



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2022/2023 30 stp

Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

Identifisering og kvantifisering av fettsyreprofilene til melorm (*Tenebrio molitor*), svarte soldatfluelarver (*Hermetia illucens*) og larvefôr ved bruk av GC-MS

Identification and quantification of fatty acid profiles
in mealworm (*T. molitor*), black soldier fly larvae (*H.
illucens*) and larval feed using GC-MS

Mehdi Mohammadi

Kjemi og bioteknologi

Forord

Arbeidet med denne oppgaven har blitt utført ved fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap (KBM) ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU).

Først og fremst vil jeg takke min hovedveileder Dag Ekeberg, og tilleggsveileder Hanne Marie Devle. Jeg er evig takknemlig for den hjelpen og veiledningen jeg har fått fra dere, og takk for den tålmodigheten dere har vist. I tillegg vil jeg takke Carl Fredrik Næs-Andersen for gode og konstruktive tilbakemeldinger.

Jeg vil også takke Pronofa ASA, spesielt Eva Marit Hystad Byhrø og Ole Torrssen for å gi oss larvene og larvefôret. Alle i kjemiavdelingen fortjener stor takk for å tilrettelegge et gøy og lærerikt miljø.

Tusen takk også til alle mine medstudenter, både tiden med masteroppgaven, i laboratoriet og gjennom studieløpet. Spesiell takk til overingeniør Anne Gravdal for bestilling av kjemikalier og gode prat i kaffekroken.

Ås, mai 2023

Mehdi Mohammadi

Sammendrag

Trenden for befolkningsvekst på verdensbasis er eksponentiell og derfor kreves det nye metoder og teknologier for matproduksjon. Matavfall oppstår under ulike punkter i matvarekjeden og er viktig og næringsrik ressurs som må forvaltes bedre for å bukke med den økende etterspørselen etter mat som vil oppstå i årene som kommer. Melormer og svarte soldatfluelarver er to insekter, blant mange andre arter, som inneholder store mengder av verdifulle næringsstoffer som proteiner og fettsyrer. Svarte soldatfluelarvene er i tillegg effektive til å omdanne en rekke forskjellige organiskavfall til insekt biomasse, som deretter kan brukes som dyre- og fiskefôr. Identifisering og kvantifisering av fettsyreprofilene til disse insektene samt larvefôret vil gi verdifull informasjon om næringsverdien til disse, og var derfor hovedmålet i denne oppgaven.

Total fettsyreprofil for melormer, svarte soldatfluelarver (SSFL) og larvefôr ble identifisert og kvantifisert ved bruk av en gasskromatograf (GC) kombinert med et singel-kvadrupol massespektrometer (MS). Den analytiske metoden var allerede etablert og i rutinemessig bruk ved kjemiavdelingen på fakultetet. Ekstrahering av lipidene fra insektene og larvefôr ble gjennomført med passende løsemidler, som deretter ble derivatisert til fettsyremetylestere før analyse på GC-MS. Funnene ble diskutert med hovedvekt på mengder av de gunstige fettsyrene EPA, DHA, mono- og polyumettede fettsyrer samt n-6/n-3 forhold. I tillegg ble sammenhengen mellom larvefôr og fettsyreprofil i larvene diskutert.

Det totale lipidinnholdet var $28,3 \pm 0,6$ %, $38,4 \pm 0,9$ % og $7,3 \pm 0,8$ % for henholdsvis melorm, svarte soldatfluelarver og larvefôr. Fettsyrealkylkjeden strakk seg fra C₆-C₂₆ og det ble identifisert og kvantifisert 56 unike fettsyrer der 23, 45 og 40 fettsyrer for hhv. melorm, SSFL og larvefôr var blant dem. SSFL inneholdt størst mengde mettede fettsyrer med 72,4 % etterfulgt av melorm (23,9 %) og larvefôr (15,9 %). Innholdet av MUFA var på henholdsvis 18,0 %, 45,7 % og 38,0 %, mens innholdet av PUFA var 9,6 % for SSFL og omtrent like for larvefôr og melorm (38,3 % og 38,1 %). Både α -linolensyre og linolsyre var til stedet i alle analyserte prøvematriksene, men sistnevnte fantes i mye større mengder i alle tre. EPA og DHA ble ikke funnet i melorm, men ble funnet i mindre mengde hos SSFL og larvefôr. På grunn av store mengder SFA spesielt laurinsyre i SSFL og ikke gunstige SFA/PUFA samt n-6/n-3 forhold er ikke direkte konsum av disse insektene gunstig for menneskehelse.

Abstract

The trend of population growth worldwide is exponential, and therefore, new methods and technologies for food production are required. Food waste occurs at various points in the food chain and is an important and nutritious resource that must be better managed to meet the increasing demand for food that will arise in the years to come. Mealworms and black soldier fly larvae are two insects, among many other species, that contain large amounts of valuable nutrients such as proteins and fatty acids. Black soldier fly larvae are also efficient at converting a variety of organic waste into insect biomass, which can then be used as animal and fish feed. Identification and quantification of the fatty acid profiles of these insects and the larval feed will provide valuable information on their nutritional value and was therefore the main objective of this study.

The total fatty acid profile for mealworms, black soldier fly larvae (BSFL), and larval feed was identified and quantified using a gas chromatograph (GC) combined with a single quadrupole mass spectrometer (MS). The analytical method was already established and in routine use at the chemistry department of the faculty. Extraction of lipids from the insects and larval feed was carried out using appropriate solvents, which were then derivatized to fatty acid methyl esters before analysis by GC-MS. The findings were discussed with a focus on the amounts of beneficial fatty acids such as EPA, DHA, mono- and polyunsaturated fatty acids as well as the n-6/n-3 ratios. In addition, the relationship between larval feed and fatty acid profile in the larvae was discussed.

The total lipid content was 28.3 ± 0.6 %, 38.4 ± 0.9 %, and 7.3 ± 0.8 % for mealworms, black soldier fly larvae, and larval feed, respectively. The fatty acid chain ranged from C₆-C₂₆, and consisted of 56 unique fatty acids, with 23, 45, and 40 fatty acids for mealworms, BSFL, and larval feed, respectively. BSFL contained the highest amount of saturated fatty acids (72.4 %), followed by mealworms (23.9 %) and larval feed (15.9 %). The content of MUFA was 18.0 %, 45.7 %, and 38.0 %, respectively, while the content of PUFA was 9.6 % for BSFL and roughly the same for larval feed and mealworms (38.3 % and 38.1 %). Both α -linolenic acid and linoleic acid were present in all analyzed sample matrices, but the latter was present in much larger amounts in all three. EPA and DHA were not found in mealworms, while they were present in smaller amounts in BSFL and larval feed. Due to the large amounts of SFA, especially lauric acid, in BSFL and the unfavorable SFA/PUFA and n-6/n-3 ratios, direct consumption of these insects may not be favorable for human health.

Forkortelser og trivialnavn

Ac-CoA	Acetylkoenzym A
Mal-CoA	Malonylkoenzym A
D.W	Tørrvekt (“Dry weight”)
S.D	Standardavvik (“Standard deviation”)
SFA	Mettede fettsyrer (“Saturated fatty acid”)
MUFA	Enumettede fettsyrer
PUFA	Polyumettede fettsyrer
RRF	Relativ responsfaktor
TAG	Triacylglyserid
IS	Internstandard
OA	Oljesyre (“Oleic acid”)
LA	Linolsyre (“Linoleic acid”)
ALA	Alfa-linolensyre (“ α -linolenic acid”)
MA	Myristinsyre (“Myristic acid”)
PA	Palmitinsyre (“Palmitic acid”)
SA	Stearinsyre (“Stearic acid”)
ME	Metylester
FA	Fettsyre (“Fatty acid”)
SSFL	Svarte soldatfluelarver
RT	Retensjonstid
TLC	Tynnsjiktskromatografi

Innholdsfortegnelse

<i>Forord</i>	<i>I</i>
<i>Sammendrag</i>	<i>I</i>
<i>Abstract</i>	<i>I</i>
<i>Forkortelser og trivialnavn</i>	<i>I</i>
1 Introduksjon	1
1.1 Mål med oppgaven	2
2 Teori	2
2.1 Lipider	2
2.1.1 Fettsyrer.....	3
2.1.2 Nomenklatur.....	6
2.1.3 Helsefordeler med fettsyrer.....	7
2.2 Innsekter som næringskilde	8
2.2.1 Melorm.....	9
2.2.2 Svart soldatflue larver og larvefôr.....	10
2.3 Analyse	12
2.3.1 Ekstraksjon.....	12
2.3.2 Prøvepreparering av analytt, dannelsen av fettsyremetylestere	13
2.3.3 Kvantifisering og bruk av internstandard.....	14
2.4 Analyse av fettsyrene	14
2.4.1 Prinsippene bak gasskromatografi og massespektrometri	15
3 Materialer og metoder	16
3.1 Kjemikalier	16
3.2 Standarder	17
3.3 Prøvepreparering	17
3.4 Lipidekstraksjon og bestemmelse av total fettprosent	18
3.5 Lipidekstraksjon og bestemmelse av total fettsyreprofil	19
3.5.1 Melorm.....	19
3.5.2 Svarte soldatfluelarver	20
3.5.3 Larvefôr.....	21
3.6 Analyse av FAMES ved bruk av GC-MS	21
4 Resultater og diskusjon	22
4.1 Totalt lipidinnhold	24
4.2 Total fettsyreprofil	25
4.2.1 Melorm.....	25
4.2.2 Svarte soldatfluelarver	25
4.2.3 Larvefôr.....	26
4.3 De mest dominante fettsyrene hos melorm	30
4.4 De mest dominante fettsyrene i svarte soldatfluelarver	31
4.5 De mest dominante fettsyrene i larvefôr	33
5 Konklusjon og videre arbeid	33

6	<i>Referanser</i>	34
7	<i>Vedlegg</i>	A

1 Introduksjon

Det er estimert at innen 2050 skal verdensbefolkning øke til 9,7 milliarder mennesker (Lapeña et al., 2020). Forutsett dagens konsum av animalsk protein trenges det 1200 million tonn kjøtt- og meieriprodukter hvert år (Boland et al., 2013). For å møte behovet som oppstår i årene som kommer, trenges det nye teknologier og nye metoder for produksjon av fôr og matvarer som kan være gode kilder til proteiner. Disse nye teknologiene må ha bærekraft som hovedfokus. De siste årene har det vært en økning i plantebaserte fôringredienser i akvakulturnæringen, der hele 73 % av norsk laksefôret inneholder vegetabiliske ingredienser (Aas et al., 2022). Store mengder av det igjen er raps- og soyabasert, noe som er bekymringsverdig med tanke på at det kreves store landarealer, mye ferskvann og fare for mer avskoging i soya og rapsproduksjon. I tillegg er det knyttet stort miljøavtrykk og er omsider ikke bærekraftig. Svarte soldatfluelarver (SSFL) kan være et godt alternativ å inkorporere i dyrefôr og akvakulturproduksjonen. Dette fører til verdiskapning, der matavfall kan bli omdannet til handelsvarer av høyere økonomiskverdi, og sørger for bærekraftig utvikling og muligens drive matvareproduksjon mot sirkulærøkonomi.

Matavfall oppstår under ulike punkter i matvarekjeden og er en viktig ressurs for protein som kan utnyttes bedre og mer effektivt. Det er nylig estimert at rundt 40 % av all maten som produseres havner som avfall (Boland et al., 2013). I dag blir noe av energien fra det resirkulerte matavfallet gjenvunnet gjennom biogassproduksjon. Et bedre alternativ kan være insektsoppdrett. Både svarte soldatfluelarver og melormer kan være gode alternativer til soyabasert fôr (Lievens et al., 2021). Larvene til svarte soldatfluer klarer å omdanne et bredt utvalg av organisk avfall til høy kvalitet og proteinrik biomasse som kan brukes som dyrefôr (De Smet et al., 2018; Lievens et al., 2021). Avhengig av larvefôr vil protein- og fettinnholdet hos svarte soldatfluelarvene varierer stort og strekker seg alt fra 9 – 56 % proteininnhold og 8 – 41 % fettinnhold (Lievens et al., 2021). Melorm derimot inneholder omtrent 46 % protein og 33 % fett, begge basert på tørrvekten (Paul et al., 2017).

Paul et al., (2017) gjennomførte fettsyreanalyser på melormer ved bruk av GC-FID og fant store mengder av oljesyre (OA), linolsyre (LA) og palmitinsyre (PA), samt lave verdier av n-3 fettsyrer. Forfatteren spekulerer i at årsaken til lave verdier av n-3 fettsyrer i melormer er muligens lave verdier av disse fettsyrene i dietten til melormene som vokste på hvetemel, hvetekli og ølgjær. Dette er også tilfellet for de svarte soldatfluelarvene, der noen studier har

vist at fettsyreprofilene (spesielt umettede fettsyrer) i disse larvene varierer stort med larvefôret de vokser på. Men uavhengig av dietten har innholdet av mettede fettsyrer (SFA) vært høyt, der larinsyre (C12:0) og palmitinsyre (C16:0) utgjør stor andel av det totale lipidinnholdet (Ewald et al., 2020; Zulkifli et al., 2022). Avklaring og kvantifisering av fettsyreprofilene til SSFL og melormer vil gi verdifull informasjon om næringsverdien til disse. Analyse av larvefôret vil i tillegg gi informasjon om sammenhengen mellom lipidsammensetningen i fôr og i larvene. Det vil i tillegg gi informasjon om det er mulig å gjøre modifikasjoner på fôret for å optimalisere lipidprofilen hos SSFL. Innholdet av mengde essensielle fettsyrer samt EPA, DHA, n-3 og n-6 vil gi indikasjon på om larvene egner seg som dyrefôr, og eventuelt for menneskelig konsum.

1.1 Mål med oppgaven

Hovedmålet med oppgaven er å indentifisere og kvantifisere fettsyresammensetningen til melorm, svarte soldatfluelarver og larvefôret ved å analysere disse med en GC-MS.

Delmålene med oppgaven er:

- Bestemme total mengde fett i insektene og larvefôret ved ekstrahering av lipidene og veie disse slik at total prosent fett bestemmes.
- Bestemme total fettsyreprofilene til de to ovennevnte insektene og larvefôret ved å ekstrahere ut lipidene med passende løsemidler og derivatisere disse til fettsyremetylestere samt analyse med GC-MS.
- Se sammenhengen mellom fettsyrene som finnes i larvefôr og SSFL. Evaluere om insektene egner seg for menneskelig konsum og som fôrerstatning eller som supplement i dyrefôr. Dette med hovedfokus på mengde MUFA og PUFA, samt mengde av fettsyrene LA, ALA og DHA i tillegg til forholdet mellom n-6/n-3.

2 Teori

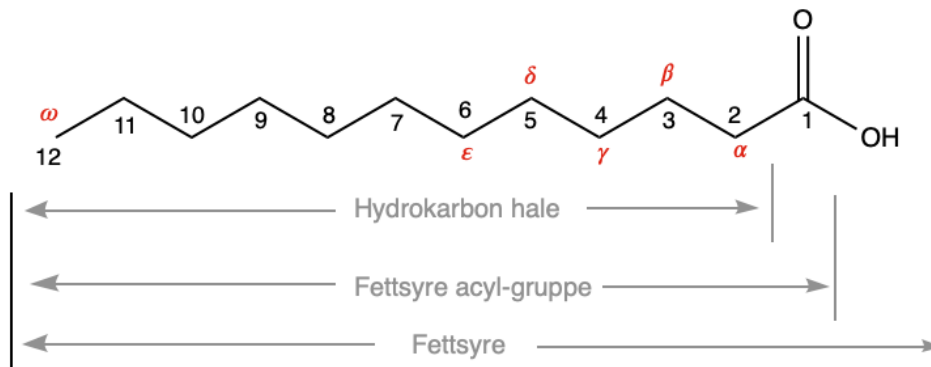
2.1 Lipider

Lipider er en klasse av naturprodukter som består av stort mangfold og variere både i struktur og biologisk funksjon (Christie, 2010). Det eksisterer ikke en klar definisjon for lipider (Akoh & Min, 2008). Mange av definisjonene går ut på de hydrofobe egenskapene til

lipidene, altså at de løser seg i upolare organiske stoffer som kloroform, dietyleter og heksan (Christie, 2010; Hans-Dieter Belitz, 2009). På grunn av denne egenskapen og det faktumet at lipidene ikke er løselig i vann utnyttes egenskapene til separasjon fra proteiner og karbohydrater (Hans-Dieter Belitz, 2009). Begrepet lipid inkluderer blant annet fettløselige vitaminer, voks, steroider, fettsyrer og fettsyrederivater. Lipidene kan være hydrofobe eller amfifile (har både hydrofobe og hydrofile egenskaper), der de amfifile lipidene (fosfo- og glykolipider) er med på dannelsen av vesikler, liposomer og cellemembraner (som miceller) (Hans-Dieter Belitz, 2009). I levende organismer brukes lipidene blant annet som energilagring, strukturelle komponenter og viktige signalmolekyler.

2.1.1 Fettsyrer

Fettsyrer (FA) er en viktig klasse innenfor lipider, og er en av de viktigste hovedkomponentene i levende celler. De har en polar karboksylsyregruppe bundet til en hydrofob hydrokarbonkjede. I naturen kan karbonkjeden variere mellom 4 – 30 karbonatomer (Dewick, 2009), men fettsyrer opptil 100 C-atomer eksisterer (Christie, 1998). De mest vanlige fettsyrene inneholder 10 – 20 karbonatomer. Dewick, (2009) påstår at mesteparten av fettsyrene forekommer i en rett karbonkjede som består av partall antall karbonatomer, noe som skyldes acetyl-CoA (Ac-CoA) og malonyl-CoA (Mal-CoA), som er de to viktigste byggeklossene av fettsyrene. Noen av de sjeldne fettsyrene med oddetalls antall karbonatomer forekommer i tilfeller der det skjer tap av et karbonatom, eller når propionsyre blir brukt som startenhet, noe som fører til forgrenede fettsyrer. I noen tilfeller blir også S-adenosyl metionin (SAM) brukt til å gi fra seg en metylgruppe, noe som fører til forgrening av fettsyrer. **Figur 1** illustrerer et eksempel på en mettet fettsyre (laurinsyre), og viser i tillegg to ulike metoder for nummerering av karbonatomene. Det er viktig å nevne at frie fettsyrer finnes i små mengder i levende celler, men mesteparten forekommer som estere av acylglyseroler. I glyserol kan sidekjedene være like eller ulike, samt at de har ulike grad av umettethet, noe som bestemmer om fett er flytende (olje) eller fast som for eksempel smør (Dewick, 2009).



Figur 1: Viser et eksempel på en rettkjedet fettsyre (C12:0), og en grafisk fremstilling av ulike begreper.

De to viktigste byggeklossene i biosyntesen av fettsyrer er Ac-CoA og Mal-CoA. I noen tilfeller kan også propionsyre bli benyttet, noe som fører til dannelsen av forgrenede fettsyrer.

Figur 2 illustrer skjematisk fremstilling av biosyntesen, der Ac-CoA og Mal-CoA blir benyttet. Et viktig enzym som katalyserer reaksjonen, er fettsyresyntase. Dette enzymet er forskjellig hos ulike organismer, men funksjonen er stort sett det samme. Ac-CoA og Mal-CoA er ikke involvert i kondensasjonssteget, og blir omgjort til enzytbundet tioester. Aktiveringen skjer når koenzymet (CoA) blir byttet ut med et såkalt acyl bærende protein («acyl carrier protein», ACP). I neste steg blir Ac-ACP og mal-ACP, gjennom claisen reaksjonen, omdannet til β -ketoacyl-ACP. Deretter følger en stereospesifikk reduksjon av karbonyl, og eliminasjon av vann, samt reduksjon av dobbeltbinding fører til dannelsen av fettsyre acyl-ACP (figur 2). Her kan syklusen gjenta seg med mal-CoA og lengden på karbonkjeden øker med to karbonatomer for hver syklus. Produktet til slutt kan enten være fettsyre acyl-CoA eller fri fettsyre (Dewick, 2009).

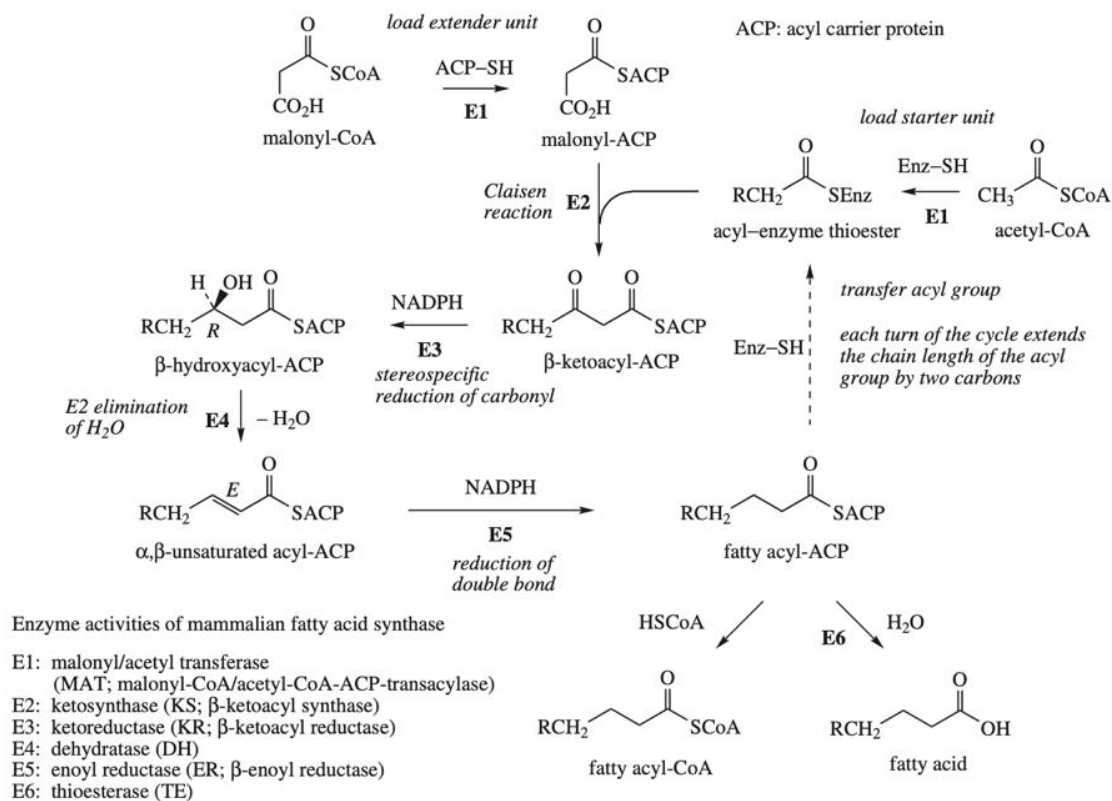
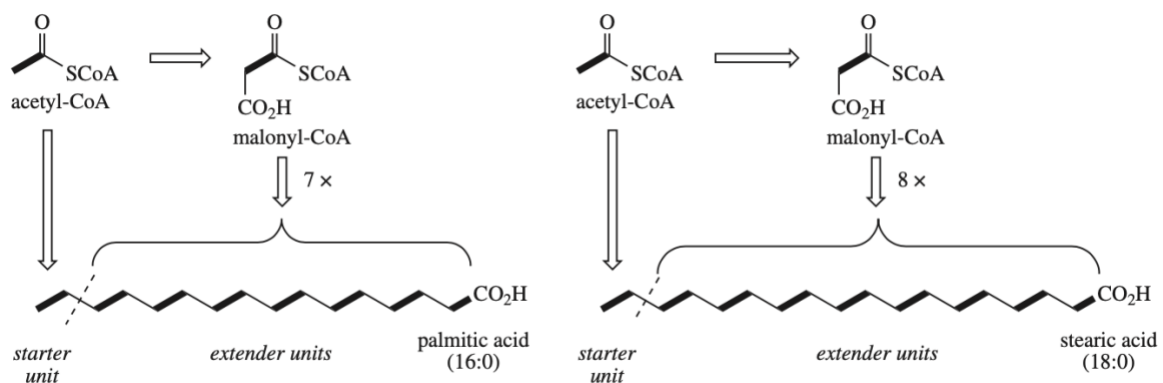


Figure 2: viser enkel skjematisk fremstilling av biosyntesen av fettsyrer, hentet fra (Dewick, 2009).

De to karbonatomene på metylenden av karboksylkjeden stammer fra acetat og resten fra malonat/malonyl-CoA. Dette er fordi mal-ACP/mal-CoA blir brukt til forlengelsen av fettsyren. **Figure 3** viser hvor mange av de to overnevnte byggeklossene blir benyttet i dannelsen av palmitinsyre (PA) og stearinsyre (SA) (Dewick, 2009). Fettsyrer kan deles i tre hovedkategorier basert på graden av umettethet. Animalsk fett inneholder i større grad mettede fettsyrer («saturated fatty acid», SFA) og er derfor ofte faste. Planter og fisk inneholder ofte flytende oljer, noe som betyr at det er flere umettede fettsyrer som mono- eller polyumettede fettsyrer («mono- polyunsaturated fatty acids», MUFA, PUFA).

Mennesker og dyr mangler enzymer som innfører dobbeltbindinger mellom karbonatomer utover karbonatom nummer 9 i fettsyrekjeden (de Lorgeril & Salen, 2004). Det betyr at umettethetsgraden øker mot karboksylenden av fettsyren, og at noen fettsyrer er essensielle og må fås gjennom kostholdet. Linolsyre (LA) og α -linolensyre (ALA) er de to viktigste fettsyrene som et sunt kosthold må inneholde. Dette fordi kroppen kan ikke syntetisere disse, samt at disse er forløperen til mange andre fettsyrer. Pattedyr har desaturase-enzymmer som innfører dobbeltbindinger mot karboksylenden av fettsyren, noe som betyr at et kosthold som

inneholder disse to fettsyrene vil dekke behovet for de essensielle fettsyrene. Det er viktig å nevne at i tillegg til disse to fettsyrene er arakidonsyre (AA), eikosapentaensyre (EPA), dokosaheksaensyre (DHA) også viktige fettsyrer som et sunt kosthold skal inneholde (Dewick, 2009; Hans-Dieter Belitz, 2009). Årsaken til det er at det er individuelt hvor mye kroppen klarer å lage disse fettsyrene fra LA og ALA (de Lorgeril & Salen, 2004). I naturen har fettsyrene ofte *cis*-konfigurasjon, men fettsyrer med *trans*-konfigurasjon forekommer også. I tillegg kan fettsyrer inneholde andre funksjonelle grupper som hydroksyl-, keto eller epoksid grupper (Dewick, 2009; Gutnikov, 1995; Quehenberger et al., 2011).



Figur 3: viser bruken av malonat til forlengelsen av fettsyrekjeden og acetat som starter enhet, hentet fra (Dewick, 2009).

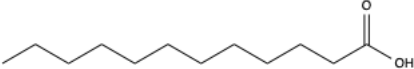
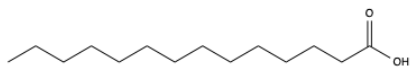
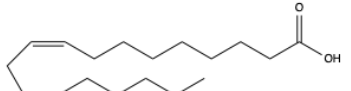
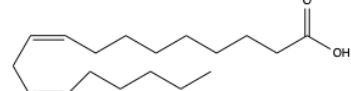
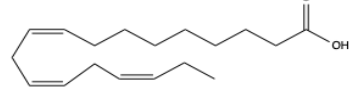
2.1.2 Nomenklatur

IUPAC nomenklatur for fettsyrer stammer fra IUPAC konvensjonen fra 1957, og inkluderer blant annet informasjon om lengden på alkylkjeden (antall karbonatomer), posisjon-, antall samt konfigurasjon av dobbeltbindinger relativ til karboksylterminus (Brondz, 2016).

Karbonatomet på den funksjonelle karboksylterminus er mest oksidert og angis som nummer 1. For eksempel, en mettet fettsyre med 18 karbonatomer (C18:0) kalles oktadekansyre. Det er flere måter å angi hvor dobbeltbindingene i en fettsyre sitter. En måte er å angi hvor dobbeltbindingen sitter i forhold til karbonatom nummer 1, altså karbonyl karbonatomet. En annen metode er å angi nummer på dobbeltbindingen i forhold til metylenden og da kaller man det omega (ω) eller n (**figur 1**). For eksempel, i en n-3(ω -3) fettsyre sitter dobbeltbindingen på karbonatom nummer 3 fra metylenden. I **tabell 1** vises en oversikt over noen av de mest vanlige fettsyrene som finnes i insekter, og inneholder informasjon om både systematiske navn og trivialnavn. Trivialnavn ble brukt før de kjemiske strukturene til noen

naturlig forekommende fettsyrer ble oppklart og gir derfor ingen informasjon om strukturen på fettsyren (David J. Hart et al., 2012).

Tabell 1. Oversikt over noen vanlige fettsyrer i insekter, der både systematisk navn, trivialnavn, forkortet form og struktur er presentert.

Forkortelse	Systematisk IUPAC nomenklatur	Trivialnavn	Struktur
C12:0	Dodekansyre	Laurinsyre	
C14:0	Tetradekansyre	Myristinsyre	
C18:1n-9c	<i>cis</i> -9-Oktadekansyre	Oljesyre	
C18:2n-6c	<i>all-cis</i> -9,12-Oktadekadiensyre	Linolsyre	
C18:3n-3c	<i>all-cis</i> -9,12,15-Oktadekatriensyre	α -Linolensyre	

2.1.3 Helsefordeler med fettsyrer

Den generelle oppfattelsen av fett blant befolkningen er at fett er usunt. Sannheten er at fett er helt essensielt i våre liv og har veldig mange funksjoner i kroppen vår. Derfor skal et sunt og variert kosthold inneholde balansert mengde fettsyrer, spesielt n-3 og n-6 PUFA. De to essensielle fettsyrene LA og ALA representerer henholdsvis n-6 og n-3, og et sunt kosthold må derfor inneholde disse (de Lorgeril & Salen, 2004; Simopoulos, 1991). Forlengelsen av ALA og LA med hhv. to eller fire karbonatomer gir C₂₀ og C₂₂ fettsyrene, som er forløperen til mange viktige molekyler (også kalt eikosanoider), blant annet prostaglandiner, tromboxaner, leukotriener, resolviner osv. Disse bidrar til å helbrede sår, inflammasjon og allergiske respons, og viser derfor betydningen av fettsyrer i menneskekroppen (Adam et al., 1988; Dewick, 2009). Generelt finnes LA mye i det meste av plantefrø, mens grønne bladgrønnsaker, valnøtter, linfrøolje og soyaolje er gode kilder for ALA (D. Li & Sinclair, 2002; Simopoulos, 1991). I pattedyr blir arakidonsyre (C₂₀:4n-6) biosyntetisert fra LA, mens EPA (C₂₀:5n-3) og DHA (C₂₂:6n-3) blir biosyntetisert fra ALA (Djuricic & Calder, 2021; Simopoulos, 1991). I tillegg finnes EPA og DHA i fisk og fiskeoljer, noe som betyr at inkludering av variert mengde fisk i kostholdet er gunstig for helsen. DHA har viktige

funksjoner og utgjør stor del av netthinnen i øye, samt at fettene i hjernen består av omtrent 50 % DHA (Kaur et al., 2014). Den har viktige funksjoner i sentralnervesystemet og er blant annet viktig for neurotransmisjon, nevroplasticitet og er helt avgjørende for signaloverføring (Djuricic & Calder, 2021).

I følge Horrocks et al., (1999) er både arakidonsyre og DHA nødvendig for funksjons- og hjerneutvikling i spedbarn. Underskudd av n-3 og n-6 fettsyrer under foster- og nyfødtsutvikling kan føre til varige negative konsekvenser (Horrocks & Yeo, 1999). Det har blitt påvist lavere verdier av EPA og DHA i blodstrømmen til barn med ADHD og autisme (Djuricic & Calder, 2021). Omega-3, inkludert EPA og DHA, er ikke bare viktig i utviklingsfasen i spedbarn, men også gjennom hele livsløpet og har mest sannsynlig viktige funksjoner i hjernen (Djuricic & Calder, 2021). Underskudd av n-3 PUFA, inkludert DHA, har blitt forbundet med mange lidelser, blant annet unipolar lidelse, cystisk fibrose, ADHD, fenyketonuri, hjerte- og karsykdommer og Alzheimers sykdom (Djuricic & Calder, 2021; Horrocks & Yeo, 1999).

Mettede fettsyrer (SFA) har generelt blitt assosiert med høyere konsentrasjoner av kolesterol i blodet, spesielt low-density lipoprotein (LDL) kolesterol, så kalt «bad kolesterol», og er i tillegg koblet til en rekke forskjellige sykdommer (Simopoulos, 1991). Imidlertid har noen studier vist at moderat konsum av medium kjedete fettsyrer- og triglyserider (fettsyrer med 6-12 karbonatomer) kan ha positiv effekt på pasienter med diabetes type II, Alzheimers syndrom og hjerte- og karsykdommer (Han et al., 2007; Zulkanain et al., 2020). I tillegg har det vist bedre kondisjon hos friske rekreasjons idrettsutøvere (NOSAKA et al., 2009). Selv om disse funnene er spennende, så må det forskes på langsiktig bruk av disse før en ensidig konklusjon skal trekkes.

2.2 Innsekter som næringskilde

Historisk sett har insekter blitt brukt som tradisjonell mat i over 100 land i Afrika, Sør-Amerika, Asia og Mexico (Baiano, 2020). Inkludering av spiselige insekter har vært spesielt vanlig blant noen etniske grupper i ovennevnte delen av verden (Anusha & Negi, 2022). Mer enn 2000 arter blir benyttet av mennesker for konsum, der Coleoptera (31 %), Lepidoptera (17 %), Hymenoptera (15 %) og Orthoptera (14 %) utgjør nesten 80 % av alt insekt konsumert av mennesker på verdensbasis (Anusha & Negi, 2022). I de siste årene har

insekter fått økt oppmerksomhet i den vestlige delen av verden som protein- og energierstatning til animalske råvarer. Årsaken til dette er at insekter regnes som næringsrike og i tillegg er økonomisk. Dessuten er insekter miljøvennlig og har generelt lavere karbonfotavtrykk enn for eksempel animalske råvarer (Anusha & Negi, 2022; Oonincx et al., 2010). Spiselige insekter inneholder generelt sett lavere SFA, mens innholdet av mikronæringsstoffer som vitaminer og mineraler er høy (Baiano, 2020).

Insekter blir konsumert på forskjellige måter. Tradisjonelt blir de spist hele, men en kan også male dem opp til mel og benytte det i matlaging. De har også mange andre forbruksområder som det i vesten vil være mer aksept for. For eksempel, kan insekter brukes som supplement i dyrefôr. Spesielt nyttig er kanskje bruken av insekter i fiskefôr for å erstatte eller redusere bruken av soyaproteiner for også på den måten å benytte seg av et mer bærekraftig fôr til dyrene.

Proteininnhold og lipidsammensetningen variere mye blant ulike insekter, men de fleste har et proteininnhold på 45 % - 55 % (Anusha & Negi, 2022). I **tabell 2** er det presentert protein- og fettinnhold, samt fettsyren som finnes mest av i melorm (*Tenebrio molitor*), SSFL (*Hermetia illucens*) og hussiriss (*Acheta domesticus*) (Ewald et al., 2020; Paul et al., 2017; Zhao et al., 2016).

Tabell 2. Tabellen viser mengde protein og fett oppgitt i prosent av tørrvekten i tre ulike insektslarver, samt fettsyren som dominerer i disse insektslarvene, hentet fra (Ewald et al., 2020; Paul et al., 2017; Zhao et al., 2016).

Larve	Protein (%)	Fett (%)	Hovedfettsyre
<i>T. molitor</i>	43 – 46	27 – 35	Oljesyre (OA)
<i>H. illucens</i>	28 – 40	11 – 58	Laurinsyre
<i>Ac. domesticus</i>	71	15	LA

2.2.1 Melorm

Melormer (*T. molitor*) er larvene til melbiller og tilhører insektordenen Coleoptera og går under familien skyggebiller, Tenebrionidae. Disse trives godt i fuktige korn- og melrester samt i lignende avfall som har stått lenge (Folkehelseinstituttet, 2020). Melormer er en av insekter som er godkjent av The European Food Safety Authority (EFSA) som ny mat (Turck et al., 2021). EFSA-panelet konkluderte med at det er ingen sikkerhetsmessige

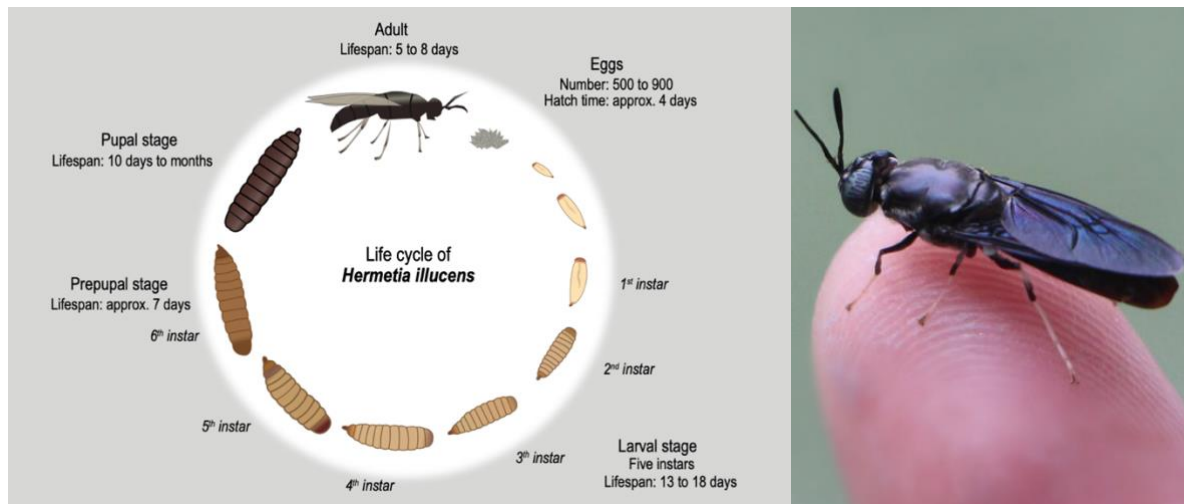
bekymringer knyttet til konsum av melorm. Toksisitetsstudier har ikke vist noen farlige stoffer i melorm. Men det advares at allergisk reaksjon knyttet til proteiner fra melorm kan forekomme i personer som er allergiske mot krepsdyr og støvmidd (Turck et al., 2021). I følge Zhao et al., (2016) inneholder fersk melorm omtrent 15 % fett og 20% protein, mens Jones et al., (1972) kvantifiserte kalsium, fosfor, natrium, kalium og jern i tillegg til noen typer vitaminer (Jones et al., 1972; Zhao et al., 2016). Mengde proteiner og totalfettinnhold varier i ulike studier i litteraturen, og **tabell 2** viser at melorm inneholder hhv. 43 – 46 % og 27 -35 % protein og fett basert på tørrvekten (Paul et al., 2017; Zhao et al., 2016). Fettsyrene som er rapportert å dominere mest i melorm var OA (18:1n-9), LA (C18:2n-6), PA (C16:0), SA (C18:0) og MA (C14:0) (Paul et al., 2017).



Figur 4: Tørkede melormer som ble pulverisert med morter til fin mel samt fullvokst melbille, bildet til høyre hentet fra (Folkehelseinstituttet, 2020).

2.2.2 Svart soldatflue larver og larvefôr

Svarte soldatfluer (*Hermetia illucens*) tilhører insektordenen Diptera og går under familien stratiomyidae. Disse har opphav fra Amerika, men har spredt seg til hele det tropiske og regioner med varmere temperaturer (Belghit et al., 2019). Disse fluene har relativt kort livssyklus og reproduserer seg hurtig. Hver hunnflue legger 500 – 900 egg som tar omtrent 4 dager før eggene klekkes og larvene kommer ut. Larvene gjennomgår fem ulike hudskiftningsfaser (instar) i løpet av 13 – 18 dager før prepuppe- og puppestadier inntreffer. Fullvokste fluer lever i 5 – 8 dager der de parrer og syklusen gjentar seg, se **figur 5** (De Smet et al., 2018).



Figur 5: Livssyklusen til svarte soldatfluelarver og en fullvoksen soldatflue, hentet fra (Hermetia Bio Science, 2023; Lievens et al., 2021).

Svarte soldatfluelarvene er effektive i å omdanne fôr til biomasse og er i tillegg åtseldyr. Det betyr at de trives godt i forskjellige organiske ressurser som matavfall, alger, planter og til og med naturgjødning (Belghit et al., 2019). Insektslarvene til svarte soldatfluer er rik på proteiner, lipider, fiber, mineraler og antimikrobielle peptider, og blir derfor regnet som en av de beste nye fôr kandidatene til dyr (X. Li et al., 2022). **Tabell 2** viser at proteininnholdet av SSFL ligger i området 28 – 40 %, men det har også blitt rapportert høyere proteininnhold (opp mot 50 %) i noen studier (Ewald et al., 2020; X. Li et al., 2022). I tillegg viser **tabell 2** at totalt lipidinnhold ligger mellom 11 – 58 %. Mange studier har vist høye verdier av SFA i SSFL, der laurinsyre (C12:0), myristinsyre (C14:0), palmitinsyre (C16:0), palmitoleinsyre (C16:1n-9) og oljesyre (C18:1n-9) er de mest dominante fettsyrene (Ewald et al., 2020; X. Li et al., 2022).



Figur 6: Ferske soldatfluelarver før de ble tørket og malt til mel med morter.

Larvene blir påvirket i svært stor grad av hva slags substrat som de blir føret med. Det påvirker blant annet overlevelseseffekt, protein- og lipidinnhold samt fettsyresammensetningen

i larvene (Ewald et al., 2020; Siddiqui et al., 2022). Det er derfor viktig å ta hensyn til hva larvene får i seg når det gjelder hvilken hensikt og formål larvene skal ha. Det vil derfor være nødvendig å gjøre noen justeringer på larvefôret som skal brukes til fiskefôr, sammenlignet med de som for eksempel skal brukes til fjærkre.

2.3 Analyse

2.3.1 Ekstraksjon

Ekstraksjon av lipider fra biologiske materialer kan utføres ved bruk av væske-væske ekstraksjon. Bligh & Dyer (1959) og Folch et al. (1957) er to av de meste refererte studiene og blir ansett som noen av de viktigste metodene. Begge metodene ble i utgangspunktet utviklet for lipidekstraksjon fra dyrevev. Men pga. effektiviteten av kloroform/metanol løsningen kan disse metodene brukes for ekstraksjon av lipider fra både planter og dyr (Saini et al., 2021). For å kunne ekstrahere ut både de nøytrale og polare lipidene er det nødvendig med en kombinasjon av polare og upolare løsningsmidler for ekstraksjon. Derfor blir i Folch's metode en blanding av 2:1 kloroform og metanol (v/v), samt en vannløsning bestående av et mineralsalt benyttet.

I likhet med Folch's metode brukes en blanding av kloroform og metanol i Bligh & Dyer (1959). Forskjellen er at Bligh & Dyer (1959) i utgangspunktet bruker en blanding på 1:2 kloroform og metanol (v/v), og deretter blir samme mengde kloroform og destillert vann tilsatt til blandingen med prøve, som til sammen tilsvarer 2:2:1 kloroform, metanol og vann (Bligh & Dyer, 1959). Det er verdt å nevne at fiskemuskel inneholder omtrent 80 % vann, og forfatteren foreslår tilpasninger dersom målet er lipidekstraksjon av andre typer prøver med lavere vanninnhold.

For å bestemme fettsyresammensetningen av insekter har flere studier benyttet Folch's metode for lipidekstraksjon. Ewald et al. (2020) benyttet en modifisert versjon av Folch's metode for ekstraksjon av lipidene hos svarte soldatfluelarver. Paul et al. (2017) gjennomførte også lipidekstraksjon ved bruk av 2:1 kloroform og metanol fra *Tenebrio molitor*, *Acheta domesticus*, *Chorthippus parallelus* og *Conocephalus discolor*. For lipidekstraksjon av SSFL, melorm og larvefôret i denne studien ble metoden til Wathne et al. (2018), som er en modifisert versjon av Folch et al. (1957) fulgt nøye med noen små justeringer og er grundig beskrevet under kapittel 3.

Kloroform og metanol er toksiske løsemidler og noen studier har forsøkt å finne andre metoder og løsemidler som kan erstatte de for ekstraksjon. Blant annet blir bruk av løsemidler som CO₂ i superkritisk tilstand, plantebaserte terpenener (som D-limonen, p-cymen, og α -pinen) og ioniske væsker foreslått (Saini et al., 2021). Etanol, etylacetat, isopropanol og n-propanol har også blitt foreslått som kan mulig erstatte kloroform og metanol. De ovennevnte løsemidlene blir kategorisert som klasse 3 løsemidler, noe som betyr at de har lavere risiko for mennesker (Saini et al., 2021). Et annet alternativ kan være å ha et system som kan resirkulere løsemiddelavfallet etter ekstraksjonen, slik at bruken av løsemiddel går ned.

2.3.2 Prøvepreparering av analytt, dannelse av fettsyremetylestere

Det virker som det er ingen etablerte anbefalinger for hvor mye prøvemateriale en skal bruke i hver prøve. Derfor skal hver enkelt forfatter gjøre seg opp en mening før arbeidet begynner. Det er viktig med god homogenisering av prøvematerialet, og tradisjonelt starter homogeniseringen med at prøvematerialet blir behandlet med flytende nitrogen. Dette gjør at prøvemateriale blir sprø pga. vannet som finnes i insektene, og blir derfor lettere å pulverisere. For selve pulveriseringen kan en morter benyttes, men det kan også være mulig å bruke en kaffekvern. En kan tørke de pulveriserte insektene ved for eksempel å benytte en rotavapor eller en fryse-tørkingsutstyr.

Fettsyrer finnes i esterbundne mono-, di, eller triacyglyserider eller i form av frie fettsyrer, og er i utgangspunktet ikke flyktig nok til å kunne analyseres direkte. Derfor trenges det med derivatisering av lipidene til fettsyremetylestere (FAMES) før analyse på GC-MS (James M. Miller, 2009). Det er flere fremgangsmåter, men det vanlige er syre- eller basekatalysert nukleofiladdisjon/substitusjon. Den mest nyttige metoden går ut på bruk av natrium- eller kaliummetoksid i vannfri metanol for omestring av triacylglyseroler og fosfoglyserider (William W. Christie, 2021). Denne metoden er hurtig, relativt mild og fører ikke til uønskede reaksjoner som isomerisering av dobbeltbindingene i PUFA. Det er verdt å nevne at denne metoden hverken vil forestre frie fettsyrer eller omestremid bundne fettsyrer (William W. Christie, 2021). En annen metode utviklet av Morrison & Smith (1964) ved bruk av bor-triflorid i metanol har vist til å være svært effektiv til forestring av frie fettsyrer, der forestring av frie fettsyrer ble gjennomført i løpet av to minutter. Metoden førte til få

uønskede sidereaksjoner, og i tillegg resulterte i kvantitative utbytter. Her er det nødvendig med ekstra oppvarming av prøven for at reaksjonen skal skje (Morrison & Smith, 1964).

2.3.3 Kvantifisering og bruk av internstandard

En internstandard (IS) blir ofte brukt i kvantitative analyser i kromatografi. Metoden går ut på sammenligning av intensiteter av signalet til analyttmolekylet og signalet til IS (Edmond d. H. & Vincent S., 2007). Dette gjøres ved at et annet molekyl enn analytt som har lignende fysiske og kjemiske egenskaper som analytt blir tilsatt prøven. Det er viktig at mengde og konsentrasjonen til IS er kjent og for å opprettholde maksimal presisjon i analysen skal IS bli tilsatt så tidlig som mulig i prosedyren (Edmond d. H. & Vincent S., 2007). I denne metoden vil både analytt og IS gjennomgå samme prosedyre som fører til at variasjoner og diverse feilkilder elimineres. Det er også viktig at valgt IS ikke overlapper topper fra prøven og i tillegg skal IS finnes i rent form, ikke være til stede i prøven og ikke minst skal være inert mot forbindelser i prøven (Edmond d. H. & Vincent S., 2007). Dersom internstandardmetode benyttes, kan utregningene gjøres på to forskjellige måter: bruk av relativ responsfaktor (RRF) eller ved bruk av en kalibreringskurve. Relativ responsfaktor kan regnes enkelt ut ved bruk av ligning 1, der [x] er konsentrasjon av standardprøve og [IS] er konsentrasjon av internstandard.

$$\text{Lign. 1} \quad RRF = \left(\frac{\text{Areal}_{IS} * [x]}{\text{Areal}_x * [IS]} \right)$$

2.4 Analyse av fettsyrene

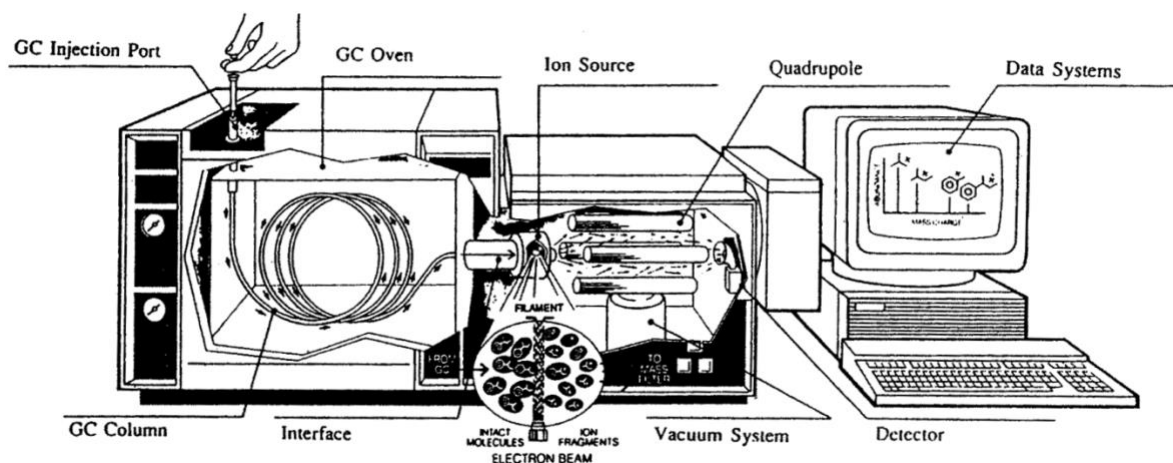
Lipidanalyse fra biologiske materialer har utviklet seg over årene. Noen av de eldre metodene som var tilgjengelig for ca. 50 år siden gikk ut på bruk av gasskromatografi (GC) og tynnsjikt-kromatografi (TLC) (William W. Christie & Xianlin Han, 2010). TLC kan brukes både i kvantitative og kvalitative analyser ved å analysere størrelsen og fargen på flekkene som oppstår på TLC-platen, samt vandreevnen til disse. Fordelen med TLC er at det er enkelt og kan gjennomføres raskt samtidig som det er billig, men metoden er «low-tech» og ofte uforutsigbart og gir lav nøyaktighet (James M. Miller, 2009; William W. Christie & Xianlin Han, 2010). Eksempler på andre metoder for lipidanalyse er væske-kromatografi (LC/HPLC), superkritisk væske-kromatografi og kapillærelektroforese (M. Li et al., 2014). For å analysere komplekse blandinger i en prøve er ofte en kromatografisk metode koblet til et

massespektrometer brukt. En gasskromatograf koblet til en flammeionisasjonsdetektor (GC-FID) og GC-MS er imidlertid fortsatt de vanligste anvendte analysemetodene for lipidanalyse, der begge metodene anvender GC-en for separasjon. FID som detektor har mange fordeler, bl.a. god følsomhet og stabilitet samtidig som denne er enkel å konstruere og bruke. I tillegg er den svært pålitelig i langvarig bruk (William W. Christie & Xianlin Han, 2010). Anvendelse av GC-MS i lipidanalyse gir god følsomhet, høy oppløsning i tillegg til strukturelle opplysninger om analysen (William W. Christie & Xianlin Han, 2010).

2.4.1 Prinsippene bak gasskromatografi og massespektrometri

For å analysere en prøveblanding som består av kompleks og forskjellige analytter er det nødvendig med et instrument som har høy separasjonsevne. Her er GC et utmerket instrument. Kromatografiske metoder består av en stasjonær- og en mobilfase som utnytter kjemiske karakteristikkene til analytt (f.eks. polaritet, kokepunkt og molekylvekt), og som derfor avgjør tiden analytten bruker gjennom kolonnen.

Mobilfasen i en GC er en inert gass (vanligvis He, H₂, N₂), mens den mest utbredte stasjonære fasen består av kondensert silisiumoksid («fused silica») i kapillærkolonner (James M. Miller, 2009). Kolonnen sørger for separasjonen av analyttene og analyttene sendes videre til massespektrometeret. MS-delen av instrumentet består hovedsakelig av en ionekilde, masseanalysator og detektor (se **figur 7** for illustrasjon). Elektronionisering (også kalt «electron impact», EI) er den mest vanlig brukte ionekilden i GC-MS-instrumenter. Ionisering og tap av et elektron hos analyttmolekylet skjer når elektroner akselleres av filamentet (vanligvis 70 eV) i ionekilden og dermed kolliderer med analyttmolekylene i gassfase. Den indre energien av molekylionet er da så høy at det fører til dannelsen av fragmenter med forskjellige masse til ladningsforhold (m/z) (Edmond d. H. & Vincent S., 2007). En repeller sørger for at molekylfragmentene sendes til masseanalysatoren gjennom ulike linser. Når det gjelder FAMES i lipidanalyse (spesielt SFA) vil fragmenter med 14 amu fra hverandre observeres i massespekteret. Et annet viktig ion er $m/z = 74$, som er forårsaket av McLafferty-omleiringen i metylestere av SFA, men dette er mindre tydelig jo flere dobbeltbindinger analyttmolekylet består av (William W. Christie & Xianlin Han, 2010).



Figur 7: Enkel skjematisk fremstilling av et GC-MS instrument. Instrumentet består av en gaskromatograf som er koblet til et massespektrometer med en kvadrupol masseanalyzer, hentet fra (James M. Miller, 2009).

Masseanalisatoren er et annet viktig del av instrumentet, der de produserte gassfaseionene separeres basert på deres masse til ladningsforhold (m/z). Dette gjøres ved hjelp av elektrisk og/eller magnetiske felt (Edmond d. H. & Vincent S., 2007). Eksempler på masseanalisatorer er sektorinstrumenter, kvadrupol, ionefeller og «time of flight». Når det gjelder valg av masseanalisator skal en ta hensyn til fordelene og begrensningene som er knyttet til hver enkelt av dem.

3 Materialer og metoder

3.1 Kjemikalier

Kjemikalier som ble brukt er listet under i **tabell 3**, der både kvalitet og leverandør er gitt. GC-vials og Pasteurpipetter som ble brukt var fra VWR Chemicals.

Tabell 3. Kjemikalier brukt i denne studien med kvalitet og leverandør.

Kjemikalie	Kvalitet	Leverandør
Kloroform	HiPerSolv CHROMANORM	VWR Chemicals, Frankrike
Metanol	HiPerSolv CHROMANORM	VWR Chemicals, Norge
n-heptan	HiPerSolv CHROMANORM	VWR Chemicals, Polen
BF ₃ -MeOH (14 % metanol)		Sigma-Aldrich, Sveits
Natriumklorid	AnalaR NORMAPUR	VWR Chemicals, Belgia

Kloroform som ble brukt til ekstraksjon av lipidene og til å lage internstandardene var produsert av VWR Chemicals og av Chromanorm kvalitet (Polen). Metanol og n-heptan ($\geq 99\%$) som ble brukt gjennom hele prosedyren var også produsert av VWR Chemicals og av Chromanorm kvalitet (hhv. Norge og Polen). Bor-triflorid-metanol løsning (14 %) som ble brukt for forestring av fettsyremetylestere (FAMEs) var produsert av Sigma-Aldrich (Sveits).

3.2 Standarder

For kvantifisering av FAMEs i både melorm og SSFL ble C11:0 og C19:0 triacylglycerid (TAG) brukt som internstandard (IS), med en renhet på $\geq 99\%$, Larodan AB, Sverige. I melorm ble C19:0 TAG IS stokkløsningen laget ved å løse 10 mg av standarden med 10 mL kloroform til en konsentrasjon på 1,0 mg/mL, mens C11:0 TAG IS stokkløsningen ble laget ved å løse 1,0 mg av standarden med 10 mL kloroform til en sluttkonsentrasjon på 100,0 $\mu\text{g/mL}$.

For kvantifisering av FAMEs i SSFL og larvefôret ble to stokkløsninger laget for henholdsvis C19:0 TAG og C11:0 TAG. En stokkløsning for C19:0 IS med en konsentrasjon på 5,0 mg/mL ble laget ved å løse 50 mg IS i 10 mL kloroform. Stokkløsning av C11:0 IS ble laget ved å løse 1,5 mg C11:0 TAG i 10 mL kloroform til en slutt konsentrasjon på 0,15 mg/mL. Internstandardene ble oppbevart i fryser inntil bruk.

En referansestandard med 40 ulike fettsyremetylestere ble brukt til identifisering av fettsyrer i melorm, SSFL og larvefôret. Referansestandardene var Restek Food Industri FAME mix (37 komponenter), og i tillegg var det lagt til C7:0, C9:0 og C19:0 metylestere slik at standarden inneholdt totalt 40 FAMEs, og finnes under **vedlegg I, tabell 13**. For identifisering av fettsyrer i både SSFL og larvefôret ble i tillegg 29 andre individuelle standarder brukt. Liste over disse er gitt i **tabell 14**.

3.3 Prøvepreparering

Melormene var kjøpt fra butikk (200 g pakke, Akudim A/S) og var allerede tørket. Omtrent 20 mg ble pulverisert til mel med morter. Videre analyser ble utført fra det pulveret og resten ble oppbevart mørkt i kjøleskap.

Svart soldat fluelarver

Larvene ble levert av Pronofa ASA og ifølge dem ble de høstet etter 12 dager, og besto av larver av begge kjønn. For å ta livet av larvene ble flytende nitrogen helt over dem som førte til at vannet i larvene frøys umiddelbart. Det gjorde at larvene ble sprø og ble deretter pulverisert ved bruk av en morter. Etterpå ble de fordelt i seks ulike rør og tørket i 96 timer i en rotavapor (til vekten var stabil). Tørket larvepulver ble oppbevart i 100 mL pyrex glassflasker og oppbevart mørkt i fryser inntil videre bruk. Larvefôret ble også tørket i 96 timer med samme rotavapor og oppbevart i fryser inntil videre bruk.

3.4 Lipidekstraksjon og bestemmelse av total fettprosent

Etter tørking ble både larvefôret og SSFL pulverisert igjen med morter, slik at innholdet var godt homogenisert. For å bestemme total fettprosent i melorm ble det forberedt tre prøver, mens for SSFL og larvefôret ble det forberedt fem prøver. Mengde prøver er vist i **tabell 4** og prøvene ble tilsatt til 100 mL pyrex glassflasker med kork.

Tabell 4. Viser tørket mengde larvepulver og larvefôr som ble veid og ekstrahert for bestemmelse av totalt fettinnhold.

Melorm (mg)	BSFL (mg)	Substrat (mg)
504	502,5	507,4
502	501,0	500,8
505	505,0	506,3
-	503,9	506,5
-	504,6	502,3

Til hver prøve ble 30 mL av Folch's ekstraksjonsblanding, 2:1 kloroform og metanol (v/v), tilsatt (Folch et al., 1957). Prøvene ble så plassert på en PSU-10i orbital risteplattform og ristet i 60 min på 310 rpm. Gjennom en plasttrakt og rundfilterpapir (589/1; 110 mm diameter, Schleicher & Schuell) ble innholdet fra pyrex-flaskene overført til en 100 mL skilletrakt. Pyrex-flasken ble skylt med 10 mL Folch's ekstraksjonsblanding, og 6 mL 0,1 M NaCl i milli-Q vann ble tilsatt til skilletrakt med prøven. Etter risting og likevekt dannelse ble den organiske (nedre) fasen overført til en 100 mL Erlenmeyerkolbe. To ekstra væske-væske ekstraksjoner ble gjennomført med 4 mL kloroform og de organiske fasene ble samlet.

Den organiske fasen ble deretter overført til et reagensrør før de ble plassert på en inndampningsblokk (40 °C) og løsemiddelet ble dampet bort med N₂ gass. Glassrørene ble veid inntil vekten var stabil og resultatene for total mengde fett er presentert i **tabell 6**.

3.5 Lipidekstraksjon og bestemmelse av total fettsyreprofil

3.5.1 Melorm

Tre prøver på 501 mg, 504 mg og 503 mg fra det homogeniserte pulveret ble tilført til tre pyrex glassflasker. 30 mL Folch's løsning ble tilført til hver flaske med prøve, og 1,7 mL C19:0 TAG IS og 600 µL C11:0 TAG IS (med en Hamiltonsprøyte) ble også tilført til hver prøve. Pyrex glassflaskene ble ristet i 60 min på 310 rpm. Ekstraksjonsprosedyren ble fulgt slik som ovenfor. Etter at løsemiddelet var dampet bort, ble lipidene reløst i 1 mL heptan. Fra hver prøve ble 150 µL overført til tre nye Duran® 6 mL derivatiseringsrør med skrukork.

Natriummetoksid løsning med en konsentrasjon på 5 mg/mL ble laget ved å løse metallisk natrium i metanol. Til hvert prøveglass ble 1 mL natriummetoksid tilsatt, og prøvene ble ristet i 20 minutter på 310 rpm. Deretter ble 1 mL 14% bor-triflorid-metanol løsning tilsatt, og prøvene ble ristet i ytterligere 20 min på 310 rpm. Prøvene ble deretter plassert i vannbad på 80 °C i 20 minutter. Etter nedkjøling av prøvene ble den øverste fasen overført til GC-vials. 30 µL av de ufortynnede prøvene (konsentrasjon på omtrent 20 mg/mL) ble deretter overført til nye GC-vials og ble fortynnet og homogenisert godt til et totalvolum på 300 µL (10 gangers fortynning). Til sammen tre paralleller fra hver prøve ble analysert på GC-MS. Noen topper i kromatogrammene til de fortynnede prøvene var svake. Derfor ble de ufortynnede prøvene (som besto av en konsentrasjon på omtrent 20 mg/mL) analysert kun for identifisering av de aktuelle fettsyrene. For kvantifisering ble kromatogrammene til de fortynnede prøvene benyttet da de ufortynnede prøvene gir kromatogrammer der flere topper kan overlapse.



Figur 8: Viser oppsett for lipidekstraksjon og tre prøver: to i pyrex flaske som venter på ekstraksjon og en allerede i skilletrakt. Samme oppsett ble brukt for ekstraksjon av lipidene i alle prøvene.

3.5.2 Svarte soldatfluelarver

For å bestemme total fettsyreprofil ble fem prøver klargjort. Tre av prøvene var tilsatt IS og veid mengde tørket pulver, mens en var blank og en prøve var uten tilsatt IS før ekstraksjon fant sted. For å tilsette IS ble 500 μL Hamiltonsprøyte benyttet og til hver prøve (med unntak av den uten IS) ble 1,0 mL C19:0 og 1,0 mL C11:0 TAG fra tidligere laget stokkløsningene tilsatt. Ekstraksjon og tørking av løsemiddelet var likt som tidligere beskrevet for melorm. Lipidene ble reløst i 1 mL heptan. Fra hver prøve ble 110 μL tatt ut til tre Duran® 6 mL prøveglass med skrukork, til sammen 15 paralleller (tre fra hver prøve). Disse ble fortynnet med 1 mL heptan. Alle 15 parallellene ble forestret slik det er beskrevet tidligere for melorm. Når prøvene hadde kjølt seg ned, ble den øverste heptanfasen overført til GC-vials. Av disse ufortynnede prøvene ble 30 μL tatt ut i nye 300 μL insert vials og fortynnet med heptan til et totalt volum på 300 μL . Analysen ble gjort med GC-MS.

Her også ble de ufortynnede prøvene (konsentrasjon på omtrent 20 mg/mL) analysert etter hvert, og det førte til identifisering av flere nye FAMES. Derfor ble etter hvert tre nye prøver klargjort for kvantifisering av de små toppene i SSFL. Til hver prøve ble 100 μL C19:0 TAG, og 500 μL C11:0 TAG fra samme stokkløsninger som tidligere ble tilsatt. Ekstraksjon og derivatisering til FAMES samt analyse på GC-MS ble gjort som tidligere beskrevet.

3.5.3 Larvefôr

For analyse av larvefôret ble det i likhet med SSFL forberedt fem prøver, en blank, en uten IS og tre med IS og tørket pulver. Her ble 200 µL IS fra stokkløsningene av både C11:0 og C19:0 TAG tilsatt til hver prøve (med unntak av den uten IS). Ekstraksjonen og tørking av løsemiddelet var likt som før. Siden total fettprosent var mye lavere her ble lipidet løst i 3 mL heptan og hver prøve ble da fordelt på tre Duran® 6 mL derivatiseringsrør. Lipidene ble forestret som tidligere og etter nedkjøling av prøvene ble den øverste heptanfasen overført til 1 mL GC-vials. Fra disse ble igjen 50 µL tatt ut til insert vials og fortynnet til 300 µL. Prøvene ble analysert med GC-MS. Her ble også de ufortynnede prøvene analysert etter hvert som førte til identifisering av flere FAMES. Men her var det ikke nødvendig å gjenta prosedyren slik som SSFL, fordi alle FAMES kunne kvantifiseres fra de fortynnede prøvene.

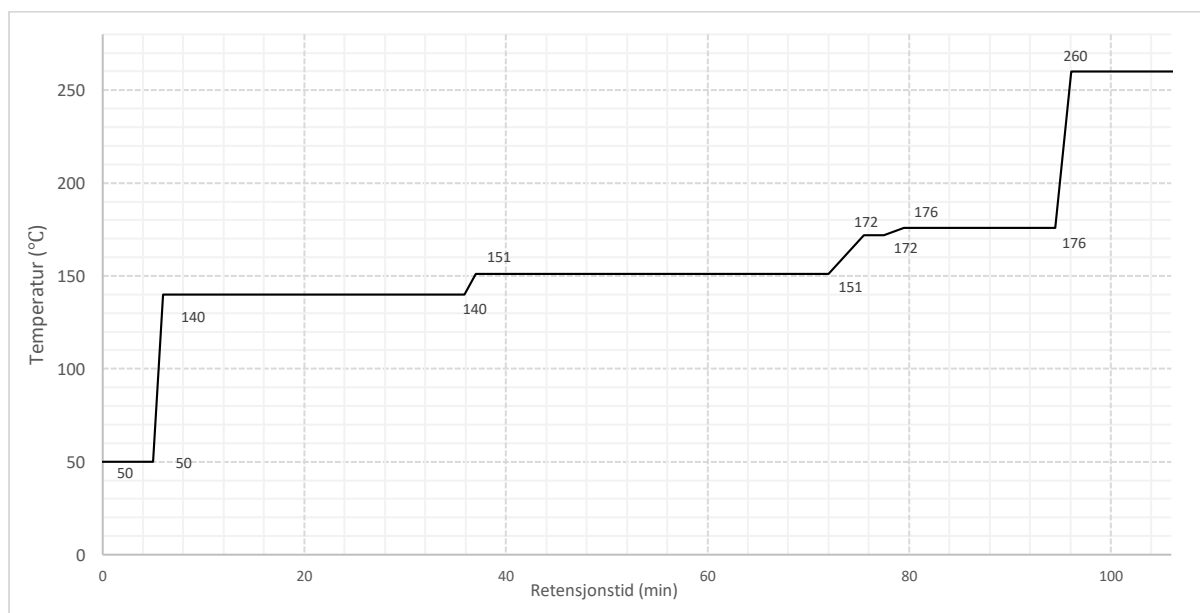
Tabell 5. Viser tørket mengde larvepulver og larvefôr som ble brukt for bestemmelse av totalfettsyre profil. Prosedyren for SSFL ble gjennomført to ganger, der den andre gangen ble det benyttet lavere konsentrasjon av IS slik at fettsyre som fantes lite av i SSF kunne kvantifiseres.

	Melorm (mg)	SSFL (mg)	SSFL små topp	Larvefôr (mg)
A	501	502,4	503,0	503,3
B	504	506,7	501,9	502,6
C	503	501,3	502,9	503,2
U.IS	-	501,9	-	503,9
Blank	-	-	-	-

3.6 Analyse av FAMES ved bruk av GC-MS

For identifisering og kvantifisering av FAMES i både melorm, svart soldatflue larver og larvefôret ble GC-MS brukt. GC-instrumentet var Thermo Fisher Scientific TRACE™ 1310, Waltham, MA, USA, med en 60 meter GC-kolonne fra Restek (Rtx®-2330), stasjonærfase av «fused silica biscyanopropyl cyanopropylphenyl polysiloxane» der diameteren var 0,25 mm og filmtykkelsen 0,2 µm. GC-instrumentet var utstyrt med AI/AS 1310 Series Auto sampler (Thermo Fisher Scientific Waltham, MA, USA), som injiserte 1,0 µL prøve med en split ratio på 1:10. Bæregassen var Helium (99.99990%, Yara, Rjukan, Norge), og temperaturen i injektoren var satt på 250 °C og konstant flyt av gassen på 1,0 mL/min.

MS- delen av instrumentet var single quadrupole (Thermo Fisher Scientific, ISQ™ QD, Waltham, MA, USA), med en EI ionekilde (70 eV) og et massefilter som skannet i området m/z 60 – 600. Massespektrometeret var i tillegg stilt inn med en oppløsning på 1000. Konstant temperatur på 250 °C i både ionekilden og overføringslinjen («transfer line») ble opprettholdt. Den totale analysetiden utgjorde 108,18 minutter, og programmet for temperaturen i GC-oven er illustrert i **figur 9**.



Figur 9: Illustrerer programmet for GC-oven for elusjon av fettsyreemylestere.

4 Resultater og diskusjon

Hovedmålet med denne oppgaven var identifisere og kvantifisere de totale fettsyreprofilene til melorm, svarte soldatfluelarver og larvefôret til SSFL. Analyseinstrumentet GC-MS er meget selektiv og sensitiv og derfor var et godt alternativ til å nå dette målet. Metoden for GC-MS analyse var allerede utviklet, validert og i rutinemessig bruk ved fakultetet. GC-MS analysemetoden sørget for deteksjon av fettsyreemylestere som fantes i lave konsentrasjoner i alle de tre nevnte prøvematriksene. Metoden gir i tillegg mulighet for å gjøre biblioteksøk. Dette var spesielt nyttig der det ikke var en referansestandard tilgjengelig, og gjorde det mulig å både identifisere og kvantifisere de fettsyrene som ellers ville vært vanskelig å bestemme.

RRF-verdiene som ble brukt for kvantifisering av FAMEs i denne oppgaven var tidligere bestemt av Eivind Molversmyr, (2020) og finnes under **vedlegg II**. For FAMEs med ikke tilgjengelige RRF-verdier ble RRF-verdier valgt utfra den nærmest lignende fettsyren. For eksempel RRF-verdien til C16:1n-7c ble også brukt for C16:1n-5c siden dette var nærmest og disse fettsyrene er mest lik hverandre. For forgrenede fettsyrer som for eksempel C13:0-(4,8,12-trimetyl) ble RRF-verdien til den lengste fettsyrekjeden med samme antall karbonatomer valgt (i dette tilfellet C16:0). I tillegg fikk C26:0 samme RRF-verdi som C24:0. Dette kan bidra til noe unøyaktig kvantifiserte verdier for disse fettsyrene, men de utgjør likevel små mengder av det totale lipidinnholdet.

Kvantifisering av hver enkelt fettsyre ble gjort ved bruk av tidligere nevnte RRF-verdier og bruk av ligning 2. Internstandarden C11:0 TAG ble brukt for kvantifisering av FAMEs kortere enn C16:0, og C19:0 TAG IS brukt for FAMEs fra og med C16:0 og oppover. Spesifikke konsentrasjon og volumene til IS finnes under **vedlegg I**.

$$\text{Lign. 2} \quad \text{Masse}_{FA} = \left(\frac{\text{Areal}_{FAME} \times C_{molIS}}{\text{Areal}_{IS} \times RRF} \right) \times \text{Molekylvekt}_{FA}$$

For databehandling ble programvaren Chromeleon v7.2.8 brukt, der hver enkelt forbindelse ble identifisert ved sammenligning av RT av forbindelsen og eventuell referansestandard samt biblioteksøk gjennom Nist_msms (NIST 08). De aktuelle toppene ble manuelt integrert og eksportert til et Excel-dokument. Metoden med GC koblet til en «single quadrupole» MS førte til tilfredsstillende separasjon, og dermed til identifikasjon og kvantifisering av alle fettsyrene i melorm, SSFL og larvefôr. Fullskann var ansett som det beste alternativet og produserer et plott av den totale ionestrømmen («total ion current», TIC). SIM («selected-ion monitoring») og RIC («reconstructed ion chromatogram») er de to andre alternativene som gir bedre selektivitet og sensitivitet ved å skanne forhåndsbestemte ioner, og derfor egner seg godt til kvantitative analyser av sporstoffer (Devle et al., 2009; James M. Miller, 2009). I dette tilfellet var TIC et bedre alternativ siden det tillater identifisering av ukjente stoffer ved å sammenligne massestektene fra TIC med tilgjengelige referansespektere som ligger i biblioteket i programvaren. Hensikten med blankprøvene var å observere støy og mulig kontaminering i kolonnen. Men de viste lite støy og derfor ble ikke de kvantifiserte fettsyrene trukket fra blankprøven. Prøvene uten tilsatt internstandard bekreftet fravær av de brukte C11:0 og C19:0 internstandardene.

4.1 Totalt lipidinnhold

Lipidinnholdet i prosent for de tre analyserte prøvematriksene er vist i **tabell 6**. For melorm er verdiene basert på tre replikater, mens for SSFL og larvefôr er verdiene basert på 5 replikater.

Tabell 6. Viser total lipid konsentrasjon i melorm, SSFL og larvefôr oppgitt i prosent, og er basert på 0,5 g pulveriserte prøver på tørrvektbasis. Verdiene er basert på n = 5 for SSFL og larvefôret, mens for melorm ble det brukt n = 3 prøver.

	Lipidinnhold (%)
	Gjennomsnitt ± S.D
Melorm	28,3 ± 0,6
Svarte soldatfluelarver	38,4 ± 0,9
Larvefôr	7,3 ± 0,8

Basert på tørrvekten hadde melorm et lipidinnhold på $28,3 \pm 0,6$ %. Dette er noe lavere enn de verdiene Finke, (2002) og Jones et al., (1972) rapporterte, begge 35 %. I tre nyere studier gjort av Paul et al., (2017), Zhao et al., (2016) og Jajic et al., (2020) ble det rapportert et totalt lipidinnhold på hhv. 32 %, 33 % og 25 %. Det betyr at det målte lipidinnholdet i denne oppgaven er innenfor funnene i litteraturen. Men forklaringen til forskjellene kan være at melormene som ble brukt i denne oppgaven har vokst på et annet fôr, og slike forskjeller er derfor å forvente. En annen forklaring kan være at metoden som blir brukt i hver enkelt studie er noe annerledes. For eksempel, det kan tenkes at under fordampning av løsemiddelet med N₂-gass i denne oppgaven, gikk noe av fettene tapt.

Det gjennomsnittlige lipidinnholdet for SSFL ble regnet til å være $38,4 \pm 0,9$ %. Det har blitt rapportert store variasjoner i totalt lipidinnhold for SSFL. Mye av variasjonen skyldes fôret larvene har vokst på, og levetiden, altså hvor mange dager gamle larvene ble før de ble høstet for analyse. Funnet i denne oppgaven på 38,4 % er sammenlignbar med funnene til Zulkifli et al., (2022) som fant et lipidinnhold for SSFL mellom 26 – 38 %, avhengig av hva de hadde vokst på. Larvene som vokste på matavfall hadde et lipidinnhold på 38 %, noe som kan være en indikasjon på at SSFL i denne oppgaven vokste på samme type fôr. I en annen studie gjort i Sverige der fem dager gamle larver vokste på ulike fôr i 14 dager hadde et lipidinnhold på 11 – 58 % (Ewald et al., 2020). Dette bekrefter igjen at larvefôret har mye å si for det totale lipidinnholdet, og er interessant problemstilling å ta hensyn til. Det positive er at larvene er lett å manipulere gjennom kostholdet. For eksempel, dersom målet med larvene er mest

mulig lipidinnhold så kan et larvefôr som er basert på brød være et godt alternativ (58 % lipidinnhold ifølge Ewald et al., (2020)). SSFL som vokste på matavfall i studien til Ewald et al., (2020) fikk et lipidinnhold på 41 %, noe som korresponderer godt med 38 % i denne oppgaven. Ekstrahert larvefôr i denne oppgaven har hatt et totalt lipidinnhold på $7,3 \pm 0,8$ %, noe som er mye lavere enn det som ble funnet i larvene. Dette er en indikasjon på at SSFL klarer å syntetisere mye av lipidet selv og bare en liten del er bioakkumulert fra larvefôret.

4.2 Total fettsyreprofil

Totalt ble det identifisert og kvantifisert 23, 45 og 40 FAs i hhv. melorm, SSFL og larvefôr. I tillegg ble en C18:2 isomer som ikke kunne identifiseres funnet i melorm. FA-alkylkjeden strekker seg fra C6:0 – C26:0, se **tabell 7**. De gjennomsnittlige verdiene er oppgitt i mg/g av tørrvekten, der verdier under 0,01 mg/g er oppgitt som $< 0,01$. Blant alle de 56 identifiserte fettsyrene kunne 43 av de identifiseres gjennom en referansestandard, retensjonstid og MS-bibliotek. Identifisering av de 13 andre var basert på søk i MS-biblioteket. I **vedlegg III** finnes rådataen som **tabell 7 og 8, figur 10, 11, og 12** baserer seg på, og inkluderer blant annet verdier for matchfactor, revers matchfactor og sannsynlighet for hver enkelt FA.

4.2.1 Melorm

Den korteste FA var C8:0 og den lengste C20:2n-6c i melorm. De fleste av de tidligere studiene som har blitt gjort har funnet C12:0 som den korteste FA, blant annet (Finke, 2002; Jones et al., 1972; Siow et al., 2021). Mens den korteste FA i studien til Zhao et al., (2016) var C6:0. Fettsyrene fra PA (C16:0) til LA (C18:2n-6c) ble rapportert i alle ovennevnte studiene, noe som ligner fettsyrene funnet i denne oppgaven. Analysen til Jajic et al., (2020) har også funnet EPA og DHA i små konsentrasjoner, noe som er unik og ikke tilfellet i denne oppgaven. Finke, (2002) klarte å identifisere C20:0, noe som ikke ble observert i denne oppgaven. Generelt stemmer funnene i denne oppgaven godt med litteraturen, der fettsyreakylkjeden stort sett varierer mellom 12 – 18 karbonatomer.

4.2.2 Svarte soldatfluelarver

Når det gjelder SSFL ble mange flere FAs identifisert og kvantifisert enn i både melorm og larvefôr. Fettsyrekjeden består av C8:0 til C24:0 og i tillegg en større variasjon av umettede og forgrenede FAs er funnet. Disse resultatene er sammenlignbare med arbeidet til Ewald et al., (2020), men avviker litt i den forstand at Ewald et al., (2020) ikke har rapportert et eneste

forgrenet FA. I tillegg både Spranghers et al., (2017) og Zulkifli et al., (2022) fant FAs med alkylkjede i område C₁₂-C₂₂, noe som stemmer godt med funnene i denne oppgaven.

4.2.3 Larvefôr

Totalt ble 40 FAs identifisert og kvantifisert i larvefôr. I motsetning til SSFL er den korteste FA C₆:0 og den lengste er C₂₆:0. En del umettede og forgrenede FAs i område C₁₀-C₁₃ ble ikke funnet i larvefôr, men som ble funnet i SSFL, noe som betyr at larvene syntetiserer disse selv. Små mengder av blant annet C₁₆:0 (14-metyl), C₁₆:2n-4t, og C₂₆:0 sees i larvefôr, noe som ikke er tilfelle ved SSFL. Som vist i **tabell 7** ble det observert at de fleste fettsyrene som ble funnet i larvefôret også ble funnet i SSFL. Det betyr at fettsyrene i larvefôret gjenspeiles godt i SSFL og det kan derfor tenkes at en endring i fôret fører til tilsvarende endring i fettsyresammensetningen hos larvene. Det kan være positivt siden larveproduksjonen kan tilpasses etter behov og formål.

Tabell 7. Viser fettsyreprofilen til melorm, SSFL og larvefôr. De gjennomsnittlige verdiene er resultat av tre prøver der hver av de består igjen av tre paralleller. Alle verdiene er oppgitt i mg/g av tørrvekten.

FA	Systematisk navn	Gjennomsnitt ± S.D (mg/g d.w)		
		Melorm	SSFL	Larvefôr
C6:0	Heksansyre	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}	< 0,01 ± < 0,01
C8:0	Oktansyre	0,01 ± <0,01	0,02 ± <0,01	0,02 ± < 0,01
C9:0	Nonansyre	0,01 ± < 0,01	0,04 ± <0,01	n.d ^{c)}
C10:0	Dekansyre	0,02 ± < 0,01	3,56 ± 0,11	0,03 ± < 0,01
C10:1n-6t ^{a)}	<i>trans</i> -4-dekansyre	n.d ^{c)}	0,02 ± <0,01	n.d ^{c)}
C11:1n-8t ^{a)}	<i>trans</i> -3-undekansyre	n.d ^{c)}	0,02 ± < 0,01	n.d ^{c)}
C12:0	Dodekansyre	0,59 ± 0,01	180,58 ± 7,32	0,27 ± 0,04
C12:1n-7c ^{a)}	<i>cis</i> -5-dodekansyre	n.d ^{c)}	0,49 ± 0,06	n.d ^{c)}
C9:0 (syklopropan) ^{a)}	Syklopropan-nonansyre	n.d ^{c)}	0,15 ± 0,02	n.d ^{c)}
C12:0 (10-metyl)	10-metyl-dodekansyre	n.d ^{c)}	0,07 ± 0,01	n.d ^{c)}
C13:0	Tridekansyre	0,14 ± < 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± < 0,01
C14:0	Tetradekansyre	7,61 ± 0,11	42,18 ± 1,09	0,69 ± 0,04
C13:0 (4,8,12-trimetyl) ^{a)}	4,8,12-trimetyl-tridekansyre	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}	0,01 ± < 0,01
C14:1n-3c ^{a)}	<i>cis</i> -11-tetradekansyre	0,20 ± < 0,01	1,00 ± 0,06	0,02 ± < 0,01
C14:0 (13-metyl)	13-metyl-tetradekansyre	n.d ^{c)}	0,18 ± 0,02	n.d ^{c)}
C14:1n-5c	<i>cis</i> -9-tetradekansyre	0,21 ± < 0,01	0,78 ± 0,04	0,02 ± < 0,01
C15:0	Pentadekansyre	0,81 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,08 ± < 0,01
C15:1n-5c	<i>cis</i> -10-pentadekansyre	0,19 ± < 0,01	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}

C16:0	Heksadekansyre	39,90 ± 0,73	33,73 ± 2,47	8,45 ± 2,13
C16:1n-5c ^{a)}	<i>cis</i> -11-heksadekansyre	n.d ^{c)}	0,05 ± 0,01	0,01 ± < 0,01
C16:1n-9c	<i>cis</i> -7-heksadekansyre	1,19 ± 0,01	1,21 ± 0,09	n.d ^{c)}
C16:1n-7c	<i>cis</i> -9-heksadekansyre	3,42 ± 0,05	9,97 ± 0,75	0,61 ± 0,15
C16:0 (14-metyl)	14-metyl-heksadekansyre	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}	0,01 ± < 0,01
C17:0	Heptadekansyre	0,56 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,10 ± 0,02
C16:2n-4t ^{a)}	<i>all-trans</i> -9,12-heksadekadiensyre	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}	0,03 ± 0,01
C16:2n-6t ^{a)}	<i>all-trans</i> -7,10-heksadekadiensyre	0,70 ± < 0,01	0,14 ± 0,01	n.d ^{c)}
C17:1n-7c	<i>cis</i> -10-heptadekansyre	0,23 ± < 0,01	0,10 ± 0,01	0,04 ± 0,01
C18:0	Oktadekansyre	9,77 ± 0,24	5,90 ± 0,42	3,60 ± 0,89
C18:1n-9c	<i>cis</i> -9-oktadekansyre	87,87 ± 1,87	51,61 ± 3,74	35,24 ± 8,96
C18:1n-5t ^{a)}	<i>trans</i> -13-oktadekansyre	n.d ^{c)}	0,72 ± 0,05	n.d ^{c)}
C18:1n-5c	<i>cis</i> -13-oktadekansyre	1,12 ± 0,02	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}
C18:2 ^{b)}	Ukjent isomer	0,17 ± 0,02	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}
C18:1n-7c	<i>cis</i> -11-oktadekansyre	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}	2,51 ± 0,59
C18:2n-6c	<i>all-cis</i> -9,12-oktadekadiensyre	91,15 ± 1,95	30,44 ± 2,33	26,61 ± 6,55
C19:1n-9c	<i>cis</i> -10-nonadekansyre	n.d ^{c)}	0,07 ± 0,01	n.d ^{c)}
C18:3n-6c	<i>all-cis</i> -5,9,12-oktadekatriensyre	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}	1,17 ± 0,30
C18:3n-6c	<i>all-cis</i> -6,9,12-oktadekatriensyre	n.d ^{c)}	0,04 ± 0,01	0,02 ± < 0,01
C18:3n-3c	<i>all-cis</i> -9,12,15-oktadekatriensyre	2,89 ± 0,03	3,52 ± 0,25	4,53 ± 1,18
C20:0	Eikosansyre	0,10 ± 0,01	0,24 ± 0,06	n.d ^{c)}

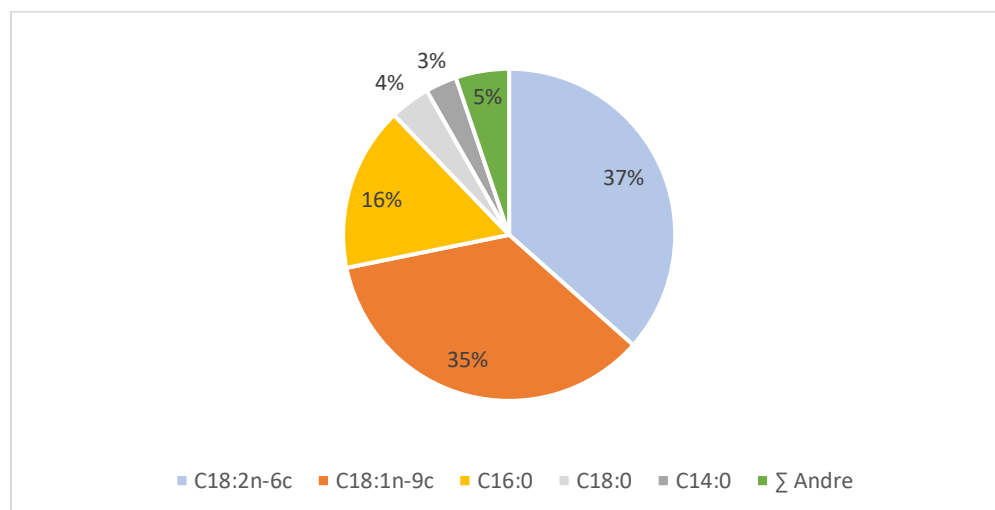
C20:1n-9c	<i>cis</i> -11-eikosensyre	0,26 ± < 0,01	0,08 ± 0,02	1,30 ± 0,32
C20:1n-11c	<i>cis</i> -9-eikosensyre	n.d ^{c)}	0,23 ± 0,02	0,07 ± 0,02
C18:4n-3c	<i>all-cis</i> -6,9,12,15-oktadekatetraensyre	n.d ^{c)}	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,02
C20:2n-6c	<i>all-cis</i> -11,14-eikosadiensyre	0,14 ± < 0,01	0,03 ± 0,01	0,14 ± 0,04
C20:3n-6c	<i>all-cis</i> -8,11,14-eikosatriensyre	n.d ^{c)}	0,02 ± 0,01	0,01 ± < 0,01
C20:4n-6c	<i>all-cis</i> -5,8,11,14-eikosatetraensyre	n.d ^{c)}	0,03 ± < 0,01	0,02 ± 0,01
C20:3n-3c	<i>all-cis</i> -11,14,17-eikosatriensyre	n.d ^{c)}	0,02 ± 0,01	n.d ^{c)}
C22:0	Dokosansyre	n.d ^{c)}	0,07 ± 0,02	0,25 ± 0,06
C22:1n-11c ^{a)}	<i>cis</i> -11-dokosensyre	n.d ^{c)}	0,05 ± < 0,01	0,98 ± 0,25
C22:1n-9c	<i>cis</i> -13-dokosensyre	n.d ^{c)}	0,03 ± 0,01	0,13 ± 0,03
C20:4n-3c	<i>all-cis</i> -8,11,14,17-eikosatetraensyre	n.d ^{c)}	0,07 ± 0,02	0,06 ± 0,02
C20:5n-3c	<i>all-cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentaensyre	n.d ^{c)}	0,79 ± 0,06	0,37 ± 0,10
C24:0	Tetrakosansyre	n.d ^{c)}	0,04 ± 0,01	0,08 ± 0,02
C24:1n-9c	<i>cis</i> -15-tetrakosensyre	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}	0,12 ± 0,03
C22:5n-3c	<i>all-cis</i> -7,10,13,16,19-dokosapentaensyre	n.d ^{c)}	0,09 ± 0,02	0,17 ± 0,04
	<i>all-cis</i> -4,7,10,13,16,19-			
C22:6n-3c	dokosaheksaensyre	n.d ^{c)}	0,18 ± 0,02	1,20 ± 0,31
C26:0	Heksakosansyre	n.d ^{c)}	n.d ^{c)}	0,02 ± 0,01

^{a)} FA er ikke bekreftet hverken med standard fra Restek's Food Industry FAME Mix eller andre individuelle standarder som ble brukt i tillegg.

^{b)} Ukjent isomer. ^{c)} n.d – not detected (ikke detektert).

4.3 De mest dominante fettsyrene hos melorm

LA, OA og PA er de mest dominerende fettsyrene og utgjør hhv. 37, 35 og 16 % av det totale fettsyreinnholdet i melorm, se **figur 10**. Tidligere studier har vist store mengder av de overnevnte fettsyrene og funnene i denne oppgaven er derfor i overensstemmelse med arbeidene til blant annet Finke, (2002); Jajic et al., (2020) og Jones et al., (1972). Fordelingen var noe annerledes i studien til Jajic et al., (2020), der OA (46 %) og PA (24 %) finnes i større mengder, mens LA utgjorde kun 3,8 %. Mengden av de ulike fettsyreklassene er illustrert i **tabell 8**. PUFA og MUFA utgjør hhv. 38,1 og 38,0 % etterfulgt av SFA (23,9 %) i melorm. OA og LA utgjør det meste av hhv. MUFA og PUFA siden de andre fettsyrene i kategorien MUFA og PUFA utgjør små prosentandeler av det totale fettsyreinnholdet. Mens nesten all SFA stammer fra C16:0, C18:0 og C14:0.



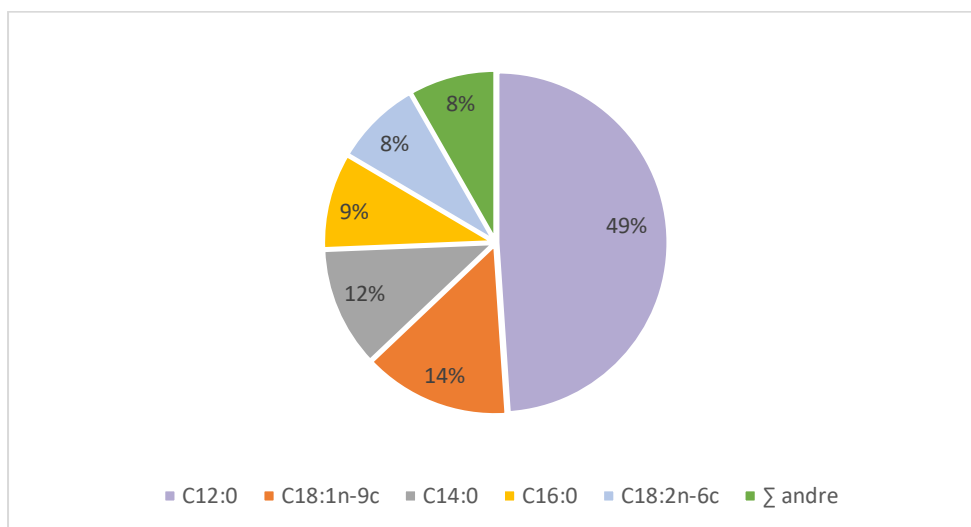
Figur 10. Viser gjennomsnittlige prosentvise verdier av de mest vanlige fettsyrene som finnes i melorm.

Selv om PUFA og MUFA utgjør store mengder av alle FAs i melorm, er forholdet mellom PUFA og SFA (1,5) ikke gunstig for menneskelig konsum. Et PUFA/SFA forhold på nær 1 er ønskelig, mens dersom forholdet er ≥ 3 kan føre til svulstdannelse og dersom forholdet er $\leq 0,33$ kan det være «atherogenic» (kalkdannelse i arteriene) (Jennifer Turley & Joan Thompson, 2015; Paul et al., 2017). En annen indeks som blir brukt er n-6/n-3 forholdet, og dette for melorm er beregnet til 31,8 noe som er ganske høyt. Høye verdier av n-6/n-3 kan føre til en rekke fysiologiske lidelser, blant annet kreft og hjerte- og karsykdommer (Milićević et al., 2014). I tillegg ble det ikke funnet DHA eller EPA i melorm. Basert på disse tallene er ikke melorm gunstig for menneskelig konsum, men det kan være mulig å bruke melorm i dyrefôr. Dette fordi formålet med kjøtt- og fiskeproduksjonen er ofte ikke at disse

dyrene skal leve lengst mulig, men at de skal vokse fort. Men det er viktig at det gjøres undersøkelser på hvordan dyrene reagerer på slik fôr. Da er det viktig å f.eks. sjekke dødsraten til husdyrene eller fisken og gjøre fettsyreanalyse av kjøttet etter fôringsforsøk. Et melormbasert dyrefôr kan føre til lave verdier av de gunstige fettsyrene EPA og DHA i kjøttet til dyret som er tenkt til menneskelig konsum. Dette kan sjekkes ved å gjøre fôringsforsøk, som tidligere nevnt. I et scenario der kjøttet inneholder lave verdier av EPA og DHA kan dyrefôret, bestående av melorm, suppleres med ekstra EPA og DHA.

4.4 De mest dominante fettsyrene i svarte soldatfluelarver

Figur 11 viser at laurinsyre (C12:0) utgjør 49 % av alle fettsyrene i SSFL, etterfulgt av OA (C18:1n-9c), MA (C14:0), PA (C16:0) og LA (C18:2n-6) med hhv. 14, 12, 9 og 8 %. Disse samsvarer generelt godt med arbeidet til Ewald et al., (2020) der forskjellige substrater ble forsøkt som larvefôr. Fettsyreprofilen til SSFL i denne oppgaven samsvarer spesielt godt til larvene som hadde fått brød som fôr, der blant annet mengde av de overnevnte fettsyrene funnet i denne oppgaven er relativt lik funnene i Ewald et al., (2020). I denne oppgaven er små mengder av både arakidonsyre, EPA og DHA funnet, men disse ble ikke funnet i larvene som hadde vokst på brød i studien til Ewald et al., (2020). Årsaken til dette kan være at SSFL analysert i denne oppgaven har muligens vokst på en kombinasjon av brød og andre matvarer, mest sannsynlig grønnsaker og frukt. Dette fordi EPA og DHA ble også observert i studien til Spranghers et al., (2017) hos de larvene som hadde vokst på grønnsaker, og mengdene av disse fettsyrene korresponderer godt med funnene i denne oppgaven.



Figur 11: Viser gjennomsnittlige prosentvise verdier av de mest vanlige fettsyrene som finnes i SSFL.

Fra **tabell 8** kan en se høye verdier for SFA (72,4 %), og lave verdier av MUFA (18,0 %) og PUFA (9,6 %). Lignende tall har blitt rapportert i en rekke studier, der alle har vist laurinsyre som den mest dominerende fettsyren (Hadj Saadoun et al., 2020; X. Li et al., 2022; Spranghers et al., 2017). Undersøkelsene til Liu et al., (2017) viste høyere mengder SFA jo lengre SSFL hadde kommet i livssyklusen. Dette kan være en indikasjon på at det er en måte å lagre energi på for senere livsfase, siden ifølge Tomberlin & Sheppard, (2002) trenger fullvokste fluer ikke å spise. Mettede fettsyrer er mindre utsatt for oksidasjon og dette kan sannsynligvis være årsaken til lagring av energi i form av SFA (Ewald et al., 2020). Høye verdier av SFA kan også være en fordel med tanke på produktstabilitet, siden oksidasjon og dermed harskning kan forekomme i produkter med høye verdier av umettede fettsyrer.

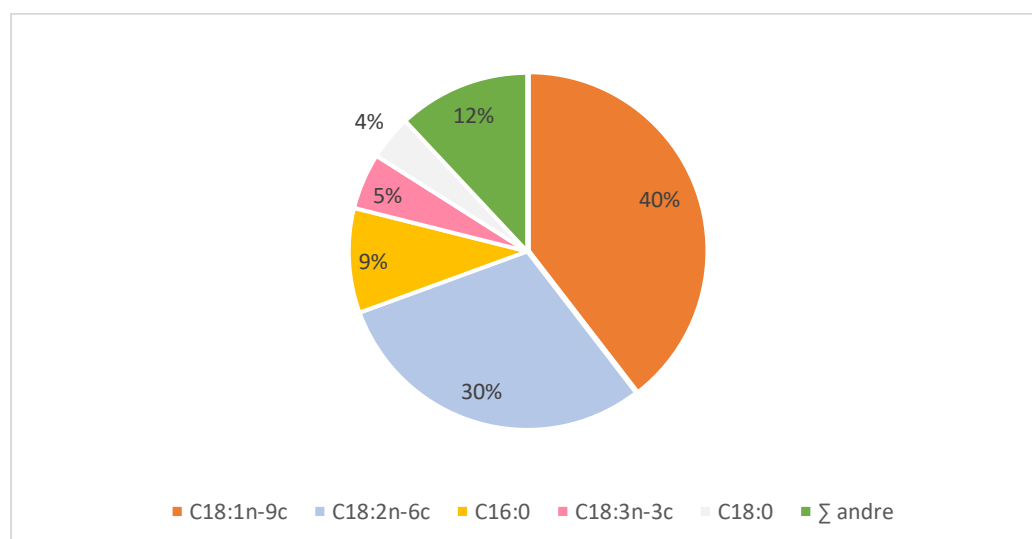
Omega-6 og omega-3 fettsyrene utgjør hhv. 8,3 og 1,6 %, noe som gir et n-6/n-3 forhold på 5,1. Dette er litt høyere enn det som er anbefalt. Generelt er anbefalingen at n-6/n-3 forholdet bør være under 4,1, men noen mener at et forhold på 5-10 er også gunstig (Ma et al., 2016; Simopoulos, 1991). På grunn av den store mengden SFA i SSFL, blir forholdet på PUFA/SFA kun 0,13. Derfor kan direkte konsum av SSFL ikke være gunstig for menneskehelsen. Det har vist at inkludering av SSFL (opp til 40 %) i fiskefôr hadde ingen påvirkning på bl.a. overlevelse, vekst og fysiske kvalitetsparametere i ryggfilet hos regnbueørret, men viste generelt en forverring av FA-profilen, spesielt høyere verdier av laurinsyre, MA og SFA ble observert i filetene (Renna et al., 2017).

Tabell 8. Viser gjennomsnittlige mengder i mg/g og prosent av tørrvekten til SSFL, larvefôr og i melorm for ulike fettsyreklasser.

Fettsyre klasse	Gjennomsnitt ± S.D (mg/g d.w)		
	SSFL	Larvefôr	Melorm
SFA	267,15 ± 11,64 (72,4 %)	14,28 ± 3,36 (15,9 %)	59,53 ± 1,12 (23,9 %)
MUFA	66,43 ± 4,87 (18,0 %)	41,03 ± 10,36 (45,7 %)	94,72 ± 1,98 (38,0 %)
PUFA	35,42 ± 2,75 (9,6 %)	34,40 ± 8,58 (38,3 %)	95,05 ± 2,01 (38,1 %)
n-6	30,56 ± 2,36 (8,3 %)	27,97 ± 6,90 (31,2 %)	91,99 ± 1,95 (36,9 %)
n-3	5,95 ± 0,46 (1,6 %)	6,40 ± 1,67 (7,1 %)	2,89 ± 0,03 (1,2 %)

4.5 De mest dominante fettsyrene i larvefôr

OA, LA og PA er de tre FAs som utgjør nesten 80 % av alle fettsyrene i larvefôr. Her er andelen av sum andre FAs litt høyere enn både SSFL og melorm (12 % mot hhv. 8 og 5 %). I tillegg utgjør ALA 5 %, noe som betyr at fettsyresammensetningen er mer variert i larvefôret. Andelen MUFA og PUFA utgjør hhv. 45,7 og 38,3 %. Dette er mye høyere enn det som observeres i SSFL, og mengden SFA er mye lavere (15,9 %). Siden n-6 og n-3 består av hhv. 31,2 og 7,1 % gir dette et n-6/n-3 forhold på 4,4, noe som blir ansett på som god. Forholdet på PUFA/SFA er beregnet til å være 2,4. Dette er noe høyere enn det som er gunstig (≈ 1), men fortsatt ganske nær. Det virker som larvefôret har totalt sett godt FA-profil, der det består av både ALA, EPA og DHA og lite SFA, se **figur 12** og **tabell 7** og **8**.



Figur 12: Viser gjennomsnittlige prosentvise verdier av de mest vanlige fettsyrene som finnes i larvefôr.

Slik det er nevnt tidligere er fettsyreprofilen til larvefôret variert og inneholder gunstige mengder av MUFA, PUFA og omega-3 fettsyrene EPA og DHA. Men likevel er fettsyreprofilen til SSFL litt dårligere enn larvefôret, noe som også har vært tilfellet i en rekke studier diskutert i oppgaven. Derfor kan det være god ide å gi et tilskudd av de gunstige FAs i dyre- og/eller fiskefôr, dersom SSFL brukes som fôr.

5 Konklusjon og videre arbeid

Melorm analysert i denne oppgaven manglet de gunstige fettsyrene som EPA og DHA, men hadde lavere mengder av SFA. Mens de svarte soldatfluelarvene inneholdt en stor andel SFA, der mesteparten av SFA kom fra laurinsyre. Denne fettsyren finnes også i larvefôret, men kun

i mindre mengder. Fettsyrene som ble funnet i larvefôret gjenspeiles godt i larvene, med noen få unntak. Generelt har larvene klart å syntetisere mye mer av nesten alle fettsyrene som finnes i larvefôret, noe som også kunne forutsees fra det totale lipidinnholdet der det totale lipidinnholdet i SSFL var nesten fem ganger mer enn larvefôret. Selv om direkte konsum av disse insektene ikke er gunstig for menneskehelse er disse fortsatt god kilde til proteiner og energi i form av fett. Derfor kan disse insektene utnyttes i både dyre- og fiskefôr, men da bør et tilskudd av de gunstige FAs som EPA og DHA gjøres i fiske- og dyrefôret. Disse insektene er fortsatt gode ressurser som kan omdanne matavfall til verdifull biomasse og forhåpentligvis på den måten drive matproduksjonen mot mer bærekraftighet og sirkulærøkonomi.

Videre studier er viktig og bør gjennomføres for å sikre at SSFL er trygg for menneske og dyrehelse. Det gjelder spesielt deteksjon og bestemmelse av tungmetaller, som kan gjøres ved bruk av en ICP-MS. I tillegg vil det være gunstig å gjennomføre fôrforsøk med ulike konsentrasjoner av SSFL i for eksempel fiskefôr for oppdrettsfisk, samt utføre lipidanalyse av både fôret og fisken for å belyse hvordan lipidsammensetningen blir gjenspeilet.

6 Referanser

- Adam, O., Wolfram, G., & Zöllner, N. (1988). Effect of alpha-linolenic acid in the human diet on linoleic acid metabolism and prostaglandin biosynthesis. *Journal of Lipid Research*, 27(4), 421–426. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)38815-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)38815-5)
- Akoh, C. C., & Min, D. B. (Eds.). (2008). *Food Lipids*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420046649>
- Anusha, S., & Negi, P. S. (2022). Edible insects and gut health. In *Nutrition and Functional Foods in Boosting Digestion, Metabolism and Immune Health* (pp. 523–539). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821232-5.00015-X>
- Baiano, A. (2020). Edible insects: An overview on nutritional characteristics, safety, farming, production technologies, regulatory framework, and socio-economic and ethical implications. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 35–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.040>
- Belghit, I., Waagbø, R., Lock, E.-J., & Liland, N. S. (2019). Insect-based diets high in lauric acid reduce liver lipids in freshwater Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition*, 25(2), 343–357. <https://doi.org/10.1111/anu.12860>

- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Boland, M. J., Rae, A. N., Vereijken, J. M., Meuwissen, M. P. M., Fischer, A. R. H., van Boekel, M. A. J. S., Rutherfurd, S. M., Gruppen, H., Moughan, P. J., & Hendriks, W. H. (2013). The future supply of animal-derived protein for human consumption. *Trends in Food Science & Technology*, 29(1), 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.07.002>
- Brondz, I. (2016). Fatty Acids. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.13780-1>
- Christie, W. W. (1998). Gas chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acids. *Lipids*, 33(4), 343–353. <https://doi.org/10.1007/s11745-998-0214-x>
- Christie, W. W. (2010). *Lipid analysis: Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids* (4th ed). Bridgewater: The Oily Press.
- David J. Hart, Christopher M. Hadad, Leslie E. Craine, & Harold Hart. (2012). *Organic Chemistry: A Brief Course* (13th ed., pp. 287–299). Mary Finch .
- de Lorgeril, M., & Salen, P. (2004). Alpha-linolenic acid and coronary heart disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 14(3), 162–169. [https://doi.org/10.1016/S0939-4753\(04\)80037-1](https://doi.org/10.1016/S0939-4753(04)80037-1)
- De Smet, J., Wynants, E., Cos, P., & Van Campenhout, L. (2018). Microbial Community Dynamics during Rearing of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) and Impact on Exploitation Potential. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(9). <https://doi.org/10.1128/AEM.02722-17>
- Devle, H., Rukke, E. O., Naess-Andresen, C. F., & Ekeberg, D. (2009). A GC - Magnetic sector MS method for identification and quantification of fatty acids in ewe milk by different acquisition modes. *Journal of Separation Science*, 32(21). <https://doi.org/10.1002/jssc.200900455>
- Dewick, P. M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach* (3rd Edition). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470742761>
- Djuricic, I., & Calder, P. C. (2021). Beneficial Outcomes of Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Human Health: An Update for 2021. *Nutrients*, 13(7), 2421. <https://doi.org/10.3390/nu13072421>
- Edmond d. H. & Vincent S. (2007). Mass Spectrometry: Principles and Applications. In *Mass Spectrometry: Principles and Applications* (Third Edition). John Wiley & Sons .
- Eivind Molversmyr. (2020). *Identification and quantitation of lipids in Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*), wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*), and salmon feed by GC-MS*. Norwegian University of Life Sciences.
- Ewald, N., Vidakovic, A., Langeland, M., Kiessling, A., Sampels, S., & Lalander, C. (2020). Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) – Possibilities and

- limitations for modification through diet. *Waste Management*, 102, 40–47.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.014>
- Finke, M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21(3), 269–285.
<https://doi.org/10.1002/zoo.10031>
- 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(1), 497–509.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Folkehelseinstituttet. (2020, April 22). *Stor melbille* .
<https://www.fhi.no/nettpub/skadedyrveilederen/biller/stor-melbille/>
- Gutnikov, G. (1995). Fatty acid profiles of lipid samples. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 671(1–2), 71–89. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00116-Z](https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00116-Z)
- Hadj Saadoun, J., Montevecchi, G., Zanasi, L., Bortolini, S., Macavei, L. I., Masino, F., Maistrello, L., & Antonelli, A. (2020). Lipid profile and growth of black soldier flies (<sc> *Hermetia illucens* </sc> , Stratiomyidae) reared on by-products from different food chains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9), 3648–3657.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.10397>
- Han, J. R., Deng, B., Sun, J., Chen, C. G., Corkey, B. E., Kirkland, J. L., Ma, J., & Guo, W. (2007). Effects of dietary medium-chain triglyceride on weight loss and insulin sensitivity in a group of moderately overweight free-living type 2 diabetic Chinese subjects. *Metabolism*, 56(7), 985–991. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2007.03.005>
- Hans-Dieter Belitz, W. G. P. S. (2009). *Food Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg.
<https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7>
- Hermetia Bio Science. (2023). *Hermetia Illucens (The Black Soldier Fly)*.
<https://hermetiabioscience.com/page/hermetia-illucens-the-black-soldier-fly>
- Horrocks, L. A., & Yeo, Y. K. (1999). HEALTH BENEFITS OF DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA). In *Pharmacological Research* (Vol. 40, Issue 3).
- Jajic, I., Popovic, A., Urosevic, M., Krstovic, S., Petrovic, M., Guljas, D., & Samardzic, M. (2020). Fatty and amino acid profile of mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.). *Biotechnology in Animal Husbandry*, 36(2), 167–180.
<https://doi.org/10.2298/BAH2002167J>
- James M. Miller. (2009). *Chromatography: Concepts & Contrasts* (Second Edition). John Wiley & Sons.
- Jennifer Turley, & Joan Thompson. (2015). *Nutrition: Your Life Science* (Second Edition). CENAGE Learning.

- Jones, L. D., Cooper, R. W., & Harding, R. S. (1972). Composition of Mealworm *Tenebrio molitor* Larvae. *The Journal of Zoo Animal Medicine*, 3(4), 34. <https://doi.org/10.2307/20094161>
- Kaur, N., Chugh, V., & Gupta, A. K. (2014). Essential fatty acids as functional components of foods- a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2289–2303. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0677-0>
- Lapeña, D., Kosa, G., Hansen, L. D., Mydland, L. T., Passoth, V., Horn, S. J., & Eijsink, V. G. H. (2020). Production and characterization of yeasts grown on media composed of spruce-derived sugars and protein hydrolysates from chicken by-products. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-1287-6>
- Li, D., & Sinclair, A. J. (2002). Macronutrient innovations: The role of fats and sterols in human health. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 11, S155–S162. <https://doi.org/10.1046/j.1440-6047.11.s6.4.x>
- Li, M., Yang, L., Bai, Y., & Liu, H. (2014). Analytical Methods in Lipidomics and Their Applications. *Analytical Chemistry*, 86(1), 161–175. <https://doi.org/10.1021/ac403554h>
- Li, X., Dong, Y., Sun, Q., Tan, X., You, C., Huang, Y., & Zhou, M. (2022). Growth and Fatty Acid Composition of Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) Larvae Are Influenced by Dietary Fat Sources and Levels. *Animals*, 12(4), 486. <https://doi.org/10.3390/ani12040486>
- Lievens, S., Poma, G., De Smet, J., Van Campenhout, L., Covaci, A., & Van Der Borght, M. (2021). Chemical safety of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*), knowledge gaps and recommendations for future research: a critical review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7(4), 383–396. <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0081>
- Liu, X., Chen, X., Wang, H., Yang, Q., ur Rehman, K., Li, W., Cai, M., Li, Q., Mazza, L., Zhang, J., Yu, Z., & Zheng, L. (2017). Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldier fly. *PLOS ONE*, 12(8), e0182601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182601>
- Ma, X., Jiang, Z., & Lai, C. (2016). Significance of Increasing n-3 PUFA Content in Pork on Human Health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(5), 858–870. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.850059>
- Miličević, D., Vranić, D., Mašić, Z., Parunović, N., Trbović, D., Nedeljković-Trailović, J., & Petrović, Z. (2014). The role of total fats, saturated/unsaturated fatty acids and cholesterol content in chicken meat as cardiovascular risk factors. *Lipids in Health and Disease*, 13(1), 42. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-42>
- Morrison, W. R., & Smith, L. M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride–methanol. *Journal of Lipid Research*, 5(4), 600–608. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)40190-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)40190-7)
- NOSAKA, N., SUZUKI, Y., NAGATOISHI, A., KASAI, M., WU, J., & TAGUCHI, M. (2009). Effect of Ingestion of Medium-Chain Triacylglycerols on Moderate- and High-

- Intensity Exercise in Recreational Athletes. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 55(2), 120–125. <https://doi.org/10.3177/jnsv.55.120>
- Oonincx, D. G. A. B., van Itterbeeck, J., Heetkamp, M. J. W., van den Brand, H., van Loon, J. J. A., & van Huis, A. (2010). An Exploration on Greenhouse Gas and Ammonia Production by Insect Species Suitable for Animal or Human Consumption. *PLoS ONE*, 5(12), e14445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014445>
- Paul, A., Frederich, M., Megido, R. C., Alabi, T., Malik, P., Uyttenbroeck, R., Francis, F., Blecker, C., Haubruge, E., Lognay, G., & Danthine, S. (2017). Insect fatty acids: A comparison of lipids from three Orthopterans and *Tenebrio molitor* L. larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(2), 337–340. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.02.001>
- Quehenberger, O., Armando, A. M., & Dennis, E. A. (2011). High sensitivity quantitative lipidomics analysis of fatty acids in biological samples by gas chromatography–mass spectrometry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1811(11), 648–656. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.07.006>
- Renna, M., Schiavone, A., Gai, F., Dabbou, S., Lussiana, C., Malfatto, V., Prearo, M., Capucchio, M. T., Biasato, I., Biasibetti, E., De Marco, M., Brugiapaglia, A., Zoccarato, I., & Gasco, L. (2017). Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0191-3>
- Saini, R. K., Prasad, P., Shang, X., & Keum, Y.-S. (2021). Advances in Lipid Extraction Methods—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13643. <https://doi.org/10.3390/ijms222413643>
- Siddiqui, S. A., Ristow, B., Rahayu, T., Putra, N. S., Widya Yuwono, N., Nisa', K., Mategeko, B., Smetana, S., Saki, M., Nawaz, A., & Nagdalian, A. (2022). Black soldier fly larvae (BSFL) and their affinity for organic waste processing. *Waste Management*, 140, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.12.044>
- Simopoulos, A. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54(3), 438–463. <https://doi.org/10.1093/ajcn/54.3.438>
- Siow, H. Sen, Sudesh, K., Murugan, P., & Ganesan, S. (2021). Mealworm (*Tenebrio molitor*) oil characterization and optimization of the free fatty acid pretreatment via acid-catalyzed esterification. *Fuel*, 299, 120905. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120905>
- Sprangers, T., Ottoboni, M., Klootwijk, C., Owyn, A., Deboosere, S., De Meulenaer, B., Michiels, J., Eeckhout, M., De Clercq, P., & De Smet, S. (2017). Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2594–2600. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8081>

- Tomberlin, J. K., & Sheppard, D. C. (2002). Factors Influencing Mating and Oviposition of Black Soldier Flies (Diptera: Stratiomyidae) in a Colony. *Journal of Entomological Science*, 37(4), 345–352. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-37.4.345>
- Turck, D., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., Kearney, J., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J., Naska, A., Pelaez, C., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Cubadda, F., Frenzel, T., Heinonen, M., Marchelli, R., ... Knutsen, H. K. (2021). Safety of dried yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 19(1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6343>
- Wathne, A. M., Devle, H., Naess-Andresen, C. F., & Ekeberg, D. (2018). Identification and Quantification of Fatty Acids in *T. viridissima*, *C. biguttulus*, and *C. brunneus* by GC-MS. *Journal of Lipids*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/3679247>
- William W. Christie. (2021). *Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis*. American Oil Chemists' Society (AOCS).
- William W. Christie, & Xianlin Han. (2010). *Lipid Analysis: Isolation, Separation, Identification and Lipidomic Analysis* (Fourth edition, Vol. 24). The Oily Press Lipid Library.
- Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R., & Langton, M. (2016). Yellow Mealworm Protein for Food Purposes - Extraction and Functional Properties. *PLOS ONE*, 11(2), e0147791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147791>
- Zulkanain, I. N., Ab-Rahim, S., Camalxaman, S. N., & Mazlan, M. (2020). Medium-chain fatty acids in nutritional therapy: A review. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 16(3), 318–323. <https://doi.org/10.11113/mjfas.v16n3.1610>
- Zulkifli, N. F. N. M., Seok-Kian, A. Y., Seng, L. L., Mustafa, S., Kim, Y.-S., & Shapawi, R. (2022). Nutritional value of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae processed by different methods. *PLOS ONE*, 17(2), e0263924. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263924>

7 Vedlegg

Vedlegg I: standarder

Vedlegg II: RRF-verdier

Vedlegg III: Fettsyreprofilene til alle tre analyserte prøvematriksene

Vedlegg I: standarder

Internstandard

Tabell 9. De to intern standardene som ble brukt for å kvantifisere fettsyrene i melorm.

Intern standard	Molekylvekt (g/mol)	Konsentrasjon (mg/mL)	Volum IS brukt (mL)	Mengde (mg)	Mol IS	Mol fettsyre
C11:0 TG	596,9	0,1	0,6	0,06	$1,059 \cdot 10^{-7}$	$3,178 \cdot 10^{-7}$
C19:0 TG	933,6	1,0	1,7	1,7	$1,819 \cdot 10^{-6}$	$5,457 \cdot 10^{-6}$

Tabell 10. Internstandardene som ble brukt for kvantifisering av fettsyrene i svarte soldatfluelarvene.

Intern standard	Molekylvekt (g/mol)	Konsentrasjon (mg/mL)	Volum IS brukt (mL)	Mengde (mg)	Mol IS	Mol fettsyre
C11:0 TG	596,9	0,15	1,0	0,15	$2,49 \cdot 10^{-7}$	$7,46 \cdot 10^{-7}$
C19:0 TG	933,6	5,0	1,0	5,0	$5,36 \cdot 10^{-6}$	$1,61 \cdot 10^{-5}$

Tabell 11. Internstandardene som ble brukt for kvantifisering fettsyrene som fantes lite av i SSFL. Toppene var for små til å kunne kvantifiseres da første gangen SSFL ble analysert, og derfor ble de analysert to ganger.

Intern standard	Molekylvekt (g/mol)	Konsentrasjon (mg/mL)	Volum IS brukt (μ L)	Mengde (mg)	Mol IS	Mol fettsyre
C11:0 TG	596,9	0,15	500	0,07	$1,24 \cdot 10^{-7}$	$3,73 \cdot 10^{-7}$
C19:0 TG	933,6	5,0	100	0,5	$5,36 \cdot 10^{-7}$	$1,61 \cdot 10^{-6}$

Tabell 12. Internstandardene som ble brukt for kvantifisering av fettsyrene i larvefôr.

Intern standard	Molekylvekt (g/mol)	Konsentrasjon (mg/mL)	Volum IS brukt (μ L)	Mengde (mg)	Mol IS	Mol fettsyre
C11:0 TG	596,9	0,15	500	0,07	$1,24 \cdot 10^{-7}$	$3,73 \cdot 10^{-7}$
C19:0 TG	933,6	5,0	100	0,5	$5,36 \cdot 10^{-7}$	$1,61 \cdot 10^{-6}$

Referansestandard

Tabell 13. Viser Restek food industry FAME-mix standarden som ble brukt som referansestandard i identifisering av fettsyreene i melorm, SSFL og larvefôr. I tillegg var det lagt til tre standarder: C7:0, C9:0 og C19:0 metylestere til en total av 40 standarder.

FAME	Systematisk navn	Retensjonstid (min)	Vekt %
C4:0	Butansyre ME	5,7	4,0
C6:0	Heksansyre ME	7,6	4,0
C7:0	Heptansyre ME	8,3	-
C8:0	Oktansyre ME	8,9	4,0
C9:0	Nonansyre ME	9,5	-
C10:0	Dekansyre ME	10,2	4,0
C11:0	Undekansyre ME	11,1	2,0
C12:0	Dodekansyre ME	12,4	2,0
C13:0	Tridekansyre ME	14,2	2,0
C14:0	Tetradekansyre ME	16,8	4,0
C14:1	<i>cis</i> -9-Tetradekansyre ME	19,1	2,0
C15:0	Pentadekansyre ME	20,5	2,0
C15:1	<i>cis</i> -10-Pentadekansyre ME	23,7	2,0
C16:0	Heksadekansyre ME	25,8	6,0
C16:1	<i>cis</i> -9-Heksadekansyre ME	29,3	2,0
C17:0	Heptadekansyre ME	33,4	2,0
C17:1	<i>cis</i> -10-Heptadekansyre ME	37,6	2,0
C18:0	Oktadekansyre ME	41,4	4,0
C18:1	<i>trans</i> -9-Oktadekansyre ME	43,7	2,0
C18:1	<i>cis</i> -9-Oktadekansyre ME	44,6	4,0
C18:2	<i>all-trans</i> -9,12-Oktadekadiensyre ME	49,3	2,0
C19:0	<i>all-cis</i> -9,12-Oktadekadiensyre ME	50,5	-
C18:2	<i>all-cis</i> -6,9,12-Oktadekatriensyre ME	51,5	2,0
C18:3	<i>all-cis</i> -9,12,15-Oktadekatriensyre ME	57,2	2,0
C18:3	Nonadekansyre ME	62,0	2,0
C20:0	Eikosansyre ME	63,0	4,0
C20:1	<i>cis</i> -11-Eikosensyre ME	68,0	2,0
C21:0	<i>all-cis</i> -11,14-Eikosadiensyre ME	76,3	2,0
C20:2	<i>all-cis</i> -8,11,14-Eikosatriensyre ME	76,6	2,0
C20:3	<i>all-cis</i> -11,14,17-Eikosatriensyre ME	79,9	2,0
C20:4	<i>all-cis</i> -5,8,11,14-Eikosatetraensyre ME	82,4	2,0

C20:3	<i>all-cis</i> -5,8,11,14,17-Eikosapentaensyre ME	82,8	2,0
C22:0	Heneikosansyre ME	83,6	4,0
C22:1	Dokosansyre ME	86,1	2,0
C20:5	<i>cis</i> -13-Dokosensyre ME	89,8	2,0
C23:0	<i>all-cis</i> -13,16-Dokosadiensyre ME	91,9	2,0
C22:2	<i>all-cis</i> -4,7,10,13,16,19-Dokosaheksaensyre ME	92,2	2,0
C24:0	Trikosansyre ME	96,3	4,0
C24:1	Tetrakosansyre ME	96,6	2,0
C22:6	<i>cis</i> -15-Tetrakosensyre ME	97,5	2,0

ME = metylester

Tabell 14. Viser alle de andre standardene i tillegg til Restek food industry FAME-mix (tabell 13) som ble brukt for identifisering av FAMES i SSFL og larvefôr.

FAME	Systematisk navn	Retensjonstid (min)
C12:0 (11-metyl)	11-metyl-dodekansyre ME	13,3
C12:0 (10-metyl)	10-metyl-dodekansyre ME	13,6
C13:0 (12-metyl)	12-metyl-tridekansyre ME	15,4
C14:1n-5t	<i>trans</i> -9-tetradekansyre ME	18,4
C14:0 (13-metyl)	13-metyl-tetradekansyre ME	18,6
C14:0 (12-metyl) anteiso	12-metyl-tetradekansyre ME	19,1
C15:0 (14-metyl)	14-metyl-pentadekansyre ME	22,9
C15:0 (13-metyl) anteiso	13-metyl-pentadekansyre ME	23,9
C16:1n-7t	<i>trans</i> -9-heksadekansyre ME	28,4
C16:1n-9c	<i>cis</i> -7-heksadekansyre ME	28,5
C16:0 (15-metyl) iso	15-metyl-heksadekansyre ME	29,4
C16:0 (14-metyl)	14-metyl-heksadekansyre ME	30,8
C16:0 (3,7,11,15-tetrametyl)	3,7,11,15-tetrametyl-heksadekansyre ME	33,7
C17:0 (16-metyl) iso	16-metyl-heptadekansyre ME	37,8
C17:0 (15-metyl) anteiso	15-metyl-heptadekansyre ME	38,9
C18:1n-8t	<i>trans</i> -10-oktadekansyre ME	43,8
C18:1n-7t	<i>trans</i> -11-oktadekansyre ME	43,9
C18:1n-7c	<i>cis</i> -11-oktadekansyre ME	45,1
C18:1n-5t	<i>trans</i> -13-oktadekansyre ME	46,6
C18:2n-6t	<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -12-oktadekadiensyre ME	50,4

C19:1n-9c	<i>cis</i> -10-nonadekansyre ME	54,4
C18:3n-6c	<i>All-cis</i> -5,9,12-oktadekatriensyre ME	54,9
C20:1n-11c	<i>cis</i> -9-eikosensyre ME	67,2
C18:4n-3c	<i>All-cis</i> -6,9,12-15-oktadekatetraensyre ME	69,8
C20:3n-9c	<i>All-cis</i> -5,8,11-eikosatriensyre ME	77,3
C20:4n-3c	<i>All-cis</i> -8,11,14,17-eikosatetraensyre ME	86,4
C22:4n-6c	<i>All-cis</i> -7,10,13,16-eikosatetraensyre ME	96,2
C22:5n-3c	<i>All-cis</i> -7,10,13,16,19-dokosapentaensyre ME	97,2
C26:0	Heksakosansyre ME	98,2

ME = metylester

Vedlegg II: RRF-verdier

Tabell 15. RRF-verdiene som ble brukt til kvantifisering av FA funnet i melorm, SSFL og larvefôr samt molekylvektene til disse. RRF-verdi som ikke er tidligere beregnet er også merket i tabellen med ^{a)}.

FAME	RRF-verdi	FA molekylvekt (g/mol)
C6:0	0,65	116,16
C8:0	0,95	144,21
C9:0	1,00	158,23
C10:0	1,08	172,26
C10:1n-6t ^{a)}	1,08	170,24
C11:0	1,00	186,29
C11:1n-8t ^{a)}	1,00	184,27
C12:0	1,19	200,31
C12:1n-7c ^{a)}	1,19	198,3
C9:0 (syklopropan) ^{a)}	1,19	198,3
C12:0 (10-metyl) ^{a)}	1,11	215,35
C13:0	1,11	2014,34
C14:0	1,25	228,36
C13:0 (4,8,12-trimetyl) ^{a)}	1,14	259,44
C14:1n-3c ^{a)}	1,10	226,35
C14:0 (13-metyl) ^{a)}	1,14	243,4
C14:1n-5c	1,10	226,35
C15:0	1,14	242,39
C15:1n-5c	1,00	240,40
C16:0	1,09	256,42
C16:1n-5c ^{a)}	0,84	254,4
C16:1n-9c ^{a)}	0,84	254,4
C16:1n-7c	0,84	254,4
C16:0 (14-metyl) ^{a)}	0,91	271,45
C17:0	0,91	270,44
C16:2n-4t ^{a)}	0,84	252,38
C16:2n-6t ^{a)}	0,84	252,38
C17:1n-7c	0,87	268,43
C18:0	0,99	284,47
C18:1n-9c	1,03	282,45
C18:1n-5t ^{a)}	1,03	282,45

C18:1n-5c ^{a)}	1,03	282,48
C18:2 ukjent isomer ^{a)}	0,87	280,48
C18:1n-7c ^{a)}	1,03	282,45
C19:0	1,00	298,49
C18:2n-6c	1,20	280,44
C19:1n-9c ^{a)}	1,00	296,48
C18:3n-6c ^{a)}	0,99	278,42
C18:3n-6c	0,99	278,42
C18:3n-3c	1,16	278,42
C20:0	1,16	312,54
C20:1n-9c	1,01	310,5
C20:1n-11c ^{a)}	1,01	310,5
C18:4n-3c ^{a)}	1,16	276,4
C20:2n-6c	1,04	308,5
C20:3n-6c	0,97	306,47
C20:4n-6c	1,33	304,46
C20:3n-3c	1,21	306,47
C22:0	1,06	340,57
C22:1n-11c ^{a)}	1,07	338,56
C22:1n-9c	1,07	338,56
C20:4n-3c ^{a)}	1,33	304,46
C20:5n-3c	1,31	302,44
C24:0	1,40	368,62
C24:1n-9c	1,24	366,61
C22:5n-3c ^{a)}	1,26	330,49
C22:6n-3c	1,26	328,48
C26:0 ^{a)}	1,40	396,68

^{a)} Ikke tidligere beregnet RRF-verdi

Vedlegg III: Fettsyreprofilene til alle tre analyserte prøvematriksene

Fettsyreprofilen til melormene

Tabell 16. Sammendrag av tre forberedte prøver på 0,501, 0,504 og 0,503 g for melorm. Hver prøve ble igjen delt inn i tre replikater og de gjennomsnittlige verdiene for areal, retensjonstid, mengde og standardavvik er oppgitt. Gjennomsnittlig mengde og standardavvik er oppgitt i mg/g av tørrvekten. I tillegg er de beste resultatene fra NIST 08 biblioteksøk for matchfaktor og sannsynlighet er oppgitt.

FAME	Gjennomsnitt areal	Gjennomsnitt RT	Matchfactor	Revers matchfactor	Probability (%)	Gjennomsnitt (mg/g d.w)	S.D (mg/g d.w)
C8:0	8908	8,9	872	904	78,9	0,0051	0,00028
C9:0	21385	9,5	862	899	66,8	0,0127	0,00145
C10:0	39492	10,2	895	899	71,9	0,0236	0,00041
C12:0	169848	11,2	902	903	71,2	0,5919	0,00565
C13:0	942282	12,4	928	928	79,4	0,1373	0,00193
C14:0	190669	14,2	933	933	74,6	7,6104	0,11065
C14:1n-5c	270574	18,6	756	799	7,8	0,0384	0,00467
C15:0	50726	19,1	941	941	77,8	0,8100	0,01389
C15:1n-5c	1021000	20,4	867	914	38,7	0,1907	0,00340
C16:0	212388	21,8	944	944	86,0	39,9049	0,73117
C16:1n-9c	107049366	25,8	857	918	32,0	1,1876	0,00956
C16:1n-7c	2477742	28,6	942	943	36,6	3,4163	0,04861
C17:0	7118439	29,3	881	881	63,4	0,5566	0,00582
C16:2n-6c	1182135	33,1	884	893	36,1	0,6989	0,00410
C17:1n-7c	1470189	34,7	931	932	57,6	0,2313	0,00455
C18:0	474276	37,2	927	927	77,7	9,7742	0,24216
C18:1n-9c	21466074	41,1	948	948	16,2	87,8711	1,87334

C18:1n-5c	202198648	44,7	866	894	9,2	1,1189	0,02187
C18:2*	2571509	45,2	Ukjent	Ukjent	Ukjent	0,1695	0,01873
C18:2n-6c	12379186	50,0	949	949	37,1	91,1530	1,94622
C20:0	324386	50,4	549	749	6,9	0,0988	0,00869
C18:3n-3c	246139774	51,9	879	889	42,9	2,8921	0,03146
C20:1n-9c	230412	61,5	903	906	25,5	0,2607	0,00338
C20:2n-6c	7610654	62,2	896	900	42,2	0,1386	0,00468

* Ukjent isomer

Fettsyreprofilen til svarte soldatfluelarvene

Tabell 17. Denne tabellen er resultatet fra to separate forberedelser. De fleste av verdiene stammer fra første forberedelsen av tre prøver på 0,502, 0,507 og 0,501 g for SSFL. Noen av verdiene stammer fra den andre forberedelsen av tre prøver på 0,503, 0,502 og 0,503 g, merket med ^{A)} i tabellen. Hver prøve ble igjen delt inn i tre replikater og de gjennomsnittlige verdiene for areal, retensjonstid, mengde og standardavvik er oppgitt. Gjennomsnittlig mengde og standardavvik er oppgitt i mg/g av tørrvekten. I tillegg er de beste resultatene fra NIST 08 biblioteksøk for matchfaktor og sannsynlighet er oppgitt. Blank og prøven uten IS er ikke inkludert her.

FAME	Gjennomsnitt Areal	Gjennomsnitt RT	Matchfactor	Revers matchfactor	Probability (%)	Gjennomsnitt (mg/g d.w)	S.D (mg/g d.w)
C8:0	16039	8,9	896	905	79,1	0,025	0,003
C9:0	27472	9,5	906	907	76,3	0,044	0,002
C10:0	2174930	10,2	939	939	78,2	3,557	0,107
C10:1n-6t ^{A)}	119322	10,6	869	910	64,2	0,017	0,002
C11:0	145044	11,1	916	920	76,3	0,276	0,001
C11:1n-8t ^{A)}	109918	11,7	803	846	37,5	0,018	0,002
C12:0	104645288	12,4	905	905	74,0	180,581	7,318
C12:1n-7c	288122	13,1	924	925	80,8	0,489	0,059
C9:0 (syklopropan)	87430	13,4	883	904	45,7	0,149	0,016
C12:0 (10-metyl)	36110	13,6	766	822	7,2	0,071	0,012
C13:0 ^{A)}	166983	14,2	857	888	56,5	0,030	0,007
C14:0	22589502	16,8	941	941	76,4	42,177	1,090
C14:1n-3c	474776	17,8	835	845	19,3	0,999	0,055
C14:0 (13-metyl)	81733	18,5	nd	nd	nd	0,178	0,023
C14:1n-5c	371721	19,1	940	941	67,2	0,783	0,036
C15:0	100527	20,4	919	921	66,1	0,219	0,012
C16:0	41068931	25,8	931	931	77,4	33,727	2,472
C16:1n-5c	47139	27,4	856	918	19,0	0,050	0,007
C16:1n-9c	1151542	28,6	945	945	38,1	1,215	0,087

C16:1n-7c	9469897	29,3	951	951	34,1	9,968	0,751
C17:0	126725	33,2	854	864	30,8	0,131	0,029
C16:2n-6t	138217	34,6	884	898	38,3	0,145	0,012
C17:1n-7c	93271	37,2	879	884	34,1	0,100	0,008
C18:0	5910910	41,1	917	917	67,6	5,900	0,418
C18:1n-9c	54039154	44,6	950	950	19,7	51,607	3,743
C18:1n-5t	752959	45,2	942	943	17,3	0,718	0,050
C19:0	9214547	50,2	916	918	66,9	9,525	0,047
C18:2n-6c	37264556	51,6	937	937	33,1	30,441	2,331
C19:1n-9c	68170	53,3	846	853	12,7	0,071	0,009
C18:3n-6c ^{A)}	182258	57,3	752	792	4,1	0,039	0,010
C18:3n-3c	4226568	62,1	933	934	56,1	3,521	0,254
C20:0 ^{A)}	1222868	62,7	844	864	37,5	0,242	0,058
C20:1n-9c	218205	67,5	769	862	11,5	0,233	0,024
C20:1n-11c ^{A)}	352962	67,1	894	899	22,0	0,921	0,223
C18:4n-3c	42864	69,9	867	941	35,2	0,036	0,006
C20:2n-6c	27957	76,4	804	850	7,3	0,029	0,006
C20:3n-6c ^{A)}	87493	79,9	681	761	2,9	0,021	0,010
C20:4n-6c	36980	82,3	825	846	12,6	0,030	0,003
C20:3n-3c ^{A)}	123090	82,8	656	703	0,9	0,024	0,007
C22:0 ^{A)}	301336	83,4	776	827	42,8	0,073	0,021
C22:1n-11c	48200	85,0	862	911	26,9	0,053	0,004
C22:1n-9c ^{A)}	117187	86,0	696	746	5,0	0,029	0,008
C20:4n-3c ^{A)}	429987	86,6	778	873	7,2	0,075	0,017
C20:5n-3c	982740	89,8	946	946	52,9	0,786	0,060
C24:0 ^{A)}	241998	96,2	786	847	35,7	0,045	0,009

C22:5n-3c ^{A)}	559854	97,2	795	861	14,2	0,095	0,022
C22:6n-3c	202743	97,5	924	927	44,0	0,184	0,016

^{A)} Stammer fra den andre forberedelsen som ble analysert for å finne mengde av FAs som fantes i små mengder av i SSFL.

Fettsyreprofilen til larvefôr

Tabell 18. Sammendrag av tre forberedte prøver på 0,503, 0,503 og 0,503 g for larvefôr. Hver prøve ble igjen delt inn i tre replikater og de gjennomsnittlige verdiene for areal, retensjonstid, mengde og standardavvik er oppgitt. Gjennomsnittlig mengde og standardavvik er oppgitt i mg/g av tørrvekten. I tillegg er de beste resultatene fra NIST 08 biblioteksøk for matchfaktor og sannsynlighet er oppgitt. Blank og prøven uten IS er ikke inkludert her.

FAME	Gjennomsnitt Areal	Gjennomsnitt RT	Matchfactor	Revers matchfactor	Probability (%)	Gjennomsnitt (mg/g d.w)	S.D (mg/g d.w)
C6:0	9574	7,6	678	839	35,6	0,003	0,001
C8:0	60916	8,9	857	877	78,0	0,019	0,004
C10:0	94726	10,2	890	907	67,1	0,031	0,003
C12:0	776262	12,4	915	915	66,1	0,265	0,044
C13:0	6984	14,2	610	739	1,0	0,026	0,004
C14:0	1860185	16,7	941	941	72,3	0,686	0,039
C13:0 (4,8,12-trimetyl)	29464	16,9	754	813	40,2	0,014	0,001
C14:0 (13-metyl)	39804	18,4	808	884	21,2	0,018	0,002
C14:1n-5c	45613	19,1	782	829	8,3	0,019	0,003
C15:0	185288	20,3	905	909	61,6	0,080	0,004
C16:0	29612154	25,7	937	937	76,5	8,454	2,128
C16:1n-7c	1666830	29,2	935	937	30,0	0,610	0,155
C16:1n-5c	36993	30,2	805	935	11,2	0,014	0,004
C16:0 (14-metyl)	15551	30,4	761	813	40,7	0,006	0,002
C17:0	269187	33,0	874	882	34,6	0,097	0,024
C16:2n-4t	86083	36,6	791	805	5,6	0,031	0,007
C17:1n-7c	122557	37,1	873	883	24,8	0,042	0,011
C18:0	10367934	41,1	915	915	63,2	3,604	0,893
C18:1n-9c	106128252	44,6	945	945	17,7	35,239	8,958
C18:1n-7c	7640465	45,1	901	901	4,6	2,506	0,590

C18:2n-6c	94091987	51,6	931	932	30,4	26,615	6,550
C18:3n-6c	3438847	55,3	nd	nd	nd	1,169	0,300
C18:3n-6c	45409	57,1	724	806	3,8	0,015	0,005
C18:3n-3c	15615936	62,0	926	931	56,2	4,531	1,181
C20:1n-11c	196290	66,4	828	866	18,9	0,072	0,019
C20:1n-9c	3479835	67,3	936	937	38,7	1,296	0,316
C18:4n-3c	239143	69,7	886	936	33,9	0,069	0,018
C20:2n-6c	403252	76,3	881	890	18,9	0,144	0,036
C20:3n-6c	37767	79,8	798	844	7,8	0,014	0,004
C20:4n-6c	84216	82,3	865	879	22,8	0,023	0,005
C22:0	637456	82,6	918	919	69,6	0,246	0,064
C22:1n-11c	2559740	84,8	903	921	33,0	0,980	0,245
C22:1n-9c	337745	85,4	871	874	14,4	0,130	0,033
C20:4n-3c	228726	86,5	872	922	26,6	0,063	0,016
C20:5n-3c	1326641	89,7	939	940	56,7	0,371	0,096
C24:0	239759	96,0	847	873	56,2	0,076	0,018
C24:1n-9c	339199	96,5	849	858	24,0	0,120	0,027
C22:5n-3c	547829	97,2	903	911	29,5	0,174	0,044
C22:6n-3c	3766675	97,5	956	956	66,2	1,197	0,307
C26:0	70774	97,9	822	854	53,5	0,024	0,006



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway