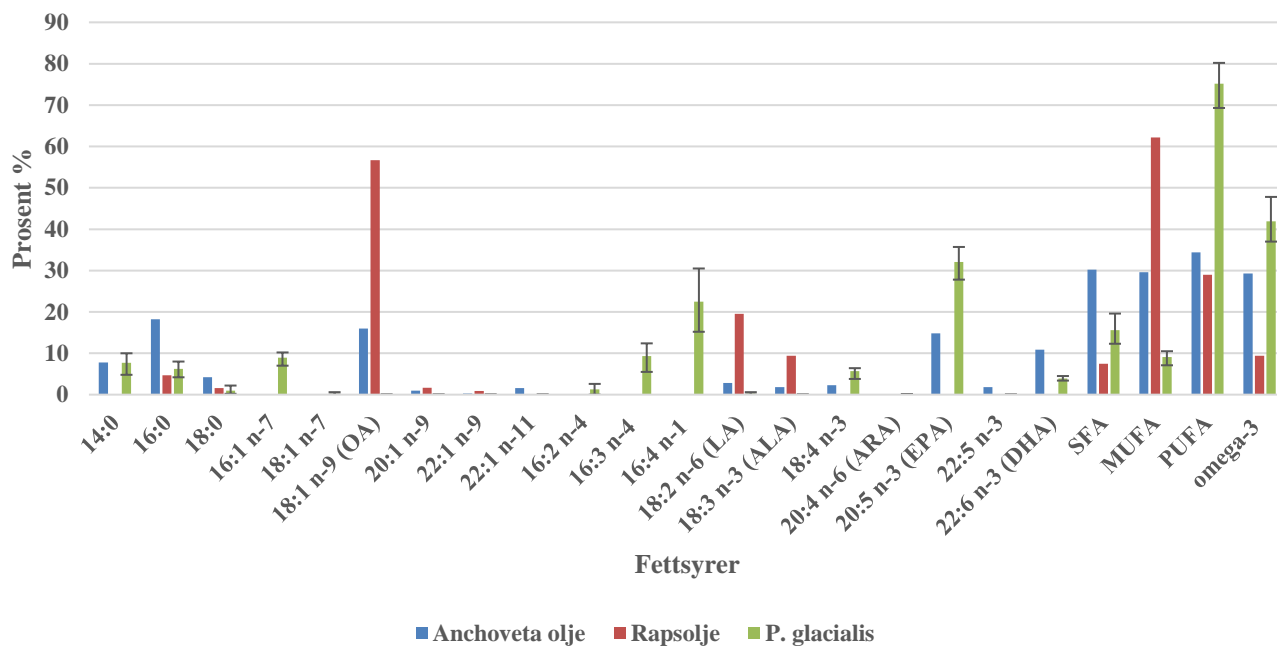
Innholdet av EPA ($P > 0,05$) ble ikke påvirket av temperaturen eller noen av de andre faktorene i tanken. Svenning et al. (2019) fant høyere EPA-innhold i kulturen dyrket på -2°C sammenlignet med kulturen dyrket på 2, 4, 8 og 12°C , som hadde et EPA-innhold mellom 31-34%. EPA-fettsyrene har en rekke viktige funksjoner i cellene og under vekst, derfor er det essensielt å ha større mengde tilgjengelig uavhengige av temperatur (Boelen et al., 2013; Calder, 2013). Dette kan forklare hvorfor det ikke ble funnet noe signifikant forskjell i EPA-innholdet i kulturene høstet fra 3 - 12°C .

Det ble funnet større mengde 16:4 n-1 og 18:4 n-3 ved lavere temperaturer som kan tyde på at de har en funksjon for å opprettholde fluiditet i cellemembraner. EPA-nivået holdt seg høyt gjennom alle prøvene. Det er en viktig forutsetning at algebiomassen har et høyt nivå av LC-PUFA n-3 gjennom hele året. Dette er den største mangelvaren i laksefôr i dag og derfor en av de mest attraktive komponentene av algebiomassen (Shah et al., 2018).

Tidligere studier har vist at det optimale nivået EPA + DHA i fôr er langt høyere enn det som inkluderes i dagens fôr, ved å inkludere EPA + DHA som 3,5% av fôret hadde laksen økt vekst, bedre velferd og filetkvalitet (Lutfi Royo et al., 2022). Fremover er det ikke bare et behov for å erstatte det nåværende nivået av omega-3 i laksefôret. Med et økt fokus på dyrevelferd, bærekraft og helse kan det også bli et behov for å øke andel EPA + DHA i fôret for å sikre bedre overlevelse hos laksen og et sunnere produkt til konsumentene. Dermed er gode kilder til EPA + DHA som *P. glacialis* helt essensielle for videre utvikling av laksefôr.

Figur 4 viser en sammenligning av fettsyresammensetningen i fiskeolje og i rapsolje som er de mest brukte kildene i til olje i oppdrettsfôr med fettsyresammensetningen til *P. glacialis*. Observasjonene fra dette studiet fant at fett fra *P. glacialis* inneholdt mellom 31 - 40% EPA + DHA. Kildene til LC-PUFA n-3 kommer i dag hovedsakelig fra fiskeolje som inneholder 18 - 27% EPA + DHA av totale fettsyrer (Gjøsund et al., 2020). I snitt er det nesten dobbelt så mye PUFA i *P. glacialis* som i fiskeolje og rapsolje. I tillegg er det tilnærmet ingen tilstedeværelse av omega-6 fettsyrer i *P. glacialis*, 0,3% LA, sammenlignet med 19,5% som finnes i rapsolje. *P. glacialis* vil bidra meget til en bedre n-6/n-3 ratio, noe som både gagnar fiskehelse og helsen til konsumenten av fisken (Simopoulos, 2002; Sissener, 2018).

Fettsyresammensetning i vanlige fôringredienser



Figur 5 Sammenligning av fettsyresammensetningen til fiskeolje og rapsolje sammenlignet med gjennomsnittlig innhold i *P. glacialis* i tillegg til minimum og maksimum verdi. Data hentet fra Sissener (2018)

6 Konklusjon

Ved å studere tolv ulike prøveuttak av kiselalgen *Porosira glacialis* gjennom en årssyklus kunne variasjoner i den biokjemiske sammensetningen fastslås. Naturlige variasjoner i lys og temperatur hadde til en viss grad påvirkning på fettinnhold og PUFA. Forhold påvirket av faktorer i tanken som pH, vekst og lys påvirket også til en viss grad en påvirkning på protein, EAA, fett og PUFA. Til tross for variasjoner i den biokjemiske sammensetningen var *P. glacialis* uansett en god kilde til fett, protein og spesielt omega-3 gjennom en hel årssyklus. Videre forskning burde undersøke hvordan forholdene inne i kulturen kan påvirkes for å optimalisere den biokjemiske sammensetningen i *P. glacialis* slik at innholdet av næringsstoffene kan maksimeres.

7 Referanseliste

- Andersen, S. M., Waagbø, R. & Espe, M. (2016). Functional amino acids in fish health and welfare. *Frontiers in Bioscience*, 8, 143-169.
- Annamalai, S. N., Das, P., Thaher, M. I. A., Abdul Quadir, M., Khan, S., Mahata, C. & Al Jabri, H. (2021). Nutrients and Energy Digestibility of Microalgal Biomass for Fish Feed Applications. *Sustainability (Basel, Switzerland)*, 13(23), 13211.
- Armbrust, E. V. (2009). The life of diatoms in the world's oceans. *Nature*, 459(7244), 185-192.
- Artamonova, E. Y., Svenning, J. B., Vasskog, T., Hansen, E. & Eilertsen, H. C. (2017a). Analysis of phospholipids and neutral lipids in three common northern cold water diatoms: *Coscinodiscus concinnus*, *Porosira glacialis*, and *Chaetoceros socialis*, by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of applied phycology*, 29(3), 1241-1249.
- Artamonova, E. Y., Vasskog, T. & Eilertsen, H. C. (2017b). Lipid content and fatty acid composition of *Porosira glacialis* and *Attheya longicornis* in response to carbon dioxide (CO₂) aeration. *PLoS One*, 12(5), e0177703-e0177703.
- Becker, W. (2004). 18 microalgae in human and animal nutrition. I *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology* (bd. 312): Wiley Online Library Hoboken, NJ, USA.
- Bell, J. G., Henderson, R. J., Tocher, D. R. & Sargent, J. R. (2004). Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: Modification of flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. *Lipids*, 39(3), 223-232.
- Berge, G. M., Ytteborg, E., Østbye, T.-K. K., Sundh, H., Rud, I., Sveen, L., Ruyter, B. (2019). *Ernæringens betydning for skinn-, tarm-, og gjellehelse hos laks*: Nofima AS.
- Boelen, P., van Dijk, R., Sinninghe Damsté, J. S., Rijpstra, W. I. C. & Buma, A. G. (2013). On the potential application of polar and temperate marine microalgae for EPA and DHA production. *AMB Express*, 3(1), 1-9.
- Boyd, C. E., McNevin, A. A. & Davis, R. P. (2022). The contribution of fisheries and aquaculture to the global protein supply. *Food Secur*, 1-23.
- Brown, M. R., Garland, C. D., Jeffrey, S. W., Jameson, I. D. & Leroi, J. M. (1993). The gross and amino acid compositions of batch and semi-continuous cultures of *Isochrysis* sp. (clone T.ISO), *Pavlova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*. *Journal of applied phycology*, 5(3), 285-296.
- Calder, P. C. (2013). Omega - 3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? *British journal of clinical pharmacology*, 75(3), 645-662.
- Castro-Gutiérrez, J., Cabrera-Castro, R., Czerwinski, I. A. & Báez, J. C. (2021). Effect of climatic oscillations on small pelagic fisheries and its economic profit in the Gulf of Cadiz. *Int J Biometeorol*, 66(3), 613-626.
- Chen, Y.-C. (2012). The biomass and total lipid content and composition of twelve species of marine diatoms cultured under various environments. *Food chemistry*, 131(1), 211-219.
- Chew, K. W., Yap, J. Y., Show, P. L., Suan, N. H., Juan, J. C., Ling, T. C., Chang, J.-S. (2017). Microalgae biorefinery: High value products perspectives. *Bioresour Technol*, 229, 53-62.
- Costello, C., Cao, L., Gelcich, S., Cisneros-Mata, M. Á., Free, C. M., Froehlich, H. E., Macadam-Somer, I. (2020). The future of food from the sea. *Nature*, 588(7836), 95-100.

- Council, N. R. (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*: National academies press.
- Courtois de Viçose, G., Porta, A., Viera, M., Fernández-Palacios, H. & Izquierdo, M. (2012). Effects of density on growth rates of four benthic diatoms and variations in biochemical composition associated with growth phase. *Journal of Applied Phycology*, 24(6), 1427-1437.
- Cury, P., Bakun, A., Crawford, R. J., Jarre, A., Quinones, R. A., Shannon, L. J. & Verheye, H. M. (2000). Small pelagics in upwelling systems: patterns of interaction and structural changes in “wasp-waist” ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57(3), 603-618.
- da Costa, F., Le Grand, F., Quéré, C., Bougaran, G., Cadoret, J. P., Robert, R. & Soudant, P. (2017). Effects of growth phase and nitrogen limitation on biochemical composition of two strains of *Tisochrysis lutea*. *Algal research (Amsterdam)*, 27, 177-189.
- Dalheim, L. (2021). *Porosira glacialis as a possible source of lipids for human consumption and aquaculture feed*. UiT The Arctic University of Norway.
- Dalheim, L., Svenning, J. B., Eilertsen, H. C., Vasskog, T. & Olsen, R. L. (2021a). Stability of lipids during wet storage of the marine diatom *Porosira glacialis* under semi-preserved conditions at 4 and 20° C. *Journal of Applied Phycology*, 33(1), 385-395.
- Dalheim, L., Svenning, J. B. & Olsen, R. L. (2021b). In vitro intestinal digestion of lipids from the marine diatom *Porosira glacialis* compared to commercial LC n-3 PUFA products. *Plos one*, 16(6), e0252125.
- Daneshvar, E., Wicker, R. J., Show, P.-L. & Bhatnagar, A. (2022). Biologically-mediated carbon capture and utilization by microalgae towards sustainable CO₂ biofixation and biomass valorization – A review. *Chemical engineering journal (Lausanne, Switzerland : 1996)*, 427, 130884.
- de Baar, H. J. W. (1994). von Liebig's Law of the Minimum and plankton ecology (1899-1991). *Progress in oceanography*, 33(4), 347-386.
- Degerlund, M. & Eilertsen, H. C. (2010). Main Species Characteristics of Phytoplankton Spring Blooms in NE Atlantic and Arctic Waters (68-80° N). *Estuaries and coasts*, 33(2), 242-269.
- Dennis, E. A. & Norris, P. C. (2015). Eicosanoid storm in infection and inflammation (vol 15, pg 511, 2015).
- Deutsch, L., Gräslund, S., Folke, C., Troell, M., Huitric, M., Kautsky, N. & Lebel, L. (2007). Feeding aquaculture growth through globalization: Exploitation of marine ecosystems for fishmeal. *Global environmental change*, 17(2), 238-249.
- Dodson, V. J., Mouget, J.-L., Dahmen, J. L. & Leblond, J. D. (2013). The long and short of it: temperature-dependent modifications of fatty acid chain length and unsaturation in the galactolipid profiles of the diatoms *Haslea ostrearia* and *Phaeodactylum tricorutum*. *Hydrobiologia*, 727(1), 95-107.
- Eilertsen, H. C., Elvevoll, E., Giæver, I. H., Svenning, J. B., Dalheim, L., Svalheim, R. A., Ingebrigtsen, R. A. (2021). Inclusion of photoautotrophic cultivated diatom biomass in salmon feed can deter lice. *PloS one*, 16(7), e0255370.
- Eilertsen, H. C., Eriksen, G. K., Bergum, J.-S., Strømholth, J., Elvevoll, E., Eilertsen, K.-E., Svenning, J. B. (2022). Mass Cultivation of Microalgae: I. Experiences with Vertical Column Airlift Photobioreactors, Diatoms and CO₂ Sequestration. *Applied Sciences*, 12(6), 3082.
- Espe, M., Lemme, A., Petri, A. & El-Mowafi, A. (2006). Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fish meal? *Aquaculture*, 255(1-4), 255-262.
- Espe, M., Rathore, R. M., Du, Z.-Y., Liaset, B. & El-Mowafi, A. (2010). Methionine limitation results in increased hepatic FAS activity, higher liver 18:1 to 18:0 fatty acid ratio and

- hepatic TAG accumulation in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Amino Acids*, 39(2), 449-460.
- Falkowski, P. G., Katz, M. E., Milligan, A. J., Fennel, K., Cramer, B. S., Aubry, M. P., Zapol, W. M. (2005). The Rise of Oxygen over the past 205 Million Years and the Evolution of Large Placental Mammals. *Science*, 309(5744), 2202-2204.
- FAO. (2007). *Protein and amino acid requirements in human nutrition* (bd. 935): World Health Organization.
- FAO. (2020). *2020: THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE SUSTAINABILITY IN ACTION* (The state of world fisheries and aquaculture 1020-5489). Rome: Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fidalgo, J. P., Cid, A., Torres, E., Sukenik, A. & Herrero, C. (1998). Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*. *Aquaculture*, 166(1), 105-116.
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T. & Falkowski, P. (1998). Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *science*, 281(5374), 237-240.
- Fields, F. J. & Kocielek, J. P. (2015). An evolutionary perspective on selecting high-lipid-content diatoms (Bacillariophyta). *Journal of applied phycology*, 27(6), 2209-2220.
- Folch, J., Lees, M. & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*, 226(1), 497-509.
- Fréon, P., Sueiro, J. C., Iriarte, F., Miro Evar, O. F., Landa, Y., Mittaine, J.-F. & Bouchon, M. (2013). Harvesting for food versus feed: a review of Peruvian fisheries in a global context. *Reviews in fish biology and fisheries*, 24(1), 381-398.
- Gardner, R. D., Cooksey, K. E., Mus, F., Macur, R., Moll, K., Eustance, E., Peyton, B. M. (2012). Use of sodium bicarbonate to stimulate triacylglycerol accumulation in the chlorophyte *Scenedesmus* sp. and the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Journal of applied phycology*, 24(5), 1311-1320.
- Gatlin, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W., Wurtele, E. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38(6), 551-579.
- Giæver, I. H. (2020). *Diatom Protein and Amino Acids: A mass cultivated northern diatom and its potential for utilization as protein source in fish feed* (Masters). University of Tromsø, Tromsø
- Gjøsund, S. H., Skjermo, J., Forbord, S., Jafarzadeh, S., Sletta, H., Aasen, I. M., Evjemo, J. O. (2020). Bærekraftig fôr til norsk laks.
- Guihéneuf, F., Mimouni, V., Ulmann, L. & Tremblin, G. (2008). Environmental factors affecting growth and omega 3 fatty acid composition in *Skeletonema costatum*. The influences of irradiance and carbon source: Communication presented at the 25ème Congrès Annuel de l'Association des Diatomistes de Langue Française (ADLaF), Caen, 25-28 September 2006. *Diatom Research*, 23(1), 93-103.
- Guiry, M. D. (2012). HOW MANY SPECIES OF ALGAE ARE THERE? *J. Phycol*, 48(5), 1057-1063.
- Hardy, R. W. & Kaushik, S. J. (2021). *Fish nutrition*: Academic Press.
- Hastings, N. N., Agaba, M. M., Tocher, D. R. D. R., Leaver, M. J. M. J., Dick, J. R. J. R., Sargent, J. R. J. R. & Teale, A. J. A. J. (2001). A Vertebrate Fatty Acid Desaturase with $\Delta 5$ and $\Delta 6$ Activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS*, 98(25), 14304-14309.

- Hein, M. & Sand-Jensen, K. (1997). CO₂ increases oceanic primary production. *Nature (London)*, 388(6642), 526-527.
- Hemaiswarya, S., Hemaiswarya, S., Raja, R., Raja, R., Ravi Kumar, R., Ravi Kumar, R., Anbazhagan, C. (2011). Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World journal of microbiology & biotechnology*, 27(8), 1737-1746.
- Hoffmann, M., Marxen, K., Schulz, R. & Vanselow, K. H. (2010). TFA and EPA productivities of *Nannochloropsis salina* influenced by temperature and nitrate stimuli in turbidostatic controlled experiments. *Marine drugs*, 8(9), 2526-2545.
- Hu, H. & Gao, K. (2003). Optimization of growth and fatty acid composition of a unicellular marine picoplankton, *Nannochloropsis* sp., with enriched carbon sources. *Biotechnol Lett*, 25(5), 421-425.
- Hu, H. & Gao, K. (2006). Response of Growth and Fatty Acid Compositions of *Nannochloropsis* sp. to Environmental Factors Under Elevated CO₂ Concentration. *Biotechnol Lett*, 28(13), 987-992.
- Huntington, T. & Hasan, M. R. (2009). Fish as feed inputs for aquaculture—practices, sustainability and implications: a global synthesis. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, 518, 1-61.
- Huyben, D., Grobler, T., Matthew, C., Bou, M., Ruyter, B. & Glencross, B. (2021). Requirement for omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids by Atlantic salmon is relative to the dietary lipid level. *Aquaculture*, 531, 735805.
- Ingebrigtsen, R. A., Hansen, E., Andersen, J. H. & Eilertsen, H. C. (2015). Light and temperature effects on bioactivity in diatoms. *J Appl Phycol*, 28(2), 939-950.
- Jannathulla, R., Rajaram, V., Kalanjiam, R., Ambasankar, K., Muralidhar, M. & Dayal, J. S. (2019). Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources. *Aquaculture research*, 50(12), 3493-3506.
- Jensen, Eilertsen, Otnaes, Maehre & Elvevoll. (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*, 9(12), 1901.
- Jiang, H. & Gao, K. (2004). Effects of lowering temperature during culture on the production of polyunsaturated fatty acids in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* (bacillariophyceae) 1. *Journal of Phycology*, 40(4), 651-654.
- Kassambara, A. & Mundt, F. (2017). Package ‘factoextra’. *Extract and visualize the results of multivariate data analyses*, 76.
- Khan, M. I., Shin, J. H. & Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial cell factories*, 17(1), 1-21.
- Kiron, V., Phromkunthong, W., Huntley, M., Archibald, I. & De Scheemaker, G. (2012). Marine microalgae from biorefinery as a potential feed protein source for Atlantic salmon, common carp and whiteleg shrimp. *Aquaculture Nutrition*, 18(5), 521-531.
- Lands, B. (2014). Historical perspectives on the impact of n-3 and n-6 nutrients on health. *Prog Lipid Res*, 55, 17-29.
- Lehodey, P., Alheit, J., Barange, M., Baumgartner, T., Beaugrand, G., Drinkwater, K., Werner, F. (2006). Climate Variability, Fish, and Fisheries. *Journal of climate*, 19(20), 5009-5030.
- Lim, Y. A., Chong, M. N., Foo, S. C. & Ilankoon, I. M. S. K. (2021). Analysis of direct and indirect quantification methods of CO₂ fixation via microalgae cultivation in photobioreactors: A critical review. *Renewable & sustainable energy reviews*, 137.

- Lundebye, A.-K., Lock, E.-J., Rasinger, J. D., Nøstbakken, O. J., Hannisdal, R., Karlsbakk, E., Ørnsrud, R. (2017). Lower levels of Persistent Organic Pollutants, metals and the marine omega 3-fatty acid DHA in farmed compared to wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Environ Res*, 155, 49-59.
- Lutfi Royo, E., Berge, G. M., Bæverfjord, G., Sigholt, T., Bou, M., Larsson, T., Rosenlund, G. (2022). Increasing dietary levels of the omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids, EPA and DHA, improves the growth, welfare, robustness, and fillet quality of Atlantic salmon in sea cages.
- Makarevich, P. R., Vodopianova, V. V. & Bulavina, A. S. (2022). Dynamics of the Spatial Chlorophyll-A Distribution at the Polar Front in the Marginal Ice Zone of the Barents Sea during Spring. *Water*, 14(1), 101.
- Maltsev, Y. & Maltseva, K. (2021). Fatty acids of microalgae: diversity and applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 1-33.
- Mann, D. G. & Vanormelingen, P. (2013). An inordinate fondness? The number, distributions, and origins of diatom species. *Journal of eukaryotic microbiology*, 60(4), 414-420.
- Medlin, L. K., Williams, D. M. & Sims, P. A. (1993). The evolution of the diatoms (Bacillariophyta). I. Origin of the group and assessment of the monophyly of its major divisions. *European journal of phycology*, 28(4), 261-275.
- Menard, G. N., Moreno, J. M., Bryant, F. M., Munoz-Azcarate, O., Kelly, A. A., Hassani-Pak, K., Eastmond, P. J. (2017). Genome wide analysis of fatty acid desaturation and its response to temperature. *Plant Physiology*, 173(3), 1594-1605.
- Mohsen, S. M., Fadel, H. H. M., Bekhit, M. A., Edris, A. E. & Ahmed, M. Y. S. (2009). Effect of substitution of soy protein isolate on aroma volatiles, chemical composition and sensory quality of wheat cookies. *International journal of food science & technology*, 44(9), 1705-1712.
- Morel, F. M. M. & Price, N. M. (2003). The Biogeochemical Cycles of Trace Metals in the Oceans. *Science*, 300(5621), 944-947.
- Mortensen, S. H., Børsheim, K. Y., Rainuzzo, J. & Knutsen, G. (1988). Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schütt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 122(2), 173-185.
- Nagappan, S., Das, P., AbdulQuadir, M., Thaher, M., Khan, S., Mahata, C., Kumar, G. (2021). Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture. *Journal of biotechnology*, 341, 1-20.
- Naylor & Burke, M. (2005). Aquaculture and ocean resources : Raising tigers of the sea. *Annual review of environment and resources*, 30(1), 185-218.
- Naylor, Hardy, R. W., Bureau, D. P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A. P., Nichols, P. D. (2009). Feeding Aquaculture in an Era of Finite Resources. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(36), 15103-15110.
- Nelson, D. M., Tréguer, P., Brzezinski, M. A., Leynaert, A. & Quéguiner, B. (1995). Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global Biogeochem. Cycles*, 9(3), 359-372.
- Pabi, S., van Dijken, G. L. & Arrigo, K. R. (2008). Primary production in the Arctic Ocean, 1998–2006. *J. Geophys. Res*, 113(C8), C08005-n/a.
- Pires, J. C. M., Alvim-Ferraz, M. C. M., Martins, F. G. & Simões, M. (2012). Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. *Renewable & sustainable energy reviews*, 16(5), 3043-3053.

- Pohnert, G. (2005). Diatom/copepod interactions in plankton: the indirect chemical defense of unicellular algae. *ChemBioChem*, 6(6), 946-959.
- Qiao, H., Cong, C., Sun, C., Li, B., Wang, J. & Zhang, L. (2016). Effect of culture conditions on growth, fatty acid composition and DHA/EPA ratio of *Phaeodactylum tricornutum*. *Aquaculture*, 452, 311-317.
- Remize, M., Brunel, Y., Silva, J. L., Berthon, J.-Y. & Filaire, E. (2021). Microalgae n-3 PUFAs Production and Use in Food and Feed Industries. *Marine Drugs*, 19(2), 113.
- Rutherford, S. M. & Gilani, G. S. (2009). Amino acid analysis. *Current protocols in protein science*, 58(1), 11.19. 11-11.19. 37.
- Ruyter, B., Kousoulaki, K., Krasnov, A., Sissener, N., Simon, C., Mørkøre, T., Berge, G. M. (2019). *Nye omega-3-kilder i fôr til laks*: Nofima AS.
- Ruyter, B., Sissener, N., Lutfi Royo, E., Hundal, B. K., Berge, G. M., Glencross, B., Bæverfjord, G. (2021). Optimalisering av fett og fettsyrer i fôr til atlantisk laks for bedre helse og velferd gjennom ulike livsfaser og utfordrende miljøbetingelser. *Nofima rapportserie*.
- Sayanova, O., Mimouni, V., Ulmann, L., Morant-Manceau, A., Pasquet, V., Schoefs, B. & Napier, J. A. (2017). Modulation of lipid biosynthesis by stress in diatoms. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 372(1728), 20160407.
- Schmitz, G. & Ecker, J. (2008). The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Prog Lipid Res*, 47(2), 147-155.
- Scholz, B. (2014). Effects of varying pH on the growth and physiology of five marine microphytobenthic diatoms isolated from the Solthörn tidal flat (southern North Sea, Germany). *Phycologia (Oxford)*, 53(3), 252-264.
- Seckbach, J. & Kocielek, P. (2011). *The Diatom World* (1st ed. 2011. utg.) Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology, bd. 19.
- Selvam, C., Philip, A. J. P., Lutfi, E., Sigholt, T., Norberg, B., Bæverfjord, G., Sissener, N. H. (2022). Long-term feeding of Atlantic salmon with varying levels of dietary EPA+DHA alters the mineral status but does not affect the stress responses after mechanical delousing stress. *British Journal of Nutrition*, 1-17.
- Shah, M. R., Lutz, G. A., Alam, A., Sarker, P., Chowdhury, M. K., Parsaeimehr, A., Daroch, M. (2018). Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *Journal of applied phycology*, 30(1), 197-213.
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(8), 365-379.
- Simopoulos, A. P. (2009). Evolutionary aspects of the dietary omega-6: omega-3 fatty acid ratio: medical implications. *A balanced omega-6/omega-3 fatty acid ratio, cholesterol and coronary heart disease*, 100, 1-21.
- Sims, P. A., Mann, D. G. & Medlin, L. K. (2006). Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data. *Phycologia (Oxford)*, 45(4), 361-402.
- Sinclair, A. J. (2019). Docosahexaenoic acid and the brain- what is its role? *Asia Pac J Clin Nutr*, 28(4), 675-688.
- Singh, S. P. & Singh, P. (2014). Effect of CO₂ concentration on algal growth: A review. *Renewable & sustainable energy reviews*, 38, 172-179.
- Sissener. (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*, 221(Pt Suppl 1), jeb161521.
- Sissener, Ruyter, Torstensen, Østbye, Waagbø, & Jørgensen, H., Liland, Ytteborg. (2016). *Oppdatering av utredningen: Effekter av endret fettsyresammensetning i fôr til laks relatert til fiskens helse, velferd og robusthet* ("Fett for fiskehelse - 2016).

- Sprague, M., Dick, J. R. & Tocher, D. R. (2016). Impact of sustainable feeds on omega-3 long-chain fatty acid levels in farmed Atlantic salmon, 2006–2015. *Scientific reports*, 6(1), 1-9.
- Stoffel, W., Chu, F. & Ahrens, E. H. (1959). Analysis of Long-Chain Fatty Acids by Gas-Liquid Chromatography. *Anal. Chem*, 31(2), 307-308.
- Suparmaniam, U., Lam, M. K., Uemura, Y., Lim, J. W., Lee, K. T. & Shuit, S. H. (2019). Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: A review. *Renewable & sustainable energy reviews*, 115, 109361.
- 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, 11-16.
- 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(1), 1-10.
- Sørensen, M., Berge, G. M., Reitan, K. I. & Ruyter, B. (2016). Microalga *Phaeodactylum tricorutum* in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar*) —Effect on nutrient digestibility, growth and utilization of feed. *Aquaculture*, 460, 116-123.
- Tacon, A. G. J. & Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285(1), 146-158.
- Tan, X. B., Lam, M. K., Uemura, Y., Lim, J. W., Wong, C. Y. & Lee, K. T. (2018). Cultivation of microalgae for biodiesel production: A review on upstream and downstream processing. *Chinese journal of chemical engineering*, 26(1), 17-30.
- Teoh, M.-L., Phang, S.-M. & Chu, W.-L. (2013). Response of Antarctic, temperate, and tropical microalgae to temperature stress. *Journal of Applied Phycology*, 25(1), 285-297.
- Thronsen, J., Tangen, K. & Hasle, G. R. (2003). *Norsk kystplanktonflora*. Oslo: Almater forl.
- Wahidin, S., Idris, A. & Shaleh, S. R. M. (2013). The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresour Technol*, 129, 7-11.
- 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.
- Widjaja, A., Chien, C.-C. & Ju, Y.-H. (2009). Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 40(1), 13-20.
- Willer, D., Robinson, J., Patterson, G. & Luyckx, K. (2022). Maximising sustainable nutrient production from coupled fisheries-aquaculture systems.
- Wilson, R. P. (2003). Amino acids and proteins. I *Fish nutrition* (s. 143-179): Elsevier.
- Wu, S., Huang, A., Zhang, B., Huan, L., Zhao, P., Lin, A. & Wang, G. (2015). Enzyme activity highlights the importance of the oxidative pentose phosphate pathway in lipid accumulation and growth of *Phaeodactylum tricorutum* under CO₂ concentration. *Biotechnology for biofuels*, 8(1), 1-11.
- Ytrestøyl, T., Aas, T. S. & Åsgård, T. (2015). Utilisation of feed resources in production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *Aquaculture*, 448, 365-374.
- Aas, T. S., Ytrestøyl, T. & Åsgård, T. (2019). Utilization of feed resources in the production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway: An update for 2016. *Aquaculture reports*, 15, 100216.
- Aas, T. S., Ytrestøyl, T. & Åsgård, T. E. (2022). *Utnyttelse av fôrressurser i norsk oppdrett av laks og regnbueørret i 2020. Faglig sluttrapport*: Nofima AS.

Vedlegg 1

Tabell 6 Fettsyresammensetning % sammenligning av noen av de vanligste kildene til lipid i laksefôr: Anchoveta olje, Rapsolje sammenlignet med *P. glacialis*, inkludert maks- og minimumsverdi.

FETTSYRESAMMENSETNING %					
Fettsyre	Anchoveta olje	Rapsolje	<i>P. glacialis</i>		
			Gjennomsnitt	Spenn (Min-Max)	
14:0	7,8	0,1	7,7	4,8 – 10,0	
16:0	18,2	4,7	6,2	4,2 – 8,0	
18:0	4,2	1,6	1	0,2 – 2,2	
16:1 n-7			8,9	7,0 – 10,2	
18:1 n-7		3,0	0,2	0 – 0,6	
18:1 n-9	16,0	56,7			
20:1 n-9	1,0	1,7			
22:1 n-9	0,3	0,9			
22:1 n-11	1,6				
16:2 n-4			1,3	0 – 2,6	
16:3 n-4			9,3	5,5 – 12,4	
16:4 n-1			22,5	15,2 – 30,5	
18:2 n-6 (LA)	2,8	19,5	0,3	0 – 0,6	
18:3 n-3 (ALA)	1,8	9,4	IV	IV	
18:4 n-3	2,3		5,7	3,8 – 6,4	
20:4 n-6	0,1		0	0 – 0,1	
20:5 n-3	14,8		32,1	27,8 – 35,7	
22:5 n-3	1,8		0	0 – 0	
22:6 n-3	10,9		3,9	3,4 – 4,5	
SFA	30,2	7,5	15,6	12,3 – 19,6	
MUFA	29,6	62,2	9,1	7,1 – 10,5	
PUFA	34,4	29	75,2	69,3 – 80,2	
omega-3	29,3	9,4	41,9	37,0 – 47,8	

De to første kolonnene viser to av de viktigste kildene til fett i fôr til laksen, anchoveta blir brukt for å lage fiskeolje og rapsolje er den viktigste planteoljen som blir inkludert i laksefôr. De viktigste individuelle fettsyrene er med, samt sum av SFA, MUFA, PUFA og omega-3. Tall fra fettsyresammensetningen til anchoveta olje og rapsolje var hentet fra Sissener (2018)

Vedlegg 2

Tabell 7 Prosent essensielle aminosyrer av totale mengder aminosyrer. Figuren viser de tre vanligste kildene til protein i fiskefôr. Fiskemel, soyaproteinkonsentrat (SPC) og hvetegluten sammenlignet med gjennomsnittlig innhold i *P. glacialis* (Min-Max).

Essensielle aminosyresammensetning % av totalt protein						
Essensielle Aminosyrer	Fiskemel	SPC	Hvetegluten	<i>P. glacialis</i>	Spenn (Min-Max)	(Min-Max)
Arg	5,4	6,7	4,2	6,2	3,2 -	8,6
His	2	2,4	1,7	1,9	1,2 -	2,5
Ile	3,6	4	4,2	4,4	3,1 -	5,3
Leu	6,3	6,6	7,1	7,7	3,8 -	9,3
Lys	6,6	5,5	1,5	5,6	3,8 -	7,4
Met	2,5	1,2	1,3	2,7	2,0 -	3,3
Phe	3,5	4,5	4,3	5,2	3,8 -	6,0
Thr	3,9	3,6	2,9	4,8	4,0 -	6,0
Trp	1,0	1,3	2,7	IV		
Val	4,1	4,1	5,3	4,9	3,2 -	6,1
EAA	38,9	39,9	35,2	43,4	31,8 -	54,3

Fiskemel, soyaproteinkonsentrat og hvetegluten er det tre viktigste kildene til protein i laksefôr. EAA for fisk er inkludert. Data fra fiskemel var hentet fra Gjørund (2021), data fra SPC og hvetegluten var hentet fra Mohsen (2009)

