



Fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi

Kiselalger som en fremtidig fôrressurs?

Biokjemisk sammensetning i oppdrettslaks (*Salmo salar*) med *Porosira glacialis* som fôringrediens.

Frida Bakkehaug Kristiansen

Masteroppgave i Fiskeri- og havbruksvitenskap (60 stp.) - mai 2023

Kiselalger som en fremtidig fôrressurs?

Biokjemisk sammensetning i oppdrettslaks (*Salmo salar*) med
Porosira glacialis som fôringrediens.

Frida Bakkehaug Kristiansen

Masteroppgave i fiskeri- og havbruksvitenskap (60 stp.)

Norges fiskerihøgskole
Fakultet for biovitenskap, fiskeri og økonomi
UiT, Norges arktiske universitet

Tromsø

Mai 2023



UiT / NORGES ARKTISKE
UNIVERSITET

Forord

Denne masteroppgaven er et synlig bevis på at fem lærerike år som student ved Norges fiskerihøgskole har kommet til en ende. Må først og fremst takke veileder professor Edel O. Elvevoll for god og konstruktiv veiledning gjennom dette studieåret. Må også rette en stor takk til biveileder professor Karl-Erik Eilertsen for gode innspill på veien og biveileder Anette Hustad ved Nofima for god oppfølging av prosjektet. Overingeniør Guro Kristine Edvinsen og overingeniør Tone Friis Aune fortjener begge en stor takk for deres tålmodighet og gode oppfølging på lab. Må også takke alle ovennevnte for uvurderlig hjelp på selve uttaksdagene. Uten dere hadde ikke dette vært mulig.

En stor takk rettes også til alle medstudenter for utallige gode minner gjennom disse fem årene på UiT. Ikke minst rettes en stor takk til familie, venner og kjæreste for all støtte gjennom disse årene som student.

Frida Bakkehaug Kristiansen

Tromsø, mai 2023

Sammendrag

En stadig økende verdensbefolkning og etterspørsel etter sjømat, har bidratt til at akvakulturnæringen har stått ovenfor en betydelig vekst de siste 30 årene. Parallelt har behovet for fôr og fôringredienser økt. Dagens villfiskbestander er allerede fullt utnyttet, og andelen av de høyverdige råvarene fiskemel og fiskeolje er begrenset til bruk i fôrproduksjon på grunn av stagnering i fiskeriene. En konsekvens av dette, er at dagens laksefôr består av om lag 60 % vegetabiliske protein - og fettkilder, samtidig som andelen fiskeolje og fiskemel har blitt redusert til å bare utgjøre 22 % av fôringrediensene til sammen. Økningen i akvakultur krever også økt fôrproduksjon, der tilgangen på næringsrike og bærekraftige fôrråstoffer anses som en av de største utfordringene. I denne studien ble tre grupper yngel av atlantisk laks (*Salmo salar*) fôret med ulik biomasse av kiselalger (0, 1 og 3 %). Hovedformålet med oppgaven var å undersøke om biomasse av kiselalgen *Porosira glacialis* i fôret påvirket biokjemisk sammensetning i filetene mellom fiskegruppene ved tre ulike uttakstidspunkt.

Biomasse av kiselalgen *P. glacialis* i fôret gav ingen signifikante forskjeller i lengde og vekt, samt askeinnhold, mellom fiskegruppene. Askeinnholdet avtok med tid, men biomasse av kiselalger i fôret påvirket ikke askeinnholdet i fiskefiletene. Proteininnholdet var jevnt over likt mellom alle tre fiskegrupper ved alle uttak, men fiskegruppen med 3 % algebiomasse i fôret hadde et signifikant forskjellig innhold av protein (%) i fiskefiletene enn fiskegruppen med 0 % algebiomasse ved både første og tredje uttak. Det ble videre registrert signifikante forskjeller i innholdet av essensielle aminosyrer (EAA) i fiskefiletene mellom alle fiskegrupper på tredje uttak. Oppsummert hadde fiskegruppen som fikk fôr med 0 % algebiomasse det høyeste innholdet av både proteiner og EAA på andre og tredje uttak, men inneholdt også den største andelen fiskemel i fôret. De målte verdiene for protein og EAA ble dermed knyttet opp mot økende andel fiskemel med avtakende algebiomasse i fôret, ettersom fiskegruppen med 3 % kiselalger i fôret hadde det laveste innholdet av både protein og EAA i filetene ved andre og tredje uttak.

Fiskegruppen med 3 % algebiomasse i fôret hadde derimot et signifikant høyere fettinnhold (4,9 %) i fiskefiletene enn fiskegruppen med 0 % algebiomasse i fôret (4,2 %) ved tredje uttak. Det ble ikke målt signifikante forskjeller i andelen n-3 LC PUFA mellom fiskegruppene gjennom hele forsøket, mens filetene til gruppe A3 hadde et signifikant høyere innhold av total PUFA (g FA/100g) enn fiskegruppene med 0 % og 1 % algebiomasse i fôret ved tredje uttak, og kan muligens knyttes opp mot biomasse av kiselalger i laksefôret.

Summary

An increasing world population and the demand for seafood have contributed to the aquaculture industry experiencing significant growth over the past 30 years. In parallel, the need for feed and feed ingredients has increased. Wild fish stocks are already fully exploited, and the high-quality raw materials fishmeal and fish oil is limited for use in feed production due to stagnation in the fisheries. A consequence of this is that today's salmon feed consists of around 60 % vegetable protein and fat sources, while the proportion of fish oil and fishmeal has been reduced to only 22 % in total. The increase in aquaculture also requires increased feed production, where access to nutritious and sustainable feed raw materials is considered one of the biggest challenges. In this study, three groups of Atlantic salmon (*Salmo salar*) were fed with different algae biomass (0, 1 and 3 %). The main purpose of this thesis was to investigate whether the biomass of the diatom *Porosira glacialis* in the fish feed affected the biochemical composition of the fillets between the fish groups at three different sampling times.

Biomass of the diatom *P. glacialis* did not show any significant differences in length and weight, as well as ash content, between the fish groups. The ash content decreased with time for each sampling, but algae biomass in the feed did not affect the ash content in the fish fillets. The protein content was broadly similar between all three fish groups at all samplings, but the fish group with 3 % algae biomass in the feed had a significantly different content of protein (%) in the fish fillets than the control group with 0 % algae biomass in the feed at both the first and third sampling. Significant differences were recorded in the content of essential amino acids (EAA) in the fish fillets between all fish groups on the third sampling. In summary, the fish group that received feed with 0 % algae biomass had the highest content of both proteins and EAA on the second and third sampling, but also contained the largest proportion of fishmeal in the feed. The measured values for protein and EAA were thus linked to an increasing proportion of fishmeal with decreasing algae biomass in the feed, as the fish group with 3 % algae biomass in the feed had the lowest content of both protein and EAA in the fillets at the second and third sampling.

The fish group with 3% algae biomass in the feed had a significantly higher fat content (4.9%) than the fish group with 0% algae biomass in the feed (4.2%) at the third sampling. No significant differences in the proportion of n-3 LC PUFA were measured between the fish groups throughout the experiment, while the fillets of group A3 had a significantly higher content of total PUFA (g FA/100g) than the groups with 0 % and 1% algae biomass in the feed at the third sampling, and can possibly be linked to algae biomass in the fish feed.

Forkortelser

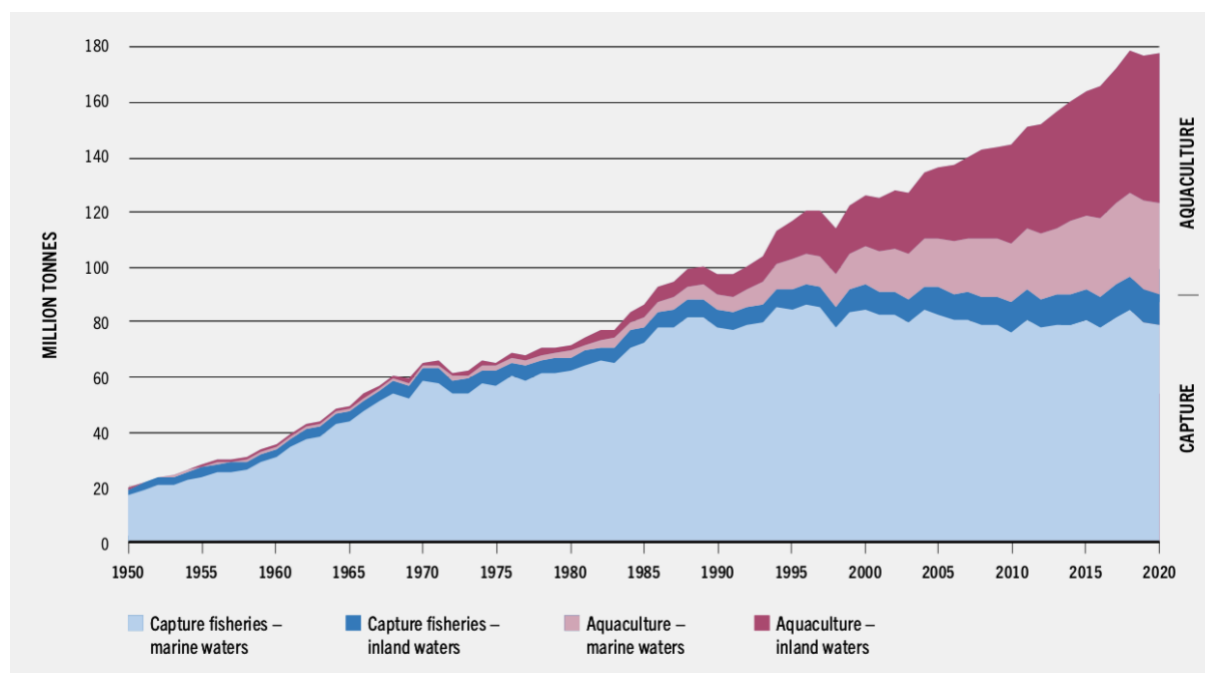
AA	Aminosyre
ALA	α -linolensyre (18:3n-3)
ARA	Arakidonsyre (20:4 n-6)
DCM	Diklormetan
DHA	Dokosaheksaensyre (22:6n-3)
DPA	Dokosapentaensyre (22:5n-3)
EAA	Essensiell aminosyre
EFA	Essensiell fettsyre
EPA	Eikosapentaensyre (20:5n-3)
FA	Fettsyrer
FAA	Frie aminosyrer
FFA	Frie fettsyrer
GC	Gasskromatograf
HCl	Saltsyre
LA	Linolsyre (18:2n-6)
LC PUFA	Lankjedede flerumettede fettsyrer
MeOH	Metanol
MUFA	Enumettede fettsyrer
N ₂	Nitrogen
NaCl	Natriumklorid
N-leu	Norleucin
n-3	Omega-3 fettsyre
n-6	Omega-6 fettsyre
n-3 PUFA	Flerumettede omega-3-fettsyrer
n-6 PUFA	Flerumettede omega-6-fettsyrer
n-3 LC PUFA	Lankjedede flerumettede omega-3 fettsyrer
n-6 LC PUFA	Lankjedede flerumettede omega-6 fettsyrer
PUFA	Flerumettede fettsyrer
R	Hydrokarbon
SFA	Mettede fettsyrer
TAA	Totale aminosyrer
TAG	Triglyserid
IEAA	Ikke-essensielle aminosyrer
ID	Ikke identifisert
IS	Internstandard

Innholdsfortegnelse

1	Innledning	1
1.1	Kiselalger.....	4
1.1.1	<i>Porosira glacialis</i>	6
1.2	Proteinkvalitet	7
1.3	Lipider og fettsyreinnhold	9
1.4	Formålet med oppgaven	10
2	Materialer og metode	11
2.1	Forsøksdesign.....	11
2.2	Prøveuttak.....	12
2.3	Førsammensetning og næringsinnhold.....	13
2.4	Kjemikalier.....	13
2.5	Vekst – lengde og vekt.....	14
2.6	Analysemetoder for biokjemisk sammensetning	14
2.6.1	<i>Vann- og askeinnhold</i>	14
2.6.2	<i>Proteininnhold og aminosyresammensetning</i>	15
2.6.3	<i>Lipidekstraksjon med etylacetat</i>	16
2.6.4	<i>Fettsyreinnhold</i>	16
2.7	Statistiske metoder og analyser	18
3	Resultater	19
3.1	Lengde og vekt.....	19
3.2	Biokjemisk sammensetning.....	21
3.3	Totale aminosyrer.....	23
3.4	Fettsyreinnhold.....	25
4	Diskusjon	29
5	Konklusjon	35
6	Litteraturliste	36

1 Innledning

Befolkningsvekst og et økende matkonsum på verdensbasis, i kombinasjon med et stagnert fiske, har gjort at oppdrettsnæringen har fått mulighet til å utvikle seg i et høyt tempo. Omtrent halvparten av all konsumert sjømat på verdensbasis stammer i dag fra akvakultur, og markedet for fiskefôr vil øke i takt med fremtidig vekst i næringen (Nagappan et al., 2021). I dag konsumerer vi mer sjømat enn noen gang, med et snitt på 20,2 kg per innbygger i 2020. I tillegg fastslår FAO at produkter av sjømat er essensielle for å unngå sult og fattigdom, samt at det er nødvendig å sikre en rettferdig, næringsrik og bærekraftig effektiv mattilførsel til verdens befolkning. Summen av produkter fra akvakultur og fangst av villfanget fisk har gått fra kun 19 millioner tonn i 1950, til å utgjøre hele 178 tonn i 2020 (**figur 1**) (FAO, 2022). Villfanget sjømat har holdt seg på et stabilt jevnt nivå siden rundt år 1990, mens akvakultur produksjon alene har stått for den store økningen av sjømat frem mot 2020.



Figur 1: Utviklingen i mengden villfanget fisk og akvakulturproduksjon i verden fra 1950 til 2020 (FAO, 2022).

En stadig vekst i akvakultur krever også større produksjon av formulert fôr. Akvakulturnæringen legger beslag på den største andelen av produsert fiskemel og fiskeolje til fôrproduksjon, og mengden fiskemel og fiskeolje som produseres strekker ikke lenger til for å dekke det økte behovet som skyldes det økte produksjonsvolumet (Shah et al., 2018). Fiskemel blir i hovedsak utvunnet fra pelagiske villfiskbestander som ansjos og sardiner, og har lenge

vært en rimelig ingrediens å benytte som proteinkilde i fiskefôr, men har på grunn av etterspørsel økt i pris (Olsen & Hasan, 2012; Shah et al., 2018; Tocher & Glencross, 2015). Marine oljer er, i likhet med fiskemel, en begrenset råvare og en ettertraktet fettkilde som er rik på langkjedede flerumettede omega-3 fettsyrer (n-3 LC PUFA). Ekspansjon av akvakulturvirksomhet, kombinert med et økende press på dagens villfiskbestander og økte råvarepriser, har bidratt til at potensielle nye kilder til fett og protein i fiskefôr blir undersøkt. Derfor har sammensetningen av dagens formulerte fôr gjennomgått store endringer de siste årene (**figur 2**) (FAO, 2022; Shah et al., 2018; Ytrestøyl et al., 2015).

Laksefôret har fra år 1990 gått fra å inneholde rundt 90 % marine ingredienser, til at marine oljer og protein kun utgjorde 22 % i 2020 (**figur 2**). I dag utgjør soyaproteinkonsentrat 20 % av alle ingrediensene i laksefôr, og er dermed den føringrediensen med størst andel, etterfulgt av 18 % rapsolje. Innholdet av plantebaserte føringredienser i 2020 er totalt på 60,6 %, der vegetabiliske proteinkilder står for 40,5 % (Aas et al., 2022). Den store nedskaleringen i bruk av marine råvarer i produksjonen av fôr til oppdrettsnæringen, kan bli knyttet opp mot en økt produksjon og etterspørsel av oppdrettslaks, i kombinasjon med en stadig mer begrenset tilgang på næringsrike råvarer som fiskemel og fiskeolje som følge av stagnering i fiskeriene (Ytrestøyl et al., 2015). Men for at den stadig økende produksjonen i oppdrettsnæringen skal være bærekraftig i fremtiden, må nye og alternative fett- og proteinkilder tas i bruk.



Figur 2: Utvikling av førsammensetning i norsk laksefôr fra år 1990 til 2020 (%) (Aas et al., 2022).

Fiskeolje er en råvare med høyt innhold av n-3 LC PUFA, særlig fettsyrene eikosapentaensyre (EPA; 20:5n-3) og dokosaheksaensyre (DHA; 22:6n-3) (Ahmad, 2023). Disse omega-3 fettsyrene finnes ikke naturlig i de plantebaserte fettkildene som benyttes i laksefôr i dag. Derfor inneholder oppdrettslaks mindre av de viktige omega-3 fettsyrene EPA og DHA, samtidig som innholdet av omega-6 fettsyrer har økt (Nagappan et al., 2021; Sissener, 2018; Turchini et al., 2009). De langkjedede omega-3 fettsyrene har flere viktige biologiske funksjoner i fisk. Ikke bare bidrar de med å styrke og opprettholde cellenes struktur og funksjon, men de er også viktige for å oppnå god vekst, fiskehelse og reproduksjon (Sargent et al., 1999; Turchini et al., 2009). I tillegg blir marin fisk ansett som den største kilden til disse livsviktige omega-3 fettsyrene for mennesker, som blant annet har bevist å kunne forhindre dannelsen av hjerte- og karsykdommer (Steffens, 1997; Tocher, 2003). Forholdet mellom omega-3 og omega-6 fettsyrer i oppdrettslaks er betydelig lavere enn hos villaks, og oppdrettslaks har et høyere fettinnhold enn villaks. Dette skyldes det høye innholdet av fett i fôret og et høyt innhold av omega-6 fettsyrer i de plantebaserte fettkildene som benyttes i laksefôr (Lundebye et al., 2017; Nagappan et al., 2021).

Proteiner er, i likhet med fett, en essensiell del av dietten til laks. Den største proteinkilden i fiskefôr i 1990 var fiskemel, men har i 2020 blitt erstattet av proteinkilder som soyaprotein (Aas et al., 2022). Laks er en karnivor art, og er naturlig ikke tilpasset en plantebasert diett. Plantebaserte proteinkilder har dermed flere ernæringsmessige ulemper, der særlig innholdet av anti-næringsmessige komponenter kan bidra til en redusert fordøyelse og opptak av næringsstoffer i fisk (Olsen & Hasan, 2012). En høyverdig proteinkilde, oftest animalsk, har en balansert aminosyreprofil som inneholder alle de essensielle aminosyrene (EAA) listet i **tabell 1**. Plantebaserte proteinkilder mangler eller har lavere innhold av flere av de EAA, som metionin, tryptofan, lysin og treonin (Nagappan et al., 2021). En ubalansert aminosyresammensetning og mangel på EAA i fôret, kan resultere i redusert vekst og dårlig fôrutnyttelse (Espe et al., 2001). Fiskemel defineres som en høyverdig proteinkilde, da det inneholder lett fordøyelig protein og har en god sammensetning av EAA (Olsen & Hasan, 2012). Erstatningen av fiskemel med plantebaserte proteinkilder i fôret, er vist å føre til redusert fôrinntak og vekst hos laks (Espe et al., 2006).

Til tross for redusert innhold av viktige fettsyrer som EPA og DHA i dagens laksefôr, samt EAA, har overgangen til et mer plantebasert fôr gitt mulighet for vekst i oppdrettsnæringen. På den andre siden kan en høy andel av plantebaserte ingredienser påvirke både vekst og generell fiskehelse, samt fôrutnyttelse, da plantebasert laksefôr har et mer ubalansert næringsinnhold og sammensetningen av fettsyrer og aminosyrer (Ytrestøyl et al.,

2015). Men det er flere ting som må vurderes under fôrproduksjon og sammensetninger av ingredienser. Det ideelle laksefôret er i utgangspunktet enkelt å sette sammen, da både fiskeolje og fiskemel er gode og næringsrike råvarer. Men fôrsammensetning er en komplisert prosess. Produksjonen av fôr baserer seg på et kompromiss mellom bruk av ingredienser som dekker næringsbehovet til individene best mulig, men på samme tid gir en lønnsom fôrproduksjon for oppdrettsnæringen. Dette innebærer å kunne produsere et fôr som er næringsrikt og billig, samtidig som det må være lett å produsere og frakte (Hardy & Barrows, 2003). Kunnskap om produksjon av laks har økt, og fôrproduksjon vil, og har, i stor grad vært avhengig av utviklingen i oppdrettsnæringen.

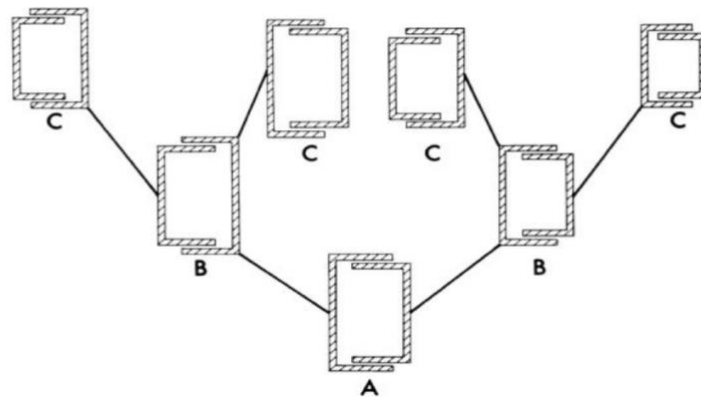
Mikroalger i det marine miljøet er primærprodusenter av LC n-3 PUFA, og marin fisk vil derfor naturlig inneholde store mengder av fettsyrene EPA og DPA som konsumeres og akkumuleres gjennom næringskjeden (Nieri et al., 2023; Sprague et al., 2016; Steffens, 1997). Oppdrettsfisk har ikke mulighet til å benytte seg av de samme næringskildene som ville marine organismer, og er dermed avhengig av å få tilsatt gode alternative kilder til disse viktige n-3 LC PUFA i formulert fôr. Potensialet til mikroalger som en fremtidig fôrressurs er dermed stort, ettersom de naturlig er rik på både fett og proteiner (Eilertsen et al., 2022).

1.1 Kiselalger

Kiselalger, også kalt diatoméer, er en gruppe mikroalger og regnes som en av de mest betydningsfulle og viktigste primærprodusentene i havet (Eilertsen et al., 2022). Kiselalger er encellede eukaryote fytoplankton og utgjør den mest tallrike gruppen av fytoplankton, målt i både biomasse og antall arter (Armbrust, 2009; Trainer et al., 2008). Kiselalger er i dag utbredt i nesten alle akvatiske habitater, og det er estimert at det finnes opp mot 200 000 ulike arter av kiselalger (Guiry, 2012; Potapova & Charles, 2002). Størrelsen kan variere fra 2 mikrometer (μm) opp til 2 millimeter (mm), og de eksiterer i områder med rikelig tilgang på næringsalter som nitrogen og fosfat, samt silikat (Chu, 2014; Dahl et al., 2005). Kiselalger utviner aktivt silikat fra vannmassene, ettersom de er avhengig av tilgang på silikat for både bygge og opprettholde celleveggene for å unngå celleoppløsning (Burckle, 1979; Nieri et al., 2023).

Navnet diatoméer stammer fra det greske ordet diatomos, som betyr «kuttet i to», og er en direkte referanse til kiselalgenes todelte silikatholdige celledel, også kalt frustuler. Frustulene inneholder flere porer eller komplekse strukturer som muliggjør molekylær utveksling mellom omgivelsene og cytoplasma (Andersen, 2013; Armbrust, 2009; Julius & Theriot, 2010). De to cellehalvdelene er av ulik størrelse og overlapper hverandre som en todelt

boks, og er holdt sammen av en type silikatholdige belteband (Sims et al., 2006; Julius & Theriot, 2010). Diatoméer kan kategoriseres i to ulike morfologiske grupper: radikalt symmetriske (sentriske) og langsgående symmetriske (pennate) (Armbrust, 2009). Grupperingen av kiselalger er også et resultat av forskjeller i reproduksjon og livsstrategier (Amato, 2010). Reproduksjon kan enten skje vegetativt via binær fisjon (mitose), eller via meiose (seksuell reproduksjon) (Bayu et al., 2020). Binær fusjon blir primært benyttet som reproduksjonsstrategi hos kiselalger, der det dannes to nye celler i foreldrecellen (Armbrust, 2009; Grimm & Ellis, 1963). De to halve delene (theca) av frustulen til foreldrecellen vil skille seg og danne to nye celler, der hver dattercelle får hver sin theca som utgjør de nye cellenes epitheca (øvre del). Den ene dattercellen vil være litt mindre i størrelse, da én av cellene får foreldrecellens hypotheca (nedre halvdel), og den nye hypotheca i dattercellen formes innenfor cellens epitheca (**figur 3**) (Round et al., 1990).



Figur 3: Binær fisjon hos kiselalger (Burckle, 1979). Dattercellene (B) får hver sin epitheca fra frustulen til foreldrecellen (A).

Kiselalger er fotosyntetiske marine fytoplankton som benytter sollys som energikilde, og inneholder klorofyll og pigmenter som karotenoider. Pigmentene og klorofyll står for absorpsjonen av lysenergi, som benyttes i fotosyntetiske prosesser (Bayu et al., 2020). Den lysdrevne fotosyntesen er en redoks reaksjon der karbondioksid (CO_2) og vann blir omdannet til oksygen (O_2) og organiske forbindelser (Masojídek et al., 2013). De fleste kiselalgearter eksisterer i det øverste vannlaget, der det er nok tilgang på sollys for fotosyntese (Chu, 2014). I tillegg til tilgang på sollys, må vannmassebevegelsene kunne frakte viktige næringsstoffer til det øverste vannlaget (Bayu et al., 2020). Arter av kiselalger kan også være bentiske, som lever i kolonier på overflater til stein og makroalger (Bromke, 2013).

Kiselalger står for opp mot 40 % av den totale marine primærproduksjonen, som utgjør om lag 20 % av den totale globale fotosyntesen (Amin et al., 2012; Nelson et al., 1995). I tillegg står kiselalger for rundt én femtedel av all oksygenproduksjon i verden (Amato, 2010).

Kiselalger fikserer mer karbondioksid (CO₂) i atmosfæren gjennom fotosyntese enn alle de store terrestriske regnskogene til sammen, og det organiske karbonet som produseres av kiselalger danner basen for marine næringskjeder (Armbrust, 2009). Veksthastighet og økning i biomasse for kiselalger avhenger av flere naturgitte forhold som lys, temperatur, salinitet, pH og tilgangen til næringsstoffer (Bayu et al., 2020). Celledelingen kan skje raskt, og kiselalger kan doble sin biomasse hvert døgn. I tillegg har de evne til å akkumulere store mengder lipider, og er særlig en god kilde til viktige omega-3 fettsyrer som EPA, DPA og DHA. Men innholdet av fett og essensielle fettsyrer, varierer mellom ulike kiselalgearter og under ulike vekstforhold som temperatur, tilgang på næringsstoffer, salinitet og lysforhold (Artamonova et al., 2017a). Kiselalgearter som har evne til å produsere EPA, kan inneholde mellom 7-34 % av denne omega-3 fettsyren. Analyser av ulike typer mikroalger viser også at innholdet av essensielle aminosyrer i kiselalger var høyt (Eilertsen et al., 2022; Shah et al., 2018).

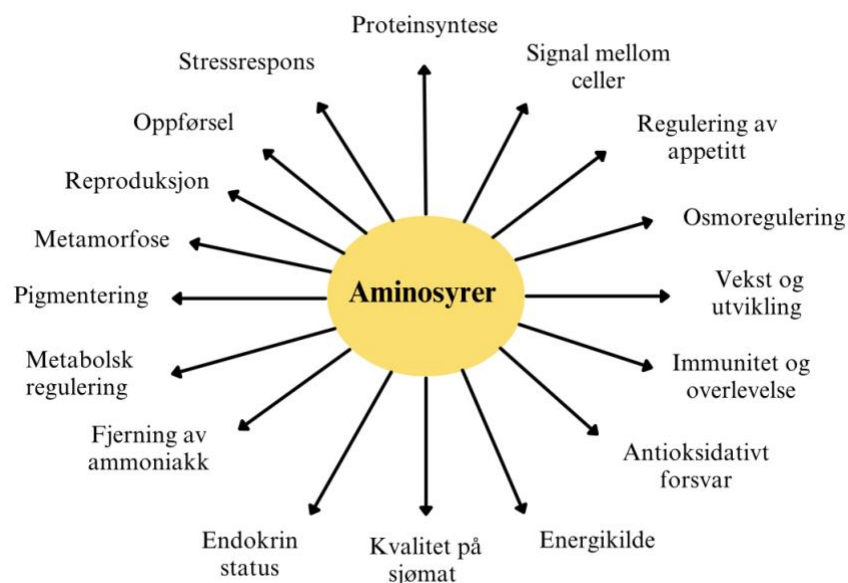
Ved tilstrekkelig tilgang på lys og en karbonkilde, samt næringsstoffer som nitrogen, fosfor og jern, er potensialet for industriell massedyrking av flere arter kiselalger dermed stort (Eilertsen et al., 2022; Khan et al., 2018). Biomasse fra dyrking av kiselalger er en potensiell bærekraftig og fornybar kilde til bruk i industrielle produkter, men også som næringstilskudd for humant konsum og fôrproduksjon i akvakultur (Eilertsen et al., 2022; Khan et al., 2018; Shah et al., 2018). Kiselalger blir blant annet allerede benyttet i helsekostprodukter, kosmetikk og legemidler (Khan et al., 2018). Biomasse fra dyrking av kiselalger har potensiale til å supplere som en høyverdig protein- og fettkilde i fôrproduksjon, der tilgangen ikke er begrenset av fisket på ville marine bestander (Shah et al., 2018).

1.1.1 Porosira glacialis

Porosira glacialis er en kiselalgeart som finnes i nordlige marine havområder nær havis, og inneholder store mengder av den viktige fettsyren EPA (20:5 n-3) (Artamonova et al., 2017a; Dalheim et al., 2021; Pike et al., 2009). *P. glacialis* er relativt store og sentriske kiselalger, med en størrelse som kan variere mellom 30-40 µm i diameter (Hasle & Syvertsen, 1997). Under en studie om fytoplankton i Barentshavet, visste det seg at *P. glacialis* var den største primærprodusenten av kiselalgeartene, med en gjennomsnittlig biomasse på 20,6 µg/L (Makarevich et al., 2022). En annen studie viste også at *P. glacialis* hadde høy toleranse ovenfor høye konsentrasjoner av CO₂ (20-25 %). Effektiv utnyttelse av CO₂, kombinert med de nordlige kiselalgenes naturlige tilpasning til mindre lys og kaldere temperaturer, bidrar til at kiselalgen kan egne seg bra for industriell massedyrking (Artamonova et al., 2017b).

1.2 Proteinkvalitet

Proteiner regnes som den største og viktigste komponenten i fiskefôr, i tillegg til å være det viktigste organiske materialet i fiskevev. Proteiner utgjør om lag 65-75 % av total tørrvekt i fiskemuskel (Li et al., 2009; Wilson, 2003). Behovet for protein vil variere både med fiskestørrelse og temperatur i vannet for enkelte arter, men også av mengden nedbrutt protein som må erstattes (Espe et al., 2001; Wilson, 2003). Proteinbehovet vil gradvis avta ved økende fiskestørrelse og alder, der en liten lakseyngel vil ha et behov for at dietten består av omtrent 45-50 % protein, mens en ettårig laks bare vil ha behov for om lag 35 % (Wilson, 2003). Proteiner er bygget opp av kjeder av aminosyrer (AA) som er bundet sammen med peptidbindinger. Sekvensen som AA er bundet sammen i, er det som gir proteinet sine særegne egenskaper (Espe et al., 2001). De ulike aminosyrene inngår i flere viktige kroppslige prosesser, og **figur 4** viser en oppsummerende oversikt over de ulike rollene til aminosyrer i fisk.



Figur 4: De ulike rollene til aminosyrer (AA) i fisk (Li et al., 2009)

Under hydrolyse av protein, blir proteinet i maten brutt ned til frie aminosyrer (FAA) eller di- og tripeptider, som absorberes av tarmcellene og fraktes videre i blodbanen til organer og muskelvev for syntese av nytt protein (Wilson, 2003). AA er organiske molekyler som består av en sur karboksylgruppe (-COOH), en basisk aminogruppe (-NH₂) og en R-gruppe som alle er bundet på C_α-atomet. R-gruppen er det som gir hver AA sin spesielle egenskap. Det finnes 20 ulike R-grupper, og dermed 20 ulike AA som inngår i oppbygningen av proteiner i organismer (Espe et al., 2001). Protein og AA burde inntas regelmessig gjennom kosten, ettersom fisk kontinuerlig bruker AA til å enten bygge opp nytt protein for vekst (syntese), eller

for å opprettholde allerede eksisterende protein (Wilson, 2003). Derimot kan ikke alle 20 AA syntetiseres av dyr og mennesker *de novo*, og EAA må dermed tilføres via kosten (Li et al., 2009). En oversikt over EAA og IEAA for fisk og dyr er oppsummert i **tabell 1**. AA arginin regnes som en essensiell aminosyre for mange fiskearter, som følge av en manglende funksjonell ureasyklus (Eilertsen et al., 2022).

Tabell 1: Oversikt over essensielle aminosyrer (EAA) og ikke-essensielle aminosyrer (IEAA) for fisk og dyr (Espe et al., 2001).

Essensielle AA	Ikke-essensielle AA
Arginin	Alanin
Histidin	Asparaginsyre
Isoleucin	Asparagin
Leucin	Glutaminsyre
Lysin	Glutamin
Metionin	Cystein
Fenylalanin	Tyrosin
Treonin	Glycin
Tryptofan	Prolin
Valin	Serin

Kvaliteten på proteinkilder i fôret har betydning for vekst og omsetning av protein i fisk. En god proteinkilde bør inneholde alle de nødvendige EAA og ha en balansert aminosyresammensetning for å oppnå full utnyttelse av proteinet. Fisk vil i et slikt tilfelle ha en økt proteinsyntese og økt katabolisme; altså en høyere proteinomsetning. Sammensetningen av AA må tilpasses ulike arter og fiskestørrelse, da et overskudd av ulike AA ikke nødvendigvis gir positive påvirkninger i proteinomsetningen i fisk (Espe et al., 2001). Overgangen til å benytte plantebaserte proteinkilder i fiskefôr har resultert i redusert vekst og fôrinntak, samt redusert proteinutnyttelse (Andersen et al., 2016). Proteinkvaliteten er som regel også redusert, som følge av lavere nivået av EAA som lysin og/eller metionin i plantebaserte proteinkilder (Damodaran, 1996). I tillegg spiller fordøyeligheten av protein inn på proteinkvalitet, og flere plantebaserte fôringredienser er kjent for å inneholde flere antinæringsstoffer som blant annet påvirker proteinfordøyelse og utnyttelse. Proteasehemmere, tanniner og lektiner er eksempler på antinæringsstoffer i planter som kan påvirke proteinmetabolismen (Francis et al., 2001). Proteasehemmere er proteiner som kan redusere effekten av særlig enzymene trypsin og chymotrypsin, mens lektiner vil redusere opptak av aminosyrer ved å binde seg med karbohydratermolekyler på cellene i tarmen. Tanniner kan binde seg med proteiner og mineraler, samt redusere opptak av vitamin B12 (Damodaran, 1996; Francis et al., 2001).

1.3 Lipider og fettsyreinhold

Lipider defineres som forbindelser løselig i organiske væsker, og regnes som den mest effektive formen for lagring av energi, og inngår i tillegg i prosessen ved å opprettholde viktige kroppslige funksjoner (Singh et al., 2002; Tocher, 2003). Animalske lipider kan i hovedsak klassifiseres i to grupper: polare og nøytrale lipider. De polare lipidene er i hovedsak sammensatt av fosfolipider, mens triglycerider (TAG) utgjør mesteparten av de nøytrale lipidene (Tocher, 2003; Tocher & Glencross, 2015). TAG kan enten forekomme i fast form (fett) eller som flytende (olje) ved romtemperatur (Olsen, 2017; Tocher, 2003).

Fettsyrer (FA) består av lange hydrokarbonkjeder (R) med rundt 12-22 karbonatomer, med en karboksylsyregruppe (-COOH) i den ene enden og en metylgruppe (CH₃) i den andre. Det finnes tre ulike former for FA: mettede, enumettede og flerumettede fettsyrer. En FA som ikke inneholder noen dobbeltbindinger mellom karbonatomene, kalles for en mettet fettsyre (SFA), og har en rett lineær struktur. Når TAG inneholder mange mettede FA, har disse evnen til å krystallisere seg sammen til en mer fast form, som gir en mer solid og stabil struktur i romtemperatur med et høyere smeltepunkt (som margarin) (Ahmad, 2017; Talbot, 2011). FA med én dobbeltbinding mellom karbonatomene kalles for enumettede eller monoumettede fettsyrer (MUFA), og FA med to eller flere dobbeltbindinger kalles for flerumettede eller polyumettede fettsyrer (PUFA). Dersom FA består av mellom 20-22 karbonatomer og har mellom 4-6 dobbeltbindinger, kalles det for langkjedede (Long Chain) flerumettede fettsyrer (LC PUFA) (Ahmad, 2017; Olsen, 2017; Sardesai, 1992).

Det finnes fettsyrer som verken dyr eller mennesker klarer å syntetisere selv, såkalte essensielle fettsyrer (EFA) (Hastings et al., 2001; Lee, 2001). Disse, både omega-3 og omega-6 fettsyrer, må tilføres via kosten, da dyr og mennesker ikke har enzymer som kan plassere dobbeltbindinger nærmere metylenden i fettsyrer (FA) enn på karbonatom nummer 9 (Di Pasquale, 2009; Olsen, 2017). Det er kun planter og planteplankton som har enzymene Δ 15-desaturase og Δ 12-desaturase som kan syntetisere dobbeltbindinger mellom C-atom 3 og 4 eller C-atom 6 og 7 i en fettsyre. Enzymene står for konverteringen av oljesyre (18:1 n-9) til linolsyre (LA; 18:2 n-6) og α -linolensyre (ALA; 18:3n-3) (Hastings et al., 2001; Olsen, 2017).

Dermed er dyr og mennesker (inkludert fisk) avhengig av å få særlig de to essensielle fettsyrene LA og ALA tilsatt i kosten (Olsen, 2017; Turchini et al., 2009). Disse fettsyrene har ingen spesifikk metabolsk kroppslig oppgave, og er kun ansett som essensielle da de fleste vertebrate arter (virveldyr) har behov for disse som utgangspunkt for å syntetisere en rekke viktige biologisk aktive molekyler fra disse. De langkjedede flerumettede fettsyrene EPA;

20:5n-3, DHA; 22:6n-3 og arakidonsyre (ARA; 20:4n-6), syntetiseres ut ifra disse to essensielle C-18 fettsyrene (Olsen, 2017; Tocher & Glencross, 2015). Hos mennesker og (marin karnivor) fisk er evnen til å syntetisere LC PUFA fra LA og ALA veldig begrenset, og dermed regnes de langkjedede omega-3 fettsyrene EPA og DHA, og omega-6 fettsyren ARA, som essensielle fettsyrrer (Olsen, 2017; Xie et al., 2021). Disse LC PUFA inngår i flere biologiske funksjoner, som å opprettholde cellestruktur, stimulere til vekst og regulering av kolesterolmetabolisme (Sardesai, 1992; Steffens, 1997). Forskning har i tillegg påvist en redusert immunrespons under mangel på EFA (Sardesai, 1992).

Fisk regnes som den største kilden til de viktige omega-3 fettsyrene EPA og DHA, og fettsyreinholdet i en organisme i stor grad blir reflektert av fettsyreinholdet i kosten (Olsen, 2017; Sprague et al., 2016; Tocher, 2003). Det anbefales dermed å få i seg mer av de høyt flerumettede n-3 fettsyrene EPA og DHA gjennom kosten, helst via marin feit fisk som har god evne til å lagre, fordøye og absorbere disse n-3 LC PUFA (Olsen, 2017; Turchini et al., 2009; VKM, 2022).

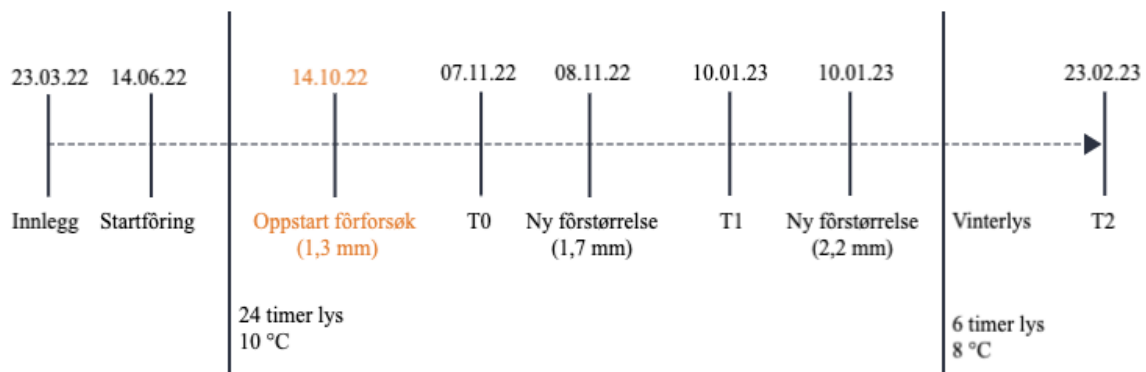
1.4 Formålet med oppgaven

I denne masteroppgaven ble tre ulike grupper lakseyngel fôret med tre ulike fôr med ulik mengde algebiomasse. Det ene fôret inneholdt 0 % algebiomasse, mens de to andre fôrene var algefôr som besto av henholdsvis 1 % og 3 % biomasse av kiselalgen *Porosira glacialis*. Biomassen av kiselalgen *P. glacialis* ble dyrket frem hos Finnfjord AS ved hjelp av industrirøyk fra smelteverket Finnfjord AS, og var ikke prosessert før det ble tilsatt i fôret. Fôringen av de ulike fôrtypene foregikk over en periode på 108 dager. Det overordnede målet med oppgaven var å finne ut om algebiomasse i fôret påvirket biokjemisk sammensetning i fiskefiletene til fiskegruppene. Dette innebar analyser av vann- og askeinnhold, fettinnhold, fettsyreinhold, proteininnhold og aminosyresammensetning. Data for vekt og lengde ble i tillegg benyttet for å finne spesifikk vekstrate (SGR) og kondisjonsfaktor (KF).

2 Materialer og metode

2.1 Forsøksdesign

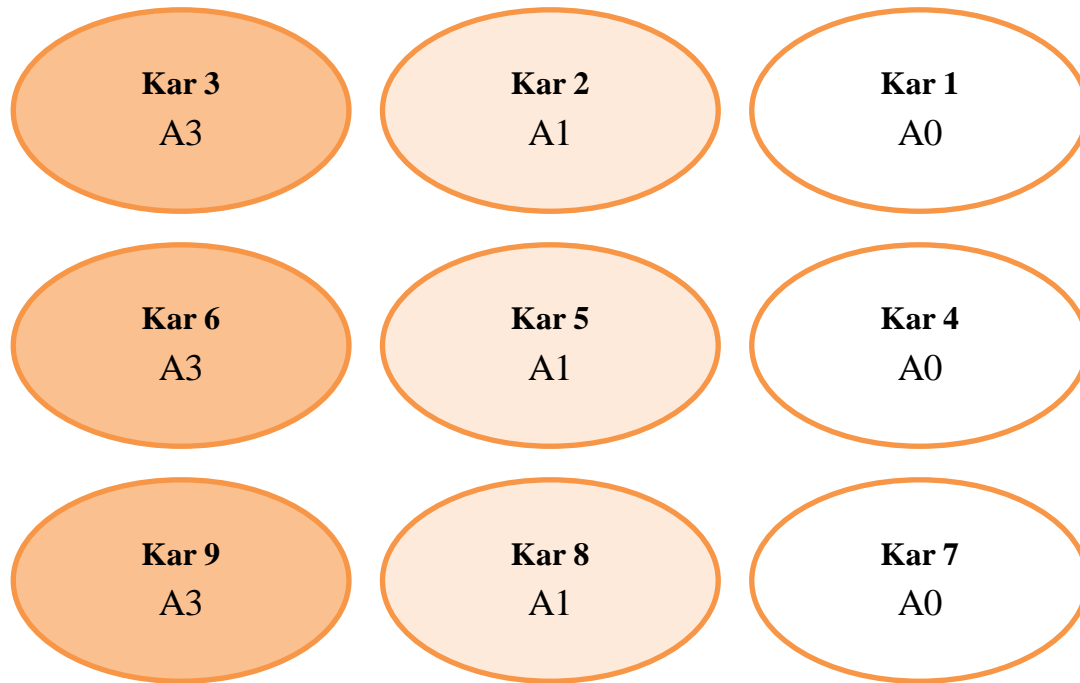
Forsøket ble gjennomført på Havbruksstasjonen i Kårvika, lokalisert på Ringvassøy i Tromsø kommune. Arten benyttet i forsøket var atlantisk laks (*Salmo salar*), levert av AquaGen AS. Oppstartsdato for forsøket var 11. januar 2022, men grunnet utfordringer med gjellesykdommen laksepox, ble yngelen destruert i midten av mars. Et nytt innlegg med nye egg fant sted den 23. mars 2022, og totalt 4000 egg ble levert. Etter klekking 4. april 2022 ble 2000 yngel fordelt i to ulike kar, og oppstart av startfôring den 14. juni 2022. Fisken ble fôret med det samme fôret før de ble fordelt i 9 kar og gikk over på de ulike forsøksfôrene den 14. oktober 2022. Etter sortering ble 1120 fisk destruert, og det ble totalt 320 fisk i hvert kar. For hver fiskegruppe var det 3 kar, totalt 9 kar for hele forsøket. Første uttak (T0) ble utført den 07. november 2022, etterfulgt av uttak 2 (T1) den 10. januar 2023. Før det siste og tredje uttaket (T2) den 23. februar 2023, ble fisken satt over på vinterlys den 18. januar 2023. Etter T0 og T1 ble fisken satt over på en ny fôrstørrelse. **Figur 5** viser en oppsummerende tidslinje for forsøksforløpet.



Figur 5: Tidslinje for forsøksforløpet. Fisken ble fôret med det samme fôret før de gikk over på fôr med 0 % algebiomasse og algefôr (1 og 3 % algebiomasse) den 14.10.2022. Tre ulike uttak fant sted, der uttak 1 (T0) og uttak 2 (T1) ble gjennomført før fisken ble satt på vinterlys.

Under forsøket ble fisken fôret forskjellig ut ifra om fisken fikk kontinuerlig lys eller var under lysstyring (vinterlys). Under kontinuerlig lys ble det måltidsfôret fra kl. 14:00 til kl. 08:15, med 15 min aktiv fôring per time, etterfulgt av 45 min pause. Ved oppstart av automatene kl. 14:00 ble det fôret i 30 min. Ingen fôring fra kl. 08:15 til kl. 14:00. Under vinterlys ble det fôret kontinuerlig i hele lysperioden på 6 timer. All fôring ble basert på Skretting sin tabell, der utfôring reduseres når fisken er under vinterlys. **Figur 6** viser en oversikt over karoppsett for

fiskegruppe A0, A1 og A3. Fiskene ble tilfeldig plassert i 9 kar, hvor fiskene i gruppe A0 ble fordelt i 3 kar (kar 1, 4 og 7) fikk det samme fôret med 0 % algebiomasse, fiskene i gruppe A1 ble fordelt i 3 kar (kar 2, 5 og 8) som fikk fôr med 1 % algebiomasse og fiskene i gruppe A3 var fordelt i 3 kar (kar 3, 6 og 9) som fikk fôr med 3 % algebiomasse.



Figur 6: Oversikt over karoppsett for fiskegruppe A0, A1 og A3 på Havbruksstasjonen i Kårvika. Totalt 9 kar ble benyttet i forsøket.

2.2 Prøveuttak

Det ble gjennomført totalt 3 prøveuttak under forsøket, når fisken i snitt ble estimert til å veie 20 gram, 50 gram og 70 gram. Det ble tatt ut 9 fisk fra hvert kar, totalt 81 fisk for hvert uttak. Fisk ble håvet opp av karet og overført i en bønne med en overdose av Benzokain (Benzoak vet.) (0,2 ml/l vann, ACD Pharmaceuticals AS, Norge). Hver fisk fikk sitt eget individnummer. Vekt og lengde av hver fisk ble målt, før de ble filetert og skinnert ved hjelp av skalpell. Filetene ble fortløpende lagt på is, og transportert til Norges fiskerihøgskole. Her ble prøvene oppbevart i fryser på -40°C frem til videre analyser av prøvematerialet. Før oppstart av analysene, ble 3 og 3 fisk slått sammen grunnet filetenes størrelse og homogenisert til én samlet prøve for første prøveuttak (T0). For andre (T1) og tredje (T2) uttak ble filetene analysert på individnivå.

2.3 Fôrsammensetning og næringsinnhold

De tre fôrene som er gitt til fiskegruppe A0, A1 og A3 i tre ulike størrelser (1,3 mm, 1,7 mm og 2,2 mm) ble alle produsert av Cargill i Dirdal. Fôret med pelletstørrelse 1,3 mm inneholdt ikke vegetabiliske oljer, men et høyere innhold av fiskeolje enn de to andre pelletstørrelsene, som vist i **tabell 2**. Hvert fôr hadde den samme grunnsammensetningen ved 1,7 mm og 2,2 mm, i tillegg til et relativt høyt innhold av fiskemel ved alle pelletstørrelsene (56,8 - 59,3 %).

Tabell 2: Sammensetning av fôrene til gruppe A0, A1 og A3 som ble produsert i tre ulike størrelser (1,3 mm, 1,7 mm og 2,2 mm). Verdiene er gitt som % av totalt innhold.

Pelletstørrelse	1,3 mm			1,7 mm			2,2 mm		
	0	1	3	0	1	3	0	1	3
Algebiomasse (%)	0	1	3	0	1	3	0	1	3
Ingredienser (%)									
Fiskemel	59,3	58,9	57,8	58,3	57,9	56,8	58,3	57,9	56,8
Vegetabiliske proteinkilder	23,1	22,6	21,7	24,8	24,2	23,4	24,8	24,2	23,4
Fiskeolje	13,4	13,3	13,3	9,3	9,3	9,2	9,3	9,3	9,2
Vegetabilisk olje	0	0	0	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2
Mikronæringsstoffer	4,22	4,22	4,22	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43
Yttriumoksid	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Mål - protein	53	53	53	52,1	52,1	52,1	52,1	52,1	52,1
Mål - fett	19	19	19	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6

2.4 Kjemikalier

Etylacetat (99,9 %), diklormetan (100 %), n-heptan (99,8 %) og metanol (99,9 %) var alle fra VWR Chemicals (Rosny-sous-Bois-cedex, Frankrike). Saltsyre (37 %; 12 M HCl) fra VWR Chemicals (Fontenay-sous-Bois, Frankrike) og natriumklorid (NaCl) fra VWR Chemicals (Leuven, Belgia). Lithium loading buffer, pH 2,2, fra Biochrom Co. (Cambridge, Storbritannia). Heptadekansyre (17:0) ($\geq 98\%$), aminosyrestandarder (A6407 og A6282), DL-norleucine (N1398) og natriumsulfat (Na₂SO₄, vannfri) var fra Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Fettsyrestandard GLC 502 og GLC 411 fra Nu-Chek Prep, Inc (Elysian, MN, USA). Svovelsyre (95-97 % H₂SO₄) fra Honeywell, Fluka. N₂-gass fra Linde Gas AS (Oslo, Norge).

2.5 Vekst – lengde og vekt

Lengde- og vektmålinger ble utført under første uttak (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2) regnet fra T0. T0 fant sted den 07.11.2022. Fra hvert av de 9 ulike karene ble 9 fisk målt og veid, totalt 27 individer for hver fiskegruppe A0, A1 og A3. Kondisjonsfaktor (KF) ble beregnet ved hjelp av **formel 1**, der V er fiskens vekt (g) og L er fiskens lengde (cm):

Formel 1:

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

Spesifikk vekstrate (SGR) ble beregnet ved hjelp av **formel 2**. VT0 og VT2 er vekt (g) ved T0 (første uttak ved 20 gram) og ved T2 (tredje uttak ved 70 gram). T2 - T0 er antall dager mellom T0 og T2 = 108 dager.

Formel 2:

$$\text{SGR} = \left[\frac{(\ln VT2 - \ln VT0)}{(T2 - T0)} \right] \times 100$$

2.6 Analysemetoder for biokjemisk sammensetning

2.6.1 Vann- og askeinnhold

Vanninnholdet i prøvene ble bestemt i henhold til AOAC metoden 950.46b (AOAC, 1975). Tre replikater fra hvert prøveindivid ble benyttet. 1 gram prøvemateriale ble veid og overført til forhåndsveide aluminiumsbeger, og så tørket i et varmeskap (Heratherm Oven, Thermo Scientific, Langensfeld, Tyskland) på 105 °C til vekta ble jevn og konstant. Prøvene ble så veid, og vanninnholdet i prosent ble beregnet ved hjelp av **formel 3**:

Formel 3:

$$\text{Vann (\%)} = \frac{\text{Vekt innveid prøve (g)} - \text{Vekt prøve (etter tørking)(g)}}{\text{Vekt prøve (før tørking)(g)}} \times 100 \%$$

Prøvene for å beregne vanninnholdet ble så videre brukt for å beregne askeinnhold i henhold til AOAC metoden 928.08 (AOAC, 1975). Prøvene ble videre forbrent til aske i en forbrenningsovn (Nabartherm GmbH. Program Controller S27, Lilienthal, Tyskland) ved 540 °C i 16 timer, og deretter veid på nytt. Askeinnholdet i prosent ble beregnet ved hjelp av

formel 4:

Formel 4:

$$\text{Aske (\%)} = \frac{\text{Vekt prøve (etter tørking og forbrenning)}(\text{g})}{\text{Innveid mengde prøve (g)}} \times 100 \%$$

2.6.2 Proteininnhold og aminosyresammensetning

For å finne totale aminosyrer (TAA) i prøvene, benyttes syrehydrolyse og aminosyreanalyser ved bruk av ionebytterkromatografi (Mæhre et al., 2018). Det benyttes to replikater av hvert prøveindivid. 200 mg fiskemuskel ble veid opp i 4 ml glassrør og tilsatt 0,5 ml destillert milli-Q H₂O + 0,5 ml internstandard (20 mM DL-norleucine). Deretter ble prøvene tilsatt 1,2 ml konsentrert saltsyre (HCl, 37 %), for å bryte ned proteiner til enkelte aminosyrer i prøvematerialet. Prøvene ble så flushet med N₂-gass i 10-15 sekunder for å forhindre oksidasjon, for så å bli satt på varmeblokk (Thermo Fisher Scientific) (110 °C) i avtrekksskap i 22-24 timer. Etter at prøvene ble tatt ut og avkjølt, ble 1000 µl av prøvene overført til eppendorfrør (1,5 ml) og sentrifugert (Eppendorf sentrifuge 5424 R, Hamburg, Tyskland) på 18 400 x g i 5 minutter. Dette for å fjerne partikler fra prøvematerialet. 100 µl prøve ble videre overført til analyserør, for så å dampes inn til tørrhet med N₂-gass. Videre ble innholdet i analyserørene løst opp i 1 ml loading buffer (Lithium loading buffer, pH 2,2). Prøvene ble oppbevart i kjøleskap frem til videre analyse. Aminosyrene ble videre analysert i en Biochrom 30+ aminosyreanalysator (Biochrom Co., Cambridge, Storbritannia), og derivatisert med Ninhydrin. Identifiseringen av de ulike aminosyrene ble gjort ved å sammenligne standardkurven for hver aminosyre i prøven med to ulike fysiologiske aminosyrestandarder (A6407 og A6282). Proteininnholdet (%) ble funnet ved å trekke vekten av vannmolekylet som aminosyrene er bundet sammen med fra summen av den beregnede molekylvekten til de ulike aminosyrene i prøven.

2.6.3 Lipidekstraksjon med etylacetat

Under fetttekstraksjon vil det vannløselige materialet skille seg fra det fettløselige, og fettinnholdet i prøvematerialet kan beregnes. Tre replikater fra hver prøve ble benyttet. 1 gram homogenisert prøve ble veid opp i veieskip og tilsatt 2 gram Na₂SO₄ (vannfri), og blandet ved hjelp av en skje. Prøvematerialet ble så ført over til 15 ml sentrifugerør, og tilsatt 4,5 ml etylacetat og 0,5 ml IS i avtrekksskap. Prøvene ble så blandet ved bruk av vortex (VWR Collection Reax Top, Tyskland) i cirka 10 sekunder, etterfulgt av ristemaskin (Heidolph Multi Reax, Schwabach, Tyskland) i 60 minutter. Prøvene ble så satt på sentrifugering på 10 000 x g i 10 min (Eppendorf sentrifuge 5804 R). 3 ml alikvot av filtratet ble overført til forhåndsveide 8 ml glassrør (VWR, Darmstadt, Tyskland) med kork, og ble så dampet inn til tørrhet ved hjelp av N₂-gass til stabil vekt. Fettinnholdet i prosent ble beregnet ved bruk av **formel 5**:

Formel 5:

$$\text{Fett (\%)} = \frac{(\text{glassrør med innhold (g)} - \text{glassrør, tom (g)}) \times \left(\frac{5}{3}\right) - \text{tilsatt IS}}{\text{innveid mengde prøve (g)}} \times 100 \%$$

2.6.4 Fettsyreinnehold

2.6.4.1 Metylering av fettsyrer

For at det skal kunne være mulig å analysere de ulike fettsyrene (FA) i et prøvemateriale, må FA frigjøres fra sine kjemiske strukturer til frie fettsyrer (FFA), og deretter metyleres til fettsyremetylestere (FAME), som kan detekteres ved bruk av gasskromatografi. Dette gjøres ved å ta i bruk metanol, som skaper en type forestringsreaksjon, der sluttproduktet er fettsyremetylestere. Metoden benyttet for metylering er en modifisert versjon av metoden til Christie & Han (2010).

Ekstrahert fett fra fiskemuskel ble løst ut til en konsentrasjon på 10 mg/ml i etylacetat. 100 µl av prøveløsningen ble så tilsatt i metyleringsrør (Duran GL 18, Mainz, Tyskland). 0,9 ml diklormetan og 2 ml 2 % H₂SO₄ i metanol ble så tilsatt i hvert rør. Prøvene ble deretter satt på varmeblokk (Thermo Fisher Scientific) på cirka 100 °C i rundt én time. Til slutt ble 3,5 ml heptan og 3,5 ml 5 % NaCl tilsatt i hvert prøverør. Prøveløsningen ble blandet godt, og det ble dannet to ulike faser. Den øverste fasen, som besto av heptan og lipider, ble pipettert over i nye 8 ml analyserør og dampet til tørrhet ved hjelp av N₂-gass. Prøvene ble videre løst ut i 100 µl heptan, og overført til GC-rør klar for gasskromatografi.

2.6.4.2 Gasskromatografi

Etter metylering ble fettsyreinholdet i prøvene analysert ved å benytte en Agilent 6890N gasskromatograf (GC) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), som var utstyrt med en 7683B autoinjektor og flammeionisasjonsdetektor. Helium ble benyttet som bæregass. For å separere de ulike fettsyrene, går gassen gjennom Varian CP7419 kapillærkolonne (50 m x 250 µm x 0,25 µm nominal). Fettsyrene blir her separert og identifisert som følge av ulike vandrings hastighet/retensjonstid gjennom kapillærkolonnen, sammenlignet opp mot to kjente metylerte fettsyrestandarder (GLC 502 og GLC 411). Temperaturen på injektoren var 240 °C og temperaturen i detektoren var 250 °C.

Beregningen av andelen fettsyrer i prøvematerialet, blir beregnet som både arealprosent (%) og mengde fettsyre (FA) per 100 gram prøve. Arealprosenten for hver fettsyre ble beregnet ved å dividere arealet av fettsyretoppen for hver fettsyre i kromatogrammet med det totale arealet av alle fettsyretoppene (**formel 6**). Resultatet vil gi et godt bilde på fettsyreinholdet i prøvematerialet.

Formel 6:

$$\text{Areal (\%)} = \frac{\text{Areal av hver enkelt fettsyre i kromatogrammet}}{\text{Totalt areal av alle fettsyretoppene}} \times 100 \%$$

Mengden av de ulike FA per 100 gram fiskemuskel ble beregnet ved hjelp av **formel 7**, ved å benytte mengden internstandard (heptadekansyre C17:0) tilsatt i prøvene.

Formel 7:

$$\text{Mengde FA (g) per 100 g prøve} = \left(\frac{\text{Areal topp FA}}{\text{Areal topp IS}} \right) \times \left(\frac{\text{Tilsatt IS (g)}}{\text{Vekt prøve (g)}} \right) \times 100 \text{ g}$$

2.7 Statistiske metoder og analyser

Alle data er basert på tilfeldige utvalg fra hver fiskegruppe, A0, A1 og A3, som fôres med sine respektive fôr. Tre kar for hver fiskegruppe fikk samme fôr, og 9 tilfeldige laks ble håvet ut fra hver av de 9 karene for hvert uttak.

Enkle kalkulasjoner som gjennomsnitt \pm standardavvik (SD) ble utført og bearbeidet i Microsoft Excel (versjon 16.66.1). De statistiske analysene ble gjennomført i Prizm 9 for macOS (versjon 9.5.1 (528)). Figurene ble laget i både Microsoft Excel og Prizm 9. Shapiro-Wilk's test, i kombinasjon med Q-Q plot, ble brukt for å evaluere om data var normalfordelt. Videre ble resultatene analysert ved hjelp av en enveis-ANOVA, for å undersøke om det var signifikante forskjeller mellom noen av fiskegruppene for hvert uttak. Ved signifikante forskjeller ($p < 0,05$), ble Tukey's multiple comparison test (MCT) brukt for å undersøke hvilke grupper som var statistisk signifikant forskjellig fra hverandre. Signifikante forskjeller mellom fiskegruppene ved de ulike uttakene, er merket med bokstaver. Ulike bokstaver på linjene under samme uttak viser til signifikante forskjeller.

3 Resultater

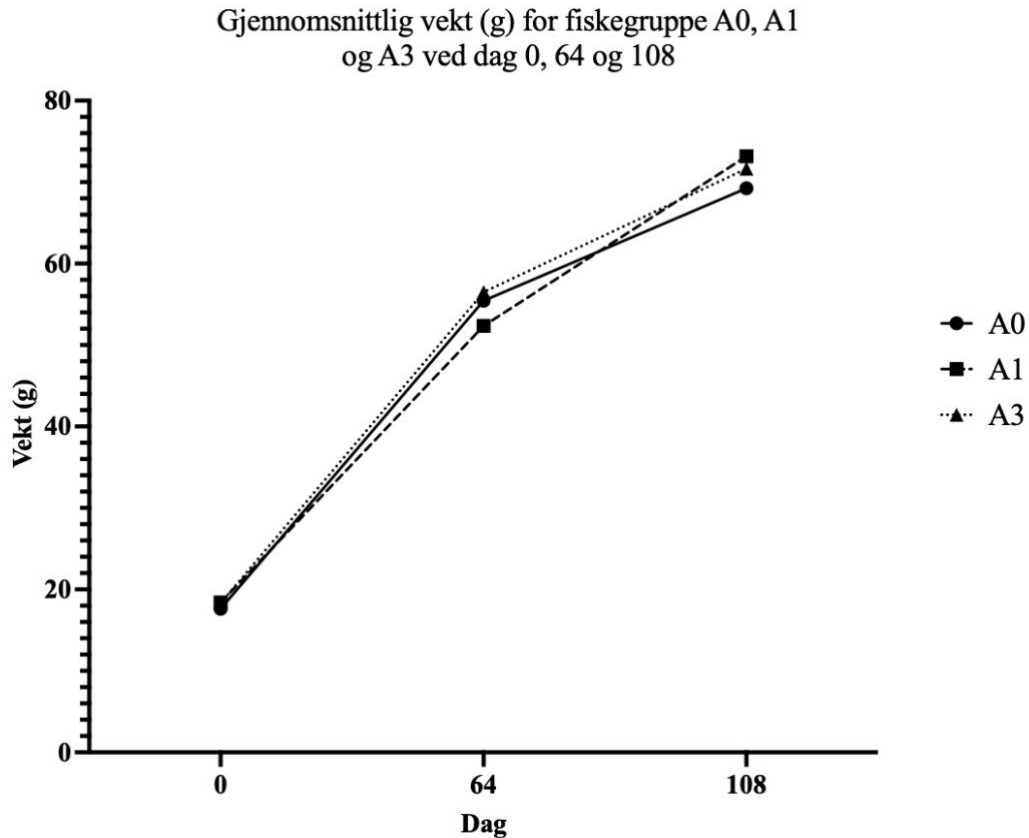
3.1 Lengde og vekt

Laksen var estimert til å veie 20 gram ved uttak 1 (T0). I løpet av 108 dager ble vekten nesten firedoblet for alle tre fiskegrupper. En oversikt over lengde (cm) og vekt (g) for de ulike fiskegruppene (A0, A1 og A3) ved tre ulike uttak (T0, T1 og T2) er presentert i **tabell 3**. Data for både lengde (cm) og vekt (g) var normalfordelt ved hvert uttak, og det ble ikke målt signifikante forskjeller for lengde og vekt mellom de ulike fiskegruppene verken i starten (T0), underveis (T1) eller i slutten av forsøket (T2) ($p > 0,05$).

Tabell 3: Lengde (cm) og vekt (g) målt i minimumsverdier, maksimumsverdier og gjennomsnitt ($n = 27 \pm SD$) av prøveindividene for de ulike fiskegruppene (A0, A1 og A3) ved tre ulike uttakstidspunkt. Første uttak ble gjennomført 07.11.2022 (T0), andre uttak etter 64 dager (T1) og tredje uttak etter 108 dager (T2) beregnet fra T0.

Uttak		T0 (n = 27)		T1 (n = 27)		T2 (n = 27)	
		Lengde (cm)	Vekt (g)	Lengde (cm)	Vekt (g)	Lengde (cm)	Vekt (g)
A0	Min	9,7	10,9	14,0	34	16,4	55,6
	Maks	12,7	23,4	17,5	74,1	19,0	83,6
	Gj. snitt	$11,2 \pm 0,8^a$	$17,6 \pm 3,6^a$	$15,9 \pm 0,9^a$	$55,4 \pm 10,2^a$	$17,6 \pm 0,7^a$	$69,3 \pm 7,1^a$
A1	Min	9,2	9,4	12,9	26,8	16,3	55,8
	Maks	12,8	27,4	17,6	72,7	19,8	96,2
	Gj. snitt	$11,3 \pm 0,7^a$	$18,4 \pm 3,6^a$	$15,8 \pm 0,9^a$	$52,3 \pm 9,3^a$	$17,8 \pm 0,8^a$	$73,2 \pm 10,7^a$
A3	Min	8,6	7,6	14,2	37,6	16,4	53,7
	Maks	12,4	24,3	18,1	76,8	20,6	104,8
	Gj. snitt	$11,3 \pm 0,8^a$	$18,3 \pm 3,6^a$	$16,1 \pm 0,9^a$	$56,5 \pm 10,2^a$	$17,7 \pm 0,9^a$	$71,6 \pm 11,2^a$

Gjennomsnittlig vektutvikling (g) fra dag 0 (T1) til dag 64 (T1) og dag 108 (T2) for fiskegruppe A0, A1 og A3 blir presentert i **figur 7**.



Figur 7: Gjennomsnittlig vektutvikling (g) for fiskegruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i fôret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i fôret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i fôret) ved dag 0 (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2). (n = 27).

Spesifikk vekstrate (SGR) for fiskegruppe A0, A1 og A3 i perioden T0-T1, T1-T2 og T0-T2 er presentert i **tabell 4**. Gjennomsnittlig SGR fra starten av forsøket (T0) til slutten (T2) var lik for alle fiskegruppene, og ble målt til $1,3 \pm 0,2$ %. Verdiene for SGR var normalfordelt for hver tidsperiode, og det ble ikke målt signifikante forskjeller i SGR mellom noen av fiskegruppene i perioden T0-T1, T1-T2 eller T0-T2 ($p > 0,05$). Høyest gjennomsnittlig SGR for alle fiskegrupper var i perioden T0-T1 (0-64 dager).

Tabell 4: Gjennomsnittlig vekstrate (SGR) (%) for fiskegruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i fôret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i fôret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i fôret) i tre ulike tidsperioder: 0-64 dager (T0-T1), 64-108 dager (T1-T2) og 0-108 dager (T0-T2). (n = 27).

Dager		A0 (n = 27)	A1 (n = 27)	A3 (n = 27)
T0 - T1	0 - 64	$1,8 \pm 0,4^a$	$1,6 \pm 0,4^a$	$1,8 \pm 0,4^a$
T1 - T2	64 - 108	$0,5 \pm 0,4^a$	$0,8 \pm 0,6^a$	$0,6 \pm 0,5^a$
T0 - T2	0 - 108	$1,3 \pm 0,2^a$	$1,3 \pm 0,2^a$	$1,3 \pm 0,2^a$

Kondisjonsfaktor (KF) for fiskegruppe A0, A1 og A3 ved tre ulike uttakstidspunkt (T0, T1 og T2) er presentert i **tabell 5**. Verdiene for KF var normalfordelt for hvert uttak, men det ble ikke målt signifikante forskjeller i KF mellom noen av gruppene ved alle tre uttak (T0, T1 og T2) ($p > 0,05$). KF økte for fiskegruppe A0 og A3 fra T0 til T1, og avtok igjen ved T2. KF for fiskegruppe A1 var lik for alle uttak.

Tabell 5: Gjennomsnittlig kondisjonsfaktor (KF) for fiskegruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i fôret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i fôret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i fôret) ved oppstart (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2). ($n = 27 \pm SD$).

	T0 (n = 27)	T1 (n = 27)	T2 (n = 27)
A0	1,3 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^a
A1	1,3 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^a
A3	1,3 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,1 ^a

3.2 Biokjemisk sammensetning

Tabell 6 viser en oversikt over biokjemisk sammensetning (% av våtvekt) i gjennomsnitt for fiskegruppene A0, A1 og A3 ved tre ulike uttakstidspunkt T0, T1 og T2. Vanninnholdet avtok gradvis fra T0 til T2, og var høyest for alle grupper ved T0. Den høyeste verdien var målt til $76,8 \pm 0,3$ % for gruppe A3, mens den laveste verdien var funnet for gruppe A3 ved T2 ($73,7 \pm 1,0$ %). Data for vanninnhold var normalfordelt for hvert uttak, og det ble målt en signifikant forskjell i gjennomsnittlig vanninnhold ved T0 og T2, der fiskegruppe A3 hadde et signifikant høyere vanninnhold enn A1 ved T0 ($p < 0,05$). Vanninnholdet til fiskegruppe A3 var signifikant lavere enn både gruppe A0 og A1 ved T2 ($p < 0,05$). Verdiene for askeinnhold avtok fra T0 til T1. Askeinnholdet varierte fra $1,3 \pm 0,1$ % for alle grupper ved T0, til $1,1 \pm 0,1$ % for gruppe A1 ved T2. Data for askeinnhold var normalfordelt ved hvert uttak, men det ble ikke målt signifikante forskjeller i gjennomsnittlig askeinnhold mellom de ulike fiskegruppene ved alle tre uttak ($p > 0,05$).

Gjennomsnittlig fettinnhold (%) økte for hvert uttak, og varierte fra $3,6 \pm 0,4$ % ved T0 til $4,9 \pm 1,1$ % ved T2. Verdiene for fettinnhold var normalfordelt for hvert uttak, men det ble ikke målt signifikante forskjeller i gjennomsnittlig fettinnhold mellom fiskegruppene ved T0 og T1 ($p > 0,05$). Ved T2 var det en signifikant forskjell i fettinnhold mellom gruppe A0 og A3

ved T2 ($p < 0,05$). Gjennomsnittlig fettprosent for A0 og A3 ble henholdsvis målt til $4,2 \pm 1,1$ % og $4,9 \pm 1,1$ % ved T2.

Gjennomsnittlig proteininnhold (%) økte for alle fiskegrupper ved hvert uttak, og varierte fra $13,0 \pm 0,4$ % ved T0 til $15,3 \pm 0,5$ % ved T2. Verdiene for proteininnhold var normalfordelt for hvert uttak, og det ble målt en signifikant forskjell i gjennomsnittlig proteininnhold mellom gruppe A0 og A3 ved både T0 og T2 ($p < 0,05$). Ved T0 hadde gruppe A3 det høyeste gjennomsnittlige proteininnholdet ($13,4 \pm 0,5$ %), mens det ved T2 var gruppe A0 som hadde det høyeste gjennomsnittlige proteininnholdet ($15,3 \pm 0,5$ %).

Tabell 6: Gjennomsnittlig innhold av vann, aske, fett og protein (% av våtvekt \pm SD) for fiskegruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i føret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i føret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i føret) ved oppstart (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2). T0: (n = 18), T1+ T2: (n = 15).

		T0 (n = 18)	T1 (n = 15)	T2 (n = 15)
Vann ¹	A0	$76,4 \pm 0,4^{ab}$	$74,9 \pm 1,0^a$	$74,2 \pm 1,0^a$
	A1	$76,4 \pm 0,6^a$	$74,9 \pm 1,0^a$	$74,3 \pm 1,0^a$
	A3	$76,8 \pm 0,3^b$	$75,1 \pm 1,0^a$	$73,7 \pm 1,0^b$
Aske	A0	$1,3 \pm 0,1^a$	$1,2 \pm 0,1^a$	$1,2 \pm 0,1^a$
	A1	$1,3 \pm 0,1^a$	$1,2 \pm 0,1^a$	$1,1 \pm 0,1^a$
	A3	$1,3 \pm 0,1^a$	$1,2 \pm 0,1^a$	$1,2 \pm 0,1^a$
Fett ²	A0	$3,7 \pm 0,4^a$	$4,3 \pm 1,2^a$	$4,2 \pm 1,1^a$
	A1	$3,9 \pm 0,5^a$	$4,3 \pm 1,3^a$	$4,5 \pm 0,8^{ab}$
	A3	$3,6 \pm 0,4^a$	$4,0 \pm 1,2^a$	$4,9 \pm 1,1^b$
Protein ³	A0	$13,0 \pm 0,4^a$	$14,2 \pm 0,6^a$	$15,3 \pm 0,5^a$
	A1	$13,3 \pm 0,3^{ab}$	$14,0 \pm 0,5^a$	$14,8 \pm 0,3^{ab}$
	A3	$13,4 \pm 0,5^b$	$13,8 \pm 0,3^a$	$14,6 \pm 0,6^b$

¹Vann (T0) - A1 og A3 signifikant forskjellig*

Vann (T2) - A0 og A3 signifikant forskjellig*, A1 og A3 signifikant forskjellig*

² Fett (T2) - A0 og A3 signifikant forskjellig**

³ Protein (T0/T2) - A0 og A3 signifikant forskjellig*/***

3.3 Totale aminosyrer

Totale aminosyrer (TAA) (mg AA/g) vises i **tabell 7** for fiskegruppene (A0, A1 og A3) ved tre ulike prøveuttak (T0, T1 og T2). Verdiene for essensielle aminosyrer (EAA) var normalfordelte for hvert uttak, og det ble målt signifikante forskjeller i gjennomsnittlig innhold av EAA mellom alle fiskegruppene ved T2 ($p < 0,05$), der den største signifikante forskjellen var mellom gruppe A0 og A1, etterfulgt av mellom gruppe A0 og A3.

TAA økte for hvert uttak, og den laveste verdien for TAA ble funnet for fiskegruppe A0 ved T0 (150,9 mg AA/g), samtidig som den høyeste verdien ble funnet for gruppe A0 ved T2 (177,6 mg AA/g). Det samme gjaldt for EAA, der den laveste verdien ble funnet for gruppe A0 ved T0 (78,4 mg AA/g), mens den høyeste verdien ble funnet for gruppe A0 ved T2 (92,9 mg AA/g). Av de EAA, var det særlig høyt innhold av AA leucin og lysin ved alle tre uttak. Tryptofan blir fullstendig nedbrutt under syrehydrolyse, og ble ikke detektert. Aminosyrene asparagin og glutamin deamineres under syrehydrolyse, og er inkludert i verdiene for asparaginsyre og glutaminsyre.

Tabell 7: Totale aminosyrer (mg AA/g \pm SD) i filetene til fiskegruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i fôret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i fôret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i fôret) ved oppstart (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2). TAA = totale aminosyrer, EAA = essensielle aminosyrer, IEAA = ikke-essensielle aminosyrer, ID = ikke identifisert. Verdiene for T0 er basert på gjennomsnittet for to replikater av totalt 2 samlede prøver fra 3 kar (3 og 3 individer slått sammen, totalt 6 individer per kar) for hver fiskegruppe (n = 18). Verdiene for T1 og T2 er basert på gjennomsnittet for to replikater av 2 prøver fra vilkårlig valgte individer fra 3 kar for hver fiskegruppe (n = 15).

Uttak	T0 (n = 18)			T1 (n = 6)			T2 (n = 6)		
	A0	A1	A3	A0	A1	A3	A0	A1	A3
Arginin	10,2 \pm 2,4	10,9 \pm 1,7	11,9 \pm 1,9	8,0 \pm 1,7	7,7 \pm 1,2	8,1 \pm 1,6	10,8 \pm 1,7	10,5 \pm 1,3	10,0 \pm 0,8
Histidin	3,9 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	4,0 \pm 0,2	3,9 \pm 1,3	4,3 \pm 0,2	4,2 \pm 0,1	4,6 \pm 0,2	4,5 \pm 0,2	4,4 \pm 0,2
Isoleucin	7,5 \pm 0,2	7,7 \pm 0,2	7,6 \pm 0,3	9,2 \pm 0,3	9,0 \pm 0,2	8,8 \pm 0,2	9,4 \pm 0,3	9,3 \pm 0,4	9,2 \pm 0,4
Leucin	12,8 \pm 0,3	13,0 \pm 0,3	13,0 \pm 0,4	14,6 \pm 0,5	14,4 \pm 0,4	14,3 \pm 0,2	15,4 \pm 0,4	15,0 \pm 0,4	14,8 \pm 0,5
Lysin	15,6 \pm 0,4	15,9 \pm 0,4	15,9 \pm 0,5	17,7 \pm 0,6	17,5 \pm 0,6	17,3 \pm 0,3	18,7 \pm 0,6	18,3 \pm 0,4	17,9 \pm 0,7
Metionin	5,2 \pm 0,1	5,3 \pm 0,2	5,4 \pm 0,3	5,7 \pm 0,2	5,7 \pm 0,2	5,6 \pm 0,1	6,1 \pm 0,2	5,9 \pm 0,1	5,8 \pm 0,3
Fenylalanin	7,2 \pm 0,1	7,4 \pm 0,1	7,4 \pm 0,2	7,9 \pm 0,3	7,8 \pm 0,3	7,7 \pm 0,1	8,3 \pm 0,3	8,1 \pm 0,2	8,0 \pm 0,3
Treonin	7,8 \pm 0,2	7,9 \pm 0,2	7,9 \pm 0,3	8,7 \pm 0,4	8,6 \pm 0,2	8,6 \pm 0,2	9,2 \pm 0,2	9,0 \pm 0,3	8,9 \pm 0,3
Valin	8,4 \pm 0,3	8,7 \pm 0,2	8,6 \pm 0,3	10,0 \pm 0,4	9,8 \pm 0,3	9,6 \pm 0,2	10,3 \pm 0,4	10,1 \pm 0,4	10,0 \pm 0,4
Tryptofan	ID	ID	ID	ID	ID	ID	ID	ID	ID
Σ EAA⁴	78,4^a	80,7^a	81,6^a	85,6^a	84,7^a	84,0^a	92,9^a	90,8^b	89,1^c
Alanin	9,7 \pm 0,2	10,0 \pm 0,2	9,9 \pm 0,3	11,1 \pm 0,4	10,9 \pm 0,4	10,8 \pm 0,2	11,9 \pm 0,4	11,6 \pm 0,3	11,4 \pm 0,4
Asparaginsyre ⁵	11,5 \pm 0,3	11,8 \pm 0,3	11,8 \pm 0,4	13,2 \pm 0,5	13,1 \pm 0,4	12,9 \pm 0,2	14,0 \pm 0,4	13,6 \pm 0,3	13,3 \pm 0,5
Glutaminsyre ⁶	24,0 \pm 0,8	24,5 \pm 0,9	24,7 \pm 1,1	26,7 \pm 1,0	26,3 \pm 0,8	25,8 \pm 0,5	27,8 \pm 1,0	27,1 \pm 0,6	26,6 \pm 1,2
Glycin	8,6 \pm 0,2	8,9 \pm 0,2	9,1 \pm 0,4	9,1 \pm 0,4	8,7 \pm 0,3	8,9 \pm 0,2	9,6 \pm 0,5	9,4 \pm 0,4	9,2 \pm 0,4
Serin	6,5 \pm 0,2	6,6 \pm 0,3	6,6 \pm 0,3	7,4 \pm 0,3	7,4 \pm 0,2	7,3 \pm 0,1	7,8 \pm 0,3	7,5 \pm 0,1	7,4 \pm 0,3
Tyrosin	5,3 \pm 0,5	5,4 \pm 0,5	5,5 \pm 0,4	5,7 \pm 0,4	5,4 \pm 0,9	5,0 \pm 0,7	6,2 \pm 0,2	6,1 \pm 0,4	6,3 \pm 0,5
Prolin	5,4 \pm 0,3	5,4 \pm 0,3	5,6 \pm 0,5	5,3 \pm 0,4	5,3 \pm 0,2	5,2 \pm 0,3	6,3 \pm 1,1	5,6 \pm 0,9	5,5 \pm 0,4
Cystein	1,5 \pm 0,3	1,4 \pm 0,2	1,3 \pm 0,4	1,2 \pm 0,3	1,2 \pm 0,3	1,3 \pm 0,2	1,0 \pm 0,2	1,1 \pm 0,4	1,1 \pm 0,3
Σ IEAA	72,5	73,9	74,4	79,6	78,3	77,2	84,7	81,8	80,7
Σ TAA	150,9	154,6	156,0	165,2	162,9	161,2	177,6	172,6	169,8

⁴ EAA (T2) - A0 og A1 signifikant forskjellig***, A0 og A3 signifikant forskjellig**, A1 og A3 signifikant forskjellig*

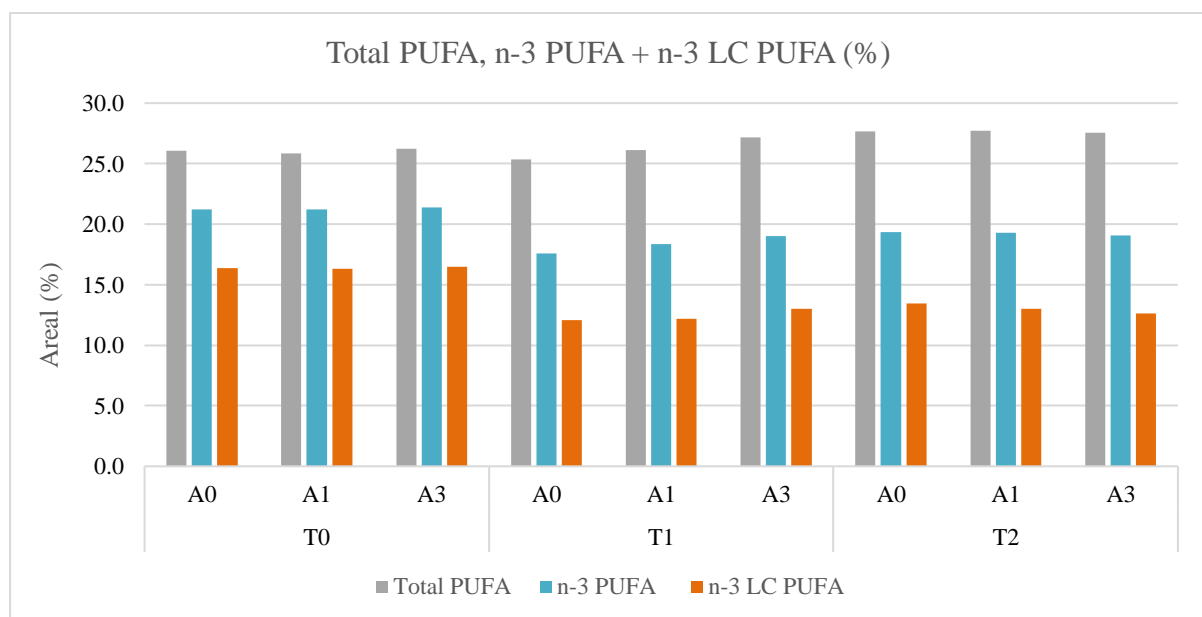
⁵ Inneholder også AA asparagin

⁶ Inneholder også AA glutamin

3.4 Fettsyreinnhold

Gjennomsnittlig fettsyreinnhold (areal %) vises i **tabell 8** for fiskegruppe A0, A1 og A3 ved tre ulike prøveuttak (T0, T1 og T2). Verdiene for PUFA og n-3 LC PUFA var normalfordelte, og det ble ikke målt signifikante forskjeller i innhold av verken PUFA, n-3 LC PUFA eller de enkelte fettsyrene EPA, DPA eller DHA mellom de ulike fiskegruppene ved noen av uttakene ($p > 0,05$).

Summen av PUFA (%) var jevn for fiskegruppe A0, A1 og A3 ved alle tre uttak (T0, T1 og T2), der verdiene varierte mellom 25,3 % til 27,7 %. Andel PUFA var høyest for gruppe A0 og A1 ved T2, og utgjorde totalt 27,7 % av alle FA. n-3 LC PUFA (EPA + DPA + DHA) utgjorde henholdsvis 13,4 % og 13,0 % av total PUFA for gruppe A0 og A1 ved T2. Total PUFA var i snitt lavest ved T0 (26,0 %), men inneholdt til gjengjeld den største andelen av n-3 LC PUFA av alle uttak. Gruppe A3 hadde den høyeste andelen n-3 LC PUFA ved oppstart (T0), og utgjorde 16,5 % av alle FA. Den laveste verdien for n-3 LC PUFA ble funnet i filetene fra gruppe A0 ved T1, og utgjorde 12,1 % av alle FA. Andelen linolsyre (LA; C18:2n-6) og α -linolensyre (ALA; C18:3n-3) var jevnt lik mellom fiskegruppene ved alle uttak, men mengden LA og ALA økte fra T0 til T1 og T2. C20:2n-6 ble ikke påvist ved T0, mens det ved T1 og T2 var i snitt 0,7 % av denne FA. Total PUFA, n-3 PUFA og n-3 LC PUFA (%) for hver fiskegruppe (A0, A1 og A3) ved tre ulike uttakstidspunkt T0, T1 og T2 er presentert i **figur 8**.



Figur 8: Gjennomsnittlig fettsyreinnhold (areal %) av total PUFA, n-3 PUFA og n-3 LC PUFA i fett ekstrahert fra fiskemuskel i fiskegruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i fôret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i fôret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i fôret) ved oppstart (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2). T0: (n = 18), T1 + T2: (n = 15).

Tabell 8: Gjennomsnittlig fettsyreinnhold (areal \pm SD %) i fett ekstrahert fra fiskemuskel i gruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i fôret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i fôret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i fôret) ved oppstart (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2).

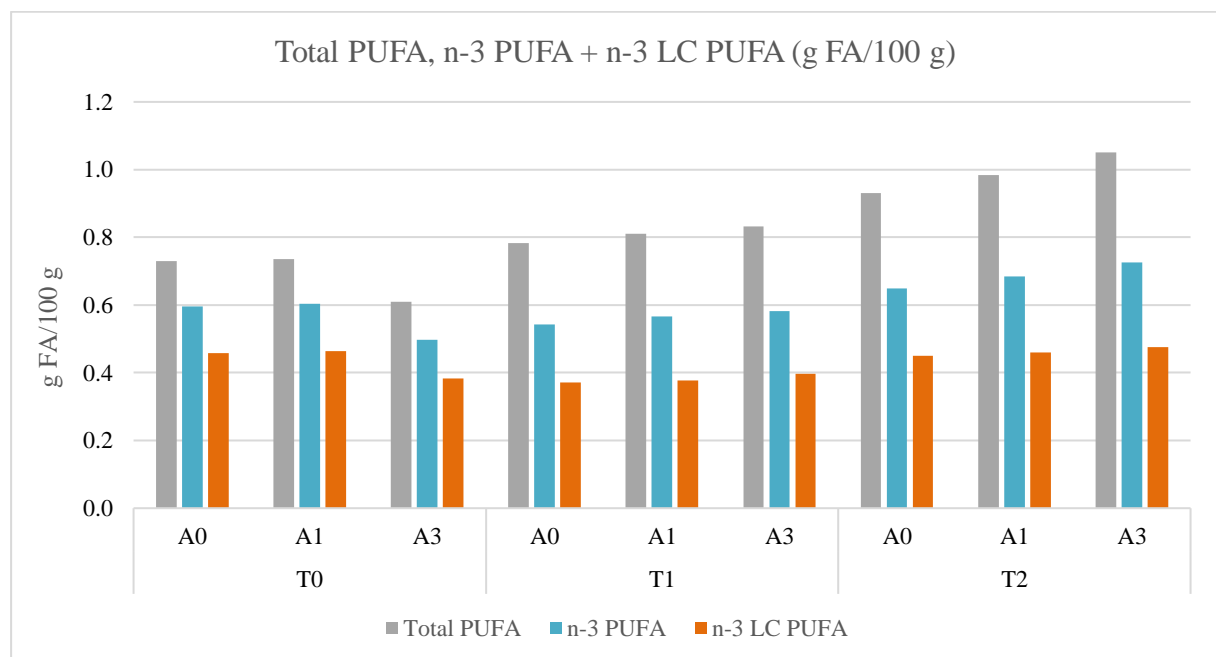
SFA = mettet fettsyre, MUFA = enumettet fettsyre, PUFA = flerumettet fettsyre, LC PUFA = langkjedet flerumettet fettsyre, n-3 = omega-3 fettsyre, n-6 = omega-6 fettsyre, ID = ikke identifisert, Σ ukjente FA = total sum ukjente FA for hver fiskegruppe.

Verdiene for T0 er basert på gjennomsnittet for tre replikater av totalt 2 samlede prøver fra 3 kar (3 og 3 individer slått sammen, totalt 6 individer per kar) for hver fiskegruppe (n = 18). Verdiene for T1 og T2 er basert på gjennomsnittet for tre replikater av 5 prøver fra vilkårlig valgte individer fra 3 kar for hver fiskegruppe (n = 15).

Uttak	T0 (n = 18)			T1 (n = 15)			T2 (n = 15)		
Fettsyrer	A0	A1	A3	A0	A1	A3	A0	A1	A3
C14:0	4,5 \pm 0,1	4,6 \pm 0,4	4,9 \pm 0,4	4,0 \pm 0,4	3,8 \pm 0,5	3,6 \pm 0,4	3,5 \pm 0,2	3,5 \pm 0,2	3,5 \pm 0,2
C16:0	15,9 \pm 0,6	16,0 \pm 1,7	17,3 \pm 1,5	15,6 \pm 1,7	14,9 \pm 1,6	14,1 \pm 1,0	13,8 \pm 0,4	13,4 \pm 0,6	13,3 \pm 1,1
C18:0	3,3 \pm 0,1	3,2 \pm 0,3	3,5 \pm 0,3	3,6 \pm 0,4	3,5 \pm 0,4	3,3 \pm 0,2	3,3 \pm 0,1	3,2 \pm 0,2	3,2 \pm 0,3
Total SFA	23,6	23,8	25,8	23,2	22,2	21,0	20,6	20,1	20,1
C16:1 n-7	4,9 \pm 0,1	4,7 \pm 0,1	4,9 \pm 0,2	3,4 \pm 0,2	2,9 \pm 0,3	3,2 \pm 0,2	3,5 \pm 0,2	3,3 \pm 0,1	3,3 \pm 0,2
C18:1 n-7	2,6 \pm 0,1	2,6 \pm 0,1	2,6 \pm 0,0	2,7 \pm 0,1	2,6 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1	2,7 \pm 0,0	2,7 \pm 0,0	2,7 \pm 0,1
C18:1 n-9	15,0 \pm 0,8	14,1 \pm 1,0	14,6 \pm 0,1	24,7 \pm 1,0	23,6 \pm 1,2	24,8 \pm 1,0	26,5 \pm 0,9	25,8 \pm 0,8	26,0 \pm 1,1
C18:1 n-12	1,8 \pm 0,1	1,8 \pm 0,1	1,8 \pm 0,0	1,6 \pm 0,3	1,6 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	1,5 \pm 0,2
C20:1 n-9	9,2 \pm 0,5	9,4 \pm 0,5	9,6 \pm 0,1	7,6 \pm 0,4	7,6 \pm 0,5	7,7 \pm 0,4	7,5 \pm 0,2	7,8 \pm 0,2	7,6 \pm 0,4
C22:1 n-9	1,1 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	1,0 \pm 0,2	1,0 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,8 \pm 0,0
C22:1 n-11	12,1 \pm 0,5	12,4 \pm 0,6	12,6 \pm 0,1	9,2 \pm 0,3	9,4 \pm 0,6	9,3 \pm 0,4	8,7 \pm 0,1	9,1 \pm 0,2	8,7 \pm 0,3
C24:1 n-9	0,9 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	0,9 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,0	0,8 \pm 0,0	0,8 \pm 0,1
Total MUFA	47,7	47,0	48,0	50,9	49,3	50,7	51,8	51,6	51,2
C18:2 n-6 (LA)	4,8 \pm 0,2	4,7 \pm 0,3	4,8 \pm 0,1	7,1 \pm 0,4	7,0 \pm 0,6	7,4 \pm 0,3	7,7 \pm 0,1	7,8 \pm 0,2	7,8 \pm 0,4
C18:3 n-3 (ALA)	1,3 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	2,8 \pm 0,3	3,3 \pm 0,8	3,2 \pm 0,5	3,2 \pm 0,2	3,5 \pm 0,3	3,7 \pm 0,3
C18:4 n-3	3,6 \pm 0,2	3,6 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2	2,7 \pm 0,2	2,8 \pm 0,2	2,8 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1	2,8 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1
C20:2 n-6	ID	ID	ID	0,6 \pm 0,1	0,8 \pm 0,5	0,7 \pm 0,3	0,6 \pm 0,0	0,7 \pm 0,0	0,7 \pm 0,1
C20:5 n-3 (EPA)	3,6 \pm 0,2 ^a	3,5 \pm 0,3 ^a	3,6 \pm 0,3 ^a	2,4 \pm 0,3 ^a	2,4 \pm 0,3 ^a	2,5 \pm 0,2 ^a	2,6 \pm 0,1 ^a	2,5 \pm 0,2 ^a	2,4 \pm 0,1 ^a
C22:5 n-3 (DPA)	1,4 \pm 0,2 ^a	1,3 \pm 0,2 ^a	1,4 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,1 ^a	1,1 \pm 0,1 ^a	1,1 \pm 0,0 ^a	1,1 \pm 0,1 ^a	1,0 \pm 0,1 ^a
C22:6 n-3 (DHA)	11,4 \pm 0,7 ^a	11,5 \pm 1,3 ^a	11,4 \pm 1,2 ^a	8,6 \pm 1,3 ^a	8,8 \pm 1,2 ^a	9,4 \pm 1,0 ^a	9,7 \pm 0,7 ^a	9,5 \pm 0,6 ^a	9,2 \pm 0,5 ^a
Total PUFA	26,1^a	25,9^a	26,2^a	25,3^a	26,2^a	27,2^a	27,7^a	27,7^a	27,6^a
Σ ukjente FA	16,6	21,0	-	11,6	44,6	26,3	2,7	9,5	17,6
Σ FA	97,4	96,6	100,0	99,4	97,6	98,8	100,1	99,5	98,8
Σ n-6 PUFA	4,8	4,7	4,8	7,8	7,8	8,1	8,3	8,4	8,5
Σ n-3 PUFA	21,2	21,2	21,4	17,6	18,4	19,0	19,4	19,3	19,1
Σ n-3 LC PUFA	16,4 ^a	16,3 ^a	16,5 ^a	12,1 ^a	12,2 ^a	13,0 ^a	13,4 ^a	13,0 ^a	12,6 ^a

Gjennomsnittlig fettsyreinnhold (g FA/100 g) vises i **tabell 9** for de ulike fiskegruppene (A0, A1 og A3) for tre ulike prøveuttak (T0, T1 og T2). Verdiene for PUFA (g FA/100g) var normalfordelte for alle uttak, og gruppe A3 hadde et signifikant forskjellig innhold av total PUFA enn både gruppe A0 og A1 ved T2 ($p < 0,05$). Det ble ikke målt signifikante forskjeller for innholdet av n-3 LC PUFA (g FA/100 g) eller for de enkelte fettsyrene EPA, DPA eller DHA mellom fiskegruppene ved noen av uttakene ($p > 0,05$).

Total PUFA (g FA/100g) økte med tid og for hver fiskegruppe ved T1 og T2 (**figur 9**). Den laveste verdien for total PUFA var 0,6 g/FA per 100 g fiskemuskel for gruppe A3 ved oppstart (T0), som økte til å utgjøre 1,1 g/FA per 100 g fiskemuskel ved T2. Total PUFA var i snitt her også lavest ved første uttak (T0) (0,7 g FA/100 g), men innholdet av n-3 LC PUFA utgjorde en større del av total PUFA på T0. Fiskegruppe A3 hadde den høyeste andelen n-3 LC PUFA ved T2, der det totale innholdet var 0,5 g FA/100 g fiskemuskel. Den laveste verdien for n-3 LC PUFA, ble funnet i filetene til gruppe A0 ved T1 der det gjennomsnittlige innholdet ble målt til 0,4 g FA/100 g fiskemuskel. Innholdet av linolsyre (LA; C18:2 n-6) og α -linolensyre (ALA; C18:3 n-3) var jevnt mellom fiskegruppene ved alle uttak, men der mengden LA og ALA økte fra T0 til T1 og T2. C20:2 n-6 ble ikke påvist ved T0, mens denne FA ble påvist både ved T1 og T2. Total PUFA, n-3 PUFA og n-3 LC PUFA (g FA/100 g) for hver fiskegruppe (A0, A1 og A3) ved tre ulike uttakstidspunkt (T0, T1 og T2) er presentert i **figur 9**.



Figur 9: Gjennomsnittlig fettsyreinnhold (g FA/100 g) av total PUFA, n-3 PUFA og n-3 LC PUFA i fett ekstrahert fra fiskemuskel i fiskegruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i føret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i føret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i føret) ved oppstart (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2). T0: (n = 18), T1 + T2: (n = 15).

Tabell 9: Gjennomsnittlig fettsyreinnhold (g ± SD FA/100 g) i fett ekstrahert fra fiskemuskel i fiskegruppe A0 (0 % innhold av *P. glacialis* i føret), A1 (1 % innhold av *P. glacialis* i føret) og A3 (3 % innhold av *P. glacialis* i føret) ved oppstart (T0), etter 64 dager (T1) og etter 108 dager (T2). Forkortelser som i **tabell 8**.

Verdiene for T0 er basert på gjennomsnittet for tre replikater av totalt 2 samlede prøver fra 3 kar (3 og 3 individer slått sammen, totalt 6 individer per kar) for hver fiskegruppe (n = 18). Verdiene for T1 og T2 er basert på gjennomsnittet for tre replikater av 5 prøver fra vilkårlig valgte individer fra 3 kar for hver fiskegruppe (n = 15).

Uttak	T0 (n = 18)			T1 (n = 15)			T2 (n = 15)		
Fettsyrer	A0	A1	A3	A0	A1	A3	A0	A1	A3
C14:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C16:0	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
C18:0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
Total SFA	0,7	0,7	0,6	0,7	0,7	0,6	0,7	0,7	0,8
C16:1 n-7	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C18:1 n-7	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,1
C18:1 n-9	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,8 ± 0,3	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,2	1,0 ± 0,4
C18:1 n-12	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C20:1 n-9	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
C22:1 n-9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C22:1 n-11	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
C24:1 n-9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Total MUFA	1,3	1,3	1,1	1,6	1,5	1,6	1,8	1,8	2,0
C18:2 n-6 (LA)	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
C18:3 n-3 (ALA)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0
C18:4 n-3	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C20:2 n-6	ID	ID	ID	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C20:5 n-3 (EPA)	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a
C22:5 n-3 (DPA)	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
C22:6 n-3 (DHA)	0,3 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,7 ^a	0,3 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^a	0,4 ± 0,1 ^a
Total PUFA⁷	0,7^a	0,7^a	0,6^a	0,8^a	0,8^a	0,8^a	0,9^a	1,0^a	1,1^b
Σ ukjente FA	0,4	0,6	-	0,3	1,3	1,0	0,1	1,3	0,6
Σ FA	2,7	2,8	2,3	3,1	3,0	3,0	3,4	3,5	3,8
Σ n-6 PUFA	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
Σ n-3 PUFA	0,6	0,6	0,5	0,5	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7
Σ n-3 LC PUFA	0,5 ^a	0,5 ^a	0,4 ^a	0,4 ^a	0,4 ^a	0,4 ^a	0,5 ^a	0,5 ^a	0,5 ^a

⁷ Total PUFA (T2) - A0 og A3 signifikant forskjellig*, A1 og A3 signifikant forskjellig*

4 Diskusjon

Etterspørselen etter gode protein- og fettkilder til bruk i fiskefôr er økende, samtidig som tilgangen på de høyverdige råstoffene fiskemel og fiskeolje er begrenset. Oppdrettsnæringen er avhengig av å utvikle og ta i bruk alternative ingredienser i fremtidens fôrproduksjon, uten at dette reduserer næringsinnholdet eller påvirker fiskehelsen negativt. Målet med masteroppgaven var å undersøke om kiselalger (*P. glacialis*) kan inngå som en alternativ fôringrediens, vurdert på forskjeller i biokjemisk sammensetning i fiskefiletene mellom de ulike fiskegruppene. Tre fiskegrupper (A0, A1 og A3) ble fôret med fôr tilsatt henholdsvis 0, 1 og 3 % uprosessert algebiomasse. Fiskegruppene som hadde 1 og 3 % algebiomasse i fôret (A1 og A3), ble sammenlignet opp mot fiskegruppen som hadde 0 % algebiomasse i fôret (A0).

Lakseyngelen vokste effektivt i fôringsperioden på 0-108 dager (T0 - T2), der alle tre fiskegruppene nesten firedoblet vekten (**tabell 3**). Det var ingen signifikante forskjeller i lengde og vekt mellom de ulike fiskegruppene, mens differansen mellom målt minimumsverdi og maksimumsverdi for vekt (g) var stor hos alle gruppene ved alle uttak. Resultatene viser altså at gruppene som fikk et fôr bestående av henholdsvis 1 og 3 % algebiomasse hadde lik vekst- og lengdeutvikling som fiskegruppen som fikk fôr med 0 % algebiomasse. Det var heller ingen signifikante forskjeller i spesifikk vekstrate (SGR) mellom fiskegruppene mellom de ulike uttakene. Fisken vokste i snitt med $1,3 \pm 0,2$ % per dag fra første uttak (T0) til tredje uttak (T2) (**tabell 4**). Fisken vokste raskest i perioden mellom dag 0 (T0) og 64 (andre uttak, T1), der fiskegruppen fôret med 1 % algebiomasse i fôret hadde en litt lavere tilvekst (1,6 % per dag) enn de to andre fiskegruppene med 0 % og 3 % algebiomasse i fôret (1,8 % per dag). Eilertsen et al. (2021) utførte et liknende fôrforsøk der 2 % biomasse av kiselalgen *P. glacialis* var tilsatt i fôret, og fant at fiskegruppen fôret med algefôr hadde en signifikant høyere SGR enn to av tre andre fiskegrupper inkludert i forsøket. Fisken fôret med algefôr vokste i snitt med $1,42 \pm 0,02$ % per dag over en periode på 67 dager. Ulikt fisken og fôrsammensetningen i dette fôrforsøket, hadde Eilertsen et al. (2021) en litt større fisk på starten av forsøket (134,9 g), der fôret i tillegg inneholdt under halvparten så mye fiskemel (25 % av tørrvekt) som fôrene i denne studien vist i **tabell 2**.

Gjennomsnittlig kondisjonsfaktor (KF) var lik og ikke signifikant forskjellig mellom fiskegruppene ved alle tre uttak. KF økte for fiskegruppe A0 og A3 fra T0 til T1, men hadde en nedgang fra T1 til T2 (**tabell 5**). Lakseyngelen hadde over tid i fôringsforsøket blitt utsatt for ulike lokale stressfaktorer som jevnlig håndtering og sortering. I tillegg ble fisken, for å starte

på en smoltifiseringsprosess, utsatt for en overgang til vinterlys og lavere temperatur før tredje uttak (T2). Å utsette akvatiske organismer for ulike typer stressfaktorer, kan resultere i en rekke biokjemiske og fysiologiske endringer i fisken. Eksponering for stressfaktorer over lengre tid kan blant annet kan føre til redusert vekst og ytelse (Nakano et al., 2014, 2017). Under smoltifisering vil laksesmolt i tillegg få en slankere og sølvfarget kropp, som gjør at KF vil avta. Nivået av enzymet Na-K-ATPase som står for ioneregulering benyttes ofte som indikator på smoltifisering (Ugedal et al., 2014), men i dette studiet ble nivået av dette enzymet ikke målt. Med tanke på de miljømessige endringene som ble påført fisken før siste uttak, samt en begynnende smoltifiseringsprosess som gir en forventet nedgang i KF, kan dette mulig forklare nedgangen i kondisjonsfaktor fra T1 til T2 for fiskegruppe A0 og A3.

Den biokjemiske sammensetningen i fiskefiletene varierte litt mellom de tre ulike uttakene (**tabell 6**). Resultatene fra dette forsøket viste at innholdet av vann i fiskefiletene fra alle fiskegruppene var høyest ved T0. Fiskegruppe A3 hadde et signifikant høyere innhold av vann i filetene (76,8 %) enn gruppe A1 (76,4 %) ved T0, samtidig som gruppe A3 hadde et signifikant lavere innhold av vann (73,7 %) enn både gruppe A0 og A1 ved T2. Vanninnholdet i fiskefiletene var jevnt lik mellom alle fiskegrupper ved alle uttak, men avtok med tid og for hvert uttak.

Askeinnhold i alger er kjent for å være høyt, og er et viktig parameter for fôrkvalitet, ettersom aske inneholder store deler ubrennbart uorganisk materiale (Liu, 2017). Askeinnholdet i fôret tilsatt 1 og 3 % algebiomasse var ukjent, men Eilertsen et al. (2021) målte et askeinnhold på 9,4 % (av tørrvekt) i et fôr bestående av 2 % biomasse kiselalger. Askeinnholdet var høyest for alle fiskegrupper ved T0 ($1,3 \pm 0,1$ %), men avtok fra T0 til T1 for alle fiskegrupper. Det laveste innholdet ble funnet for gruppe A1 når lakseyngelen i gruppen i snitt veide 73,2 gram på tredje uttak T2 ($1,1 \pm 0,1$ %). Resultatene viste tilnærmet likt innhold av aske mellom gruppene ved alle uttak, og det ble heller ikke målt signifikante forskjeller i askeinnhold mellom fiskegruppene ved noen av uttakene.

Hvorvidt 1,3 % er et høyt askeinnhold, kan muligens sees opp mot målt innhold av aske i kiselalgearten *P. glacialis* som ble benyttet som algebiomasse i fôrene. Sommerlund (2022) fant at mel av *P. glacialis* inneholdt 50,7 % aske på tørrvektsbasis, der den høye verdien skyldtes innholdet av silisium i kiselalgeskallet. I dette studiet inneholdt algefôrene henholdsvis bare 1 og 3 % algebiomasse, og resultatene viste at så små mengder av kiselalger i fôret ikke påvirket askeinnholdet i fiskefiletene til fisk fôret med 1 og 3 % algebiomasse. Dette kan også begrunnes i at det ikke var signifikante forskjeller i askeinnhold i fiskefiletene mellom fiskegruppene ved noen av uttakene. Det er tenkelig og forventet at en større algebiomasse i

fôret hadde påvirket askeinnholdet mer i filetene til fiskegruppe A1 og A3, på bakgrunn av det høye askeinnholdet som er målt i mel av kiselalgen *P. glacialis*.

Fiskemel har lenge vært den mest benyttede proteinkilden til fiskefôr grunnet høyt proteininnhold, og særlig innholdet og sammensetningen av EAA. I tillegg inneholder fiskemel lettfordøyelige proteiner og mindre av antinutrielle faktorer enn mel fra vegetabiliske ressurser (Daniel, 2018). De ulike fôrene inneholdt alle en høy andel fiskemel, der innholdet av fiskemel (og vegetabiliske proteinkilder) avtok noe ved økende algeinnblanding (**tabell 2**). Fôret med 0 % algebiomasse, inneholdt dermed mest fiskemel (58,3 %), mens fiskemel kun utgjorde 56,8 % i fôret med 3 % algebiomasse (pelletstørrelse 1,7 og 2,2 mm). Gjennomsnittlig proteininnhold (% av våtvekt) økte med økende fiskestørrelse, og var høyest ved tredje uttak (T2) (**tabell 6**). Proteininnholdet var høyest i filetene fra fisk fôret med 0 % algebiomasse i fôret, etter både 64 dager (T1) og 108 dager (T2), men hadde det laveste proteininnholdet like etter oppstart (T0). Fiskegruppe A3 hadde et signifikant høyere proteininnhold i filetene enn fiskegruppen som fikk fôr med 0 % algebiomasse ved T0. Det ble i tillegg målt en signifikant forskjell i proteininnhold mellom de samme fiskegruppene (A0 og A3) ved T2, og kan muligens ses i sammenheng med et lavere innhold av både fiskemel og vegetabiliske proteinkilder i fôret med 3 % algebiomasse, da gruppe A3 hadde det laveste proteininnholdet ved både andre (T1) og tredje uttak (T2).

Kvaliteten på proteinkilder vurderes oftest på bakgrunn av det totale proteininnholdet og mengden essensielle aminosyrer (EAA), men også av proteinenes fordøyelighet og evne til å absorberes (Eilertsen et al., 2022). Mikroalger inneholder mellom 20 - 60 % protein på tørrstoffbasis, og er en utmerket kilde til EAA (Wang et al., 2021; Eilertsen et al., 2022). Resultatene viste at det ikke var en signifikant forskjell i innholdet av EAA (mg AA/g) ved første (T0) og andre uttak (T1) mellom fiskegruppene, men at fiskefiletene fra fiskegruppen fôret med 0 % algebiomasse hadde et signifikant høyere innhold av EAA enn både gruppe A1 og A3 ved tredje uttak (T2). Innholdet av EAA i filetene fra fiskegruppe A0 ble målt til 92,9 mg EAA/g ved T2 (**tabell 7**). Det var også en signifikant forskjell mellom filetene fra fisk fôret med 1 % algebiomasse (A1) og med 3 % algebiomasse (A3) ved samme uttak (T2), der gruppe A3 inneholdt den laveste andelen EAA (89,1 mg EAA/g) (**tabell 7**). Det er tenkelig at de signifikante forskjellene ved T2 skyldtes et høyere innhold av fiskemel tilsatt i fôret med 0 % algebiomasse og fôret med 1 % algebiomasse (**tabell 2**), da mengden EAA avtar ved økende algeinnblanding. Den samme trenden ble funnet ved andre uttak (T1), der mengden EAA økte med økende innhold av fiskemel i fôret (avtakende algebiomasse). Fiskegruppe A0 hadde også det høyeste innholdet av de begrensede EAA metionin, (tryptofan), lysin og treonin (i

plantebaserte proteinkilder) ved både T1 og T2. Tryptofan ble fullstendig nedbrutt under syrehydrolyse, og innholdet av denne EAA ble dermed ikke målt, men verdiene kunne bidratt i vurderingen om algebiomasse påvirket innholdet av de ulike EAA. Den økte andelen fiskemel kan forklare økningen for disse EAA for gruppe A0 ved T1 og T2. På første uttak (T0) var det en omvendt trend enn ved andre og tredje uttak. Her økte den totale andelen EAA og innholdet av de ulike EAA metionin, lysin og treonin med økt algebiomasse i fôret. Ingen signifikante forskjeller i andelen EAA ble målt, men innblanding av algebiomasse i fôret så her ut til å påvirke innholdet av EAA i fiskefiletene til fiskegruppe A1 og A3, til tross for at andelen fiskemel var lavere i fôret til fiskegruppe A1 og A3 enn i fôret til fiskegruppe A0.

Innholdet av EAA kan videre sees opp mot målt proteinnivå i fiskefiletene fra de ulike fiskegruppene. Ved de ulike uttakene, var det fiskegruppen med høyest andel protein (%) i fiskefiletene (**tabell 6**) som inneholdt den høyeste andelen EAA (**tabell 7**). Påvirkningen av å tilsette kiselalger som en fôrkomponent, hadde kanskje vært mer synlig dersom grunnsammensetningen hadde vært lik mellom fôrene (**tabell 2**). Etersom kiselalgen *P. glacialis* i tillegg ble tilsatt som uprosesert biomasse i fôret, kunne muligens innholdet av EAA vært høyere dersom kiselalgen ble tilsatt i en mer raffinert form som proteinkonsentrat eller proteinisolat i fôret, ettersom dette kan bidra til å øke både proteinkvalitet og fordøyelighet av proteinene til kiselalgearten (Banaszek et al., 2019). Sommerlund (2022) fant at protein fra fiskemel hadde større evne til nedbrytning i magesekkefasen enn mel av ulike kiselalgearter, herav også mel av *P. glacialis*. Det silikatholdige celledetallet til kiselalgen *P. glacialis* kan nemlig redusere proteinfordøyeligheten ved å hindre tilgangen til proteiner fra mikroalger for fordøyelsesenzymmer (Colgrave et al., 2021).

Gjennomsnittlig fettinnhold (% av våtvekt) i filetene til fiskegruppe A1 og A3 økte for hvert uttak (**tabell 6**). Filetene til fiskegruppe A3 med 3 % algebiomasse i fôret hadde et signifikant høyere innhold av fett enn gruppe A0 ved tredje uttak (T2). Fettinnholdet for fiskegruppe A0 og A3 ble henholdsvis målt til $4,2 \pm 1,1$ og $4,9 \pm 1,1$ % ved T2. Dette utgjorde også den største variasjonen i fettinnhold mellom fiskegruppene ved alle tre uttak. Fôret med 3 % algeinnblanding (pelletstørrelse 1,7 mm og 2,2 mm) inneholdt tilnærmet like mengder fiskeolje og vegetabiliske fettkilder som de to andre fôrene, i tillegg til 3 % algebiomasse. Fôret med 3 % algeinnblanding inneholdt 0,01 % mindre fiskeolje enn fôret med 0 og 1 % algebiomasse (**tabell 2**). Tidligere studier har målt at mel av kiselalgen *P. glacialis* inneholdt 12,1 % fett på tørrvektsbasis (Sommerlund, 2022). Det litt høyere fettinnholdet målt i fiskegruppe A3 ved T2 kan muligens sees i sammenheng med 3 % høyere innhold av mikroalger i fôret enn i fôret til fiskegruppe A0. Til tross for høyere fettinnhold for gruppe A3 ved T2, var de målte verdiene

for fettinnhold til fiskegruppe A3 jevnt over litt lavere enn hos to andre fiskegruppene ved første (T0) og andre uttak (T1).

Når det kommer til innholdet av fettsyrer i fiskefôr og fisk som næringskilde for humant konsum, er det spesielt innholdet av n-3 LC PUFA som er av interesse. Tidlige studier av laksefisk i ferskvannsfasen, viste at innholdet av omega-3 fettsyrer i fôret resulterte i fisk som vokste raskere og utnyttet ingrediensene i fôret bedre (Lee et al., 1967). Ruyter et al. (2001) fant også ut at ved å tilsette opp til 1 % (av tørrvekt) omega-3 fettsyrer i fôret, resulterte i raskere vekst hos lakseyngel. I tillegg vokste yngelen bedre dersom omega-3 fettsyrene var tilsatt som marine n-3 LC PUFA (miks av EPA og DHA), og ikke bare inkluderte omega-3 fettsyren ALA (18:3n-3). I vår studie ble ulike grunnsammensetninger av fôret benyttet, der den største ulikheten lå i at fôret med pelletstørrelse 1,3 mm ikke inneholdt noen vegetabiliske fettkilder (**tabell 2**). Dette kom særlig godt frem i forholdet mellom innholdet av total PUFA og n-3 PUFA (%) ved første uttak (T0) illustrert i **figur 8**. En betydelig høyere andel PUFA ved T0 besto av n-3 LC PUFA, som følge av det høye innholdet av EPA, DPA og DHA i fiskeolje.

Ved de to neste fôrstørrelsene (1,7 mm og 2,2 mm) var det tilsatt 6,2 % vegetabiliske oljer, samtidig som tilsatt mengde fiskeolje var redusert (**tabell 2**). Som forventet gikk innholdet av n-3 LC PUFA (%) ned fra T0 til T1 og T2 (**tabell 8**), da plantebaserte fettkilder er rike på omega-6 fettsyrer, samtidig som innholdet av n-3 LC PUFA (EPA, DHA og DPA) i fôret var redusert. Dette oppsummeres også godt i **figur 8**, der andelen PUFA (%) var nokså lik i alle filetene til alle fiskegruppene ved alle uttak, samtidig som innholdet av n-6 PUFA (%) ved T1 og T2 økte (andelen n-3 LC PUFA avtok). Omega-6 fettsyren C20:2n-6 ble ikke identifisert ved T0 og bidro i økningen av omega-6 fettsyrer, da denne fettsyren ble påvist ved både andre (T1) og tredje uttak (T2). Det kan også være verdt å nevne at innholdet av omega-6 fettsyren LA økte betydelig fra T0 til T1 og T2. I snitt utgjorde denne fettsyren 4,8 % av alle fettsyrer ved T0, og økte til å utgjøre henholdsvis 7,2 % og 7,7 % i snitt ved T1 og T2. Tilførselen av plantebaserte fettkilder i fôret kan forklare denne økningen.

Til tross for den økte andelen omega-6 fettsyrer (%) i filetene ved T1 og T2, utgjorde n-3 LC PUFA (%) den høyeste andelen i fiskegruppen fôret med 3 % algebiomasse (A3) ved både T0 og T1. Ved T2 inneholdt filetene fra fiskegruppe A3 den laveste andelen n-3 LC PUFA (%), og utgjorde 12,6 % av alle fettsyrer. Til tross for at mikroalger er primærprodusenter av de viktige omega-3 fettsyrene EPA og DHA, ga algebiomasse i fôret ingen signifikant forskjell i innhold av verken total PUFA (%) eller n-3 LC PUFA (%) mellom noen av fiskegruppene ved noen av uttakene.

Fettsyreinnholdet i g FA/100 g filet ble også beregnet i dette studiet (**tabell 9**). Total PUFA (g FA/100g) økte for hvert uttak, og også med økende algeinnblanding ved siste uttak (T2). Mengden n-3 LC PUFA (g FA/100 g) i filetene til fiskegruppe A0 og A1 avtok litt fra første til andre uttak, men økte til å inneholde 0,5 g/n-3 LC PUFA per 100 gram filet ved uttak 3 (T2). Innholdet av n-3 LC PUFA var jevn for alle fiskegrupper ved alle tre uttak. Forholdet mellom omega-3 og omega-6 fettsyrer (g FA/100g) økte fra T0 til T1 og T2, som illustreres godt i **figur 9**. Figuren viser at mengden PUFA økte, samtidig som forholdet mellom total PUFA og n-3 PUFA gikk ned. Det ble her heller ikke målt signifikante forskjeller i innholdet av n-3 LC PUFA (g FA/100 g) mellom noen av fiskegruppene for alle tre uttak, men det er verdt å nevne at filet fra fiskegruppene fôret med 1 og 3 % algebiomasse (A1 og A3) inneholdt en liten økning i g/PUFA per 100 gram filet enn fiskegruppen fôret med 0 % algebiomasse (A0). Ettersom fôret inneholdt tilnærmet samme mengde fiskeolje og plantebaserte oljer ved de ulike pelletstørrelsene (**tabell 2**), kan økningen i PUFA (g FA/100 g) i filetene til fiskegruppene A1 og A3 mulig knyttes opp mot innholdet av mikroalger. Forskjellen hadde, derimot, muligens vært mer tydelig dersom grunnsammensetningen av de ulike fôrene var 100 % lik.

Dalheim et al. (2021) fant at olje ekstrahert fra *P. glacialis* inneholdt 28,9 % EPA. Et annet studie fant at innholdet av EPA i frysetørket mel av *P. glacialis* utgjorde 37,2 % av alle fettsyrene, men der innholdet av DHA utgjorde en mindre andel av alle FA enn i kommersielt fiskemel (5,5 % mot 18,6 % i fiskemel) (Sommerlund, 2022). Det er verdt å merke seg at biomasse av *P. glacialis* ikke ble tilsatt som ekstrahert olje i fôrene med 1 og 3 % algebiomasse, men som uprosessert biomasse. Innblanding av mikroalger i fôret viste ingen signifikant forskjell eller merkbar økning for EPA eller DHA i % eller som g FA/100 g i filetene til fiskegruppene. Andelen DHA var på den andre siden betydelig høyere enn mengden EPA, og kan muligens skyldes det høye innholdet av fiskemel i fôrene, samt et innskudd av fiskeolje. Både andelen EPA og DHA avtok fra T0 til T1 og T2 når andelen fiskeolje ble justert ved fôrstørrelse 1,7 mm og 2,2 mm, men nivåene var jevnt like for alle fiskegrupper.

5 Konklusjon

På bakgrunn av resultatene i denne studien har innholdet av uprosessert biomasse av kiselalgen *P. Glacialis* i fôret ikke gitt signifikante forskjeller i vekt og lengdeutvikling, samt for innholdet av aske og n-3 LC PUFA i fiskefiletene, mellom fiskegruppene som fikk henholdsvis 0 %, 1 % og 3 % algebiomasse i fôret. Likevel inneholdt filetene til fiskegruppene med 1 % algebiomasse og 3 % algebiomasse i fôret en liten økning i total PUFA per 100 gram filet ved tredje uttak enn filetene til fiskegruppen med 0 % algebiomasse i fôret. Innholdet av n-3 LC PUFA var på den andre siden lik mellom alle fiskegruppene ved alle uttak. Innholdet av EAA i fiskefiletene var signifikant forskjellig mellom alle fiskegruppene ved tredje uttak, der fiskegruppene med algebiomasse i fôret hadde et lavere innhold av EAA i filetene enn fiskegruppen med 0 % algebiomasse i fôret, og resultatene kan knyttes opp mot redusert innhold av fiskemel med økende algeinnblanding i fôret. Resultatene alene gir lite grunnlag for å påstå at mikroalger er et reelt alternativ som en fremtidig fôringrediens, men en større konsentrasjon av mikroalger i fôret kunne sannsynligvis tilført mer av de viktige omega-3 fettsyrene når plantebaserte fettkilder inngår i laksefôret, samt gitt en økning for EAA i filetene, men uten å påvirke vekst og fiskehelse negativt. En lik grunnsammensetning av de benyttede fôrene med ulik biomasse av kiselalger, hadde muligens også gjort resultatene mer sammenlignbare.

Interessen for bruken av mikroalger til fôrproduksjon er på den andre siden stor, da de kan inngå som en bærekraftig og fornybar kilde til n-3 LC PUFA og EAA, som kan dyrkes effektivt i bioreaktorer under tilstrekkelige fotosyntetiske forhold (Dalheim et al., 2021; Eilertsen et al., 2022). Det gjenstår imidlertid å kunne forske på dette i en større skala og ved større fiskestørrelser. Fiskegruppene i dette studiet skal etter planen fôres med algefôr til oppnådd vekt er 1500 gram, og videre forskning kan vise hvordan algeinnblanding i fôret kan påvirke biokjemisk sammensetning, som innholdet av viktige omega-3 fettsyrer og essensielle aminosyrer, i en mer utviklet laksefisk.

6 Litteraturliste

- Ahmad, I. (2023). Potential of Microalgae as Feed Supplements for Sustainable Aquaculture. *Pakistan Journal of Zoology*, 55(1), 419-436.
- Dembitsky, V. M. & Kuklev, V. D. (2017). Acetylenic Epoxy Fatty Acids: Chemistry, Synthesis, and Their Pharmaceutical Applications. I A. Moghis (Red.), *Fatty Acids: Chemistry, Synthesis, and Applications* (s. 121-146). Academic Press & AOCS.
- Amato, A. (2010). Diatom Reproductive Biology: Living in a Crystal Cage. *The International Journal of Plant Reproductive Biology*, 2(1), 1–10.
- Amin, S. A., Parker, M. S. & Armbrust, E. V. (2012). Interactions between Diatoms and Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(3), 667–684.
- Andersen, R. A. (2013). The Microalgal Cell. I A. Richmond & Q. Hu (Red.), *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (2. utg.), s. 1–20. John Wiley & Sons Inc, New Jersey.
- Andersen, S. M., Waagbø, R. & Espe, M. (2016). Functional amino acids in fish health and welfare. *Frontiers in Bioscience-Elite*, 8(1), 143–169.
- AOAC. (1975). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists (12. utg.).
- 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).
- Banaszek, A., Townsend, J. R., Bender, D., Vantrease, W. C., Marshall, A. C. & Johnson, K. D. (2019). The Effects of Whey vs. Pea Protein on Physical Adaptations Following 8-Weeks of high-Intensity Functional Training (HIFT): A Pilot Study. *Sports*, 7(1), 12.
- Bayu, A., Rachman, A., Noerdjito, D. R., Putra, M. Y. & Widayatno, W. B. (2020). High-value chemicals from marine diatoms: A biorefinery approach. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 460(1).
- Bromke, M. (2013). Amino Acid Biosynthesis Pathways in Diatoms. *Metabolites*, 3(2), 294–311.
- Burckle, L. H. (1979). Diatoms. I R. W. Fairbridge & D. Jablonski (Red.), *Encyclopedia of Paleontology* (s. 247–253). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Christie, W. W. & Han, X. (2010). The preparation of methyl and other esters of fatty acids. I *Lipid Analysis*, part 3, (4. utg.). Oily Press, Bridgewater, England.
- Chu, M. (2014). Diatoms: Glass Ornaments of the Earth's Waters. I M. Lee (Red.), *Remarkable Natural Material Surfaces and Their Engineering Potential* (s. 41–52). Springer International Publishing, Switzerland.
- Colgrave, M. L., Dominik, S., Tobin, A. B., Stockmann, R., Simon, C., Howitt, C. A., Belobrajdic, D. P., Paull, C. & Vanhercke, T. (2021). Perspectives on Future Protein Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(50), 15076-15083.
- Dahl, E., Naustvoll, L.-J. & Hoddevik, B. (2005). *Vår i sjøen*. Hentet 19.04.23 fra: https://imr.brage.unit.no/imr-xmlui/bitstream/handle/11250/115915/Nr.3_Vaar_i_sjen.pdf?sequence=1

- Dalheim, L., Svenning, J. B. & Olsen, R. L. (2021). 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.
- Damodaran, S. (1996). Amino Acids, Peptides, and Proteins. I O. R. Fennema (Red.), *Food Chemistry* (3. utg.), s. 219-323. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Daniel, N. (2018). A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6(2), 164–179.
- Di Pasquale, M. G. (2009). The Essentials of Essential Fatty Acids. *Journal of Dietary Supplements*, 6(2), 143–161.
- Eilertsen, H. C., Elvevoll, E., Giæver, I. H., Svenning, J. B., Dalheim, L., Svalheim, R. A., Vang, B., Siikavuopio, S., Dragøy, R., Ingebrigtsen, R. A., Hansen, E., Hustad, A. & Eilertsen, K.-E. (2021). Inclusion of photoautotrophic cultivated diatom biomass in salmon feed can deter lice. *PLoS ONE*, 16(7), e0255370.
- Eilertsen, H. Chr., Eriksen, G. K., Bergum, J.-S., Strømholth, J., Elvevoll, E., Eilertsen, K.-E., Heimstad, E. S., Giæver, I. H., Israelsen, L., Svenning, J. B., Dalheim, L., Osvik, R., Hansen, E., Ingebrigtsen, R. A., Aspen, T. & Wintervoll, G.-H. (2022). Mass Cultivation of Microalgae: I. Experiences with Vertical Column Airlift Photobioreactors, Diatoms and CO₂ Sequestration. *Applied Sciences*, 12(6), 3082.
- Espe, M., Berge, G. E. & Lied, E. (2001). Protein og aminosyrer. I R. Waagbø, M. Espe & K-Hamre (Red.), *Fiskeernæring* (s. 37-56). Kystnæringen Forlag & Bokklubb, Bergen.
- 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.
- FAO. (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022*. Towards Blue Transformation. Roma, FAO.
- Francis, G., Makkar, H. P. S. & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3–4), 197–227.
- Grimm, K. E. & Ellis, B. (1963). Spotlight on Diatoms. *The American Biology Teacher*, 25(1), 9–17.
- Guiry, M. D. (2012). How many Species of Algae are there? *Journal of Phycology*, 48(5), 1057–1063.
- Hardy, R. W. & Barrows, F. T. (2003). Diet Formulation and Manufacture. I J. E. Halver & R. W. Hardy (Red.), *Fish Nutrition* (s. 505–601). Academic Press, San Diego.
- Hasle, G. R. & Syvertsen, E. E. (1997). Marine Diatoms. I C. R. Tomas (Red.), *Identifying Marine Phytoplankton* (s. 5-361). Academic Press, San Diego.
- Hastings, N., Agaba, M., Tocher, D. R., Leaver, M. J., Dick, J. R., Sargent, J. R. & Teale, A. J. (2001). A vertebrate fatty acid desaturase with $\Delta 5$ and $\Delta 6$ activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(25), 14304–14309.
- 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), artikkel nr.: 36.
- Lee, D. J., Roehm, J. N., Yu, T. C. & Sinnhuber, R. O. (1967). Effect of $\omega 3$ Fatty Acids on the Growth Rate of Rainbow Trout, *Salmo gairdnerii*. *The Journal of Nutrition*, 92(1), 93–98.
- Lee, S.-M. (2001). Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture Research*, 32(s1), 8–17.
- Li, P., Kangsen, M., Trushenski, J. & Wu, G. (2009). New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*, 37, 43–53.

- Liu, K. (2017). Characterization of ash in algae and other materials by determination of wet acid indigestible ash and microscopic examination. *Algal Research*, 25, 307–321.
- Lundebye, A.-K., Lock, E.-J., Rasinger, J. D., Nøstbakken, O. J., Hannisdal, R., Karlsbakk, E., Wennevik, V., Madhun, A. S., Madsen, L., Graff, I. E. & Ørnstrud, 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*). *Environmental Research*, 155, 49–59.
- 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.
- Masojídek, J., Torzillo, G. & Koblížek, M. (2013). Photosynthesis in Microalgae. I A. Richmond & Q. Hu (Red.), *Handbook of Microalgal Culture* (2. utg., s. 21-36). John Wiley & Sons Inc, New Jersey.
- Mæhre, H., Dalheim, L., Edvinsen, G., Elvevoll, E. & Jensen, I.-J. (2018). Protein Determination - Method Matters. *Foods*, 7(1), 5.
- Nagappan, S., Das, P., AbdulQuadir, M., Thaher, M., Khan, S., Mahata, C., Al-Jabri, H., Vatland, A. K. & Kumar, G. (2021). Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture. *Journal of Biotechnology*, 341, 1–20.
- Nakano, T., Kameda, M., Shoji, Y., Hayashi, S., Yamaguchi, T. & Sato, M. (2014). Effect of severe environmental thermal stress on redox state in salmon. *Redox Biology*, 2, 772–776.
- Nakano, T., Wu, H., Arimoto, T., Endo, H., Yamaguchi, T. & Ochiai, Y. (2017). Some artificially applied stressors have a positive effect on fish fitness. In *Proceedings of the JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium "Fisheries Science for Future Generations"* (s. 22-24). Tokyo, Japan.
- 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 Biogeochemical Cycles*, 9(3), 359–372.
- Nieri, P., Carpi, S., Esposito, R., Costantini, M. & Zupo, V. (2023). Bioactive Molecules from Marine Diatoms and Their Value for the Nutraceutical Industry. *Nutrients*, 15(2), 464.
- Olsen, R. (2017). *Lipidkjemi med vekt på fisk*. Universitetet i Tromsø, Tromsø, Norge.
- Olsen, R. L. & Hasan, M. R. (2012). A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology*, 27(2), 120–128.
- Pike, J., Crosta, X., Maddison, E. J., Stickley, C. E., Denis, D., Barbara, L. & Renssen, H. (2009). Observations on the relationship between the Antarctic coastal diatoms *Thalassiosira antarctica* Comber and *Porosira glacialis* (Grunow) Jørgensen and sea ice concentrations during the late Quaternary. *Marine Micropaleontology*, 73(1-2), 14-25.
- Potapova, M. G. & Charles, D. F. (2002). Benthic diatoms in USA rivers: Distributions along spatial and environmental gradients. *Journal of Biogeography*, 29(2), 167–187.
- Round, F. E., Crawford, R. M. & Mann, D. G. (1990). Biology of Diatoms. *The Diatoms: Biology & Morphology of the Genera* (s. 1-130). Cambridge University Press, Cambridge.
- Ruyter, RØsjØ, Einen & Thomassen. (2001). Essential fatty acids in Atlantic salmon: Effects of increasing dietary doses of n-6 and n-3 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass: Essential fatty acids in Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition*, 6(2), 119–127.

- Sardesai, V. M. (1992). The Essential Fatty Acids. *Nutrition in Clinical Practice*, 7(4), 179–186.
- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D. & Estevez, A. (1999). Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177(1–4), 191–199.
- Shah, M. R., Lutzu, G. A., Alam, A., Sarker, P., Kabir Chowdhury, M. A., Parsaeimehr, A., Liang, Y. & Daroch, M. (2018). Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *Journal of Applied Phycology*, 30(1), 197–213.
- Sims, P. A., Mann, D. G. & Medlin, L. K. (2006). Evolution of the diatoms: Insights from fossil, biological and molecular data. *Phycologia*, 45(4), 361–402.
- Singh, S. C., Sinha, R. P. & Hader, D. P. (2002). Role of lipids and fatty acids in stress tolerance in cyanobacteria. *Acta protozoologica*, 41(4), 297–308.
- Sissener, N. H. (2018). Are we what we eat? Changes to the feed fatty acid composition of farmed salmon and its effects through the food chain. *Journal of Experimental Biology*, 221(Pt Suppl 1), jeb161521.
- Julius, M. L. & Theriot, E. C. (2010). The diatoms: a primer. I J. P. Smol & E. F. Stoermer (Red.), *The diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences* (2. utg, s. 8–22). Cambridge University Press.
- Sommerlund, R. O. (2022). *Mel av grisetang og mikroalger til bruk i fiskefôr? Kjemisk sammensetning og in vitro fordøyelse av protein* [Masteroppgave]. UiT Norges arktiske universitet.
- 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), 21892.
- Steffens, W. (1997). Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, 151(1–4), 97–119.
- Talbot, G. (2011). Saturated fats in foods and strategies for their replacement: An introduction. I G. Talbot (Red.), *Reducing Saturated Fats in Foods* (s. 3–28). Woodhead Publishing, Cambridge.
- Tocher, D. R. (2003). Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107–184.
- Tocher, D. R. & Glencross, B. D. (2015). Lipids and Fatty Acids. I C.-S. Lee, C. Lim, D. M. Gatlin, & C. D. Webster (Red.), *Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health* (s. 47–94). John Wiley & Sons Inc, New Jersey.
- Trainer, V. L., Hickey, B. M. & Bates, S. S. (2008). Toxic Diatoms. I P. Walsh, S. Smith, L. Fleming, H. Solo-Gabriele & W. Gerwick (Red.), *Oceans and Human Health: Risks and Remedies from the Seas*. (s. 219–237). Academic Press, Cambridge.
- Turchini, G. M., Torstensen, B. E. & Ng, W.-K. (2009). Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*, 1(1), 10–57.
- Ugedal, O., Kroglund, F., Barlaup, B. & Lamberg, A. (2014). *Smolt - En kunnskapsoppsummering*. Miljødirektoratet.
- VKM. (2022). *Benefit and risk assessment of fish in the Norwegian diet*. Scientific Opinion of the Scientific Steering Committee of the Norwegian Scientific Committee for Food and Environment. VKM Report 2022:17.
- 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.
- Wilson, R. P. (2003). Amino Acids and Proteins. I Hardy, R. W. & S. J. Kaushik (Red.), *Fish Nutrition* (s. 143–179). Academic Press Inc, Cambridge.
- Xie, D., Chen, C., Dong, Y., You, C., Wang, S., Monroig, Ó., Tocher, D. R. & Li, Y. (2021). Regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in teleost fish. *Progress in Lipid Research*, 82, 101095.

- 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. (2022). *Utnyttelse av fôrressurser i norsk oppdrett av laks og regnbueørret i 2020*. Faglig sluttrapport: Nofima AS.

