

Sporelementer i morsmelk

Tina Constanse Rosvold Eik

Masteroppgave

Masterprogram i helsefag

RAB-fag

Institutt for global helse og samfunnsmedisin



Vår

2016

Forord

Denne studien er en del av en større studie, Longitudinelle endringer i ernæringsparametere under svangerskap og amming. Jeg fikk tilbud om å være med på studien i 2012, da jeg var deltaker i studien og leverte morsmelk til Anne-Lise Bjørke Monsen. Det var nok uansett meg som skulle analysere morsmelken, men det blir desto gøyere å gjøre det når man får være den som vurderer alle resultatene i ettertid også. Så takk for at jeg fikk muligheten til å skrive nettopp denne masteroppgaven, Jeg må også takke Anne-Lise Bjørke Monsen og Kristin Varsi som har samlet inn alt prøvematerialet, slik at det eneste jeg trengte å gjøre var å etablere en metode og analysere prøvene. For å etablere en metode har Paul Johan Høl vært en god støttespiller, da han har mye erfaring med mikrobølgedekomponering og ICP-MS analyse. Jeg vil også takke Bjørn Bolann som er en guru på metodeutvikling og statistikk, og som hjelper meg å komme i gang. Jeg vil også takke seksjonsleder ved Porfyriseksjonen ved Lab for klinisk biokjemi, Alexander Blø, for tilrettelegging av arbeidstid og arbeidsforhold, samt psykisk støtte underveis. En spesiell takk må også rettes til Jose Åsheim Ojeda har vært essensiell i forbindelse med denne masteren, for hadde det ikke vært for han hadde ikke Element2en klart å produsere et eneste resultat.

Jeg vil også takke Lab for klinisk Biokjemi for permisjon i forbindelse med masteroppgaven og Bioingeniørfaglig Institutt (BFI) for finansiell støtte.

Og til slutt, tusen takk til min mann, Øystein Eik, for all tiden jeg har fått lov til å være på laboratoriet og alle dagene jeg har fått sitte i fred og ro for å skrive etterpå, og din støtte og dine positive oppmuntringer – jeg hadde ikke klart dette uten ditt samarbeid.

Innhold

Forord.....	2
Innhold	3
Ordliste.....	6
Sammendrag	1
Abstract.....	2
Bakgrunn.....	3
Problemstilling	5
Metode	5
Deltakere.....	5
Statistiske analyser	6
Teori.....	7
Morsmelk som matriks	7
Mikrobølgedekomponering	7
HR-ICP-MS	9
Interferenser.....	11
Isobare interferenser.....	11
Dobbeltladde ioner og molekylære interferenser	12
Matrikseffekter	13
Metodeutvikling.....	14
Prøveopparbeiding.....	14
Deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense.....	15
Linearitet.....	15
Presisjon	17
Nøyaktighet	17
Seronorm Trace Element Serum	17
Melkepulver	18

Ekstern kvalitetskontroll.....	18
Resultater metodeutvikling	19
Prøveopparbeiding	19
Deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense	22
Linearitet	24
Måleområde	26
Nøyaktighet og presisjon	27
Resultater morsmelk.....	31
Diskusjon metodeutvikling	54
Deteksjonsgrense, kvantifiseringsgrense og måleområde	54
Linearitet	55
Nøyaktighet og presisjon	56
Diskusjon morsmelkresultat	58
Essensielle element	59
Jern.....	59
Kobber	63
Kobolt	64
Krom.....	66
Magnesium	67
Mangan	68
Molybden.....	69
Selen	69
Sink.....	71
Element uten kjent virkning.....	73
Nikkel	73
Rubidium	74
Strontium	74

Vanadium	75
Toksiske element	76
Antimon.....	76
Bly.....	76
Kadmium.....	78
Kvikksølv	80
Thallium	81
Tinn	81
Begrensninger	82
Konklusjon.....	84
Referanser	85
Vedlegg.....	93
Vedlegg A Utstyrliste prøveopparbeiding	93
Vedlegg B Instrumentelle betingelser	93
Vedlegg C Standarder.....	97
Vedlegg D Blank rådata	98
Vedlegg E Spearmans rank korrelasjoner, resultater fra 6 uker etter fødsel	99
Vedlegg F Spearmans rank korrelasjoner, resultater fra 4 måneder etter fødsel.....	100
Vedlegg G Spearmans rank korrelasjoner, resultater fra 6 måneder etter fødsel	101
Vedlegg H Godkjenning fra REK	102

Ordliste

ICP-MS = Induktivt koblet plasma massespektrometri («inductively coupled plasma mass spectrometry»)

HDPE = «high density polyethylene»

HPLC = høytrykk-væskekromatografi («high pressure liquid chromatography»)

HR = høy oppløsning («high resolution»)

In-Hg = uorganisk kvikksølv

IQR= interkvartil-område («inter quartile range»)

LDPE = “low density polyethylene”

LQ = Kvantifiseringsgrense («limit of quantification»)

Me-Hg = metylert kvikksølv

MR = medium oppløsning («medium resolution»)

PP = polypropylen

SD = Standard avvik («standard deviation»)

VK = variasjonskoeffisient

Sporelementer:

Ag = Sølv

As = Arsen

B = Bor

Ba = Barium

Be = Beryllium

Ca = Kalsium

Cd = Kadmium

Co = Kobolt

Cr = Krom

Cs = Cesium

Cu = Kobber

Fe = Jern

K = Kalium

Li = Litium

Mg = Magnesium

Mn = Mangan

Mo = Molybden

Na = Natrium

Ni = Nikkel

P = Fosfor

Pb = Bly

Rb = Rubidium

S = Svovel

Sb = Antimon

Se = Selen

Sr = Strontium

U = Uran

V = Vanadium

Zn = Sink

Sammendrag

Nivået av sporelementer i morsmelk har betydning for barnets vekst og utvikling. Noen sporelementer, som sink, kobber, bly og kadmium, er grundig undersøkt i morsmelk, mens andre er lite undersøkt. Denne studien har som mål å undersøke sporelementene i morsmelk hos norske kvinner og etablere en metode for analysering av As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Sr, Tl, V og Zn i morsmelk.

Studiepopulasjonen inkluderte 121 gravide. De ble rekruttert i svangerskapsuke 18 og fulgt til 6 måneder etter fødsel. Det ble samlet inn morsmelk fra 85 mødre ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. 61 av disse leverte morsmelk på alle tre tidspunktene.

Morsmelk-prøvene ble dekomponert med mikrobølgeovn og analysert på dobbelt-fokuserende høyopløselig ICP-MS (Element2). Analysemetoden var tilfredsstillende for alle elementene med unntak av arsen, beryllium, litium som ikke lot seg kvantifisere, og for krom og vanadium, som hadde for høy kvantifiseringsgrense.

Resultatene viste en signifikant nedgang i ammeperioden for elementene Fe, Cu, Mo, Rb, Se, Sr, Tl og Zn, mens Mg økte signifikant. Resultatene er sammenlignbare med tidligere publikasjoner, men for jern og selen var nivåene lavere enn tidligere publikasjoner. De toksiske elementene Cd, Hg og Pb hadde lavere nivå enn det som er funnet i andre land.

Metoden er velegnet for å evaluere sporelementer i morsmelk og studien viser at norske barn er lite utsatt for toksiske metaller fra morsmelk, og at nivået av viktige essensielle sporelementer faller betydelig i løpet av ammeperioden.

Nøkkelord: Morsmelk, essensielle sporelementer, toksiske metaller, spormetall, sporelement, sporstoff, ICP-MS.

Abstract

The level of trace elements in breast milk is of significance for a child's growth and development. Some trace elements in breast milk such as zinc, copper, lead and cadmium have been thoroughly investigated while others have received little attention. The aim of this study is to investigate trace elements in the breast milk of Norwegian women and to establish a method for the analysis of As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Sr, Tl, V and Zn in breast milk.

The sample pool consisted of 121 pregnant women who were recruited in week 18 of pregnancy and followed through to 6 months after birth. Breast milk was collected from 85 mothers at 6 weeks, and 4 and 6 months after birth. 61 of these delivered breast milk at all three time points.

The breast milk samples were digested in a microwave oven and analyzed by double-focusing high resolution ICP-MS (Element2). The analysis method was satisfactory for all the elements except arsenic, beryllium, lithium (could not be quantitated), and chromium and vanadium (too high quantitation limits).

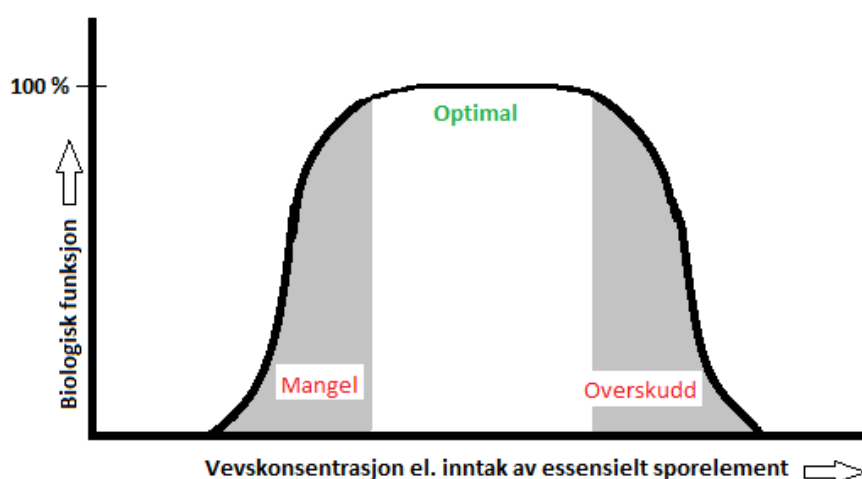
The results showed a significant decrease during the breastfeeding period in the elements Fe, Cu, Mo, Rb, Se, Sr, Tl and Zn whilst Mg increased significantly. The results are comparable with earlier publications except for iron and selenium which were lower than in earlier publications. The toxic elements Cd, Hg and Pb had lower levels than those found in other countries.

The method is suitable for evaluating trace elements in breast milk and shows that Norwegian children receive little exposure to toxic metals from breastmilk, and that the level of important essential trace elements falls considerably during the course of the breastfeeding period.

Keywords: Breast milk, human milk, trace elements, toxic metals

Bakgrunn

Morsmelk er den optimale næringen for spedbarn de første ukene og månedene i et barns liv. Den har en unik sammensetning av proteiner, fett, karbohydrater, vitaminer og mineraler. Melken inneholder også biologiske faktorer, som antistoffer, leukocytter, hormoner, enzymer, laktoferrin, cytokiner, glykaner og probiotika, som hjelper utviklingen av tarmsystemet og gir barnet et bedre immunforsvar (Newburg, 2005). Morsmelken beskytter ikke bare mot luftveis- og tarminfeksjoner, men gir også bedre vekst og utvikling, og lavere sannsynlighet for astma, dermatitt og revmatologisk artritt, hjerte-karsykdom, diabetes og overvekt senere i livet (Gillman et al., 2001; Mead, 2008; Oddy et al., 1999). Både globale og norske retningslinjer anbefaler fullamming i 6 måneder når det er mulig (Helsedirektoratet, 2014; WHO, 2003). Tilgangen på essensielle næringsstoff er spesielt viktig under svangerskapet og i spedbarns-perioden på grunn av hurtig utvikling og vekst. Mangel på essensielle næringsstoff kan medføre akutte og langvarige konsekvenser for barnet. Sporelement er nødvendige mikronæringsstoffer og man kan få mangelsykdommer om inntaket av for eksempel sink, kobber, jern, jod og selen er tilstrekkelig (Stehle, Stoffel-Wagner, & Kuhn, 2016). Sporelementer som er essensielle vil også være skadelige for kroppen dersom inntaket blir for høyt, slik at det er viktig at det verken blir for lite eller for mye av de essensielle sporelementene (Figur 1).



Figur 1. Modell av forholdet mellom vevskonsentrasjon eller inntak av essensielle sporelement og biologisk funksjon (modell laget ut fra Shenkin, Baines, Fell, & Lyon, 2006, s. 1119).

Det finnes ikke så gode nedre og øvre grenser for inntak av sporelementer, og dette er mye fordi skadeomfanget ikke bare er konsentrasjonsavhengig, men formen elementer har ved inntak/opptak også kan ha en del å si for effekten in vivo. For jern er det for eksempel relativt høyt opptak når jernet er bundet til et biologisk molekyl, mens den uorganiske formen for jern tas dårlig opp i kroppen. For kvikksølv er den uorganiske formen relativt ufarlig, mens den organiske er meget giftig. Tilstedeværelsen av andre stoffer påvirker opptaket, som for eksempel vil askorbinsyre i maten gi økt opptak av jern, mens polyfenol fra kaffe/te hindrer opptaket. Interaksjoner med andre sporelementer kan også påvirke opptak, kobbermangel gir redusert opptak av jern (Collins & Klevay, 2011), mens høyt inntak av sink, bly, kobolt eller mangan kan gi redusert opptak av jern på grunn av konkurranse i opptaksmekanismen (Abbaspour, Hurrell, & Kelishadi, 2014). Paradoksalt er det også at symptomene for jernmangel de samme som ved jernoverskudd.

Jern er et av de sporelementene som er mest undersøkt, og man kjenner derfor fysiologien ganske godt. Det finnes også en rekke sporelement, som nikkel, vanadium, silisium og tinn, som man foreløpig ikke har helt klart for seg hvilken rolle de har i kroppen, men man tror at de kan være nødvendige for menneskene (Imtiaz et al., 2015; WHO, 1996). Med dagens teknologi er omtrent 50 element målbare hos mennesker, og 23 element har kjente fysiologiske funksjoner (Fraga, 2005). Av disse er 11 av dem klassifisert som mikronæringsstoffer/sporelement, da det daglige behovet er svært lavt (< 100 µg/dag), hvorav jern, jod, kobber, kobolt, krom, mangan, molybden, selen og sink er regnet som sikre essensielle, mens arsen, bor, nikkel, silisium og vanadium er omdiskutert (Trumbo, Yates, Schlicker, & Poos, 2001).

Sporelementer er skadelige for kroppen avhengig av konsentrasjon, og for noen er selv svært lave konsentrasjoner skadelige, som beryllium, kadmium, kvikksølv og thallium (Beyersmann & Hartwig, 2008; Mendola, Selevan, Gutter, & Rice, 2002; Rodriguez-Mercado & Altamirano-Lozano, 2013).

En svensk studie fra 2012 (Bjorklund et al.) har analysert Li, Be, B, Na, Mg, P, S, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Sb, Rb, Sr, Ag, Cs, Ba, Pb og U i morsmelk fra 60 førstegangsfødende kvinner i tidlig fase av ammingen (14-21 dager). Nivået av enkelte elementer varierer betydelig i ulike befolkninger og dette gjenspeiles i nivået i morsmelk. Svensker har et relativt lavt inntak av selen (40 µg/d mot anbefalt 70 µg/d) på grunn av at jordsmonnet i Sverige har lavt seleninnhold, noe det også er i Norge. I den

svenske studien fant de også et lavere innhold av selen (12 µg/L) i morsmelk sammenlignet med en WHO-studie fra 1989 (18 µg/L) som undersøkte sporelementer i morsmelk i Guatemala, Ungarn, Filippinene, Sverige, Zaire og Nigeria. Fisk er en viktig kilde til selen, men de fant ingen positiv korrelasjon mellom selen-innhold og inntak av fisk. De fant imidlertid at innhold av arsen og bor er positivt korrelert med inntak av fisk.

Nivåene av sporelementer i morsmelk er ikke undersøkt hos norske kvinner og formålet med studien er å undersøke sporelementer i morsmelk fra norske mødre ved ulike tidspunkt etter fødsel. Undersøkelsen vil bidra til å øke kunnskapen om tilgjengeligheten av ulike sporelementer hos norske spedbarn. Studien vil også gi kunnskap om norske barn er utsatt for toksiske stoffer i form av tungmetaller i starten av livet. Ved å undersøke nivåene nå, vil vi senere kunne se om nivåene endres, da flere av elementene som er undersøkt øker i omgivelsene på grunn av forurensing.

For å kunne gjøre dette må vi først etablere en analysemetode for sporelementer i morsmelk. Metode for prøveopparbeiding må testes, det må finnes egnet kontrollmateriale, valg av isotoper og andre betingelser på analyseinstrumentet (HR-ICP-MS) må bestemmes. I tillegg må måleområde, presisjon og nøyaktighet testes.

Problemstilling

Hva er nivået av antimon, arsen, beryllium, bly, jern, litium, kadmium, kobber, kobolt, krom, kvikksølv, litium, magnesium, mangan, molybden, nikkel, rubidium, selen, sink, strontium, thallium, tinn og vanadium i morsmelk fra friske mødre ved 6 uker, 4 og 6 måneder etter fødsel?

Metode

Deltakere

Denne studien er en del av en større studie, Longitudinelle endringer i ernæringsparametere under svangerskap og amming, prosjektleder Anne Lise Bjørke Monsen. Rekruttering, data- og prøveinnsamling foretas av Anne Lise B. Monsen og Kristin Varsi. Studien er godkjent av REK (2011/2447 Biokjemiske endringer i ernæringsstatus, immunologi og

miljøgifter under svangerskap og amming). Deltakerne ga informert samtykke og alt prøvemateriale ble holdt anonymisert.

121 gravide friske kvinner, bosatt i Bergen, er inkludert og undersøkes for vitamin- og sporelementstatus ved svangerskapsuke 18, 28 og 36, samt 6 uker, 4 og 6 måneder etter fødsel. Eksklusjonskriterier var kronisk sykdom, daglig tobakksrøyking inntil 3 måneder før svangerskapet, ikke-kaukasisk rase, tidligere senaborter, tidligere ikke-normale svangerskap, flerlingesvangerskap, anatomisk eller kromosomavvik på foster i det aktuelle svangerskap. Ved hvert undersøkelsestidspunkt etter fødsel leverte mor en morsmelkprøve, som ble analysert for sporelementer. Vi ønsker å se på variasjon i nivået mellom morsmelk fra ulike mødre og mellom de ulike tidspunktene, for å studere hvordan nivået av de ulike sporelementene endrer seg utover i ammeperioden. Studiepopulasjonen kan ikke anses som gyldig for vurdering av sporelementer i morsmelk for hele den norske populasjonen, da forekomsten av sporelementer i drikkevannskilder varierer og forurensing fra industri og transport har til dels store variasjoner (Midtgård et al., 2007). Med tanke på inntak av næringsinntak er mye av maten i Norge importert og distribuert nasjonalt, men inntak av lokalmat (som innmat fra eldre dyr, ferskvannsfisk, krabbe,) kan medføre høyere nivå av tungmetaller (Mattilsynet, 2013, 2015).

Statistiske analyser

Resultatene er presentert som gjennomsnitt, standardavvik, median (50 persentil), 25 og 75 persentil, minimum og maksimum. Nivået av de ulike sporelementene i morsmelk fra de tre tidspunktene er sammenlignet med en ikke-parametrisk test; Kruskal Wallis. De fleste sporelementresultatene er ikke normalfordelte, derfor må det brukes tester for ikke-parametriske data. For vurdering av korrelasjoner mellom de ulike elementene er det brukt Spearmans rank, også en ikke-parametrisk test. Sporelementene er fremstilt visuelt ved histogram og «errorbar» som viser gjennomsnitt med spredning i form av 95 % konfidensintervall.

Statistikkprogrammet IBM® SPSS® Statistics (23.0.0.2) er benyttet for alle statistiske analyser.

Teori

Morsmelk som matriks

Analysering av væskemateriale egner seg godt på ICP-MS. Ved introduksjon av flytende prøve er det anbefalt å ha mindre enn 0,2 % tørrstoff i prøvematriksen fordi for mye tørrstoff kan gjøre at introduksjonssystemet blir tett og man får et mer ustabil instrument. Morsmelk består av 12 % tørrstoff, hvor omtrent 7 % er karbohydrater, 4 % er fett, 1% er protein og 0.13 % er mineraler (Matvaretabellen, 2015). Innholdet i morsmelken endrer seg fra babyen er født og når den vokser til. Den tidlige melken (kolostrum) varer kun et par dager etter fødsel og er lav i kvantitet. Deretter er det en fase hvor mengden melk økes opp, umoden melk, (eng: transitory) som begynner fra et par dager og varer til omtrent 2 uker etter fødsel. Etter 4-6 uker er det moden melken som produseres og fordelingen av protein, fett og karbohydrat er forholdsvis jevn, omtrent 74 % karbohydrat, 36 % fett og 12 % protein, men mors kost påvirker fettinnholdet mer som tiden går (Ballard & Morrow, 2013; Nommsen, Lovelady, Heinig, Lonnerdal, & Dewey, 1991).

For å analysere morsmelk på ICP-MS må mengden tørrstoff reduseres til omtrent 0.2 %. Den enkleste løsningen for å få ned mengden tørrstoff er å fortynne prøven. Ved bare å fortynne, kan man over tid få et mer ustabil instrument, da molekyler som proteiner og fett kan gjøre at koblinger i introduksjonssystemet på instrumentet går tett. Proteiner vil også felle ut i sterk syre, og slike utfellinger er svært problematisk for injeksjonssystemet på instrumentene, i tillegg til at en da har en prøve som ikke er homogen, og en risikerer å få feil resultat. Dersom man gjør en prøveopparbeiding, som mikrobølgedekomponering, får man brutt ned molekylene og fjernet det meste karbonet, dermed en prøve med mindre tørrstoff enn ved bare å fortynne. I denne studien er det brukt mikrobølgedekomponering som prøveopparbeiding.

Mikrobølgedekomponering

Ved dekomponering i mikrobølgeovn vil prøven og syre varmes ved hjelp av mikrobølger. Metoden kalles også syre-oppslutning, da det ved hjelp av syre oppnås en total oppløsning av materialet (prøven). I denne oppgaven er det benyttet et lukket system, hvor hver prøve har en egen lukket beholder (bombe). Beholderne tåler et meget høyt trykk (100 bar) og man kan derfor oppå ganske høye temperaturer. Det er viktig at temperaturen

økes gradvis da en for hurtig økning kan medføre eksplosjon. Mange mikrobølgeovnoppsett har mulighet for å overvåke trykk og temperatur i en eller alle beholderne, slik at man har kontroll over reaksjonene som foregår. Oppsettet som er brukt i denne studien har ikke overvåkning av temperatur og trykk.

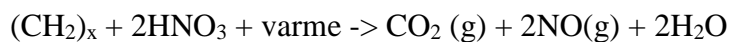
Dekomponering av karbohydrater lar seg gjøre ved relativt lav temperatur (140°C), mens proteiner (150°C) og lipider (165°C) krever litt mer.

Den vanligste syren å bruke i syre-oppslutning er salpetersyre (HNO₃). Salpetersyre er en oksiderende syre som vil oksidere de fleste metaller og danne løselige nitrater. Ved tilsats av hydrogenperoksid (H₂O₂) blir de oksiderende egenskapene økt (Kingston & Walter, 1998, s. 58). Temperatur er avgjørende for oksidering av organiske matrikser, og oksidasjonspotensialet til salpetersyre er direkte proporsjonal med temperaturøkningen. En fordel med HNO₃ i forhold til andre syrer er at den ikke tilfører ytterligere elementer til prøven i forhold til det som allerede finnes rikelig av i luften; hydrogen, nitrogen og oksygen.

Hydrogenperoksid (H₂O₂) er sterkt oksiderende, spesielt sammen med syrer. Den kan reagere eksplosivt i forbindelse med organiske forbindelser.

Saltsyre (HCl) er en ikke-oksiderende syre med svakt reduserende egenskaper. For antimon, molybden og tinn kan en kombinasjon av syrer, ikke kun HNO₃, være nødvendig for å unngå at elementene danner uløselige komplekser (Kingston & Walter, 1998, s. 72).

Når melken dekomponeres brytes de organiske båndene, og mye av tørrstoffet fjernes, da karbonet omdannes til karbondioksid (se Formel 1).



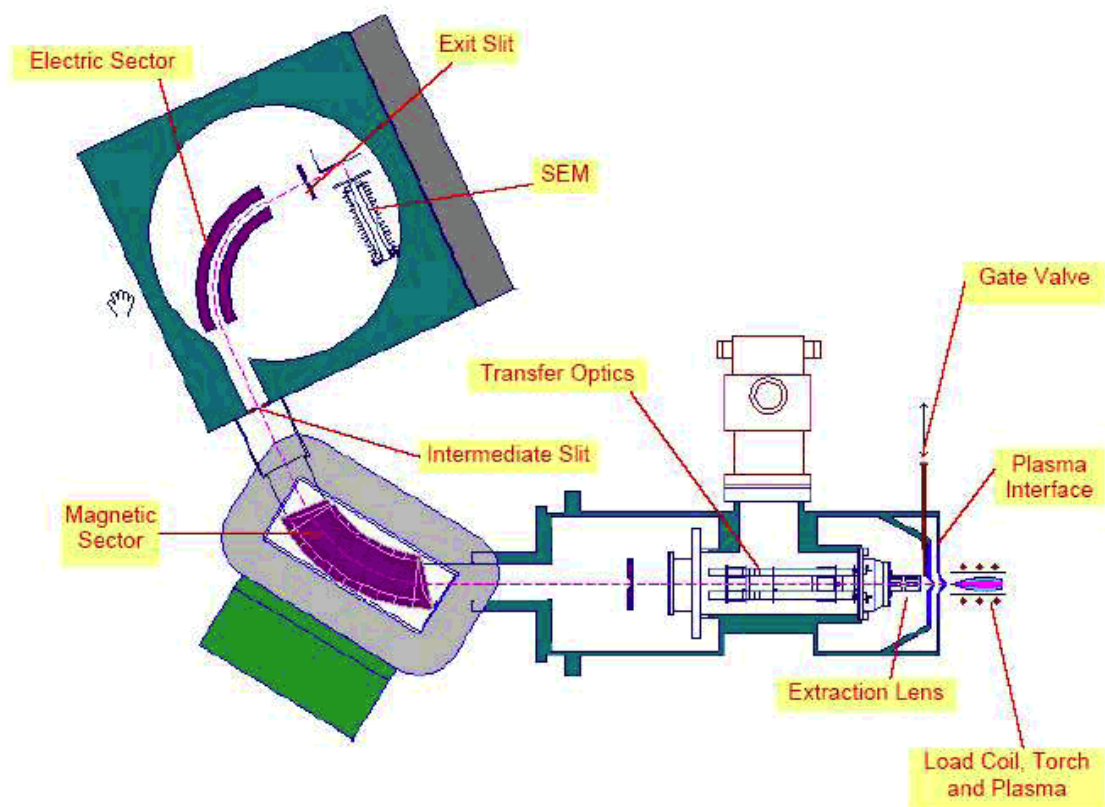
Formel 1. Kjemisk reaksjon mellom karbon og salpetersyre under dekomponering

Etter mikrobølgedekomponering er de organiske molekylene ødelagt og kun elementene som ikke er flyktige er igjen i prøven. De fleste elementene er stabile i 2 – 10 % HNO₃ selv ved konsentrasjoner på µg/L, men for kvikksølv er det problemer med stabilitet, da den kan adsorberes til veggen av beholderen. Tilsats av HCl anbefales for å bevare kvikksølvet i HNO₃-løsninger over lengre tid (flere dager) (Louie, Wong, Huang, & Fredrickson, 2012).

Etter syre-oppløsning kan prøvene analyseres direkte dersom syrestyrken ikke er for sterk. ICP-MS-ene bør ikke analysere prøver med løsninger med mer syre enn 10% HNO₃, helst kun 2 % HNO₃. Avhengig av hvor mye syre som er tilsatt prøven vil prøven enten måtte fortynnes med vann for å få ned syrestyrken, eller dampes inn og løses i svakere syre.

HR-ICP-MS

Induktivt koblet plasma massespektrometri (ICP-MS) er en moderne analysemetode. Den ble først kommersialisert på 1980-tallet og er i dag en mye brukt analyseteknikk for bestemmelse av elementer. Det finnes flere forskjellige instrumenter, hvor separasjonen av massene utføres med ulike prinsipper. Instrumentet som benyttes i denne studien er en høyoppløselig dobbeltfokuserende ICP-MS (Element2). Se Figur 2 for oppsett av instrumentet.



Figur 2. Dobbeltfokuserende høyoppløselig ICP-MS (Finnigan Mat Element, Thermo Finnigan, San Jose CA).

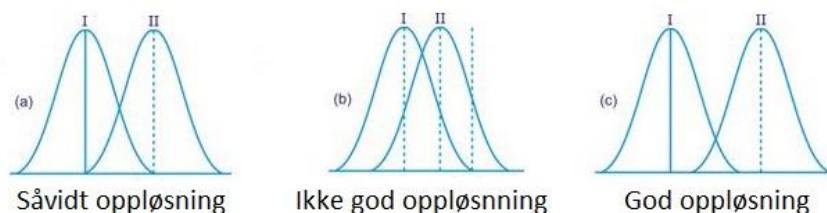
Prøven suges opp av en autosampler ved hjelp av en peristaltisk pumpe, for deretter å presses gjennom en smal åpning (forstøveren) samtidig som det føres inn argongass, slik at prøven forstøves. Det vil si at det dannes mange små dråper. Prøven forstøves inn i et spraykammer. Det finnes flere ulike forstøvere og spraykammer. I denne studien ble det brukt et syklonisk spraykammer, hvor den forstøvede prøven går i en sirkel rundt i spraykammeret, hvor det er et åpent rør i midten hvor de dråpene med riktig størrelse suges opp og tas gjennom injektoren mot plasmaet. De dråpene som er for lette og tunge vil treffe veggen i spraykammeret og pumpes ut av spraykammeret og ned i en avfallsdunk. I plasmaet blir prøven atomisert og ionisert på grunn av den høye temperaturen (6000-9000°C). Plasmaet dannes av argongass og et høyfrekvent elektromagnetisk felt. Prøven føres deretter inn gjennom to koner, «sampler» kone og «skimmer» kone. Konene er små metalldisker med meget liten åpning (~1mm) som gjør at prøven sentreres. Området etter konene kalles interfaceområdet. Her er det vakuum ($<1 \times 10^{-5}$ torr), og dette gjør at ionene har en tendens til å spre seg. For å unngå det settes det spenning på en linse slik at de positivt ladde ionene samles. Videre føres ionene gjennom en åpning (slit) som kan ha tre ulike størrelser, ut fra behovet for nøyaktighet i masseseparasjon. Behovet for masseseparasjon («resolving power») beregnes ved å dele massen man ønsker å måle på differansen mellom massen man ønsker å måle og interferenten (se Formel 2)

$$R = \frac{m}{\Delta m}$$

Formel 2. Utrekning av masseseparasjonen ($R = \text{resolving power}$)

Ved lav oppløselighet («low resolution», LR, $R = 300$) er åpningen på sitt største og de fleste element kan bestemmes ved lav oppløselighet. Ved høyere oppløselighet, som medium oppløselighet («medium resolution», MR, $R = 4000$) og høy oppløselighet («high resolution», HR, $R = 10.000$) går sensitiviteten ned, men spesifisiteten går opp. Sensiviteten reduseres med en faktor på 10 når resolusjonen økes fra LR til MR, og fra MR til HR. Det kan derfor være vanskelig å måle svært lave konsentrasjoner ved høy oppløsning, da signalet kun er 1:100 av det man ellers ville oppnådd med ICP-MS. Det er viktig med god oppløsning slik at man kun måler på ønsket element og ikke interferenten.

Figur 3 illustrerer hvordan toppene ser ut ved god og dårlig oppløsning. Dersom man ikke har god oppløsning er det spesielt viktig at instrumentet er stabilt. Dersom toppene forskyver seg vil man lett analysere på feil topp når oppløsningen ikke er så god.



Figur 3. Eksempel på ulike grader av oppløsning/masseseparasjon

Ionene føres videre gjennom magneten. Magnetten bøyer ionene etter deres masse. Etter separasjon ved magneten vil en elektrisk enhet fokuserer ionene ut fra energi. Derfor kalles også instrumentene for dobbelt fokuserende høyoppløselig ICP-MS. Ionene med riktig masse og energi føres videre til detektoren. Her dannes antallet ioner om til et elektrisk signal som kan telles. Detektorene har en negativt ladet overflate hvor ionene treffer, og signalet amplifiseres gjennom detektoren. Detektoren (SEM; «secondary electronic multiplier») har anledning til å telle i puls og analog modus, ut fra hvor mange ioner som treffer detektoren. Høye signal telles analogt og omregnes til et talletall (signalet telles tidlig i detektoren) mens lavere signal telles i slutten av detektoren. Dette gir en mulighet for å ha lineært signal over et større konsentrasjonsområde uten fortykning (fra ng/L til mg/L) og det sparer detektoren for ødeleggende høye signal.

Interferenser

Interferenser er elementer eller forbindelser som gir et falskt for høyt resultat. Det er fire typer interferenser man må vurdere når man analyserer sporelementer ved ICP-MS. Det er isobare interferenser, dobbeltladde ioner, molekylære forbindelser og matrikseffekter.

Isobare interferenser

Isobare interferenser skyldes at elementene har samme atommasse. For eksempel har isotopen Ca^{40} (kalsium) nesten samme atommasse som Ar^{40} . På grunn av at argon er bærer-gassen ved de fleste ICP-MS-er, og at massene er så like at det kreves $R > 10.000$ for å separere toppene (se Tabell II), gjør dette det umulig å måle Ca^{40} . Noen element har kun

en isotop, mens andre har flere. Nikkel og sink har 5 stabile isotoper hver. Det er gunstig å velge en isotop med høy forekomst, slik at signalet blir sterkest mulig. Dersom om det er isobarisk overlapp, og spesielt dersom det er mye av elementet som overlapper, kan det være bedre å velge en isotop med lavere forekomst. Nikkel har 0,926% forekomst på masse 64, mens sink har 48,63%. Dersom man da ønsker å måle sink på masse 64, må man i så fall måle nikkel også, på en annen interferensfri isotop, og trekke fra nikkel fra sinksignalet (matematisk korrigerings). Dette vil medføre en usikkerhet til analyseresultatet, men det er mulig å gjøre.

Dobbeltladde ioner og molekylære interferenser

Når man måler på ICP-MS er det masse:ladning (m/z) ratio, ikke bare massen, som bestemmer hvilket ion som når detektoren. Betingelsene i injeksjonssystemet og i plasma påvirker hvordan ionene og molekylene dannes eller brytes. Høyere temperaturer i plasma vil føre til at flere atomer ioniseres og ioniseres dobbelt, mens færre molekyler dannes, og vice versa; lavere temperaturer vil føre til at færre ioniseres, men flere molekyler dannes. Optimalt vil plasma ionisere atomene (M) slik at alle har en enverdig positiv ladning (M^+), men ikke toverdig (M^{2+}) og ikke danne nye molekyler. Dersom M har toverdig ladning vil den gjenkjennes av instrumentet som $\frac{1}{2} M$, som da gir feil måling både av M og elementet som eventuelt har samme masse som $\frac{1}{2} M$. Et mye brukt eksempel på dette er barium ^{138}Ba . Grunnen til at barium ofte brukes er fordi den har et lavt ioniseringspotensial, og derfor oftest får dobbeltladning. Når ^{138}Ba blir dobbeltladet blir den tolket som 69. Gallium har masse 69, og blir derfor falskt forhøyet. Ved å optimalisere betingelsene i injeksjonssystemet og i plasma vil man kunne redusere dannelsen av M^{2+} , men man bør også være oppmerksom på hvilke masser man velger å måle på med tanke på elementene som er tilstede i prøven og dermed kan påvirke massene man måler på dersom de er dobbeltladde.

Med tanke på molekylære interferenser er det noen ioner som har høyere tendens til å kobles sammen med andre; da spesielt oksygen, hydrogen og klor, som lett danner oksider, hydrider og klorid med andre ioner. Når for eksempel oksygen danner binding med et annet ion, får man en økning i massen tilsvarende oksygen. For eksempel vil $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ overlapse med ^{56}Fe . ^{56}Fe er ikke mulig å måle med lav oppløsning på grunn av $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$, men i medium oppløsning vil ^{56}Fe og $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ komme ut som to separate topper (se

Tabell I). Det er høye konsentrasjoner av oksygen og hydrogen i instrumentet uavhengig av instrumentbetingelser og prøveinnhold. Når det gjelder klor, så kommer det an på den endogene konsentrasjonen i prøven, og om det er tilsatt klor i prøveopparbeidingen. Urin vil for eksempel inneholde varierende mengder klor, mens serum har mer stabil konsentrasjon. Ved tilsats av HCl til prøven under prøveopparbeiding vil klormengden i prøven øke. Mange molekylære interferenser kan separeres ved medium og høy oppløsning, men man er avhengig av at signalet er sterkt nok til for å kunne måle ønsket masse i høyere oppløsning.

Tabell I. Oversikt over noen isotoper og interferenser, og nødvendig oppløselighet.

Element	Interferent	$ \Delta m $	m	R
$^{75}\text{As} = 74,92160$	$^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl} = 74,93123$	0,00963	75	7788
$^{52}\text{Cr} = 52,94065$	$^{37}\text{Cl}^{16}\text{O} = 52,96081$	0,02016	53	2629
$^{56}\text{Fe} = 55,93494$	$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O} = 55,95729$	0,02235	56	2505
$^{40}\text{Ca} = 39,96259$	$^{40}\text{Ar} = 39,96238$	0,00021	40	190476
$^{87}\text{Sr} = 86,90889$	$^{87}\text{Rb} = 86,90918$	0,00029	87	300000

Som nevnt i innledning til dette avsnittet er det ikke bare temperaturen i plasma som avgjør dannelse av dobbeltladde og molekylære forbindelser. Typen spraykammer og justering av gassene («auxilliary gas» og «sample gas») vil påvirke dette. Det er derfor viktig å optimalisere betingelsene i injeksjonssystemet for å minimere dannelsen av dobbeltladde og molekylære forbindelser, i tillegg til å vurdere prøveinnhold med tanke på massene man velger å måle.

Matrikseffekter

Matrikseffekter er en samlebetegnelse på påvirkningen matriksen i prøven har på analyseresultatene. Dersom det er mer tørrstoff i en matriks enn i en annen vil forstøvningen og ioniseringen av prøvene bli forskjellig. Store mengder lett ioniserbare elementer i prøven, som natrium, vil medføre at mer energi går med til å ionisere natrium og andre element blir mindre ionisert og derfor for lavere resultat. Ved å bruke en internstandard som har ganske likt ioniseringspotensial som elementet man ønsker å måle vil man kunne kompensere for ulik grad av ionisering. Et annet problem kan være høy ionetetthet og størrelsen på ionene. Ved høy ionetetthet vil ionene frastøte hverandre, og de store ionene (som

bly og uran) kan forskyve de mindre ionene (som litium og beryllium), dette er kjent som romladningseffekten («space charge effect») (Praphairaksit & Houk, 2000). For å motvirke dette kan man fortynne prøven, for å få ned ionetettheten, eller bruke internstandard som har noe lik masse som elementet man ønsker å måle på.

Metodeutvikling

For å finne ut nivået av sporelementer i morsmelk må vi først lage en metode og teste den. Prøveopparbeiding, deteksjonsgrensene, kvantifiseringsgrense, linearitet, nøyaktighet og presisjon (reproduserbarhet) vil undersøkes.

Prøveopparbeiding

Mikrobølgedekomponering er en veletablert prøveopparbeiding i forkant av bestemmelse av sporelement i morsmelk, men mengden prøve og reagenser varierer, i tillegg til ulike typer mikrobølgeovner og innstillinger.

Det må derfor testes hvilken prøve:reagens ratio som fungerer for denne studien, og hvilke syrer som skal benyttes under opparbeidingen. Kvikksølv i lave konsentrasjoner er spesielt ustabil (på grunn av adsorpsjon) i løsning med kun salpetersyre i plastbeholdere og HCl kan stabilisere kvikksølv. HCl er en reduserende syre, som kan motvirke effekten av HNO₃ (oksidierende), så ved tilsats av mer HCl vil virkningen til HNO₃ kunne reduseres. Med kun HNO₃ i løsningen er det også en risiko for at Mo, Sb, Sn og Hg danner uløselige produkt. Flussyre (HF) og mer HCl kunne er anbefalt for å unngå utfelling av elementene, men, HF er en svært giftig løsning, så det er ikke ønskelig å arbeide med denne med mindre det er absolutt nødvendig. Høye nivå av HCl kan også skape problemer for andre element ved dannelsen av klormolekyler, som ⁴⁰Ar³⁵Cl (masse 75).

Det må også avgjøres hvilke elementer som skal benyttes som internstandard(er).

Deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense

Deteksjonsgrensen beregnes ved å analysere en blank 10 ganger og deretter beregne standardavviket (SD) (Formel 3) og gange det med 3. Kvantifiseringsgrensen beregnes ved 5 ganger SD for 10 blanker.

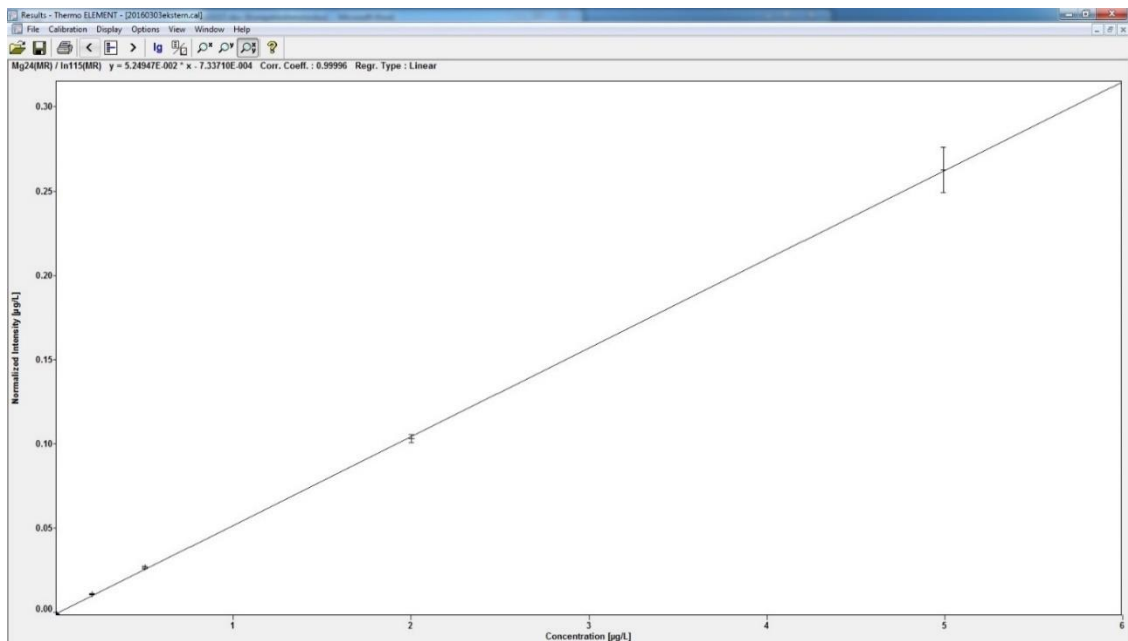
$$S_d = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

S_d = standardavviket,
 \sum = sum
 n = antallet
 x = den enkelte verdi
 \bar{x} = gjennomsnittsverdi

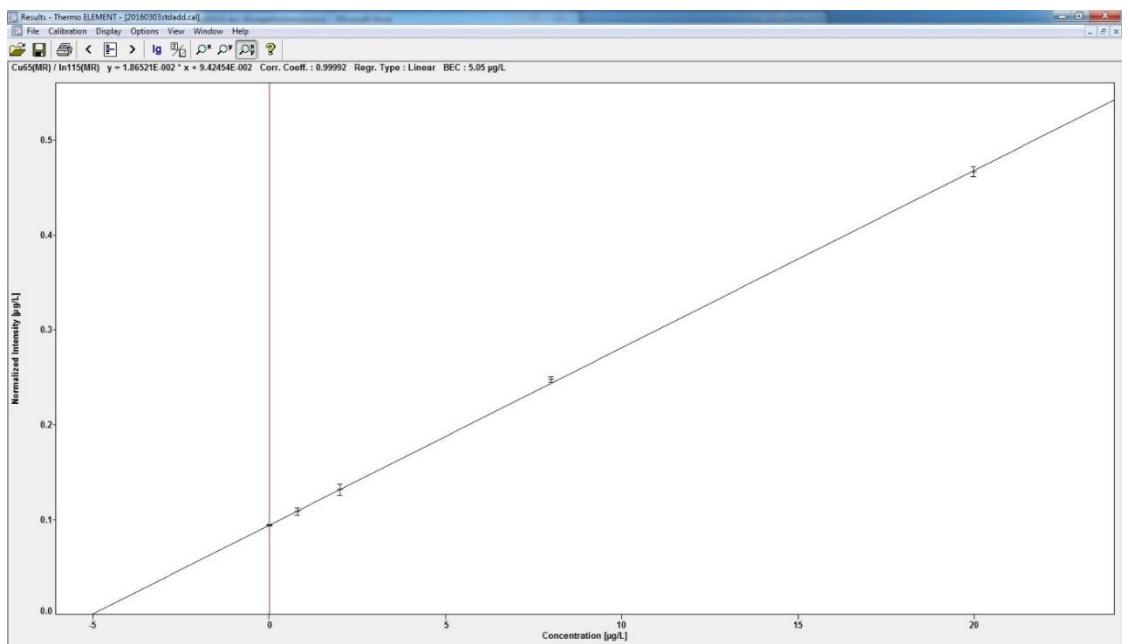
Formel 3. Utregning av standardavvik (Miller & Miller, 2000)

Linearitet

Lineariteten for ønsket måleområde skal kontrolleres. Dette gjøres ved en fempunkts kalibreringskurve, hvor en deretter ser på regresjonslinjen og korrelasjonskoeffisienten. Det vil bli testet både ekstern kalibrering og standard addisjon. Ved ekstern kalibrering benyttes kun fortynningsløsningen og stigende konsentrasjon av elementene som skal analyseres for å lage en kalibreringskurve. Se Figur 4 for eksempel. Regresjonslinjen vil da skjære gjennom null, eller meget nærme null. Ved standard addisjon tilsettes det stigende konsentrasjoner til en prøve, slik at prøvematriksen blir en del av kalibreringskurven. Ved å trekke regresjonslinjen til x-aksen vil man kunne beregne den endogene konsentrasjonen i den ukjente prøve, og regresjonslinjen vil kunne brukes for kalibrering av andre prøver. Se Figur 5 for eksempel.



Figur 4. Magnesium ved ekstern kalibrering



Figur 5. Kobber ved standard addisjon

Presisjon

Presisjonen (robustheten) beregnes ved variasjonskoeffisienten (VK) (Formel 4) ved cirka 20 prøver av intern kvalitetskontroll opparbeidet og analysert på ulike dager.

$$VK \% = \frac{SD \times 100}{\text{Gjennomsnitt}}$$

Formel 4. Beregning av variasjonskoeffisient

Nøyaktighet

Det finnes ikke morsmelk med sertifiserte verdier for sporelement tilgjengelig, og de melkeproduktene med sertifiserte verdier som er tilgjengelig har ikke de ønskede element sertifisert. Det ble derfor valgt et melkepulver, ERM-BD 150, som har sertifiserte verdier, med 95 % konfidensintervall, for noen av elementene som skal undersøkes i dette prosjektet (se Tabell II), men det er mange element som ikke har sertifiserte verdier. Metodens nøyaktighet kommer derfor til å bli vurdert på bakgrunn av sertifiserte verdier i serum (Seronorm Trace Element Serum) og ekstern kvalitetskontroll (QMEQAS) i tillegg.

Seronorm Trace Element Serum

Seronorm Trace er et kommersielt kontrollmateriale laget av Sero. Det er laget av frysetørket humant serum, og har «analytiske» verdier for flere element. Det vil si at flere laboratorier har analysert kontrollmaterialet og rapportert resultatene, og på bakgrunn av det er det etablert en verdi med et konfidensintervall. Elementene som har «analytiske verdier» i Seronorm Trace Elements Serum som analyseres i denne studien er Cr, Cu, Co, Fe, Li, Mn Mg, Hg, Ni, Se, og Zn. I denne oppgaven ble det brukt Seronorm Trace Elements Serum Level 2, Lot 1309416. Analytisk verdi er oppgitt i Tabell X. Det er i tillegg opplyst om verdier for flere elementer som tilleggsinformasjon, uten usikkerhetsområde, som man da kan sammenligne seg med. Disse verdiene har ikke samme sikkerheten/sporbarheten som de sertifiserte verdiene med et usikkerhetsområde. Kontrollmaterialet oppbevares kjølig og rekonstitueres med vann. Ved rekonstituering er det viktig å tilsette nøyaktig mengde med vann, for å unngå systematiske feil, og variasjon ved de ulike rekonstitueringene. Det er også viktig å ikke la det oppløste materialet stå for lenge på glasset og å bytte ut gummiproppen med parafilm for å unngå kontaminasjon fra glasset og gummiproppen.

Melkepulver

Melkepulveret, ERM-BD-150, har sertifiserte verdier for tørket prøve (g/kg). Når man skal analysere pulveret er det anbefalt å veie inn minimum 2 gram av pulveret. I denne studien vil innveing av 2 gram medføre at konsentrasjonen i løsningen med pulveret blir mye høyere enn konsentrasjonen i morsmelkene. Det vil derfor bli veid inn en mindre mengde enn det som er anbefalt. Tabell II viser elementene og verdiene som er sertifiserte.

Tabell II. Oversikt over sertifiserte nivå i ERM-BD150 (melkepulver)

Element	Verdi		Element	Verdi
Ca	13,9 g/kg		Mg	1,26 g/kg
Cd	0,0114 mg/kg		Mn	0,289 mg/kg
Cl	9,7 g/kg		Na	4,18 g/kg
Cu	1,08 mg/kg		P	11,0 g/kg
Fe	4,6 mg/kg		Pb	0,019 mg/kg
Hg	0,06 mg/kg		Se	0,188 mg/kg
I	1,73 mg/kg		Zn	44,8 mg/kg
K	17,0 g/kg			

Ekstern kvalitetskontroll

QMEQAS er en ekstern kvalitetskontroll hvor flere laboratorier deltar (cirka 30) og en rekke element rapporteres (se Tabell XI). De sender fersk prøve; blod, urin, serum og hår, som analyseres og rapporteres innen 3 uker. Prøvene som analyseres i denne studien har vært analysert tidligere og deretter fryst, for så å tines ved bruk i denne studien.

Resultater metodeutvikling

Prøveopparbeiding

Det er ulike metoder for syre-oppslutning av morsmelk. Tabell III viser ulike funn fra litteraturen.

Tabell III. Oversikt over ulike fremgangsmåter for syre-oppslutning av morsmelk

Morsmelk (mL)	HNO ₃ (mL)	H ₂ O ₂ (mL)	Referanse
1 gram	7	1 (+ 1 ml vann)	Abdulrazzaq, Osman, Nagelkerke, Kosanovic, & Adem, 2008
2 gram	1	1	Matos, Moutinho, Almeida, Guerra, & Balcao, 2014
5	10		Cardoso et al., 2014
1 gram	7	1	Khan et al., 2013
1,5	1,5	0,5	Rossipal & Krachler, 1998 Krachler, Prohaska, Koellensperger, Rossipal, & Stinger, 2000
5	5	1	Cinar, Ozdemir, Yucel, & Ucar, 2011
2,5	5	(0.5 ml HCl, ingen H ₂ O ₂)	Enger, 2014, s. 34

I denne studien er det testet dekomponering med 1 og 2 ml HNO₃, uten HCl, uten H₂O₂. Det var ønskelig å holde syre:prøve forholdet lavest mulig, da instrumentet fungerer best med løsninger med 2 % syre. Dersom det tilsettes mye syre må enten prøven fortynnes mye, eller inndampes for å få ønsket syrestyrke i prøven som skal analyseres på instrumentet.

Tester viste at med kun 1 ml HNO₃ ble ikke prøven fullstendig dekomponert (farget løsning etter programmet i mikrobølgeovnen). Det så ut til å bli fullstendig dekomponering med kun 1 ml HNO₃ (forutsatt at det også ble tilsatt H₂O₂). HNO₃ forbrukes under nedbrytningen av det organiske innholdet i prøven, og med kun 1 ml HNO₃ er det større fare for at det er for lite HNO₃ til fullstendig dekomponering. Morsmelken som ble brukt for testing av prøveopparbeiding var fra 6 måneder etter fødsel, og da er det mindre fett i morsmelken enn ved 6 uker etter fødsel. For å unngå at morsmelken fra 6 uker ikke ble fullstendig dekomponert hvis 1 ml HNO₃ var for lite, ble det valgt å bruke 2 ml HNO₃ som rutine.

På grunn av interferensproblematikken med HCl og faremomentene ved bruk av flussyre ble det besluttet å kun bruke 0,25 ml HCl i prøveopparbeidingen. Det ble også vurdert at tilsats av HCl i etterkant av dekomponering ville være bedre enn i forkant på grunn av den reduserende effekten av HCl.

Melkepulveret ble veid (0,15 -0,25 gram) og overført til bomben. Det ble tilsatt 1 ml vann og de andre reagensene for mikrobølgedekomponering. Det ble vurdert å veie en større mengde og løse i lunkent vann, for deretter å pipettere 1 ml av løsningen over i bomben, for å gjøre betingelsene for kontrollen mest mulig lik betingelsene for prøvene. Det var dessverre for komplisert å få målt inn riktig mengde vann i forhold til prøve, da kontrollmaterialet var vanskelig å løse opp i vann, så det ble vurdert mer nyttig å veie inn kontrollen i tørrvekt og deretter tilsette 1 ml vann i bomben. Grunnen til at det ble veid inn mellom 0,15 og 0,25 gram melkepulver var for å få en konsentrasjon som liknet mest på prøvene i prosjektet, da innholdet i prøvene også varierer. Leverandøren av melkepulveret anbefaler å veie inn større mengder (minimum 2 gram), så det gir en økt usikkerhet med tanke på å gjenfinne sertifisert verdi, når man veier inn mindre mengder.

I dette prosjektet blir det brukt serum (frysetørket) som intern kontroll og for validering av metoden, da det ikke var mulig å finne melkepulver som var sertifisert for mange nok av sporelementene som vi ønsket å måle. Innholdet i serum er ganske likt innholdet i morsmelk, med tanke på sammensetning av næringsstoffer. Det er beregnet fra Stakkestad (2004) at det er litt mindre protein og fett, og sannsynligvis mindre karbohydrat, i serum i forhold til morsmelk, slik at det er rimelig å anta at serumet lar seg dekomponere minst like godt som morsmelk-prøvene.

Alle pipettespisser ble vasket med ultrapur HNO₃ og skyllet med deionisert vann før bruk. Prøvene ble oppbevart ved -80 grader frem til opparbeiding. De ble tint i kjøleskap over natten, og deretter romtemperert. Kort tid før opparbeiding ble prøvene varmet til cirka 30 grader for å få løst opp fett og få en mer homogen prøve. Det ble først tilsatt 100 µL internstandard (1000 µg/L Sc og Bi) til bombene. Deretter ble det pipettert 1 ml morsmelk og blandet lett, så ble det tilsatt 2 ml HNO₃ og blandet litt og fikk litt tid til å reagere, før 1,5ml H₂O₂ ble tilsatt. Deretter ble bombene igjen blandet lett, så korket og satt i mikrobølgeovn med et bestemt program.

Det finnes flere forskjellige program for dekomponering i mikrobølgeovn. Hvor mye effekt og tid en programmerer mikrobølgeovnen på vil være avhengig av innholdet i bombene (mengde og type løsning). Programmet som er benyttet i denne studien er fra en metode (Rossipal & Krachler, 1998) som starter rolig, for å unngå for kraftige reaksjoner i starten, og deretter øke gradvis temperaturen i bombene (Tabell IV). Bombesettene bestod av enten 6 eller 10 bomber. Prøvene ble opparbeidet over 8 dager og det ble tatt med to blanker og fire kontroller (to Seronorm-kontroller og to ERM-BD150) for hver dag.

Tabell IV. Oversikt over watt og tid på mikrobølgeovn.

	Effekt ved 6 bomber (watt)	Effekt ved 10 bomber (watt)	Tid (minutter)
1.	250	250	1
2.	0	0	1
3.	250	350	4
5.	400	650	6
6.	600	1000	6
7.	ventilering		1

Når prøvene var ferdig dekomponert ble de raskt avkjølt og deretter tilsatt 0,25 ml HCl. Dekomponert materiale ble helt over i 15 ml sentrifugerør av polypropylen (PP) (fritt for metaller) og bomben spylt med deionisert vann for å få ut alt prøvematerialet (to ganger). Volumet ble så justert til 10 ml med tilsats av deionisert vann og lagret i kjøleskap frem til analysering. I forkant av analysering ble prøvene fortynnet ytterligere med deionisert vann (1:3) til en totalfortynning på 1:30.

Prøvene ble analysert i større batcher, for å minimere den analytiske variasjonen. Prøvene fra samme mor var dekomponert samme dag, og prøvene som var dekomponert samme dag ble analysert sammen. Prøvene som var dekomponert samme dag ble analysert i samme batch, og en tilfeldig prøve ble valgt ut til kalibreringsstandard.

Indium (24µg/L) ble benyttet som internstandard online (som ga en konsentrasjon på omtrent 5 µg/L under analysen). Det vil si at internstandard ble introdusert kontinuerlig på instrumentet. Scandium og vismut ble tilsatt som internstandard under opparbeiding. Indium har en masse som er i mellomstor, mens scandium har en liten masse og vismut har

en stor masse. På den måte har vi internstandarder som dekker hele masse-området som vi analyserer på. Ved å tilsette en internstandard under opparbeiding av prøvene og en annen på instrumentet kan man oppdage om det skjer noe med prøvene under opparbeiding eller ved analysering. Det er mulig å gjøre beregninger med Sc og Bi som internstandard, med resultatene med indium var tilfredsstillende, så det er derfor ikke gjort så mange beregninger på Sc og Bi.

Mer informasjon om utstyr og instrumentelle innstillinger er beskrevet i Vedlegg A (Tabell A Oversikt over utstyr i forbindelse med prøveopparbeiding) og Vedlegg B (Tabell B Oversikt over analyserte elementer og betingelser, Tabell C Instrumentinnstillinger, Tabell D Spesifikasjoner av utstyr på ICP-MS og Tabell E Reagensoversikt).

Deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense

Resultatene ved analysering av 10 blanker er listet i Tabell V.

Tabell V. Oversikt over deteksjonsgrense og kvantifiseringsgrense for de ulike elementene

Element	Deteksjonsgrense (µg/L)	Kvantifiseringsgrense (µg/L)
Li	0,149	0,248
Be	0,0145	0,0242
Mg (mg/L)	0,00343	0,00572
V	0,392	0,653
Cr	2,87	4,78
Mn	0,129	0,214
Fe	22,8	38,1
Co	0,0134	0,022
Ni	0,082	0,136
Cu	0,143	0,239
Zn	2,51	4,19
Rb	0,0117	0,0195
Sr	0,0265	0,0442
Mo	0,19	0,317
Cd	0,062	0,103
Sn	0,0254	0,0424
Sb	0,0119	0,0199
Hg	0,43	0,716
Tl	0,00234	0,00389
Pb	0,0195	0,0325
Se	4,09	6,82

Rådata for blankene er vist i Vedlegg D

Linearitet

Alle element, bortsett fra magnesium, ble kalibrert ved standard addisjon og tilsats av ulike mengder av en fortynnet stockløsning med kalibreringsstandard. Det ble testet både ekstern kalibrering og standard addisjon for kalibrering. Magnesium ble kalibrert med ekstern kalibrering, fordi endogen konsentrasjon i morsmelk er mye høyere enn stamløsning som ble brukt i kalibreringen. Sluttkonsentrasjonene er vist i Tabell VI.

Magnesium er over det testede måleområdet. Likevel på grunn av god gjenfinning i både Seronorm og ERM-BD-150 med ekstern kalibrering, så velger vi å se på resultatene for magnesium også. Under er regresjonsligningen for de ulike elementene ved standard addisjon vist, bortsett fra magnesium, som er oppgitt med regresjonsligning ved ekstern kalibrering (Tabell VII)

Tabell VI. Konsentrasjoner i kalibreringsstandardene.

Element	Standard 0 (µg/L)	Standard 1 (µg/L)	Standard 2 (µg/L)	Standard 3 (µg/L)	Standard 4 (µg/L)
Fe, Cu, Rb	0	0,8	2	8	20
Zn	0	4	10	40	100
Alle andre	0	0,2	0,5	3	5

For oversikt over kalibratorene som er brukt, se Vedlegg C (Tabell F Standarder)

Tabell VII. Regresjonsligning og korrelasjonskoeffisient for de ulike elementene.

Element	Regresjonsligning	Korrelasjonskoeffisient
Li	$y = 4,47567E-002 * x + 5,75665E-004$	0,99997
Be	$y = 9,82094E-003 * x + 2,93275E-005$	1
Mg	$y = 5,24947E-002 * x - 7,33710E-004$	0,99996
V	$y = 8,61564E-002 * x - 1,01084E-003$	0,99995
Cr	$y = 8,53788E-002 * x - 1,21052E-004$	0,99993
Mn	$y = 1,06587E-001 * x + 7,26498E-003$	0,99999
Fe	$y = 9,10751E-002 * x + 2,10078E-001$	0,99994
Co	$y = 8,63187E-002 * x + 4,04838E-004$	1
Ni	$y = 2,25468E-002 * x + 6,27525E-005$	0,99999
Cu	$y = 1,86521E-002 * x + 9,42454E-002$	0,99992
Zn	$y = 5,35598E-003 * x + 2,53133E-001$	0,99967
Rb	$y = 9,50608E-002 * x + 1,67573$	0,99979
Sr	$y = 1,22576E-001 * x + 1,58583E-001$	0,99994
Mo	$y = 3,00778E-002 * x + 4,66933E-004$	0,9999
Cd	$y = 6,92874E-003 * x + 1,45910E-005$	0,99996
Sn	$y = 3,07899E-002 * x + 7,14050E-004$	0,99996
Sb	$y = 1,82872E-002 * x - 1,70103E-005$	1
Hg	$y = 7,26194E-003 * x + 4,95280E-005$	1
Tl	$y = 1,02400E-001 * x + 5,64992E-004$	0,99998
Pb	$y = 2,93601E-002 * x + 2,81072E-004$	0,99999
Se	$y = 7,08951E-004 * x + 7,35376E-005$	0,9999

Måleområde

Måleområdet begrenses av kvantifiseringsgrensen og den høyeste standarden i kalibreringskurven*30, på grunn av prøvefortynningen (1:30). Måleområdet er vist i Tabell VIII.

Tabell VIII. Oversikt over måleområde for de ulike elementene.

Element	Nedre måleområde (µg/L)	Øvre måleområde (µg/L)
Li	0,248	150
Be	0,0242	150
Mg (mg/L)	0,00572	0,15
V	0,653	150
Cr	4,78	150
Mn	0,214	150
Fe	38,1	600
Co	0,022	150
Ni	0,136	150
Cu	0,239	600
Zn	4,19	3000
Rb	0,0195	600
Sr	0,0442	150
Mo	0,317	150
Cd	0,103	150
Sn	0,0424	150
Sb	0,0199	150
Hg	0,716	150
Tl	0,00389	150
Pb	0,0325	150
Se	6,82	150

Nøyaktighet og presisjon

Tabellene under viser gjenfinningen ERM-BD-150 (Tabell IX) og Seronorm Trace Elements serum (Tabell X). Variasjonskoeffisienten viser reproduserbarheten til metoden, da kontrollene er opparbeidet og analysert på ulike dager. Sertifisert verdi er oppgitt med 2 SD (tilsvarer 95 % konfidensintervall) der hvor dette er oppgitt fra leverandør. Resultatene for analyse av ekstern kvalitetskontroll er oppgitt i Tabell XI.

Tabell IX. Oversikt over reproduserbarhet og nøyaktighet for ERM-BD-150

Element	Gjennomsnitt (µg/L)	SD (µg/L)	VK (%)	Gjenfinning (%)	n	Sertifisert-verdi ± 2SD (µg/kg)
Li	120	72,8	61		16	
Be	-0,017	0,07	-405		16	
Mg* (mg/L)	1292	109	8	103	16	1260 ±100
V	0,47	0,19	40		16	
Cr	16,8	12,9	77		16	
Mn	263	15,1	6	91	16	289 ±18
Fe	4297	222	5	93	16	4600 ±500
Co	3,22	0,17	5		16	
Ni	25,6	8,64	34		16	
Cu	962	80,2	8	89	16	1080 ±60
Zn	43864	1419	3	98	16	44800 ±2000
Rb	18657	1593	9		16	
Sr	3481	141	4		16	
Mo	338	21,9	6		16	
Cd	11,3	0,78	7	99	16	11,4 ±2,9
Sn	1,64	0,97	59		16	
Sb	0,33	0,26	77		16	
Hg	60,8	10,4	17	101	16	60 ±7
Tl	0,65	0,05	7		16	
Pb	16,63	3,46	21	88	16	19,3 ±4
Se	199	24,1	12	106	11	188 ±14

*Mg er over øvre måleområde. VK=variasjonskoeffisient. n=antall

Tabell X. Oversikt over nøyaktighet og presisjon for Seronorm Serum Trace Elements Level 2.

Element	Gjennomsnitt (µg/L)	SD (µg/L)	VK (%)	Gjenfinning (%)	n	Analytisk verdi ±2SD (µg/L)
Li	10462	759	7	108	16	9689 ±1950
Be	0,0137	0,0201	147	137	16	0,01*
Mg** (mg/L)	38,7	3,22	8	114	16	33,9 ±6,8
V	1,09	0,126	12	99	16	1,1*
Cr	4,99	0,744	15	88	16	5,7 ±1,7
Mn	14,6	0,734	5	100	16	14,5 ±2,9
Fe	2137	119	6	99	16	2150 ±0,43
Co	3,15	0,159	5	103	16	3,05 ±0,92
Ni	10,1	0,497	5	112	16	9 ±2
Cu	2017	163	8	105	16	1925 ±387
Zn	1822	70,2	4	119	16	1532 ±308
Rb	9,73	0,772	8	112	16	8,7*
Sr	115	4,51	4	105	16	110*
Mo	1,15	0,0781	7	95	16	1,21*
Cd	0,156	0,0443	27	111	15	0,14*
Sn	0,216	0,084	39	86	16	0,25*
Sb	16,7	0,72	4	111	16	15*
Hg	2,52	0,879	35	123	15	2,05 ±0,62
Tl	0,0957	0,0135	14	89	16	0,108*
Pb	0,621	0,202	32	94	15	0,66*
Se	148	6,55	4	109	11	136 ±41

*Ikke oppgitt med konfidensintervall. **Mg er over øvre måleområde. VK=variasjonskoeffisient. n=antall

Tabell XI. Oversikt over resultat for ekstern kvalitetskontroll QMEQAS Serum (Del 1 av 2).

Element	QMEQAS S 1507 Analysert: 13.01.2016 Dekomponert: 12.01.2016			QMEQAS S 1507 Analysert: 24.02.2016 Dekomponert: 14.02.2016			QMEQAS S 1513 Analysert: 13.01.2016 Dekomponert: 12.01.2016			QMEQAS S 1513 Analysert: 05.02.2016 Dekomponert: 16.01.2016		
	Resultat (µg/L)	Target (µg/L)	Gjenfin- ning	Resultat (µg/L)	Target (µg/L)	Gjenfin- ning	Resultat (µg/L)	Target (µg/L)	Gjenfin- ning	Resultat (µg/L)	Target (µg/L)	Gjenfin- ning
Be	17,1	17,4	98 %	19,9	17,4	115 %	24,0	22,7	106 %	26,7	22,7	117 %
V	0,85	0,91	93 %	0,93	0,91	102 %	0,43	0,47	93 %	0,41	0,47	88 %
Cr	0,98	1,08	91 %	1,19	1,08	110 %	2,40	2,10	114 %	2,11	2,10	101 %
Mn	2,97	3,09	96 %	3,01	3,09	97 %	2,34	2,55	92 %	2,34	2,55	92 %
Co	2,64	2,62	101 %	2,79	2,62	106 %	4,09	4,18	98 %	4,40	4,18	105 %
Ni	0,34	0,76	45 %	0,32	0,76	42 %	11,82	12,44	95 %	13,04	12,44	105 %
Cu	1609	1709	94 %	2056	1709	120 %	1269	1265	100 %	1353	1265	107 %
Zn	1516	1766	86 %	2545	1766	144 %	1042	1157	90 %	1344	1157	116 %
Mo	1,91	1,80	106 %	1,76	1,80	98 %	5,38	4,96	109 %	5,22	4,96	105 %
Cd	1,33	1,66	80 %	1,59	1,66	95 %	3,01	2,96	102 %	3,48	2,96	118 %
Sn	3,16	3,11	102 %	3,49	3,11	112 %	3,88	3,59	108 %	3,66	3,59	102 %
Sb	1,30	1,25	104 %	1,29	1,25	103 %	1,89	1,97	96 %	2,27	1,97	115 %
Hg	2,11	1,41	150 %	2,17	1,41	154 %	2,73	3,03	90 %	3,21	3,03	106 %
Tl	0,77	0,80	97 %	0,74	0,80	94 %	0,90	0,97	93 %	0,88	0,97	91 %
Pb	54,4	59,9	91 %	60,5	59,9	101 %	37,8	33,8	112 %	34,6	33,8	102 %
Se	182	246	74 %	277	246	113 %	85	126	67 %	157	126	125 %

Tabell XII. Oversikt over resultat for ekstern kvalitetskontroll QMEQAS Serum (Del 2 av 2).

Element	QMEQAS S 1603 Analysert: 05.02.2016 Dekomponert: 29.01.2016			QMEQAS S 1501 Analysert: 05.02.2016 Dekomponert: 03.02.2016			QMEQAS S 1417 Analysert: 24.02.2016 Dekomponert: 14.02.2016			QMEQAS S 1417 Analysert: 24.02.2016 Dekomponert: 14.02.2016		
	Resultat (µg/L)	Target (µg/L)	Gjenfin- ning	Resultat (µg/L)	Target (µg/L)	Gjenfin- ning	Resultat (µg/L)	Target (µg/L)	Gjenfin- ning	Resultat (µg/L)	Target (µg/L)	Gjenfin- ning
Be	13,8	12,1	115 %	7,93	6,86	116 %	18,9	16,0	118 %	16,6	16,0	104 %
V	0,52	0,55	95 %	1,10	1,19	93 %	1,22	0,94	129 %	0,95	0,94	101 %
Cr	1,12	1,12	100 %	1,64	1,75	94 %	3,85	2,55	151 %	2,65	2,55	104 %
Mn	2,47	2,71	91 %	2,47	2,71	91 %	2,56	2,64	97 %	2,24	2,64	85 %
Co	2,68	2,65	101 %	1,26	1,31	97 %	2,23	2,13	105 %	2,08	2,13	98 %
Ni	7,24	7,10	102 %	4,17	4,61	91 %	3,02	2,98	101 %	2,95	2,98	99 %
Cu	2135	2059	104 %	1074	1118	96 %	1390	1150	121 %	1190	1150	103 %
Zn	2583	2236	116 %	1296	1229	105 %	1736	1203	144 %	1315	1203	109 %
Mo	4,12	4,12	100 %	3,39	3,50	97 %	3,81	3,54	108 %	3,77	3,54	106 %
Cd	2,30	2,00	115 %	1,26	1,05	119 %	2,35	2,42	97 %	2,57	2,42	106 %
Sn	2,01	2,23	90 %	4,86	4,99	98 %	3,90	3,69	106 %	3,61	3,69	98 %
Sb	0,99	0,93	106 %	3,44	3,38	102 %	2,92	2,70	108 %	2,77	2,70	102 %
Hg	3,02	3,39	89 %	2,53	2,39	106 %	5,13	2,89	178 %	1,13	2,89	39 %
Tl	0,76	0,75	101 %	1,65	1,81	91 %	1,48	1,53	97 %	1,29	1,53	84 %
Pb	88,9	81,8	109 %	15,8	15,9	99 %	67,8	62,6	108 %	59,2	62,6	95 %
Se	371	296	125 %	156	152	102 %	159	136	117 %	142	136	104 %

Resultater morsmelk

Det ble levert inn totalt 256 prøver, 6 uker (n=85), 85, 4 måneder (n=86) og 6 måneder (n=86). Totalt 61 leverte inn morsmelk på alle tre tidspunkt og 31 leverte på to tidspunkt. Gjennomsnittsalderen hos mødrene var 32 år, den yngste var 20 år og den eldste 41 år. Veksten til babyene ved fødsel og på de ulike tidene etter fødsel er vist i Tabell XIII.

Tabell XIII. Oversikt over vekt hos babyene ved fødsel, 4 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel.

	Gjennomsnitt	SD	Min	Max
Fødselsvekt (gram)	3576	418	2725	4900
Vekt ved 6 uker (gram)	4988	648	3464	6345
Vekt ved 4 måneder (gram)	6816	825	5185	8750
Vekt ved 6 måneder (gram)	7949	1036	5735	11380

Deskriptive data er presentert i tabeller med inndeling etter funksjon/virkning i kroppen. Først presenteres de essensielle elementene (Tabell XIII), deretter de uten kjent virkning (Tabell XIV) og tilslutt de toksiske (Tabell XV). Deretter presenteres histogram og «errorbar»diagram, med gjennomsnitt og 95 % konfidensintervall, for hvert enkelt element. Korrelasjonsdata er vedlagt (Vedlegg E, F og G).

Tabell XIV. Oversikt over essensielle element ved de ulike tidene etter fødsel.

Element	Tid etter fødsel	n	Gjennomsnitt	SD	Median	IQR 25	IQR 75	Min	Max	P-verdi*
Jern (µg/L)	6 uker	85	257	113	221	178	313	84,0	686	< 0,001
	4 mnd.	85	195	226	150	103	229	38,1	2077	
	6 mnd.	86	207	199	176	120	237	39,9	1832	
Kobber (µg/L)	6 uker	85	407	105	405	330	471	132	759	< 0,001
	4 mnd.	85	246	82,7	234	184	301	104	539	
	6 mnd.	86	215	120	193	135	265	62,0	734	
Kobolt (µg/L)	6 uker	85	0,206	1,04	0,07	0,04	0,10	0,02	9,64	0,75
	4 mnd.	85	0,081	0,074	0,06	0,04	0,09	0	0,42	
	6 mnd.	86	0,111	0,320	0,06	0,04	0,10	0,01	3,01	
Krom (µg/L)	6 uker	85	1,09	4,80	0,240	0,090	0,805	-0,05	44,0	0,423
	4 mnd.	85	0,49	0,69	0,230	0,105	0,515	-0,04	3,69	
	6 mnd.	86	0,59	0,80	0,275	0,138	0,758	-0,06	4,84	
Magnesium (mg/L)	6 uker	84	34,1	7,08	34,0	29,2	38,7	13,6	49,8	< 0,001
	4 mnd.	84	42,7	7,23	41,8	37,7	47,9	27,9	65,9	
	6 mnd.	85	42,4	7,82	41,8	37,1	47,8	27,7	69,3	
Mangan (µg/L)	6 uker	85	4,74	10,9	2,91	2,12	3,67	0,960	98,3	0,022
	4 mnd.	85	3,17	4,05	2,24	1,54	3,28	0,0678	35,6	
	6 mnd.	86	4,27	6,36	2,60	2,02	4,45	0,900	55,0	
Molybden (µg/L)	6 uker	85	1,39	1,99	0,60	0,34	1,38	0,07	10,6	< 0,001
	4 mnd.	85	0,652	1,04	0,30	0,19	0,585	-0,02	6,75	
	6 mnd.	86	0,736	1,04	0,39	0,19	0,728	0,02	5,87	
Selen (µg/L)	6 uker	59	11,2	3,84	10,1	8,66	13,6	4,92	22,9	< 0,001
	4 mnd.	60	8,56	5,42	7,69	6,02	9,97	2,60	44,6	
	6 mnd.	61	8,45	4,12	7,27	6,29	10,3	1,51	31,0	
Sink (µg/L)	6 uker	85	2550	948	2561	1899	3205	389	4922	< 0,001
	4 mnd.	85	1229	594	1083	729	1647	356	2767	
	6 mnd.	86	945	485	838	520	1283	305	2410	

*P-verdi fra Kruskal Wallis test for alle tre tidspunktene etter fødsel. n=antall.

Tabell XV. Oversikt over element uten kjent virkning ved de ulike tidene etter fødsel.

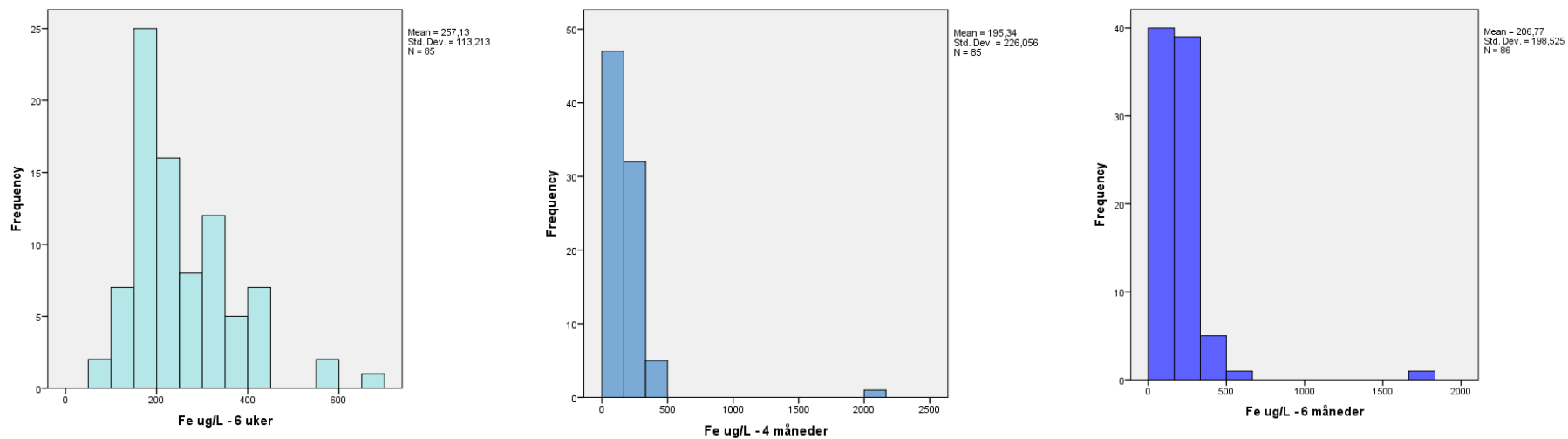
Element	Tid etter fødsel	n	Gjennom- snitt	SD	Median	IQR 25	IQR 75	Min	Max	P-verdi*
Nikkel (µg/L)	Ni 6 uker	85	2,97	22,8	0,23	0,075	0,595	-0,35	210	
	Ni 4 mnd.	85	0,418	0,78	0,19	0,065	0,555	-0,42	5,93	0,288
	Ni 6 mnd.	86	0,452	1,34	0,16	0,030	0,370	-0,36	11,7	
Rubidium (µg/L)	6 uker	85	612	113	603	527	672	374	924	
	4 mnd.	85	542	112	527	467	599	289	895	<0,001
	6 mnd.	86	526	103	508	456	582	355	945	
Strontium (µg/L)	6 uker	85	44,6	15,3	19,3	35,0	49,6	43,3	120	
	4 mnd.	85	42,5	13,7	18,7	31,1	50,4	40,8	75,3	0,001
	6 mnd.	86	37,1	11,7	18,3	27,8	45,2	34,7	66,8	
Vanadium (µg/L)	6 uker	85	0,052	0,111	0,01	-0,01	0,055	-0,03	0,60	
	4 mnd.	85	0,042	0,083	0,01	-0,01	0,050	-0,02	0,37	0,935
	6 mnd.	86	0,054	0,115	0,01	-0,01	0,083	-0,03	0,68	

*P-verdi fra Kruskal Wallis test for alle tre tidspunktene etter fødsel. n=antall.

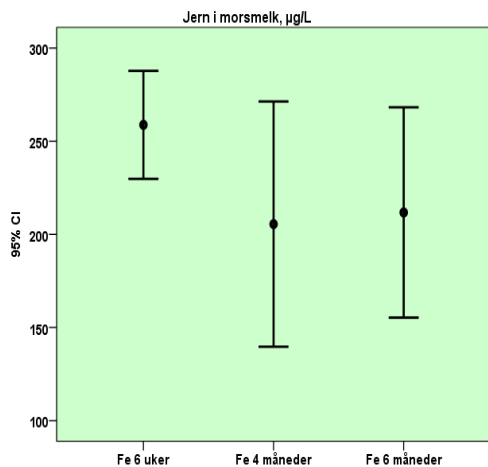
Tabell XVI. Oversikt over toksiske element ved de ulike tidene etter fødsel.

Element	Tid etter fødsel	n	Gjen-nom-snitt	SD	Me-dian	IQR 25	IQR 75	Min	Max	P-verdi*
Antimon (µg/L)	6 uker	85	0,0238	0,0921	0,04	-0,02	0,07	-0,17	0,37	0,488
	4 mnd.	85	0,0688	0,360	0,04	-0,02	0,08	-0,14	3,25	
	6 mnd.	86	0,0413	0,0996	0,05	0,01	0,08	-0,15	0,54	
Bly (µg/L)	6 uker	85	0,605	1,29	0,190	0,090	0,340	-0,07	8,79	0,827
	4 mnd.	85	1,06	4,31	0,230	0,095	0,550	-0,07	37,5	
	6 mnd.	86	2,01	11,6	0,185	0,060	0,603	-0,08	105	
Kadmium (µg/L)	6 uker	84	0,064	0,151	0,04	0,02	0,070	-0,02	1,34	0,566
	4 mnd.	85	0,070	0,105	0,06	0	0,120	-0,15	0,55	
	6 mnd.	86	0,098	0,427	0,05	-0,003	0,113	-0,15	3,91	
Kvikksølv (µg/L)	6 uker	85	0,025	0,531	0,010	-0,195	0,205	-1,55	2,98	0,341
	4 mnd.	85	0,050	0,510	0,010	-0,160	0,220	-1,97	2,37	
	6 mnd.	86	0,107	0,494	0,015	-0,178	0,320	-0,84	1,75	
Thallium (µg/L)	6 uker	85	0,0321	0,0152	0,03	0,02	0,04	0	0,11	0,001
	4 mnd.	85	0,0288	0,0388	0,02	0,02	0,03	-0,01	0,36	
	6 mnd.	86	0,0253	0,0120	0,03	0,02	0,03	0	0,06	
Tinn (µg/L)	6 uker	85	0,341	2,57	0,02	-0,07	0,075	-0,19	23,7	0,986
	4 mnd.	85	0,0390	0,180	0,03	-0,06	0,055	-0,18	1,05	
	6 mnd.	86	0,0335	0,144	0,02	-0,19	0,080	-0,19	0,640	

*P-verdi fra Kruskall Wallis test for alle tre tidspunktene etter fødsel. n=antall.

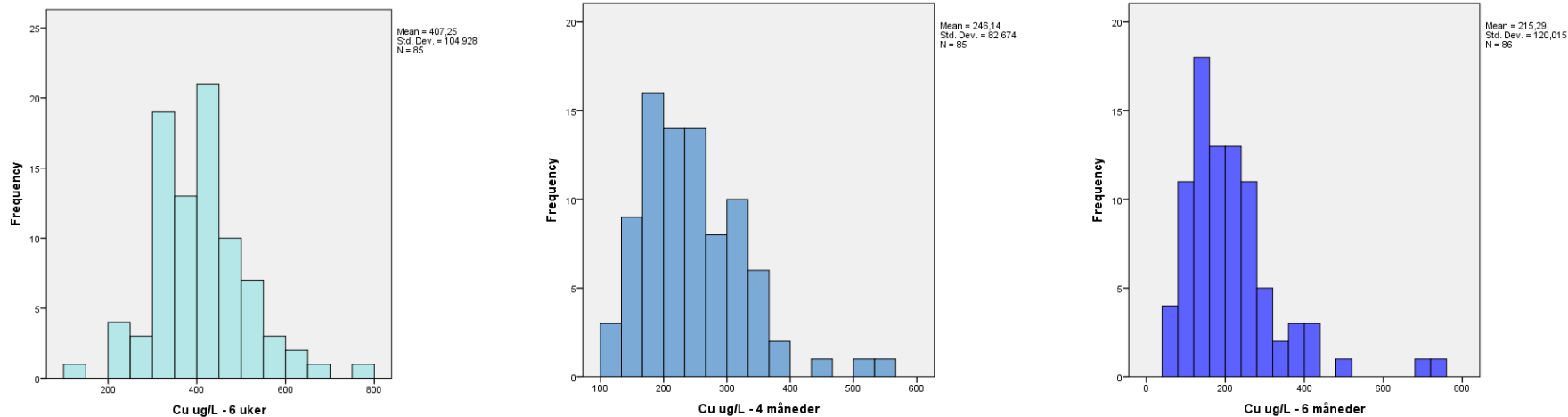


Figur 6. Jern histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

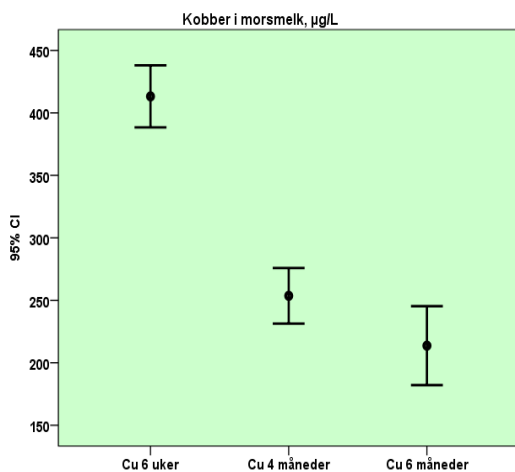


Figur 6 og Figur 7 viser fordelingen av resultatene for jern i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Konsentrasjonen av jern synker med tiden etter fødsel. Enkelte resultat øker gjennomsnittet ved 4- og 6 måneder, som vises på begge figurene

Figur 7. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for jern ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel.

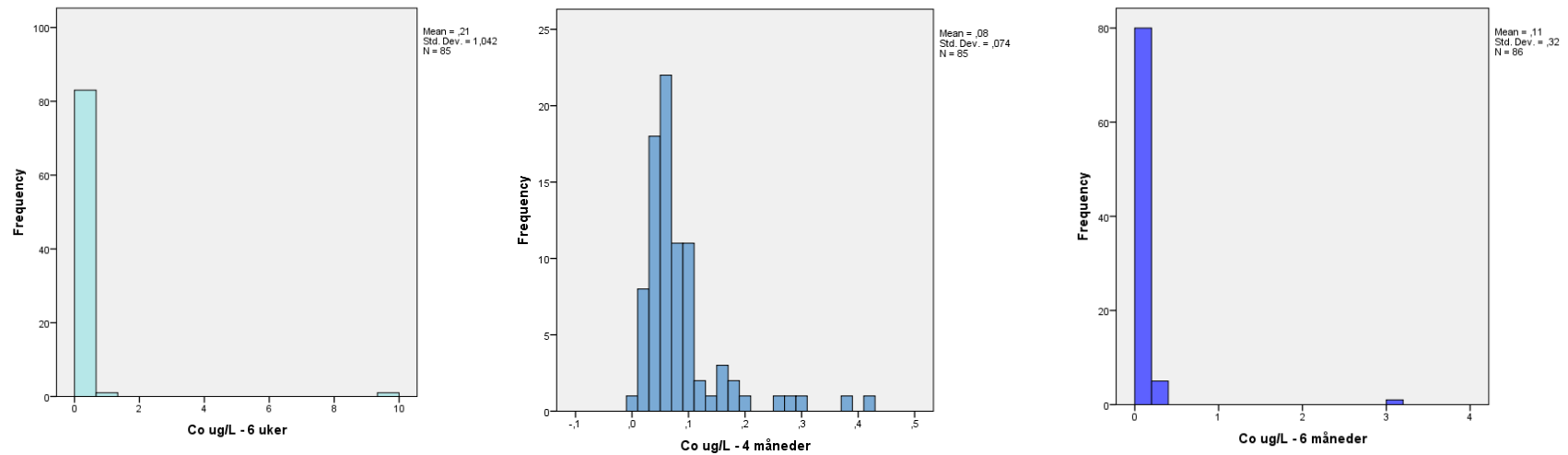


Figur 8. Kobber histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

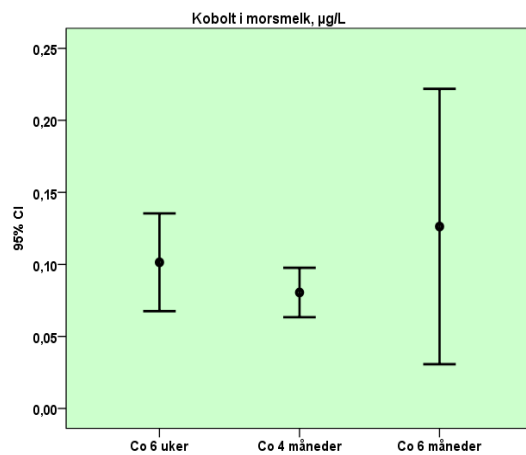


Figur 8 og Figur 9 viser fordelingen av resultatene for kobber i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Konsentrasjonen av kobber synker signifikant med tiden etter fødsel og det er liten spredning på resultatene.

Figur 9. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for kobber ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

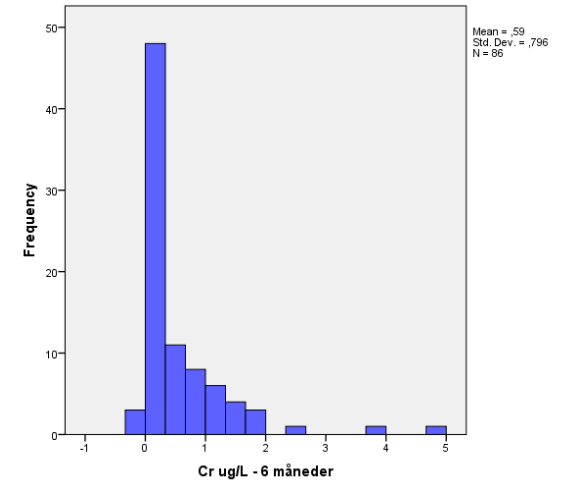
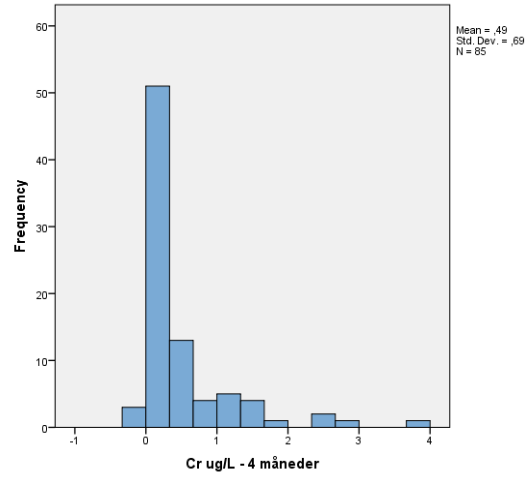
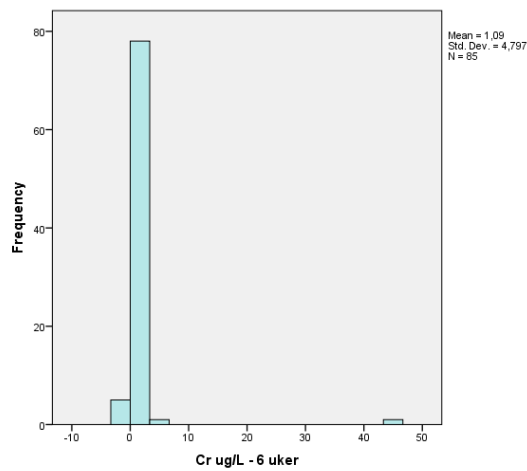


Figur 10. Kobolt histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

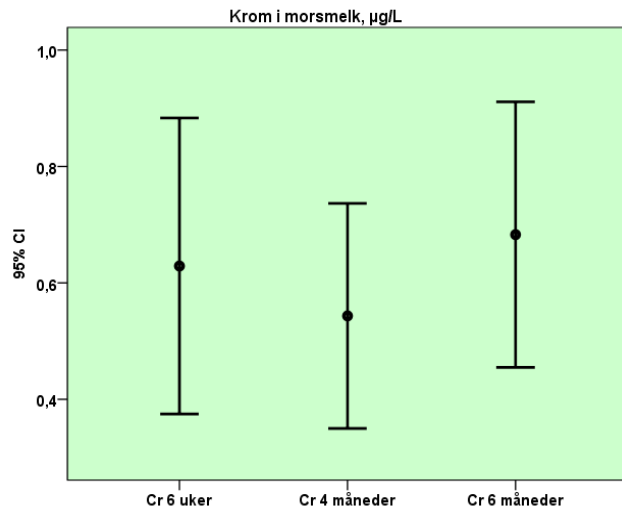


Figur 10 og Figur 11 viser fordelingen av resultatene for kobolt i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Konsentrasjonen av kobolt endrer seg lite med tiden etter fødsel. Ett resultat øker gjennomsnittet for nivået ved 6 uker og 7 måneder etter fødsel.

Figur 11. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for kobolt ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

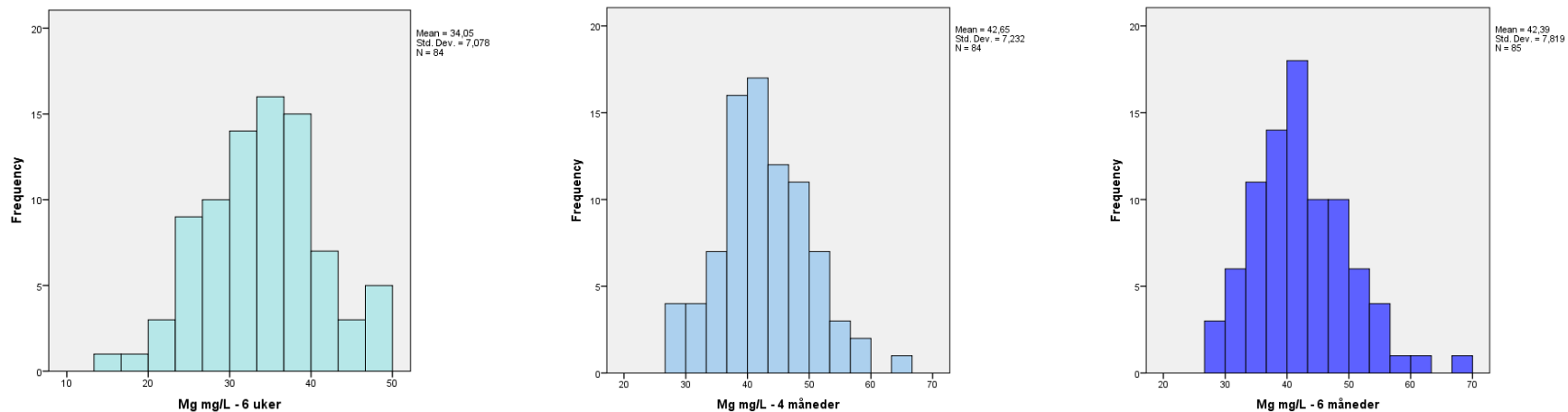


Figur 12. Krom histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

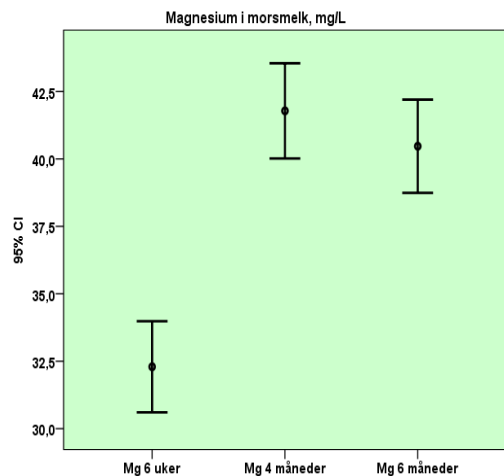


Figur 12 og Figur 13 viser fordelingen av resultatene for krom i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Konsentrasjonen av krom endrer seg ikke med tiden etter fødsel.

Figur 13. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for krom ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

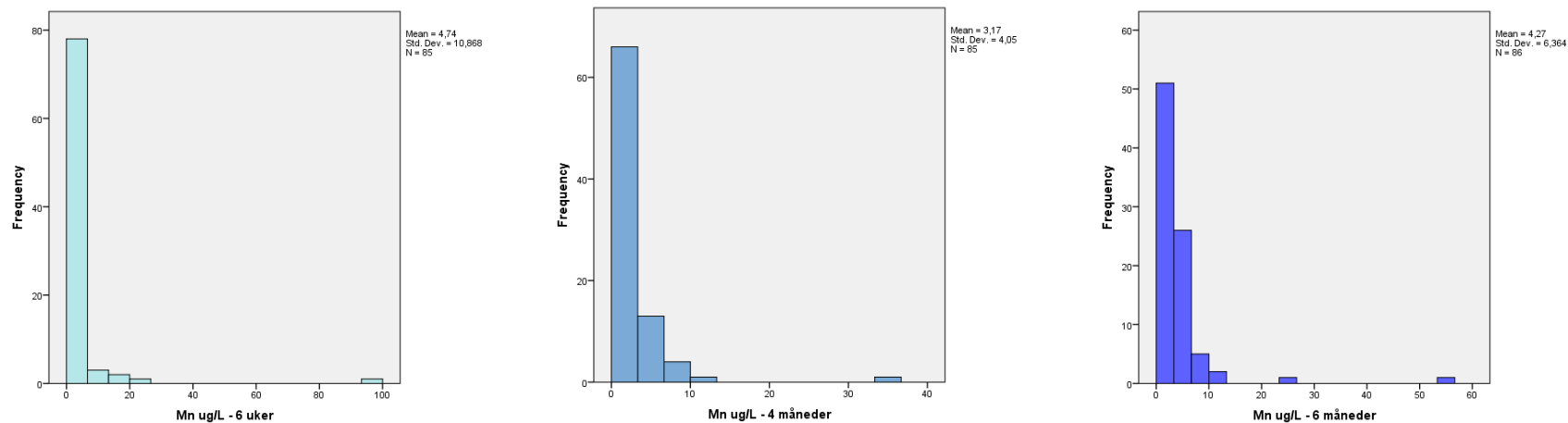


Figur 14. Magnesium histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

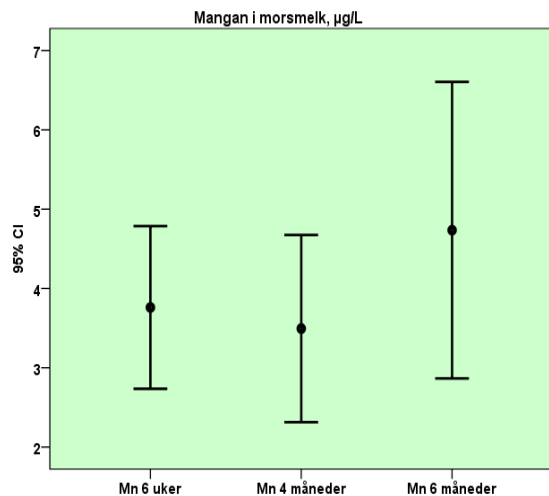


Figur 14 og Figur 15 viser fordelingen av resultatene for magnesium i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Resultatene er normalfordelte, og endrer seg signifikant med tiden etter fødsel, med en økning fra 6 uker til 4 måneder, og en ikke signifikant nedgang fra 4 – 6 måneder.

Figur 15. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for magnesium ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

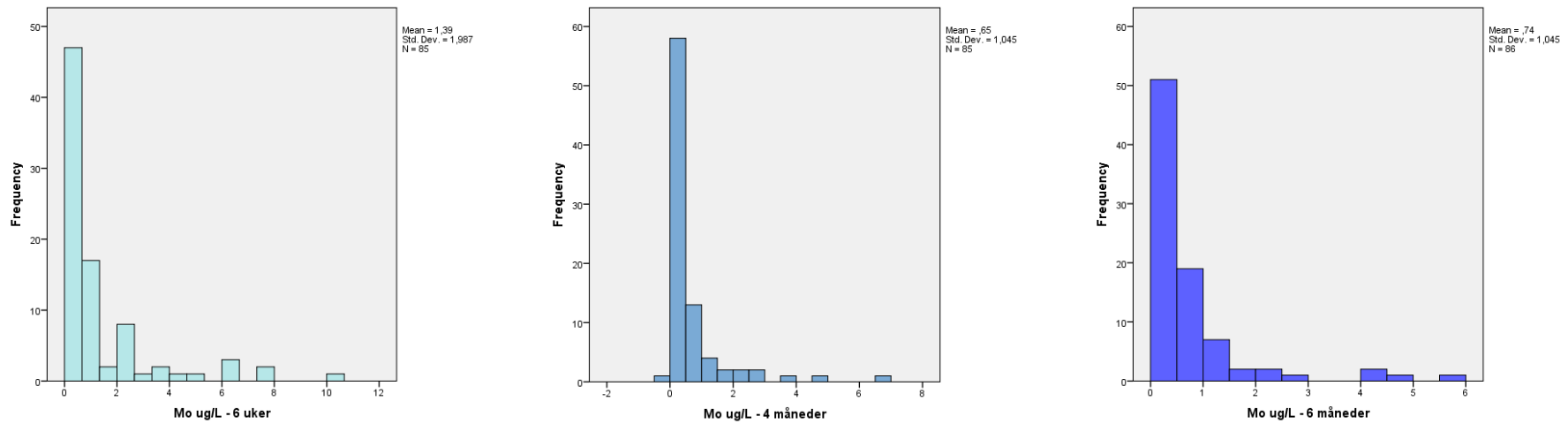


Figur 16. Mangan histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel



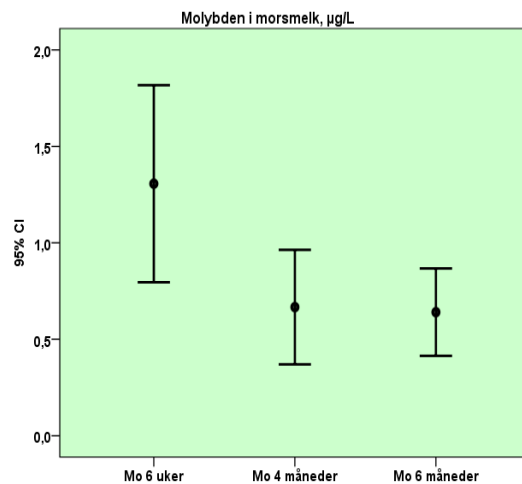
Figur 16 og Figur 17 viser fordelingen av resultatene for mangan i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Det er ingen signifikant endring av mangan i morsmelk, men nivået øker fra 4 – 6 måneder. Noen få høye verdier trekker opp gjennomsnittet ved alle tre tidspunktene.

Figur 17. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for mangan ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

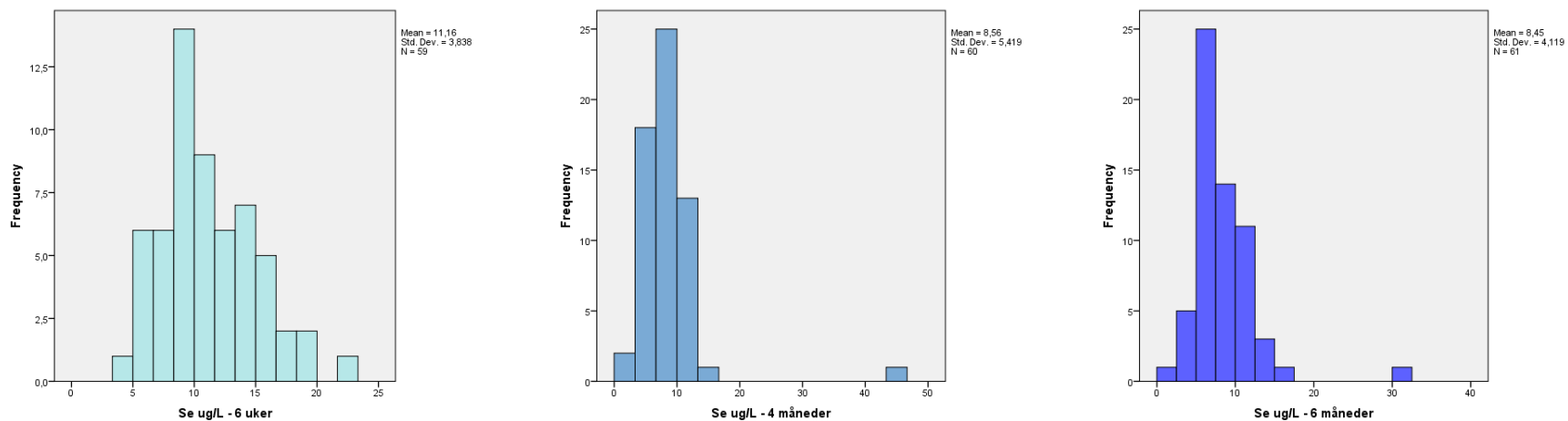


Figur 18. Molybden histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

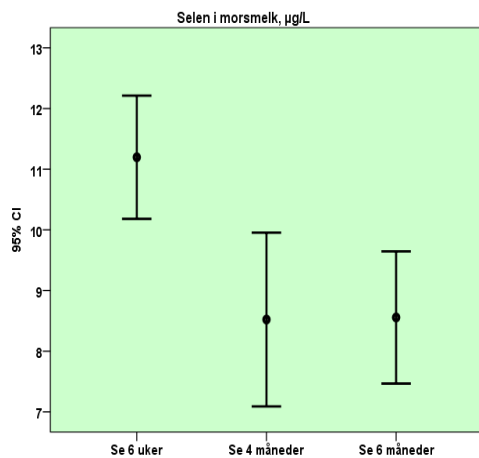
Figur 18 og Figur 19 viser fordelingen av resultatene for molybden i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Molybdeninnholdet i morsmelk endrer seg signifikant med en reduksjon fra 6 uker til 4 måneder, og en ingen endring fra 4 – 6 måneder.



Figur 19. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for molybden ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

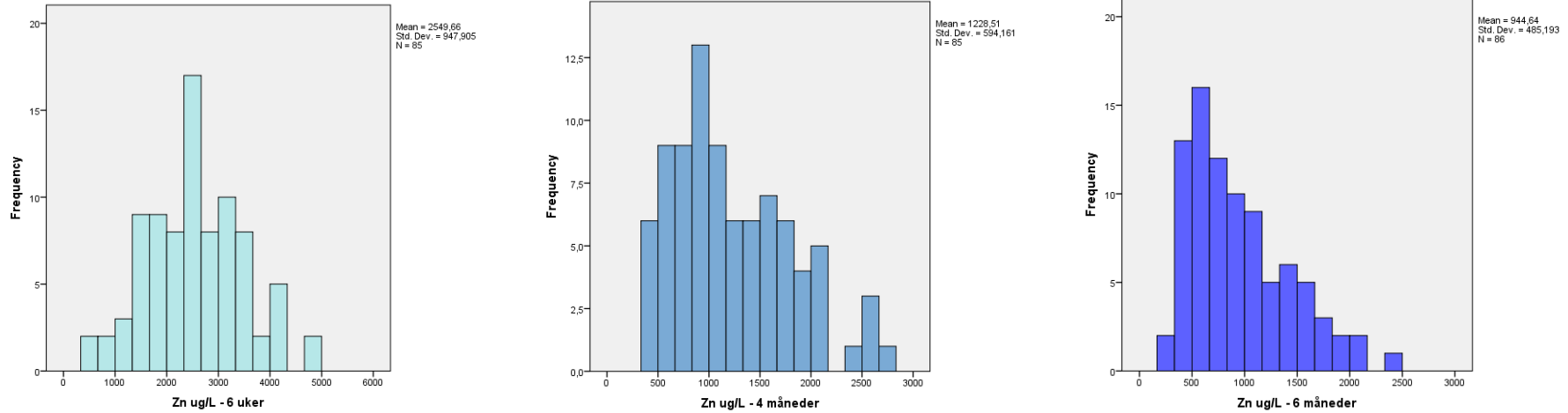


Figur 20. Selen histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

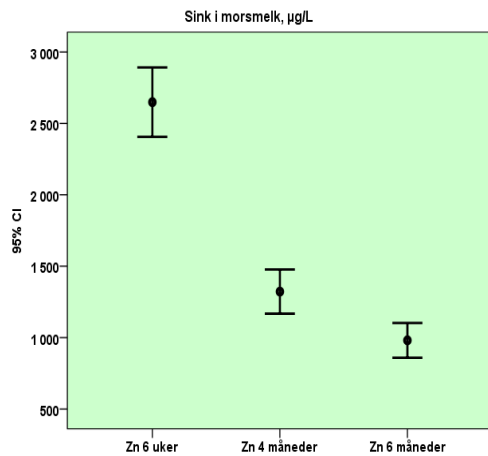


Figur 20 og Figur 21 viser fordelingen av resultatene for selen i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Seleninnholdet i morsmelk endrer seg signifikant fra 6 uker til 4 måneder, og en ingen endring fra 4 – 6 måneder.

Figur 21. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for selen ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

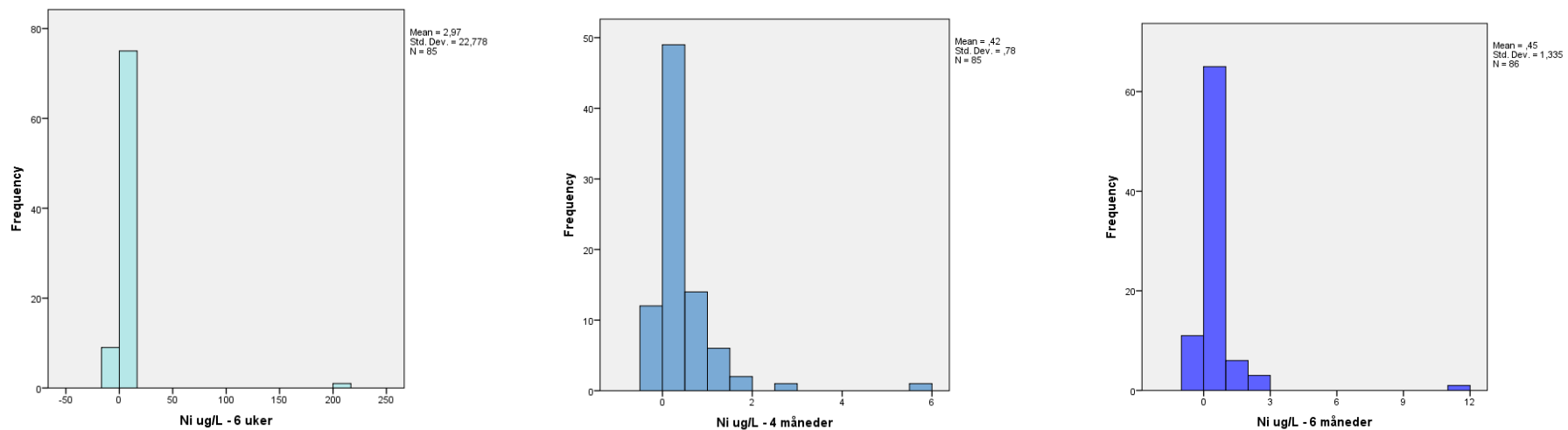


Figur 22. Sink histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

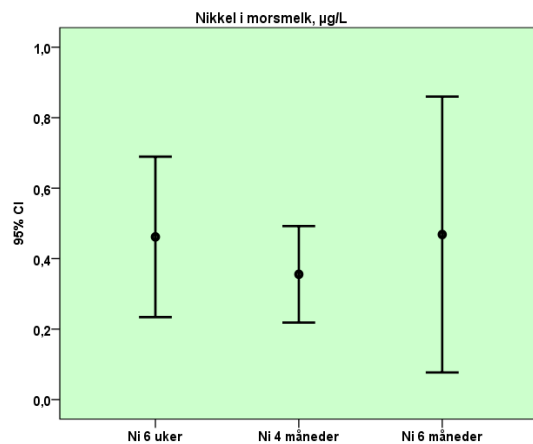


Figur 22 og Figur 23 viser fordelingen av resultatene for sink i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Sinkinnholdet i morsmelk reduseres signifikant fra 6 uker til 4 måneder, og fra 4 – 6 måneder. Resultatene er normalfordelte ved 6 uker, men ved 4- og 6 måneder er det ikke normalfordeling av resultatene.

Figur 23. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for sink ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

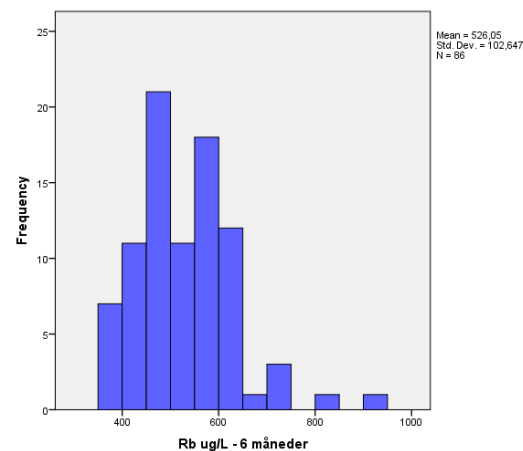
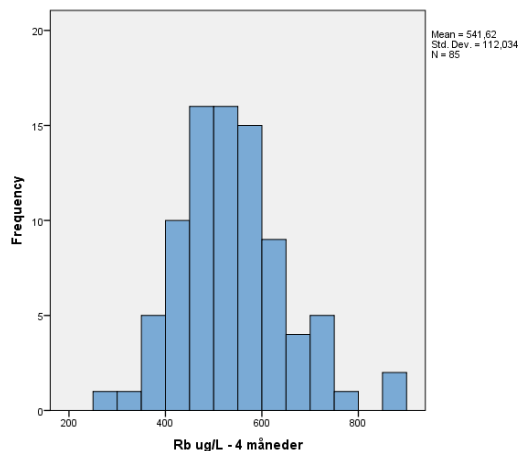
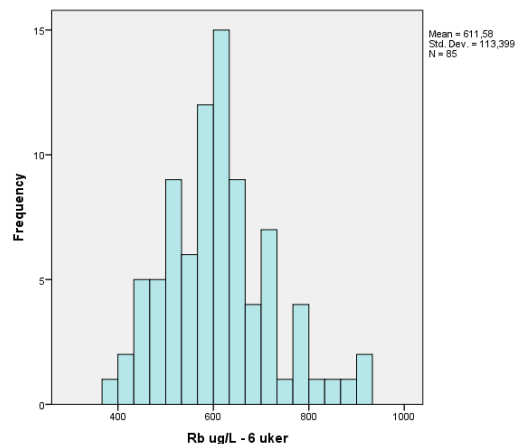


Figur 24. Nikkel histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

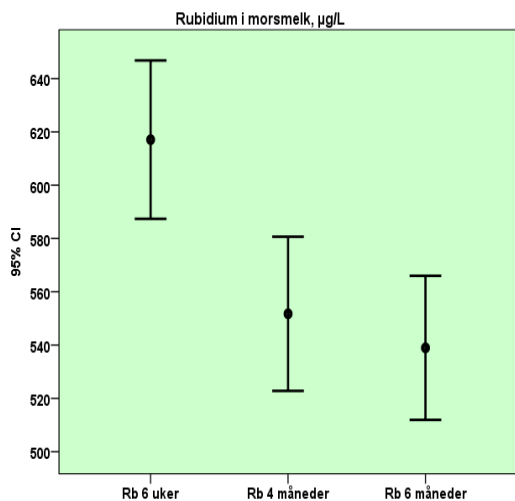


Figur 24 og Figur 25 viser fordelingen av resultatene for nikkel i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Det er ingen signifikant endring av nikkelinholdet i morsmelk i det undersøkte tidsrommet.

Figur 25. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for nikkel ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

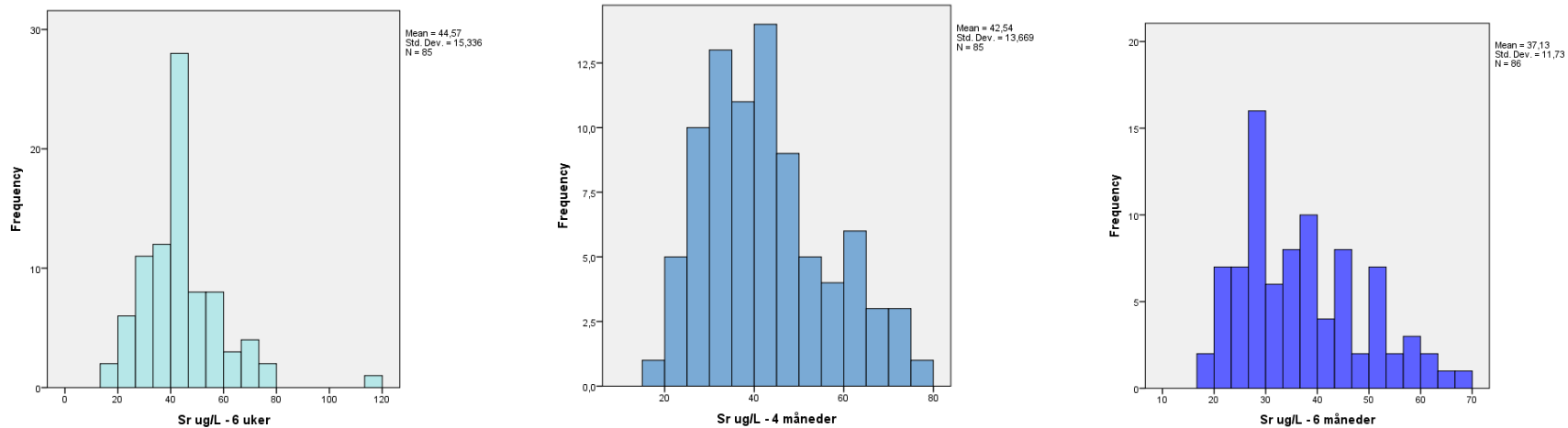


Figur 26. Rubidium histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

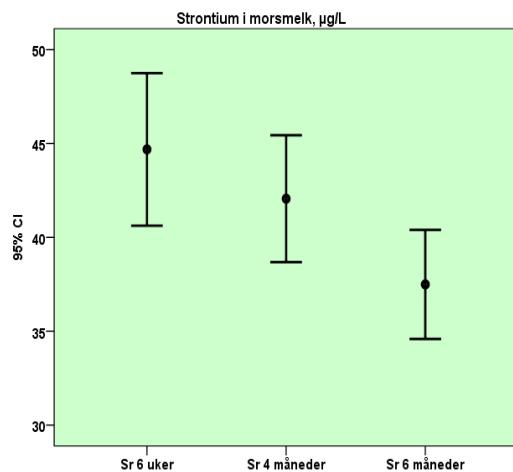


Figur 26 og Figur 27 viser fordelingen av resultatene for rubidium i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Resultatene er normalfordelt ved alle tidspunktene og viser signifikant nedgang fra 6 uker til 4 måneder, deretter en ikke signifikant nedgang.

Figur 27. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for rubidium ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

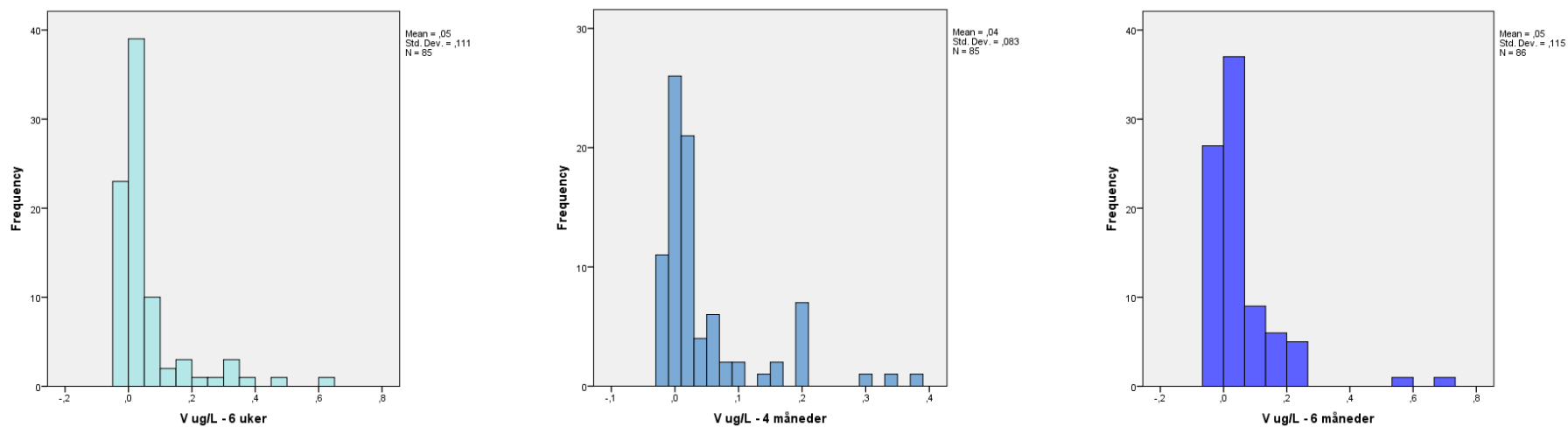


Figur 28. Strontium histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

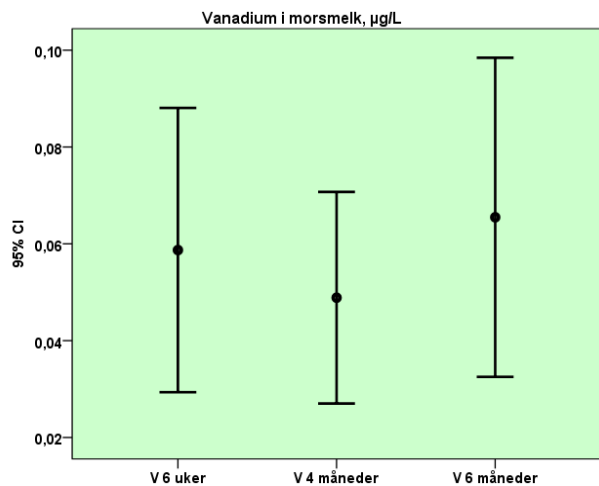


Figur 28 og Figur 29 viser fordelingen av resultatene for strontium i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Resultatene er normalfordelt ved alle tidspunktene og viser en signifikant nedgang fra 6 uker til 6 måneder, kraftigst nedgang fra 4 til 6 måneder.

Figur 29. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for strontium ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

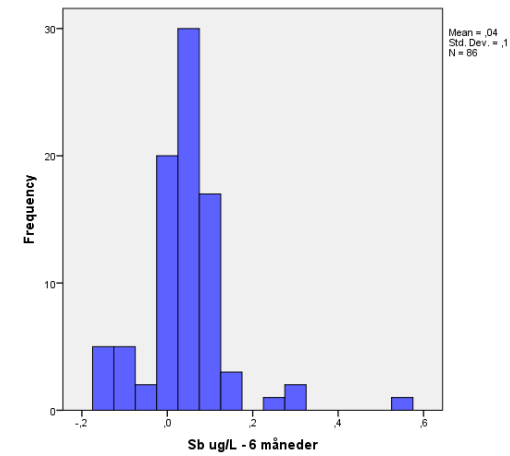
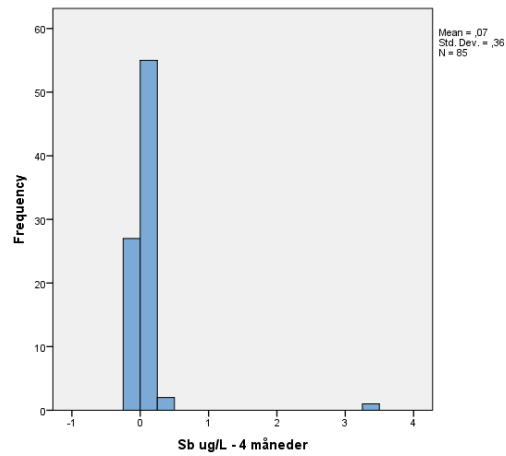
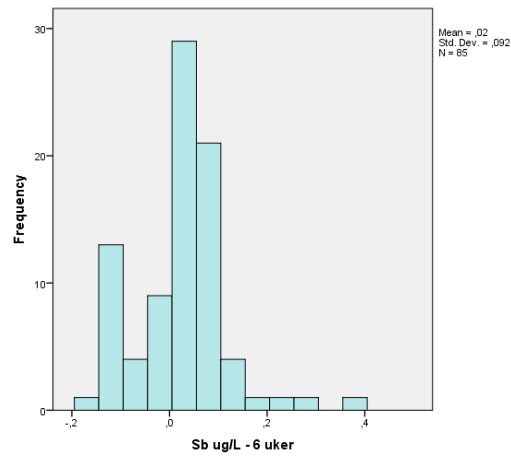


Figur 30. Vanadium histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

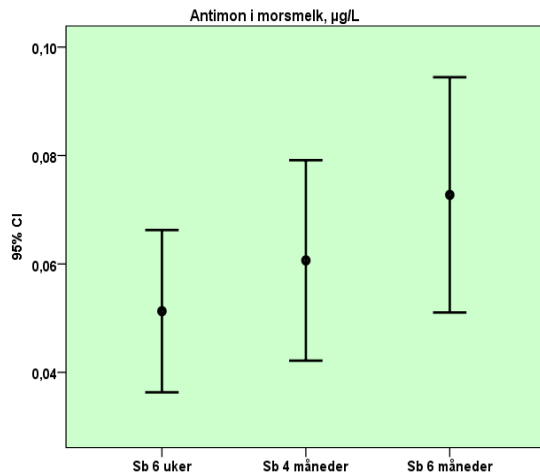


Figur 30 og Figur 31 viser fordelingen av resultatene for vanadium i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Det er ingen signifikant endring i vanadiuminnholdet i morsmelk i tidsperioden undersøkt..

Figur 31. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for vanadium ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

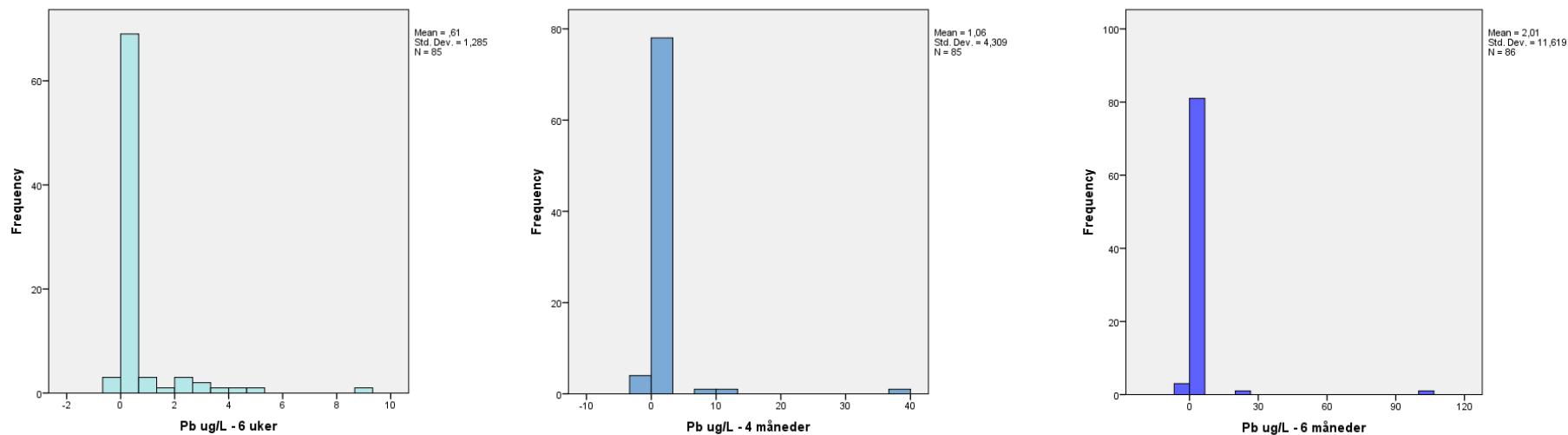


Figur 32. Antimon histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

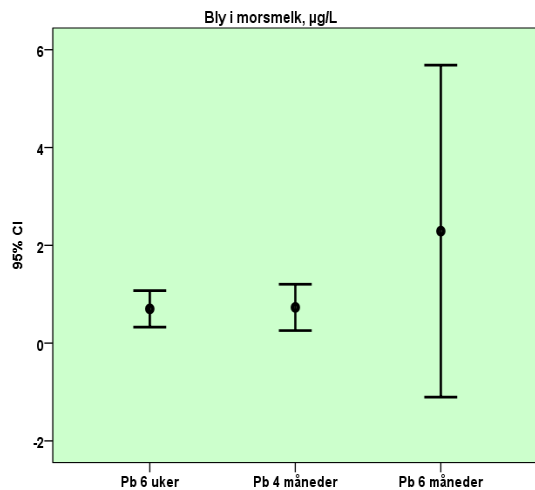


Figur 32 og Figur 32 viser fordelingen av resultatene for antimon i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Antimoninnholdet stiger jevnt i den undersøkte perioden, men det er ikke signifikant.

Figur 33. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for antimon ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

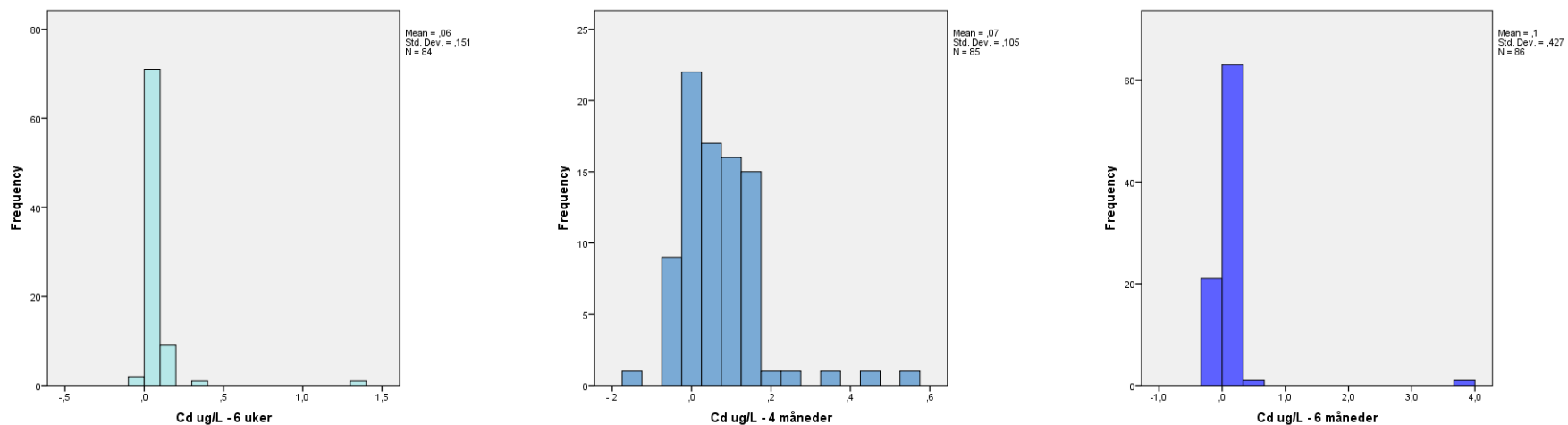


Figur 34. Bly histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

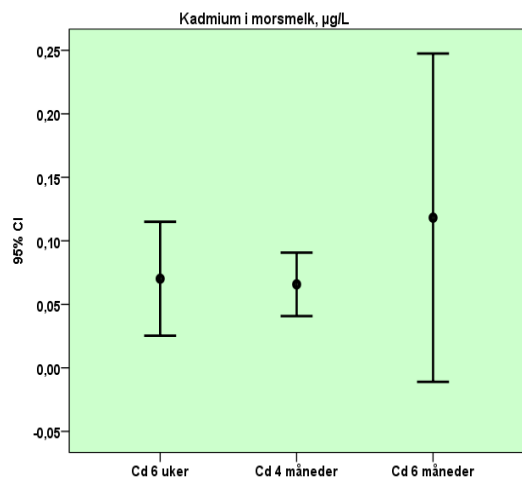


Figur 34 og Figur 35 viser fordelingen av resultatene for bly i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Blyinnholdet endrer seg ikke i den undersøkte perioden. Enkelte resultat øker gjennomsnittet ved alle tidspunktene, spesielt ved 6 måneder.

Figur 35. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for bly ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

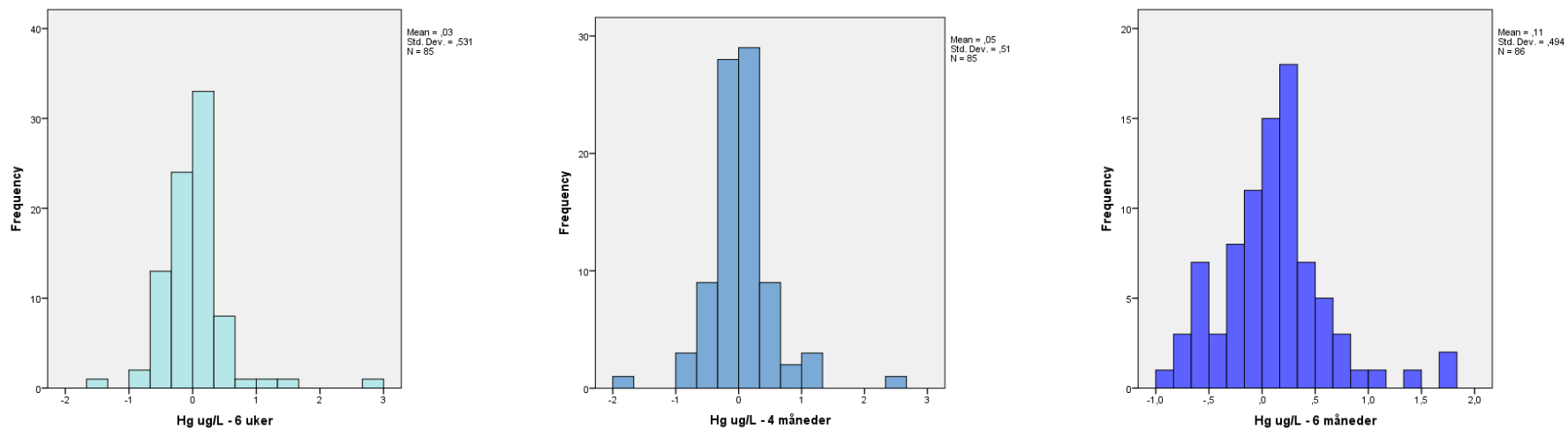


Figur 36. Kadmium histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

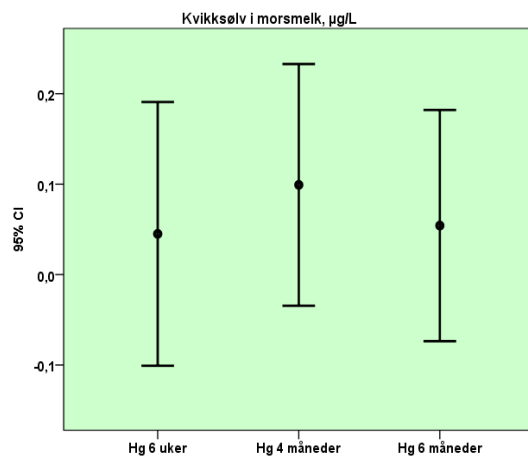


Figur 36 og Figur 37 viser fordelingen av resultatene for kadmium i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Kadmiuminnholdet i morsmelken endrer seg ikke signifikant etter fødsel, ett resultat øker gjennomsnittet ved 6 måneder, slik at det kan se ut som det er økning fra 4 – 6 måneder.

Figur 37. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for kadmium ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

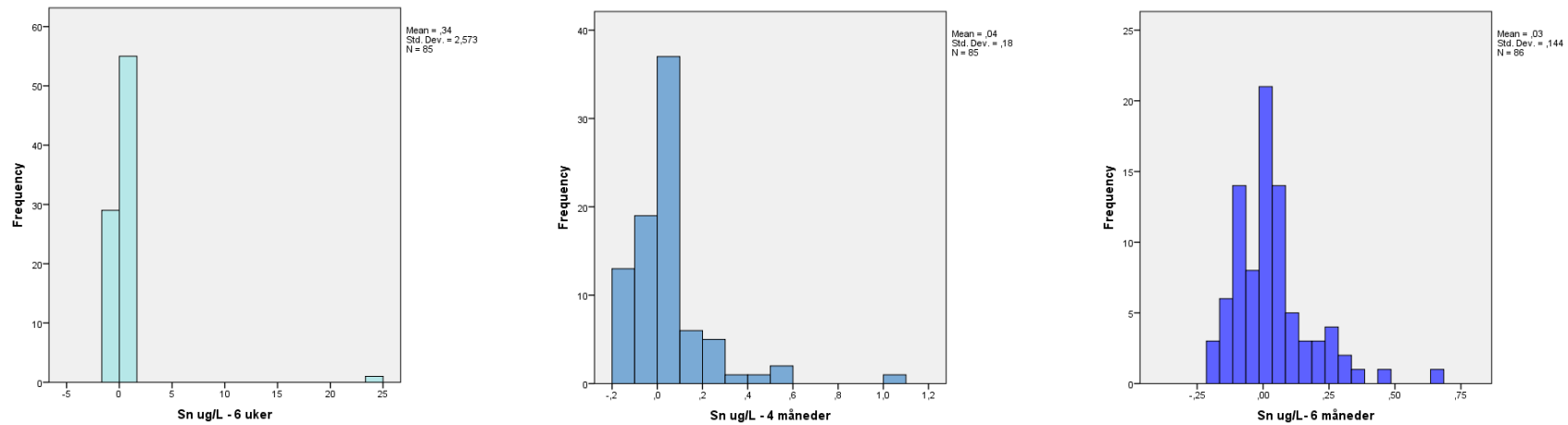


Figur 38. Kvikksølv histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

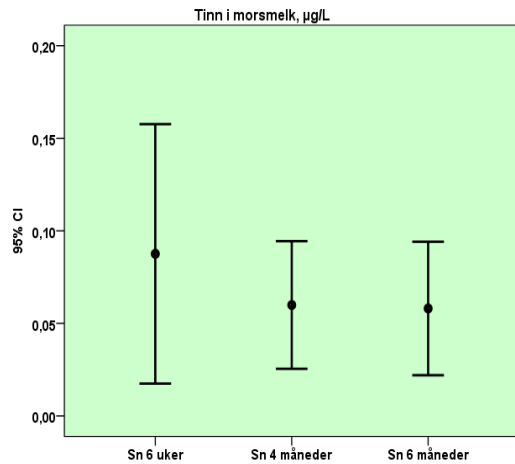


Figur 38 og Figur 39 viser fordelingen av resultatene for kvikksølv i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Det er ingen endring i kvikksølvinnholdet i morsmelk i den undersøkte perioden.

Figur 39. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for kvikksølv ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

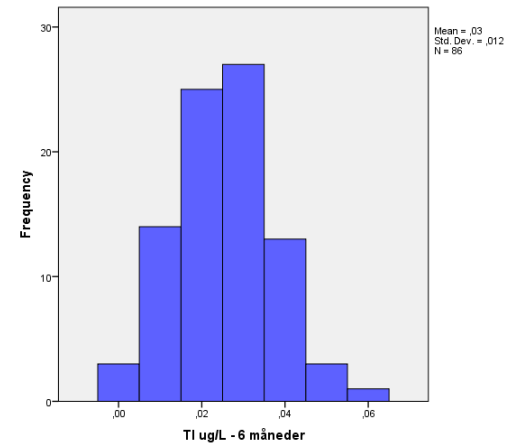
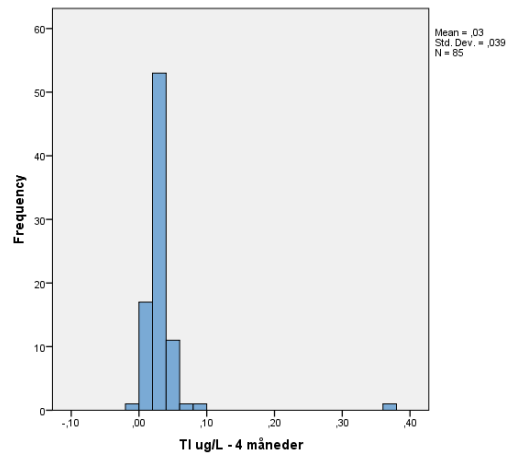
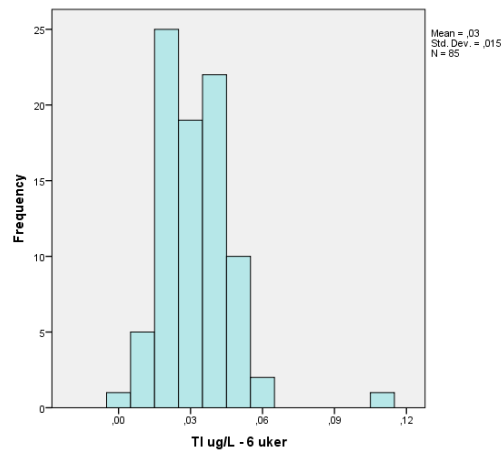


Figur 40. Tinn histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

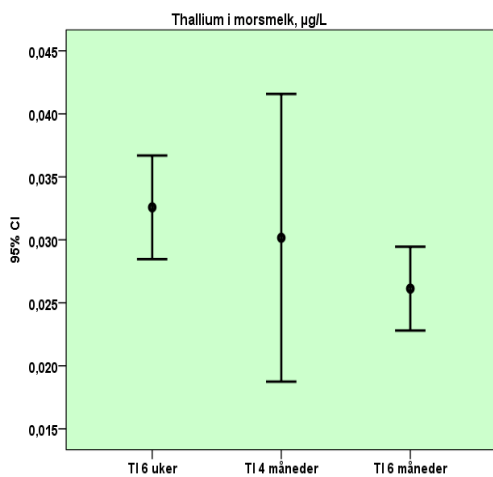


Figur 40 og Figur 41 viser fordelingen av resultatene for tinn i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Det er ingen endring i tinninnholdet i morsmelk i den undersøkte perioden.

Figur 41. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for tinn ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel



Figur 42. Thallium histogram ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel



Figur 42 og Figur 43 viser fordelingen av resultatene for thallium i morsmelk ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel. Thallium har en signifikant nedgang i den undersøkte perioden.

Figur 43. «Errorbar»diagram (gjennomsnitt med 95 % konfidensintervall) for thallium ved 6 uker, 4- og 6 måneder etter fødsel

Diskusjon metodeutvikling

Analysemetoden på ICP-MSen inkluderte flere elementer og isotoper enn de som er tatt med i resultatdelen. Grunnen til dette var at det var ønskelig å se om metoden også kunne fungere for de andre elementene. Arsen ble målt på alle prøveseriene, men resultatene var veldig varierende på grunn av problemer med stabilitet under analysering. Det var meget synlig at toppene flyttet på seg i løpet av serien, og dette kan komme av at temperaturen i rommet instrumentet stod i ikke var stabil nok. For de elementene hvor det er analysert flere isotoper av samme element, så er den mest stabile, nøyaktige og/eller den som er funnet rapportert i andre publikasjoner valgt (Vedlegg B; Tabell B).

For beryllium var nivåene i ekstern kvalitetskontroll for høye i forhold til nivået i morsmelk, mens nivået i Seronorm Trace Elements serum kontrollen var lavt og for upresist til å kunne validere metoden. Litiumnivåene i intern kvalitetskontroll (Serornorm Serum) var for høye i forhold til morsmelk-prøvene, og dette medførte en tydelig drift (memory-effekter) i resultatene for morsmelk. Det blir derfor ikke rapportert noen svar for arsen, beryllium og litium i denne studien.

Det var utfordringer med analysering av selen i starten av analyseringen av prøvene i studien, og de første seriene er det derfor ikke rapporter selen fra. Det er mulig å reanalyser disse prøvene for å få selenresultat på alle prøvene ved en senere anledning.

Deteksjonsgrense, kvantifiseringsgrense og måleområde

Mange av elementene i prosjektet er under måleområdet. For vanadium og krom er 99 og 100 % av morsmelk-prøvene under nedre måleområde. Dette er på grunn av høy variasjonskoeffisient under fastsetting av deteksjonsgrensen. Ved analysering av 10 blanker var det ett tall som skilte seg ut for vanadium og krom. Test av deteksjonsgrense ble utført ved ulike anledninger under metodeutviklingen, og tidligere ble det funnet lavere deteksjonsgrense for krom og vanadium. Reproduerbarheten for krom og vanadium i de interne kvalitetskontrollene var heller ikke like god som forventet, og derfor anses dem rapporterte deteksjonsgrensen og målegrensen som er oppgitt som den som er gyldig for

denne studien. Resultatene i morsmelk bør derfor vurderes sammen med denne usikkerheten. Årsaken til den høye deteksjonsgrensen/svake presisjonen er ikke videre undersøkt. Andre element som også hadde flere resultater under kvantiseringsgrensen var nikkel (39 %), molybden (38 %), kadmium (79 %), kvikksølv (94 %), tinn (65 %) og antimon (35%). For rubidium er gjennomsnittet for 6 ukers melken over måleområdet. Dette medfører at 32 % av prøvene er over måleområdet. For Mg er alle prøvene over måleområdet. Magnesium var ikke et prioritert element i denne studien, og det ble derfor ikke gjort innkjøp av singel-element standard for å spike kalibratoren, slik som er gjort for jern, kobber, rubidium og sink.

Med hensyn på de sporelementene i morsmelk som i stor grad er under nedre måleområde, så ikke metoden så godt egnet. Det kan være at mindre enn 2 ml HNO₃ hadde vært nok syre for total dekomponering, i og med at det ble tilsatt 1.5 ml H₂O₂. Med mindre syre under dekomponering kunne prøvene vært analysert med lavere fortykning (1:15). Det ville medført at det ble høyere TDS i prøven, men det ville uansett vært under 0,2 %. Det er og mulig for enkelte element (Pb og Hg) å analysere i lav oppløsning i stedet for medium oppløsning, og dette ville sannsynligvis gitt en lavere kvantifiseringsgrense. For selen så er det opplyst fra andre brukere av ICP-MS at tilsetning av et karbonholdig løsemiddel vil gi et sterkere signal (karboneffekten), men dette ville påvirket en del andre element i metoden negativt, så derfor har det ikke blitt utført i denne studien.

Linearitet

Det ble brukt både standard addisjon og ekstern kalibrering i denne oppgaven. Forskjellen mellom ekstern kalibrering og standard addisjon i denne oppgaven er at ved standard addisjon ble 1 ml morsmelk tilsatt hver standard i standardrekken og fortynnet med vann (fordi prøven har 12 % HNO₃ etter dekomponering), mens ved ekstern kalibrering ble det laget samme fortykningsrekken med kun 2 % HNO₃ som fortykning. Ved ekstern kalibrering er da matriksen ikke helt lik prøvene, fordi prøvene inneholder 0,25 % HCl, og det er mye høyere TDS i morsmelk-prøvene enn i 2 % HNO₃. Standard addisjon viste seg å gi den beste gjenfinningen for de fleste elementene, mens for magnesium var ikke dette tilfelle. Det er fordi innholdet av magnesium er så høyt i morsmelk, og standarden for svak i forhold til dette. Ved å bruke ekstern kalibrering var gjenfinningen god også for

magnesium, til tross for at kontrollene var over målegrensen. Lineariteten var god i det testede måleområdet for alle elementer både ved ekstern kalibrering og ved standard addisjon.

Nøyaktighet og presisjon

Resultatene for ERM-BD 150 viser at metoden er akseptabel for de elementene som har et sertifisert nivå i kontrollen. Kobber og mangan er utenfor 95 % konfidensintervall (oppgitt i sertifikatet), men det er likevel tilfredsstillende gjenfinning. Elementene som ikke har sertifisert nivå har ganske høy variasjonskoeffisient, selv om noen av elementene har et nivå som er kvantifiserbart. Det er mulig at det er dårlig fordeling av elementene i pulveret, slik at det ikke lar seg gjøre å bruke melkepulveret som intern kvalitetskontroll for de elementene som ikke har en oppgitt verdi. Ved opparbeiding av kontrollen ble det veid inn mindre enn anbefalt mengde (for å tilpasse konsentrasjonen av sporelementene i kontrollen til nivå i morsmelk) noe som gjør kontrollen mindre egnet til metodevalidering. I og med at det veies inn så lite, 0,15 gram, som fortynnes til 30 ml, så skal det ikke mye til før en liten variasjon i analysering gir store utslag i sluttresultat.

Resultatene for Seronorm Trace Elements Serum viser at de fleste elementene har variasjonskoeffisient på $< 10\%$. For bly, kadmium og kvikksølv har ett resultat (for høyt) blitt fjernet fra beregningene. Det er opparbeidet og analysert to Seronorm-kontroller samme dagen, samt to ERM-BD 150, og da alle de andre kontrollene for samme dagen var ok, så det er sannsynligvis en tilfeldig forurensing av opparbeidet kontroll, og det anses ikke som en bekymring at en hel prøveserie ikke kan godkjennes på grunn av kontrollresultatet.

Variasjonskoeffisientene for bly (32 %), kadmium (27 %), kvikksølv (35 %) og tinn (39 %) i Seronorm-kontrollen er ganske høy, og nivåene er over kvantiseringsgrensen i studien. Dette viser at opparbeidingen medfører høyere analyseusikkerhet enn om prøven kunne blitt analysert direkte på instrumentet. Prøveoppbeidingen ble foretatt i rom med spesialfilter (HEPA) for reduksjon av støvpartikler. Selve prøveoppbeidingen ble foretatt i vanlig avtrekkskap, for å unngå inhalasjon av syredamp, og når man sitter i avtrekkskap og jobber så trekkes luften fra omgivelsene inn i avtrekkskapet, og en risikerer å

kontaminere prøvene med partikler fra luften utenfor avtrekkskapet. Det var flere andre som jobbet med andre analyser i rommet mens prøveopparbeidingen foregikk, og da øker kontaminasjonsfaren (Rodushkin, Engstrom, & Baxter, 2010). For kvikksølv kan noe av den høye variasjonen skyldes at kalibratoren ikke var tilsatt HCl, og når kalibratoren ikke er nylaget før hver analyseserie kan det ha gitt en lavere slope i regresjonsligningen, som medfører litt høyere resultat i kontroller og prøver. Som tidligere nevnt kan antimon, molybden og tinn felle ut med HNO₃, så den høye variasjonen i Seronorm-kontrollen kan skyldes analytiske utfordringer. For tinn var gjenfinningen i Seronorm-kontrollen litt lav (86 %), men gjenfinningen i ekstern kvalitetskontroll (QMEQAS) var tilfredsstillende (90 – 112 %). QMEQAS prøvene ble analysert på tre ulike dager, og dekomponert ved flere ulike anledninger. Det ser ut som tilsatsen av HCl var nok til å stabilisere de innenfor det tidsrommet det tok mellom opparbeiding og analysering.

For kvikksølv var det også problemer med overdraging (memory-effekter). Vaskeløsningen som ble brukt mellom prøvene bestod av 2 % HNO₃, og det var tydelig at når det ble analysert en blank uten HCl etter standardene (en vanlig blank som ikke var fra mikrobølgedekomponeringen) så var det høyere nivå av kvikksølv enn i senere blanker. Det hadde nok blitt mindre overdraging om vaskeløsningen inneholdt HCl i tillegg til HNO₃. Prøveseriene er nøye gjennomgått og ingen resultater så ut til å være påvirket av overdraging.. I tillegg er blankene som er brukt nøye vurdert, for å unngå å få falskt for lave resultat dersom blanken er feilaktig høy, og motsatt; falskt for høye resultat om blanken er feilaktig lav.

Resultatene for sink i serum (Seronorm-kontrollen og QMEQAS) viser for høy gjenfinning for sink. Den 24/2 var resultatene for sink i ERM-BD og Seronorm-kontrollen også forhøyet, så den dagen var kalibreringen for sink ikke optimal. Analysering en annen dag ga god recovery, men jevnt over er gjenfinningen forhøyet for sink i serum.

For beryllium, med VK på 147 % i Seronorm-kontrollen, så er nivået veldig lavt (under kvantiseringsgrensen), men i tillegg kan det være instrumentelle årsaker (memory-effekter) som gir litt dårlig presisjon, på lik linje med litium. Små ioner, som beryllium og litium vil også kunne fortrenses av større ioner, og dermed bli underkvantifisert (romladningseffekten). Det er mulig at resultatene for beryllium burde vært vurdert med scandium som internstandard i stedet for indium. Med så lave nivå på kontrollen (0,01 µg/L)

så kan det være at det var nødvendig med lengre vasketid mellom kalibrering og prøveanalyse. Det er lite beryllium i omgivelsene på laboratoriet, derfor mistenkes det ikke at prøveopparbeidingen har påvirket presisjonen av beryllium. Resultatene i ekstern kvalitetskontroll, QMEQAS, var akseptable, men nivået er for høyt til å validere metoden for morsmelk. Recoveryforsøk kunne bidratt til validering, men det var det dessverre ikke tid til å utføre. Derfor utgår berylliumresultatene i morsmelk fra denne studien.

Som nevnt i innledningen til kapittelet ble det observert memory-effekter for litiumanalysene på grunn av høyt nivå i intern kvalitetskontroll, Seronorm Trace Elements. Når morsmelkresultatene ble studert i den rekkefølgen de ble analysert på instrumentet er det tydelig drift i resultatene, hvor de som analysert kort tid etter Seronorm-kontrollen ligger på 29 µg/L mens etter 34 morsmelker er nivået nede i 0,52 µg/L, med en gradvis reduksjon. Litium i morsmelk-prøvene kan derfor ikke rapporteres.

Diskusjon morsmelkresultat

I denne studien har vi vist at elementene Fe, Cu, Mo, Rb, Se, Sr, Tl og Zn har en signifikant nedgang i ammeperioden, mens Mg øker signifikant. Nivået av de toksiske elementene Cd, Hg og Pb er lavt i morsmelk fra norske mødre. Noen av elementene har uteliggere (ekstremverdier) som antimon, bly, kobolt, krom, nikkel, tinn og vanadium som øker gjennomsnittsverdien betraktelig.

Våre resultater er sammenlignbare med andre publiserte studier, som for eksempel en svensk studie fra 2012 (Bjorklund et al.) som har analysert Li, Be, B, Na, Mg, P, S, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Sb, Rb, Sr, Ag, Cs, Ba, Pb, U, i morsmelk fra 60 førstegangs fødende kvinner i tidlig fase av ammingen (14-21 dager).

Pipettering av morsmelken ble utført med en høyere temperatur enn det pipetten var kalibrert for å utføre. I ettertid er det testet hvor stor forskjell det utfører ved pipettering av 30°C, da dette medfører en systematisk feil. Pipettering av vann ved 30°C gir cirka 1,5 % høyere volum enn ved 21°C. Det betyr at morsmelk-prøvene i denne studien underrapporteres med omtrent 1,5 %.

Til tross for at flere av sporelementene i morsmelk har mange resultater under kvantiseringsgrensen kan resultatene likevel gi gode data for endring i nivå etter fødsel og korrelasjonsberegninger, fordi prøvene som er fra samme mor ble analysert sammen, og variasjonen derfor blir mye mindre enn totalvariasjonen til analysen. Det er så lave konsentrasjoner av disse elementene i morsmelken, at prøvene blir svært sårbare for forurensing og instrumentdrift. Ved å analysere morsmelk-prøvene fra samme mor sammen, gjør man det mulig å se på hvordan statusen for disse sporelementene endrer seg, uten at blankverdi og drift i instrumentet får den samme betydningen.

Flere av elementene korrelerer ved de ulike tidspunktene etter fødsel, og flere av dem har trolig relaterte overføringsmekanismer fra plasma til morsmelken. Det er ikke en del av problemstillingen i denne studien å vurdere overføringen fra plasma til morsmelk, men de korrelasjonene som er signifikante ved alle tre tidspunktene etter fødsel er nevnt i slutten av diskusjonen av hvert enkelt element.

I det følgende blir hvert element diskutert.

Essensielle element

Jern

Jern er en viktig bestanddel av hemoglobinet i de røde blodcellene, som transporterer oksygen fra lungene og ut til vevet i kroppen, samt i myoglobinet i muskelcellene. Jern er også transportmedium for elektroner innad i cellene (cytokromer) og er kofaktor i flere enzym. Fritt jern i kroppen er giftig, fordi den danner frie radikaler, så kroppen har derfor systemer for å binde jern. Som nevnt i innledningen er opptaket av jern påvirket av hvordan jernet foreligger i maten (uorganisk eller bundet til biologisk molekyl), tilstedeværelse av fytinsyre, polyfenoler i maten, og pH i magen (Waldvogel-Abramowski et al., 2014). Jern lagres i lever og i andre celler i form av ferritin og hemosiderin, og ferritinnholdet i blodet brukes som indikator for jernstatus. Jern transporteres rundt i kroppen med proteinet transferrin og jernet overføres til cellen via transferrinreseptor. Transferrinmetning (hvor mye av transferrinet som er bundet til jern) og transferrinreseptor er indikatorer for jernmangel. S-ferritin (serum ferritin) øker ved infeksjoner og er forhøyet i flere uker etter, så det er viktig å være informert om infeksjon dersom en benytter s-

ferritin som jernstatusmarkør. For å oppdage en mild jernmangel må man se på flere markører samlet, som s-ferritin, hemoglobin, hemoglobin i erythrocytter (CHr), transferrin metning, transferrin reseptor, erythrocytt protoporfyrin og antall erythrocytter. Jernmangel kan være vanskelig å oppdage, foresatte får det sjelden med seg, så det er viktig at helsepersonell er oppmerksomme på hyppigheten av jernmangel (Tsai et al., 2014). Jernmangel er den vanligste ernæringsmangelen globalt; med nesten 2 milliarder mennesker affisert (WHO, 2013). Jernmangel ser også ut til å være et problem blant ellers friske ettåringer i Norge (Statens ernæringsråd, 2001). Jernmangel, med eller uten anemi, kan ha helsekonsekvenser for barn; økt perinatal dødelighet, forsinket mental og fysisk utvikling, negative konsekvenser for oppførsel, redusert hørsel-, syn- og fysisk prestasjon, og jernmangel i ung alder kan gi irreversible skader i hjernen (WHO, 2004).

Når barn blir født har de høyt hemoglobinnivå i blodet på grunn av lite oksygen tilgjengelig i mors mage. De første to måneder etter fødsel faller hemoglobinnivået fordi de føtale erythrocyttene skiftes ut med modne erythrocytter (på grunn av bedre oksygenforhold) og jernet fra erythrocyttene lagres slik at jernbehovet hos spedbarn tilfredsstilles av morsmelk frem til 4-6 måneders alder (WHO, 2004). Barn som er premature trenger tilskudd av jern, for det er i siste trimester at fosteret tar til seg mest jern. Etter 4-6 måneder til 1 års alder har også barn født til termin et stort behov for jern; 0,7 – 0,9 mg/dag, som er mye å få i seg i forhold til størrelsen og energiinntaket deres (WHO, 2004). Da er det viktig med kost som er rik på kjøtt og askorbinsyre (C-vitamin), eller mat som er beriket med jern, for å tilfredsstille jernbehovet. Barnegrøt er ofte tilsatt jern og askorbinsyre, da grøten ellers ville hatt jern som ikke er så lett for kroppen å ta opp.

Studier har vist at morsmelk inneholder lite jern, og det er ingen sammenheng mellom mors jernstatus og jerninnhold i morsmelken (Celada, Busset, Gutierrez, & Herreros, 1982; Domellof, Lonnerdal, Dewey, Cohen, & Hernell, 2004; Lonnerdal, 1986; Murray, Murray, Murray, & Murray, 1978). Noen forfattere trekker slutningen at når det ikke er sammenheng mellom mors sporelementstatus og nivået av sporelement i morsmelken, så er det en regulert prosess for overføringen til morsmelk (Domellof et al., 2004). Dette kan stemme for en del andre sporelement, som til en viss grad transporteres fritt i plasma som ioner (ikke bundet til transportprotein) og derfor kan passere fritt over til morsmelken (diffusjon). I tilfellet med jern, så er fritt jern veldig skadelig for kroppen, så det er til

enhver tid svært lite fritt jern i plasma. Det trenger derfor ikke bety at jerninnholdet i morsmelk er regulert. Dersom jern var regulert i morsmelken ville det sannsynligvis ikke vært så store variasjoner i konsentrasjon som observeres i denne og andre studier.

I denne studien ser vi en kraftig nedgang i jerninnholdet i morsmelk fra 6 uker til 4 måneder (Tabell XIV og Figur 7), og deretter svak oppgang i fra 4 til 6 måneder (ikke signifikant). Sammenlignet med andre studier (se Tabell XVI) ligger nivået litt lavere i denne. Yamawaki et al. (2005) undersøkte endringer i blant annet jerninnhold fra kort tid etter fødsel til ett år. Resultatene svinger i løpet av perioden, sannsynligvis fordi det er ulike mødre i de ulike tidsgruppene (ikke samlet flere prøver fra samme mor).

Tabell XVII. Oversikt over jern i morsmelk i andre publikasjoner

Referanse ta vekk parenteser når jeg er ferdig med oppgaven	Uker etter fødsel	Fe (µg/L) Gjennomsnitt ±SD (n)
(Bjorklund et al., 2012)	2-3	339 ±134 (60)
(Cinar et al., 2011)	4	1019 ±798 (26) †
(Cinar et al., 2011)	4	1142 ±762 (26) ‡
Hannan, Faraji, Tanguma, Longoria, and Rodriguez (2009)	4	500 ±100 (20)
Denne studien	6	195 ±226 (85)
(Bolognini Pereira, de Azeredo, Barros da Sileira, & Pedruzzi, 2013)	6	340 ±100 (51)
(Yamawaki et al., 2005)	3-12	1800 ±3270 (550)
(Yamawaki et al., 2005)	12-41	520 ±1430 (550)
(Bolognini Pereira et al., 2013)	10	370 ±70 (51)
(Bolognini Pereira et al., 2013)	14	340 ±70 (51)
Hannan et al. (2009)	12	400 ±300 (20)
Denne studien	16	257 ±113 (85)
Denne studien	24	207 ±199 (85)
(Domellof et al., 2004)	36	290 ± 210 (86)

†Urbant område ‡Landsbyområde

Norske myndigheter baserer sine anbefalinger på internasjonale studier, og dette er første norske studien på morsmelk og sporelementer. Ved 4 måneder har det vært anbefalt å få

i seg 5000 µg jern (Statens ernæringsråd, 2001). Med resultatene fra denne studien, dersom vi tar utgangspunkt i median, gir det 195 µg/dag. For å få i seg anbefalt mengde jern per dag må babyene drikke 22 liter morsmelk om dagen ved 4 måneder. Det foreligger ingen anbefaling for inntak av sporelement i den nyeste anbefalingen for spedbarnsernæring som er under revisjon, hva årsaken til det er kan man spekulere i; det kan være fordi man er usikre på hva anbefalingen bør være, eller fordi det anses som ikke så viktig å en anbefaling på nivå av sporelementer i føden til spedbarn.

En ny artikkel som omhandler jernanbefalinger hos spedbarn og barn (Hernell, Fewtrell, Georgieff, Krebs, & Lonnerdal, 2015), skriver om at det lave nivået i morsmelk (200 – 400 µg/L) dekker jernbehovet hos barn i cirka 6 måneder. Det lave nivået de nevner, er omtrent det dobbelte av resultatene i denne studien. Det estimeres også at hos europeiske barn mellom 6-9 måneder gjennomsnittlig har 2 – 3 % anemi på grunn av jernmangel, mens 3 – 9 % av barna mellom 1 – 3 år har anemi. En studie i 2001 undersøkte jernstatus hos 12, 24 og 36 måneder gamle barn, som hadde fått morsmelkerstatning fra 3 måneder (og ingen morsmelk etter det), og den ene gruppen begynte med komplementær mat tidlig (3 – 4 måneder etter fødsel) og den andre gruppen begynte med komplementær mat ved 6 måneder etter fødsel. Resultatene ved 6 måneder var høyere jernstatus hos de med tidlig komplementær mat, men ingen forskjell ved 12, 24 og 36 måneder (Kattelman, Ho, & Specker, 2001). Det er ikke undersøkt liknende studier med morsmelk i stedet for morsmelkerstatning. Dommelof et al. (2001) gjennomførte en dobbel blind studie i Honduras og Sverige, hvor befolkningen i Honduras hadde høyere forekomst av jernmangel hos mødrene (12 %) enn i Sverige (<3 %). Der ble mødrene i Honduras og Sverige delt inn i 3 grupper; placebo, tilskudd av jern til barnet ved 4 – 9 måneder etter fødsel og 6 – 9 måneder etter fødsel. Resultatet var lavere forekomst av anemi i begge gruppene med tilskudd i Honduras, og i Sverige var det ingen forskjell i anemi, men høyere ferritin-nivå hos barna i gruppen som fikk tilskudd. Høyest ferritin var det i gruppen som fikk tilskudd i 4 – 9 måneder. Forfatterne skriver også at jernopptaket reduseres hos voksne så ved adekvat jernstatus, men at det ikke er kjent om dette gjelder hos spedbarn. Resultatene fra studien indikerer at jernopptaket ikke nedreguleres til tross for adekvat jernstatus, da barna som fikk jerntilskudd fra 4 – 9 måneder hadde signifikant økning i ferritin også fra 6 til 9 måneder. Inntak av komplementær mat hadde ingen effekt på andelen med jernmangelanemi ved 9 måneder, verken i Honduras eller i Sverige, men det ble påpekt at

studien var svak med henhold til å oppdage en forskjell. Det ble foreslått at jernopptak og hemoglobinsyntese reguleres uavhengig av hverandre, og at jerntilskudd mellom 4 – 6 måneder hos terminfødte barn i populasjoner med lav forekomst av jernmangelanemi kan gjøre mer skade enn nytte.

Resultatene fra denne studien viser at jerninnholdet i morsmelken hos norske kvinner er lavere enn i andre land, og når det er høy forekomst av jernmangel hos ellers friske 1 åringer kan det diskuteres om 6 måneder fullamning er den beste anbefalingen.

Jern korrelerte signifikant med vanadium ($r_s = 0.229, 0.340, 0.257$; $p < 0.05$), mangan ($r_s = 0.384, 0.504, 0.408$; $p < 0.01$), molybden ($r_s = 0.471, 0.475, 0.526$; $p < 0.01$) og selen ($r_s = 0.272, 0.331, 0.361$; $p < 0.05$) på alle tidspunktene etter fødsel. Bjorklund et al. (2012) fant også signifikant korrelasjon mellom jern og selen i morsmelk ($r_s = 0.56$; $p < 0,01$)

Kobber

Kobber er en viktig komponent i flere enzymer, blant annet i energimetabolisme og mobilisering av jern. Det er skadelig både med for mye og for lite kobber. Kobber kan danne frie radikaler, så kroppen har utviklet flere mekanismer for å regulere kobberhomeostasen. Marginal kobbermangel er vanskelig å påvise. Kobbermangel som følge av redusert næringsinntak er sjelden, men det er rapportert hos premature spedbarn som er gitt kumelktillegg, med anemi, neutropeni og benlesjoner som følge (Bates & Prentice, 1994). Kobber foreligger oftest i den vandige delen av melken, kun 15 % i den fettløselige fraksjonen (Bates & Prentice, 1994). Som sink er det mest kobber i den tidlige melken, kolostrum-melk, og minst i sen moden melk. Kobberinnholdet i morsmelk øker ikke som følge av tilskudd til mor, men det er ikke gjort studier på mødre med kobbermangel. Det også testet å gi kobber intravenøst til mor, med høye serumnivå som følge, uten at dette økte nivået i morsmelk (Munch-Petersen, 1950) (gjengitt i Bates and Prentice 1994). Dette, samt at det ikke er korrelasjon mellom plasma kobber og kobber i morsmelk (Domellof et al., 2004) tyder sterkt på at kobberinnholdet i morsmelk er regulert.

Resultatene fra denne studien viser at kobber i morsmelk synker utover i ammeperioden (Tabell XIV og), fra omtrent 400 µg/L ved 6 uker, til 200 µg/L ved 4 og 6 måneder. Nivået og nedgangen stemmer godt med andre publikasjoner (se Tabell XVII)

Tabell XVIII. Oversikt over kobber i morsmelk i andre publikasjoner

Referanse	Uker etter fødsel	Cu (µg/L) Gjennomsnitt ±SD (n)
Rossipal and Krachler (1998)	0	570 ±336 (13)
Rossipal and Krachler (1998)	1-2	228 ±114 (18)
(Bjorklund et al., 2012)	2-3	471 ±75 (60)
(Friel et al., 1999)	4	400 ±110 (15)
(Cinar et al., 2011)	4	362 [†] ±222 (26)
(Cinar et al., 2011)	4	480 [‡] ±203 (26)
(Almeida et al., 2008)	4	498 ±143 (19)
Denne studien	6	407 ±105 (85)
(Yamawaki et al., 2005)	3-12	340 ±190 (555)
(Friel et al., 1999)	12	240 ±90 (12)
(Yamawaki et al., 2005)	12-25	360 ±250 (476)
Denne studien	16	246 ±83 (85)
Denne studien	24	215 ±120 (85)
(Domellof et al., 2004)	36	120 ±220 (86)
Rossipal and Krachler (1998)	40	148 ±52 (24)
Abdulrazzaq et al. (2008)	4-80	415 ±242 (205)

[†]Urbant [‡] Landsby

Kobolt

Kobolt er et essensielt sporelement, det inngår som kofaktor for kobalamin (vitamin B12), som er viktig i dannelsen av blodceller. Nyere forskning viser også at kobolt stabiliserer en transkriptor aktivator; hypoksi-induserbarfaktor (HIF) og dermed etterligner hypoksi,

som gjør at det stimuleres til produksjon av erythropoetin (EPO) (Simonsen, Harbak, & Bennekou, 2012). Inntak av kobolt skjer via inntak av mat, i form av uorganisk kobolt, hvor av mest fra fisk og grønnsaker (WHO, 2006).

Kobolt kan gi sensibilitet i mindre doser og er akutt toksisk i større doser. Ved inhalasjon og hudkontakt kan det gi allergi og astma. I større doser er det cytotoxisk og kan gi nekrose og inflammasjoner, i tillegg til genotoksisk på grunn av oksidativ DNA-skade. Kobolt er mye brukt i industrien, og ved inhalasjon vil kobolt tas opp av lungevevet. På 1960-tallet ble kobolt tilsatt i ølbrygging, i form av koboltsulfat, for å stabilisere skummet. Dette medførte kardiomyopati hos alkoholikere med høyt inntak av øl (WHO, 2006). Kobolt kan også forårsake helseproblemer ved hofteproteser av typen metall mot metall. Slitasje av protesen frigjør store og små (nano-) partikler, og vevet rundt blir betent og partiklene spres gjennom lymfesystemet. Det viser seg at nanopartiklene forårsaker større skade enn de større partiklene (Simonsen et al., 2012).

Koboltnivåene vi fant i morsmelk, median 0,07 – 0,06 µg/L er ganske likt med Bjørklund et al. (2012) (median 0,047 µg/L), mens Abdulrazzaq et al. (2008) har litt lavere nivå (median 0,009 µg/L). Andre studier har en del høyere resultat, både 10, 100 og 1000 ganger høyere (Almeida, Lopes, Silva, & Barrado, 2008; Cinar et al., 2011; Friel et al., 1999; Krachler, Li, Rossipal, & Irgolic, 1998; Matos et al., 2014; Rossipal & Krachler, 1998). Årsaken til det er antakeligvis høyere nivå av kobolt på grunn av miljøutslipp (Cinar et al., 2011), men det er nok også et spørsmål om analyseusikkerhet. Det er enkelte resultat i denne studien er ekstremt mye høyere enn medianverdien i denne studien (100 ganger høyere). Disse resultatene er kontrollanalysert, med samme resultat, men det kan fremdeles være kontaminering i forkant av analysering (under prøvesamling eller under mikrobølgedekomponering).

Resultatene fra denne studien viser at kobolt ikke endrer seg i ammeperioden undersøkt (Tabell XIV og Figur 11). Krachler et al. (2000) fant en signifikant økning i kobolt, mens Matos et al (2014) fant en ikke signifikant nedgang. Abdulrazzaq et al. (2008) ikke fant ingen endring, og heller ikke signifikant korrelasjon mellom plasma og morsmelk.

Kobolt har positiv signifikant korrelasjon med krom ($r_s = 0.296, 0.318, 0.316; p < 0,01$), mangan ($r_s = 0.544, 0.556, 0.627; p < 0,01$), nikkel ($r_s = 0.559, 0.497, 0.590; p < 0,01$),

tinn ($r_s = 0.384, 0.409, 0.401$; $p < 0,01$), antimon ($r_s = 0.281, 0.236, 0.237$; $p < 0,05$) og bly ($r_s = 0.332, 0.314, 0.544$; $p < 0,01$) på alle tre tidspunktene.

Krom

Krom forekommer i to ulike former, hvor Cr^{3+} er essensiell, og Cr^{6+} er toksisk (McDermott, Salzberg, Anderson, Shaw, & Lead, 2015). Cr^{3+} finnes naturlig i maten og tas opp i fordøyelsen, mens Cr^{6+} kommer fra industrielle kilder. Krom anses som et essensielt sporstoff, det kan være nødvendig for regulering av metabolismen av karbohydrater, lipider og proteiner, men mekanismene er ikke kjent (EFSA-NDA, 2014). Det er satt anbefalinger for daglig behov for barn, gravide og voksne, men den europeiske mat-sikkerheten (European Food Safety Authority 2014) konkluderer med at det ikke kan settes noen grenser for daglig behov hos mennesker (EFSA-NDA, 2014). Cr^{6+} er klassifisert som et karsinogen, og det er først og fremst industriell eksponering og skade på luftveiene som rapporteres. Hofteproteser, med kromlegering, kan også gi kromeksponering in vivo og inflammasjon i vevet. En nylig rapport viste at økte blodverdier for krom og kobolt overføres til fosteret og til spedbarnet ved amming, men at det ikke var skadelig for barnet (Oppermann, Borisch, & Schaefer, 2015).

Publiserte data viser betydelig variasjon i kromnivå i morsmelk. Dette skyldes nok delvis analytiske utfordringer; det er svært lave konsentrasjoner og risiko for kontaminering av prøvene. Ett resultat (ved 6 uker) er veldig høyt i denne studien. Det er utført kontroll-analyse av svaret, som ga samme resultat, men en kontaminasjon kan ha forekommet under prøvetakingen eller syreoppslutningen. Kvantifiseringsgrensen og robustheten i metodevalideringen kan tyde på at kontaminering eller interferens har påvirket resultatene for krom, og dette bør tas i betraktning når resultatene i morsmelk vurderes.

I denne studien er det en veldig høy kvantifiseringsgrense for krom og følgelig var de fleste resultatene (99 %) i denne studien var under nedre måleområde ($< 4,78 \mu\text{g/L}$), med median $0,23\text{-}0,28 \mu\text{g/L}$. Resultatene er likevel ganske like funnene til Bjørklund et al. (2012) på $0,23 \mu\text{g/L}$ og Abdulrazzaq et al. (2008) $0,59 \mu\text{g/L}$. Andre publikasjoner ligger jevnt over høyere ($\times 100$) (Krachler et al., 2000; Matos et al., 2014; Yamawaki et al., 2005), og i noen tilfeller ekstremt mye høyere ($\times 1000$) (Cinar et al., 2011). Abdulrazzaq

et al (2008) fant at krom i morsmelk økte signifikant med tiden etter fødsel, og de fant også korrelasjon mellom krom i plasma og morsmelk. Denne studien viser også en økning (Tabell XIV og Figur 13), men den er ikke signifikant. Matos et al. (2014) undersøkte også endringen i krom i morsmelk over tid, hvor det var en signifikant økning fra 1 – 4 uker, og deretter jevn nedgang til 16 uker.

I denne studien korrelerer krom signifikant med vanadium ($r_s = 0.572, 0.583, 0.697$; $p < 0,01$), nikkel ($r_s = 0.389, 0.369, 0.241$; $p < 0,05$), tinn ($r_s = 0.280, 0.353, 0.285$; $p < 0,01$) ved alle tre tidspunktene.

Magnesium

Magnesium er ikke et sporelement i biologisk sammenheng, da det daglige behovet er i milligram og ikke mikrogram. Magnesium er blant annet kofaktor for flere enzymer som er involvert i energimetabolisme, proteinsyntese, DNA og RNA syntese, vedlikehold av aksjonspotensialet i nevrologisk vev og cellemembraner (WHO, 2004). Mangel på magnesium kan medføre kaliummangel og medfører problemer med metabolismen av kalsium. Magnesiummangel hos spedbarn er sjelden ifølge verdens helseorganisasjon (WHO, 1998).

Resultatene fra denne studien har et gjennomsnittet på 34 mg/L 6 uker og cirka 42 mg/L ved 4- og 6 måneder etter fødsel. Resultatene viser også at magnesium øker signifikant fra uke 6 til 4 måneder etter fødsel (Tabell XIV og Figur 15). Bjorklund et al. (2012) fant 28 mg/L, men morsmelken i den studien var fra 2-3 uker etter fødsel, slik at et lavere nivå ved 2-3 uker kunne forventes. Friel et al. (1999) og Yamawaki et al. (2005) har undersøkt magnesium i morsmelk fra 1 uke og utover perioden i denne studien. Begge studiene viser en nedgang i magnesium fra uke 1 til uke 3, og en økning igjen, cirka ved 6 måneder. Nivået i denne studien ligger litt over nivået for Friel et al. og Yamawaki et al., på 26 – 35mg/L og 25 – 33 µg/L respektivt.

Mangan

Mangan er en viktig komponent i flere enzymer og dyreforsøk har vist at mangel kan gi vekstretardasjon, forstyrret glukosetoleranse- og formeringsevne (Bates & Prentice, 1994). Mangan tas ikke så lett opp i tarmene (~10 %), og i likhet med jern vil fytinsyre og kalsium redusere opptaket. Mangan tas opp både ved diffusjon og aktiv transport (Buchman, 2006, s. 328), og opptaket øker ved jernmangel og hemokromatose. Forgiftninger som følge av høyt inntak er sjelden. Ved forgiftning blir først og fremst sentralnervesystemet rammet, da manganet lagres i basal ganglia. Forgiftning ble først beskrevet i 1837, hvor gruvearbeidere ble gale som følge av inhalasjon av manganholdig støv (Buchman, 2006, s. 329). I morsmelk foreligger manganet hovedsakelig i mysefraksjonen (71%), mens 11 og 18 % er i kasein- og lipidfraksjonen (Lonnerdal, Keen, & Hurley, 1985). I morsmelk er manganet hovedsakelig bundet til laktoferrin, og i serum til transferrin og α_2 -makroglobulin. Mangannivået i morsmelk synker første uken etter fødsel, for så å stige igjen, sannsynligvis ved overgang til fast føde (gjengitt i Bates & Prentice, 1994).

Mangan i morsmelk endrer seg lite i denne studien (Tabell XIV og Figur 17), og har en median på 2,24 – 2,91 $\mu\text{g/L}$. Tidligere studier har vist at mangan i morsmelk synker kort tid etter fødsel, for deretter å ikke endre seg spesielt (Friel et al., 1999; Krachler et al., 1998). Funnene i denne studien ligger på nivå med Krachler et al. dersom man sammenligner med tid og sammenligner gjennomsnittresultatene. Medianverdi i studien til Bjørklund et al. (2012) 2,6 $\mu\text{g/L}$ er veldig likt til denne studien, mens Abdulrazzaq et al. (2008) ligger en del lavere 0,29 $\mu\text{g/L}$. En annen studie av Krachler et al. (2000) fant 6,3 $\mu\text{g/L}$, mens Friel et al. (1999) fant jevnt over høyere verdier av mangan i melken, 10 – 17 $\mu\text{g/L}$. En studie i Japan undersøkte også mangan på flere ulike tidspunkt, med et gjennomsnitt på 11 $\mu\text{g/L}$ og noe varierende resultat etter fødsel (Yamawaki et al., 2005).

Mangan korrelerer med flere andre elementer i morsmelken, blant annet jern ($r_s = 0.384, 0.504, 0.408$; $p < 0,01$), kobolt ($r_s = 0.544, 0.556, 0.627$; $p < 0,01$) og nikkel ($r_s = 0.514, 0.444, 0.545$; $p < 0,01$) ved alle tre tidspunktene etter fødsel. Almeida et al. (2008) fant også korrelasjon mellom mangan og nikkel og kobolt, jern ble ikke undersøkt.

Molybden

Molybden er et essensielt sporelement. Det fungerer som kofaktor for fire kjente enzymer (oksidaser), og mangel på molybden medfører problemer med metabolismen og alvorlig hjerneskade, mye på grunn av akkumulering av sulfitt (Schwarz, 2016). Både molybdenmangel og molybdenforgiftning er sjelden (Finch, 2015). Molybden tas lett opp, er vannløselig og skilles ut via nyrene. I USA er det beregnet at daglig inntak ligger mellom 75 – 110 µg, og at behovet ligger en del lavere enn dette (20 – 50 µg/dag) (Eckhert, 2006, s. 345). Molybden inntas hovedsakelig gjennom mat, hvor molybdeninnholdet i jordsmonnet påvirker innholdet i maten. Grønnsaker, nøtter og frø har det høyeste innholdet, og kjøttprodukter det laveste innholdet.

Median i denne studien var 0,6 µg/L ved 6 uker, 0,3 µg/L ved 4 måneder og 0,4 ved 6 måneder. Resultatene viser at molybden endres signifikant, med størst nedgang fra 6 uker til 4 måneder (Tabell XIV og Figur 19). Bjørklund et al. (2012) fant 2,4 µg/L som medianverdi, mens Abdulrazzaq et al. (2008) fant 0,06µg/L. Krachler et al. (1998) og Matos et al. (2014) undersøkte blant annet molybden på ulike tider etter fødsel, og verdiene varierte fra 9,0 – 1,0 µg/L (høyest i kolostrum), og fra 3,5 – 1,4 µg/L i studien (høyest i umoden melk), respektive.

I denne studien ble det også funnet signifikant korrelasjon ($r= 0.471, 0.475, 0.526; p < 0,01$) mellom molybden og jern ved alle tre tidspunktene etter fødsel.

Selen

Selen er en essensiell komponent i flere enzymer i kroppen, og selen er viktig for immunforsvar, cellebeskyttelse mot oksidativt stress, vekst og utvikling. Mest kjent er glutathion peroksidase (GPX), som beskytter mot oksidativt stress. Et annet viktig selenholdig enzym er iodothyronine deiodinase, som konverterer tyrosin og tetraiodthyronin (T4) til den aktive formen trijodthyronin (T3). Selenmangel forekommer som følge av næringsinntak, og selen, sammen med jod, er de næringsstoffene som varierer mest i næringsgrunnlaget og derfor i kroppen. I Kina hvor jordsmonnet har store variasjoner av seleninnhold er det flere rapporter om selenmangel (i form av Keshan disease) og toksisk selenose (Bates & Prentice, 1994). I Europa er det lite selen i jordsmonnet, slik at sjømat og importert mat

vil da være de viktigste kildene. Selenmangel ser også ut til å øke virulensen hos virus, både ved hepatitt B og HIV-virus, og epidemiologiske studier viser at lav selenstatus korrelerer med økt forekomst av flere sykdommer (Wrobel, Power, & Toborek, 2016). Det er ikke rapportert om klinisk selenmangel hos nyfødte som har fått morsmelk, men ved morsmelkerstatning som supplement eller eneste næring var selenmangel et problem tidligere. Ved selenmangel vil aktiviteten til GPX enzymer i lever og blod raskt synke (WHO, 2004). Ved inadekvat inntak av selen (<10µg/dag) kan en oppleve svekket muskulatur, myalgi og kongestiv hjertesvikt (WHO, 2004). Selen i morsmelk er forbundet med proteininnholdet, svært lite i lipidfraksjonen. Selen i morsmelk foreligger som selenoproteiner og aminosyrer, som er vel tolererte av spedbarn, selv i høye doser (Dorea, 2002). Seleninnholdet i morsmelk er høyest i kolostrummelk og lavest i moden melk. Det synkende innholdet i morsmelken kan muligens relateres til at mors selenlager tappes, men det kan også være komposisjonen i melken som endres. Det foreligger flere studier hvor mødre er gitt selenrik føde og supplement, med økning av selennivå i morsmelken som resultat, som tyder på at selenopptak og overførsel til morsmelk ikke er regulert (Bates & Prentice, 1994). Da selen er toksisk i for store doser og inntak påvirker innhold i morsmelken kan det være farlig for spedbarn om mødre tar for store doser. I områder hvor seleninnhold i jordsmonnet er lavt vil supplement være nyttig. Finland innførte gjødsel med natriumselen i 1984 på grunn av ekstremt lavt nivå av selen, og i dag er selennivåene i befolkningen og hos husdyrene høyere (Alfthan et al., 2015). I Sverige ble det nylig rapportert om lave nivå av selen i morsmelken (Bjorklund et al., 2012).

Resultatene i denne studien viser at seleninnholdet i morsmelk synker i løpet av ammetiden (Tabell XIV og Figur 21), fra 10 µg/L ved 6 uker til 7 µg/L ved 6 måneder. Nivået samsvarer med resultatene fra Bjorklund et al. (2012), median 12 µg/L ved 3 uker etter fødsel. Både de svenske og disse norske resultatene ligger lavt i forhold til nivået på verdensbasis for samme tid etter fødsel (15 – 17 µg/L) (Dorea, 2002). Anbefalt inntak av selen for barn (0 – 15 mnd.) er 10 - 15 µg (Statens ernæringsråd, 2001). Dersom man beregner at barnet drikker 785 ml morsmelk daglig vil det si at både ved 4 og 6 måneder er over 75 % av morsmelkene under anbefalt nivå da 75 % persentilen på cirka 10 µg/L ved 4 og 6 måneder. Dersom vi tar utgangspunkt i medianverdi ved 4 måneder, må halvparten av babyene i studien drikke 1,5 – 2 liter om dagen, får å få i seg anbefalt mengde.

Ved innsamlingen av morsmelken i denne studien er det ikke spesifisert når under amming melken samles. Fraksjonen av selen gjerne er størst tidlig i måltidet, da den fete melken kommer i slutten av måltidet (Statens ernæringsråd, 2001). Denne studien indikerer at selenstatus hos ammende kvinner og spedbarnene er lav, men da det ikke er opplyst om melken er samlet fra starten eller slutten av et måltid gir det en viss usikkerhet. Hvor stor forskjellen er for selen i starten av måltidet og slutten av måltidet er også et spørsmål. Krachler et al. (1998) undersøkte blant annet kobber og sink i morsmelk og hvordan det endret seg i løpet av måltidet. Kobber og sink er stort sett bundet til proteiner i melken, og resultatene fra studien viser at det er ingen systematiske endringer av kobber eller sink i begynnelsen, midten og slutten av måltidet, om noe så ser det heller ut som kobber øker mot slutten av måltidet.

Sink

Sink har en rekke biokjemiske roller in vivo, den er tilstede i alle vev og væsker i kroppen og den er essensiell komponent i >300 enzymer og har en sentral rolle i immunsystemet (WHO, 2004). Sink stabiliserer den molekylære strukturen av cellulære komponenter og membraner, og den har en essensiell rolle i transkripsjonen av nukleotidene. Til tross for dette er marginal sinkmangel ikke lett å oppdage, verken ved biokjemiske eller fysiske tester. Alvorlig sinkmangel manifesterer seg med vekstretardasjon, forsinket seksuell- og beinutvikling, hudlesjoner, diare, hårtap, redusert appetitt, og økt infeksjonsfare (WHO, 2004). Effekten av mild og marginal sinkmangel er mindre tydelig, men redusert vekst og redusert immunforsvar er typisk. Plasma sink har en rask «turnover» og er under nøye homeostatisk kontroll, så den fungerer ikke som markør på marginal eller mild mangel. Den beste måten å undersøke marginal sinkmangel er gjennom overvåkning av kosten. Undersøkelse av innholdet i morsmelk er derfor en utmerket måte å vurdere sinkstatus hos nyfødte og små babyer.

Mengden sink i morsmelk er godt regulert. Flere studier har forsøkt å øke sinkmengden i morsmelk med supplementer til mor uten at det har gitt signifikant økning (WHO, 2004) og flere studier som har undersøkt korrelasjon mellom mors inntak av sink og nivå av sink i morsmelken og ikke funnet noen korrelasjon (Domellof et al., 2004; Lonnerdal, 1986; Moser & Reynolds, 1983). Studier med rotter har vist at ved marginalt sink-inntak

blir ikke sinkinnholdet i melken påvirket (Kelleher & Lonnerdal, 2003), og rotter med marginal sinkmangel får en oppregulering av ZnT-2 og ZnT-4, som er transportproteiner for sink transmembralt (Kelleher & Lonnerdal, 2002). I midlertid har rotter med marginalt sinkinntak i svangerskap og under ammingen produsert mindre mengder melk og avkom med redusert vekst (Beshgetoor & Lonnerdal, 1997). Sinkmangel er en reell risiko for kvinner i svangerskap og med amming, spesielt ved flere svangerskap. De første tre månedene man ammer forbrukes det 3 ganger mer sink daglig i forhold til kvinner som ikke er gravide/ammende. En annen utfordring er mangelen på gode indikatorer på marginal sinkmangel.

Resultatene fra denne studien viser som forventet at sinkinnholdet i morsmelk reduseres kraftig mellom 6 uker og 4 måneder etter fødsel, og fortsetter å synke fra 4 til 6 måneder etter fødsel (Tabell XIV og Figur 23). Det er imidlertid noe skjev normalfordeling av resultatene på 4 og 6 måneder. Årsaken til dette kan være at noen kvinner fremdeles har forholdsvis høye nivå av sink i melken. Det er foreslått at når spedbarnene begynner med fast føde så endres komposisjonen i melken seg, og det kan gi utslag på sporelementene i morsmelken også (Domellof et al., 2004). Resultatene i denne studien viser en økning i jern fra 4-6 måneder, men den er ikke signifikant.

Norske anbefalinger (Statens ernæringsråd, 2001) til spedbarn er på 2000 µg sink per dag for spedbarn under ½ år. Med utgangspunkt i medianverdi for 4 og 6 måneder, må halvparten av babyene i denne studien drikke 1,8L (4 mnd.) og 2,4 L (6 mnd.) melk om dagen for å dekke anbefalt dagsbehov for sink. I de nyere anbefalingene som er under revisjon er det ikke anbefalinger med hensyn på behovet for sink.

Det er godt samsvar mellom sinknivået i denne studien og i andre studier, både i henhold til nivå og endring over tid. Se Tabell XIX for oversikt av tidligere publikasjoner.

Tabell XIX. Oversikt over sinkresultat i andre publikasjoner

Referanse (ta vekk parenteser)	Uker etter fødsel	Sink $\mu\text{g/L}$ Gjennomsnitt $\pm\text{SD}$ (n)
(Bjorklund et al., 2012)	2-3	3471 \pm 979 (60)
(Friel et al., 1999)	12	3379 \pm 2069 (19)
(Almeida et al., 2008)	4	2785 \pm 1205 (19)
Denne studien	6	2550 \pm 948 (85)
(Yamawaki et al., 2005)	3-12	1770 \pm 1080 (542)
(Friel et al., 1999)	12	1140 \pm 550 (19)
Denne studien	16	1229 \pm 594 (85)
(Yamawaki et al., 2005)	12-25	670 \pm 800 (476)
Denne studien	24	945 \pm 485 (86)
(Domellof et al., 2004)	36	460 \pm 260 (86)

Element uten kjent virkning

Nikkel

Nikkel forekommer naturlig i ulike former, og bruken i moderne industri er økende. Nikkel tas opp gjennom fordøyelsen, og blir ansett som et essensielt sporelement, men det finnes ikke anbefalinger i forhold til daglig behov. Det er dyreforsøk som er bakgrunnen for at nikkel anses som essensielt også for mennesker, i tillegg til forsøk med mikroorganismer hvor nikkel er essensielt utviklingen av en normal tarmflora (gjengitt i Denkhaus & Salnikow, 2002). Nikkel kan også tas opp ved inhalering og eksos fra forbrenningsmotorer er en viktig kilde til nikkelforurensing av luften. Kjente virkninger av nikkeleksponering er dermatitt, kronisk bronkitt, lungefibrose, forgiftning av nyre og hjertekarsystemet, og kreft) (Denkhaus & Salnikow, 2002; McDermott et al., 2015). Akkumulering av nikkel i miljøet som følge av økt bruk i teknologi er en potensiell helseutfordring.

Nikkelresultatene i denne studien, median $\sim 0,2 \mu\text{g/L}$, er jevnt over lavere enn andre publikasjoner, med median $2,64 \mu\text{g/L}$ (Abdulrazzaq et al., 2008), $5,3 \mu\text{g/L}$ (Matos et al., 2014), $3,31 - 4,09$ (Matos et al., 2014), gjennomsnitt $0,79 \text{ g/L}$ (Krachler et al., 2000), gjennomsnitt $3 - 28 \mu\text{g/L}$ (Friel et al., 1999). Bjørklund et al. (2012) rapporterte med nikkel median under deteksjonsgrensen ($<0,084 \mu\text{g/L}$). Resultatene i denne studien er

også at nikkel i morsmelk ikke endres med tiden etter fødsel (Tabell XV og Figur 25), som samsvarer med tidligere studie (Matos et al., 2014).

I denne studien er nikkel signifikant korrelert med krom ($r_s = 0.389, 0.369, 0.241$ ($p < 0,01$ ved 6 uker og 4 mnd.; $p < 0,05$ ved 6 mnd.)), mangan ($r_s = 0.514, 0.444, 0.545$; $p < 0,01$), kobolt ($r_s = 0.559, 0.497, 0.590$; $p < 0,01$), tinn ($r_s = 0.347, 0.314, 0.416$; $p < 0,01$) og bly ($r_s = 0.568, 0.605, 0.548$; $p < 0,01$) ved alle tidspunktene etter fødsel.

Rubidium

Rubidium er det 16. mest tilstedeværende elementet i jordens skorpe, det er vanlig å finne i grønnsaker og planter og antas derfor være essensiell for noen planter. Det finnes også rikelig av rubidium i biologisk vev og det opptrer likt som kalium i sin metabolisme (Williams, Maturen, & Sky-Peck, 1987), men har til den dag i dag ingen kjent funksjon, men antas å være non-toksisk. Rubidium har blitt benyttet i medisinen som antidepressiva (rubidiumklorid) og kontrastvæske. Den biologiske effekten av rubidium er avhengig av koionet, hvor fluorid i rubidiumfluorid kan gi nyreskade (Usuda et al., 2014).

Resultatene fra denne studien viser at rubidium i morsmelk synker i løpet av ammetiden, fra et gjennomsnitt på $612 \mu\text{g/L}$ ved 6 uker til $526 \mu\text{g/L}$ ved 6 måneder (Tabell XV og Figur 27). Friel et al. (1999) undersøkte blant annet rubidium i morsmelk fra 1 – 12 uker etter fødsel. Gjennomsnittet endret seg jevnt fra $840 \mu\text{g/L}$ – $610 \mu\text{g/L}$. Matos et al. (2014) undersøkte også rubidium fra 1 – 16 uker etter fødsel, og der var det jevn nedgang i gjennomsnittet fra $891 \mu\text{g/L}$ – $579 \mu\text{g/L}$.

Strontium

Strontium er et jordalkaliemetall i gruppe 2 i det periodiske system. Elementet ligner på kalsium, som er i samme gruppe, og det er flere studier som tyder på at strontium påvirker bendannelse hos dyr (Buehler, Chappuis, Saffar, Tsouderos, & Vignery, 2001; Grynopas & Marie, 1990) og sammen med kalsium kan redusere osteoporose hos mennesker (Deeks & Dhillon, 2010). Det er ikke regnet som et essensielt element hos mennesker, men det er heller ikke vist noen skadelige virkninger av elementet.

I denne studien synker strontium signifikant i løpet av ammeperioden, fra 43 – 37 µg/L (Tabell XV og Figur 29). Nivået er litt høyere enn andre studier har funnet, med gjennomsnitt 33 µg/kg i moden melk (Krachler et al., 1998) og 24 – 35 µg/L fra 1 til 12 uker etter fødsel (Friel et al., 1999). De fant ingen endring i nivå i tiden de undersøkte.

Strontium korrelerer signifikant med kobber på alle tre tidspunktene ($r_s = 0.326, 0.345, 0.246; p < 0,05$).

Vanadium

Vanadium er et vanlig metall i omgivelsene, både i miljøet, i maten og i kroppen. Det kan ha mange ulike oksidasjonstilstander; -1, 0, +2, +3, +4, +5. Toksisitet er avhengig av sambinding og oksidasjonsstatus, hvor pentavalent vanadium er den giftigste. Vanadiumforurensing av vann og atmosfære er en utfordring, og i USA er det overvåkning av vanadiuminnholdet i drikkevann på grunn av negative helseeffekter. 80 % av vanadiumproduksjonen benyttes i stålindustrien, men det benyttes også som katalysator, rustbeskyttelse, batterier, superkonduktivemagneter, gjødsel, keramikk og i medisiner. (Imtiaz et al., 2015)

Vanadium er essensielt for noen pattedyr, men det er ikke bevist å være essensielt for mennesker. Det kan ha en regulatorfunksjon for fosfat-avhengige proteiner og vanadiumforbindelser har vist seg å kunne være effektive mot diabetes type 2, ondartete kreftsvulster, ulike endemiske tropiske sykdommer, bakterielle infeksjoner og HIV-infeksjoner (Rehder, 2016). Til tross for at det ikke har latt seg bevise at vanadium er essensielt for mennesker, så er det et viktig element i helsesammenheng; både som medisin og i forbindelse med forurensing og forgiftning. På grunn av at utslippene av vanadium fra industri, og fossile drivstoff, er så store, regnes vanadium som det viktigste elementet i det 21 århundret (Imtiaz et al., 2015).

Resultatene for vanadium, median 0.01 µg/L, i denne studien ligger ganske lavt, og alle resultatene er under nedre måleområde ($< 0,653 \mu\text{g/L}$) og flere av tallene er negative (for høyt korrigert blank). I forhold til andre studier er det også lavere resultat i denne studien. Bjørklund et al hadde en median på 0,039 µg/L, mens Krachler et al. (2000) og Matos et al. (2014) hadde vesentlig høyere resultat; 0,18µg/L og 1,63 µg/L respektivt. Matos et al.

fant en signifikant nedgang i vanadium fra 1-16 uker, mens denne studien ikke fant noen signifikant endring (Tabell XV og Figur 31).

Vanadium korrelerer signifikant med krom ($r_s = 0.572, 0.583, 0.697$; $p < 0,01$) og jern ($r_s = 0.229, 0.349, 0.257$; $p < 0,05$) på alle tidspunktene etter fødsel.

Toksiske element

Antimon

Antimon er i samme gruppe som arsen i det periodiske system, og sammenlignes ofte med arsen, men det er mindre kjent hvordan antimon oppfører seg og hvilken skade det påfører kroppen, da epidemiologiske studier ikke har kunnet se på antimon uten arsen. Dyreforsøk har vist at inhalasjon av antimontrisulfid og antimontrioksid øker forekomst av lungekreft, og metallisk-antimon klassifiseres likt (Beyersmann & Hartwig, 2008).

Nivåene av antimon i denne studien er lavt, med 38 % av prøvene under måleområdet ($< 0,259 \mu\text{g/L}$) og median var $0,04 - 0,05 \mu\text{g/L}$. Bjorklund et al. (2012) hadde en median på $0,031 \mu\text{g/L}$ og betydelig lavere deteksjonsgrense (LQ $0,013 \mu\text{g/L}$). Abdulrazzaq et al. (2008) hadde en median på $0,5 \mu\text{g/L}$, som er betydelig høyere enn resultatene i denne studien. Resultatene viser en stigning i antimon etter fødsel, men den er ikke signifikant (Tabell XVI og Figur 33).

Antimon korrelerer signifikant med flere elementer, da spesielt vanadium ($r_s = 0.297, 0.379, 0.482$; $p < 0,01$), kobolt ($r_s = 0.281, 0.236, 0.237$; $p < 0,05$) og tinn ($r_s = 0.567, 0.576, 0.608$; $p < 0,01$), som korrelerer signifikant på alle tre tidspunktene.

Bly

Bly er et giftig tungmetall med akutte og kroniske helseeffekter. Bly kan gi fosterskade og redusert forplantningsevne. Det mistenkes at selv i lave konsentrasjoner kan blyeksponering påvirke barns intellektuelle utvikling (Miljødirektoratet, 2016a). I høye konsentrasjoner gir bly alvorlig hjerneskade, og i lavere doser anemi redusert vitamin D metabolisme (Mendola et al., 2002). Tidligere var den viktigste blykilden blyholdig bensin, men ammunisjon har vært viktigste kilde de siste årene, til tross for at blyhagl har vært

forbudt fra 2005 – 2015. I 2013 var blyammunisjon den største utslippskilden i Norge, til tross for forbudet. I 2015 vedtok stortinget å tillate blyammunisjon på enkelte arter, slik at det sannsynligvis blir en økning i blyutslippene i 2016.

Melkekjertelbarrieren beskytter barnet mot blyeksponering fra mor, overførselsraten av bly fra mor til barn er under 1. Bly lagres i beinvev, med en halveringstid på 9 – 15 år (Brito et al., 2001), slik at dersom mor har vært eksponert vil det gå lang tid før blyet er borte. Bly lagres i beinvev og kan frigjøres under amming (Dorea, 2004; Tellez-Rojo et al., 2002). Eldre studier har ikke påvist nedgang i bly i ammeperioden (Friel et al., 1999; Rossipal & Krachler, 1998), men benevnningen viser at måleusikkerheten var høy. Nyere studier har vist både en signifikant nedgang i blynivået i løpet av ammeperioden (Chao et al., 2014; Winiarska-Mieczan, 2014) og ingen signifikant endring (Matos et al., 2014). En slik svak nedgang kan bety at blyinnholdet i beinvev sakte reduseres. Studier har også vist at innholdet bly i blod/plasma reduseres fra svangerskap til svangerskap (Frkovic, Kras, & Alebic-Juretic, 1997). Både for bly og kadmium er det funnet positiv korrelasjon mot tobakksrøyking (Chao et al., 2014; Winiarska-Mieczan, 2014).

Resultatene fra denne studien viser at nivået av bly i morsmelk hos norske kvinner er svært lavt, median $\sim 0,2 \mu\text{g/L}$, og det ser ikke ut til å være en nedgang i blynivået utover ammeperioden (Tabell XVI og Figur 35). Resultatene er en del lavere sammenlignet med Bjorklund et al. (2012) median $1,2 \mu\text{g/L}$, Almeida et al. (2008) median $1,17 \mu\text{g/L}$, Winiarska-Mieczan (2014) median $1,95 \mu\text{g/L}$ Chao et al. (2014) median $13 - 3 \mu\text{g/L}$ og Cinar et al. (2011) gjennomsnitt $176 \mu\text{g/L}$ (urbane strøk) og $303 \mu\text{g/L}$ (landsbyområde). Abdulrazzaq et al. (2008) og Matos et al. (2014) ligger nærmere denne studien med median $0,4 \mu\text{g/L}$ og $0,11 - 0,40 \mu\text{g/L}$ respektivt. Det kan være at nedgang i bly kun observeres der hvor det er et høyere nivå hos mor i utgangspunktet.

Bly korrelerer signifikant med flere element, men de som korrelerer ved alle tre tidspunktene er mangan ($r_s = 0.401, 0.305, 0.519; p < 0,01$), kobolt ($r_s = 0.332, 0.314, 0.544; p < 0,01$), nikkel ($r_s = 0.568, 0.605, 0.548; p < 0,01$), kadmium ($r_s = 0.389, 0.221, 0.237; p < 0,05$) og tinn ($r_s = 0.379, 0.313, 0.427; p < 0,01$).

Kadmium

Kadmium er akutt og kronisk giftig, og de fleste kadmiumforbindelser er kreftfremkallende. Kadmium kan skade forplantningsevnen og gi fosterskade. Det akkumuleres i nyrene hos pattedyr og gir kroniske nyreskader. Det konkurrerer også med kalsium i skjelettet, og høye nivå av kadmium kan gi deformasjoner. Kadmium er bioakkumulerende i fisk og pattedyr, (Miljødirektoratet, 2016b) og mennesker eksponeres for kadmium først og fremst via kosten, men også ved luft og vann. I fjorder i Norge hvor industri har forurenset vannet blir det advart mot å spise sjømat, delvis på grunn av kadmium (Miljødirektoratet, 2016b). Kvinner tar opp mer kadmium gjennom fordøyelsen enn menn, hovedsakelig på grunn av økt jernbehov (Akesson et al., 2002; Berglund, Akesson, Nermell, & Vahter, 1994). Det er mulig at små barn har høyere absorpsjon, opp mot 37 %, av kadmium enn voksne, 5 % (Crews et al., 2000). I morsmelk er det relativt lave nivå (<1 µg/L), men eksperimentelle studier har indikert at selv lave konsentrasjoner kan gi neurologiske og endokrine effekter hos spedbarn (Andersson et al., 1997; Petersson Grawe, Teiling-Gardlund, Jalkestén, & Oskarsson, 2004). Eksperimentelle forsøk med mus har vist at kadmium påvirker brystvevet, både i fysiologiske og genetiske endringer (Ohrvik, Yoshioka, Oskarsson, & Tallkvist, 2006). I tynntarmen tas kadmium hovedsakelig opp via et transportprotein for toverdige metall (DMT1), som blant annet tar opp jern, og muligens også via kalsium transporter (CaT1) (Min, Ueda, & Tanaka, 2008). Kadmiumionet, Cd^{2+} har samme ladning og størrelse som kalsiumionet, Ca^{2+} , og er litt større enn sinkionet, Zn^{2+} , og det konkurrerer derfor med kalsium og sink om binding til molekyler (Beyersmann & Hartwig, 2008). Kippler, Lonnerdal, Goessler, Ekstrom, Arifeen, et al. (2009) fant at nivå av kadmium i brystmelk er positivt assosiert med alder og antall barn, og at kadmium påvirker kalsiumnivået i morsmelk negativt. Deres beregninger tilsier også at overførselsraten fra plasma til morsmelk er 3 til 4, da de har data på at kun 5 % av kadmiumet i blod er i plasma, og de utførte sine undersøkelser i fullblod i stedet for plasma. Det kan bety at kadmium overføres til morsmelken via en aktiv transport, sannsynligvis ved samme transport som jern og mangan. I svangerskapet øker behovet for jern hos gravide, og det øker opptaket av kadmium. En studie i Sverige (Akesson et al., 2002) undersøkte kadmium nivå i blod (nylig eksponering av Cd), urin (nyrebelastning) og morkake og sammenlignet dette med jernstatus (serum ferritin og transferrinreseptor (TfR)). De fant at kadmium i blod og kadmium i urin (U-Cd) var positivt korrelert

med TfR og negativt korrelert med ferritin. Sent i svangerskapet hadde 50 % av kvinnene tømt jernlagrene sine (ratio TfR:Ferritin >500) og 15 % utviklet jernmangel (TfR > 8.3 mg/L). De som utviklet jernmangel i vevet hadde 40 – 50 % høyere nivå av kadmium i blod og urin under ammingen, enn de uten jernmangel. Uavhengig av jernstatus økte kadmiumnivået i blod med 20 % fra starten av svangerskapet til amming var avsluttet. Det ble også funnet høyere nivå av urin kadmium hos eldre kvinner, og kvinner med > 2 barn fra før.

I denne studien er kadmiumnivået ganske lavt, 79 % av morsmelkene under kvantifiseringsgrensen (<0,103 µg/L). Medianverdien varierte mellom 0,04 – 0,06 µg/L de ulike tidene etter fødsel, uten signifikant endring (Tabell XVI og Figur 37). WHO undersøkte blant annet kadmium i 1989, og definerte det ønskelige nivået for kadmium i morsmelk som < 0,1 µg/L. Nivået i denne studien er på samme som Bjorklund et al. (2012), median på 0,075 µg/L. mens andre studier som oftest har en høyere median, 0,11 µg/L (Olszowski et al., 2016), 0,14 µg/L (Kippler, Lonnerdal, Goessler, Ekstrom, El Arifeen, et al., 2009), 1,26 µg/L (Winiarska-Mieczan, 2014), bortsett fra studien til Abdulrazzaq et al. (2008), media 0,002µg/L, og Matos et al. (2014) varierende median i ulike uker fra -0,044 – 0,05 µg/L.

Kadmium korrelerer signifikant med bly på alle tidspunktene etter fødsel ($r_s = 0.389, 0.221, 0.237; p < 0,05$).

Dersom kadmium overføres med de samme transportmekanismene som jern over i morsmelken ville man forvente å finne korrelasjoner mellom kadmium og jern i morsmelken. I denne studie varierer korrelasjonen med jern ($r_s = 0.384, -0.073, 0.209$) på de ulike tidspunktene og det er kun ved 6 uker at det er signifikant korrelasjon ($p < 0,01$) for jern. Kippler, Lonnerdal, Goessler, Ekstrom, Arifeen, et al. (2009) fant positiv korrelasjon mellom jern og kadmium i morsmelk ($r_s = 0.55; p < 0,01$) da de undersøkte morsmelk 2 måneder etter fødsel. Det er ganske stor spredning på resultatene av jern ved 4 og 6 måneder i forhold til ved 6 uker, så

Kvikksølv

Kvikksølv forekommer i uorganisk form, In-Hg, og i organisk form, metylert kvikksølv, Me-Hg. Metabolismen av de to formene er veldig forskjellig, og det er først og fremst Me-Hg som er giftig. Me-Hg dannes fra bakterier som omdanner metallisk kvikksølv til Me-Hg. Me-Hg akkumuleres i næringskjeden, slik at vi får i oss Me-Hg ved å spise fisk. In-Hg får vi i oss fra amalgamfyllinger i tennene (Dorea, 2004). Det er spesielt ferskvannsfiskene, ørret og abbor, som har høye nivå av kvikksølv. Gravide og ammende advares mot inntak av disse fiskene, mens andre ikke bør spise det oftere enn en gang per måned (Miljødirektoratet, 2016c). Årsaken til de høye nivåene er ikke klar, men man mistenker forurensing fra gamle kilder, da det ikke er kjente utslippskilder i nærheten av flere av innsjøene.

I svangerskapet er heldigvis fosteret beskyttet av melkekjertel «barrieren», slik at det er lite Me-Hg som overføres til fosteret, og under amming er det først og fremst In-Hg som overføres. Det ser ut som at kvikksølvet bindes til proteiner i melken, slik at høyt proteininnhold gir høyere kvikksølvinnhold. Kolostrummelk har ofte høyere nivå av kvikksølv enn mer moden melk (Dorea, 2004). Organisk kvikksølv gir nyreskade, kroniske giftvirkninger, skade på sentralnervesystemet og fosterskade. Ved analysering på ICP-MS er det totalmengden av elementet som analyseres, det skilles ikke mellom organisk og uorganiske forbindelser. For å måle organiske forbindelser av kvikksølv trengs det en metode for spesiering, for eksempel ved hjelp av væskechromatografi i forkant av ICP-MSen (HPLC-ICP-MS).

Resultatene av denne studien viser meget lave nivå av kvikksølv i morsmelken hos de norske kvinnene. 94 % av prøvene var under måleområdet ($< 0,716 \mu\text{g/L}$), og maksimalverdi $3 \mu\text{g/L}$. Abulrassaq et al. (2008) hadde en median på $0,4 \mu\text{g/L}$ og maksimalverdi $2,8 \mu\text{g/L}$. Andre nye studier fra Saudi-Arabia, Tyrkia, og Japan har funnet median $0,884 \mu\text{g/L}$ (Al-Saleh et al., 2015), $1,36 \mu\text{g/L}$ (Dursun et al., 2016) og gjennomsnitt $0,81 \mu\text{g/kg}$ (Iwai-Shimada et al., 2015).

I denne studie ser vi ingen endring i nivået av kvikksølv i tidsperioden undersøkt (Tabell XVI og Figur 39). De andre studiene som har funnet nedgang i kvikksølv har gjerne undersøkt kolostrum (0 – 4 dager etter fødsel) og umoden melk (5-14 dager etter fødsel) (Rossipal & Krachler, 1998). Kvikksølv korrelerer signifikant med beryllium ($r_s =$

0.411, 0.245, 0.244; $p < 0,05$) og thallium ($r_s = 0.240, 0.244, 0.337$; $p < 0,05$) på alle tidspunktene.

Thallium

Thallium er et ikke essensielt tungmetall som er kjent i forbindelse med forgiftning av mennesker. Thallium ble tidligere brukt i rottegift, og dette har medført forgiftning av mennesker. Dødelig dose er omtrent 1 gram (1 mg/kg kroppsvekt) (NIOSH, 1994). Mange av thalliumforbindelsene er uten lukt, smak og farge. Den forekommer i to oksidasjonsstater, Tl^+ og Tl^{3+} , hvor begge er meget giftige. Thalliumionet ligner på kaliumionet, K^+ , og kan derfor tas opp gjennom hud, fordøyelse og respiratorisk, og det krysser lett placenten. Thalliumforurensing av miljøet sees i forbindelse med smelteverk, forbrenning av kull, petroleumsrensing og sementproduksjon. (Rodriguez-Mercado & Altamirano-Lozano, 2013)

Resultatene fra denne studien er det signifikant endring i thallium i ammeperioden (Tabell XVI og Figur 43), med en reduksjon fra 6 uker til 6 måneder. Medianverdien endret seg derimot ikke (0,03 -0,02 – 0,03 $\mu\text{g/L}$). Den høyeste verdien var 0,36 $\mu\text{g/L}$. US-EPA (US Environmental Protection Agency) har definert grenseverdien for thallium i drikkevann er 2 $\mu\text{g/L}$ (US-EPA, 1995). I Norge er det ikke kvalitetskrav med hensyn på thalliuminnhold i drikkevann (Helse og omsorgsdepartementet, 2001). Matos et al. (2014) undersøkte også thallium på ulike tider etter fødsel, og medianverdien varierte fra minus 0,009 til 0,019.

Tinn

Opptak av uorganisk tinn og tinnsalter er lavt og det skilles først og fremst ut med avføringen, og har derfor lav toksisitet. Organisk tinn er derimot ganske toksisk, hvor trimetyl- og trietyl-tinn som har høy opptakelighet i fordøyelsen er spesielt skadelige, i likhet med organiske forbindelser av kvikksølv (Winship, 1988).

Resultatene i denne studien viser ingen endring av tinn i løpet av ammeperioden (Tabell XVI og Figur 41). Medianresultatene i denne studien var 0,02 – 0,03 $\mu\text{g/L}$. 65 % av prøvene var under kvantifiseringsgrensen ($<0,0424 \mu\text{g/L}$). Bjorklund et al. (2012) hadde en

median på 0,38 µg/L og kun 3 % av prøvene under LQ (LQ= 0,24 µg/L), som er en del høyere resultat enn i denne studien. Eldre studier har funnet en del høyere resultat for tinn; 7 – 31 µg/L (Friel et al., 1999), 1 – 2,4 µg/L (WHO, 1989). Tinn er et vanskelig element å måle, det er fare for dannelse av uløselige kompleks, og det er fare for kontaminering. I denne studien hadde vi ikke et sertifisert kontrollmateriale tilgjengelig, bare cirka verdi oppgitt fra Sero og et par eksterne kvalitetskontroller (serum matriks), så det er en viss usikkerhet i resultatet.

Tinn korrelerer med veldig mange andre elementer i denne studien; ved alle tre tidspunktene var det signifikant korrelasjon mellom tinn og vanadium ($r_s = 0.345, 0.461, 0.359$; $p < 0,01$), krom ($r_s = 0.28, 0.353, 0.285$; $p < 0,01$), antimon ($r_s = 0.567, 0.576, 0.608$), kobolt ($r_s = 0.384, 0.409, 0.401$; $p < 0,01$), nikkel ($r_s = 0.347, 0.314, 0.416$; $p < 0,01$), kobber ($r_s = 0.249, 0.243, 0.233$; $p < 0,05$) og bly ($r_s = 0.379, 0.313, 0.427$; $p < 0,01$). Det er også signifikante relasjoner mellom flere av disse elementene, så det tyder på at de har noen like overføringsmekanismer.

Begrensninger

Å få mødre til å donere morsmelk kan være en utfordring, fordi det ikke alltid er like lett for mødre å gi fra seg melk. Årsaken kan være at mor ikke har så mye melk, at det de har vil de at barnet skal få og det kan være vanskelig å pumpe eller håndmelke. Det er også en utfordring å samle melken på en måte som sikrer at prøven ikke blir forurensset av sporelementer. Alle mødre fikk med seg et spesialrør for å transportere morsmelken, men dette røret var ikke optimalt å samle melken direkte i, og det ble sannsynligvis brukt brystpumpe og andre rør som mellomledd for så å helle prøven over i spesialrøret. Dersom man ikke har vasket hendene sine, eller smurt dem med en krem og deretter håndmelker brystene sine er dette en kilde til forurensing av morsmelkprøven. Det samme gjelder dersom en bruker en pumpe. Om pumpen er vasket med såpe og ikke skyllet pumpen godt nok vil dette kunne påvirke resultatet av sporelementer i prøven. Renheten på vannet vil sannsynligvis ikke ha noe å si, da det blir så små volum i forhold til prøvevolumet. Det optimale ville vært om vi leverte en syrevasket pumpe som de kunne bruke, men det hadde vi ikke midler til. Det ville sannsynligvis også vært kvinner som ikke klarte

å pumpe melk på den måten. Styrken i denne studien er at vi har 61 kvinner som har levert på alle tre tidspunktene, og det gjør at reelle endringer blir lettere å oppdage, enn ved færre deltakere. Usikkerheter omkring pumping, melking og renhet av utstyr blir mindre utslagsgivende ved såpass mange deltakere.

Rørene som morsmelken ble samlet i var har ikke syrevasket i forkant, men ut fra erfaring med bruk av rørene forventes det ikke at det skal ha bidratt med høyere resultat for elementene.

Vi har ikke informasjon om når i ammingen melken er samlet, og for elementene som følger med proteiner i melken kan det medføre lavere resultat om morsmelken levert til analysering er levert fra slutten av måltidet.

Morsmelken oftest samlet hjemme av mor, og da enten lagret i kjøleskap til neste dag, eller samlet samme dagen og levert på laboratoriet. Noen samlet også melk på laboratoriet. Etter prøven var mottatt på laboratoriet ble den fryst på -80°C til analysering. Prøveinnsamlingen gikk fra 2011 – 2016. De fleste sporelement er generelt veldig stabile og endrer seg lite over tid. Det som påvirker sporelementer er åpning av beholdere og kontaminering fra omgivelsene. Noen elementer kan felle ut (Kingston & Walter, 1998, s 72), eller feste seg i veggen av beholderen, (det gjelder kun for kvikksølv av de elementene som er undersøkt i denne studien). Etter mikrobølgedekomponering ble det dekomponerte materialet lagret mørkt i kjøleskap i 2-3 uker før analysering. For de fleste elementene har dette ingen eller liten betydning, men for kvikksølv kan det være av betydning. Det var tilsatt HCl for å stabilisere kvikksølv, men det er ikke gjort egne studier på om det er tilsatt nok HCl, og om det faktisk hjelper å tilsette HCl.

Konklusjon

I denne studien er det etablert en metode for kvantifisering av mange viktige sporelementer i morsmelk. Det hadde vært ønskelig å måle arsen, beryllium også, i tillegg til å kvantifisere kadmium, kvikksølv, krom og vanadium bedre, da flesteparten av morsmelkresultatene var under kvantiseringsgrensen. Måleområdet for magnesium bør også tilpasses nivået i morsmelk-prøvene. For kvantifisering av litium bør det velges en annen internkontroll enn Seronorm Serum Trace Elements, da denne inneholder for høye konsentrasjoner til at litium kan måles etter denne.

Resultatene for morsmelk var i tråd med tidligere publikasjoner for friske ueksponerte mødre. De essensielle sporelementene jern, kobber, molybden, selen og sink synker signifikant i ammeperioden, mens magnesium øker. For jern og selen anses resultatene i denne studien som lavere enn det som er ønskelig å ha i morsmelk for å gi optimal ernæring til spedbarnene. De essensielle sporelementene kobolt, krom og mangan endrer seg ikke i løpet av ammeperioden, det samme gjelder nikkel, vanadium. De toksiske elementene antimon, bly, kadmium, kvikksølv og tinn viser heller ingen signifikant endring i løpet av ammeperioden. Rubidium og strontium har ingen kjent virkning i kroppen, men disse synker også signifikant i ammeperioden. Nivåene for de toksiske sporelementene var lavt og de fleste resultatene for kadmium, kvikksølv og tinn var under deteksjonsgrensen.

Referanser

- Abbaspour, N., Hurrell, R., & Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *J Res Med Sci*, 19(2), 164-174.
- Abdulrazzaq, Y. M., Osman, N., Nagelkerke, N., Kosanovic, M., & Adem, A. (2008). Trace element composition of plasma and breast milk of well-nourished women. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 43(3), 329-334. doi:10.1080/10934520701792878
- Akesson, A., Berglund, M., Schutz, A., Bjellerup, P., Bremme, K., & Vahter, M. (2002). Cadmium exposure in pregnancy and lactation in relation to iron status. *Am J Public Health*, 92(2), 284-287.
- Al-Saleh, I., Abduljabbar, M., Al-Rouqi, R., Eltabache, C., Al-Rajudi, T., Elkhatib, R., & Nester, M. (2015). The extent of mercury (Hg) exposure among Saudi mothers and their respective infants. *Environ Monit Assess*, 187(11), 678. doi:10.1007/s10661-015-4858-y
- Alfthan, G., Euroola, M., Ekholm, P., Venalainen, E. R., Root, T., Korkalainen, K., . . . Aro, A. (2015). Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in Finland: From deficiency to optimal selenium status of the population. *J Trace Elem Med Biol*, 31, 142-147. doi:10.1016/j.jtemb.2014.04.009
- Almeida, A. A., Lopes, C. M., Silva, A. M., & Barrado, E. (2008). Trace elements in human milk: correlation with blood levels, inter-element correlations and changes in concentration during the first month of lactation. *J Trace Elem Med Biol*, 22(3), 196-205. doi:10.1016/j.jtemb.2008.03.007
- Andersson, H., Petersson-Grawe, K., Lindqvist, E., Luthman, J., Oskarsson, A., & Olson, L. (1997). Low-level cadmium exposure of lactating rats causes alterations in brain serotonin levels in the offspring. *Neurotoxicol Teratol*, 19(2), 105-115.
- Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am*, 60(1), 49-74. doi:10.1016/j.pcl.2012.10.002
- Bates, C. J., & Prentice, A. (1994). Breast milk as a source of vitamins, essential minerals and trace elements. *Pharmacol Ther*, 62(1-2), 193-220.
- Berglund, M., Akesson, A., Nermell, B., & Vahter, M. (1994). Intestinal absorption of dietary cadmium in women depends on body iron stores and fiber intake. *Environ Health Perspect*, 102(12), 1058-1066.
- Beshgetoor, D., & Lönnerdal, B. (1997). Effect of marginal maternal zinc deficiency in rats on mammary gland zinc metabolism. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 8(10), 573-578. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0955-2863(97)00091-0
- Beyersmann, D., & Hartwig, A. (2008). Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Arch Toxicol*, 82(8), 493-512. doi:10.1007/s00204-008-0313-y
- Bjorklund, K. L., Vahter, M., Palm, B., Grander, M., Lignell, S., & Berglund, M. (2012). Metals and trace element concentrations in breast milk of first time healthy mothers: a biological monitoring study. *Environ Health*, 11, 92. doi:10.1186/1476-069X-11-92
- Brito, J. A., McNeill, F. E., Stronach, I., Webber, C. E., Wells, S., Richard, N., & Chettle, D. R. (2001). Longitudinal changes in bone lead concentration:

- implications for modelling of human bone lead metabolism. *J Environ Monit*, 3(4), 343-351.
- Buchman, A.L. (2006). Manganese. I M. E. Shills, M. Shike, A. C. Ross, B. Caballero, & R. J. Cousins (Eds.), *Modern Nutrition in Health and Disease* (10 ed., s. 326-331). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Buehler, J., Chappuis, P., Saffar, J. L., Tsouderos, Y., & Vignery, A. (2001). Strontium ranelate inhibits bone resorption while maintaining bone formation in alveolar bone in monkeys (*Macaca fascicularis*). *Bone*, 29(2), 176-179.
- Cardoso, O. O., Juliao, F. C., Alves, R. I. S., Baena, A. R., Diez, I. G., Suzuki, M. N., . . . Segura-Munoz, S. I. (2014). Concentration Profiles of Metals in Breast Milk, Drinking Water, and Soil: Relationship Between Matrices. *Biol Trace Elem Res*, 160(1), 116-122. doi:10.1007/s12011-014-0030-8
- Celada, A., Busset, R., Gutierrez, J., & Herreros, V. (1982). No correlation between iron concentration in breast milk and maternal iron stores. *Helv Paediatr Acta*, 37(1), 11-16.
- Chao, H. H., Guo, C. H., Huang, C. B., Chen, P. C., Li, H. C., Hsiung, D. Y., & Chou, Y. K. (2014). Arsenic, cadmium, lead, and aluminium concentrations in human milk at early stages of lactation. *Pediatr Neonatol*, 55(2), 127-134. doi:10.1016/j.pedneo.2013.08.005
- Cinar, N., Ozdemir, S., Yucel, O., & Ucar, F. (2011). In which regions is breast-feeding safer from the impact of toxic elements from the environment? *Bosn J Basic Med Sci*, 11(4), 234-239.
- Collins, J. F., & Klevay, L. M. (2011). Copper. *Adv Nutr*, 2(6), 520-522. doi:10.3945/an.111.001222
- Crews, H. M., Owen, L. M., Langford, N., Fairweather-Tait, S. J., Fox, T. E., Hubbard, L., & Phillips, D. (2000). Use of the stable isotope (¹⁰⁶Cd) for studying dietary cadmium absorption in humans. *Toxicol Lett*, 112-113, 201-207.
- Deeks, E. D., & Dhillon, S. (2010). Spotlight on strontium ranelate: in postmenopausal osteoporosis. *Drugs Aging*, 27(9), 771-773. doi:10.2165/11206440-000000000-00000
- Denkhaus, E., & Salnikow, K. (2002). Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. *Crit Rev Oncol Hematol*, 42(1), 35-56.
- Domellof, M., Cohen, R. J., Dewey, K. G., Hernell, O., Rivera, L. L., & Lonnerdal, B. (2001). Iron supplementation of breast-fed Honduran and Swedish infants from 4 to 9 months of age. *J Pediatr*, 138(5), 679-687. doi:10.1067/mpd.2001.112895
- Domellof, M., Lonnerdal, B., Dewey, K. G., Cohen, R. J., & Hernell, O. (2004). Iron, zinc, and copper concentrations in breast milk are independent of maternal mineral status. *Am J Clin Nutr*, 79(1), 111-115.
- Dorea, J. G. (2002). Selenium and breast-feeding. *Br J Nutr*, 88(5), 443-461. doi:10.1079/bjn2002692
- Dorea, J. G. (2004). Mercury and lead during breast-feeding. *Br J Nutr*, 92(1), 21-40. doi:10.1079/bjn20041163
- Dursun, A., Yurdakok, K., Yalcin, S. S., Tekinalp, G., Aykut, O., Orhan, G., & Morgil, G. K. (2016). Maternal risk factors associated with lead, mercury and cadmium levels in umbilical cord blood, breast milk and newborn hair. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 29(6), 954-961. doi:10.3109/14767058.2015.1026255

- Eckhert, C. D. (2006). Other trace elements. I M. E. Shills, M. Shike, A. C. Ross, B. Caballero, & R. J. Cousins (Eds.), *Modern Nutrition in Health and Disease* (10 ed., s. 343-346). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- EFSA-NDA. (2014). *Scientific opinion on dietary reference values for chromium*. EFSA Journal 2014;12(10):3845, 25 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3845: Hentet fra http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/3845.pdf
- Enger, Ø. (2014). *Utvikling av metode for bestemmelse av 12 grunnstoff i morsmelk med induktivt koblet plasma massespektrometri*. (Master), Norwegian University of Life Sciences, Ås
- Finch, C. W. (2015). Review of trace mineral requirements for preterm infants: what are the current recommendations for clinical practice? *Nutr Clin Pract*, 30(1), 44-58. doi:10.1177/0884533614563353
- Fraga, C. G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Aspects Med*, 26(4-5), 235-244. doi:10.1016/j.mam.2005.07.013
- Friel, J. K., Andrews, W. L., Jackson, S. E., Longerich, H. P., Mercer, C., McDonald, A., . . . Sutradhar, B. (1999). Elemental composition of human milk from mothers of premature and full-term infants during the first 3 months of lactation. *Biol Trace Elem Res*, 67(3), 225-247. doi:10.1007/bf02784423
- Frkovic, A., Kras, M., & Alebic-Juretic, A. (1997). Lead and cadmium content in human milk from the Northern Adriatic area of Croatia. *Bull Environ Contam Toxicol*, 58(1), 16-21.
- Gillman, M. W., Rifas-Shiman, S. L., Camargo, C. A., Jr., Berkey, C. S., Frazier, A. L., Rockett, H. R., . . . Colditz, G. A. (2001). Risk of overweight among adolescents who were breastfed as infants. *Jama*, 285(19), 2461-2467.
- Grynpas, M. D., & Marie, P. J. (1990). Effects of low doses of strontium on bone quality and quantity in rats. *Bone*, 11(5), 313-319.
- Hannan, M. A., Faraji, B., Tanguma, J., Longoria, N., & Rodriguez, R. C. (2009). Maternal milk concentration of zinc, iron, selenium, and iodine and its relationship to dietary intakes. *Biol Trace Elem Res*, 127(1), 6-15. doi:10.1007/s12011-008-8221-9
- Helsedirektoratet. (2014). Nasjonal faglig retningslinje for spedbarnsernæring. Hentet fra [https://helsedirektoratet.no/Retningslinjer/Spedbarnsern%C3%A6ring%20\(H%C3%98RINGSUTKAST\).pdf](https://helsedirektoratet.no/Retningslinjer/Spedbarnsern%C3%A6ring%20(H%C3%98RINGSUTKAST).pdf) (lest 12 mai 2016)
- Helse og omsorgsdepartementet (2001). Forskrift om vannforsyning og drikkevann (Drikkevannsforskriften). Hentet fra https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2001-12-04-1372#KAPITTEL_6
- Hernell, O., Fewtrell, M. S., Georgieff, M. K., Krebs, N. F., & Lonnerdal, B. (2015). Summary of Current Recommendations on Iron Provision and Monitoring of Iron Status for Breastfed and Formula-Fed Infants in Resource-Rich and Resource-Constrained Countries. *J Pediatr*, 167(4 Suppl), S40-47. doi:10.1016/j.jpeds.2015.07.020
- Imtiaz, M., Rizwan, M. S., Xiong, S., Li, H., Ashraf, M., Shahzad, S. M., . . . Tu, S. (2015). Vanadium, recent advancements and research prospects: A review. *Environ Int*, 80, 79-88. doi:10.1016/j.envint.2015.03.018
- Iwai-Shimada, M., Satoh, H., Nakai, K., Tatsuta, N., Murata, K., & Akagi, H. (2015). Methylmercury in the breast milk of Japanese mothers and lactational exposure

- of their infants. *Chemosphere*, 126, 67-72.
doi:10.1016/j.chemosphere.2014.12.086
- Kattelman, K. K., Ho, M., & Specker, B. L. (2001). Effect of timing of introduction of complementary foods on iron and zinc status of formula fed infants at 12, 24, and 36 months of age. *J Am Diet Assoc*, 101(4), 443-447. doi:10.1016/s0002-8223(01)00114-6
- Kelleher, S. L., & Lonnerdal, B. (2002). Zinc transporters in the rat mammary gland respond to marginal zinc and vitamin A intakes during lactation. *J Nutr*, 132(11), 3280-3285.
- Kelleher, S. L., & Lonnerdal, B. (2003). Marginal maternal Zn intake in rats alters mammary gland Cu transporter levels and milk Cu concentration and affects neonatal Cu metabolism. *J Nutr*, 133(7), 2141-2148.
- Khan, N., Jeong, I. S., Hwang, I. M., Kim, J. S., Choi, S. H., Nho, E. Y., . . . Kim, K. S. (2013). Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS. *Food Chem*, 141(4), 3566-3570. doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.034
- Kingston, H. M., & Walter, P. J. (1998). The art and science of microwave sample preparations for trace and ultratrace elemental analysis. I A. Montaser (Ed.), *Inductively coupled plasma mass spectrometry* (s. 33-72). Danvers: Wiley-VCH, Inc.
- Kippler, M., Lonnerdal, B., Goessler, W., Ekstrom, E. C., Arifeen, S. E., & Vahter, M. (2009). Cadmium interacts with the transport of essential micronutrients in the mammary gland - a study in rural Bangladeshi women. *Toxicology*, 257(1-2), 64-69. doi:10.1016/j.tox.2008.12.009
- Kippler, M., Lonnerdal, B., Goessler, W., Ekstrom, E. C., El Arifeen, S., & Vahter, M. (2009). Cadmium interacts with the transport of essential micronutrients in the mammary gland-A study in rural Bangladeshi women. *Toxicology*, 257(1-2), 64-69. doi:10.1016/j.tox.2008.12.009
- Krachler, M., Li, F. S., Rossipal, E., & Irgolic, K. J. (1998). Changes in the concentrations of trace elements in human milk during lactation. *J Trace Elem Med Biol*, 12(3), 159-176.
- Krachler, M., Prohaska, T., Koellensperger, G., Rossipal, E., & Stingeder, G. (2000). Concentrations of selected trace elements in human milk and in infant formulas determined by magnetic sector field inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Biol Trace Elem Res*, 76(2), 97-112. doi:10.1385/bter:76:2:97
- Lonnerdal, B. (1986). Effects of maternal dietary intake on human milk composition. *J Nutr*, 116(4), 499-513.
- Lonnerdal, B., Keen, C. L., & Hurley, L. S. (1985). Manganese binding proteins in human and cow's milk. *Am J Clin Nutr*, 41(3), 550-559.
- Louie, H., Wong, C., Huang, Y. J., & Fredrickson, S. (2012). A study of techniques for the preservation of mercury and other trace elements in water for analysis by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Analytical Methods*, 4(2), 522-529. doi:10.1039/C2AY05182F
- Matos, C., Moutinho, C., Almeida, C., Guerra, A., & Balcao, V. (2014). Trace element compositional changes in human milk during the first four months of lactation. *Int J Food Sci Nutr*, 65(5), 547-551. doi:10.3109/09637486.2014.893281

- Mattilsynet. (2013). Hvilke matvarer inneholder miljøgifter. Hentet fra http://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/uonskede_stofferimaten/miljogifter/hvilke_matvaregrupper_inneholder_miljogifter (lest 1 mai 2016)
- Mattilsynet. (2015). Ikke skadelige mengder kadmium i vanlig norsk kosthold. Hentet fra http://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/uonskede_stofferimaten/miljogifter/ikke_skadelige_mengder_kadmium_i_vanlig_norsk_kosthold.19491 (lest 1 mai 2016)
- Matvaretabellen. (2015). Morsmelk. Hentet fra <http://www.matvaretabellen.no/> (lest 23 april 2016)
- McDermott, S., Salzberg, D. C., Anderson, A. P., Shaw, T., & Lead, J. (2015). Systematic Review of Chromium and Nickel Exposure During Pregnancy and Impact on Child Outcomes. *J Toxicol Environ Health A*, 78(21-22), 1348-1368. doi:10.1080/15287394.2015.1090939
- Mead, M. N. (2008). Contaminants in human milk: Weighing the risks against the benefits of breastfeeding. *Environ Health Perspect*, 116(10), A427-A434.
- Mendola, P., Selevan, S. G., Gutter, S., & Rice, D. (2002). Environmental factors associated with a spectrum of neurodevelopmental deficits. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 8(3), 188-197. doi:10.1002/mrdd.10033
- Midtgård, A. K., Frengstad, B., Banks, D., Krog, J. R., Siewers, U., Strand, T., & Lind, B. (2007). Fordeling av sporelementer i grunnvann fra 476 borebrønner i fast fjell, analysert med ICP-MS. Hentet fra http://www.ngu.no/FileArchive/156/99_099.pdf
- Miljødirektoratet. (2016a). Bly. Hentet fra <http://www.miljostatus.no/Tema/Kjemikalier/Noen-farlige-kjemikalier/Bly/zzz> (lest 1 mai 2016)
- Miljødirektoratet. (2016b). Kadmium. Hentet fra <http://www.miljostatus.no/tema/Kjemikalier/Noen-farlige-kjemikalier/Kadmium/> (lest 1 mai 2016)
- Miljødirektoratet. (2016c). Kvikksølv. Hentet fra <http://www.miljostatus.no/Tema/Kjemikalier/Noen-farlige-kjemikalier/Kvikksolv/> (lest 3 mai 2016)
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2000). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (4. ed.). Essex: Pearson Education Limited.
- Min, K. S., Ueda, H., & Tanaka, K. (2008). Involvement of intestinal calcium transporter 1 and metallothionein in cadmium accumulation in the liver and kidney of mice fed a low-calcium diet. *Toxicol Lett*, 176(1), 85-92. doi:10.1016/j.toxlet.2007.10.011
- Moser, P. B., & Reynolds, R. D. (1983). Dietary zinc intake and zinc concentrations of plasma, erythrocytes, and breast milk in antepartum and postpartum lactating and nonlactating women: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr*, 38(1), 101-108.
- Munch-Petersen, S. (1950). On the copper content in mother's milk before and after intravenous copper administration. *Acta Paediatr*, 39(4-5), 378-388.
- Murray, M. J., Murray, A. B., Murray, N. J., & Murray, M. B. (1978). The effect of iron status of Nigerian mothers on that of their infants at birth and 6 months, and on the concentration of Fe in breast milk. *Br J Nutr*, 39(3), 627-630.
- Newburg, D. S. (2005). Innate immunity and human milk. *J Nutr*, 135(5), 1308-1312.

- NIOSH. (1994). Thallium (soluble compounds, as Tl). Hentet fra <http://www.cdc.gov/niosh/idlh/thallium.html> (lest 25 april 2016)
- Nommsen, L. A., Lovelady, C. A., Heinig, M. J., Lonnerdal, B., & Dewey, K. G. (1991). Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study. *Am J Clin Nutr*, 53(2), 457-465.
- Oddy, W. H., Holt, P. G., Sly, P. D., Read, A. W., Landau, L. I., Stanley, F. J., . . . Burton, P. R. (1999). Association between breast feeding and asthma in 6 year old children: findings of a prospective birth cohort study. *Bmj*, 319(7213), 815-819.
- Ohrvik, H., Yoshioka, M., Oskarsson, A., & Tallkvist, J. (2006). Cadmium-induced disturbances in lactating mammary glands of mice. *Toxicol Lett*, 164(3), 207-213. doi:10.1016/j.toxlet.2005.12.008
- Olszowski, T., Baranowska-Bosiacka, I., Rebacz-Marion, E., Gutowska, I., Jamiol, D., Prokopowicz, A., . . . Chlubek, D. (2016). Cadmium Concentration in Mother's Blood, Milk, and Newborn's Blood and Its Correlation with Fatty Acids, Anthropometric Characteristics, and Mother's Smoking Status. *Biol Trace Elem Res*. doi:10.1007/s12011-016-0683-6
- Oppermann, M., Borisch, C., & Schaefer, C. (2015). Hip arthroplasty with high chromium and cobalt blood levels--Case report of a patient followed during pregnancy and lactation period. *Reprod Toxicol*, 53, 51-53. doi:10.1016/j.reprotox.2015.03.009
- Petersson Grawe, K., Teiling-Gardlund, A., Jalkestén, E., & Oskarsson, A. (2004). Increased spontaneous motor activity in offspring after maternal cadmium exposure during lactation. *Environ Toxicol Pharmacol*, 17(1), 35-43. doi:10.1016/j.etap.2004.02.001
- Praphairaksit, N., & Houk, R. S. (2000). Reduction of space charge effects in inductively coupled plasma mass spectrometry using a supplemental electron source inside the skimmer: ion transmission and mass spectral characteristics. *Anal Chem*, 72(11), 2356-2361.
- Rehder, D. (2016). Perspectives for vanadium in health issues. *Future Med Chem*, 8(3), 325-338. doi:10.4155/fmc.15.187
- Rodriguez-Mercado, J. J., & Altamirano-Lozano, M. A. (2013). Genetic toxicology of thallium: a review. *Drug Chem Toxicol*, 36(3), 369-383. doi:10.3109/01480545.2012.710633
- Rodushkin, I., Engstrom, E., & Baxter, D. C. (2010). Sources of contamination and remedial strategies in the multi-elemental trace analysis laboratory. *Anal Bioanal Chem*, 396(1), 365-377. doi:10.1007/s00216-009-3087-z
- Rossipal, E., & Krachler, M. (1998). Pattern of trace elements in human milk during the course of lactation. *Nutr Res*, 18(1), 11-24. doi:10.1016/s0271-5317(97)00196-6
- Schwarz, G. (2016). Molybdenum cofactor and human disease. *Curr Opin Chem Biol*, 31, 179-187. doi:10.1016/j.cbpa.2016.03.016
- Shenkin, A., Baines, M., Fell, G. S., & Lyon, T. D. G. (2006). Vitamins and Trace Elements. I C. E. Burtis, E. R. Ashwood, & D. E. Burns (Eds.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics* (4 ed., s. 1119). Missouri: Elsevier.

- Simonsen, L. O., Harbak, H., & Bennekou, P. (2012). Cobalt metabolism and toxicology--a brief update. *Sci Total Environ*, 432, 210-215. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.06.009
- Stakkestad, J. A. (2004). *Brukerhåndbok i Klinisk Kjemi* (3 ed.). Haugesund: Akademisk Forlag AS.
- Statens ernæringsråd. (2001). Anbefalinger for spedbarnsernæring. Hentet fra <https://helsedirektoratet.no/Lists/Publikasjoner/Attachments/240/Anbefalinger-for-spedbarndsernering-IS-1019.pdf>
- Stehle, P., Stoffel-Wagner, B., & Kuhn, K. S. (2016). Parenteral trace element provision: recent clinical research and practical conclusions. *Eur J Clin Nutr*. doi:10.1038/ejcn.2016.53
- Tellez-Rojo, M. M., Hernandez-Avila, M., Gonzalez-Cossio, T., Romieu, I., Aro, A., Palazuelos, E., . . . Hu, H. (2002). Impact of breastfeeding on the mobilization of lead from bone. *Am J Epidemiol*, 155(5), 420-428.
- Trumbo, P., Yates, A. A., Schlicker, S., & Poos, M. (2001). Dietary reference intakes: vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *J Am Diet Assoc*, 101(3), 294-301. doi:10.1016/s0002-8223(01)00078-5
- Tsai, S. F., Chen, S. J., Yen, H. J., Hung, G. Y., Tsao, P. C., Jeng, M. J., . . . Tang, R. B. (2014). Iron deficiency anemia in predominantly breastfed young children. *Pediatr Neonatol*, 55(6), 466-469. doi:10.1016/j.pedneo.2014.02.005
- US-EPA. (1995). Table of Regulated Drinking Water Contaminants. Hentet fra <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/table-regulated-drinking-water-contaminants#one> (lest 29 april 2016)
- Usuda, K., Kono, R., Ueno, T., Ito, Y., Dote, T., Yokoyama, H., . . . Tamaki, J. (2014). Risk assessment visualization of rubidium compounds: comparison of renal and hepatic toxicities, in vivo. *Biol Trace Elem Res*, 159(1-3), 263-268. doi:10.1007/s12011-014-9937-3
- WHO. (1989). *Minor and trace elements in breast milk*. Hentet fra <http://apps.who.int/iris/handle/10665/39678>:
- WHO. (1996). *Trace elements in human nutrition and health*. (92 4 156173 4). Hentet fra <http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241561734/en/>:
- WHO. (2003). Global Strategy for Infant and Young Child Feeding. Hentet fra http://www.who.int/nutrition/topics/global_strategy/en/
- WHO. (2004). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition : report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand, 21-30 September 1998*. Hentet fra <http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241546123/en/>:
- WHO. (2006). *Cobalt and inorganic cobalt compounds. Concise international cheical assessment document, 69 (2006),pp1-85*. Hentet fra <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad69%20.pdf>:
- WHO. (2013). *Essential Nutriton Actions. Improving maternal, newborn, infant and young child health and nutrition*. Hentet fra http://www.who.int/nutrition/publications/infantfeeding/essential_nutrition_actions/en/:
- Williams, R. H., Maturen, A., & Sky-Peck, H. H. (1987). Pharmacologic role of rubidium in psychiatric research. *Compr Ther*, 13(9), 46-54.

- Winiarska-Mieczan, A. (2014). Cadmium, Lead, Copper and Zinc in Breast Milk in Poland. *Biol Trace Elem Res*, 157(1), 36-44. doi:10.1007/s12011-013-9870-x
- Winship, K. A. (1988). Toxicity of tin and its compounds. *Adverse Drug React Acute Poisoning Rev*, 7(1), 19-38.
- Wrobel, J. K., Power, R., & Toborek, M. (2016). Biological activity of selenium: Revisited. *IUBMB Life*, 68(2), 97-105. doi:10.1002/iub.1466
- Yamawaki, N., Yamada, M., Kan-no, T., Kojima, T., Kaneko, T., & Yonekubo, A. (2005). Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *J Trace Elem Med Biol*, 19(2-3), 171-181. doi:10.1016/j.jtemb.2005.05.001
- Zijp, I. M., Korver, O., & Tijburg, L. B. (2000). Effect of tea and other dietary factors on iron absorption. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 40(5), 371-398. doi:10.1080/10408690091189194

Vedlegg

Vedlegg A Utstyrliste prøveopparbeiding

Tabell A Oversikt over utstyr i forbindelse med prøveopparbeiding

	Modell	Leverandør
Mikrobølgeovn	MIs 1200 mega	Milestone
Bomber	High pressure 100 bar 100 ml.	Milestone
Pipetter	100-200 μ L	Finnpipette
Pipetter	200-1000 μ L	Finnpipette
Pipetter	1000-5000 μ L	Finnpipette
Elektronisk pipette	Sartorius Picus 300 μ L	Biohit
Elektronisk pipette	Sartorius Picus 5000 μ L	Biohit
Sentrifugerør	15 ml polypropylen	Sarstedt
Sentrifugerør	15 ml polypropylen Metallfrie med kork	VWR
Sentrifugerør	50 ml polypropylen Metallfrie med kork	VWR

Vedlegg B Instrumentelle betingelser

Metoden som ble brukt for analysering av prøvene i prosjektet inkluderte isotopene under. Prøvene ble analysert med 12 replikater i medium oppløsning, og 36 replikater i høy oppløsning. Grunnen til dette er at det var veldig svakt signal for selen og arsen i høy oppløsning. Indium var internstandard både i medium og høy oppløsning. Scandium og vismut er analysert, men ikke brukt i resultatvurderingen.

Tabell B Oversikt over analyserte elementer og betingelser

Element	Isotop	Oppløsning	Samples per peak	Massevindu	Integreringsvindu
Litium (Li)	7	Medium	20	200	60 %
Beryllium (Be)*	9	Medium	20	300	60 %
Magnesium (Mg)	24	Medium	20	150	60 %
Scandium (Sc)*	45	Medium	20	150	60 %
Vanadium (V)	51	Medium	20	150	60 %
Krom (Cr)	52	Medium	20	150	60 %
Mangan (Mn)	55	Medium	20	150	60 %
Jern (Fe)	56	Medium	20	150	60 %
Kobolt (Co)	59	Medium	20	150	60 %
Nikkel (Ni)	60	Medium	20	150	60 %
Nikkel (Ni)*	62	Medium	20	150	60 %
Kobber (Cu)*	63	Medium	20	150	60 %
Kobber (Cu)	65	Medium	20	150	60 %
Sink (Zn)*	64	Medium	20	150	60 %
Sink (Zn)	66	Medium	20	150	60 %
Rubidium (Rb)	85	Medium	20	150	60 %
Rubidium (Rb)*	87	Medium	20	150	60 %
Strontium (Sr)	88	Medium	20	150	60 %
Molybden (Mo)*	95	Medium	20	150	60 %

Molybden (Mo)	98	Medium	20	150	60 %
Kadmium (Cd)*	111	Medium	20	150	60 %
Kadmium (Cd)	112	Medium	20	150	60 %
Indium (In)	115	Medium	20	150	60 %
Tinn (Sn)	118	Medium	20	150	60 %
Antimon (Sb)*	121	Medium	20	150	60 %
Antimon (Sb)	123	Medium	20	150	60 %
Kvikksølv (Hg)*	200	Medium	20	150	60 %
Kvikksølv (Hg)	202	Medium	20	150	60 %
Thallium (Tl)	205	Medium	20	150	60 %
Bly (Pb)*	207	Medium	20	150	60 %
Bly (Pb)	207	Medium	20	150	60 %
Bly (Pb)*	208	Medium	20	150	60 %
Vismut (Bi)*	209	Medium	20	150	60 %
Arsen (As)*	75	Høy	35	150	20 %
Selen (Se)	82	Høy	35	200	60 %
Indium (In)	115	Høy	30	150	60 %

* Element/Isotop ikke benyttet for videre i studien.

Tabell C Instrumentinnstillinger

	Enhet	
Plasma kraft	W	1150
Sample gass	L/min	~1
Cool gass	L/min	~16
Auxilliary gass	L/min	~0.9
Uran oksid	%	10
Ba ²⁺	%	0.2
Indium (MR)	cps	120.000
Indium (MR)	R	4300

Tabell D Spesifikasjoner av utstyr på ICP-MS

	Type
Autosampler	Cetac ASX-510
Forstøver	PFA 100µL/min
Spraykammer	Twinnabar Quartz cyclonic
Injektor	Quartz ICPII 1.75
Torch	Standard for Element2
Koner	Nikkel sampler kone Nikkel X skimmer kone
Forstøver	PFA 100µL/min

Tabell E Reagensoversikt

Reagenser og gass	Kvalitet	Leverandør
Salpetersyre	67 % Ultrapure NORMATOM	VWR Prolabo®
Saltsyre	30 % Suprapur®	Merck
Hydrogenperoksid	30 % Ultrapure NORMATOM	VWR Prolabo®
Argon	5.0	Aga
Deionisert vann	< 5ppb 18.2Ω	Milli-Q (Millipore)

Vedlegg C Standarder

Quality Control Standard Perkin Elmer (100 mg/L). I tillegg må kalibratoren spikes med Hg, Rb, og Sn (1000mg/L Perkin Elmer) for å kvantifisere disse elementene også. Kalibratoren spikes også med Cu, Fe og Zn (1000mg/L Perkin Elmer) da det er større mengder Fe, Zn og Cu i morsmelk i forhold til de andre elementene. Kalibratoren som benyttes har en sluttkonsentrasjon på 5 µg/L av alle element, bortsett fra Zn (100 µg/L), Cu, Rb og Fe (20 µg/L).

Tabell F Standarder

Standarder	Konsentrasjon mg/L	Leverandør
Bismuth (Bi)	1000	Perkin Elmer
Scandium (Sc)	1000	Perkin Elmer
Indium (In)	1000	Perkin Elmer
Quality Control Standard 21 elements	100	Perkin Elmer
Rubidium (Rb)	1000	Perkin Elmer
Tinn (Sn)	1000	Perkin Elmer
Kvikksølv (Hg)	1000	Perkin Elmer

Vedlegg D Blank rådata

	Blank 1	Blank 2	Blank 3	Blank 4	Blank 5	Blank 6	Blank 7	Blank 8	Blank 9	Blank10
Isotope	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L
Li	0,387	0,381	0,491	0,427	0,476	0,409	0,462	0,515	0,517	0,453
Be	0,252	0,249	0,246	0,255	0,255	0,261	0,255	0,261	0,252	0,249
Mg	-63,261	-63,904	-65,713	-66,182	-66,342	-66,157	-64,135	-64,122	-65,160	-66,024
V	0,151	-0,238	-0,072	-0,256	-0,256	-0,240	-0,124	-0,252	-0,253	-0,196
Cr	3,019	0,180	1,218	0,008	0,042	0,098	1,053	0,012	0,025	0,448
Mn	0,104	-0,025	0,018	-0,033	-0,031	-0,026	0,021	-0,024	-0,025	-0,022
Fe	56,140	32,933	41,689	32,183	32,792	33,105	41,225	32,469	32,613	35,328
Co	-0,064	-0,078	-0,072	-0,077	-0,078	-0,076	-0,073	-0,077	-0,079	-0,074
Ni	0,176	0,100	0,123	0,084	0,097	0,101	0,133	0,098	0,094	0,098
Cu	-1,388	-1,480	-1,504	-1,546	-1,539	-1,544	-1,493	-1,539	-1,490	-1,527
Zn	-24,153	-24,242	-23,163	-23,698	-24,147	-24,255	-24,314	-22,509	-22,048	-22,824
Rb	-6,009	-6,003	-6,008	-6,014	-6,007	-6,008	-6,006	-6,008	-6,009	-6,016
Sr	-0,515	-0,510	-0,528	-0,513	-0,512	-0,523	-0,503	-0,530	-0,510	-0,509
Mo	-0,626	-0,817	-0,715	-0,811	-0,805	-0,810	-0,722	-0,810	-0,811	-0,750
Cd	0,168	0,173	0,173	0,204	0,222	0,168	0,150	0,186	0,186	0,192
Sn	0,398	0,393	0,401	0,390	0,397	0,410	0,413	0,385	0,397	0,397
Sb	-0,217	-0,210	-0,217	-0,217	-0,219	-0,221	-0,219	-0,210	-0,216	-0,214
Hg	4,392	4,608	4,541	4,294	4,514	4,427	4,317	4,157	4,253	4,283
Tl	-0,007	-0,006	-0,007	-0,008	-0,007	-0,006	-0,009	-0,008	-0,007	-0,007
Pb	-0,049	-0,043	-0,043	-0,033	-0,042	-0,055	-0,054	-0,047	-0,042	-0,041
Se	-1,500	-2,828	-0,517	1,955	-1,401	-0,873	-0,105	-1,765	-0,179	-2,401

Vedlegg E Spearman's rank korrelasjoner, resultater fra 6 uker etter fødsel

Spearman's rho	Mg 6 uker	V 6 uker	Cr 6 uker	Mn 6 uker	Fe 6 uker	Co 6 uker	Ni 6 uker	Cu 6 uker	Zn 6 uker	Rb 6 uker	Sr 6 uker	Mo 6 uker	Cd 6 uker	Sn 6 uker	Sb 6 uker	Hg 6 uker	Tl 6 uker	Pb 6 uker	Se 6 uker
Be 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,246* 0,024 84	0,094 0,394 85	0,11 0,315 85	0,168 0,124 85	0,128 ,304** 0,241 85	,430** 0,005 85	-0,062 0,572 85	-0,167 0,126 85	-0,098 0,374 85	-0,067 ,262* 0,545 85	0,069 0,533 85	0,069 0,276 85	0,119 0,11 85	-0,174 ,411** 0 85	0,208 0,056 85	0,122 0,265 85	-0,016 0,902 59	
Mg 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	1 0,747 84	0,036 0,857 84	-0,02 0,949 84	-0,007 0,254 84	0,126 0,666 84	-0,048 0,325 84	0,109 0,304 84	-0,114 0,25 84	-0,127 0,63 84	0,053 0,687 84	0,045 0,319 84	0,11 0,434 84	-0,102 -,292** 0,355 84	0,007 0,007 84	0,075 0,499 84	-0,007 0,949 84	0,032 0,772 84	0,056 0,671 59
V 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,036 0,747 84	1 ,572** 0 85	0,193 ,229* 0,077 85	0,035 0,082 85	0,19 ,292** 0,007 85	0,997 0,963 85	0,005 0,816 85	-0,026 0,172 85	-0,116 0,292 85	0,005 0,115 85	0,172 0,513 85	0,072 ,345** 0,297** 85	0,001 0,001 85	0,006 0,858 85	0,02 0,037 ,303** 85	0,037 0,005 85	-0,007 0,957 59	
Cr 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,02 ,572** 0,857 84	0 0,857 85	1 ,384** 0,184 85	0,091 0,064 85	0,006 0,85 85	0,389** 0,006 85	0,481 0,599 85	-0,077 0,232 85	0,058 0,94 85	0,131 0,082 85	0,008 0,94 85	0,19 0,082 85	-0,067 ,280** 0,009 85	0,195 0,074 85	0,058 0,601 85	-0,102 ,267* 0,354 85	-0,114 0,014 85	0,389 0,59 59
Mn 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,007 0,949 84	0,193 0,077 85	0,184 0,091 85	1 ,384** 0,184 85	,544** 0 85	,514** 0 85	,223* 0,04 85	0,147 0,178 85	0,045 0,686 85	-0,009 0,935 85	0,14 ,359** 0,115 85	0,181 0,097 85	0,079 0,474 85	0,066 0,548 85	0,134 ,401** 0,223 85	-0,132 0,317 85	-0,132 0,317 59	
Fe 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,126 ,229* 0,254 84	0,035 0,064 85	0,193 ,229* 0,077 85	0,035 0,082 85	0,19 ,292** 0,007 85	0,997 0,963 85	0,005 0,816 85	-0,026 0,172 85	-0,116 0,292 85	0,005 0,115 85	0,172 0,513 85	0,072 ,345** 0,297** 85	0,001 0,001 85	0,006 0,858 85	0,02 0,037 ,303** 85	0,037 0,005 85	-0,007 0,957 59	
Co 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,048 0,666 84	0,19 ,296** 0,082 85	,544** 0,006 85	0,072 0,515 85	1 ,559** 0 85	,514** 0 85	,223* 0,04 85	0,147 0,178 85	0,045 0,686 85	-0,009 0,935 85	0,14 ,359** 0,115 85	0,181 0,097 85	0,079 0,474 85	0,066 0,548 85	0,134 ,401** 0,223 85	-0,132 0,317 85	-0,132 0,317 59	
Ni 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,109 ,292** 0,325 84	,389** 0,007 85	,514** 0 85	0,145 ,559** 0,187 85	1 0,515 85	,514** 0 85	,223* 0,04 85	0,147 0,178 85	0,045 0,686 85	-0,009 0,935 85	0,14 ,359** 0,115 85	0,181 0,097 85	0,079 0,474 85	0,066 0,548 85	0,134 ,401** 0,223 85	-0,132 0,317 85	-0,132 0,317 59	
Cu 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,114 0,304 84	0 0,997 85	-0,077 ,223* 0,481 85	0,04 0,636 85	0,052 0,05 85	0,204 0,061 85	1 ,330** 0,002 85	0,092 ,326** 0,402 85	-0,05 0,651 85	0,178 ,249* 0,104 85	0,146 0,022 85	0,146 0,182 85	0,167 0,126 85	0,211 0,052 85	0,081 0,46 85	0,023 0,865 59		
Zn 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,127 0,25 84	0,005 0,963 85	0,058 0,599 85	0,147 0,178 85	-0,036 0,742 85	0,037 0,739 85	0,003 ,330** 0,009 85	1 ,282** 0,002 85	-0,179 0,102 85	-0,127 0,246 85	-0,02 0,858 85	0,021 0,847 85	0,147 0,178 85	-0,106 0,336 85	0,004 0,971 85	0,041 0,711 85	0,029 0,828 59	
Rb 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,053 0,63 84	-0,026 0,816 85	0,131 0,232 85	0,045 0,686 85	0,03 0,798 85	0,028 0,272 85	-0,121 0,402 85	0,092 ,282** 1 85	0,074 0,5 85	-0,187 0,086 85	0,024 0,828 85	0,074 0,501 85	0,197 0,071 85	-0,162 ,214* 0,138 85	0,072 0,049 85	-0,057 0,515 85	-0,057 0,667 59	
Sr 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,045 0,687 84	-0,116 0,292 85	0,008 0,94 85	-0,009 0,935 85	0,035 0,751 85	0,057 0,604 85	0,039 ,326** 0,002 85	-0,179 0,102 85	0,074 0,5 85	1 0,984 85	0,002 0,713 85	0,041 0,958 85	-0,006 0,911 85	-0,012 0,065 85	-0,065 0,552 85	0,087 0,426 85	0,031 0,78 85	-0,063 0,634 59
Mo 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,11 0,319 84	0,172 0,115 85	0,19 0,082 85	0,14 ,471** 0,2 85	0,055 ,245* 0,614 85	0,024 0,651 85	-0,05 0,246 85	-0,127 0,086 85	-0,187 0,984 85	0,002 0,984 85	1 0,065 85	0,202 0,243 85	0,128 0,817 85	-0,026 0,163 85	0,153 0,796 85	0,028 0,514 85	0,072 0,214 85	0,164 0,214 59
Cd 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,087 0,434 84	0,072 0,513 84	-0,067 ,359** 0,545 84	,384** 0,001 84	0,093 ,306** 0,401 84	0,178 0,104 84	-0,02 0,858 84	0,024 0,828 84	0,041 0,713 84	0,202 0,065 84	1 0,102 84	0,18 0,102 84	0,104 0,347 84	0,089 0,419 84	0,089 0,558 84	0,065 ,389** 0,558 84	0,244 0,062 84	0,244 0,062 59
Sn 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,102 ,345** 0,355 84	,280** 0,001 85	,280** 0,009 85	0,181 0,097 85	0,144 ,384** 0,187 85	,347** 0,001 85	,249* 0,022 85	0,021 0,847 85	0,074 0,501 85	-0,006 0,958 85	0,128 0,243 85	0,18 0,102 85	1 ,567** 0,102 85	,439** 0 85	,221* 0,042 85	,379** 0,042 85	-0,171 0,196 85	
Sb 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-,292** 0,007 84	,297** 0,006 85	,280** 0,074 85	0,195 0,474 85	-0,013 ,281** 0,903 85	0,138 0,009 85	0,138 0,208 85	0,146 0,182 85	0,147 0,178 85	0,197 0,071 85	-0,012 0,911 85	-0,026 0,817 85	0,104 ,567** 0,347 85	1 ,227* 0 85	0,088 0,037 85	0,16 ,257* 0,425 85	0,049 0,143 85	0,049 0,049 59
Hg 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,075 0,499 84	0,02 0,858 85	0,058 0,601 85	0,066 0,548 85	0,161 0,142 85	0,183 0,093 85	0,21 0,054 85	0,167 0,336 85	-0,162 0,138 85	-0,065 0,552 85	0,153 0,163 85	0,089 ,439** 0,419 85	,227* 0 85	1 ,240* 0,037 85	0,056 0,027 85	0,04 -0,167 85	0,04 0,207 85	0,04 0,691 59
Tl 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,007 0,949 84	0,037 0,74 85	-0,102 0,354 85	0,134 0,223 85	0,174 ,260* 0,111 85	0,032 0,016 85	0,211 0,774 85	0,004 ,214* 0,052 85	0,087 0,971 85	0,028 0,426 85	0,028 0,796 85	0,065 ,221* 0,558 85	0,088 ,240* 0,042 85	0,088 0,425 85	0,105 0,027 85	0,105 0,34 85	-0,167 0,207 85	
Pb 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,032 ,303** 0,772 84	,267* 0,005 85	,401** 0,014 85	0,165 ,332** 0,132 85	,568** 0,002 85	,568** 0,002 85	,249* 0,46 85	0,081 0,711 85	0,041 0,515 85	0,072 0,78 85	0,031 0,514 85	0,072 ,389** 0 85	,379** 0,16 85	0,379** 0,056 85	0,105 0,612 85	0,105 0,34 85	0,053 0,691 85	
Se 6 uker	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,056 0,671 59	-0,007 0,389 59	-0,114 0,317 59	-0,132 ,272* 0,317 59	-,267* 0,037 59	-,267* 0,041 59	-,267* 0,114 59	-0,208 0,865 59	-0,057 0,828 59	-0,063 0,634 59	0,164 0,214 59	0,244 0,062 59	-0,171 -,257* 0,196 59	0,049 0,049 59	0,04 0,762 59	-0,167 0,207 59	0,053 0,691 59	

Vedlegg F Spearmans rank korrelasjoner, resultater fra 4 måneder etter fødsel

Spearman's rho	Mg 4 mnd	V 4 mnd	Cr 4 mnd	Mn 4 mnd	Fe 4 mnd	Co 4 mnd	Ni 4 mnd	Cu 4 mnd	Zn 4 mnd	Rb 4 mnd	Sr 4 mnd	Mo 4 mnd	Cd 4 mnd	Sn 4 mnd	Sb 4 mnd	Hg 4 mnd	Tl 4 mnd	Pb 4 mnd	Se 4 mnd	
Be 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,044 0,694 84	-0,184 0,092 85	-0,097 0,377 85	-0,114 0,3 85	-0,061 0,576 85	-0,023 0,836 85	,216* 0,047 85	0,117 0,288 85	0,07 0,524 85	-,246* 0,023 85	-0,094 0,394 85	0,04 0,719 85	0,205 0,06 85	-,248* 0,022 85	-,310** 0,004 85	,245* 0,024 85	,228* 0,036 85	0,07 0,527 85	-0,184 0,159 60
Mg 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	1 0,475 84	0,079 0,475 84	-0,021 0,847 84	-,242* 0,026 84	0,074 0,505 84	0,037 0,735 84	0,141 0,202 84	-0,035 0,749 84	-0,205 0,061 84	0,108 0,33 84	0,093 0,401 84	0,017 0,876 84	,217* 0,048 84	0,037 0,736 84	-0,093 0,401 84	0,012 0,913 84	0,163 0,139 84	0,107 0,331 84	-0,063 0,636 59
V 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,079 0,475 84	1 0,475 85	,583** 0,316** 85	,340** 0,003 85	,233* 0,001 85	,309** 0,032 85	0,064 0,004 85	0,174 0,562 85	0,101 0,111 85	0,015 0,358 85	0,179 0,893 85	-0,023 0,102 85	,461** 0,836 85	,370** 0 85	-0,019 0 85	0,038 0,865 85	0,192 0,733 85	-0,018 0,078 85	-0,018 0,892 60
Cr 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,021 0,847 84	,583** 0 85	1 0,243* 85	,243* 0,025 85	,279** 0,01 85	,318** 0,003 85	,369** 0,001 85	-0,038 0,732 85	,219* 0,044 85	-0,048 0,665 85	-0,044 0,686 85	0,186 0,089 85	0,025 0,819 85	,353** 0,001 85	,335** 0,002 85	0,017 0,879 85	-0,012 0,914 85	,229* 0,035 85	0,065 0,62 60
Mn 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-,242* 0,026 84	,316** 0,003 85	,243* 0,025 85	1 0,504** 85	,556** 0 85	,444** 0 85	,444** 0 85	0,151 0,167 85	,242* 0,026 85	-0,027 0,807 85	-0,007 0,951 85	,308** 0,004 85	0,09 0,414 85	,253* 0,02 85	0,201 0,065 85	0,19 0,081 85	0,051 0,645 85	,305** 0,005 85	0,068 0,608 60
Fe 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,074 0,505 84	,340** 0,001 85	,279** 0,01 85	,504** 0 85	1 0,009 85	,283** 0,009 85	,201 0,201 85	0,064 0,563 85	,248* 0,022 85	0,042 0,702 85	0,096 0,382 85	,475** 0 85	-0,073 0,506 85	0,123 0,261 85	0,142 0,194 85	0,089 0,42 85	0,039 0,722 85	,331** 0,383 85	0,01 0,605 60
Co 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,037 0,735 84	,233* 0,032 85	,318** 0,003 85	,556** 0 85	,283** 0,009 85	,1497** 0 85	0,071 0,517 85	-0,113 0,302 85	0,122 0,268 85	-0,045 0,686 85	,258* 0,017 85	-0,012 0,912 85	,409** 0 85	,236* 0,03 85	0,209 0,054 85	0,208 0,056 85	,314** 0,003 85	-0,065 0,623 85	-0,065 0,623 60
Ni 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,141 0,202 84	,309** 0,004 85	,369** 0,001 85	,444** 0 85	0,201 0,065 85	,497** 0 85	1 0 85	0,03 0,787 85	0,007 0,951 85	-0,02 0,855 85	-0,037 0,74 85	,238* 0,028 85	0,167 0,127 85	,314** 0,003 85	0,142 0,194 85	0,177 0,105 85	0,078 0,478 85	,605** 0 85	-0,049 0,711 60
Cu 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,035 0,749 84	0,064 0,562 85	-0,038 0,732 85	0,151 0,167 85	0,064 0,563 85	0,071 0,517 85	0,03 0,787 85	1 0,952 85	0,007 0,895 85	0,015 0,895 85	,345** 0,001 85	0,059 0,593 85	-0,076 0,49 85	,243* 0,025 85	-0,006 0,958 85	0,212 0,051 85	0,186 0,089 85	-0,008 0,941 85	-0,099 0,451 60
Zn 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,205 0,061 84	0,174 0,111 85	,219* 0,044 85	,242* 0,026 85	,248* 0,022 85	-0,113 0,302 85	0,007 0,951 85	0,007 0,952 85	1 0,365 85	-0,099 0,367 85	-0,099 0,519 85	0,071 0,564 85	-0,063 0,667 85	0,047 0,334 85	0,106 0,192 85	0,143 0,208 85	-0,138 0,987 85	0,002 0,715 85	0,048 0,715 60
Rb 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,108 0,33 84	0,101 0,358 85	-0,048 0,665 85	-0,027 0,807 85	0,042 0,702 85	0,122 0,268 85	-0,02 0,855 85	-0,099 0,895 85	1 0,365 85	0,071 0,519 85	-0,141 0,284 85	-0,118 0,057 85	0,208 0,904 85	0,013 0,085 85	-0,188 0,085 85	0,161 0,141 85	0,068 0,534 85	-0,156 0,235 85	-0,156 0,235 60
Sr 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,093 0,401 84	0,015 0,893 85	-0,044 0,686 85	-0,007 0,951 85	0,096 0,382 85	-0,045 0,686 85	-0,037 0,74 85	,345** 0,001 85	-0,099 0,367 85	0,071 0,519 85	1 0,235 85	-0,177 0,105 85	-0,177 0,818 85	0,025 0,313 85	0,111 0,706 85	-0,042 0,706 85	,256* 0,018 85	0,016 0,886 85	-0,074 0,576 60
Mo 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,017 0,876 84	0,179 0,102 85	0,186 0,089 85	,308** 0,004 85	,475** 0 85	,258* 0,017 85	,238* 0,028 85	0,059 0,593 85	0,071 0,519 85	-0,141 0,198 85	-0,13 0,235 85	1 0,836 85	0,023 0,726 85	0,039 0,617 85	0,055 0,885 85	-0,016 0,951 85	0,007 0,749 85	-0,035 0,948 85	0,009 0,948 60
Cd 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	,217* 0,048 84	-0,023 0,836 85	0,025 0,819 85	0,09 0,414 85	-0,073 0,506 85	-0,012 0,912 85	0,167 0,127 85	-0,076 0,49 85	-0,063 0,564 85	-0,118 0,284 85	-0,177 0,105 85	0,023 0,836 85	1 0,257 85	-0,124 0,284 85	-0,118 0,284 85	0,192 0,079 85	,219* 0,044 85	,221* 0,042 85	0,226 0,083 60
Sn 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,037 0,736 84	,461** 0 85	,353** 0,001 85	,253* 0,02 85	0,123 0,261 85	,409** 0 85	,314** 0,003 85	,243* 0,025 85	0,047 0,667 85	0,208 0,057 85	0,025 0,818 85	0,039 0,726 85	-0,124 0,257 85	1,576** 0 85	0,206 0,058 85	-0,025 0,823 85	,313** 0,004 85	-0,213 0,103 85	-0,213 0,103 60
Sb 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,093 0,401 84	,370** 0 85	,335** 0,002 85	0,201 0,065 85	0,142 0,194 85	,236* 0,03 85	0,142 0,194 85	-0,006 0,958 85	0,106 0,334 85	0,013 0,904 85	0,111 0,313 85	0,055 0,617 85	-0,118 0,284 85	,576** 0 85	1 0,11 85	0,174 0,474 85	-0,079 0,121 85	0,17 0,772 85	0,038 0,772 60
Hg 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,012 0,913 84	-0,019 0,865 85	0,017 0,879 85	0,19 0,081 85	0,089 0,42 85	0,209 0,054 85	0,177 0,105 85	0,212 0,051 85	0,143 0,192 85	-0,188 0,085 85	-0,042 0,706 85	-0,016 0,885 85	0,192 0,079 85	0,206 0,058 85	0,174 0,11 85	1,244* 0,025 85	0,058 0,601 85	-0,013 0,921 85	-0,013 0,921 60
Tl 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,163 0,139 84	0,038 0,733 85	-0,012 0,914 85	0,051 0,645 85	0,039 0,722 85	0,208 0,056 85	0,078 0,478 85	0,186 0,089 85	-0,138 0,208 85	0,161 0,141 85	,256* 0,018 85	0,007 0,951 85	,219* 0,044 85	-0,025 0,823 85	-0,079 0,474 85	,244* 0,025 85	1 0,607 85	0,057 0,607 85	-0,223 0,087 85
Pb 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	0,107 0,331 84	0,192 0,078 85	,229* 0,035 85	,305** 0,005 85	0,096 0,383 85	,314** 0,003 85	,605** 0 85	-0,008 0,941 85	0,002 0,987 85	0,068 0,534 85	0,016 0,886 85	-0,035 0,749 85	,221* 0,042 85	,313** 0,004 85	0,17 0,121 85	0,058 0,601 85	0,057 0,607 85	1 0,436 85	0,103 0,436 60
Se 4 mnd	Correlation Coefficient Sig. (2-tailed) N	-0,063 0,636 59	-0,018 0,892 60	0,065 0,62 60	0,068 0,608 60	,331** 0,01 60	-0,065 0,623 60	-0,049 0,711 60	-0,099 0,451 60	0,048 0,715 60	-0,156 0,235 60	-0,074 0,576 60	0,009 0,948 60	0,226 0,103 60	-0,213 0,088 60	0,038 0,772 60	-0,013 0,921 60	-0,223 0,087 60	0,103 0,436 60	1 1 60

Vedlegg G Spearman's rank korrelasjoner, resultater fra 6 måneder etter fødsel

Spearman's rho		Mg 6 mnd	V 6 mnd	Cr 6 mnd	Mn 6 mnd	Fe 6 mnd	Co 6 mnd	Ni 6 mnd	Cu 6 mnd	Zn 6 mnd	Rb 6 mnd	Sr 6 mnd	Mo 6 mnd	Cd 6 mnd	Sn 6 mnd	Sb 6 mnd	Hg 6 mnd	Tl 6 mnd	Pb 6 mnd	Se 6 mnd
Be 6 mnd	Correlation Coefficient	0,101	-0,126	-0,147	0,038	-0,019	0,067	0,179	-0,109	-0,194	-0,117	-0,114	0,146 ,376**		-0,191 -,271*		,244*	,381**	-0,027	-0,161
	Sig. (2-tailed)	0,356	0,249	0,176	0,729	0,866	0,539	0,1	0,316	0,074	0,282	0,296	0,181	0	0,078	0,012	0,024	0	0,807	0,214
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Mg 6 mnd	Correlation Coefficient		1 ,298**	0,024	-0,078	-0,01	0,033	0,209	-0,077	-0,124	0,077	-0,042	-0,008	0,079	-0,011	-0,019	0,033	0,083	-0,078	0,126
	Sig. (2-tailed)		0,006	0,826	0,475	0,926	0,767	0,055	0,485	0,258	0,485	0,699	0,939	0,475	0,921	0,864	0,762	0,449	0,476	0,336
	N	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
V 6 mnd	Correlation Coefficient	,298**		1 ,697**	0,088 ,257*	0,135	0,192	0,013	0,103	0,19	0,054 ,217*	0,045	0,879	0,001	0,177	0,02	0,147 ,250*	0,027	0,182	
	Sig. (2-tailed)	0,006		0	0,42	0,017	0,217	0,076	0,905	0,347	0,08	0,624	0,08	0,008	0,001	0,177	0,02	0,147 ,250*	0,027	0,182
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Cr 6 mnd	Correlation Coefficient	0,024 ,697**			1	0,198 ,323**	,316**	,241*		-0,024	0,032 ,220*		-0,047 ,219*	0,198 ,285**	,425**		0,192	0,184	0,122	0,185
	Sig. (2-tailed)	0,826		0	0,068	0,002	0,003	0,026	0,827	0,77	0,042	0,665	0,043	0,068	0,008	0	0,077	0,09	0,263	0,154
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Mn 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,078	0,088	0,198	1 ,408**	,627**	,545**		0,151	-0,086	0,174	-0,015	0,212 ,289**	,405**	,316**	,212*	,334**	,519**		0,205
	Sig. (2-tailed)	0,475	0,42	0,068	0	0	0	0,166	0,432	0,11	0,888	0,05	0,007	0	0,003	0,05	0,002	0	0,114	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Fe 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,01 ,257*	,323**	,408**		1 ,270*	,241*	,343**		-0,134	0,106	0,062 ,526**		0,209 ,223*		0,154 ,294**	,319**		0,142 ,361**	
	Sig. (2-tailed)	0,926	0,017	0,002	0	0,012	0,025	0,001	0,219	0,333	0,57	0	0,053	0,039	0,156	0,006	0,003	0,191	0,004	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Co 6 mnd	Correlation Coefficient	0,033	0,135 ,316**	,627**	,270*		1 ,590**		0,086	-0,133	0,175	0,001	0,107 ,360**	,401**	,237*	,259*	,247*	,544**		0,116
	Sig. (2-tailed)	0,767	0,217	0,003	0	0,012	0	0,43	0,224	0,108	0,993	0,327	0,001	0	0,028	0,016	0,022	0	0,372	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Ni 6 mnd	Correlation Coefficient	0,209	0,192 ,241*	,545**	,241*	,590**		1	0,132	-0,066	0,081	0,043	0,15 ,243*	,416**		0,204	0,193	0,093 ,548**		-0,047
	Sig. (2-tailed)	0,055	0,076	0,026	0	0,025	0	0,226	0,547	0,458	0,695	0,167	0,024	0	0,059	0,074	0,394	0	0,721	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Cu 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,077	0,013	-0,024	0,151 ,343**	0,086	0,132	1	0,052	0,085 ,246*	,214*		-0,042 ,233*	0,031	0,148	0,095	0,187 ,286**		0,092	
	Sig. (2-tailed)	0,485	0,905	0,827	0,166	0,001	0,43	0,226	0,635	0,437	0,022	0,048	0,752	0,653	0,662	0,027	0,031	0,386	0,085	0,008
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Zn 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,124	0,103	0,032	-0,086	-0,134	-0,133	-0,066	0,052	1	0,012	-0,07	-0,161	-0,086	0,026	0,21	-0,05	-0,133	0,035	-0,096
	Sig. (2-tailed)	0,258	0,347	0,77	0,432	0,219	0,224	0,547	0,635	0,915	0,915	0,52	0,138	0,431	0,81	0,052	0,647	0,222	0,747	0,461
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Rb 6 mnd	Correlation Coefficient	0,077	0,19 ,220*	0,174	0,106	0,175	0,081	0,085	0,012	1	-0,035	-0,049	-0,048 ,238*		,278**		-0,174 ,223*		0,059	-0,005
	Sig. (2-tailed)	0,485	0,08	0,042	0,11	0,333	0,108	0,458	0,437	0,915	0,752	0,653	0,662	0,027	0,01	0,109	0,039	0,591	0,97	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Sr 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,042	0,054	-0,047	-0,015	0,062	0,001	0,043 ,246*		-0,07	-0,035	1	-0,009	-0,141	0,066	-0,043 ,223*		-0,043 ,240*		0,022
	Sig. (2-tailed)	0,699	0,624	0,665	0,888	0,57	0,993	0,695	0,022	0,52	0,752	0,933	0,196	0,544	0,697	0,039	0,693	0,026	0,867	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Mo 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,008 ,217*	,219*	0,212 ,526**	0,107	0,15 ,214*		0,107	0,15 ,214*		-0,161	-0,049	-0,009	1	0,136	0,073	0,123 ,234*	,222*		-0,028
	Sig. (2-tailed)	0,939	0,045	0,043	0,05	0	0,327	0,167	0,048	0,138	0,653	0,933	0,211	0,504	0,261	0,03	0,04	0,795	0,594	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Cd 6 mnd	Correlation Coefficient	0,079	0,017	0,198 ,289**	0,209 ,360**	,243*		-0,042	-0,086	-0,048	-0,141	0,136	1	0,009	0,009 ,376**	,258*	,237*	,274*		0,032
	Sig. (2-tailed)	0,475	0,879	0,068	0,007	0,053	0,001	0,024	0,703	0,431	0,662	0,196	0,211	0,935	0,934	0	0,016	0,028	0,867	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Sn 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,011 ,359**	,285**	,405**	,223*	,401**	,416**	,233*		0,026 ,238*		0,066	0,073	0,009	1 ,608**	,413**	,264*	,427**	,272*	0,034
	Sig. (2-tailed)	0,921	0,001	0,008	0	0,039	0	0,031	0,81	0,027	0,544	0,504	0,935	0	0	0,014	0	0,014	0	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Sb 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,019 ,482**	,425**	,316**	0,154 ,237*	0,204	0,148		0,21 ,278**		-0,043	0,123	0,009 ,608**		1	0,162	0,141 ,312**		-0,188	
	Sig. (2-tailed)	0,864	0	0,003	0,156	0,028	0,059	0,175	0,052	0,01	0,697	0,261	0,934	0	0,137	0,194	0,003	0,148		
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Hg 6 mnd	Correlation Coefficient	0,033	0,147	0,192 ,212*	,294**	,259*		0,193	0,095	-0,05	-0,174 ,223*	,234*	,376**		0,413**		0,162	1 ,337**		0,094
	Sig. (2-tailed)	0,762	0,177	0,077	0,05	0,006	0,016	0,074	0,386	0,647	0,109	0,039	0,03	0	0,137	0	0,137	0,001	0,39	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Tl 6 mnd	Correlation Coefficient	0,083 ,250*		0,184 ,334**	,319**	,247*		0,093	0,187	-0,133 ,223*		-0,043 ,222*	,258*	,264*		0,141 ,337**		1	0,127	0,15
	Sig. (2-tailed)	0,449	0,02	0,09	0,002	0,003	0,022	0,394	0,085	0,222	0,039	0,693	0,04	0,016	0,014	0,194	0,001	0,242	0,247	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Pb 6 mnd	Correlation Coefficient	-0,078	0,027	0,122 ,519**	0,142 ,544**	,548**	,286**		0,035	0,059 ,240*		-0,028 ,237*	,427**	,312**		0,094	0,127		1	0,02
	Sig. (2-tailed)	0,476	0,803	0,263	0	0,191	0	0,008	0,747	0,591	0,026	0,795	0,028	0	0,003	0,39	0,242		0,879	
	N	85	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86	86
Se 6 mnd	Correlation Coefficient	0,126	0,182	0,185	0,205 ,361**	0,116	-0,047	0,092	-0,096	-0,005	0,022	0,07 ,274*		,272*		-0,188	-0,007	0,15	0,02	1
	Sig. (2-tailed)	0,336	0,162	0,154	0,114	0,004	0,372	0,721	0,479	0,461	0,97	0,867	0,594	0,032	0,034	0,148	0,956	0,247	0,879	
	N																			

Region: REK vest	Saksbehandler: Anne Berit Kolmannskog	Telefon: 55978496	Vår dato: 01.02.2012	Vår referanse: 2011/2447/REK vest
			Deres dato: 13.12.2011	Deres referanse:

Vår referanse må oppgis ved alle henvendelser

Anne-Lise Bjørke Monsen
almo@helse-bergen.no
Haukeland universitetssykehus

2011/2447 Biokjemiske endringer i ernæringsstatus, immunologi og miljøgifter under svangerskap og amming

Vi viser til søknad om forhåndsgodkjenning av ovennevnte forskningsprosjekt. Søknaden ble behandlet av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk i møtet 12.01.2012.

Prosjektomtale

REK Vest anser Helse Bergen HF som forskningsansvarlig for prosjektet.

Ved Laboratoriet for klinisk biokjemi ved Haukeland universitetssykehus etableres det nå referanseområder for mikronæringsstoff hos voksne. Spormetaller og vitaminer inngår i en rekke viktige prosesser i kroppen og i denne studien ønsker en å definere egne referanseområder for stoffer som kan ha betydning for svangerskap, amming og barnet. 150 gravide og ca 60 ikkegravide, fertile kvinner ønskes rekruttert. Det vil bli innhentet data om kosthold og levevaner samt blodprøver og morsmelkprøver på ulike tidspunkt i svangerskapet og spedbarstiden.

Vurdering

Komiteen mener studien er viktig å gjennomføre og har ingen innvendinger til forelagt protokoll.

Deltakerne

Rekrutteringsprosedyrene synes å ivareta potensielle deltakere på en god måte og rutiner rundt innhenting av data og biologisk materiale synes gjennomarbeidet.

Forskningsbiobank

REK Vest godkjenner opprettelsen av den prosjektspesifikke forskningsbiobanken "Mikronutrient status hos fertile kvinner".

Ansvarshavende for biobanken er Anne-Lise Bjørke Monsen.

Informasjonssikkerhet

I henhold til søknad skal forskningsprosjektets data oppbevares forsvarlig. Prosjektsslutt er satt til 31.12.2013. Personidentifiserbare forskningsdata skal anonymiseres eller slettes straks det ikke lenger er behov for dem og senest fem år etter prosjektsslutt.

I informasjonsskrivet må denne komiteen benevnes med koret navn, Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk.

Vedtak

Prosjektet godkjennes i samsvar med forelagt søknad.

Prosjektet skal sende sluttmelding til REK vest på fastsatt skjema senest 30.06.2014.

Dersom det skal gjøres endringer i prosjektet i forhold til de opplysninger som er gitt i søknaden, må prosjektleder sende endringsmelding til REK. Vi gjør oppmerksom på at hvis endringene er "vesentlige", må prosjektleder sende ny søknad, eller REK kan pålegge at det sendes ny søknad.

Vi ber om at alle henvendelser sendes inn via vår saksportal: <http://helseforskning.etikkom.no> eller på e-post til: post@helseforskning.etikkom.no.

Vennligst oppgi vårt referansenummer i korrespondansen.

Med vennlig hilsen,

Jon Lekven (sign.)
komiteleder

Anne Berit Kolmannskog
sekretariatsleder

Kopi til: potmottak@helse-bergen.no,

Saksbehandlingen følger forvaltningsloven. Komiteenes vedtak etter forskningsetikklovens § 4 kan påklages (jfr. forvaltningsloven § 28) til Den nasjonale forskningsetiske komité for medisin og helsefag. Klagen skal sendes REK Vest (jfr. forvaltningsloven § 32). Klagefristen er tre uker fra den dagen du mottar dette brevet (jfr. forvaltningsloven § 29).

De regionale komiteene for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk foretar sin forskningsetiske vurdering med hjemmel i helseforskningsloven § 10, jfr. forskningsetikkloven § 4. REK Vest forutsetter at dette vedtaket blir forelagt den forskningsansvarlige til orientering. Se helseforskningsloven § 6, jfr. § 4 bokstav e.

Vi ber om at alle henvendelser sendes inn via vår saksportal: <http://helseforskning.etikkom.no> eller på e-post til: post@helseforskning.etikkom.no. Vennligst oppgi vårt referansenummer i korrespondansen.