



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2017 30 stp
Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning

Arsen (As), brom (Br) og bly (Pb) i morsmelk og urin blant ammende mødre bosatt i Oslo, Norge – interaksjoner som påvirker nivået

Arsenic (As), Bromine (Br), and Lead (Pb) in Breast
Milk and Urine among Lactating Mothers Living in
Oslo, Norway – Interactions which Influence the
Levels

Susanne Birkeland
Kjemi og bioteknologi

Sammendrag

Morsmelk er den ideelle næringen for optimal vekst, helse og utvikling for små barn, men det kan også være en kilde til miljøgifter. På grunn av rask vekst, umodne nyrer samt lever, og et nervesystem under utvikling, er små barn spesielt sensitive for toksiske grunnstoffer sammenlignet med eldre barn og voksne. Det er nødvendig med kunnskap om forekomst og nivå av både essensielle og potensielt toksiske grunnstoffer for å øke offentlig bevissthet. I denne oppgaven er totalkonsentrasjonen av grunnstoffene arsen (As), bly (Pb), brom (Br), jern (Fe), jod (I), kobber (Cu), mangan (Mn), nikkel (Ni), rubidium (Rb), selen (Se) og sink (Zn) bestemt i morsmelk (n=175) fra mødre bosatt i Oslo, Norge. Totalkonsentrasjonen av klor (Cl) og svovel (S) er bestemt i tillegg til de nevnte grunnstoffene i urin (n=175).

Morsmelk og urin ble analysert ved bruk av trippel kvadrupol induktivt koblet plasma massespektrometri (ICPMS-QQQ). Prøvene ble preparert ved fortykning med en basisk reagens (BENT) inneholdende 1-Butanol, H₄EDTA, NH₄OH og Triton™, X-100. I morsmelk er mediankonsentrasjonen (min-maks) for mangan 2,6 µg/L (1,2-19), jern 270 µg/L (75-760), nikkel <0,8 µg/L (<0,2-6,9), kobber 330 µg/L (89-740), sink 1500 µg/L (240-6400), arsen <0,5 µg/L (<0,2-12), brom 500 µg/L (210-2700), selen 11 µg/L (6,6-50), rubidium 550 µg/L (310-920), jod 68 µg/L (16-600) og bly 0,25 µg/L (<0,06-7,8). Gjennomsnittsnivåene for sink og rubidium ligger lavere i denne oppgaven enn det som er rapportert i noen tidligere studier i Norge, Sverige, Italia, Hellas og Østerrike. Sammenlignet med to svenske studier ble det observert høyere maksimumsverdi for arsen, kobber, sink og selen i morsmelk, mens medianen for bly, selen og jern er lavere. I urin er mediankonsentrasjonen (min-maks) for mangan <0,4 µg/L (<0,4-7,0), jern 12 µg/L (4,6-650), nikkel 2,4 µg/L (<1-19), kobber <20 µg/L (<6-46), sink 360 µg/L (24-3000), arsen 25 µg/L (0,82-1000), brom 2200 µg/L (320-8900), selen 19 µg/L (1,4-120), rubidium 1700 µg/L (190-1700), jod 64 µg/L (3,2-520), bly <0,8 µg/L (<0,2-23), svovel 670 mg/L (79-1500) og klor 5100 mg/L (500-12000).

Sammenlignet med studier fra Algerie, Belgia og Ghana har jern og bly lavest mediankonsentrasjon i urin i dette arbeidet, men høyest maksimumskonsentrasjon. Dette tyder på at det er store individuelle forskjeller i målt konsentrasjon for noen av grunnstoffene. Det ble funnet en signifikant positiv sammenheng ($p<0,001$) mellom inntak av fet fisk og arsen i morsmelk, og en signifikant reduksjon av bromkonsentrasjon når barnets alder økte ($p<0,001$). Det ble funnet en signifikant positiv sammenheng mellom økt konsentrasjon av jod i morsmelk ved økt konsentrasjon av jod i urin ($p<0,001$), økt konsentrasjon av brom i morsmelk ved økt konsentrasjon av brom i urin ($p<0,05$) og økt konsentrasjon av arsen i morsmelk ved økt konsentrasjon av arsen i urin ($p<0,001$).

Abstract

Breast milk is the ideal food for optimal growth, health, and development of infants, but it is also a source of environmental pollutants. Due to rapid growth, immature kidney and liver, and nervous system under development, infants are especially sensitive to toxic elements compared with older children and adults. Thus, knowledge on the presence and level of both essential and potential harmful elements in breast milk is important to increase public awareness. Total concentration of arsenic (As), lead (Pb), bromine (Br), iron (Fe), copper (Cu), manganese (Mn), nickel (Ni), rubidium (Rb), selenium (Se), and zinc (Zn) were determined in breast milk among lactating mothers living in Oslo, Norway. Total concentration of chlorine (Cl) and sulfur (S) were also determined in urine. The breast milk and the urine were analyzed using triple quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS-QQQ). The samples were prepared by dilution with an alkaline solution (BENT) containing 1-butanol, H₄EDTA, NH₄OH and Triton™, X-100. The median (min-max) value for manganese in breast milk was 2.6 µg/L (1.2-19), iron 270 µg/L (75-760), nickel <0.8 µg/L (<0.2-6.9), copper 330 µg/L (89-740), zinc 1,500 µg/L (240-6,400), arsenic <0.5 µg/L (<0.2-12), bromine 500 µg/L (210-2,700), selenium 11 µg/L (6.6-50), rubidium 550 µg/L (310-920), iodine 68 µg/L (16-600), and lead 0.25 µg/L (<0.06-7.8). Mean concentrations for zinc and rubidium are lower than reported in some earlier studies in Norway, Sweden, Italy, Greece and Austria. Compared to two Swedish studies it was observed higher maximum values for arsenic, copper, zinc and selenium, while the median concentrations of lead, selenium and iron were lower. The median (min-max) value for manganese in urine was <0.4 µg/L (<0.4-7.0), iron 12 µg/L (4.6-650), nickel 2.4 µg/L (<1-19), copper <20 µg/L (<6-46), zinc 360 µg/L (24-3,000), arsenic 25 µg/L (0.82-1,000), bromine 2,200 µg/L (320-8,900), selenium 19 µg/L (1.4-120), rubidium 1700 µg/L (190-1,700), iodine 64 µg/L (3.2-520), lead <0.8 µg/L (<0.2-23), sulfur 670 mg/L (79-1,500), and chlorine 5,100 mg/L (500-12,000). Compared to studies from Algeria, Belgium and the Republic of Ghana, lower median concentrations were observed for iron and lead in this study, however, the maximum concentrations were higher. This indicates large individual variations in concentration levels for some of the elements. A significant positive association (p<0.001) between consumption of fat fish and arsenic in breast milk was noticed. Bromine concentration in breast milk decreased significantly (p<0.001) with increasing age of the infant. A significant positive association between increased level of iodine in breast milk and iodine in urine (p<0.001), increased level of bromine in breast milk and bromine in urine (p<0.05), and increased level of arsenic in breast milk and arsenic in urine (p<0.001), were observed.

Forord

Denne masteroppgaven ble utført ved Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning og er en del av et femårig studieprogram i kjemi og bioteknologi, med fordypning i miljøkjemi/uorganisk analyse.

Jeg vil rette en stor takk til hovedveileder Elin Gjengedal, førsteamanuensis ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU), for en spennende oppgave, god veiledning og tilbakemeldinger under oppgaveskrivingen. Tusen takk til medveileder Marie Vollset, overingeniør ved NMBU, for hjelp med overføring av prøver og god hjelp på laboratoriet. Jeg vil også rette en takk til medveileder Sigrun Henjum, førsteamanuensis ved Høgskolen i Oslo og Akershus (HiOA), for at jeg har fått lov til å være en del av dette spennende prosjektet.

Senioringeniør Karl Andreas Jensen og overingeniør Solfrid Lohne fortjener også en stor takk for opplæring på ICP-MS og god hjelp på laboratoriet.

Jeg vil også rette en takk til Balazs Berlinger, senioringeniør ved Statens arbeidsmiljøinstitutt (STAMI), for tilgang til godkjent laboratorium for overføring av biologiske prøver.

Til slutt vil jeg takke min kjære familie for god støtte og oppmuntrende ord gjennom hele utdannelsen. Takk for at dere alltid er der for meg.

Ås, mai 2017

Susanne Birkeland

Forkortelser

NMBU	Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
HiOA	Høgskolen i Oslo og Akershus
STAMI	Statens arbeidsmiljøinstitutt
ICP-MS	Induktivt koblet plasma massespektrometri
SRM	Sertifisert referansemateriale
LOD	Deteksjonsgrense
LOQ	Kvantifiseringsgrense
TMAH	Tetrametylammoniumhydroksid
BENT	Basisk reagens, en blanding av 1-Butanol, H ₄ EDTA, NH ₄ OH og Triton™, X-100
SD	Standardavvik
RSD	Relativt standardavvik
V/V	Volum/volum
w/V	Vekt/volum
w/w	Vekt/vekt
QQQ	Trippelkvadrupol
Min-maks	Minimumsverdi-maksimumsverdi

Ordforklaringer

Internstandard	Lages med kjent mengde grunnstoffer med en gitt konsentrasjon som ikke finnes i prøven, eller som det finnes så lite av at det er neglisjerbart. En internstandard bør ha tilnærmet likt ionisasjonspotensial som analytten og ligge i samme masseområde. Grunnstoffet som blir valgt som internstandard for analytten bør oppføre seg mest mulig likt analytten. Lik mengde internstandard blir tilsatt i prøver og standarder for å korrigere for fysiske interferenser.
Blankprøver	En blankprøve har gjennomgått samme prosedyre som prøver med analytt. En blankprøve inneholder derfor like mengder kjemikalier (inkludert vann) som prøver med analytt. Resultatet for blankprøver blir subtrahert fra avlesning for analytt dersom resultatet er entydig og over kvantifiseringsgrensen. Hvis resultatet for blankprøvene ikke er entydig er analyseresultatet ugyldig.
Miljøgift	Giftige, persistente stoffer som kan oppkonsentreres i næringskjeden og skade mennesker, dyr og miljø.
Karboneffekten	For noen grunnstoffer med høy første ioniseringsenergi, slik som selen og arsen, vil karbon i prøven føre til økt ionisasjon i plasma. Karbonet i prøvene kan fjernes ved oksidering under dekomponering eller ved å tilsette en karbonkilde som gjør innholdet av karbon i prøven neglisjerbart.
Sentrifugat	Væsken som er igjen ved sentrifugering av en prøve.
Toksisitet	Giftighet
Skjoldkjertel	Sommerfuglformet kjertel som er bygd opp av et stort antall follikler. Follikkelcellene produserer hormonene tyroksin (T ₄) og trijodtyronin (T ₃) som påvirker kroppens stoffomsetning, varmeproduksjon og vekst (Sand et al. 2014).
Antropogen	Menneskeskapt
Neonatal	Som angår nyfødte. Neonatalperioden omfatter barnets fire første leveuker (Lie 2017).

Cytotoksisk	Skadelig for cellene
Gentoksisk	Skadelig for arvematerialet (DNA) og kan forårsake mutasjoner som blant annet kan føre til kreft.
Postpartum	Etter fødselen
Spoturin	Tilfeldig urinprøve uten oppsamling

Innhold

Sammendrag

Abstract

Forord

Forkortelser

Ordforklaringer

1 Innledning.....	1
1.1 Bakgrunn for oppgaven	1
1.2 Formål med oppgaven	2
2 Teori.....	3
2.1 Morsmelk og amming.....	3
2.2 Opptak og utskillelse av grunnstoffer fra mors kropp	4
2.3 Arsen, brom og bly	5
2.3.1 Arsen.....	5
2.3.2 Brom	7
2.3.3 Bly.....	8
3 Eksperimentelt.....	9
3.1 Forsøkspersonene og prøvematerialet	9
3.2 Prøvetaking.....	9
3.3 Utstyr og materialer	9
3.4 Metode	9
3.4.1 Prøveoverføring.....	9
3.4.2 Basisk prøvepreparering	10
3.4.3 Prøvepreparering av morsmelk	10
3.4.4 Prøvepreparering av urin	11
3.4.5 Analyse med ICP-MS	11
3.4.6 Internstandard	12
3.4.7 Isotopfortynning.....	12
3.4.8 Instrumentelle parametere	13
3.5 Metodevalidering	13
3.5.1 Nøyaktighet, riktighet og presisjon.....	13
3.5.2 Deteksjonsgrenser og kvantifiseringsgrenser	14
3.6 Statistiske analyser og behandling av data	14
3.7 Testforsøk	14
3.7.1 Fortynning med BENT	15

3.7.2 Oppslutning med TMAH	15
3.7.3 Analyse av testforsøk med ICP-MS	15
4 Resultater og diskusjon	16
4.1 Begrensninger og bidrag til usikkerhet i arbeidet	16
4.2 Analysekvalitet	17
4.3 Totalkonsentrasjon av grunnstoffer i morsmelk og urin fra ammende mødre bosatt i Oslo	18
4.3.1 Analyse av morsmelk	18
4.2.2 Analyse av urin	19
4.4 Sammenhenger mellom totalkonsentrasjon av grunnstoffer i morsmelk og urin	20
4.5 Faktorer som påvirker innholdet av arsen, bly og brom i norsk morsmelk	23
4.5 Innholdet av ulike grunnstoffer i morsmelk fra ammende mødre bosatt i Oslo sammenlignet med studier fra andre land	27
4.6 Innholdet av ulike grunnstoffer i urin fra ammende mødre bosatt i Oslo sammenlignet med studier fra andre land	30
5 Forslag til videre arbeid	31
6 Konklusjon	32
Referanser	34
Vedlegg A – Utstyr, instrumenter, kjemikalier, referansematerialer og internstandarder	i
Vedlegg B – Tillaging av kalibreringsstandarder	iv
Vedlegg C – Løsninger, instrumentelle parametere, masse, gassmodus og internstandard benyttet ved bruk av ICP-MS	vi
Vedlegg D – Presisjon i metoden	x
Vedlegg E – Riktighet og nøyaktighet	xi
Vedlegg F – Sertifiserte områder til SRM	xiii
Vedlegg G – Resultater fra testforsøket	xv
Vedlegg H – Spørreskjema til ammende	xvi

1 Innledning

1.1 Bakgrunn for oppgaven

Norske helsemyndigheter anbefaler morsmelk som eneste næring de første 6 månedene av barnets liv. Gjennom morsmelken blir barnets behov for vitaminer (unntatt vitamin D), mineraler og næringsstoffer dekket, forutsatt at mor har dekket alle sine næringsbehov (Helsedirektoratet 2017). De første levemånedene er barnet i en sterk vekst- og utviklingsfase, og tilgangen på næringsstoffer er derfor svært viktig. Mangel på disse kan føre til mangelsykdommer og permanente helseskader på barnet, men næringsstoffer kan også være skadelig dersom inntaket er for høyt. Av grunnstoffene bestemt i dette arbeidet er jern, jod, kobber, mangan, sink og selen regnet som essensielle grunnstoffer, mens arsen og nikkel er mulig essensielle (Drevon & Blomhoff 2012). Jern er det hyppigst forekommende sporgrunnstoffet i enzymer, mens sink, kobber og mangan inngår i en rekke viktige enzymer og grunnleggende reaksjoner i kroppen (Drevon & Blomhoff 2012; Monsen 2017). Tilstrekkelig konsentrasjon av jod i morsmelk er avgjørende for optimal neonatal syntese av skjoldkirtelhormoner og nevrologisk utvikling hos spedbarn som ammes (Henjum et al. 2016). Selen er en viktig bestanddel i flere enzymer og finnes i alle celler og vev i kroppen. Selen inngår blant annet i 5'-deiodase og glutathionperoksidase. 5'-deiodase katalyserer omsetningen av tyroksin til trijodtyronin som er viktig for reguleringen av stoffskiftet. Glutathionperoksidase fungerer som antioksidant i kroppen og beskytter cellene mot oksidativ skade (Drevon & Blomhoff 2012). Rubidium er det 16. mest vanlige grunnstoffet i jordskorpen og forekommer i alle vev i menneskekroppen, med høyest konsentrasjon i testikler, lever, eggstokker, lymfeknuter, nyre og muskler. Den biologiske rollen til rubidium er derimot lite kjent, og det er behov for mer kunnskap (Milman et al. 2006).

Selv om morsmelk er en god kilde til næring hos små barn, er det også en kilde til miljøgifter. Bly og arsen er toksiske grunnstoffer som er assosiert med betydelige helseskader selv i lave konsentrasjoner, spesielt hos små barn som er under sterk utvikling (Monsen 2017).

Organiske miljøgifter, samt noen grunnstoffer som kvikksølv og kadmium er undersøkt i morsmelk i andre studier (Eggesbø et al. 2009; Polder et al. 2009; Thomsen et al. 2010; Ursinyova & Masanova 2005), mens andre grunnstoffer finnes det lite informasjon om. Det finnes per dags dato ingen informasjon om nivå av totalkonsentrasjon av brom i norsk morsmelk. Det er også lite informasjon om de potensielt toksiske grunnstoffene arsen og bly i norsk morsmelk. Brom finnes naturlig i sjøvann, og inngår i mange forbindelser som for eksempel bromerte flammehemmere som brukes i elektroniske produkter, biler og tekstiler for

å gjøre produktene mindre brannfarlige. Bromerte flammehemmere står på prioriteringslisten for 2020-målet for miljøgifter vedtatt av Norske myndigheter, der målet er å redusere bruk og utslipp kontinuerlig med sikte på å stanse utslippene innen 2020 (Klima- og miljødepartementet 2015). Ved å måle totalkonsentrasjonen av brom vil også disse forbindelsene inngå.

I følge Roza (2009) kan brom erstatte jod i skjoldkjertelen og undertrykke produksjonen av tyroideahormoner og dermed virkningen av skjoldkjertelen. En studie gjort på rotter viste at ved økt inntak av bromid vil brom erstatte jod i skjoldkjertelen (Vobecký et al. 1996). Mangel på tyroideahormoner kan føre til redusert utvikling og modning av hjernecellene, samt nedsatt mental funksjon. I tillegg har tyroideahormonene betydning for lengdevekst (Sand et al. 2014). Kunnskap om konsentrasjonsnivå av potensielt toksiske grunnstoffer i morsmelk er derfor svært viktig å kartlegge.

1.2 Formål med oppgaven

Hovedmålet med dette arbeidet var å øke kunnskapen om både essensielle og potensielle toksiske grunnstoffer som finnes i morsmelk hos mødre bosatt i Norge. Dette vil gi økt kunnskap om tilgjengeligheten av ulike grunnstoffer hos spedbarn. Prøvene av morsmelk og urin ble samlet inn i forbindelse med forskningsprosjektet *Jodstatus blant ammende* ledet av førsteamanuensis Sigrun Henjum ved Høgskolen i Oslo og Akershus. Prøvene ble samlet inn fra 175 ammende mødre tilhørende fem tilfeldig valgte helsestasjoner i Oslo-området. Arbeidet med å rekruttere forsøkspersoner, lage kostholdsskjema og skaffe prøvemateriale ble utført av to masterstudenter ved Høgskolen i Oslo og Akershus.

Hovedkilden til mange av de potensielt toksiske grunnstoffene er mat, og det er derfor hensiktsmessig å samle inn detaljert kunnskap om mors kosthold for å få et bilde på hva mor og barn utsettes for.

Totalkonsentrasjonen av arsen, bly, brom, jern, jod, kobber, mangan, nikkel, rubidium, selen og sink skulle bestemmes i morsmelk fra 175 ammende mødre, mens klor og svovel skulle bestemmes i tillegg til de nevnte grunnstoffene i urin. Klor har en viktig rolle i kroppen som elektrolytt, og inngår i saltsyre (HCl) som er en viktig bestanddel av magesaften. Svovel inngår i aminosyrene metionin og cystein (Gropper & Smith 2012). Konsentrasjonsnivåene av arsen, bly, brom, jern, jod, kobber, mangan, nikkel, rubidium, selen og sink i morsmelk og urin skulle sammenlignes med nivåer rapportert i andre studier. Det skulle også undersøkes om det var sammenheng mellom konsentrasjonsnivået i morsmelk og urin, og om det var

korrelasjon mellom totalkonsentrasjonen av brom og jod. Multippel lineær regresjon skulle brukes til å undersøke om mors konsum av sjømat, nasjonalitet, samt om barnets alder ved prøvetaking kan påvirke konsentrasjonsnivået av arsen eller brom i morsmelk og urin. For å begrense oppgavens omfang vil hovedfokuset gjennom hele oppgaven ligge på arsen, brom, jod og bly.

Prøvene av morsmelk og urin skulle analyseres ved bruk av en trippelkvadrupol induktivt koblet plasma massespektrometer. Ved bestemmelse av totalkonsentrasjon av halogene brom og jod er det nødvendig med en basisk prøvepreparering som ikke fører til dannelse av flyktige forbindelser slik som ved sur dekomponering. Ved sur dekomponering reagerer bromid med syre og danner bromgass. Lav pH vil oksidere jodid (I^-) til flyktig molekylært jod (I_2) og danne flyktig hydrogenjodid (HI) (Reid et al. 2008). Prøvene skulle derfor prepareres ved en basisk prøvepreparering utviklet av Enger (2014) og videreutviklet av Vollset (2015). Basisk prøvepreparering gjør det mulig å bestemme andre viktige anion-dannende grunnstoffer som selen, arsen og svovel (Reid et al. 2008).

2 Teori

2.1 Morsmelk og amming

Etter fødselen er det nyfødte barnet helt avhengig av å få tilført næringsstoffer gjennom morsmelk eller morsmelkerstatning. Gjennom morsmelken blir barnets behov for vitaminer, mineraler og næringsstoffer dekket, forutsatt at mor har dekket alle sine næringsbehov. Kvinnen produserer 500-1500 mL melk hver dag, og består hovedsakelig av vann, laktose, fett og proteiner (Sand et al. 2014). Morsmelkens sammensetning varierer i løpet av måltidet, dagen og ammeperioden (Drevon & Blomhoff 2012). Energiinnholdet i melken er om lag 3000 kJ per liter (Sand et al. 2014). Morsmelk er anbefalt som eneste næring de første seks månedene av barnets liv (Helsedirektoratet 2017). Sammenlignet med en gjennomsnittlig voksen, drikker barnet syv ganger så mye væske per kilo kroppsvekt per dag de første seks månedene av livet (Nordberg et al. 2015a). Innholdet av næringsstoffer i morsmelken varierer med morens kosthold. Mennesker får hovedsakelig i seg miljøgifter gjennom mat, vann, luft og ved hudkontakt, og derfor vil også morsmelken inneholde lave konsentrasjoner av ulike miljøgifter som mor har fått i seg (Vitenskapskomiteen for mattrygghet 2013).

2.2 Opptak og utskillelse av grunnstoffer fra mors kropp

Tabell 1. Viser en oversikt over kilde til humant inntak, mulig helseeffekt, samt metabolisme, distribusjon og utskillelse av arsen, bly og brom hos mennesker.

Grunnstoff	Kilde til humant opptak	Mulig helseeffekt	Metabolisme, distribusjon og utskillelse	Referanser
As	Inntak av mat og forurenset grunnvann.	Avhengig av oksidasjonstrinn og kjemisk form. Kreftfremkallende, kronisk eksponering kan gi hudutslett, «Blackfoot-sykdom», perifer vaskulær sykdom.	Absorbert i mage-tarmkanalen, videre omdannelse i nyre og lever. Hovedsakelig utskilt med urin, en liten del med feces.	(Hughes et al. 2011; Molin et al. 2015; Molin 2017; Nordberg et al. 2015b; Shankar & Shanker 2014)
Pb	Innånding, inntak av næringsmidler.	Påvirker sentralnervesystemet og det perifere nervesystemet.	Lagres i beinvev. Skilles hovedsakelig ut med urin, men også med feces, svette, spytt, hår, negler og morsmelk.	(Ali & Aboul-Enein 2006; Dorea 2004; European Food Safety Authority 2013; Téllez-Rojo et al. 2002)
Br	Inntak av mat som nøtter, sjømat og kjøtt, samt hudkontakt og innånding av kjemikalier inneholdende brom (som bromerte flammehemmere).		Skilles hovedsakelig ut med urin, men også hud, hår og negler.	(Caballero et al. 2005; Levy & Andrew 2017)

Arsen blir absorbert i mage-tarmkanalen, mens videre omdannelse skjer i nyre og lever og metabolittene skilles hovedsakelig ut med urinen. I denne prosessen danner uorganisk arsen svært reaktive mellomprodukter, der toksisiteten er antatt å henge sammen med disse reaktive

mellomproduktene (Hughes et al. 2011; Molin et al. 2015; Molin 2017). Sammenlignet med uorganisk arsen, vet man mindre om metabolismen av organisk bundet arsen i menneskekroppen (Molin et al. 2015). Bare en liten del skilles ut med feces (Nordberg et al. 2015b). Mesteparten av arsenet som blir absorbert av lungene eller mage-tarmkanalen skilles ut med urinen i løpet av 1-2 dager, og ved lave nivåer øker nivået av arsen i urin med økt inntak av arsen. Fordi arsen raskt metaboliseres og skilles ut i urinen, regnes urin generelt som den mest pålitelige indikatoren på arsennivå ved nylig eksponering (Mandal & Suzuki 2002; Nordberg et al. 2015b). Graden av urinutskillelse varierer avhengig av den kjemiske formen (Caldwell et al. 2009).

Bly er et giftig grunnstoff som hovedsakelig kommer inn i kroppen via innånding og inntak av næringsmidler. Bly lagres i beinvev og kan frigjøres i morsmelk (Dorea 2004; Téllez-Rojo et al. 2002). I beinvev har bly forholdsvis lang halveringstid på 10-30 år (Wigle et al. 2008). Dersom mor har vært eksponert for bly kan det altså gå lang tid før blyet er ute av kroppen. Bly blir i hovedsak utskilt i urinen, mest sannsynlig ved passiv diffusjon. En liten del kan også bli utskilt med feces, svette, spytt, hår, negler og morsmelk (European Food Safety Authority 2013). Dersom mor slanker seg bevisst i ammeperioden kan miljøgifter som er lagret i mors fettvev frigjøres og gå over i morsmelken (Drevon & Blomhoff 2012; Helsedirektoratet 2017).

Det finnes svært begrenset informasjon om metabolismen til brom i kroppen, men ifølge Caballero et al. (2005) utskilles brom med urinen. Brom utskilles også i en viss grad gjennom hud, hår og negler (Levy & Andrew 2017).

2.3 Arsen, brom og bly

2.3.1 Arsen

2.3.1.1 Generelt om arsen

Arsen er kreftfremkallende og regnes som et av verdens farligste kjemikalium (Shankar & Shanker 2014). Arsen finnes i to hovedformer, organisk og uorganisk arsen, der det først og fremst er de uorganiske formene som er ansett som helseskadelig (World Health Organization 2010). Arsen finnes primært i berggrunnen, i grunnvann og i jord, og i små mengder finnes det overalt i jordskorpen. Millioner av mennesker rundt om i verden er utsatt for høye nivåer av arsen på grunn av inntak av arsenrikt grunnvann, og dette er et globalt problem (Shankar & Shanker 2014).

Toksisiteten og biotilgjengeligheten av arsen avhenger av den kjemiske formen grunnstoffet foreligger på (Xie et al. 2006). Arsen kan foreligge som elementært arsen (0), trivalent (-3

eller +3) og pentavalent (+5) (Hindmarsh 2002). Organiske arsenforbindelser er bundet til karbon, og foreligger hovedsakelig som arsenobetain, arsenokolin eller ulike sukkerforbindelser (Le et al. 1994) og arsenlipider (Meyer et al. 2014).

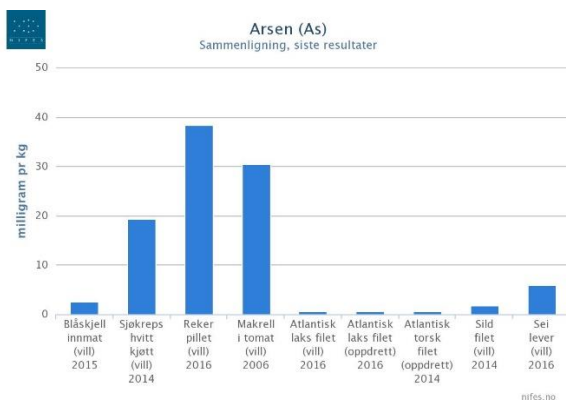
2.3.1.2 Kilder og inntak av arsen

I områder hvor arsen ikke er naturlig til stede i høye nivåer, bidrar maten vanligvis til det største inntaket av arsen. Fisk, skalldyr, kjøtt, fjærfe, meieriprodukter og frokostblandinger er de viktigste kildene til arsen i kosten (World Health Organization 2010). I Norge er det fisk og sjømat som er den største kilden for inntak av arsen (Molin 2017). I sjømat foreligger arsenet hovedsakelig på en organisk bundet form, og hvilke forbindelser som dominerer varierer fra art til art. I reker og mager fisk som torsk, brosme og sei, er det mest av arsenobetain, en organisk forbindelse som ikke er ansett som toksisk. Tran og fet fisk inneholder arsenlipider, mens skalldyr som blåskjell og i fet fisk finnes det mye arsensukkere. Generelt finnes det svært lite uorganisk arsen i sjømat, men noen arter som blåskjell og noen typer alger kan inneholde store mengder (Molin et al. 2015). Arsenlipider er fettløselige organiske arsenforbindelser og forekommer hovedsakelig i marine organismer (Witt et al. 2017). En nylig studie av flere arsenlipider har vist et høyt cytotoxisk potensial i menneskelever og blæreceller (Witt et al. 2017). Sele (2014) har undersøkt flere typer fiskeoljer, og funnet at de inneholder arsenholdige hydrokarboner og arsenholdige fettsyrer, som er to hovedundergrupper av arsenlipider. I alle fiskeoljene som ble undersøkt var det tre arsenholdige hydrokarboner som var dominerende. Også andre marine oljer som ble vist å inneholde arsenholdige hydrokarboner og fettsyrer var olje av sel, laks og torskelever (Sele 2014).

Mat som er dyrket i eller på jorda inneholder hovedsakelig uorganisk arsen, der konsentrasjonen avhenger av type jordsmonn, plantevernmidler inneholdende arsen samt nivå av arsen i vannet som brukes til vanning. Inntak av ris og risprodukter er den største kilden til uorganisk arsen i kosten, og kan være av grunn til bekymring for spedbarn og småbarn. Avhengig av hvilke plantevernmidler som er benyttet og hvor det er dyrket, kan uorganisk arsen også forekomme i rødvin, kaffe, te, tobakk og korn (Molin 2017).

Det er ikke fastsatt noen øvre grenseverdi for arsen i mat, men Verdens Helseorganisasjon (WHO) har fastsatt en grenseverdi på 10 µg/L for uorganisk arsen i drikkevann som også gjelder i Norge (World Health Organization 2011).

Figur 1 og 2 viser en oversikt over mengde total arsen og uorganisk arsen i noen typer sjømat.



Figur 1. Total mengde arsen (mg/kg) i noen typer sjømat. Hentet fra <https://sjomatdata.nifes.no>



Figur 2. Mengde uorganisk arsen (µg/kg) i noen typer sjømat. Hentet fra <https://sjomatdata.nifes.no>

2.3.1.3 Helseeffekter av arsen

Eksposering for arsen kan føre til hud-, blære-, lever- og lungekreft (Shankar & Shanker 2014). Studier i Taiwan (Chiou et al. 1995), Japan (Tsuda et al. 1995) og Chile (Smith et al. 1998) har funnet signifikante sammenhenger mellom lungekreft og eksponering av As i drikkevannet. Arsen er også kjent for å være cytotoxisk og genotoksisk. Kronisk eksponering for arsen kan gi hudutslett, «Blackfoot-sykdom», perifer vaskulær sykdom og kreft (Shankar & Shanker 2014).

2.3.2 Brom

2.3.2.1 Generelt

Brom befinner seg i hovedgruppe 17 i det periodiske system sammen med fluor, klor, brom, jod, astat (At) og tenness (Ts). Denne gruppen kalles halogen som er gresk og betyr saltdanner, nettopp fordi disse grunnstoffene reagerer lett og danner salter. Disse grunnstoffene mangler ett elektron for å ha et fullt elektronskall. De tar lett opp et ekstra elektron, og er svært reaktive, giftige og sterke oksidasjonsmidler. Brom kan danne kovalente

bindinger til karbon og dermed inngå i organiske forbindelser (Ystenes & Pedersen 2017). Siden brom er svært reaktivt og lett danner forbindelser med andre, er brom bestanddel i en rekke kjemiske forbindelser, blant annet bromerte flammehemmere. Bromerte flammehemmere er en fellesbetegnelse på en gruppe organiske grunnstoffer som alle inneholder brom. Noen av disse kan oppkonsentreres i næringskjeden og er påvist i levende organismer og i morsmelk (Antignac et al. 2009; Meironyté et al. 1999). Det er også påvist helse- og miljøskadelige effekter knyttet til mange av disse stoffene (Schlabach et al. 2003).

2.3.2.2 Kilder til brom

Rose et al. (2001) utførte en studie på de 20 vanligst konsumerte matvarene i Storbritannia, og fant at nøtter, fisk og kjøtt hadde det høyeste nivået av brom, mens drikkevarer, frukt, poteter og sukker hadde lavest nivå av brom. Brom finnes også i sjøvann og grunnvann. Haugstad (2015) analyserte drikkevann (grunnvann) og urin blant Saharawiske flyktninger i Algerie i sitt mastergradsarbeid, og fant at det var en signifikant positiv korrelasjon mellom jod og brom i drikkevann ($p < 0,001$) og urin ($p < 0,005$).

2.3.3 Bly

2.3.3.1 Generelt

Bly er et giftig grunnstoff som kommer fra både naturlige og antropogene kilder. Selv om det forekommer i de fleste miljøer og biologiske systemer er det et ikke-essensielt grunnstoff. Bly transporteres relativt lett i jord og vann, da det danner sterke bindinger til uorganisk partikulært materiale og humus (Polèo et al. 1997).

2.3.3.3 Kilder til og helseeffekter av bly

Den toksiske effekten av bly er den samme uansett hvordan det kommer inn i kroppen, som primært er gjennom inntak av mat, og innånding (Meyer et al. 2008). Korn og grønnsaker er de største bidragsyterne til bly i mat (Nordberg et al. 2015a). Bly kan forekomme i både organiske og uorganiske former, der uorganiske former av bly typisk vil påvirke sentralnervesystemet og det perifere nervesystemet, mens organiske former hovedsakelig påvirker sentralnervesystemet (Ali & Aboul-Enein 2006). I kroppen binder blyet seg til de røde blodcellene, som blir transportert til bløtvev som lever, nyrer, lunger, hjerne, milt, muskler og hjerte. Etter en tid går det meste av blyet inn i beinvev og tenner. I voksne blir omtrent 94 % av den totale mengden bly i kroppen lagret i beinvev og tenner, mens om lag 73 % av blyet i barns kropp lagres i beinvev. Barn er mer utsatt eksponering av bly enn voksne da de ikke har et fullt utviklet nervesystem og tarmen hos små barn absorberer bly mye mer effektivt enn hos voksne (Meyer et al. 2008).

3 Eksperimentelt

3.1 Forsøkspersonene og prøvematerialet

En tverrsnittundersøkelse av ammende kvinner bosatt i Oslo ble utført mellom oktober og desember 2016. Fem helsestasjoner ble tilfeldig valgt og 175 ammende kvinner mellom 2. og 28. uke postpartum ble rekruttert. Kvinnenes gjennomsnittlige alder var 32 år (min 23 år – maks 44 år). 35 % av kvinnene var født i et annet Europeisk land, eller i Asia, Afrika eller Sør-Amerika, men de hadde alle bodd i Norge de siste 1-31 årene (median 7 år). Alle kvinnene ga prøver av morsmelk og urin. I 175 morsmelkprøver og 175 urinprøver ble totalkonsentrasjonen av arsen, selen, brom, jod, jern, mangan, kobber, sink og rubidium bestemt ved basisk dekomponering og analyse med ICP-MS, mens i urinprøvene ble totalkonsentrasjonen av svovel og klor bestemt i tillegg til de overnevnte grunnstoffene.

3.2 Prøvetaking

Prøvetakingen ble utført mellom oktober og desember 2016. Mor samlet melk fire ganger i løpet av dagen, der to prøver ble tatt på formiddagen etter frokost og to ble tatt på ettermiddagen; to med formelk og to med ettermelk. Melkeprøvene ble tatt før og etter amming, der mengden var fra 2,5-5 mL per uttak. En spoturinprøve ble tatt på formiddagen, i så nær tid som mulig som de første morsmelkprøvene. Både prøvene av melk og urin ble oppbevart i kjøleskap fram til de ankom helsestasjonen, og deretter oppbevart i fryser med en temperatur på -80°C fram til prøveoverføringen ved STAMI. Kvinnene fikk også utdelt et kostholdsskjema som ble fylt ut dagen etter prøvene ble tatt, se vedlegg H.

3.3 Utstyr og materialer

Oversikt over utstyr og instrumenter som ble benyttet i oppgaven finnes i tabell 12, kjemikalier som ble brukt i tabell 13, sertifiserte referansmaterialer og husstandard i tabell 14 og internstandarder i tabell 15. Alle tabellene finnes i vedlegg A.

3.4 Metode

3.4.1 Prøveoverføring

Morsmelk- og urinprøvene ble overført fra 50 mL polypropylenrør til 15 mL polypropylenrør ved laboratoriet for biologiske prøver ved Statens Arbeidsmiljøinstitutt (STAMI). Prøvene med morsmelk og urin ble tint i romtemperatur før uttak. Melken ble også varmet opp til 37°C i varmeskap for å få en homogen prøve. Prøvene ble ristet godt før uttak. 1 mL prøve ble overført med 100-5000 µL automatpipette til 15 mL sentrifugerør. 15 av prøvene med urin ble veid. Prøveprepareringen og den instrumentelle analysen ble utført ved Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning sitt laboratorium, NMBU.

3.4.2 Basisk prøvepreparering

3.4.2.1 Tillaging av basisk reagens (BENT)

Prøvene med morsmelk og urin ble preparert ved en basisk prøvepreparering der de ble fortynnet med basisk reagens (Enger 2014). Ved tillaging av basisk reagens benyttet til morsmelkprøvene ble først cirka 3 L ionefritt vann tilsatt en 5 L plastkanne. 5 g H₄EDTA ble veid inn med en metallspatel i et 50 mL sentrifugerør, som deretter ble overført kvantitativt til plastkannen. H₄EDTA kompleksbinder kationene og er nødvendig for å holde metallene i løsning og dermed unngå utfellinger. 275 mL NH₄OH (≥25 % NH₃ i H₂O) ble målt opp i et 50 mL sentrifugerør. NH₄OH er en base og er tilsatt for å bryte ned proteiner og løse fett. 5 g Triton™, X-100 ble deretter veid inn med dråpeteller til et 50 mL sentrifugerør. 1-Butanol ble målt opp i 50 mL sentrifugerør der noe ble helt over i røret med Triton™, X-100, og resten i plastkannen. Triton™, X-100 og 1-Butanol ble blandet og tilsatt plastkannen. Ved for høy pH kan proteinene felle ut av løsningen. Triton™, X-100, som er et ikke-ionisk tensid, blir derfor tilsatt for å holde proteiner og fett i løsning, samt er med på å bryte cellemembraner. Metallene kan være bundet til organiske ligander, og det er derfor viktig å bryte cellemembranene. 1-Butanol er en karbonkilde som blir tilsatt for å redusere karboneffekten ved analyse med ICP-MS (Enger 2014). Til slutt ble plastkannen tilsatt ionefritt vann opp til 5 L. Alt ble deretter blandet godt. Dette resulterte i en sluttkonsentrasjon på 5 % (w/V) NH₄OH, 0,1 % (w/V) H₄EDTA, 4 % (w/V) 1-Butanol og 0,1 % (w/V) Triton™, X-100. Det samme ble gjort ved tillaging av basisk reagens benyttet ved fortynning av urinprøvene, bortsett fra at det her ble tilsatt 110 mL NH₄OH i stedet for 275 mL, noe som ga en sluttkonsentrasjon på 2 % (w/V) NH₄OH. Den lavere konsentrasjonen av NH₄OH ved tillaging av basisk reagens for urin ble gjort for å forhindre dannelsen av magnesiumammoniumfosfat (struvitt), likning 1. Urin inneholder ikke så mye fett som melk som må løses, derfor er det heller ikke nødvendig med like mye NH₄OH.



3.4.3 Prøvepreparering av morsmelk

Morsmelkprøvene ble tilsatt 200 µL internstandard (In, Te, Yb, ¹²⁹I og ⁸²Se) med automatpipette og 8,8 mL basisk reagens for melk med en 1-5 mL dispenser. Internstandard med ⁷⁴Se ble tilsatt ved en automatisert tilkobling på ICP-MS. Blankprøvene ble tilsatt 1 mL ionefritt vann i 15 mL sentrifugerør med manuell pipette, samt lik mengde internstandard og basisk reagens som prøvene. Ved preparering av de sertifiserte referansematerialene ble først 1 mL ionefritt vann tilsatt i 15 mL sentrifugerør. Cirka 0,100 g av sertifisert referansemateriale ble så veid inn nøyaktig og tilsatt 200 µL internstandard og 8,8 mL basisk

reagens. Sammen med analysen av melkeprøvene ble de sertifiserte referansematerialene BCR® – 063R (Institute for Reference Materials and Measurements 1993), ERM® – BD150 (Institute for Reference Materials and Measurements 2013a), ERM® – BD151 (Institute for Reference Materials and Measurements 2013b) og Standard Reference Material® 1549a (National Institute of Standards & Technology 2013) analysert.

3.4.4 Prøvepreparering av urin

Før analysen av urinprøvene ble prøver med urin, blankprøver og referansematerialer preparert på samme måte som melkeprøvene, med unntak av at det ble brukt basisk reagens tilpasset urin. Human urin er en kompleks matriks bestående av nitrogenforbindelser, vitaminer, hormoner, organiske forbindelser og elektrolytter (Putnam 1971). Dette er faktorer som kan forårsake reduksjon av analyttsignal under analyse. Fortynning av prøvene og tilsetning av internstandard gjør det mulig å korrigere for fysiske interferenser. Fortynning av prøvene er også viktig fordi urin inneholder høye konsentrasjoner av Cl, Na, K og P som kan felle ut og tette igjen prøveintroduksjonssystemet. Som kontroll på nøyaktighet ble frysetørket human urin fra Sero AS, Seronorm™ Trace Elements Urine L-1 (Seronorm™ 2013a), Seronorm™ Trace Elements Urine L-2 (Seronorm™ 2013b) brukt ved analyse av urin. Standard Reference Material® 2670a (National Institute of Standards & Technology 2003) ble også benyttet. ⁷⁴Se ble ikke tilsatt som online internstandard, men var i stedet tilsatt manuelt til prøvene før instrumentell analyse på ICP-MS. Prøveprepareringen ble gjort dagen før analysen.

3.4.5 Analyse med ICP-MS

Analysen av prøver med morsmelk og urin med ICP-MS ble gjort på hver sin dag. Før prøvene ble analysert ble instrumentet og metoden «tunet», parameterne i instrumentet ble innstilt ved hjelp av en tuningløsning. Dette ble gjort for å stille inn linser og optimalisere metoden. Tuningløsningen som ble benyttet ved tuning av metoden var en standardløsning (Agilent Technologies) som inneholdt 2 µg/L av litium (Li), yttrium (Y), cerium (Ce), thallium (Tl), kobolt (Co) og magnesium (Mg), og fortynnet med BENT. Det ble benyttet tre reagenser ved analysen på ICP-MS; vaskeløsning, bæreløsning og rens. Rensen bestod av 3,0 % (V/V) NH₄OH (laget av 25 % (w/w) NH₄OH). Vaskeløsning bestod av 5,0 % (V/V) NH₄OH (av 25 % (w/w) NH₄OH). Bæreløsningen bestod av 2 % (w/V) NH₄OH, 4 % 1-Butanol (w/V), 0,1 % H₄EDTA (w/V) og 0,1 % Triton X-100 (w/V). Dette ble benyttet for både analysen av morsmelk og urin.

Prøver, blankprøver, sertifiserte referansematerialer og standarder ble analysert på Agilent 8800 QQQ ICP-MS. To nivåer av standarder ble benyttet for standardisering, en standard med høy konsentrasjon og en standard med lav konsentrasjon. Standarder ble laget til med samme forhold av den basiske løsningen med BENT som prøvene for å få standardene så like som mulig prøvematriksen. Oversikt over tillaging av kalibreringsstandardene finnes i vedlegg B. Den sterkeste standarden ble benyttet til å korrigere for drift i analysen. Standardkurven ble kontrollert mot en basisk husstandard som var sporbar til de sertifiserte standardene ERM-BD 150 og 151 (Institute for Reference Materials and Measurements 2013a; Institute for Reference Materials and Measurements 2013b), NIST 1549a (National Institute of Standards & Technology 2013), Seronorm™ Trace Elements Urine L-1 og L-2 (Seronorm™ 2013a; Seronorm™ 2013b). Metoden var satt opp slik at det ble målt tre replikater av hver prøve. Det ble også satt opp analyse av en kalibreringsblank midt i blankprøvene for å sjekke om nullpunktet hadde endret seg.

3.4.6 Internstandard

Alle prøvene ble tilsatt internstandard. Tilsetting av internstandard vil si normalisering av alle data mot en ikke-analyttisotop som er til stede i lik konsentrasjon i alle prøver og standarder (Vanhaecke et al. 1992). Internstandarden lages med en kjent mengde av grunnstoffer med en gitt konsentrasjon som ikke finnes i prøven, eller som det finnes så lite av at det er neglisjerbart. En internstandard bør ha tilnærmet likt ionisasjonspotensial som analytten og ligge i samme masseområde. Grunnstoffene bør dekke et stort område av periodesystemet, da grunnstoffet som blir valgt som internstandard for analytten bør oppføre seg mest mulig likt analytten (Enger 2014). Dersom det er drift i signalet til analyttene vil det også bli drift i signalet til internstandard, noe som kan korrigeres ved å bruke forholdet mellom analytt og internstandard (Vanhaecke et al. 1992). Internstandardene som ble benyttet i oppgaven er vist i tabell 14, vedlegg A.

3.4.7 Isotopfortynning

Ved isotopfortynning blir endring i forhold mellom signalintensiteter mellom to isotoper målt, som følge av addisjon av en kjent mengde standardløsning som er beriket med en av isotopene (Skoog et al. 2007). Isotopfortynning gjør at økt nøyaktighet, samt immunitet mot kjemiske og fysiske interferenser kan oppnås (utenom spektralinterferenser). Isotopfortynning kan sies å være den «perfekte internstandard». I dette arbeidet ble det brukt isotopfortynning med ^{82}Se .

Konsentrasjonen av analytt ble bestemt ved ligning 2.

$$C = \frac{M_S K (A_S - B_S R)}{W (B R - A)} \quad 2$$

der

C = konsentrasjon (mg/kg); M_S = masse av spike-løsning (g); W = vekt av prøven (g); K = ratio av naturlig atomvekt og anriket atomvekt; A = naturlig forekomst av referanseisotop (fraksjon); B = naturlig forekomst av spike-isotop (fraksjon); A_S = forekomst av referanseisotop i spike-løsning (fraksjon); B_S = forekomst av spike-isotop i spike-løsning (fraksjon); R = målt isotopratio, korrigert for massebias

3.4.8 Instrumentelle parametere

Analysene ble utført på en Agilent 8800 QQQ med en ASX-500 Series ICP-MS prøveveksler og et integrert prøveintroduksjonssystem (ISIS) fra Agilent Technologies. De instrumentelle parameterne benyttet ved analysene av morsmelk og urin er vist i tabell 19, vedlegg C.

3.5 Metodevalidering

3.5.1 Nøyaktighet, riktighet og presisjon

Nøyaktigheten i metoden ble bestemt ved analyse av et sertifisert referansemateriale hvor det sertifiserte området til hver analytt var kjent. Nøyaktighet er et kvalitativt uttrykk; nøyaktigheten er tilfredsstillende når måleresultatet samsvarer med det sertifiserte området, det vil si den sertifiserte verdien med tilhørende usikkerhet. Hvis usikkerheten i SRM er liten sammenlignet med egen måleusikkerhet kan nøyaktigheten i metoden likevel bli vurdert som tilfredsstillende. Det sertifiserte området er oppgitt i sertifikatet til referansematerialet. Det sertifiserte referansemateriale bør være så likt prøvematriksen som mulig.

Riktighet er et kvantitativt uttrykk. Det blir vanligvis målt som bias, og er et mål på forskjellen mellom middelverdien fra en lengre serie måleresultater og en akseptert referanseverdi (en sertifisert eller nominell verdi).

Presisjon er et mål på spredningen i resultatene ved gjentatte målinger av en prøve, og blir vanligvis uttrykt av som standardavviket mellom prøveparallellene (SD) eller det relative standardavviket (RSD). Det relative standardavviket er standardavviket til prøveparallellene delt på den gjennomsnittlige verdien til prøveparallellene.

Det ble tatt ut 5 paralleller av samme prøve for å kunne bestemme presisjonen i metoden. Dette ble gjort for melkeprøvene og urinprøvene. Disse prøvene ble valgt tilfeldig.

I dette arbeidet ble det ikke gjort stabilitetsforsøk eller lagringsforsøk. Dette har imidlertid vært gjort for urin i mastergradsarbeidet til Nødland (2014), som fant at urinprøver kan stå i kjøleskap opptil en uke før tilsetning av reagenser, uten at analyttene jod, selen og arsen endrer seg i løpet av perioden. Prøver tilsatt reagenser kan stå i kjøleskap opptil en uke før analysering uten endring i nivå for jod, selen og arsen.

Kravet til metoden var henholdsvis repeterbarhet (intrametodisk presisjon med like målebetingelser) og riktighet (bias) på $\leq 20\%$. Ved analyse nær LOQ øker usikkerhet i metoden. Et krav på 20% er derfor et rimelig krav.

3.5.2 Deteksjonsgrenser og kvantifiseringsgrenser

Deteksjonsgrensene (LOD) og kvantifiseringsgrensene (LOQ) ble beregnet ut ifra ligning 3 og 4, der SD_{blank} er standardavviket til blankprøvene. En blankprøve har gjennomgått samme prosedyre som prøver med analytt, og inneholder derfor like mengder kjemikalier (inkludert vann) som prøver med analytt.

$$LOD = 3 \cdot SD_{\text{blank}} \quad 3$$

$$LOQ = 10 \cdot SD_{\text{blank}} \quad 4$$

3.6 Statistiske analyser og behandling av data

Regnearket i Excel (Microsoft 2016) ble benyttet ved bearbeiding av all data. De statistiske beregningene ble utført i dataprogrammet RStudio (RStudio Team 2016). Gjennomsnitt, standardavvik, median, 25, 75 og 90 prosentiler, samt minimumsverdi og maksimumsverdi ble beregnet for nesten alle grunnstoffene. Gjennomsnitt og standardavvik ble ikke beregnet for nikkel, arsen og bly i morsmelk, og ikke for mangan, kobber og bly i urin, på grunn av svært høy andel (se tabell 2) av verdiene under LOQ og LOD, som medfører veldig høy og uakseptabel usikkerhet. Multippel lineær regresjon ble brukt for å undersøke prediktorer for arsen og brom i morsmelk og urin, og sammenhengen mellom forskjellige grunnstoffer ble undersøkt. Modellene ble testet for linearitet, uteliggere, homoskedastisitet og normalitet. For bedre tilpasning av de lineære modellene ble noen av dataene log-transformert eller kvadratrot-transformert. For arsen ble den lineære regresjonen testet ved å sette inn null, en halv LOQ og LOQ for de verdiene som var under LOQ, for å se hvor mye modellen ble påvirket ved de ulike verdiene.

3.7 Testforsøk

Det var ikke mulig å finne sertifisert referansemateriale for brom og arsen i morsmelk. Det ble derfor gjort et testforsøk der hypotesen var at dersom brom og arsen kunne kvantifiseres i en

mer kompleks matriks med ulikt innhold av fett og proteiner sammenlignet morsmelk, ville det også fungere i morsmelk. Til dette forsøket ble det brukt prøver av morsmelk fra en norsk ammende kvinne, og referansematerialer av biologiske prøvetyper som fiskemuskel, fiskelever og spinat. Det ble brukt to ulike basiske oppslutningsmetoder som så ble sammenlignet ved analyse på ICP-MS. Den ene metoden gikk ut på basisk prøvepreparering med BENT, det samme som ble gjort i hovedforsøket. Den andre metoden gikk ut på basisk oppslutning med tetrametylammoniumhydroksid (TMAH). Resultatet fra testforsøket finnes i vedlegg G.

3.7.1 Fortynning med BENT

Det ble tatt ut 5 paralleller av melk på 1 mL som ble tilsatt 15 mL rør. 200 µL internstandard ble tilsatt, og deretter fortynnet til 10 mL med BENT. 5 blankprøver og referansematerialene ble preparert på samme måte som beskrevet i avsnittet *Prøvepreparering av morsmelk*.

3.7.2 Oppslutning med TMAH

5 paralleller med 2,5 mL melk ble tilsatt 13 mL rør laget av polypropylen. 1 mL internstandard, 1 mL ionefritt vann og 1 mL TMAH ble deretter tilsatt. Fem blankprøver ble tilsatt 3,5 mL ionefritt vann, 1 mL internstandard og 1 mL TMAH. Ved preparering av de sertifiserte referansematerialene ble først 1 mL ionefritt vann tilsatt rørene. Cirka 0,250 g av referansematerialet ble veid nøyaktig inn på analysevekt med en metallspatel. 1 mL internstandard, 2,5 mL ionefritt vann og 1 mL TMAH ble så tilsatt.

Prøver, blankprøver og sertifisert referansemateriale med TMAH ble satt i varmeskap på 65 °C over natten, deretter 1 time på 90 °C. Alle rørene ble så fortynnet til 10 mL med ionefritt vann og sentrifugert på 4000 rpm i 20 minutter. 2 mL av sentrifugatet ble pipettert i 15 mL sentrifugerør og fortynnet til 10 mL med ionefritt vann.

3.7.3 Analyse av testforsøk med ICP-MS

Prøver av melk, blankprøver og standard referansematerialer ble analysert for grunnstoffene arsen, brom, selen, jod, jern, mangan, kobber, sink, rubidium, bly og klor på Agilent 8800 QQQ ICP-MS. Referansematerialene som ble benyttet var ERM BD-150 (Institute for Reference Materials and Measurements 2013a), ERM BD-151 (Institute for Reference Materials and Measurements 2013b), NCS ZC73013 spinat (China National Accreditation Council for Registrars 2010), DORM-3 (National Research Council Canada 2007) og DOLT-5 (National Research Council Canada 2014). Dette ble gjort for begge metodene. ^{82}Se , ^{129}I , ^{74}Se , In, Te og Yb ble benyttet som internstandard. Ved analyse av prøvene som var fortynnet med BENT ble det brukt en basisk husstandard som en kontroll på nøyaktighet av

kalibreringskurven. Prøvene med TMAH ble analysert med etanol online på grunn av karboneffekten. Dette var ikke nødvendig med prøvene fortynnet med BENT fordi de allerede inneholdt en karbonkilde.

4 Resultater og diskusjon

4.1 Begrensninger og bidrag til usikkerhet i arbeidet

Usikkerhet i metoden omfatter bidrag fra prøvepreparering, tillaging av standarder og reagenser, samt instrumentell analyse. Det største bidraget til usikkerhet i dette arbeidet ligger i tillaging av reagenser og forbehandling av prøvene som ble gjort før instrumentell analyse. Det er viktig at reagensene og emballasjen er rene nok for å kunne oppnå tilstrekkelig lav kvantifiseringsgrense. Beholderne som ble brukt for lagring av melkeprøver og urinprøver før overføring til andre rør ble kontrollert for eventuell kontaminering. Beholderne ble tilsatt ione-fritt vann som stod urørt i over to uker, for å se om det var utlekking av grunnstoffer til vannet. Beholderne som ble brukt for lagring av urinprøver før overføring inneholdt et bidrag fra brom som ble trukket fra bromkonsentrasjonen av urinprøvene. Etter prøvetaking har prøvene blitt fryst ned, tint, overført til andre beholdere, og fryst ned igjen, noe som bidrar til usikkerhet i analysemetoden med tanke på kontaminering. Med nesten 200 forsøkspersoner i prosjektet vil det også være usikkerhet i selve prøvetakingen, som helst skal utføres med så lite kontakt med beholder som mulig for å unngå kontaminering.

I dette arbeidet har grunnstoffene nikkell, arsen og bly i morsmelk, samt mangan, nikkell, kobber og bly i urin et stort antall verdier som befinner seg under kvantifiseringsgrensen og deteksjonsgrensen, såkalte sensurerte verdier (se tabell 2). Substitusjon er en vanlig måte å håndtere disse verdiene på, ved å skifte ut de sensurerte verdiene med null, $\frac{1}{2}$ LOD, $\frac{1}{2}$ LOQ, LOD eller LOQ. Studier gjort for over 30 år siden viste imidlertid at substitusjon er en dårlig metode for å beregne deskriptiv statistikk på (Gilliom & Helsel 1986), og bør derfor erstattes med andre tilgjengelige metoder som gir bedre og mer nøyaktige vitenskapelige tolkninger (Helsel 2006). På grunn av liten tid og begrensende kunnskap om anvendelse av avanserte statistiske metoder for å estimere de sensurerte verdiene er det i dette arbeidet brukt substitusjon. Det er imidlertid viktig å være klar over at dette bidrar til usikkerhet i den statistiske analysen.

Tabell 2. Viser en oversikt over andelen i prosent av nikkel, arsen og bly i morsmelk, samt mangan, nikkel, kobber og bly i urin som ble under deteksjonsgrensen (LOD) og kvantifiseringsgrensen (LOQ).

Matriks	Grunnstoff	Andel <LOD (%)	Andel <LOQ (%)
Morsmelk	Nikkel	25	39
	Arsen	25	30
	Bly	3	33
Urin	Mangan	0	81
	Nikkel	0	7
	Kobber	22	68
	Bly	20	53

4.2 Analysekvalitet

Standardavviket for blankprøver som hadde fulgt alle trinn i prosessen ble benyttet for å beregne deteksjonsgrensen (LOD) og kvantifiseringsgrensen (LOQ) for metoden (tabell 2).

Det var relativt lave deteksjons- og kvantifiseringsgrenser for nesten alle grunnstoffene, men det var noen grunnstoffer som skilte seg ut som høye. Kobber og sink fikk ganske høye kvantifiseringsgrenser ved analyse av urin, noe som kan komme av mulig kontaminering av blankprøvene. For sink hadde ikke dette noe å si, da alle verdiene lå langt over kvantifiseringsgrensen. Kvantifiseringsgrensen til kobber ble estimert til å være 20 µg/L, mens den høyeste verdien ble målt til 23 µg/L. Den høye kvantifiseringsgrensen hadde stor betydning, da 68 % av de målte verdiene ble under LOQ og 22 % ble under LOD. Verdiene for LOD og LOQ varierte ganske mye ved analysen av morsmelk og urin. Dette kan ha en sammenheng med at det er forskjellig matriks, og at den basiske reagensen som ble benyttet til prøveprepareringen ikke var helt identisk. I dette arbeidet var det ønskelig å måle på flere grunnstoffer samtidig, men en lavere kvantifiseringsgrense kunne vært oppnådd dersom metoden hadde vært optimalisert og tilpasset ett grunnstoff, og bare analysert for det aktuelle grunnstoffet. Analyser utført på laboratoriet viser at EDTA har et varierende innhold av forurensninger fra batch til batch, som kan føre til høyere LOQ for enkelte grunnstoffer. Spesielt har dette vært et problem for bly og kadmium. Det er derfor viktig å kontrollere hvert kjemikalium før bruk, da de kan variere mye for enkelte grunnstoff. Reagensene var kontrollert før bruk i dette arbeidet.

Tabell 3. Deteksjonsgrense (LOD) og kvantifiseringsgrense (LOQ) for de ulike grunnstoffene ved analyse av morsmelk og urin.

Grunnstoff	Morsmelk		Urin	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ
Mn (µg/L)	0,1	0,4	0,1	0,4
Fe (µg/L)	2	7	1	5
Ni (µg/L)	0,2	0,8	0,3	1
Cu (µg/L)	0,6	2	6	20
Zn (µg/L)	2	5	4	10
As (µg/L)	0,2	0,5	0,03	0,1
Br (µg/L)	3	8	5	20
Se (µg/L)	0,05	0,2	0,08	0,3
Rb (µg/L)	0,1	0,4	0,03	0,1
I (µg/L)	0,1	0,5	0,9	3
Pb (µg/L)	0,06	0,2	0,2	0,8
S (mg/L)	-	-	0,04	0,1
Cl (mg/L)	-	-	2	7

Nøyaktigheten i metoden ble estimert ved analyse av sertifiserte referansematerialer (SRM). Riktigheten ble vurdert ut ifra bias. Resultater av SRM og beregnet bias finnes i vedlegg E. Resultatene fra tabell 24 viser at de fleste grunnstoffene ligger godt innenfor de sertifiserte områdene. Jern ligger rett utenfor det sertifiserte området ved to av tre SRM, I og Pb ved tre av seks SRM, Se ved ett av seks SRM, mens Mn og Zn ligger langt utenfor det sertifiserte området ved ett av seks SRM. Bias er $\leq 20\%$ for Pb ved to av seks SRM, Zn ved to av seks SRM og Mn ved ett av seks SRM.

Det relative standardavviket ved analyse av morsmelk med ICP-MS etter basisk prøvepreparering varierte fra 2-23 % (tabell 22, vedlegg D). Ved analyse av urin varierte det relative standardavviket fra 2-32 % (tabell 23, vedlegg D). Bly fikk et ganske høyt relativt standardavvik ved analyse av morsmelk. RSD øker når målte verdier er lave, noe som kommer tydelig fram da mange av verdiene til Pb i morsmelk ble målt nær kvantifiseringsgrensen.

Det var god overenstemmelse mellom bruk av isotopfortynning og ^{74}Se som internstandard.

4.3 Totalkonsentrasjon av grunnstoffer i morsmelk og urin fra ammende mødre bosatt i Oslo

4.3.1 Analyse av morsmelk

Tabell 4 viser en oversikt over gjennomsnittsverdier, standardavvik, minimumsverdi og maksimumsverdi, samt prosentiler (25p, 75p og 90p) ved bestemmelse av totalkonsentrasjon av grunnstoffene mangan, jern, nikkell, kobber, sink, arsen, brom, selen, rubidium, jod og bly i

morsmelk fra mødre bosatt i Oslo. 25p, 75p og 90p tilsier at henholdsvis 25, 75 og 90 % av prøvene har en konsentrasjon som er lavere enn denne verdien. Mange av grunnstoffene har en maksimumsverdi som er ganske mye høyere enn 90 % prosentilene. Ut i fra minimumsverdien og maksimumsverdien fremgår det at det er stor spredning i konsentrasjonene av de ulike grunnstoffene. Den store variasjonen kan ha sammenheng med at prøvene er tatt ved ulike tidspunkt i ammeperioden, men det kan også være en indikasjon på at det er variasjoner i eksponeringsnivå til mor. Krachler et al. (1998) viste at konsentrasjonene av de essensielle sporgrunnstoffene Cu ($p < 0,005$), Mn ($p < 0,05$), Mo ($p < 0,0005$), Se ($p < 0,001$), og Zn ($p < 0,0005$) i human melk sank signifikant utover i ammeperioden, mens konsentrasjonen av kobolt (Co) økte signifikant ($p < 0,005$). I følge Örün et al. (2011) varierer innholdet av bly og kadmium i morsmelk med tidspunkt på dagen, tidspunkt i ammeperioden, samt med faktorer hos mor og eksponering.

Tabell 4. Totalkonsentrasjonen av grunnstoffene Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Br, Se, Rb, I og Pb i morsmelk fra mødre bosatt i Oslo ($n=175$).

Grunnstoff	Gjennomsnitt \pm SD	Morsmelk				
		Median	Min – maks	25 % prosentil	75 % prosentil	90 % prosentil
Mn ($\mu\text{g/L}$)	$3 \pm 2,3$	2,6	1,2 – 19	2,1	3,6	4,9
Fe ($\mu\text{g/L}$)	$(3 \pm 1,2) 10^2$	$2,7 \cdot 10^2$	$75 - 7,6 \cdot 10^2$	210	335	440
Ni^a ($\mu\text{g/L}$)	-	$<0,8^{**}$	$<0,2^* - 6,9$	$<0,8^{**}$	0,98	1,5
Cu ($\mu\text{g/L}$)	$(3 \pm 1,3) 10^2$	$3,3 \cdot 10^2$	$89 - 7,4 \cdot 10^2$	250	420	520
Zn ($\mu\text{g/L}$)	$(2 \pm 1,1) 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^2 - 6,4 \cdot 10^3$	985	2350	3460
As^b ($\mu\text{g/L}$)	-	$<0,5^{**}$	$<0,2^* - 12$	$<0,5^{**}$	1	2,12
Br ($\mu\text{g/L}$)	$(6 \pm 2,8) 10^2$	$5,0 \cdot 10^2$	$2,1 \cdot 10^2 - 2,7 \cdot 10^3$	410	630	808
Se ($\mu\text{g/L}$)	$12 \pm 4,6$	11	6,6 – 50	9,4	13	14
Rb ($\mu\text{g/L}$)	$(6 \pm 1,2) 10^2$	$5,5 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^2 - 9,2 \cdot 10^2$	490	630	720
I ($\mu\text{g/L}$)	90 ± 70	68	$16 - 6,0 \cdot 10^2$	45,5	98	180
Pb^c ($\mu\text{g/L}$)	-	0,25	$<0,06^* - 7,8$	$<0,2^{**}$	0,435	0,79

Andel under LOD og LOQ: ^a 25 % og 39 %, ^b 25 % og 30 %, ^c 3 % og 33 %, * $<$ LOD, ** $<$ LOQ

Ettersom morsmelken har et lavt jerninnhold, blir spedbarn født med et jernlager som gir ekstra tilskudd de første månedene (Butte et al. 2002). I følge Butte et al. (2002) avtar konsentrasjonen av jern i morsmelk fra 0,4-0,8 mg/L i råmelk til 0,2-0,4 mg/L i moden melk. Tabell 4 viser at den gjennomsnittlige konsentrasjonen av jern ble målt til å være $300 \pm 120 \mu\text{g/L}$.

4.2.2 Analyse av urin

Totalkonsentrasjonen av grunnstoffene svovel, klor, mangan, jern, nikkel, kobber, sink, arsen, brom, selen, rubidium, jod og bly i urin analysert med ICP-MS er vist i tabell 5.

Tabell 5. Totalkonsentrasjonen av grunnstoffene S, Cl, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Br, Se, Rb, I og Pb i urin fra ammende mødre bosatt i Oslo (n=175).

Grunnstoff	Gjennomsnitt ± SD	Urin				
		Median	Min – maks	25 % prosentil	75 % prosentil	90 % prosentil
S (mg/L)	$(7 \pm 3,5) 10^2$	$6,7 \cdot 10^2$	$79 - 1,5 \cdot 10^3$	415	945	1200
Cl (mg/L)	$(5 \pm 2,9) 10^3$	$5,1 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^2 - 1,2 \cdot 10^4$	3000	7800	9660
Mn^a (µg/L)	-	<0,4**	<0,4** – 7,0	<0,4**	<0,4**	0,5
Fe (µg/L)	20 ± 61	12	$4,6 - 6,5 \cdot 10^2$	9,4	19	28
Ni^b (µg/L)	$3 \pm 2,1$	2,4	<1** – 19	1,7	3,45	5,06
Cu^c (µg/L)	-	<20**	<6* – 46	<20**	<20**	<20**
Zn (µg/L)	$(5 \pm 4,0) 10^2$	$3,6 \cdot 10^2$	$24 - 3,0 \cdot 10^3$	210	590	914
As (µg/L)	$(0,62 \pm 1,1) 10^2$	25	$0,82 - 1,0 \cdot 10^3$	11	65	146
Br (µg/L)	$(3 \pm 1,4) 10^3$	$2,2 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^2 - 8,9 \cdot 10^3$	1446	3546	4246
Se (µg/L)	20 ± 15	19	$1,4 - 1,2 \cdot 10^2$	12	28	34,6
Rb (µg/L)	$(2 \pm 1,0) 10^3$	$1,7 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^2 - 5,0 \cdot 10^3$	945	2400	3100
I (µg/L)	80 ± 76	64	$3,2 - 5,2 \cdot 10^2$	39,5	94	150
Pb^d (µg/L)	-	<0,8**	<0,2* – 23	<0,8**	0,835	1,26

Andel under LOD og LOQ: ^a 0 % og 81 %, ^b 0 % og 7 %, ^c 22 % og 68 %, ^d 20 % og 53 %, *<LOD, **<LOQ

Maksimumsverdien til arsen i urin er mye høyere enn 90 % prosentilet, og 40 ganger høyere enn medianen. Det kan være en kontaminering, men det kan ikke utelukkes at det er en reell prøve. Bly, jern og sink har også verdier som er mye høyere enn 90 % prosentilet.

4.4 Sammenhenger mellom totalkonsentrasjon av grunnstoffer i morsmelk og urin

Det ble funnet en signifikant positiv sammenheng mellom økt konsentrasjon av jod i morsmelk ved økt konsentrasjon av jod i urin ($p < 0,001$), økt konsentrasjon av brom i morsmelk ved økt konsentrasjon av brom i urin ($p < 0,05$) og økt konsentrasjon av arsen i morsmelk ved økt konsentrasjon av arsen i urin ($p < 0,001$). Dette betyr at hvis det er høyt nivå av grunnstoffet i morsmelk tyder det også på at det er høyt nivå av grunnstoffet i urin. Den lineære regresjonsanalysen oppsummert i tabell 6 indikerer at log verdien til jod i melk øker med 0,27 når log verdi til jod i urin øker med 1. Det tyder også på at kvadratrot-verdien til arsen i melk øker med 0,091 når kvadratrot-verdien til arsen i urin øker med 1. Det ble funnet en signifikant positiv sammenheng mellom økt konsentrasjon av brom ved økt konsentrasjon av jod, både i morsmelk og urin ($p < 0,001$). Logaritmen til brom i urin øker med 0,38 når logaritmen til jod i urin øker med 1. Haugstad (2015) fant en positiv assosiasjon mellom brom og jod i både drikkevann og urin.

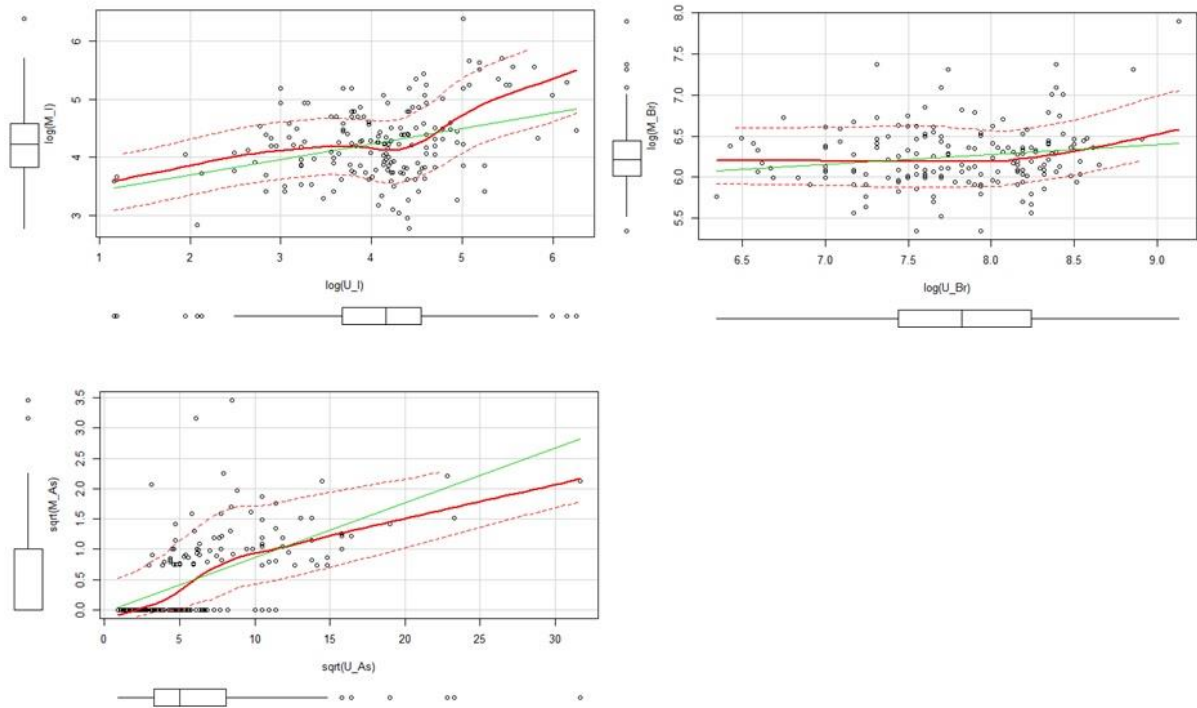
En signifikant positiv sammenheng mellom økt konsentrasjon av brom ved økt konsentrasjon av klor i urin ($p < 0,001$), ble også funnet.

Tabell 6. Viser en oversikt over grunnstoff, matriks, transformasjon, estimert koeffisient, standardfeil, regresjonskoeffisient (R^2), p-verdi og signifikans ved multippel lineær regresjonsanalyse i RStudio.

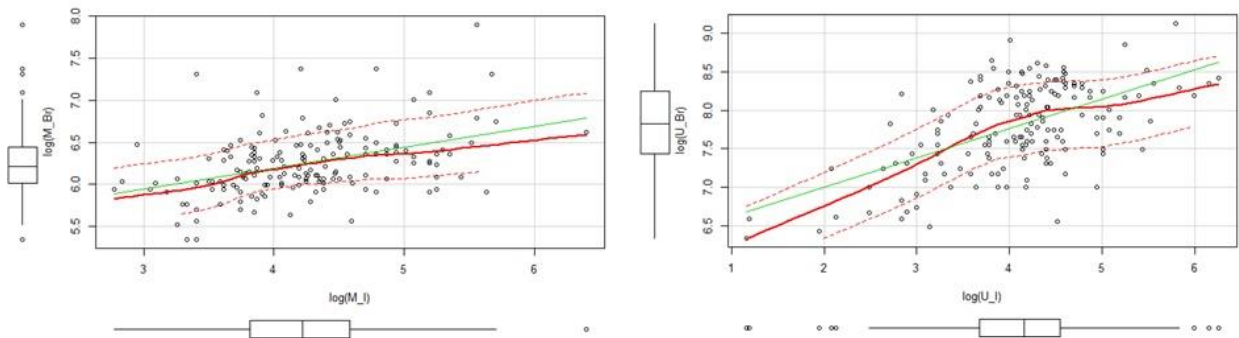
Grunnstoff	Matriks	Transformasjon	Estimert koeffisient (β)	Standardfeil (SE)	R^2	p-verdi	Signifikans
I	Melk/urin	Log	0,27	0,054	0,12	$1,81 \cdot 10^{-6}$	***
Br	Melk/urin	Log	0,12	0,051	0,025	0,021	*
As	Melk/urin	Kvadratrot	0,091	0,0092	0,36	$< 2,0 \cdot 10^{-16}$	***
Br/I	Melk	Log	0,25	0,041	0,17	$8,38 \cdot 10^{-9}$	***
Br/I	Urin	Log	0,38	0,041	0,33	$2,2 \cdot 10^{-16}$	***
Br/Cl	Urin	Log	0,76	0,03	0,83	$< 2,0 \cdot 10^{-16}$	***

*** $p < 0,001$, * $p < 0,05$

Figur 3 og 4 viser sammenhengen mellom jod, brom og arsen i morsmelk og urin, samt sammenhengen mellom brom og jod i morsmelk og urin. Ved å se på stigningen til de ulike kurvene fremgår det at det er en positiv korrelasjon for samtlige parametere beskrevet i tabell 6. Spredningsplottene viser også eventuelle uteliggere. Modellene er kontrollert for uteliggerne som er veldig fremtredende for å se i hvilken grad disse påvirker.



Figur 3. Spredningsplott som viser den signifikante sammenhengen mellom grunnstoffene jod, brom og arsen i morsmelk og urin.



Figur 4. Spredningsplott som viser den signifikante sammenhengen mellom brom og jod i morsmelk og urin.

4.5 Faktorer som påvirker innholdet av arsen, bly og brom i norsk morsmelk

Tabell 7. Viser en oversikt over fordelingen av ulike grupperinger samt median og gjennomsnitt for nivå av arsen, brom og bly i morsmelk for de ulike grupperingene.

Variabel	n	Arsen		Brom		Bly	
		Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)	Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)	Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)
Mors alder							
< 27	17	<0,5*	-	450	506	0,26	-
≥ 27 < 33	81	<0,5*	-	530	555	0,27	-
≥ 33	77	<0,5*	-	500	587	0,24	-
Barnets alder							
< 8 uker	67	<0,5*	-	560	612	0,26	-
≥ 8 < 16 uker	64	<0,5*	-	475	574	0,25	-
≥ 16 uker	44	<0,5*	-	430	480	0,24	-
Paritet							
Ingen	106	0,27	-	470	541	0,26	-
En eller fler	69	<0,5*	-	530	601	0,24	-
Mors fødeland							
Norge	113	<0,5*	-	480	517	0,26	-
Utlandet	62	<0,5*	-	535	651	0,24	-
Røyker							
Ja	5	<0,5*	-	380	364	0,26	-
Nei	170	<0,5*	-	515	571	0,25	-
BMI							
< 25	108	<0,5*	-	485	553	0,27	-
≥ 25 < 30	47	<0,5*	-	530	610	0,24	-
≥ 30	20	<0,5*	-	490	570	0,26	-
Utdanning							
<12 år (ikke fullført videregående)	11	<0,5*	-	510	734	<0,5*	-
12 år videregående/fagbrev	21	<0,5*	-	530	588	0,34	-
1-4 års høyskole/universitet etter videregående	53	<0,5*	-	520	586	0,27	-
Mer enn 4 år høyskole/universitet	90	<0,5*	-	475	526	0,25	-

Tabell 7 fortsetter

Variabel	Arsen			Brom		Bly	
	n	Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)	Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)	Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)
Konsum av mat/drikke de siste 24 t							
Kosttilskudd							
Ja	103	<0,5*	-	510	578	0,26	-
Nei	72	<0,5*	-	475	545	0,25	-
Kumelk/yoghurt/kumelkbasert drikke							
Ja	134	<0,5*	-	530	581	0,26	-
Nei	40	<0,5*	-	435	510	0,23	-
Ost							
Ja	123	0,54	-	520	568	0,26	-
Nei	52	<0,5*	-	445	556	0,24	-
Fisk/fiskeprodukter/sjømat							
Ja	71	0,75	-	560	595	0,27	-
Nei	104	<0,5*	-	460	544	0,24	-
Konsum av mat/drikke etter at barnet ble født							
Brød/knekkebrød (2 skiver)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	2	<0,5*	<0,5*	1005	1005	0,37	-
1-6 ganger per uke	62	<0,5*	-	475	571	0,26	-
1-5+ ganger per dag	111	<0,5*	-	510	553	0,24	-
Frokostblandinger med korn/gryn (usøtet müsli, havregrøt) (1 porsjon)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	62	<0,5*	-	495	606	0,24	-
1-6 ganger per uke	92	<0,5*	-	485	534	0,27	-
1-5+ ganger per dag	21	0,75	-	550	577	0,25	-
Ris/pasta kokt (porsjon á 150 g)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	19	<0,5*	-	530	529	0,24	-
1-6 ganger per uke	148	<0,5*	-	490	545	0,26	-
1-5+ ganger per dag	8	<0,5*	-	785	1021	<0,2*	-
Rød fisk (middag/pålegg) (laks, makrell, ørret, tunfisk) (porsjon á ca. 100 g)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	62	<0,5*	-	485	565	0,24	-
1-6 ganger per uke	108	0,545	-	515	558	0,27	-
1-5+ ganger per dag	5	<0,5*	-	490	708	<0,2*	<0,2*

Tabell 7 fortsetter

Variabel	Arsen			Brom		Bly	
	n	Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)	Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)	Median (µg/L)	Gjennomsnitt (µg/L)
Konsum av mat/drikke etter at barnet ble født							
Hvit fisk (middag/pålegg) (torsk, sei, hyse, etc.) (porsjon á ca. 100 g)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	99	<0,5*	-	500	552	0,24	-
1-6 ganger per uke	75	0,62	-	480	569	0,25	-
1-5+ ganger per dag	1	1,5	2,5	1500	1500	<0,2*	<0,2*
Fiskekaker/fiskeboller/fiskepudding/fiskepinner (1 porsjon)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	146	<0,5*	-	485	553	0,25	-
1-6 ganger per uke	28	0,57	-	580	590	0,27	-
1-5+ ganger per dag	1	2,5	2,5	1500	1500	<0,2*	<0,2*
Sushi med fisk/skalldyr (porsjon á ca. 10 biter)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	154	<0,5*	-	500	556	0,26	-
1-6 ganger per uke	20	0,29	-	490	588	0,25	-
1-5+ ganger per dag	1	2,5	2,5	1500	1500	<0,2*	<0,2*
Kaffe							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	55	<0,5*	-	530	656	0,23	-
1-6 ganger per uke	44	<0,5*	-	470	511	0,24	-
1-5+ ganger per dag	76	0,56	-	515	529	0,27	-
Grønnsaker alle typer (f. eks. gulrot, kål, brokkoli, løk, erter, tomat, salat, agurk)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	4	<0,5*	<0,5*	355	348	0,11	-
1-6 ganger per uke	61	<0,5*	-	460	579	0,24	-
1-5+ ganger per dag	110	<0,5*	-	540	564	0,25	-
Poteter (porsjon á 1 middels stor eller 2 små)							
Sjelden/aldri/sjeldnere enn ukentlig	40	<0,5*	-	510	588	0,22	-
1-6 ganger per uke	123	<0,5*	-	480	549	0,25	-
1-5+ ganger per dag	12	0,27	-	570	652	0,26	-

*LOQ

For arsen og bly var det ikke noe statistisk grunnlag for å kunne beregne gjennomsnitt og standardavvik, på grunn av en svært stor andel av verdiene under LOD og LOQ, se tabell 2.

Ut i fra median og gjennomsnitt for brom i morsmelk og barnets alder kan det se ut som at konsentrasjonen av brom synker med økt alder av barnet. Resultatene fra lineær regresjon indikerer at dette stemmer, da det ble funnet en signifikant reduksjon av bromkonsentrasjon i morsmelk når barnets alder økte ($p < 0,001$). Det ble ikke funnet noen signifikant sammenheng mellom nivå av brom i urin og barnets alder.

Tabell 8. Viser sammenhengene mellom nivå av brom i melk og urin og barnets alder, nivå av arsen i melk og konsum av fet fisk de siste 24 timer, samt sammenhengen mellom nivå av brom i melk og mors hjemland.

Grunnstoff	Matriks	Forklarende faktor	Transformasjon	Estimert koeffisient (β)	Standardfeil (SE)	R ²	p-verdi	Signifikans
Br	Melk	Barnets alder	Log	-0,02	0,004	0,08	0,000127	***
As	Melk	Konsum av fet fisk de siste 24 timer	Kvadratrot	0,53	0,11	0,11	$3,51 \cdot 10^{-6}$	***
Br	Melk	Mors hjemland	Log	-0,15	0,06	0,03	0,0099	**

*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$

Logaritmen til brom i morsmelk synker med 0,15 for de mødre som har Norge som hjemland, i forhold til de som er født i andre land enn Norge. $R^2 = 0,03$, altså er det kun 3 % som kan forklares ut i fra denne modellen. Dette betyr at det er svært mange andre faktorer som er knyttet til brom i morsmelk.

Ved lineær regresjonsanalyse ble det funnet at innhold av arsen i morsmelk har en signifikant sammenheng ($p < 0,001$) med mors konsum av fet fisk de siste 24 timer innen melkeprøven ble tatt. Dette var veldig signifikant ($p < 0,001$) både ved innsetting av verdiene null (tabell 8), $\frac{1}{2}$ LOQ og LOQ for de verdiene som var under LOQ, men estimert koeffisient forandret seg ganske mye. Dette tyder på at det er en sammenheng mellom de som har spist fet fisk de siste 24 timer og innhold av As i morsmelk, men estimatet er ganske usikkert. I følge modellen øker kvadratrotten av As i morsmelk for mødre som har spist fisk innen 24 timer med 0,53 i forhold til de som ikke har spist fet fisk. $R^2 = 0,11$, som betyr at det er om lag 11 % av observasjonene som kan forklares ut i fra denne modellen. Det vil altså si at det er mange andre faktorer som spiller inn på konsentrasjonen av arsen i morsmelk, men at det ut i fra denne modellen ikke er tvil om at det er en sammenheng mellom inntak av fet fisk og økt nivå av arsen i morsmelk. Likevel er det en så stor andel av verdiene av arsen i morsmelk som er under kvantifiseringsgrensen, så det er stor usikkerhet knyttet til denne modellen.

Det ble ikke funnet noen signifikant sammenheng mellom arsen i urin og inntak av fet fisk de siste 24 timer.

4.5 Innholdet av ulike grunnstoffer i morsmelk fra ammende mødre bosatt i Oslo sammenlignet med studier fra andre land

Tabell 9 viser en oversikt over nivåene av mangan, jern, nikkel, kobber, sink, arsen, selen, rubidium og bly i morsmelk rapportert i ulike studier i Norge, Sverige, Italia, Hellas og Østerrike. Gjennomsnittsnivåene for sink og rubidium ligger lavere i denne oppgaven enn det som er rapportert i de tidligere studiene. Gjennomsnittskonsentrasjonen av selen ligger på samme nivå som i Norge og Sverige, men ligger lavere enn i Italia. Generelt ligger samtlige av grunnstoffene i det lave området sammenlignet med det som tidligere er rapportert i de andre studiene.

Tabell 9. Gjennomsnittskonsentrasjon og standardavvik av mangan, jern, nikkel, kobber, sink, arsen, selen, rubidium og bly i morsmelk i ulike land.

Konsentrasjonene er oppgitt i µg/L eller µg/kg. For morsmelk er µg/L ≈ µg/kg.

Land, område	n	Mn (µg/L, µg/kg)	Fe (µg/L, µg/kg)	Ni (µg/L, µg/kg)	Cu (µg/L, µg/kg)	Zn (µg/L, µg/kg)	As (µg/L, µg/kg)	Se (µg/L, µg/kg)	Rb (µg/L, µg/kg)	Pb (µg/L, µg/kg)	Tidspunkt for prøvetaking postpartum	Referanse
Norge, Oslo	175	3,2 ± 2,3	300 ± 120	<0,8****	300 ± 130	2000 ± 1100	<0,5****	12 ± 4,6	600 ± 120	0,25*	2 uker-7 måneder	Denne oppgaven
Norge, Bergen	85	4,74 ± 10,9	257 ± 113	2,97 ± 22,8	407 ± 105	2550 ± 948		11,2 ± 3,84	612 ± 113	0,605 ± 1,29	6 uker	(Eik 2016)
Norge, Bergen	85	3,17 ± 4,05	195 ± 226	0,418 ± 0,78	246 ± 82,7	1229 ± 594		8,56 ± 5,42	542 ± 112	1,06 ± 4,31	4 måneder	(Eik 2016)
Norge, Bergen	86	4,27 ± 6,36	207 ± 199	0,452 ± 1,34	215 ± 120	945 ± 485		8,45 ± 4,12	526 ± 103	2,01 ± 11,6	6 måneder	(Eik 2016)
Norge	301	3 ± 3,4	200 ± 110		400 ± 110	3000 ± 1200		12 ± 3,0		<0,67****	Variierende	(Vollset 2015)
Sverige	60	3,0 ± 1,4	339 ± 134	0,96 ± 6,5****	471 ± 75	3471 ± 979	0,55 ± 0,7	13 ± 2,6	714 ± 108	1,5 ± 0,90	2-3 uker	(Björklund et al. 2012)
Italia	110	4,1 ± 0,1		10,8 ± 0,7	261 ± 16	2300 ± 400		17,3 ± 1,1			21 dager	(Aquilio et al. 1996)
Hellas	95	3,13 ± 2,00	458 ± 311		390 ± 108	2990 ± 920				0,15 ± 0,25	14 dager	(Leotsinidis et al. 2005)
Østerrike	27	6,3*	380*	0,79*	400*		6,7*	17*			Variierende	(Krachler et al. 2000)
Østerrike	8	3,9*			240*	560*		12,5*	730*	1,5*	42-60 dager	(Krachler et al. 1998)

*Median, **<LOQ, ****75 % <LOQ

Tabell 10 viser en oversikt over mediannivåene, samt minimumsnivå og maksimumsnivå av kobber, jern, mangan, sink, arsen og bly i morsmelk sammenlignet med to svenske studier. En høyere maksimumsverdi ble observert for arsen, kobber, sink og selen, mens medianen for bly, selen og jern er lavere i dette arbeidet enn de to svenske studiene. Maksimumsverdiene for kobber, sink og arsen var mye høyere i dette arbeidet enn de svenske studiene. For arsen er maksimumsverdien over dobbelt så høy. Morsmelkens sammensetning varierer i løpet av måltidet, dagen og ammeperioden (Drevon & Blomhoff 2012). I dette arbeidet er prøvene tatt på forskjellig tidspunkt i ammeperioden, med 38 % av prøvene tatt ved to måneder postpartum eller tidligere, 37 % er tatt mellom to og fire måneder postpartum, mens 25 % av prøvene er tatt etter fire måneder postpartum. De svenske studiene er tatt henholdsvis 2-3 uker postpartum og 3 måneder postpartum.

Tabell 10. Mediankonsentrasjonen (min-maks) av kobber, jern, mangan, selen, sink, arsen og bly i morsmelk hos mødre bosatt i henholdsvis Norge og ulike deler av Sverige.

Land, område	Norge, Oslo	Sverige, Uppsala	Sverige, sørlige og sentrale områder
	n=175	n=60	n=64
	Median (min-maks)	Median (min-maks)	Median (min-maks)
Cu (µg/L)	330 (89-740)	471 (327-670)	186 (80-408)
Fe (µg/L)	270 (75-760)	309 (135-794)	446 (205-1049)
Mn (µg/L)	2,6 (1,2-19)	2,6 (0,79-8,4)	3,2 (1,5-26)
Se (µg/L)	11 (6,6-50)	12 (8,8-18)	13 (3,7-25)
Zn (µg/L)	1500 (240-6400)	3524 (1238-5710)	700 (270-1990)
As (µg/L)	<0,5** (<0,2*-12)	0,33 (0,041-4,6)	0,55 (0,37-5,5)
Pb (µg/L)	0,25 (<0,6*-7,8)	1,2 (0,74-6,4)	17 (9,6-37)
Tidspunkt for prøvetaking etter fødsel	Varierende	2-3 uker postpartum	3 måneder postpartum
Referanse	Denne oppgaven	(Björklund et al. 2012)	(World Health Organization & International Atomic Energy Agency 1989)

*<LOD, **<LOQ

4.6 Innholdet av ulike grunnstoffer i urin fra ammende mødre bosatt i Oslo sammenlignet med studier fra andre land

Kjønn, alder og BMI har tidligere vist å påvirke utskillelsen av grunnstoffer i urin (Birgisdottir et al. 2013). Studiene fra Algerie, Belgia og Ghana har alle vurdert eksponeringsnivået i urin for en voksen populasjon, og vil derfor være et godt sammenligningsgrunnlag med dette arbeidet med hensyn på alder. Studien fra Algerie inneholder data fra kvinner bosatt på to områder, et område med høyt innhold av jod i drikkevannet (HI) og et område med veldig høyt innhold av jod i drikkevannet (VHI). Den belgiske studien er omfattende, og inneholder data fra 1001 individer (541 kvinner og 460 menn). Studien fra Tarkwa, Ghana, inneholder data fra gruvearbeidere, deriblant én kvinne og 14 menn, samt data fra individer som ikke arbeidet i graven, ti kvinner og syv menn.

Tabell 11 viser en oversikt over mediankonsentrasjon, samt minimums- og maksimumskonsentrasjon for de ulike studiene. Jern og bly har lavest mediankonsentrasjon i Norge sammenlignet med de andre studiene, men har samtidig høyest maksimumskonsentrasjon. Dette tyder på at det er store individuelle forskjeller i målt konsentrasjon for noen av grunnstoffene. Studiene fra Norge, Algerie og Belgia har betydelig lavere mediankonsentrasjon av arsen sammenlignet med studien fra Ghana, men Norge har den høyeste maksimumskonsentrasjonen sammenlignet med alle studiene. På grunn av gruveaktiviteten i landet har Ghana slitt med høye konsentrasjoner av uorganisk arsen i drikkevannet i en årrekke (Amasa 1975), noe som også var utgangspunktet for studien til Asante et al. (2007). For mennesker uten kjent høy eksponering for arsen ligger normale konsentrasjonsnivåer av arsen i urin i området 5-50 µg As/L. Inntak av sjømat kan imidlertid øke konsentrasjonen til mer enn 1 mg As/L (Nordberg et al. 2015b). Jod har lavest mediankonsentrasjon sammenlignet med Algerie. Medianen for rubidium ligger under medianen i Ghana, men over medianen i Algerie og Belgia.

Tabell 11. Mediankonsentrasjon (min-maks) av mangan, jern, nikkel, kobber, sink, arsen, selen, rubidium, jod og bly i urin hos voksne kvinner og menn i Norge, Algerie HI (område med høyt innhold av jod i drikkevannet), Algerie VHI (område med veldig høyt innhold av jod i drikkevannet), Belgia og Ghana

Land, område	Norge, Oslo	Algerie HI	Algerie VHI	Belgia	Ghana, Tarkwa	Ghana, Tarkwa
Forsøkspersoner	Ammende kvinner	Kvinner	Kvinner	Kvinner, menn	Kvinner, menn (ikke gruvearbeidere)	Kvinner, menn (gruvearbeidere)
n	175	27	33	1001	17	15
Mn (µg/L)	<0,4** (<0,4**-7,0)	0,61 (<0,48-12)	0,79 (<0,48-7,9)	<0,043*	7,33 (3,74-262)	7,40 (2,62-25,1)
Fe (µg/L)	12 (4,6-650)	42 (<14-270)	83 (32-510)			
Ni (µg/L)	2,4 (<1**-19)	4,8 (<2,0-18)	4,4 (<2,0-22)	2,05		
Cu (µg/L)	<20** (<6*-46)	15 (<11-34)	16 (<11-56)	8,18	377 (72,7-580)	421 (174-676)
Zn (µg/L)	360 (24-3000)	330 (87-1400)	530 (45-1200)	256	695 (159-2020)	620 (64,1-1230)
As (µg/L)	25 (0,82-1000)	26 (1,9-130)	33 (6,9-170)	14,1	240 (43-700)	260 (34-650)
Se (µg/L)	19 (1,4-120)	39 (10-71)	58 (15-200)	25,1	62 (4,7-120)	68 (7,6-270)
Rb (µg/L)	1700 (190-5000)	760 (110-2000)	750 (160-2400)		3580 (210-9660)	2270 (520-8120)
I (µg/L)	64 (3,2-520)	210 (100-1700)	830 (11-3100)			
Pb (µg/L)	<0,8** (<0,2*-23)	2,4 (<0,70-6,8)	2,2 (0,074-1,0)	0,872	3,08 (<0,1-7,25)	5,13 (1,00-10,2)
Referanse	Denne oppgaven	(Haugstad 2015)	(Haugstad 2015)	(Hoet et al. 2013)	(Asante et al. 2007)	(Asante et al. 2007)

*<LOD, **<LOQ

Cuenca et al. (1988) gjorde en studie på ti friske menn i USA i alderen 26-31 år der gjennomsnittskonsentrasjonen av brom i urin var på 3100 ± 4300 µg/L. Det store standardavviket indikerer at det var stor variasjon i konsentrasjonsnivå av brom i urin. Mediankonsentrasjon (min-maks) var på 3100 µg/L (300-7000). I dette arbeidet ble gjennomsnittskonsentrasjonen til brom funnet å være 3000 ± 1400 µg/L, med en mediankonsentrasjon (min-maks) på 2200 µg/L (320-8900). Gjennomsnittskonsentrasjonen funnet i dette arbeidet ligger på samme nivå som studien i USA, med en litt lavere mediankonsentrasjon. Begge studiene viser imidlertid at det er store individuelle variasjoner i konsentrasjonsnivået av brom i urinen.

5 Forslag til videre arbeid

En fordel ved å bruke basisk prøvepreparering som gjort i dette arbeidet er at det gir mulighet til å kvantifisere grunnstoffer som brom, som ikke tidligere er undersøkt i morsmelk, og jod.

Det gir imidlertid noen begrensninger, slik at grunnstoff som kvikksølv (Hg) ikke kan bestemmes.

Spørreskjemaet burde vært bedre tilpasset for å kunne bestemme flere prediktorer for arsen. Ris, som kjent inneholder mye uorganisk arsen, burde vært et eget punkt i spørreskjemaet og kanskje ikke vært plassert sammen med pasta. Det vil kunne gi en indikasjon på om det er en sammenheng mellom de som spiser ris og totalkonsentrasjon av arsen.

Det bør også gjøres et estimat for de verdiene som ligger under kvantifiseringsgrensen slik at de statistiske metodene blir mer pålitelige. For å oppnå lavere kvantifiseringsgrenser bør det også undersøkes om andre leverandører har renere reagenser og utstyr.

Den instrumentelle analysen gjort i denne oppgaven ikke sier noe om hvilken form grunnstoffet foreligger på. Det kunne derfor ha vært interessant gjøre en spesiering av arsen med tanke på arsenlipider i et utvalg prøver med høyt innhold av arsen, da en nylig studie av flere arsenlipider har vist et høyt cytotoxisk potensial i menneskelever og blæreceller (Witt et al. 2017).

6 Konklusjon

Analysen av morsmelk resulterte i en mediankonsentrasjon (min-maks) for mangan på $2,6 \mu\text{g/L}$ ($1,2-19$), jern $2,7 \cdot 10^2 \mu\text{g/L}$ ($75-7,6 \cdot 10^2$), nikkel $<0,8 \mu\text{g/L}$ ($<0,2-6,9$), kobber $3,3 \cdot 10^2 \mu\text{g/L}$ ($89-7,4 \cdot 10^2$), sink $1,5 \cdot 10^3 \mu\text{g/L}$ ($2,4 \cdot 10^2-6,4 \cdot 10^3$), arsen $<0,5 \mu\text{g/L}$ ($<0,2-12$), brom $5,0 \cdot 10^2 \mu\text{g/L}$ ($2,1 \cdot 10^2-2,7 \cdot 10^3$), selen $11 \mu\text{g/L}$ ($6,6-50$), rubidium $5,5 \cdot 10^2 \mu\text{g/L}$ ($3,1 \cdot 10^2-9,2 \cdot 10^2$), jod $68 \mu\text{g/L}$ ($16-6,0 \cdot 10^2$) og bly $0,25 \mu\text{g/L}$ ($<0,06-7,8$). I urin ble mediankonsentrasjonen (min-maks) for mangan $<0,4 \mu\text{g/L}$ ($<0,4-7,0$), jern $12 \mu\text{g/L}$ ($4,6-6,5 \cdot 10^2$), nikkel $2,4 \mu\text{g/L}$ ($<1-19$), kobber $<20 \mu\text{g/L}$ ($<6-46$), sink $3,6 \cdot 10^2 \mu\text{g/L}$ ($24-3,0 \cdot 10^3$), arsen $25 \mu\text{g/L}$ ($0,82-1,0 \cdot 10^3$), brom $2,2 \cdot 10^3 \mu\text{g/L}$ ($3,2 \cdot 10^2-8,9 \cdot 10^3$), selen $19 \mu\text{g/L}$ ($1,4-1,2 \cdot 10^2$), rubidium $1,7 \cdot 10^3 \mu\text{g/L}$ ($1,9 \cdot 10^2-1,7 \cdot 10^3$), jod $64 \mu\text{g/L}$ ($3,2-5,2 \cdot 10^2$), bly $<0,8 \mu\text{g/L}$ ($<0,2-23$), svovel $6,7 \cdot 10^2 \text{ mg/L}$ ($79-1,5 \cdot 10^3$) og klor $5,1 \cdot 10^3 \text{ mg/L}$ ($5,0 \cdot 10^2-1,2 \cdot 10^4$).

Gjennomsnittsnivåene for sink og rubidium i morsmelk ligger lavere i denne oppgaven enn det som er rapportert i tidligere studier i Norge, Sverige, Italia, Hellas og Østerrike.

Gjennomsnittskonsentrasjonen av selen ligger på samme nivå som i Norge og Sverige, men ligger lavere enn i Italia. Generelt ligger samtlige av grunnstoffene i morsmelk i det lave området av det som tidligere er rapportert i de andre studiene.

Sammenlignet med to svenske studier ble det observert høyere maksimumsverdi for arsen, kobber, sink og selen i morsmelk. For arsen er maksimumsverdien over dobbelt så høy. Medianen for bly, selen og jern er lavere i dette arbeidet enn de to svenske studiene. Sammenlignet med studien fra Uppsala ligger samtlige mediankonsentrasjoner i dette arbeidet, bortsett fra arsen som har mediankonsentrasjon under kvantifiseringsgrensen, under nivåene rapportert i Björklund et al. (2012).

Jern og bly har lavest mediankonsentrasjon i urin i dette arbeidet sammenlignet med studier fra Algerie, Belgia og Ghana, men har samtidig høyest maksimumskonsentrasjon. Dette tyder på at det er store individuelle forskjeller i målt konsentrasjon for noen av grunnstoffene. Studiene fra Norge, Algerie og Belgia har betydelig lavere mediankonsentrasjon av arsen i urin sammenlignet med studien fra Ghana, men Norge har den høyeste maksimumskonsentrasjonen av arsen i urin sammenlignet med alle studiene. Gjennomsnittskonsentrasjonen av brom i urin funnet i dette arbeidet ligger på samme nivå som studien i USA, med en litt lavere mediankonsentrasjon. Begge studiene viser imidlertid at det er store individuelle variasjoner i konsentrasjonsnivået av brom i urinen.

Det ble funnet en signifikant positiv sammenheng ($p < 0,001$) mellom inntak av fet fisk og arsen i morsmelk, og en signifikant reduksjon av bromkonsentrasjon i morsmelk når barnets alder økte ($p < 0,001$). Det ble også funnet en signifikant positiv sammenheng mellom økt konsentrasjon av jod i morsmelk ved økt konsentrasjon av jod i urin ($p < 0,001$), økt konsentrasjon av brom i morsmelk ved økt konsentrasjon av brom i urin ($p < 0,05$) og økt konsentrasjon av arsen i morsmelk ved økt konsentrasjon av arsen i urin ($p < 0,001$).

7 Referanser

- Ali, I. & Aboul-Enein, H. Y. (2006). *Instrumental methods in metal ion speciation*: CRC Press. 349 s.
- Amasa, S. (1975). Arsenic pollution at Obuasi Goldmine, town, and surrounding countryside. *Environmental health perspectives*, 12: 131.
- Antignac, J.-P., Cariou, R., Zalko, D., Berrebi, A., Cravedi, J.-P., Maume, D., Marchand, P., Monteau, F., Riu, A. & Andre, F. (2009). Exposure assessment of French women and their newborn to brominated flame retardants: determination of tri- to deca-polybromodiphenylethers (PBDE) in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum. *Environmental pollution*, 157 (1): 164-173.
- Aquilio, E., Spagnoli, R., Seri, S., Bottone, G. & Spennati, G. (1996). Trace element content in human milk during lactation of preterm newborns. *Biological Trace Element Research*, 51 (1): 63-70.
- Asante, K. A., Agusa, T., Subramanian, A., Ansa-Asare, O. D., Biney, C. A. & Tanabe, S. (2007). Contamination status of arsenic and other trace elements in drinking water and residents from Tarkwa, a historic mining township in Ghana. *Chemosphere*, 66 (8): 1513-1522.
- Birgisdottir, B., Knutsen, H., Haugen, M., Gjelstad, I., Jenssen, M., Ellingsen, D., Thomassen, Y., Alexander, J., Meltzer, H. & Brantsæter, A. (2013). Essential and toxic element concentrations in blood and urine and their associations with diet: results from a Norwegian population study including high-consumers of seafood and game. *Science of The Total Environment*, 463: 836-844.
- Björklund, K. L., Vahter, M., Palm, B., Grandér, M., Lignell, S. & Berglund, M. (2012). Metals and trace element concentrations in breast milk of first time healthy mothers: a biological monitoring study. *Environmental Health*, 11 (1): 92.
- Butte, N. F., Lopez-Alarcon, M. G. & Garza, C. (2002). Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life. Geneva. 57 s.
- Caballero, B., Allen, L. & Prentice, A. (2005). *Encyclopedia of Human Nutrition*, b. 2. Oxford, UK: Elsevier Academic Press. 569 s.
- Caldwell, K. L., Jones, R. L., Verdon, C. P., Jarrett, J. M., Caudill, S. P. & Osterloh, J. D. (2009). Levels of urinary total and speciated arsenic in the US population: National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2004. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 19 (1): 59-68.

- China National Accreditation Council for Registrars. (2010). *Certificate of Certified Reference Materials - NCS CZ73013 Spinage*. Kina: China National Analysis Center for Iron and Steel. 4 s.
- Chiou, H.-Y., Hsueh, Y.-M., Liaw, K.-F., Horng, S.-F., Chiang, M.-H., Pu, Y.-S., Lin, J. S.-N., Huang, C.-H. & Chen, C.-J. (1995). Incidence of internal cancers and ingested inorganic arsenic: a seven-year follow-up study in Taiwan. *Cancer Research*, 55 (6): 1296-1300.
- Cuenca, R. E., Pories, W. J. & Bray, J. (1988). Bromine levels in human serum, urine, hair. *Biological Trace Element Research*, 16 (2): 151-154.
- Dorea, J. G. (2004). Mercury and lead during breast-feeding. *British Journal of Nutrition*, 92 (01): 21-40.
- Drevon, C. A. & Blomhoff, R. (2012). *Mat og medisin: lærebok i generell og klinisk ernæring*. 6. utg. Kristiansand: Cappelen Damm Høyskoleforlag. 540 s.
- Eggesbø, M., Stigum, H., Longnecker, M. P., Polder, A., Aldrin, M., Basso, O., Thomsen, C., Skaare, J. U., Becher, G. & Magnus, P. (2009). Levels of hexachlorobenzene (HCB) in breast milk in relation to birth weight in a Norwegian cohort. *Environmental research*, 109 (5): 559-566.
- Eik, T. C. R. (2016). *Sporelementer i morsmelk*. MSc Thesis: Universitetet i Bergen, Institutt for global helse og samfunnsmedisin. 109 s.
- Enger, Ø. (2014). *Utvikling av metode for bestemmelse av 12 grunnstoff i morsmelk med induktivt koplet plasma massespektrometri - Development of method for determination of 12 elements in breast milk using inductively coupled plasma mass spectrometry*. MSc Thesis. Ås: Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet, Institutt for miljøvitenskap. 89 s.
- European Food Safety Authority. (2013). Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal*: 151.
- Gilliom, R. J. & Helsel, D. R. (1986). Estimation of distributional parameters for censored trace level water quality data: 1. Estimation techniques. *Water Resources Research*, 22 (2): 135-146.
- Gropper, S. S. & Smith, J. L. (2012). *Advanced nutrition and human metabolism*. 6. utg.: Cengage Learning. 608 s.
- Haugstad, C. R. (2015). *Bestemmelse av grunnstoffer og anioner i drikkevann og urin blant Saharawiske flyktninger - En vurdering av drikkevannskvalitet og eksponeringsnivå i*

- urin*. MSc Thesis. Ås: Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Fakultet for miljøvitenskap og teknologi. 98 s.
- Helsedirektoratet. (2017). *Amming og morsmelk*. Tilgjengelig fra: <https://helsenorge.no/etter-fodsel/aming> (lest 12.04.2017).
- Helsel, D. R. (2006). Fabricating data: how substituting values for nondetects can ruin results, and what can be done about it. *Chemosphere*, 65 (11): 2434-2439.
- Henjum, S., Kjellefold, M., Ulak, M., Chandyo, R. K., Shrestha, P. S., Frøyland, L., Strydom, E. E., Dhansay, M. A. & Strand, T. A. (2016). Iodine concentration in breastmilk and urine among lactating women of Bhaktapur, Nepal. *Nutrients*, 8 (5): 255.
- Hindmarsh, J. T. (2002). Caveats in hair analysis in chronic arsenic poisoning. *Clinical Biochemistry*, 35 (1): 1-11.
- Hoet, P., Jacquerye, C., Deumer, G., Lison, D. & Haufroid, V. (2013). Reference values and upper reference limits for 26 trace elements in the urine of adults living in Belgium. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 51 (4): 839-849.
- Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S. & Thomas, D. J. (2011). Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxicological Sciences*, 123 (2): 305-332.
- Institute for Reference Materials and Measurements. (1993). *Community Bureau of Reference BCR® - 063R*. Belgia: Joint Research Centre, European Commission. 3 s.
- Institute for Reference Materials and Measurements. (2013a). *European Reference Materials ERM®-BD150*. Belgia: Joint Research Centre, European Commission. 4 s.
- Institute for Reference Materials and Measurements. (2013b). *European Reference Materials ERM®-BD151*. Belgia: Joint Research Centre, European Commission. 3 s.
- Klima- og miljødepartementet. (2015). Et miljø uten miljøgifter - Handlingsplan for å stanse utslipp av miljøgifter. 42 s.
- Krachler, M., Shi Li, F., Rossipal, E. & Irgolic, K. J. (1998). Changes in the Concentrations of Trace Elements in Human Milk during Lactation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 12 (3): 159-176.
- Krachler, M., Prohaska, T., Koellensperger, G., Rossipal, E. & Stingeder, G. (2000). Concentrations of selected trace elements in human milk and in infant formulas determined by magnetic sector field inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Biological Trace Element Research*, 76 (2): 97-112.
- Le, X.-C., Cullen, W. R. & Reimer, K. J. (1994). Human urinary arsenic excretion after one-time ingestion of seaweed, crab, and shrimp. *Clinical chemistry*, 40 (4): 617-624.

- Leotsinidis, M., Alexopoulos, A. & Kostopoulou-Farri, E. (2005). Toxic and essential trace elements in human milk from Greek lactating women: association with dietary habits and other factors. *Chemosphere*, 61 (2): 238-247.
- Levy, F. & Andrew, E. (2017). *Forgifting*: Store medisinske leksikon. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/forgiftning> (lest 06.05.17).
- Lie, S. (2017). *Neonatal*: Store Medisinske Leksikon. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/neonatal> (lest 06.05.17).
- Mandal, B. K. & Suzuki, K. T. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58 (1): 201-235.
- Meironyté, D., Norén, K. & Bergman, A. (1999). Analysis of polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. A time-related trend study, 1972-1997. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 58 (6): 329-341.
- Meyer, P. A., Brown, M. J. & Falk, H. (2008). Global approach to reducing lead exposure and poisoning. *Mutation research/reviews in mutation research*, 659 (1): 166-175.
- Meyer, S., Schulz, J., Jeibmann, A., Taleshi, M. S., Ebert, F., Francesconi, K. & Schwerdtle, T. (2014). Arsenic-containing hydrocarbons are toxic in the in vivo model *Drosophila melanogaster*. *Metallomics*, 6 (11): 2010-2014.
- Microsoft. (2016). *Excel 2016*.
- Milman, N., Laursen, J., Byg, K.-E., Pedersen, H. S. & Mulvad, G. (2006). Rubidium content in autopsy liver tissue samples from Greenlandic Inuit and Danes measured by X-ray fluorescence spectrometry. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20 (4): 227-232.
- Molin, M., Ulven, S. M., Meltzer, H. M. & Alexander, J. (2015). Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology—Review focusing on seafood arsenic. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 31: 249-259.
- Molin, M. (2017). *Verdt å vite om arsen i sjømat og ris*. 1/2017 utg.: Norsk Tidsskrift for Ernæring. Tilgjengelig fra: <http://www.ntfe.no/i/2017/1/tfe-2017-01b-699> (lest 03.05.17).
- Monsen, A.-L. B. (2017). *Vitaminer og sporelementer for de som vokser*. Bergen: Fagbokforlaget. 313 s.
- National Institute of Standards & Technology. (2003). *Standard Reference Material® 2670a*. Toxic Elements in Freeze-Dried Urine. USA: National Institute of Standards & Technology. 5 s.

- National Institute of Standards & Technology. (2013). *Standard Reference Material® 1549a*. Whole Milk Powder. USA: National Institute of Standards & Technology. 9 s.
- National Research Council Canada. (2007). *DORM-3*. Fish Protein Certified Reference Material for Trace Metals. Canada: Institute for National Measurement Standards. 4 s.
- National Research Council Canada. (2014). *DOLT-5*. Dogfish Liver Certified Reference Material for Trace Metals and other Constituents. Canada: Measurement Science and Standards. 5 s.
- Nordberg, G. F., Fowler, B. A. & Nordberg, M. (2015a). *Handbook on the toxicology of metals: Vol. 1: General considerations*. 4. utg. Amsterdam: Elsevier. 545 s.
- Nordberg, G. F., Fowler, B. A. & Nordberg, M. (2015b). *Handbook on the toxicology of metals: Vol. 2: Specific metals*. 4. utg. Amsterdam: Elsevier. 1385 s.
- Nødland, L. K. (2014). *Utvikling og validering av metode for bestemmelse av jod i urin fra mor og barn ved hjelp av trippel kvadrupol induktivt koplet plasma massespektrometri (ICP-MS-QQQ)*. MSc Thesis. Ås, Norway: Norges miljø- og biovitenskapelige universitet, Fakultet for miljøvitenskap og teknologi, Institutt for miljøvitenskap. 93 s.
- Polder, A., Skåre, J. U., Skjerve, E., Løken, K. & Eggesbø, M. (2009). Levels of chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in Norwegian breast milk (2002–2006), and factors that may predict the level of contamination. *Science of the Total Environment*, 407 (16): 4584-4590.
- Polèo, A., Voie, Ø., Misund, B., Bjørnstad, H. & Johnsen, A. (1997). Miljøgifter - Kilder, biotilgjengelighet og toksiske effekter, 02070. Kjeller, Norge: Forsvarets forskningsinstitutt. 52 s.
- Putnam, D. F. (1971). Composition and concentrative properties of human urine, NASA CR-1802. Huntington Beach, California: Advanced Biotechnology and Power Department. 112 s.
- Reid, H. J., Bashammakh, A. A., Goodall, P. S., Landon, M. R., O'Connor, C. & Sharp, B. L. (2008). Determination of iodine and molybdenum in milk by quadrupole ICP-MS. *Talanta*, 75 (1): 189-197.
- Rose, M., Miller, P., Baxter, M., Appleton, G., Crews, H. & Croasdale, M. (2001). Bromine and iodine in 1997 UK total diet study samples. *Journal of Environmental Monitoring*, 3 (4): 361-365.
- Roza, G. (2009). *Bromine*. Understanding the elements of the periodic table. New York: Rosen. 48 s.
- RStudio Team. (2016). *RStudio: Integrated Development Environment for R*: RStudio, Inc.

- Sand, O., Sjaastad, Ø. V., Haug, E. & Toverud, K. C. (2014). *Menneskets fysiologi*. 2. utg. utg. Oslo: Gyldendal akademisk. 872 s.
- Schlabach, M., Mariussen, E., Borgen, A., Dye, C., Enge, E.-K., Steinnes, E., Green, N. & Mohn, H. (2003). Kartlegging av bromerte flammehemmere og klorerte parafiner, 866/02: Statens forurensningstilsyn. 71 s.
- Sele, V. (2014). Method development and analysis of arsenolipids in marine oils.
- Seronorm™. (2013a). *Trace Elements Urine L-1*. Norge: SERO AS. 4 s.
- Seronorm™. (2013b). *Trace Elements Urine L-2*. Norge: SERO AS. 4 s.
- Shankar, S. & Shanker, U. (2014). Arsenic contamination of groundwater: a review of sources, prevalence, health risks, and strategies for mitigation. *The Scientific World Journal*, 2014: 18.
- Skoog, D. A., Crouch, S. R. & Holler, F. J. (2007). *Principles of instrumental analysis*. 6th utg. Belmont, Calif: Thomson. 1056 s.
- Smith, A. H., Goycolea, M., Haque, R. & Biggs, M. L. (1998). Marked increase in bladder and lung cancer mortality in a region of Northern Chile due to arsenic in drinking water. *American journal of epidemiology*, 147 (7): 660-669.
- Téllez-Rojo, M. M., Hernández-Avila, M., González-Cossío, T., Romieu, I., Aro, A., Palazuelos, E., Schwartz, J. & Hu, H. (2002). Impact of breastfeeding on the mobilization of lead from bone. *American journal of epidemiology*, 155 (5): 420-428.
- Thomsen, C., Stigum, H., Frøshaug, M., Broadwell, S. L., Becher, G. & Eggesbø, M. (2010). Determinants of brominated flame retardants in breast milk from a large scale Norwegian study. *Environment international*, 36 (1): 68-74.
- Tsuda, T., Babazono, A., Yamamoto, E., Kurumatani, N., Mino, Y., Ogawa, T., Kishi, Y. & Aoyama, H. (1995). Ingested arsenic and internal cancer: a historical cohort study followed for 33 years. *American Journal of Epidemiology*, 141 (3): 198-209.
- Ursinyova, M. & Masanova, V. (2005). Cadmium, lead and mercury in human milk from Slovakia. *Food additives and contaminants*, 22 (6): 579-589.
- Vanhaecke, F., Vanhoe, H., Dams, R. & Vandecasteele, C. (1992). The use of internal standards in ICP-MS. *Talanta*, 39 (7): 737-742.
- Vitenskapskomiteen for mattrygghet. (2013). Benefit and Risk Assessment of Breastmilk for Infant Health in Norway. 303.
- Vobecký, M., Babický, A., Lener, J. & Švandová, E. (1996). Interaction of bromine with iodine in the rat thyroid gland at enhanced bromide intake. *Biological trace element research*, 54 (3): 207-212.

- Vollset, M. (2015). *Bestemmelse av 12 grunnstoffer i morsmelk fra norske mødre - Faktor som påvirker innholdet av kvikksølv, kadmium, selen og jod i morsmelk*. MSc Thesis. Ås: Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet, Institutt for miljøvitenskap. 64 s.
- Wigle, D. T., Arbuckle, T. E., Turner, M. C., Berube, A., Yang, Q., Liu, S. & Krewski, D. (2008). Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 11 (5-6): 373-517.
- Witt, B., Meyer, S., Ebert, F., Francesconi, K. A. & Schwerdtle, T. (2017). Toxicity of two classes of arsenolipids and their water-soluble metabolites in human differentiated neurons. *Archives of Toxicology*: 1-14.
- World Health Organization & International Atomic Energy Agency. (1989). Minor and trace elements in breast milk: report of a joint WHO/IAEA collaborative study. 159.
- World Health Organization. (2010). Exposure to arsenic: a major public health concern. *Geneva: Public Health and Environment*: 1-5.
- World Health Organization. (2011). Guidelines for drinking-water quality. *WHO chronicle*: 104-108.
- Xie, R., Johnson, W., Spayd, S., Hall, G. S. & Buckley, B. (2006). Arsenic speciation analysis of human urine using ion exchange chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 578 (2): 186-194.
- Ystenes, M. & Pedersen, B. (2017). *Halogenene*: Store Norske Leksikon. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/halogenene> (lest 06.05.17).
- Örün, E., Yalçın, S. S., Aykut, O., Orhan, G., Morgil, G. K., Yurdakök, K. & Uzun, R. (2011). Breast milk lead and cadmium levels from suburban areas of Ankara. *Science of the Total Environment*, 409 (13): 2467-2472.

Vedlegg A – Utstyr, instrumenter, kjemikalier, referansematerialer og internstandarder

Tabell 12. Utstyr og instrumenter som ble benyttet ved preparering og analysering av morsmelk og urin.

Utstyr	Spesifikasjon	Leverandør
Automatisk pipette	100-5000 µL	Biohit
Pipettespisser	-	Sartorius
Dispenser	FORTUNA® Optifix®, 1-5 mL og 0,5- 2,5 mL	Sigma-Aldrich
Sentrifugerør 50 mL, rød kork	Polypropylen	Sarstedt
Sentrifugerør 50 mL, blå kork	Polypropylen	VWR
Sentrifugerør 15 mL	Polypropylen	Sarstedt
Rør med ventilasjonstrykklokk 13 mL	Polypropylen	Sarstedt
Vannbad, Ultrasonic Cleaner Digital Pro+	-	Biltema
Vekt (STAMI)	-	-
Vekt (NMBU)	A200S, analysevekt 4 desimaler	Sartorius
Plastkanne	Polyetylen	Agilent Technologies
Metallspatel	Rustfritt stål	-
α-emitter	-	Mettler Toledo
Varmeskap (STAMI)	-	-
Varmeskap (NMBU)	-	Termaks
Sentrifuge	Medifuge centrifuge	Thermo Scientific
Vortex mikser	-	VWR International
Tuningløsning	-	Agilent Technologies
Instrument	Spesifikasjon	Leverandør
Induktivt koblet plasma massespektrometer	Agilent 8800 QQQ ICP-MS	Agilent Technologies
ICP-MS autosampler	ASX-500 Series	Agilent Technologies
Prøveinnføringssystem	Integrert prøveintroduksjonssystem (ISIS)	Agilent Technologies

Tabell 13. Empirisk formel, kvalitet/spesifikasjon, konsentrasjon og leverandør for de ulike kjemikaliene benyttet under prøvepreparering og analyse.

Kjemikalie	Empirisk formel	Kvalitet/ spesifikasjon	Konsentrasjon	Leverandør
Tetrametylammoniumhydroksid (TMAH)	C ₄ H ₁₃ NO			Alfa Aesar®
Etanol	C ₂ H ₆ O	AnalaR NORMAPUR		VWR International
Ammoniumhydroksid 1	NH ₄ OH	For sporanalyser, TraceSELECT® Ultra	≥25 % NH ₃ i H ₂ O	Sigma- Aldrich
Ammoniumhydroksid 2	NH ₄ OH	P/A kvalitet, EMSURE®	25 % NH ₃ i H ₂ O	MERCK
1-butanol	C ₄ H ₁₀ O	EMSURE®		MERCK
H₄EDTA	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈	99,995% trace metals basis		Sigma- Aldrich
Triton™, x-100	C ₁₄ H ₂₂ O(C ₂ H ₄ O) _n (n=9-10)	Laboratoriekvalitet		Sigma- Aldrich
⁷⁴ Se		99,9 %		
⁸² Se				Spectrascan
¹²⁹ I, radioaktivt jod				
Indium (In)			10023 ± 31 µg/mL	Spectrascan
Tellur (Te)			1004 ± 5 µg/mL	Inorganic Ventures
Ytterbium (Yb)			1008 ± 4 µg/mL	Spectrascan
Heliumgass	He	6.0		AGA
Oksyngengass	O ₂	5.0		AGA
Ionefritt vann	H ₂ O	18,3 Ω		Barnstead ³

¹Til basisk reagens

²Til rens og vaskeløsning

³Vannet er renset ved omvendt osmose, ionebytting og filtrering med renseanlegg fra Barnstead

Tabell 14. Viser en oversikt over sertifisert referansemateriale og husstandard som ble benyttet i oppgaven.

Materiale	Type materiale	Leverandør
BCR® - 063R	Sertifisert referansemateriale	Institute for Reference Materials and Measurements
DORM-3 Dogfish Protein	Sertifisert referansemateriale	National Research Council Canada
DOLT-5 Dogfish Liver	Sertifisert referansemateriale	National Research Council Canada
ERM®-BD150	Sertifisert referansemateriale	Institute for Reference Materials and Measurements
ERM®-BD151	Sertifisert referansemateriale	Institute for Reference Materials and Measurements
NCS CZ73013 Spinage	Sertifisert referansemateriale	China National Accreditation Council for Registrars
Standard Reference Material® 1549a	Sertifisert referansemateriale	National Institute of Standards & Technology
Standard Reference Material® 2670a	Sertifisert referansemateriale	National Institute of Standards & Technology
Seronorm™ Trace Elements Urine L-1	Sertifisert referansemateriale	SERO AS
Seronorm™ Trace Elements Urine L-2	Sertifisert referansemateriale	SERO AS
Basisk husstandard	Husstandard	Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Tabell 15. Viser konsentrasjonen i løsning benyttet til analyse og konsentrasjon i mellomstandard for de ulike internstandardene benyttet ved analyse med ICP-MS.

Internstandard	Konsentrasjon løsning brukt til analyse, µg/L			Konsentrasjon mellomstandard, mg/L		
	Melk	Urin	Testforsøk	Melk	Urin	Testforsøk
⁷⁴ Se	50	4	4	50	47,41	47,41
⁸² Se		0,5			0,2	
¹²⁹ I		0,5			1	
Indium (In)		2			10	
Tellur (Te)		5			10	
Ytterbium (Yb)		5			100	

Vedlegg B – Tillaging av kalibreringsstandarder

Høy standard ble laget ved å tilsette cirka 30 mL BENT, deretter ble 100 µL av multistandarden IV-ICPMS-71A veid inn slik at sluttkonsentrasjonen ble 20 µg/L. Noen av grunnstoffene var ønskelig i en høyere konsentrasjon og ble pipettert ut fra en stamløsning eller tillaget mellomstandard. Sluttkonsentrasjonen til de ulike grunnstoffene er vist i tabell 16. 1 mL internstandard ble også tilsatt. Til slutt ble høy standard fortynnet opp til 50 mL med BENT. To kalibreringsblanker ble deretter tillaget ved å tilsette 45 mL BENT, 1 mL internstandard og deretter fortynnet til 50 mL med ione-fritt vann. Den ene kalibreringsblanken ble brukt ved tillaging av lav standard. Lav kalibreringsstandard ble laget ved å fortynne høy kalibreringsstandard 10 ganger. 5 mL fra høy kalibreringsstandard ble tilsatt lav kalibreringsstandard, og deretter fortynnet opp til 50 mL med den ene kalibreringsblanken. Konsentrasjonene av de ulike grunnstoffene i den lave kalibreringsstandard er vist i tabell 16. Den basiske reagensen benyttet ved prepareringen av melkeprøvene ble også benyttet ved tillaging av kalibreringsstandarder til analyserunden med melkeprøvene, det samme gjelder urin. Basisk reagens benyttet ved preparering av urinprøver ble også brukt til kalibreringsstandarder ved analysen av urin. Dette for å få en så lik viskositet i prøver og standarder som mulig, slik at ikke forstøvereffekten skulle bli forskjellig. Viskositet kan påvirke prøvemengde som kommer inn i plasma, det er derfor viktig med lik matriks slik at prøvemengden som kommer inn i plasma blir lik.

Tabell 16. Konsentrasjonene til de ulike grunnstoffene i det høye og lave området i kalibreringsstandardene, samt kalibreringsblank, i begge analyserundene gjort på ICP-MS.

Grunnstoff	Høy kalibreringsstandard		Lav Kalibreringsstandard		Kalibreringsblank	
	Melk	Urin	Melk	Urin	Melk	Urin
Cl (mg/L)	-	200	-	20	0	0
S (mg/L)	-	120	-	12	0	0
As (µg/L)	20	120	2	12	0	0
Br (µg/L)	500	2000	50	200	0	0
Cu (µg/L)	70	120	7	12	0	0
Fe (µg/L)	40	120	4	12	0	0
I (µg/L)	50	200	5	20	0	0
Mn (µg/L)	20	20	2	2	0	0
Pb (µg/L)	20	20	2	2	0	0
Rb (µg/L)	220	220	22	22	0	0
Se (µg/L)	20	20	2	2	0	0
Zn (µg/L)	520	220	52	22	0	0

Kalibreringsstandarder til testforsøket ble laget med samme konsentrasjoner som kalibreringsstandardene for urinanalysen, bortsett fra klor der konsentrasjonen var 100 mg/L i høy standard. Tillagingen av kalibreringsstandarder med BENT ble gjort på samme måte som beskrevet over. Høy kalibreringsstandard med TMAH ble tilsatt 1 mL med TMAH, litt ionefritt vann, 100 μ L av multistandarden IV-ICPMS-71A, samt resten av grunnstoffene som var ønskelig i en høyere konsentrasjon. Til slutt ble standard høy fortynnet til 50 mL med ionefritt vann. Standard lav ble laget ved å pipettere ut 5 mL fra standard høy og fortynne opp til 50 mL med kalibreringsblank.

Vedlegg C – Løsninger, instrumentelle parametere, masse, gassmodus og internstandard benyttet ved bruk av ICP-MS

Tabell 17. Viser en oversikt over løsninger som ble brukt under analysen av morsmelk og urin i oppgaven

Type løsning	Innhold
Bæreløsning	2 % (w/V) NH ₄ OH 4 % (w/V) 1-Butanol 0,1 % (w/V) H ₄ EDTA 0,1 % (w/V) Triton™, x-100
Vaskeløsning	5 % (V/V) NH ₄ OH
Rens	3 % (V/V) NH ₄ OH

Tabell 18. Viser løsninger som ble benyttet ved analysen av melk i testforsøket

Type løsning	Innhold	
	BENT	TMAH
Bæreløsning	2 % (w/V) NH ₄ OH 4 % (w/V) 1-Butanol 0,1 % (w/V) H ₄ EDTA 0,1 % (w/V) Triton™, x-100	2 % (V/V) TMAH
Vaskeløsning	5 % (V/V) NH ₄ OH	2 % (V/V) TMAH
Rens	5 % (V/V) NH ₄ OH	5 % (V/V) NH ₄ OH
Etanol		40 % (V/V) tilsatt online

Tabell 19. Instrumentelle parametere for analysen av morsmelk og urin i oppgaven

		Morsmelk				Urin	
		Enhet	He kollisjonsmodus	O ₂ reaksjonsmodus	He kollisjonsmodus	O ₂ reaksjonsmodus	
Cellebetingelser	Cellegass		He	O ₂	He	O ₂	
	Hastighet på cellegass	mL/min	5	30 %	5	30 %	
	Oktopol bias	V	-18	-5	-18	-5	
	KED	V	5	-7	5	-7	
	Celle utgang	V	-60	-60	-60	-60	
	Deflektor	V	-4	3,4	-3,8	3,4	
	Plate	V	-60	-60	-60	-60	
Plasmabetingelser	RF kraft	W	1550		1550		
	Sampling depth	Mm	10		10		
	Forstøvergass	L/min	1,05		1,05		
	Fortynningsgass	L/min	0		0		
Tuning av ionelinser	Ekstraksjon 1	V	0		0		
	Ekstraksjon 2	V	-190		-160		
Forstøverkammer	Temperatur	°C	2		2		
Softwareinnstillinger	Vasketid mellom prøvene	S	25		25		
	Load time	s	11		11		
	Stabiliseringstid	s	22		22		
	Integrasjonstid	s	0,1-0,5	0,1-1	0,1-0,5	0,1-1	
	Dataopptakingsmåte		peak hop		peak hop		
	Punkt per masse		1		1		
	Sveip per replikat		30		30		
	Antall replikater		3		3		
	Signalmåling		Cps		Cps		
	P/A detektor		På		På		
	Stabiliseringstid	s	0	15	0	15	

Tabell 20. Viser en oversikt over masse før og etter reaksjons-/kollisjonscella, hvilket gassmodus og internstandard som ble brukt for de ulike grunnstoffene ved analysen av melk med Agilent 8800 QQQ ICP-MS.

Grunnstoff	Melkeanalysen Masse før og etter reaksjons- /kollisjonscella (Q1 -> Q2)	Gassmodus	Internstandard
Mangan (Mn)	55 -> 71	Oksygen-reaksjonsmodus	74 -> 90 Selen (Se)
Jern (Fe)	56 -> 56	Helium-kollisjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Nikkel (Ni)	60 -> 60	Helium-kollisjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Kobber (Cu)	63 -> 63	Helium-kollisjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Sink (Zn)	66 -> 66	Helium-kollisjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Arsen (As)	75 -> 91	Oksygen-reaksjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Brom (Br)	79 -> 79	Oksygen-reaksjonsmodus	129 -> 129 Jod (I)
Selen (Se)	80 -> 96	Oksygen-reaksjonsmodus	74 -> 90 Selen (Se)
Rubidium (Rb)	85 -> 85	Oksygen-reaksjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Jod (I)	127 -> 127	Oksygen-reaksjonsmodus	129 -> 129 Jod (I)
Bly (Pb)	208 -> 208	Oksygen-reaksjonsmodus	172 -> 172 Ytterbium (Yb)

Tabell 21. Viser en oversikt over masse før og etter reaksjons-/kollisjonscella, hvilket gassmodus og internstandard som ble brukt for de ulike grunnstoffene ved analysen av urin med Agilent 8800 QQQ ICP-MS.

Grunnstoff	Urinalysen Masse før og etter reaksjons- /kollisjonscella (Q1 -> Q2)	Modus	Internstandard
Svovel (S)	34 -> 50	Oksygen-reaksjonsmodus	74 -> 90 Selen (Se)
Klor (Cl)	37 -> 53	Oksygen-reaksjonsmodus	74 -> 90 Selen (Se)
Mangan (Mn)	55 -> 55	Oksygen-reaksjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Jern (Fe)	56 -> 56	Helium-kollisjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Nikkel (Ni)	60 -> 60	Helium-kollisjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Kobber (Cu)	63 -> 63	Oksygen-reaksjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Sink (Zn)	66 -> 66	Oksygen-reaksjonsmodus	74 -> 90 Selen (Se)
Arsen (As)	75 -> 91	Oksygen-reaksjonsmodus	74 -> 90 Selen (Se)
Brom (Br)	79 -> 79	Oksygen-reaksjonsmodus	129 -> 129 Jod (I)
Selen (Se)	80 -> 96	Oksygen-reaksjonsmodus	74 -> 90 Selen (Se)
Rubidium (Rb)	85 -> 85	Oksygen-reaksjonsmodus	115 -> 115 Indium (In)
Jod (I)	127 -> 127	Oksygen-reaksjonsmodus	129 -> 129 Jod (I)
Bly (Pb)	208 -> 208	Oksygen-reaksjonsmodus	172 -> 172 Ytterbium (Yb)

Vedlegg D – Presisjon i metoden

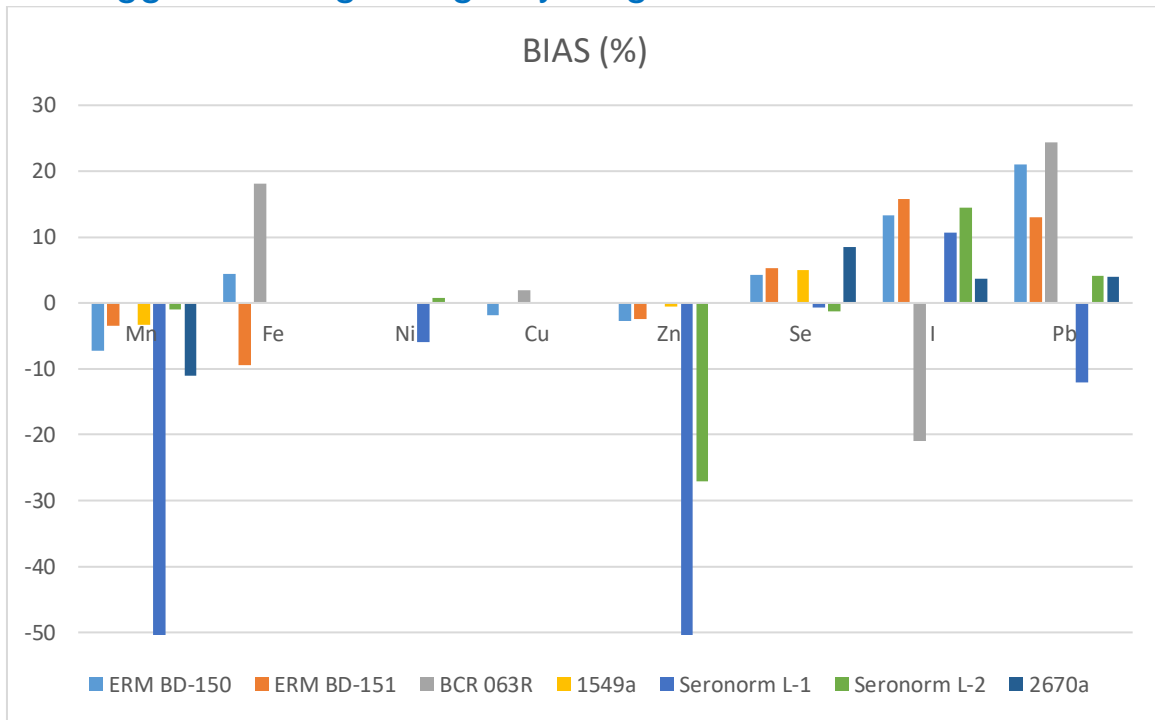
Tabell 22. Presisjonen i metoden bestemt for grunnstoffene mangan, jern, nikkel, kobber, sink, arsen, brom, selen, rubidium, jod og bly ved basisk prøvepreparering i morsmelk. Det ble tatt ut 5 replikate prøver av en tilfeldig valgt morsmelkprøve (n=5).

Morsmelk				
Grunnstoff	Benevning	Måleområde (LOQ – høyeste standard)	Gjennomsnitt ± SD	RSD (%)
Mn	µg/L	0,4 – 20	1,32 ± 0,045	3
Fe	µg/L	7 – 40	198 ± 8,4	4
Ni	µg/L	0,8 - 520	1,7 ± 0,28	17
Cu	µg/L	2 – 120	288 ± 8,4	3
Zn	µg/L	5 – 520	760 ± 35	5
As	µg/L	0,5 – 20	0,51 ± 0,064	13
Br	µg/L	8 – 500	398 ± 13	3
Se	µg/L	0,2 – 20	10,4 ± 0,55	5
Rb	µg/L	0,4 – 220	480 ± 10	2
I	µg/L	0,5 – 50	198 ± 8,4	4
Pb	µg/L	0,2 – 220	0,42 ± 0,097	23

Tabell 23. Presisjonen i metoden bestemt for grunnstoffene svovel, klor, mangan, jern, nikkel, kobber, sink, arsen, brom, selen, rubidium, jod og bly ved basisk prøvepreparering i urin. Det ble tatt ut 5 replikate prøver av en tilfeldig valgt urinprøve (n=5).

Urin				
Grunnstoff	Benevning	Måleområde (LOQ – høyeste standard)	Gjennomsnitt ± SD	RSD (%)
S	mg/L	0,1 – 120	482 ± 16	3
Cl	mg/L	7 – 200	11600 ± 548	5
Mn	µg/L	0,4 – 20	44,0 ± 0,87	2
Fe	µg/L	5 – 120	5,7 ± 0,23	4
Ni	µg/L	1 – 220	2,0 ± 0,21	11
Cu	µg/L	20 – 120	14,9 ± 0,26	2
Zn	µg/L	10 – 220	538 ± 18	3
As	µg/L	0,1 – 120	58 ± 2,2	4
Br	µg/L	20 – 2000	4406 ± 207	5
Se	µg/L	0,3 – 20	14,6 ± 0,55	4
Rb	µg/L	0,1 – 220	2140 ± 55	3
I	µg/L	3 – 200	62 ± 2,3	4
Pb	µg/L	0,8 – 20	1,0 ± 0,31	32

Vedlegg E – Riktighet og nøyaktighet



Figur 5. Prosentvis avvik mellom målt verdi og teoretisk verdi for de ulike grunnstoffene ved analyse av de sertifiserte referansematerialene ERM BD-150 og 151, BCR 063R, NIST 1549a, SeronormTM Trace Elements Urine L-1 og L-2 og 2670a.

Tabell 24. Resultater for de sertifiserte referansematerialene (SRM) ERM BD-150 og 151, BCR 063R, NIST 1549a og 2670a, Seronorm™ Trace Elements Urine L-1 og L-2 etter analyse på ICP-MS etter basisk prøvepreparering. Grønn betyr verdi innenfor sertifisert område, rødt betyr verdi utenfor sertifisert område, gult er verdi tett inntil det sertifiserte område, mens grå betyr at SRM ikke er sertifisert for grunnstoffet.

Grunnstoff	Morsmelk				Trace Elements Urine L-1 (mg/kg)	Urin	
	ERM BD-150 (mg/kg)	ERM BD-151 (mg/kg)	BCR 063R (mg/kg)	1549a (mg/kg)		Trace Elements Urine L-2 (mg/kg)	2670a (mg/L)
Mn	0,31	0,3	0,27	0,19	1,6	11	110
Fe	4,4	58	1,9	1,7	33	26	62
Ni	0,022	0,0099	0,024	<0.007	1,6	41	100
Cu	1,1	5	0,59	0,38	32	25	100
Zn	46	46	49	34	970	1700	390
As	<0.005	0,0057	<0.006	<0.005	83	180	220
Br	12	12	23	6,8	1546	1446	3046
Se	0,18	0,18	0,14	0,23	14	71	210
Rb	18	18	19	8,2	1000	1000	300
I	1,5	1,5	0,98	3,4	75	260	85
Pb	0,015	0,18	0,014	<0.002	<0,8	87	240
Grunnstoff	ERM BD-150 (g/kg)	ERM BD-151 (g/kg)	BCR 063R (g/kg)	1549a (g/kg)	Trace Elements Urine L-1 (g/kg)	Trace Elements Urine L-2 (g/kg)	2670a (g/L)
S	-	-	-	-	620	610	210
Cl	-	-	-	-	3800	3800	1500

Vedlegg F – Sertifiserte områder til SRM

Tabell 25. Sertifisert verdi og ekspandert usikkerhet i mg/kg for mangan, jern, kobber, sink, selen, jod og bly for referansematerialene ERM BD-150 og ERM BD-151

Grunnstoff	Sertifisert verdi (mg/kg)	Usikkerhet (mg/kg)	Sertifisert verdi (mg/kg)	Usikkerhet (mg/kg)
	ERM BD-150		ERM BD-151	
Mn	0,289	0,018	0,29	0,03
Fe	4,6	0,5	53	4
Cu	1,08	0,06	5,00	0,23
Zn	44,8	2,0	44,9	2,3
Se	0,188	0,014	0,19	0,04
I	1,73	0,14	1,78	0,17
Pb	0,019	0,004	0,207	0,014

Tabell 26. Sertifisert verdi og ekspandert usikkerhet i mg/kg for mangan, sink, selen, jod og bly for referansematerialene 1549a og 2670a (høyt nivå)

Grunnstoff	Sertifisert verdi (mg/kg)	Usikkerhet (mg/kg)	Sertifisert verdi (µg/L)	Usikkerhet (µg/L)
	1549a		2670a, høyt nivå	
Mn	0,184	0,024	99	12
Zn	33,8	2,3		
Se	0,242	0,026	229,5	8,3
I			88,2	1,1
Pb			249,9	4,3

Tabell 27. Sertifisert verdi og ekspandert usikkerhet i µg/g for jern, kobber, sink og jod, og bly i ng/g, for referansematerialet BCR 063R

Grunnstoff	BCR 063R	
	Sertifisert verdi	Usikkerhet
Fe (µg/g)	2,32	0,23
Cu (µg/g)	0,602	0,019
Zn (µg/g)	49,0	0,6
I (µg/g)	0,81	0,05
Pb (ng/g)	18,5	2,7

Tabell 28. Sertifisert verdi og ekspandert usikkerhet i µg/L for sink, arsen, selen, jod, bly, mangan og nikkel i referansematerialene Seronorm™ Trace Elements Urine L-1 og L-2, frysetørket human urin

	Sertifisert verdi (µg/L) Trace Elemens Urine L-1	Usikkerhet (µg/L) Urine	Sertifisert verdi (µg/L) Trace Elemens Urine L-2	Usikkerhet (µg/L) Urine
Zn	334	67	1338	269
As	79	16	184	37
Se	13,9	2,8	70,1	14,1
I	84	6	304	22
Pb	0,66	0,13	90,7	18,3
Mn	0,73	0,15	10,9	2,2
Ni	1,51	0,30	41,3	8,3

Vedlegg G – Resultater fra testforsøket

Resultatene fra testforsøket tyder på at det er mulig å kvantifisere brom og arsen i morsmelk.

Tabell 29. Deteksjonsgrense, kvantifiseringsgrense samt Resultater for de sertifiserte referansematerialene NCS ZC73013, DORM-3 og DOLT-5 etter analyse på ICP-MS etter basisk prøvepreparering med BENT og TMAH. Grønn betyr verdi innenfor sertifisert område, rødt betyr verdi utenfor sertifisert område, gult er verdi tett inntil det sertifiserte område, mens grå betyr at SRM ikke er sertifisert for grunnstoffet.

	BENT		TMAH	
	As	Br	As	Br
LOD (µg/L)	0,06	3	0,5	8
LOQ (µg/L)	0,2	9	2	30
NCS ZC73013 Spinat (mg/kg)	0,075	12	0,11	11
DORM-3 (mg/kg)	5,9	-	6,7	-
DOLT-5 (mg/kg)	28	-	31	-

Tabell 30. Presisjon i metoden for arsen og brom etter basisk prøvepreparering med BENT og TMAH.

Grunnstoff	Matriks	Benevning	Gjennomsnitt ± SD	RSD (%)
As	BENT	µg/L	1,7 ± 0,24	23
Br	BENT	µg/L	540 ± 8,4	2
As	TMAH	µg/L	<LOQ	
Br	TMAH	µg/L	550 ± 5	1

Spørreskjema til ammende – jodstatus

ID-nummer i prosjektet

Dagens dato:

Postnummer:

Bakgrunnsinformasjon

1. Din alder? år

2. Barnets alder uker? uker

3. Ammer du barnet nå?

Ja helt Ja delvis Nei

4. Hvor mange barn har du fra før?

Hvis du har barn fra før, når fødte du ditt forrige barn (dato)

dd mm åååå

5. Høyde og vekt: Hvor mye veide du før svangerskap og hvor mye veier du nå?

Før svangerskapet kg

Vekt nå kg

Hvor høy er du? cm

6. Hva er din sivilstand

Samboer
 Gift
 Enslig
 Annet, forklar

7. Hvilket land er du født i?

Norge
 Annet.....

8. Hvor mange år har du bodd i Norge?

år

9. Hvilket språk snakker du mest hjemme?

Norsk

Andre språk, hvilke:.....

10. Hva er din høyeste fullførte utdanninge:

<12 år (ikke fullført videregående)
 12 år videregående/fagbrev
 1-4 års høyskole/universitet etter videregående
 Mer enn 4 år høyskole/universitet

11. Er du yrkesaktiv:

Oppgi prosent stilling:
 Hjemmeværende
 Arbeidsledig
 Student
 Annet, forklar

12. Røykevaner: Røyker du nå?

Nei
 Nei, men jeg røykte før
 Ja, av og til
 Ja, daglig

Hvor mye i gjennomsnitt røyker du per dag? Gi antall:

sigaretter stk

sigarer/cigarillos stk

pipe stk

Snuser du?

Nei Ja,
 Av og til Ja, daglig, gi antall: stk

7. Har du hatt noen av følgende sykdommer knyttet til skjoldbruskkjertelen?

For høyt stoffskifte
 For lavt stoffskifte

Har du hatt brukt medisiner for dette?

Ja Nei

Navn på medisiner:.....

Kunnskap om jod

1. Vet du hva jod er?

- Ja
- Nei
- Har hørt om det, men husker ikke

2. Hva er de viktigste kilder til jod i kosten? (Du kan sette flere kryss).

- Kjøtt
- Melk- og meieriprodukter
- Frukt og grønnsaker
- Fisk og sjømat
- Brød- og kornprodukter
- Vegetabilske oljer
- Salt tilsatt jod
- Kosttilskudd
- Annet:.....
- Vet ikke

3. Jod er viktig for? (Du kan sette flere kryss).

- Normal vekst og utvikling hos barn
- Forebygge blindhet
- Normal fosterutvikling
- Normal styrke i skjelett og tenner
- Opprettholde normalt stoffskifte
- Unngå ryggmargsbrokk
- Vet ikke

4. Jeg tror jeg får nok jod gjennom kosten?

- Enig
- Uenig
- Vet ikke

5. Jeg har fått informasjon om jod fra helsepersonell

- Ja
- Nei
- Husker ikke

6. Hva vet du om lavt og høyt inntak av jod blant gravide/ammende i Norge? (Du kan sette flere kryss):

- For lavt inntak av jod er et problem i Norge i dag
- For høyt inntak av jod er et problem i Norge i dag
- For lavt inntak er ikke et problem i dag, men var vanlig før
- Vet ikke
- Annet

Kosthold og kosttilskudd

1. Tar du et eller flere vitamin og mineraltilskudd (for eksempel vitaminer, mineraler, olje, tare-tilskudd)?

Ja Nei

Hvis Ja, skriv navn på tilskudd(ene) og hvor mange ganger i uken tar du hvert tilskudd:

1. _____: ganger/uke

2. _____: ganger/uke

3. _____: ganger uke

4. _____: ganger/uke

Kan du lese ut fra innholdsdeklarasjonen om noen av disse tilskuddene inneholder jod?

Ja Nei

Hvis ja, skriv hvilket tilskudd det gjelder og hvor mye jod det er per dose:

2. Er du vegetarianer? (dvs spiser ikke kjøtt, fisk og fiskeprodukter):

Ja Nei

3. Er du veganer? (dvs spiser ikke kjøtt, fisk, fiskeprodukter, melkeprodukter og egg):

Ja Nei

4. Har du spist/drukket følgende matvarer de siste 24 timer (fra dette tidspunktet i går og fram til nå):

4.1 Tok du kosttilskudd i går Ja, skriv navn _____ Nei

4.2 Kumelk, yoghurt eller annen kumelk basert drikke (inkludert melk via kaffe latte/cappuccino)?

Ja, oppgi mengde Nei
i glass (2 dl) siste 24 timer:

4.3 Ost (brunost, gulost mm)?

Ja, angi hvor mange skiver: Nei

4.4 Jodert salt?

Ja Nei

4.5 Egg eller produkter med mye egg (e.g. pannekaker, vafler)?

Ja, angi antall egg Nei

4.6 Fisk, fiskeprodukter og annen sjømat (inkludert skalldyr, tare og sushi)?

Nei

Ja, utdyp type: Fet fisk(ørret/laks, sild/makrell)

Mager fisk (hvit fisk):

Tunfisk

Annet _____

Utdyp om det var: Til middag

Pålegg

5. Hvor ofte har du i gjennomsnitt drukket eller spist disse matvarene etter at barnet ble født:

	Sjeldne n/ aldri	Sjeldne re enn ukentli g	1-3 ganger per uke	4-6 ganger per uke	1-2 ganger per dag	3-4 ganger per dag	5 + ganger per dag
1. Brød/knekkebrød, alle typer (2 skiver)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Frokostblandinger med korn/gryn (usøtet musli, havregrøt) (1 porsjon)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Andre frokostblandinger (corn flakes, honni korn, sjokopuff etc) (1 porsjon)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Ris/pasta kokt (porsjon á 150g)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Kumelk, alle typer gitt i antall glass (ca 2 dl) (og inkludert kaffe latte/cappuccino)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Alternativ melk (havre, ris, mandel, soya) ca 2 dl	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Yoghurt/surmelk, all typer gitt i antall beger (ca2dl)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Rød fisk både til middag og som pålegg (laks, makrell, ørret, tunfisk) (Porsjon á ca 100 g)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Hvit fisk både til middag og som pålegg (torsk, sei, hyse, etc) (Porsjon á ca 100 g)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Fiskekaker, fiske- boller, pudding og pinner (1 porsjon)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11. Sushi med fisk/skalldyr (porsjon á ca 10 biter)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Rent kjøtt av okse, gris og lam (steik, koteletter, filet, biff), (Porsjon á ca 100 g)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13. Bearbeidede kjøttprodukter (pølser, hamburger, kjøttkaker o.l.) (Porsjon á ca 100 g)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14. Vilt (elg, hjort, rådyr, villfugl, hare o.l.) (Porsjon á ca 100 g)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. Kylling og kalkun, (Porsjon á ca 100 g)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16. Innmat (lever, nyrer, innmatpudding o.l.), (Porsjon á ca 100 g)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17. Linsler, bønner, kikerter	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18. Olivenolje/rapsoilje (til salat og matlaging)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
19. Ost, alle typer, (2 skiver)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20. Egg hele (kokt, stekt) og i matlaging (pannekaker/vafler)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
21. Kaker, sjokolade, iskrem, smågodt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
22. Saltet snacks (f.eks. potetchips, peanøtter)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
23. Søte drikker (som saft, Cola, Fanta, nektar, juice, smoothie)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
24. Kunstig søte drikker (Cola Zero, Pepsi Zero osv)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25. Vann som drikke	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26. Kaffe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
27. Te	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28. Grønnsaker alle typer (f.eks. gulrot, kål, brokkoli, løk, erter, tomat, salat, agurk)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29. Fukt og bær alle typer (f.eks. epler, pærer, banan, jordbær, druer, appelsin)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30. Poteter (porsjon á 1 middels stor eller 2 små)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31. Nøtter (valnøtter, hasselnøtter, mandler o.l.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Takk for at du deltok i dette forskningsprosjektet om jod!



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

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway