



UiT

NORGES
ARKTISKE
UNIVERSITET

Norges fiskerihøgskole

Effekt av diett med ulike mengder langkjedede omega-3 fettsyrer på fettsyresammensetningen i plasma, røde blodlegemer og muskel, samt stressrespons, hos Atlantisk laks (*Salmo salar* L.)

Andreas Skagøy

Masteroppgave i Akvamedisin (60stp)

November 2016



Norges fiskerihøgskole

Effekt av diett med ulike mengder langkjedede omega-3 fettsyrer på fettsyresammensetningen i plasma, røde blodlegemer og muskel, samt stressrespons, hos Atlantisk laks (*Salmo salar* L.)

Andreas Skagøy

Mastergradsoppgave i Akvamedisin (60stp)

November 2016



Førord

Denne mastergradsoppgaven ble utført ved Norges fiskerihøgskole, UIT – Norges arktiske universitet. Forberedelsene startet høstsemesteret 2015, mens den eksperimentelle delen og skrivefasen ble gjennomført fra februar, og gjennom hele sommeren til november 2016. Det eksperimentelle forsøket ble utført ved Havbruksstasjonen i Tromsø AS og på sjømatgruppas laboratorier ved NFH.

Jeg ønsker først av alt å takke mine veiledere: **Ragnar L. Olsen**, for all den tid, kunnskap og erfaring som du har bidratt med. Det står stor respekt av måten du møter studenter, kollegaer og andre på, og jeg sitter igjen med utrolig mye god faglig og utenom-faglig lærdom etter tiden under din veiledning. At du tok tak i prosjektet da det var stillstand, og loset det hele trygt i havn, er jeg svært takknemlig for! **Tore Seternes**, for at du tilbød meg denne oppgaven og veiledet meg gjennom forberedelsene og det eksperimentelle forsøket. Det har vært et spennende og lærerikt prosjekt. Hjertelig takk til **Guro Edvinsen, Lars Dalheim** og **Birthe Vang**, for all god hjelp under arbeidet på laboratoriet. Videre vil jeg gjerne takke: **Malcolm Jobling, Toni Erkinharju** og andre ansatte ved NFH, som har bidratt med hjelp og gode råd underveis. **Biomar AS** og **Trygve Sigholt**, for at dere bidro med fôr og god kunnskap. **Skretting AS** og **Siri Tømmerås**, for stipend og informasjon om fôr og fôrproduksjon. **Epax AS** for EPA/DHA konsentrat og **Nordic Pharma Inc. AS** for Ansjosolje. **Anne Marie Bakke, Åshild Krogdahl** og **Odd Helge Romarheim** for at dere tålmodig svarte på spørsmål og bidro med soyasaponin (Krogdahl) og palmeolje (Romarheim). **Anette Hustad** og **Jan Eirik Jensen** i Kårvika, for all hjelp og veiledning under selve forsøket.

En stor takk til min kone, **Elise Theoline**, fordi du har vært en så god støttespiller i hverdagen, spesielt gjennom krevende uker i vår og sommer. Du har bidratt mer til denne oppgaven enn du aner.

Til slutt vil jeg takke den store flokken av medstudenter som jeg har vært så heldig å få studere sammen med gjennom gode år ved NFH. Dere er supre mennesker, og har lært meg at studietiden er best når den deles.

God lesning!

Andreas Skagøy

Innholdsfortegnelse

Forkortelser	VIII
Sammendrag	IX
1. Introduksjon.....	1
1.1 Posisjonen til oppdrettet Atlantisk laks.....	1
1.2 Endringer i førsammensetning.....	2
2. Bakgrunn	5
2.1 Fettsyrer	5
2.1.2 Nomenklatur.....	5
2.2 Egensyntese av LC HUFA.....	5
2.3 Fettsyrer og helse	7
2.3.1 Kort angående human helse.....	7
2.3.2 Fiskehelse	8
2.3.3 Fettsyrederivater.....	9
2.4 Saponininduserte skader	12
3. Materialer og metoder	14
3.1 Kjemlikalier	14
3.2 Forsøksfisk og betingelser.....	14
3.3 Fôr	15
3.4 Fôringforsøk	17
3.5 Kontrollforsøk.....	17
3.6 Stressforsøk	18
3.7 Oppsett fôrtester.....	20
3.7.1 Test 1.....	20
3.7.2 Test 2.....	21
3.8 Prøveuttak	21
3.9 Analyser	22
3.9.1 Fettekstraksjon fra fôr	22
3.9.3 Histologi.....	24
3.9.4 Statistikk og databehandling.....	24
4. Resultater	26
4.1 Lengde og Vekt	26
4.1.1a Vektutvikling for fisk i de ulike diettgruppene	26
4.1.1b Lengdeutvikling for fisk i de ulike diettgruppene.....	27
4.1.2 Vekt/lengde utvikling gjennom forsøksperioden	28
4.1.3 Vektutvikling for fisk i kontrollgruppene.....	29
4.1.4 Vektutvikling ved fôrtest 1	30
4.1.5 Vektutvikling ved fôrtest 2	31
4.2 Fettinnhold og fettsyresammensetning.....	32
4.2.1a Fettinnhold i de ulike fôrtypene.....	32
4.2.1b Fettsyresammensetningen i de ulike fôrtypene.....	33
4.2.2a Fettsyresammensetningen i muskel fra fisk i diettgruppene.....	34
4.2.2b Endringer i EPA og DHA innhold i muskel fra fisk i diettgruppene.....	37
4.2.3a Fettsyresammensetningen i muskel fra fisk i kontrollgruppene	38
4.2.3b Endringer i EPA og DHA innhold i muskel fra fisk i kontrollgruppene	40
4.2.4a Fettsyresammensetningen i røde blodlegemer og plasma fra fisk i diettgruppene	41
4.2.4b Endringer i EPA og DHA innhold i røde blodlegemer og plasma fra fisk i diettgruppene.....	47

4.2.5a Fettsyresammensetningen i røde blodlegemer og plasma fra fisk i kontrollgruppene.....	50
4.2.5b Endringer i EPA og DHA innhold i røde blodlegemer og plasma fra fisk i kontrollgruppene.....	54
4.3 Stresstest.....	56
5. Diskusjon	59
5.1 Vekt og lengde utvikling	59
5.2 Fettsyresammensetning i fôr og i muskel.....	61
5.3 Fettsyresammensetning i røde blodlegemer og plasma.....	64
5.4 Soyasaponinindusert enteritt og histologi	68
6.Konklusjoner	70
REFERANSER	

Forkortelser

ALA	α -linolensyre
AO	Ansjosolje
ARA	Arakidonsyre
BHT	Butylhydroxytoluene
COX	Cyclooxygenase
db	Dobbeltbinding
DCM	Diklormetan
DHA	Dokosaheksaensyre
DPA	Dokosapentaensyre
EFA	Essensielle fettsyrer
EPA	Eikosapentaensyre
FA	Fettsyre
FFA	Fri fettsyre
HUFA	Høyt flerumettet fettsyre
K	EPA/DHA konsentrat
LA	Linolsyre
LC	Langkjedet
LOX	Lipooxygenase
LT	Leukotriner
MAG	Monoacylglycerol
mbar	Millibar
MUFA	Enumettet fettsyre
PG	Prostaglandiner
PL	Fosfolipid
PUFA	Flerumettet fettsyre
RBC	Røde blodlegemer
RO	Rapsolje
TAG	Triacylglycerol
TX	Tromboksaner

Sammendrag

Fem grupper presmolt Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) ble gitt ulike dietter basert på fôr tilsatt enten EPA/DHA konsentrat (K), ansjosolje (AO) eller rapsolje (RO). Fôringsforsøket varte i 84 dager, hvor tre diettgrupper inngikk i et crossover forsøk. Gruppe 1 fikk en diett tilsatt K i 42 dager og deretter en diett tilsatt RO til dag 84, gruppe 2 fikk en diett tilsatt AO i 42 dager og deretter en diett tilsatt RO til dag 84 mens gruppe 3 fikk en diett tilsatt RO i 42 dager og deretter en diett tilsatt K til dag 84. I tillegg var to kontrollgrupper inkludert. Den ene fikk et fôr tilsatt K, mens den andre fikk et fôr tilsatt RO, gjennom hele fôringsforsøket

Formålet med oppgaven var å studere hvordan fettsyresammensetningene i de ulike fôrtypene påvirket fiskens vekst og fettsyresammensetning i muskel, blodplasma og røde blodlegemer (RBC). I tillegg skulle det undersøkes om fettsyresammensetning i fôret påvirket utviklingen av saponinindusert enteritt (stressrespons) hos fisken.

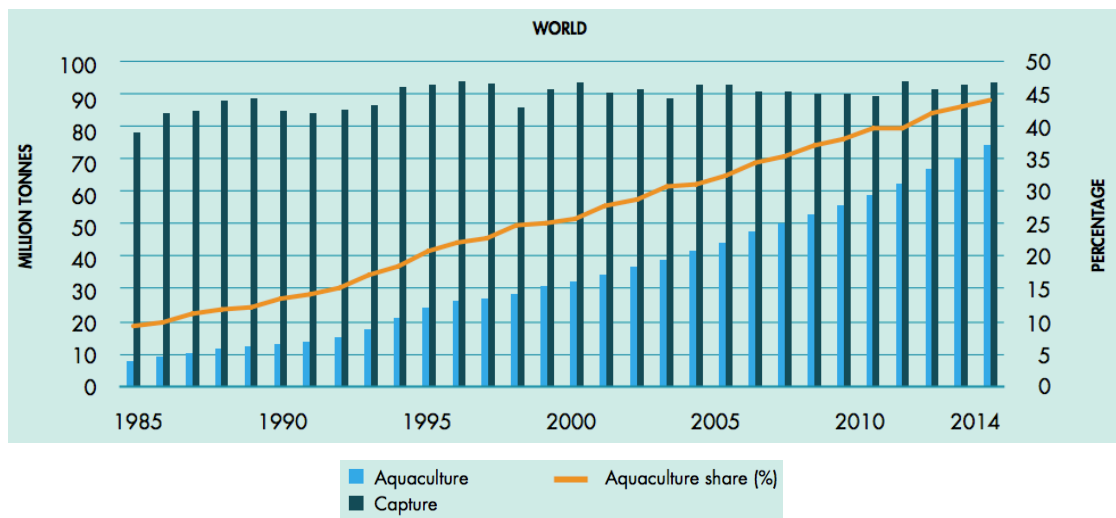
Resultatene viste ingen signifikante forskjeller i vekt- eller lengdeøkning mellom diettgruppene med unntak av ved dag 21. Undersøkelsene viste at fettsyresammensetningen i muskel og plasma, men ikke i røde blodceller ble påvirket av fettsyresammensetningen i fôret. Nivået av EPA og DHA i muskel forandret seg i fôringsforsøkene, og reflekterte fettsyresammensetningen i fôret. Resultatene indikerte at DHA var mer konserverert enn EPA i plasma og RBC, og antydte et metningsnivå for DHA og minimumsnivåer for DHA og EPA i de to blodfraksjonene. Det ble ikke observert tydelig enteritt hos noen av fiskene i de tre stressforsøkene, selv ikke med høyeste dose saponin. Årsaken til dette kan være kvaliteten på saponinet eller måten det ble tilført fôret. Fisk fra kontrollgruppe RO viste antydninger til mer redusert enterocyt vakuolisering sammenlignet med fisk fra kontrollgruppe K, under stresstest ved dag 84 i fôringsforsøket. Dersom dette er reelt, kan det tyde på at laks fôret eksklusivt med fôr tilsatt RO er mer sensitiv for saponininduserte skader i tarm. Dette må imidlertid undersøkes nærmere.

Fisken hadde dårlig appetitt de første tre ukene, noe som antas å ha påvirket både vekst og fettsyresammensetning i fisken. Dette skyldes trolig at størrelsen på forsøksfiskene var for liten til å øke fra 2mm til 3mm fôrpellets. Det viste seg vanskelig å tappe blod i tilstrekkelig volum fra individene ved de tidligste prøveuttakene, noe som gjorde det vanskelig å utføre flere analyserunder fra samme prøveuttak. Videre fungerte ikke analysemetoden for direkte metylering av plasma og RBC tilfredsstillende, da den gav høye standardavvik og til dels mye bakgrunnsstøy.

1. Introduksjon

1.1 Posisjonen til oppdrettet Atlantisk laks

Produksjonen innen akvakultur har økt globalt over de siste 25 årene. Den har stått for brorparten av økningen i den totale produksjonen av fisk i samme periode (se figur 1), og bidrar med nær 50 % av fisk produsert som mat til humant konsum (Ytrestøyl *et al.*, 2015; FAO, 2016).



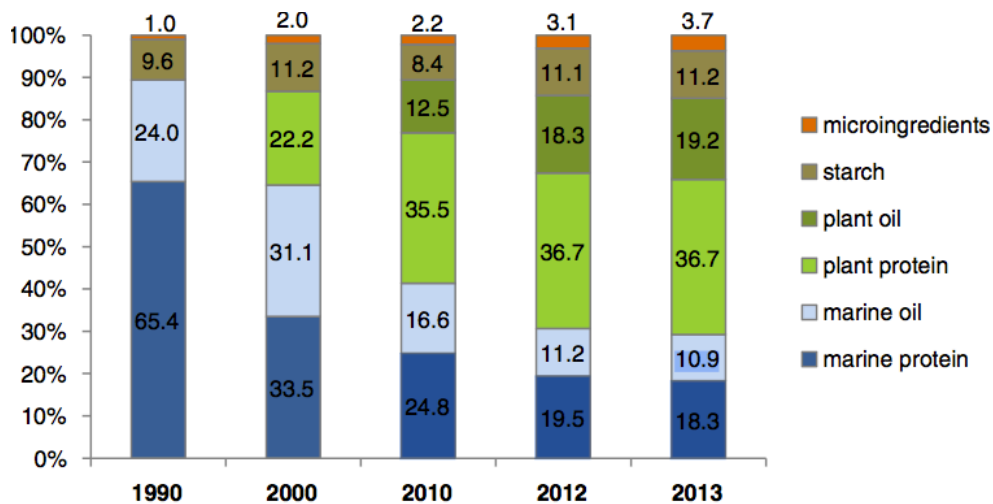
Figur 1: Bidragene fra henholdsvis akvakultur og villfangst, til den totale produksjonen av fisk globalt, mellom 1985 og 2014, målt i tonn og prosent (FAO, 2016)

FN forventer at verdens befolkning skal øke til 9 milliarder innen 2050. Når hovedandelen ville fiskebestander samtidig er utnyttet til, eller forbi sin bærekraftige grense, kan det antas at akvakultur vil styrke sin rolle i akvatisk matproduksjonen over de kommende tiår. (FAO 2012, Ytrestøyl *et al.*, 2015).

Salmonider regnes som høy-verdi arter, og utgjør totalt 14 % av global fiskerihandel (FAO, 2014). Norge er en ledende nasjon innen oppdrett av Atlantisk laks (*Salmo salar* L.). I Norge har lakseoppdrett vært en kommersiell suksess, med en økning fra 1000 til 1,2 millioner tonn over 45 år (Hersoug, 2015). Dette har resultert i en nasjonal industri, posisjonert som verdens største produsent av Atlantisk laks (Nærings og fiskeridepartementet, www.fisheries.no).

1.2 Endringer i fôrsammensetning

Dyrs utvikling og vekst avhenger av rett ernæring. Hva som til enhver tid kan anses som rett, vil variere gjennom livsløpet, samt mellom arter og ulike individer (for oversikt, se Mejdell & Nilsen, 2016). For 25 år siden var marine råstoffer hovedkilden til proteiner og lipider i norsk lakseoppdrett (Torrison *et al.*, 2011). Produksjonen av fiskemel og fiskeolje har vært stabil fra 1988 til 2002, og deretter synkende (Shepherd & Jackson, 2013). Den sterke veksten i lakseoppdrett i samme periode har presset frem et skifte mot alternative vegetabiliske råvarekilder, som soyakonsentrat og rapsolje. I 2000 var andelen marine oljer og mel henholdsvis 31,1 % og 33,5 %. I 2013 var disse verdiene redusert til henholdsvis 10,9 % og 18,3 % (figur 2). Globalt konsumerer akvakultur 75 % av produsert fiskeolje, og er sammen med produksjonen av humant kosttilskudd de største markedskreftene bak prisutviklingen (FAO, 2014, Shepherd & Bachis, 2014).



Figur 2: Viser endringer i fôrsammensetning hos fôr til norsk lakseoppdrett, mellom 1990 og 2013 (Ytrestøyl *et al.*, 2015).

Den totale andelen marine råvarer i fôret sank fra 90 % i 1990 til under 30 % i 2013 (Ytrestøyl *et al.*, 2015). For norsk lakseoppdrett er rapsolje det primære vegetabiliske substituttet for fiskeolje, og i 2012 var rapsolje eneste planteoljen i bruk (Ytrestøyl *et al.*, 2015). Dette skyldes at n-6/n-3 forholdet i rapsolje er relativt lavt sammenlignet med andre aktuelle vegetabiliske oljer som har en forsvarlig råvarepris.

Disse endringene har reist spørsmål rundt behovet for essensielle fettsyrer. Mellom annet angående mengden langkjedede n-3 fettsyrer (LC n-3 HUFA), og forholdet mellom n-3 og n-6 fettsyrer, i fôr og filet. Atlantisk laks er en karnivor art, hvor den naturlige dietten er basert på fisk og krepsdyr (Renkawitz & Sheehan, 2011). Planteråvarer er dermed ikke å anse som en naturlig del av laksens diett. Det betydelige skiftet i fôrsammensetning siden 1990 vil videre kunne ha biologiske konsekvenser for Atlantisk laks (Ytrestøyl *et al.*, 2014, Mejdell & Nilsen, 2016). Samtidig er tilgangen på kilder til LC n-3 HUFA en utfordring dersom man skal opprettholde de ernæringsmessig gode kvalitetene til Atlantisk laks, som komponent i humant kosthold (Torrison *et al.*, 2011, Jensen *et al.*, 2012). Det er nødvendig for oppdrettsnæringen å tilegne seg kunnskap som kan styrke bærekraften i produksjonen (Torrison *et al.*, 2011).

I denne oppgaven var hensikten å undersøke effekten av dietter med store ulikheter i innholdet av omega-3 og omega-6 fettsyrer, på fettsyresammensetningen i muskel og ulike fraksjoner av blod, samt hvordan dette påvirker fiskens evne til å håndtere stress.

Delmål:

1. Produsere fôr med ulike oljer, basert på tørre pellets fra Biomar.
2. Gjennomføre et crossover-forsøk hvor tre ulike diettgrupper gis hvert sitt fôr, tilsatt henholdsvis EPA/DHA konsentrat (K), ansjosolje (AO) eller rapsolje (RO) i seks uker, hvorpå gruppene gitt fôr tilsatt K og AO deretter får et fôr tilsatt RO, mens gruppen gitt fôr tilsatt RO får et fôr tilsatt K i de seks påfølgende ukene (figur 7).
3. Gjennomføre et kontrollforsøk hvor to kontrollgrupper à 20 fisk får hvert sitt fôr, tilsatt henholdsvis EPA/DHA konsentrat eller rapsolje i 12 sammenhengende uker (figur 7).
4. Sammenligne vekt- og lengdeutvikling mellom diett- og kontrollgruppene.
5. Analysere fettsyresammensetningen i muskel, plasma og røde blodlegemer (RBC) for de ulike diett- og kontrollgruppene på seks ulike tidspunkt, og sammenligne nivået av utvalgte fettsyrer i disse gruppene.

6. Gjennomføre stresstester med fisk fra de ulike diettgruppene, for å undersøke en eventuell sammenheng mellom fettsyresammensetningen i fôret, og fiskens evne til å tåle stress (figur 8, 9 og 10).

2. Bakgrunn

2.1 Fettsyrer

Strukturelt er fettsyrer karboksylsyrer, hvor hydrokarbonkjeden er flankert av én karboksyl- og én metylgruppe. Det er normalt et partall C-atomer (fra 12-22) i fettsyrer (FA) hos høyerestående organismer. Marine og anadrome organismer, som eksempelvis Atlantisk laks, har relativt stor andel FA med lang hydrokarbonkjede (20C-22C), deriblant eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA). Laverestående organismer, som eksempelvis bakterier, er normalt opphavet til FA med ett oddetall C-atomer, samt kortkjededede (<12 C-atomer) FA.

2.1.2 Nomenklatur

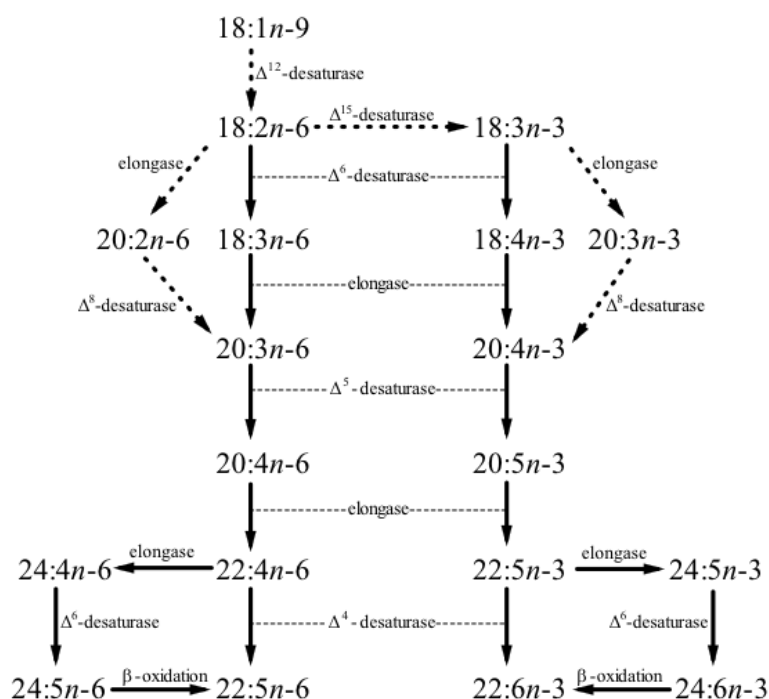
Ved navnsetting av FA tas det utgangspunkt i antall C-atomer, samt antall dobbeltbindinger (db) og deres plassering. C-atomene kan være bundet til hverandre med enkelt eller dobbeltbinding (inntil 6 db pr FA). FA med kun enkeltbindinger kalles mettet. FA med henholdsvis en eller flere (≥ 2) db kalles énumettede og flerumettede. For navnsetting etter db tas det utgangspunkt i karboksylenden, hvor C-atom 2 og 3 (medregnet C-atomet i COOH gruppen) kalles α og β , og siste C-atom (C-atomet i CH₃ gruppen) ω eller n. Plasseringen benevnes med Δ , eller n-. Eksempelvis forteller det systematiske navnet 20:5n-3 (EPA) at fettsyren har 20 C-atomer og 5 db, hvor dobbeltbindingen nærmest CH₃ enden er lokalisert mellom tredje og fjerde C-atom. Intakte FA har alltid to enkeltbindinger mellom dobbeltbindingene. I oppgaven oppgis FA med trivialstruktur, trivialnavn og forkortelse (som 18:3n-3, α -linolensyre, ALA og 18:2n-6, linolsyre, LA).

2.2 Egensyntese av LC HUFA

Essensielle fettsyrer (EFA) er FA som må tilføres via dietten. Behovet for EFA varierer mellom ulike arter. Med unntak av kaninfisken (*Siganus canaliculatus*), kjenner man ikke til andre marine fiskearter med egensyntese av langkjededede, høyt flerumettede fettsyrer (LC HUFA) fra 18C forløpere (Tocher *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2010). LC HUFA som arakidonsyre, eikosapentaensyre og

dokosaheksaensyre, regnes dermed som essensielle for disse (Sargent *et al.*, 1999). Studier indikerer på den andre siden at ferskvanns- og anadrome arter kan utføre denne egensyntesen med utgangspunkt i 18:3n-3 og 18:2n-6, slik beskrevet av Henderson & Tocher (1987).

Evnen til egensyntese av LC HUFA er relatert til enzymer som katalyserer viktige reaksjoner i biosyntesen av fettsyrer. Dette gjelder spesielt tilstedeværelsen av Δ^5 - and Δ^6 -desaturase, i kombinasjon med ulike enzymer for elongering. Lokalisert i endoplasmatisk retikulum, katalyserer desaturase-enzymene dannelsen av en ny dobbeltbinding mellom to karbonatomer i hydrokarbonkjeden ved å fjerne to hydrogenatomer. Elongeringsenzymene forlenger hydrokarbonkjeden ved å katalysere en reaksjon hvor acetyl-CoA legges til. (Tocher, 2003, Monroig *et al.*, 2011a). De samme enzymene inngår i syntesen av både n-3 og n-6 fettsyrer (se figur 3). Δ^{12} - and Δ^{15} -desaturase finnes kun i planter, inkludert planteplankton.



Figur 3: Mulige veier for biosyntese av LC HUFA i fisk, med utgangspunkt i 18:3n-3 og 18:2n-6 (Monroig *et al.*, 2011a).

Fettsyrene 22:4n-6 og 22:5n-3 kan omdannes direkte til 22:5n-6 og 22:6n-3, katalysert av Δ^4 -desaturase. Dette enzymet er kun funnet i kaninfisk

(oppsummert i Monroig *et al.*, 2011b), men $\Delta 6$ -desaturase muliggjør en alternativ rute kalt Sprecher pathway (se figur 3 og Sprecher, 2002). Her elongeres først fettsyrene fra 22 til 24 C-atomer, før $\Delta 6$ -desaturase katalyserer dannelsen av en ny db og hydrokarbonkjeden kortes ned til 22 karbonatomer ved β -oksidasjon i peroxiomene (se figur 3).

Anadrome arter, som Atlantisk laks, migrerer fra ferskvann til saltvann etter smoltifisering, og returnerer så tilbake til ferskvann for å gyte. Aktiviteten til $\Delta 6$ -desaturase er størst i ferskvann, og reduseres etter migrasjonen til saltvann. Studier har vist at uttrykkningen av enkelte nøkkel-enzymmer beskrevet over, øker når andelen planteingredienser i fôret går opp (Morais *et al.*, 2009). Disse tilpasningene eliminerer dog ikke behovet for tilførsel av LC n-3 HUFA via fôret, dersom man ønsker å opprettholde de høye nivåene i fisk. (Takeuchi *et al.*, 1990; Monroig *et al.*, 2011a; Monroig *et al.*, 2010; Hastings *et al.*, 2004).

2.3 Fettsyrer og helse

2.3.1 Kort angående human helse

En av de første tegnene på feilernæring hos pattedyr er immunsuppresjon (Hudson *et al.*, 1974). Det er dokumentert flere helsefremmende effekter av å inkludere LC n-3 HUFA i humant kosthold, og kun et utvalg blir nevnt i dette avsnittet. Generelt er det vist at selv en mindre økning kan redusere kardiovaskulære sykdommer, og at 2,7 g (EPA+DHA) per dag er nødvendig for å oppnå en anti-inflammatorisk effekt (Cleland *et al.*, 2006). n-3 HUFA er viktig for nevrologisk, retinal og motorisk utvikling (Innis, 2007a; Innis 2007b; Swanson, 2012; Singh, 2005). I tillegg kan de ha positiv effekt på "Attention Deficit Hyperactivity Disorder" (ADHD) og fungere som monoterapi for barn med ADHD (Singh, 2005; Gow *et al.*, 2015). Det er indikert at LC n-3 HUFA har positive effekter på mild Alzheimer sykdom (Swanson *et al.*, 2012), mild kognitiv svikt (Oulhaj *et al.*, 2016), og kan redusere risikoen for lidelser relatert til fedme (Abeywardena & Belobrajdic, 2016). Den økte inklusjonen av vegetabiliske oljer i fôr til Atlantisk laks reduserer mengden LC n-3 HUFA i filet, noe som til en viss grad forringer ernæringsverdien for mennesker. Likevel er oppdrettslaks fremdeles en god kilde til EPA og DHA (Jensen *et al.*, 2012). Et positivt aspekt ved

å erstatte fiskeoljer i fôret med vegetabiliske oljer, er at innholdet av miljøgifter reduseres (Bell *et al.*, 2005).

2.3.2 Fiskehelse

Tilstrekkelige verdier av EPA og DHA i ulike vev, har betydning for fiskehelsen (Sargent *et al.*, 2002). Et studie på Dorade (*Sparus aurata* L.) viser at mangel på n-3 HUFA i diett fører til cellulær og humoral immunsuppresjon (Montero *et al.*, 2004). Erdal *et al.* (1991) peker på de samme effektene hos Atlantisk laks.

Ruyter *et al.* (2000) gjennomførte et studie på lakseyngel, som indikerer et behov for 0,5 % til 1 % EPA+DHA for å opprettholde god vekst. Et nylig langtidsstudie har estimert behovet til å være mellom 2,7 % og 3,4 % (Rosenlund *et al.*, 2016). Det er dog påpekt at 2,7 % er for lite hvis hjerne, røde blodlegemer (RBC) og retina skal opprettholde nivået av DHA (Sissener *et al.*, 2016a). Effekten av omega-3 fettsyrer på vekst støttes også av Thompson *et al.* (1996). Andre studier viser at fiskeolje i fôr kan erstattes fullt ut med vegetabiliske oljer uten at det gir en signifikant endring i vekst (Bell *et al.*, 2001; Bell *et al.*, 2002; Bell *et al.*, 2005; Regeost *et al.*, 2004). Et studie som fulgte oppdrettslaks gjennom en hel produksjonssyklus fant ingen signifikant forskjell i vekst mellom grupper fôret med 100 % vegetabilisk olje og 100 % fiskeolje i den første halvdel av perioden, men gruppen fôret med vegetabilisk olje oppnådde bedre vekst senere i forsøket (Torstensen *et al.*, 2005). I sistnevnte studie var hovedkilden til proteiner i fôret fiskemel. Siden fiskemel inneholder noe fiskeolje, kan det tenkes at dette har dekt fiskenes basale behov for LC n-3 HUFA under forsøket. Den vegetabiliske oljeblandingen inneholdt 15 % linolje, som er rik på 18:3n3. Dette kan ha bidratt til å dekke behovet for n-3 HUFA gjennom egensyntese, i større grad enn hvis oljetilsettingen hadde bestått av rapsolje alene.

Det er vist at svært lave nivåer EPA+DHA i fôr ($\leq 0,1$ %) gir økt dødelighet hos Atlantisk laks (Ruyter *et al.*, 2000). En nylig utgitt rapport viste at fisk gitt fôr med 1,7 % EPA+DHA hadde bedre overlevelse i sjø når fisken ble stresset gjentatte ganger ved håndtering, sammenlignet med gruppene av fisk gitt 0,2 % og 1 % EPA+DHA i fôret (Ruyter *et al.*, 2016). Et storskala-forsøk i sjø, med høyere nivåer av EPA+DHA i forsøksfôrene, konkluderte med at en nedgang fra 8 % til 5 % ikke førte til forringelse av fiskehelsen (Sissener *et al.*, 2016b), da

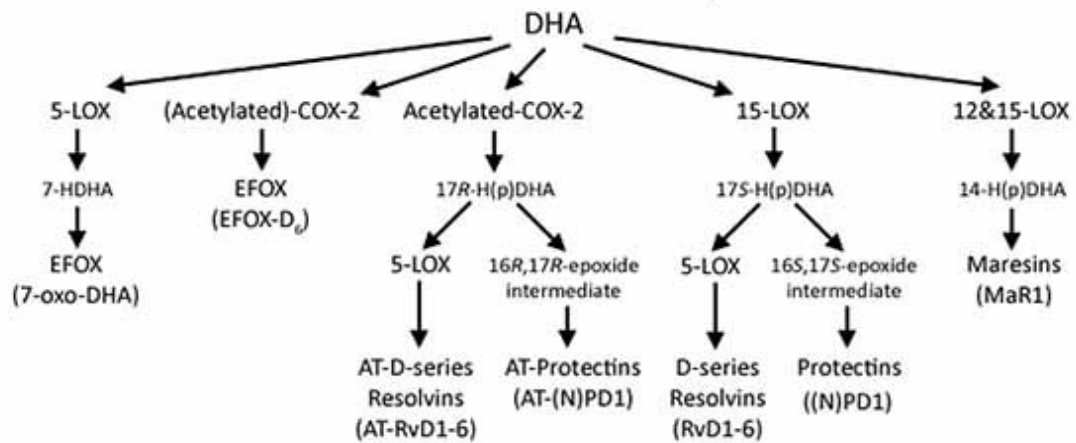
hverken vekst eller dødelighet var signifikant forskjellig mellom gruppene. Den primære helseutfordringen i dette forsøket var PD og gjelleinfeksjoner. Dette støttes av Waagbø *et al.* (2013), som heller ikke fant noen relasjon mellom FA sammensetningen i fôret og mottagelighet eller dødelighet under PD utbrudd. Et studie av Thompson *et al.* (1996) indikerer økt resistens mot infeksjon med *Aeromonas salmonicida* og *Vibrio anguillarum*, samt sopp, for Atlantisk laks fôret med økt mengde LC n-3 HUFA. Det er videre påvist at redusert mengde EPA og DHA gav økt prevalens av melanin-flekker i muskel (Sissener *et al.*, 2016b), økt dødelighet ved kaldtvanns vibriose (Salte *et al.*, 1988), samt at økt mengde EPA og DHA gav økt celleveggstyrke (Erdal *et al.*, 1991).

Litteraturen peker på noen negative fiskehelse relaterte effekter av LC n-3 HUFA. Økt inklusjon av vegetabiliske oljer og proteiner er vist å ha positiv effekt på bein helse hos postsmolt (Fjelldal *et al.*, 2010). Erdal *et al.* (1991) påviste signifikant høyere dødelighet ved smitte med *Yersinia ruckerii*, signifikant lavere produksjon av antistoff ved vaksinerings, samt degenerative endringer i hjerte- og skjelettmuskulatur hos Atlantisk laks foret med økt mengde LC n-3 HUFA.

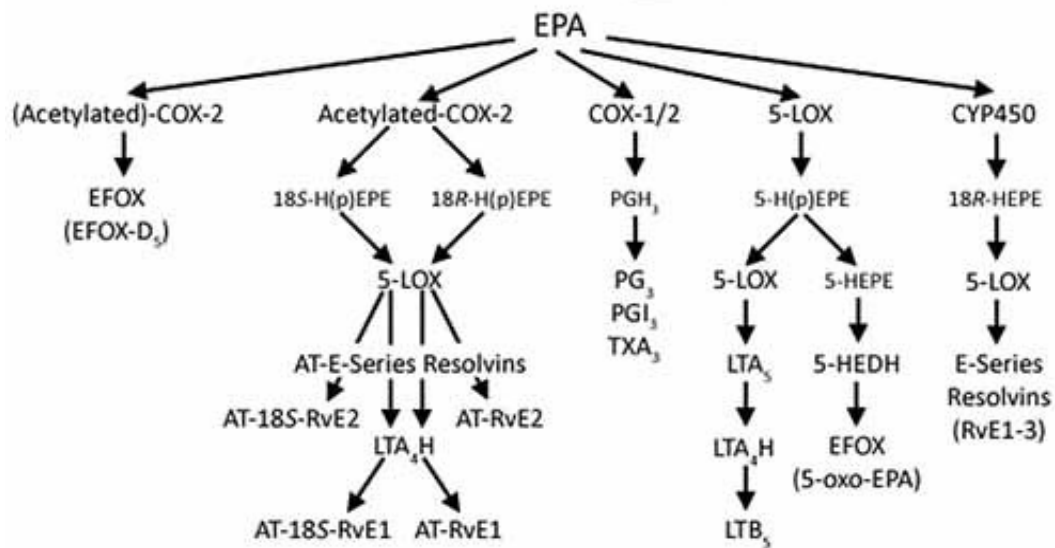
Brandsen *et al.*, (2003) fant signifikante forskjeller i motstandsdyktigheten mot *Vibrio anguillarum* mellom ulike diettgrupper, men fant ingen direkte sammenheng med spesifikke FA.

2.3.3 Fettsyrederivater

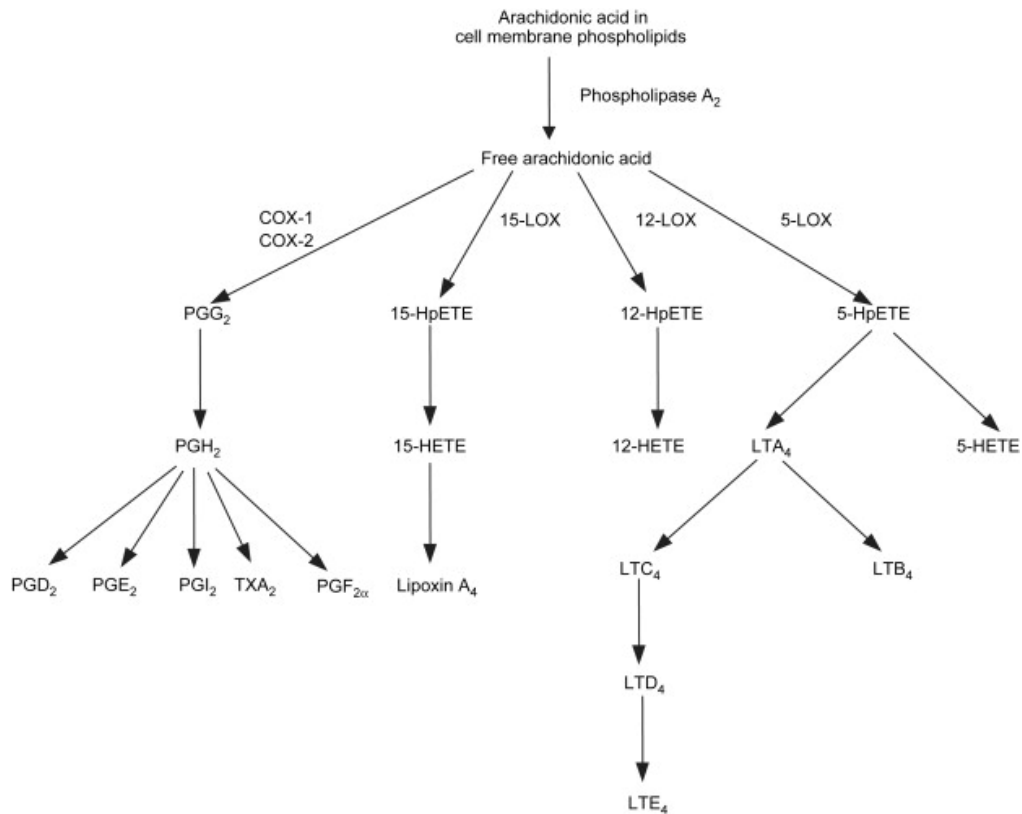
Inflammasjon er en viktig egenskap for organismens evne til å opprettholde god helse og homeostase, og kjennetegnes av smerte, funksjonstap, hevelse, rødhet og varme. En av de viktigste rollene til LC HUFA er som forløpere til eikosanoider og resolviner. Dette er biologiske signalmolekyler involvert i reguleringen av innflammasjonsrespons. Hvilke derivater som kan dannes, samt deres funksjon, varierer mellom EPA, DHA og ARA (se figur 4, 5 og 6 for ulike derivater og signalveger).



Figur 4: Eikosanoider og resolviner derivert fra dokosaheksaensyre, samt ulike signalveger (Modifisert fra Dyall *et al.*, 2015).



Figur 5: Eikosanoider og resolviner derivert fra eikosapentaensyre, samt ulike signalveger (Modifisert fra Dyall *et al.*, 2015)



Figur 6: Eikosanoider derivert fra arakidonsyre, samt ulike signalveger (Calder, 2009).

Eikosanoider er en samlebetegnelse som innebefatter prostaglandiner, tromboksaner, leukotriener og hydroksyeicosatetraensyre (beskrevet av Calder, 2006), som dannes i en prosess hvor (hovedsakelig) ARA og EPA er substrater for cyclooxygenaser (COX) og 5-lipoxygenase (LOX). Metabolitter fra FA-COX danner prostaglandiner og tromboksaner, mens FA-LOX metabolitter danner leukotriener, hydroxy- og hydroperoxy-derivater (Wall *et al.*, 2010). Grovt kan man si at derivater fra LC n-6 HUFA virker pro-inflammatorisk, og derivater fra LC n-3 HUFA anti-inflammatorisk, men flere studier har pekt på unntak (Calder, 2009). Eksempelvis inhiberer ARA-deriverte PGE2 både tumor necrosis factor og interlukin-1 (TNF- α og IL-1), som begge er proinflammatoriske (Simopoulos, 2002). Samtidig har man sett at PGE2 i første del av en inflammasjonsrespons stimulerer produksjonen av proinflammatoriske leukotriener (LT4), mens den etter hvert gjør et skifte mot økt promotering av antiinflammatoriske lipoxiner (LX4) (Levy *et al.*, 2001). PGE2 er med andre ord et eksempel på at de regulatoriske egenskapene til LC n-6 HUFA og LC n-3 HUFA ikke nødvendigvis kun er pro, eller anti.

Forholdet mellom de ulike FA-forløperne i membraner vil reflektere FA sammensetningen i dietten. EPA er foretrukket foran ARA som substrat for COX og LOX, og økt mengde EPA hemmer dermed dannelsen av ARA-derivater, slik beskrevet i Simopoulos, 2002 og Wall *et al.*, 2010, samtidig som den gir opphav til andre serier av eikosanoider, med en annen virkning enn de fra ARA. EPA-deriverte eikosanoider er ofte mindre potente enn de ARA-deriverte, men heller ikke dette er en absolutt regel da eksempelvis PGE 3 og PGE 2 er like potente inhibitorer av IL- β og TNF- α produksjon, mens LTB 4 (i de fleste tilfeller) er mer potent enn LTB 4 i neutrofiler (Goldman *et al.*, 1983; Miles *et al.*, 2002; Calder, 2009).

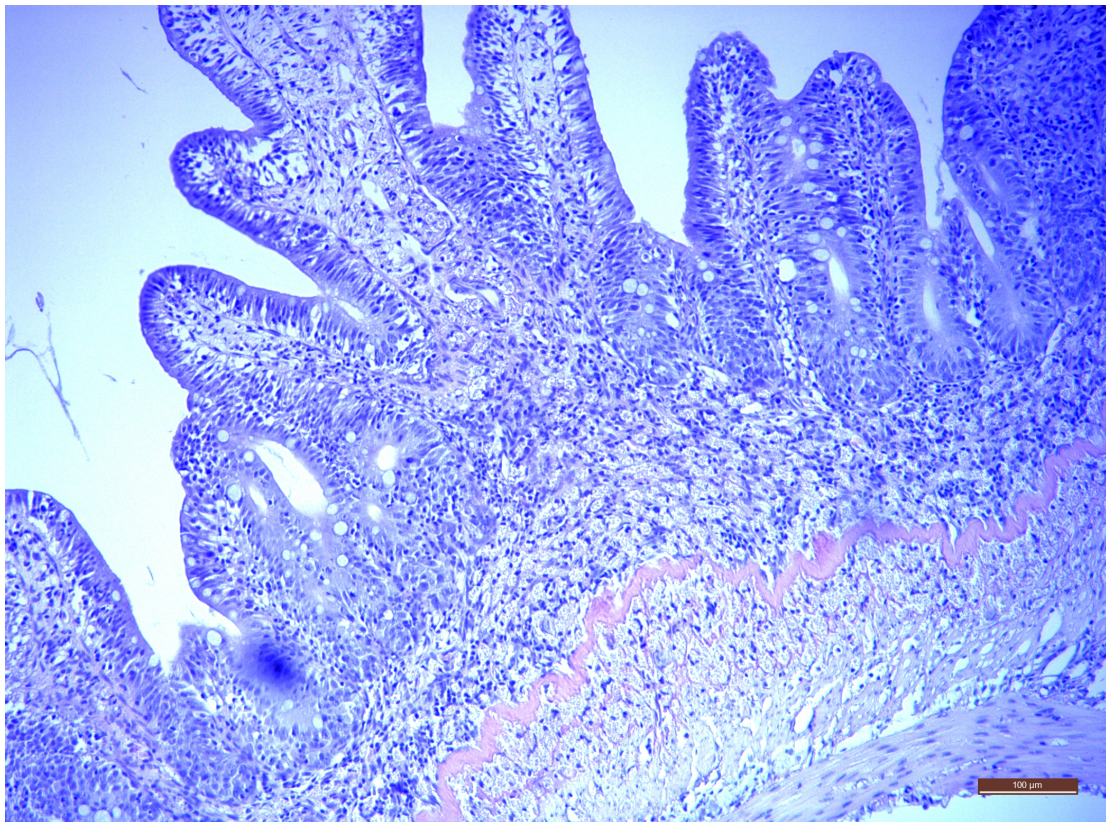
EPA (og i større grad DHA) har anti-inflammatorisk effekt ved å påvirke syntesen av inflammatoriske cytokiner (De Caterina *et al.*, 1994) gjennom å endre på transkripsjonsfaktorer (Lo *et al.*, 1999).

Resolviner er sammen med protektiner, en mer nylig oppdaget gruppe signalmolekyler, og deles inn i E-series (EPA deriverte) og D-series (DHA deriverte). De er antiinflammatoriske og virker på dendritiske celler, makrofager, T celler og neutrofiler (oppsummert av Serhan *et al.*, 2008). Spesielt viktig er resolviner for gjenopprettingen av homeostase etter inflammasjon.

2.4 Saponininduserte skader

Soyamel er en viktig vegetabilsk kilde til protein i laksefôr. I dag brukes soyamelmkonsentrat med redusert konsentrasjon av ulike antinæringsstoffer. Et kjent antinæringsstoff er saponiner, varmemestabile amfipatiske glykosider, som finnes i ulike vegetabilske råvarer og trolig bidrar i plantenes forsvarsverk mot patogener (Morrissey & Osbourn, 1999). Saponiner i mindre kvantum fungerer som immunstimulanter i adjuvanser (Estrada *et al.*, 2000), har antiviral (Simões *et al.*, 1999), og antifungal (Escalante *et al.*, 2002) effekt, samt stimulerer til bedre vekst hos lakseyngel (Gu *et al.*, 2015). I større mengder fører soyasaponin i laksefôr til forstyrrelse av næringsopptak (Refstie *et al.*, 1998), senking av kolesterolnivå i plasma (Gu *et al.*, 2014), samt en dose avhengig enteritt hos Atlantisk laks (Krogdahl *et al.*, 2015). I sistnevnte studie gav doser fra 2-4 g/kg fôr (95 % rent soyasaponin) inflammasjon i baktarm. Det er foreslått at de

patologiske endringene kan skyldes at soyasaponiner øker permeabiliteten i membranene slik at uønskede elementer trenger inn (Knudsen *et al.*, 2007; Knudsen *et al.*, 2008). Enteritt kjennetegnes ved fortykkelse av lamina propria gjennom infiltrasjon av inflammatoriske celler, redusert enterocyt vakuolisering og forkorting av folder. Soyasaponin-indusert enteritt hos laks er normalt forbundet med baktarm, slik beskrevet i Bakke *et al.* (2000) og Knudsen *et al.* (2007). Det er foreslått at soyamel-indusert enteritt kan gi systemiske følger og økt mottakelighet for furunkulose (Krogdahl *et al.*, 2000).



Bilde 1: Bildet viser saponinindusert enteritt på laks, etter syv dagers fôring med fôr tilsatt 20 % fett-ekstrahert soya (Bakke A. M., pers com.). Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 µm.

3. Materialer og metoder

3.1 Kjemikalier

Følgende kjemikalier var fra Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Tyskland): Butylhydroxytoulene $\geq 99,0$ %, (B1278), Dichlormethane $\geq 99,9$ % (32222N), Etanol $\geq 99,8$ % (32221), Etanol ≥ 96 % (24106), Eukitt® (03989), Formaldehyd $\geq 34,5$ % (15512), Heptan ≥ 99 % (32287), Saltsyre ≥ 37 % (30721) Kaliumklorid $\geq 99,5$ % (60130), Metanol $\geq 99,8$ % (32213), Natriumklorid $\geq 99,5$ % (71380), Svovelsyre 95-97 % (30743).

Følgende kjemikalier var fra Merck KGaA (Tyskland): Alcian blue 8 GX (C.I.74240).

Følgende kjemikalier var fra Thermo Fischer Scientific Inc., (USA): Shandon™ instant Eosin (6765040), Shandon™ instant Hematoxylin (6765015).

Følgende kjemikalier var fra andre produsenter: Benzokain (519389) ACD Pharmaceuticals AS (Norge), Histo-clear (5989-27-5) National Diagnostics Inc (England), Natrium heparin (367869) BD (Storbritannia), Parafin Histowax® (00403) Histolab Products AB (Sverige), Soyasaponin 80 % rent, (batchnummer CY150215) Xi'an Zebang Biological Technology co LTD (Kina).

GC-standarder fra Supelco Analytical, Bellefonte (USA): PUFA 1 (47033), PUFA 2 (47015-U), PUFA 3 (47058-U). GC-standarder fra Nu-Chek Preo Inc. Elysan (USA): GLC411.

Fôringredienser: EPA/DHA konsentrat (EPAX 6000 TG/N) EPAX Norway AS (Norge), Rapsolje (Eldorado) Unil AS (Norge), Ansjosolje Nordic Pharma Inc. AS (Norge), Palmeolje Urtegaarden AS (Danmark).

3.2 Forsøksfisk og betingelser

Forsøket ble utført ved Havbruksstasjonen i Tromsø AS, med Atlantisk laks (*Salmo salar* L.) av Q-TRL stamme fra Aqua Gen AS, Hemne. Klekkingen foregikk i Havbruksstasjonens lokaliteter fra 08.02-2015, med startfôring 16.05-2015. Det ble ikke foretatt vaksinerings.

Fisken gjennomgikk en akklimatiseringsperiode på to dager, hvor den ble sultet mens temperaturen ble økt fra 8 °C til 10 °C før forsøksstart ved dag 0 (29.03-2016). Det ble benyttet 3 kar à 500 L, og 3 kar à 100 L, alle fylt med

ferskvann. Sirkulerende vannstrøm besørget rensing. Oksygeninnhold og temperatur ble overvåket, og vannstrøm justert etter behov. Vanntemperaturen var 10 °C og lysregimet 24 timer lys gjennom hele forsøket. Fisken ble fôret med disk-feedere i 15 minutter pr time mellom klokken 14:00 og 08:00. Fôrmengden ble beregnet ut fra biomasse, og justert etter appetitt. Det ble ikke observert dødelighet i forsøksperioden.

3.3 Fôr

Ved startfôring i mai 2015 ble fisken gitt Nutra ST i starten av måneden, før overgang til Nutra XP. Frem til september ble det først gitt Nutra XP og deretter Nutra Olympic 1,5 mm. Fra September til forsøksstart ble det først gitt Nutra Olympic 1,5 mm og deretter Nutra Olympic 2 mm.

Tabell 1: Sammensetning i fôr fra Skretting AS. Ved startfôring i mai 2015 ble fiskene gitt Nutra ST i starten av måneden, før overgang til Nutra XP. Frem til september ble det først gitt Nutra XP og deretter Nutra Olympic 1,5 mm. Fra September til forsøksstart ble det først gitt Nutra Olympic 1,5 mm og deretter Nutra Olympic 2 mm. Overføring mellom fôrtypene fulgte anbefalinger fra Skretting AS.

Innhold		Nutra ST	Nutra XP	Nutra Olympic 1,5/2/3 mm
Fiskestørrelse	g	0,12-0,40	0,12-3,5	5-20/15-60/40-200
Protein	%	57-60	53	49-52/48-51/47-50
Fett	%	18	18	21/22/23
NFE*	%	2-4	6-8/7-9***	11-13
Fiber	%	0,6-4,5	0,1-2,0	0,6-4,5
Aske	%	11-12	8-9	10-11
Brutto energi	MJ/kg	21-22	18	22-23
Vitamin-D	IU/kg	2250	2250	2200
Vitamin-E	mg/kg	300	340	200
Vitamin-C	mg/kg	1000	1000	200
Pigment**	mg/kg	0	0	5/5,7****
Flyt	%	10-25		5-20

*Nitrogenfrie ekstrakter *** 6-8 % NFE i 0,5 og 1 mm, og 7-9 % NFE i 0,7 mm pelletstørrelse.

Astaxanthin (Ax) ** 5 mg/kg Ax i 1,5 og 2 mm, og 5,7 mg/kg Ax i 3 mm pelletstørrelse.

Nutra Olympic 2 mm er i oppgaven omtalt som 0-fôr. Næringsinnholdet varierte mellom ulike fôrtyper (tabell 1).

Råvareinnholdet i Nutra ST er oppgitt til å være fiskemel, fiskeolje, soyaproteinkonsentrat, hvetegluten og hvete. Råvareinnholdet i Nutra XP er oppgitt til å være fiskemel, hvetegluten, fiskeolje, maisgluten og krillmel. Råvareinnholdet i Nutra Olympic er oppgitt til å være fiskemel, fiskeolje, soya protein konsentrat, hvetegluten, rapsolje, hvete, solsikkemel.

Ifølge Siri Tømmerås, produksjef settefisk og smolt ved Skretting AS (pers. com. epost 15.09.2016), har Skretting et krav om at EPA+DHA skal utgjøre minimum 10 % av fettene i fôr til settefisk, samt at n-6/n-3 ratio skal ligge mellom 0,8 og 1,0. Forsøksfôret ble fremstilt ved å tilføre tørre, 3 mm pellets (Biomar AS, Danmark) ulike oljer. Sammensetningen i tørre pellets er oppgitt i tabell 2.

Tabell 2: Sammensetning i tørre pellets (3mm) fra Biomar AS (Danmark).

Formula	%
Fiskemel Low Temperature	18,4
Fiskemel South American	22,5
Krill (56 % protein)	2,5
Soya SPC*>62 % (non gmo)	15,0
Sunflower Expeller	3,5
Hvetegluten	15,0
Hvete	4,9
Hvetemel	15,9
Mono-kalsium fosfat	1,2
Krystallinske aminosyrer	1,9
Vitaminer og mineraler	0,9
Pigment** (40 mg/kg)	0,004
Fuktighet	6,8
Energi (MJ/kg)	26,0
Protein	50,4
Fett	5,9
Aske	8,8
Fosfor - total	1,4

*Soya protein konsentrat

**Astaxanthin

Forsøksoljene, 118,75 g (rapsolje, ansjosolje eller EPA/DHA konsentrat), palmeolje, 6,25 g og BHT (200 ppm) ble overført til en rundkolbe (3 L) sammen med 500g tørre pellets. Rundkolben ble deretter koblet til en rotavapor (IKA

RV10 control, CVC3000 vacuubrand, VWR, PA, USA) (60 rpm, 1000 mbar) med vannbad (40 °C). Etter to og ett halvt minutt ble trykket redusert til 100 mbar i to minutter, før trykket raskt ble hevet tilbake til 1000 mbar ved bruk av en ventil. Rundkolben ble så koblet av rotavaporen og satt på is i 20 minutter. Ferdig fôr ble overført til en plastkasse med lokk for kjølig lagring (8 °C).

I stressfôret ble saponin blandet med tre ulike oljetilsetninger i en rotator (Stuart SB3, Bibby Scientific Lt., Staffordshire, Storbritannia). For stresstest ved dag 1 og 21 bestod oljetilsettingen av 40 % ansjosolje og 60 % rapsolje. For stresstest ved dag 84 var oljetilsettingen enten EPA/DHA konsentrat eller rapsolje. Olje og saponin ble tilsatt rundkolbe like før kobling til rotavapor.

3.4 Fôringsforsøk

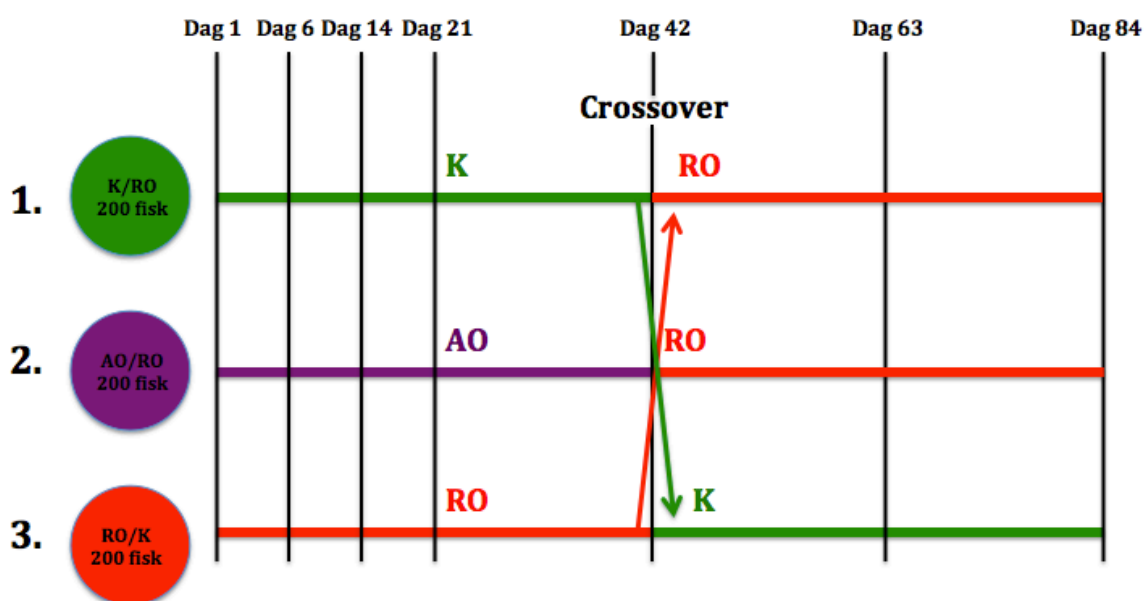
Ved dag 0 ble 600 fisk fordelt på tre kar à 200 individer. Det ble foretatt en visuell sortering av røkter, hvor individer med skjønnsmessig avvik fra ønsket gjennomsnittlig vekt på 30 g ble fjernet. Det ble ved dag 0 gjennomført individmåling av vekt og lengde for 10 fisk, som 0-prøver for vekt- og lengdeutvikling. Hvert kar representerte én diettgruppe, og ble merket med fargekode samt navn på fôrtype som skulle gis.

Første uttak av prøver til analyse av fettsyresammensetning ble gjort ved dag 1. Ved dag 42 ble det gjennomført en crossover (se figur 7) hvor oljetilsettingen i fôret ble byttet om. Diettgruppe K/RO fikk fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat fra dag 0 til dag 42, og deretter fôr tilsatt rapsolje fra dag 42 til dag 84. Diettgruppe AO/RO fikk fôr tilsatt ansjosolje fra dag 0 til dag 42, og deretter fôr tilsatt rapsolje fra dag 42 til dag 84. Diettgruppe RO/K fikk fôr tilsatt rapsolje fra dag 0 til dag 42, og deretter fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat fra dag 42 til dag 84. De tre fôrtypene med ulik oljetilsetting er betegnet som "forsøksfôr". Fisken ble fôret med forsøksfôr fra og med dag 0.

3.5 Kontrollforsøk

Ved dag 42 ble det som nevnt foretatt en crossover av fôrtyper. To kontrollgrupper à 20 fisk ble imidlertid sortert ut fra henholdsvis diettgruppe

K/RO og RO/K. Disse ble blekkmerket (Panjet needleless injector, Wright Health Group Ltd., Dundee, Scotland) mellom bukfinnene med Alcian blue og overført slik at de fikk samme fôr tilsatt henholdsvis EPA/DHA konsentrat eller rapsolje gjennom hele forsøksperioden på 84 dager. Dette er markert med grønn og rød pil ved dag 42 i figur 7.



Figur 7: Oversikt over forsøksoppsett for fôrforsøket, fra uttak til analyse av fettsyresammensetning ved dag 1, til forsøkets avslutning ved dag 84. Ved dag 42 ble det gjennomført en crossover, hvor oljetilsettingen i fôret ble byttet om. Diettgruppe K/RO fikk fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat fra dag 0 til dag 42, og deretter fôr tilsatt rapsolje fra dag 42 til dag 84. Diettgruppe AO/RO fikk fôr tilsatt ansjosolje fra dag 0 til dag 42, og deretter fôr tilsatt rapsolje fra dag 42 til dag 84. Diettgruppe RO/K fikk fôr tilsatt rapsolje fra dag 0 frem til dag 42, og deretter fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat fra dag 42 til dag 84. Ved dag 42 ble to kontrollgrupper på 20 fisk, fra henholdsvis diettgruppe K/RO og RO/K, merket med blekkmerking i buken og overført til motsatt diettgruppe, slik at de fikk samme oljetilsetting i fôret gjennom hele forsøksperioden på 84 dager (markert med rød og grønn pil ved dag 42).

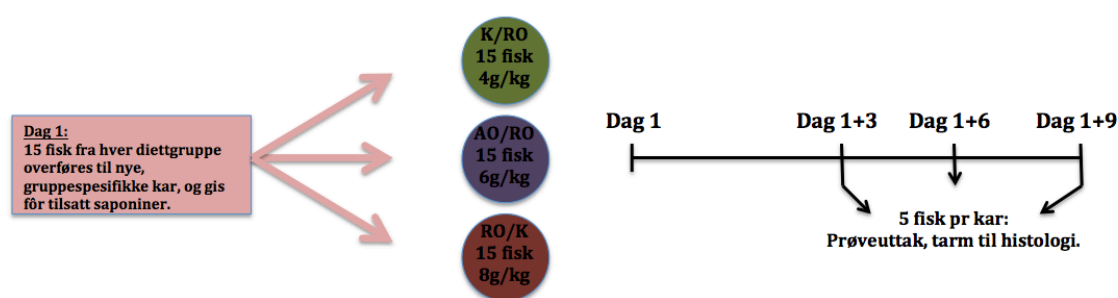
3.6 Stressforsøk

Ett stressforsøk ble gjennomført for hver av tidspunktene: dag 1, 21 og 84, ved at soyasaponin ble tilsatt fôret. Ved dag 1 og 21 ble 5 fisk fra hver diettgruppe tatt ut for prøvetaking av midttarm og baktarm til histologi. Ved dag 84 ble 5 fisk fra hver kontrollgruppe tatt ut for prøvetaking av midttarm og baktarm til histologi.

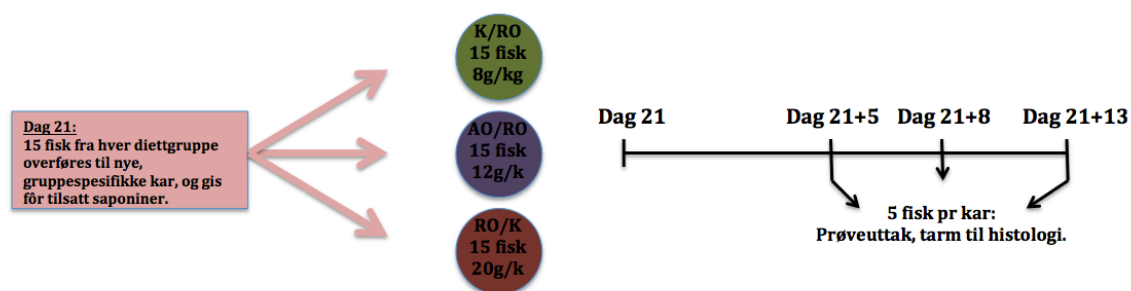
Disse prøvene fra tarm, ved dag 1, 21 og 84, fungerte som 0-prøver i stressforsøkene.

Ved dag 1 og 21 ble 15 fisk fra hver av diettgruppene overført til nye kar på 100L. Ved dag 84 ble 15 fisk fra hver av de to kontrollgruppene overført på samme vis.

Ved angitte tidspunkt ble det tatt ut 5 fisk for prøvetaking. Det ble tatt prøver av midttarm og baktarm for histologi. For stresstest ved dag 1 ble prøvene tatt ved dag 1+3, 1+6 og 1+9 (figur 8), for dag 21 ved dag 21+5, 21+8 og 21+13 (figur 9), og for dag 84 ved dag 84+6, 84+9 og 84+12 (figur 10).

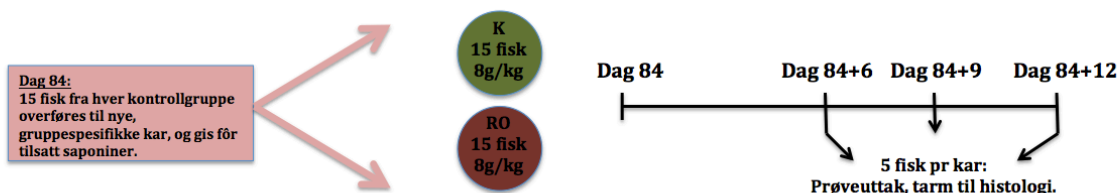


Figur 8: Forsøksoppsett til stressforsøk ved dag 1. 15 fisk fra hver av diettgruppene ble overført til nye kar. Fisk i hvert av de tre karene ble gitt fôr tilsatt oljeblanding med 40 % ansjosolje og 60 % rapsolje, samt soyasaponiner. Saponin ble gitt i doser på 4 g/kg fôr for diettgruppe K/RO, 6 g/kg fôr for diettgruppe AO/RO, og 8 g/kg fôr for diettgruppe RO/K. Ved dag 1+3, 1+6 og 1+9 ble det tatt ut 5 fisk fra hvert kar til prøvetaking. I tillegg ble 5 fisk fra hver diettgruppe tatt ut ved dag 1 for prøvetaking (0-prøver).



Figur 9: Forsøksoppsett til stressforsøk ved dag 21. 15 fisk fra hver av diettgruppene ble overført til nye kar. Fisk i hvert av de tre karene ble gitt fôr tilsatt oljeblanding med 40 % ansjosolje og 60 % rapsolje, samt soyasaponiner. Saponin ble gitt i doser på 8 g/kg fôr for diettgruppe K/RO, 12 g/kg fôr for diettgruppe AO/RO, og 20 g/kg fôr for diettgruppe RO/K. Ved dag 21+5, 21+8 og 21+13 ble det tatt ut 5 fisk fra hvert kar til prøvetaking. I tillegg ble 5 fisk fra hver diettgruppe tatt ut ved dag 21 for prøvetaking (0-prøver).

For stresstest ved dag 1 og 21 ble fisken gitt et fôr med 40 % ansjosolje og 60 % rapsolje, tilsatt ulike doser saponin (figur 8 og 9). For stresstest ved dag 1 (figur 8) ble det gitt tre ulike doser soyasaponin (4 g/kg, 6 g/kg og 8 g/kg fôr). Det ble også gitt tre ulike doser (8 g/kg, 12 g/kg og 20 g/kg fôr) for stresstest ved dag 21 (figur 9). For stresstest ved dag 84 (figur 10) ble det gitt fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat med 8g/kg fôr soyasaponin til kontrollgruppen som hadde fått EPA/DHA fôr gjennom hele fôringsforsøket. Til kontrollgruppen som hadde fått RO fôr gjennom hele fôringsforsøket, ble det gitt et fôr tilsatt RO og 8 g/kg fôr soyasaponin. Prøveuttak av tarm for histologi ble gjort etter fôring over 6, 9 og 12 dager med stressfôr.



Figur 10: Forsøksoppsett til stressforsøk ved dag 84. 15 fisk fra hver av kontrollgruppene ble overført til nye kar på. Fisk i karene ble gitt stressfôr tilsatt saponiner i henholdsvis EPA/DHA konsentrat (kontrollgruppe K) og rapsolje (kontrollgruppe RO). Begge typer stressfôr var tilsatt soyasaponiner (8 g/kg fôr). Ved dag 84+6, 84+9 og 85+12 ble det tatt ut 5 fisk for prøvetaking. I tillegg ble 5 fisk fra hver kontrollgruppe tatt ut ved dag 84 for prøvetaking (0-prøver).

3.7 Oppsett fôrtester

Det ble gjennomført to tester for å undersøke betydningen av pelletstørrelse for fiskenes vekst. Begge testene var underlagt de samme ytre betingelser som hovedforsøket, med unntak av karvolum som her var på 100 L.

3.7.1 Test 1

Ved dag 42 ble tre grupper à 10 fisk, en gruppe fra hver av diettgruppene, tatt over i 10 L bøtter og bedøvd med Benzokain (0,15 ml/l vann). Fisken ble deretter veid og overført til nye kar, hvor de ble satt tilbake på 0-fôr (Nutra Olympic 2 mm, Skretting AS, Stavanger, Norge). Etter 15 dager på 2 mm fôr ble fisken veid på nytt.

3.7.2 Test 2

Etter endt hovedfôringsforsøk ble det satt opp et nytt fôringsforsøk for å undersøke effekten av pelletstørrelse (2 mm og 3 mm) på vekst hos fisk tilsvarende de minste individene (≤ 26 g) ved oppstart av hovedforsøket. To grupper à 15 fisk, fra samme generasjon og stamme, og underlagt samme fôrregime fra startfôring til dag 0, ble overført til hvert sitt kar. Den ene gruppen fikk videreført fôring med 0-fôr (Nutra Olympic 2 mm), mens den andre gruppen ble gitt Nutra Olympic 3 mm (Skretting AS, Stavanger, Norge). Bulkvekt av samtlige fisk i hvert kar ble veid ved dag 6, 9, 12 og 19. Individmåling av lengde og vekt ble utført ved dag 1 og 27.

3.8 Prøveuttak

I crossoverforsøket ble det tatt ut fisk fra alle diettgruppene for måling av lengde og vekt, samt prøvetaking til analyse av fettsyresammensetning, ved dag 1, 14, 21, 42, 63 og 84. Ved dag 1 og 21 ble det fra de samme individene også tatt ut prøver av tarm til histologi. I tillegg ble det målt lengde og vekt ved dag 6. Fra kontrollgruppene ble det gjort ett uttak for måling av lengde og vekt, samt prøveuttak til analyse av fettsyresammensetning og histologi ved dag 84. Uttaket fra kontrollgruppene ved dag 84 kom i tillegg til uttaket fra diettgruppene i crossoverforsøket som ble gjennomført samme dag.

Ved alle prøveuttak ble 5 individer fra hver gruppe håvet ut av karene og overført til en beholder med ferdigblandet overdose Benzokain (0,4 ml/l vann). Når fisken ikke lengre viste tegn til liv ble den påført slag mot hode før måling av lengde og vekt. Ved prøveuttak ble det tatt ut prøver fra blod og muskel til analyse av fettsyresammensetning.

Blodprøver ble tatt fra halevenen (*Vena caudalis*) ved bruk av natrium-heparin vacutainere. Etter blodoppsamling ble vacutaineren rotert for hånd i omlag 10 sekunder, og satt på is, før uttak av muskel- og tarmprøver. Etter endt prøveuttak ble blodet sentrifugert (Multifuge 1 S-R, Heraeus, Thermo electron corporation, Osterode, Tyskland) ved 3000 rpm i 10 minutter, slik at prøven ble separert i en plasmafraksjon øverst, og en cellefraksjon nederst i røret. Plasmafraksjonen ble pipettert over i eppendorfrør, mens cellefraksjonen ble

igjen i vacutaineren. Begge fraksjonene ble oppbevart over natt i kjøleskap, før tilsetning av 84 µl metanol med BHT (0,05 mg/ml), per ml prøve (plasma og cellefraksjon), og videre lagring på -80 °C.

Ved muskelprøver ble hel filet tatt ut, skinnet fjernet, muskel overført til 50ml Falconrør og satt på is. Etter endt prøveuttak ble prøven lagret ved -80 °C.

Det ble tatt ut prøver av tarm til histologi ved starten av hvert stressforsøk (dag 1, 21 og 84), og deretter på ulike dager etter fôring med stressfôr (se punkt 3.6). For dag 1 og 21 ble histologiprøvene tatt fra fem individer i hver diettgruppe. For dag 84 ble histologiprøvene tatt fra fem individer i hver kontrollgruppe. Tverrsnittede prøver fra midttarm og baktarm ble lagt i histologikassetter for fiksering på 10 % formalin i 24 timer. Deretter ble kassetene vasket med fosfatbufret saltvann og lagret på 70 % etanol. Fiksering og lagring foregikk i kjøleskap. Fisk ble ikke sultet før prøveuttak, og samtlige prøver ble merket med forsøksnummer, individ, kar, tidspunkt og vevstype.

3.9 Analyser

3.9.1 Fettekstraksjon fra fôr

Fett fra fôr ble ekstrahert slik beskrevet i Folch *et al.* (1957). Analysen ble utført med tre paralleller. Pellets ble knust i morter og 1g veid ut for overføring til teflonrør. Diklormetan:metanol (2:1), 19 ml, ble tilsatt før risting i 40 minutter ved romtemperatur med ristemaskin (Multi Reax, Heidolph, Tyskland). Deretter ble prøvene sentrifugert (Multifuge 1 S-R) på 4500 g i 15 minutter, og filtrert over i nye teflonrør ved bruk av glasstrakt og Whatman® foldefilter (ø150 mm). Glasstrakt ble byttet mellom hver fôrtype, og tørket mellom hver prøve. Foldefilter ble byttet mellom hver prøve.

Etter å ha tilsatt 4 ml 0,9 % NaCl ble prøven ristet i 20 sekunder med vortex (REAX 2000, Heidolph, Tyskland), og sentrifugert (Multifuge 1 S-R) på 2000 g i 10 minutter. Den nederste fasen, vannfasen, ble pipettert ut med glasspipette, mens den organiske fasen ble overført til forhåndsveide rundkolber (100 ml). Kolben ble koblet til rotavapor (IKA RV10 control, CVC3000 vacuubrand) med vannbad (100 mbar, 20 rpm, 30 °C), inntil alt løsemiddel var fordampet og det ekstraherte fett lå igjen i kolben. Kolben ble veid på nytt, og

fettprosent beregnet etter følgende formel: $((\text{Rundkolbe med fett} - \text{Rundkolbe})/1 \text{ g prøve}) * 100 \%$

3.9.2a Metylering av ekstrahert fett

Metylering av fettsyrene i det ekstraherte fett fra fôr, ble gjennomført som beskrevet av Stoffel *et al.* (1959). Først ble fett løst til 10 mg/ml med 2:1 DCM:MeOH. 100 μl ble så pipettert over til duran rør og tilsatt 2 ml H_2SO_4 (2 %) i metanol, samt 0,9 ml DCM, før varming i varmeblokk (BT3, Grant Instruments Ltd., Cambridge, England) ved 100 °C i 60 minutter. Etter varmebehandling ble det tilsatt 3,5 ml NaCl (5 %) og 3,5 ml heptan før risting i 30 sekunder med vortex (REAX 2000). Heptanfasen ble overført til 4 ml glassrør, og dampet tørr med N_2 gass.

3.9.2b Direktemetylering

På analysedagen ble prøver tatt opp og tint i romtemperatur. Det ble foretatt en direktemetylering av fett i røde blodlegemer, plasma og muskel, som beskrevet av Dulavik *et al.*, (1998). For muskel ble hel filet homogenisert med Ultra-Turrax (IKA, Staufen, Tyskland). 200 mg prøve ble overført til duran rør, tilført 8 ml 2 M HCl i MeOH tilsatt BHT (0,05 %), og satt til varming i varmeblokk (BT3) ved 110 °C i 120 minutter. Etter avkjøling ble prøven overført til 50ml Falcon rør og tilført N_2 gass til om lag 50 % av prøven var fordampet. Destillert vann (4 ml) og 20 ml heptan ble tilsatt, røret ristet i 20 sekunder med vortex (REAX 2000) og videre sentrifugert (Multifuge 1 S-R) på høyeste hastighet i fire minutter. 4 ml av heptanfasen ble overført til 4 ml glassrør, og dampet tørr med N_2 gass.

Plasma ble sentrifugert (Centrifuge, 5417R, Eppendorf AG, Hamburg, Tyskland) på 15000 rcf i 10 minutter for å sikre at plasma var fri for cellerester, før korrekt prøvevolum ble pipettert ut. For både plasma og cellefraksjon ble 50 μl prøve overført til duran rør, tilført 1 ml 0,5 M HCL MeOH og varmet i varmeblokk (BT3) eller varmebad (SW 22, Julabo GmbH, Seelbach, Tyskland) på 70 °C i 60 minutter. Innholdet overførtes så til 15 ml Falcon rør, og ble tilsatt 1 ml KCl, 1 ml destillert vann og 2 ml heptan før sentrifugering (Multifuge S-R) på 1000 g i fem minutter. Heptanfasen ble overført til eppendorf rør (2 ml) med pipette, og sentrifugert (Centrifuge 5417R, Eppendorf AG) på 20817 rcf i fem minutter. Hele innholdet ble deretter pipettert over i 4 ml glassrør, og dampet

tørr med N₂ gass.

For fôr, muskel og blod ble det metylerte fettene avslutningsvis løst i 50 µl heptan (100 µl for fôrprøvene), overført til analyserør, og satt til analyse på gasskromatograf med helium som bærerergass. Maskinen (Agilent 6890N, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), benyttet CP7419 50 m × 0,25 mm kapillærkolonne (Varian Inc. Middelburg, Nederland). Kromatogrammene for hver enkelt prøve ble sammenlignet opp mot kjente standarder (PUFA 1, PUFA 2, PUFA 3, GLC 411), og fettsyrer identifisert på bakgrunn av sin unike retensjonstid. Det ble kjørt blanke prøver (heptan) før hver analyserunde. Det ble i tillegg gjennomført fullstendige analyser av blanke prøver (heptan), for å detektere hvilke utslag på kromatogrammet som var forårsaket av metoden.

3.9.3 Histologi

Histologikassetter med vevsprøver, lagret på etanol (70 %), ble overført til fremføringsmaskin (Citadel 2000, Thermo Scientific, Cheshire, Storbritannia) for innstøpning i parafinvoks. Deretter ble kassetten tatt ut og overført til maskin for innstøpning i blokker (EG1150H, Leica biosystems GmbH, Wetzlar, Tyskland). Prøvene ble skjært til om nødvendig, stilt på høykant og støpt inn i en blokk av parafinvoks, før rask nedkjøling på kjøleplate (CP-4, Axel Johnson Lab System, Sverige).

Ferdig støpte blokker ble så snittet i snitt på 5µm med microtom (RM2235, Leica biosystems GmbH), lagt i vannbad (42 °C) for utretting, og overført til objektglass. Objektglass med snitt ble satt i avtrekksskap over natt, og tørket i tørkeskap (60 °C i 60 minutter) før farging med eosin og hematoxylin. Farging med hematoxylin og eosin ble gjort med en 16-trinns fargemaskin (ST4020, Leica biosystems GmbH), før dekkglass ble pålimt med Eukitt®. Histologiske snitt ble analysert slik beskrevet i Krogdahl *et al.* (2015).

3.9.4 Statistikk og databehandling

Alle data ble behandlet med Excel®, 2010 (Microsoft Corporation, NM, USA). For undersøkelser av eventuelle signifikante forskjeller, ble det benyttet en-faktor variansanalyse (Anova). Denne ble beregnet i Excel med tilleggsprogrammet Statplus® 2016 (AnalystSoft Inc., CA, USA), og ulikheten mellom grupper ble betegnet signifikant dersom $p < 0,05$. En forutsetning for

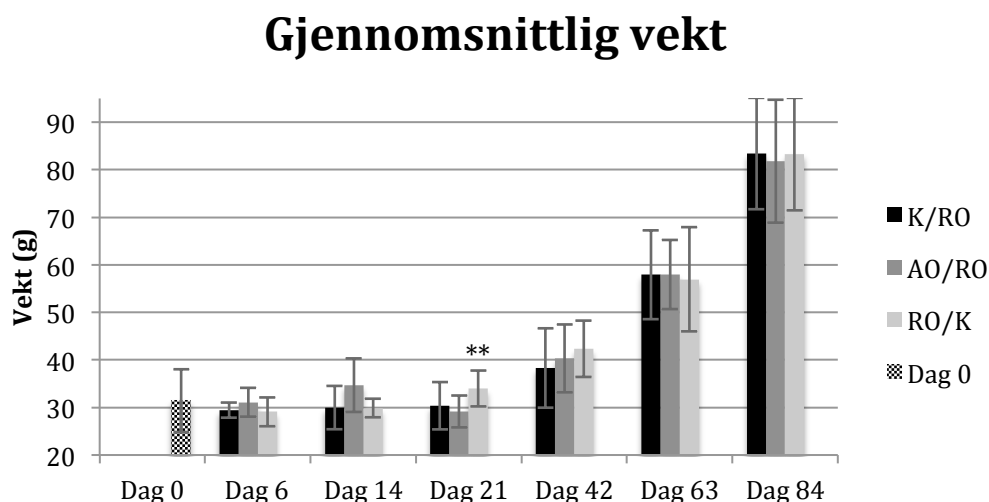
beregningene er antagelsen om at innsamlede data fra forsøket var normalfordelte.

4. Resultater

4.1 Lengde og Vekt

4.1.1a Vektutvikling for fisk i de ulike diettgruppene

Figur 11 viser utviklingen i gjennomsnittlig vekt for fisk i de tre diettgruppene K/RO, AO/RO og RO/K, samt gjennomsnittlig vekt ved dag 0. Målingene ble gjennomført ved 7 ulike tidspunkt over en periode på 84 dager.

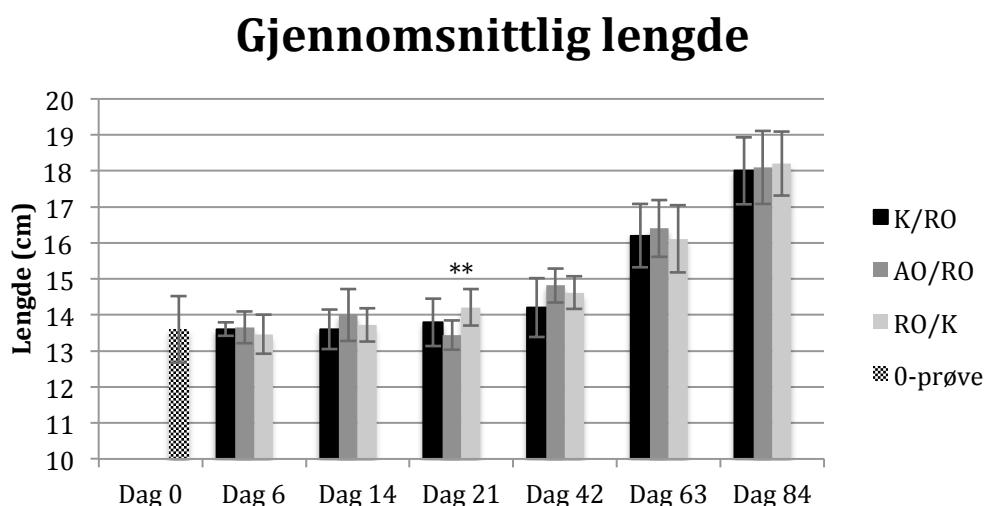


Figur 11: Vektutvikling for hver av de tre diettgruppene, over en fôringsperiode på 84 dager. Vekt ved dag 0 er basert på uttak av 10 fisk før overføring ved dag 0. $n=10$ for alle tidspunkt, foruten dag 6 ($n=5$) og dag 14 ($n=6$). Forskjeller tilsvarende $p<0,05$ ble regnet som signifikante. **For dag 21 var gruppe RO/K signifikant forskjellig fra gruppe AO/RO.

Resultatene viste en vektøkning for diettgruppene fra 31,4 g ved dag 0, til 83,4 g (K/RO), 81,8 g (AO/RO) og 83,3 g (RO/K) ved dag 84. Den prosentvise veksten gjennom hele forsøket var for de respektive gruppene henholdsvis 165,6 % (RO/K), 160,5 % (AO/RO) og 165,3 % (RO/K). Det ble ikke påvist signifikante forskjeller ($p<0,05$) mellom de ulike gruppene, med unntak av for dag 21. Her var gruppe RO/K signifikant forskjellig fra gruppe AO/RO. For gruppene K/RO og AO/RO var det en tilsynelatende reduksjon i vekten mellom dag 0 og dag 21, mens det for RO/K var det en liten vektøkning i samme periode. Det ble ikke påvist signifikant vektøkning i gruppene mellom dag 0 og dag 21.

4.1.1b Lengdeutvikling for fisk i de ulike diettgruppene

Figur 12 viser utviklingen i gjennomsnittlig lengde, for fisk i de tre diettgruppene K/RO, AO/RO og RO/K, samt gjennomsnittlig lengde ved dag 0. Målingene ble gjennomført ved 7 ulike tidspunkt over en periode på 84 dager.

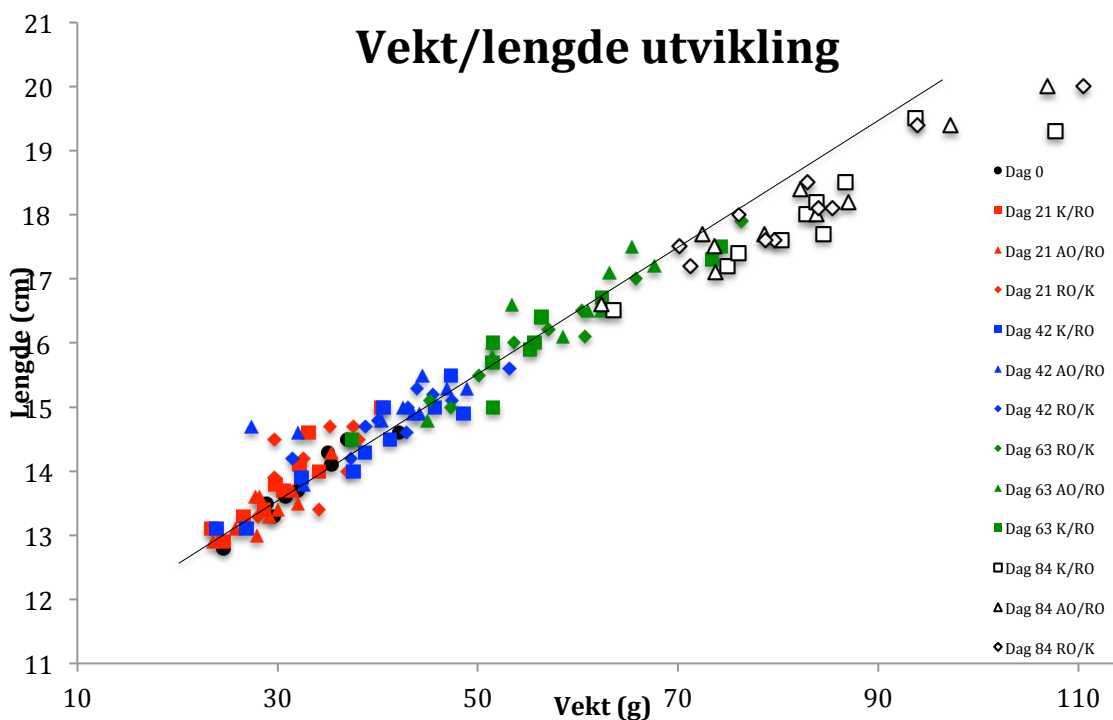


Figur 12: Lengdeutvikling for hver av de tre diettgruppene, over en fôringsperiode på 84 dager. Lengde ved dag 0 er basert på uttak av 10 fisk før overføring ved dag 0. For dag 6, 21 og 42 er n=5, for dag 14 er n=6, mens n=10 for de resterende. Forskjeller tilsvarende $p < 0,05$ ble regnet som signifikante. **For dag 21 var gruppe RO/K signifikant forskjellig fra gruppe AO/RO.

Resultatene viste en økning i lengde for diettgruppene fra 13,6 cm ved dag 0, til 18,0 cm (K/RO), 18,1 cm (AO/RO) og 18,2 cm (RO/K) ved dag 84. Den prosentvise lengdeøkningen gjennom hele forsøket var for de respektive gruppene henholdsvis 32,4 % (RO/K), 33,1 % (AO/RO) og 33,8 % (RO/K). Det ble ikke påvist signifikante forskjeller ($p < 0,05$) mellom de ulike gruppene, med unntak av for dag 21, hvor det var en signifikant forskjell mellom gruppene AO/RO og RO/K. For gruppe AO/RO var det en tilsynelatende reduksjon i lengden mellom dag 0 og dag 21, mens det for K/RO og RO/K var det en liten lengdeøkning i samme periode. Det ble ikke påvist signifikant lengdeøkning i gruppene mellom dag 0 og dag 21.

4.1.2 Vekt/lengde utvikling gjennom forsøksperioden

Figur 13 illustrerer utviklingen i vekt/lengde for de tre diettgruppene K/RO, AO/RO og RO/K, samt 0-fisk. Målingene ble gjennomført ved 5 ulike tidspunkt over en periode på 84 dager.

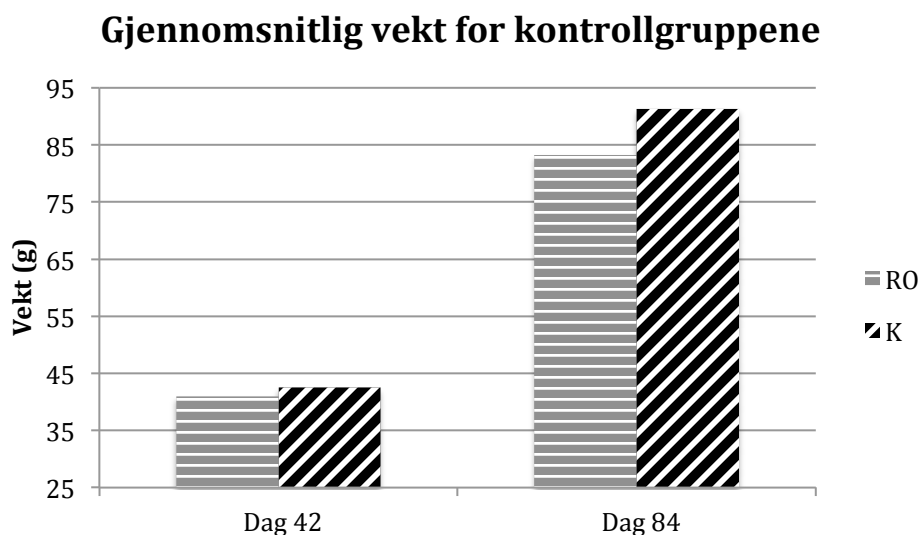


Figur 13: Sammenheng mellom vektøkning og lengdeøkning ble undersøkt ved å plote vekt mot lengde for de tre diettgruppene. Denne sammenhengen gir et inntrykk av kondisjonsfaktor for individene. Hver prikk representerer ett individ. n=10 for hver gruppe ved hvert tidspunkt.

Resultatene tydet på at fiskene ikke vokste fra dag 1 til dag 21. Fra dag 21 indikerte resultatene en gradvis større spredning mellom de ulike tidspunktene. Økningen i vekt/lengde utvikling var tilnærmet lineær frem til dag 63, hvorpå den lineære utviklingen avtok noe frem mot dag 84

4.1.3 Vektutvikling for fisk i kontrollgruppene

Figur 14 viser gjennomsnittlig vekt for fisk i kontrollgruppene RO og K ved dag 42 og 84.

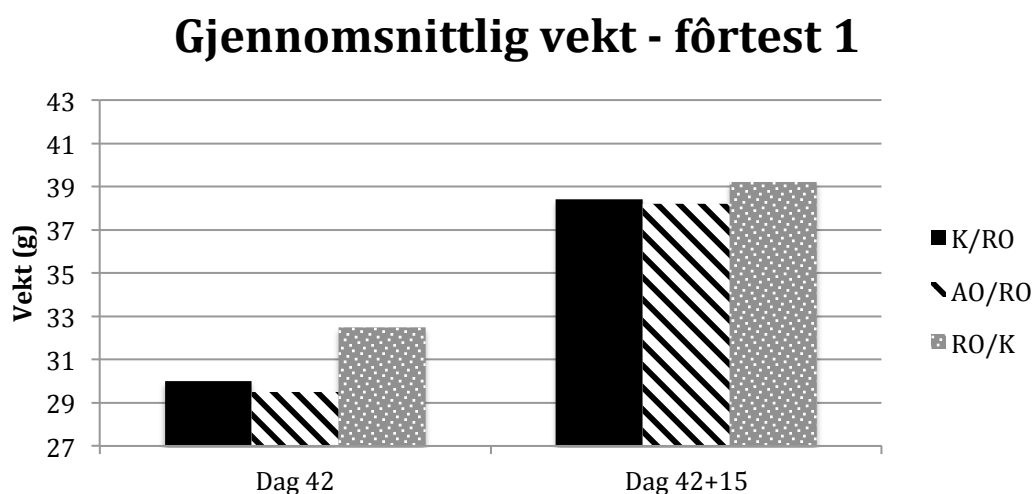


Figur 14: Gjennomsnittlig vekt av fiskene i kontrollgruppene RO og K ved dag 42 og 84. For dag 42 var n=20 (totalt antall fisk pr kontrollgruppe). Ved dag 84 var n=5.

Vekten ved dag 42 var 42,5 g (K) og 41 g (RO). Vekten ved dag 84 var 91,3 g (K) og 83,2 g (RO). Resultatene viste en prosentvis vektøkning for kontrollgruppene gjennom hele fôringsforsøket på 190,8 % (K), og 165,0 % (RO). Det er da tatt utgangspunkt i en gjennomsnittlig vekt på 31,4 g ved dag 0, slik vist under punkt 4.1.1a. I tidsrommet mellom merking av kontrollgruppene ved dag 42, og dag 84 viste gruppene en prosentvis vektøkning på 114,8 % (K) og 103,2 % (RO).

4.1.4 Vektutvikling ved fôrtest 1

Figur 15 viser økning i gjennomsnittlig vekt for fisk i diettgruppene K/RO, AO/RO og RO/K ved dag 42 og dag 42+15, under test 1 av pellet-størrelse. Fra dag 0 til dag 42 hadde fiskene fått 3mm pellets. Dag 42 representerer tidspunktet hvor 10 fisk fra hver av diettgruppene ble overført til mindre kar for tilbakeføring til 0-fôr (Nutra Olympic, 2 mm). Dag 42+15 representerer tidspunktet 15 dager etter dag 42.



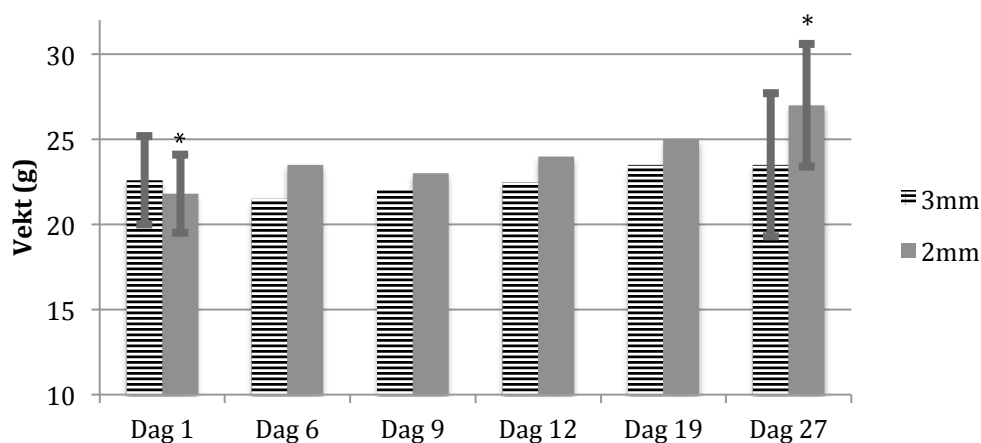
Figur 15: Individvekt basert på bulkvekt for hver av de tre diettgruppene, ved test 1 av pellet-størrelse. 10 fisk fra hver diettgruppe ble ved dag 42 tilbakeført til 0-fôr over en fôringsperiode på 15 dager. n=10.

Vekten ved dag 42 var 30,0 g (K/RO), 29,5 g (AO/RO) og 32,5 g (RO/K). Vekten ved dag 42+15 var 38,4 g (K/RO), 38,2 g (AO/RO) og 39,2 g (RO/K). Resultatene viste en prosentvis vektøkning på 28,0 % (K/RO), og 29,5 % (AO/RO), og 20,6 % (RO/K).

4.1.5 Vektutvikling ved fôrtest 2

Figur 16 viser økning i gjennomsnittlig vekt for fisk i testgruppene gitt Nutra Olympic med enten 3 mm eller 2 mm pellet-størrelse. Målingene ble gjennomført ved seks ulike tidspunkt over en periode på 27 dager. Målingene ved dag 1 og 27 ble basert på individdata, mens de resterende målingene ble basert på bulkvekt.

Gjennomsnittlig vekt - fôrtest 2



Figur 16: Vektutvikling for hver av de to testgruppene, over en fôringsperiode på 27 dager, ved test av 2 mm og 3 mm pellet-størrelse (Nutra Olympic, produsert av Skretting AS). Forskjeller tilsvarende $p < 0,05$ ble regnet som signifikante. $n=10$ *Gruppen fôret med 2 mm pellets viste signifikant vektøkning fra dag 1 til dag 27.

Vekten ved dag 1 var 22,6 g (3 mm) og 21,8 g (2 mm). Vekten ved dag 27 var 23,5 g (3 mm) og 27,0 g (2 mm). Resultatene viste en prosentvis vektøkning for gruppene gjennom hele perioden på 4,0 % (3 mm), og 23,9 % (2 mm). Resultatene for gruppen fôret med 3 mm pellet viste ingen signifikant forskjell ($p < 0,05$) mellom vekten på dag 1 og dag 27. Derimot var det en signifikant forskjell mellom vekten ved dag 1 og dag 27, for gruppen fôret med 2 mm pellet. Det ble ikke påvist noen signifikant forskjell mellom gruppene ved dag 27.

4.2 Fettinnhold og fettsyresammensetning

4.2.1a Fettinnhold i de ulike fôrtypene

Tabell 3 viser det totale fettinnholdet i de ulike fôrtypene, målt i prosent. Resultatene viste at fettinnholdet for de ulike fôrtypene var 22,0 % for 0-fôr, (Nutra Olympic 2 mm), 24,0 % for fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat, 22,3 % for fôr tilsatt ansjosolje og 24,0 % for fôr tilsatt rapsolje.

Tabell 3: Fettinnhold, målt som prosent av total vekt, i de ulike fôrtypene. n=3.

Fôrtype	Fett (%)
0-Fôr, Nutra Olympic 2mm	22,0
Fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat	24,0
Fôr tilsatt ansjosolje	22,3
Fôr tilsatt rapsolje	24,0

4.2.1b Fettsyresammensetningen i de ulike fôrtypene

Tabell 4 viser fettsyreprofilen til de ulike fôrtypene målt i prosent, med standardavvik.

Tabell 4: Fettsyreprofilen (areal %) i de ulike fôrtypene, gitt som gjennomsnitt og standardavvik. Σ viser summen av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper, samt totalt FA innhold. n=3. -: ikke detektert.

Fettsyre	Fôr tilsatt konsentrat	Fôr tilsatt ansjosolje	Fôr tilsatt rapsolje	Nutra Olympic 2 mm
14:0	1,2 ± 0,1	7,3 ± 0,1	0,7 ± 0,1	5,1 ± 0,1
16:0	8,0 ± 0,5	20,6 ± 0,2	6,3 ± 0,1	13,5 ± 0,1
18:0	4,6 ± 0,3	3,8 ± 0,1	1,6 ± 0	2,6 ± 0,0
Σ mettet	13,8	31,7	8,6	21,2
16:1n-7	1,9 ± 0,1	8,1 ± 0,1	0,6 ± 0,1	5,4 ± 0,0
18:1n-9	11,4 ± 0,5	10,9 ± 1,1	39,9 ± 0,5	29,4 ± 0,3
18:1n-7	3,2 ± 0,2	2,9 ± 0,0	2,2 ± 0,0	3,3 ± 0,2
20:1n-9	4,1 ± 0,1	4,2 ± 0,0	1,4 ± 0,1	5,4 ± 0,0
Σ enumettet	20,6	26,1	44,1	43,5
18:2n-6	4,0 ± 0,2	4,5 ± 0,4	13,6 ± 0,2	11,4 ± 0,0
20:4n-6	1,7 ± 0,0	1,0 ± 0,0	-	-
Σ n-6	5,7	5,5	13,6	11,4
18:3n-3	0,8 ± 0,0	1,0 ± 0,1	5,2 ± 0,1	4,3 ± 0,1
20:5n-3	30,3 ± 0,5	15,3 ± 0,1	0,9 ± 0,1	7,1 ± 0,0
22:5n-3	3,2 ± 0,1	1,6 ± 0,0	-	1,1 ± 0,1
22:6n-3	22,1 ± 0,3	11,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	6,3 ± 0,1
Σ n-3	56,4	29,2	7,3	18,8
Σ LC n-3	55,6	28,2	2,1	14,5
Σ n-6/ Σ n-3	0,1	0,2	1,9	0,6
Σ FA	96,5	92,5	73,6	94,9

Summen av n-6 fettsyrer var 5,7 % (K), 5,5 % (AO), 13,6 % (RO), og 11,4 % (0-fôr). Summen av n-3 fettsyrer var 56,4 % (K), 29,2 % (AO), 7,3 % (RO), og 18,8 % (0-fôr). Summen av LC n-3 fettsyrer var 55,6 % (K), 28,2 % (AO), 2,1 % (RO), og 14,5 % (0-fôr). n-6/n-3 ratioen var 0,1 (K), 0,2 (AO), 1,9 (RO), 0,6 (0-fôr). Prosentandelen 20:5n-3 i de ulike typene fôr var 30,3 % (K), 15,3 % (AO), 0,9 % (RO), 7,1 % (0-fôr). Prosentandelen 22:6n-3 i de ulike typene fôr var 22,1 % (K), 11,3 % (AO), 1,2 % (RO), 6,3 % (0-fôr).

4.2.2a Fettsyresammensetningen i muskel fra fisk i diettgruppene

Tabell 5 viser fettsyreprofilen i muskel, fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84.

Tabell 5: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i muskel fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje til dag 84. Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. n=5

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	4,4 ± 0,1	4,0 ± 0,2	4,1 ± 0,3	3,1 ± 0,3	2,6 ± 0,6	1,8 ± 0,2
16:0	14,3 ± 0,5	14,3 ± 1,9	13,1 ± 0,7	13,2 ± 0,9	13,6 ± 1,2	12,2 ± 0,8
18:0	3,5 ± 0,2	4,2 ± 1,4	3,5 ± 0,3	4,7 ± 0,6	5,6 ± 0,6	4,3 ± 0,5
Σ mettet	22,2	22,5	20,7	21,0	21,7	18,2
16:1n-7	5,6 ± 0,1	5,1 ± 0,2	5,5 ± 0,5	4,0 ± 0,4	3,4 ± 0,8	2,2 ± 0,2
18:1n-9	24,3 ± 1,4	22,5 ± 0,6	24,9 ± 2,4	19,2 ± 1,7	25,6 ± 2,9	36,9 ± 2,4
18:1n-7	3,6 ± 0,1	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,1	3,3 ± 0,3	3,2 ± 0,2	3,0 ± 0,1
20:1n-9	5,6 ± 0,7	5,6 ± 0,2	6,0 ± 0,4	4,9 ± 0,4	4,4 ± 0,5	4,1 ± 0,2
Σ enumettet	39,0	36,6	39,8	31,4	36,7	46,2
18:2n-6	8,0 ± 0,2	7,6 ± 0,4	8,0 ± 0,5	6,7 ± 0,3	8,1 ± 0,4	11,3 ± 0,8
20:4n-6	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,4	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1
Σ n-6	8,6	8,3	8,2	7,6	8,9	11,9
18:3n-3	2,3 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,1	3,1 ± 0,3
20:5n-3	4,1 ± 0,5	5,1 ± 1,4	4,4 ± 1,9	9,8 ± 2,3	8,3 ± 1,1	4,4 ± 1,1
22:5n-3	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,4	1,7 ± 0,4	3,0 ± 0,5	2,7 ± 0,4	1,5 ± 0,3
22:6n-3	14,2 ± 1,8	15,4 ± 1,4	13,2 ± 1,6	18,2 ± 2,0	14,4 ± 1,4	10,5 ± 1,9
Σ n-3	22,4	24,7	21,6	32,7	27,5	19,5
Σ LC n-3	20,0	22,5	19,2	30,9	25,4	16,4
Σ n-6/Σ n-3	0,4	0,3	0,4	0,2	0,3	0,6
Σ FA	92,2	92,1	90,3	92,7	94,8	95,8

Summen av n-6 fettsyrer sank fra 8,6 % til 7,6 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 11,9 % ved dag 84. Summen av n-3 fettsyrer steg fra 22,4 % til 32,7 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 19,5 % ved dag 84. Summen av LC n-3 fettsyrer steg fra 20,0 % til 30,9 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 16,4 % ved dag 84. Prosentandelen 20:5n-3 steg fra 4,1 % til 9,8 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 4,4 % ved dag 84. Prosentandelen 22:6n-3 steg fra 14,2 % til 18,2 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 10,5 % ved dag 84.

Tabell 6 viser fettsyreprofilen i muskel fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt ansjosolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84.

Tabell 6: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i muskel fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt ansjosolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84. Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. n=5

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	4,4 ± 0,1	4,5 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,8 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,5
16:0	14,3 ± 0,5	14,2 ± 0,7	13,7 ± 0,6	15,0 ± 0,8	13,8 ± 1,8	12,2 ± 1,0
18:0	3,5 ± 0,2	3,6 ± 0,2	3,6 ± 0,3	3,8 ± 0,5	4,9 ± 0,5	3,3 ± 0,1
Σ mettet	22,2	22,3	21,5	23,6	21,2	17,9
16:1n-7	5,6 ± 0,1	5,7 ± 0,2	5,6 ± 0,3	6,2 ± 0,3	3,0 ± 0,3	3,0 ± 0,6
18:1n-9	24,3 ± 1,4	23,5 ± 0,9	25,0 ± 1,4	20,7 ± 1,3	31,1 ± 1,0	38,3 ± 4,1
18:1n-7	3,6 ± 0,1	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,1	3,4 ± 0,1	3,4 ± 0,1	3,1 ± 0,1
20:1n-9	5,6 ± 0,7	5,8 ± 0,3	5,9 ± 0,2	5,1 ± 0,4	4,5 ± 0,2	4,2 ± 0,2
Σ enumettet	39,0	38,3	39,9	35,4	41,9	48,7
18:2n-6	8,0 ± 0,2	7,7 ± 0,4	7,8 ± 0,3	7,2 ± 0,5	9,7 ± 0,3	11,9 ± 0,9
20:4n-6	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,0	0,4 ± 0,3	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,0	0,6 ± 0,0
Σ n-6	8,6	8,3	8,2	7,9	10,4	12,5
18:3n-3	2,3 ± 0,1	2,2 ± 0,2	2,3 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,6 ± 0,1	3,3 ± 0,3
20:5n-3	4,1 ± 0,5	4,7 ± 0,5	3,9 ± 0,4	6,3 ± 0,8	5,2 ± 1,9	2,9 ± 0,9
22:5n-3	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,1	1,6 ± 0,1	2,2 ± 0,3	1,8 ± 0,6	1,1 ± 0,3
22:6n-3	14,2 ± 1,8	14,3 ± 0,8	13,5 ± 1,3	14,5 ± 1,2	12,0 ± 1,4	9,1 ± 1,9
Σ n-3	22,4	23,0	21,3	24,9	21,7	16,4
Σ LC n-3	20,0	20,8	19,0	23,1	19,0	13,1
Σ n-6/Σ n-3	0,4	0,4	0,4	0,3	0,5	0,8
Σ FA	92,2	91,9	90,9	91,8	95,2	95,5

Summen av n-6 fettsyrer sank fra 8,6 % til 7,9 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 12,5 % ved dag 84. Summen av n-3 fettsyrer steg fra 22,4 % til 24,9 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 16,4 % ved dag 84. Summen av LC n-3 fettsyrer steg fra 20,0 % til 23,1 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 13,1 % ved dag 84. Prosentandelen 20:5n-3 steg fra 4,1 % til 6,3 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 2,9 % ved dag 84. Prosentandelen 22:6n-3 steg fra 14,2 % til 14,5 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 9,1 % ved dag 84.

Tabell 7 viser fettsyreprofilen i muskel, fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt rapsolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 84.

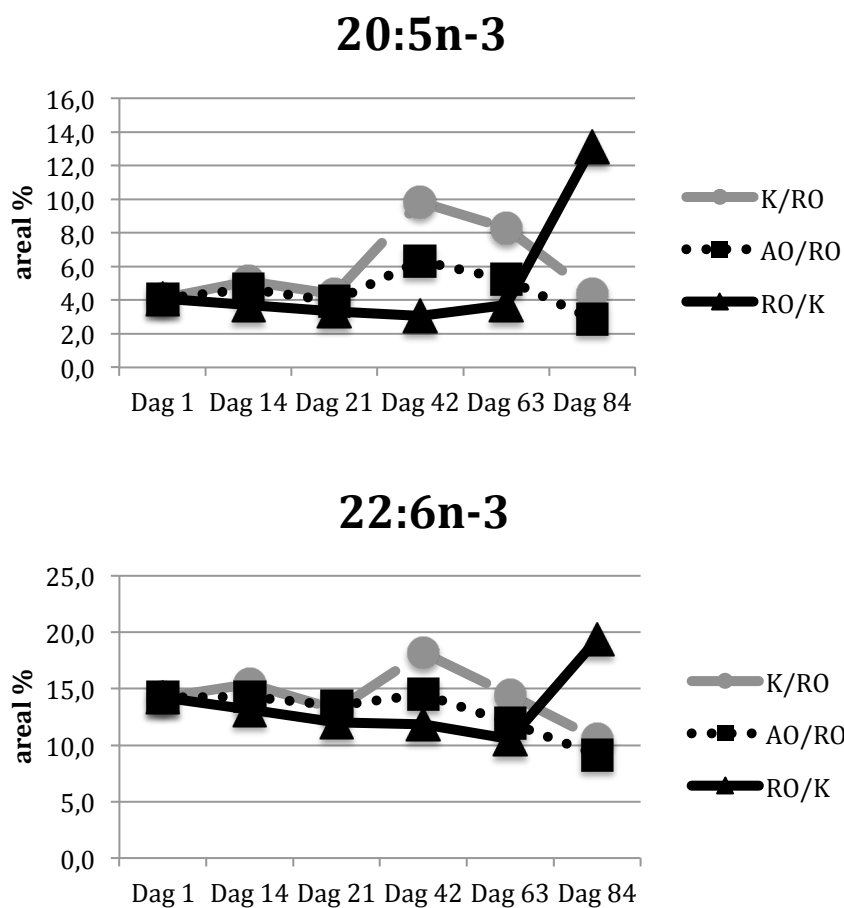
Tabell 7: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i muskel fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt rapsolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 84. Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. n=5 -: ikke detektert.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	4,4 ± 0,1	4,2 ± 0,4	3,9 ± 0,4	3,1 ± 0,5	3,2 ± 0,2	1,9 ± 0,1
16:0	14,3 ± 0,5	14,6 ± 1,6	13,1 ± 0,9	12,6 ± 0,4	14,3 ± 0,8	10,9 ± 0,6
18:0	3,5 ± 0,2	3,9 ± 0,9	3,6 ± 0,4	3,5 ± 0,1	4,3 ± 0,6	4,3 ± 0,2
Σ mett	22,2	22,8	20,5	19,3	21,8	17,1
16:1n-7	5,6 ± 0,1	5,4 ± 0,7	5,2 ± 0,5	3,9 ± 0,8	4,1 ± 0,2	2,6 ± 0,2
18:1n-9	24,3 ± 1,4	26,8 ± 1,6	27,7 ± 2,3	31,5 ± 3,8	33,0 ± 1,9	21,6 ± 2,9
18:1n-7	3,6 ± 0,1	3,4 ± 0,1	3,7 ± 0,3	3,3 ± 0,1	3,2 ± 0,2	3,0 ± 0,1
20:1n-9	5,6 ± 0,7	5,4 ± 0,5	5,9 ± 0,2	5,2 ± 0,6	4,5 ± 0,2	4,0 ± 0,1
Σ enumett	39,0	41,0	42,5	43,8	44,8	31,2
18:2n-6	8,0 ± 0,2	8,9 ± 0,7	8,7 ± 0,6	10,3 ± 1,0	10,2 ± 0,3	7,3 ± 0,8
20:4n-6	0,6 ± 0,1	3,3 ± 0,6	-	0,6 ± 0,0	0,1 ± 0,3	1,0 ± 0,1
Σ n-6	8,6	12,1	8,7	10,8	10,4	8,3
18:3n-3	2,3 ± 0,1	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,2	3,0 ± 0,3	2,7 ± 0,2	1,7 ± 0,3
20:5n-3	4,1 ± 0,5	3,7 ± 0,4	3,3 ± 0,3	3,1 ± 0,6	3,7 ± 0,6	13,1 ± 1,7
22:5n-3	1,7 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2	4,1 ± 0,5
22:6n-3	14,2 ± 1,8	13,2 ± 1,0	12,0 ± 1,0	11,8 ± 1,1	10,5 ± 1,3	19,4 ± 1,6
Σ n-3	22,4	21,1	19,4	19,1	18,4	38,3
Σ LC n-3	20,0	18,4	16,8	16,2	15,7	36,6
Σ n-6/Σ n-3	0,4	0,6	0,5	0,6	0,6	0,2
Σ FA	92,2	97,0	91,1	93,0	95,4	94,9

Summen av n-6 fettsyrer steg fra 8,6 % til 10,8 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 8,3 % ved dag 84. Summen av n-3 fettsyrer sank fra 22,4 % til 19,1 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 38,3 % ved dag 84. Summen av LC n-3 fettsyrer sank fra 20,0 % til 16,2 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 36,6 % ved dag 84. Prosentandelen 20:5n-3 sank fra 4,1 % til 3,1 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 13,1 % ved dag 84. Prosentandelen 22:6n-3 sank fra 14,2 % til 11,8 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 19,4 % ved dag 84.

4.2.2b Endringer i EPA og DHA innhold i muskel fra fisk i diettgruppene

Figur 17 viser en sammenligning av den prosentvise utviklingen til henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 (areal %) i muskel fra fisk i de ulike diettgruppene, gjennom fôringsperioden på 84 dager.



Figur 17: Prosentvis utvikling (areal %) av 20:5n-3 og 22:6n-3 innhold i muskel fra fisk i de tre ulike diettgruppene, gjennom fôringsperioden på 84 dager.

Resultatene indikerte at det prosentvise nivået av EPA og DHA i muskel ble påvirket av de ulike diettene. Gruppe K/RO nådde en topp for begge fettsyrer ved dag 42, før nivået sank etter cross-over, frem mot dag 84. EPA nivået hos gruppe AO/RO steg, mens DHA nivået forholdt seg stabilt mellom 13,5 % og 14,5 % frem til dag 42, før begge sank etter cross-over, frem mot dag 84. EPA nivået hos gruppe RO/K var stabilt mellom 3,1 % og 4,1 %, mens DHA nivået sank trinnvis fra 14,2 % til 10,5 % mellom dag 1 og dag 63, før EPA og DHA steg ved dag 84.

4.2.3a Fettsyresammensetningen i muskel fra fisk i kontrollgruppene

Tabell 8 viser fettsyreprofilen i muskel fra fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat (K) i hele fôringsperioden, samt fettsyresammensetningen i fôr tilsatt K. FA-sammensetningen for tidspunktene dag 1, 14, 21 og 42 er identiske med tabell 5.

Tabell 8: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i muskel fra fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat gjennom hele fôringsforsøket, samt fettsyresammensetningen i fôret ("Fôr K"). Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. FA-sammensetningen ved tidspunktene dag 1, 14, 21 og 42 er identiske med tabell 5. For dag 84 er n=4, n=5 for de resterende tidspunktene.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 84	Fôr K
14:0	4,4 ± 0,1	4,0 ± 0,2	4,1 ± 0,3	3,1 ± 0,3	1,9 ± 0,1	1,2 ± 0,1
16:0	14,3 ± 0,5	14,3 ± 1,9	13,1 ± 0,7	13,2 ± 0,9	11,3 ± 0,1	8,0 ± 0,5
18:0	3,5 ± 0,2	4,2 ± 1,4	3,5 ± 0,3	4,7 ± 0,6	4,8 ± 0,3	4,6 ± 0,3
Σ mettet	22,2	22,5	20,7	21,0	18,1	13,8
16:1n-7	5,6 ± 0,1	5,1 ± 0,2	5,5 ± 0,5	4,0 ± 0,4	2,6 ± 0,2	1,9 ± 0,1
18:1n-9	24,3 ± 1,4	22,5 ± 0,6	24,9 ± 2,4	19,2 ± 1,7	15,8 ± 1,1	11,4 ± 0,5
18:1n-7	3,6 ± 0,1	3,4 ± 0,4	3,4 ± 0,1	3,3 ± 0,3	3,3 ± 0,1	3,2 ± 0,2
20:1n-9	5,6 ± 0,7	5,6 ± 0,2	6,0 ± 0,4	4,9 ± 0,4	3,9 ± 0,1	4,1 ± 0,1
Σ enumettet	39,0	36,6	39,8	31,4	25,7	20,6
18:2n-6	8,0 ± 0,2	7,6 ± 0,4	8,0 ± 0,5	6,7 ± 0,3	5,6 ± 0,2	4,0 ± 0,2
20:4n-6	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,4	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,0	1,7 ± 0,0
Σ n-6	8,6	8,3	8,2	7,6	6,7	5,7
18:3n-3	2,3 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,1	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,0
20:5n-3	4,1 ± 0,5	5,1 ± 1,4	4,4 ± 1,9	9,8 ± 2,3	15,4 ± 1,0	30,3 ± 0,5
22:5n-3	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,4	1,7 ± 0,4	3,0 ± 0,5	4,8 ± 0,2	3,2 ± 0,1
22:6n-3	14,2 ± 1,8	15,4 ± 1,4	13,2 ± 1,6	18,2 ± 2,0	22,1 ± 0,7	22,1 ± 0,3
Σ n-3	22,4	24,7	21,6	32,7	43,5	56,4
Σ LC n-3	20,0	22,5	19,2	30,9	42,3	55,6
Σ n-6/Σ n-3	0,4	0,3	0,4	0,2	0,2	0,1
Σ FA	92,2	92,1	90,3	92,7	94,0	96,5

Resultatene viste at summen av n-6 sank fra 7,6 % til 6,7 % i perioden fra dag 42 til dag 84, mens summen av n-3 steg fra 32,7 % til 43,5 %, og summen av LC n-3 steg fra 30,9 % til 42,3 % i samme periode. 20:5n-3 og 22:6n-3 steg fra henholdsvis 9,8 % til 15,4 %, og 18,2 % til 22,1 %.

Tabell 9 viser fettsyreprofilen i muskel fra fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt rapsolje (RO) gjennom hele fôringsperioden, samt fettsyresammensetningen i fôr tilsatt RO. FA-sammensetningen ved tidspunktene dag 1, 14, 21 og 42 er identiske med tabell 7.

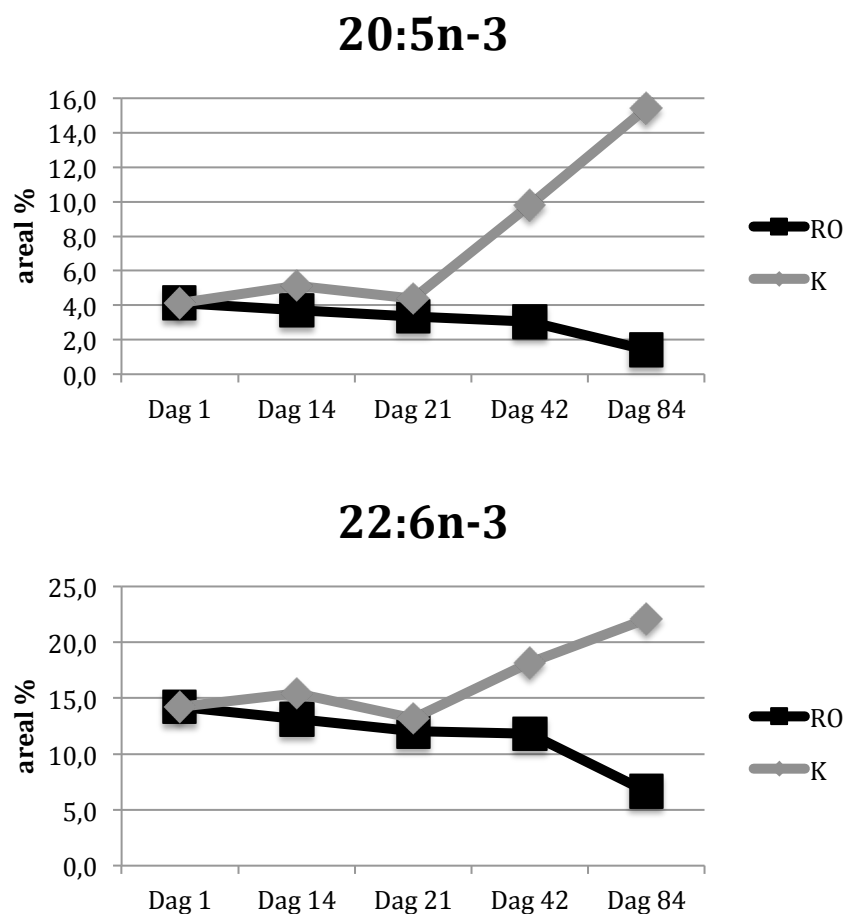
Tabell 9: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i muskel fra fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt rapsolje, samt fettsyresammensetningen i fôret ("For RO"). Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. FA-sammensetningen ved tidspunktene dag 1, 14, 21 og 42 er identiske med tabell 7. For dag 84 er n=4, n=5 for de resterende tidspunktene. -: ikke detektert.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 84	Fôr (RO)
14:0	4,4 ± 0,1	4,2 ± 0,4	3,9 ± 0,4	3,1 ± 0,5	1,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1
16:0	14,3 ± 0,5	14,6 ± 1,6	13,1 ± 0,9	12,6 ± 0,4	11,4 ± 0,3	6,3 ± 0,1
18:0	3,5 ± 0,2	3,9 ± 0,9	3,6 ± 0,4	3,5 ± 0,1	3,3 ± 0,2	1,6 ± 0
Σ mettet	22,2	22,8	20,5	19,3	16,6	8,6
16:1n-7	5,6 ± 0,1	5,4 ± 0,7	5,2 ± 0,5	3,9 ± 0,8	2,2 ± 0,1	0,6 ± 0,1
18:1n-9	24,3 ± 1,4	26,8 ± 1,6	27,7 ± 2,3	31,5 ± 3,8	42,3 ± 2,0	39,9 ± 0,5
18:1n-7	3,6 ± 0,1	3,4 ± 0,1	3,7 ± 0,3	3,3 ± 0,1	3,0 ± 0,0	2,2 ± 0,0
20:1n-9	5,6 ± 0,7	5,4 ± 0,5	5,9 ± 0,2	5,2 ± 0,6	4,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Σ enumettet	39,1	41,0	42,5	43,8	51,7	44,1
18:2n-6	8,0 ± 0,2	8,9 ± 0,7	8,7 ± 0,6	10,3 ± 1,0	12,9 ± 0,2	13,6 ± 0,2
20:4n-6	0,6 ± 0,1	3,3 ± 0,6	-	0,6 ± 0,0	1,0 ± 0,7	-
Σ n-6	8,6	12,1	8,7	10,8	13,9	13,6
18:3n-3	2,3 ± 0,1	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,2	3,0 ± 0,3	3,6 ± 0,1	5,2 ± 0,1
20:5n-3	4,1 ± 0,5	3,7 ± 0,4	3,3 ± 0,3	3,1 ± 0,6	1,4 ± 0,1	0,9 ± 0,1
22:5n-3	1,7 ± 0,2	1,6 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,2	0,7 ± 0,0	-
22:6n-3	14,2 ± 1,8	13,2 ± 1,0	12,0 ± 1,0	11,8 ± 1,1	6,6 ± 0,9	1,2 ± 0,1
Σ n-3	22,4	21,1	19,4	19,1	12,3	7,3
Σ LC n-3	20,0	18,4	16,8	16,2	8,7	2,1
Σ n-6/Σ n-3	0,4	0,6	0,5	0,6	1,1	1,9
Σ FA	92,2	97	91,1	93	94,5	73,6

Resultatene viste at summen av n-6 steg fra 10,8 % til 13,9 % i perioden fra dag 42 til dag 84, mens summen av n-3 sank fra 19,1 % til 12,3 %, og summen av LC n-3 sank fra 16,2 % til 8,7 % i samme periode. 20:5n-3 og 22:6n-3 sank fra henholdsvis 3,1 % til 1,4 %, og 11,8 % til 6,6 %.

4.2.3b Endringer i EPA og DHA innhold i muskel fra fisk i kontrollgruppene

Figur 18 viser en sammenligning av den prosentvise utviklingen (areal %) til henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 innhold, hos fisk i de to kontrollgruppene, gjennom fôringsperioden på 84 dager.



Figur 18: Prosentvis utvikling (areal %) av 20:5n-3 og 22:6n-3 innhold i muskel fra fisk i de ulike kontrollgruppene, gjennom fôringsperioden på 84 dager.

Resultatene indikerte at det prosentvise nivået av EPA og DHA i muskel ble påvirket av de ulike diettene. Gruppene fulgte hverandre frem til dag 21, før utviklingen sprikte. Fra dag 21 steg det prosentvise nivået til gruppe K frem mot dag 84, mens gruppe RO holdt seg stabil frem mot dag 42, før nivået sank frem mot dag 84.

4.2.4a Fettsyresammensetningen i røde blodlegemer og plasma fra fisk i diettgruppene

Tabell 10 viser fettsyreprofilen i røde blodlegemer fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84.

Tabell 10: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i røde blodlegemer fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84. Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. n=4 for dag 14, og n=5 for resterende tidspunkt. -: ikke detektert.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	1,9 ± 0,5	1,5 ± 0,1	3,7 ± 1,3	3,0 ± 0,7	2,6 ± 1,1	1,3 ± 0,3
16:0	20,5 ± 2,2	22,3 ± 2,4	23,0 ± 1,0	17,1 ± 0,9	19,7 ± 1,8	18,1 ± 1,5
18:0	7,3 ± 0,5	9,9 ± 1,1	9,5 ± 0,6	7,7 ± 0,7	9,1 ± 1,3	7,3 ± 1,0
Σ mettet	29,7	33,8	36,2	27,9	31,3	26,6
16:1n-7	4,0 ± 2,4	0,9 ± 0,7	3,1 ± 1,9	5,6 ± 2,6	2,7 ± 1,5	3,1 ± 1,6
18:1n-9	9,8 ± 3,3	5,8 ± 0,4	6,0 ± 2,0	4,4 ± 1,8	10,7 ± 2,7	19,6 ± 7,9
18:1n-7	2,1 ± 0,5	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,5	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,3	1,7 ± 0,3
20:1n-9	2,8 ± 1,0	1,0 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,0 ± 0,4	1,2 ± 0,4	1,8 ± 0,3
Σ enumettet	18,6	9,6	12,5	12,5	16,2	26,2
18:2n-6	2,9 ± 0,6	2,1 ± 0,2	1,4 ± 0,3	2,1 ± 0,5	4,1 ± 0,8	7,1 ± 1,1
20:4n-6	3,0 ± 0,3	3,2 ± 0,3	3,6 ± 0,5	2,7 ± 0,2	3,8 ± 0,4	3,0 ± 0,8
Σ n-6	5,9	5,3	5,0	4,8	7,9	10,1
18:3n-3	-	-	-	1,5 ± 0,3	0,9 ± 0,5	2,5 ± 0,7
20:5n-3	6,0 ± 0,8	9,6 ± 1,5	6,7 ± 2,2	10,0 ± 2,7	5,2 ± 0,4	4,2 ± 0,9
22:5n-3	1,8 ±	2,2 ± 0,2	1,0 ± 0,6	2,2 ± 0,4	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,3
22:6n-3	40,6 ± 5,7	41,5 ± 2,2	38,7 ± 3,9	41,4 ± 4,6	38,1 ± 4,0	29,4 ± 5,8
Σ n-3	48,4	53,8	46,3	55,1	45,5	37,4
Σ LC n-3	48,4	53,3	46,3	53,6	44,6	34,9
Σ n-6/Σ n-3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3
Σ FA	102,6	102,5	100,0	100,3	100,9	100,3

Summen av n-6 sank fra 5,9 % til 4,8 % mellom dag 1 og 42 før den steg til 10,1 % ved dag 84. Summen av n-3 steg fra 48,4 % til 55,1 % mellom dag 1 til 42, før den sank til 37,4 % ved dag 84. Summen av LC n-3 steg fra 48,4 % til 53,6 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 34,9 % ved dag 84. 20:5n-3 steg fra 6,0 % til 10,0 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 4,2 % ved dag 84. 22:6n-3 steg fra 40,6 % til 41,4 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 29,4 % ved 84.

Tabell 11 viser fettsyreprofilen i røde blodlegemer fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt ansjosolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84.

Tabell 11: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i røde blodlegemer fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt ansjosolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84. Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. For dag 14, 21 og 42 er n=4. n=5 for de resterende tidspunktene. -: ikke detektert.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	1,9 ± 0,5	1,5 ± 0,3	4,1 ± 0,5	3,4 ± 0,7	3,4 ± 0,8	2,1 ± 0,5
16:0	20,5 ± 2,2	22,9 ± 0,9	21,2 ± 3,4	20,2 ± 0,7	18,0 ± 0,7	18,9 ± 1,1
18:0	7,3 ± 0,5	8,6 ± 0,5	8,8 ± 1,0	7,1 ± 0,5	8,9 ± 0,9	7,6 ± 0,9
Σ mettet	29,7	32,9	34,1	30,7	30,3	28,6
16:1n-7	4,0 ± 2,4	3,4 ± 0,9	2,1 ± 0,5	4,7 ± 0,4	2,2 ± 1,0	4,3 ± 2,5
18:1n-9	9,8 ± 3,3	4,7 ± 0,9	4,4 ± 1,0	3,9 ± 0,6	8,2 ± 0,6	14,1 ± 2,5
18:1n-7	2,1 ± 0,5	2,1 ± 0,4	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,2
20:1n-9	2,8 ± 1,0	1,2 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,9 ± 0,5
Σ enumettet	18,6	11,5	8,7	11,1	12,9	21,9
18:2n-6	2,9 ± 0,6	2,0 ± 0,1	1,3 ± 0,4	1,9 ± 0,3	3,2 ± 0,3	6,1 ± 0,7
20:4n-6	3,0 ± 0,3	3,3 ± 0,4	3,2 ± 0,3	2,8 ± 0,1	3,6 ± 0,3	3,3 ± 0,5
Σ n-6	5,9	5,3	4,5	4,7	6,8	9,4
18:3n-3	-	2,0 ± 0,4	-	1,0 ± 0,2	0,5 ± 0,0	2,5 ± 0,3
20:5n-3	6,0 ± 0,8	8,8 ± 1,1	6,6 ± 0,5	8,6 ± 1,1	5,1 ± 0,6	4,9 ± 0,5
22:5n-3	1,8 ± ---	2,1 ± 0,3	1,2 ± 0,2	2,2 ± 0,3	1,4 ± 0,0	1,5 ± 0,2
22:6n-3	40,6 ± 5,7	37,9 ± 2,7	44,9 ± 5,7	41,6 ± 2,5	43,7 ± 1,5	31,8 ± 1,7
Σ n-3	48,4	50,8	52,6	53,5	50,7	40,7
Σ LC n-3	48,4	48,8	52,6	52,5	50,2	38,2
Σ n-6/Σ n-3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
Σ FA	102,6	100,5	99,9	100,0	100,7	100,6

Summen av n-6 sank fra 5,9 % til 4,7 % mellom dag 1 og 42 før den steg til 9,4 % ved dag 84. Summen av n-3 steg fra 48,4 % til 53,5 % mellom dag 1 til 42, før den sank til 40,7 % ved dag 84. Summen av LC n-3 steg fra 48,4 % til 52,5 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 38,2 % ved dag 84. 20:5n-3 steg fra 6,0 % til 8,6 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 4,9 % ved dag 84. 22:6n-3 steg fra 40,6 % til 41,6 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 31,8 % ved 84.

Tabell 12 viser fettsyreprofilen i røde blodlegemer fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt rapsolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 84.

Tabell 12: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i røde blodlegemer fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt rapsolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt EPA/DHA konsentrat til dag 84. Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. For dag 14 er n=3. n=5 for de resterende tidspunktene. -: ikke detektert.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	1,9 ± 0,5	1,2 ± 0,9	2,4 ± 0,8	2,3 ± 0,4	2,5 ± 0,6	2,7 ± 1,0
16:0	20,5 ± 2,2	17,3 ± 1,2	21,3 ± 1,7	17,2 ± 1,1	19,5 ± 1,1	18,0 ± 2,0
18:0	7,3 ± 0,5	6,1 ± 0,8	8,9 ± 0,9	7,3 ± 0,6	9,5 ± 0,8	8,6 ± 0,6
Σ mettet	29,7	24,5	32,7	26,8	31,6	29,4
16:1n-7	4,0 ± 2,4	3,8 ± 1,9	3,7 ± 2,4	3,3 ± 1,0	2,3 ± 0,6	2,6 ± 1,1
18:1n-9	9,8 ± 3,3	5,4 ± 4,3	9,2 ± 2,5	11,6 ± 3,2	5,6 ± 0,7	6,3 ± 1,5
18:1n-7	2,1 ± 0,5	1,6 ± 0,7	2,5 ± 1,5	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,3
20:1n-9	2,8 ± 1,0	1,1 ± 0,2	1,5 ± 0,5	1,8 ± 0,7	-	-
Σ enumettet	18,6	11,8	16,8	18,3	9,6	10,7
18:2n-6	2,9 ± 0,6	2,0 ± 2,0	3,8 ± 1,2	4,9 ± 1,1	2,0 ± 0,5	2,4 ± 0,4
20:4n-6	3,0 ± 0,3	1,9 ± 0,1	2,5 ± 0,8	3,1 ± 0,4	3,9 ± 0,4	3,0 ± 0,0
Σ n-6	5,9	3,9	6,3	8,0	5,9	5,4
18:3n-3	-	1,8 ± 0,5	2,2 ± 0,4	1,4 ± 0,4	-	-
20:5n-3	6,0 ± 0,8	4,3 ± 0,4	5,4 ± 1,6	5,5 ± 1,6	10,9 ± 1,3	14,1 ± 1,0
22:5n-3	-	-	1,1 ± 0,5	1,4 ± 0,1	2,0 ± 0,4	2,9 ± 0,3
22:6n-3	40,6 ± 5,7	28,4 ± 3,3	35,7 ± 4,1	39,4 ± 4,9	39,2 ± 3,1	37,6 ± 1,4
Σ n-3	48,4	35,1	44,5	47,8	52,1	54,6
Σ LC n-3	48,4	33,3	42,3	46,3	52,1	54,6
Σ n-6/Σ n-3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
Σ FA	102,6	75,3	100,3	100,9	99,2	100,1

Summen av n-6 steg fra 5,9 % til 8,0 % mellom dag 1 og 42 før den sank til 5,4 % ved dag 84. Summen av n-3 sank fra 48,4 % til 47,8 % mellom dag 1 til 42, før den steg til 54,6 % ved dag 84. Summen av LC n-3 sank fra 48,4 % til 46,3 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 54,6 % ved dag 84. 20:5n-3 sank fra 6,0 % til 5,5 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 14,1 % ved dag 84. 22:6n-3 sank fra 40,6 % til 39,4 %, og videre til 37,6 % mellom dag 1, 42 og 84.

Tabell 13 viser fettsyreprofilen i plasma, fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84.

Tabell 13: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje til dag 84. Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. For dag 14 er n=3. For dag 63 er n=4. n=5 for de resterende tidspunktene.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	2,5 ± 0,3	1,6 ± 0,8	2,8 ± 1,2	1,6 ± 0,6	0,9 ± 0,1	0,6 ± 0,1
16:0	18,9 ± 1,2	17,2 ± 6,5	25,6 ± 2,5	18,8 ± 4,2	16,2 ± 0,9	16,0 ± 0,7
18:0	4,5 ± 0,5	4,7 ± 1,1	5,7 ± 1,1	6,0 ± 0,7	3,8 ± 0,4	5,0 ± 1,0
Σ mettet	25,9	23,4	34,1	26,4	20,9	21,6
16:1n-7	2,8 ± 0,7	2,2 ± 1,2	3,7 ± 0,6	2,0 ± 1,0	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,3
18:1n-9	18,7 ± 1,2	11,5 ± 4,8	15,2 ± 3,0	13,5 ± 4,1	26,7 ± 1,8	26,8 ± 8,1
18:1n-7	2,7 ± 0,5	2,2 ± 0,6	2,2 ± 0,5	2,7 ± 0,5	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1
20:1n-9	4,9 ± 0,8	2,4 ± 0,9	2,0 ± 0,7	2,1 ± 0,2	3,1 ± 0,4	3,0 ± 0,6
Σ enumettet	29,0	18,2	23,2	20,3	32,3	32,5
18:2n-6	4,3 ± 0,4	3,3 ± 0,9	2,5 ± 0,8	3,4 ± 0,6	8,8 ± 0,5	8,8 ± 3,3
20:4n-6	1,9 ± 0,2	2,2 ± 0,7	1,4 ± 0,3	2,3 ± 0,5	2,9 ± 0,6	2,3 ± 0,4
Σ n-6	6,1	5,5	3,9	5,6	11,7	11,1
18:3n-3	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,5	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,5	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,6
20:5n-3	5,5 ± 0,5	17,7 ± 7,4	5,1 ± 2,6	16,6 ± 6,5	4,3 ± 0,5	7,8 ± 7,8
22:5n-3	1,4 ± 0,3	3,2 ± 1,2	1,1 ± 0,4	3,0 ± 0,9	1,1 ± 0,1	1,7 ± 1,3
22:6n-3	30,7 ± 1,3	31,2 ± 4,9	32,1 ± 5,8	25,8 ± 3,7	28,0 ± 2,1	23,5 ± 2,6
Σ n-3	38,9	52,9	39,4	46,2	35,1	34,8
Σ LC n-3	37,7	52,1	38,3	45,4	33,3	33,0
Σ n-6/Σ n-3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3
Σ FA	99,9	100,0	100,6	98,5	100,0	100,0

Summen av n-6 sank fra 6,1 % til 5,6 % mellom dag 1 og 42 før den steg til 11,1 % ved dag 84. Summen av n-3 steg fra 38,9 % til 46,2 % mellom dag 1 til 42, før den sank til 34,8 % ved dag 84. Summen av LC n-3 steg fra 37,7 % til 45,4 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 33,0 % ved dag 84. 20:5n-3 steg fra 5,5 % til 16,6 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 7,8 % ved dag 84. 22:6n-3 sank fra 30,7 % til 25,8 %, mellom dag 1 og 42, og videre til 23,5 % ved dag 84.

Tabell 14 viser fettsyreprofilen i plasma, fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt ansjosolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje frem til dag 84.

Tabell 14: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt ansjosolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje til dag 84. Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. For dag 21 er n=4. n=5 for de resterende tidspunktene.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	2,5 ± 0,3	3,7 ± 0,7	2,7 ± 0,9	3,2 ± 0,6	1,1 ± 0,2	0,8 ± 0,3
16:0	18,9 ± 1,2	21,0 ± 1,9	22,9 ± 3,0	24,1 ± 1,9	16,2 ± 1,2	16,8 ± 1,5
18:0	4,5 ± 0,5	3,7 ± 0,8	5,0 ± 0,8	5,5 ± 0,6	4,3 ± 0,3	4,2 ± 0,6
Σ mettet	25,9	28,4	30,6	32,7	21,7	21,8
16:1n-7	2,8 ± 0,7	4,2 ± 1,1	3,9 ± 1,0	5,0 ± 1,1	1,1 ± 0,2	0,7 ± 0,2
18:1n-9	18,7 ± 1,2	10,0 ± 0,9	12,9 ± 2,1	13,9 ± 1,6	30,1 ± 1,7	29,4 ± 2,5
18:1n-7	2,7 ± 0,5	2,4 ± 0,6	2,6 ± 0,4	3,3 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,7 ± 0,2
20:1n-9	4,9 ± 0,8	2,4 ± 0,6	2,2 ± 0,2	2,2 ± 0,3	3,1 ± 0,5	3,1 ± 0,4
Σ enumettet	29,0	19,1	21,5	24,4	36,0	34,8
18:2n-6	4,3 ± 0,4	3,0 ± 0,6	2,9 ± 0,2	3,3 ± 0,6	9,4 ± 0,3	10,3 ± 0,7
20:4n-6	1,9 ± 0,2	2,1 ± 0,5	1,6 ± 0,3	1,9 ± 0,2	2,8 ± 0,1	2,2 ± 0,4
Σ n-6	6,1	5,1	4,5	5,2	12,3	12,5
18:3n-3	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,8 ± 0,4	1,8 ± 0,2	2,2 ± 0,1
20:5n-3	5,5 ± 0,5	12,8 ± 5,0	9,9 ± 4,2	10,5 ± 0,7	3,8 ± 0,4	4,6 ± 0,8
22:5n-3	1,4 ± 0,3	2,2 ± 0,7	1,9 ± 0,7	2,1 ± 0,4	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,3
22:6n-3	30,7 ± 1,3	31,6 ± 2,4	30,7 ± 1,4	23,7 ± 3,6	23,4 ± 1,3	23,0 ± 3,1
Σ n-3	38,9	47,4	43,4	38,1	30,0	30,9
Σ LC n-3	37,7	46,6	42,5	36,3	28,3	28,7
Σ n-6/Σ n-3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,4	0,4
Σ FA	99,9	100,0	100,0	100,4	100,0	100,0

Summen av n-6 sank fra 6,1 % til 5,2 % mellom dag 1 og 42 før den steg til 12,5 % ved dag 84. Summen av n-3 sank fra 38,9 % til 38,1 % mellom dag 1 til 42, og videre til 30,9 % ved dag 84. Summen av LC n-3 sank fra 37,7 % til 36,3 % mellom dag 1 og 42, og videre til 28,7 % ved dag 84. 20:5n-3 steg fra 5,5 % til 10,5 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 4,6 % ved dag 84. 22:6n-3 sank fra 30,7 % til 23,7 %, og videre til 23,0 % mellom dag 1, 42 og 84.

Tabell 15 viser fettsyreprofilen i plasma, fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt rapsolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt EPA/DHA konsentrat frem til dag 84.

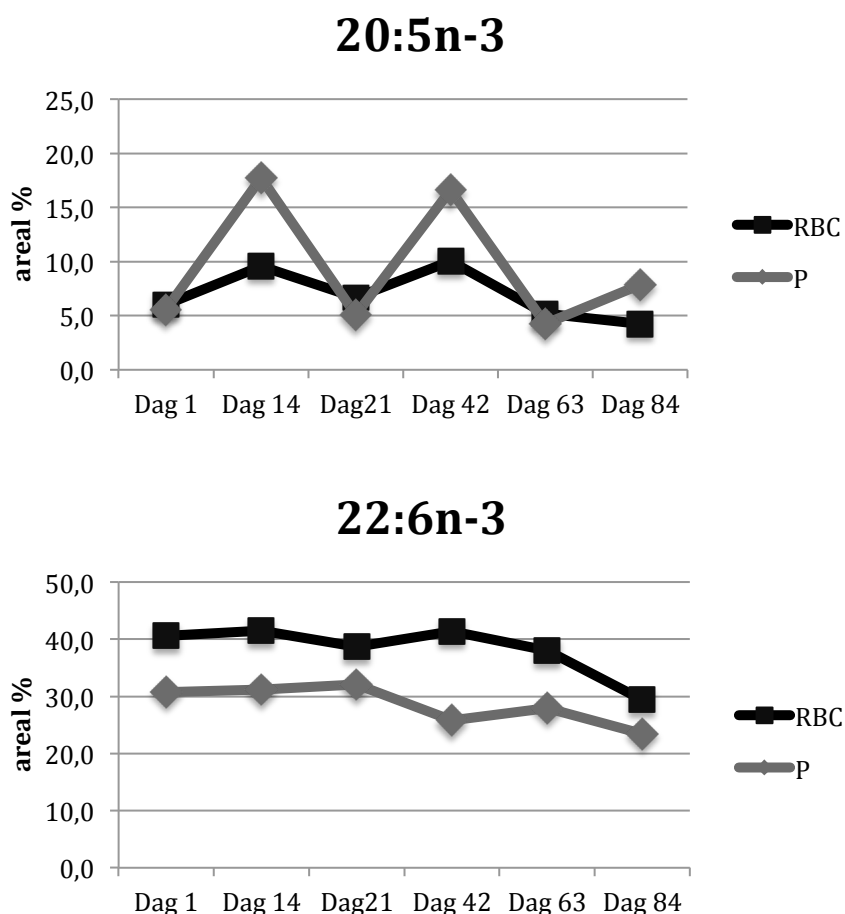
Tabell 15: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt rapsolje frem til dag 42, og deretter før tilsatt EPA/DHA konsentrat til dag 84. Tabellen viser gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. For dag 14, 21 og 63 er n=4. n=5 for de resterende tidspunktene. -: ikke detektert.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 63	Dag 84
14:0	2,5 ± 0,3	1,8 ± 0,7	1,7 ± 1,5	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,5 ± 0,2
16:0	18,9 ± 1,2	17,9 ± 3,1	17,3 ± 1,9	17,3 ± 1,3	12,6 ± 0,4	17,4 ± 3,7
18:0	4,5 ± 0,5	1,8 ± 0,8	4,7 ± 1,6	4,5 ± 0,5	4,3 ± 0,3	5,3 ± 1,4
Σ mettet	25,9	21,5	23,7	22,8	18,0	24,2
16:1n-7	2,8 ± 0,7	1,8 ± 0,8	2,0 ± 1,3	1,1 ± 0,4	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,3
18:1n-9	18,7 ± 1,2	29,9 ± 5,5	30,6 ± 3,2	36,2 ± 4,8	10,3 ± 1,1	10,1 ± 3,9
18:1n-7	2,7 ± 0,5	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,2 ± 0,3	1,7 ± 0,1	2,0 ± 0,4
20:1n-9	4,9 ± 0,8	3,4 ± 0,4	3,1 ± 0,4	3,0 ± 0,3	2,0 ± 0,3	1,8 ± 0,4
Σ enumettet	29,0	37,1	37,6	42,4	15,3	15,2
18:2n-6	4,3 ± 0,4	8,7 ± 2,8	9,3 ± 1,5	10,1 ± 0,6	2,7 ± 0,4	3,0 ± 0,7
20:4n-6	1,9 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	2,1 ± 0,6	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,2
Σ n-6	6,1	10,0	10,6	12,3	5,4	5,6
18:3n-3	1,2 ± 0,1	2,2 ± 0,4	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,3	0,6 ± 0,1	-
20:5n-3	5,5 ± 0,5	3,5 ± 0,9	3,7 ± 0,7	3,0 ± 1,3	21,0 ± 0,9	21,4 ± 3,7
22:5n-3	1,4 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	4,1 ± 0,1	3,8 ± 0,6
22:6n-3	30,7 ± 1,3	22,6 ± 2,9	21,8 ± 1,9	15,6 ± 5,2	35,6 ± 1,7	29,8 ± 6,0
Σ n-3	38,9	29,1	28,4	21,4	61,2	55,0
Σ LC n-3	37,7	26,9	26,4	19,4	60,7	55,0
Σ n-6/Σ n-3	0,2	0,3	0,4	0,6	0,1	0,1
Σ FA	99,9	97,7	100,3	98,9	99,9	100,0

Summen av n-6 steg fra 6,1 % til 12,3 % mellom dag 1 og 42 før den sank til 5,6 % ved dag 84. Summen av n-3 sank fra 38,9 % til 21,4 % mellom dag 1 til 42, før den steg til 55,0 % ved dag 84. Summen av LC n-3 sank fra 37,7 % til 19,4 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 55,0 % ved dag 84. 20:5n-3 sank fra 5,5 % til 3,0 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 21,4 % ved dag 84. 22:6n-3 sank fra 30,7 % til 15,6 %, mellom dag 1 og 42, før den steg til 29,8 % ved dag 84.

4.2.4b Endringer i EPA og DHA innhold i røde blodlegemer og plasma fra fisk i diettgruppene

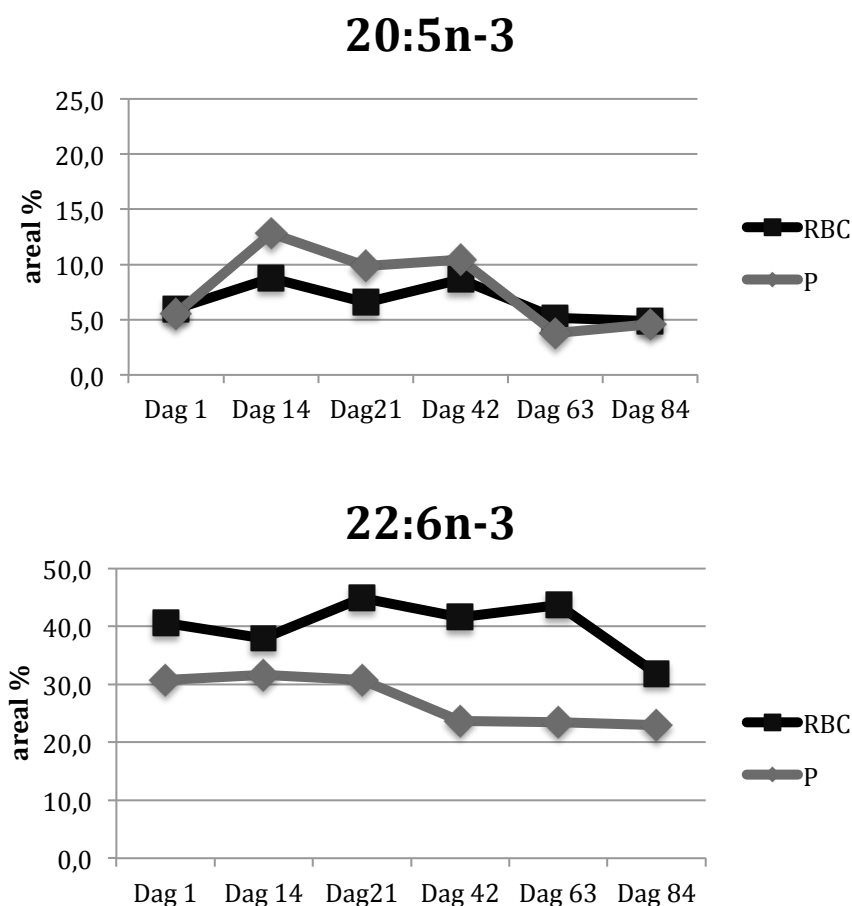
Figur 19 viser en sammenligning av den prosentvise utviklingen (areal %) til henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 i røde blodlegemer og plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje til dag 84.



Figur 19: Prosentvis utvikling (areal %) av henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 i røde blodlegemer (RBC) og plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat til dag 42, og deretter før tilsatt RO til dag 84.

Resultatene viste at EPA i plasma svingte mellom 5,5 % og 17,7 %, mens det for RBC lå mer stabilt mellom 6,0 % og 10,0 %, i perioden fra dag 1 til dag 42. Etter crossover sank begge ned mot 4,0 % ved dag 63. EPA steg så i plasma til 7,8 %, men var stabil i RBC, ved dag 84. DHA i RBC lå stabilt rundt 40 % frem til dag 42, før nivået sank til 38,1 % ved dag 63 og videre 29,4 % ved dag 84. I plasma var DHA nivået stabilt rundt 30 % frem til dag 63, før det sank til 23,5 % ved dag 84.

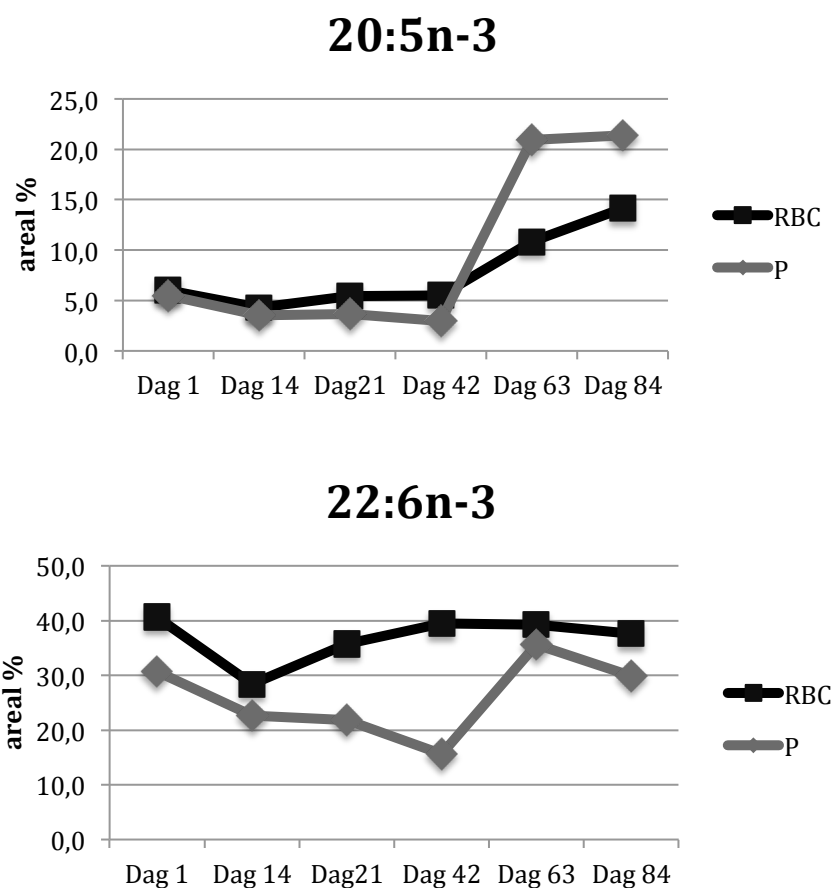
Figur 20 viser en sammenligning av den prosentvise (areal %) utviklingen til henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 i røde blodlegemer og plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt ansjosolje til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje til dag 84.



Figur 20: Prosentvis utvikling (areal %) av henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 i røde blodlegemer (RBC) og plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt ansjosolje til dag 42, og deretter før tilsatt rapsolje til dag 84.

Resultatene viste at EPA i plasma steg til 12,8 % ved dag 14, og stabiliserte seg rundt 10 % ved dag 21 og 42. Etter crossover sank nivået til 3,8 % ved dag 63 og steg deretter til 4,6 % ved dag 84. For RBC lå nivået stabilt mellom 4,9 % og 8,6 % gjennom hele forsøket. DHA i RBC lå stabilt mellom 40,6 % og 44,9 % frem til dag 63, før nivået sank til 31,8 % ved dag 84. I plasma var DHA nivået stabilt rundt 30 % frem til dag 21, før det sank og holdt seg stabilt rundt 23 % fra dag 42 til 84.

Figur 21 viser en sammenligning av den prosentvise utviklingen (areal %) til henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 i røde blodlegemer og plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt rapsolje til dag 42, og deretter før tilsatt EPA/DHA konsentrat til dag 84.



Figur 21: Prosentvis utvikling (areal %) av henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 i røde blodlegemer (RBC) og plasma fra fisk i diettgruppen gitt før tilsatt rapsolje til dag 42, og deretter før tilsatt EPA/DHA konsentrat til dag 84.

Resultatene indikerte at det prosentvise nivået av EPA var stabilt mellom 3,0 % og 5,5 % fra dag 1 til 42 for begge blodfraksjonene. Etter crossover viste resultatene sterkest respons (i form av økning i det prosentvise nivået) i plasma. Det prosentvise nivået av DHA i plasma sank frem mot dag 42, mens nivået i røde blodlegemer viste en nedgang fra dag 1 til dag 14, og deretter en økning til dag 42, da 1,2 prosentpoeng under nivået ved dag 1. DHA nivået i plasma ble om lag doblet etter crossover, mens det i røde blodlegemer var stabilt mellom 37,6 % og 39,4 %. Nivået av DHA i røde blodlegemer var gjennom hele perioden større enn i plasma.

4.2.5a Fettsyresammensetningen i røde blodlegemer og plasma fra fisk i kontrollgruppene

Tabell 16 viser fettsyreprofilen i røde blodlegemer fra fisk i kontrollgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat gjennom hele forsøksperioden, samt fettsyresammensetningen i før tilsatt EPA/DHA konsentrat.

Tabell 16: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i røde blodlegemer fra fisk i kontrollgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat over 84 dager, samt fettsyresammensetningen i føret ("Før K"). Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summeringer (Σ) av gjennomsnittene for ulike grupper av fettsyrer og total FA. For dag 14 er n=4. n=5 for de resterende tidspunktene. FA sammensetningene for dag, 1, 14, 21 og 42 er identiske med tabell 10. -: ikke detektert.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 84	Før (K)
14:0	1,9 ± 0,5	1,5 ± 0,1	3,7 ± 1,3	3,0 ± 0,7	2,0 ± 0,7	1,2 ± 0,1
16:0	20,5 ± 2,2	22,3 ± 2,4	23,0 ± 1,0	17,1 ± 0,9	17,9 ± 0,3	8,0 ± 0,5
18:0	7,3 ± 0,5	9,9 ± 1,1	9,5 ± 0,6	7,7 ± 0,7	6,9 ± 0,7	4,6 ± 0,3
Σ mettet	29,7	33,8	36,2	27,9	26,8	13,8
16:1n-7	4,0 ± 2,4	0,9 ± 0,7	3,1 ± 1,9	5,6 ± 2,6	1,3 ± 0,3	1,9 ± 0,1
18:1n-9	9,8 ± 3,3	5,8 ± 0,4	6,0 ± 2,0	4,4 ± 1,8	11,2 ± 10,4	11,4 ± 0,5
18:1n-7	2,1 ± 0,5	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,5	1,5 ± 0,2	1,6 ± 0,1	3,2 ± 0,2
20:1n-9	2,8 ± 1,0	1,0 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,0 ± 0,4	2,0 ± 1,2	4,1 ± 0,1
Σ enumettet	18,6	9,6	12,5	12,5	16,0	20,6
18:2n-6	2,9 ± 0,6	2,1 ± 0,2	1,4 ± 0,3	2,1 ± 0,5	3,4 ± 3,1	4,0 ± 0,2
20:4n-6	3,0 ± 0,3	3,2 ± 0,3	3,6 ± 0,5	2,7 ± 0,2	3,0 ± 0,2	1,7 ± 0,0
Σ n-6	5,9	5,3	5,0	4,8	6,4	5,7
18:3n-3	-	-	-	1,5 ± 0,3	1,7 ±	0,8 ± 0,0
20:5n-3	6,0 ± 0,8	9,6 ± 1,5	6,7 ± 2,2	10,0 ± 2,7	11,8 ± 5,5	30,3 ± 0,5
22:5n-3	1,8 ±	2,2 ± 0,2	1,0 ± 0,6	2,2 ± 0,4	2,1 ± 0,7	3,2 ± 0,1
22:6n-3	40,6 ± 5,7	41,5 ± 2,2	38,7 ± 3,9	41,4 ± 4,6	37,5 ± 8,3	22,1 ± 0,3
Σ n-3	48,4	53,8	46,3	55,1	53,0	56,4
Σ LC n-3	48,4	53,3	46,3	53,6	51,4	55,6
Σ n-6/Σ n-3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Σ FA	102,6	102,5	100,0	100,3	102,2	96,5

Summen av n-6 sank fra 5,9 % til 4,8 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 6,4 % ved dag 84. Summen av n-3 steg fra 48,4 % til 55,1 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 53,0 % ved dag 84. Summen av LC n-3 steg fra 48,4 % til 53,6 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 51,4 % ved dag 84. 20:5n-3 steg fra 6,0 % til

10,0 %, og videre til 11,8 % mellom dag 1, 42 og 84. 22:6n-3 steg fra 40,6 % til 41,4 % mellom dag 1 og 42, før den sank til 37,5 % ved dag 84.

Tabell 17 viser fettsyreprofilen i røde blodlegemer fra fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt rapsolje gjennom hele forsøksperioden, samt fettsyresammensetningen i fôr tilsatt rapsolje.

Tabell 17: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i røde blodlegemer fra fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt rapsolje over 84 dager, samt fettsyresammensetningen i fôret ("Fôr RO"). Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. For dag 14 og 84 er n=4. n=5 for de resterende tidspunktene. FA sammensetningene for dag, 1, 14, 21 og 42 er identiske med tabell 12. -: ikke detektert.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 84	Fôr (RO)
14:0	1,9 ± 0,5	1,2 ± 0,9	2,4 ± 0,8	2,3 ± 0,4	1,2 ± 0,3	0,7 ± 0,1
16:0	20,5 ± 2,2	17,3 ± 1,2	21,3 ± 1,7	17,2 ± 1,1	17,6 ± 1,1	6,3 ± 0,1
18:0	7,3 ± 0,5	6,1 ± 0,8	8,9 ± 0,9	7,3 ± 0,6	6,3 ± 1,6	1,6 ± 0,0
Σ mettet	29,7	24,5	32,7	26,8	25,2	8,6
16:1n-7	4,0 ± 2,4	3,8 ± 1,9	3,7 ± 2,4	3,3 ± 1,0	5,2 ± 2,6	0,6 ± 0,1
18:1n-9	9,8 ± 3,3	5,4 ± 4,3	9,2 ± 2,5	11,6 ± 3,2	21,1 ± 6,2	39,9 ± 0,5
18:1n-7	2,1 ± 0,5	1,6 ± 0,7	2,5 ± 1,5	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,2	2,2 ± 0,0
20:1n-9	2,8 ± 1,0	1,1 ± 0,2	1,5 ± 0,5	1,8 ± 0,7	2,4 ± 0,7	1,4 ± 0,1
Σ enumettet	18,6	11,8	16,8	18,3	30,4	44,1
18:2n-6	2,9 ± 0,6	2,0 ± 2,0	3,8 ± 1,2	4,9 ± 1,1	7,3 ± 1,7	13,6 ± 0,2
20:4n-6	3,0 ± 0,3	1,9 ± 0,1	2,5 ± 0,8	3,1 ± 0,4	2,9 ± 0,4	-
Σ n-6	5,9	3,9	6,3	8,0	10,2	13,6
18:3n-3	-	1,8 ± 0,5	2,2 ± 0,4	1,4 ± 0,4	1,9 ± 0,2	5,2 ± 0,1
20:5n-3	6,0 ± 0,8	4,3 ± 0,4	5,4 ± 1,6	5,5 ± 1,6	4,0 ± 0,8	0,9 ± 0,1
22:5n-3	1,8 ±	0,6 ±	1,1 ± 0,5	1,4 ± 0,1	1,1 ± 0,1	-
22:6n-3	40,6 ± 5,7	28,4 ± 3,3	35,7 ± 4,1	39,4 ± 4,9	27,3 ± 4,1	1,2 ± 0,1
Σ n-3	48,4	35,1	44,5	47,8	34,3	7,3
Σ LC n-3	48,4	33,3	42,3	46,3	32,4	2,1
Σ n-6/Σ n-3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	1,9
Σ FA	102,6	75,3	100,3	100,9	100,1	73,6

Summen av n-6 steg fra 5,9 % til 8,0 %, og videre 10,2 %, mellom dag 1, 42 og 84.

Summen av n-3 sank fra 48,4 % til 47,8 %, og videre 34,3 % mellom dag 1, 42 og 84. Summen av LC n-3 sank fra 48,4 % til 46,3 %, og videre til 32,4 % mellom dag 1, 42 og 84. 20:5n-3 sank fra 6,0 % til 5,5 %, og videre til 4,0 % mellom dag 1, 42

og 84. 22:6n-3 sank fra 40,6 % til 39,4 % og videre til 27,3 % mellom dag 1, 42 og 84.

Tabell 18 viser fettsyreprofilen i plasma fra fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat gjennom hele forsøksperioden, samt fettsyresammensetningen i fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat.

Tabell 18: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i plasma fra fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat over 84 dager., samt fettsyresammensetningen i fôret ("Fôr K"). Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. FA sammensetningene for dag, 1, 14, 21 og 42 er identiske med tabell 13. For dag 14 er n=3. For dag 63 er n=4. n=5 for de resterende tidspunktene.

Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 84	Fôr (K)
14:0	2,5 ± 0,3	1,6 ± 0,8	2,8 ± 1,2	1,6 ± 0,6	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,1
16:0	18,9 ± 1,2	17,2 ± 6,5	25,6 ± 2,5	18,8 ± 4,2	16,1 ± 2,1	8,0 ± 0,5
18:0	4,5 ± 0,5	4,7 ± 1,1	5,7 ± 1,1	6,0 ± 0,7	5,2 ± 0,6	4,6 ± 0,3
Σ mettet	25,9	23,4	34,1	26,4	22,5	13,8
16:1n-7	2,8 ± 0,7	2,2 ± 1,2	3,7 ± 0,6	2,0 ± 1,0	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1
18:1n-9	18,7 ± 1,2	11,5 ± 4,8	15,2 ± 3,0	13,5 ± 4,1	9,2 ± 0,9	11,4 ± 0,5
18:1n-7	2,7 ± 0,5	2,2 ± 0,6	2,2 ± 0,5	2,7 ± 0,5	1,8 ± 0,2	3,2 ± 0,2
20:1n-9	4,9 ± 0,8	2,4 ± 0,9	2,0 ± 0,7	2,1 ± 0,2	1,7 ± 0,2	4,1 ± 0,1
Σ enumettet	29,0	18,2	23,2	20,3	14,1	20,6
18:2n-6	4,3 ± 0,4	3,3 ± 0,9	2,5 ± 0,8	3,4 ± 0,6	2,3 ± 0,2	4,0 ± 0,2
20:4n-6	1,9 ± 0,2	2,2 ± 0,7	1,4 ± 0,3	2,3 ± 0,5	2,7 ± 0,2	1,7 ± 0,0
Σ n-6	6,1	5,5	3,9	5,6	5,0	5,7
18:3n-3	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,5	1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,5	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,0
20:5n-3	5,5 ± 0,5	17,7 ± 7,4	5,1 ± 2,6	16,6 ± 6,5	21,7 ± 1,3	30,3 ± 0,5
22:5n-3	1,4 ± 0,3	3,2 ± 1,2	1,1 ± 0,4	3,0 ± 0,9	4,0 ± 0,3	3,2 ± 0,1
22:6n-3	30,7 ± 1,3	31,2 ± 4,9	32,1 ± 5,8	25,8 ± 3,7	32,0 ± 2,1	22,1 ± 0,3
Σ n-3	38,9	52,9	39,4	46,2	58,4	56,4
Σ LC n-3	37,7	52,1	38,3	45,4	57,7	55,6
Σ n-6/Σ n-3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Σ FA	99,9	100,0	100,6	98,5	100,0	96,5

Summen av n-6 sank fra 6,1 % til 5,6 %, og videre til 5,0 % mellom dag 1 42 og 84. med en bunn på 3,9 % ved dag 21. Summen av n-3 steg fra 38,9 % til 46,2 %, mellom dag 1 og 42, med en topp på 52,9 % ved dag 14, før den steg til 58,4 % ved dag 84. Summen av LC n-3 steg fra 37,7 % til 45,4 %, og videre til 57,7 %

mellom dag 1, 42 og 84, med en topp på 52,1 % ved dag 14. 20:5n-3 steg fra 5,5 % til 16,6 %, og videre til 21,7 % mellom dag 1, 42 og 84, med en topp på 17,7 % ved dag 14. 22:6n-3 sank fra 30,7 % til 25,8 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 32,0 % ved dag 84.

Tabell 19 viser fettsyreprofilen i plasma fra fisk i kontrollgruppen gitt før tilsatt rapsolje gjennom hele forsøksperioden, samt fettsyresammensetningen til før tilsatt rapsolje.

Tabell 19: Utviklingen av fettsyreprofilen (areal %) i plasma fra fisk i kontrollgruppen gitt før tilsatt rapsolje over 84 dager, samt fettsyresammensetningen til føret ("Før RO"). Gjennomsnitt for hver fettsyre målt i prosent med tilhørende standardavvik, samt summen (Σ) av gjennomsnittene for ulike fettsyregrupper og total FA. FA sammensetningene for dag, 1, 14, 21 og 42 er identiske med tabell 15. For dag 14, 21, 63, og 84 er n=4. n=5 for dag 1. -: ikke detektert.

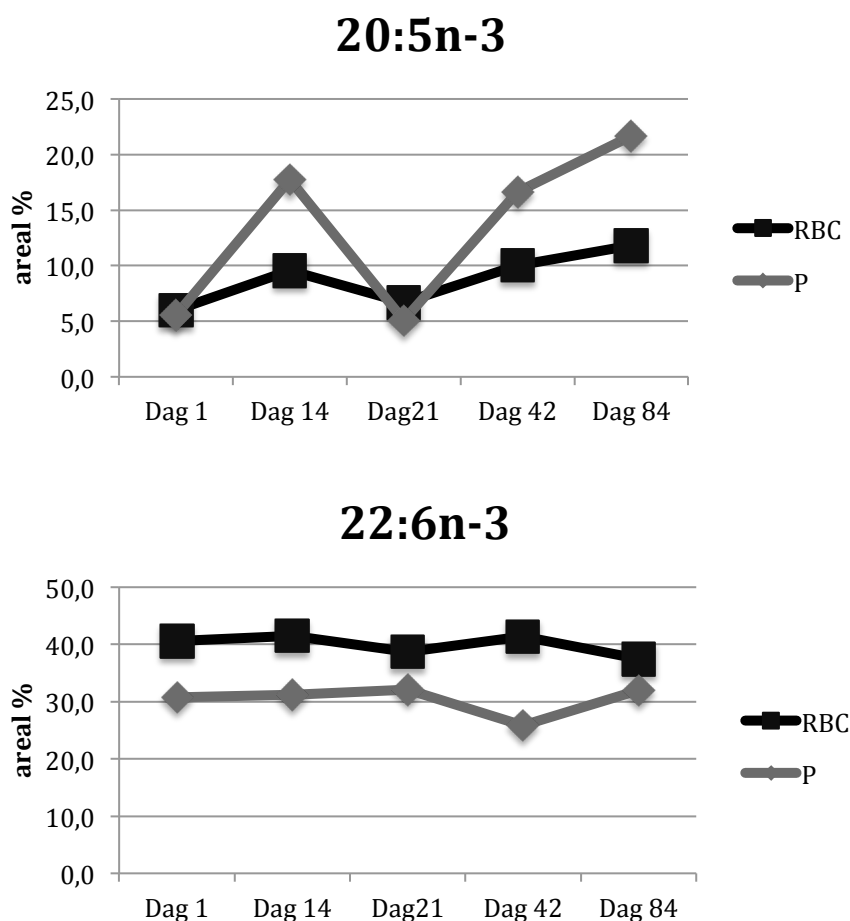
Fettsyre	Dag 1	Dag 14	Dag21	Dag 42	Dag 84	Før (RO)
14:0	2,5 ± 0,3	1,8 ± 0,7	1,7 ± 1,5	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,3	0,7 ± 0,1
16:0	18,9 ± 1,2	17,9 ± 3,1	17,3 ± 1,9	17,3 ± 1,3	17,1 ± 0,6	6,3 ± 0,1
18:0	4,5 ± 0,5	1,8 ± 0,8	4,7 ± 1,6	4,5 ± 0,5	4,4 ± 0,5	1,6 ± 0
Σ mett	25,9	21,5	23,7	22,8	22,5	8,6
16:1n-7	2,8 ± 0,7	1,8 ± 0,8	2,0 ± 1,3	1,1 ± 0,4	0,9 ± 0,1	0,6 ± 0,1
18:1n-9	18,7 ± 1,2	29,9 ± 5,5	30,6 ± 3,2	36,2 ± 4,8	30,5 ± 2,3	39,9 ± 0,5
18:1n-7	2,7 ± 0,5	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,2 ± 0,3	1,7 ± 0,1	2,2 ± 0,0
20:1n-9	4,9 ± 0,8	3,4 ± 0,4	3,1 ± 0,4	3,0 ± 0,3	3,2 ± 0,3	1,4 ± 0,1
Σ enumett	29,0	37,1	37,6	42,4	36,3	44,1
18:2n-6	4,3 ± 0,4	8,7 ± 2,8	9,3 ± 1,5	10,1 ± 0,6	9,4 ± 0,4	13,6 ± 0,2
20:4n-6	1,9 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	2,1 ± 0,6	2,3 ± 0,2	-
Σ n-6	6,1	10,0	10,6	12,3	11,7	13,6
18:3n-3	1,2 ± 0,1	2,2 ± 0,4	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,3	2,0 ± 0,3	5,2 ± 0,1
20:5n-3	5,5 ± 0,5	3,5 ± 0,9	3,7 ± 0,7	3,0 ± 1,3	3,9 ± 0,6	0,9 ± 0,1
22:5n-3	1,4 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,1	-
22:6n-3	30,7 ± 1,3	22,6 ± 2,9	21,8 ± 1,9	15,6 ± 5,2	22,5 ± 1,9	1,2 ± 0,1
Σ n-3	38,9	29,1	28,4	21,4	29,5	7,3
Σ LC n-3	37,7	26,9	26,4	19,4	27,5	2,1
Σ n-6/Σ n-3	0,2	0,3	0,4	0,6	0,4	1,9
Σ FA	99,9	97,7	100,3	98,9	100	73,6

Summen av n-6 steg fra 6,1 % til 12,3 % mellom dag 1 og 42, før det sank til 11,7 % ved dag 84. Summen av n-3 sank fra 38,9 % til 21,4 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 29,5 % ved dag 84. Summen av LC n-3 sank fra 37,7 % til 19,4 %

mellom dag 1 og 42, før den steg til 27,5 % ved dag 84. 20:5n-3 sank fra 5,5 % til 3,0 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 3,9 % ved dag 84. 22:6n-3 sank fra 30,7 % til 15,6 % mellom dag 1 og 42, før den steg til 22,5 % ved dag 84.

4.2.5b Endringer i EPA og DHA innhold i røde blodlegemer og plasma fra fisk i kontrollgruppene

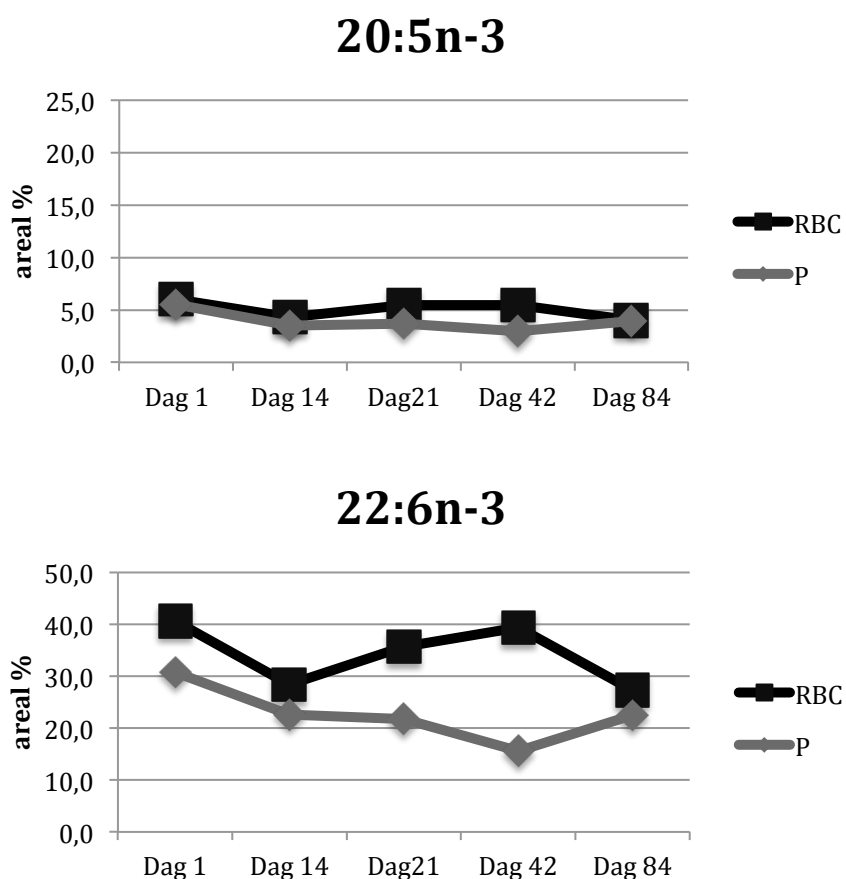
Figur 22 viser en sammenligning av den prosentvise utviklingen (areal %) til henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 innholdet i røde blodlegemer og plasma fra fisk i kontrollgruppen gitt før tilsatt EPA/DHA konsentrat gjennom hele forsøksperioden.



Figur 22: Utviklingen i nivået (areal %) av 20:5n-3 og 22:6n-3 innhold, sammenlignet mellom røde blodlegemer og plasma fra fisk i kontrollgruppen føret med EPA/DHA konsentrat gjennom hele forsøksperioden.

Resultatene indikerte at det prosentvise nivået av EPA stiger brattere, og til et høyere nivå i plasma kontra i røde blodlegemer. Dette på tross av nær like nivåer ved dag 1 (5,5 % og 6,0 %). Nivået var høyest i røde blodlegemer ved dag 1 og 14, og høyest i plasma ved dag 21, 42 og 84. Det prosentvise nivået av DHA var høyest i røde blodlegemer ved samtlige tidspunkt. Nivået i røde blodlegemer var stabilt mellom 37,5 % og 41,4 %, mens nivået i plasma steg fra 30,7 % ved dag 1 til 31,2 % ved dag 21 før den sank til 25,8 % ved 42 og deretter steg til 32,0 % ved dag 84 %.

Figur 23 viser en sammenligning av den prosentvise utviklingen (areal %) til henholdsvis 20:5n-3 og 22:6n-3 innholdet i røde blodlegemer og plasma fra fisk i kontrollgruppen gitt for tilsatt rapsolje gjennom hele forsøksperioden.



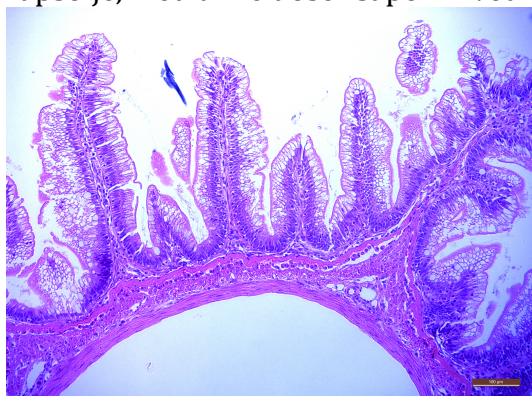
Figur 23: Utviklingen i nivået (areal %) av 20:5n-3 og 22:6n-3 innhold, sammenlignet mellom røde blodlegemer og plasma fra fisk i kontrollgruppen føret med rapsolje gjennom hele forsøksperioden.

Resultatene indikerte at det prosentvise nivået av EPA var stabilt mellom 3,9 % og 6,0 % for alle fraksjonene og var høyest i røde blodlegemer ved samtlige tidspunkt. Det prosentvise nivået av DHA var høyest i røde blodlegemer ved samtlige tidspunkt. Mens DHA nivået i plasma sank trinnvis fra dag 1 til dag 42, var nivået i røde blodlegemer stabilt mellom 40,6 % og 39,4 % i samme periode. Fra dag 42 til 84 steg nivået i plasma, mens nivået i røde blodlegemer sank.

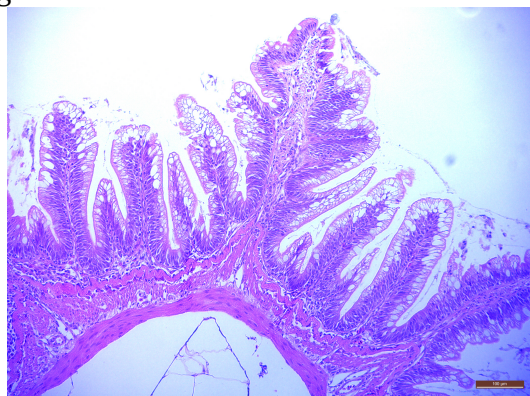
4.3 Stresstest

Totalt ble 148 histologiske snitt fremstilt og analysert med lysmikroskopi. Kun utvalgte, representative bilder fra de histologiske undersøkelsene er inkludert i oppgaven. Etter diskusjon rundt utvalgte bilder med professor Anne Marie Bakke ble det kun observert enkelte tegn til enteritt: noe nedsatt enterocyt vakuolisering i, samt noe økning i antall gobletceller hos fisk fôret med saponiner. Det ble derimot ikke observert klare forskjeller mellom fisk gitt saponin i dosering 8 g/kg fôr over 9 dager og 20 g/kg fôr over 13 dager. For stresstest ved dag 84 er det antydninger til større reduksjon i vakuolisering hos kontrollgruppe R0, sammenlignet med kontrollgruppe K.

Test 1: Stresstest av fisk gitt fôr tilsatt en blanding av 40 % ansjosolje og 60 % rapsolje, med ulike doser saponin ved dag 1.

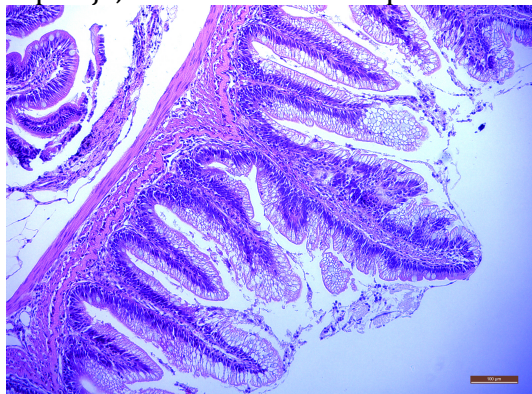


Bilde 2: Bildet er av et histologisk snitt fra tverrsnitt av baktarm ved dag 1 under stresstest 1, før fisken ble gitt fôr tilsatt saponin. Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 μm .

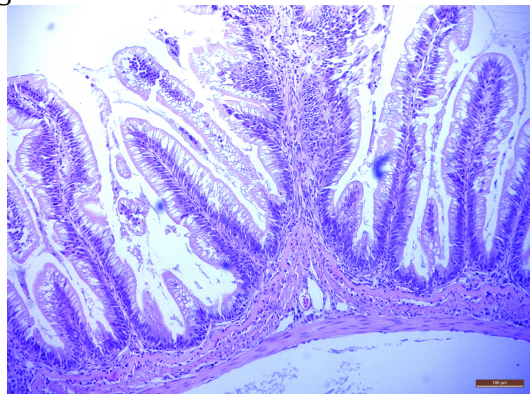


Bilde 3: Bildet er av et histologisk snitt fra tverrsnitt av baktarm ved dag 1+9, under stresstest 1. Fisken hadde da blitt gitt fôr tilsatt saponin i 9 dager (8 g/kg fôr). Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 μm .

Test 2: Stresstest av fisk gitt fôr tilsatt en blanding av 40 % ansjosolje og 60 % rapsolje, med ulike doser saponin ved dag 21.

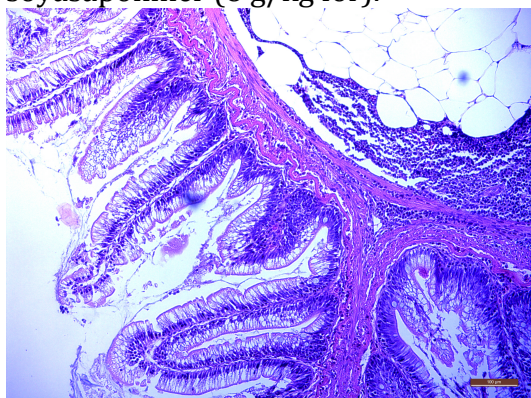


Bilde 4: Bildet er av et histologisk snitt fra tverrsnitt av baktarm ved dag 21 under stresstest 2, før fisken ble gitt fôr tilsatt saponin. Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 μm .

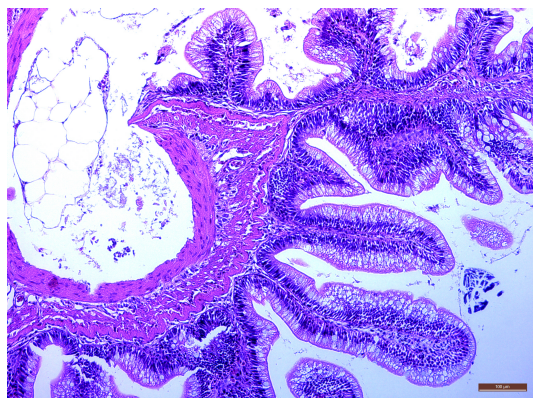


Bilde 5: Bildet er av et histologisk snitt fra tverrsnitt av baktarm ved dag 21+13, under stresstest 2. Fisken hadde da blitt gitt fôr tilsatt saponin i 13 dager (20 g/kg fôr). Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 μm .

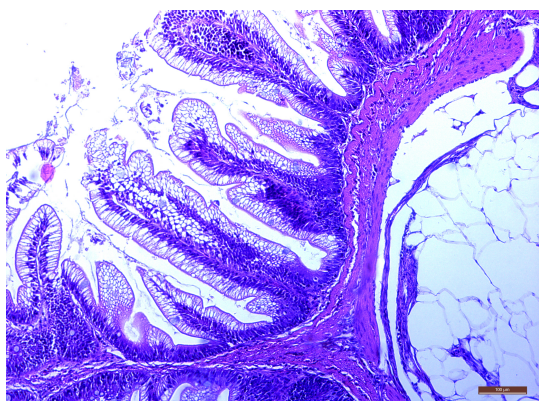
Test 3: Stresstest av fisk fra kontrollgruppe K (bilde 6 og 7) og RO (bilde 8 og 9), gitt fôr tilsatt henholdsvis EPA/DHA konsentrat (K) eller rapsolje (RO), med soyasaponiner (8 g/kg fôr).



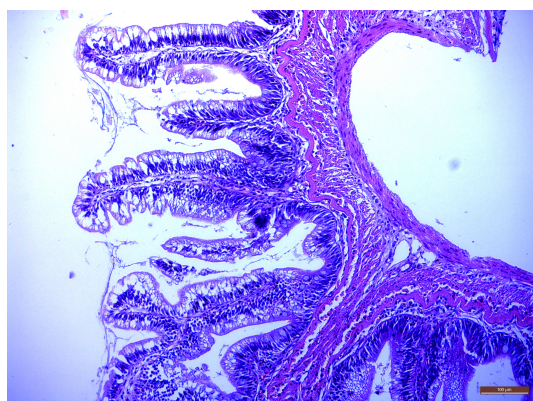
Bilde 6: Bildet er av et histologisk snitt fra tverrsnitt av baktarm ved dag 84 under stresstest 3, før fisken ble gitt fôr tilsatt saponin. Fisken var fra kontrollgruppe K. Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 μm .



Bilde 7: Bildet er av et histologisk snitt fra tverrsnitt av baktarm ved dag 84+12 under stresstest 3. Fisken hadde da blitt gitt fôr tilsatt saponin i 12 dager (8 g/kg fôr). Fisken var fra kontrollgruppe K. Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 μm .



Bilde 8: Bildet er av et histologisk snitt fra tverrsnitt av baktarm ved dag 84 under stresstest 3, før fisken ble gitt fôr tilsatt saponin. Fisken var fra kontrollgruppe RO. Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 μm .



Bilde 9: Bildet er av et histologisk snitt fra tverrsnitt av baktarm ved dag 84+12 under stresstest 3. Fisken hadde da blitt gitt fôr tilsatt saponin i 12 dager (saponindose: 8 g/kg fôr). Fisken var fra kontrollgruppe RO. Bildet er tatt med 10x forstørrelse, og scalebar er 50 μm .

5. Diskusjon

5.1 Vekt og lengde utvikling

Det var ingen signifikant forskjell i hverken vekt eller lengde mellom de tre ulike diettgruppene, før crossover ved dag 42, eller ved avsluttet fôringsforsøk på dag 84. Dette er i samsvar med flere tidligere studier. I et forsøk av Bell *et al.* (2001), hvor laks på om lag 80 g ble gitt fôr med ulike oljetilsetninger (fra 100 % fiskeolje til 100 % RO) over 17 uker, fant de ingen forskjeller i vekst mellom de ulike diettgruppene. Det samme resultatet fikk også Regeost *et al.* (2004), i et studie hvor laks på omlag 3 kg ble gitt fôr tilsatt enten 100 % fiskeolje eller 100 % RO i 135 dager, samt Torstensen *et al.* (2005), i et studie hvor laks ble gitt fôr tilsatt enten 100 % fiskeolje, 75 % fiskeolje, 100 % RO eller 75 % RO gjennom en hel, toårig produksjonssyklus i sjø.

I vårt forsøk ble det kun observert signifikant forskjell i vekt og lengde ved dag 21. På dette tidspunktet var fiskene i diettgruppe RO/K signifikant høyere og lengre enn fiskene i diettgruppe AO/RO. Dette er vanskelig å forklare, og er et overaskende resultat siden det ikke ble observert signifikante forskjeller ved de andre fem uttakene.

For kontrollgruppene, hvor fiskene fikk et fôr tilsatt enten RO eller EPA/DHA konsentrat (K) gjennom hele fôringsperioden på 84 dager, ble det observert høyere vekt ved dag 84 i kontrollgruppe K (91,3 g) enn i kontrollgruppe RO (83,2 g) (figur 14). Det var imidlertid kun fem individer som inngikk i målingen for hver av de to kontrollgruppene ved dag 84, mot ti individer for hver av diettgruppene. Denne vektforskjellen mellom kontrollgruppene er i samsvar med Rosenlund *et al.* (2016), som baserte seg på to langtids-studier der i alt 14 grupper av laks gjennom sjøvannsfasen i en oppdrettssyklus ble føret med hver sin fôrtype, hvor EPA og DHA utgjorde fra 1,0 % til 7,5 % av totalt fettstofferinnhold. Videre var resultatet fra kontrollgruppene i samsvar med et av forsøkene rapportert av Thompson *et al.* (1996), hvor laks fikk en diett basert på enten fiskeolje eller solsikkeolje. Rosenlund *et al.* (2016) konkluderte med at laks trenger mer enn 2,7 % EPA og DHA for å oppnå optimal vekst, og påpeker samtidig viktigheten av langtidsstudier når en skal undersøke relasjonen mellom LC n-3 HUFA og vekst.

En stor utfordring i fôrforsøket i oppgaven, var at fiskene ikke viste vekst mellom oppstart og dag 21. Dette var ikke ventet, og det kan ha vært flere årsaker til den flate utviklingen:

a) Røkterne observerte lav appetitt de første 3 ukene, og det ble rapportert at en stor andel av fôret fløt i overflaten. Metoden for fremstilling av fôr ble på bakgrunn av dette endret ved at tørre pellets ble blandet bedre med tilsatt olje før tilkobling til rotavapor. Røkterne rapporterte bedre appetitt etter dette.

b) Mengden fôrspill var stor de første 3 ukene, noe som gav lav vannkvalitet og etterhvert finneråte hos flere individer i alle diettgruppene. Dette kan ha påvirket appetitten. Etter at fôrfremstillingen ble endret og røkterne i større grad fjernet fôrspill fra tankene, bedret situasjonen seg både med tanke på finneråte og appetitt.

c) Det var stort sprik i vekt mellom individene ved dag 0. Individmålingene av lengde og vekt (n=10) viste her et sprik fra 11,5 cm og 18,7 g til 14,6 cm og 42,1 g. Det er mulig at det ved de første prøveuttakene ble tatt ut en overvekt av små fisker, som underpresterte i forhold til populasjonen som helhet, slik at tallene ble kunstig lave. Fra og med dag 42 ble karene sjokk-tappet før prøveuttak, noe som gav jevnere grupper (lengde og vekt) til analyse.

d) 0-fôret hadde en pellet-størrelse på 2 mm, mens forsøksfôrene hadde en pellet-størrelse på 3 mm. Skretting AS anbefaler at 2 mm gis fisk fra 15 g til 60 g, mens 3 mm gis fisk fra 40 g til 200 g (Siri Tømmerås, pers. com. epost 15.09.2016). Gjennomsnittsvekten til fisken i forsøket var godt under anbefalt vekt for overføring fra 2 mm til 3 mm pellets, noe som kan antas å ha påvirket appetitten negativt. Hvis man i tillegg trekker inn den store spredningen i størrelse mellom fiskene ved dag 0 (figur 13), ser man at de tyngste individene lå i grenseland mellom anbefalt vekt for fôring med 2 mm og 3 mm, mens en andel av populasjonen veide ned mot halvparten av anbefalt vekt for overføring til 3 mm pellet. Dette kan forklare hvorfor veksten fikk en "treg" start, samt hvorfor det i prøveuttak under første halvdel av forsøket ofte ble observert en gruppe med, og en gruppe uten mat i tarmen. Denne forklaringen støttes av de to testene som ble gjort for å undersøke pellet-størrelsens innvirkning på appetitten. De fiskene som ved dag 42 fremdeles lå under gjennomsnittsvekten ved dag 0, og dermed ikke kan antas å ha spist, vokste mellom 20,6 % og 29,5 % avhengig av

diettgruppe, når de ble tilbakeført til 0-fôr (2 mm pellets) over en periode på 15 dager. Dette tyder på at fisken som ikke spiste trolig hadde appetitt, men derimot ikke klarte overgangen til 3 mm pellet. Den andre testen, som ble utført etter at hovedfôringsforsøket var avsluttet, viste at fisk under 26 g, fôret med 2 mm pellets, ikke oppnådde signifikant vekst når de ble gitt 3 mm pellets over en periode på 27 dager (figur 16). Fiskene som derimot fikk fortsette med 2mm pellets, hadde en vektøkning på 23,9 % i samme tidsperiode. Dette forsøket svekker også den potensielle forklaringen om at sensoriske egenskaper ved forsøksfôret kan ha dempet appetitten, selv om dette ikke kan utelukkes som en medvirkende faktor.

5.2 Fettsyresammensetning i fôr og i muskel

Fettsyresammensetningen i muskel fra fisk i de tre crossover-diettgruppene og de to kontrollgruppene ble generelt påvirket av fettsyresammensetningen i dietten over tid. Fettsyresammensetningen i Nutra Olympic 2 mm reflekterer at både rapsolje og fiskeolje er inkludert her. Fôr tilsatt rapsolje hadde et innhold av 18:2n-6 og 18:3n-3 som man kan forvente ut fra fettsyresammensetningen i rapsolje. Rapsolje inneholder ikke LC n-3 HUFA, slik at de små mengdene EPA og DHA i fôr tilsatt RO (henholdsvis 0,9 % og 1,2 %) må stamme fra fiskemel og krillmel i fôret. Fôr tilsatt ansjosolje har en fettsyresammensetning typisk for en "1812" olje, 15,3 % EPA og 11,3 % DHA, mens fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat hadde høyt innhold av EPA og DHA (henholdsvis 30,3 % og 22,1 %). Fôr tilsatt AO og EPA/DHA konsentrat inneholdt henholdsvis 4,5 % og 4,0 % 18:2n-6. Dette er omtrent dobbelt så mye som i fiskeoljer, og noe 18:2n-6 antas derfor å stamme fra vegetabiliske råvarer i tørrpellet.

Ved dag 1 inneholdt muskel over tre ganger så mye DHA (14,2 %) som EPA (4,1 %), på tross av at 0-fôret (Nutra Olympic 2 mm) inneholdt 6,3 % DHA og 7,1 % EPA. Disse resultatene indikerer en omdanning av EPA til DHA i fisken, og/eller at DHA inkorporeres i membranene i større grad enn EPA. Polvi & Ackman (1992) fant i sitt studie, hvor fire grupper laks med gjennomsnittlig vekt på 45 g ble gitt fôr tilsatt olje fra sild, raps, EPA/DHA konsentrat eller egg over 29 uker, at både PL og TAG i muskel inneholder betydelig mer DHA enn

EPA. 18:3n-3 innholdet i Nutra Olympic var 4,3 % mot 2,3 % i muskel ved dag 1, hvilket indikerer at 18:3n-3 er omdannet til EPA og deretter DHA i fisken. Resultatene viser at Nutra Olympic ikke inneholder detekterbare mengder arakidonsyre (ARA, 20:4n-6), mens det i muskel var 0,6 % ARA ved dag 1. For 18:2n-6 var innholdet henholdsvis 11,4 % og 8,0 %. Dette antyder at 18:2n-6 er omdannet til 20:4n-6 i fisken

Resultatene fra fettsyreanalysene av muskel fra fiskene i de ulike diett- og kontrollgruppene viste ingen tydelige endringer i nivået av ALA, LA og LC HUFA før ved dag 42. For noen grupper oppstod det ikke endringer før ved dag 63 eller dag 84. For fiskene i diettgruppe K/RO (tabell 5) indikerte ikke resultatene en økning i nivået av EPA og DHA før ved dag 42, noe som reflekterer vekstutfordringene til og med dag 21, beskrevet under punkt 5.1, samt senere i diskusjonen. Mens DHA synker ved dag 63, ses først en markant endring for EPA ved dag 84. En mulig forklaring på dette er at fôring med EPA/DHA konsentrat over tid kan hemme uttrykkningen av desaturaser som inngår i syntetiseringen av DHA fra ALA og EPA, slik beskrevet i Rosenlund *et al.* (2016), men dette må sees som spekulasjoner. ALA og LA økte markant ved dag 84, noe som reflekterer nivået av ALA og LA i fôr tilsatt RO.

For fiskene i diettgruppe AO/RO (tabell 6) var nivået av DHA stabilt fra dag 1 til dag 42, før det sank ved dag 63 og dag 84. Nivået av EPA steg noe ved dag 42, og var frem til da under halvparten av nivået i fôret tilsatt AO. EPA sank ved dag 63 og dag 84. Dette kan forklares med at nivået av DHA i fôr tilsatt AO ligger nært nivået i fisken ved dag 1, samt at EPA i fisken til en viss grad omdannes til DHA når nivået av EPA er høyt i fôret. En annen mulig delforklaring er at noe EPA og DHA inngikk i β -oksidasjon når det ble gitt i overskudd til fisken. Dette ble observert i et langtidsstudie av Stubhaug & Torstensen (2005), hvor ulike grupper laks ble gitt fôr tilsatt enten fiskeolje eller vegetabilsk olje over 22 måneder. Nivået av ALA og LA var stabilt til og med dag 42, før det økte ved dag 63 og dag 84, noe som reflekterer det økte nivået av disse i fôret etter crossover.

For fiskene i diettgruppe RO/K (tabell 7) var nivået av både EPA og DHA stabilt til og med dag 63 før det steg kraftig for begge ved dag 84. Nivået av LA steg ved dag 42, og sank ved dag 84, mens nivået av ALA var stabilt til og med

dag 63, før det sank ved dag 84. Frem til og med dag 63 var det mindre bevegelse i nivåene av EPA og DHA enn det var i de andre to diettgruppene. Dette kan skyldes økt uttrykking av desaturaser, og økt syntese av EPA og DHA fra ALA, noe som også kommer frem av at nivåene av ALA er lavere enn tilsvarende nivåer i fôr tilsatt RO. Nivået av LA var også lavere enn i fôret, noe som kan tyde på omdanning til ARA i fisken. Denne forskjellen i LA og ALA nivå mellom fôr og muskel ble også påvist av Polvi & Ackman (1992).

Det kan tenkes at nivået av EPA og DHA indikerer en sterk tilbakeholdelse av EPA og DHA i fisk eksponert for diett med lavt innhold av LC n-3 HUFA. Et studie av Sanden *et al.* (2011), hvor åtte grupper av laks med en gjennomsnittsvekt på 355g ble gitt fôr tilsatt fra 0 % til 70 % vegetabilsk olje, viste at laks kan være en netto produsent av EPA og DHA dersom marine råvarer i dietten blir tilstrekkelig byttet ut med vegetabiliske substitutter.

For fiskene i kontrollgruppe K (EPA/DHA konsentrat) var nivået av LA, ALA, EPA og DHA stabilt frem til dag 42 (tabell 8). Da sank nivået av LA og ALA frem til og med dag 84, mens nivået av EPA og DHA steg frem til og med dag 84. Ved dag 84 var nivået av EPA om lag halvparten, og DHA nivået likt nivået i fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat. Dette antas å skyldes omdanning av EPA til DHA, noe som også indikeres av det økte DPA nivået ved dag 63 og dag 84.

For fiskene i kontrollgruppe RO (tabell 9) var det først en mer moderat reduksjon i nivået av EPA og DHA frem til dag 42, før nivåene sank til om lag halvparten ved dag 84. Nivået av ALA og LA var stabilt til og med dag 21, før det steg ved dag 42 og 84. Nivået av LA og ALA var mindre enn tilsvarende nivåer i fôr tilsatt RO ved dag 84, noe som antas å skyldes syntese av LC HUFA fra LA og ALA. Dette indikeres også av at nivået av ARA og DPA var henholdsvis 1,0 % og 0,7 % ved dag 84, på tross av at disse FA ikke ble detektert i fôr tilsatt RO.

Siden det er kjent at det i størst grad er fettsyresammensetningen i depotfettet som reflekterer fettsyresammensetningen i fôret (Hardy *et al.*, 1987; dos Santos *et al.*, 1993), er det sannsynlig at mangelen på endring i fettsyresammensetning hos de tre diettgruppene og de to kontrollgruppene over de første ukene generelt skyldes vekstutfordringene, og at fisken dermed ikke deponerte TAG i muskel. Forskjellene i nivået av EPA og DHA mellom

diettgruppene ved dag 42 vil i så fall være lave sammenlignet med hva de ville vært dersom fisken hadde hatt god appetitt fra start.

Resultatene antyder at effekten av crossover på innholdet av EPA og DHA var moderat de første tre ukene fra dag 42 til dag 63, og deretter mer markant ved dag 84. Nivået av EPA og DHA var både stabilt over en lengre periode, og endret seg vesentlig mindre i kontrollgruppe RO sammenlignet med kontrollgruppe K. Dette kan skyldes økt uttrykking av desaturaser i RO gruppen, noe som støttes av at DHA nivået i muskel sank med 54 % over 84 dager i fisk gitt fôr tilsatt RO, til et nivå som kun utgjorde 30 % av DHA nivået i fisk gitt fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat, ved dag 84. Økt uttrykking av desaturaser i laks hvor fiskeolje i fôret erstattes med rapsolje, er observert i et studie av Tocher *et al.* (2000) hvor parr ble gitt et fôr tilsatt olje fra enten fisk, raps eller lin.

5.3 Fettsyresammensetning i røde blodlegemer og plasma

Ved dag 1 inneholdt RBC nær syv ganger så mye DHA (40,6 %) som EPA (6,0 %) (tabell 10, 11 og 12), selv om 0-fôret inneholdt 6,3 % DHA og 7,1 % EPA. Disse resultatene indikerer en omdanning av EPA til DHA i leveren til fisken, og/eller at DHA inkorporeres i membranene i større grad enn EPA. Innholdet av LA i RBC var 2,9 % ved dag 1, mot 11,4 % i 0-fôret. ARA ble ikke identifisert i 0-fôret på tross av at det var 3,0 % i RBC ved dag 1. Dette indikerer en omdanning av LA til ARA i fisken. ALA ble ikke detektert i RBC ved dag 1, mens 0-fôret inneholdt 4,3 %, noe som kan antyde at nær alt ALA var omdannet til EPA, og videre til DHA i fisken. Eventuelt at ALA ikke inkorporeres i RBC.

Plasma inneholdt nær seks ganger så mye DHA (30,7 %) som EPA (5,5 %) (tabell 13, 14 og 15) ved dag 1, selv om 0-fôret inneholdt 6,3 % DHA og 7,1 % EPA. Disse resultatene indikerer også en omdanning av EPA til DHA i leveren til fisken, og/eller at DHA inkorporeres i membranene i større grad enn EPA. DHA i plasma finnes i PL, eksempelvis som lipoproteiner, samt TAG. LA innholdet i plasma var 4,3 % ved dag 1, mot 11,4 % i Nutra Olympic. ARA ble ikke identifisert i 0-fôret, mens det var 1,9 % i plasma ved dag 1. Dette kan indikere omdanning av LA til ARA i leveren til fisken. Innholdet av ALA i plasma var 1,2 %

ved dag 1, mot 4,3 % i 0-fôret, noe som antyder at ALA ble omdannet til EPA, og videre til DHA i fisken.

Innholdet av EPA og DHA var lavere i plasma enn i RBC. En forklaring kan være at EPA og DHA styres til membranene i røde blodlegemer, i større grad enn til plasma, hvor TAG er dominerende lipidklasse siden fiskene ikke ble sultet før prøveuttak. Polvi & Ackman, (1992) fant den samme fordelingen mellom TAG og PL, men da i muskel.

DHA nivået i RBC var stabilt til og med dag 63 for fiskene i diettgruppene K/RO (tabell 10) og AO/RO (tabell 11), før det sank ved dag 84, mens det for fiskene i diettgruppene RO/K (tabell 12) var stabilt gjennom hele fôringsforsøket, foruten ved dag 14. Dette kan indikere at DHA styres til membranene, hvor de er godt konserverte, og antyder DHA's viktige biologiske funksjon som komponent i cellemembraner. Dette samsvarer med et langtidsstudie fra Sissener *et al.* (2016a), hvor laks ble gitt fôr med mellom 1,3 % og 7,4 % EPA og DHA gjennom sjøvannsfasen. Her var DHA stabilt i RBC, og i større grad deponert i PL enn i TAG. For diettgruppe RO/K ved dag 14 anses resultatene som et produkt av feilanalyse, samt at total FA kun er 75,3 % og dermed utgjør en klar feilkilde. Det var ikke mulig å gjøre analysen fra dag 14 på nytt, da det ikke var tilstrekkelig prøvemateriale.

Nivået av EPA i RBC var stabilt frem til og med dag 42 for fisk i diettgruppe RO/K og dag 21 for fisk i diettgruppene K/RO og AO/RO. Nivået steg ved dag 42, og sank deretter ved dag 63 og 84 for fisk i diettgruppene K/RO og AO/RO, mens det steg ved dag 63 og 84 for fisk i diettgruppe RO/K. Dette kan tyde på at EPA i RBC påvirkes raskere av diett enn DHA, og i mindre grad styres til cellemembranene, noe som er i samsvar med Sissener *et al.* (2016a). Resultatene støtter også Ruyter *et al.* (2000), hvor analyser av blod fra laks gitt fôr nær fri for n-3 og n-6 FA over en periode på fire måneder, viste at DHA nivået var stabilt i PL, mens nivået av EPA sank.

LA og ALA nivået i RBC var relativt stabilt frem til dag 42 for fisk i diettgruppe K/RO og AO/RO, hvilket anses å skyldes at LA og ALA var til stede i vegetabiliske råvarer i tørrpellet. Både LA og ALA ble tilsynelatende påvirket av innholdet i fôr tilsatt RO.

At endringene i fettsyresammensetningen i RBC var begrenset frem til og med dag 21, anses å være påvirket av vekstutfordringene til og med dag 21, beskrevet under punkt 5.1.

DHA nivået i Plasma var stabilt til og med dag 21 for fiskene i diettgruppene K/RO (tabell 13) og AO/RO (tabell 14), før det sank ved dag 42. For fiskene i diettgruppen RO/K (tabell 15) sank nivået av DHA ved dag 14 og dag 42, før det økte ved dag 63 og dag 84. Resultatene kan indikere at DHA er mindre konserveret i plasma enn i RBC, og i større grad påvirkes av fettsyresammensetningen i dietten. Dette er i samsvar med Ruyter *et al.* (2000), hvor nivået av DHA var stabilt i RBC men sank i plasma, og resultatene indikerte en overføring av DHA fra TAG til PL.

Nivået av EPA i plasma økte kraftig ved dag 14, sank tilbake til om lag utgangspunktet ved dag 21, økte ved dag 42, sank ved dag 63 og økte ved dag 84, for fisk i diettgruppe K/RO (tabell 13). Resultatene ved dag 14 antas å skyldes feilanalyse. Det var ikke mulig å gjenta analysen grunnet for lite prøvemateriale. Oppgangen ved dag 84 antas å være usikkert grunnet svært høy standardavvik. For fisk i diettgruppe AO/RO (tabell 14) ble det observert en økning av EPA ved dag 14, før nivået sank ved dag 21, og videre sank med over 60 % ved dag 63 før det steg ved dag 84. EPA nivået i plasma hos fisk i diettgruppe RO/K (tabell 15) sank ved dag 14 og var stabilt til og med dag 42, før det steg kraftig ved dag 63. Generelt ble EPA nivået i plasma påvirket av crossover, samtidig som resultatene indikerer at det kan være et minimumsnivå av EPA på rundt 3 % i plasma. EPA og DHA i plasma viste lignende respons på fettsyresammensetningen i dietten, og begge så ut til å respondere raskere ved skifte til fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat, enn til fôr tilsatt RO. Dette kan tyde på økt uttrykking av desaturaser, og syntese av EPA og DHA i fisk gitt fôr tilsatt RO.

For fisk i diettgruppe K/RO og AO/RO var nivået av LA stabilt frem til dag 42, mens ALA nivået var relativt stabilt gjennom hele fôringsforsøket. Dette antas å skyldes tilstedeværelsen av LA og ALA i vegetabiliske råvarer i tørrpellet. Nivået av LA steg ved dag 63, påvirket av innholdet i fôr tilsatt RO. For fisk i diettgruppe RO/K steg nivået av LA og ALA ved dag 14, og var relativt stabilt til og med dag 42, før det sank ved dag 63. ALA ble ikke detektert ved dag 84. Dette reflekterer innholdet av LA og ALA i fôret. For alle tre diettgruppene var nivået

av LA og ALA under nivået i fôr tilsatt RO i de ukene fôret ble gitt. Dette tyder på omdanning til EPA, DHA og ARA i fisken.

At endringene i fettsyresammensetningen i plasma var begrenset frem til og med dag 21, bør sees i sammenheng med vekstutfordringene beskrevet under punkt 5.1.

På tross av en viss økning gjennom fôringsforsøket, var EPA nivået i RBC fra fisk i kontrollgruppe K kun 39% av tilsvarende nivå i fôret ved dag 84 (tabell 16). DHA opprettholdt derimot et nivå på omtrent det dobbelte av fôret. En plausibel forklaring er igjen at EPA omdannes til DHA i fisken, samt at DHA er mer konservert i membranene.

Nivået av DHA var stabilt i kontrollgruppe K, men mindre stabilt i kontrollgruppe RO (tabell 17). Dette indikerer at DHA nivået akkumuleres over tid i både røde blodlegemer og plasma, til et metningsnivå på rundt 40 % for RBC og 30 % for plasma, men at nivået destabiliseres og faller ved langvarig fravær av EPA og DHA i dietten. Dette skiller seg fra muskel, hvor resultatene ikke tydet på at et metningsnivå for EPA eller DHA ble oppnådd (tabell 8).

Nivået av EPA økte for kontrollgruppe K, og økningen var vesentlig sterkere i plasma enn i RBC. Dette kan forklares med at RBC stort sett inneholder membranbundne fosfolipider (PL), mens plasma i stor grad inneholder triacylglycerol (TAG) som i større grad enn PL påvirkes av diett (Olsen *et al.*, 1997; Jobling & Bendiksen, 2003). Plasma kan dermed sammenlignes mer med et øyeblikksbilde av ernæringsstatus, mens RBC viser endringer over tid.

Nivået av EPA sank noe i plasma og RBC for kontrollgruppe RO, og resultatene kan tyde på en nedre grense på rundt 4 % i RBC og 3 % i plasma for EPA. For DHA kan resultatene fra kontrollgruppe RO tyde på en lignende grense på omtrent 27 % i RBC og 20 % i plasma. Dette kan skyldes økt uttrykking av Δ -5 og Δ -6 desaturase i fôr med lite EPA og DHA, som fører til økt syntese av EPA og DHA i fisken, slik beskrevet av Rosenlund *et al.* (2016). Resultatet kan også peke i samme retning som Sanden *et al.* (2011), hvor økt andel vegetabiliske oljer i fôret gav økt retensjon av EPA og DHA .

Nivået av DHA var stort sett høyest i RBC, mens det motsatte virket å være tilfelle for EPA. En mulig forklaring på dette er at DHA i større grad

inkorporeres i membranene, samt at mer EPA er tilgjengelig for syntese av eikosanoider, regulering av immunrespons og omdanning til DHA.

Flere av resultatene viste avvikende verdier ved dag 14. Det var krevende å få ut nok blod fra fisken i de første tre ukene. Dette gjorde at det ved dag 14 var vanskelig å få nok plasma og RBC til analyse, og ikke tilstrekkelig til å gjennomføre flere analyserunder. En annen mulig forklaring er at prøveuttakene ble gjennomført på ulike tidspunkt av døgnet, enten før eller like etter fôring. I sistnevnte tilfelle vil i så fall FA i dietten kunne gi et markert utslag i plasma (TAG), men lite utslag i RBC (PL).

Generelt var det høyt standardavvik for FA i plasma og RBC. Det ble også observert mye bakgrunnsstøy på kromatogrammene ved analyse. Dette anses å skyldes at metoden for direkte metylering av plasma og RBC ikke ble gjennomført på en tilfredsstillende måte.

5.4 Soyasaponinindusert enteritt og histologi

Bilder av utvalgte histologiske snitt ble sendt til Professor Anne Marie Bakke ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, en av Norges fremste kapasiteter på saponinindusert enteritt, og diskutert opp mot kjente symptomer beskrevet under punkt 2.4.

Det var generelt lite endring i fisk gitt stressfôr. I følge Prof. Bakke viste resultatene noe reduksjon av enterocyt vakuolisering hos fisk fôret med soyasaponin. Redusert vakuolisering fører til nedsatt funksjon ved at endocytose og pinocytose hemmes. Det er normalt høy vakuolisering i baktarm, og en reduksjon vil spesielt få innvirkning på evnen til opptak av makromolekyler. (Bakke pers. com. pr telefon 26.10.2016)

Det ble ikke observert tydelig infiltrasjon av immunceller i lamina propria eller submucosa, og resultatene kan tyde på at det ikke ble indusert noen klar immunrespons på tilstedeværelse av soyasaponiner. Dette kan skyldes lav eksponering for saponin som følge av dårlig kvalitet på saponinet, eller ved at metoden for tilsetting av saponin i oljetilsettingen ikke var god nok.

Det er kjent at saponiner kan variere i kvalitet fra produsent til produsent, og fra batch til batch, grunnet ulik kvalitet på råvarer og produksjon, samt at ekstraksjon/utvinning av saponiner er regnet som krevende.

Soyasaponiner er tidligere formulert i tørrpelleten, hvor det har erstattet noe av hvetestivelse (Krogdahl *et al.*, 2015). I dette forsøket ble derimot saponin formulert som en del av oljetilsettingen. Soyasaponinet som ble brukt ville ikke løse seg i oljen, og ble derfor kun blandet inn rett før tilsetting for å sikre best mulig fordeling i hele batchen. Det kan tenkes at saponinene enten har blitt "vasket ut" i vannmassene før de ble spist, eller at selve blandingen med oljetilsettingen dempet eksponeringen mot enterocytterne.

Det ble ikke observert tydelig forskjell mellom saponindosene 8 g/kg fôr og 20 g/kg fôr, selv ved 13 dagers eksponering for fisk gitt høyeste dose. Dette står i kontrast til funnene fra Krogdahl *et al.* (2015), hvor det ble observert en dose avhengig inflammasjon i baktarm allerede fra doser på 2-4g/kg fôr. I samme studie ble enterocytt vakuoliseringen redusert fra score 8 til 4 (på en skala fra 0 til 10), når saponindosen økte fra 0g/kg fôr til 10g/kg fôr. En mulig forklaring på resultatene fra de to første stresstestene i denne oppgaven, er mangel på appetitt de første 21 dagene av forsøket. Det ble observert tarm med lite eller ingen innhold i flere av fiskene som ble tatt ut for tarmprøver til histologi, noe som tyder på at tarmen var lite utsatt for saponin.

Det ble observert små forskjeller mellom kontrollgruppene RO og K etter 12 dagers fôring med saponin i dosering 8 g/kg fôr, hvor RO gruppen hadde noe større reduksjon i vakuolisering. Forskjellene ble ikke vurdert som patologiske (Bakke pers. com. pr telefon 26.10.2016).

Det var ulikheter mellom individer og grupper når det gjelder lengden på folder i slimhinnen. Det kan dog ikke trekkes noen slutninger ut fra dette, siden det var stor variasjon i fiskestørrelse fra start, og fiskene ikke var individmerket.

6.Konklusjoner

Resultatene fra forsøket viser at veksten ikke ble påvirket av fettsyresammensetningen i fôret, hverken før crossover ved dag 42, eller etter endt fôringsforsøk ved dag 84. Det ble heller ikke registrert dødelighet hos noen av gruppene. Fiskene viste ingen signifikant vekst de første 21 dagene, noe som trolig skyldes at en andel av populasjonen ikke spiste forsøksfôret grunnet for stor pellet. Dette ble bekreftet av to uavhengige tester.

Fettsyresammensetningen i muskel, plasma og RBC reflekterte, med noen unntak, fettsyresammensetningen i fôret. I fisk gitt fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat eller ansjosolje akkumulerte nivået av EPA og DHA i muskel over tid, mens resultatene indikerte et metningsnivå for DHA i plasma og RBC. For fisk gitt fôr tilsatt rapsolje sank nivået av EPA og DHA i muskel gjennom hele forsøket, mens det kunne tyde på at det etablerte seg minimumsnivåer av EPA og DHA i begge blodfraksjoner. DHA var generelt mer stabilt enn EPA i plasma og RBC. DHA nivået var høyest i RBC, og for alle målinger høyere enn nivået i fôret som ble gitt. Dette gjaldt ikke for EPA, hvor nivået var lavere i fisk enn i fôr for fisk fôret med EPA/DHA konsentrat. Nivået av EPA i plasma var over nivået i RBC ved flere prøveuttak. Dette indikerer at DHA i større grad inkorporeres i membranene, og at EPA omdannes til DHA i fisken.

Analysene av fettsyresammensetningen i plasma og RBC gav høyt standardavvik og til dels mye bakgrunnsstøy. Dette antas å skyldes at metoden for direktemetylering ikke ble gjennomført på en tilfredsstillende måte.

Soyasaponiner gav få tegn til enteritt, selv ved høye doser over en lengre tidsperiode. Det ble generelt observert noe redusert vakuolisering og en moderat økning i antall gobletceller hos fisk gitt fôr tilført soyasaponin. Det kunne synes som om at fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt RO hadde noe mer redusert enterocyt vakuolisering i baktarm enn fisk i kontrollgruppen gitt fôr tilsatt EPA/DHA konsentrat.

For senere forsøk anbefales det å formulere soyasaponiner som en del av tørrpellet slik det er gjort i tidligere forsøk, og ikke i oljetilsettingen slik det ble gjort i dette forsøket. Metoden for bestemmelse av fettsyresammensetningen i plasma og RBC ved direktemetylering, bør være bedre optimalisert. Det burde også benyttes større fisk, som kan gi økt mengde blod ved prøvetaking, slik at flere parallelle analyser kan gjennomføres. Videre må størrelsen på pellet tilpasses størrelsen på fisken, i samsvar med råd fra fôrprodusent.

REFERANSER

Abeywardena, M. Y., & Belobrajdic, D. P. (2016). Long-Chain Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Obesity. In *Obesity* (pp. 29-44). Springer International Publishing.

Bakke-McKellep, A. M., Press, C. M., Baeverfjord, G., Krogdahl, Å., & Landsverk, T. (2000). Changes in immune and enzyme histochemical phenotypes of cells in the intestinal mucosa of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., with soybean meal-induced enteritis. *Journal of Fish Diseases*, *23*, 115-127.

Bakke, A. M., pers. com. epost 23.10.2016. Professor akvamedisin, Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Ås, Norge.

Bell, J. G., McEvoy, J., Tocher, D. R., McGhee, F., Campbell, P. J., & Sargent, J. R. (2001). Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *The Journal of Nutrition*, *131*, 1535-1543.

Bell, J. G., Henderson, R. J., Tocher, D. R., McGhee, F., Dick, J. R., Porter, A., Smullen R. P. & Sargent, J. R. (2002). Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *The Journal of Nutrition*, *132*, 222-230.

Bell, J. G., McGhee, F., Dick, J. R., & Tocher, D. R. (2005). Dioxin and dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in Scottish farmed salmon (*Salmo salar*): effects of replacement of dietary marine fish oil with vegetable oils. *Aquaculture*, *243*, 305-314.

Bransden, M. P., Carter, C. G., & Nichols, P. D. (2003). Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth

performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 135, 611-625.

Calder, P. C. (2006). Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 75, 197-202.

Calder, P. C. (2009). Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: new twists in an old tale. *Biochimie*, 91, 791-795.

Cleland, L. G., James, M. J., Proudman, S. M. (2006). Fish oil: what the prescriber needs to know. *Arthritis Research & Therapy*, 8, 202.

Dulavik, B., Sørensen, N., Barstad, H., Horvli, O., & Olsen, R. L. (1998). Oxidative stability of frozen light and dark muscles of saithe (*Pollachius virens* L.). *Journal of Food Lipids*, 5, 233-245.

De Caterina, R., Cybulsky, M. I., Clinton, S. K., Gimbrone, M. A., & Libby, P. (1994). The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 14, 1829-1836.

Dyall, S. C. (2015). Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 7, 52.

Erdal, J. I., Evensen, Ø., Kaurstad, O. K., Lillehaug, A., Solbakken, R., & Thorud, K. (1991). Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. *Aquaculture*, 98, 363-379.

Escalante, A. M., Santecchia, C. B., López, S. N., Gattuso, M. A., Ravelo, A. G., Delle Monache, F., Sierra M. G. & Zacchino, S. A. (2002). Isolation of antifungal saponins

from *Phytolacca tetramera*, an Argentinean species in critic risk. *Journal of Ethnopharmacology*, 82, 29-34.

Estrada, A., Katselis, G. S., Laarveld, B., & Barl, B. (2000). Isolation and evaluation of immunological adjuvant activities of saponins from *Polygala senega* L. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 23, 27-43.

FAO, (2012). The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome.

FAO, (2014). The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome.

Fjelldal, P. G., Nordgarden, U., Wargelius, A., Taranger, G. L., Waagbø, R., & Olsen, R. E. (2010). Effects of vegetable feed ingredients on bone health in Atlantic salmon. *Journal of Applied Ichthyology*, 26, 327-333.

Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.

Goldman, D. W., Pickett, W. C., & Goetzl, E. J. (1983). Human neutrophil chemotactic and degranulating activities of leukotriene B₅ (LTB₅) derived from eicosapentaenoic acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 117, 282-288.

Gow, R. V., Hibbeln, J. R., Parletta, N. (2015). Current evidence and future directions for research with omega-3 fatty acids and attention deficit hyperactivity disorder. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 18, 133-138.

Gu, M., Kortner, T. M., Penn, M., Hansen, A. K., & Krogdahl, Å. (2014). Effects of dietary plant meal and soya-saponin supplementation on intestinal and hepatic

lipid droplet accumulation and lipoprotein and sterol metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *British Journal of Nutrition*, 111, 432-444.

Gu, M., Gu, J. N., Penn, M., Bakke, A. M., Lein, I., & Krogdahl, Å. (2015). Effects of diet supplementation of soya-saponins, isoflavones and phytosterols on Atlantic salmon (*Salmo salar*, L) fry fed from start-feeding. *Aquaculture Nutrition*, 21, 604-613.

Hardy, R. W., Scott, T. M., & Harrell, L. W. (1987). Replacement of herring oil with menhaden oil, soybean oil, or tallow in the diets of Atlantic salmon raised in marine net-pens. *Aquaculture*, 65, 267-277.

Hastings, N., Agaba, M. K., Tocher, D. R., Zheng, X., Dickson, C. A., Dick, J. R., Teale, A. J. (2004). Molecular cloning and functional characterization of fatty acyl desaturase and elongase cDNAs involved in the production of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids from α -linolenic acid in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Marine Biotechnology*, 6, 463-474.

Henderson, R. J., & Tocher, D. R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research*, 26, 281-347.

Hersoug, B. (2015). The greening of Norwegian salmon production. *Maritime Studies*, 14. doi:10.1186/s40152-015-0034-9

Hudson, R. J., Saben, H. S., & Emslie, D. (1974). Physiological and environmental influences on immunity. *Veterinary Bulletin*.

Innis, S. M. (2007)a. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *The Journal of Nutrition*, 137, 855-859.

Innis, S. M. (2007)b. Fatty acids and early human development. *Early Human Development*, 83, 761-766.

Jensen, I., Mæhre, H., Tømmerås, S., Eilertsen, K., Olsen, R. L., & Elvevoll, E. (2012). Farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is a good source of long chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Bulletin*, *37*, 25-29.

Jobling, M., & Bendiksen, E. Å. (2003). Dietary lipids and temperature interact to influence tissue fatty acid compositions of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquaculture Research*, *34*, 1423-1441.

Knudsen, D., Urán, P., Arnous, A., Koppe, W., & Frøkiær, H. (2007). Saponin-containing subfractions of soybean molasses induce enteritis in the distal intestine of Atlantic salmon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*, 2261-2267.

Knudsen, D., Jutfelt, F., Sundh, H., Sundell, K., Koppe, W., & Frøkiær, H. (2008). Dietary soya saponins increase gut permeability and play a key role in the onset of soyabean-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *British Journal of Nutrition*, *100*, 120-129.

Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A. M., Roed, K. H., & Baeverfjord, G. (2000). Feeding Atlantic salmon *Salmo salar* L. soybean products: effects on disease resistance (furunculosis), and lysozyme and IgM levels in the intestinal mucosa. *Aquaculture Nutrition*, *6*, 77-84.

Krogdahl, Å., Gajardo, K., Kortner, T. M., Penn, M., Gu, M., Berge, G. M., & Bakke, A. M. (2015). Soya saponins induce enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*, 3887-3902.

Levy, B. D., Clish, C. B., Schmidt, B., Gronert, K., & Serhan, C. N. (2001). Lipid mediator class switching during acute inflammation: signals in resolution. *Nature Immunology*, *2*, 612-619.

Li, Y., Monroig, O., Zhang, L., Wang, S., Zheng, X., Dick, J. R., You, Cuihong., Tocher, D. R. (2010). Vertebrate fatty acyl desaturase with $\Delta 4$ activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*, 16840-16845.

Lo, C. J., Chiu, K. C., Fu, M., Lo, R., & Helton, S. (1999). Fish oil decreases macrophage tumor necrosis factor gene transcription by altering the NF κ B activity. *Journal of Surgical Research*, *82*, 216-221.

Mejdell, C., & Nilsen, A (2016). Fiskevelferd. Fiskehelse rapporten 2015, p14, Hjeltnes, B., Walde, C. S., Jensen, B. B., Haukaas, A., (red.), Veterinærinstituttet rapportserie nr 3/2016.

Miles, E. A., Allen, E., & Calder, P. C. (2002). In vitro effects of eicosanoids derived from different 20-carbon fatty acids on production of monocyte-derived cytokines in human whole blood cultures. *Cytokine*, *20*, 215-223.

Monroig, Ó., Zheng, X., Morais, S., Leaver, M. J., Taggart, J. B., Tocher, D. R. (2010). Multiple genes for functional $\Delta 6$ fatty acyl desaturases (Fad) in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Gene and cDNA characterization, functional expression, tissue distribution and nutritional regulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1801*, 1072-1081.

Monroig Ó., Navarro J. C., Tocher D. R. (2011)a. Long-chain polyunsaturated fatty acids in fish: recent advances on desaturases and elongases involved in their biosynthesis. *Universidad Autónoma de Nuevo León, Spain*. 11:257–283.

Monroig, Ó., Li, Y., & Tocher, D. R. (2011)b. Delta-8 desaturation activity varies among fatty acyl desaturases of teleost fish: high activity in delta-6 desaturases of marine species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, *159*, 206-213.

Morais, S., Monroig, O., Zheng, X., Leaver, M. J., & Tocher, D. R. (2009). Highly unsaturated fatty acid synthesis in Atlantic salmon: characterization of ELOVL5-

and ELOVL2-like elongases. *Marine Biotechnology*, *11*, 627-639.

Morrissey, J. P., & Osbourn, A. E. (1999). Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *63*, 708-724.

Montero, D., Socorro, J., Tort, L., Caballero, M. J., Robaina, L. E., Vergara, J. M., & Izquierdo, M. S. (2004). Glomerulonephritis and immunosuppression associated with dietary essential fatty acid deficiency in gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., juveniles. *Journal of Fish Diseases*, *27*, 297-306.

Olsen, R. E., & Henderson, R. J. (1997). Muscle fatty acid composition and oxidative stress indices of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), in relation to dietary polyunsaturated fatty acid levels and temperature. *Aquaculture Nutrition*, *3*, 227-238.

Oulhaj, A., Jerneerén, F., Refsum, H., Smith, A. D., & de Jager, C. A. (2016). Omega-3 fatty acid status enhances the prevention of cognitive decline by B vitamins in mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, *50*, 547-557.

Polvi, S. M., & Ackman, R. G. (1992). Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle lipids and their response to alternative dietary fatty acid sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *40*, 1001-1007.

Refstie, S., Storebakken, T., & Roem, A. J. (1998). Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. *Aquaculture*, *162*, 301-312.

Regost, C., Jakobsen, J. V., & Rørå, A. M. B. (2004). Flesh quality of raw and smoked fillets of Atlantic salmon as influenced by dietary oil sources and frozen storage. *Food Research International*, *37*, 259-271.

Renkawitz, M., & Sheehan, T. (2011). Feeding ecology of early marine phase Atlantic salmon *Salmo salar* post-smolts. *Journal of Fish Biology*, 79, 356-373.

Rosenlund, G., Torstensen, B. E., Stubhaug, I., Usman, N., & Sissener, N. H. (2016). Atlantic salmon require long-chain n-3 fatty acids for optimal growth throughout the seawater period. *Journal of Nutritional Science*, 5.

Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O., & Thomassen, M. (2000). 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. *Aquaculture Nutrition*, 6, 119-128.

Ruyter B, Mira B. M., Bæverfjord G., Østbye T. K., Ytrestøyl T., Bjerke M., Sigholt T., Berge G. (2016). Langtidseffekter av lave omega-3 nivåer i fôr på laksens helse. Nofima rapportserie. 46 p. Nofima AS, 2016.

Sanden, M., Stubhaug, I., Berntssen, M. H., Lie, Ø., & Torstensen, B. E. (2011). Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) as a net producer of long-chain marine ω -3 fatty acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 12697-12706.

Salte, R., Thomassen, M. S., & Wold, K. (1988). Do high levels of dietary polyunsaturated fatty acids (EPA/DHA) prevent diseases associated with membrane degeneration in farmed Atlantic salmon at low water temperatures. *Bulletin- European Association of Fish Pathologists*, 8, 63-66.

dos Santos, J., Burkow, I. C., & Jobling, M. (1993). Patterns of growth and lipid deposition in cod (*Gadus morhua* L.) fed natural prey and fish-based feeds. *Aquaculture*, 110, 173-189.

Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D., & Estevez, A. (1999). Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177, 191-199.

Sargent, J. R., Tocher, D. R., & Bell, J. G. (2002). The lipids. *Fish Nutrition*, 3, 181-257.

Serhan, C. N., Chiang, N., & Van Dyke, T. E. (2008). Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology*, 8, 349-361.

Shepherd, C., & Jackson, A. (2013). Global fishmeal and fish-oil supply: inputs, outputs and markets. *Journal of Fish Biology*, 83, 1046-1066.

Shepherd, J. and E. Bachis (2014). "Changing Supply and Demand for Fish Oil." *Aquaculture Economics & Management* 18, 395-416.

Simões, C. M. O., Amoros, M., & Girre, L. (1999). Mechanism of antiviral activity of triterpenoid saponins. *Phytotherapy Research*, 13, 323-328.

Simopoulos, A. P. (2002). Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *Journal of the American College of Nutrition*, 21, 495-505.

Singh, M. (2005). Essential fatty acids, DHA and human brain. *The Indian Journal of Pediatrics*, 72, 239-242.

Sissener, N. H., Torstensen, B. E., Stubhaug, I., & Rosenlund, G. (2016a). Long-term feeding of Atlantic salmon in seawater with low dietary long-chain n-3 fatty acids affects tissue status of the brain, retina and erythrocytes. *The British Journal of Nutrition*, 115, 1919-1929.

Sissener, N., Waagbø, R., Rosenlund, G., Tvenning, L., Susort, S., Lea, T., Oaland Ø., Chen L. & Breck, O. (2016b). Reduced n-3 long chain fatty acid levels in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) do not reduce growth, robustness or product quality through an entire full scale commercial production cycle in seawater. *Aquaculture*, 464, 236-245.

Sprecher H. (2002). The roles of anabolic and catabolic reactions in the synthesis and recycling of polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 67, 79–83.

Stoffel, W., Chu, F., & Ahrens Jr, E. H. (1959). Analysis of long-chain fatty acids by gas-liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 31, 307-308.

Stubhaug, I., Frøyland, L., & Torstensen, B. E. (2005). β -oxidation capacity of red and white muscle and liver in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)—effects of increasing dietary rapeseed oil and olive oil to replace capelin oil. *Lipids*, 40, 39-47.

Stubhaug, I., Lie, Ø., & Torstensen, B. E. (2007). Fatty acid productive value and β -oxidation capacity in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed on different lipid sources along the whole growth period. *Aquaculture Nutrition*, 13, 145-155.

Swanson, D., Block, R., & Mousa, S. A. (2012). Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 3, 1-7.

Takeuchi, Toshio, M., Satoh, Shuichi., Watanabe, Takeshi. (1990). Requirement of Juvenile Red Seabream *Pagrus major* for Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1263-1269.

Thompson, K. D., Tatner, M. F., & Henderson, R. J. (1996). Effects of dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acid ratio on the immune response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Nutrition*, 2, 21-31.

Tocher, D. R., Bell, J. G., Dick, J. R., Henderson, R. J., McGhee, F., Michell, D., & Morris, P. C. (2000). Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils. *Fish Physiology and Biochemistry*, 23, 59-73.

Tocher, D. R. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, *11*, 107-184.

Tocher, D. R., Zheng, X., Schlechtriem, C., Hastings, N., Dick, J. R., Teale, A. J. (2006). Highly unsaturated fatty acid synthesis in marine fish: cloning, functional characterization, and nutritional regulation of fatty acyl $\Delta 6$ desaturase of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Lipids*, *41*, 1003-1016.

Torrissen, O., Olsen, R.E., Toresen, R., Hemre, G.I., Tacon, A.G.J., Asche, F., Hardy, R.W., Lall, S., (2011). Atlantic Salmon (*Salmo salar*): The “Super-Chicken” of the Sea? *Reviews in Fisheries Science*, *19*, 257-278.

Torstensen, B. E., Bell, J. G., Rosenlund, G., Henderson, R. J., Graff, I. E., Tocher, D. R., Lie Ø. & Sargent, J. R. (2005). Tailoring of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) flesh lipid composition and sensory quality by replacing fish oil with a vegetable oil blend. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*, 10166-10178.

Tømmerås Siri, pers. com. epost 15.09.2016. Produktsjef settefisk og smolt, Skretting AS, Stavanger, Norge.

Waagbø, R., Berntssen, M. H. G., Danielsen, T., Helberg, H., Kleppa, A. L., Berg Lea, T., Rosenlund G., Tvenning L., Susort S., Vikeså V. & Breck, O. (2013). Feeding Atlantic salmon diets with plant ingredients during the seawater phase—a full-scale net production of marine protein with focus on biological performance, welfare, product quality and safety. *Aquaculture Nutrition*, *19*, 598-618.

Wall, R., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2010). Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Reviews*, *68*, 280-289.

Ytrestøyl, T., Aas, T. S., Hognes, E. S., & Åsgård, T. E. (2014). Ressursregnskap og analyse av fôrråvarer 2012. Nofimarapport 51/2014.

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.

Internett-referanser

FAO, (2016.) The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp. <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf> (Lastet ned 06.10.2016).

Nærings og fiskeridepartementet
<http://www.fisheries.no/aquaculture/Aquaculture/#.V-kq6JOLTaa> (Lastet ned 26.09.2016).