



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

**Masteroppgave 2018 60 stp**

Institutt for husdyr- og akvakulturvitenskap (IHA) ved Fakultet for biovitenskap  
Birger Svihus

## **Næringsinnhold i egg – En teoretisk betraktning av mineralberikning og en pilotstudie på effekten av lys på vitamin D**

Nutritional content of eggs – A theoretical consideration of mineral enrichment and a pilot study on the effect of light on vitamin D

**Maiken Caroline Løvkvam-Køster**

Matvitenskap – Mat, ernæring og helse  
Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap

## Forord

Det var mitt første fag med Birger Svihus på NMBU, forebyggende kvantitativ ernæring, som fikk meg til å tenke over hva jeg egentlig ønsket å fordype meg inn i. En samtale førte til møter med Nortura angående forskningsarbeid på egg. Jeg begynte å lese meg opp på næringsinnholdet i egg og hvordan man kan manipulere bestemte næringsstoffer for å oppnå et høyere innhold. Jeg fant ut av at det er et komplekst område og måtte avgrense meg. Temaet engasjerte meg, så jeg fortsatte å studere vitenskapelige artikler frem til oppstart september 2017. Fordypning i litteraturen fortsatte da jeg ble gravid, og laboratoriearbeidet ble gjennomført av Elin Follaug Johnsen. Engasjement og pågangsmot har vært med meg hele veien underveis i oppgaven. Et svært spennende tema og gode veiledere har gjort mastertiden til en lærerik periode.

Jeg vil rette en stor takk til mine veiledere, Birger Svihus og Atle Løvland, som har vist stort engasjement om mat, ernæring og helse gjennom masterveiledning. Spesielt takk til hovedveilederen min Birger Svihus for en meget god veiledning fra start til slutt. Utover det har han gitt meg en brennende lidenskap for temaet og vist meg et fagfelt jeg har en stor interesse for. Likeledes ønsker jeg å gi et spesielt takk til Atle Løvland som hadde troen på meg og ønsket å gjennomføre pilotforsøket. Takk til Nortura, deres ansatte, og Moer Gård med Ole Egge i spissen, som gjorde forsøket mulig med økonomisk bistand og fasiliteter.

I tillegg vil jeg takke Elin Follaug Johansen for svært god forståelse og veiledning på laboratoriet, og muligheten hun ga meg til å være delaktig i arbeidet. Til slutt ønsker jeg å takke familien min for en god dose prat om egg og støtte gjennom arbeidet.

Masterarbeidet har gitt meg en bratt læringskurve innenfor faget og evne til kritisk tenkning, samt et innblikk i matindustrien og forskning. Jeg har funnet et tema jeg brenner for og som jeg ønsker å fortsette og arbeide med!

Ås, april 2018

---

Maiken Caroline Løvkvam-Køster

## Sammendrag

Næringsstoffene jod, selen, jern og vitamin D kan være utfordrende å innta nok av i den norske befolkningen. Disse næringsstoffene finnes i betydelige mengder i egg, og det har derfor blitt studert om man kan manipulere innholdet. For å øke innholdet kan næringsstoffene tilsettes i fôret til høns. Ved jodtilsetning økes jodinnholdet ytterligere med kaliumjodid (KI) enn kaliumjodat (KIO<sub>3</sub>), mens ved selenberikning øker selenmetionin (SeMet) seleninnholdet mer enn selenat. Ved jerntilskudd derimot kan andre tilstedeværende næringsstoffer interagere med jern og påvirke jerninnholdet i egg. Vitamin D kan tilsettes fôret som 25(OH)D<sub>3</sub> eller vitamin D<sub>3</sub>, men vitamin D innholdet i egg kan også økes ved å utsette hønene for UVB lys. Dermed syntetiserer hønene vitamin D<sub>3</sub> og vitaminet overføres til egget. Manipulering av høns med UVB lys ble derfor gjennomført i en eksperimentell pilotstudie.

I pilotstudien ble høns eksponert for UVB lys i totalt 60 minutter hver dag. UVB lyset ble plassert nederst på burene under fôrtroene. Eggene ble samlet inn i tre omganger; 1) baseline i oktober, og etter UVB eksponering i 2) november og 3) januar. Studien viste >3 ganger økning av vitamin D<sub>3</sub> etter UVB eksponeringen. Det ble ikke sett ytterligere økning av vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg etter 4 uker.

Resultatene demonstrerte at UVB lys kan øke vitamin D<sub>3</sub> innholdet betydelig i egg. Denne pilotstudien er et godt utgangspunkt for fremtidige vitenskapelige studier, for å undersøke hvilken betydning manipulering av vitamin D i egg kan ha på vitamin D statusen i den norske befolkningen.

## Abstract

Intake of iodine, selenium, iron and vitamin D can be challenging in the Norwegian population. These nutrients are found in significant quantities in eggs, and therefore it has been studied if the content can be manipulated. The content can be increased by enrichment of the hens feed. Iodine content in egg is increased better by potassium iodide (KI) than potassium iodate (KIO<sub>3</sub>), while selenium methionine (SeMet) is better than selenate to increase the selenium content in egg. Enrichment of iron is dependent of other interaction compounds that can affect the iron content in egg. Vitamin D can be enriched in egg by adding 25(OH)D<sub>3</sub> or vitamin D<sub>3</sub> to the feed, or by UVB exposure of hens. The hens can thus synthesize vitamin D<sub>3</sub> and the vitamin can be transferred into the egg. Therefore, an experimental pilot study was conducted.

In the pilot study the hens were exposed to UVB light in total 60 minutes each day. The UVB light was placed at the bottom of the cages under the feed rows. The eggs were collected in three rounds; 1) baseline in October, and after UVB exposure in 2) November and 3) January. The study showed more than 3-fold increase of vitamin D<sub>3</sub> after UVB exposure. There were no further increase in vitamin D<sub>3</sub> content in eggs after 4 weeks.

The results demonstrated that UVB light can increase the vitamin D<sub>3</sub> content in eggs. This pilot study is a good starting point of future scientific studies, to investigate the importance of manipulation of vitamin D in eggs on vitamin D status in the Norwegian population.

## Forkortelser og ordforklaringer

|                    |  |
|--------------------|--|
| ADI                | Akseptabelt daglig inntak, hvor mye en person gjennomsnittlig kan innta daglig over lang tid uten bivirkninger.              |
| ATP                | Adenosin triphosphate  |
| CaSR               | Calcium-sensing reseptor   |
| DMT1               | Divalent metalltransportør 1   |
| HDL                | High density lipoprotein   |
| HPLC               | High performance liquid chromatography   |
| «Høyt innhold av»  | >30% av referanseverdi   |
| IE                 | Internasjonale enheter, 40IE = 1µg vitamin D <sub>3</sub> /25(OH)D <sub>3</sub>  |
| Interferens        | En forbindelse man ikke har blitt kvitt i løpet av prøveoppbeidelsen, og som forstyrrer de ønskede toppene i kromatogrammet. |
| «Kilde til»        | >15% av referanseverdi   |
| Konfidensintervall | Et statistisk mål der en øvre og nedre grense blir bestemt.  |
| LDL                | Low density lipoprotein  |

|                      |   |
|----------------------|---|
| MED                  | Minimal erytmisk dose; hvor mye UV lys som må til for å få en merkbar rødligheit i huden.   |
| PABA                 | Para-aminobenzo syre  |
| PTH                  | Parathyreoideahormon  |
| Referanseverdi       | 5 $\mu$ /100g for vitamin D   |
| ROS                  | Reaktive oksygenforbindelser  |
| RXR                  | Retinoid X reseptor   |
| SeMet                | Selenmetionin   |
| Semi-preparativ HPLC | «Semi» fordi kolonnen er mindre enn vanlig ved denne typen opprensing, og «preparativ» fordi den brukes for å preparere prøven.                             |
| Standardavvik        | Et mål på spredning og gir verdiens gjennomsnittlige avstand fra gjennomsnittet. Ett, to og tre standardavvik: 68,2, 95,4 og 99,8% er innenfor intervallet. |
| Thyreoidea           | Formelen for standardavviket er: $\sigma = \sqrt{V}$ .<br>Skjoldbruskkjertel  |
| TSH                  | Thyreoideastimulerende hormon   |
| UV lys               | Ultrafiolettlys inndelt UVA (315-400nm), UVB (280-315nm) og UVC (200-280nm)   |

|   |   |
|---|---|
| Vitamin D vinter  | Den tiden av året der solen står for lavt på himmelen til å gi tilstrekkelig UVB lys for vitamin D syntetisering. |
| Vitamin D <sub>2</sub>  | Ergokalsiferol  |
| Vitamin D <sub>3</sub>  | Kolekalsiferol  |
| VDBP  | Vitamin D-bindende protein  |
| VDR   | Vitamin D reseptor  |
| VLDL  | Very low density lipoprotein  |
| WHO   | World Health Organization   |
| 1-alfa-hydroksylase   | Enzym som omdanner 25(OH)D <sub>3</sub> til 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>                                  |
| 1,25-dihydroksyvitamin D <sub>3</sub> (1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> ) | Kalsitriol  |
| 25-hydroksylase D <sub>3</sub>  | Enzym som omdanner vitamin D <sub>3</sub> til 25(OH)D <sub>3</sub>  |
| 25-hydroksyvitamin D <sub>3</sub> (25(OH)D <sub>3</sub> )                     | Kalsidiol   |
| 7-DHC   | 7-dehydrokolesterol   |

# Innholdsfortegnelse

|   |           |
|---|-----------|
| <b>FORORD</b> .....                                   | <b>1</b>  |
| <b>SAMMENDRAG</b> .....                               | <b>2</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....                                 | <b>3</b>  |
| <b>FORKORTELSER OG ORDFORKLARINGER</b> .....          | <b>4</b>  |
| <b>1. BAKGRUNN</b> .....                              | <b>9</b>  |
| 1.1. EGGET.....                                       | 10        |
| 1.1.1. Eggets anatomi.....                            | 10        |
| 1.1.2. Hvordan dannes egget?.....                     | 11        |
| 1.1.3. Hvordan dannes eggeplommen?.....               | 12        |
| 1.1.4. Kolesterolinnhold i egg.....                   | 13        |
| 1.1.5. Inntak av egg.....                             | 13        |
| 1.2. MANGEL PÅ JOD, SELEN, JERN OG VITAMIN D.....     | 15        |
| 1.3. MÅLET MED OPPGAVEN.....                          | 16        |
| <b>2. JOD</b> .....                                   | <b>17</b> |
| 2.1. JOD I EGG.....                                   | 18        |
| <b>3. SELEN</b> .....                                 | <b>20</b> |
| 3.1. SELEN I EGG.....                                 | 21        |
| <b>4. JERN</b> .....                                  | <b>23</b> |
| 4.1. JERN I EGG.....                                  | 25        |
| <b>5. VITAMIN D</b> .....                             | <b>27</b> |
| 5.1. FUNKSJON.....                                    | 27        |
| 5.2. METABOLISME.....                                 | 29        |
| 5.3. MANGEL.....                                      | 31        |
| 5.3.1. Utsatte grupper i Norge.....                   | 32        |
| 5.4. KILDER.....                                      | 33        |
| 5.4.1. Sollys som vitamin D kilde i befolkningen..... | 34        |
| 5.5. ANBEFALING.....                                  | 36        |
| 5.6. INNTAK I NORGE.....                              | 36        |
| 5.7. SAMMENLIKNING AV VITAMIN D INNTAK I EUROPA.....  | 38        |
| 5.8. TOKSISITET.....                                  | 38        |
| 5.9. VITAMIN D I EGG.....                             | 39        |
| <b>6. MANIPULERING AV VITAMIN D</b> .....             | <b>40</b> |
| 6.1. TILSETNING AV VITAMIN D I FØR.....               | 40        |



|                |   |           |
|----------------|---|-----------|
| 6.2.           | UVB EKSPONERING AV HØNS FOR VITAMIN D SYNTETISERING .....                                       | 41        |
| 6.2.1.         | <i>Eksponeringstid og dosering av UVB lys</i> .....   | 41        |
| 6.3.           | MARKEDSFØRING AV VITAMIN D MANIPULERTE EGG.....   | 42        |
| <b>7.</b>      | <b>EKSPERIMENTELT PILOTARBEID</b> .....   | <b>44</b> |
| 7.1.           | VALG AV UVB LYS.....  | 44        |
| 7.2.           | INNSAMLING AV EGG OG PRØVEFORBEREDELSE.....   | 45        |
| 7.3.           | ANALYSERING AV VITAMIN D <sub>3</sub> VED BRUK AV HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY.....   | 46        |
| 7.4.           | UTBYTTE.....  | 47        |
| 7.5.           | KROMATOGRAM AV VITAMIN D <sub>3</sub> .....   | 47        |
| 7.6.           | STANDARDKURVE.....  | 48        |
| 7.7.           | STATISTIKK .....  | 50        |
| <b>8.</b>      | <b>RESULTAT</b> .....   | <b>51</b> |
| 8.1.           | EFFEKT AV UVB LYS OVER TID .....  | 51        |
| 8.2.           | VARIASJON AV TID.....   | 52        |
| 8.2.1.         | <i>Variasjonen mellom bur med UVB bestråling</i> .....  | 52        |
| 8.2.2.         | <i>Variasjonen mellom hønene i burene med UVB bestråling</i> .....                              | 53        |
| 8.3.           | STANDARDVARIASJONEN I BUR OG MELLOM BUR .....   | 53        |
| 8.3.1.         | <i>Standardavviket til egg innad i burene</i> .....   | 54        |
| 8.3.2.         | <i>Standardavviket mellom burene</i> .....  | 54        |
| 8.3.3.         | <i>Konfidensintervall og hvor mange egg som var innenfor ett, to og tre standardavvik</i> ..... | 55        |
| 8.4.           | FORSKJELLEN MELLOM LAVESTE OG HØYESTE VITAMIN D <sub>3</sub> INNHOLD I EGG I PERIODENE .....    | 55        |
| <b>9.</b>      | <b>DISKUSJON</b> .....  | <b>57</b> |
| <b>10.</b>     | <b>KONKLUSJON</b> .....   | <b>62</b> |
| <b>11.</b>     | <b>REFERANSER</b> .....   | <b>63</b> |
| <b>VEDLEGG</b> | .....   | <b>73</b> |
|                | VEDLEGG 1: STANDARDISERT METODE FOR Å SKILLE EGGEPLOMME FRA EGGEHVITE .....                     | 73        |
|                | VEDLEGG 2: PROSEDYRE – ANALYSERING AV VITAMIN D <sub>3</sub> .....                              | 75        |
|                | VEDLEGG 3: VITAMIN D PROSEDYRE – STEG FOR STEG.....   | 77        |

# 1. Bakgrunn

Mat er essensielt for mennesket. Hvilke matvarer som velges handler mye om kultur og tradisjoner. Det å spise mat er en sosial del av hverdagen, enten om det er på skolen, på jobb eller rundt middagsbordet. Mat blir fort en del av hverdagen, noe som følger oss gjennom livet - fra spedbarnsalder og livet ut. Dermed er mat også mye mer enn at det er en nødvendighet for kroppen. Matens primærfunksjon er likevel at den er viktig som bidragsyter til næringsstoff, inkludert energi. Energibalanse, det vil si når energiinntaket er lik energiforbruket, er fundamentalt. Dette fordi energioverskudd kan sees som en utfordring i samfunnet, både nasjonalt og globalt. Et økende overvektspenomen sees i den norske befolkningen, og overvekt er forårsaket av energioverskudd. I Norge gikk kostens energiinnhold ned fra 1980 til midten av 1990-årene (Helsedirektoratet, 2017b). I følge matforsyningsstatistikken minsket energiinnholdet ytterligere, mens forbrukerundersøkelser viste økt energiinnhold fra 1996 til 2012. Siden 2012 har kostens energiinnhold vært stabilt i følge matforsyningsstatistikken.

I tillegg til utfordringer tilknyttet energioverskudd, er inntak av noen næringsstoffer lavt for deler av den norske befolkningen (Helsedirektoratet, 2017b). De næringsstoffene som utpekes som en utfordring i norsk befolkning er vitamin D, jern og jod. Dersom energiinntaket reduseres på grunn av energioverskudd, kan det være vanskelig å innta nok næringsstoffer. Det vil si at lavere mengder og mer næringsrik mat er vesentlig for å oppnå tilstrekkelig inntak med næringsstoffer.

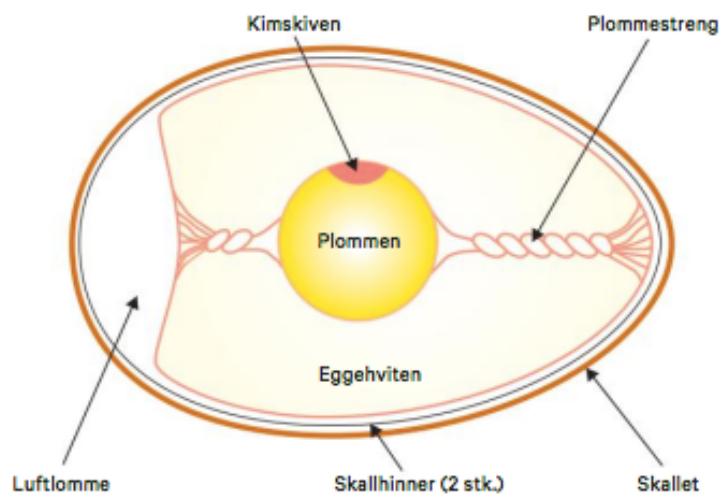
Av den grunn vil fokus i denne oppgaven være næringsstoffer, og ikke energibalanse. Å innta næringsrike matvarer kan bidra til at befolkningen oppnår ønsket næringsstoffinntak. Et eksempel på en næringsrik matvare er egg. Hvordan egg kan bidra til å øke næringsstoffinntaket av de utfordrende næringsstoffene, vil bli diskutert videre i oppgaven.

## 1.1. Egget

Høns blir kjønnsmodne fra 18-24 uker gamle og har egglosning hver 24.-28. time. Eggets størrelse påvirkes av størrelsen til hønen og hanen, samt at eggevekten økes med hønens økende alder (Nys et al., 2011). Eggevekten er 50-70g, hvorav eggeplommen er 25-35% av egget. Oppgaven vil gå kort inn på egget og hvordan egg dannes.

### 1.1.1. Eggets anatomi

Sentralt i egget ligger eggeplommen. Den har en sammensetning på 33% fett, 17% protein, 48% vann og 2% mineraler. Sammensetningen er nokså konstant mellom hønene. På eggeplommen kan en hvit masse synes. Det er kjernen til eggcellen og rester av eggstokkceller som har fulgt med under egglosningen, også kalt kimskiven. Utenfor eggeplommen ligger eggehviten som består av albumin. Det finnes både et fast lag og et tynnere lag på grunn av ulike protein som er bundet sammen. Fra det faste laget dannes to plommestrenger, som strekker seg fra eggeplommen til ytre del av eggehviten. Plommestrengene holder plommen i sentrum av egget under fosterutvikling. Utenfor finnes to skallhinner som folder seg rundt hele egget, med unntak av i den butte enden. I den butte enden dannes en luftlomme, der hodet til kyllingen er vendt under fosterutviklingen. Ytterst av egget er skallet, som kan bestå av opptil fem lag. Egget er illustrert i figur 1.



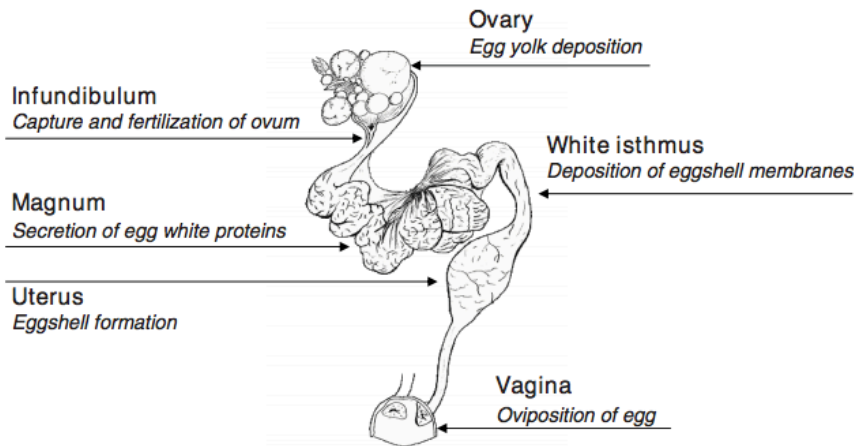
Figur 1: Eggets anatomi hentet fra Bagley (2016).

### 1.1.2. Hvordan dannes egget?

Kjønnsorganet til hønen består av eggstokk, eggledertrakt, magnum, isthmus, skallkjertel og vagina. Som figur 2 viser er eggstokken (ovarium) på toppen med en blanding av små og store eggceller. Under kjønnsmodning vokser eggcellene og samler store mengder med plommestoff. Plommestoffet blir dannet i leveren, og fargen på plommen påvirkes av hønenes fôr. Eggcellene har et tynt eggstokkvev bestående av blodkar rundt de modne eggcellene. Ved eggløsning revner vevet, og dersom blodkar rives får eggeplommen blodflekker.

Eggledertrakten, også kalt infundibulum, fanger og fester eggcellen, slik at befruktningen begynner. Eggledertrakten er ikke i kontakt med eggstokken, og derfor må egget under eggløsning "fanges" for å unngå at det avleires i bukhulen. Befruktningen må foregå øverst i eggledertrakten.

I trakten påleires de første eggehvitestoffene, samt delene som danner plommestoffene. Her oppholdes egget i 15-20 minutter. Videre er magnum den mesteparten av eggehvitestoffet påleires i løpet av tre timers tid. Magnum inneholder kjertler som produserer og frigjør eggehviteoffer. Kjertlene tømmes og avleires over plommen. Eggproduksjonen fortsetter videre i isthmus, der det siste eggehvitestoffet dannes, samt skallehinnen. Egget oppholdes her i 75 minutter. Mot slutten av kjønnsorganene er skallkjertelen (uterus) der eggeskallet dannes. Vann og salter pumpes inn i eggehviten, og hviten svelles. Deretter brukes store mengder kalsium, både fra hønenes fôr og skjelett, til å danne skallet. Høns som legger egg trenger mer kalsium enn de som ikke gjør det, samt at vitamin D er nødvendig for opptak av kalsium. Skalldannelsen tar opp imot 20 timer. Nederst ligger vagina, en utførselsgang, der egget passerer raskt ut ved egglegging.



Figur 2: Kjønnsgorganet til høns ved eggproduksjon (Jonchère et al., 2010).

Under verpeperioden økes eggproduksjonen opp til 6-10 uker, for deretter å reduseres (Nys et al., 2011). Til tross for redusert antall egg endres ikke plommeproduksjonen, og med færre egg blir plommen i hvert egg større. Eggehviten og skallet er konstant.

### 1.1.3. Hvordan dannes eggeplommen?

Eggeplommen syntetiseres i løpet av 14 dager og avleires i flere lag (Nys et al., 2011). I eggeplommen finnes nødvendige komponenter, som triglyserider (TG), fosfolipider, kolesterol, immunoglobulin og vitellogenin. Disse produseres i leveren etter stimulering fra østrogen. Hos høns omdannes vitellogenin, som er forløper-protein, til fosvitin og lipovitellin ved overføring til eggeplommen. Fosvitin og lipovitellin er mesteparten av fosfoproteinene i plommen.

Lipidene finnes i form av very low density lipoprotein (VLDL), hvorav mesteparten er triglyserider, men også kolesterol og fosfolipider. VLDL kataboliseres lite før det overføres fra hønen til eggeplommen. Dermed vil lipidprofilen i eggeplommen bestemmes av hvor mye som transporteres til VLDL og videre til eggeplommen (Nys et al., 2011).

Transportering av forløpere til eggeplommestoffer foregår via blod. I eggstokkene er det åpninger mellom epitelcellene som gjør at partikler som VLDL og vitellogenin kan transporteres gjennom. For å sikre at disse stoffene overføres, transporteres de også ved hjelp av endocytose til eggcellen (Nys et al., 2011). Immunoglobulin derimot transporteres til eggcellen ved hjelp av egne reseptorer i membranen.

#### 1.1.4. Kolesterolinnhold i egg

Kolesterol er opphavet til alle steroider, deriblant kortison, aldosteron og testosteron (Mahan et al., 2012). Kolesterol bidrar blant annet til å danne kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>), inngår som komponent i cellemembraner, og regulerer og produserer hormoner.

Kolesterol transporteres sammen med blant annet TG ved hjelp av lipoproteinene, VLDL, LDL (low density lipoprotein) og HDL (high density lipoprotein). Dyslipidemi, unormale verdier av lipoproteinene, inkluderer blant annet forhøyet nivå av LDL, hyperkolesterolemi og lavt nivå av HDL. Selv om familiære tilstander kan forårsake dyslipidemi, er 80% relatert til livsstil og kosthold (Smith, 2007). En naturlig tilnærming har derfor vært å redusere kolesterolinntaket ved å unngå matvarer med høyt kolesterolinnhold som egg. Nye amerikanske anbefalinger har ingen maksimalgrense på kolesterolinntaket lenger (før: <300mg/dag), og egg anbefales som en god proteinkilde (Health.gov, 2017).

Det spekuleres om kolesterolinnholdet i egg kan påvirke blodlipidene og risikoen for hjerte- og karsykdom. Oversiktsartikkelen fra Rouhani et al, som inkluderte intervensjonsstudier, observerte en økning av totalkolesterol, LDL og HDL ved inntak av egg (5,3, 5,28 og 2,08mg/dl) (Rouhani et al., 2018). Ingen endringer i totalkolesterol/HDL-ratio, LDL-/HDL-ratio og TG ble sett i artikkelen. Geiker et al, som inkluderte både intervensjon- og observasjonsstudier, undersøkte sammenhengen mellom egginntak og risiko for hjerte- og karsykdom (Geiker et al., 2017). Basert på observasjonsstudiene ble økt risiko for utvikling av hjerte- og karsykdom sett ved inntak av  $\geq 5$  egg per uke. I intervensjonsstudiene derimot ble det ikke funnet en endring av blodlipidene med økt inntak av egg.

Det kan se ut til at det usikkert hvordan blodlipidene påvirkes ved inntak av egg. I denne oppgaven har det derfor vært mer relevant å rette fokuset mot næringsinnholdet enn kolesterolnivået i egg, og hvordan egg kan bidra til å øke næringsinntaket i befolkningen.

#### 1.1.5. Inntak av egg

Den norske befolkningen har et jevnt inntak av egg (Helsedirektoratet, 2017b). Forbruket av egg har holdt seg stabilt gjennom en årrekke på 10-11kg årlig per innbygger. Siden 2006 har forbruket økt til 13,1kg per innbygger per år. Inntaket i 2016 omregnet til daglig inntak blir ca. 36g/dag. Disse tallene var basert på matvareforbruk på engrosnivå, og de er gjerne høyere enn de reelle tallene. Landsomfattende kostholdsundersøkelser fra 2010-2011, *Norkost 3*, viste et gjennomsnittlig inntak av egg på 25g/dag (Johansson et al., 2012). Studien var basert

på 24-timers-kostholdsintervju med 1787 deltakere. Sammenliknet med engrosforbruket av egg viste kostholdsundersøkelsen et lavere inntak på >10g/dag. Derfor kan det være rimelig å anta at det er en overestimering av inntaket av egg på engrosnivå, idet engrosforbruket er matvarer befolkningen har til rådighet, ikke det faktiske inntaket.

Inntaket av egg i den norske befolkningen bidrar med en mengde næringsstoffer. Hundre gram egg inneholder vann, protein og fett, samt en liten andel karbohydrater, henholdsvis 76g vann, 13g protein, 10,6g fett og 0,3g karbohydrater. Egg inneholder også 319mg kolesterol. I tillegg til makronæringsstoffene inneholder egg en rekke næringsstoffer, deriblant mikronæringsstoffene vitamin D, jern, jod og selen (tabell 1). Slik tabell 1 viser bidrar egg med en betydelig mengde næringsstoffer i forhold til anbefalingene og til inntaket av næringsstoffene i befolkningen.

*Tabell 1: Innhold av vitamin D, jern, jod og selen i 100g rått egg og næringsstoffenes anbefaling for voksne, samt prosentvist bidrag av egg til inntak av næringsstoffene i befolkningen i følge forbrukerundersøkelser (Helsedirektoratet, 2015; Helsedirektoratet, 2017b; Mattilsynet Helsedirektoratet UiO, 2017; Meltzer et al., 2016).*

|                       | <b>100g egg</b> | <b>Anbefaling</b> | <b>Eggets bidrag til inntak av næringsstoffene (%)*</b> |
|-----------------------|-----------------|-------------------|---|
| <b>Vitamin D (µg)</b> | 2,5             | 10                | 22  |
| <b>Jern (mg)</b>      | 2               | 9-15              | 7   |
| <b>Jod (µg)</b>       | 35              | 150               | 7,1   |
| <b>Selen (µg)</b>     | 21              | 50-60             | 11,7  |

\* Eggets bidrag til inntak av vitamin D og jern er hentet fra *Utviklingen i norsk kosthold 2014*, mens for selen er eggets bidrag beregnet ut ifra gjennomsnittlig seleninntak i følge *Nordic Nutrition Recommendation (NNR)* og inntak av egg i følge *Utviklingen i norsk kosthold 2014*. Hvor mye egg bidrar til inntak av jod i befolkningen er beregnet ut ifra rapporten *Risiko for jodmangel i Norge*.

Egg kan spesielt være gunstig for deler av befolkningen som for eksempel ikke spiser fisk. Generelt har fiskeforbruket i Norge sunket med 7% fra 2003-2016 (Helsedirektoratet, 2017b). Fiskeforbruket var lavest blant de yngste aldersgruppene med et gjennomsnittlig inntak på 24g per dag for 9- og 13-åringene i følge kostholdsundersøkelsen *Ungkost 3* (Hansen et al.,

2016). I *Ungkost 3* fra 2015 deltok totalt 1323 deltakere med 24-timers-kostholdsintervju. Fisk er en god kilde til næringsstoffene vitamin D, jod og selen, som også egg inneholder rikelig av. Kostholdsundersøkelsen viste et gjennomsnittlig inntak av egg på 11 og 12g per dag for 9- og 13-åringene (Hansen et al., 2016). I en slik situasjon kan 9- og 13-åringene øke inntaket av egg for å få i seg rikelig mengde av vitamin D, jod og selen. Egg kan dermed bidra til å øke inntaket av de utfordrende næringsstoffene i den norske befolkningen.

## 1.2. Mangel på jod, selen, jern og vitamin D

I Norge har det blitt påpekt at deler av befolkningen har inadekvat inntak av vitamin D, jern og jod (Helsedirektoratet, 2017b). I tillegg sees et lavt inntak av selen hos enkelte i de nordiske landene (Haug et al., 2007). En forklaring til lavt inntak kan være at det finnes få matvarer med et høyt innhold av de nevnte næringsstoffene. Dermed kan det være en utfordring for deler av befolkningen å innta nok. Det foreligger en anbefaling om inntak for alle essensielle næringsstoffer som ikke syntetiseres av mikrofloraen i tarmkanalen eller i kroppen selv. Anbefalingene er utarbeidet av *Nordic Nutrition Recommendation* (NNR) for å redusere mangel og toksisitet, slik at befolkningen lettere skal vite hvor mye som skal inntas. Med et energioverskudd i samfunnet kan man ikke utelukke at deler av befolkningen kan velge og spise mindre. Da kan næringsstoffinntaket bli en økende utfordring.

Inntak av de nevnte næringsstoffene kan være utfordrende av ulike årsaker. Vitamin D statusen i norsk befolkning kan bli lav som følge av lite sol og dermed lav syntetisering av vitamin D i huden. Samtidig er inntaket av matvarer ikke tilstrekkelig for å dekke vitamin D behovet. Det er lavt innhold av selen i jordsmonnet i Norge, som påvirker seleninnholdet i plantevarer. Norske dyrkede plantevarer ser derfor ut til å inneholde lite selen. I tillegg finnes jod i få matvarer, ofte matvarer som befolkningen ikke spiser mye av. Det kan derfor antas at det er vanskelig for personer med økt behov å innta tilstrekkelige mengder jod. Jern kan også være en utfordring idet innholdet av jern i matvarer har ulik biotilgjengelighet. Disse næringsstoffene, jod, selen, jern og vitamin D, finnes i betydelige mengder i egg. I den forbindelse kan egget ha en viktig rolle for å forbedre næringsstoffinntaket i Norge.



### 1.3. Målet med oppgaven

Målet med oppgaven er å undersøke hvordan egg bidrar til næringsstoffene jod, selen, jern og vitamin D, og å diskutere muligheter for ytterligere berikning av egg med disse næringsstoffene. I denne oppgaven vil mangel på disse næringsstoffene bli diskutert, og eggets mulighet til å dekke behovet. I tillegg har en pilotstudie blitt gjennomført der vitamin D innholdet i egg ble manipulert for å undersøke om vitamin D innholdet kan økes.

## 2. Jod

Jod er nødvendig for dannelsen av trijodotyronin ( $T_3$ ) og tyroksin ( $T_4$ ).  $T_4$  kan omdannes til den biologisk aktive formen  $T_3$  i blodkretsomløpet.  $T_3$  inneholder tre jodatomer, mens  $T_4$  inneholder fire jodatomer. Dette er hormoner i skjoldbruskkjertelen (thyreoidea) som er viktige for optimal vekst og utvikling, spesielt av sentralnervesystemet. Hormonene deltar i flere prosesser i stoffskiftet deriblant å regulere energiomsetningen ved å opprettholde basal metabolsk rate, samt å regulere appetitt, matinntak og kroppsvekt (Mullur et al., 2014).

Jod i mat finnes som jodid, som er jodioner, og absorberes fra hele tynntarmen. Jodid overføres til blodbanen og oksideres til jod for å syntetisere  $T_3$  og  $T_4$ . Nivået av jod i serum er lavt, idet det aller meste tas opp av thyreoidea og akkumuleres.  $T_4$  aktiveres til  $T_3$  ved å spalte av et jodatom ved hjelp av enzymet dejodinase. Mengde  $T_3$  og  $T_4$  i blodet reguleres av thyreoideastimulerende hormon (TSH), slik at nivåene holdes stabile. TSH utskilles fra hypofysen ved påvirkning av  $T_3$  og  $T_4$  i blodet, som igjen påvirker mengde hormoner som utskilles. Hormonene reguleres på denne måten ved hjelp av negativ feedback.

Fritt  $T_3$  og  $T_4$  er sjeldent og finnes som oftest bundet til transportproteinet albumin, tyroksinbindende globulin eller transthyretin. Mesteparten av jod reabsorberes, mens overskudd av jod utskilles via urin. I tillegg utskilles jod gjennom morsmelk som avhenger av mors kosthold (Meltzer et al., 2016).

Én av de vanligste ernæringsmanglene i verden er mangel på jod som forårsaker struma (Nyström et al., 2016). Ved struma øker thyreoidea i størrelse, som er et resultat av lavt serumnivå av  $T_3$  og  $T_4$ . Struma gir redusert energiomsetning og dermed slapphet. Mangelen kan reverseres ved jodtilskudd. Ved mangel hos gravide kan fosteret få redusert utvikling av nervesystemet, deriblant nerveceller og synapser. Dersom mangelen er alvorlig kan fosteret utvikle kretinisme, som er irreversibelt. Her kan det nyfødte barnet oppleve dvergvekst eller få annerledes utseende.

Det kan være en utfordring å oppnå anbefalt inntak grunnet at jod finnes i få matvarer. Melk- og meieriprodukter er hovedkilden i Norge, og representerer mer enn 50 % av befolkningens inntak (Dahl et al., 2004). Mengde jod i melk- og meieriproduktene avhenger av hvor mye som er tilsatt i kraftfôret til kuene. Jodinnholdet i melken er lavere om sommeren enn om vinteren fordi det brukes mindre kraftfôr (Dahl et al., 2003; Haug et al., 2012). I tillegg inneholder egg og saltvannsfisk, spesielt mager fisk for eksempel torsk, sei og hyse, jod. Jodinnholdet i egg avhenger av jodinnholdet i fôret til hønene. Det har blitt gjort noe

jodberikning av matvarer, men mengde jod som er tilsatt er svært lavt. I Norge er det tilsatt jod i noen typer bordsalt. Saltet er beriket med 5µg jod per gram salt (Nyström et al., 2016), som utgjør lite i saltet som anvendes. Samtidig som jodinntaket ønskes å økes, anbefales et lavere saltinntak (Helsedirektoratet, 2017b). I denne sammenhengens kan man derfor tenke at salt ikke er en god kilde til jod i den norske befolkningen.

Anbefalt jodinntak fra 10 års alderen og oppover er 150µg/dag (Helsedirektoratet, 2014). Behovet for jod er 100µg/dag, men for å dekke variasjoner i befolkningen er anbefalingen høyere. Anbefalingen for gravide og ammende er henholdsvis 175µg/dag og 200µg/dag. Årsaken til at anbefalingen er høyere for gravide og ammende er fordi behovet øker når fosteret skal vokse. Det er en øvre grense på 200µg/dag for barn og 600µg/dag for voksne. Den øvre grensen er satt for å unngå toksisitet og utvikling av hypertyreose.

Et forhøyet inntak av jod er sjeldent i Norge, men kan oppstå ved supplementer. Tang og tare inneholder òg høye nivåer av jod (Lunestad, 2016). Et høyt inntak kan skape forhøyet utskillelse av T<sub>3</sub> og T<sub>4</sub>. Dermed kan høyt stoffskifte (hypertyreose) oppstå og thyreoidea øker i størrelse. Symptomer som blant annet slapphet, hjertebank, svetting og vekttap er noen av plagene som kan komme ved hypertyreose.

## 2.1. Jod i egg

Jodinnholdet i egg kan økes ved å tilsette mer jod i fòret til hønene. Dermed kan egget bidra med et høyere jodinntak i befolkningen. Maksimalt totalt innhold av jod i fòret i Norge er 3mg kalsiumjodat (KIO<sub>3</sub>) og kaliumjodid (KI) per kg fòr (European Union, 2018).

Sumaiya et al viste et økt jodinnhold, fra 19 til 117µg jod per 100g eggeplomme, med økende tilsetning av jod i fòret (Sumaiya et al., 2016). I studien ble fòret beriket med 5 til 20mg KIO<sub>3</sub> per kg fòr. Słupczyńska et al viste akkumulering av jod i eggeplommen, fra 31 til 125,6µg jod per 100g eggeplomme, ved å øke tilsetningen fra 1 til 5 mg jod per kg fòr (Słupczyńska et al., 2014). I studien ble både KI og KIO<sub>3</sub> tilsatt. KI akkumulerte bedre i eggeplomme enn KIO<sub>3</sub>, henholdsvis 81,6 og 69,8µg jod per 100g eggeplomme. En annen studie viste >3 ganger høyere jodinnhold i eggeplommen ved tilsetning av 4mg KI per kg fòr (fra 48,21 til 159,44µg jod/100g eggeplomme) (Charoensiriwatana et al., 2010).

Charoensiriwatana et al viste også at inntak av jodberikede egg forbedret jodstatusen til deltakerne. Jodstatus vurderes basert på jodutskillelse i urin (µg/dl) der mild jodmangel er 5,0-9,9µg/dl, tilstrekkelig jodstatus er 10,0-19,9µg/dl og over behovet er 20,0-29,9µg/dl

(WHO, 2007). I utgangspunktet hadde deltakerne mild jodmangel (6,87-7,11µg/dl), men fikk et tilstrekkelig jodinntak etter eksperimentet (13,09-20,76µg/dl). Å berike egg med jod kan dermed bidra til å forbedre jodstatusen i befolkningen, også i Norge. Dersom man antar at det tilsettes 1mg jod per kg fôr i Norge kan jodinnholdet økes betraktelig. I dag bidrar egg med 7,1% av jodinntaket i den norske befolkningen (tabell 1). Med en tredobling av jodinnholdet i egg kan det tenkes at egg kan bidra med opptil 21,3% av jodinntaket. Man vil muligens se en lavere jodøkning enn det Charoensiriwatana et al viste, idet det kan tilsettes 3mg og ikke 4mg jod per kg fôr i Norge. Det vil trolig gi et betydelig høyere jodinnhold i egg, og utsatte grupper som gravide og ammende kan enklere få dekket behovet.

### 3. Selen

Selen er ofte bundet til svovelholdige aminosyrer, og danner blant annet selenocystein og – methionin. Selen opptrer hovedsakelig i disse formene i kroppen, og er nødvendig for å styrke antioksidantforsvaret (Surai & Fisinin, 2014). Antioksidantforsvaret beskytter kroppen mot skade av reaktive oksygenforbindelser (ROS). ROS er dannet fra oksygen og har stor evne til å reagere med andre stoffer, og kan derfor være potensielt skadelig. Selen inngår i blant annet glutathion peroksidase som er et viktig enzym i det endogene antioksidantforsvaret. Som antioksidant kan også selen hindre harskning av fettsyrer, og bidra til at vitamin C og E fungerer optimalt. Selen og vitamin E utfyller hverandre i cellemembraner og beskytter cellemembranene mot skade. I tillegg er det hypoteser om at selen forebygger muskelgradering, deltar i utvikling av embryo og i jodmetabolismen (Rajasekaran & Kalaivani, 2013).

Absorpsjon av selen er ikke avhengig av status eller inntak, men påvirkes av om selen er uorganisk eller organisk, henholdsvis selenat eller selenmetionin (SeMet) (Surai & Fisinin, 2014). SeMet absorberes ved hjelp av aktiv transport, mens selenat absorberes ved passiv transport (Bennett & Cheng, 2010). Det finnes hypoteser om at selenat må omdannes for å syntetisere svovelholdige aminosyrer, mens SeMet kan benyttes direkte i biosyntese av selenoproteiner, men mekanismen er ikke helt kjent (Schrauzer & Surai, 2009). Videre transporteres selen i blodet bundet som selenoprotein til albumin eller VLDL. Noe selen lagres i thyreoidea, lever og nyre, mens overskudd av selen skilles ut via urin og feces.

Selenmangel er forbundet med to sykdommer; Keshan og Kaschin-Beck sykdom (Fisinin et al., 2009). Sykdommene har blitt rapportert i Kina og andre land som har et spesielt lavt seleninnhold i jordsmonnet og matkjeden. Keshan sykdom er en hjertesykdom, mens Kaschin-Beck sykdom fører til slitasjegikt med deformerte ben. Disse sykdommene er i dag sjeldne. Ved en mildere form for selenmangel reduseres immunforsvaret, samt at det er assosiert med økt risiko for hjerte- og karsykdommer (Combs, 2001). Infertilitet og artrose er også en assosiasjon ved mangel.

Selenholdige matvarer er korn, sjømat, kjøtt, melk og egg. I animalske produkter er seleninnholdet avhengig av fôret til dyrene, ikke minst hvor mye selen som er tilsatt. I plantevarene er seleninnholdet avhengig av mengde i jordsmonnet, som er lavt i Norge. Omtrent halvparten av kornet i Norge importeres, deriblant deler av hveten og alt ris og mais. Noen land har generelt et høyt seleninnhold i jordsmonnet, deriblant i USA og Finland

(Euroola, 2005; Haug et al., 2007). Kornsortene her ifra vil dermed ha et høyere innhold enn korn dyrket nasjonalt.

Selenbehovet er  $>30\mu\text{g}/\text{dag}$ , mens anbefalingen er  $40\mu\text{g}/\text{dag}$  for kvinner og  $50\mu\text{g}/\text{dag}$  for menn. Selen har et smalt trygt vindu, idet akseptabelt daglig inntak (ADI) er  $300\mu\text{g}/\text{dag}$  for voksne og fra  $90\mu\text{g}/\text{dag}$  for barn. ADI vil si hvor mye en person gjennomsnittlig kan innta daglig over lang tid uten bivirkninger. ADI er ofte 100 ganger så mye som behovet, mens for selen er ADI mindre enn ti ganger så mye som behovet for voksne.

Inntak på et toksisk nivå av selen sees likevel sjeldent. Ved et adekvat inntak som suppleres med kosttilskudd kan forgiftning oppstå, kalt selenose. Selenose kan gi symptomer som kvalme, tap av hår og negler og utmattelse.

### 3.1. Selen i egg

Egg kan ha stor betydning for seleninntaket i Norge, og ved å selenberike fôret til høns kan egg bidra med et høyere seleninnhold. Det har blitt gjort i flere land, deriblant i Russland, Storbritannia og Tyrkia (Fisinin et al., 2009).

En randomisert kontrollert studie viste at selenberikning av egg kan øke seleninntaket til befolkningen, men det ble ikke sett en endring av selenkonsentrasjon i serum hos deltakerne (Surai et al., 2000). I studien ble egg beriket med organisk selen *ad libitum*, altså så mye de ønsket. Det kan tenkes at deltakerne skilte ut selen via urin på grunn av overskudd fra kostholdet. I studien økte seleninnholdet i berikede egg med  $>7$  ganger, fra gjennomsnittlig  $4,22$  til  $32,44\mu\text{g}$  selen per egg. I Surai et al var seleninnholdet i utgangspunktet lavt sammenliknet med tall fra Matvaretabellen (tabell 1). Dersom man hadde tatt utgangspunkt i seleninnholdet i egg fra Matvaretabellen, ville trolig selenberikning ikke kunne øke seleninnholdet tilsvarende som Surai et al. Dette fordi selen ofte akkumuleres bedre i egg ved et lavt innhold sammenliknet med et høyt innhold i fôret ved baseline (Surai & Fisinin, 2014). Likevel viste resultatet av tilsetningen i Surai et al et høyere seleninnhold enn et gjennomsnittlig egg i Matvaretabellen ( $31,44\mu\text{g}$  per egg versus  $12,6\mu\text{g}$  per egg) (Surai et al., 2000).

Det er forskjell mellom typer selen som benyttes for å berike egg; uorganisk selenat eller organisk SeMet. I Norge kan det tilsettes  $0,5\text{mg}$  selen per kg fôr som natriumselenat (Lovdata, 2002) eller SeMet (European Union, 2018). Čobanová et al viste at høyest seleninnhold i egg ble funnet ved fôrberikning ( $0,4\text{mg}$  selen/kg fôr) av SeMet sammenliknet

med selenat (22,7µg selen versus 14,4µg selen) (Čobanová et al., 2011). Den største økningen av seleninnholdet ble funnet i eggehviten. Surai & Fisinin konkluderte med at selenberikning økte seleninnholdet ytterligere i eggehviten enn i plommen (Surai & Fisinin, 2014). I artikkelen ble det sett på studier som viste at 53-71% av SeMet ble funnet i hviten, mens 12-19% av SeMet i plommen. Ved tilsetning av selen i fôret øker derfor seleninnholdet i egget fordelt på både eggeplommen og -hviten. For å oppnå størst økning kan muligens SeMet være et bedre valg enn selenat idet SeMet overføres fra fôret til egget bedre. Det antas at det tilsettes 0,3mg selen per kg fôr i Norge. Basert på de nevnte studiene, kan trolig økning av selen i fôret til maksimalt nivå øke seleninnholdet i egg betydelig.

## 4. Jern

Jern er nødvendig for oksygentransport og energiproduksjon. I energiproduksjonen er jern essensielt under elektrontransportkjeden, der jern deltar i cytokromene for videre syntese av adenosin triphosphate (ATP). Cytokromene er membranproteiner i endoplasmatisk retikulum som virker som elektrontransportører i elektrontransportkjeden. Jern er bundet til hemoglobin, et globulært protein, som binder oksygen i lungene og frakter oksygen i blodet. Hvert hemoglobin inneholder fire hemgrupper, hvorav hver gruppe kan binde ett oksygenatom. I tillegg er jern en del av myoglobin i muskelcellene, som inneholder en hemgruppe og kan binde ett oksygenatom. Myoglobinet er nødvendig for oksygenlagring.

Jern finnes som to former; toverdig ( $\text{Fe}^{2+}$ ) hemjern og treverdig ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ikke-hemjern. Mineralet veksler mellom disse formene ved reduksjon og oksidasjon, kalt redoksreaksjoner. På denne måten er jern svært reaktiv i sin naturlige form.  $\text{Fe}^{2+}$  er mest reaktivt idet det kan katalysere dannelsen av ROS (Borch-Iohnsen et al., 2009). Når  $\text{Fe}^{2+}$  bindes til hemgrupper, reduseres dens evne til å gjøre skade.  $\text{Fe}^{2+}$  og  $\text{Fe}^{3+}$  finnes lite i fri form, men er bundet til proteiner.

Hovedsakelig skjer absorpsjonen av jern i enterocytene i duodenum, men det kan være opptak langs hele tynntarmen (Borch-Iohnsen et al., 2009). Før absorpsjon er ikke-hemjern avhengig av å bli redusert til  $\text{Fe}^{2+}$  av ferrireduktase. Det foregår på mikrovilliene i tynntarmen. Deretter transporteres  $\text{Fe}^{2+}$  over enterocytene ved hjelp av divalent metalltransportør 1 (DMT1). DMT1 transporterer også andre næringsstoffer som kobber og sink, og dermed er det konkurranse for opptak.

Før absorpsjon av hemjern, spaltes globin fra molekylet i ventrikkelen. Jern bundet til hememolekylet absorberes videre i duodenum av heme carrier protein 1. I enterocytene spaltes  $\text{Fe}^{2+}$  og hememolekylet ved hjelp av hemoksygenase. Videre transporteres jernet likt.

$\text{Fe}^{2+}$  blir transportert over til blodbanen ved hjelp av ferroportin. Deretter oksideres  $\text{Fe}^{2+}$  til  $\text{Fe}^{3+}$ , og bindes til jerntransportøren transferrin. Jern tas videre opp av transferrinreseptor 1 på andre celler og frigjøres intracellulært. Overskudd av jern lagres i ferritin, som finnes i store deler i leveren. Normalt er det lite tap av jern fordi kroppen lagrer jernet, men kvinner taper noe jern under menstruasjon.

Jernnivået i kroppen reguleres ved hjelp av hepcidin og sørger for at mengde jern som absorberes og lagres holdes på et stabilt nivå. Hepcidin bindes til ferroportin og kan dermed regulere absorpsjon.



Jernopptaket påvirkes av måltidets sammensetning, der ikke-hemjern påvirkes ytterligere enn hemjern. Hunt et al viste at 38% av ikke-hemjern ble absorbert når askorbinsyre var tilstede, mens 27% uten askorbinsyre (Hunt et al., 1990). I tillegg nøytraliserer askorbinsyre effekten av fytinsyre, og kan dermed øke opptaket av ikke-hemjern (Hallberg et al., 1989). Cook & Reddy viste at askorbinsyre øker jernabsorpsjonen mer under ett måltid enn i et sammensatt kosthold (Cook & Reddy, 2001). Det er uklart hvorfor dette er tilfelle, men det kan tenkes at mageinnholdet fra forrige måltid kan dempe faktorene som påvirker jernabsorpsjonen.

Kjøttfaktoren kan også fremme absorpsjon av ikke-hemjern. Mekanismen for kjøttfaktoren er ikke helt kjent, men mest sannsynlig er kjøttfaktoren et peptid som dannes under fordøyelse av kjøtt, fisk og egg (Hurrell et al., 2006). Kjøttfaktoren kan øke jernabsorpsjonen av for eksempel ikke-hemjern fra brød når kjøtt brukes som pålegg. I kylling og biff kan kjøttfaktoren øke jernabsorpsjonen med 100% og 180% (Hurrell et al., 2006).

På en annen side kan antinæringsstoffer redusere jernabsorpsjonen, eksempelvis kalsium. Benkhedda et al viste at kalsium reduserte absorpsjonen av ikke-hemjern fra ett enkelt måltid med 53% (Benkhedda et al., 2010). Med økende inntak av kalsium kan jernabsorpsjonen reduseres, som i følge Hallberg et al kan skje ved at fytinsyre degraderes og jernabsorpsjonen direkte hemmes (Hallberg et al., 1991).

Denne gjennomgangen viser at absorpsjon av jern, spesielt ikke-hemjern, kan både økes og reduseres. Det er derfor nødvendig å undersøke måltidssammensetning for å få et inntrykk av jerninntaket.

Når kroppens jernlagre reduseres kan jernmangel oppstå. Et lavt jerninntak, økt jerntap, økt behov eller ulike tarmsykdommer kan være årsaker til jernmangel. Flere grupper i Norge kan være utsatt, deriblant ungdom, gravide og eldre. Forbrukerundersøkelser viste at jerninntaket er 9mg/dag, som ikke tilfredsstillende anbefalingen hos kvinner i fruktbar alder (Helsedirektoratet, 2016). Når jernlagrene er for små til at kroppen klarer å produsere nok hemoglobin kan jernmangelen utvikles til anemi. Ved anemi reduseres immunforsvaret og personene kan få nedsatt fysisk yteevne.

Jern finnes i flere matvarer, både ikke-hemjern og hemjern. Ikke-hemjern finnes hovedsakelig i vegetabiliske matvarer som for eksempel korn, kornprodukter, frukt og grønnsaker. Hemjern derimot finnes i animalske matvarer, hvorav rødt kjøtt og innmat er rike kilder. I tillegg inneholder fisk og egg hemjern. Animalske matvarer er bedre kilder til jern enn vegetabiliske matvarer på grunn av at ikke-hemjern må reduseres fra treverdig til toverdig jern før absorpsjon og kjøttfaktor (Hurrell & Egli, 2010), slik beskrevet tidligere.

Jernbehovet for voksne er 7-8mg/dag, men for at inntaket skal dekke behovet for 95% av befolkningen er anbefalingen høyere. Anbefalingen for menn er 9mg/dag og 15mg/dag for kvinner. Kvinner har høyere behov på grunn av jerntap under menstruasjon. Likeledes er anbefalingen forhøyet for kvinner under graviditet og amming til 15mg/dag for å dekke barnets jernbehov. Etter menopausen reduseres anbefalingen til 9 mg/dag. Hos jenter opp til 13år og gutter til 17år er anbefalingen 11mg/dag. Anbefalingen hos spedbarn og barn ligger på 8-9mg/dag. Morsmelken inneholder tilstrekkelige mengder jern, idet jernet har høy biotilgjengelighet (Institute of Medicine (US) Panel on Macronutrients, 2001).

Et høyt jerninntak kan hos enkelte føre til hemokromatose, men det er sjeldent. Hemokromatose kan være arvelig betinget, men kan også være sekundært til andre sykdommer som for eksempel kronisk hepatitt C og metabolsk syndrom (Hagve et al., 2009). Hemokromatose kjennetegnes ved økt jernabsorpsjon fra tarmen over tid. Jernoverskuddet blir avleiret som fritt jern i indre organer, og kan øke mengde reaktive jernforbindelser i kroppen. Det kan føre til dannelse av ROS. Sykdommen utvikler seg langsomt og det kan ta lang tid før symptomene oppstår. De første symptomene er slapphet, slitenhet og leddplager.

#### 4.1. Jern i egg

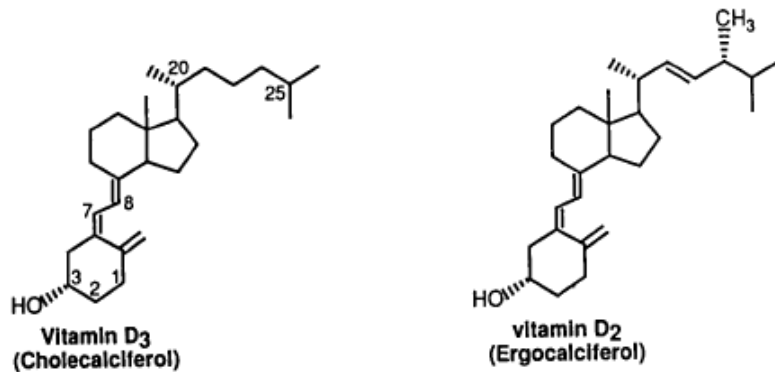
Egg er en kilde til jern i den norske befolkningen, og ved å tilsette mer jern til hønsefôret kan egg inneholde ytterligere jern. Egg kan tilsettes organisk jern, for eksempel jernsulfat, i kombinasjon med metionin (Fe-Met). Park et al viste at tilsetning av 100mg Fe-Met per kg fôr kan øke jerninnholdet med gjennomsnittlig 14% (Park et al., 2005). I tilskudd kan jernsulfat også være bundet til soyaproteinat, Fe-SP. Paik et al sammenliknet Fe-Met og Fe-SP, og studien viste at Fe-Met kan øke jerninnholdet i egg med 13% og Fe-SP med opptil 16% (Paik et al., 2009). I studien ble det tilsatt fra 100 til 321mg jernsulfat per kg fôr. I følge EU-registeret kan man tilsette opp til 450mg jernsulfat per kg fôr (European Union, 2018).

På en annen side viste Revell et al ingen økning av jerninnholdet i eggeplomme ved tilsetning av 50 til 450mg jern per kg fôr (Revell et al., 2009). I studien ble fôret til verpehøns tilsatt enten uorganisk jern, organisk jern (jern bundet til en organisk komponent) eller hemjern, og i kombinasjon med eller uten vitamin C. At jern kan interagere med andre mineraler kan være en årsak til ulik økning av jerninnhold ved berikning. Skrivan et al viste at jern i kombinasjon med sink og kobber økte jerninnholdet i eggeplomme med 36,7 % (Skrivan et al., 2005). Det ble tilsatt 120mg jern, 80mg sink og 25mg kobber per kg fôr i

studien. Ved å kun tilsette jern økte jerninnholdet med 6,3% i eggeplomme. Dermed kan det være nødvendig å kombinere jerntilskudd med andre næringsstoffer for å optimalisere jerninnholdet i egg. Det antas at det tilsettes 50mg jern per kg fôr i Norge. Ved jernberikning opptil maksimalt nivå kan jerninnholdet i egg trolig inneholde betydelige større mengder jern.

## 5. Vitamin D

Vitamin D er et fettløselig vitamin og et prohormon. Vitaminet finnes som enten D<sub>2</sub> (ergokalsiferol) eller D<sub>3</sub> (kolekalsiferol). Figur 3 viser den kjemiske strukturen til vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub>.



Figur 3: Kjemisk struktur for vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub>.

Ergokalsiferol dannes i gjær og sopp, og er mindre biologisk aktivt enn kolekalsiferol. I kroppen omdannes kolekalsiferol til aktiv form. Vitamin D finnes som 1) prohormonet kolekalsiferol (pre-vitamin D<sub>3</sub>), 2) lagringsformen kalsidiol (25-hydroksyvitamin D<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>)), og 3) kalsitriol (1,25-dihydroksyvitamin D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)) som er et aktivt hormon.

### 5.1. Funksjon

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> har som hovedfunksjon å regulere kalsiumhomeostasen og –absorpsjonen (Dusso et al., 2005). 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> bindes til vitamin D reseptor (VDR). Reseptoren er en nukleær heterodimer som er et kompleks dannet av to ulike proteiner. Reseptoren har to domener; 1) ligand bindingsdomene, og 2) DNA bindingsdomene. Ligand bindingsdomenet sikrer høy affinitet for 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. God affinitet reguleres også av 1 $\alpha$ -hydroksylgruppe som binder reseptoren til DNA. DNA bindingsdomenet bindes spesifikt til bestemte DNA

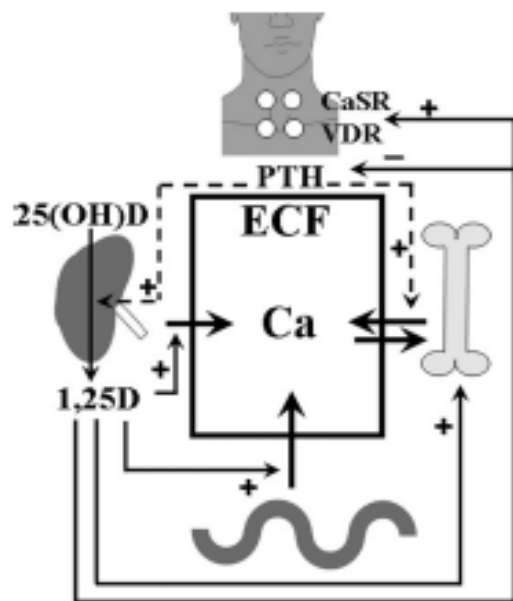
sekvenser. For at VDR skal aktiveres må VDR bindes til retinoid X reseptor (RXR) (Dusso et al., 2005). Når VDR og RXR danner et kompleks kan kalsiumabsorpsjonen fremmes.

VDR finnes i flere vev i kroppen, deriblant tarm, skjelett, nyre og parathyroidea (Holick, 2003). Aktivering av VDR har en viktig rolle innenfor kalsiumhomeostasen med å opprettholde stabile kalsiumnivåer (Dusso et al., 2005). Absorpsjonen av kalsium og fosfor fra kostholdet reguleres ved å stimulere transport over enterocytene. I tarmen stimuleres 1) kalsiumkanalene slik at økt kalsium passerer inn til enterocytene, 2) transport av cytosolisk kalsium, og 3) ATPase pumpene for transport av kalsium på den basolaterale membranen (Dusso et al., 2005). Transport av fosfor blir også stimulert av  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  og VDR, men mekanismen er mindre kjent enn for kalsium.

Vitamin D er også essensielt for utvikling og for å opprettholde benmineralisert skjelett. VDR påvirker kalsiumopptaket i skjelettet, og  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  og VDR er nødvendig for balanse mellom osteoblastene og osteoklastene (Dusso et al., 2005). Osteoblastene bygger opp benvev, mens osteoklastene bryter ned benvev. For å unngå nedbrytelse av ben hemmes parathyroideahormon (PTH) av VDR.

I nyrene regulerer  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  homeostasen ved å hemme  $1-\alpha$ -hydroksylase og stimulere 24-hydroksylase (Dusso et al., 2005). Det fører til mindre dannelse av  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . I tillegg øker VDR reabsorpsjonen av kalsium i nyrene, som påvirker den endelige utskillelsen av kalsium via urin.

Hvor mye kalsium det er i serum registreres av calcium-sensing reseptor (CaSR) (Dusso et al., 2005). Ved lavt kalsium i serum aktiverer  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  VDR i parathyroidea og PTH frigjøres (Jones et al., 1998). Dermed mobiliseres kalsium fra skjelettet til serum for å erstatte tapet. Kalsiumhomeostasen er derfor avhengig av både  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  og PTH, som vist i figur 4.



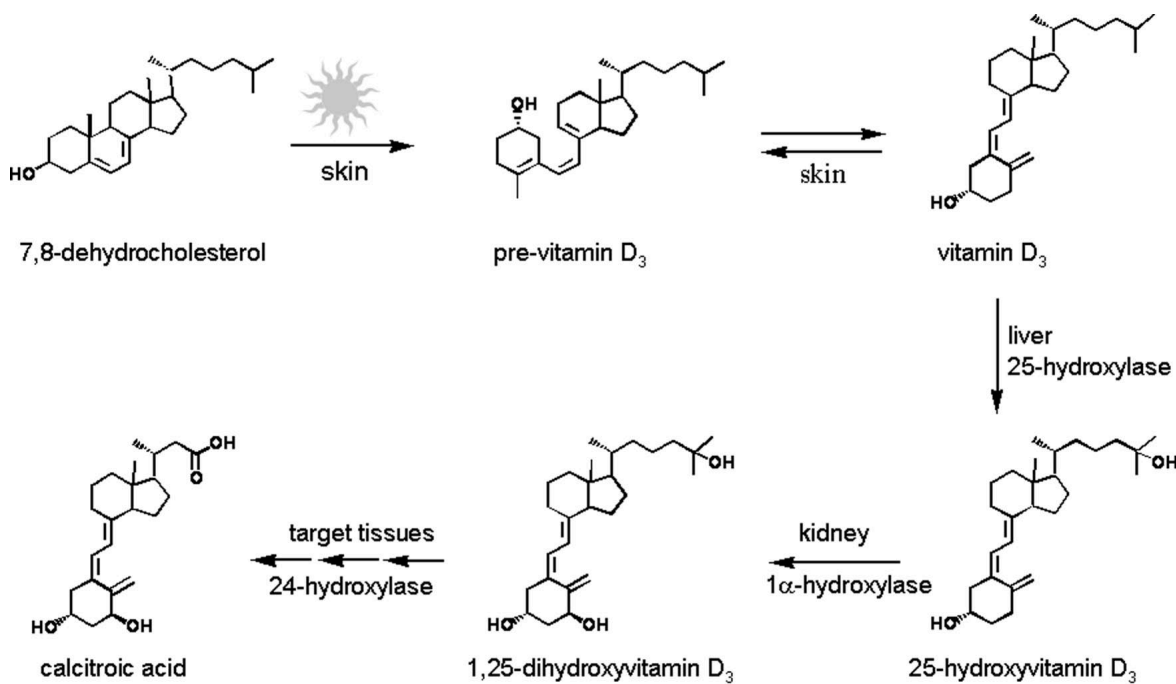
Figur 4: Rollen til  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  i kalsiumhomeostasen.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  produseres i nyrene og stimulerer til økt absorpsjon av kalsium fra tarm, opprettholder benmineralisert skjelett, hemmer PTH og øker reabsorpsjon av kalsium i nyrene. Dette opprettholder kalsiumnivået i ekstracellulærvæsken (ECF). CaSR vil si calcium-sensing recepto. Figuren er hentet med tillatelse fra Dusso et al. (2005).

Vitamin D er også knyttet opp mot andre funksjoner enn kalsiumhomeostasen, deriblant cellevekst, regulering av apoptose og insulinsekresjon (Dusso et al., 2005). Det er hypoteser om at  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR systemet kan hemme cellevekst under kreftutvikling ved å forsterke cellevekst av normale celler i stedet for kreftceller, samt indusere apoptose. I tillegg er det teorier om at  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR systemet kan påvirke intracellulær kalsiumfluks og dermed påvirke insulinfrigjøring fra pankreas.

## 5.2. Metabolisme

Vitamin D fra både kosthold og sollys aktiveres til  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  på samme måte. Fra kostholdet absorberes D vitaminet (vitamin  $\text{D}_2$  og  $\text{D}_3$ ) i tynntarmen og transporteres i blod, bundet til plasmaproteinet vitamin D-bindende protein (VDBP), for videre aktivering i lever. De ulike formene for vitamin D har ulik affinitet til VDBP;  $25(\text{OH})\text{D}_3 > 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3 > \text{vitamin D}_3$  (Dusso et al., 2005).

Når huden blir eksponert for ultrafiolett (UV) lys, omdannes 7-dehydrokolesterol (7-DHC) til pre-vitamin D<sub>3</sub> (figur 5). Pre-vitamin D<sub>3</sub> fra sollys blir omdannet til vitamin D<sub>3</sub>, og kan videre transporteres til lever. Først omdannes vitamin D<sub>3</sub> i leveren ved hjelp av hepatisk 25-hydroksylase D<sub>3</sub> til 25(OH)D<sub>3</sub>. 25(OH)D<sub>3</sub> er assosiert med VDBP, og mengde 25(OH)D<sub>3</sub> er stabilt i blodet. Dermed antas det at 25(OH)D<sub>3</sub> kan brukes som en indikator på vitamin D status (Spiro & Buttriss, 2014). 25(OH)D<sub>3</sub> er mer polart, vannløselig, enn vitamin D<sub>3</sub>.



Figur 5: Oversikt over vitamin D<sub>3</sub> syntese, aktivering og katabolisering. Figuren er hentet med tillatelse fra Dusso et al. (2005).

I nyrene omdannes 25(OH)D<sub>3</sub> til 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ved hjelp av 1- $\alpha$ -hydroksylase. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> er den mest biotilgjengelige formen og derfor nøye regulert i kroppen. 1- $\alpha$ -hydroksylase reguleres av kalsium- og fosfatkonsentrasjonen (Spiro & Buttriss, 2014). Lav konsentrasjon av kalsium og fosfat påvirker PTH, som øker 1- $\alpha$ -hydroksylase. En endring av kalsium- og fosfatkonsentrasjonen danner en inaktiv metabolitt av vitamin D<sub>3</sub> i stedet for den aktive metabolitten. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> hemmer PTH og 1- $\alpha$ -hydroksylase ved hjelp av negativ feedback.

Når det ikke er behov for mer vitamin D nedbrytes  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ved hjelp av 24-hydroksylase til kalsitrosyre.  $25(\text{OH})\text{D}_3$  kan også brytes ned dersom vitaminet ikke skal lagres i kroppen.

### 5.3. Mangel

Det er fastsatt ulike grenseverdier for  $25(\text{OH})\text{D}_3$  i serum for å bestemme vitamin D status (tabell 2).  $25(\text{OH})\text{D}_3 > 50\text{nmol/l}$  skal dekke vitamin D behovet for 97,5% av befolkningen (Nordic Council of Ministers, 2014). Et adekvat inntak inkluderer en god ben- og tannhelse, normal benutvikling hos barn og unge, og normal kalsium- og fosforabsorpsjon, samt god muskelfunksjon (EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA), 2016).

Tabell 2: Grenseverdier av  $25(\text{OH})\text{D}_3$  (nmol/L) for å indikere vitamin D status i befolkningen. Utarbeidet av Nordic Council of Ministers (2014).

|                         | <b>[<math>25(\text{OH})\text{D}_3</math>]<br/>(nmol/L)</b> |
|-------------------------|--|
| <b>Adekvat inntak</b>   | >50nmol/L  |
| <b>Inadekvat inntak</b> | 30-50nmol/L  |
| <b>Mangel</b>           | <30nmol/L  |

Vitamin D mangel over tid kan føre til sykdommer. Rakitt er en sykdom hos barn som er forårsaket av vitamin D mangel. Det er en svært sjelden sykdom i dag, der barn blant annet får bøyde underekstremiteter. Hos voksne heter sykdommer osteomalasi, som betyr «bløte ben». Skjelettet blir svakt og diffuse smerter opptrer. I tillegg kan lavt vitamin D nivå sees ved blant annet kreft, hjerte- og karsykdom og diabetes (Lamberg-Allardt et al., 2013; Spiro & Buttriss, 2014). Det er stor usikkerhet om det er en direkte årsakssammenheng mellom vitamin D og de nevnte sykdommene, om sykdommene kan skape vitamin D mangel eller om det er andre konfunderende faktorer. Litteraturgjennomgang viste ingen konsistent sammenheng mellom vitamin D status og kreft (Lamberg-Allardt et al., 2013). I tillegg finnes det begrenset data på vitamin D status og diabetes. Det er derimot en assosiasjon mellom vitamin D status og hjerte- og karsykdom. Studier viste at gjentatte forsøk assosierte lav



25(OH)D<sub>3</sub> konsentrasjon med høyere risiko for hjerte- og karsykdommer, deriblant hypertensjon (Lamberg-Allardt et al., 2013).

### 5.3.1. Utsatte grupper i Norge

Flere grupper i den norske befolkningen kan være utsatt for vitamin D mangel, deriblant gravide og ammende, tenåringer, spedbarn, eldre over 65 år og personer med mørkere hudfarge (Spiro & Buttriss, 2014). Rapporten fra NNR viste at opptil 90% av befolkningen ikke hadde en adekvat vitamin D status (Nordic Council of Ministers, 2014).

Én av de utsatte gruppene i Norge er innvandrere, som tilsvarer 16,8% av befolkningen i 2017 (Statistisk sentralbyrå (SSB), 2017). Personer med innvandrerbakgrunn fra ikke-vestlige land har økt risiko for vitamin D mangel grunnet pigmentering, kroppslig tildekning, et kosthold lavt på vitamin D og lavt bruk av kosttilskudd (Holvik et al., 2008). Vitamin D mangel kan gjelde for immigranter, både barn, ungdom og voksne av begge kjønn. En studie viste at nærmere 80% hadde 25(OH)D<sub>3</sub>-nivåer på <50nmol/L (Eggemoen et al., 2013).

I tillegg viste en studie gjennomført på pakistanske immigranter som bosatte seg i Oslo (Helseundersøkelsen i Oslo) at kun 8% pakistanske kvinner og 10% pakistanske menn oppnådde 25(OH)D<sub>3</sub>-nivåer på ≥50nmol/L (Meyer et al., 2004). Av kvinner og menn som vokste opp og bodde i Norge hadde 86% et adekvat inntak. En annen studie av innbyggere i Oslo født i Tyrkia, Sri Lanka, Iran, Pakistan og Vietnam viste en median på 30nmol/L og 27nmol/L 25(OH)D<sub>3</sub> for menn og kvinner (Holvik et al., 2005). Serum 25(OH)D<sub>3</sub> var 34nmol/L på sommeren, mens prøver tatt etter vinterhalvåret var 28nmol/L. Alvorlig mangel på vitamin D ble også observert hos gravide innvandrerkvinner, definert som <25nmol/L 25(OH)D<sub>3</sub> (Eggemoen et al., 2016). Studien viste at 45% fra Sør-Asia (Pakistan og Sri Lanka), 40% fra Midtøsten (Irak, Tyrkia, Marokko og Afghanistan) og 26% fra Afrika sør for Sahara (hovedsakelig fra Somalia) hadde alvorlig mangel. Til sammenlikning hadde 1,3% gravide kvinner fra Vest-Europa alvorlig vitamin D mangel. Ut ifra dette kan det se ut som at innvandrere har høyere risiko for en lav vitamin D status enn nordmenn som er født og oppvokst i Norge.

Vitamin D mangel hos eldre gir risiko for osteoporose, fall og brudd (Mosekilde, 2005). Eldre som er hjemmeboende med lavt funksjonsnivå eller de som bor på eldreheim er mest utsatt (Lamberg-Allardt et al., 2013). De er ofte lite utendørs og blir i liten grad eksponert for sollys, og kan derfor være avhengig av kostholdet for å dekke vitamin D

behovet. I tillegg kan eldre ha lavere absorpsjon av vitamin D i tarmen enn yngre, samt ha redusert vitamin D syntese i huden (MacLaughlin & Holick, 1985). Lav vitamin D status har blitt sett hos eldre i Norge, samt i flere sørlige land i Europe (Van der Wielen et al., 1995) og i USA (Mosekilde, 2005).

Oversiktsartikkelen fra Mosekilde viste at eldre pasienter med hoftebrudd hadde gjennomsnittlig 21-55 nmol/L 25(OH)D<sub>3</sub> i serum i Europa, mens i USA var vitamin D statusen høyere for personer med hoftebrudd (Mosekilde, 2005). Det kan mulig forklares ved at USA beriker mange mat- og drikkevarer med vitamin D. I følge amerikanske helsemyndigheter tilsettes vitamin D i blant annet juice, melk- og meieriprodukter, korn, soyaprodukter og frokostblandinger (FDA, 2016).

På en annen side viste en randomisert kontrollert studie ingen effekt på hoftebrudd ved å gi 10µg vitamin D tilskudd til eldre på eldreheim i Norge (Meyer et al., 2002). Likevel kan risikoen for hoftebrudd reduseres dersom vitamin D blir gitt i kombinasjon med kalsiumtilskudd. Oversiktsartikkelen av Lamberg-Allardt konkluderte med at tilskudd av vitamin D<sub>3</sub> (10-20µg) og kalsium førte til reduserte bruddtilfeller (Lamberg-Allardt et al., 2013). Reduserte bruddtilfeller ble spesielt sett på eldreheim der de eldre hadde lavt serum 25(OH)D<sub>3</sub>. Ut ifra disse studiene kan det se ut som at vitamin D i kombinasjon med kalsium kan redusere bruddtilfeller hos eldre, men flere studier må til for å trekke en klar konklusjon.

#### 5.4. Kilder

Vitamin D finnes i både vegetabiliske og animalske matvarer. I gjær og sopp dannes vitamin D<sub>2</sub> fra ergosterol ved bestråling med UV lys. I animalske matvarer som fet fisk, melk- og meieriprodukter og egg finnes vitamin D<sub>3</sub>. Likevel er det få matvarer som bidrar til vesentlige mengder vitamin D i Norge. Derfor er trantilskudd, et produkt av fiskelever, en viktig kilde i den norske befolkningen (Meyer et al., 2006). Flere melk- og meieriprodukter er tilsatt vitamin D<sub>3</sub> for å øke vitamin D inntaket. I tillegg kan vitamin D<sub>3</sub> dannes i huden ved hjelp av sollys.

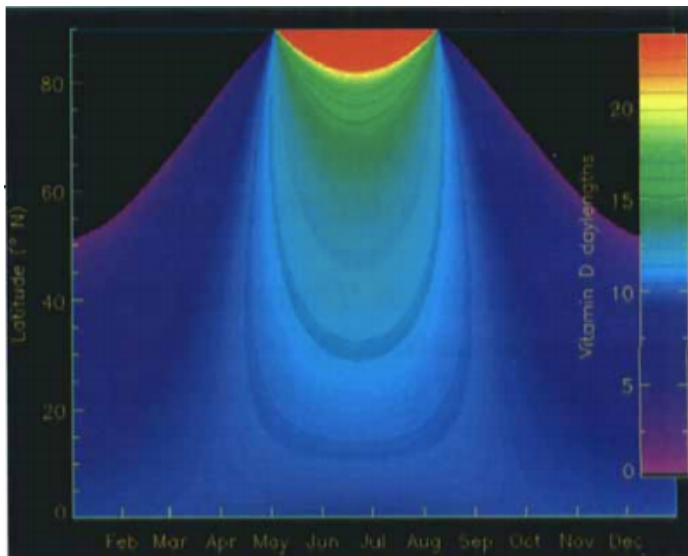
#### 5.4.1. Solllys som vitamin D kilde i befolkningen

UV lys deles inn i klassene UVA (315-400nm), UVB (280-315nm) og UVC (200-280nm). De korteste bølgelengdene kan gi betennelse i hud og øyne, samt DNA skade (Wade & Baines, 2008), men disse hindres av ozonlaget i å nå jordoverflaten. Huden må eksponeres for solllys med bølgelengde mellom 270-315nm for å syntetisere vitamin D<sub>3</sub> (Webb, 2006).

Hvor mye vitamin D<sub>3</sub> som syntetiseres i huden fra solllys påvirkes av miljø og personlige faktorer (Webb & Engelsens, 2006). Miljøfaktorene handler om hvor mye UVB lys som er tilgjengelig for vitamin D syntesen. Det påvirkes av eksempelvis sesong, tid på døgnet og breddegrad.

Vitamin D syntesen er avhengig av breddegraden man befinner seg på for å danne vitamin D i huden (Webb, 2006). På sommeren står solen høyere enn på vinteren, og UVB lyset kan trenge gjennom atmosfæren. Den tiden av året der solen står for lavt på himmelen til å gi tilstrekkelig UVB lys for vitamin D syntetisering, kalles *vitamin D vinteren* (Meyer et al., 2006). I løpet av vinteren står solen under horisonten i opptil 2 måneder i Nord-Norge (65-71°N) (Brustad et al., 2003). Lyset har ved lavere breddegrad i tillegg en for lav vinkel under vitamin D vinteren til at UVB lyset når jorden.

Vitamin D vinteren oppstår ved 51°N og oppover ved klar atmosfære (figur 6) (Engelsen et al., 2005). Figuren har ikke tatt hensyn til skyer og snø som kan påvirke UVB lyset i å nå jorden. Ved fullstendig overskyet kan UVB lyset som når jorden reduseres ned til 1% (Engelsen et al., 2005; Lamberg-Allardt et al., 2013). Snø på bakken derimot kan reflektere opp til 95% av UVB lyset ved klar atmosfære. Dermed kan vitamin D vinteren i eksempelvis Norge reduseres, og muligheten for vitamin D syntese kan økes med 1 til 2 uker (Engelsen et al., 2005). Samtidig er tildekningen høy på vinteren, som reduserer evnen til vitamin D syntetisering. Befolkningen som bor på høye breddegrader og med begrenset tilgang på solllys, kan derfor være avhengig av vitamin D fra kostholdet (Brustad et al., 2003). En annen mulighet er å reise til sørlige destinasjoner, idet tverrsnittstudien fra Brustad et al viste at reising kan beskytte mot vitamin D mangel gjennom vinteren.



Figur 6: Sammenhengen mellom daglig vitamin D produksjon i timer og breddegrader i klar atmosfære og uten refleksjon fra jordoverflaten. Figuren har ikke tatt hensyn til snø og skyer (Engelsen et al., 2005).

I tillegg til miljøfaktorene er vitamin D syntesen avhengig av personlige faktorer som for eksempel pigmentering og alder. Hvor mye UV lys som må til for å få en merkbar rødligheit i huden, kalles minimal erytmisk dose (MED). MED avhenger av lysets intensitet og eksponeringstid. Pigmentproduksjonen i huden skjer ved bølgelengde  $<320\text{nm}$ , altså med UVB lys (Hönigsmann, 2002).

Hvor mye pigmentering (melanin) som er i huden påvirker vitamin D syntesen. Melanin beskytter huden mot solbrenthet og omdannelse av 7-DHC til pre-vitamin D<sub>3</sub> (Holick, 2004). Personer med økt melanin må derfor være eksponert for sol lenger for å syntetisere samme mengde vitamin D som lyshudede personer. Det er usikkert hvor stor betydning melanin har på vitamin D syntesen. En studie viste at vitamin D syntesen var opptil seks ganger høyere hos lyshudede personer enn personer med mørk hud (Webb & Engelsen, 2006).

I tillegg påvirker alderen hvor mye vitamin D som syntetiseres i huden. MacLaughlin & Holick viste at unge personer hadde mer enn to ganger bedre omdannelse av 7-DHC til pre-vitamin D<sub>3</sub> enn eldre (MacLaughlin & Holick, 1985). I studien ble unge mellom 8-18 år sammenliknet med 77-82 år gamle personer. Eldre kan derfor være avhengig av lengre eksponeringstid for å syntetisere vitamin D<sub>3</sub>.

Vitamin D syntesen påvirkes også av solkrem og solfaktor som brukes på huden under soleksponering. Den aktive komponenten para-aminobenzo syre (PABA) finnes i mange solkremer og hindrer omdannelse av 7-DHC til pre-vitamin D<sub>3</sub> (Matsuoka et al., 1987). Hvor mye solkrem som påføres og eventuelt aktivitet, f.eks. bading og svetting, kan påvirke vitamin D syntesen. I tillegg viste en studie lav status, målt <30nmol/L 25(OH)D<sub>3</sub>, hos 51% av deltakerne som var mye ute i sollys (Binkley et al., 2007). Disse personene bodde på Hawaii og 40% brukte ikke solkrem.

Denne gjennomgangen viser at det er flere avgjørende faktorer for å syntetisere vitamin D<sub>3</sub> i huden. Hvor mye vitamin D<sub>3</sub> som dannes er derfor individuelt. Sollyset kan være en god kilde til vitamin D for noen, mens mindre for personer med lav soleksponering.

## 5.5.      Anbefaling

Det individuelle behovet for vitamin D inntak avhenger av soleksponering. ADI for vitamin D er 100µg per dag (EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA), 2012). Den norske anbefalingen for vitamin D<sub>3</sub> er 10µg for barn og voksne, og 20µg per dag for eldre over 75 år. Eldre er lite ute i sollys og derfor er anbefalt inntak høyere enn for barn og voksne. For spedbarn fra fire ukers alder anbefales vitamin D tilskudd i form av tran eller vitamin D-dråper, fordi morsmelken ikke inneholder tilstrekkelig mengde vitamin D. Det anbefales en gradvis økning av tilskudd, og fra 6 måneders alder er anbefalingen 10µg vitamin D per dag.

## 5.6.      Inntak i Norge

Rapporten *Utvikling i norsk kosthold* viste at nordmenn hadde et vitamin D inntak som tilsvarte 5µg/dag (Helsedirektoratet, 2016). Sannsynligvis får nordmenn i seg vitamin D via sollys i løpet av sommeren som er tilstrekkelig for å oppnå anbefalingen. Vitamin D mangelen kan derfor tenkes at er lav på sommeren når vitamin D syntetisering er mulig, mens høyere på vinteren når syntetiseringen er lav.

Det har blitt gjennomført landsrepresentative kostholdsundersøkelser på et utvalg av befolkningen med informasjon om gjennomsnittlig inntak fordelt på aldersgrupper (Helsedirektoratet, 2017a). Kostholdsundersøkelsene inkluderer *Spedkost* for 6 og 12 måneder gamle barn, *Småbarnskost* for 2 åringer, *Ungkost* for 4 åringer og elever i 4.-8.klasse og

*Norkost* for menn og kvinner i alderen 18-70 år. Basert på undersøkelsene er vitamin D inntaket i Norge avhengig av alder, type matvarer og kosttilskudd.

Spedbarn får vitamin D fra morsmelk eller morsmelkerstatning, men er avhengig av tilskudd i form av tran eller vitamin D dråper fra 4 ukers alder for å oppnå anbefalingen. *Spedkost* viste at 82% av spedbarna inntok vitamin D tilskudd ved 6 måneders alder (Lande et al., 2008). Ved 6 måneder er mat introdusert hos dem som ikke fullammes, og spedbarna får noe vitamin D fra matinntaket. Ved 12 måneders alder ble det daglige inntaket av vitamin D fordelt med 31% fra tilberedt mat, 45% fra tilskudd og 21% fra morsmelkerstatning (Lande et al., 2009a). Rapporten fra Lande et al viste at vitamin D inntaket var under anbefalingene uten kosttilskudd (tabell 2).

Ved 2 års alder viste *Småbarnskost* at færre barn tar tilskudd (Lande et al., 2009b). Inntaket av vitamin D uten tilskudd var lavere enn anbefalingene (tabell 2), og barna er derfor avhengig av kosttilskudd. Barnas vitamin D inntak kom hovedsakelig fra tilskudd, men også matvarer hvor egg utgjorde 5% av vitamin D bidraget. Vitamin D inntaket ble redusert fra 1999 til 2007.

Videre var inntaket av vitamin D hos 4 åringer og elever i 4.-8.klasse ikke tilfredsstillende. Det ble sett samme trend som hos 2 åringene, der tilskudd bidro til mesteparten av vitamin D inntaket (Hansen et al., 2016; Hansen et al., 2017). Inntaket av vitamin D uten tilskudd var under anbefalingene for både 4-åringene og elevene i 4.-8.klasse (tabell 2). Hos 4 åringene var hovedkildene til vitamin D spise fett med 32%, fisk/fiskeprodukter med 30%, egg med 13%, og melk/yoghurt med 9% av daglig inntak (Hansen et al., 2017). Hos 4.-8.klasse ble det daglige vitamin D inntaket fordelt med 29% fra smør, margarin og olje, 26% fra fisk og fiskeprodukter, 12% fra melk og yoghurt, og 11% fra egg (Hansen et al., 2016). Denne gjennomgangen viser en økning av inntak av egg fra 2 til 4 års alder, som holdes relativt stabilt gjennom barnealder.

For voksne fra 18-70 år var inntaket av vitamin D for lavt til å oppnå anbefalingene (tabell 3) (Johansson et al., 2012). Når kosttilskudd ble inkludert lå inntaket av vitamin D på 12µg/dag og 10µg/dag hos henholdsvis menn og kvinner. Hovedkildene til vitamin D av det daglige inntaket for voksne var fisk/fiskeprodukter (40%), spise fett (30%), egg (17%), og melk/yoghurt (4%). I følge kostholdsundersøkelsen *Norkost* var inntak av egg med på å øke vitamin D inntaket i den norske voksne befolkningen.

Tabell 3: Vitamin D inntaket fordelt på ulike aldersgrupper i Norge. Tallene er hentet fra norske landsrepresentative kostholdsundersøkelser (Spedkost, Småbarnskost, Ungkost og Norkost).

| <b>Vitamin D inntak uten kosttilskudd</b> | <b>Spedkost (12 mnd)</b> | <b>Småbarnskost (2 år)</b> | <b>Ungkost (4 år)</b> | <b>Ungkost (4.-8.klasse)</b> | <b>Norkost, menn (18-70 år)</b> | <b>Norkost, kvinner (18-70 år)</b> |
|---|--------------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| <b>µg/dag</b>                             | 6,8                      | 2,8                        | 3,4                   | 3,8                          | 6,7                             | 4,6                                |

### 5.7. Sammenlikning av vitamin D inntak i Europa

Til tross for lavere inntak enn anbefalingene i befolkningen i Norge er vitamin D inntaket i Norge høyere enn mange andre land i Europa (Spiro & Buttriss, 2014). Oversiktsartikkelen inkluderte landene Danmark, Finland, Tyskland, Irland, Italia, Norge, Portugal, Spania, Sverige og Nederland. Vitamin D inntaket i Norge lå gjennomsnittlig på 10,9µg/dag og 10,1µg/dag for menn og kvinner. Disse tallene ble hentet ut ifra *Norkost 1997* og inkluderte kosttilskudd. Kosttilskudd var også inkludert for Irland, og studien viste et vitamin D inntak på 3,7µg/dag for både irske menn og kvinner. I de resterende studiene var ikke tilskudd inkludert.

I tillegg har Mensink et al sett på nyere data om vitamin D inntaket i Europa (Mensink et al., 2013). De inkluderte landene var Belgia, Danmark, Frankrike, Tyskland, Nederland, Polen, Spania og Storbritannia. For voksne kvinner var gjennomsnittsinntaket av vitamin D fra 1,3µg/dag i Spania til 3,5µg/dag i Polen og Nederland. Hos menn derimot var inntaket fra 1,7µg/dag i Spania til 6µg/dag i Polen.

### 5.8. Toksisitet

Helserisikoen ved inntak av vitamin D har blitt vurdert av EUs vitenskapskomite for mat. Voksne kan sannsynligvis innta opptil 100µg vitamin D per dag uten risiko for hyperkalsemi, en økning av kalsiumnivåene i serum (European Food Safety Authority, 2006). Med en sikkerhetsmargin på 2 for å dekke individuelle variasjoner i befolkningen er øvre tolerabelt inntaksnivå for voksne (11 år og oppover) 50µg/dag og barn (0-10 år) 25µg/dag.

Hyperkalsemi kan skje ved at  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  øker kalsiumabsorpsjonen i tarmen og øker frigjøring av kalsium fra skjelettet (Dusso et al., 2005). Et forhøyet vitamin D nivå kan igjen føre til blant annet kalsifisering av bløtvev, nyresten og nyresvikt. Risiko for nyresten er høyere når vitamin D gis i kombinasjon med kalsium enn vitamin D alene (Lamberg-Allardt et al., 2013).

Hyperkalsemi oppstår sjeldent ved inntak av matvarer eller eksponering for UVB lys. I huden nedreguleres syntesen av 7-DHC til pre-vitamin  $\text{D}_3$  ved hjelp av reduksjon som dermed hindrer dannelsen av pre-vitamin  $\text{D}_3$  (Lamberg-Allardt et al., 2013). Ukritisk bruk av tilskudd kan derimot bidra til toksisitet, men det er sjeldent.

## 5.9. Vitamin D i egg

Å berike matvarer med vitamin D kan bidra til å øke vitamin D inntaket i den norske befolkningen. En systematisk oversiktsartikkel, som inkluderte randomiserte kontrollerte studier, viste at tilsetning av vitamin D i matvarer økte  $25(\text{OH})\text{D}_3$  i serum hos deltakerne og var doseavhengig (Black et al., 2012). I gjennomsnitt økte  $25(\text{OH})\text{D}_3$  med  $19,4\text{nmol/L}$  i intervensjonsgruppene sammenliknet med kontrollgruppene.

Eksempelvis kan egg berikes med vitamin D. Vitamin D innholdet i egg varierer med mengde vitamin D som tilsettes fôret til hønene. I Norge er det lovbestemt hvor mye vitamin  $\text{D}_3$  eller  $25(\text{OH})\text{D}_3$  som kan tilsettes fôret (EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA), 2016). I tillegg kan hønene eksponeres for sollys. Det finnes ingen lovbestemt begrensning på hvor mye sollys høns kan bli eksponert for så lenge det ikke gjør skade. Hønene kan eksponeres for både naturlig sollys og sollys ved hjelp av UVB lysrør for å øke vitamin  $\text{D}_3$  innholdet i egg (Kühn et al., 2014; Kühn et al., 2015).

Idet egg er en god kilde til vitamin D og kan berikes ytterligere ved hjelp av sollys, vil oppgaven videre omhandle hvordan vitamin  $\text{D}_3$  innholdet kan økes i egg.



## 6. Manipulering av vitamin D

### 6.1. Tilsetning av vitamin D i fôr

Norge er en del av det europeiske økonomiske samarbeidsområdet (EØS) og følger dermed European Food Safety Authority for European Union (EFSA). Verpehøner kan maksimalt tilsettes 3200 internasjonale enheter (IE) vitamin D<sub>3</sub> per kg fôr, som tilsvarer 80µg D<sub>3</sub>/kg fôr (1µg ≈ 40IE) (Regjeringen, 2017). Ved tilsetning av 25(OH)D<sub>3</sub> er maksimal tilsetning på 80µg 25(OH)D<sub>3</sub>/kg fôr, idet et høyere inntak gir lavere eggevekt og høyere matinntak (FEEDAP Panel, 2005). Hvor mye vitamin D som akkumuleres avhenger av hvilken type tilskudd som gis, vitamin D<sub>3</sub> eller 25(OH)D<sub>3</sub>. I Norge tilsettes 68,75µg vitamin D<sub>3</sub> i fôret, i følge Felleskjøpet.

Mattila et al viste en 7 ganger økning av vitamin D<sub>3</sub> innholdet i eggeplommen (fra 3,4 til 23µg D<sub>3</sub>/100g) ved tilsetning av vitamin D<sub>3</sub> i fôret til høns (fra 62,4 til 216µg D<sub>3</sub>/kg fôr) (Mattila et al., 1999). Ved å øke vitamin D<sub>3</sub> tilsetningen fra 26,6 til 62,4µg D<sub>3</sub> per kg fôr, ble en fordobling av både vitamin D<sub>3</sub> og 25(OH)D<sub>3</sub> observert (fra 1,4 til 3,4µg D<sub>3</sub> og fra 0,5 til 1,0µg 25(OH)D<sub>3</sub> per 100g eggeplomme). En annen studie av Mattila et al observerte også en 7 ganger økning av vitamin D<sub>3</sub> i eggeplommen ved D<sub>3</sub> tilsetning i fôret (fra 4,2-5,3 til 30µg/100g eggeplomme) (Mattila et al., 2003). I studien ble det tilsatt fra 280 til 300µg vitamin D<sub>3</sub> per kg fôr. I intervensjonsstudien fra Browning & Cowieson var det en lineær økning av vitamin D<sub>3</sub> ved tilsetning av opptil 250µg vitamin D<sub>3</sub> per kg fôr (fra 6,48 til 30,85µg/100g eggeplomme) (Browning & Cowieson, 2013). Ved tilsetning av opptil 69µg 25(OH)D<sub>3</sub> per kg fôr økte kun 25(OH)D<sub>3</sub> i eggeplomme, ikke vitamin D<sub>3</sub>.

Denne gjennomgangen viser at en økning av vitamin D<sub>3</sub> tilsetning i fôret til hønene øker vitamin D innholdet i egg. Til tross for høy tilsetning, over lovlige mengder i følge norsk lovgivning, ble ingen vitamin D toksisitet funnet i kontroll- og intervensjonsgruppene i alle studiene. Dersom vitamin D innholdet ønskes å øke ytterligere, men samtidig følge lovverket kan hønene eksponeres for UVB lys.

## 6.2. UVB eksponering av høns for vitamin D syntetisering

UVB lys kan syntetisere vitamin D hos høns. Kühn et al viste økt innhold av vitamin D i eggeplommen, både gjennom naturlig lys og ved hjelp av UVB lysrør (Kühn et al., 2014; Kühn et al., 2015). Studien på naturlig soleksponering viste opptil 4 ganger økning av vitamin D<sub>3</sub> innholdet i egg (fra 3,8 til 14,3µg D<sub>3</sub>/100g tørrstoff eggeplomme) (Kühn et al., 2014). Hønene var ute i gjennomsnitt 9 timer per dag, og forsøket ble gjennomført i august og september i Tyskland med breddegrad 51°N.

Ved bruk av UVB lysrør ble høyest økning av vitamin D<sub>3</sub> og 25(OH)D<sub>3</sub> observert ved 60min og 300min per dag (Kühn et al., 2015). UVB eksponeringen viste >10 ganger økning av vitamin D<sub>3</sub> (fra 2,44 til 29µg D<sub>3</sub>/100g tørrstoff eggeplomme), mens det ble sett en lavere økning av 25(OH)D<sub>3</sub> (fra 1,76 til 4,14µg/100g tørrstoff eggeplomme). I studien var baseline vitamin D<sub>3</sub> innholdet lavt sammenliknet med vitamin D<sub>3</sub> innhold i eggene fra Matvaretabellen (2,44 versus 18,2µg D<sub>3</sub>/100g tørrstoff eggeplomme) (Mattilsynet Helsedirektoratet UiO, 2017).

Denne gjennomgangen viser at økt UVB eksponering kan øke 25(OH)D<sub>3</sub> og vitamin D<sub>3</sub> i eggeplommen. Dermed kan manipulering av egg bidra til å øke vitamin D inntaket i befolkningen hvis egg er en del av kostholdet.

### 6.2.1. Eksponeringstid og dosering av UVB lys

Ved anvendelse av lysrør må styrke av UVB stråling fastsettes, samt hvor lysrørene skal plasseres. Styrken på lysrørene avhenger av i hvilken retning lyskilden står og hvor lyskilden treffer. Med økt avstand fra lysrøret til hønene, reduseres UVB intensiteten. Intensitet av UVB stråling er målt i enheter av milliwatt per kvadratcentimeter (mW/cm<sup>2</sup>) (Lupu & Robins, 2013). Det tilsvarer energi per kvadratcentimeter som mottas per sekund. Dosen måles som joule per enhet i et bestemt tidsrom (mJ/cm<sup>2</sup>), og kan dermed variere med endret eksponeringstid og bestrålingsnivåer.

UVB lys kan anvendes ved en gitt UVB lengde, kalt smalspektret, eller ved bredspektret som tar for seg hele UVB spekteret. Ved bredspektret UVB lys er doseringen lavere enn for smalspektret for å unngå øyeproblemer for hønene. Lupu & Robins har gjort en randomisert kontrollert studie med høns for å undersøke endret atferd, fotofobi, rennende øyne, kløe og erytem (rødhet) på øyelokk og føtter etter UVB eksponering (Lupu & Robins,

2013). UVB lampene ble festet i taket over burene. Bredspektret UVB stråling med daglig dose på 150 mJ/cm<sup>2</sup> forårsaket skade på hornhinnen etter 2 timer bestråling i løpet av 2 dager. Når eksponeringstiden ble utvidet til 6 timer i løpet av 2 dager fikk færre fugler milde tegn til fotokeratitt og –dermatitt. Det til tross for høyere daglig dose på kun 180mJ/cm<sup>2</sup>. Derfor konkluderte studien med at laveste dose som kan forårsake fotokeratitt- og dermatitt er 150-300mJ/cm<sup>2</sup> for bredspektret UVB. Fotokeratitt er «snøblindhet», mens fotodermatitt er en hudbetennelse på grunn av UV lyset. Ved smalspektret UVB lys derimot viste studien at 1730mJ/cm<sup>2</sup> ikke påvirker fuglenes øyne (Lupu & Robins, 2013). Dermed kan fuglene eksponeres for <150-300mJ/cm<sup>2</sup> for bredspektret UVB og >1730mJ/cm<sup>2</sup> for smalspektret UVB uten å forårsake skade.

Det kan se ut til at det er svært nødvendig å være nøyaktig med eksponeringstid og dosering av UVB lyset for høns. Lyset kan påføres under fôrtroene og være påslått under fôring, slik at fugleøynene ikke treffes. På den måten treffer strålingen bena til hønene. Både Kühn og Schutkowski sin forskningsgruppe anvendte bredspektret UV lys med 8% UVB lys, som ble plassert nederst på burene (Kühn et al., 2015; Schutkowski et al., 2013). Ingen skader på hønene ble funnet i disse studiene.

### 6.3. Markedsføring av vitamin D manipulerte egg

Ved markedsføring må først og fremst matinformasjonsforskriften følges, og deretter må eventuelt forskriften om ernærings- og helsepåstander om næringsmidler overholdes. Matinformasjonsforskriften stiller krav til næringsdeklarasjonen på matvarene (Mattilsynet, 2015). Det er obligatorisk å inkludere innholdet av energi, fett, mettede fettsyrer, karbohydrater, sukkerarter, proteiner og salt (alt av natrium). Det er frivillig å deklare næringsstoffer som vitaminer og mineraler forutsatt at matvarene inneholder 15% av referanseverdien. Referanseverdien for vitamin D<sub>3</sub> er 5µg/100g spiselig vare (Mattilsynet, 2014). I tillegg må deklarasjonen angis per 100g eller 100ml av matvaren.

Ved et økt innhold av et vitamin eller mineral kan ikke produktet merkes med «økt innhold av», i følge påstandsforordningen i det norske regelverket (Mattilsynet, 2013). Vitaminer og mineraler kan markedsføres med ernæringspåstander som for eksempel «kilde til». Ernæringspåstander gir informasjon om næringsstoffer i et produkt (Mattilsynet, 2016). Dersom et næringsstoff skal knyttes til en ernæringspåstand i et produkt må det være minst 15% av referanseverdien for næringsstoffet. 15% av referanseverdien for vitamin D<sub>3</sub> tilsvarer

0,75µg/100g spiselig vare. Dersom man ønsker å deklare matvaren med «høyt innhold av» må vitamin D<sub>3</sub> innholdet være minst 30% av referanseverdien, altså inneholde 1,5µg/100g spiselig vare. Dermed ser det ut til at egg allerede har et høyt innhold av vitamin D (tabell 1).

En matvare kan også deklarerer med en helsepåstand som forteller hvilken effekt næringsstoffet har på helsen (Mattilsynet, 2016). Helsepåstanden må være godkjent for næringsstoffet. Eksempler på helsepåstander som kan være relevante for vitamin D<sub>3</sub> er «vitamin D bidrar til normal utnyttelse av kalsium og fosfor», «vitamin D bidrar til immunsystemets normale funksjon» og «vitamin D spiller en rolle i celledelingsprosessen» (Mattilsynet, 2010).

## 7. Eksperimentelt pilotarbeid

Vitamin D statusen i den norske befolkningen kan være utfordrende for deler av befolkningen. Andelen med utilstrekkelig vitamin D status øker i de fleste grupper under vinterhalvåret. Derfor er det nødvendig å gi råd om kosthold, tilskudd og solingsvaner. Det finnes flere forslag til tiltak for å sikre den norske befolkningen en god vitamin D status. Vitamin D har interessante muligheter idet vitamin D kan komme fra mat og sol. Derfor er det av interesse å undersøke hvordan manipulering av vitamin D innhold i egg kan bidra til å øke vitamin D inntaket i den norske befolkningen. I den hensikt ble et eksperimentelt pilotarbeid gjennomført.

Pilotstudien gikk ut på å manipulere vitamin D innholdet i egg ved å eksponere høns for UVB lys. I pilotstudien ble fasilitetene til Ole Egge brukt. Hønsehuset inneholdt tre forsøksrom, hvor to av rommene ble anvendt i pilotstudien. Hvert rom hadde to separate etasjer med ulikt fôr i etasjene, men mengde vitamin D<sub>3</sub> som ble tilsatt var likt (2750IE/kg = 68,75µg/kg). Fôret var likt for den nederste etasjen i rom 2 og den øverste etasjen i rom 1. Burene i rom 1 ble derfor brukt som kontroll. Hvert rom og hver etasje bestod av 22 bur med 9 høns per bur. Hønene var 29 uker gamle ved oppstart.

UVB lys ble montert i rom 2 i den nederste etasjen i fronten av hvert bur under fôrtroene. Dermed ble føttene til hønene eksponert for UVB lyset. UVB lyset var mørkt lys uten synlig lys. Lyset ble skrudd på 2x30min per dag under føring kl. 14:05 og 16:05.

### 7.1. Valg av UVB lys

UVB lyset som ble installert het *Philips TL 20W/12 RS SLV/25 tube*. Lysrørene var 60cm lange, mens distansen mellom lyskilden og lyspunkt var 20cm. Wattstyrken (W) på rørene var 19,3W, men kun 2,4W var UVB lys. Siden lysrørene var 60cm lange og sylindere som følge av en radius på 20cm hadde en diameter på 40cm, ble overflaten kalkulert.

$$40cm * 3,14 * 60cm = 7536cm^2$$

Lysintensiteten på punktet på sfæren er lik antall watt som pæren utstråler dividert med overflaten av sfæren.

$$\frac{2400mW}{7536cm^2} = 0,3185mW/cm^2 = 318,5\mu W/cm^2$$

I Kühn et al artikkelen (2015) ble UVB lys med  $76\mu W/cm^2$  brukt. Intensiteten til lysrørene som ble anvendt i pilotstudien var dermed 4,2 ganger høyere enn lysene i Kühn artikkelen ( $\frac{318,5\mu W/cm^2}{76\mu W/cm^2} \approx 4,2$ ). I eksperimentet fra Kühn ble vitamin D syntese funnet etter 180min UVB eksponering. Studien hadde en maksimal eksponeringstid på 300min per dag. Dermed kunne hønene eksponeres for omtrentlig 72min UVB lys per dag i pilotstudien for å få samme dosering som det maksimale i Kühn ( $\frac{300min}{4,2} \approx 72min$ ). Med 60min UVB eksponering, som ble valgt i pilotstudien, ble daglig dose  $1147mJ/cm^2$ . I følge Lupu & Robins kunne  $1147mJ/cm^2$  være skadelige nivåer av UVB stråling for fugleøyet (Lupu & Robins, 2013), men det ble unngått ved å plassere lyset under fôrtroene. I tillegg ble lyset kun slått på under fôring.

## 7.2. Innsamling av egg og prøveforberedelse

Egg fra høner i den nederste etasjen i rom 2 og i den øverste etasjen i rom 1 ble samlet inn før UVB lyset ble satt på. Fra 8 av burene som ble eksponert for UVB lys og 4 av kontrollburene ble egg analysert. Eggene ble samlet inn fra de samme burene hver gang. Fra rom 2 med UVB lys ble 4 egg samlet inn fra hvert bur, mens 1 egg fra hvert bur i rom 1 (kontrollrom) ble samlet inn. Baseline innsamling var rett før UVB lysene ble satt på 09.oktober 2017. Deretter ble egg innsamlet den 06.november 2017 og den 17.januar 2018. All innsamling av egg ble gjort rett før fôring.

Eggeplommene ble skilt ved hjelp av eggeskiller og en standardisert metode ble utviklet for å skille eggeplommen fra eggehviten (vedlegg 1). Total eggvekt og eggeplommevekt ble notert for hvert egg. Eggeplommene ble lagret på  $-80^{\circ}C$  frem til analysering. Lagringstemperaturen på  $-80^{\circ}C$  ble også brukt hos Kühn og Schutkowski sin forskningsgruppe for å unngå degradering av vitamin  $D_3$  (Kühn et al., 2014; Kühn et al., 2015; Schutkowski et al., 2013).

### 7.3. Analysering av vitamin D<sub>3</sub> ved bruk av High Performance Liquid Chromatography

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) er en analysemetode som brukes til å separere ulike komponenter i en prøve, basert på komponentenes ulike kjemiske og fysiske egenskaper. Metoden kan blant annet brukes for å måle mengde vitamin D<sub>3</sub>, og har blitt optimalisert på egg av Mattila et al (Mattila et al., 1992). HPLC ble også anvendt av Nasjonalt institutt for ernærings- og sjømatforskning (NIFES) i regi av Mattilsynet i rapporten *Analyse av egg og kylling – næringsstoff- og miljøgiftanalyse 2016* (Mattilsynet, 2017).

HPLC er væskechromatografi som separerer stoffer ved bruk av en mobil (bevegelig) fase og en stasjonær (stillestående) fase som befinner seg inni en kolonne (Greibrokk et al., 1984). Separasjonen bestemmes av hvordan stoffene fordeler seg mellom de to fasene.

Analysemetoden til Mattila et al ble modifisert for å analysere vitamin D<sub>3</sub> i pilotstudien. Mindre volum av reagenser ble anvendt enn det artikkelen nevner på grunn av mindre prøvemengde og for å tilpasse HPLC systemene. I tillegg ble det gjort kjemikalieendringer på grunn av helsefare. Heksan ble byttet ut med heptan og tetrahydrofuran ble utelatt. Detaljert prosedyre og oversikt over prosessen steg-for-steg er vedlagt i vedlegg 2 og 3.

Først ble prøveoppbeidelse gjennomført for å fjerne andre komponenter som kan forstyrre analysen, få en prøve som kan analyseres av instrumentet og oppkonsentrere. Ved prøveoppbeidelse ble eggeplommene tint og homogenisert enkeltvis. Mattila et al hadde 20g eggeplommer, mens i pilotstudien var eggeplommevekten mindre (gjennomsnittlig ca. 16g). Internstandard vitamin D<sub>2</sub> ble tilsatt eggeplommene. Deretter ble prøven forsåpet over natt i romtemperatur. Forsåpningen foregikk i romtemperatur for å unngå emulgering og for å oppnå godt utbytte av vitamin D<sub>3</sub> (Mattila et al., 1992).

Det uforsåpbare materialet ble ekstrahert to ganger. Først med væske-væske ekstraksjon og deretter med fast-fase ekstraksjon (SPE). Væske-væske ekstraksjonen er en prosess der vitamin D overføres fra en væske til en annen væske stoffet er mer løselig i. SPE er basert på en fordeling mellom en væske og overflaten av et fast materiale. Løsningen man sitter igjen med inneholder vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub> i rensert form.

Videre ble prøven fraksjonert ved bruk av semi-preparativ HPLC med en normal fase kolonne. «Semi» fordi kolonnen er mindre enn vanlig ved denne typen opprensing, og «preparativ» fordi den brukes for å preparere prøven. Ved normal fase HPLC er stasjonærfasen polar og mobilfasen upolar. I en normalfase kolonne bruker polare

forbindelser lengst tid gjennom kolonnen, mens upolare og ekstremt polare forbindelser kan fraksjoneres vekk. Fraksjonen som inneholdt vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub> ble samlet opp, og injisert på et analytisk HPLC system med omvendt fase kolonne og UV detektor. Ved omvendt fase HPLC er stasjonærfasen upolar og mobilfasen polar, der upolare forbindelser bruker lengst tid gjennom kolonnen.

Deretter ble vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub> detektert ved hjelp av UV deteksjon på 265nm. Innholdet av D<sub>3</sub> ble beregnet ved hjelp av intern standard metoden der arealet til D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub> ble sammenliknet i et kromatogram.

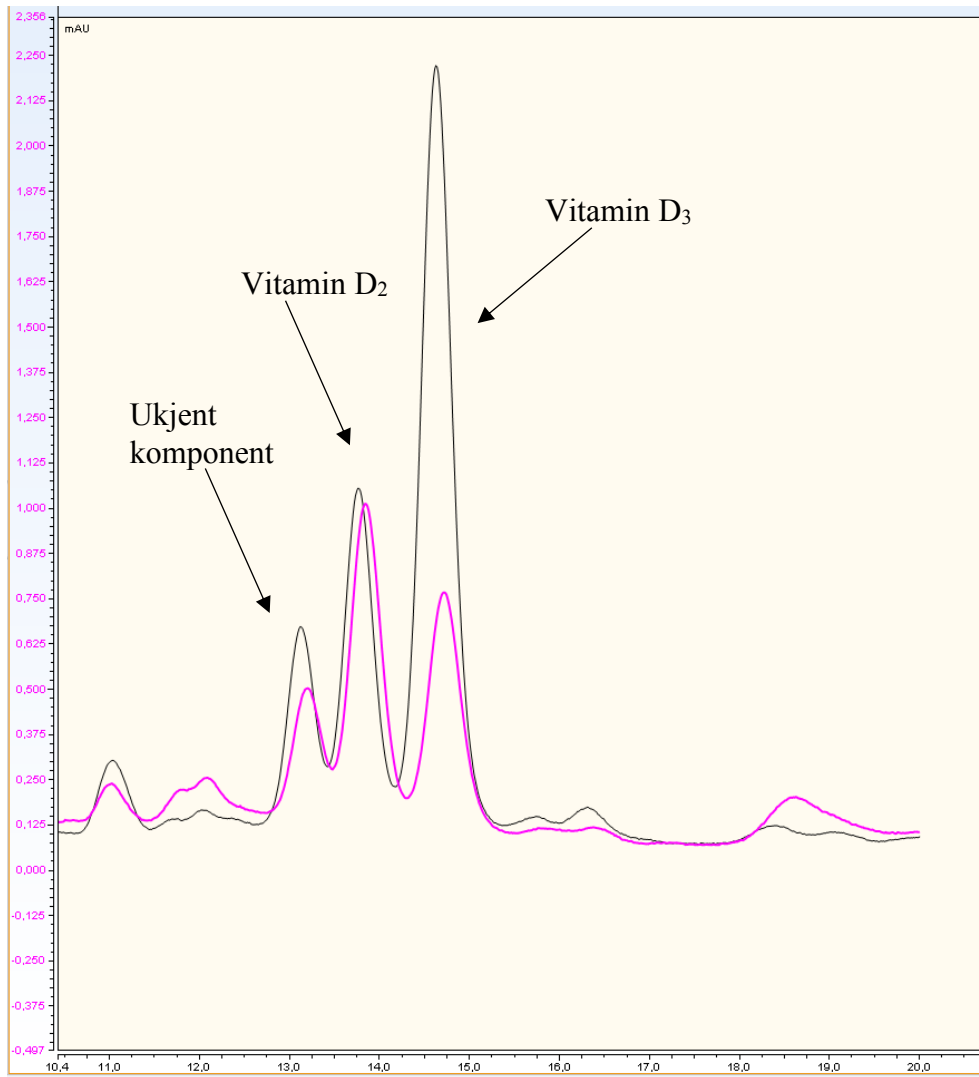
#### 7.4. Utbytte

Utbytte (gjenfinningsprosent) av vitamin D<sub>3</sub> etter ekstraksjon og HPLC-analyse ble bestemt ut ifra mengde vitamin D<sub>2</sub> som ble tilsatt løsningen i begynnelsen av eksperimentet. I følge Mattila et al har vitamin D<sub>3</sub> en gjenfinningsprosent på 94%, som er kalkulert basert på internstandard (Mattila et al., 1992).

#### 7.5. Kromatogram av vitamin D<sub>3</sub>

Kromatogram er en grafisk fremstilling av separate komponenter i en prøve. Figur 8 viser et kromatogram med topper av vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub> fra en tilfeldig valgt dag. Figuren viser to prøver lagt oppå hverandre, der rosa linje er baseline egg, mens sort linje er egg bestrålt med UV lys. Topp 1 viser en ukjent komponent, mens topp 2 er vitamin D<sub>2</sub> og topp 3 er vitamin D<sub>3</sub>. Den ukjente komponenten har ikke blitt fjernet i løpet av prøveopparbeidelsen, men forstyrrer ikke toppene til D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub>. Dermed er separasjonen god nok til at arealene kan måles nøyaktig.





Figur 8: Kromatogram av to ulike prøver lagt oppå hverandre; baseline egg (rosa) og egg bestrålt med UVB lys (sort). Hver prøve har tre topper; 1) ukjent komponent, 2) vitamin D<sub>2</sub> og 3) vitamin D<sub>3</sub>.

## 7.6. Standardkurve

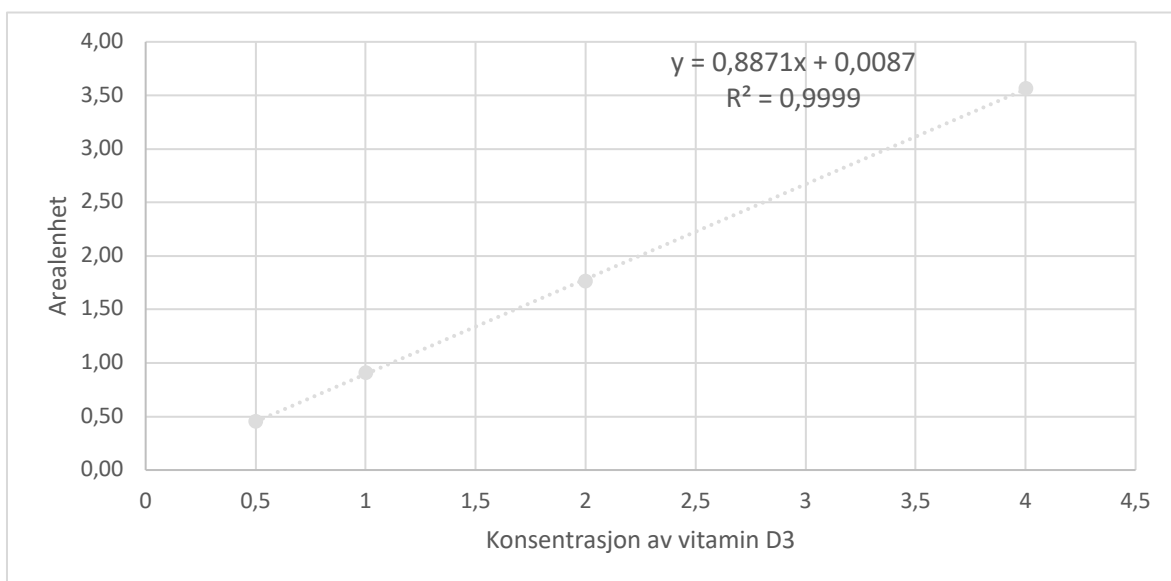
Ved hver analysedag ble en standardkurve satt opp ut ifra de kjente konsentrasjonene for vitamin D<sub>3</sub>. Fire standardløsninger med kjente konsentrasjoner som dekket det forventende konsentrasjonsområdet ble brukt. Siden internstandard ble brukt til å korrigere for variasjoner i prøveopparbeidelsen, er det også tilsatt internstandard i standardløsningene. Det

betyr at  $Y = \frac{\text{arealet av } D_3}{\text{arealet av } D_2}$ , mens  $X = \frac{\text{konsentrasjonen av } D_3}{\text{konsentrasjonen av } D_2}$ . Arealene ble hentet ut fra kromatogrammet.

Den lineære sammenhengen mellom areal og konsentrasjonen beskrives gjennom regresjonsligningen  $y = ax + b$ . A er stigningstallet og sier hvor mye grafen stiger eller synker, mens b er konstantleddet og sier hvor linjen krysser y-aksen.

Korrelasjonskoeffisienten,  $R^2$ , for regresjonsligningen ble beregnet for hver standardkurve og R bør være  $>0,99$ . Desto nærmere koeffisienten er tallet 1, jo sterkere lineær sammenheng er det mellom X og Y. I standardkurven er arealet og konsentrasjonen av vitamin  $D_3$  justert for internstandarden. Standardkurve fra en tilfeldig valgt dag er vist i figur 9.

For å kunne bruke regresjonsligningen til å finne den ukjente, altså konsentrasjonen av  $D_3$ , setter man inn Y fra den aktuelle prøven og løser ut med hensyn på X. Siden X er konsentrasjon  $D_3$  dividert på konsentrasjon  $D_2$ , må X ganges med konsentrasjon av  $D_2$ . Konsentrasjonen av  $D_2$  er kjent fordi den ble tilsatt helt i starten av prøveopparbeidelsen. Dermed vil man få konsentrasjonen av  $D_3$  i prøven.



Figur 9: Standardkurve med konsentrasjon av vitamin  $D_3$  på x-aksen og arealenhet på y-aksen.

Den lineære sammenhengen mellom arealenhetene og konsentrasjon av vitamin  $D_3$  fra figur 9 beskrives med regresjonsligningen  $y = 0,8871x + 0,0087$  med  $R=0,9999$ .

## 7.7. Statistikk

For å undersøke variasjon av egg innad i burene og variasjon mellom burene ble standardavvik ( $\sigma$ ) anvendt. Standardavvik er et mål på spredning og gir verdiens gjennomsnittlige avstand fra gjennomsnittet. Formelen for standardavviket er:  $\sigma = \sqrt{V}$ , der V er varians. Varians vil si hvor langt ifra en verdi er fra gjennomsnittsverdien. I en normalfordeling kan observasjonen ligge ett, to eller tre standardavvik innenfor gjennomsnittet, henholdsvis med 68,2%, 95,4% eller 99,8%.

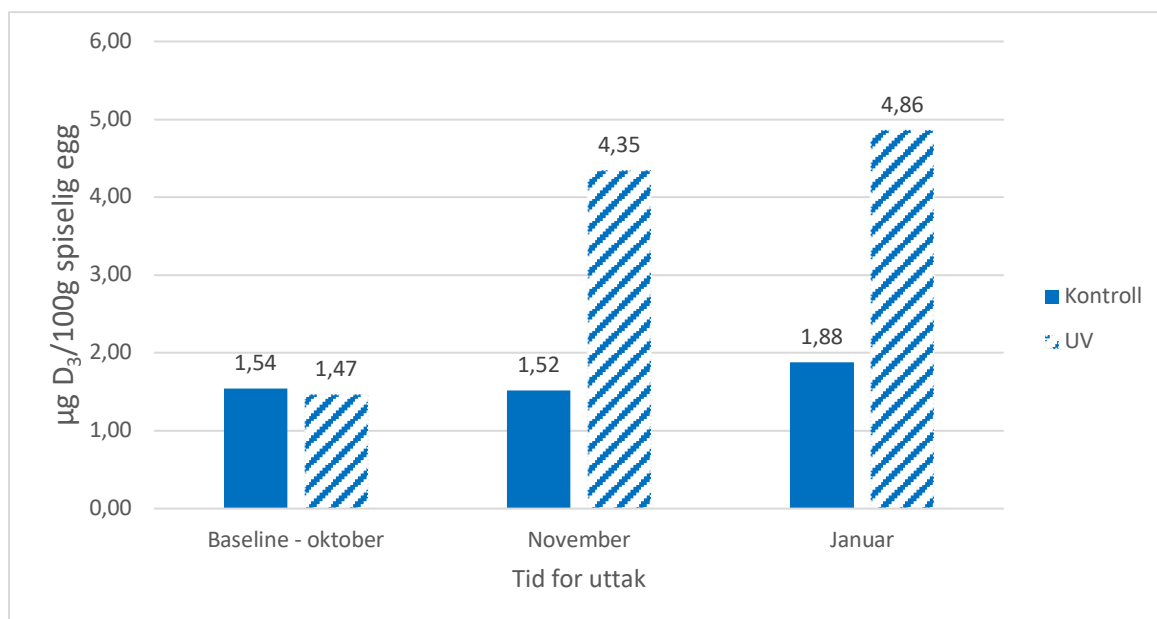
I tillegg ble konfidensintervall anvendt som et statistisk mål der en øvre og nedre grense blir bestemt. Et intervall blir estimert og størrelsen på intervallet påvirker sikkerheten. Desto større intervall, jo mer usikkerhet. Dersom man har mye variasjon og et lite utvalg vil konfidensintervallet bli bredere, og motsatt. Konfidensintervallet kan derfor si noe om hvor presise dataene er.

## 8. Resultat

Det ble gjennomført beregninger av vitamin D<sub>3</sub> innhold i eggene basert på kromatogrammene fra HPLC metoden. De viktigste resultatene fra overnevnt metode presenteres i dette resultatkapittelet.

### 8.1. Effekt av UVB lys over tid

Effekt av UVB lys over tid ble undersøkt ved å sammenlikne kontrollburene med burene eksponert for UVB lys fra hvert uttak. Figur 10 viser det gjennomsnittlige nivået av vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg ( $\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg) ved uttakene i oktober, november og januar. Det var en forskjell i mengde vitamin D<sub>3</sub> mellom kontrollburene og burene som ble eksponert for UVB lys. I baseline i oktober ble ingen bur eksponert for UVB lys. Figuren viser et tilsvarende likt nivå av vitamin D<sub>3</sub> i kontrollburene og bur med UVB eksponering i oktober, mens en økning av D<sub>3</sub> i UVB burene fra november og januar. I tillegg var det en liten økning i kontrollburene i januar.

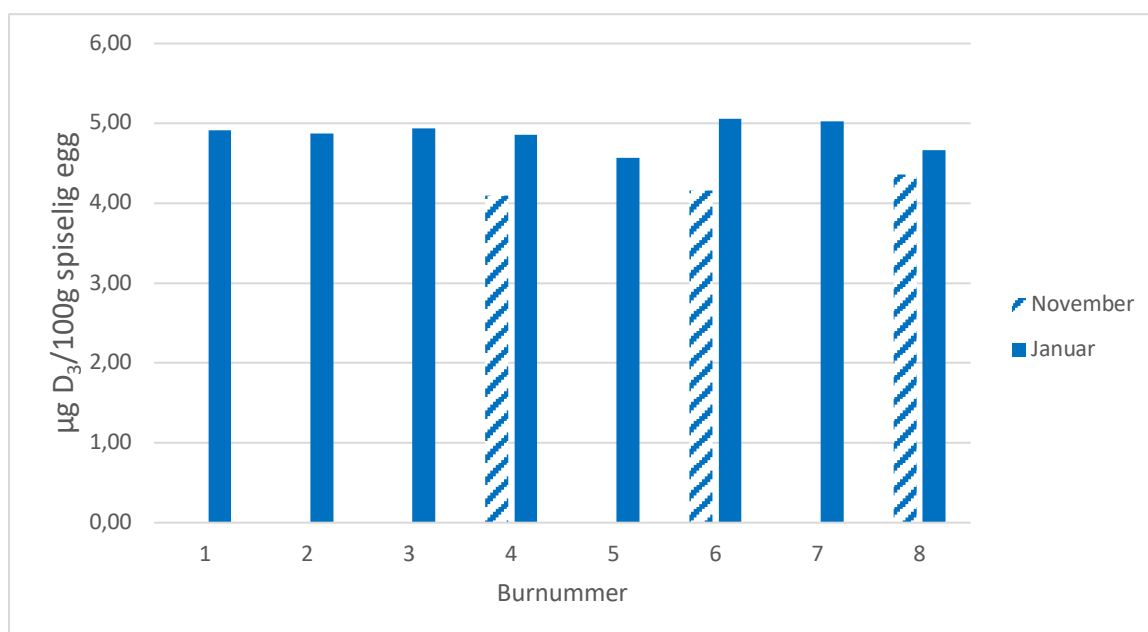


Figur 10: Effekt av UVB lys over tid på vitamin D innhold i egg ( $\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg) basert på kontrollbur og bur eksponert for UVB lys fra hvert uttak.

## 8.2. Variasjon av tid

### 8.2.1. Variasjonen mellom bur med UVB bestråling

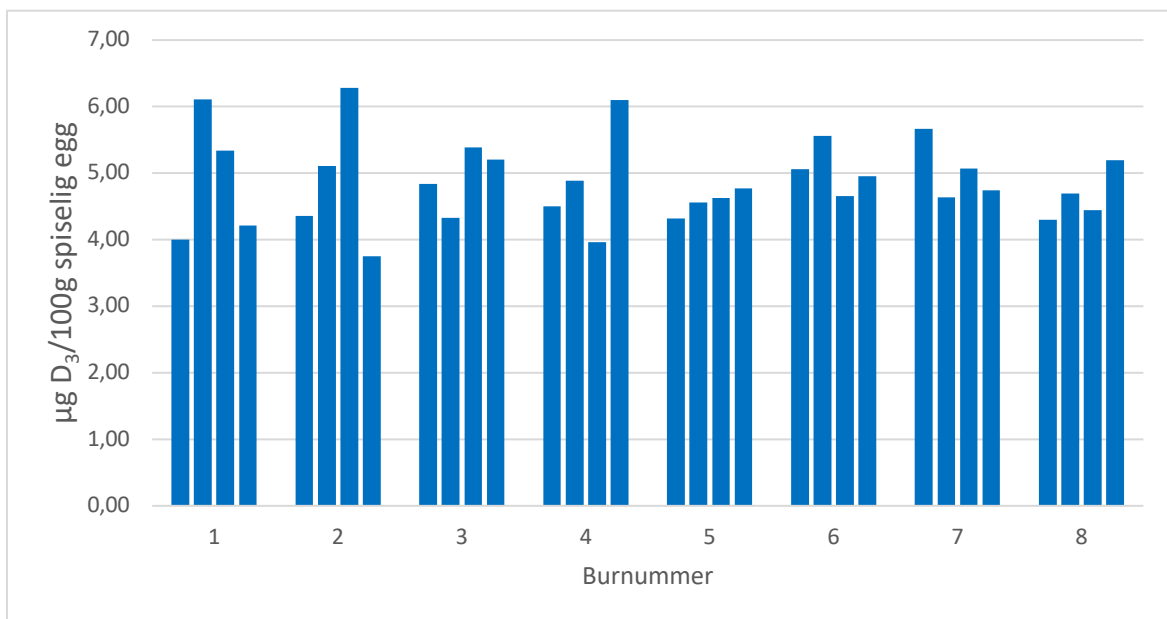
Variasjonen mellom burene ble illustrert med uttakene i november og januar. Kun de komplette burene der alle fire analyser på egg ble gjennomført ble inkludert. Dette for å undersøke om ulike bur ga forskjellige resultater og om det var en forskjell mellom burene. Figur 11 viser gjennomsnittlig vitamin D<sub>3</sub> innhold ( $\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg) mellom bur med UVB bestråling. I november var kun 3 av burene komplette med 4 analyser fra hvert bur, mens i januar var alle analysene gjennomført. Burene er inndelt numerisk 1-8.



*Figur 11: Gjennomsnittlig vitamin D<sub>3</sub> innhold ( $\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg) mellom bur med UVB bestråling fordelt på burnummer i november og januar.*

### 8.2.2. Variasjonen mellom hønene i burene med UVB bestråling

For å undersøke hvor stor variasjon det var mellom hønene i burene, ble vitamin D<sub>3</sub> innhold ( $\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg) i de fire eggene fra hvert bur fra januar med UVB bestråling fremstilt, se figur 12.



Figur 12: Vitamin D<sub>3</sub> innhold ( $\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg) i de fire eggene fra hvert bur fra januar med UVB bestråling.

### 8.3. Standardavviket innad i bur og mellom bur

For å undersøke om variasjonen innad i burene var lik variasjonen mellom burene ble det gjennomsnittlige standardavviket beregnet.

### 8.3.1. Standardavviket til egg innad i burene

Standardavviket til egg innad i burene ble beregnet ut ifra alle de fire analysene fra hvert bur i januar. Standardavviket for burnummer 1-8 presenteres i tabell 4. Tabellen viser et standardavvik fra 0,16 til 0,95 $\mu$ g vitamin D<sub>3</sub> per 100g spiselig egg.

Tabell 4: Standardavviket i  $\mu$ g vitamin D<sub>3</sub> per 100g spiselig egg innad i burene i januar.

| <b>Burnummer</b> | <b>Standardavvik<br/>(<math>\mu</math>g D<sub>3</sub>/100g<br/>spiselig egg)</b> |
|------------------|--|
| 1                | 0,85   |
| 2                | 0,95   |
| 3                | 0,41   |
| 4                | 0,78   |
| 5                | 0,16   |
| 6                | 0,33   |
| 7                | 0,40   |
| 8                | 0,34   |

### 8.3.2. Standardavviket mellom burene

Standardavviket mellom burene ble beregnet ved å ta utgangpunkt i gjennomsnittet innad i burene. Standardavviket mellom burene ble 0,16 $\mu$ g D<sub>3</sub>/100g spiselig egg.

### 8.3.3. Konfidensintervall og hvor mange egg som var innenfor ett, to og tre standardavvik

Konfidensintervallet og hvor mange egg som var innenfor konfidensintervallet ved ett, to og tre standardavvik er presentert i tabell 5. Ett standardavvik var  $0,16\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg og 68,2% av eggene var innenfor konfidensintervallet, mens ved to standardavvik,  $0,32\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg, var 95,4% innenfor. Ved tre standardavvik,  $0,48\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg, var 99,8% av burene innenfor intervallet.

*Tabell 5: Antall standardavvik fra gjennomsnittet, konfidensintervallet og hvor mange egg fra januar som var innenfor konfidensintervallet i prosent.*

| <b>Antall standardavvik fra gjennomsnittet</b> | <b>Konfidensintervall (<math>\mu\text{g D}_3/100\text{g}</math> spiselig egg)</b> | <b>Hvor mange egg var innenfor konfidensintervallet? (%)</b> |
|--|---|--|
| 1  | 4,70 - 5,02   | 68,2   |
| 2  | 4,54 - 5,18   | 95,4   |
| 3  | 4,38 - 5,34   | 99,8   |

### 8.4. Forskjellen mellom laveste og høyeste vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg i periodene

Forskjellen mellom laveste og høyeste mengde vitamin D<sub>3</sub> ( $\mu\text{g D}_3/100\text{g}$  spiselig egg) i kontrollburene og burene eksponert for UVB lys i november og januar vises i tabell 6. Det var en forskjell mellom burene på 20,51-51,96%. Forskjellen mellom burene var tilsvarende likt mellom burene i januar, mens i november var forskjellen lavere i kontrollburene enn i burene med UVB lys.

Tabellen viser at det ikke var noen overlapp mellom høyeste mengde i kontrollburene og laveste mengde i burene med UVB lys. I november og januar var det henholdsvis 47,8%



og 39,1% forskjell mellom høyeste mengde vitamin D<sub>3</sub> i kontrollburene og laveste mengde vitamin D<sub>3</sub> i bur med UVB lys.

*Tabell 6: Laveste og høyeste nivå av vitamin D<sub>3</sub> (µg D<sub>3</sub>/100g spiselig egg) i kontrollbur og bur eksponert for UVB lys i januar og november, samt forskjellen mellom laveste og høyeste nivå i prosent.*

| <b>Periode</b>  | <b>Bur</b> | <b>Lavest mengde vitamin D<sub>3</sub></b> | <b>Høyest mengde vitamin D<sub>3</sub></b> | <b>Forskjell (%)</b> |
|-----------------|------------|--|--|----------------------|
| <b>November</b> | Kontroll   | 1,29                                       | 1,62                                       | 20,51                |
|                 | UVB        | 3,10                                       | 6,46                                       | 51,96                |
| <b>Januar</b>   | Kontroll   | 1,30                                       | 2,29                                       | 43,13                |
|                 | UVB        | 3,75                                       | 6,29                                       | 40,33                |

## 9. Diskusjon

Pilotstudien demonstrerte en tredobling av vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg ved eksponering av UVB lys. I en slik situasjon kan ett egg (60g spiselig vare) inneholde 2,7µg vitamin D<sub>3</sub> etter UVB eksponering sammenliknet med 0,9µg vitamin D<sub>3</sub> uten UVB eksponering. Da kan ett egg dekke 27% av vitamin D anbefalingen på 10µg/dag.

Det ble sett en reell forskjell mellom burene eksponert for UVB lys og kontrollburene i pilotstudien. Ingen overlapp ble vist, idet det var 47,8% og 39,1% forskjell, i november og januar, mellom høyeste mengde vitamin D<sub>3</sub> i kontrollburene og laveste mengde vitamin D<sub>3</sub> i bur med UVB lys. Den tredoble økningen som sees kan dermed anses som sikker.

Tredoblingen av vitamin D<sub>3</sub> i pilotstudien ble sett etter 4 uker. Mellom uttakene i november og januar ble ikke vitamin D<sub>3</sub> innholdet i eggene endret. Basert på studiene på UVB eksponering av høns som foreligger i dag, kan det se ut som at UVB eksponering i 3-4 uker er nok for å gi et stabilt nivå av vitamin D<sub>3</sub> i egg. Det kan være logisk fordi en eggeplomme dannes i løpet av 2 uker. Da kan vitamin D innholdet ha blitt påvirket av vitamin D statusen til hønene før dannelsen av eggeplommen og tilførsel av vitamin D underveis. Litteratursøk på effekten av UVB lys på vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg viste at det har blitt gjennomført fire ulike studier; en studie på naturlig sollys (Kühn et al., 2014), en studie ved bruk av UVB lysrør (Kühn et al., 2015) og to studier ved kombinasjon av UVB lysrør og fôrberikning med vitamin D<sub>3</sub> (Lietzow et al., 2012; Schutkowski et al., 2013). Ved bruk av lysrør viste Kühn et al et høyt nivå av vitamin D<sub>3</sub> i egg etter UVB eksponering i 3 uker (Kühn et al., 2015). Etter 4 uker med naturlig soleksponering viste Kühn et al en lavere økning av vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg enn med UVB eksponering (Kühn et al., 2014). Det kan muligens forklares ved at man ikke kan forutsi hvor mye naturlig sollys man får, slik man kan med UVB lys. En annen grunn kan være at hønene legger seg ned slik at fjørene dekker for bena. Dermed kan vitamin D syntesen være lavere ved naturlig soleksponering enn ved UVB eksponering.

I studien til Schutkowski et al økte vitamin D<sub>3</sub> innholdet i egg når UVB lys ble anvendt uten å berike fôret (fra ~2 til 17,5µg/100g tørrstoff eggeplomme) (Schutkowski et al., 2013). Økningen ble sett etter 4 uker eksponering der UVB lys med 76µW/cm<sup>2</sup> ble brukt og plassert under fôrtroene. Hønene ble eksponert i 3 timer per dag. I studien ga UVB eksponering også høyere økning av vitamin D<sub>3</sub> innholdet i egg enn ved tilsetning av 75µg

vitamin D<sub>3</sub> per kg fôr (17,5 versus 5,2µg D<sub>3</sub>/100g tørrstoff eggeplomme). I Lietzow et al ble ingen økning av vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg observert ved kun UVB eksponering (Lietzow et al., 2012). UVB lyset, med dose på 15µW/cm<sup>2</sup>, ble plassert over burene og satt på 4\*15min per dag. I studien ble vitamin D<sub>3</sub> innholdet i eggeplommen >4µg vitamin D<sub>3</sub> per 100g tørrstoff ved fôrberikelse (75µg D<sub>3</sub>/kg fôr). Et uendret vitamin D<sub>3</sub> innhold ved UVB eksponering kan være på grunn av plasseringen av lyset. I tillegg kan for korte intervaller ha påvirket vitamin D syntesen. I andre studier, som Kühn et al og Schutkowski et al, var intervallene på 60min og lyset plassert under fôrtroene. En annen forklaring kan være for lav UVB dose, idet Lietzow et al anvendte 15µW/cm<sup>2</sup>, mens de andre studiene hadde en dose på 76µW/cm<sup>2</sup>.

Ingen av studiene har sett på om mer UVB lys kan øke vitamin D innholdet i egg. Det kan derfor ikke utelukkes at maksimalnivået av vitamin D<sub>3</sub> i egg kan økes ytterligere. Ut ifra Kühn et al kan det se ut til at vitamin D<sub>3</sub> innholdet i eggeplomme fortsetter å øke (Kühn et al., 2015). Det kan antas at høyere dosering kan øke maksimalnivået mer enn det høyeste nivået som ble funnet i pilotstudien og Kühn et al. I pilotstudien ble et høyere maksimalt vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg observert enn i Kühn et al (36,12 versus 28,6µg D<sub>3</sub>/100g tørrstoff eggeplomme). I pilotstudien ble det brukt lavere dosering per dag enn i Kühn et al. Dersom eksponeringstiden ble økt til 72min/dag i pilotstudien, som tilsvarte maksimal dose av UVB eksponering i Kühn et al, kunne muligens maksimalnivået ha økt ytterligere. Dette fordi pilotstudien varte lenger enn Kühn et al, og man kunne sett effekt av tilsvarende lik dosering over lenger tid. For å studere presist hva det maksimale nivået av vitamin D<sub>3</sub> innholdet i UVB eksponerte egg er, er det behov for flere eksperimentelle studier. I tillegg kan det være av interesse å se om vitamin D<sub>3</sub> innholdet igjen reduseres med redusert UVB eksponering.

På en annen side finnes flere studier på fôrberikning med vitamin D<sub>3</sub> og effekten av vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg. Disse studiene observerte et platå av vitamin D<sub>3</sub> innhold ved fôrberikning. Vitamin D<sub>3</sub> innholdet i egg stabiliserte seg på ca. 30µg per 100g eggeplomme med vitamin D<sub>3</sub> i fôret (fra 280 til 300µg D<sub>3</sub>/kg fôr) etter 8-13 dager berikning (Mattila et al., 2003), og etter 3 uker med berikning på opptil 250µg vitamin D<sub>3</sub> per kg fôr (Browning & Cowieson, 2013). I tillegg viste Yao et al en lignende økning av vitamin D<sub>3</sub>, og vitamin D<sub>3</sub> innholdet i egg ble stabilisert i 5 uker, men ble deretter redusert og økte tilsvarende mot slutten av hønenes leggesyklus (Yao et al., 2013). I studien ble fôret tilsatt vitamin D<sub>3</sub> (fra 55 til 2555µg D<sub>3</sub>/kg fôr) og hønene ble observert i 40 uker. Ved fôrberikning kan høns få et toksisk inntak, som ikke er tilfelle ved UVB eksponering fordi huden nedregulerer vitamin D syntesen ved å redusere omdannelsen av 7-DHC til pre-vitamin D<sub>3</sub> (Lamberg-Allardt et al.,

2013). Studier på økt vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg etter fôrberikning og UVB bestråling må derfor skilles fra hverandre.

I Kühn et al ble en tidobling av vitamin D<sub>3</sub> i eggeplomme observert (Kühn et al., 2015). Det ble tilsatt tilsvarende like mengder vitamin D<sub>3</sub> i fôret i Kühn et al og pilotstudien (62,5 og 68,75 µg D<sub>3</sub>/kg fôr). I Kühn et al studien ble en lav baseline sett (2,44 µg D<sub>3</sub>/100g tørrstoff eggeplomme). Baselinenivået i pilotstudien omregnet til tørrstoff i eggeplomme var 12,72 µg vitamin D<sub>3</sub> per 100g eggeplomme. Tilsvarende likt baseline nivå ble sett i studien fra Mattila et al (8,4 µg/100g tørrstoff eggeplomme) (Mattila et al., 1999). Dermed kan man konkludere med at Kühn et al hadde et usedvanlig lavt baselinenivå av vitamin D<sub>3</sub>. Både baselinetallene fra pilotstudien, Kühn et al og Mattila et al var lavere enn oppgitt i Matvaretabellen. De analyserte eggene fra Matvaretabellen ble i følge rapporten *Analyse av egg og kylling – næringsstoff- og miljøgiftanalyse 2016* innhentet i april og mai fra ulike butikker (Mattilsynet, 2017). Det var både konvensjonelle og økologiske egg. Et høyere vitamin D innhold kan komme av at de økologiske eggene var eksponert for sollys. I tillegg kan det være at analyseutvalget var for lite til å undersøke det gjennomsnittlige vitamin D<sub>3</sub> innholdet i eggeplomme i Norge. Dette kan gi et feil grunnlag for beregning av vitamin D i egg.

For å undersøke hvor UVB lyset bør plasseres har studiene Kühn et al og Schutowski et al gjennomført analyser av mengde 7-DHC på områder med og uten fjør hos høns (Kühn et al., 2015; Schutkowski et al., 2013). Kühn et al sine analyserer viste 0,31 og 930 µg 7-DHC per gram ben med og uten fjør (Kühn et al., 2015). Schutkowski et al viste 190 ganger så mye 7-DHC på ben uten fjør enn i hanekammen (Schutkowski et al., 2013). Ben med fjør hadde enda lavere nivå av 7-DHC. Basert på disse studiene kan det se ut til at det er nødvendig å plassere UVB lysene slik at de sentreres på bena til hønene, slik det ble gjort i pilotstudien og studiene til Kühn et al og Schutkowski et al. Feil plassering av UVB lyset kan som nevnt være en grunn til at Lietzow et al ikke så en økning av vitamin D<sub>3</sub> i egg. I en naturlig sammenheng blir bena til høns ofte minst eksponert. Høns kan eksempelvis ligge, slik at bena ikke blir tilgjengelig for soleksponering. En forklaring kan være at dette er en måte for hønene å beskytte seg mot soleksponering, sett fra evolusjonsperspektiv. I denne sammenheng hadde det vært interessant å undersøke om det er forskjell på hvilken del av bena til høns, for eksempel føtter versus legger, som har høyest vitamin D<sub>3</sub> syntese etter UVB eksponering.

En annen faktor som kan påvirke vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg er tilfeldig variasjon. I pilotstudien var det liten variasjon mellom burene med UVB lys, idet standardavviket var

0,16 $\mu$ g vitamin D<sub>3</sub> per 100g spiselig egg. Liten variasjon mellom hvert bur kan tyde på at monteringen av lyset var lik for hvert bur og at UVB dosen var tilnærmet lik for alle burene. Det kan se ut som at variasjonen skyldes en tilfeldighet. Derimot viste eggene innad i burene en større variasjon, fra 0,16 til 0,95 $\mu$ g vitamin D<sub>3</sub> per 100g spiselig egg. Om variasjonen skyldes tilfeldig variasjon eller andre faktorer er usikkert. Variasjonen kan komme av et mindre datasett, idet kun fire egg fra hvert bur ble analysert. Med flere gjentak reduseres også standardavviket, og man kunne muligens undersøke om variasjonen var på grunn av en tilfeldighet eller ikke. En annen årsak til variasjonen innad i burene kan være at hønene ble eksponert for ulik UVB dose. Lysrørene som ble montert var kortere enn burene, og hønene på hver ytterside av fôrtroene fikk muligens mindre UVB lys enn hønene i midten. Dette på grunn av at UVB dosen var beregnet ved 20cm avstand mellom lyskilden og lyspunktet.

Ved to standardavvik lå 95,4% av variablene i pilotstudien innenfor konfidensintervallet. Ved 5% signifikans ligger variasjonen innenfor intervallet med 95% sikkerhet. Etter UVB bestråling av burene var 95,4% av eggene innenfor konfidensintervallet fra 4,54 til 5,18 $\mu$ g vitamin D<sub>3</sub> per 100g spiselig egg. Det var 43,33% og 40,33% forskjell, i henholdsvis kontrollbur og bur med UVB lys, mellom laveste og høyeste mengde vitamin D<sub>3</sub> i egg fra januar. Et smalere konfidensintervall og mindre forskjell mellom laveste og høyeste mengde D<sub>3</sub> ville vist en mindre variasjon av vitamin D<sub>3</sub> innhold i eggene. I tillegg ville analysene vært mer solide. Det kunne blitt gjort ved å ha flere gjentak.

Det finnes både styrker og svakheter ved pilotstudien. De første analysene av eggene i oktober og november ga usikre resultater fordi analysen ikke var ferdig optimalisert på egg. Flere egg til rådighet under analyseringen og bedre tid kunne ha forbedret resultatene. På en annen side ble alle egg fra januar analysert korrekt, og man fikk likevel gode resultater fra et utvalg kontrollegg og UVB eksponerte egg. I tillegg burde UVB lyset, både styrke og dose, ha blitt vurdert. Dersom det hadde blitt gjort ville man trolig ha oppdaget tidligere at UVB lyset ble slått på 15min etter avtalt tidspunkt i oktober/november. Etter uttak av egg i november ble UVB lyset justert, og frem til januar stod lysene på med én gang fôringen begynte. Siden lys og fôr skulle være tilgjengelig samtidig kan det tenkes at flere høner ble ferdig med å spise før UVB lyset ble skrudd på. Eggene fra disse hønene ville muligens ha et lavere vitamin D<sub>3</sub> innhold enn hønene som spiste mot slutten. Til tross for det ble ingen endring i vitamin D<sub>3</sub> innhold observert mellom uttaket i november og januar.

I tillegg var resultatene sammenliknbare og viste lavere vitamin D<sub>3</sub> innhold i kontrollburene enn i burene med UVB lys. Kromatogrammet viste atskilte vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub> topper. Det vil si at det var en separasjon mellom toppene som var god nok, slik at arealet til

toppene ble målt separat. Med unøyaktighet i analysene ville det vært interferens som forstyrret vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub> toppene i kromatogrammet, og da ville resultatene vært mindre solide enn det som antydes i pilotstudien.

Hvor mye viktigere egget kan bli som en kilde til vitamin D avhenger blant annet av at produsentene ser nytteverdien av UVB berikede egg, og etterspørselen fra befolkningen. UVB berikede egg kan eksempelvis være en sesongvare ved at de produseres på vinteren når vitamin D mangelen er størst. En fordel med UVB berikede egg som sesongvare er at variable utgifter for drift av anlegget for produsentene vil opphøre på sommeren. Markedsføring er også viktig for å øke etterspørselen i befolkningen. De konvensjonelle eggene inneholder mer enn 30% av referanseverdien til vitamin D<sub>3</sub>. Dermed kan både eggene fra konvensjonell produksjon og med UVB eksponering merkes med «kilde til» og «høyt innhold av». Siden forskriftene i Norge tilsier at man ikke kan bruke ernæringspåstander som for eksempel «økt innhold av», vil muligheten være å deklare med en helsepåstand. En helsepåstand med informasjon om hvor mye vitamin D<sub>3</sub> ett egg inneholder kan for eksempel skille UVB manipulerte egg fra konvensjonelle egg.

Når ett egg bidrar med 27% av vitamin D anbefalingen, kan det bli enklere for befolkningen å innta nok vitamin D<sub>3</sub> når sollys ikke er tilgjengelig som en kilde. Dermed kan UVB eksponerte egg bli en god kilde til vitamin D for den norske befolkningen.

## 10. Konklusjon

Litteraturgjennomgangen av mineralene jod, selen og jern viste at berikning kan øke innholdet i egg betydelig. Jod- og seleninnholdet i egg er avhengig av type fôrberikning for å øke innholdet ytterligere. Jerninnholdet derimot ser ut til å interagere med andre næringsstoffer, og fôrberikning kan mulig økes i kombinasjon med blant annet sink og kobber.

Egg kan også bli en rikere kilde til vitamin D<sub>3</sub> ved å berike fôr, men i Norge ligger tilsetningen opp imot maksimal grense for tilsetning. Derfor er UVB eksponering av høner en mulighet til å øke vitamin D<sub>3</sub> innholdet i egg ytterligere. I den eksperimentelle pilotstudien ble det sett en tredobbel økning av vitamin D<sub>3</sub> innhold i egg ved å eksponere bena til høns for UVB lys. Denne økningen er ernæringsmessig god for egg, idet et UVB manipulert egg kan dekke 27% av vitamin D<sub>3</sub> anbefalingen fra Helsedirektoratet (10µg/dag). Det trengs flere studier for å bekrefte de foreløpige resultatene og for å bestemme UVB lysets intensitet og tid.

## 11. Referanser

- Bagley, M. F. (2016). *Fjørfeboka*. 2 utg.: Fagbokforlaget.
- Benkhedda, K., L'Abbe', M. R. & Cockell, K. A. (2010). Effect of calcium on iron absorption in women with marginal iron status. *British Journal of Nutrition*, 103: 742-748. doi: 10.1017/S0007114509992418.
- Bennett, D. C. & Cheng, K. M. (2010). Selenium enrichment of table eggs. *Poultry Science*, 89: 2166-2172. doi: 10.3382/ps.2009-00571.
- Binkley, N., Novotny, R., Krueger, D., Kawahara, T., Daida, Y. G., Lensmeyer, G., Hollis, B. W. & Drezner, M. K. (2007). Low Vitamin D Status despite Abundant Sun Exposure. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92 (6): 2130-2135. doi: 10.1210/jc.2006-2250.
- Black, L. J., Seamans, K. M., Cashman, K. D. & Kiely, M. (2012). An updated systematic review and meta-analysis of the efficacy of vitamin D food fortification. *The Journal of nutrition*, 142 (6): 1102. doi: 10.3945/jn.112.158014.
- Borch-Johnsen, B., Hagve, T. A., Hauge, A. & Thorstensen, K. (2009). Regulering av jernbalansen. *Tidsskriftet Den Norske Legeforening*, 129: 858-62. doi: 10.4045/tidsskr.08.0083.
- Browning, L. C. & Cowieson, A. J. (2013). Vitamin D fortification of eggs for human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 1389-1396. doi: 10.1002/jsfa.6425.
- Brustad, M., Alsaker, E., Engelsen, O., Aksner, L. & Lund, E. (2003). Vitamin D status of middle-aged women at 65–71oN in relation to dietary intake and exposure to ultraviolet radiation. *Public Health Nutrition*, 7 (2): 327-335. doi: 10.1079/PHN2003536.
- Charoensiriwatana, W., Srijantr, P., Teeyapant, P. & Wongvilairattana, J. (2010). Consuming iodine enriched eggs to solve the iodine deficiency endemic for remote areas in Thailand. *Nutrition Journal*, 9 (68). doi: 10.1186/1475-2891-9-68.
- Čobanová, K., Petrovič, V., Mellen, M., Arpášova, H., Grešáková, L. & Faix, S. (2011). Effects of Dietary Form of Selenium on Its Distribution in Eggs. *Biological Trace Element Research*, 144: 736-746. doi: 10.1007/s12011-011-9125-7.
- Combs, G. F. (2001). Review article: Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*, 85: 517-547. doi: 10.1079/BJN2000280.
- Cook, J. D. & Reddy, M. B. (2001). Effect of ascorbic acid intake on nonheme-iron absorption from a complete diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 93-8.



- Dahl, L., Opsahl, J. A., Meltzer, H. M. & Julshamn, K. (2003). Iodine concentration in Norwegian milk and dairy products. *British Journal of Nutrition*, 90: 679-685. doi: 10.1079/BJN2003921.
- Dahl, L., Johansson, L., Julshamn, K. & Meltzer, H. M. (2004). The iodine content of Norwegian foods and diets. *Public Health Nutr.*, 7 (4): 569-576. doi: 10.1079/PHN2003554.
- Dusso, A. S., Brown, A. J. & Slatopolsky, E. (2005). Vitamin D. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 289: F8-F28. doi: 10.1152/ajprenal.00336.2004.
- EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA). (2012). Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D. *EFSA Journal*, 10 (7): 2813. doi: 10.2903/j.efsa.2012.2813.
- EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA). (2016). Scientific opinion on dietary reference values for vitamin D. *EFSA journal*, 14 (10). doi: doi:10.2903/j.efsa.2016.4547.
- Eggemoen, Å. R., Knutsen, K. V., Dalen, I. & Jennum, A. K. (2013). Vitamin D status in recently arrived immigrants from Africa and Asia: a cross-sectional study from Norway of children, adolescents and adults. *BMJ Open*, 3. doi: 10.1136/bmjopen-2013-003293.
- Eggemoen, Å. R., Falk, R. S., Knutsen, K. V., Lagerløv, P., Sletner, L., Birkeland, K. I. & Jennum, A. K. (2016). Vitamin D deficiency and supplementation in pregnancy in a multiethnic populationbased cohort. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 16 (7). doi: 10.1186/s12884-016-0796-0.
- Engelsen, O., Brustad, M., Aksnes, L. & Lund, E. (2005). Daily Duration of Vitamin D Synthesis in Human Skin with Relations to Latitude, Total Ozone, Altitude, Ground Cover, Aerosols and Cloud Thickness. *Photochemistry and Photobiology*, 81: 1287-1290.
- Euroala, M. (2005). *Twenty Years of Selenium Fertilization*. Helsinki, Finland: MTT Agrifood Research Finland.
- European Food Safety Authority. (2006). *Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals*: Scientific Committee on Food (SCF) & Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA).
- European Union. (2018). *European Union Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC) No 1831/2003, Annex I: List of additives*: European Commission.
- FDA. (2016). *Food Additives Permitted for Direct Addition to Food for Human Consumption; Vitamin D2*: Office of the Federal Register. Tilgjengelig fra:

<https://www.federalregister.gov/documents/2016/07/18/2016-16738/food-additives-permitted-for-direct-addition-to-food-for-human-consumption-vitamin-d2>.

- FEEDAP Panel. (2005). Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request from the Commission on the evaluation of safety and efficacy of “Hy•D” (calcifediol), based on 25-hydroxylcholecalciferol/25-hydroxy-pre-cholecalciferol, as feed additive in accordance with Council Directive 70/524/EEC. *EFSA journal*, 224: 1-35.
- Fisinin, V. I., Papazyan, T. T. & Surai, P. F. (2009). Producing selenium-enriched eggs and meat to improve the selenium status of the general population. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29 (1): 18-28. doi: 10.1080/07388550802658030.
- Geiker, N. R. W., Larsen, M. L., Dyerberg, J., Stender, S. & Astrup, A. (2017). Egg consumption, cardiovascular diseases and type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*: 1-13.
- Greibrokk, T., Lundanes, E. & Rasmussen, K. E. (1984). *Kromatografi kompendium*. Oslo: Universitetsforlaget.
- Hagve, T. A., Åsberg, A., Ulvik, R., Borch-Johnsen, B. & Thorstensen, K. (2009). *Hemokromatose – fra underdiagnostisert curiositet til folkesykdom*: Tidsskriftet - Den Norske Legeforening. Tilgjengelig fra: <https://tidsskriftet.no/2009/04/oversiktsartikkel/hemokromatose-fra-underdiagnostisert-kuriositet-til-folkesykdom>.
- Hallberg, L., Brune, M. & Rossander, L. (1989). Iron absorption in man: ascorbic acid and dose-dependent inhibition by phytate. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49: 140-4.
- Hallberg, L., Brune, M., Erlandsson, M., Sandberg, A. S. & Rossander-Hultén, L. (1991). Calcium: effect of different amounts on nonheme and heme-iron absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53: 112-19.
- Hansen, L. B., Myhre, J. B., Johansen, A. M. W., Paulsen, M. M. & Andersen, L. F. (2016). *Ungkost 3 – landsomfattende kostholdsundersøkelse blant elever i 4.-8.klasse i Norge 2015*. Oslo: Universitetet i Oslo, Mattilsynet, Helsedirektoratet og Folkehelseinstituttet.
- Hansen, L. B., Myhre, J. B. & Andersen, L. F. (2017). *Ungkost 3 – landsomfattende kostholdsundersøkelse blant 4-åringer i Norge 2016*. Oslo: Universitetet i Oslo, Mattilsynet, Helsedirektoratet og Folkehelseinstituttet.
- Haug, A., Graham, R., Christophersen, O. A. & Lyons, G. H. (2007). How to use the world's scarce selenium resources efficiently to increase the selenium concentration in food.

- Microbial Ecology in Health and Disease*, 19: 209-228. doi: 10.1080/08910600701698986.
- Haug, A., Taugbøl, O., Prestløy, E., Govasmark, E., Salbu, B., Schei, I., Harstad, O. M. & Wendel, C. (2012). Iodine concentration in Norwegian milk has declined in the last decade. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science*, 62 (3): 127-134. doi: 10.1080/09064702.2012.754932.
- Health.gov. (2017). *A closer look inside healthy eating patterns - 2015-2020 dietary guidelines*: Health.gov. Tilgjengelig fra: <https://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines/chapter-1/a-closer-look-inside-healthy-eating-patterns/#table-1-1>.
- Helsedirektoratet. (2014). *Anbefalinger om kosthold, ernæring og fysisk aktivitet*. Oslo: Helsedirektoratet.
- Helsedirektoratet. (2015). *Utvikling i norsk kosthold 2014*. Oslo: Helsedirektoratet.
- Helsedirektoratet. (2016). *Utvikling i norsk kosthold 2016*. Oslo: Helsedirektoratet.
- Helsedirektoratet. (2017a). *Kostholdsundersøkelser*: Helsedirektoratet. Tilgjengelig fra: [http://www.matportalen.no/kosthold\\_og\\_helse/kostholdsundersokelser](http://www.matportalen.no/kosthold_og_helse/kostholdsundersokelser).
- Helsedirektoratet. (2017b). *Utvikling i norsk kosthold 2017*. Oslo: Helsedirektoratet.
- Holick, M. F. (2003). Vitamin D: A Millenium Perspective. *Journal of Cellular Biochemistry*, 88: 297-307. doi: 10.1002/jcb.10338.
- Holick, M. F. (2004). Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80: 1678S-88S.
- Holvik, K., Meyer, H. E., Haug, E. & Brunvand, L. (2005). Prevalence and predictors of vitamin D deficiency in five immigrant groups living in Oslo, Norway: the Oslo Immigrant Health Study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 59: 57-63. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602033.
- Holvik, K., Brunvand, L., Brustad, M. & Meyer, H. E. (2008). Vitamin D status in the Norwegian population. *Solar Radiation and Human Health*.
- Hunt, J. R., Mullen, L. M., Lykken, G. I., Gallagher, S. K. & Nielsen, F. H. (1990). Ascorbic acid: effect on ongoing iron absorption and status in iron-depleted young women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 51: 649-55.
- Hurrell, R. & Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91: 1461S-7S.

- Hurrell, R. F., Reddy, M. B., Juillerat, M. & Cook, J. D. (2006). Meat Protein Fractions Enhance Nonheme Iron Absorption in Humans. *Journal of Nutrition*, 136: 2808-2812.
- Hönigsmann, H. (2002). Erythema and pigmentation. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 18: 75-81.
- Institute of Medicine (US) Panel on Macronutrients. (2001). *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*. Washington (DC): National Academies Press (US).
- Johansson, L., Fagerli, R. A., Løken, E. B. & Andersen, L. F. (2012). *Norkost 3 – en landsomfattende kostholdsundersøkelse blant menn og kvinner i Norge i alderen 18-70 år, 2010-2011*. Oslo: Universitetet i Oslo, Mattilsynet og Helsedirektoratet.
- Jonchère, V., Réhault-Godbert, S., Hennequet-Antier, C., Cabau, C., Sibut, V., Cogburn, L. A., Nys, Y. & Gautron, J. (2010). Gene expression profiling to identify eggshell proteins involved in physical defense of the chicken egg. *Bio Medical Central Genomic*, 11 (57).
- Jones, G., Strugnell, S. A. & DeLuca, H. F. (1998). Current Understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. *The American Physiological Society*, 78 (4).
- Kühn, J., Schutkowski, A., Kluge, H., Hirche, F. & Stangl, G. I. (2014). Free-range farming: A natural alternative to produce vitamin D-enriched eggs. *Nutrition*, 30: 481-484.
- Kühn, J., Schutkowski, A., Hirche, F., Baur, A. C., Mielenz, N. & Stangl, G. I. (2015). Non-linear increase of vitamin D content in eggs from chicks treated with increasing exposure times of ultraviolet light. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 148: 7-13.
- Lamberg-Allardt, C., Brustad, M., Meyer, H. E. & Steingrimsdottir, L. (2013). Vitamin D - a systematic literature review for the 5th edition of the Nordic Nutrition Recommendations. *Food & Nutrition Research*, 57 (1): 22671. doi: 10.3402/fnr.v57i0.22671.
- Lande, B., Andersen, L. F., Kristiansen, A. L. & Øverby, N. C. (2008). *Spedkost 6 måneder – landsomfattende kostholdsundersøkelse blant 6 måneder gamle barn*. Oslo: Helsedirektoratet, Mattilsynet og Universitetet i Oslo.
- Lande, B., Andersen, L. F., Kristiansen, A. L. & Øverby, N. C. (2009a). *Spedkost 12 måneder - landsomfattende kostholdsundersøkelse blant 12 måneder gamle barn*. Oslo: Helsedirektoratet, Mattilsynet og Universitetet i Oslo.

- Lande, B., Kristiansen, A. L. & Andersen, L. F. (2009b). *Småbarnskost 2 år – landsomfattende kostholdsundersøkelse blant 2 år gamle barn*. Oslo: Helsedirektoratet, Mattilsynet og Universitetet i Oslo.
- Lietzow, J., Kluge, H., Brandsch, C., Seeburg, N., Hirche, F., Glomb, M. & Stangl, G. I. (2012). Effect of Short-Term UVB Exposure on Vitamin D Concentration of Eggs and Vitamin D Status of Laying Hens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 799-804. doi: 10.1021/jf204273n.
- Lovdata. (2002). *Forskrift om fôrvarer - EØF*: Landbruks- og matdepartementet, Fiskeri- og kystdepartementet. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/static/LTI/ltavd1/lt2002/icons/ld-20021107-1290-v3.pdf?timestamp=0>.
- Lunestad, B. R. (2016). *Dette vet vi om mattrygghet for tang og tare*: Havforskningsinstituttet. Tilgjengelig fra: <https://nifes.hi.no/dette-vet-vi-om-mattrygghet-tang-og-tare/> (lest 19.01.2018).
- Lupu, C. & Robins, S. (2013). Determination of a Safe and Effective Ultraviolet B Radiant Dose in Budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): A Pilot Study. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 27 (4): 269-279.
- MacLaughlin, J. & Holick, M. F. (1985). Aging Decreases the Capacity of Human Skin to Produce Vitamin D3. *The Journal of Clinical Investigation*, 76: 1536-1538.
- Mahan, L. K., Escott-Stump, S. & Raymond, J. L. (2012). *Krause's Food and the Nutrition Care Process*. 13 utg. Missouri: Elsevier Health Sciences.
- Matsuoka, L. Y., Ide, L., Wortsman, J., MacLaughlin, J. A. & Holick, M. F. (1987). Sunscreens Suppress Cutaneous Vitamin D3 Synthesis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 64 (6): 1165.
- Mattila, P., Piironen, V., Bäckman, C., Asunmaa, A., Uusi-Rauva, E. & Koivistoinen, P. (1992). Determination of Vitamin D3 in Egg Yolk by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5: 281-290.
- Mattila, P., Lehtikoinen, K., Kiiskinen, T. & Piironen, V. (1999). Cholecalciferol and 25-Hydroxycholecalciferol Content of Chicken Egg Yolk As Affected by the Cholecalciferol Content of Feed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4089-4092.
- Mattila, P., Rokko, T., Könkö, K., Valaja, J., Rossow, L. & Ryhänen, E. L. (2003). Effect of Cholecalciferol-Enriched Hen Feed on Egg Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 283-287.

- Mattilsynet. (2010). *Forskrift om ernærings- og helsepåstander om næringsmidler - Liste over tillatte helsepåstander*: Helse- og omsorgsdepartementet. Tilgjengelig fra: [https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2010-02-17-187/KAPITTEL\\_1-27-1-1#KAPITTEL\\_1-27-1-1](https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2010-02-17-187/KAPITTEL_1-27-1-1#KAPITTEL_1-27-1-1).
- Mattilsynet. (2013). *Trenger jeg å følge regelverket for ernærings- og helsepåstander? - Veileder til påstandsforskriften og påstandsforordningen*. Oslo: Mattilsynet. Tilgjengelig fra: [https://www.mattilsynet.no/om\\_mattilsynet/gjeldende\\_regelverk/veiledere/veileder\\_til\\_regelverket\\_for\\_ernaerings\\_og\\_helsepaastander.9427/binary/Veileder%20til%20regelverket%20for%20ern%C3%A6rings-%20og%20helsep%C3%A5stander](https://www.mattilsynet.no/om_mattilsynet/gjeldende_regelverk/veiledere/veileder_til_regelverket_for_ernaerings_og_helsepaastander.9427/binary/Veileder%20til%20regelverket%20for%20ern%C3%A6rings-%20og%20helsep%C3%A5stander).
- Mattilsynet. (2014). *Forskrift om matinformasjon til forbrukerne (matinformasjonsforskriften)*. Norge: Landbruks- og matdepartementet, Nærings- og fiskeridepartementet, Helse- og omsorgsdepartementet. Tilgjengelig fra: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2014-11-28-1497?q=referanseverdi%20vitamin%20D%20n%C3%A6ringsmiddel>.
- Mattilsynet. (2015). *Nye krav til næringsdeklarasjonen*: Mattilsynet. Tilgjengelig fra: [https://www.mattilsynet.no/mat\\_og\\_vann/merking\\_av\\_mat/generelle\\_krav\\_til\\_merking\\_av\\_mat/nye\\_krav\\_til\\_naeringsdeklarasjonen.20419](https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/merking_av_mat/generelle_krav_til_merking_av_mat/nye_krav_til_naeringsdeklarasjonen.20419).
- Mattilsynet. (2016). *Ernærings- og helsepåstander*. Tilgjengelig fra: [https://www.mattilsynet.no/mat\\_og\\_vann/merking\\_av\\_mat/ernaerings\\_og\\_helsepaastander/#regelverk](https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/merking_av_mat/ernaerings_og_helsepaastander/#regelverk) (lest 25.03.2018).
- Mattilsynet. (2017). *Analyse av egg og kylling – næringsstoff- og miljøgiftanalyser 2016*. Oslo: Mattilsynet.
- Mattilsynet Helsedirektoratet UiO. (2017). *Matvaretabellen* Tilgjengelig fra: [www.matvaretabellen.no](http://www.matvaretabellen.no).
- Meltzer, H. M., Torheim, L. E., Brantsæter, A. L., Madar, A., Abel, M. H. & Dahl, L. (2016). *Risiko for jodmangel i Norge - identifisering av et akutt behov for tiltak*. Oslo: Nasjonalt råd for ernæring.
- Mensink, G. B. M., Fletcher, R., Gurinovic, M., Huybrechts, I., Lafay, L., Serra-Majem, L., Szponar, L., Tetens, I., Verkaik-Kloosterman, J., Baka, A., et al. (2013). Mapping low intake of micronutrients across Europe. *British Journal of Nutrition*, 110: 755-773. doi: 10.1017/S000711451200565X.

- Meyer, H., Brunvand, L., Brustad, M., Holvik, K., Johansson, L. & Paulsen, J. E. (2006). *Tiltak for å sikre en god vitamin D-status i befolkningen*. Oslo: Nasjonalt råd for ernæring.
- Meyer, H. E., Smedshaug, G. B., Kvaavik, E., Falch, J. A., Tverdal, A. & Pedersen, J. I. (2002). Can Vitamin D Supplementation Reduce the Risk of Fracture in the Elderly? A Randomized Controlled Trial. *Journal of bone and mineral research*, 17 (4): 709-715.
- Meyer, H. E., Falch, J. A., Sjøgaard, A. J. & Haug, E. (2004). Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism and the association with bone mineral density in persons with Pakistani and Norwegian background living in Oslo, Norway, The Oslo Health Study. *Bone*, 35: 412-417. doi: 10.1016/j.bone.2004.04.003.
- Mosekilde, L. (2005). Vitamin D and the elderly. *Clinical Endocrinology*, 62: 265-281. doi: 10.1111/j.1365-2265.2005.02226.x.
- Mullur, R., Liu, Y. Y. & Brent, G. A. (2014). Thyroid Hormone Regulation of Metabolism. *Physiological Reviews*, 94 (2): 355-382. doi: 10.1152/physrev.00030.2013.
- Nordic Council of Ministers. (2014). *Nordic Nutrition Recommendations 2012 - Integrating nutrition and physical activity*. I: 2014:002, N. (red.). Copenhagen.
- Nys, Y., Bain, M. & Van Immerseel, F. (2011). *Improving the safety and quality of eggs and egg production*. , b. 1: Egg chemistry, production and consumption. . Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Nyström, H. F., Brantsæter, A. L., Erlund, I., Gunnarsdottir, I., Hulthén, L., Laurberg, P., Mattisson, R., Rasmussen, L. B., Virtanen, S. & Meltzer, H. M. (2016). Iodine status in the Nordic countries past and present. *Food & Nutrition Research*, 60. doi: 10.3402/fnr.v60.31969.
- Paik, I., Lee, H. & Park, S. (2009). Effects of Organic Iron Supplementation on the Performance and Iron Content in the Egg Yolk of Laying Hens. *Japan Poultry Science Association*, 46: 198-202. doi: 10.2141/jpsa.46198.
- Park, S. W., Namkung, H., Ahn, H. J. & Paik, I. K. (2005). Enrichment of vitamin D3, K and Iron in Eggs of Laying Hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18 (2): 226-229.
- Rajasekaran, A. & Kalaivani, M. (2013). Designer foods and their benefits: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 50 (1): 1-16. doi: 10.1007/s13197-012-0726-8.
- Regjeringen. (2017). *Fôrvarer*: Landbruks- og matdepartementet / Nærings- og fiskeridepartementet. Tilgjengelig fra: <https://www.regjeringen.no/no/sub/eos-notatbasen/notatene/2017/juli/forvarer2/id2570151/>.

- Revell, D. K., Zarrinkalam, M. R. & Hughes, R. J. (2009). Iron content of eggs from hens given diets containing organic forms of iron, serine and methyl group donors, or phytoestrogens. *British Poultry Science*, 50 (4): 536-542. doi: 10.1080/00071660903092612.
- Rouhani, M. H., Rashidi-Pourfard, N., Salehi-Abargouei, A., Karimi, M. & Haghghatdoost, F. (2018). Effects of Egg Consumption on Blood Lipids: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Journal of the American College of Nutrition*, 37 (2): 99-110. doi: 10.1080/07315724.2017.1366878.
- Schrauzer, G. N. & Surai, P. F. (2009). Selenium in human and animal nutrition: Resolved and unresolved issues. A partly historical treatise in commemoration of the fiftieth anniversary of the discovery of the biological essentiality of selenium, dedicated to the memory of Klaus Schwarz (1914–1978) on the occasion of the thirtieth anniversary of his death. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29 (1): 2-9. doi: 10.1080/07388550902728261.
- Schutkowski, A., Krämer, J., Kluge, H., Hirche, F., Krombholz, A., Theumer, T. & Stangl, G. I. (2013). UVB Exposure of Farm Animals: Study on a Food-Based Strategy to Bridge the Gap between Current Vitamin D Intakes and Dietary Targets. *PLoS ONE*, 8 (7). doi: 10.1371/journal.pone.0069418.
- Skrivan, M., Skrivanová, V. & Marounek, M. (2005). Effects of Dietary Zinc, Iron, and Copper in Layer Feed on Distribution of These Elements in Eggs, Liver, Excreta, Soil, and Herbage. *Poultry Science*, 84: 1570-1575.
- Słupczyńska, M., Jamroz, D., Orda, J. & Wiliczekiewicz, A. (2014). Effect of various sources and levels of iodine, as well as the kind of diet, on the performance of young laying hens, iodine accumulation in eggs, egg characteristics, and morphotic and biochemical indices in blood. *Poultry Science*, 93: 2536-2547. doi: 10.3382/ps.2014-03959.
- Smith, D. G. (2007). Epidemiology of dyslipidemia and economic burden on the healthcare system. *American Journal of Managed Care*, 3: 68-71.
- Spiro, A. & Buttriss, J. L. (2014). Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutrition Bulletin*, 39: 322-350. doi: 10.1111/nbu.12108.
- Statistisk sentralbyrå (SSB). (2017). *Innvandrere og norskfødte med innvandrereforeldre*. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/innvbef> (lest 15.01.2018).
- Sumaiya, S., Nayak, S., Baghel, R. P. S., Nayak, A., Malapure, C. D. & Kumar, R. (2016). Effect of dietary iodine on production of iodine enriched eggs. *Veterinary World*, 9 (6): 554-558. doi: 10.14202/vetworld.2016.554-558.



- Surai, P. F., MacPherson, A., Speake, B. K. & Sparks, N. H. C. (2000). Designer egg evaluation in a controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54: 298-305.
- Surai, P. F. & Fisinin, V. I. (2014). Selenium in poultry breeder nutrition: An update. *Animal Feed Science and Technology*, 191: 1-15. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2014.02.005.
- Van der Wielen, R. P. J., De Groot, L. C. P. G. M., Van Staveren, W. A., Löwik, M. R. H., Van den Berg, H., Haller, J. & Moreiras, O. (1995). Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *The Lancet*, 346: 207-210. doi: 10.1016/S0140-6736(95)91266-5.
- Wade, L. L. & Baines, F. M. (2008). Ultraviolet-induced photokeratitis in a Meyer's parrot (*Poicephalus meyeri*) and ultraviolet-induced photodermatitis in an African grey parrot (*Psittacus erithacus*). *Proceedings of the Annual Conference Association of Avian Veterinarians*: 421-422.
- Webb, A. R. (2006). Who, what, where and when—influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 92: 17-25. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2006.02.004.
- Webb, A. R. & Engelsens, O. (2006). Calculated Ultraviolet Exposure Levels for a Healthy Vitamin D Status. *Photochemistry and Photobiology*, 82: 1697-1703.
- WHO. (2007). *Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Yao, L., Wang, T., Persia, M., Horst, R. L. & Higgins, M. (2013). Effects of Vitamin D3-Enriched Diet on Egg Yolk Vitamin D3 Content and Yolk Quality. *Journal of Food Science*, 78 (2): 178-183. doi: 10.1111/1750-3841.12032.

## Vedlegg

### Vedlegg 1: Standardisert metode for å skille eggeplomme fra eggehvite

Dag 1: Eggene ble samlet inn.

Dag 2: Dagen etter ble eggene hentet og en standardisert metode ble utviklet for å skille eggeplommen fra eggehviten. Metoden ble først utprøvd ved hjelp av 6 egg fra butikk. Idet det er en nokså stor forskjell mellom ferske og lagrede egg, ble metoden utprøvd på et par ferske egg for å optimalisere metoden. Metoden ble som følger:

#### Utstyr

- Laboratorievekt med vindskydd
- Eggeskiller
- Beholder til rester
- Plastikkbeholder
- Frysetape
- Tusj
- Penn

1. Hele egget ble veid ved hjelp av en laboratorievekt med vindskydd som var utstyrt på laboratoriet. Vekten ble notert.
2. Eggeskallet ble knust med et lite dunk i benkeplaten.
3. Eggeplomme og –hvite ble overført til en eggeskiller.
4. Innholdet ble overført frem og tilbake mellom to eggeskillere, slik at eggehviten rant gjennom små åpninger på undersiden. Totalt 4 forflytting av eggeplommen ble brukt. Obs! Pass på å ikke la eggeplommen bli altfor tørr, da sprekker den.
5. På undersiden av eggeskilleren ble eventuelle rester fra eggehviten fjernet manuelt.
6. Den hele eggeplommen ble overført til en plastikkbeholder.
7. Plastikkbeholderen ble nummerert med dato og burnummer ved hjelp av frysetape på lokket, samt på beholderen med en tusj.
8. Laboratorievekten ble nullstilt ved hjelp av plastikkbeholderen uten lokk.
9. Eggeplommen (i plastikkbeholderen uten lokk) ble deretter veid. Vekten ble notert.
10. Ferdigveid eggeplomme ble plassert for seg.

11. Alle stegene ble gjentatt for hvert egg.
12. Når vi hadde alle eggeplommene ble de satt inn i  $-20^{\circ}\text{C}$ , og overført til  $-80^{\circ}\text{C}$  den påfølgende dagen for lagring frem til analysering.

## Vedlegg 2: Prosedyre – analysering av vitamin D<sub>3</sub>

### **Prøvepreparering og forsåpning**

- Tint eggeplomme homogeniseres og tas over i 250 mL erlenmeyerkolbe
- Husk å registrere ny vekt på plomma
- Tilsett
  - 1mL intern standard  
(D<sub>2</sub> løst i Metanol) – (tilsvarer 1µg hvis C = 1µg/mL)
  - 20mL askorbinsyre (10% w/v, løst i destillert H<sub>2</sub>O)
  - 50mL kaliumlut/KOH (50% w/v, i destillert H<sub>2</sub>O)
  - 100mL Etanol (99%)
- Tilsett magnet-rører
- Boble med N<sub>2</sub>-gass i 30 sekunder
- Forsegl med parafilm
- Sett på røring over natt (romtemperatur)

### **Væske-væske ekstraksjon**

- Prøven helles i 500mL separasjonstrakt
- Ekstraher x 2 med 150mL petroleumseter:dietyl eter (1:1) i 2min.
  - o Nederste fase (vandig) tappes ut og samples opp for ekstraksjon nr 2
  - o Øverste fase (eter) tappes ut og spares
- Kombiner eter-ekstraktene - vask m/destillert H<sub>2</sub>O til nøytral pH (5 x 50mL)
  - o Nederste fase kastes (vandig)
  - o øverste fase tørkes med Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> og filtreres med rundfilter
- Damp inn over natt i romtemperatur

### **SPE (fast-fase ekstraksjon)**

Mega Bond Elut Silica SPE, 2g, 12mL

- Kondisjoner: 20mL heptan
- Påsett prøve

- Vask: 20mL heptan
- Vask: 50mL 0,5% Isopropanol i heptan
- Eluere D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub>: 35mL 0,5% isopropanol i heptan
- Damp inn, reløse i 2mL heptan

### **Semipreparativ Normal fase -LC**

- Kolonne: Ascentis®Si (25cm x 4.6mm, 5µm)
- UV: 264nm
- Mobilfase: heptan:isopropanol (99:1)
- Flow rate: 1mL/min
- Injeksjonsvolum: 0,5mL
- Samle opp fraksjoner mellom 8 og 16min
- Damp inn, reløse i 200µL MeOH

### **Kvantifisering RP-LC**

- Kolonne: SUPELCO<sup>TM</sup>SIL-18 (15cm x 4.6mm, 5µm)
- UV: 264nm
- Mobilfase: Metanol:H<sub>2</sub>O (94:6)
- Flow rate: 1mL/min
- Injeksjonsvolum: 0,05mL
- Gradient pumpe, Ultimate 3000 (Dionex).
- Autosampler, Ultimate 3000 (Dionex)
- UV detektor, Ultimate 3000 Variable Wavelength detector (Dionex)
- Labdataprogram, Chromeleon (Dionex)

### Vedlegg 3: Vitamin D prosedyre – steg for steg

Homogenisert eggeplomme + D<sub>2</sub>, som intern standard



Alkalisk forsåpning over natt I romtemperatur



Ekstraksjon av uforsåpbart material + vask med destillert H<sub>2</sub>O til nøytral pH



Ekstrakt dampes inn + reløses I 10mL heptan



SPE opprensning med Mega Bond Elut silica kolonner



Ekstrakt dampes inn + reløses I 2mL heptan



Semipreparative HPLC (normal fase kolonne: Ascentis®Si) Mobilfase: heptan:isopropanol,  
99:1



Fraksjon med D<sub>3</sub> og D<sub>2</sub> dampes inn + reløses i 0,2mL metanol



Analytisk HPLC (omvendt fase kolonne: Supelcosil™LC-18) Mobilfase: MeOH:H<sub>2</sub>O, 94:6



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

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
Norway