
Lipider og fettsyrekomposisjon i isbjørn (*Ursus maritimus*)

-

Stratifisering og laktering

Jannicke Alling Berntsen



Masteroppgave
Kjemisk Institutt
Universitetet i Bergen

Juni 2008

Forord

Prøvematerialet ble samlet inn av Norsk Polarinstitutt under ledelse av Magnus Andersen og Jon Aars. Jeg vil uttrykke min takknemlighet ovenfor dem og deres tekniske stab for et meget godt samarbeid.

Jeg vil også takke følgende personer som har hjulpet meg med oppgaven på forskjellige måter:

Min veileder professor Otto Grahl-Nielsen - for din fabelaktige rolle som støttespiller både med tanke på profesjonell rådgivning og smittende entusiasme. Jeg ønsker deg en fremtid fylt med aktiviteter og spenning i din forestående pensjonist tilværelse.

Den tekniske staben og kontorpersonalet ved Kjemisk Institutt - som i alle år har vært blide og hjelpsomme. En spesiell takk til Ann Kristin Halvorsen og Terje Lygre for teknisk assistanse.

Mine herlige medstudenter – for å bidra til at livet som student ble enda mer gøyalt.

Min fantastiske familie - for deres oppmuntring, støtte og hjelp på så mange måter som det ikke er plass til å nevne her. Dette kunne ikke blitt gjennomført uten dere. Dere har min evige takknemlighet.

Mine venner - for inspirasjon og påminnelser om at det finnes et liv utenfor lesesalen.

En spesiell takk til Pernille og Christine - min utvidete familie - for å ha troen på meg, og ikke minst for å vise en stor grad av uselviskhet gjennom deres falske entusiasme når jeg pratet i vei om fettsyrer i isbjørn.

Thea - for at du støtter deg til meg - og dermed gjør meg sterkere.

Jeg har vært svært heldig med alle disse gode hjelperne under arbeidet med hovedfaget mitt. Men selv om jeg med glede deler æren med samtlige ovenfornevnte, vil eventuelle feil eller mangler som måtte oppstå være helt og holdent mitt ansvar.

Jannicke Alling Berntsen

Bergen, juni 2008

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	
1 Introduksjon	4
2 Lipider	8
3 Materiale og metode	11
3.1 Materiale	
3.2 Prøveopparbeidelse	
3.3 Kromatografi	
3.3.1 Responsfaktorer	
3.4 Multivariat analyse	
4 Resultater	20
4.1 Stratifisering- dybdeforskjeller i vevet for samtlige prøver	
4.2 Laktering / ikke-laktering	
4.3 Stratifisering hos lakterende og ikke-lakterende binner	
4.4 Kvantifisering av lipider	
5 Diskusjon og konklusjon	30
6 Appendix	33.

Bilde er gjengitt med tillatelse fra Norsk Polarinstitutt. Byline Magnus Andersen

Sammendrag

På Kjemisk Institutt ved Universitetet i Bergen blir det forsket på marine fettsyrer og jeg har vært med på å analysere fettvev fra levende isbjørn (*Ursus maritimus*).

Materialet mottok jeg fra Norsk Polarinstitutt, i form av 49 frosne biopsiprøver. Av disse var noen lakterende og hadde derfor nylig vært gjennom en fasteperiode.

Hvert individs biopsiprøve ble fordelt i dybden på flere paralleller. Dette for å vurdere om komposisjonen varierte med vevets dybde i dyret. I tillegg så jeg etter forskjeller mellom de lakterende og ikke-lakterende binnene for å finne ut hvor mye fasten og ammingen hadde å si for sammensetningen av vevet, og hvilke fettsyrer som i så fall ble mest rammet. Total lipidmengde skulle også bestemmes for noen av prøvene.

Jeg brukte GC-FID (HP 5890) på fettsyrenes respektive metylestere. Til den multivariate databehandlingen benyttet jeg programmet Sirius, med fokus på prinsipalkomponentanalyse. Resultatene viste klare tegn på en stratifisering i vevet, med en-umettede fettsyrer som dominerte i det indre dybdelaget. Jeg fikk også påvist tydelige forskjeller mellom lakterende og ikke-lakterende binner, hvorav to n-3-syrer dominerte fullstendig hos de ikke-lakterende binnene. Her kom det også fram individuelle forskjeller i dybdekomposisjonen, men den lakterende faktoren overdøvet til dels stratifiseringen når prøvene ble studert som en gruppe. Den kvantitative bestemmelsen av total lipidmengde hos henholdsvis lakterende og ikke-lakterende binner, viste at sistnevnte hadde signifikant høyere mengde lipider.

1 Introduksjon

Med dagens fokus på miljøpåvirkninger og frykten for konsekvensene av en økt global temperatureffekt, ser mange med bekymring særlig på det sårbare arktiske økosystemet. Dersom vi klarer å tilegne oss mer kunnskap om det komplekse samspillet blant de forskjellige trofiske nivåene i disse områdene, vil vi kunne oppnå en verdifull innsikt i hele den marine næringskjeden. Dette kan videre reflektere konsekvensene av miljøforandringer og forurensning og dermed gi oss større forutsetninger for å ta vare på de marine ressursene i Arktis.

Lipidanalyser og bestemmelse av fettsyrekomposisjoner i spekk- og vevsprøver fra marine pattedyr kan være et viktig verktøy i denne sammenheng. Særlig kan analyser av isbjørnvev være rikt på informasjon. Isbjørnen befinner seg på det øverste trofiske nivået i Arktis og har status som en såkalt "nøkkel-art". Dette innebærer at den har stor påvirkningskraft på lavere trofiske nivåer i sitt økosystem. (Norsk Polarinstitutt, Notat til Miljøverndepartementet 2000).

Isbjørn (*Ursus maritimus*) er det største nålevende rovdyret på fire bein. Hannene veier fra 300 til 700 kg mens binnene vanligvis veier mellom 150-350 kg (Aars 2006).

I 2006 regnet man med at det var omtrent 25 000 isbjørn i verden, fordelt på den nordlige halvkule helt ned til breddegrad 50° i Canada (Aars 2006) (Se figur 1).

Isbjørnen på Svalbard spiser fortrinnsvis ringsel, storkobbe og grønlandssel (Derocher et al. 2002, Grahl-Nielsen et al. 2003, Aars 2006). Utbredelsen av isbjørn vil dermed til en stor grad avhenge av selenes vandringsmønster. Dette blir igjen påvirket av forekomsten av helårs-is, grunnet selenes bruk av disse områdene for parring, jakt og rekreasjon. (Iverson et al. 2006, Ramsay & Stirling 1988)

Vanligvis er isbjørnen vinteraktiv og går ikke i hi om vinteren, med unntak av drektige binner. Hannene og de ikke-drektige binnene kan likevel gjennomgå ufrivillig faste i perioder med liten tilgang på byttedyr, da særlig om høsten (Ramsay et al. 1992). De drektige binnene gjennomfører derimot et fast mønster med faste fra de entrer hiet sent på

høsten til de kommer ut igjen rundt mars måned i følge med ca tre måneder gamle isbjørnunge(r).

I undersøkelser rundt isbjørnens fastemønster vises det til at fasten kan vare i åtte måneder fordi binner kan bli tvunget på land allerede i august, når sjø-isen smelter (Atkinson & Ramsay 1995, Thiemann et al. 2006). Det er uenighet om hvorvidt isbjørnen i denne fasteperioden kan sies å gå inn i en dvalelignende tilstand med nevneverdig nedsatt metabolisme (Ramsay & Stirling 1988, Thiemann et al. 2006).

Størrelsen på et isbjørnkull kan variere, men det vanligste er to unger (Aars 2006). Isbjørnen har da gjennomgått en relativ kort drektighetsperiode, for selv om insemineringen skjer allerede om våren vil ikke utviklingen av fosteret sette i gang før til høsten. Derimot har binner en lang omsorgsperiode hvor hun holder sammen med isbjørningene til disse når to-årsalderen (Ramsay og Stirling 1988). Selv om overlevelsesraten blant isbjørninger er lav, har de store sjanser for å nå en høy alder dersom de klarer seg disse første leveårene (Aars 2006).

Mødrenes bruk av energi i fasteperioden har i Atkinson og Ramsays studie i 1995 blitt uttrykt som tap av 43% av kroppsvekten. Det vil i disse tilfellene være flere bruksområder for denne energien: Mødrenes eget behov for å opprettholde en overlevelsestilstand, selve drektigheten, produksjon av morsmelk prenatalt og laktering postnatalt.

Det har vært mye debatt de siste årene om i hvilken grad kvalitative og/eller kvantitative fettsyreanalyser kan reflektere isbjørnens diett. Samtidig diskuteres det hvorvidt man ser en stratifisering av fettsyresammensetningen fra innerst til ytterst i fettvevet hos isbjørn, et fenomen som er gjeldende for de fleste marine pattedyr (Koopman et al. 1996, Grahl-Nielsen et al. 2003, Birkeland et al. 2005, Thiemann et al. 2004b, Thiemann et al. 2006, Skoglund et al. 2006).

Pond et al. (1992) har sett på fettvevprøver fra 14 isbjørner, og konkluderer med at det ikke finnes klare tegn på en stratifisering. Også andre forskere støtter synet på en uniform

fettsyrekomposisjon i isbjørn, da særlig Iversons forskningsgruppe i Halifax, Canada (Thiemann et al. 2006, Iverson et al. 2006, Thiemann et al. 2007).

Her begrunner de blant annet sitt synspunkt ved å vise til vevets fysiologiske nytteverdi. De sier at fettvev hos isbjørn først og fremst fungerer som et energilager og dermed ikke har samme isolasjonsfunksjon som hos andre marine pattedyr (Pond et al. 1992).

På den annen side har Grahl-Nielsen og medarbeidere påvist stratifisering hos isbjørn (Grahl-Nielsen et al. 2003). Dette arbeidet startet en frisk debatt som resulterte i publiserte korrespondanser (Thiemann et al. 2004a) og (Grahl-Nielsen et al. 2004), hvor det også diskuteres effekt av dietten på isbjørnens fettvev og hvilke metoder som er best egnet til å bruke i fettsyreanalyser.

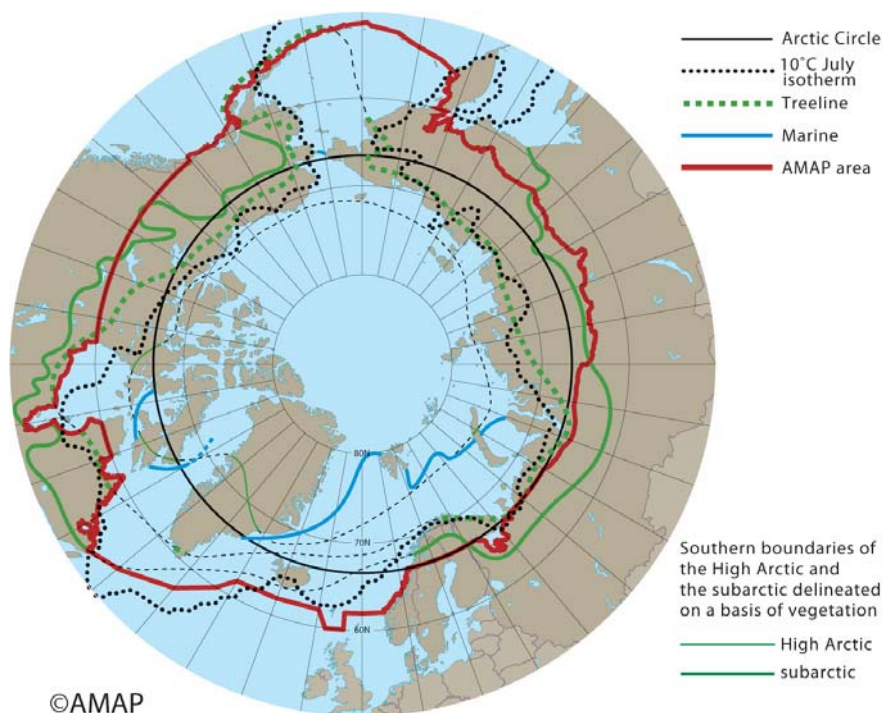
I undersøkelser på isbjørn i fangenskap sammenlignet med tidligere publiserte data på frie isbjørn (Pond et al. 1992), mener Colby et al (1993) at de har grunnlag for å si at dietten reflekteres i predatorens fettvev. Slik arbeidet var tilrettelagt hadde de en stor fordel ved å kjenne detaljer rundt den ene gruppens fôringsmønster. Samtidig må de i resultatene innrømme at det forekommer visse uregelmessigheter i fettsyrebestemmelsene mellom individene i fangenskap hvor man ville ha forventet et ganske likt mønster.

Iversons forskningsgruppe argumenterer kraftig for diettbestemmelse ved hjelp av kvalitative og kvantitative fettsyreanalyser (Iverson et al. 2006, Thiemann et al. 2006). De går langt i å konkludere at isbjørnens diett vil reflektere endringer i byttedyrpopulasjoner, og framhever anvendelse av biomarkører og korreksjonsfaktorer innen kvantitative fettsyreanalyser som redskap til studier på nivåeffekter av miljøendringer (Iverson et al. 2004, Thiemann et al. 2007).

Mye tyder på at de forskjellige forskningsgruppene til dels er enige i at man kan ane en dietteffekt i predatoren så lenge den er i positiv energibalanse, men det er altså store uenigheter i graden av denne effekten og metodene for å finne den. Grahl-Nielsen et al (2004) peker blant annet på de mange komplekse faktorene som må tas med i beregningen dersom man skal følge Iversons korreksjonsfaktorer innen kvantitative fettsyreanalyser som presentert i Iverson et al 2004 . Videre diskusjoner mellom disse gruppene tar for seg databehandling og bruk av statistisk verktøy (Smith et al. 1997, Grahl-Nielsen 1999, Smith et al. 1999).

Det er altså flere faktorer i den komplekse rammen rundt bestemmelse av fettvev i isbjørn, men selv om dette spesifikke forskningsområdet har blitt viet mer oppmerksomhet de siste årene gjenstår det en del forskning rundt visse problemstillinger. Blant annet har drektighet med påfølgende laktering hos binner fått lite fokus innen lipidforskning. Selv om Thiemann et al. (2006) har vært inne på denne problemstillingen, blir lakterende binner sammenlignet med ikke-lakterende binner fra en annen årstid. Lignende analyser tatt til samme tid og under ellers like forhold ville ha hatt en større verdi.

Spørsmålet om stratifisering er heller ikke på langt nær avklart, og jeg vil gjerne ta for meg dette ved hjelp av mitt materiale på 49 biopsi-prøver. I tillegg har jeg tenkt å fordype meg i problemstillingen ved lakterende versus ikke-lakterende binner hvor prøvene er tatt på samme tid av året. Her vil jeg se nærmere på eventuell stratifisering av fettsyrekomposisjon og forskjeller i lipidmengder fra binneres fettvev.



Figur1: Illustrasjon over Arktis, hav- og landområdene rundt Nordpolen.

2 Lipider

Lipider er organiske forbindelser som finnes i levende organismer. De vil la seg ekstrahere fra vev ved hjelp av upolare løsningsmidler som for eksempel kloroform eller eter, men deres affinitet til vann er i beste fall liten. Løseligheten vil variere etter størrelsen på lipidet og da særlig den hydrofobe hydrokarbondelen.

Lipider er en stor gruppe som deles inn i to hovedgrupper. Den polare gruppen, som blant annet består av fosfolipider, spiller en viktig rolle i cellestrukturer. Det er for øvrig de nøytrale lipidene som er aktuell for meg å se nærmere på. Denne gruppen, hovedsakelig representert ved triglyserider (eg. triacylglyseroler), har mange funksjoner i levende organismer hvorav de viktigste er energilagring og isolasjon.

Triglyseridene er bygget opp rundt glycerol, en tre-verdig alkohol, hvorpå tre fettsyrer har forestret seg til hver av hydroksylgruppene. Se figur 2.1 under.



Figur 2.1: Et triglyserid med fettsyrene 16:0, 18:1 n₉ og 18:3 n₃. Omega-tegnet ω som vist over ble tidligere brukt for å betegne metylenden av fettsyren.

Fettsyrene, som er lange karbonkjeder med én metylende og én karboksylende, varierer stort sett fra 14 til 24 karbonatomer og fra 0 til 6 dobbeltbindinger. Fettets egenskaper vil avhenge

av både lengde på karbonkjeden og grad av mettetthet, altså antall dobbeltbindinger.

Fett fra marine organismer har ofte større forekomst av umettede fettsyrer i forhold til annet dyrisk fett.

Triglyseridene er reduserende og kan frigi energi ved metabolsk oksidasjon, noe som betyr at ved energibehov brytes esterbindingene til glyserolstammen og fettsyrene frigjøres.

I tabell 2.1 har jeg satt opp en nomenklatur-liste over fettsyrene som det fokuseres på i denne sammenhengen.

Tabell 2.1: Nomenklatur på aktuelle fettsyrer.

Numerisk symbol	Trivialnavn	IUPAC (systematisk navn)
14:0	myristinsyre	tetradekan
14:1 n5	myristolinsyre	<i>cis</i> -9-tetradeken
a.iso-15:0		12-metyltetradekan
15:0		pentadekan
16:0	palmitinsyre	Heksadekan
16:1 n7	palmitolsyre	<i>cis</i> -9-heksadeken
18:0	stearinsyre	oktadekan
18:1 n9	oljesyre	<i>cis</i> -9-oktadeken
18:1 n7	vacceninsyre	<i>cis</i> -11-oktadeken
18:2 n6	linolsyre	9,12-oktadekadien
19:0		nonadekan
18:3 n3	α -linolensyre	9,12,15-oktadecatrien
18:4 n3		6,9,12,15-oktadekatetraen
20:0	arakidinsyre	eikosan
20:1 n11		<i>cis</i> -9-eikosen
20:1 n9	gondoinsyre	<i>cis</i> -11-eikosen
20:2 n6	gadolinsyre	11,14-eikosadien
20:4 n6	arakidonsyre	<i>cis</i> -5,8,11,14-eikosatetraen
20:3 n3		11,14,17-eikosatrien
20:4 n3		8,11,14,17-eikosatetraen
20:5 n3	timnodonsyre	<i>cis</i> -5,8,11,14,17-eikosapentaen
22:0	behensyre	dokosan
22:1 n11		<i>cis</i> -11-dokosen
22:1 n9	erukinsyre	<i>cis</i> -13-dokosen
22:5 n3	klupanodonsyre	<i>cis</i> -7,10,13,16,19-dokosapentaen
24:0		tetrakosen
22:6 n3	lervonsyre	<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-dokosaheksaen
24:1 n9	nervonsyre	15-tetrakosen

Numeriske symboler beskriver antall karbon i kjeden, antall dobbeltbindinger og eventuell posisjon av den første dobbeltbindingen, talt fra metylenden. Dersom det er flere dobbeltbindinger tilstede i fettsyren er det likevel tilstrekkelig å bare nevne posisjonen til den første. De påfølgenden dobbeltbindingene vil nemlig være adskilt med en metylengrupper såfremt ikke annet er opplyst. Unntak kan være f.eks konjugert linolsyre.

Av fettsyrene i tabell 2.1 er anteiso-15:0 en forgrenet syre som har en metylgruppe i tredje posisjon fra metylenden.

I motsetning til de numeriske symbolene vil de systematiske navnene angi posisjoner til dobbeltbindinger relativt til karboksylenden av molekylet.

Under prøveopparbeidelsen måtte fettsyrene i mine analyser løsrives fra glyserolstammen og transesterifiseres til sine respektive metylestere, siden de på karboksylsyreform kan ha for høy polaritet. Ved kromatografering vil retensjonstiden da øke med økt antall karbonatomer, dobbeltbindinger og forgreninger. Se mer om dette i kap. 3.2.

3 Materiale og metode

3.1 Materiale

Prøvematerialet ble samlet inn i flere omganger, i mars-april 2000, 2004 og 2005 fra bestanden i Svalbard-området. Se figur 3.1 under.



Figur 3.1: Kart over Svalbard

Før nærmere kontakt med isbjørnen ble den bedøvet med Zoletil® (Virbac, Carros, Frankrike) ved hjelp av bedøvelsespil (Palmer Cap-Chur Equipment, Douglasville, Georgia) skutt fra helikopter (Stirling et al. 1989).

Vevsprøver ble tatt fra bjørnene ved hjelp av et 8 mm steril biopsi-stempel. Hvert individ ble i tillegg merket for senere gjenkjenning. Bjørnenes allmenntilstand ble grundig sjekket, de ble målt og veid etter faste rutiner og alder ble bestemt etter tannundersøkelser (Calvert & Ramsay 1998).

Metodene var godkjent av Forsøksdyrutvalget (FDU) ved Mattilsynet.

Hvert individs biopsi-prøve ble pakket inn i aluminiumsfolie og lagt i plastposer merket med koder, for så å bli lagret ved - 20 °C. Siden lipider fryser ved høyere temperaturer enn vann vil ikke cellene bli ødelagt ved frysing (Pond et al. 1992, Ramsay et al. 1992).

Se tabell 3.1 neste side for mer informasjon om mitt prøvemateriell.

Tabell 3.1 Informasjon om isbjørnene som inngår i mine analyser.

Prøvenr.	Biopsi kode	Alder	Kjønn	Laktering	Innsamlet	Ant. paralleller
1	23532	16	K	nei	04-2000	6
2	23533	14	M		04-2000	6
3	23429	14	M		03-2000	6
4	23431	6	M		03-2000	5
5	23362	7	K	nei	04-2000	6
6	23207	21	M		04-2000	6
7	23464	10	K	nei	03-2000	6
8	23438	11	M		03-2000	5
9	23434	6	M		03-2000	6
10	23467	21	M		04-2000	6
11	23465	7	K	nei	03-2000	6
12	23212	21	M		04-2000	6
13	23487	17	M		04-2000	6
14	23203	17	K	nei	04-2000	6
15	23100	3	K	nei	04-2000	6
16	23498	9	M		04-2000	6
17	23554	19	K	ja	04-2000	6
18	23158	16	K	nei	04-2000	6
19	23436	13	M		03-2000	6
20	23483	10	K	nei	04-2000	6
21	23522	7	K	ja	04-2000	6
22	23482	17	M		04-2000	6
23	23358	12	M		04-2000	6
24	23552	20	K	ja	04-2000	6
25-i	7803	15	K	ja	04-2000	5
26	23475	5	M		04-2000	6
27	23537	20	M		04-2000	6
28	23083	11	M		04-2000	6
29	23470	17	M		04-2000	6
30	23492	23	K	nei	04-2000	5
31	23105	5	K	nei	04-2000	6
32	23561	13	K	nei	04-2000	6
33	23479	5	K	nei	04-2000	6
34	23139	10	K		04-2000	5
35	23507	12	M		04-2000	6
36	7785	13	M		04-2000	6
37	23480	19	K	ja	04-2000	5
38	23541	11	K	ja	04-2000	5
39	23525	9	K	ja	04-2000	6
40	23697	10	K	ja	04-2005	6
41	23742	8	K	ja	04-2005	5
42	23779	18	K	ja	04-2005	6
43	23764	9	K	ja	04-2004	4
44	23774	25	K	ja	04-2005	6
45	23784	20	K	nei	04-2005	6
46	23772	5	K	nei	04-2005	6
47	23731	7	K	nei	04-2005	6
48	23637	5	K	nei	04-2005	6
25-ii	7803	25	K	nei	04-2005	6
<i>Sum:</i>	<i>49 biopsi</i>		<i>19 M/30 K</i>			<i>284</i>

3.2 Prøveopparbeidelse

Prøvene ankom laboratoriet i frossen tilstand pakket inn i aluminiumsfolie, og ble oppbevart ved -25 °C fram til analyse.

De målte ca. 5-8 cm i lengde og 0,2 – 0,5 cm i diameter. Det var ingen problemer med å se hvilken del som var nærmest musklene og hvilken del som var nærmest huden pga. det ytre hudlaget med tilhørende pels.

På laboratoriet ble grundige desinfeksjonsrutiner fulgt for å unngå kontaminering av prøvene. Jeg skar flere paralleller på 10 – 20 mg fra hver biopsiprøve. Endene av vevsøylen ble kuttet bort, og parallellene for hvert sjikt ble skåret horisontalt så langt det lot seg gjøre. Deretter ble parallellene veiet i hvert sitt 15 ml reagensrør.

For de fleste prøvene fikk jeg tatt ut tre paralleller fra det indre fettvevet og tre fra det ytre. I noen få tilfeller hvor prøvene var tynnere enn ellers måtte jeg nøye meg med to paralleller fra enten ett av lagene eller begge lag. I tillegg tok jeg ut paralleller fra det midtre sjiktet for 15 av isbjørnene. I disse tilfellene nøyde jeg med to paralleller fra hvert lag.

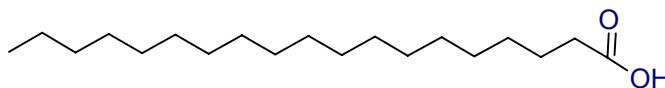
Som nevnt i kap 2 må fettsyrene i vevet omdannes til metylestere før kromatografering. Det finnes flere metoder for å gjøre dette, blant annet basekatalysert forestring (Thiemann et al. 2004b, Carrapiso & García 2000). Men jeg valgte en syrekatalysert forestring ved hjelp av metanolysereagens, HCl i vannfri MeOH. Dette hadde jeg laget klart på forhånd ved å dryppe saltsyre i konsentrert svovelsyre og på den måten fremstilt tørr hydrogenkloridgass som ble ledet ned i tørr metanol (Christie 1989).

Hvert reagensrør ble tilsatt 0,5 ml av metanolysereagenset, korket godt og ble satt i varmeskap på 90°C i 2 timer. Etter avkjøling ble ca. halvparten av metanolen, og dermed også HCl fjernet med en strøm av nitrogengass. Deretter ble det satt til 0,5 ml vann og metanolvann-løsningen ble ekstrahert med 1,0 ml heksan i 2 omganger. Heksanfasene hvor fettsyremetylestere nå befant seg ble mikset, og ekstraktene ble oppbevart på frys

dersom de ikke ble kromatografert umiddelbart.

For identifisering i labdatasystem etter kromatografering, ble samme prosedyre fulgt for en standardblanding med fettsyrer fra Nu-Chek Prep Inc.(Elysian, Minn., USA). Se mer om dette i kap. 3.3.1.

For 10 av isbjørn-biopsiene ble det i samtlige paralleller tilsatt fettsyren 19:0 i kjent mengde. Se figur 3.2. Denne fettsyren finnes ikke naturlig i isbjørnvev og kunne dermed bidra til kvantifisering av total lipidmengde med utgangspunkt i areal-størrelser i kromatogrammene.



Figur 3.2: Struktur av fettsyren 19:0

3.3 Kromatografi

Prøvene ble kromatografert på en gasskromatograf med flammeionasjonsdetektor. Instrumentet var en Hewlett Packard HP 5890 II utstyrt med injeksjonssystem HP 7673 A med autosampler.

Kolonnen av typen CP-WAX 52 CP (Chrompack, Nederland) målte 25 m x 0,25 mm i indre diameter. Det er en WCOT silika kapillærkolonne med polyetylenglykol som stasjonærfase, med en tykkelse på 0,2 μm . Siden dette er en polar kolonne vil retensjonen til fettsyremetylestrene følge mønsteret som skissert i kap.2, altså øke med økende karbonkjede og antall dobbeltbindinger. Som mobil fase brukte vi helium ved 20 psi.

Følgende program ble fulgt for hver injeksjon: 1 μl av hver parallell ble injisert splittless ved en injeksjonstemperatur på 260°C. Åpning av split skjedde etter to minutter.

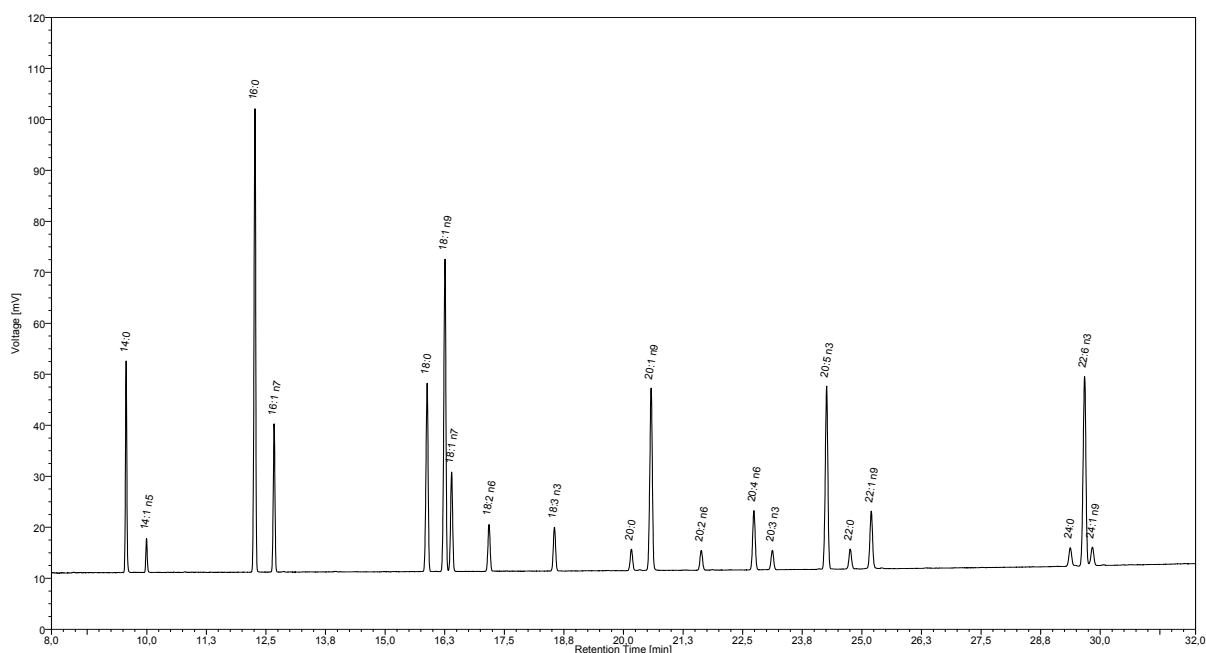
Kolonnetemperaturen var 90 °C de første 4 minuttene, deretter ble den økt med en rate på

30°C i minuttet fram til 165 °C . Deretter ble temperaturen økt med 3 °C i minuttet fram til siste trinn ved til 225 °C hvor den ble holdt stabil i 10 minutter. Detektortemp var 330. En prøveanalyse tok 36 min.

Etter kromatografering ble de første analyseresultatene behandlet i labdatasystem, Atlas 2000 (9001/Tick1IT)Thermo Labsystems og Chromeleon (6.60 SP8a Build 1550) fra Dionex. Her ble fettsyrene identifisert og arealet fra utslagene beregnet før dataene ble overført til Sirius for videre behandling (se kap. 3.4). Grunnen til at jeg brukte to forskjellige systemer skyldtes et datasystemskifte ved Kjemisk Institutt.

3.3.1 Respsfaktor

Standardblandingen fra Nu-Chek-Prep. Inc. som nevnt i kap. 2, inneholdt 20 av de 27 fettsyrene som jeg skulle se nærmere på (19:0 ikke inkludert). Se figur 3.3. Med varierende lengde fra 14 til 24 karbonatomer i kjeden og forskjellig grad av mettetthet egner denne blandingen seg svært godt til analyse av marine fettsyrer både med hensyn til identifisering og kontroll av det kromatografiske systemet. Firmaet Nu-Chek-Prep har komponert denne blandingen etter anvisning fra Kjemisk institutt, UiB. Standardblandingen ble injisert for hver åttende prøve under kromatograferingen, i tillegg til ved begynnelsen og slutten på serien.



Figur 3.3: Et kromatogram fra standardblandingen

Det er oppgitt faste relative mengder for den enkelte fettsyre i standardblandingen, fra 1 % til den høyeste mengden på 16 %. Se tabell 3.2 under. En sammenligning av forholdet mellom fettsyrene 24:0 og 18:0 vil kunne gi en indikasjon på eventuelle dekomponeringer og/eller lekkasjer i injektorsystemet. Ved å sammenligne 22:6 n3 med 18:0 sjekker man at systemet er fritt for forurensinger i injektor og kolonne.

For å korrigere rådataene før videre databehandling regnet jeg ut en responsfaktor for den enkelte fettsyre etter formelen under.

Formel 3: Utregning av responsfaktorer

$$\text{RF}(x) = \frac{\text{A}(x) * \text{M}(18:0)}{\text{A}(18:0) * \text{M}(x)}$$

A(x) = Areal av utslaget for fettsyre x

M(18:0) = Mengde i % for fettsyre x fra standardblandingen

A(18:0) = Areal av utslaget for 18:0

M(x) = Mengde i % for fettsyre x i standardblandingen

Fettsyrer som ikke var tilstede i standardblandingen ble gitt en responsfaktor utifra sammenligning av antall dobbeltbindinger og posisjon av disse.

Tabell 3.2: Relativ mengde av den enkelte fettsyre i standardblandingen

Fettsyre	%
14:0	6
14:1n5	1
16:0	16
16:1n7	5
18:0	8
18:1n9	13
18:1n7	4
18:2n6	2
18:3n3	2
20:0	1
20:1n9	9
20:2n6	1
20:4n6	3
20:3n3	1
20:5n3	10
22:0	1
22:1n9	3
24:0	1
22:6n3	12
24:1n9	1

3.4 Multivariat analyse

Siden analyser av fettsyrer som i denne studien gir oss ganske store og komplekse datasett, må vi bruke multivariate metoder (Wold et al. 1987). Jeg brukte prinsipalkomponentanalyse (PCA) i programmet Sirius i utgavene 6.6 og 7.0 (Kvalheim og Kvarstang 1987).

Her normaliserte jeg alle dataene først, for å få fram relative verdier for de enkelte objektene i prosent. Deretter skalerte jeg dataene ved logaritmisering for å unngå store numeriske forskjeller.

Dermed er dataene klargjort for prinsipalkomponentanalyse. Matrisen med analysedataene overføres til et koordinatsystem som vil tildele en koordinat for hver variabel, i dette tilfellet fettsyre. I dette flerdimensjonale rommet vil programmet finne vektorer som forklarer det meste av spredningen av variablene i færre dimensjoner. Det vil plasseres en ny koordinat gjennom tyngdepunktet av prøvene der det er størst spredning mellom dem. Denne kalles første prinsipal komponent, PC1. Så plasseres det en koordinat hvor det er

nest størst spredning ortogonalt på den første. Denne blir da andre prinsipal komponent, PC2. En tredje komponent vil også plasseres og man kan modellere med flere om ønskelig, men den mest vesentlige informasjonen i datasettet kan som oftest finnes i de to første komponentene.

Grafisk sett fikk jeg da et skåreplott som viste prøvenes plassering i koordinatsystemet, og et ladningsplott som viste variablenes betydning for prøvenes plassering i skåreplottet. Skåre- og ladningsplott kan også kombineres i et biplott hvor de legges over hverandre for lettere sammenligning.

For noen av dataene brukte jeg også SIMCA (Soft Independent Modelling of Class Analogies). (Wold og Sjøstrøm 1977). Dette er en flervariabel metode som kan bestemme klassetilhørighet ved hjelp av gjennomsnittlig residualt standardavvik som kriterie , RSD_{max} .

4. Resultater

4.1 Stratifisering- dybdeforskjeller i vevet for samtlige prøver

Fettsyresammensetningen for alle parallellene ble sammenlignet for indre/ytre-forskjeller i vevet. Jeg har valgt å ikke vektlegge de midtre parallellene i resultatene, men de er selvsagt tilstede i beregninger hvor det ses på totale lipidverdier.

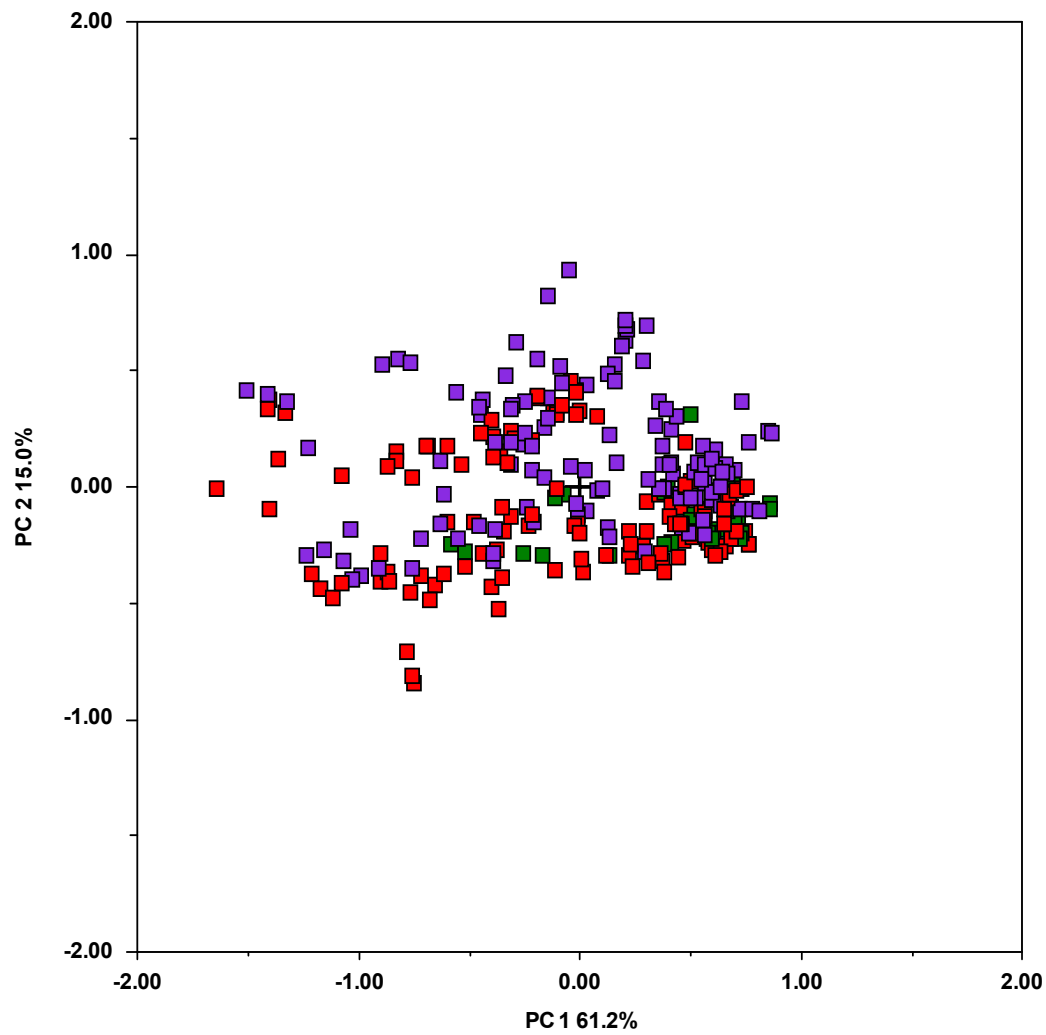
Tabell 4.1 viser sum % av hver fettsyre per isbjørnindivid, og ved hjelp av en tosidig t-test ved 95 % konfidensnivå er signifikante forskjeller i verdiene mellom indre og ytre lag funnet for fettsyrene 15:0, 20:1 n9, 20:4 n6, 20:4 n3, 22:1 n11 og 22:1 n11. De høyeste verdiene hos parallellene fra indre vev finner vi hos fettsyrene.20:1 n9, 22:1 n11 og 22:1 n9.

Tabell 4.1: Gjennomsnittlige mengder av hver enkelt fettsyre, uttrykt i sum % \pm SD. Basert på parallell-gjennomsnitt for 49 biopsiprøver (48 isbjørnindivider). Signifikante forskjeller ved konfidensnivå 95 % ($p \leq 0,05$, tosidig t-test), for hver fettsyre basert på de normerte data mellom indre og ytre verdier, er uthevet i tabellen for fettsyrer med relativ verdi $\geq 0,1$. SFA står for mettede fettsyrer, MUFA står for en-umettede fettsyrer og PUFA står for flerumettede fettsyrer.

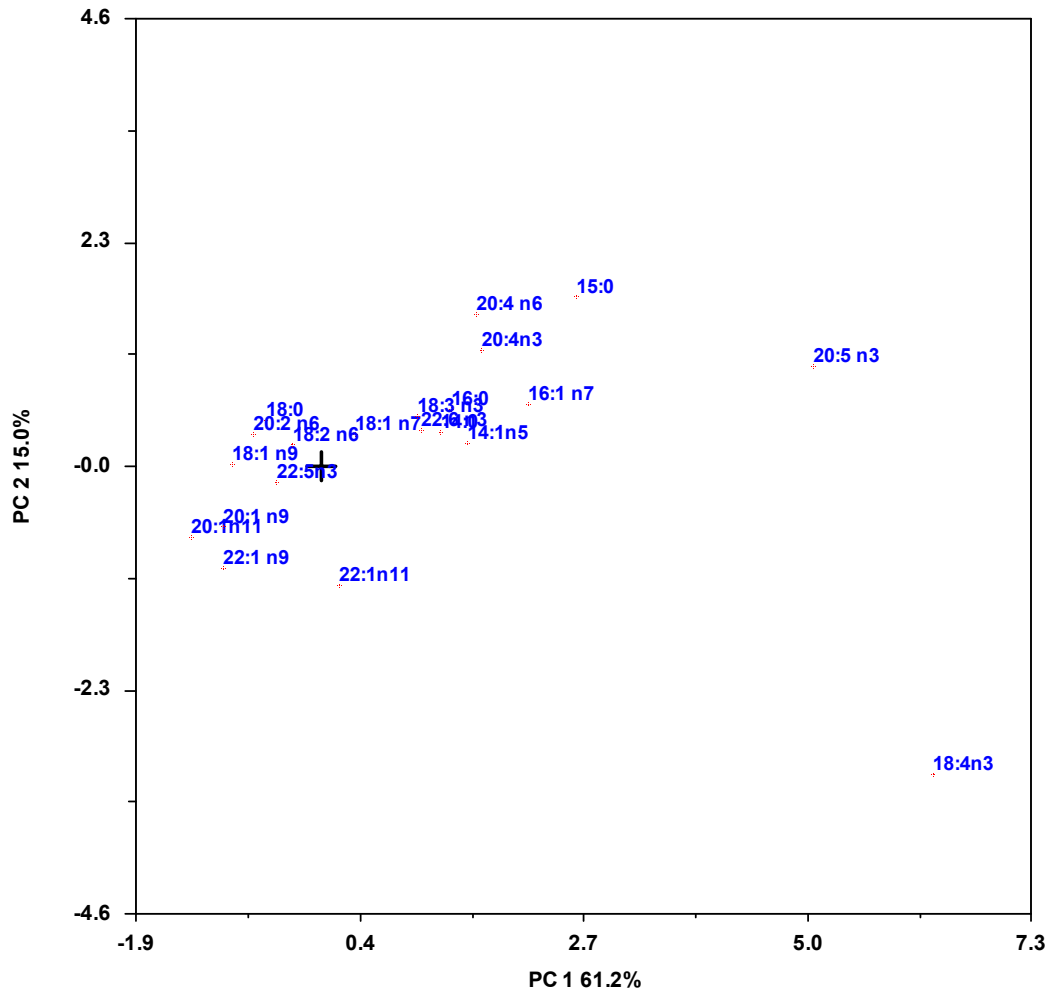
	Indre	Midtre	Ytre
14:0	3,4 \pm 0,8	3,6 \pm 0,6	3,1 \pm 0,7
14:1 n5	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1
a-iso-15:0	0,16 \pm 0,07	0,27 \pm 0,04	0,18 \pm 0,09
15:0	0,27 \pm 0,09	0,33 \pm 0,06	0,33 \pm 0,11
16:0	8 \pm 2	8 \pm 1	8 \pm 2
16:1 n7	10 \pm 3	12 \pm 2	11 \pm 3
18:0	2,4 \pm 0,5	2,4 \pm 0,6	2,5 \pm 0,6
18:1 n9	27 \pm 4	24 \pm 2	28 \pm 4
18:1 n7	5,3 \pm 1,1	5,2 \pm 0,7	5,7 \pm 1,2
18:2 n6	1,8 \pm 0,2	1,7 \pm 0,1	1,8 \pm 0,2
18:3 n3	0,53 \pm 0,10	0,58 \pm 0,06	0,54 \pm 0,10
18:4 n3	0,5 \pm 0,4	0,8 \pm 0,3	0,4 \pm 0,3
20:0	0,10 \pm 0,02	0,10 \pm 0,03	0,12 \pm 0,08
20:1 n11	3,51 \pm 0,95	3,18 \pm 0,72	3,34 \pm 0,91
20:1 n9	17 \pm 3	16 \pm 3	15 \pm 3
20:2 n6	0,34 \pm 0,07	0,35 \pm 0,09	0,33 \pm 0,08
20:4 n6	0,25 \pm 0,08	0,32 \pm 0,12	0,36 \pm 0,21
20:3 n3	0,06 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01
20:4 n3	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2
20:5 n3	2 \pm 1	3 \pm 1	2 \pm 1
22:0	0,04 \pm 0,02	0,06 \pm 0,03	0,06 \pm 0,05
22:1 n11	2,8 \pm 0,8	2,6 \pm 0,6	1,9 \pm 0,6
22:1 n9	0,8 \pm 0,2	0,7 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1
22:5 n3	6 \pm 1	6 \pm 1	6 \pm 1
24:0	0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,03	0,02 \pm 0,05
22:6 n3	7 \pm 2	9 \pm 1	8 \pm 1
24:1 n9	0,14 \pm 0,04	0,14 \pm 0,06	0,15 \pm 0,08
Σ SFA	14,2		14,6
Σ MUFA	67,4		66,1
Σ PUFA	18,4		19,2

Med flervariabel analyse (PCA) observerte jeg de samme tendensene som i tabellen over. Det er særlig de lengre en-umettede som kan synes å være ansvarlig for plasseringen av de indre prøvene (jeg kommer til å si ”prøve” istedenfor ”parallel” ut kapittelet). Samtidig er enkelte flerumettede, særlig 20:4 n6, og korte mettede fettsyrer mer dominerende for de ytre prøvene. På grunn av en del støy valgte jeg å ta bort anteiso-15:0, 20:0, 20:3 n3, 22:0, 24:0 og 24:1 n9. Disse variablene hadde uansett lave relative verdier.

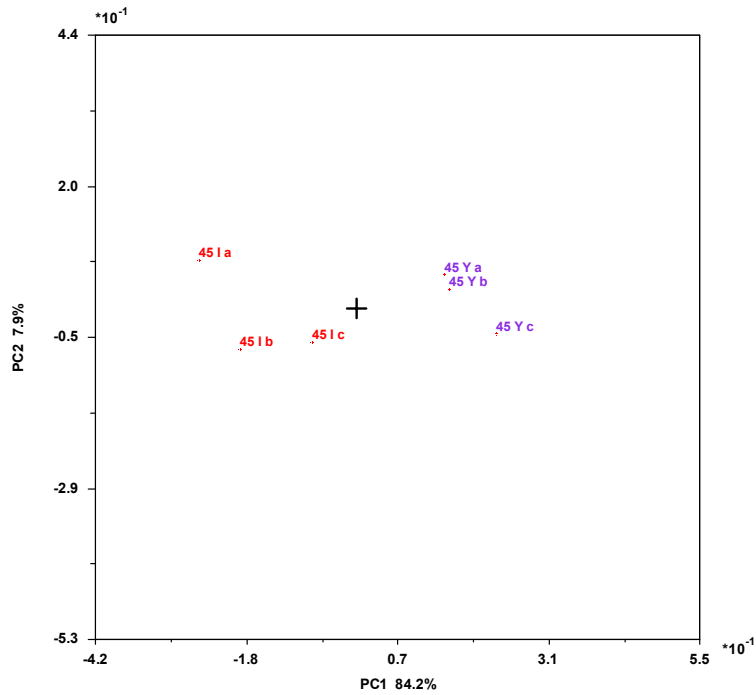
I skåreplottet fordelte prøvene seg i grupper med en liten grad av overlapping, med de indre prøvene plassert under de ytre langs prinsipalkomponent 2. Se figur 4.1. Her uttrykkes det meste av variansen ved prinsipalkomponent 1 (61,2 %), noe som tyder på at individuell variasjon forklarer mer av variansen enn skillet mellom ytre og indre prøver. Likevel ser jeg en sammenheng mellom de indre/ytre faktorene pr. individ siden prøvene for hvert individ synes å ligge jevnt langs PC 2. I figur 4.3 viser jeg ett eksempel på prøver fra ett individ. Der ser vi en klar indre/ytre fordeling langs PC 1.



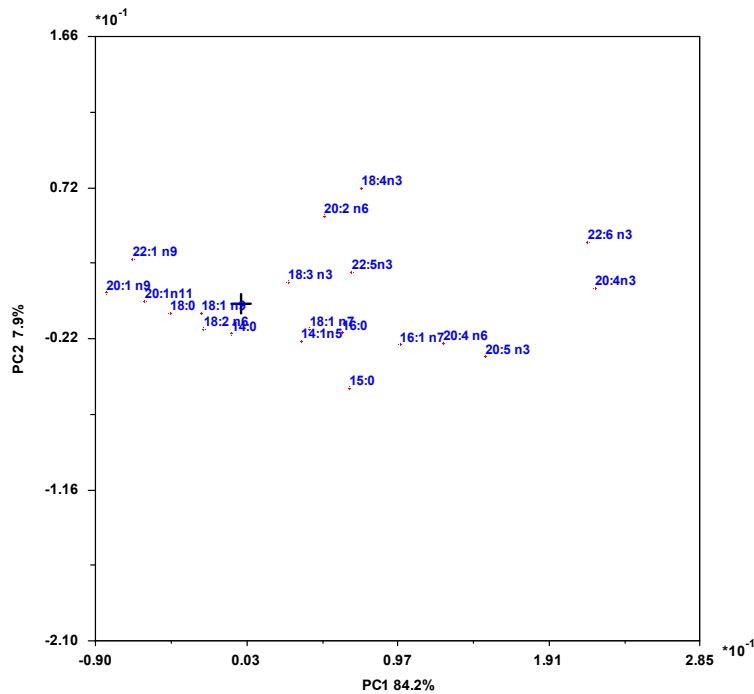
Figur 4.1: Skåreplott hvor røde symboler er indre, grønne er midtre og blå er ytre paralleller.



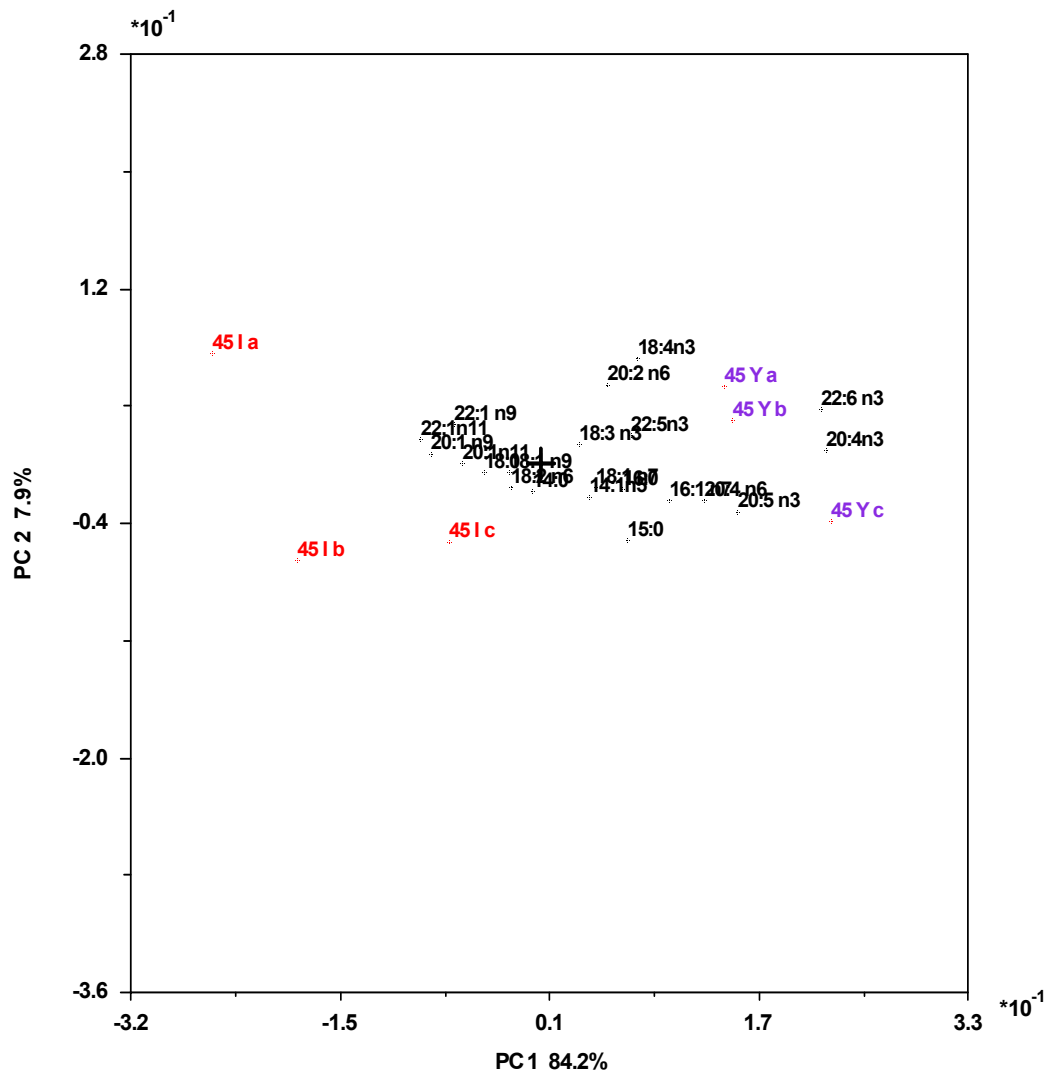
Figur 4.2: Ladningsplott tilhørende skåreplottet i figur 4.1. Her er noen av de minste (sum %) fettsyrene tatt bort. I forhold til det tilhørende skåreplottet i figur 4.1 ser vi at 20:1- og 22:1-fettsyrenes plassering kan ha betydning for at de indre prøvenes hovedsakelige trekkes ned i plottet.



Figur 4.3: Skåreplott for ett individ med tre ytre og tre indre prøver. Fordelingen er basert på de 21 fettsyrene som i figur 4.1. Her ser vi at prøvene legger seg langs PC1 med et klart skille mellom de indre og ytre prøver.



Figur 4.4: Ladningsplott for skåreplottet i figur 4.3. Tendensen som gjentar seg for alle prøvene når de sees på individuelt, er at de lange en-umettede fettsyrene trekker på de indre prøvene mens korte mettede og generelt flerumettede dominerer ved de ytre prøvene.



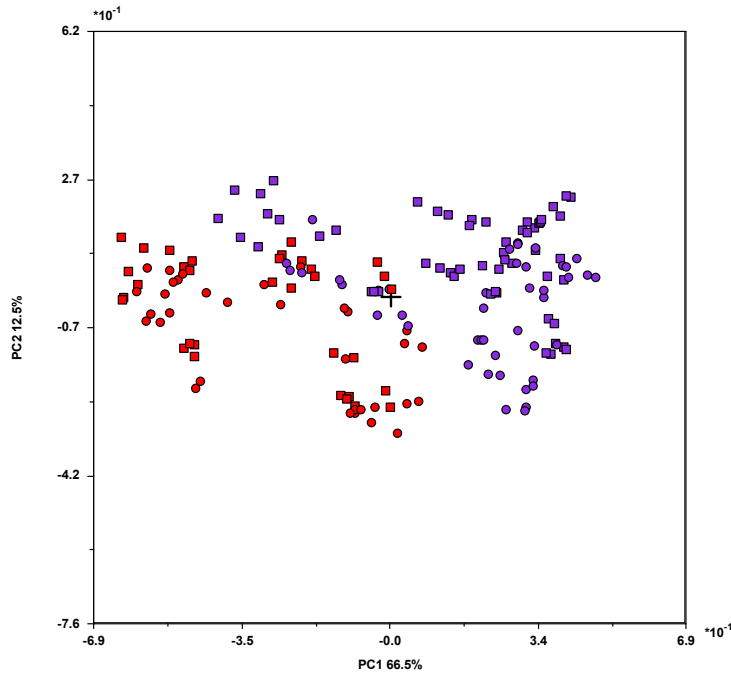
Figur 4.5: Biplot tilhørende figur 4.3 og 4.4 for ytterligere illustrasjon.

4.2 Laktering / ikke-laktering

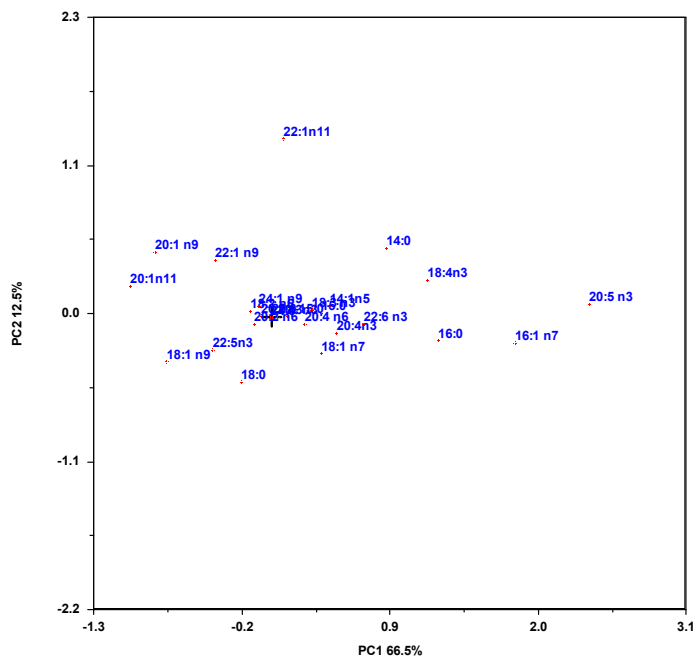
Av prøvematerialet mitt var 12 biopsier fra lakterende binner og 17 fra ikke-lakterende binner. Disse prøvene var alle tatt ved samme årstid - rundt mars/april. Ved multivariat dataanalyse fikk jeg frem klare forskjeller mellom disse to gruppene. Skillet mellom lakterende og ikke-lakterende overdøvet til dels indre/ytre-faktoren når de ble sett på under ett. De klareste forskjellene lå i den store dominansen av 18:4 n3 og 20:5 n3 hos de ikke-lakterende prøvene, og tilsvarende dominans av 20:1 n11, 20:1 n9 og 22:1 n9 hos de lakterende prøvene..

Tabell 4.2: Gjennomsnittlige mengder av hver enkelt fettsyre, uttrykt i sum % \pm SD. Basert på prøve-gjennomsnitt fra 12 lakterende binner og 17 ikke-lakterende binner og forskjellen mellom disse gruppene mhp indre og ytre lag. Signifikante forskjeller ved konfidensnivå 99 % ($p \leq 0,01$, tosidig t-test), for hver fettsyre basert på normerte data, er uthevet i tabellen hvor fettsyren har relativ verdi $\geq 0,1$. SFA står for mettede fettsyrer, MUFA står for en-umettede fettsyrer og PUFA står for flerumettede fettsyrer.

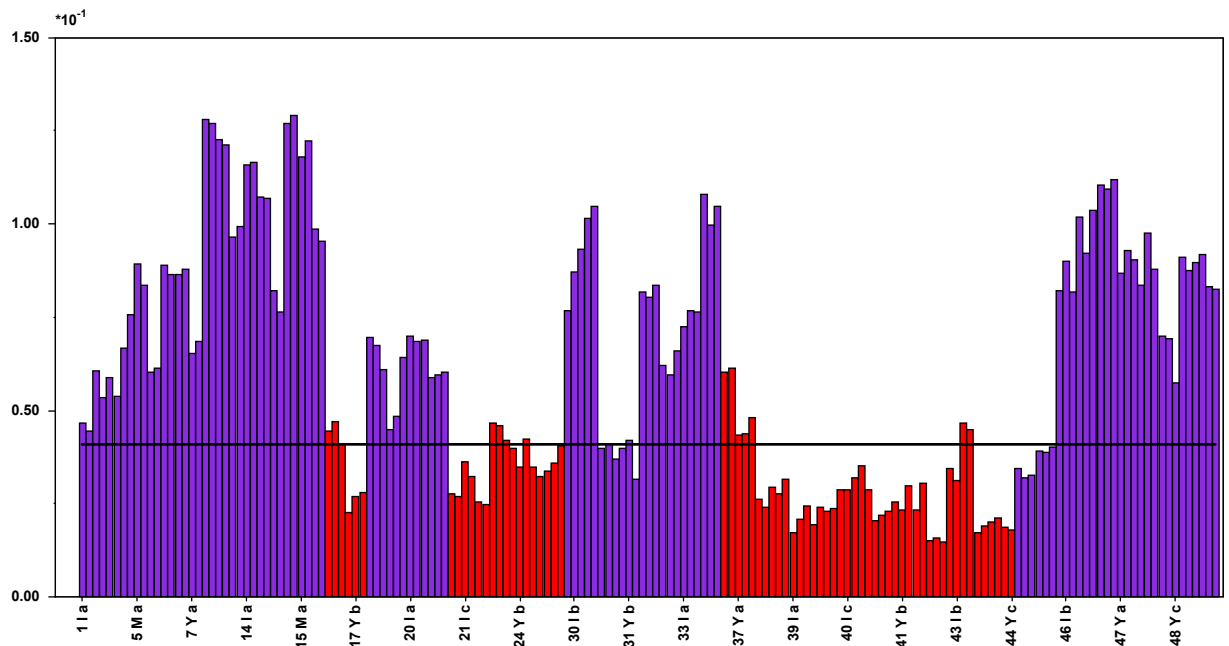
	Indre		Ytre	
	Lakterende	Ikke-lakterende	Lakterende	Ikke-lakterende
14:0	2,4 \pm 0,6	3,6 \pm 0,7	2,3 \pm 0,4	3,4 \pm 0,5
14:1 n5	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
a-iso-15:0	0,14 \pm 0,06	0,17 \pm 0,09	0,14 \pm 0,06	0,18 \pm 0,10
15:0	0,19 \pm 0,07	0,30 \pm 0,08	0,20 \pm 0,08	0,35 \pm 0,08
16:0	6 \pm 2	8 \pm 2	7 \pm 2	9 \pm 2
16:1 n7	7 \pm 3	11 \pm 2	7 \pm 3	12 \pm 2
18:0	2,7 \pm 0,6	2,3 \pm 0,4	2,7 \pm 0,6	2,2 \pm 0,5
18:1 n9	32 \pm 3	25 \pm 4	33 \pm 4	26 \pm 4
18:1n7	5,2 \pm 1,4	5,2 \pm 0,9	5,3 \pm 1,4	5,5 \pm 0,8
18:2 n6	1,8 \pm 0,1	1,7 \pm 0,2	1,8 \pm 0,1	1,7 \pm 0,2
18:3 n3	0,43 \pm 0,10	0,56 \pm 0,08	0,44 \pm 0,10	0,57 \pm 0,06
18:4 n3	0,15 \pm 0,08	0,73 \pm 0,37	0,14 \pm 0,09	0,60 \pm 0,28
20:0	0,10 \pm 0,03	0,09 \pm 0,02	0,10 \pm 0,03	0,08 \pm 0,02
20:1 n11	4,31 \pm 0,99	3,20 \pm 0,76	4,17 \pm 1,05	2,96 \pm 0,59
20:1 n9	19 \pm 3	16 \pm 3	18 \pm 4	14 \pm 2
20:2 n6	0,34 \pm 0,08	0,29 \pm 0,04	0,34 \pm 0,08	0,28 \pm 0,05
20:4 n6	0,18 \pm 0,03	0,26 \pm 0,07	0,19 \pm 0,04	0,32 \pm 0,09
20:3 n3	0,05 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01
20:4 n3	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
20:5 n3	0,64 \pm 0,28	2,32 \pm 1,17	0,64 \pm 0,35	2,44 \pm 0,92
22:0	0,03 \pm 0,02	0,04 \pm 0,02	0,04 \pm 0,03	0,04 \pm 0,03
22:1 n11	2,2 \pm 0,7	3,0 \pm 0,8	1,8 \pm 0,5	2,2 \pm 0,7
22:1 n9	0,9 \pm 0,2	0,8 \pm 0,2	0,8 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1
22:5 n3	6 \pm 1	5 \pm 1	7 \pm 1	6 \pm 1
24:0	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01
22:6 n3	6 \pm 1	8 \pm 1	7 \pm 1	8 \pm 1
24:1 n9	0,14 \pm 0,03	0,14 \pm 0,02	0,15 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04
Σ SFA	11,6	14,5	12,4	15,3
Σ MUFA	71,8	64,9	70,7	63,6
Σ PUFA	16,0	19,4	18	20,7



Figur 4.6: Skåreplott med prøvene til de lakterende binnene, uthevet i rødt, og de ikke-lakterende binnene, uthevet i blått. Firkantsymboler er indre prøver og sirkelene er ytre. Dette plottet er basert på samtlige fettsyrer.



Figur 4.7: Ladningsplottet til figur 5.4 med samtlige variable.



Created: 06/12/08 13:07:5

Figur 4.8: SIMCA stolpediagram over RSD-verdier hvor kriteriet er satt ved 0,04 (95 % konfidensnivå). Dette betegner prøvenes avstand til modellen for de lakterende prøvene. De røde feltene er prøver fra lakterende binner, de blå er fra ikke-lakterende. (Se appendiks 1 for RSD-verdiene)

4.3 Stratifisering hos lakterende og ikke-lakterende binner

Tabell 4.3 under viser at det var større grad av stratifisering i fettvevet fra de ikke-lakterende binnene. Fettsyrene som er signifikant forskjellige her mellom indre og ytre lag er som forventet sammenfallende med de generelle analysedataene presentert i 4.1.

Tabell 4.3 Gjennomsnittlige mengder av hver enkelt fettsyre uttrykt i sum % \pm SD. Basert på prøve-gjennomsnitt fra indre og ytre prøver og forskjellen mellom disse mhp disse lakterende og ikke lakterende prøver. Signifikante forskjeller ved konfidensnivå 95% ($p \leq 0,05$, to-sidig t-test) for hver fettsyre basert på normerte data er uthevet i tabellen hvor fettsyren har relativ verdi $\geq 0,1$. SFA står for mettede fettsyrer, MUFA står for en-umettede fettsyrer og PUFA står for flerumettede fettsyrer.

	Lakterende		Ikke-lakterende	
	Indre	Ytre	Indre	Ytre
14:0	2,4 \pm 0,6	2,3 \pm 0,4	3,6 \pm 0,7	3,4 \pm 0,5
14:1 n5	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
a-iso-15:0	0,14 \pm 0,06	0,14 \pm 0,06	0,17 \pm 0,09	0,18 \pm 0,10
15:0	0,19 \pm 0,07	0,20 \pm 0,08	0,30 \pm 0,08	0,35 \pm 0,08
16:0	6 \pm 2	7 \pm 2	8 \pm 2	9 \pm 2
16:1 n7	7 \pm 3	7 \pm 3	11 \pm 2	12 \pm 2
18:0	2,7 \pm 0,6	2,7 \pm 0,6	2,3 \pm 0,4	2,2 \pm 0,5
18:1 n9	32 \pm 3	33 \pm 4	25 \pm 4	26 \pm 4
18:1n7	5,2 \pm 1,4	5,3 \pm 1,4	5,2 \pm 0,9	5,5 \pm 0,8
18:2 n6	1,8 \pm 0,1	1,8 \pm 0,1	1,7 \pm 0,2	1,7 \pm 0,2
18:3 n3	0,43 \pm 0,10	0,44 \pm 0,10	0,56 \pm 0,08	0,57 \pm 0,06
18:4 n3	0,15 \pm 0,08	0,14 \pm 0,09	0,73 \pm 0,37	0,60 \pm 0,28
20:0	0,10 \pm 0,03	0,10 \pm 0,03	0,09 \pm 0,02	0,08 \pm 0,02
20:1 n11	4,31 \pm 0,99	4,17 \pm 1,05	3,20 \pm 0,76	2,96 \pm 0,59
20:1 n9	19 \pm 3	18 \pm 4	16 \pm 3	14 \pm 2
20:2 n6	0,34 \pm 0,08	0,34 \pm 0,08	0,29 \pm 0,04	0,28 \pm 0,05
20:4 n6	0,18 \pm 0,03	0,19 \pm 0,04	0,26 \pm 0,07	0,32 \pm 0,09
20:3 n3	0,05 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	0,06 \pm 0,01
20:4 n3	0,4 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
20:5 n3	0,64 \pm 0,28	0,64 \pm 0,35	2,32 \pm 1,17	2,44 \pm 0,92
22:0	0,03 \pm 0,02	0,04 \pm 0,03	0,04 \pm 0,02	0,04 \pm 0,03
22:1 n11	2,2 \pm 0,7	1,8 \pm 0,5	3,0 \pm 0,8	2,2 \pm 0,7
22:1 n9	0,9 \pm 0,2	0,8 \pm 0,2	0,8 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1
22:5 n3	6 \pm 1	7 \pm 1	5 \pm 1	6 \pm 1
24:0	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01	0,01 \pm 0,01
22:6 n3	6 \pm 1	7 \pm 1	8 \pm 1	8 \pm 1
24:1 n9	0,14 \pm 0,03	0,15 \pm 0,04	0,14 \pm 0,02	0,12 \pm 0,04
SFA	11,57	12,49	14,51	15,26
MUFA	71,25	70,72	64,94	64,08
PUFA	15,99	18,00	19,43	20,67

4.4 Kvantifisering av lipider.

Jeg brukte som nevnt i kap. 3.2 en intern standard for å kvantifisere total lipidmengde i 10 av binnene, hvorav 5 var lakterende. Det ble funnet en signifikant lavere mengde lipider hos de lakterende binnene. Se tab. 4.4 og appendiks 2.

Tabell 4.4 Gjennomsnittlig lipidmengde og p-verdi.

	Gj.snitt %	P-verdi ved 99% konfidensnivå
Lakterende	63	0,01
Ikke lakterende	72	

5. Diskusjon og konklusjon

Analyseresultatene tyder på at det er en stratifisering i lipider fra isbjørn, selv om skillet mellom de mest dominerende fettsyrene i indre og ytre lag ikke er like tydelig som for mange andre marine pattedyr (Koopman et al. 1996, Grahl-Nielsen 2003, Birkeland et al. 2005).

At isbjørn kan ha en noe lavere stratifiseringsgradient enn andre marine pattedyr, er for øvrig ikke uventet. Flere forskere har pekt på at fettvevet hos isbjørnen ikke har den isolerende funksjonen som er vanlig å finne i marint spekk. I dataene mine fremkommer det likevel et signifikant skille for fettsyrene 15:0, 20:1 n9, 20:4 n6, 20:4 n3, 22:1 n11 og 22:1 n9 ved bruk av t-test, noe som gjenspeiles i resultatet fra prinsipalkomponentanalysen. Dette sammenfaller med resultatene fra forskningen som ble presentert i Grahl-Nielsen et al. 2003. Fettsyrene som går igjen i indre lag er 20:1/22:1-syrer og i ytre lag er det 20:4 n6 og korte/medium MUFA.

Store deler av variansen i plottene ble forårsaket av individuell variasjon, lagt ved PC1. På individnivå var det et mye tydeligere skille mellom indre og ytre prøver, som vist i fig. 4.3-4.5.

Da jeg så på individuelle forskjeller hos de binnene som jeg visste var ikke-lakterende, falt dette i stor grad sammen med de generelle resultatene som nevnt over mht de fettsyrene som i signifikant grad skilte indre og ytre lag. Derimot kan det virke som om det er mindre utpreget stratifisering hos de lakterende binnene. Dette kan skyldes at disse er i negativ energibalanse etter flere måneders fasting og laktering.

Hvordan de forskjellige faktorene rundt energibruken i denne drektighets-lakteringsperioden vil kunne tenkes å påvirke de forskjellige fettsyrene, er uvisst. Jeg ser i mine resultater at de lakterende binnene mangler to omega-3 syrer, 18:4 n3 og 20:5 n3, i tillegg til en del korte mettede og enumettede fettsyrer.

I et studie hvor fettsyrer på melk og isbjørnunger ble analysert, ble det funnet en større forekomst av omega-3 i ungene enn i melken (Hedberg et al. 2006). Kanskje er det slik at omega-3 fettsyrene som mangler i mine lakterende binner fortrinnsvis har blitt brukt til binnerenes eget energibruk. Videre kan det tenkes at de korte mettede- og enumettede fettsyrene ble overført via melken til ungene for eventuell elongering og desaturering der. Spørsmålet om biosyntese av fettsyrer i isbjørn har vært oppe til diskusjon i en årrekke. (Grahl-Nilsen et al. 2003, Thiemann et al., 2003, Iverson et al. 2006, Thiemann et al. 2007.)

For øvrig viser også studier gjort på hvithval at det kan være store ulikheter i fettsyrekomposisjonen i melk og unger (Birkeland et al. 2005).

Ved sammenligning i fig. 4.6 av lakterende vs ikke-lakterende prøver er det interessant å merke seg at en indre/ytre fordeling også trer frem langs PC2. Jeg ser spesielt at 22:1 n11 trekker de indre prøvene oppover langs denne komponenten mens 16:1 n7 drar de ytre ned.

I SIMCA plottet sees det tydelig at prøve 45 som er registrert som ikke-lakterende, legger seg i tilsynelatende feil klasse. Men når jeg innhentet opplysninger rundt denne binner, viste deg seg at hun hadde noe væske i pattene som kan tenkes å tyde på at hun har mistet en unge, eventuelt avbrutt et svangerskap.

Når det gjelder kvantifisering og beregning av total lipidmengde, ser jeg at Koopman i sin studie av niser ikke fant noe som tydet på mindre relativ mengde for lakterende niser. (Koopman et al. 2001). Det ble derfor i denne studien foreslått at lipidmobilisering ikke er en stor energikilde under drektighet for niser.

Jeg ser derimot en signifikant forskjell i relative lipidmengder mellom lakterende og ikke-lakterende binner. Dette er ikke overraskende siden det er rimelig å forvente at de lakterende binnerne som tross alt har fastet og brukt energi til drektighet, har lavere mengde fettvev.

Jeg ser også klare tegn på stratifisering i fettvevet fra isbjørn, om enn i mindre grad hos lakterende binner. Det er særlig de lange en-umettede fettsyrene som dominerer det indre laget i vevet, og med unntak av 22:1 n11 kan det samme sies for de lakterende prøvene i sammenligning med de ikke-lakterende. For sistnevnte var det derimot 18:5 n3 og 20:5 n3 som dominerte - disse to fettsyrene var ansvarlig for svært mye av skillet mellom lakterende og ikke-lakterende.

Det må sies at analyseresultatene i denne oppgaven forsterker et av poengene mine i introduksjonen – dette er et komplekst forskningsområde som det bør satses enda mer på i fremtiden. For isbjørn ser jeg for meg at man kunne vært tjent med en større fordypning i de mange sammenhenger mellom diett, metabolisme, kjønn, alder, demografi, reproduksjon, årstid etc. Dette stiller for øvrig høye krav til riktige metoder og statistisk verktøy.

REFERANSELISTE

- Atkinson, S.N., Ramsay, M.A., (1995)
The effects of prolonged fasting of the
body-composition and reproductive
success of female Polar Bears (*Ursus
maritimus*)
Functional Ecology **9**: 559-567.
- Birkeland, A., Kovacs, K.M., Lydersen, C.,
Grahl-Nielsen, O. (2005) Transfer of
fatty acids from mothers to their calves
during lactation in white whales.
(*Delphinapterus leucas*). *Marine
Ecol Prog Ser.* **298**:287-294.
- Calvert, W., Ramsay, M.A. (1998)
Evaluation of age determination of
polar bears by counts of cementum
growth layer groups.
Ursus **10**:449-453.
- Carrapiso, A.I., Garcià, C. (2000)
Development in Lipid Analysis: Some
New Extraction Techniques and *in situ*
Transesterification.
Lipids. **35**:1167-1177.
- Christie, W.W. (1989) The preparation of
derivatives of fatty acids. *Gas
chromatography and lipids, part 2: The
analysis of fatty acids. Chapter 4.*
- Colby, R.H., Mattacks, C.A., Pond, C.M.
(1993) The Gross Anatomy,
Cellular structure, and Fatty Acid
Composition of Adipose Tissue in
Captive Polar Bears (*Ursus maritimus*).
Zoo Biology **12**:267-275.
- Derocher, A.E., Wiig, Ø., Andersen, M.
(2002) Diet composition of polar bears
in Svalbard and the western Barents
Sea. *Polar Biol* **25**:448-452.
- Grahl-Nielsen, O. (1999) Comment: Fatty
acid signatures and classification trees:
new tools for investigating the foraging
ecology of seals. *Can. J. Fish. Aquat.
Sci.* **56**:2219-2223.
- Grahl-Nielsen, O., Andersen, M.,
Derocher, A.E., Lydersen, C., Wiig, Ø.,
Kovacs, K.M., (2003) Fatty acid
composition of the adipose tissue of
polar bears and of their prey: ringed
seals, bearded seals and harp seals.
Marine Ecol Prog Ser. **265**:275-282.
- Grahl-Nielsen, O., Andersen, M., Derocher
A.E., Lydersen, C., Wiig, Ø., Kovacs, K.M.
(2004) Reply to comment on Grahl-
Nielsen et al. (2003): Sampling, data
treatment and predictions in
investigations on fatty acids in marine
mammals. *Marine Ecol Prog Ser.* **281**:
303-306.
- Iverson, S.J., Fields, C., Bowen, W.D.,
Blanchard, W. (2004) Quantitative fatty
acid signature analysis: a new tool of
estimating predators diets. *Ecol.
Monogr.* **74**:211-235.
- Iverson, S.J., Stirling, I., Lang, S.L.C.,
(2006) Spatial and temporal variation in
the diets of polar bears across the
Canadian Arctic: indicators of changes in
prey populations and environment. *Top
Predators in Marine Ecosystems, eds.
I.L. Boyd, S. Wanless and C. J.
Camphuysen. Publ. by Cambridge
University Press* 98-117.
- Koopman, H.N., Iverson, S.J., Gaskin,
D.E. (1996) Stratification and age-
related differences in blubber fatty acids
of the male harbour porpoise (*Phocoena
phocoena*). *J Comp Phys B* **165**:628-
639.
- Norsk Polarinstitutt. Notat til
Miljøverndepartementet (2000).
Forslag til framtidige prioriteringer innen
overvåking og forskning på isbjørn.

REFERANSELISTE

- Pond, C.M., Mattacks, C.A., Colby, R.H., Ramsay, M.A. (1992) The anatomy, chemical composition, and metabolism of adipose tissue in wild polar bears (*Ursus maritimus*). *Can J Zool* **70**:326-341.
- Ramsay, M.A., Mattacks, C.A., Pond, C.M. (1992) Seasonal and sex differences in the structure and chemical composition of adipose tissue in wild polar bears (*Ursus maritimus*). *J. Zool. Lond.* **228**:533-544.
- Ramsay, M.A., Stirling, I. (1988) Reproductive biology and ecology of female polar bears (*Ursus maritimus*). *J. Zool. Lond.* **214**:601-634.
- Skoglund, E.G. (2006) Fatty acid composition of blubber and dermis of Atlantic walrus (*Odobenus rosmarus rosmarus*) on Svalbard, and its potential prey. *Master Thesis University of Tromsø*.
- Smith, S.J., Iverson, S.J., Bowen, W.D. (1999) Reply: Fatty acid signatures and classification trees: new tools for investigating the foraging ecology of seals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **56**:2224-2226.
- Smith, S.J., Iverson, S.J., Bowen, W.D. (1997) Fatty acid signatures and classification trees: new tools for investigating the foraging ecology of seals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **54**:1377-1386.
- Stirling, I., Spencer, C., Andriashek, D. (1989) Immobilization of polar bears (*Ursus maritimus*) with Telazol® in the Canadian Arctic. *Journal of Wildlife Diseases.* **25**:159-168.
- Thiemann, G.W., Budge, S.M., Bowen, W.D., Iverson, S.J. (2004a) Comment on Grahl-Nielsen et al. (2003) 'Fatty acid composition of the adipose tissue of polar bears and of their prey: ringed bearded seals and harp seals.' *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **281**:297-301.
- Thiemann, G.W., Budge, S.M., Iverson, S.J. (2004b) Determining blubber fatty acid composition: A comparison of *in situ* direct and traditional methods. *Marine Mammal Science.* **20**(2):284-295.
- Thiemann, G.W., Iverson, S.J., Stirling, I., (2006) Seasonal, sexual and anatomical variability in the adipose tissue of polar bears (*Ursus maritimus*). *Journal of Zoology* **269**:65-76.
- Thiemann, G.W., Budge, S.M., Iverson, S.J., Stirling, I. (2007) Unusual fatty acid biomarkers reveal age- and sex-specific foraging in polar bears (*Ursus maritimus*). *Canadian Journal of Zoology.* **85**, 4. *Academic research Library*.
- Wold, S., Sjøstrøm, S. (1977) SIMCA: a method for analyzing chemical data in terms of similarity and analogy. In: Kowalski BR (ed) *Chemometrics: Theory and applications. Symp. Ser. Am. Soc.* **52**:243-282.
- Wold, S. (1979) Pattern recognition by means of disjoint principal component models. *Pattern Recogn.* **8**:127-139.
- Aars, J. (2006) <http://npweb.npolar.no/tema/Arter/isbjorn>

Appendix 1: RSD-verdier fra SIMCA

Lakterende	RSD	Ikke-lakterende	RSD
prøver		prøver	
17 I a	0,045	1 I a	0,047
17 L b	0,047	1 I b	0,045
17 I c	0,041	1 M a	0,061
17 Y a	0,023	1 M b	0,054
17 Y b	0,027	1 Y a	0,059
17 Y c	0,028	1 Y b	0,054
21 I a	0,028	5 I a	0,067
21 I b	0,027	5 I b	0,076
21 I c	0,036	5 M a	0,089
21 Y a	0,032	5 M b	0,083
21 Y b	0,025	5 Y a	0,06
21 Y c	0,025	5 Y b	0,061
24 I a	0,047	7 I a	0,089
24 I b	0,046	7 I b	0,086
24 I c	0,042	7 M a	0,086
24 Y a	0,04	7 M b	0,088
24 Y b	0,035	7 Y a	0,065
24 Y c	0,042	7 Y b	0,068
25-i I a	0,035	11 I a	0,128
25-i I b	0,032	11 I b	0,127
25-i I c	0,034	11 M a	0,123
25-i Y a	0,036	11 M b	0,121
25-i Y b	0,041	11 Y a	0,097
37 I a	0,06	11 Y b	0,099
37 I b	0,061	14 I a	0,116
37 Y a	0,043	14 I b	0,117
37 Y b	0,044	14 M a	0,107
37 Y c	0,048	14 M b	0,107
38 I a	0,026	14 Y a	0,082
38 I b	0,024	14 Y b	0,076
38 Y a	0,03	15 I a	0,127
38 Y b	0,028	15 I b	0,129
38 Y c	0,031	15 M a	0,118
39 I a	0,017	15 M b	0,122
39 I b	0,021	15 Y a	0,099
39 I c	0,024	15 Y b	0,096
39 Y a	0,019	18 i a	0,07
39 Y b	0,024	18 I b	0,068
39 Y c	0,023	18 I c	0,061
40 I a	0,024	18 Y a	0,045
40 I b	0,029	18 Y b	0,048
40 I c	0,029	18 Y c	0,064
40 Y a	0,032	20 I a	0,07
40 Y b	0,035	20 I b	0,069
40 Y c	0,029	20 I c	0,069
41 I a	0,021	20 Y a	0,059
41 I b	0,022	20 Y b	0,06
41 I c	0,023	20 Y c	0,06
41 Y a	0,025	30 I a	0,077
41 Y b	0,023	30 I b	0,087

Lipider og fettsyrekomposisjon
i isbjørn (*Ursus maritimus*)

42 I a	0,03	30 Y a	0,093
42 I b	0,023	30 Y b	0,102
42 I c	0,03	30 Y c	0,105
42 Y a	0,015	31 I a	0,04
42 Y b	0,016	31 I b	0,041
42 Y c	0,015	31 I c	0,037
43 I a	0,034	31 Y a	0,04
43 I b	0,031	31 Y b	0,042
43 Y a	0,047	31 Y c	0,032
43 Y b	0,045	32 I a	0,082
44 I a	0,017	32 I b	0,08
44 I b	0,019	32 I c	0,083
44 I c	0,02	32 Y a	0,062
44 Y a	0,021	32 Y b	0,06
44 Y b	0,019	32 Y c	0,066
44 Y c	0,018	33 I a	0,072
		33 I b	0,077
		33 I c	0,076
		33 Y a	0,108
		33 Y b	0,1
		33 Y c	0,105
		45 I a	0,034
		45 I b	0,032
		45 I c	0,033
		45 Y a	0,039
		45 Y b	0,039
		45 Y c	0,04
		46 I a	0,082
		46 I b	0,09
		46 I c	0,082
		46 Y a	0,102
		46 Y b	0,092
		46 Y c	0,104
		47 I a	0,11
		47 I b	0,109
		47 I c	0,112
		47 Y a	0,087
		47 Y b	0,093
		47 Y c	0,09
		48 I a	0,084
		48 I b	0,098
		48 I c	0,088
		48 Y a	0,07
		48 Y b	0,069
		48 Y c	0,057
		25-ii I a	0,091
		25-ii I b	0,087
		25-ii I c	0,09
		25-ii Y a	0,092
		25-ii Y b	0,083
		25-ii Y c	0,083

Appendix 2 - Kvantifisering av total lipidmengde.

Prøvenr.	Utregnet mg	Innveid mg	% analysert
40 I a	16,66	24,3	69
40 I b	15,92	22,5	71
40 I c	8,26	18,2	45
40 Y a	10,54	17,4	61
40 Y b	13,41	19,8	68
40 Y c	3,29	16,6	20
41 I a	15,17	23,3	65
41 I b	15,68	22,3	70
41 I c	14,89	22,4	66
41 Y a	13,05	18,4	71
41 Y b	11,77	15,9	74
42 I a	8,64	17,8	49
42 I b	12,69	30,7	41
42 I c	7,17	24	30
42 Y a	10,70	19,1	56
42 Y b	11,04	20,8	53
42 Y c	8,23	17,3	48
43 I a	7,48	15	50
43 I b	8,84	18,8	47
43 Y a	2,39	9,1	26
43 Y b	2,91	7,6	38
44 I a	26,68	32,4	82
44 I b	22,49	27,4	82
44 I c	25,20	29,6	85
44 Y a	16,60	23,5	71
44 Y b	12,67	19,4	65
44 Y c	12,61	18,4	69
45 I a	22,35	28,5	78
45 I b	14,81	23,3	64
45 I c	19,38	25,2	77
45 Y a	19,21	24,9	77
45 Y b	12,08	23,3	52
45 Y c	17,25	24,5	70
46 I a	23,17	27,2	85
46 I b	26,77	30,6	87
46 I c	19,65	24,5	80
46 Y a	12,63	26,8	47
46 Y b	19,85	28,5	70
46 Y c	22,55	28,8	78
47 I a	16,14	25,9	62
47 I b	16,70	22	76
47 I c	13,75	19,3	71
47 Y a	14,26	19,4	74
47 Y b	16,06	20,9	77
47 Y c	14,09	19,1	74
48 I a	21,14	27,4	77
48 I b	20,72	26,6	78
48 I c	20,31	25,4	80
48 Y a	17,55	35,5	49
48 Y b	16,80	24,4	69
48 Y c	10,17	21,3	48
25-ii I a	22,28	25,9	86
25-ii I b	18,27	22,2	82
25-ii I c	25,35	31	82
25-ii Y a	12,81	17,5	73
25-ii Y b	28,62	35,4	81
25-ii Y c	16,04	24,7	65

Lipider og fettsyrekomposisjon
i isbjørn (*Ursus maritimus*)

Parallell	14:0	14:1n5	a-15:0	15:0	16:0	16:1 n7	18:0	18:1 n9	18:1 n7	18:2 n6	18:3 n3	18:4n3	20:0	20:1n11	20:1 n9	20:2 n6	20:4 n6	20:3n3	20:4n3	20:5 n3	22:0	22:1n11	22:1 n9	22:5n3	24:0	22:6 n3	24:1 n9
11 a	40,500	8,013	3,563	2,983	77,976	114,611	28,935	415,314	61,869	26,904	6,913	5,246	1,371	75,156	355,752	5,308	3,276	0,963	4,913	9,804	1,027	49,155	16,328	97,878	0,324	102,518	2,097
11 b	27,614	5,503	2,393	2,150	53,359	80,211	19,306	276,332	42,345	17,932	4,884	3,491	0,892	48,117	230,615	3,146	2,147	0,612	3,581	6,762	0,597	32,027	10,171	64,121	0,001	66,532	1,034
1 M a	48,365	10,344	3,835	3,742	97,398	164,795	30,792	427,564	75,908	30,161	9,387	6,358	1,343	70,088	367,150	5,690	3,760	1,408	7,899	16,131	0,996	52,818	16,462	114,534	0,001	135,988	2,245
1 M b	27,538	5,891	2,283	2,083	54,847	90,738	17,995	259,142	42,934	17,209	5,230	3,147	0,777	42,350	208,130	2,967	1,994	0,672	4,439	8,316	0,549	29,362	9,192	65,221	0,001	74,522	1,222
1 Y a	35,234	8,257	3,197	3,150	80,578	135,808	24,793	326,393	58,420	21,338	6,677	5,016	1,013	45,780	226,530	3,986	3,431	0,871	7,139	16,762	0,595	27,524	9,203	83,561	0,001	110,919	1,362
1 Y b	46,062	10,952	4,011	4,150	108,813	181,926	33,941	457,412	80,330	29,000	9,158	6,623	1,389	64,618	311,061	5,506	4,588	1,173	9,348	21,734	0,953	37,258	12,267	110,651	0,315	144,262	2,112
21 a	91,528	15,975	5,340	7,272	180,671	285,547	39,245	496,234	111,163	36,568	13,480	21,805	2,084	67,939	354,508	7,310	7,448	1,651	13,724	57,987	1,018	81,691	17,402	115,140	0,464	196,654	3,301
21 b	67,502	11,258	3,921	5,165	133,324	210,042	28,690	360,244	81,228	26,760	9,936	16,510	1,577	51,949	258,093	4,983	5,605	1,232	9,970	45,119	0,975	60,039	12,916	87,730	0,300	150,661	2,615
2 M a	75,324	14,296	4,808	6,347	161,432	245,894	36,672	392,074	91,626	29,236	11,135	20,089	1,579	50,618	253,427	5,134	6,897	1,322	12,623	57,927	1,191	54,058	12,093	95,833	0,296	185,245	2,575
2 M b	69,230	12,993	4,379	5,687	145,830	225,302	32,773	365,218	83,102	26,718	10,405	18,284	1,440	45,034	232,336	5,138	6,074	1,232	11,575	52,265	0,847	50,215	10,905	87,190	0,848	167,721	2,513
2 y a	35,489	7,300	2,308	3,879	82,070	135,216	16,910	207,206	48,189	15,383	5,624	7,278	1,042	25,129	112,696	2,230	5,876	0,647	8,260	34,056	0,602	17,342	4,299	47,728	0,554	89,326	1,427
2 Y b	28,083	5,593	2,361	4,355	91,793	101,203	41,498	188,512	47,735	19,881	4,679	6,549	9,243	23,705	96,063	2,016	18,750	0,529	6,594	30,199	4,904	16,106	6,279	39,975	5,490	78,861	8,153
31 a	59,980	11,165	4,938	6,085	159,565	234,120	50,831	482,549	122,167	33,225	10,676	12,016	2,065	63,165	284,032	8,413	6,172	1,395	11,358	37,301	1,235	42,374	12,969	119,718	0,266	157,562	2,238
31 b	57,594	10,889	4,729	5,898	151,677	225,549	48,738	460,301	115,344	30,983	10,088	12,085	1,927	58,161	261,708	8,035	6,447	1,514	10,982	38,688	0,879	38,732	11,528	113,217	0,716	155,036	2,185
3 M a	63,603	12,344	5,525	7,284	172,847	254,915	53,732	461,086	128,489	33,080	10,783	13,065	2,018	61,259	275,113	8,540	6,589	1,396	12,249	40,990	0,907	40,022	12,175	114,521	0,696	158,885	2,318
3 M b	59,112	11,224	4,851	6,284	158,744	236,520	49,196	469,385	118,745	31,554	10,353	12,563	1,968	57,676	261,070	8,160	6,305	1,365	11,699	40,238	1,201	38,454	11,452	114,348	0,764	159,262	2,251
3 Y a	25,609	5,727	2,686	3,922	79,332	116,413	20,607	242,764	63,016	16,744	4,914	4,124	1,010	27,880	111,089	3,605	3,902	0,599	6,968	17,751	0,649	11,546	3,958	52,200	0,001	71,265	0,972
3 Y b	15,146	3,215	1,472	3,049	46,244	68,838	11,810	144,162	36,703	9,289	2,743	2,098	0,571	15,725	62,076	1,924	2,230	0,349	4,004	10,602	0,405	6,151	2,116	27,356	0,001	36,902	0,563
41 a	52,230	10,992	3,568	4,585	104,169	176,851	25,868	323,091	63,694	21,379	9,044	16,721	1,172	46,308	193,573	4,722	4,920	1,232	7,362	54,761	1,152	40,499	9,341	71,096	0,061	140,269	1,725
41 b	63,705	14,108	4,398	5,848	123,906	209,715	30,570	381,957	75,071	25,584	10,833	19,955	1,357	55,186	227,792	5,265	5,951	1,449	9,081	65,118	0,876	47,578	11,057	85,257	0,001	168,173	2,144
4 M b	79,251	17,723	6,162	7,013	163,030	263,440	47,043	505,870	103,769	35,107	13,534	22,307	1,778	74,036	328,659	7,100	7,387	1,721	11,962	74,338	1,065	56,461	15,182	124,404	0,001	216,888	2,866
4 M a	51,677	11,505	3,863	4,591	104,564	171,183	29,802	340,127	67,356	22,563	8,627	14,411	1,201	49,980	214,227	4,288	4,701	1,162	7,370	47,606	0,795	37,379	9,990	78,451	0,001	135,578	1,819
4 Y	35,689	7,995	2,867	4,361	74,689	122,397	21,227	232,502	46,826	16,365	5,996	8,473	1,082	30,982	126,716	2,934	4,816	0,756	6,354	32,648	0,865	18,795	5,072	50,441	0,154	89,291	1,483
51 a	58,624	10,082	5,349	5,770	136,201	195,244	35,969	357,041	89,664	28,387	9,512	11,043	1,647	51,464	230,638	5,806	5,402	1,133	9,228	29,493	0,860	42,449	10,856	75,834	0,001	122,869	2,079
51 b	69,361	12,178	6,489	6,221	162,345	239,407	41,880	429,060	107,063	33,920	11,187	14,169	1,792	58,307	273,118	6,496	6,748	1,545	12,181	41,200	0,821	51,284	13,022	98,680	0,636	164,524	2,397
5 M a	82,244	15,827	7,837	8,770	194,978	309,966	42,957	453,425	118,651	35,059	12,621	18,803	1,848	55,617	265,538	6,488	8,007	1,506	14,735	61,840	0,972	51,218	12,334	97,137	0,001	174,764	2,323
5 M b	55,525	10,077	5,194	5,713	132,416	206,588	29,869	313,993	81,335	24,265	8,621	12,266	1,289	40,386	185,991	5,425	5,194	1,034	9,503	38,579	0,709	35,934	8,616	65,776	0,001	115,783	1,705
5 Y a	26,491	5,385	3,211	3,328	64,482	97,887	14,698	185,641	42,936	13,061	3,993	4,318	0,803	26,018	104,873	2,537	2,639	0,520	5,065	15,176	0,608	16,232	4,362	33,570	0,001	53,058	0,731
5 Y b	23,713	5,012	2,875	2,900	60,663	89,232	14,554	183,364	41,312	12,737	3,841	3,902	0,769	24,567	97,121	2,477	2,796	0,492	5,052	15,233	0,517	14,417	3,676	32,671	0,001	51,936	0,744
61 a	69,834	12,333	4,282	5,478	144,359	204,639	35,676	422,703	85,454	30,645	10,616	15,647	1,834	50,495	278,087	6,045	4,577	1,269	10,803	36,772	1,118	52,192	13,204	89,304	0,436	147,451	2,468
61 b	66,512	11,788	4,316	5,302	139,896	196,739	35,214	401,203	83,551	30,077	10,181	15,220	1,472	49,994	269,705	5,789	4,530	1,293	10,329	36,941	0,682	51,071	13,206	91,687	0,381	152,056	2,295
6 M a	73,339	12,537	4,693	5,628	151,177	208,676	39,670	468,747	90,322	33,621	11,493	16,219	1,586	54,167	304,730	6,303	4,922	1,368	11,328	38,143	0,841	56,886	14,848	101,955	0,412	170,800	2,422
6 M b	53,891	9,421	3,500	4,543	108,170	147,047	28,967	327,365	65,062	23,914	7,910	11,048	1,258	42,362	223,669	4,319	3,422	0,982	7,687	23,612	0,997	42,802	10,971	68,849	0,001	111,282	1,886
6 Y a	22,707	3,548	1,822	2,552	56,988	69,037	19,580	181,986	37,829	13,366	3,959	4,098	0,985	23,429	100,856	2,276	3,608	0,574	4,308	14,416	0,607	12,044	3,826	32,666	0,001	55,463	1,376
6 Y b	19,678	3,363	1,814	3,612	52,838	59,647	19,946	152,653	32,974	12,180	2,969	3,293	2,070	20,707	86,836	1,792	4,013	0,347	3,335	10,379	1,556	11,320	3,763	24,777	1,216	39,054	2,398
71 a	46,534	7,677	2,908	3,946	103,046	147,349	25,117	279,300	59,732	20,176	7,202	10,520	1,054	35,455	182,417	3,406	3,126	0,914	6,655	30,435	0,690	37,051	8,723	64,797	0,267	97,672	1,680
71 b	43,593	7,196	2,774	4,337	95,298	142,621	23,580	267,265	56,506	19,415	6,905	9,228	0,918	33,287	172,429	3,242	3,076	0,853	7,110	28,004	0,596	33,370	7,851	63,567	0,289	96,263	1,425
7 M a	47,596	8,163	3,150	4,356	105,201	158,778	26,620	294,196	61,896	20,677	7,324	9,894	0,947	34,148	181,837	3,746	3,430	0,881	8,004	32,073	0,657	34,283	8,423	68,255	0,001	105,250	1,685
7 M b	81,230	14,368	5,200	7,604	183,888	277,746	45,409	546,631	108,947	36,950	13,601	17,900	1,639	61,254	330,361	6,272	6,045	1,581	13,930	57,499	1,086	63,531	15,559	125,929	0,887	193,947	2,939
7 Y a	17,281	3,251	1,329	2,124	46,603	69,795	12,620	140,736	30,951	10,022	3,265	2,504															

Lipider og fettsyrekomposisjon
i isbjørn (*Ursus maritimus*)

10 M a	96,031	13,600	6,001	7,882	186,394	258,742	51,972	504,689	118,382	40,966	13,696	21,286	2,546	71,459	368,855	10,425	7,578	1,678	14,251	53,180	1,280	76,111	17,520	125,826	0,375	226,686	3,456
10 M b	27,786	4,455	2,041	4,339	76,439	99,207	26,769	226,244	52,460	17,492	4,789	4,809	2,078	27,072	114,916	2,923	7,865	0,521	5,934	23,647	1,529	14,439	4,433	40,327	1,087	77,462	3,626
10 Y a	37,671	5,600	2,518	3,174	75,875	105,043	21,589	238,339	50,818	18,237	5,621	7,595	1,255	36,004	174,317	3,837	2,832	0,711	5,023	16,299	0,662	37,116	8,374	48,869	0,001	79,351	1,551
10 Y b	49,474	7,687	3,382	5,329	103,779	143,559	28,879	295,168	66,137	22,743	7,273	10,887	1,449	41,103	204,860	4,759	3,988	0,863	7,224	25,849	0,803	42,821	9,795	62,317	0,001	107,683	1,991

Parallell	14:0	14:1n5	a-15:0	15:0	16:0	16:1 n7	18:0	18:1 n9	18:1 n7	18:2 n6	18:3 n3	18:4n3	20:0	20:1n11	20:1 n9	20:2 n6	20:4 n6	20:3n3	20:4n3	20:5 n3	22:0	22:1n11	22:1 n9	22:5n3	24:0	22:6 n3	24:1 n9
11 I a	79,435	11,945	4,504	5,661	150,903	200,545	33,240	351,192	74,994	28,317	10,820	21,715	1,423	43,675	233,166	4,928	5,250	1,446	9,824	58,492	0,786	62,899	12,412	73,944	0,001	150,146	2,589
11 I b	90,718	14,351	5,229	6,843	176,353	231,576	39,369	424,211	87,538	34,328	12,591	25,332	1,667	52,219	274,197	5,655	6,194	1,675	11,631	68,753	0,903	74,496	14,978	84,970	0,741	173,802	3,247
11 M a	82,425	13,434	4,971	6,128	157,906	212,383	36,352	387,025	79,415	29,596	11,335	21,069	1,425	47,289	251,887	5,223	5,819	1,536	12,009	60,381	0,874	60,568	12,960	86,877	0,682	171,867	2,695
11 M b	88,921	14,832	5,424	7,115	173,988	229,666	40,558	439,731	87,087	32,728	12,352	23,682	1,713	52,732	281,562	5,470	6,227	1,650	12,146	64,808	0,995	71,357	14,791	89,525	0,001	177,281	3,021
11 Y a	37,294	6,974	2,678	3,581	83,823	117,397	21,279	223,234	46,516	16,680	5,834	7,318	0,866	27,329	125,416	2,640	4,590	0,672	7,521	30,525	0,639	19,472	4,824	45,602	0,001	84,528	1,418
11 Y b	46,803	8,440	3,282	4,540	103,953	147,140	24,676	282,395	58,017	20,794	7,168	9,801	0,981	34,983	160,619	3,105	5,124	0,888	9,737	39,241	0,720	25,057	6,174	59,671	0,001	109,298	1,814
12 I a	36,062	6,356	3,184	3,796	89,725	118,824	36,979	394,565	80,583	24,319	6,236	4,143	1,894	58,885	239,030	6,126	3,253	0,900	5,930	8,583	1,387	26,482	10,039	81,888	0,001	78,355	1,583
12 I b	24,241	4,247	2,140	2,405	61,328	82,395	24,264	258,035	54,515	16,369	4,348	3,348	1,254	39,080	156,422	4,145	2,127	0,626	4,047	6,302	0,722	17,443	6,543	54,878	0,001	53,853	1,243
12 M a	41,480	7,508	3,644	3,897	109,501	155,984	40,390	413,909	96,152	26,113	7,382	5,660	1,849	53,233	233,899	7,879	4,390	1,077	8,487	16,137	1,333	25,953	10,746	104,543	0,609	117,020	1,862
12 M b	36,612	6,705	3,164	3,526	95,563	135,409	35,920	384,518	83,701	23,758	6,790	4,980	1,788	51,663	209,391	6,691	3,727	0,946	7,365	12,741	1,167	23,165	8,939	88,112	0,288	96,385	1,593
12 Y a	45,388	9,164	4,206	5,319	126,751	184,844	44,750	427,750	105,850	27,391	8,286	7,490	1,984	52,240	215,391	7,826	5,825	1,164	10,607	22,417	1,025	21,443	8,893	105,648	0,001	132,751	1,775
12 Y b	30,332	6,237	2,918	3,770	92,150	133,621	31,334	313,758	79,229	19,786	5,641	4,353	1,393	37,816	142,931	5,530	4,604	0,792	7,939	16,493	0,730	12,502	5,485	74,476	0,001	92,308	1,315
13 I a	32,790	4,641	3,031	3,123	67,185	74,015	31,364	350,190	61,955	22,741	4,690	2,732	1,660	66,778	280,476	5,534	2,432	0,654	3,890	3,910	0,861	48,874	14,681	55,088	0,001	54,978	2,263
13 I b	49,653	7,214	4,464	3,883	108,705	119,235	50,652	564,646	101,554	36,930	7,856	5,120	2,659	101,658	449,074	9,347	4,272	1,284	6,469	7,637	1,462	75,379	98,041	100,252	0,754	100,252	4,037
13 M a	39,582	5,883	3,622	4,010	90,283	99,000	42,281	420,854	83,566	28,502	6,179	3,523	1,941	73,483	314,723	8,285	3,660	0,872	5,857	6,115	1,205	50,054	16,161	76,745	0,293	87,012	2,622
13 M b	43,358	6,126	3,740	3,840	98,387	109,941	44,666	441,017	93,007	32,491	6,593	4,315	2,115	77,647	333,832	9,440	3,777	0,930	6,353	7,804	1,351	51,719	17,639	86,070	0,316	95,420	2,765
13 Y a	26,098	4,231	2,324	2,905	76,560	87,048	32,347	279,248	65,243	19,581	4,655	2,697	1,190	42,573	164,149	4,882	3,769	0,644	5,295	8,487	0,721	18,397	6,789	51,479	0,001	65,457	1,475
13 Y b	23,154	3,622	2,030	2,513	67,763	77,617	28,475	250,528	57,735	17,463	4,105	2,873	1,096	37,255	146,587	4,329	3,628	0,544	4,812	7,797	0,748	15,904	5,707	45,777	0,001	58,239	1,301
14 I a	70,220	15,419	5,371	5,860	179,450	260,848	67,780	465,904	100,537	31,386	12,607	25,848	2,196	58,351	305,190	5,015	5,029	1,485	9,137	84,768	1,002	34,647	12,057	120,942	0,374	141,570	1,875
14 I b	53,881	12,000	4,272	4,691	137,688	201,081	51,966	358,450	76,903	23,452	9,683	20,022	1,551	43,663	229,107	4,540	4,002	1,113	7,301	66,328	1,014	25,524	8,965	93,027	0,519	109,958	1,531
14 M a	65,968	15,199	6,158	6,665	181,465	248,448	78,237	446,926	101,824	29,871	11,950	22,241	1,805	52,048	271,187	5,802	5,052	1,441	11,036	76,357	0,859	28,596	10,490	123,377	0,194	151,438	1,393
14 M b	63,659	14,578	5,614	6,309	173,735	238,832	74,488	453,724	95,842	28,348	11,185	21,616	1,912	49,690	262,099	5,596	4,802	1,313	10,227	73,932	0,903	27,723	10,218	114,486	0,001	139,860	1,573
14 Y a	18,861	4,238	1,743	2,580	59,405	78,272	22,924	160,214	34,284	10,135	3,472	5,049	0,633	16,173	76,975	1,584	2,364	0,382	3,805	19,243	0,450	5,866	2,365	34,890	0,001	40,887	0,599
14 Y b	17,791	3,955	1,595	2,215	56,335	76,006	20,938	151,528	32,871	9,564	3,360	4,146	0,577	15,240	73,234	1,530	1,987	0,369	3,829	18,287	0,386	5,526	2,227	34,394	0,001	41,244	0,229
15 I a	47,547	11,476	3,536	3,992	91,270	177,449	24,421	271,462	58,802	20,430	7,495	14,120	1,093	40,294	227,005	3,640	3,747	0,934	6,221	50,937	0,735	38,628	10,803	86,323	0,001	119,296	1,708
15 I b	52,573	12,504	3,696	4,251	99,282	193,996	25,835	304,606	65,083	23,154	8,686	15,537	1,052	44,843	260,208	4,480	4,141	1,085	7,381	55,979	0,640	45,342	12,354	101,315	0,241	141,293	1,904
15 M a	38,552	8,924	2,725	3,338	73,773	137,022	19,056	208,091	46,280	16,342	6,469	9,302	0,762	30,356	180,601	2,898	3,035	0,772	5,997	33,464	0,526	30,869	8,403	68,971	0,001	102,872	1,302
15 M b	70,290	16,484	4,915	5,687	135,440	254,046	34,973	393,830	85,138	29,780	11,624	18,593	1,380	54,104	334,370	5,828	5,627	1,424	11,397	65,699	0,819	56,636	15,566	130,227	0,802	194,400	2,593
15 Y a	26,389	5,637	2,055	2,811	62,639	105,763	16,164	161,501	37,238	11,994	4,693	5,099	0,726	22,927	120,945	2,161	3,055	0,588	5,460	25,035	0,570	16,761	4,859	47,163	0,001	73,798	0,867
15 Y b	26,417	5,820	2,038	3,183	58,280	102,306	14,176	150,095	34,091	11,317	4,181	4,860	0,597	21,544	116,439	2,163	2,468	0,544	4,881	21,459	0,432	17,253	4,847	40,469	0,001	62,526	0,791
16 I a	76,460	10,790	3,240	5,620	155,240	174,410	49,520	506,770	88,150	33,970	10,070	2,150	2,300	51,710	317,670	6,780	4,400	1,060	10,760	21,300	1,090	64,040	16,240	80,050	0,001	124,390	3,490
16 I b	60,660	8,780	2,670	4,770	130,060	146,440	40,300	400,160	71,980	28,820	8,320	9,790	1,720	45,200	246,650	5,240	4,160	0,840	9,000	19,450	0,890	46,030	12,100	68,640	0,001	108,900	2,090
16 I c	61,440	8,210	2,500	4,500	124,060	137,650	39,810	385,190	70,200	28,760	8,250	1,840	1,700	45,170	258,560	5,500	3,650	0,850	8,410	17,870	0,670	53,640	13,550	67,540	0,380	105,010	1,580
16 Y a	32,660	5,480	1,680	3,600	90,970	96,670	29,080	285,290	56,380	22,080	5,080	1,370	2,250	30,470	139,530	3,300	6,950	0,500	6,700	14,670	1,910	18,600	5,890	40,960	1,160	63,330	3,030
16 Y b	32,870	5,350	1,580	3,490	89,940	103,360	25,150	278,530	57,700	21,100	5,150	1,060	1,620	30,850	138,580	3,840	5,030	0,520	6,810	12,960	1,260	17,710	5,400	38,930	0,940	58,240	1,820
16 Y c	40,85																										

Lipider og fettsyrekomposisjon
i isbjørn (*Ursus maritimus*)

45 I b	21,484	4,843	0,843	1,640	48,079	53,200	19,681	290,467	34,609	18,284	3,685	1,886	0,910	38,990	168,700	2,663	1,099	0,363	2,732	4,467	0,193	26,978	7,741	42,792	0,113	41,212	1,410
45 I c	29,488	6,542	1,028	2,134	69,619	79,437	26,721	391,763	47,062	25,772	5,513	2,911	1,219	53,084	220,375	3,550	1,877	0,558	4,311	6,655	0,238	35,790	10,478	62,141	0,165	61,631	1,971
45 Y a	30,177	7,049	1,303	2,268	76,725	89,872	26,899	405,981	53,135	25,620	6,040	3,844	1,335	53,215	220,823	4,439	2,088	0,484	5,978	8,212	0,274	35,996	10,813	74,202	0,226	93,062	2,174
45 Y b	16,292	3,995	0,767	1,407	41,729	48,384	14,298	217,627	27,979	13,536	3,180	1,958	0,578	27,411	114,096	2,538	1,023	0,324	3,167	4,133	0,168	18,160	5,749	39,043	0,164	49,424	1,077
45 C a	26,806	6,287	0,873	2,063	67,475	79,886	22,371	342,919	46,254	22,398	5,114	2,619	0,966	44,299	179,537	3,960	2,027	0,503	5,764	7,877	0,207	29,300	8,625	64,544	0,239	81,284	1,521
46 I a	63,701	10,748	1,226	4,079	129,423	182,067	26,918	447,288	76,851	32,210	10,371	12,985	1,126	46,782	227,784	4,728	3,239	1,001	8,062	32,772	0,283	57,373	11,966	75,276	0,259	105,997	2,428
46 I b	68,600	11,006	1,476	4,608	135,015	191,863	27,991	462,665	80,403	34,666	10,987	15,235	1,198	46,630	234,993	4,897	3,661	1,174	9,233	37,321	0,362	59,634	12,054	84,604	0,182	120,186	2,218
46 I c	62,098	10,584	1,447	3,921	124,406	175,897	26,214	435,878	74,187	31,811	9,961	11,912	1,214	45,846	219,678	4,532	3,307	1,260	8,416	31,626	0,379	54,670	11,332	77,102	0,233	107,067	2,464
46 Y a	50,605	10,211	1,111	4,029	105,851	165,194	16,773	373,255	63,695	26,802	8,459	12,092	1,018	36,988	168,421	6,392	3,250	1,236	10,898	36,856	0,225	35,008	7,849	72,727	0,254	114,416	2,162
46 Y b	50,814	9,775	1,000	3,627	108,602	166,999	17,303	365,100	62,626	26,232	8,824	10,660	0,977	36,822	165,660	3,847	2,762	0,940	9,462	32,327	0,310	38,866	8,347	65,271	0,210	103,223	1,758
46 Y c	54,196	11,029	1,129	3,810	110,311	173,118	16,431	381,265	63,653	28,635	9,910	12,581	0,922	37,916	175,518	3,775	3,141	1,166	10,943	36,579	0,308	40,888	8,452	74,697	0,220	117,613	1,735
47 I a	44,873	8,111	1,331	5,145	134,452	187,233	41,195	396,524	80,315	24,556	8,160	17,476	1,009	36,233	180,290	4,965	7,089	1,118	10,327	63,793	0,271	25,513	8,113	84,830	0,120	167,476	2,064
47 I b	48,663	8,812	1,458	5,548	142,577	196,356	43,481	430,895	85,603	26,481	8,270	18,537	1,345	39,774	198,684	5,710	7,760	1,637	10,981	66,885	0,336	27,806	9,290	94,389	0,218	181,277	2,211
47 I c	64,739	12,478	1,967	7,556	194,191	270,456	59,862	576,269	115,706	35,556	12,497	26,135	1,703	52,609	259,069	7,886	10,619	1,814	15,913	93,738	0,374	36,609	11,930	126,408	0,194	249,083	2,796
47 Y a	33,041	6,804	1,193	3,850	109,551	138,796	35,584	356,280	64,480	19,554	6,537	9,795	0,910	28,065	139,912	3,761	4,938	0,786	9,840	42,086	0,328	16,286	5,811	76,072	0,145	135,422	1,241
47 Y b	42,271	8,146	1,286	4,847	131,229	169,754	42,018	423,071	76,790	23,511	7,842	13,082	0,946	35,055	168,238	4,522	6,368	1,015	11,965	52,847	0,325	20,696	7,291	93,867	0,173	169,546	1,498
47 Y c	43,729	8,669	1,184	5,250	137,637	176,483	45,030	440,178	79,512	24,400	7,778	12,420	0,889	35,661	173,812	4,329	6,876	1,299	11,815	54,597	0,311	20,653	7,271	94,202	0,181	171,344	1,776
48 I a	42,059	7,768	1,206	2,773	90,384	124,562	32,532	402,278	62,031	22,920	6,592	9,817	1,553	48,145	202,012	3,702	3,356	0,972	5,138	30,568	0,260	38,963	9,640	81,361	0,194	115,406	2,069
48 I b	46,244	9,100	1,289	2,955	96,992	143,231	30,419	421,120	66,229	24,750	7,338	13,635	1,260	45,920	209,202	3,907	3,581	0,941	5,910	38,474	0,339	38,487	9,866	91,558	0,168	137,412	2,028
48 I c	64,834	12,528	1,715	4,654	139,873	194,214	48,533	609,687	95,444	35,723	9,880	16,432	2,108	69,481	305,344	5,736	4,947	1,228	8,817	49,928	0,324	57,430	14,543	126,907	0,267	185,356	2,980
48 Y a	35,380	7,146	0,839	2,981	92,489	120,676	24,625	332,362	58,602	19,864	6,363	6,761	0,759	31,839	130,304	2,914	3,111	0,792	7,220	26,478	0,190	20,348	4,855	65,486	0,203	100,293	1,111
48 Y b	45,625	9,263	1,167	3,926	119,250	167,734	29,417	438,418	77,523	25,840	8,020	8,511	0,950	39,370	170,289	3,897	3,926	1,024	9,368	34,107	0,291	26,752	6,810	86,895	0,147	134,711	1,816
48 Y c	25,077	5,017	0,656	2,443	69,442	99,052	16,921	268,202	46,698	14,242	4,651	4,563	0,524	24,371	97,408	2,040	2,102	0,666	5,308	17,180	0,184	12,551	3,154	46,148	0,102	67,965	0,748
25-II I a	73,268	15,929	1,979	6,483	187,226	269,558	70,045	587,099	101,919	37,604	14,182	18,003	1,656	56,555	337,159	5,285	5,537	1,387	13,680	61,624	0,461	59,058	14,762	138,857	0,300	208,423	2,213
25-II I b	55,437	12,395	1,272	4,762	141,101	202,522	52,329	445,493	76,621	28,253	9,912	12,945	1,149	43,309	253,797	4,502	4,007	1,241	10,056	44,466	0,360	44,148	11,190	102,825	0,250	152,835	1,797
25-II I c	48,392	10,687	1,006	4,095	123,584	179,484	44,904	386,123	67,252	24,730	9,363	11,750	1,170	37,040	222,165	3,688	3,886	0,974	8,871	39,793	0,384	39,325	9,744	91,153	0,214	135,634	1,621
25-II Y a	52,054	12,004	1,007	5,002	143,452	231,295	41,696	418,821	79,402	27,334	10,625	12,747	0,761	36,215	196,354	3,625	5,420	1,156	12,539	57,877	0,380	28,804	7,188	92,651	0,230	143,843	1,326
25-II Y b	43,160	9,312	1,191	4,022	124,421	187,983	41,427	378,708	68,016	24,391	9,152	10,562	0,812	31,651	189,090	3,111	3,870	1,030	9,394	41,655	0,302	29,807	7,775	86,207	0,298	124,865	1,113
25-II Y c	74,759	16,864	1,789	6,947	210,227	331,241	65,065	642,619	119,565	40,440	15,363	17,454	1,358	52,100	306,191	5,347	6,965	1,431	18,031	74,959	0,423	43,826	10,877	140,037	0,248	211,694	2,027

