



UIT

NORGES
ARKTISKE
UNIVERSITET

Norges fiskerihøgskole

Biokjemisk sammensetning i filet av vill og oppdrettet atlantisk laks (*Salmo salar*)

- med hovedvekt på fettinnhold og fettsyresammensetning

—

Carina Helen Almlie Otnæs

Masteroppgave i Akvamedisin (60 stp)

Mai 2018



Forord

Denne oppgaven representerer avslutningen på mine studier ved Norges fiskerihøgskole. Det er mange som fortjener en takk!

En stor takk til min veileder Hanne Mæhre for god veiledning, du har vært helt fantastisk. Takk for god opplæring og hjelp på lab, korrekturlesing, gode innspill og for at du alltid har tatt deg tid til meg i en hektisk hverdag!

Jeg ønsker også å takke alle de flinke folkene på labben som har svart på spørsmål og hjulpet meg underveis.

Takk til mine medstudenter, for det sosiale og inkluderende miljøet.

Takk til mine nærmeste venner og familie. Det er fantastisk å ha så hengivende og lojale mennesker i livet mitt. Takk for all støtten og alle oppmuntrende ord.

Tusen takk til Jonathan for at du er den du er, og for upåklagelig støtte, oppmuntring og tålmodighet.

Carina Helen Almli Otnæs
Tromsø 15 mai 2018

Sammendrag

Fisk og annen sjømat inneholder sunt fett, viktige vitaminer og mineraler, og er i tillegg en god kilde til protein. Hovedgrunnen til anbefalinger om å spise fisk og annen sjømat er det naturlige høye innholdet av de langkjedede omega-3 fettsyrene eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksensyre (DHA). Norsk oppdrettsnæring har siden oppstarten på 1970-tallet vokst til å bli en av landets viktigste næringer, og oppdrett av atlantisk laks (*Salmo salar*) har vært den største bidragsyteren til denne suksessen. Tradisjonelt har produksjonen av fôr til atlantisk laks vært basert på marine råvarer som fiskemel og fiskeolje. En begrenset tilgjengelighet av disse råvarene har ført til en overgang til alternative lipid- og proteinkilder har vært nødvendig, noe som har ført til at deler av de marine råstoffene har blitt erstattet med ulike plante proteiner og planteoljer. Formålet med dette studiet var å sammenligne den biokjemiske sammensetningen i fileten av oppdrettet laks med fileten av villaks, med hovedvekt på fettinnhold og fettsyresammensetning. I tillegg skulle også proteininnholdet og innholdet av essensielle aminosyrer sammenlignes. Det skulle også undersøkes om økt mengde vegetabiliske lipid- og proteinkilder i fiskefôret har ført til en endring av fettsyresammensetningen i fileten av atlantisk laks sammenlignet med et tidligere studium som var gjort på laks slaktet i 2010.

Resultatene viste at fileten av oppdrettet atlantisk laks hadde ett fettinnhold på 19,5%, som var nesten det dobbelte sammenlignet med vill havlaks. Konsentrasjonen av de langkjedede omega-3 fettsyrene var høyere i villaks sammenlignet med oppdrettslaks. Imidlertid var den totale mengden av disse fettsyrene likt i filetene på grunn av forskjellene i totalt fettinnholdet. Forholdet mellom omega-6 og omega-3 fettsyrer i oppdrett- og villaks var henholdsvis 0.7 og 0.04.

Fettsyresammensetningen i oppdrettet laks og fôret til laksen i 2017 var endret sammenlignet med i 2010. De endringene som ble observert i fôret reflekterte fettsyresammensetningen i fiskefileten. Man får i seg mer langkjedede omega-3 fettsyrer og mer omega-6 ved ett fiskemåltid i dag, sammenlignet med i 2010, og n-6/n-3 ratioen var økt med nesten 60%. Men ratioen var fremdeles under den anbefalte verdien på 5.

Proteininnholdet var litt høyere i villaks enn i oppdrettslaksen med henholdsvis 17,3% og 15,4% proteininnhold.

Summary / Engelsk sammendrag

Fish and other seafoods contains healthy fats, several vitamins and minerals and is a good source for protein. The main reason behind the advice to consume fish and seafood is the naturally high content of the long chain omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). Aquaculture production in Norway has grown to become one of the country's most important industries since the start of the 1970s, and the farming of Atlantic salmon (*Salmo salar*) has been the biggest contributor to this success. Traditionally, the production of fish feed has been based on raw materials of marine origin such as fishmeal and fish oils. A limited availability of these has led to the necessary transition to alternative lipid and protein sources and this has led to parts of the marine raw materials being replaced by various plant proteins and plant oils. The overall aim of this thesis was to compare the composition in the fish fillet of farmed and wild salmon, with regards to the fat content and the fatty acid composition. In addition, the protein content and the content of essential amino acids was compared. Finally, it was considered whether the increased amount of vegetable lipid and protein in the fish feed has led to a change in the fatty acid composition in the farmed Atlantic salmon filet as compared to a previous study made on farmed salmon in 2010. The results showed that the filet of farmed salmon had a total lipid content of 19.5%, which was almost double the amount of wild salmon. The concentration of the long-chain omega-3 fatty acids was higher in the wild salmon compared with the farmed salmon. However, the total amount of these fatty acids was similar in the filets due to the differences in total lipid content. The ratio of omega-6 to omega-3 fatty acids in farmed and wild salmon was 0.7 and 0.04, respectively. The fatty acid composition in farmed salmon and the feed for the salmon in 2017 was changed compared to 2010. The changes observed in the feed reflected the fatty acid composition in the fish filet. When consuming the salmon you get more long-chain omega-3 fatty acids, but also more omega-6 fatty acids from the 2017 filet compared to the 2010 filet. The n-6/n-3 ratio was increased by almost 60%, but still the ratio is well under the recommended value of 5. The protein content was slightly higher in wild than in farmed salmon with 17.3% and 15.4% protein content, respectively

Innholdsfortegnelse

Forord.....	i
Sammendrag.....	ii
Summary / Engelsk sammendrag	iii
Introduksjon	1
Mål med oppgaven	8
Material og metode.....	9
Innsamling og preparering av prøvemateriale	9
Kjemikalier.....	9
Vann og askeinnhold	9
Fettinnhold og fett ekstraksjon	10
Soxhlets metode:	10
Folchs metode:	10
Fettsyreanalyse	10
Aminosyreanalyser og proteininnhold	12
Statistikk.....	13
Resultater.....	14
Vann, aske, fett og proteininnhold	14
Fettsyresammensetning	15
Aminosyrer.....	17
Diskusjon.....	19
Generell diskusjon.....	19
Vann og aske	19
Fettinnhold	19
Fettsyresammensetning	22
Fettsyresammensetning i vill og oppdrettet laks	22
Fettsyresammensetning i rømt oppdrettslaks	24
Er fettsyresammensetningen i oppdrettslaks endret siden 2010?	26
Protein og aminosyrer	28
Laks og ernæring	32
Konklusjon	35
Referanser.....	36

Introduksjon

Norsk oppdrettsnæring har siden oppstarten på 1970-tallet vokst til å bli en av landets største og viktigste næringer. Produksjon av atlantisk laks har vært den største bidragsyteren for denne suksessen. Med Norges naturgitte forhold, med en lang kystlinje med dype fjorder, gode strømforhold og oksygenrikt kaldt vann, er forholdene lagt til rette for produksjon av atlantisk laks. I 2017 ble det totalt eksportert 2,6 millioner tonn sjømat fra Norge, hvor laksefisk utgjorde 1 million tonn. Eksportverdien av norsk sjømat var 94,5 milliarder kroner, hvor lakseeksport utgjorde 64,7 milliarder kroner, som var en økning på 5 %, eller 3,4 milliarder kroner sammenlignet med 2016. Dette er den høyeste eksportverdien av laks noensinne (Norges sjømatråd, 2017). Det er dermed liten tvil om at lakseoppdrett er en viktig næring for norsk økonomi og sysselsetting.

Produksjonen av laks er og har imidlertid ikke vært helt problemfri. Den største begrensende faktoren for videre vekst av lakseoppdrett i Norge er lakselus. Lakselus er en parasitt som sprer seg ved at hunnlusa slipper planktoniske luselarver som spres med vannstrømmene og kan infisere laks, sjøørret og sjørøye som oppholder seg langs kysten. Lakselus-problematikken er først og fremst knyttet til påvirkningen av ville laksestammer. Antallet oppdrettslaks overgår bestanddelen av villaks langs kysten, og det er derfor antatt at oppdrettslaksen er den største bidragsyteren til smittepresset av lakselus. Samtidig utgjør hyppig avlusning et potensielt fiskevelferdsproblem i lakseoppdrett (Grefsrud, Glover, Grøsvik, Husa, Karlsen, Kristiansen, Kvamme, Mortensen, Samuelsen, Stien and Svåsand, 2018).

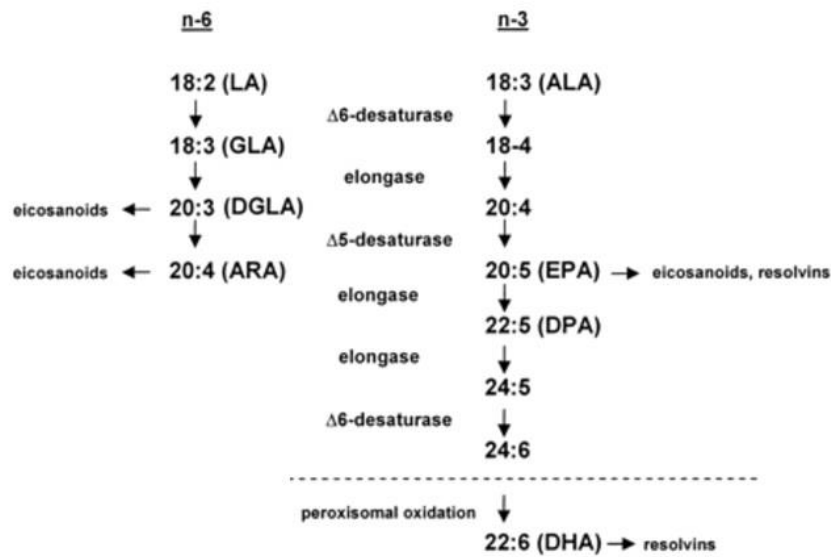
Bruken av legemidler, og spesielt midler mot lakselus, har skapt bekymringer omkring miljøpåvirkningen av disse legemidlene rundt laksemerdene. Lakselus er et krepsdyr, og bruken av legemidler mot lakselus kan dermed påvirke andre krepsdyr, alt fra plankton til reker og krabber. Sannsynligheten for at dyrelivet rundt merdene eksponeres for legemidler fra oppdrettsnæringen er vanskelig å vurdere, da både konsentrasjonen og tiden organismene rundt eventuelt utsettes for legemiddelet er avgjørende for utfallet. Trolig vil dette variere fra behandling til behandling og fra lokalitet til lokalitet da vind- og strømforholdene vil påvirke både spredningen og forrynnings hastigheten av utslippet (Grefsrud et al., 2018).

Rømming av fisk fra anleggene er også en utfordring for næringen og norsk oppdrettsnæring har en nullvisjon for rømming av laks. De vanligste årsakene til at fisk rømmer fra anlegg er teknisk svikt, feilbruk av utstyr og fartøy som skader nota. Voldsomt uvær kan også forårsake skade på- eller havari av anlegget, som kan føre til at fisk rømmer (Norges sjømatråd / Sjømat Norge, 2016). Det er meldeplikt ved rømming eller mistanke om rømming av oppdrettsfisk og alle meldte tilfeller blir publisert på Fiskeridirektoratets hjemmesider. Statistikken viser en nedadgående trend for antall rømte laks siden toppåret 2006 hvor det rømte 921 000 fisk. I 2017 var det kun rapportert 10 000 rømte fisk, som er det laveste rømningstallet siden 2001 (Fiskeridirektoratet, 2018). Rømming av oppdrettslaks utgjør en trussel for den genetiske integriteten til de ville laksebestandene. Det er flere millioner oppdrettslaks som har rømt fra anleggene siden 2001. De aller fleste «blir borte» uten videre spor, mens noen vil vandre opp i lakseelver, der det er en sjanse for at de gyter sammen med villfiskbestanden (Grefsrud et al., 2018).

Akvakulturproduksjon har selvfølgelig også positive sider, siden den spiller en stor rolle i å tilfredsstille etterspørselen etter sjømat for konsum verden over. Fisk og sjømat er gode og viktige kilder til proteiner og sunt fett, samt enkelte vitaminer og mineraler (Tidwell and Allan, 2001; Weichselbaum, Coe, Buttriss and Stanner, 2013). Proteiner er store molekyler som har en rekke funksjoner i kroppen, blant annet vekst og vedlikehold, enzymaktivitet og transport av næringsstoffer og andre forbindelser over cellemembraner. Et protein består av en eller flere kjeder med mindre bestanddeler som kalles aminosyrer (AA) som er bundet til hverandre. Det finnes 20 ulike aminosyrer som er byggemateriale for proteiner i levende organismer (Nelson, Lehninger and Cox, 2008) . Av disse er 9 aminosyrer essensielle for mennesker. En essensiell aminosyre kan ikke syntetiseres i kroppen *de novo*. De essensielle aminosyrene for mennesker er fenylalanin, histidin, isoleucin, leucin, lysin, metionin, treonin, tryptofan og valin (Wu, 2009). I tillegg er noen aminosyrer betinget essensielle, det vil si at de kan være essensielle under visse forhold eller stadier i livet. Muskler er det største lageret for proteiner i kroppen. Utilstrekkelig mengde av proteiner eller essensielle aminosyrer gjennom kosten vil føre til økt forbrenning av muskelprotein, som i sin tur vil føre til redusert tilvekst og tap av muskelmasse. Dette kan igjen føre til dårligere immunforsvar og redusert hormonell og enzymatisk aktivitet i kroppen. For å opprettholde viktige funksjoner i kroppen er det dermed viktig å tilføre kroppen en tilstrekkelig mengde proteiner gjennom kosten. Det er ikke bare mengden, men også kvaliteten på proteinene

som er viktig. Kvaliteten på proteiner er ofte bestemt ut i fra dens evne til å dekke behovet for essensielle aminosyrer, samt deres biotilgjengelighet/fordøyelighet. Animalsk protein, som for eksempel proteiner fra fisk regnes som høykvalitetsprotein, siden det dekker behovet for alle de essensielle aminosyrene og er lettfordøyelig (Damodaran, Parkin and Fennema, 2007).

Fett, eller lipider, er en annen viktig næringsstoffklasse som fisk og sjømat er en viktig kilde til. Fettsyrer er den enkleste formen for lipider. Fettsyrer er karbonkjeder med en karboksylgruppe i den ene enden og en metylgruppe i den andre. Lengden på karbonkjeden er normalt mellom 12 og 24 atomer som er kovalent bundet til hverandre (Nelson et al., 2008). Fettsyrer kan deles inn i to hovedgrupper; mettede fettsyrer (SFA) som ikke har karbon-karbon (C-C) dobbeltbindinger og umettede fettsyrer som har 1 til 6 C-C dobbeltbinding(er). De umettede fettsyrene kan videre deles inn i to grupper; enumettede (MUFA) og flerumettede fettsyrer (PUFA). MUFA har kun en dobbeltbinding, mens PUFA har 2 til 6 dobbeltbindinger. Når det gjelder PUFA er det ikke bare mengden dobbeltbindinger som er hovedfokuset, men også hvor den første dobbeltbindingen er lokalisert i forhold til metylgruppen, det er dette som skiller de to hovedgruppene av PUFA; omega-3 og omega-6 fettsyrer. Fettsyrer som har den første C-C dobbeltbindingen mellom det tredje og fjerde karbonatomet fra metylgruppen, kalles omega-3 fettsyrer (PUFA, n-3), mens fettsyrer som har den første C-C dobbeltbindingen er mellom det sjette og syvende karbonatomet fra metylgruppen kalles omega-6 fettsyrer (PUFA, n-6) (Rustan and Drevon, 2005). Som for aminosyrer finnes det fettsyrer som er essensielle. Siden det kun er planter og planteplankton som har enzymer som kan plassere dobbeltbindinger i karbonkjeden til fettsyrer i n-3 og n-6 posisjonen, er linolsyre (LA, 18:2, n-6) og alfa-linolenisyre (ALA, 18:3, n-3) essensielle fettsyrer for dyr, inkludert mennesker og fisk (Rustan and Drevon, 2005). Lengre og mer umettede fettsyrer kan syntetiseres ut i fra disse to fettsyrene. Mennesker og andre dyr har enzymer som kan innføre dobbeltbindinger i posisjon $\Delta 6$ ($\Delta 6$ -desaturase) og $\Delta 5$ ($\Delta 5$ -desaturase) slik at fettsyren blir mer umettet, samt enzymer for å forlenge fettsyren i karboksylenden (elongase). Fra LA kan derfor den langkjedede omega-6 fettsyren arakidonsyre (ARA, 20:4, n-6) syntetiseres, mens fra ALA kan omega-3 fettsyrene eikosapentaensyre (EPA, 20:5, n-3) og dokosaheksensyre (22:6, n-3) syntetiseres (figur 1).



Figur 1. Enzymene som er ansvarlige for omdannelse av linolsyre og alfa-linolensyre til arakidonsyre og eikosapentaensyre/docosaheksaensyre. (Modifisert figur hentet fra Arterburn, Hall and Oken (2006))

Det er de samme enzymene som er ansvarlige for omdannelse omega-3 og omega-6 fettsyrer, og derfor vil de relative mengdene av disse to fettsyrene i kosten avgjøre hvor mye ARA, EPA og DHA som blir syntetisert. I et vestlig kosthold er det vanligvis 15-17x mer LA i kosten enn ALA, og dermed blir ARA dannelse favorisert. I tillegg blir en stor del av ALA gjennom kosten forbrent til energi (Arterburn et al., 2006). Det skal nevnes at evnen dyr og mennesker har til å syntetisere EPA og DHA ut i fra ALA er lite effektiv (Arterburn et al., 2006), noe som gjør at man må få disse fettsyrene gjennom kosten for å møte behovet for disse. Dette gjør at EPA og DHA er betinget essensielle.

Fisk og sjømat inneholder også viktige mikronæringsstoffer, slik som vitaminer og mineraler, som er nødvendige for mennesker. Vitamin D syntetiseres primært i huden til mennesker som er eksponert for sollys. I store deler av verden, deriblant Norge, er ikke UV strålene fra sola sterke nok i vinterhalvåret for tilstrekkelig vitamin D-produksjon. Vitamin D må derfor tilføres gjennom kosten (Vitenskapskomiteen for mattrygghet, 2014). Fisk, og spesielt fet fisk som for eksempel laks er en god kilde til vitamin D, sammenlignet med andre matvarer som kjøtt (Nakamura, Nashimoto, Okuda, Ota and Yamamoto, 2002). Fisk og annen sjømat er også kilder til mineralstoffer og sporstoffer, spesielt jod og selen. Jod er viktig for normal funksjon av

skjoldbruskkjertelen og dens hormonproduksjon. Jodmangel kan føre til redusert vekst og dårligere mental utvikling hos barn. Hos voksne kan jodmangel gi lavt stoffskifte, nedsatt blodtrykk og muskelsvakhet. Jodmangel er et stort folkehelseproblem i hele verden, inkludert Europa (Vitenskapskomiteen for mattrygghet, 2014). Selen er ett sporstoff som inngår i enzymer som hindrer frie radikaler og dermed oksidativt stress. Selen spiller også en viktig rolle i omsetningen av thyroïdhormoner, som blant annet inngår i et fungerende immunforsvar og funksjoner i reproduksjonen (Weichselbaum et al., 2013).

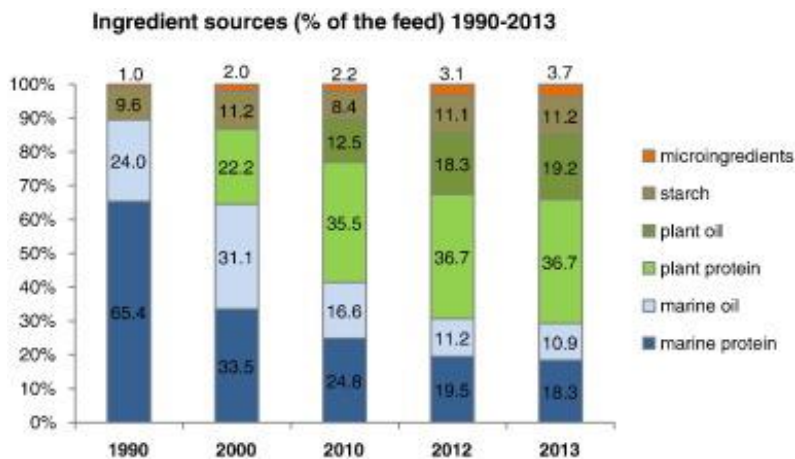
Hovedgrunnen til anbefalinger for å spise mer fisk er den naturlige høye andelen av de langkjedede omega-3 fettsyrene EPA og DHA. Inntak av disse fettsyrene har siden 1970-tallet blitt assosiert med positive helseeffekter etter at Bang og Dyerberg gjorde flere studier hvor det ble funnet en sammenheng mellom høyt inntak av disse fettsyrene og lav utbredelse av hjerte- og karsykdommer hos eskimoer på Grønland. De fant at dødeligheten av hjerteinfarkt hos eskimoer på Grønland var 1:10 i forhold til eskimoer i Danmark og skandinaver generelt (Bang and Dyerberg, 1972; Bang, Dyerberg and Sinclair, 1980; Dyerberg, Bang, Stoffersen, Moncada and Vane, 1978). Dette satte omega-3 fettsyrer på dagordenen. Det har siden den gang blitt vist at inntak av omega-3 fettsyrer har en rekke positive helseeffekter. Omega-3 fettsyrer spiller en stor rolle i flere biologiske prosesser, og har en positiv helseeffekt på et bredt spekter av sykdommer. Det har spesielt vært stort fokus på at inntak av langkjedede omega-3 fettsyre reduserer risikoen for hjerte- og kar-sykdommer (Hu, Cho, Rexrode, Albert and Manson, 2003; Hu, Stampfer, Manson, Rimm, Colditz, Rosner, Hennekens and Willett, 1997; Oomen, Feskens, Räsänen, Fidanza, Nissinen, Menotti, Kok and Kromhout, 2000). Kvinnens diett under svangerskap og amming har en grunnleggende effekt på hjernens utvikling, med etterfulgt effekt på mental funksjon gjennom livet til avkommet. Det er spesielt DHA som er viktig for utvikling av hjernen og resten av sentralnervesystemet (Jensen, 2006; Koletzko, Cetin, Brenna and Group, 2007). Det har også blitt antydnet at inntaket av langkjedede omega 3 fettsyrer har en positiv effekt på kognitiv funksjon også senere i livet, men disse funnene har ikke vært entydige (Weichselbaum et al., 2013). Det har også blitt indikert at omega-3 fettsyrer muligens har en positiv helseeffekt på flere tilstander og sykdommer. Fiskeinntak i tidlig barndom indikerer en lavere risiko for å utvikle astma og atopisk eksem, men funnene har ikke vært konsistente (Alm, Åberg, Erdes, Möllborg, Pettersson, Norvenius, Goksör and Wennergren, 2009; Kremmyda, Vlachava, Noakes, Diaper, Miles and Calder, 2011). Det er også indikert at inntaket av langkjedede PUFA n-3 kan

være gunstig for symptomlettelse på en rekke betennelsestilstander som for eksempel leddgikt, dermatitt og ulcerøs kolitt (Calder, 1996; Fortin, Lew, Liang, Wright, Beckett, Chalmers and Sperling, 1995) og mentale sykdommer som for eksempel depresjon (Ruxton, Reed, Simpson and Millington, 2004). Høyt inntak av omega-3 kan også redusere forekomsten av noen typer kreft (Ruxton et al., 2004).

Det er ikke gitt noen tallfestede anbefalinger i Norge når det gjelder inntak av langkjedede omega-3 fettsyrer. Det norske helsedirektoratet anbefaler å spise fisk til middag 2-3 ganger i uka, der minst ett måltid (200g) bør være fet fisk som laks, ørret, sild eller makrell. Det anbefales i tillegg å bruke fisk som pålegg (Helsedirektoratet, 2018). Verdens helseorganisasjon (WHO) anbefaler et daglig inntak av DHA og EPA på 0,250g pr dag for voksne menn og ikke-gravide/ammende kvinner (WHO, 2010), mens UK Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN) anbefaler et daglig inntak på 0,450g DHA og EPA per dag, også for ammende og gravide kvinner (SACN, 2004).

Sammensetningen av næringsstoffer i laksefileten reflekterer det laksen har spist. Laksens naturlige diett består av marine oljer og proteiner fra småfisk og krepsdyr (Bell, McEvoy, Tocher, McGhee, Campbell and Sargent, 2001). Fiskefôr brukt i akvakultur har tradisjonelt vært basert på fiskemel og fiskeoljer, dette av naturlige, praktiske og økonomiske årsaker. Marine oljer er laksens naturlige kilde til lipider, og fiskeolje og fiskemel har tidligere vært lett tilgjengelige og relativt rimelige. Imidlertid har behovet for fiskeoljer og fiskemel i akvakultursammenheng oversteget tilgjengeligheten av de naturlige ressursene, så inkorporering av alternative lipid- og proteinkilder i formuleringen av fôr har blitt nødvendig for videre vekst i oppdrettsnæringen (Bell, McGhee, Campbell and Sargent, 2003). I tillegg blir fiskeoljer i større og større grad brukt til humant konsum i form av kosttilskudd, samt i landbruket i form av fôringredienser (Bell et al, 2001). Tilgjengeligheten av planteoljer er mye høyere enn tilgjengeligheten av fiskeoljer og prisen er mye lavere. For å kunne ha en bærekraftig produksjon av atlantisk laks, har derfor deler av marine oljer og fett i fiskefôr blitt erstattet av planteoljer, som har en annen fettsyresammensetning enn fiskeoljer. Planteoljer inneholder relativt lave mengder omega-3 fettsyrer, mens innholdet av omega-6 fettsyrer er høyt (Torstensen, Bell, Rosenlund, Henderson, Graff, Tocher, Lie and Sargent, 2005). Også en stor del av de tradisjonelle marine proteinkildene i fiskefôr er erstattet med planteproteiner. Aminosyresammensetningen i planteprotein er

forskjellig fra den i fiskemel og mange planteproteiner inneholder ofte ikke tilstrekkelige mengder av enkelte essensielle aminosyrer. Det er ulikheter i hvilke aminosyrer det er for lite av i de forskjellige planteråstoffene (Damodaran et al., 2007). En blanding av ulike kilder til planteprotein er derfor nødvendig for å balansere aminosyresammensetningen i fôret og i tillegg kan det bli nødvendig å tilsette aminosyrer for å oppfylle fiskens krav til essensielle aminosyrer (Torstensen, Espe, Sanden, Stubhaug, Waagbø, Hemre, Fontanillas, Nordgarden, Hevrøy and Olsvik, 2008). I 1990-årene og tidligere år besto det formulerte laksefôret av 90 % marine råvarer, mens i 2013 var andelen gått ned til underkant av 30 % marine råvarer (figur 2) (Ytrestøy, Aas and Åsgård, 2015). Denne endringen i fôrsammensetning har ført til at den biokjemiske sammensetningen i fiskemuskel er endret. Ett studium publisert i 2005 viste at oppdrettslaksen inneholdt ca. 15% mer EPA og DHA enn villaksen pr. gram fett (Blanchet, Lucas, Julien, Morin, Gingras and Dewailly, 2005). Et studium publisert i 2012 viste at oppdrettslaks inneholdt ca. 75 % av andelen EPA og DHA pr. gram fett sammenlignet med villaks (Jensen, Mæhre, Tømmerås, Eilertsen, Olsen and Elvevoll, 2012). Dokumentasjon på om det økte innholdet av planteprotein i fôret kan påvirke proteininnhold og aminosyresammensetning i fisken har vært vanskelig å finne.



Figur 2: Kilder til næringsstoffer brukt i fôr i norsk lakseoppdrett fra 1990 til 2013. Hver ingrediens er vist i prosent i forhold til det totale innholdet. (Figur hentet fra Ytrestøy et al. 2015)

Mål med oppgaven

I denne masteroppgaven var målet å sammenligne den biokjemiske sammensetningen i hel filet av vill og oppdrettet atlantisk laks (*Salmo salar*), med hovedvekt på sammenligning av det totale fettinnholdet og fettsyresammensetningen i filet av vill og oppdrettet atlantisk laks. Et delmål var å undersøke om fettsyresammensetningen og fettinnholdet i oppdrettslaks er endret siden 2010, mens et annet delmål var å sammenligne proteininnhold og innhold av essensielle aminosyrer i vill og oppdrettet laks.

Material og metode

Innsamling og preparering av prøvemateriale

Fisken som ble brukt i dette forsøket var av arten atlantisk laks (*Salmo salar*). Oppdrettslaksen ($n = 20$) ble hentet fra Lerøy Auroras anlegg på Skjervøy medio august 2017. Villaksen ($n = 20$) ble fanget på Loppa i Finnmark i juni 2017, og kjøpt hos Eide handel i Tromsø. Fettsyreanalysene på villfisken ga imidlertid indikasjoner på at dette kunne være rømt oppdrettslaks, noe som ble bekreftet av skjellanalyser utført av Norsk Institutt for Naturforskning (NINA) i Trondheim. Det viste seg at 16 av villaksen var rømt oppdrettslaks, mens bare 4 var villaks. Råstoffene måtte derfor deles inn i tre grupper. Gjennomsnittsverken på oppdretts-, vill- og rømt oppdrettslaks var henholdsvis $4,3 \pm 0,3\text{kg}$, $4,9 \pm 1\text{kg}$ og $3,6 \pm 0,2\text{kg}$. Lengden på fiskene var $71,5 \pm 2,2\text{cm}$ for oppdrettslaks, $80,5 \pm 5,3\text{cm}$ for villaks og $70,4 \pm 2,1\text{cm}$ for rømt oppdrettslaks. All fisken ble *post rigor* filetert, før hele fileten ble kvernet og fryst i porsjonsposer av plast. Prøvematerialet ble lagret på -45°C før analyse. Preparering og analysering ble gjennomført ved Norges Fiskerihøgskole (NFH) ved UiT- Norges arktiske universitet.

Kjemikalier

Alle reagenser/kjemikalier brukt i analysene var av analytisk kvalitet. Leverandøren av kjemikalier var Sigma (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO, USA), med mindre annet er oppgitt.

Vann og askeinnhold

Vanninnholdet ble bestemt ved bruk av AOAC-metode 925.08 med noen modifikasjoner (Horwitz, 2004). Omtrent 5g kvernet filet ble veid ut og tørket på 105°C til vekten var konstant. Askeinnholdet ble deretter bestemt ved bruk av AOAC-metode 983.08 med noen modifikasjoner (Horwitz, 2004). De tørre prøvene ble forbrent ved 540°C i 12 timer. Analysene ble utført med tre paralleller. Nøyaktige vektter ble notert og vann- og askeinnholdet ble beregnet gravimetrisk.

Fettinnhold og fett ekstraksjon

Fettinnholdet ble bestemt ved bruk av to ulike fett ekstraksjonsmetoder, Folch's og Soxhlets's metode.

Soxhlets metode:

Metoden ble utført basert på Soxhlets metode AOAC 945.15 (Horwitz, 2004). Analysen ble gjennomført med 3 paralleller. Omtrent 5gram med vevsprøve ble veid ut på forhåndveide aluminiumskåler. Prøvene ble tørket ved 105°C i minimum 24 timer. De tørre prøvene ble veid og plassert i forhåndveide hylser og klippet opp. Fett ekstraksjonen ble utført med petroleumeter som løsemiddel i 2 timer ved 85°C. Etter ekstraksjonen ble hylsene med det resterende prøvematerialet satt til avdamping/tørking på 105°C over natten før endelig vekt ble registrert. Fettinnholdet ble beregnet gravimetrisk.

Folchs metode:

Ekstraksjonen ble gjennomført basert på metoden beskrevet av Folch, Lees and Stanley (1957), hvor kloroform ble erstattet med diklormetan som beskrevet av Chen, Shen and Sheppard (1981). Analysen ble utført med tre paralleller. Omtrent 1g vevsprøve ble veid opp i teflonrør og nøyaktig vekt ble notert. Prøven ble så tilsatt 20ml diklormetan/metanol (DCM/MeOH) (2:1 v/v) og 500µl internstandard (Heptadecanoic acid (C17:0), 10mg/ml i DCM/MeOH (2:1 v/v)). Prøvene ble blandet godt i 20-30 minutter i romtemperatur. Etter filtrering ble 4ml 0.9% (w/v) NaCl tilført og prøvene ble deretter sentrifugert ved 2000 *x g* i 10 minutter (Multifuge 1 S-R, Heraeus, Hanau, Tyskland). Den øvre vann/MeOH fasen ble fjernet med vannavsug, mens DCM/lipid-fasen ble overført til forhåndsveide rundkolber og dampet tørr ved bruk av rotavapor (RV 10, IKA Werke, Staufen, Tyskland) med vakuump kontroll (CVC 3000, Vacuubrand, Wertheim, Tyskland). Rundkolbene ble veid på nytt etter inndamping og fettinnholdet ble beregnet gravimetrisk.

Fettsyreanalyse

Metylering av prøvene ble gjennomført basert på metoden beskrevet av Stoffel, Chu and Ahrens (1959) med endringer som beskrevet i Maehre, Hamre and Elvevoll (2013). De ekstraherte lipidene fra Folch's ekstraksjon ble gjenoppløst i DCM/MeOH (2:1, v/v) til en konsentrasjon på rundt 10mg/ml. I lufttette rør ble 100µl av denne lipidløsningen blandet med 900µl DCM og 2ml 2% (v/v) H₂SO₄ i metanol. Prøvene ble ristet og satt på varmeblokk på 100°C i en time. Etter varmebehandling ble 3,5ml heptan og 3.5ml 5% (w/v) NaCl tilført. Løsningen ble godt ristet.

Den øvre heptan-fasen ble forsiktig pipettert over i nye rør og dampet tørr under N₂-gass. Prøvene ble deretter gjenopløst i 100µl heptan og overført til analyserør for gasskromatografi.

Gasskromatografi ble utført med en Agilent 6890N. med 7683 B autoinjektor og flammeioniseringsdetektor (FID) (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). Helium ble brukt som bæregass. Det ble brukt en CP7419 50m x 0,25mm kapillærkolonne (Varian Inc., Middelburg, Nederland). Fettsyrene ble identifisert på bakgrunn av sine unike retensjonstider, ved å sammenligne kromatogrammene for hver prøve opp mot kjente standarder, PUFA 1(47033), PUFA 2 (47015-U) og PUFA 3 (47058-U) fra Sigma og GLC 96 fra NuChek (NuChek Prep Inc., Elysian, MN, USA). Tabell 1 viser hvilke fettsyrer som er til stede i de ulike standardene.

Tabell 1: Viser hvilke fettsyrer som finnes i hver av standardene PUFA-1, PUFA-2, PUFA-3 og GLC96. x = tilstede i standarden.

Fettsyre	PUFA-1	PUFA-2	PUFA-3	GLC 96
14:0	x	x	x	x
16:0	x	x	x	x
16:1, n-7	x	x	x	x
16:2, n-4			x	
16:3, n-4			x	
17:0				x
18:0	x	x	x	x
18:1, n-7	x	x	x	x
18:1, n-9	x	x	x	x
18:2, n-6	x	x	x	x
18:3, n-3	x	x	x	x
18:3, n-4			x	
18:3, n-6		x		
18:4, n-3	x		x	
20:0				x
20:1, n-9	x	x	x	x
20:2, n-6				x
20:3, n-6				x
20:4, n-3			x	
20:4, n-6		x	x	x
20:5, n-3	x	x	x	
22:0				x
22:1, n-9	x			x
22:1, n-11	x			
22:2, n-6				x
22:4, n-6		x		x
22:5, n-3	x		x	
22:6, n-3	x	x	x	x
24:0				x
24:1, n-9	x			x

Aminosyreanalyser og proteininnhold

Frie aminosyrer (FAA) ble ekstrahert med utgangspunkt i metoden beskrevet av Mierke-Klemeyer, Larsen, Oehlenschläger, Mæhre, Elvevoll, Bandarra, Parreira, Andrade, Nunes, Schram and Luten (2008) med endringer som beskrevet av Mæhre, Edvinsen, Eilertsen and Elvevoll (2016). Omtrent 1g vevsprøve ble veid opp sammen med 9ml destillert vann og 1ml 20mM norleusin, som ble brukt som internstandard. Prøven ble homogenisert med Ultra-Turrax (T25 basic, IKA Werke, Staufen, Tyskland) i 15 sekunder. Deretter ble 1ml 35% sulfosalicylsyre tilsatt, etterfulgt av 15 nye sekunder med Ultra-Turrax. Prøven ble sentrifugert ved 4000g i 10min på 4°C for å felle ut proteiner og peptider, før 200µl av supernatanten ble overført til analyserør og tilsatt 800µl litiumcitrat buffer med pH 2.2.

Totale aminosyrer (TAA) ble ekstrahert ved at 200mg prøvemateriale ble tilsatt 500µl destillert vann, 500µl 20mM norleusin (internstandard) og 1,2ml konsentrert saltsyre. Prøven ble flushet med nitrogengass i 15 sekunder før de ble satt til hydrolyse på 110°C i 24 timer (Moore and Stein, 1963). Etter hydrolysing ble 100µl av hydrolysatet overført til analyserør og dampet tørt under nitrogengass før det ble gjenopløst i 1ml litiumcitrat buffer pH 2.2.

Alle aminosyreprøver ble analysert ved bruk av en Biochrom 30 aminosyreanalysator (Biochrom Co., Cambridge, UK) som beskrevet i Mæhre et al. (2013). Aminosyrene ble adskilt ved kromatografisk separasjon ved bruk av en ionebyttekolonne. Det ble brukt litiumcitrat-buffere med ulike pH og ionestyrker, samt et forhåndsdefinert temperaturprogram som beskrevet av Spackman, Stein and Moore (1958). Deteksjon av aminosyrene ble muliggjort gjennom post-kolonne derivatisering med ninhydrin, en reaksjon som gjør at aminosyrene kan detekteres ved hjelp av ultrafiolett lys. Ninhydrinderivatiseringen resulterer i et blått kompleks med en lysoptimal ved 570nm for de fleste aminosyrene, og et gult kompleks med en lysoptimal ved 470nm for prolin og hydroksyprolin. UV-signalene ble analysert ved hjelp av programvaren Chromeleon (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) og sammenlignet med A9906 fysiologisk aminosyrestandard fra Sigma. Proteininnholdet i fiskefiletene ble beregnet ut i fra summen av alle aminosyrene, fratrukket molekylvekten av vann.

Statistikk

De statistiske analysene ble gjennomført ved bruk av programmet SPSS versjon 25 (Statistical Package for the Social Sciences). Test av normalfordeling ble gjennomført, etterfulgt av enveis variansanalyse (ANOVA). Som post-hoc test ble Tukey's multiple comparison test brukt om verdiene hadde lik varians, mens der de ikke hadde lik varians ble Dunett's T3 test brukt.

Statistisk signifikans ble satt til $p < 0,05$. For forskjell mellom analysemetoder for fett ble det brukt Student's t-test.

Resultater

Vann, aske, fett og proteininnhold

Tabell 2 viser sammensetningen av vann, aske, fett og protein i filet av vill, oppdrettet og rømt atlantisk laks, samt i det formulerte fôret som var gitt til oppdrettslaksen. Den totale gjennomsnittsmengden fett i oppdrettslaksen var rundt det dobbelte i forhold til villaksen. Soxhlet's og Folch's ekstraksjonsmetode gav henholdsvis 7.4% og 10.6% for villaks, 18.5% og 19.5% for oppdrettslaks og 14.1% og 14.2% for den rømte oppdrettslaksen. Fileten av villaksen hadde vann- og askeinnhold på henholdsvis 67.9% og 1.3%, oppdrettslaksen på 61.4% og 1.1%, mens innholdet i den rømte laksen var 66.2% og 1.2%. Proteininnholdet i fileten var høyest i villaksen med 17.3%, mens oppdrettslaksen og den rømte laksen inneholdt henholdsvis 15,4% og 15.8% protein.

Tabell 2 Vann, aske, fett og protein sammensetning (% av våtvekt) hos vill (n=4), oppdrettet (n=20) og rømt (n=16) atlantisk laks (*Salmo salar*) samt i fôret til oppdrettslaksen.

	Vill laks	Oppdrettet laks	Rømt Laks	Fôr
Vann	67.9 ± 3.92 ^{ab}	61.4 ± 1.6 ^a	66.2 ± 1.6 ^b	5.6
Aske	1.3 ± 0.1 ^b	1.1 ± 0.1 ^a	1.2 ± 0.0 ^{ab}	5.0
Fett soxhlet	7.4 ± 1.1 ^{a*}	18.5 ± 2.1 ^c	14.1 ± 2.8 ^b	31.6
fett folch	10.6 ± 0.9 ^a	19.5 ± 2.6 ^c	14.2 ± 2.4 ^b	26.3
Protein	17.3 ± 0.8 ^b	15.4 ± 1.0 ^a	15.8 ± 0.6 ^a	27.5

Forskjellig bokstav på samme linje betyr signifikant forskjell $p < 0,05$ * indikerer forskjell mellom de to analysemetodene for fett for samme gruppe.

Fettsyresammensetning

Fettsyresammensetningen (% av total mengde fettsyrer) og mengden fettsyrer (g per 100g filet) i fileten av vill, oppdrettet og rømt atlantisk laks, samt fôret gitt til oppdrettslaksen er presentert i tabell 3.

SFA-innholdet (%) var noe høyere for den ville laksen sammenlignet med oppdrettslaksen og den rømte laksen. Der SFA sto for 20,8% i villaksen, 15% i oppdrettslaksen og 13,8% i den rømte laksen. Palmitinsyre (16:0) var den dominerende mettede fettsyren i alle gruppene, etterfulgt av myristinsyre (14:0) for villaksen med 4,4%, og stearinsyre (18:0) for oppdrett og rømt laks der innholdet var henholdsvis 3% og 2,6%. Andelen MUFA var høyest i den rømte oppdrettslaksen, der de sto for 50,8% av fettsyrene, etterfulgt av oppdrettslaksen med 40,8% og villaksen med 39,3%. 18:1, n-9 var den dominerende enumettede fettsyren for alle gruppene.

Andelen PUFA var høyest i oppdrettslaksen med 41,9%, etterfulgt av villaksen med 37,4% og den rømte laksen med 33%. Fettet i fôret inneholdt 12,4% LA, mens fettene i villfisk, oppdrettsfisk og den rømte fisken inneholdt henholdsvis 1,3%, 14,4% og 13,3%.

Andelen PUFA n-3 var størst i villaksen med 35,9%, mens andelen var 24,7% for oppdrettslaksen og 18,2% i den rømte laksen. For omega-3 fettsyren ALA var innholdet størst i oppdrettslaksen, der den sto for 14,4% av fettene, mens innholdet i den rømte laksen var 13,3% og 1,3% av fettene i villfiskfileten. For fettsyren SDA 18:4, n-3 var andelen størst i villaksen med 10,8%, i oppdrettslaksen var den 5,4%, og lavest i den rømte laksen med 4%. Fettet i fileten hos oppdrettsfisk inneholdt 2,7% EPA og 4,9% DHA, mens villfisk inneholdt 6,2% EPA og 14,8% DHA og verdiene for den rømte laksen var 2,4% EPA og 5,1% DHA. For fettsyren dokosapentaensyre (DPA, 22:5 n-3) var andelen høyere i villaksen enn hos oppdrett- og rømt oppdrettsfisk, der den sto for henholdsvis 3,2%, 1,3% og 1,3% av fettene.

Forholdet mellom n-6 fettsyrer og n-3 fettsyrer var 0,04 i villaks fileten, 0,7 i oppdrettslaksen og 0,81 i fileten til den rømte laksen.

Resultater

Tabell 3 Fettsyresammensetning (% av total mengde fettsyrer) hos vill ($n=4$), oppdrettet ($n=20$) og rømt ($n=16$) atlantisk laks (*Salmo salar*) og i fiskefor. Verdiene representerer gjennomsnittet \pm standardavvik.

Fettsyre	Vill laks		Oppdrettet laks		Rømt laks		Fôr	
	Sammensetning (%)	Mengde (g/100g)	Sammensetning (%)	Mengde (g/100g)	Sammensetning (%)	Mengde (g/100g)	Sammensetning (%)	Mengde (g/100g)
14:0	4.4 \pm 0.7 ^C	0.29 \pm 0.11 ^{AB}	1.9 \pm 0.1 ^a	0.33 \pm 0.06 ^B	2.0 \pm 0.1 ^b	0.26 \pm 0.04 ^A	2.9	0.56
16:0	13.6 \pm 0.9 ^C	0.86 \pm 0.23 ^A	10.1 \pm 0.4 ^b	1.78 \pm 0.30 ^B	9.2 \pm 0.3 ^a	1.18 \pm 0.17 ^A	12.9	2.44
18:0	2.8 \pm 0.4 ^{ab}	0.17 \pm 0.04 ^A	3.0 \pm 0.1 ^b	0.53 \pm 0.08 ^C	2.6 \pm 0.1 ^a	0.33 \pm 0.05 ^B	5.3	0.99
16:1, n-7	4.7 \pm 0.3 ^C	0.30 \pm 0.08 ^{AB}	2.2 \pm 0.1 ^a	0.39 \pm 0.07 ^B	2.3 \pm 0.1 ^b	0.30 \pm 0.05 ^A	2.2	0.42
18:1, n-9	13.9 \pm 1.5 ^a	0.87 \pm 0.20 ^A	32.4 \pm 0.6 ^b	5.70 \pm 0.95 ^B	40.9 \pm 0.6 ^C	5.23 \pm 0.71 ^B	34.3	6.47
18:1, n7	2.8 \pm 0.7 ^{ab}	0.17 \pm 0.03 ^A	2.5 \pm 0.1 ^a	0.44 \pm 0.07 ^C	3.0 \pm 0.0 ^b	0.39 \pm 0.05 ^B	2.4	0.45
20:1, n-9	3.2 \pm 0.5 ^C	0.21 \pm 0.08	0.8 \pm 0.1 ^a	0.14 \pm 0.03	0.9 \pm 0.0 ^b	0.12 \pm 0.02	0.7	0.13
22:1, n-9	2.8 \pm 0.2 ^C	0.18 \pm 0.05 ^A	1.7 \pm 0.1 ^b	0.30 \pm 0.05 ^B	1.4 \pm 0.0 ^a	0.18 \pm 0.02 ^A	0.7	0.14
18:2, n-6 (LA)	1.3 \pm 0.2 ^a	0.08 \pm 0.03 ^A	14.4 \pm 0.3 ^C	2.53 \pm 0.40 ^C	13.3 \pm 0.2 ^b	1.71 \pm 0.23 ^B	12.4	2.34
20:4, n-6 (ARA)	n.d	n.d	1.2 \pm 0.1	0.21 \pm 0.03	n.d	n.d	1.8	0.33
18:3, n-3 (ALA)	1.0 \pm 0.2 ^a	0.06 \pm 0.02 ^A	10.3 \pm 0.4 ^C	1.81 \pm 0.27 ^C	5.3 \pm 0.2 ^b	0.68 \pm 0.10 ^B	7.1	1.35
18:4, n-3 (SDA)	10.8 \pm 1.4 ^C	0.70 \pm 0.25 ^{AB}	5.4 \pm 0.2 ^b	0.96 \pm 0.14 ^B	4.0 \pm 0.1 ^a	0.50 \pm 0.07 ^A	3.6	0.67
20:5, n-3 (EPA)	6.2 \pm 0.5 ^C	0.39 \pm 0.12 ^{AB}	2.7 \pm 0.1 ^b	0.47 \pm 0.08 ^B	2.4 \pm 0.1 ^a	0.31 \pm 0.04 ^A	3.0	0.56
22:5, n-3 (DPA)	3.2 \pm 0.4 ^b	0.20 \pm 0.03 ^{AB}	1.3 \pm 0.1 ^a	0.23 \pm 0.03 ^B	1.3 \pm 0.1 ^a	0.17 \pm 0.02 ^A	n.d	n.d
22:6, n-3 (DHA)	14.8 \pm 1.2 ^C	0.93 \pm 0.18 ^{AB}	4.9 \pm 0.2 ^a	0.86 \pm 0.11 ^B	5.1 \pm 0.2 ^b	0.65 \pm 0.07 ^A	2.2	0.42
SFA	20.8 \pm 0.7 ^C	1.32 \pm 0.37 ^A	15.0 \pm 0.5 ^b	2.65 \pm 0.44 ^B	13.8 \pm 0.4 ^a	1.77 \pm 0.26 ^A	22.3	4.20
MUFA	39.3 \pm 1.5 ^a	2.51 \pm 0.73 ^A	40.8 \pm 0.7 ^a	7.18 \pm 1.20 ^B	50.8 \pm 0.7 ^b	6.50 \pm 0.89 ^B	42.5	8.02
PUFA	37.4 \pm 0.9 ^b	2.37 \pm 0.60 ^A	41.9 \pm 1.0 ^C	7.35 \pm 1.10 ^C	33.0 \pm 0.8 ^a	4.16 \pm 0.47 ^B	31.4	5.93
PUFA n-3	35.9 \pm 1.1 ^C	2.28 \pm 0.58 ^A	24.7 \pm 0.7 ^b	4.33 \pm 0.63 ^B	18.2 \pm 0.5 ^a	2.27 \pm 0.27 ^A	15.9	3.00
n-6/n-3	0.04 \pm 0.01 ^a		0.70 \pm 0.01 ^b		0.81 \pm 0.02 ^C		1.0	

Forskjellig bokstav på samme linje angir signifikant forskjell der $p < 0.05$. Små bokstaver for prosentvis sammensetning, store bokstaver for mengde.

Aminosyrer

Mengden totale og frie aminosyrer (mg AA/g filet) i fileten av vill, oppdrettet og rømt atlantisk laks, samt fôret gitt til oppdrettslaksen er presentert i henholdsvis tabell 4 og tabell 5. Mengden av de totale aminosyrene og de signifikante forskjellene mellom vill og de to andre gruppene er en konsekvens av proteininnholdet. Den relative sammensetningen av TAA er noenlunde lik i alle gruppene (ikke presentert). Det er relativt lave mengder frie aminosyrer i fiskefiletene. I fôret domineres de frie aminosyrene av lysin, metionin og treonin.

Tabell 4: Totale aminosyrer (TAA) konsentrasjon (mg AA/g filet) hos vill (n=4), oppdrettet (n=20) og rømt (n=16) atlantisk laks (*Salmo salar*) og i fiskefôr. Verdiene representerer gjennomsnittet \pm standardavvik. n.d. = ikke detektert

	mg AA/g			
	Vill laks	Oppdrettet laks	Rømt laks	Fôr
<i>Essensielle aminosyrer</i>				
Phe - Fenylalanin	9.06 \pm 0.39 ^b	8.06 \pm 0.54 ^a	8.33 \pm 0.33 ^a	15.55
His - Histidin	6.63 \pm 0.58 ^b	5.11 \pm 0.34 ^a	5.05 \pm 0.26 ^a	7.49
Ile - Isoleucin	10.81 \pm 0.44 ^b	9.55 \pm 0.64 ^a	9.78 \pm 0.39 ^a	13.63
Leu - Leucin	17.12 \pm 0.68 ^b	15.11 \pm 1.01 ^a	15.62 \pm 0.61 ^a	25.92
Lys - Lysin	20.10 \pm 0.98 ^b	17.83 \pm 1.21 ^a	18.40 \pm 0.74 ^a	22.13
Met - Metionin	6.78 \pm 0.31 ^b	5.93 \pm 0.42 ^a	6.07 \pm 0.34 ^a	7.94
Thr - Treonin	10.20 \pm 0.49 ^b	9.12 \pm 0.62 ^a	9.41 \pm 0.37 ^a	14.35
Trp - Tryptofan	n.d	n.d	n.d	n.d
Val - Valin	12.40 \pm 0.58 ^b	11.02 \pm 0.73 ^a	11.25 \pm 0.46 ^a	15.54
<i>Ikke essensielle aminosyrer</i>				
Arg - Arginin	12.71 \pm 0.53 ^b	11.35 \pm 0.72 ^a	11.77 \pm 0.46 ^a	25.69
Ala - Alanin	13.04 \pm 0.63 ^b	11.74 \pm 0.80 ^a	12.13 \pm 0.47 ^a	15.65
Asn - Asparagin	n.d	n.d	n.d	n.d
Asp - Asparaginsyre	16.69 \pm 0.72 ^b	14.77 \pm 1.03 ^a	15.31 \pm 0.61 ^a	22.18
Cys - Cystein	0.43 \pm 0.07	0.63 \pm 0.20	0.55 \pm 0.20	2.42
Gln - Glutamin	n.d	n.d	n.d	n.d
Glu - Glutamat	31.10 \pm 1.34 ^b	27.47 \pm 1.94 ^a	28.65 \pm 1.10 ^a	71.70
Gly - Glycin	9.96 \pm 0.47	9.50 \pm 0.61	9.79 \pm 0.55	15.82
Pro - Prolin	7.65 \pm 0.33	7.29 \pm 0.56	7.22 \pm 0.38	20.07
Ser - Serin	8.32 \pm 0.35 ^b	7.47 \pm 0.50 ^a	7.72 \pm 0.30 ^a	15.51
Tyr - Tyrosin	7.86 \pm 0.33 ^b	6.83 \pm 0.48 ^a	7.14 \pm 0.30 ^a	7.57
Sum TAA	200.87 \pm 8.80 ^b	178.78 \pm 11.68 ^a	184.18 \pm 7.09 ^a	319.16

Forskjellig bokstav på samme linje betyr signifikant forskjell $p < 0,05$

Resultater

Tabell 5: Frie aminosyrer konsentrasjon (mg AA/g filet) i vill (n=4), oppdrettet (n=20) og rømt (n=16) atlantisk laks (*Salmo salar*) og i fiskefôr. Verdiene representerer gjennomsnitt ± standardavvik. n.d = ikke detektert

	mg AA/g			
	Vill laks	Oppdrettet laks	Rømt laks	Fôr
<i>Essensielle aminosyrer</i>				
Phe - Fenylalanin	0.04 ± 0.06	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.24
His - Histidin	1.08 ± 0.47 ^{ab}	0.20 ± 0.08 ^b	0.13 ± 0.03 ^a	0.14
Ile - Isoleucin	0.01 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.22
Leu - Leucin	0.10 ± 0.04	0.17 ± 0.03	0.17 ± 0.03	0.49
Lys - Lysin	0.08 ± 0.05 ^a	0.25 ± 0.08 ^b	0.14 ± 0.08 ^a	6.89
Met - Metionin	0.01 ± 0.02	0.02 ± 0.02	0.03 ± 0.03	4.48
Thr - Treonin	0.06 ± 0.04	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.02	3.12
Trp - Tryptofan	n.d	n.d	n.d	n.d
Val - Valin	0.07 ± 0.04	0.14 ± 0.03	0.14 ± 0.03	0.78
<i>Ikke essensielle aminosyrer</i>				
Arg - Arginin	n.d	0.06 ± 0.02	n.d	0.97
Ala - Alanin	0.36 ± 0.14	0.44 ± 0.08	0.46 ± 0.07	0.55
Asn - Asparagin	n.d	n.d	n.d	n.d
Asp - Asparaginsyre	0.02 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.02 ^c	0.05 ± 0.01 ^b	0.18
Cys - Cystein	n.d	n.d	n.d	n.d
Gln - Glutamin	n.d	n.d	n.d	n.d
Glu - Glutamat	0.13 ± 0.04 ^a	0.32 ± 0.06 ^b	0.19 ± 0.03 ^a	0.64
Gly - Glycin	0.10 ± 0.05 ^a	0.23 ± 0.05 ^b	0.25 ± 0.03 ^b	0.36
Pro - Prolin	n.d	n.d	n.d	0.23
Ser - Serin	0.07 ± 0.05	0.12 ± 0.05	0.10 ± 0.03	0.16
Tyr - Tyrosin	0.07 ± 0.05	0.09 ± 0.03	0.10 ± 0.02	0.19
Sum FAA	2.20 ± 0.80 ^{ab}	2.39 ± 0.44 ^b	2.03 ± 0.29 ^a	19.65

Forskjellig bokstav på samme linje betyr signifikant forskjell p<0,05

Diskusjon

Generell diskusjon

Utgangspunktet for oppgaven var å sammenligne vill og oppdrettet atlantisk laks (n = 20 i hver gruppe). Imidlertid viste det seg at 16 av de antatte villaksene var rømt oppdrettslaks. Dette medførte at den reelle villaksgruppen bare besto av 4 individer. De statistiske beregningene som ble utført i oppgaven er påvirket av dette lave utvalget og må derfor betraktes som usikre.

Vann og aske

Det lavere vanninnholdet i oppdrettet laks i forhold til de to andre gruppene (det ble ikke funnet signifikante forskjeller i vanninnhold av villaksen i forhold til de to andre gruppene) er på grunn av et høyere fettinnhold. Oppdrettslaksen med lavest vanninnhold hadde det høyeste fettinnholdet, og villaksen med høyest vanninnhold hadde det laveste fettinnholdet, mens den rømte laksen lå mellom de to gruppene. Vann- og fettinnholdet i fet fisk står for rundt 80% av den totale filetvekten (Haard, 1992), om fettinnholdet øker vil vanninnholdet minke. Å måle vanninnholdet i laksefilet er dermed en enkel måte å finne ut fettinnholdet. Askeinnholdet i filetene representerer de uorganiske forbindelsene i vevet, som mineraler. Det er små, men signifikante forskjeller mellom oppdrettet og vill laks med henholdsvis 1.1% og 1.3% askeinnhold. Også askeinnholdet er avhengig av hva fisken spiser. Oppdrettslaksen spiser pellets og får i seg de mineralene som fôret er formulert med, mens dietten til villaksen vil variere mer i tid og sted. Et naturlig bytte for laks er krepsdyr som for eksempel inneholder en del kalsium.

Fettinnhold

Ett av målene med dette studiet var å sammenligne det totale fettinnholdet i hel filet av oppdrettet og vill atlantisk laks. Fettinnholdet ble analysert med to analysemetoder. Effektiviteten av ekstraksjon av fett er avhengig av polariteten til løsemiddelet, og polariteten til lipidene (Ramalhosa, Paíga, Morais, Alves, Delerue-Matos and Oliveira, 2012). Petroleumeter, som benyttet i Soxhlet-ekstraksjon er upolart og er dermed et effektivt løsemiddel for nøytrale lipider som triglyserider. Diklormetan/metanol, som brukes i Folch-ekstraksjon er mer polart og vil dermed også ekstrahere mer polare lipider, slik som fosfolipider i tillegg til triglyserider. Mellom analysemetodene var det signifikant forskjell for villaksen, dette kan komme av at den har beitet på bytte med mer polare lipider som krepsdyr, som ofte inneholder store mengder fosfolipider. I fôret til oppdrettslaksen er hovedkilden til lipider planteoljer, som i stor grad består av upolare

triglyserider. I videre diskusjon blir det tatt utgangspunkt i resultatene fra Folch's metode. Filetene av oppdrettet atlantisk laks hadde et gjennomsnittlig fettinnhold på 19,5%, som var rundt det dobbelte av deres ville artsfrende på 10,6%. Oppdrettslaksen har fritt (*ad libitum*) tilgang til fôr og de høye fettinnholdet funnet i oppdrettslaksen reflekterer det høye fettinnholdet i fôret. Fettinnholdet i fileten er likevel ikke likt fettinnholdet i fôret da laksen forbruker noe fett til energi gjennom β -oksidasjon. Mange tidligere studier har også funnet høyere fettinnhold i oppdrettet laks sammenlignet med villaks. Bell, McEvoy, Webster, McGhee, Millar and Sargent (1998) rapporterte et fettinnhold i laksekotelett på 10,1% i oppdrettsfisk og 3,5% for villfisk (fanget i elv). Hamilton, Hites, Schwager, Foran, Knuth and Carpenter (2005) fant et fettinnhold på 16.6% i oppdrettet atlantisk laks og 6.4 % i vill stillehavslaks (*Oncorhynchus*). Jensen et al. (2012) fant ett fettinnhold på 12,3% i hel filet av oppdrettslaks og 6,3% i hel filet av villfanget havlaks. Lundebye, Lock, Rasinger, Nøstbakken, Hannisdal, Karlsbakk, Wennevik, Madhun, Madsen and Graff (2017) fant et fettinnhold på 8% i hel filet av vill havlaks og 14% i oppdrettet laks. I det sistnevnte studiet ble det også funnet rømt oppdrettsfisk, men det oppgis ingen informasjon om hvor lenge de hadde vært i naturen. Fettinnholdet var på 9%, noe som lå mellom verdiene de fikk for vill og oppdrettet atlantisk laks. Blanchet et al. (2005) fant derimot ingen forskjeller i fettinnhold hos oppdrettet og vill atlantisk laks.

Det er kjent at distribusjonen av depotfett er forskjellig gjennom fiskefileten. Fettinnholdet i fileten hos atlantisk laks og andre salmonider minker fra cranial-kaudal retning, samtidig er mageregionen av fiskefileten fetere enn den dorsale regionen (Aursand, Bleivik, Rainuzzo, Leif and Mohr, 1994). Det ble derfor bestemt at hele fileten skulle brukes i dette studiet for å få et reelt gjennomsnittlig fettinnhold. Dette kan være grunnen til at det er funnet høyere fettverdier i både vill og oppdrettslaks i dette studiet, sammenlignet med andre studier, der det er brukt koteletter av laksen der prøven har blitt hentet i bakre del av fisken (Bell et al., 1998), og der fett på buken er blitt fjernet før analyse (Jensen et al., 2012). Det er også vanlig å bruke en del av fileten som kalles NQC (norwegian quality cut), som også er hentet relativt langt bak på fisken (Johnsen, Hagen, Adler, Jönsson, Kling, Bickerdike, Solberg, Björnsson and Bendiksen, 2011). Det er dette som er blitt gjort i studiet av Lundebye et al. (2017) med oppdrettslaksen, mens det har blitt sammenlignet mot hel filet av villaks. En annen faktor som kan påvirke fettekstraksjonsutbytte er som tidligere nevnt valg av løsemiddel og metode.

Diskusjon

Det totale fettinnholdet i filet av oppdrettslaks varierte fra 15,9% til 25,3%, mens villfisken fra 9,4% til 11,6 og den rømte laksen fra 11,3% til 21,4. Disse forskjellene kan forklares ut i fra næringsstatusen til hvert individ. Den store spredningen for oppdrettslaksen var noe overaskende, da all fisken har god tilgang til fôr, men det kan også forklares ut i fra hierarki, eller individuell appetitt. Variasjonene for den ville fisken og den rømte laksen kan forklares ut i fra ulik tilgang på næring.

Fettsyresammensetning

Fettsyresammensetning i vill og oppdrettet laks

Det er velkjent at fettsyresammensetningen i fettvevet i fiskefileten i stor grad er påvirket av fettsyresammensetningen av lipidene i fiskens diett (Bell et al., 2001; Polvi and Ackman, 1992; Torstensen, Lie and Frøyland, 2000). Dette er også tilfellet med oppdrettslaksen i dette studiet.

Linolsyre finnes det lite av i marin fisk og fiskeoljer, av den totale mengden fettsyrer er innholdet normalt lavere enn 2% (McGill and Moffat, 1992). I det formulerte fôret til oppdrettslaksen var andelen 12,4%. Dette er en klar indikasjon på at fôret er formulert med en god del planteoljer. Soya-, solsikke- og rapsolje har relativt høyt innhold av denne fettsyren (Damodaran et al., 2007). Innholdet av denne fettsyren i den ville og oppdrettede laksen var henholdsvis 1,3% og 14,4% noe som gjenspeiler innholdet av denne fettsyren i de respektive diettene. Planteoljer, spesielt raps- og linfrøolje, kan også inneholde betydelige mengder alfa-linolenolensyre (Damodaran et al., 2007). Marine oljer inneholder relativt lite av denne omega-3 fettsyren (McGill and Moffat, 1992). Innholdet av ALA i fettvevet følger den samme trenden som for LA er og er lavere i villaksen enn i oppdrettslaksen, med henholdsvis 1% og 10,3%. Flere studier har funnet lignende resultater, der LA og ALA er høyere i oppdrettet fisk sammenlignet med villfisk (Bell et al., 1998; Blanchet et al., 2005; Hamilton et al., 2005; Jensen et al., 2012). Den samme trenden ser man også i forsøk der fisk som er fôret med rene marine oljer i fôret mot fisk som er gitt fôr med planteoljer (Bell, Henderson, Tocher, McGhee, Dick, Porter, Smullen and Sargent, 2002; Bell et al., 2001; Bell et al., 2003; Codabaccus, Bridle, Nichols and Carter, 2011; Rosenlund, Obach, Sandberg, Standal and Tveit, 2001).

Imidlertid, mens noen av fettsyrene i dietten er nært korrelert med fettsyrene som blir deponert i fettvevet, blir spesifikke fettsyrer selektert holdt tilbake eller benyttet som energi. Studier der planteoljer har erstattet fiskeoljer i fôret med ulik prosentvis sammensetning av fiskeolje og planteolje er det funnet at 18:1 n-9 og 22:1 n-9 når de er tilstede i høy konsentrasjon i fôret, i stor grad blir benyttet til energi i stedet for å bli deponert i fett (Bell et al., 2001; Bell et al., 2003). Rosenlund et al. (2001) hadde tilsvarende funn for 22:1 n-9, der fettsyren ble benyttet til energi ved tilstedeværelse i høy konsentrasjon. Ved lav konsentrasjon av 22:1 n-9 i fôret ble denne fettsyren tilbakeholdt. Tilsvarende funn ble funnet i dette studiet, der 18:1 n-9 som det var rikelig av i fôret ikke var tilstede i like høy konsentrasjon i fiskefileten. For fettsyren 22:1 n-9 som det

var små mengder av i fôret, med 0,7% var noe høyere i fisken med 1,7%. Rosenlund et al. (2001) fant derimot ikke tilsvarende funn for 18:1 n-9, som ble tilbakeholdt i fiskemuskelen.

I studier har det blitt funnet at innholdet av LA og ALA var høyere i fiskens diett enn i fettvevet til fisken, og det er foreslått at disse fettsyrene er foretrukne energisubstrat (Bell et al., 2001; Bell et al., 2003). Det er også funnet indikasjoner på at fisk som får LA gjennom dietten ikke utnytter disse fettsyrene i stor grad hverken til elongering eller til energi, slik at disse fettsyrene i større grad blir inkorporert og akkumulert i fettvevet. Det er også vist at fisk som har blitt fôret med planteoljer bruker lengre tid på å «bytte ut» LA etter at de blir overført til en diett med fiskeoljer, såkalte «utvaskelsesdietter» (Bell et al., 2003). I dette studiet var konsentrasjonen av LA og ALA høyere i fettvevet enn i dietten til oppdrettslaksen.

Derimot er det funnet at DHA i høyere grad blir deponert i fettvevet (Rosenlund et al., 2001; Bell et al., 2002; Stubhaug, Lie and Torstensen, 2007; Jensen et al., 2012), det er også tilfellet i dette studiet, der prosentandelen DHA i fettvevet til oppdrettslaksen er over dobbelt så stort som i fiskens diett. Mulige mekanismer for dette er at DHA blir selektert deponert, eller at kortere omega 3 fettsyrer blir omgjort til DHA og/eller en relativ resistens mot oksidasjon av DHA. Men selv om prosentandelen er over dobbelt så stor i oppdrettslaksen enn i fôret, så er prosentandelen tre ganger så høyt i villaksen sammenlignet med oppdrettslaksen. Den prosentvise mengden EPA er relativt lik mengden EPA i fôret til fisken, lignende resultater er også funnet i Rosenlund et al. (2001).

Fettsyresammensetning i rømt oppdrettslaks

Det foreligger naturlig nok ikke noe informasjon om den rømte laksen, bortsett fra at den opprinnelig var en oppdrettsfisk som har rømt, og oppholdt seg i naturen i omtrent en sesong (NINA; Personlig kommunikasjon). Det foreligger ingen informasjon om hva de har spist i løpet av denne sesongen, om den hadde mat i mage/tarm da den ble fanget, eller om den har klart og spist noe i det hele tatt. Studier gjort på adferd hos rømt oppdrettsfisk indikerer at kultivert fisk har vanskeligheter med å gå over til levende føde etter at de rømmer, noen holder seg nær merdene å fortsette å spise pellets, andre migrerer til havet der noen klarer å gå over til levende føde, mens andre sulter (Hislop and Webb, 1992; Olsen and Skilbrei, 2010). Det er også indikasjoner for at rømt fisk som klarer å tilpasse seg naturen ved å spise levende føde har en større sjanse for å migrere til havet, i stedet for å oppholde seg i fjorden rundt merdene (Jacobsen and Hansen, 2001; Olsen and Skilbrei, 2010).

Det er uvisst når fisken rømte, og hvor den rømte fra, samt hvordan statusen var med tanke på fettinnhold og fettsyresammensetning ved rømningstidspunktet. I videre diskusjon vil den rømte laksen bli sammenlignet med oppdrettsfisken med tanke på fettsyresammensetning og fettinnhold. Den rømte fisken var 27% magrere enn oppdrettsfisken, med 14,2 vs. 19,5 fettprosent. Dette kan komme av at fisken har måttet bevege seg mer, og kanskje ikke vært i stand til å fange levende føde i tilstrekkelig grad. Det kan også være at den i utgangspunktet også var magrere. Tabell 6 viser forskjell i fettsyrer i muskel. Her ser man at alle fettsyrene er lavere i den rømte laksen sammenlignet med oppdrettslaksen. Dette indikerer at næringstilgangen har vært lav. Man ser at det er forskjell i hvilke fettsyrer som har blitt favorisert som energisubstrat, ved at for eksempel ALA, SDA og 22:1, n-9 er over 40% lavere, mens 18:1 n-9, 18, n-7 og 20:1 n-9 er rundt 10 % lavere. Dette støttes av studier som er gjort der ALA er vist favorisert som substrat til β -oksidasjon (Codabaccus et al., 2011; Bell et al., 2001). Det er funnet at 22:1 n-9 blir favorisert som substrat til energi over 18:1 n-9, når fisk får disse fettsyrene gjennom kosten (Bell et al., 2001). Dette kan være grunnen til at mengden 22:1 n-9 i den rømte fisken har minket betydelig mer enn 18:1 n-9.

Diskusjon

Tabell 6: Tabellen viser forskjellen (%) i mengde fettsyrer per 100/g filet mellom oppdrettslaks og rømt laks.

Fettsyre	<u>Mengde g/100g filet</u>		Relativ forskjell
	Oppdrett	Rømt	
14:0	0.33	0.26	-21.7
16:0	1.78	1.18	-33.7
18:0	0.53	0.33	-38.1
16:1, n-7	0.39	0.30	-22.2
18:1, n-9	5.70	5.23	-8.3
18:1, n7	0.44	0.39	-12.8
20:1, n-9	0.14	0.12	-13.1
22:1, n-9	0.30	0.18	-40.0
18:2, n-6 (LA)	2.53	1.71	-32.5
18:3, n-3 (ALA)	1.81	0.68	-62.6
18:4, n-3 (SDA)	0.96	0.50	-47.5
20:5, n-3 (EPA)	0.47	0.31	-34.5
22:5, n-3 (DPA)	0.23	0.17	-28.1
22:6, n-3 (DHA)	0.86	0.65	-24.1
SFA	2.65	1.77	-33.0
MUFA	7.18	6.50	-9.5
PUFA	7.35	4.16	-43.5
PUFA n-3	4.33	2.27	-47.5

Er fettsyresammensetningen i oppdrettslaks endret siden 2010?

For studiet som ble publisert i 2012 (Jensen et al., 2012) var laksen som ble analysert også fra et Lerøy anlegg, og de ble slaktet sommeren 2010. I følge Ytrestøyl et al. (2015) besto laksefôret i 2010 av 41% marine råvarer. Som tidligere nevnt var andelen marine råstoff i fiskefôret gått ned til 30% i 2013. Nøyaktig fordeling av marint og terrestrisk råstoff i fôret for dette studiet er uvisst. Fôrprodusenten oppgir at fôret inneholder rapsolje, kamelinaolje og fiskeolje. Fettsyrene i fôret viser at sammensetningen er endret betraktelig siden 2010 (tabell 7). Både LA og ALA har økt, ALA mer en LA. Dette kan skyldes at det er mer rapsolje i fôret nå enn tidligere. Samtidig er også kamelinaolje rikt på ALA (Betancor, Sprague, Usher, Sayanova, Campbell, Napier and Tocher, 2015). Også for de langkjedede fettsyrene er sammensetningen endret. Langkjedede MUFA er gått ned betraktelig, men andelen EPA er økt samtidig som andelen DHA er minket. Også ulike marine organismer har ulike fordelinger av fettsyrer, for eksempel så inneholder sild mye langkjedede MUFA, mens sardin inneholder lite langkjedede MUFA, og mer EPA enn DHA. Dette betyr at bytte av type fiskeolje også vil ha innvirkning på fettsyresammensetningen (McGill and Moffat, 1992).

Når man sammenligner fettsyresammensetningen i oppdrettslaksen fra 2010, med fettsyresammensetningen i 2017, ser man en endring for flere fettsyrer (tabell 7). Ved å sammenligne fôret fisken har fått med fettsyresammensetningen i fettvevet, er det en klar sammenheng. De fettsyrene som har minket i prosentvis sammensetning i fôret er også minket i prosentvis sammensetning i fettvevet hos laksen, og motsatt, de fettsyrene det er mer av i fôret, er det mer av i fett til oppdrettslaksen. Ett unntak er fettsyren 18:4 n-3 som har økt i oppdrettslaksen fra 2017 i forhold til 2010 både i sammensetning og total mengde i filet, uten at mengden av denne fettsyren er økt betydelig i fôret. Forholdet mellom omega-6 og omega-3 fettsyrer er også økt med nesten 60%.

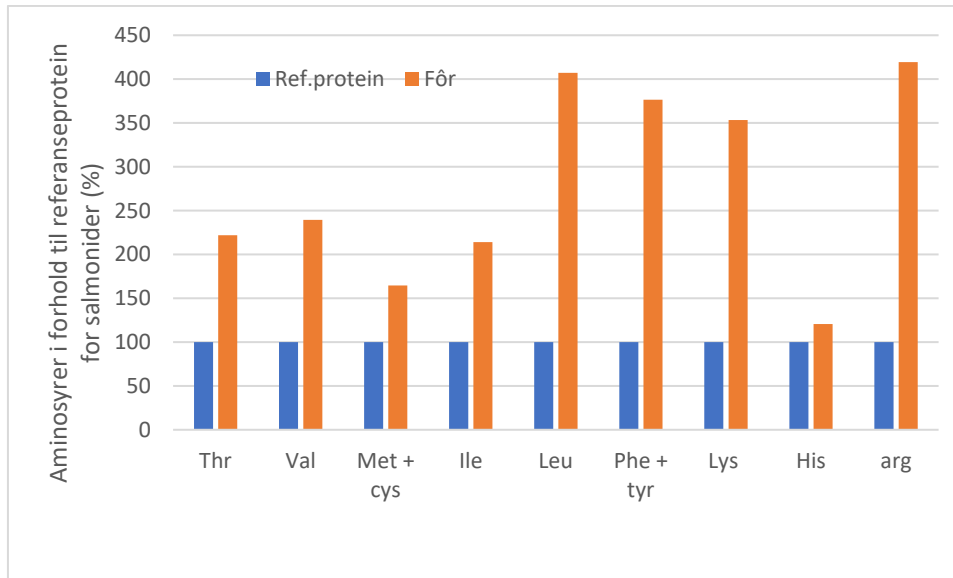
Diskusjon

Tabell 7: Fettsyresammensetning (% av total mengde fettsyrer) i oppdrettet ($n=20$) atlantisk laks (*Salmo salar*) og fôr til oppdrettslaks i årene 2010 og 2017, og endringen i prosent. Verdiene representerer gjennomsnitt. Verdiene for oppdrettet laks og fôr fra 2010 er hentet fra Jensen et al. (2012)

	Laksefilet			Fôr		
	Sammensetning (%)		Endring (%)	Sammensetning (%)		Endring (%)
	2010	2017		2010	2017	
Fettinnhold	12.3	19.5	58.5	27.4	26.3	-4.0
<u>Fettsyre</u>						
14:0	3.9	1.9	-51.4	4.5	2.9	-34.6
16:0	12.6	10.1	-19.7	13.5	12.9	-4.1
18:0	2.9	3.0	4.5	3.1	5.3	69.6
16:1, n-7	4.6	2.2	-52.4	2.9	2.2	-22.8
18:1, n-9	28.7	32.4	12.8	34.3	34.3	0.0
18:1, n7	3.8	2.5	-33.6	2.5	2.4	-5.6
20:1, n-9	4.7	0.8	-83.4	6.8	0.7	-89.9
22:1, n-9	5.5	1.7	-69.0	3.9	0.7	-81.2
18:2, n-6	9.1	14.4	58.0	10.1	12.4	22.6
18:3, n-3	3.1	10.3	233.6	4.3	7.1	65.8
18:4, n-3	1.2	5.4	354.1	3.4	3.6	5.1
20:5, n-3	5.5	2.7	-51.7	2.5	3.0	18.1
22:5, n-3	2.8	1.3	-52.4	3.7	n.d	
22:6, n-3	8.4	4.9	-41.3	3.3	2.2	-32.7
SFA	19.7	15.0	-23.7	19.4	22.3	14.8
MUFA	47.9	40.8	-14.8	54.2	42.5	-21.6
PUFA	30.4	41.9	37.8	21.8	31.4	44.2
PUFA n-3	31.2	24.7	-20.8	11.7	15.9	35.7
n-6/n3	0.44	0.70	59.0	0.9	1.0	8.9

Protein og aminosyrer

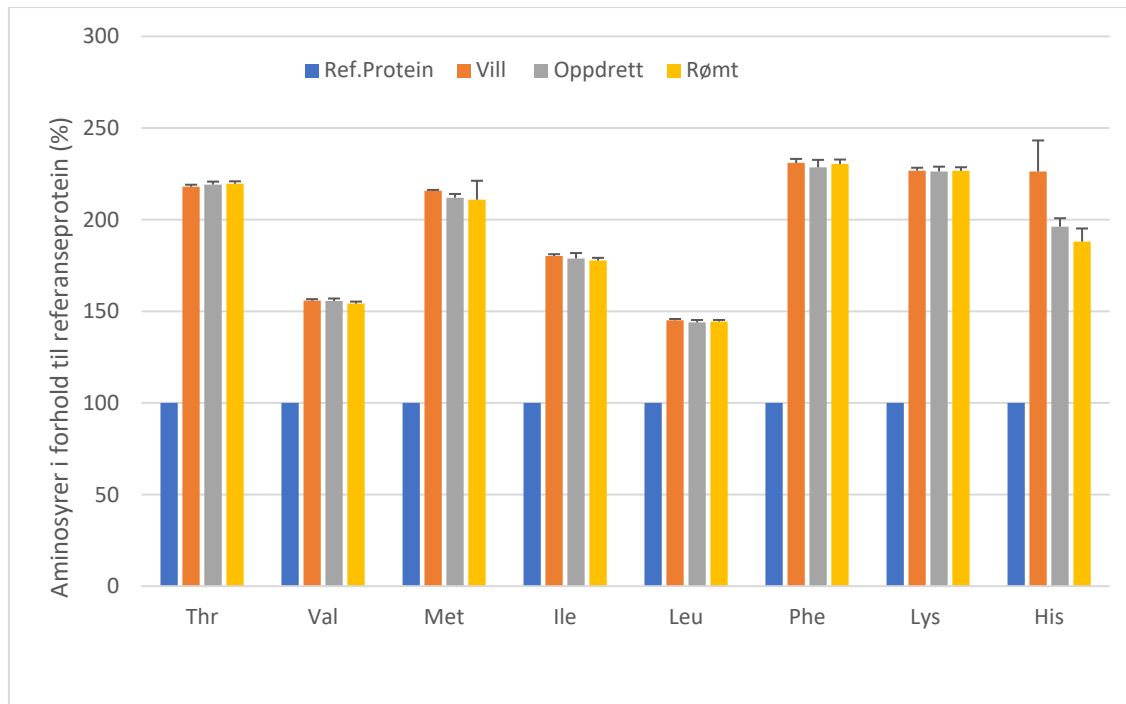
Som tidligere nevnt er en av faktorene for å bestemme kvaliteten på ett protein bestemt ut i fra dens evne til å dekke de essensielle aminosyrene. Ett referanseprotein er blitt utarbeidet for å bli brukt til sammenligningsformål. Referanseproteinene inneholder minimumskravet til essensielle aminosyrer i kostholdet gitt at proteinbehovet er dekt, dette proteinbehovet er satt til 0.66g protein/kg per dag for voksne friske mennesker (FAO/WHO/UNU, 2007). Det er også utarbeidet referanseprotein for salmonider (Guillaume, Publishing, Kaushik, Watson, Bergot and Metailler, 2001). Som nevnt innledningsvis er aminosyresammensetningen i planteprotein forskjellig fra den i fiskemel. Siden tilgangen på fiskemel er begrenset, er også deler av proteininnholdet i fiskefôr blitt erstattet av planteprotein (Torstensen et al., 2008). Deler av det komplette marine proteinet er dermed byttet ut med en blanding av planteprotein. Fôrprodusenten oppgir at i tillegg til fiskemel er det tilsatt hvetegluten, soyaproteinkonsentrat, belgfruktproteinkonsentrat, maisgluten og mikroalgeemel. Resultatene viser at det er en høyere andel av fritt lysin, metionin og treonin i det formulerte fôret i forhold til de andre frie aminosyrene. Dette tyder på at disse aminosyrene er blitt tilsatt fôret for å dekke fiskens behov for disse essensielle aminosyrene. I tillegg til de 9 aminosyrene som er essensielle for mennesker er også arginin essensiell for fisk. Figur 4 viser sammensetningen av de essensielle aminosyrene i fôret som er gitt til oppdrettslaksen i dette studiet, verdiene er gitt i prosent av referanseproteinene som er utarbeidet for salmonider. Dette viser at alle de essensielle aminosyrene for laks er dekt, men den mest begrensede aminosyren er histidin med 120% av referanseproteinene.



Figur 4: Illustrasjon av sammensetningen av de essensielle aminosyrene (mg EAA pr gram protein) i proteiner fra fôr som er gitt til oppdrettet atlantisk laks (*Salmo salar*) i 2017. Verdiene er gitt i prosent av referanseprotein for salmonider. Verdiene for referanseprotein er hentet fra Guillaume et al. (2001).

Det er publisert få studier der det er vist effekter av å bytte ut fiskeprotein med planteprotein i produksjonen av atlantisk laks. Ett studium som er gjort av Torstensen et al. (2008) viste at laksen vokste dårligere ved å bytte ut 80% av fiskemelet med vegetabilsk protein i forhold til kontrollgruppen som fikk en fullverdig marin diett med fiskeolje og fiskemel. Det ble derimot ikke funnet signifikante forskjeller i vekst mellom kontrollgruppen og gruppen der 40% av proteinet var byttet ut med planteprotein.

Aminosyresammensetningen er optimal for behovet av essensielle aminosyrer i humant kosthold, dette var ikke et uventet resultat da animalsk protein blir ansett til å være av god ernæringsmessig kvalitet. Både vill, oppdrettet og rømt laks dekker alle de essensielle aminosyrene med god margin (figur 3).



Figur 3: Illustrasjon av sammensetningen av de essensielle aminosyrene (mg EAA pr gram protein) i proteiner fra vill (n = 4), oppdrettet (n = 20) og rømt (n = 16) Atlantisk laks (*Salmo salar*). Verdiene er gitt i prosent av referanseprotein som er bestemt av FAO/WHO/UNU (2007). Verdiene er presentert som gjennomsnitt + standardavvik.

Matvaretabellen gir en samlet oversikt over innhold av energi og næringsstoffer for de vanligste matvarene vi spiser i Norge. I følge matvaretabellen er proteininnholdet i oppdrettet og vill laks henholdsvis 20 og 19,7 prosent (Matvaretabellen, 2017). Dette er noe høyere enn hva som er funnet i dette studiet. Dette kan skyldes forskjeller i analysemetode. En mye brukt metode for å bestemme proteininnholdet i næringsmidler er Kjeldahl's metode som er en metode for å bestemme innholdet av nitrogen i organiske forbindelser. Verdien for totalt nitrogen blir konvertert til proteinkonsentrasjon ved å bruke en konverteringsfaktor som oftest blir satt til 6.25. Denne faktoren er basert på at nitrogen innholdet i protein er 16%. Nitrogeninnholdet i proteiner er imidlertid avhengig av aminosyresammensetningen, da de ulike aminosyrene inneholder ulike mengder nitrogen. Samtidig er ikke alle nitrogenforbindelser i næringsmidler linket til protein og

aminosyrer (Sosulski and Imafidon, 1990). Ved bruk av denne metoden og konverteringsfaktoren blir ofte proteininnholdet overestimert. Det har derfor blitt foreslått mer artsspesifikke konverteringsfaktorer, slik at konverteringen fra nitrogen til protein blir mer presist (Mariotti, Tomé and Mirand, 2008), men selv om disse konverteringsfaktorene blir brukt, kan proteininnholdet allikevel overestimeres i forhold til bruk av aminosyreanalyse.

Aminosyreanalyse er den eneste metoden der andre forstyrrende stoffer ikke påvirker resultatet (Mæhre, Dalheim, Edvinsen, Elvevoll and Jensen, 2018). Samtidig kan aminosyreanalyse underestimere proteininnholdet, da noen aminosyrer blir ødelagt under hydrolyse, f.eks. blir tryptofan fullstendig ødelagt. Mæhre et al. (2018) fant et proteininnhold i laks på 12% ved bruk av aminosyreanalyse, 20,8% ved bruk av Kjeldahl med konverteringsfaktor 6,25 og 18,7% ved artsspesifikk konverteringsfaktor på 5,6.

Aminosyresammensetningen i vev vil ikke direkte påvirkes av dietten i samme grad som fettsyresammensetningen. En mangel på en essensiell aminosyre i dietten vil ikke føre til en lavere relativ mengde av denne aminosyren i vevet, men heller føre til redusert proteinsyntese og dermed redusert vekst. Dette fordi proteiner brytes fullstendig ned før opptak i tarmen og proteiner bygges opp igjen etter behov. Dersom man får for lite av essensielle aminosyrer gjennom kosten vil kroppen bryte ned muskelprotein for å bruke dette til mer akutt nødvendig proteinsyntese, som for eksempel til enzymer og hormoner. Dette vil på sikt medføre lavere vekst.

Laks og ernæring

Når det er snakk om fisk som næringsmiddel, og for å evaluere næringsverdien i forhold til omega-3 fettsyrer er det viktig å ta hensyn til fettinnholdet i fileten. Selv om fettene i villfisken har en mye høyere prosentvis mengde EPA og DHA enn dens kultiverte artsfrende, så er den totale mengden EPA og DHA man får i seg i et fiskemåltid uten signifikante forskjeller og dette er en direkte konsekvens av fettinnholdet i fileten. Ved å spise 200g oppdrettslaks eller vill laks vil man nå få i seg 2,6g EPA og DHA. Tidligere studier har funnet at mengden EPA og DHA faktisk er høyere i oppdrettsfisk enn i villfanget fisk (Bell et al., 1998; Blanchet et al., 2005; Jensen et al., 2012). I tillegg vil 200g oppdrettslaks inneholde 5,5 g omega 6 fettsyrer, men den samme porsjonsstørrelsen med villaks vil gi 0.2g omega 6 fettsyrer.

Om man sammenligner den totale mengden fettsyrer (g/100g filet) i oppdrettslaksen som er slaktet i 2017 med oppdrettslaksen som er slaktet i 2010, ser man at både EPA og DHA har økt noe, med henholdsvis 14% og 26%. Men også mengden LA og ALA har økt, med henholdsvis 271% og 963%. Dette betyr at man vil få i seg noe mer langkjedete omega-3 fettsyrer ved ett fiskemåltid i dag, men med på kjøpet får man også i seg mer omega-6 fettsyrer ved å spise oppdrettslaks i dag, sammenlignet med oppdrettslaksen i 2010. De eneste fettsyrene man får i seg mindre av ved konsum av oppdrettsfisk i dag sammenlignet med 2010 er omega-9 fettsyrene 20:1 n-9 og 22:1 n-9. Dette gjenspeiles fôret fiskene har blitt tilbudt, der andelen av disse omega-9 fettsyrene er 80-90% lavere.

Diskusjon

Tabell 8: Fettsyremengde (g/100g produkt) i oppdrettet ($n=20$) atlantisk laks (*Salmo salar*) og fôr til oppdrettslaks i årene 2010 og 2017, og endringen i prosent. Verdiene representerer gjennomsnitt. Verdiene for oppdrettet laks og fôr fra 2010 er hentet fra Jensen et al. (2012)

Fettsyre	Mengde g/100g		Endring (%)	Mengde g/100g		Endring (%)
	2010	2017		2010	2017	
	<u>Laksefilet</u>			<u>Fôr</u>		
14:0	0.29	0.33	15.2	0.76	0.56	-26.3
16:0	0.94	1.78	89.4	2.25	2.44	8.4
18:0	0.21	0.53	153.5	0.51	0.99	94.1
16:1, n-7	0.34	0.39	13.5	0.48	0.42	-12.5
18:1, n-9	2.14	5.70	166.3	5.72	6.47	13.1
18:1, n7	0.28	0.44	58.7	0.42	0.45	7.1
20:1, n-9	0.35	0.14	-60.7	1.13	0.13	-88.5
22:1, n-9	0.41	0.30	-26.8	0.67	0.14	-79.1
18:2, n-6	0.68	2.53	271.5	1.69	2.34	38.5
18:3, n-3	0.23	1.81	688.3	0.71	1.35	90.1
18:4, n-3	0.09	0.96	963.0	0.56	0.67	19.6
20:5, n-3	0.41	0.47	14.0	0.42	0.56	33.3
22:5, n-3	0.21	0.23	11.2	0.62	n.d	
22:6, n-3	0.68	0.86	26.7	0.57	0.42	-26.3
SFA	1.44	2.65	83.8	3.25	4.2	29.2
MUFA	3.52	7.18	104.1	9.05	8.02	-11.4
PUFA	2.24	7.35	228.3	3.64	5.93	62.9
PUFA n-3	1.56	4.33	177.7	1.95	3	53.8

Inklusjonen av terrestriske råvarer i fiskefôret har ført til et høyere omega-6/omega-3 forhold i fettene i oppdrettslaksen. Dette forholdstallet var høyere i oppdrettslaksen enn i villaksen med henholdsvis 0,7 og 0,04. For konsumenten av matvarer er det ønskelig med en så lav n-6/n-3 ratio som mulig, og i ett sunt kosthold bør dette forholdstallet være rundt 5 (Russo, 2009). Et typisk vestlig kosthold er estimert til å ha et omega-6 og omega-3 forhold på 15:1-16,7:1 (Simopoulos, 2008). Basert på dette vil både vill og oppdrettet atlantisk laks med en n-6/n-3 ratio >1 være gode kilder til et redusert n-6/n-3 forhold.

Om man tar utgangspunkt i SACN's anbefaling på 0,45g daglig inntak av EPA og DHA, vil dette behovet dekkes ved å spise en liten påleggsporsjon på 35g oppdrettslaks. Det vil med andre ord si at ett måltid med 200g filet av oppdrettslaks, vil dekke behovet for EPA og DHA i nesten 6 dager. Dette harmonerer også godt med helsedirektoratet sin anbefaling om 2-3 fiskemiddager i uken, der ett består av fet fisk.

Konklusjon

Vill og oppdrettet atlantisk laks har signifikant forskjellig prosentvis fettsyresammensetning. Inkorporering av terrestriske planteingredienser i fôret til oppdrettlaksen gjenspeiler fettsyresammensetningen i fileten. Konsentrasjonen av de langkjedede omega-3 fettsyrer er høyere i villaksen enn i oppdrettlaksen, og konsentrasjonen av omega-6 fettsyrer er høyere i oppdrettlaksen enn i villaksen, noe som øker n-6/n-3 forholdet i filet av oppdrettet atlantisk laks. På grunn av at fettinnholdet er omtrentlig det dobbelte i oppdrettet laks sammenlignet med villaks så vil likevel innholdet av EPA og DHA være likt i ett måltid.

Fettsyresammensetningen i oppdrettlaks fra 2017 er endret i forhold til fettsyresammensetningen i 2010, det er også tilfellet for fôret for disse to årene. Konsentrasjonen av EPA og DHA er lavere, og konsentrasjonen av LA er høyere. På grunn av et høyere fettinnhold i fileten i 2017 i forhold til 2010 er mengden av EPA og DHA likevel økt i fileten. En konsekvens er at n-6 og n-3 forholdet har økt. Forholdet mellom n-6 og n-3 er likevel lavt i oppdrettlaks og godt under den anbefalte n-6/-n-3 ratioen.

Proteininnholdet er litt høyere i villaks enn i oppdrettlaksen, men den relative mengden av essensielle aminosyrer i proteinet er ikke forskjellig. Inklusjon av planteprotein i fôret ser ikke ut til å påvirke aminosyresammensetningen i fisken i stor grad.

Referanser

- ALM, B., ÅBERG, N., ERDES, L., MÖLLBORG, P., PETTERSSON, R., NORVENIUS, S. G., GOKSÖR, E. & WENNERGREN, G. 2009. Early introduction of fish decreases the risk of eczema in infants. *Archives of disease in childhood*, 94, 11-15.
- ARTERBURN, L. M., HALL, E. B. & OKEN, H. 2006. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans-. *The American journal of clinical nutrition*, 83, 1467S-1476S.
- AURSAND, M., BLEIVIK, B., RAINUZZO, J. R., LEIF, J. & MOHR, V. 1994. Lipid distribution and composition of commercially farmed atlantic salmon (salmosalar). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 64, 239-248.
- BANG, H. & DYERBERG, J. 1972. Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic west coast Eskimos. *Journal of Internal Medicine*, 192, 85-94.
- BANG, H., DYERBERG, J. & SINCLAIR, H. M. 1980. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *The American journal of clinical nutrition*, 33, 2657-2661.
- 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., 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., MCEVOY, J., WEBSTER, J. L., MCGHEE, F., MILLAR, R. M. & SARGENT, J. R. 1998. Flesh lipid and carotenoid composition of Scottish farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 119-127.
- BELL, J. G., MCGHEE, F., CAMPBELL, P. J. & SARGENT, J. R. 2003. Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil "wash out". *Aquaculture*, 218, 515-528.
- BETANCOR, M., SPRAGUE, M., USHER, S., SAYANOVA, O., CAMPBELL, P., NAPIER, J. A. & TOCHER, D. R. 2015. A nutritionally-enhanced oil from transgenic *Camelina sativa* effectively replaces fish oil as a source of eicosapentaenoic acid for fish. *Scientific reports*, 5, 8104.
- BLANCHET, C., LUCAS, M., JULIEN, P., MORIN, R., GINGRAS, S. & DEWAILLY, É. 2005. Fatty acid composition of wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids*, 40, 529-531.
- CALDER, P. C. 1996. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Proceedings of the Nutrition Society*, 55, 737-774.
- CHEN, I., SHEN, C. & SHEPPARD, A. 1981. Comparison of methylene chloride and chloroform for the extraction of fats from food products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58, 599-601.
- CODABACCUS, M. B., BRIDLE, A. R., NICHOLS, P. D. & CARTER, C. G. 2011. Effect of feeding Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) a diet enriched with stearidonic acid from parr to smolt on growth and n-3 long-chain PUFA biosynthesis. *British journal of nutrition*, 105, 1772-1782.
- DAMODARAN, S., PARKIN, K. L. & FENNEMA, O. R. 2007. *Fennema's Food Chemistry, Fourth Edition*, Taylor & Francis.
- DYERBERG, J., BANG, H., STOFFERSEN, E., MONCADA, S. & VANE, J. 1978. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? *The Lancet*, 312, 117-119.
- FAO/WHO/UNU. 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint WHO/FAO/UNU expert consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization. pp. 265

- FISKERIDIREKTORATET. 2018. *Rømmingsstatistikk* [Online]. Available: <https://www.fiskeridir.no/Akvakultur/Statistikk-akvakultur/Roemningsstatistikk> [Accessed mars 2018].
- FOLCH, J., LEES, M. & STANLEY, G. H. S. 1957. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- FORTIN, P. R., LEW, R. A., LIANG, M. H., WRIGHT, E. A., BECKETT, L. A., CHALMERS, T. C. & SPERLING, R. I. 1995. Validation of a meta-analysis: the effects of fish oil in rheumatoid arthritis. *Journal of clinical epidemiology*, 48, 1379-1390.
- GREFSRUD, E. S., GLOVER, K., GRØSVIK, B. E., HUSA, V., KARLSEN, Ø., KRISTIANSEN, T., KVAMME, B. O., MORTENSEN, S., SAMUELSEN, O. B., STIEN, L. H. & SVÅSAND, T. 2018. Risikorapport norsk fiskeoppdrett 2018. Bergen, Norge: Havforskningsinstituttet. pp. 184
- GUILLAUME, J., PUBLISHING, P., KAUSHIK, S., WATSON, J., BERGOT, P. & METAILLER, R. 2001. *Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans*, Springer.
- HAARD, N. F. 1992. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food research international*, 25, 289-307.
- HAMILTON, M. C., HITES, R. A., SCHWAGER, S. J., FORAN, J. A., KNUTH, B. A. & CARPENTER, D. O. 2005. Lipid composition and contaminants in farmed and wild salmon. *Environmental science & technology*, 39, 8622-8629.
- HELSEDIREKTORATET. 2018. *Kosthold og ernæring, kostråd og anbefalinger*. [Online]. Available: <https://helsedirektoratet.no/folkehelse/kosthold-og-ertering> [Accessed april 2018].
- HISLOP, J. & WEBB, J. 1992. Escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., feeding in Scottish coastal waters. *Aquaculture Research*, 23, 721-723.
- HORWITZ, W. 2004. *Official methods of analysis of AOAC International*, USA.
- HU, F. B., CHO, E., REXRODE, K. M., ALBERT, C. M. & MANSON, J. E. 2003. Fish and long-chain ω -3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease and total mortality in diabetic women. *Circulation*, 107, 1852-1857.
- HU, F. B., STAMPFER, M. J., MANSON, J. E., RIMM, E., COLDITZ, G. A., ROSNER, B. A., HENNEKENS, C. H. & WILLETT, W. C. 1997. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *New England Journal of Medicine*, 337, 1491-1499.
- JACOBSEN, J. A. & HANSEN, L. P. 2001. Feeding habits of wild and escaped farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in the Northeast Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*, 58, 916-933.
- JENSEN, C. L. 2006. Effects of n-3 fatty acids during pregnancy and lactation-. *The American journal of clinical nutrition*, 83, 1452S-1457S.
- JENSEN, I., MÆHRE, H., TØMMERÅS, S., EILERTSEN, K., OLSEN, R. & 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.
- JOHNSEN, C. A., HAGEN, Ø., ADLER, M., JÖNSSON, E., KLING, P., BICKERDIKE, R., SOLBERG, C., BJÖRNSSON, B. T. & BENDIKSEN, E. Å. 2011. Effects of feed, feeding regime and growth rate on flesh quality, connective tissue and plasma hormones in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 318, 343-354.
- KOLETZKO, B., CETIN, I., BRENNA, J. T. & GROUP, P. L. I. W. 2007. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *British Journal of Nutrition*, 98, 873-877.
- KREMMYDA, L.-S., VLACHAVA, M., NOAKES, P. S., DIAPER, N. D., MILES, E. A. & CALDER, P. C. 2011. Atopy risk in infants and children in relation to early exposure to fish, oily fish, or long-chain omega-3 fatty acids: a systematic review. *Clinical reviews in allergy & immunology*, 41, 36-66.
- LUNDEBYE, A.-K., LOCK, E.-J., RASINGER, J. D., NØSTBAKKEN, O. J., HANNISDAL, R., KARLSBAKK, E., WENNEVIK, V., MADHUN, A. S., MADSEN, L. & GRAFF, I. E. 2017. Lower levels of persistent

- organic pollutants, metals and the marine omega 3-fatty acid DHA in farmed compared to wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Environmental research*, 155, 49-59.
- MÆHRE, H. K., DALHEIM, L., EDVINSEN, G. K., ELVEVOLL, E. O. & JENSEN, I.-J. 2018. Protein Determination—Method Matters. *Foods*, 7, 5.
- MAEHRE, H. K., EDVINSEN, G. K., EILERTSEN, K.-E. & ELVEVOLL, E. O. 2016. Heat treatment increases the protein bioaccessibility in the red seaweed dulse (*Palmaria palmata*), but not in the brown seaweed winged kelp (*Alaria esculenta*). *Journal of applied phycology*, 28, 581-590.
- MAEHRE, H. K., HAMRE, K. & ELVEVOLL, E. O. 2013. Nutrient evaluation of rotifers and zooplankton: feed for marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*, 19, 301-311.
- MARIOTTI, F., TOMÉ, D. & MIRAND, P. P. 2008. Converting nitrogen into protein—beyond 6.25 and Jones' factors. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48, 177-184.
- MATVARETABELLEN. 2017. *Matvaretabellen 2017. Mattilsynet, Helsedirektoratet og Universitetet i Oslo* [Online]. Available: <http://www.matvaretabellen.no/> [Accessed mai 2018].
- MCGILL, A. S. & MOFFAT, C. F. 1992. A study of the composition of fish liver and body oil triglycerides. *Lipids*, 27, 360-370.
- MIERKE-KLEMEYER, S., LARSEN, R., OEHLENSCHLAGER, J., MAEHRE, H., ELVEVOLL, E. O., BANDARRA, N. M., PARREIRA, R., ANDRADE, A. M., NUNES, M. L., SCHRAM, E. & LUTEN, J. 2008. Retention of health-related beneficial components during household preparation of selenium-enriched African catfish (*Clarias gariepinus*) filets. *European Food Research and Technology*, 227, 827-833.
- MOORE, S. & STEIN, W. H. 1963. [117] Chromatographic determination of amino acids by the use of automatic recording equipment. *Methods in enzymology*, 6, 819-831.
- NAKAMURA, K., NASHIMOTO, M., OKUDA, Y., OTA, T. & YAMAMOTO, M. 2002. Fish as a major source of vitamin D in the Japanese diet. *Nutrition*, 18, 415-416.
- NELSON, D. L., LEHNINGER, A. L. & COX, M. M. 2008. *Lehninger Principles of Biochemistry*, W. H. Freeman.
- NORGES SJØMATRÅD. 2017. *Sjømatnasjonen Norge* [Online]. Available: <https://sjomatnasjonen.seafood.no/> [Accessed 2018].
- NORGES SJØMATRÅD / SJØMAT NORGE. 2016. *Hvorfor rømmer laksen?* [Online]. Available: <https://laksefakta.no/laks-og-miljo/romming/> [Accessed april 2018].
- OLSEN, R. E. & SKILBREI, O. 2010. Feeding preference of recaptured Atlantic salmon *Salmo salar* following simulated escape from fish pens during autumn. *Aquaculture Environment Interactions*, 1, 167-174.
- OOMEN, C. M., FESKENS, E. J., RÄSÄNEN, L., FIDANZA, F., NISSINEN, A. M., MENOTTI, A., KOK, F. J. & KROMHOUT, D. 2000. Fish consumption and coronary heart disease mortality in Finland, Italy, and The Netherlands. *American Journal of Epidemiology*, 151, 999-1006.
- 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.
- RAMALHOSA, M. J., PAÍGA, P., MORAIS, S., ALVES, M. R., DELERUE-MATOS, C. & OLIVEIRA, M. B. P. P. 2012. Lipid content of frozen fish: Comparison of different extraction methods and variability during freezing storage. *Food Chemistry*, 131, 328-336.
- ROSENLUND, G., OBACH, A., SANDBERG, M., STANDAL, H. & TVEIT, K. 2001. Effect of alternative lipid sources on long-term growth performance and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Research*, 32, 323-328.
- RUSSO, G. L. 2009. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochemical pharmacology*, 77, 937-946.
- RUSTAN, A. C. & DREVON, C. A. 2005. Fatty acids: structures and properties. *eLS*.

- RUXTON, C., REED, S. C., SIMPSON, M. & MILLINGTON, K. 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 17, 449-459.
- SACN. 2004. Advice on fish consumption: benefits & risks. London, United Kingdom: UK Scientific Advisory Committee on Nutrition pp. 222
- SIMOPOULOS, A. P. 2008. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental biology and medicine*, 233, 674-688.
- SOSULSKI, F. W. & IMAFIDON, G. I. 1990. Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1351-1356.
- SPACKMAN, D. H., STEIN, W. H. & MOORE, S. 1958. Automatic recording apparatus for use in chromatography of amino acids. *Analytical chemistry*, 30, 1190-1206.
- STOFFEL, W., CHU, F. & AHRENS, E. H. 1959. Analysis of Long-Chain Fatty Acids by Gas-Liquid Chromatography - Micromethod for Preparation of Methyl Esters. *Analytical Chemistry*, 31, 307-308.
- STUBHAUG, I., LIE, Ø. & TORSTENSEN, B. 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.
- TIDWELL, J. H. & ALLAN, G. L. 2001. Fish as food: aquaculture's contribution: Ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. *EMBO reports*, 2, 958-963.
- TORSTENSEN, B., ESPE, M., SANDEN, M., STUBHAUG, I., WAAGBØ, R., HEMRE, G.-I., FONTANILLAS, R., NORDGARDEN, U., HEVRØY, E. & OLSVIK, P. 2008. Novel production of Atlantic salmon (*Salmo salar*) protein based on combined replacement of fish meal and fish oil with plant meal and vegetable oil blends. *Aquaculture*, 285, 193-200.
- 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.
- TORSTENSEN, B. E., LIE, Ø. & FRØYLAND, L. 2000. Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)—effects of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids*, 35, 653-664.
- VITENSKAPSKOMITEEN FOR MATTRYGGHET. 2014. Benefit-risk assessment of fish and fish products in the Norwegian diet - an update Oslo Norway: Vitenskapkomiteen for mattrygghet (VKM). pp. 293
- WEICHSELBAUM, E., COE, S., BUTTRISS, J. & STANNER, S. 2013. Fish in the diet: A review. *Nutrition Bulletin*, 38, 128-177.
- WHO. 2010. Fats and fatty acids in human nutrition. Geneva, Switzerland: World Health Organization. pp. 166
- WU, G. 2009. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids*, 37, 1-17.
- 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.