

**Fisk eller piller som kilde til selén**  
**– en sammenligning av biologisk**  
**tilgjengelighet av selén fra**  
**fisk og helsekostpreparater**

**Hovedfagsoppgave i**  
**ernæring, helse- og miljøfag**

**av**

**Eli Kristin Aadland**



**Høgskolen i Akershus**  
**Avdeling for yrkesfaglærerutdanning, IHHH**  
**Stabekk**



**Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt**  
**Bergen**

**Juni 1999**

## FORORD

Arbeidet med denne hovedfagsoppgaven er utført på Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt (FDE) i tiden august 1997 til juni 1999.

Jeg vil først takke tidligere direktør ved ernæringsinstituttet, professor Kåre Julshamn, som ga meg anledning til å utføre denne oppgaven. Jeg vil også takke Høgskolen i Akershus (HiAk) som lot meg få lov til å gjennomføre hovedfagsoppgaven på FDE.

Jeg vil takke min hovedveileder, forsker, dr. scient Mette Lorentzen, som har lagt til rette for en svært interessant oppgave og for god faglig veiledning underveis. Jeg vil også takke professor, dr. med Jan I. Pedersen, som har vært min interne veileder ved Høgskolen i Akershus.

Videre vil jeg takke de ansatte ved mineral- og sporstoffavdelingen på FDE som har hjulpet og oppmuntret underveis i arbeidet. Spesielt takk til Berit Engen Solli for opplæring i bruk av instrumenter, og for faglig rettledning og oppmuntrende ord når instrumentet (FIAS) ikke ville fungere slik jeg ville.

Kari Sundsbø Møllen (HiAk) takkes for å ha fulgt interessert med gjennom hele prosessen.

Medstudent Robin Ørnstrud skal ha en stor takk for at arbeidet med oppgaven ble lærerikt og kjekt. Robin, du har vært en uvurderlig støttespiller underveis!

Medstudenter, spesielt ved Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt har bidratt til et godt miljø både faglig og sosialt. Jeg er svært glad for at jeg fikk lov til å ta hovedfaget ved FDE.

En spesiell takk til Rune som alltid har vært der når jeg trengte det.

Bergen, juni 1999  
Eli Kristin Aadland

## SAMMENDRAG

Selén sin essensielle rolle for menneskets helse har blitt godt anerkjent de siste 20 årene. Den mest kjente funksjonen til selén, er at sporelementet inngår som en kofaktor i enzymet glutation peroksidase (GSH-Px). Aktiviteten av GSH-Px beskytter cellene i kroppen mot oksidativ skade. For noen år siden ble det oppdaget at selén også inngår i et viktig enzym som omsetter skjoldbruskhormonet  $T_4$  til den aktive formen  $T_3$ .

Fisk er en god selénkilde for mennesker, spesielt i områder med lave selénkonsentrasjoner i jordsmonnet siden dette igjen gir lavt inntak av selén i lokalt dyrket hvete og grønnsaker. Samtidig som fisk er en god naturlig kilde for selén, er fisk også en god kilde for en rekke andre viktige næringsstoffer.

Det ble utført et 28 dagers langt rotteforsøk for å sammenligne biologisk tilgjengelighet av selén fra ulike fiskesalg (rødspette, torsk og tunfisk) og gjærbaserte helsekostpreparater. Til dette ble det brukt selén som både selenometionin (organisk) og selenitt (uorganisk) som referanse. Rottene ble plassert i bur enkeltvis og fem rotter utgjorde en gruppe som ble føret med ett av tjuefire fôr. Fôrene hadde varierende selénkilder og selénkonsentrasjoner. Fem av fôrgruppene (25 dyr) ble plassert i metabolismebur der seléninntaket og utskillelsen av selén i urin og feces ble kontrollert.

Det ble brukt et basalfôr som var basert på torulagjær, som har lavt innhold av selén. Basalfôret ble tilsatt 0.05, 0.10, 0.15, 0.20  $\mu\text{g Se/g}$  i form av rødspette, torsk, tunfisk, helsekostpreparater, selenitt eller selenometionin. Fôrene ble forsøkt laget så like som mulig, der kun selénkilde og selénkonsentrasjon skulle variere.

Begrepet biologisk tilgjengelighet er et uttrykk for i hvilken grad et næringsstoff i kosten blir fordøyd, absorbert og inngår i sin essensielle funksjon i kroppen. Biologisk tilgjengelighet av selén ble i dette forsøket målt ved hjelp av vekst, retensjon av selén i ulike organ (lever, muskel, bein og plasma) og total selen retensjon, bestemt ved bruk av balansebur.

Resultatene viste at absorpsjonen av rene kjemiske former for selén var høyere enn for naturlig selén (rødspette, tunfisk), fordi disse ikke er proteinbundet. Videre viste forsøket at selenometionin ble bedre absorbert enn selenitt. For helsekostpreparat A ser fordøyelsen ut å

være mer begrensende ettersom en mindre del av selén fra fôret blir absorbert. Absorpsjonen av selén fra rødspette og tunfisk var nesten det dobbelte av den for helsekostpreparat A. Torsk er i tidligere forsøk funnet å ha en god absorpsjon.

Organretensjon som mål på biologisk tilgjengelighet av selén viste at en høy andel selén fra torsk ble retinert både i muskel, femur, lever og plasma. Det viste seg helt klart at torsk som kilde til selén har den beste biologiske tilgjengeligheten i dette forsøket. Videre konkluderes det med at selén i tunfisk og rødspette hadde like god biologisk tilgjengelighet. Signifikant dårligst biologisk tilgjengelighet hadde selén fra helsekostpreparatene. Forsøket viste at en heller bør velge et helsekostpreparat av selenitt, som har bedre biologisk tilgjengelighet av selén enn preparater av bio-selén. Dessuten er et helsekostpreparat laget av selenitt mye billigere i innkjøp enn bio-selén preparater.

Sammenligning av den biologisk tilgjengeligheten av selén fra rødspette, torsk, tunfisk og gjærbaserte helsekostpreparater, konkluderes i følgende rekkefølge:

torsk > tunfisk / rødspette > helsekostpreparat A og B

# INNHOLDSFORTEGNELSE

<b>Forord</b>	
<b>Sammendrag</b>	
<b>Forkortinger</b>	
<b>1 Innledning og målsetting</b>	<b>11</b>
<b>2 Teoretisk bakgrunn</b>	<b>13</b>
2.1 Historisk bakgrunn	13
2.2 Forekomst av selén	13
2.2.1 Selén i miljøet	13
2.3 Selénmetabolisme	14
2.3.1 Absorpsjon	14
2.3.2 Transport	15
2.3.3 Organfordeling	15
2.3.4 Innbygging i protein	16
2.3.5 Utskillelse	18
2.4 Biokjemisk funksjon til selén	18
2.5 Selén i human ernæring	19
2.5.1 Selénstatus i de nordiske landene	20
2.5.2 Selénstatus og sykdommer	20
2.5.3 Forgiftning	21
2.5.4 Behov	22
2.6 Kilder til selén	24
2.7 Biologisk tilgjengelighet	26
2.7.1 Ulike mål for biologiske tilgjengelighet av selén	26
2.7.2 Faktorer som påvirker resultatene for biotilgjengeligheten av selén	27
2.7.3 Biotilgjengeligheten av selén i ulike kilder	28
<b>3 Materiale og metoder</b>	<b>31</b>
3.1 Rotteforsøk	31
3.1.1 Tillaging av fôr	31
3.1.2 Oppsett og praktisk gjennomføring	36
3.1.3 Uttak	38
3.2 Bestemmelse av selén ved hjelp av FI-HGAAS	39
3.2.1 Prinsipp	39
3.2.2 Instrument	39
3.2.3 Oppslutning	41
3.2.4 Behandling av resultat	43
3.2.5 Metodens pålitelighet	44
3.2.6 Vaskeprosedyre	46
3.3 Statistiske beregninger	46
<b>4 Resultat</b>	<b>49</b>
4.1 Analyser av fôr	49
4.2 Inntak av fôr og selén	50
4.3 Vekst	52
4.4 Biologisk tilgjengelighet	54
4.4.1 Biologisk tilgjengelighet målt ved vekst	54
4.4.2 Biologisk tilgjengelighet målt ved balanseforsøk	56

4.4.3 Biologisk tilgjengelighet målt ved organretensjon	57
<b>5 Diskusjon</b>	<b>65</b>
5.1 Vurdering av metode	65
5.2 Vurdering av eksperimentelt design	67
5.3 Fôrsammensetning	68
5.4 Gjennomføring av rotteforsøket	69
5.5 Biologisk tilgjengelighet av sélen	70
5.5.1 Vekst	70
5.5.2 Metabolsk balanse	70
5.5.3 Organretensjon av selén	73
<b>6 Konklusjon</b>	<b>77</b>
<b>Litteraturliste</b>	<b>79</b>
<b>Vedlegg</b>	<b>91</b>

**FORKORTELSER**

Analytt	Det aktuelle grunnstoffet som blir analysert.
ANOVA	"Analyses of variance"
<i>et al.</i>	...og andre (fra latin <i>et alii</i> ).
ETAAS	Elektrotermisk atomabsorpsjon. Også kalt GFAAS; "Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy".
FI-HGAAS	"Flow Injection" Hydridgenerering Atomabsorpsjonsspektroskopi.
FIAS	"Flow Injection Atomic Spectrometry". Metode for automatisk analyse av prøver vha atomabsorpsjon.
HGAAS	Hydridgenerering atomabsorpsjonsspektroskopi.
HK	Helsekostpreparat.
µg	10 <sup>-6</sup> gram
nano-vann	vann som er deionisert og filtrert
Nøyaktighet	Riktighet ± presisjon.
rpm	omdreininger per minutt (revolution per minute)
SD	Standard avvik.
Se-met	Selenometionin
SRM	Standard referanse materiale. Materialet der innholdet av analytten på forhånd har blitt bestemt, og blir oppgitt med et standardavvik.

# 1 INNLEDNING OG MÅLSETTING

Ernærings spørsmål har fått en økende interesse i media internasjonalt, og blant de aspekt som har vært fremmet er generelt positive helseeffekter ved økt inntak av flere essensielle næringsstoff. Disse næringsstoffene får man først og fremst gjennom det man til daglig spiser og drikker. Vitaminer og sporelementer trengs i svært små mengder, men de er ikke mindre viktige av den grunn. Et sporelement er et grunnstoff, der det anbefalte daglige inntaket (ADI) er under 100 mg per dag. Ved inntak av for store doser, kan sporelementer være toksiske. Ifølge Jonsson (1992) er følgende sporelement essensielle: jern, fluor, sink, kobber, mangan, selén, jod, krom, molybden, kobolt og silisium.

Når det gjelder fisk som næringsmiddel har det lenge vært fokusert på positive virkninger av omega-3-fettsyrer og spesielt den rollen disse fettsyrene har for å forebygge hjerteinfarkt (Siminoplus, 1986). Dette har utvilsomt gitt en positiv effekt for fisk sitt omdømme som matvare, i et marked som er bevisst på ernæring og helse. Siden konsentrasjonen av selén i fiskekjøtt er relativt høy, er fisk en god kostholdskilde til selén. Fisk er derfor en potensielt viktig selénkilde for mennesker, spesielt i områder med lav selénkonsentrasjon i jordsmonnet siden dette igjen gir lavt innhold av selén i lokalt dyrket hvete og grønnsaker.

Når det skal vurderes om et næringsmiddel er en god kilde til selén er det ikke nok å kjenne konsentrasjonen i næringsmiddelet, man må også ha et mål for i hvilken grad næringsstoffet utnyttes. Begrepet biologisk tilgjengelighet er et uttrykk for i hvilken grad et næringsstoff i kosten blir fordøyd, absorbert og inngår i sin essensielle funksjon i kroppen (Fairweather-Tait, 1992). Biologisk tilgjengelighet av selén måles i dette forsøket ved hjelp av vekst, retensjon av selén i ulike organ (lever, muskel, bein, plasma) og total selen retensjon, bestemt ved bruk av balansebur. For hvert uttak og hver parameter som måles, er det forventet å finne en lineær dose-respons kurve (regresjonslinje). Stigningstallet for regresjonslinjen er et mål for biologisk tilgjengelighet, og ved å sammenlikne regresjonslinjene (slope ratio), kan de ulike selénkildene vurderes opp mot hverandre.

I selénomsetningen er lever et nøkkelorgan, men i humane forsøk vil det være vanskelig å arbeide med leverprøver. Dette er imidlertid mulig ved bruk av rotter som modell. Det har



blitt vist at selénmangel hemmer veksten hos rotter (Sasaki et al., 1994), men vekst har tidligere sjelden blitt brukt som mål på biologisk tilgjengelighet av selén. Det var derfor av interesse å se om det var mulig å bruke vekst som en respons parameter ved bruk av seléndepriverte rotter som modell.

Hvilken kjemisk form selén foreligger i er i høy grad bestemmende for den biologiske tilgjengeligheten (Mutanen, 1986). De som studerer kjemisk form til selén har funnet at selén fra rødspette foreligger i en annen form enn i andre fiskarter (Luten, J. personlig kommentar).

Fiskeselén er blitt anerkjent for å ha lav biologisk tilgjengelighet (Meltzer et al., 1993). Som kilde til fiskeselén er det ofte brukt tunfisk (Douglass *et al.*, 1981 og Alexander *et al.*, 1983). I tidligere forsøk ved Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt (FDE) der biologisk tilgjengelighet av selén fra tunfisk, torsk og makrell ble sammenlignet med selenitt i rotteforsøk, ble det funnet at selén fra tunfisk hadde lav tilgjengelighet mens torsk og makrell hadde like god tilgjengelighet (Knudsen *et al.*, 1992; Lorentzen, M. upublisert). Det var derfor av interesse å inkludere andre fiskearter i tillegg til tunfisk. Torsk ble valgt fordi den regnes som en vanlig fiskeart i norsk kosthold. I tillegg ble rødspette, som antas å ha selén bundet i en spesiell kjemisk form, valgt.

Folk er opptatt av sin helse, og mange mennesker bruker kosttilskudd av forskjellige slag. Helsekostmarkedet er stort og uoversiktlig, men ifølge innholdsspesifikasjonene ser det ut til at selén foreligger enten i uorganisk (ikke nærmere spesifisert, trolig selenitt) eller i organisk form, kalt "bio-selén", som selenometionin eller som gjær-selén. Bio-selén er preparater laget av gjær, der gjærcellene skal ha bygget selén inn på svovel sin plass i metionin. Det er stor forskjell i pris mellom helsekostpreparater laget av selenitt og bio-selén preparater. På bakgrunn av dette var det ønskelig å studere om det er noe å hente på å velge slike preparater.

Målsettingen med dette hovedfagsarbeidet var:

- å evaluere den eksperimentelle modellen
- sammenligne biologisk tilgjengelighet av selén fra fisk med helsekostpreparater. Til dette ble det brukt flere fiskeslag (rødspette, torsk, tunfisk), ulike gjærbaserte helsekostpreparater og selén som både selenometionin (organisk) og selenitt (uorganisk) som referanse.

## 2 TEORETISK BAKGRUNN

### 2.1 HISTORISK BAKGRUNN

Selén (Se) tilhører hovedgruppen VI A i det periodiske system, med atomnummer 34 og atomvekt på 78.96 g/mol. Elementet ble oppdaget av Jöns Jacob Berzelius i 1817, og ble først betraktet som et toksisk og kreftfremkallende element til 1950 årene, da det ble oppdaget at det var essensielt for rotter (Schwarz & Foltz, 1957).

I 1973 ble den biokjemiske funksjon av selén kjent, da Rotruck og medarbeidere viste at selén inngår i enzymet glutathion peroksidase (GSH-Px) (Rotruck *et al.*, 1973). Først så seint som i 1981 da det ble vist at seléntilskudd hindret en alvorlig muskelsykdom i selénfattige områder i Kina (Chen *et al.*, 1981) ble selén generelt akseptert å være viktig i human ernæring.

### 2.2 FOREKOMST AV SELÉN

Selén forekommer i for eksempel oksydasjonstrinnene -II (selénid), 0 (elementært), +IV (selénitt) og +VI (selénat) i naturen. Selén eksisterer i flere uorganiske og organiske forbindelser, og er funnet i aminosyrene selénocystein og selénometionin der selén erstatter svovel (Combs & Combs, 1986).

#### 2.2.1 SELÉN I MILJØET

Konsentrasjonen av selén i jorden varierer fra sted til sted og må sees i sammenheng med blant annet jordsmonnets sammensetning og de klimatiske forhold.

Seléninnholdet i planter er avhengig av selénkonsentrasjonen i jorden de vokser i. Opptaket i plantene er også i stor grad knyttet til formen elementet foreligger i jordsmonnet. Selén tas opp i planter som selénat, selénitt eller organiske selénforbindelser.

Selén i sur jord kan danne tungtløselige forbindelser som gjør opptaket i plantene vanskelig. I områder med mye nedbør kan en få en kraftig utvanning og selv om selén i jorden er relativ vannløselig, kan jordsmonnet bli tappet for elementet. Jo fuktigere et område er og jo surere

jordsmonnet er, dess større er sjansen for å få lave selénnivå i plantene (Ekermans & Schneider, 1982).

Det er store artsvariasjoner i evnen plantene har til å ta opp og inkorporere selén. Primære indikatorer kalles planter som foretrekker områder med høyt seléninnhold i jorden, og de kan akkumulere elementet i en størrelsesorden på flere tusen mg/kg. Sekundære indikatorer krever ikke selén for vekstens skyld, men akkumulerer elementet når jorden er selénholdig. De når ikke så høyt i selénnivå som de primære indikatorene. Det finnes også en tredje plantegruppe som ikke akkumulerer selén ved naturlige forhold (Sharma & Singh, 1983).

Planter som spesielt tar opp selén, primært og sekundært, brukes sjelden direkte av mennesker, men bidrar gjerne indirekte gjennom opptak hos dyr.

## **2.3 SELÉNMETABOLISME**

Metabolismen av selén inkluderer absorpsjon, transport, omdanning til biokjemisk aktive former, organfordeling og ekskresjon av elementet.

### **2.3.1 ABSORPSJON**

Absorpsjon av selén foregår hovedsakelig i tolvfingertarmen (Whanger *et al.*, 1976), der 50-100% blir absorbert uavhengig av diettens innhold.

Selénometionin og selénocystein synes å bli absorbert på samme måte som de svovelholdige analogene, ved aktivt opptak (McConnell & Cho, 1965). Selénitt og trolig selénid kommer gjennom tarmveggen ved diffusjon, mens selénat blir opptatt som sulfat ved hjelp av bærer. Av disse grunnene er den prosentvise absorpsjonen av selén fra tarmen ulik for de ulike formene. Selénometionin blir lett absorbert, og under optimale forhold vil absorpsjonsprosenten være lik den for selénat (95-98%), men 50–80 % av selén i naturlig kost blir absorbert (Diplock, 1987). Selénitt blir hurtig tatt opp (Robinson & Thomson, 1983), dette ble registrert ved at isotopmerket selén ble funnet i plasma i løpet av 30 minutter (Patterson *et al.*, 1989). In vitro studier har antydnet at glutation påvirker absorpsjonen av selénitt (Anundi *et al.*, 1984).

Faktorer som påvirker absorpsjonen har ikke blitt godt utredet. Men det ser ut til at selén fra dietter med høyt proteininnhold blir bedre absorbert enn selén fra dietter med lavt proteininnhold (Greger & Marcus, 1981). Denne forskjellen i opptak av selén kan kompenseres ved å tilsette metionin og cystein til dietter med lavt proteininnhold. Dyreforsøk antyder at vitamin A og C fremmer opptaket av selénitt selv om det kunne forventes at vitamin C ville redusere selénitt til elementært selén som ikke absorberes (Robinson & Thomson, 1983). Det er blitt foreslått at sink har en antagonistisk effekt på absorpsjonen av selén. House & Welch (1989) rapporterte at opptaket av selén hos rotter sank med økende mengde sink i fôret.

Det har ikke blitt vist at selénstatus hos individet influerer på opptaket av selén.

### **2.3.2 TRANSPORT**

Mesteparten av absorbert selén transporteres i plasma, bundet til protein. De involverte proteinene varierer mellom arter, og har ikke blitt godt definert for mennesker. For mus ser det ut til at albumin er et viktig transportprotein, mens for mennesker er  $\beta$ - lipoproteiner involvert (Robinson & Thomson, 1983; Combs & Combs, 1984). Ducros *et al.* (1994) viste at albumin (eller tilsvarende protein) var hovedmottakeren av selén i plasma i løpet av de fire første timene etter et måltid ved tilsetning av  $^{74}\text{Se}$ - selénitt, men etter åtte timer var selén hovedsakelig inkorporert i selénoprotein P etter metabolisme i leveren. Dette støtter hypotesen om at selénoprotein P har en transportfunksjon, men bevisene er tvetydige.

### **2.3.3 ORGANFORDELING**

Det ser ut til at det foregår en rask fordeling av selén til de fleste organ i kroppen. Konsentrasjonen av selén i organ og vev avhenger av mengde og kjemisk form til selén i dietten. Hos mennesker gitt radiomerket selénitt, ble den høyeste konsentrasjonen funnet i leveren, etterfulgt av nyrene og lungene. Bare spormengder ble funnet i muskler og ledd (Högberg & Alexander, 1986; WHO, 1987). Selv om konsentrasjonen av selén i muskel er lav, vil selén i muskel utgjøre ca. 40 % av kroppens totale seléninnhold fordi muskelmassen er så stor. Leveren inneholder ca. 30 % og de resterende 30 % fordeler seg på andre vev (Behne & Wolters, 1983). Den høye selénkonsentrasjonen i nyrene kan i all hovedsak forklares med at nyrene er hovedorganet for utskillelse av selén (Combs & Combs, 1986).

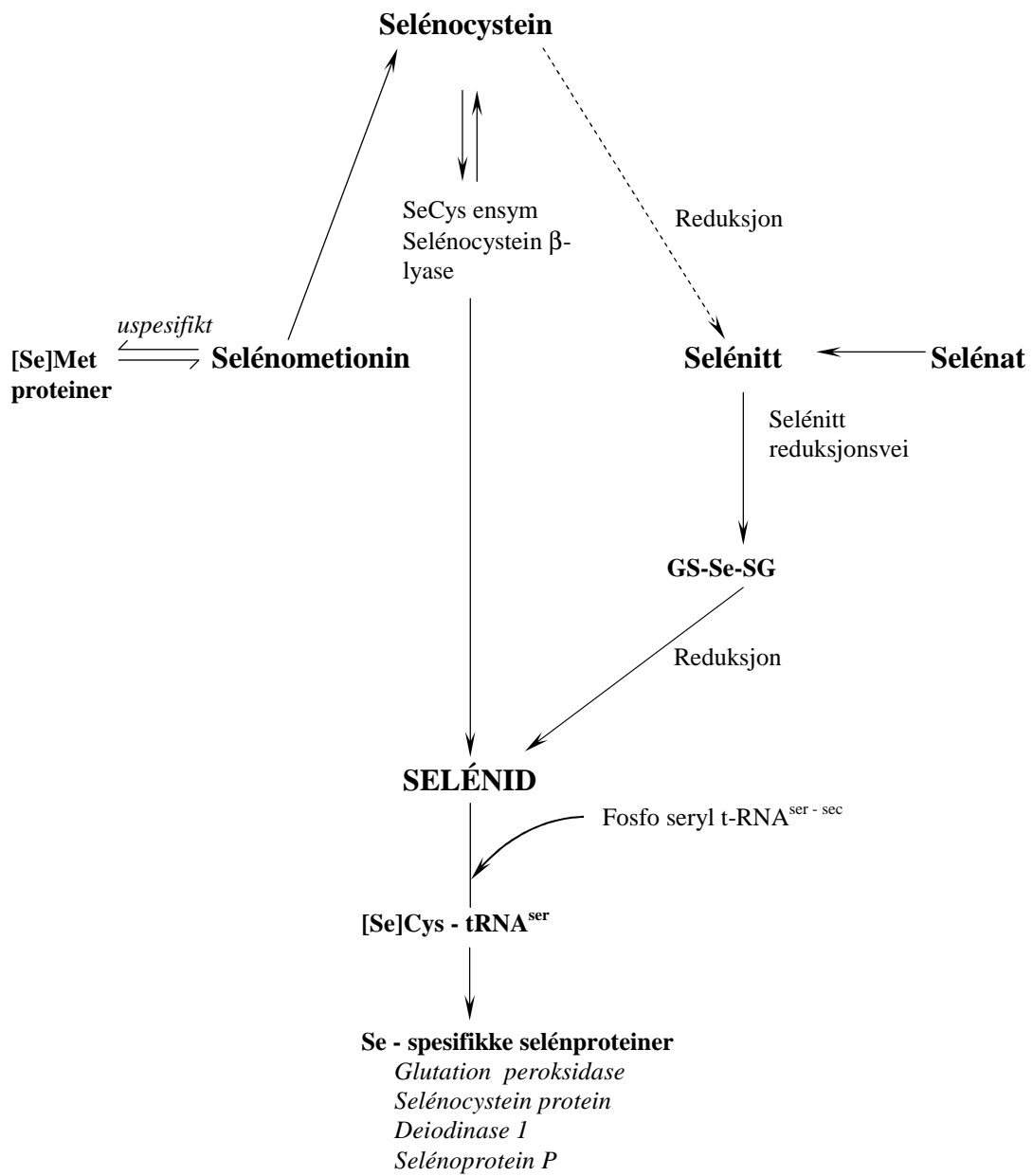
Skjoldbruskkjertelen har også høyt seléninnhold sammenlignet med andre organ (Aaseth *et al.*, 1990).

### 2.3.4 INNBYGGING I PROTEIN

Den metabolske innbyggingen av selén i proteiner avhenger av kjemisk form til selén i kosten. Gjennom kosten får vi i oss selén som selénometionin, selénocystein, selénat og selénitt. I dyrevev er selénocystein den dominerende og biologiske aktive formen for selén (Burk & Hill, 1993). Proteiner som inneholder selénocystein er selénavhengig, dvs. at de eksisterer i lavere konsentrasjon når seléntilførselen er begrenset. Hos pattedyr finnes det to måter selén bygges inn i protein på, en spesifikk og en uspesifikk metode. Selén bygges spesifikt inn i selénoproteiner i dyrevev ved at hydroksylgruppen i serin bundet til t-RNA byttes ut med selén (Mitchell *et al.*, 1992). Dette selénocystein t-RNA bygges så inn i spesifikke selénoprotein som f.eks. glutation peroksidase (Esaki *et al.*, 1981) (Figur 2.1).

Før selén kan inkorporeres i selénocystein t-RNA må selén reduseres til selénid ( $\text{Se}^{2-}$ ) (Sunde 1984; Burk 1991). Selénat blir redusert til selénitt (Behne *et al.*, 1991) og videre redusert til selénid (Sunde, 1984) gjennom en prosess som krever glutation. Alle forhold rundt omdannelsen av uorganisk selén til selénocystein er enda ikke fullt ut forstått. Uorganisk selén kan ikke lagres men inkorporeres i proteiner (Patterson & Zech, 1992).

Også selén i form av aminosyrene selénocystein og selénometionin fra kosten må metaboliseres til selénid. Selénocystein fra kostholdet kan imidlertid uspesifikt bli innbygget i protein, men ikke direkte inn i de aktive selénoproteinene (Behne *et al.*, 1991). Den uspesifikke innbyggingen av selénocystein til biologisk aktive selénoprotein vil ikke forekomme i særlig stor grad, på grunn av tilstedeværelse av enzymet selénocystein  $\beta$ -lyase. Selénocystein  $\beta$ -lyase, som hovedsakelig finnes i nyrene, bryter ned selénocystein og frigjør selénid (Esaki *et al.*, 1982; Burk, 1991). Dette er en viktig vei for å skaffe selénid for innbygging i selénoprotein (Figur 2.1). Selénometionin kan derimot innbygges uspesifikt i proteiner gjennom metabolismeveien til metionin (Ochoa-Solano & Gitler, 1968), ettersom det ikke skilles mellom metionin og selénometionin i proteinsyntesen. Dersom det er tilstrekkelig mengder metionin tilgjengelig kan også selénometionin metaboliseres til selénid via selénocystein (Esaki *et al.*, 1981)(Figur 2.1).



**Figur 2.1** Innbygging av selén i proteiner

### 2.3.5 UTSKILLELSE

Selén kan bli utskilt gjennom urin, feces og utåndingsluft.

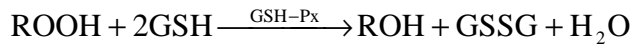
Når seléninntaket gjennom kosten øker fra et lavt til et tilstrekkelig nivå, begynner utskillelsen av selén i urinen å øke. Ved veldig høye inntak, blir flyktige former av selén utskilt, hovedsakelig i form av dimetylselénid gjennom utåndingsluft. Utåndingsluften har en karakteristisk ”hvitløkslukst”. Det finnes ingen bevis for at selén skilles aktivt ut i feces (Levander & Burk, 1994). Selénmengden i feces er hovedsakelig uabsorbert selén, men endogent tap av selén fra galle, bukspytt og tarmsekret kan forekomme (Sharma & Singh, 1983).

40 – 70% av alt utskilt selén finnes i urinen, men den eksakte prosentvise andelen avhenger av det daglige inntaket, kjemisk form og muligens også andre faktorer (Stewart *et al.*, 1978; Levander *et al.*, 1983). Det ser ut til at utskillelsen er mindre når kroppen har vært eksponert for selénometionin enn når den har vært eksponert for uorganiske former av selén (Thomson *et al.*, 1982).

Andre måter selén kan bli utskilt på som f.eks. tap av hud, svette og menstruasjon er ubetydelig (Combs & Combs, 1986).

## 2.4 BIOKJEMISK FUNKSJON TIL SELÉN

I metabolismen kan oksygen produsere toksiske metabolitter som hydrogenperoksid ( $H_2O_2$ ), superoksid anion ( $O_2^-$ ), hydroksylradikal ( $HO^\bullet$ ) og enkle oksygenradikal ( $O^\bullet$ ). Disse forbindelsene kan initiere reaksjoner som kan resultere i skade på lipider, nukleinsyrer og proteiner, og derved gi vevskade eller sykdom i organismen. For å hindre dette er det en del enzymer som kan ødelegge disse metabolittene. Et av enzymene er glutatjon peroksidase (GSH-Px) som finnes i cytosol og mitokondrier. I dette enzymet inngår selén som selénocystein. GSH-Px er en del av antioksidantforsvaret som verner levende celler mot skader forårsaket av reaktivt oksygen. GSH-Px kan omsette både hydrogenperoksid og organiske peroksider ved samtidig å oksidere to molekyler GSH til glutatjon-disulfid (GSSG) (Figur 2.2).



**Figur 2.2** Reaksjon som er katalysert av GSH-Px

ROOH er enten et organisk hydroperoksid eller hydrogenperoksid (R=H).

ROH er den korresponderende alkohol.

GSH er redusert glutation og GSSG er oksydert glutation.

GSH-Px fremmer reduksjonen av hydrogenperoksid ved å bruke redusert glutation (GSH) som hydrogen donor.

Burk og Hill (1993) spekulerte i at så mange som 100 selénavhengige proteiner kanskje eksisterer i dyr. Så langt er det identifisert åtte selénproteiner hos pattedyr: fire ulike glutation peroksidase, type I 5' iodotyronine deiodinase (5' - DJ), selénoprotein P (SeP) og selénprotein W, et selénprotein i mitokondrie. Deiodinase type I er et selénoensym som katalyserer omdanningen av tyroxin (T<sub>4</sub>) til trijodthyronin (T<sub>3</sub>) som er det mest aktive tyroidhormonet. SeP er et glykoprotein med en antioksidierende rolle, men har ingen GSH-Px aktivitet. Funksjonen til SeP er ikke sikker, men det har blitt foreslått at det spiller en rolle i transport av selén da 1/3 av plasmaselén foreligger som selénoprotein (Burk, 1991). Funksjonen til andre seléno-proteiner er lite kjent.

## 2.5 SELÉN I HUMAN ERNÆRING

De geografiske variasjonene i konsentrasjonen til selén i jordsmonnet reflekteres bare i liten grad i selénstatus til menneskene som lever i de bestemte områdene. Bortsett fra i små isolerte samfunn er det betydelig utveksling av matvarer fra ulike deler av verden (Diplock, 1993). Beregninger viser at det daglige seléninntaket hos voksne personer varierer betydelig verden over. De mest ekstreme verdiene er funnet i områder hvor det er rapportert selénmangel og selénforgiftning hos mennesker; fra 3 µg Se/dag i landsbyer i Keshan distriktet i Kina og 25 µg Se/dag i New Zealand (Robinson *et al.*, 1978) til 750 µg Se/dag uten selénforgiftning eller 6990 µg Se/dag med selénforgiftning i Kina (Yang *et al.*, 1983).



### 2.5.1 SELÉNSTATUS I DE NORDISKE LANDENE

De nordiske landene tilhører alle et område med lave selénkonsentrasjoner i fjell, jord og planter. Mange dyresykdommer på 1960-tallet ble koblet opp mot lavt seléninntak, noe som resulterte i selénitt-tilsetning av dyrefôr i Finland (1969), Danmark (1975), Norge (1979) og Sverige (1980). I Norge har dette økt seléninnholdet i kjøtt, egg og melk med 20 – 100 % (Frøslie *et al.*, 1985). Inntak av selén hos mennesker i de nordiske landene har variert med graden av selvforsyning og behovet for importert korn. Norge har tradisjonelt sett hatt en veldig høy andel av importert korn, og siden en stor andel av dette kommer i fra selénrike områder i Canada og USA har vi i Norge hatt det høyeste inntaket av selén i Skandinavia. Sammenlignet med de forskjellige delstatene i USA har Norge ligget på et nivå tilsvarende de mest selénfattige i tiden omkring 1960. I Finland, som har hatt høy grad av selvforsyning av korn, har de tilsatt selénat i kunstgjødselen siden 1984. Dette har resultert i en 2- til 30-dobling av seléninnhold i finske landbruksprodukter (Varo *et al.*, 1994). Som følge av sterkt redusert import av selénrikt nordamerikansk korn de siste årene, er tilsvarende tilsetning i kunstgjødselen blitt diskutert i Norge.

Inntaket av selén (per 10 MJ) i de nordiske landene er ca. 40 µg i Sverige, 42 µg i Danmark, 75 µg i Island og 80-90 µg i Norge og Finland (Varo *et al.*, 1994).

### 2.5.2 SELÉNSTATUS OG SYKDOMMER

Selénmangel har blitt koblet til flere sykdommer, bl.a. hjertesykdom i selénfattige områder av Kina. Hjerte- og karsykdommer, kreft, muskelsykdom og malaria har også blitt nevnt, men holdepunkter for sammenheng mellom selénmangel og sykdom er ofte svært dårlige.

En mangelsykdom i forbindelse med lav selénstatus er Keshan disease (KD), en hjertesykdom som særlig rammer barn eller kvinner i fertil alder (formodentlig i forbindelse med svangerskap og amming) (Ge & Yang, 1993). Det er foretatt kliniske forsøk som viser at sykdommen kan forebygges 100% ved å gi et relativt beskjedent seléntilskudd. Blant annet har en kinesisk studie vist at hos mennesker med et basalinntak av selén på  $10 \pm 0,9$  µg, steg GSH-Px aktiviteten maksimalt ved et tilskudd på 30 µg selén per dag (Yang *et al.*, 1987). Det er også blitt foreslått at jodmangel virker inn på utviklingen av Keshan disease (Wu *et al.*, 1997).

Kashin-Beck (KBD) er en annen sykdom som er funnet i områder med lite selén, som i østre Sibir, nordre Korea, samt deler av Kina. Klinisk sett starter sykdommen med slapphet etterfulgt av stivhet og smerte i leddene. Flere undersøkelser tyder på at forekomsten av KBD sank ved tilskudd av selén til kosten (He *et al.*, 1988; Liang, 1984). Forekomsten av KD og KBD eksisterer kun i bestemte geografiske områder, dette kan indikere at andre faktorer enn selénmangel er inne i bildet (Ge & Yang, 1993).

Selén er viktig i metabolismen av tyroid-hormonene, og i de senere år har det vist seg at selénmangel kan være en medvirkende årsak når det gjelder utvikling av sykdommer som har med tyroid-hormonene å gjøre (Roti *et al.*, 1993).

I epidemiologiske studier har det blitt funnet en sammenheng mellom lav selénstatus og hjerte- karsykdommer (Salonen *et al.*, 1982). To finske studier fra 1970-tallet viste at en serumselén-konsentrasjon under 45 µg/L kan øke risikoen for hjerte- og karsykdommer og en dansk undersøkelse rapporterte økt risiko for hjerteinfarkt hos menn med serum selénkonsentrasjon < 80 µg/L (Aro, 1993).

Ett stort antall undersøkelser har vist at selén har en merkbar innvirkning på utviklingen av induisert kreft hos flere ulike arter forsøksdyr (Combs & Combs, 1986). I mange av undersøkelsene har det blitt forsøkt å fastslå sammenhengen mellom selénstatus og kreft hos mennesker, men resultatene har vært motstridende (Willett & Stampfer, 1988; Clark 1996) og baserer seg på små forskjeller i selénnivå i plasma mellom individer som ikke utviklet og de som utviklet kreft (Levander, 1987). Seléntilskudd for å beskytte mot kreft, hjertesykdommer, nerve- og muskelsykdommer, leddgikt og enkelte symptomer på senilitet (aldersbetinget psykisk reduksjon) er omstridt. Imidlertid har det ved enkelte nerve- og muskelsykdommer vært foreslått en tendens for at seléntilskudd virker positivt (Aaseth & Vaaler, 1987).

### **2.5.3 FORGIFTNING**

Selénforgiftning er sjelden hos mennesker men velkjent hos dyr. Kronisk selénforgiftning hos dyr er observert ved et inntak på 2 µg/ml i drikkevann og 3 µg/g i kosten (Combs & Combs, 1986). Hos mennesker er 300 µg/dag vurdert som en rimelig øvre grense for å unngå toksiske

effekter (Statens ernæringsråd, 1997). Symptomer på selénforgiftning er bl.a. hvitløkslignende ånde, negl- og hårforandring og i verste fall leverskader.

Selénforgiftning ble oppdaget i Enshi County i Hubei provinsen i folkerepublikken Kina, den nådde sin topp i årene 1961-64. Innenfor et geografisk begrenset område med fem landsbyer med til sammen 248 innbyggere, ble i gjennomsnitt 49% rammet av sykdommen. I den hardest belastede landsbyen ble hele 83% av innbyggerne rammet. Det mest vanlige sykdomstegnet var at de mistet hår og negler. I hardt rammede områder kan også skader på hud, nervesystem og muligens også tenner ha forekommet (Yang, 1966). Etter at toppen av forekomsten var passert, ble det daglige inntaket av selén gjennom kosten estimert til et gjennomsnitt på 4,99 (fra 3,20 til 6,69) mg pr. person. Opp til 1000 ganger forskjell i kosten ble funnet når seléninnholdet fra selénrike områder ble sammenlignet med områder med Keshan disease. Den naturlige hovedkilden for selén var en type steinkull med meget høyt seléninnhold (gjennomsnitt mer enn 300 µg/g, en prøve oversteg 80 000 µg/g). Selén ble løst ut av kullet og overført til jorden på grunn av at det var vanlig å bruke sitron som gjødsel i området. Sitron øker selénopptaket i planter og derfor ble opptaket av selén i avlingene muliggjort. Videre skyldes dette tilfelle av selénforgiftning hos menneskene en tørke som forårsaket svikt i risavlingene, noe som førte til at innbyggerne måtte spise mer grønnsaker og mais med høyere seléninnhold (Yang *et al.*, 1983).

Det er også rapportert om tilfeller av selénforgiftning ved bruk av seléntilskudd. I et tilfelle ble det spist 900 µg selén pr. dag i to år. Dette resulterte i hvitløksånde og forandringer i negler. Etter at seléntilskuddet opphørte, forsvant symptomene (Yang *et al.*, 1983).

#### **2.5.4 BEHOV**

Næringsstoffanbefalinger sikter mot å gi ernæringsmessige retningslinjer for et kosthold som skal danne grunnlaget for en generelt god helse. Det daglige behovet for selén hos mennesker avhenger til en viss grad av tidligere inntak. Personer som er vant til lavt inntak trenger mindre selén enn de som er vant til høyt inntak (Levander *et al.*, 1981). I et balanseforøk på New Zealand var friske kvinner i balanse på en diett som bare ga 24 µg selén/dag (Stewart *et al.*, 1978), mens unge amerikanske menn i et lignende forsøk trengte 54 µg/dag for å dekke tap (Levander *et al.*, 1981). For å oppnå maksimal aktivitet av GSH-Px i plasma kreves et inntak på minst 30 - 40 µg/dag. Maksimal aktivitet av GSH-Px i røde blodlegemer og

trombocytter oppnås med et inntak på henholdsvis 80 µg/dag og 120 µg/dag (Alfthan *et al.*, 1991). Men det er lite trolig at maksimal enzymaktivitet i alle vev er nødvendig for optimal helse.

Anbefalt daglig inntak av selén i USA baserer seg på maksimal GSH-Px-aktivitet i serum, justert for kroppsstørrelse. I USA har man satt RDA (recommended dietary allowances) for selén til 70 µg/dag for menn og 55 µg/dag for kvinner, men dette inneholder en dobbelt sikkerhetsmargin. “Nordiska Näringsrekommendationer 1996” (NNR) er utarbeidet av en arbeidsgruppe nedsatt av Nordisk arbeidsgruppe for kost og ernæring under Embetsmannskomiteén for næringsmiddelspørsmål (Äk-livs), Nordisk Ministerråd i 1996, og gjelder for Sverige, Danmark, Finland og Norge. De nordiske næringsstoffanbefalingene er 50 µg selén per dag for menn og 40 µg per dag for kvinner, mens for gravide og ammende kvinner bør seléninntaket være 55 µg per dag. Den nedre grense for inntaket av selén er 20 µg/dag for voksne, 10 µg/dag for barn over 1 år og 5 µg/dag for spebarn (Nordiska Näringsrekommendationer 1996).

De nye norske næringsstoffanbefalingene (Norske næringsstoffanbefalinger 1997) utgitt av Statens ernæringsråd, er laget på grunnlag av “Nordiske Näringsrekommendationer 1996”. Anbefalingene gjelder primært for grupper av friske mennesker med lav til moderat fysisk aktivitet. Verdiene i anbefalingene refererer til de mengder som skal spises. Koking eller steking av matvarer fører til tap av selén (Eskeland, 1988). Derfor skal det tas hensyn til tap av næringsstoff ved lagring, tilberedning og varmeholdning. Tabell 2.1 viser Statens ernæringsråd sine anbefalte seléninntak (µg) per dag (Statens ernæringsråd, 1997). Anbefalingene inkluderer en sikkerhetsmargin som sannsynliggjør at behovet dekker så godt som hele befolkningen.

**Tabell 2.1** Statens ernæringsråd sine anbefalte selén inntak ( $\mu\text{g}$ ), angitt per person og dag.

Person-gruppe	Alder	Selén ( $\mu\text{g}$ )
Menn	11 – 14	40
	15 - >75	50
Kvinner	11 - >75	40
	Gravide	55
Ammende		55

Anbefalingene er også utarbeidet for barn (Statens ernæringsråd, 1997).

På bakgrunn av risikoen for forgiftning kan høye inntak ikke anbefales og en øvre grense for inntak er nødvendig. De nordiske anbefalinger er satt til en grense på  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$  kroppsvekt for å unngå eventuelle toksiske symptom. I praksis vil inntak over  $750 \mu\text{g}$  per dag over en lengre periode føre til symptom på forgiftning (Yang *et al.*, 1989). Statens ernæringsråd har satt en øvre grense for inntak på  $300 \mu\text{g}$  selén per person og dag (Statens ernæringsråd, 1997).

## 2.6 KILDER TIL SELÉN

### Mat og vann

Mat inneholder en rekke ulike selénformer, organisk bundet er den mest vanlige. Selén kan foreligge organisk bundet i form av aminosyrer som, selénocystein, selénocystin eller selénometionin. I tillegg fins uorganiske former som f.eks. selénitt ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ), selénat ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) og selénid ( $\text{Se}^{2-}$ ).

Seléninnholdet i et næringsmiddel varierer mye avhengig av hvilket land det kommer fra, men generelt har frukt og grønnsaker lavt innhold av selén ( $< 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ). Noen grønnsaker, som løk, sopp og asparges kan imidlertid inneholde en større mengde selén (Higgs *et al.*, 1972). Løk og sopp inneholder henholdsvis  $250$  og  $120 \mu\text{g}$  selén/kg (Meltzer, 1995). Frukt og grønnsaker inneholder betydelig mindre selén enn kornprodukter (Morris & Levander, 1970). Kornvarer fra Nord-Amerika ble av de sist nevnte forfatterne funnet å inneholde gjennomsnittlig  $0,4 \text{ mg Se}/\text{kg}$ , mens Frøslie og medarbeiderne (1980) rapporterte at norsk korn (1975-77) inneholdt under  $0,01 \text{ mg Se}/\text{kg}$  i gjennomsnitt - noe som viser de betydelige geografiske

variasjonene som eksisterer. Den største geografiske variasjonen er rapportert i Kina, hvor selénkonsentrasjonen i korn, ris og soyabønner varierte fra 4000 til 12 000  $\mu\text{g Se/kg}$  i høy selénområder og i størrelsesorden 5 til 10  $\mu\text{g Se/kg}$  i områder med lave selénkonsentrasjoner (Yang *et al.*, 1989).

I USA får mennesker i seg selén først og fremst fra kornblandinger, brød, kjøtt og kjøttprodukter (Schubert *et al.*, 1987). Det er beregnet at kjøtt alene bidrar til omtrent 17% av det totale seléninnholdet i det amerikanske kostholdet (Holden *et al.*, 1991). Selén i kjøttprodukter varierer sterkt i fra  $< 10 \mu\text{g/kg}$  til  $670 \mu\text{g/kg}$ , med en gjennomsnittsverdi på  $30 \mu\text{g/kg}$ , avhengig av produkttype og hvor dyret har levd. Sjømat, både fisk og skalldyr har høyere seléninnhold enn kjøtt (Meltzer, 1995).

### **Helsekostpreparat**

Begrepet "helsekost" er ikke definert i noe regelverk. Med betegnelsen "helsekost" tenker en ofte på de typer varer som finnes i helsekostforretninger og i egne helsekostavdelinger i dagligvareforretninger og helsestudio. Helsekostprodukter omfatter alt fra økologisk dyrkede matvarer til urteekstrakter og vitamin- og mineralpreparater. Mineralpreparater er ofte i dosert form som tabletter, piller, kapsler og pulver eller flytende preparater med måleanvisning.

Forskrift for produksjon og frambud m.v. av vitamin og mineraltilskudd (1986) har satt som krav at innholdet pr. døgndose av de ulike tilskuddene skal ligge mellom de gitte minimums- og maksimumsverdier (Statens næringsmiddeltilsyn, 1986). For selén er minimums- og maksimumsmengden per døgndose henholdsvis 10 og 100 mg selén. Rapport fra prosjektet "helsekost", som er en gjennomgang av helsekostpreparater i helsekostforretninger og to helsestudioer i Indre Østfold, viser at det selges en del preparater som burde vært klassifisert som legemidler fordi de har for høye doser av enten vitaminer eller mineraler (Næringsmiddeltilsynet i Indre Østfold, 1994). Helsekostpreparatene representerer en gråsoner mellom næringsmidler og legemidler (Statens næringsmiddeltilsyn/ Helsedirektoratet, 1992).

Den nåværende kvalitetskontrollen av helsekostpreparater er i stor grad ivaretatt av bransjen selv. Statens næringsmiddeltilsyn kan fastsette bestemte krav til kontrollens utførelse, og bestemme at kontroll bare kan utføres ved laboratorier som Helsedirektoratet kan godkjenne (Statens næringsmiddeltilsyn, 1986). Arbeidet med forvaltning og kontroll er ressurskrevende

fordi det dreier seg om så mange forskjellige produkter, selv om det enkelte produkt ofte ikke selges i så store mengder (Nord, 1991). Rapporter fra lokale tilsyn tyder på at det er et betydelig antall produkter i omsetning. Av 545 undersøkte produkter i Bergen var det bare 102 hvor det ikke ble påvist ulovlige forhold (Torgeir Flatabø, personlig kommentar). De færreste helsekostbutikkene har relevant kunnskap om de produktene de vil importere og selge (Nord, 1991).

Myndighetene har ikke tilstrekkelig oversikt over situasjonen, verken med hensyn til hva som tilbys på markedet, hvordan og hvorfor produktene brukes, hvilke virkninger og bivirkninger de har eller kvaliteten på de omsatte produkter (Statens næringsmiddeltilsyn/Helsedirektoratet, 1992).

Fokusering på selén som beskyttende mot sykdommer har ført til en sterk økning både i antall og typer helsekostpreparater med selén, noe som har medført et uoversiktlig marked (Nord, 1991). Det finnes flere forskjellige selénpreparater i handelen, med varierende pris og innhold. Det ser ut til at selén foreligger enten uorganisk (ikke nærmere spesifisert) eller i organisk form, som selénometionin eller som seléngjær. Det er stor forskjell i pris mellom å velge ”bio-selén” framfor å bruke billige former som selénitt.

## **2.7 BIOLOGISK TILGJENGELIGHET**

Det totale innholdet av selén i en matvare eller et helsekostpreparat er viktig, men ikke nok til å vurdere hvor god kilde matvaren eller helsekostpreparatet er for selén. I denne sammenheng er det viktig å vite den biologiske tilgjengeligheten av selén. Biologisk tilgjengelighet er et uttrykk for i hvilken grad et næringsstoff i kosten, som f.eks. selén, blir fordøyd, absorbert og inngår i sine essensielle funksjoner eller lager (Fritz & Pla, 1972; Fairweather-Tait, 1992). Biologisk tilgjengelighet er altså et kvantitativt mål som beskriver en bit av ernæringskvaliteten.

### 2.7.1 ULIKE MÅL FOR BIOLOGISK TILGJENGELIGHET AV SELÉN

Biotilgjengelighet kan måles ved å bruke dyr som modell. Fox *et al.* (1981) foreslo å bruke dose-respons studier, hvor primære parametre (vekst og helse) eller sekundære parametre (total retensjon, organ konsentrasjon eller enzymaktivitet) blir målt. En lineær dose-respons sammenheng forventes dersom fôret inneholder graderte nivå av selén og mengden tilgjengelig selén er lavere enn behovet. Det kreves videre lav status ved start slik at ikke respons-parametrene er ”mettet”.

Foreløpig ser det ut til at en integrert bruk av flere status-indikatorer gir det beste estimatet for biologisk tilgjengelighet av selén. I dette forsøket ble vekst, total retensjon bestemt ved balanse studie og retensjon i utvalgte organer hos rotter benyttet som mål på biologisk tilgjengelighet av selén.

#### **Total retensjon**

Metabolsk eller kjemisk balanse av sporstoffer i en organisme kan måles ved å overvåke inntak og utskillelse av sporstoffet over en bestemt periode (Fairweather-Tait, 1992). Denne metoden gir informasjon om absorpsjon og den totale retensjonen av selén i kroppen. Dersom den homeostatiske kontrollen hos individet er god, vil retinert selén være i samsvar med mengden selén som anvendes i fysiologiske funksjoner i kroppen.

#### **Organretensjon**

Denne metoden består i å evaluere den relative effektiviteten som de kjente mengdene selén har til å øke selénkonsentrasjonen i de ulike vevene. Ulempen med denne metoden er at den måler den totale mengden selén i de bestemte vev, og dermed blir både de biologiske aktive og de passive formene av selén tatt med. Dette fordi det ikke eksisterer noen gode analysemetoder for kjemisk form. Organretensjon som mål på biologisk tilgjengelighet forutsetter at det er sammenheng mellom det som retineres og det som brukes.

#### **Selén i funksjon**

Biologisk tilgjengelighet av selén kan også bestemmes ved å vurdere den relative effekten den kjente mengden selén har til å gjenopprette GSH-Px aktiviteten. Siden GSH-Px blir sett på som den biologisk aktive funksjonen av selén i kroppen, har aktiviteten til dette enzymet ofte vært brukt som mål på biologisk tilgjengelighet av selén.



## **2.7.2 FAKTORER SOM PÅVIRKER RESULTATENE FOR BIOTILGJENGELIGHETEN AV SELÉN**

Det er mange faktorer som influerer på utnyttelsen av elementet selén, som f.eks. fordøyeligheten av næringsmiddelet, sammensetning av dietten, elementets kjemiske form, organismens behov, art, kjønn og alder (Forbes & Erdman, 1983).

### **Faktorer i fôret**

Det kan være faktorer tilstede i det eksperimentelle fôret som direkte påvirker opptaket og dermed også utnyttelsen av elementet, noe som igjen influerer på resultatene for biologisk tilgjengelighet av selén. Kostfaktorer er trolig den viktigste gruppen faktorer som påvirker den biologiske tilgjengeligheten av selén (Mutanen, 1986). Det er derfor viktig å ha god kontroll over fôrsammensetningen som blir brukt i studier av biologisk tilgjengelighet (Combs & Combs, 1986). Absorpsjonen av selén er høyere i høy-protein fôr enn lav-protein fôr (Greger & Marcus, 1981), mens sink har en antagonistisk effekt på absorpsjonen av selén. I tillegg til disse, har det vist seg at flere andre næringsstoff, som for eksempel vitamin A, C, B<sub>2</sub> og B<sub>6</sub>, påvirker den biologiske tilgjengeligheten av selén.

## **2.7.3 BIOTILGJENGELIGHETEN AV SELÉN I ULIKE KILDER**

Hvilken metode som anvendes påvirker resultatene for biotilgjengeligheten av selén. Selénitt har tradisjonelt vært brukt som en referanse i studier av biotilgjengelighet. Biologisk tilgjengeligheten av selén i fra forskjellige kilder blir således gitt relativt til tilgjengeligheten til selénitt. Resultatene blir vanligvis presentert i prosent, der biologisk tilgjengelighet til selénitt er satt til 100% (Mutanen, 1986).

På tross av variasjoner i metoder og bruk av forsøksdyr, har studier av biotilgjengelighet av selén fra matvarer vist at noen selénkilder har høy biotilgjengelighet (f.eks. gjær Se, hvete, alfalfa), mens selén fra andre matvarer generelt har moderat biotilgjengelighet, og at selén i kjøttvarer har lavere tilgjengelighet (Combs & Combs, 1986). Generelt sett kan det sies at biologisk tilgjengelighet av selén fra matvarer av planter er mer tilgjengelig enn selén i fra matvarer som kommer fra dyr. Nyere publikasjoner har vist at selén fra dyr kan ha høyere biologisk tilgjengelighet enn tidligere antatt. Shi & Spallholz (1994a) viste at selén fra både

kokt og rått storfekjøtt har høy biotilgjengelighet sammenlignet med selénitt og selénat. De viste også at biotilgjengeligheten av selén fra ulike stykkingsdeler kokt storfekjøtt (lever, kam, rundstek, skulder og bryst), var god sammenlignet med selénitt og selénometionin (Shi & Spallholz, 1994b).

Biotilgjengeligheten av selén fra ulike matvarer gitt til kylling, har blitt funnet å variere ifra 9% (tørket fisk) og helt opp til 210% (dehydrert alfalfa), sammenlignet med selénitt (Cantor *et al.*, 1981). Fisk er kjent som en rik selénkilde, med konsentrasjoner mellom 200 og 600 µg/kg våt vekt (Knudsen *et al.*, 1992; Lie *et al.*, 1994). Tidligere studier der tunfisk ble gitt til rotter, viste at biologisk tilgjengelighet av selén fra fiskeprodukter var lav (Douglass *et al.*, 1981; Alexander *et al.*, 1983). Det er antydnet at den høye konsentrasjonen av kvikksølv i tunfisk binder selén i en utilgjengelig form (Ganther *et al.*, 1972). Andre og nyere forskning har vist at selén fra tunfisk har dårlig biologisk tilgjengelighet, mens selén fra torsk har god biologisk tilgjengelighet (Lorentzen, 1990; Knudsen *et al.*, 1992; Wen *et al.*, 1997) også når kvikksølvinnholdet var likt (Lorentzen *et al.*, upubliserte data).



## 3 MATERIALE OG METODER

### 3.1 ROTTEFORSØK

Det ble gjennomført et 28 dagers langt rotteforsøk for å sammenligne biologisk tilgjengelighet av selén fra filet av ulike fiskeslag, helsekostpreparater og rene kjemiske forbindelser. Rottene ble plassert i bur enkeltvis og fem rotter utgjorde en gruppe som ble fôret med ett av tjuefire fôr. Fôrene hadde varierende selénkilder og selénkonsentrasjoner. Fem av fôrgruppene (25 dyr) ble plassert i metabolismebur der seléninntaket og utskillelsen av selén i urin og feces ble kontrollert.

#### 3.1.1 TILLAGING AV FÔR

De eksperimentelle fôrene til denne hovedfagsoppgaven ble laget ved Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt.

##### **Basalfôr**

Det ble brukt et basalfôr (Low Selenium Diet, Rat, Modified, Ing. F. Heidenreich AS, Torshov, Oslo) som var et torulafôr, basert på torulagjær som har lavt innhold av selén. Basalfôret ble tilsatt 0.05, 0.10, 0.15, 0.20  $\mu\text{g Se/g}$  i form av rødspette, torsk, tunfisk, helsekostpreparater, selenitt eller selenometionin. Fôrene ble forsøkt laget så like som mulig, der kun selénkilde og selénkonsentrasjon skulle variere. Variasjoner i fettinnholdet ble jevnet ut ved å tilsette fiskefett og smult. Basalfôret inneholdt 30% torulagjær, 59% sukrose, 5% mineraler og 5% svinefett. Innholdet av metionin og vitamin-E var lavt i basalfôret og ble derfor tilsatt ekstra, henholdsvis 0.04% og 0.01% av basalfôret, i alle fôrene for å sikre forsøksdyrenes ernæringsmessige behov.

##### **Fôr med fisk som selénkilde**

Rødspette, torsk og tunfisk ble kjøpt fra Fiskeforhandler i Bergen. Fisken ble filetert, oppmalt til farse ved hjelp av matmølle (Philips Storemaster HR 2880) og tilsatt 200 mg antioksidant (etoxiquin) per kg våtvekt. Farsen ble fordelt på merkede plastbrett (210 x 140 x 15 mm), frosset og deretter frysetørket (VirTis Genesis 25SE, NY, USA). Ved frysetørking utnyttets vannets egenskap til å sublimere. At vann sublimerer vil si at molekylene går direkte fra fast

fase til gassform. Prøvene ble veid før og etter frysetørking. Tørrstoffinnholdet ble beregnet ved vektdifferansen på prøvematerialet før og etter frysetørking. Etter frysetørking i to døgn ble fisken homogenisert ved hjelp av en ultrasentrifugalkvern (Retch ZM 100, F. Kurt Retsch GmbH & Co, Tyskland). Fiskemuskelmelene ble analysert med hensyn på tørrstoffinnhold, fett, protein og selén, se Tabell 3.1.

Til beregning av fett- og proteininnhold i fiskemuskelmelene, ble det brukt akkrediterte metoder fra Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt. Fett ble ekstrahert med etylacetat. 5 g frysetørket prøve ble veid inn i 50 ml flasker med kork. Flaskene ble tilsatt 30 ml etylacetat, og ristet godt. Prøvene sto så til neste dag og tørrstoffet ble filtrert fra. En viss mengde av den løste prøven ble satt i avtrekk for å avdampe etylacetat. Prøvene ble til slutt satt i tørkeskap ved 50 °C i 2 timer, avkjølt og deretter veid. Andelen fett i tørrstoffet ble beregnet (Kvalitetshåndbok for Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt, 1998).

Mikro-Kjeldahlmetoden ble brukt for å bestemme proteininnholdet i fiskemuskelmelene (Crooke & Simpson, 1971). 0,2 g tørket homogenisert prøve ble veid inn i oppslutningsrør og tilsatt 3 ml konsentrert svovelsyre. Det ble tilsatt en Kjel Tab (Thompson & Cupper LTD., England) til hvert rør som ble kokt ved  $380 \pm 5$  °C i 2 timer. Etter avkjøling, ble prøvene fortynnet. Nitrogenet fra protein foreligger da som  $\text{NH}_4^+$  og ble bestemt kolorimetrisk. Siden de fleste proteiner inneholder omtrent samme mengde nitrogen (16%), multipliseres nitrogeninnholdet med faktoren 6.25 for å få innholdet av protein (Kvalitetshåndbok for Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt, 1998).

Selénkonsentrasjonen i fiskemuskelmelene og helsekostpreparatene ble analysert av ansatte ved mineral- og sporstoffavdelingen ved Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt ved hjelp av elektrotermisk atomiseringsteknikk (ETAAS) (kap 3.2.2).

**Tabell 3.1** Analyser av fiskemuskelmel og helsekostpreparat som ble brukt til fôr i forsøket, N = 2.

Sé kilde	Tørrstoff %	Fett %	Protein %	Selén µg/g*
Rødspettemuskelmel	19,04	7,71 ± 0,02	85,0 ± 0,8	2,64 ± 0,27
Torskemuskelmel	17,35	0,46 ± 0,01	92,6 ± 0,6	1,35 ± 0,03
Tunfiskmuskelmel	27,93	6,94 ± 0,06	86,2 ± 0,3	3,82 ± 0,17
Helsekost A	-	-	-	132,1 ± 8,1
Helsekost B	-	-	-	585,7 ± 7,7

\*Målt med ETAAS

Proteininnholdet i fiskemuskelmelene varierte fra 85,0 - 92,6%, fettinnholdet varierte fra 0,46 - 7,71% og selénkonsentrasjonen variert fra 1,35 - 2,64 mg/kg i fiskemuskelmel, mens helsekostpreparatene varierte fra 132 - 586 mg/kg. Disse data ble brukt ved beregning av fôrsammensetning.

For å kunne sammenligne biologisk tilgjengelighet av selén fra ulike typer fôr, bør fôrene være så like som mulig. Tabell 3.1 viser at rødspette og tunfisk hadde høyere fettinnhold enn torsk. Forskjellene i fettinnhold ble jevnet ut ved tilsetting av fiskeolje. Bidraget av svinefett fra basalfôret ble jevnet ut ved tilsetting av svinefett (*Adeps suillus*) som ble tilsatt fôrene med fiskemuskelmel. Dette ble smeltet, veid med 1 desimals nøyaktighet og tilsatt sammen med de andre fôringrediensene. Den forholdsvis store mengden fiskemuskelmel fortynnet basalfôret og ekstra vitamin- og mineralblanding ble derfor tilsatt. Fullstendig fôrseddel er gitt i Tabell 3.2.

Ved hjelp av en eltemaskin (Varimixer Bjørn 93/AR60, Brøndby, Danmark) ble alle tørre ingredienser (basalfôret, vitamin- og mineralblanding, metionin, vitamin-E, fiskemuskelmel og sukker) blandet godt, og deretter ble smeltet fett tilsatt og blandet til en homogen masse.

### Fôr med helsekostpreparater som selenkilde

Helsekostpreparat "Berthelsens selén complex" (Scanalka a/s, 2743 Harestua), heretter kalt A, og "Selén" (Food State AS, Volvat Terrasse 14, N-0369 Oslo), heretter kalt B, ble kjøpt fra en tilfeldig helsekostbutikk i Bergen. Preparatene, som forelå i form av tabletter, ble malt i en ultrasentrifugalkvern (Retch ZM 100, F. Kurt Retsch GmbH & Co, Tyskland), og deretter analysert for selén ved hjelp av ETAAS. Resultatene er vist i Tabell 3.1.

Graderte mengder (0,05 - 0,10 - 0,15 mg selén pr kg) helsekostpreparat A og B ble sammen med metionin, vitamin-E og fiskefett tilsatt basalfôret og blandet til en homogen masse. Sammensetning av fôrene er gitt i Tabell 3.2.

### **Fôr med selenitt og selenometionin som selénkilde**

Selenitt og selenometionin ble kjøpt fra Sigma-Aldrich, Oslo. Meget små mengder skulle tilsettes fôret. For å få dette homogent innblandet, ble det laget standardløsninger av selenitt og selenometionin i deionisert og filtrert vann (nano-vann). De tørre ingrediensene (metionin og vitamin-E) ble blandet sammen, og deretter ble fiskefett og økende mengder standardløsning blandet i basalfôret for å få nivå 0,05 - 0,10 - 0,15 og 0,20 mg selén/kg fôr. 2,1 kg fôr ble tilsatt 50 ml nano-filtrert vann med selénstandard. Alle ingrediensene ble blandet i en eltemaskin (Varimixer Bjørn 93/AR60, Brøndby, Danmark) og fordelt på merkede plastbrett med 250 g på hvert brett. Deretter ble de frosset ned ved -20 °C og tilslutt frysetørket i 2 dager. Etter frysetørking ble fôrene homogenisert (Retch ZM 100, F. Kurt Retsch GmbH & Co, Tyskland).

Tørrstoffinnholdet ble bestemt i alle 24 fôr ved å sette prøver av fôrene i varmeskap (Termaks, type TS 4115) i ett døgn ved 104 °C. Fôrene ble oppbevart kjølig og mørkt i luft-tette poser fylt med CO<sub>2</sub> for å hindre harskning.

Seléninnholdet i de ferdige fôrblandingene ble analysert som beskrevet i avsnitt 3.2.3.

**Tabell 3.2** Sammensetning av de eksperimentelle fôr.

Selenkilde og nivå	Antall gram (g) fôringredienser til 2100 g fôr								
	Fiske- muskemel	Basal- fôr	Svine- fett	Fiske- fett	Vit. E	Vita- miner	Mine- raler	Met- ionin	Suk- rose
Nullfôr	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
Rødspette									
0,05	39,77	1854	13,00	6,1	0,13	2,46	12,30	0,74	171,6
0,10	79,55	1606	26,00	3,1	0,13	4,90	24,70	0,64	355,0
0,15	119,32	1360	39,00	0	0,13	7,40	37,00	0,54	536,6
Torsk									
0,05	77,77	1574,3	27,60	8,8	0,13	5,26	26,29	0,63	379,20
0,10	155,55	1048,6	55,20	8,5	0,13	10,51	52,57	0,42	768,52
0,15	233,33	522,9	82,80	8,2	0,13	15,77	78,80	0,21	1157,90
Tunfisk									
0,05	27,49	1927	9,08	7,3	0,13	1,73	8,65	0,77	117,85
0,10	54,97	1754	18,16	5,4	0,13	3,46	17,29	0,70	245,89
0,15	82,46	1581	27,25	3,5	0,13	5,19	25,94	0,63	373,90
Hk A <sup>2</sup>									
0,05	0,795	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,10	1,589	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,15	2,384	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
Hk B <sup>2</sup>									
0,05	0,179	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,10	0,359	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,15	0,538	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
Selenitt									
0,05	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,10	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,15	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,20	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
Se-met <sup>1</sup>									
0,05	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,10	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,15	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-
0,20	-	2090	-	9,2	0,13	-	-	0,84	-

<sup>1</sup> Se-met = Selenometionin<sup>2</sup> Hk = Helsekostpreparat



### 3.1.2 OPPSETT OG PRAKTISK GJENNOMFØRING

125 albino hann-rotter, av typen Møll-Wistar, ble kjøpt fra Møllegaards Avls-laboratorium, Køge, Danmark. De var født av selénfattige mødre og hadde ikke fått selén i føret. Ved ankomst var dyrene ca. 3 uker gamle og veide 40 - 50 g. Dyrene ble satt i fellesbur for akklimatisering i fire døgn før forsøksoppsett. I denne perioden ble dyrene gitt basalfôr uten seléntilsetning.

Etter fire døgn tilvenning, ble 30 rotter tilfeldig plukket ut, satt i separate bur og gitt eksperimentelt fôr. Hver av de neste tre dagene ble ytterligere 30 nye rotter tilfeldig plukket ut og gitt forsøksfôret. Dette ble gjort for å unngå at alle måtte slaktes på en og samme dag, og for at alle rottene skulle gå like mange dager i forsøk. De 5 rottene i de ulike gruppene ble vilkårlig fordelt i rotteburene. De fem resterende dyrene utgjorde en referansegruppe, som ble avlivet ved forsøksstart.

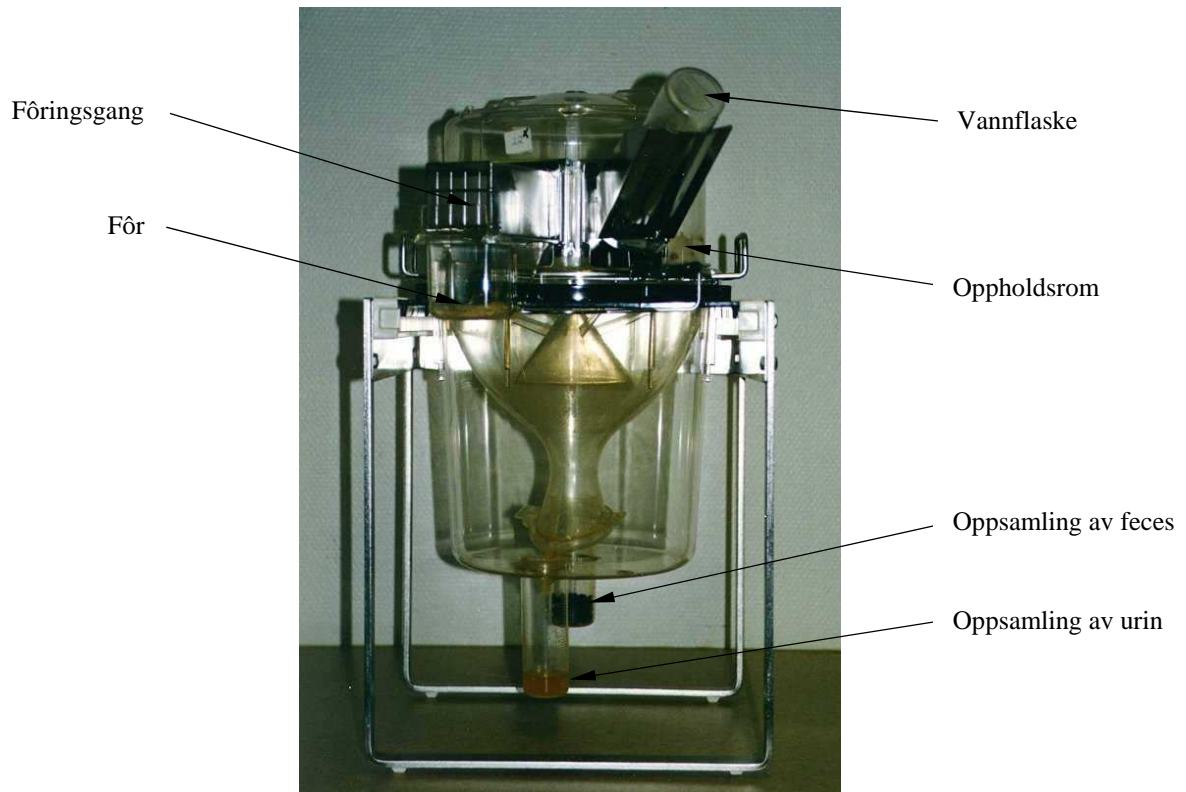
Rottene ble plassert i et rom som hadde 12 timers natt - dag syklus og med en temperatur på  $20 \pm 2$  °C. Dyrene ble veid ved forsøksstart, og deretter hver syvende dag gjennom hele forsøksperioden.

#### **Bur**

Burene var nummerert og rottene fikk nummer etter burene de ble plassert i. Dette nummeret fulgte rottene gjennom hele forsøket. Det ble brukt to ulike bur, vekstbur og metabolismebur.

Det var 25 metabolismebur tilgjengelig. De rottegruppene som fikk 0.10 µg Se/g som henholdsvis selenitt, selenometionin, helsekost A, rødspette og tunfisk ble plassert i metabolismebur (Tecniplast Gazzada, Buguggiate, VA, Italia). Metabolismeburene var laget av pleksiglass med en fôrgang i rustfritt stål. I bunn av buret var det et traktsystem som skilte urin og feces til to separate oppsamlingsbeholdere slik at mengden av disse kunne kontrolleres. Figur 3.1 viser bur i bruk.

Metabolismebur ble benyttet for å kunne holde nøyaktig regnskap over inntatt mengde selén og mengde selén i feces og urin.



**Figur 3.1** Metabolismebur med system for å skille feces og urin

De resterende rottene gikk i vekstbur der det kun ble holdt regnskap over fôrinntak og vekst. Vekstburene var laget som et åpent og luftig gitter av rustfritt stål, burene var plassert i et stativ med plass til 60 vekstbur i hvert stativ.

### **Fôring**

Mengden fôr som ble gitt var i starten ca. 8 g per dag. Denne mengden ble gradvis øket etter rottenes appetitt og var på slutten ca. 17 g per dag. Rottene hadde fri adgang til fôret som ble gitt tørt. For å få tak i fôret måtte de rottene som gikk i metabolismebur gå gjennom en tunnel (fôringsgang) til fôrkoppen. Rottene som gikk i vekstbur hadde fôrkopp plassert inne i buret, med en metall ring rundt som ga støtte til koppene. Dette var med på å redusere fôrsølet til et minimum.

Mengden fôr som ble gitt, samt eventuelle fôrrester ble nøyaktig veid opp hver dag og ført inn i regnskapet til den aktuelle rotten. På denne måten ble det holdt full kontroll over fôrinntaket til den enkelte rotte.

## **Vann**

Rottene hadde hele tiden fri tilgang til nano-vann. Vannflaskene var laget av gjennomskinnelig materiale, slik at innholdet kunne kontrolleres. Flaskene ble rengjort etter 14 dager og siden etter behov.

## **Oppsamling av urin og feces**

Oppsamlingskoppene til urin og feces på metabolismeburene ble gjort rene 1-2 ganger per uke i begynnelsen av forsøket, mens de mot slutten ble gjort rene 3-4 ganger per uke. Urinen ble hver dag tømt over på den enkelte rottes samleflaske som ble lagret på frys. Før analysene ble urinen tint og fortynnet med nano-vann til enten 500 eller 1000 ml. Oppsamlet urin til den enkelte rotte ble blandet sammen før den ble analysert for selén.

Feces ble lufttørket ett døgn før det ble samlet opp i merkede Nunc-beger med lokk og senere frosset og frysetørket. Etter siste oppsamling ble prøvene veid og homogenisert i en ultrasentrifugalkvern (Retch ZM 100, F. Kurt Retsch GmbH & Co, Tyskland) og siden analysert. Selénmengden i feces ble beregnet ut i fra fecesvekt multiplisert med den analyserte selénkonsentrasjonen i feces.

### **3.1.3 UTTAK**

Ved avslutning av forsøket ble dyrene bedøvet med Mebumal som ble injisert i bukhulen. Det ble brukt 0.1 mL pr 100 g kroppsvekt. Etter at dyrene var bedøvet, ble buken klippet opp og dyret avlivet ved at blodet ble tappet direkte fra hjerte vha hepariniserte (antikoagulent) sprøyter. Blodprøvene ble straks sentrifugert i kjølesentrifuge (Jouan CR 312, Saint- Herblain, Frankrike) ved 3 000 rpm i 10 minutter. Plasma ble pipettert over i eppendorfrør og frosset ved -20 °C frem til selénanalysen ble utført. Lever, femur og muskel ble dissekert ut, veid og frosset, og senere frysetørket. Muskel ble homogenisert i elektrisk kaffekvern (Braun, KSM 2, type 4041), mens lever ble homogenisert ved hjelp av morter.

Alle tørkede organprøver ble oppbevart i eksikatorskap (Kiselgel som tørkemiddel, Merck, p.a., nr. 1925) inntil analysene fant sted.

## 3.2 BESTEMMELSE AV SELÉN VED HJELP AV FI-HGAAS

For bestemmelse av selén ble atomiseringsteknikken "flow injection" hydridgenerering atomabsorpsjon (FI-HGAAS) benyttet. Til det ble en Perkin Elmer 3300 atomabsorpsjonsinstrument (AAS- 3300) brukt. "Flow injection" systemet som ble brukt var en FIAS- 200 med autosampler AS- 90 fra Perkin Elmer.

### 3.2.1 PRINSIPP

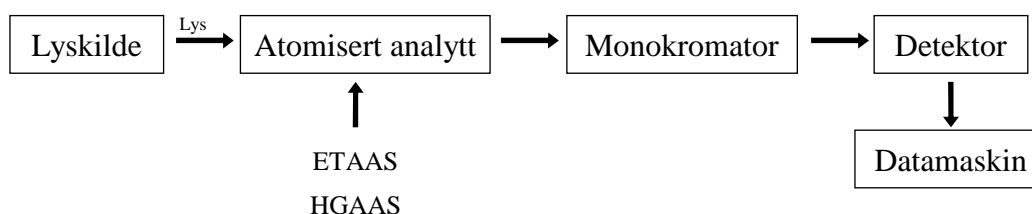
Prinsippet for atomabsorpsjon bygger på forståelsen av hvordan et atom er oppbygd og hvordan det fungerer. Et atom er bygget opp av en positivt ladd kjerne som er omgitt av negativt ladde elektroner. Elektronene beveger seg i bestemte baner, orbitaler, rundt kjernen. Hver orbital har plass til et begrenset antall elektroner. Et grunnstoff har et bestemt antall elektroner plassert i et unikt mønster rundt kjernen. De forskjellige orbitaler har ulike energinivå med økende energi desto lenger avstanden til kjernen er. Dersom alle elektronene har sin laveste mulige energi er atomet i grunntilstanden og herved også mest stabilt. Ved tilførsel av energi, kan atomene absorbere energi, og de befinner seg da i en eksitert tilstand. Atomer eksiteres ved at et elektron forflyttes til en orbital med høyere energinivå. Den eksiterte tilstanden er ustabil, og energien avgis straks igjen som varme eller lys.

Alle grunnstoffer og kjemiske forbindelser har et karakteristisk spektrum som viser de bølgelengdene der atomet absorberer stråling. Evnen et atom har til å absorbere lys ved spesielle energier, det vil si spesielle bølgelengder, danner grunnlaget for atomabsorpsjon spektrofotometri (AAS). Bølgelengdene vil være avhengig av energinivå til de forskjellige orbitalene til atomet, noe som vil være spesifikt for hvert enkelt grunnstoff. Metoden baserer seg på Kirchhoff's lov om at "Et grunnstoff absorberer og sender ut lys ved samme bølgelengde".

### 3.2.2 INSTRUMENT

Et spektrofotometer består av lyskilde, prøvecelle, monokromator og detektor. Ved bruk av spesielle lyskilder og nøyaktig utvelgelse av bølgelengde, kan ett grunnstoff bestemmes kvantitativt fra en løsning der flere stoffer er tilstede. En lyskilde i atomabsorpsjonsinstrumentet sender monokromatisk lys med en bestemt bølgelengde som er karakteristisk for det aktuelle grunnstoffet gjennom den atomiserte analytten. Lyset som har gått igjennom det

absorberende mediet blir registrert i detektoren. Her skal strålingen overføres til et målbart signal, enten i form av absorbans eller konsentrasjon. Dersom absorpsjonen måles ved en bølgelengde hvor bare analytten absorberer, vil absorpsjonen være proporsjonal med antall analyttatomer i lysveien. Dette er igjen proporsjonalt med konsentrasjonen til analytten i prøven (Lambert-Beer's lov). De viktigste komponentene i et atomabsorpsjonsspektrofotometer er vist skjematisk på Figur 3.2.



**Figur 3.2** Prinsippskisse for et atomabsorpsjonsinstrument.

### Lyskilder

De to mest brukte lyskildene er hullkatodelampe (HCL) og elektrodsløse utladningslampe (EDL). HCL er den mest vanlige, denne type lampe brukes for de fleste element som analyseres med AAS. For flyktige elementer som blant annet selén, arsen, kvikksølv, sink og tellur er det vanskelig å lage stabile hullkatodelamper med lang levetid. Bedre bestemmelse av disse elementene oppnås ved å bruke en elektrodsløs utladningslampe. Her er metall eller metallsalt, av den aktuelle analytten, innesluttet i en kvartspære som er fylt med inert gass. Kvartspæren ligger i en radiofrekvenscoil som tilfører energi nok til at metallatomer fordampes og eksiteres. Med en påfølgende deeksitasjon vil det bli sendt ut lys som er spesifikt for det aktuelle grunnstoffet.

### Atomiseringsteknikker

Til dette hovedfagsarbeidet ble det brukt følgende atomabsorpsjonsspektroskopi-teknikker:

ETAAS	Elektrotermisk atomabsorpsjon
HGAAS	Hydridgenerering atomabsorpsjon

Analyser av fiskemuskelmel (rødspette, torsk og tunfisk) og helsekostpreparat A og B ble utført ved bruk av elektrotermisk atomabsorpsjon (også kalt grafittovn atomabsorpsjon). Ved ETAAS-analyser skjer det en fullstendig foraskning av prøveløsningen i grafittørret på grunn av høy temperatur, og alle bindinger vil bli brutt. Fullstendig overføring til atomær form vil dermed finne sted, uansett hvilken kjemisk form analytten har i prøveløsningen. Til analyser av ferdige fôr, femur, lever, muskel, plasma, urin og feces ble det benyttet "flow-injection" hydridgenerering atomabsorpsjon (FI-HGAAS) som er et godt alternativ ved analyser av selén og arsen. Her blir prøveløsning og reagens automatisk ført sammen i et lukket system. En prøveveksler sørger for oppsuging av prøver, og gjentatt vask mellom hver prøvekjøring. Metoden krever mye bearbeiding av prøvene før kjøring av analysene. Den aktuelle analytten må foreligge i løsning, og ikke være bundet til organisk materiale som den ofte gjør. I tillegg må analytten foreligge i spesiell kjemisk form i løsningen, noe som krever videre behandling etter oppslutning (se kapittel 3.2.3).

### **Analysegang ved FI-HGAAS**

Grunnlaget for teknikken er dannelsen av flyktige hydrider. Dette vil skje når grunnstoffet i løsningen blir redusert med natriumbohohydrid, som blir tilsatt i overskudd. Det blir frigitt hydrogen-gass når  $\text{NaBH}_4$  reagerer med syre i prøveløsningen (Lajunen, 1992). Hydrogen-gassen er med på å føre atomisert selén raskere til prøvecellen, og skal føre til en bedre absorpsjonstopp. Samtidig går det kontinuerlig bærere, 10% saltsyre og bæregass (argon 75 ml/min) gjennom systemet. I fra gass- væske-separatoren blir selén ført til prøvecellen. Oppvarming av prøvecellen (900 °C) skal hindre kondensering av væske i prøvecellen.

### **3.2.3 OPPSLUTNING**

Metoden for bestemmelse av sporelementer ved hjelp av FI-HGAAS krever at elementene foreligger løst i væske. Dette oppnås ved å koke prøvematerialet i sterke syrer under høyt trykk, slik at alt organisk materiale brytes ned og frigjør sporelementene som ioner i løsningen. En slik oppslutning kalles våtoppslutning.

## Prosedyre

Mellom 0,2 og 0,25 gram tørt homogenisert materiale ble innveid på analysevekt (Mettler AT 200) med fire desimalers nøyaktighet og overført til rene og tørre 100 ml teflon-bomber med lokk, som tåler trykk på 30 bar (426 psi.). De innveide prøvene ble tilsatt 2 ml 65% konsentrert salpetersyre ( $\text{HNO}_3$ -suprapur) fra dispenser og deretter 0,5 ml 30% perhydrol ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) v.h.a. Finnpipette digital. Oppslutningen foregikk i lukket system for å unngå avdamping av sporelement.

Bombene ble plassert i Milestone mikrobølgeovn (MLS-1200 MEGA, Sorisole, Italia). Oppslutningsprogram 2 som blir anvendt for "nedbryting av vanskelig nedbrytbart organisk materiale med fettinnhold" ble brukt. Dette programmet går over 5 trinn med gradvis økende effekt, bortsett fra i andre trinn der effekten er på 0 Watt. Skjematisk fremstilling i Tabell 3.3.

**Tabell 3.3** Program 2 for mikrobølgeovn

Trinn	Energi (Watt)	Tid (min)
1	250	1
2	0	1
3	250	5
4	400	5
5	650	5

Etter ca. 20 minutter var programmet ferdig og bombene ble vannavkjølt. Prøvene ble fortynnet med deionisert og filtrert vann til totalt 10 ml. De fortynnede prøvene ble deretter oppbevart i 15 ml sentrifugerør av polyetylen med skrukork (Tamro Lab a/s, art.nr. 374640). Det ble sluttet opp 2 paralleller av hver prøve, med unntak av fôrprøvene der  $N = 9$  og feces der  $N = 3$ .

Ved bruk av FI-HGAAS er det også viktig at analytten forekommer i et bestemt oksidasjonstrinn før analysen, fordi  $\text{Se}^{6+}$  ikke kan detekteres da selén i dette oksidasjonstrinnet ikke danner hydrid. Oppsluttet prøvemateriale må behandles med et reduksjonsmiddel før

analysen for å redusere eventuelt seksverdig selén til fireverdig (selenitt). For å redusere selén til treverdig ble 4 ml av oppsluttet prøve pipettert over i sovirellrør og tilsatt 1 ml konsentrert saltsyre og kokt i vannbad. En koketid på 45 minutter er vist å være tilstrekkelig til å redusere selenat til selenitt (Julshamn *et al.*, 1982). Prøvene ble avkjølt og fortynnet med 10 % saltsyre til 10 ml. Prøveløsningen ble lagret i engangs 15 ml sentrifugerør (Tamro Lab a/s, art.nr. 374640).

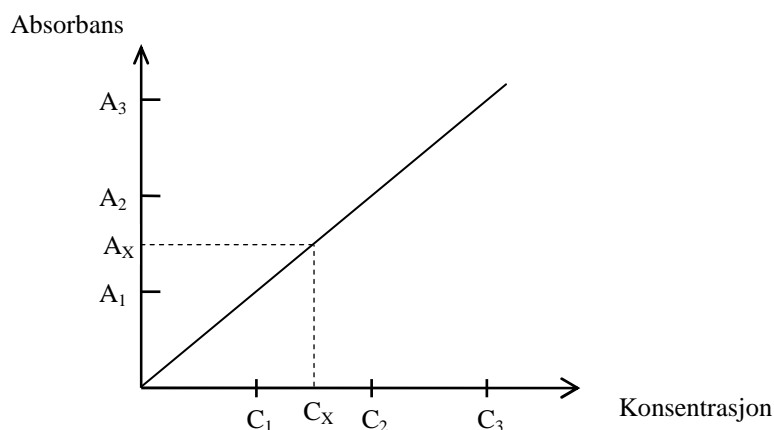
Etter å ha plassert standarder og prøver i stativ tilhørende autosamplere, ble målingene startet. Resultatene ble beregnet av dataprogrammet (Winlab versjon 2.44) og rapportert som  $\mu\text{g}$  selén per gram innveid prøve.

### 3.2.4 BEHANDLING AV RESULTAT

Til beregning av resultater ved FI-HGAAS- målinger, benyttes en standardkurve. Standarder ble laget ved å ta ut 25 - 50 - 100 - 200 og 400  $\mu\text{L}$  av 0,25 mg/L Se-standard ( $1000 \pm 0.5$  mg/L i 2,5%  $\text{HNO}_3$ , Teknolab A/S) og fortynnet til 25 mL med 10% saltsyre.

#### Standardkurve

I følge Lambert-Beer's lov er absorpsjonen av et stoff proporsjonalt med konsentrasjonen av stoffet innenfor et visst område (Skoog & West, 1982). En standardkurve ble laget ved å måle absorbansen av flere kjente standardløsninger og plote dem mot konsentrasjonene i et koordinatsystem (Figur 3.3). Det er en forutsetning at absorbansen i prøveløsningen ligger i det lineære området.



**Figur 3.3** Standardkurve laget ved å måle absorbansen ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ) av flere kjente standarder ( $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$ ). Prøveløsningen har absorbans  $A_x$  og konsentrasjon  $C_x$ .



**Balanseforsøk**

Absorpsjon og retensjon ble bestemt av selénanalyser i fôr, feces og urin. Absorpsjon av selén ble definert som differansen mellom inntatt selén og mengde selén i feces. Dette er den tilsynelatende absorpsjonen, der det ikke blir tatt hensyn til endogent tap av selén. Retensjon er det som blir holdt tilbake i organismen og er her beregnet som differansen mellom mengde inntatt selén og mengde selén i feces og urin:

Absorbert selén = mengde inntatt selén - mengde selén i feces

Retinert selén = mengde inntatt selén - (mengde selén i feces + urin)  
= absorbert selén - mengde selén i urin

Utregningen av absorpsjons- og retensjonsgraden av selén, i forhold til inntaket er beregnet etter følgende formel:

$$\text{Relativ absorpsjon (\%)} = \frac{\text{mengde selén inntatt} - \text{mengde selén i feces}}{\text{mengde selén inntatt}} * 100$$

$$\text{Relativ retensjon (\%)} = \frac{\text{mengde selén inntatt} - (\text{mengde selén i feces} + \text{urin})}{\text{mengde selén inntatt}} * 100$$

**3.2.5 METODENS PÅLITELIGHET**

For å finne ut hvor nøyaktig metoden er, må en finne et mål for presisjonen, og hvor riktig metoden er. Presisjon er et mål for spredningen i resultatene ved gjentatte målinger (reproduserbarhet). Ved bestemmelse av riktighet og presisjon, må det benyttes standard referansematerialer. Et standard referansemateriale (SRM) er et prøvemateriale der mengden av den aktuelle analytten i materialet er sertifisert. På denne måten kan en sammenligne de resultatene en selv har fått, med de sertifiserte analyseverdiene. Som standard referansemateriale ble det brukt Non-Fat Milk Powder nr. 1549 (U.S. Department of Commerce National Bureau of Standards, Washington, D.C. 20234) til alle selén analysene, unntatt plasma, som hadde eget referansemateriale (Seronom, Nycomed Pharma AS, Oslo). Tabell 3.4 viser SRM Non-Fat Milk Powder nr. 1549 med målt verdi ved ulike oppslutning og sertifisert verdi.

**Tabell 3.4** Non-Fat Milk Powder nr.1549 for selén med oppgitt og målt verdi.

Referanseprøve	n	Målt Se-innhold $\pm$ SD ( $\mu\text{g/g}$ )	Sertifisert Se-innhold ( $\mu\text{g/g}$ )
Non Fat Milk Powder nr. 1549	58	0,10 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01

For hver serie av analyser som ble kjørt, ble det kontrollert at referansematerialet lå innenfor de tidligere målte konsentrasjonsområdene ved FDE.

### Presisjon

For å kunne si noe om metodepresisjon er det viktig å kartlegge instrumentpresisjonen. Samme prøveløsning ble analysert ti ganger og det relative standardavviket (RSD) kalkulert. Dette ga et bilde av instrumentet sin evne til å reprodusere en måling ved denne metoden. Det standard referansematerialet som ble brukt for å bestemme instrumentpresisjonen var Non-Fat Milk Powder nr. 1549, tabell 3.5. RSD er et uttrykk for presisjon.

**Tabell 3.5** Instrumentpresisjon vist som relativt standardavvik (RSD) av ti målinger fra samme prøveløsning av blankprøve og Non-Fat Milk Powder nr. 1549.

Referanseprøve	n	Målt Se-innhold $\pm$ SD ( $\mu\text{g/g}$ )	RSD (%)
Blankprøve	10	0,019 $\pm$ 0,002	9,0
Non-Fat Milk Powder	10	0,101 $\pm$ 0,002	2,0

For å få et mål for metodepresisjonen ble 10 parallelle prøver av standard referansematerialet Cod Muscle nr. 422 (U.S Department of Commerce National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899) benyttet, tabell 3.6.

**Tabell 3.6** Metodepresisjon vist som relativt standardavvik (RSD) av ti parallelle målinger fra prøveløsning av Cod Muscle nr. 422.

Referanseprøve	n	Målt Se-innhold $\pm$ SD ( $\mu\text{g/g}$ )	Sertifisert verdi ( $\mu\text{g/g}$ )	RSD (%)
Cod Muscle	10	1,62 $\pm$ 0,04	1,63 $\pm$ 0,07	2

Etter FDE's kvalitetshåndbok (1998) er metodepresisjonen god dersom RSD (%) er bedre enn 10 % mellom parallellene.

### 3.2.6 VASKEPROSEDYRE

Alt utstyr som blir brukt ved bestemmelse av sporelementer på laboratoriet må gjennomgå en grundig vaskeprosedyre for å unngå kontaminering. Vasking av utstyret er derfor en viktig og tidkrevende del av arbeidet. Alt utstyret ble skylt to ganger med nano-vann, vasket med Thernard blanding to ganger og deretter to ganger med 10% saltsyre blanding. Til slutt ble utstyret skylt åtte ganger med nano-vann og en siste gang med ekstra filtrert og deionisert vann.

#### Thernards blanding:

520 ml nano-vann tilsatt 200 ml kons. saltsyre og deretter 80 ml perhydrol  $\text{H}_2\text{O}_2$

#### 10 % saltsyre blanding:

900 ml nano-vann tilsatt 100 ml kons. saltsyre

## 3.3 STATISTISKE BEREGNINGER

Til alle statistiske beregninger ble det brukt Microsoft Excel 97 regneark og statistikk-programmet Statistica (Statsoft Inc., USA 1993).

Et signifikansnivå på  $p < 0.05$  ble valgt for alle testene. Dette betyr at det er mindre enn fem prosent sjanse for at forskjellen er oppstått tilfeldig. Homogenitet i varians ble testet med Levenes test, og ved hjelp av "Categorized Normal Probability plot" ble det vurdert om variablene var normalfordelt.

Enveis variansanalyse (ANOVA) ble brukt til å teste om det var signifikante forskjeller i selén inntak, absorpsjon, relativ absorpsjon, retensjon og relativ retensjon mellom metabolismegruppene.

Lineær regresjonsanalyse ble brukt til å bestemme biologisk tilgjengelighet. En rett linje ( $y = ax + b$ ) konstrueres best mulig tilpasset datapunktene, basert på minste kvadraters metode. Selén inntak ble plottet mot selénkonsentrasjonen i henholdsvis femur, lever, muskel og plasma. Forskjeller i stigningstall ( $a$ ) ble sammenlignet ved hjelp av Tukeys test, en parametrisk post hoc test som beskrevet av Zar (1996).

Den relative biologiske tilgjengeligheten til selén ble bestemt ved å bruke selenitt som standard med slope-ratio som metode. Selenitt har 100% biotilgjengelighet og de andre ble gitt i forhold til dette.



## 4 RESULTAT

### 4.1 ANALYSER AV FÔR

Innholdet av selén i de eksperimentelle fôr ble analysert, og disse verdiene ble benyttet til å beregne totalt inntak av selén hos rottene. Det ble sluttet opp 9 paralleller av hvert fôr. Rottene fikk tørt fôr under hele forsøket, slik at målte verdier av selén i tørt fôr er likt seléninnholdet i fôret de spiste. Den på forhånd estimerte selénkonsentrasjon, tørrstoffprosent og målt selénkonsentrasjon i de eksperimentelle fôr er vist i Tabell 4.1.

Tabellen viser at det analyserte seléninnholdet i de fleste fôrene, unntatt tunfisk lå under verdiene som var beregnet ut fra analyser gjort av ansatte på mineral- og sporstoffavdelingen ved FDE ved hjelp av ETAAS. Det var ingen forskjell på tørrstoffinnholdet til fôrene som var 96-98%.

**Tabell 4.1** Estimert selénkonsentrasjon, tørrstoffprosent og reell selénkonsentrasjon  $\pm$  standardavvik i de eksperimentelle fôrene. Resultatene er gitt som  $\mu\text{g/g}$ .  $N = 9$ 

Se-kilde	Estimert [Se] (mg/kg)	Tørrst. % N=2	Reell [Se] $\pm$ SD N=9 ( $\mu\text{g/g}$ )
Nullfôr	0	97,8	0
Selenitt	0,05	96,0	0,05 $\pm$ 0,00
	0,10	96,0	0,08 $\pm$ 0,00
	0,15	96,3	0,11 $\pm$ 0,01
	0,20	96,2	0,15 $\pm$ 0,01
Selenometionin	0,05	96,7	0,04 $\pm$ 0,00
	0,10	96,8	0,08 $\pm$ 0,00
	0,15	96,8	0,10 $\pm$ 0,00
	0,20	96,8	0,14 $\pm$ 0,01
Helsekost A	0,05	97,8	0,05 $\pm$ 0,01
	0,10	97,8	0,08 $\pm$ 0,01
	0,15	97,8	0,12 $\pm$ 0,01
Helsekost B	0,05	97,7	0,05 $\pm$ 0,01
	0,10	97,7	0,09 $\pm$ 0,01
	0,15	97,7	0,13 $\pm$ 0,01
Rødspette	0,05	97,9	0,03 $\pm$ 0,00
	0,10	98,2	0,05 $\pm$ 0,00
	0,15	98,1	0,08 $\pm$ 0,01
Torsk	0,05	98,1	0,03 $\pm$ 0,01
	0,10	98,1	0,06 $\pm$ 0,00
	0,15	98,3	0,09 $\pm$ 0,01
Tunfisk	0,05	97,8	0,05 $\pm$ 0,00
	0,10	97,9	0,10 $\pm$ 0,01
	0,15	98,0	0,15 $\pm$ 0,02

## 4.2 INNTAK AV FÔR OG SELÉN

I løpet av den 28 dager lange fôringsperioden fikk rottene tildelt fôr etter appetitt. En del rotter spiste ikke opp alt fôret, og alt fôrspill ble veid. Inntaket av selén ble beregnet ut fra den mengden fôr som virkelig ble spist og selénkonsentrasjonen i fôret. Tabell 4.2 viser gjennomsnittlig fôr- og seléninntak til fôrgruppene, mens data for inntak av fôr og selén til hver rotte er gitt i Vedlegg I.

**Tabell 4.2** Gjennomsnittlig inntak av fôr og selén med standardavvik, til rotter gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager. N = 5.

Selénkilde	Nivå ( $\mu\text{g/g}$ )	Fôrinntak (g)	Seléninntak ( $\mu\text{g/g}$ )
Nullfôr	0	$380 \pm 12$	$0,4 \pm 0,0$
Selenitt	0,05	$359 \pm 4$	$17,4 \pm 0,2$
	0,08*	$348 \pm 17$	$28,0 \pm 1,4$
	0,11	$364 \pm 1$	$40,4 \pm 0,1$
	0,15	$365 \pm 0$	$55,4 \pm 0,0$
Selenometionin	0,04	$362 \pm 6$	$14,6 \pm 0,3$
	0,08*	$351 \pm 13$	$26,4 \pm 1,0$
	0,10	$373 \pm 5$	$39,0 \pm 0,5$
	0,14	$375 \pm 1$	$52,2 \pm 0,1$
Helsekost A	0,05	$374 \pm 2$	$18,4 \pm 0,1$
	0,08*	$358 \pm 18$	$28,2 \pm 1,4$
	0,12	$373 \pm 3$	$45,5 \pm 0,4$
Helsekost B	0,05	$376 \pm 1$	$19,4 \pm 0,0$
	0,09	$386 \pm 2$	$36,3 \pm 0,2$
	0,13	$381 \pm 9$	$51,0 \pm 1,2$
Rødspette	0,03	$381 \pm 6$	$10,9 \pm 0,2$
	0,05*	$380 \pm 2$	$19,1 \pm 0,1$
	0,08	$386 \pm 2$	$31,4 \pm 0,1$
Torsk	0,03	$387 \pm 1$	$13,5 \pm 0,0$
	0,06	$395 \pm 4$	$22,6 \pm 0,2$
	0,09	$396 \pm 1$	$36,0 \pm 0,1$
Tunfisk	0,05	$395 \pm 1$	$21,6 \pm 0,1$
	0,10*	$386 \pm 15$	$40,1 \pm 1,5$
	0,15	$397 \pm 1$	$61,1 \pm 0,1$

\*Metabolismegruppe

I begynnelsen av forsøket spiste rottene ca. 8 g fôr per dag. Mengden økte gradvis og ved forsøkets slutt spiste hver rotte ca. 17 g/dag. Det gjennomsnittlige fôrinntaket varierte fra 348 – 397 g. Det så ut som de rottene som fikk fôr med fisk som selénkilde hadde høyere fôrinntak, enn de som fikk fôr uten fisk og med lite fisk. Rottene som gikk i metabolismebur



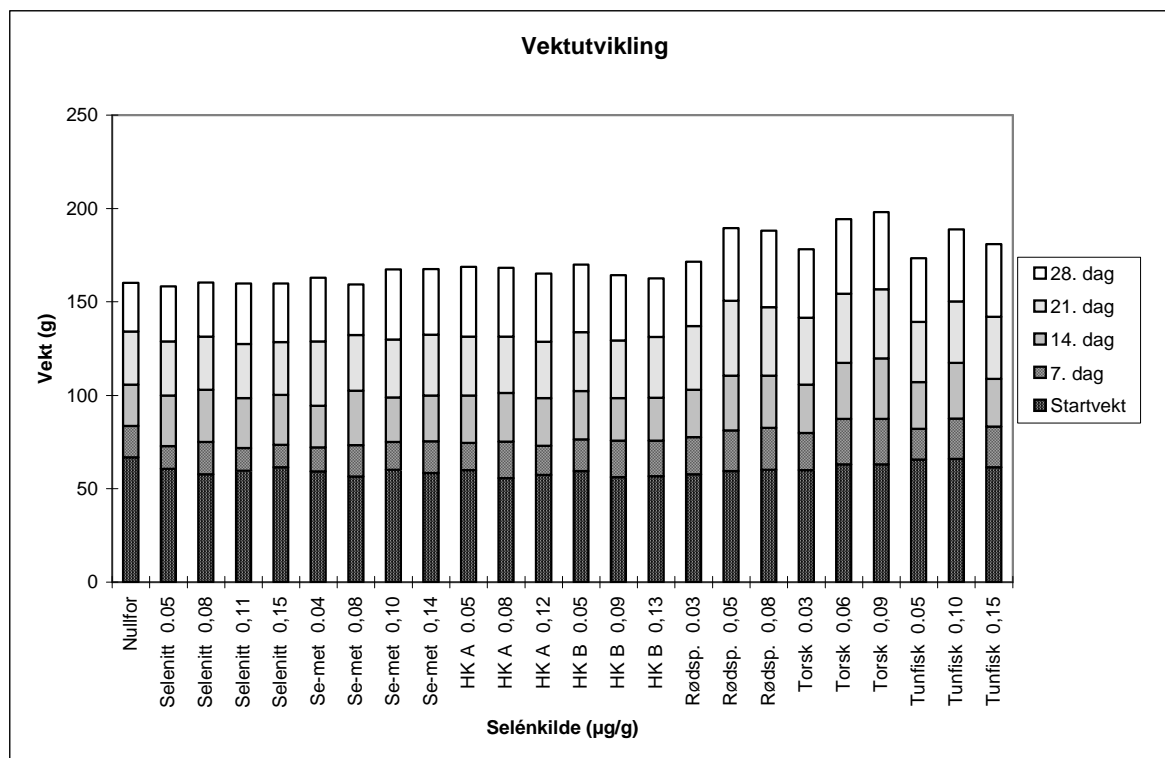
såg ut til å ha høyest andel fôrrester, tett etterfulgt av de rottene som ikke hadde fått selén tilsatt fôret og selenittgruppen.

Seléninntaket var økende i alle gruppene. Inntaket av selenitt varierte fra 17,4 – 55,4 µg/g, selenometionin fra 14,6 – 52,2 µg/g, helsekostpreparat A fra 18,4 – 45,5 µg/g, helsekostpreparat B fra 19,4 – 51,0 µg/g, rødspette fra 10,9 – 31,4 µg/g, torsk fra 13,5 – 36,0 µg/g og tunfisk varierte fra 21,6 – 61,1 µg/g.

### 4.3 VEKST

Rottene ble veid ved start og etter 7, 14, 21 og 28 dager. Ved forsøksstart veide rottene  $60,1 \pm 7,4$  g, mens ved forsøksslutt var vekten nesten tredoblet til  $171,6 \pm 13,0$  g. Den gjennomsnittlige vektøkningen varierte fra 93,5 til 134,9 g. I løpet av fôringsperioden på 28 dager økte vekten signifikant i alle gruppene. Vektutviklingen er vist gruppevis i Figur 4.1. Vekt og tilvekst for den enkelte rotte er gitt i Vedlegg I.

Figur 4.1 tyder på at gruppene som ble gitt nullfôr, selenitt, selenometionin og helsekostpreparater hadde lavere tilveksten gjennom forsøket, enn de rottene som fikk fôr med fisk. Ut i fra Figur 4.1 ser det videre ut til at de fôrgruppene som fikk fisk som selénkilde hadde den største tilveksten.



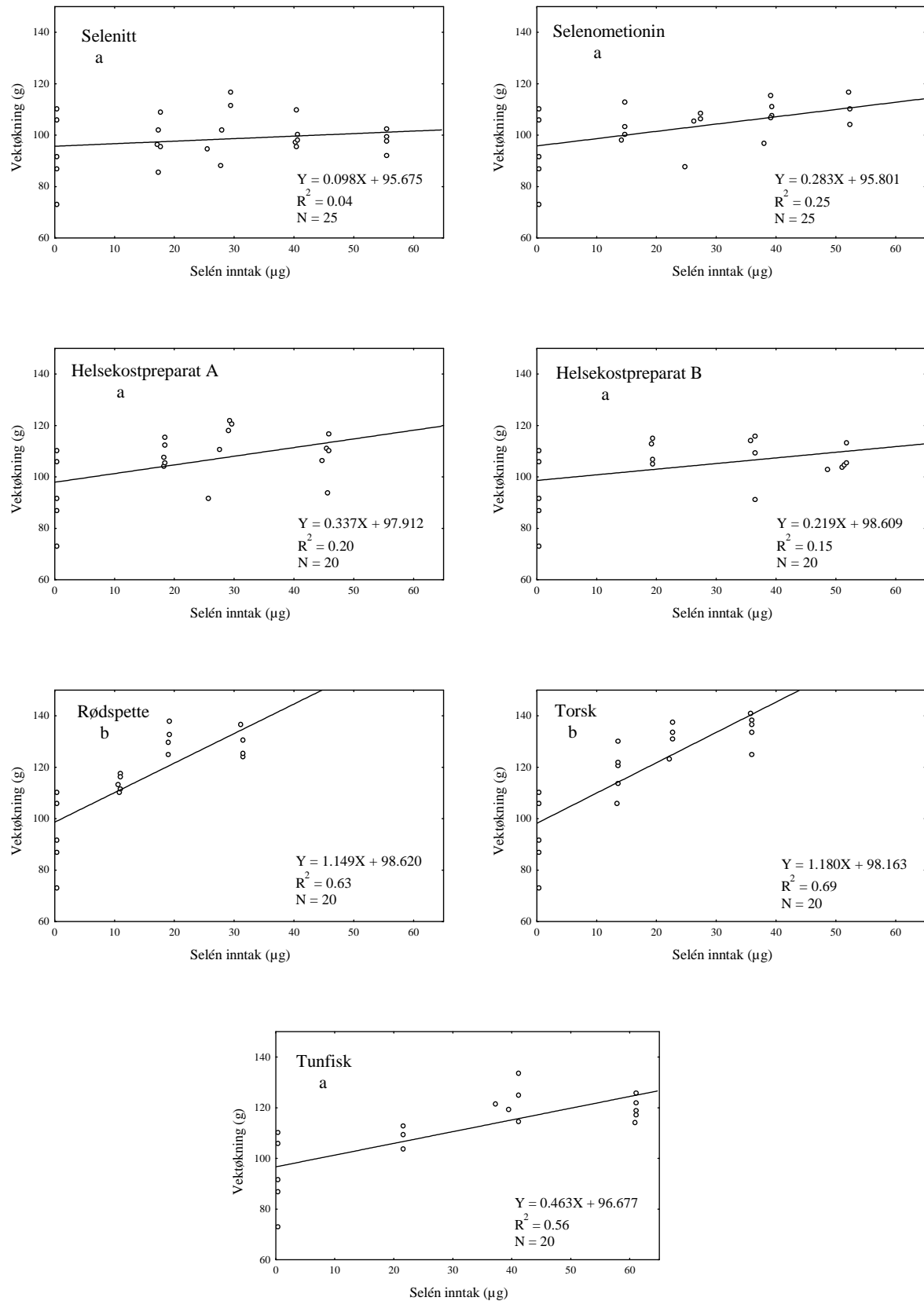
**Figur 4.1** Startvekt, vekt etter 7, 14, 21 og 28 dager til rotter gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder. Resultatet er gjennomsnitt for 5 rotter.

## 4.4 BIOLOGISK TILGJENGELIGHET

### 4.4.1 BIOLOGISK TILGJENGELIGHET MÅLT VED VEKST

Vekst ble brukt som en responsparameter for å måle biotilgjengelighet av selén ved å plote seléninntak mot vektøkningen til hver rotte. Regresjonslinjer med ligning, determinasjonskoeffisient ( $R^2$ ) og antall observasjoner (N) for vektøkning hos rotter gitt eksperimentelt for tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager er gitt i Figur 4.2.

Det var lav grad av lineæritet for alle gruppene når vekst ble brukt som respons parameter. Alle stigningstall, bortsett fra helsekostpreparat B, var signifikant større enn null. De rottene som fikk rødspette og torsk hadde signifikant ( $p < 0.05$ ) høyere vektøkning enn de gruppene som fikk selenitt, selenometionin, helsekostpreparat A, helsekostpreparat B og tunfisk tilsatt fôret.



**Figur 4.2** Regresjonslinjer for vektøkning hos rotter gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selen fra ulike kilder i 28 dager. Figurer merket med ulike bokstaver har signifikant forskjellig stigningstall,  $p < 0,05$ .

#### 4.4.2 BIOLOGISK TILGJENGELIGHET MÅLT VED BALANSEFORSØK

Vedlegg II viser mengden feces og urin, samt konsentrasjonen av selén i feces og urin, for hver enkelt rotte.

Den gjennomsnittlige mengden feces totalt for alle metabolismegruppene var  $31,5 \pm 2,6$  g. Den lave variansen (SD) viser at fecesmengden var ganske lik i alle gruppene.

Totalmengden selén som ble absorbert og retinert i forsøksperioden, samt relativ absorpsjon og retensjon er vist gruppevis i Tabell 4.3. Absorpsjon og retensjon av selén for den enkelte rotte er gitt i Vedlegg III.

**Tabell 4.3** Mengde selén inntatt, mengde selén absorbert og retinert, samt prosentvis absorpsjon og retensjon  $\pm$  standardavvik hos rotter gitt eksperimentelt fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager. Resultatene er gjennomsnitt for 5 rotter.

Selénkilde	Nivå $\mu\text{g/g}$	Selén inntak $(\mu\text{g})$	Absorbert selén $(\mu\text{g})$	Relativ absorpsjon $(\%)$	Retinert selén $(\mu\text{g})$	Relativ retensjon $(\%)$
Selenitt	0,08	$28,0 \pm 1,6^b$	$21,8 \pm 1,3^c$	$77,9 \pm 1,5^d$	$17,3 \pm 1,1^b$	$61,9 \pm 1,6^d$
Se-met <sup>1</sup>	0,08	$26,4 \pm 1,1^b$	$22,5 \pm 1,0^{cd}$	$85,2 \pm 0,6^e$	$20,8 \pm 0,9^c$	$78,8 \pm 0,9^e$
Hk A <sup>2</sup>	0,08	$28,2 \pm 1,6^b$	$10,4 \pm 0,7^a$	$37,0 \pm 0,6^a$	$8,9 \pm 0,7^a$	$31,6 \pm 1,3^a$
Rødspette	0,05	$19,1 \pm 0,1^a$	$12,8 \pm 0,4^b$	$67,2 \pm 1,7^c$	$9,8 \pm 0,4^a$	$51,6 \pm 2,0^c$
Tunfisk	0,10	$40,1 \pm 1,7^c$	$24,0 \pm 1,4^d$	$60,0 \pm 3,7^b$	$16,8 \pm 0,8^b$	$41,9 \pm 2,4^b$

<sup>1</sup> Se-met = Selenometionin

<sup>2</sup> Hk = Helsekostpreparat A

Ulik bokstav i samme kolonne viser at forskjellen er signifikant,  $p < 0.05$  (ANOVA).

Tabell 4.3 viser at seléninntaket varierte fra 19,1 til 40,1  $\mu\text{g}$ . Metabolismegruppen rødspette 0,05  $\mu\text{g/g}$  hadde signifikant lavere seléninntak enn de andre fôrgruppene. Det var ingen signifikant forskjell i seléninntak mellom selenometionin, selenitt og helsekostpreparat A gruppene. Signifikant høyest seléninntak hadde gruppen som fikk tunfisk 0,10  $\mu\text{g/g}$ .

I løpet av de tjueåtte dagene som absorpsjonen ble kontrollert, hadde de forskjellige gruppene tilsynelatende absorbert mellom 10,4 og 24,0  $\mu\text{g}$  selén fra selénkildene. Selén fra helsekostpreparat A ble dårligst absorbert, mens selenometionin og tunfisk hadde signifikant høyest absorpsjon, med henholdsvis 22,5 og 24,0  $\mu\text{g}$ .

Den relative absorpsjonen varierte fra 37,0 til 85,2% og alle fem fôrgruppene var signifikant forskjellig. Helsekostpreparat A ble dårligst absorbert med 37% av inntaket. Den relative absorpsjonen av tunfisk og rødspette var henholdsvis 60% og 67% av inntaket. Selenitt og selenometionin hadde signifikant høyest relativ absorpsjon med henholdsvis 78% og 85% av inntaket, noe som var mer enn dobbelt så høyt som helsekostpreparat A.

Etter forsøksperioden på tjueåtte dager hadde de forskjellige fôrgruppene retinert mellom 8,9 og 20,8  $\mu\text{g}$  selén fra selénkildene. Metabolisme gruppene helsekostpreparat A og rødspette hadde signifikant lavest retensjon, med henholdsvis 8,9 og 9,8  $\mu\text{g}$ , og var signifikant forskjellig fra de andre fôrgruppene. Det var ingen signifikant forskjell på de rottene som fikk selenitt og tunfisk i fôret. Signifikant høyest retensjon hadde gruppen som fikk selenometionin 0,08  $\mu\text{g/g}$ .

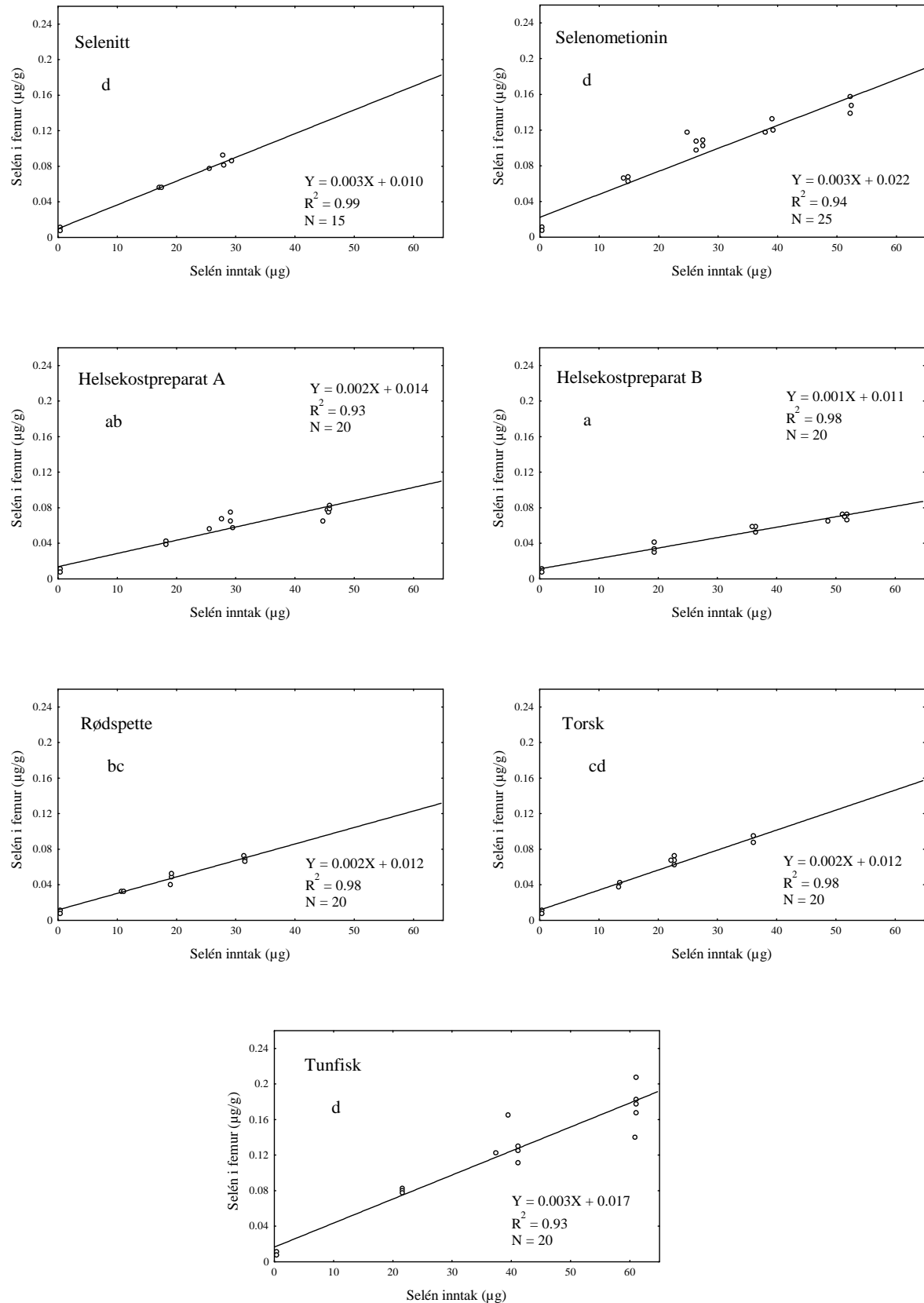
Den relativ retensjonen varierte fra 31,6 til 78,8%, og alle de fem fôrgruppene var signifikant forskjellig fra hverandre. Helsekostpreparat A hadde signifikant lavest relativ retensjon, ca. 32% av inntaket. Av tunfisk, rødspette og selenitt ble henholdsvis ca. 42%, 51% og 62% av inntaket retinert. Selenometionin hadde signifikant høyeste retensjon med 79% av inntaket, noe som var mer enn dobbelt så høyt som for både helsekostpreparat A og tunfisk.

#### **4.4.3 BIOLOGISK TILGJENGELIGHET MÅLT VED ORGANRETENSJON**

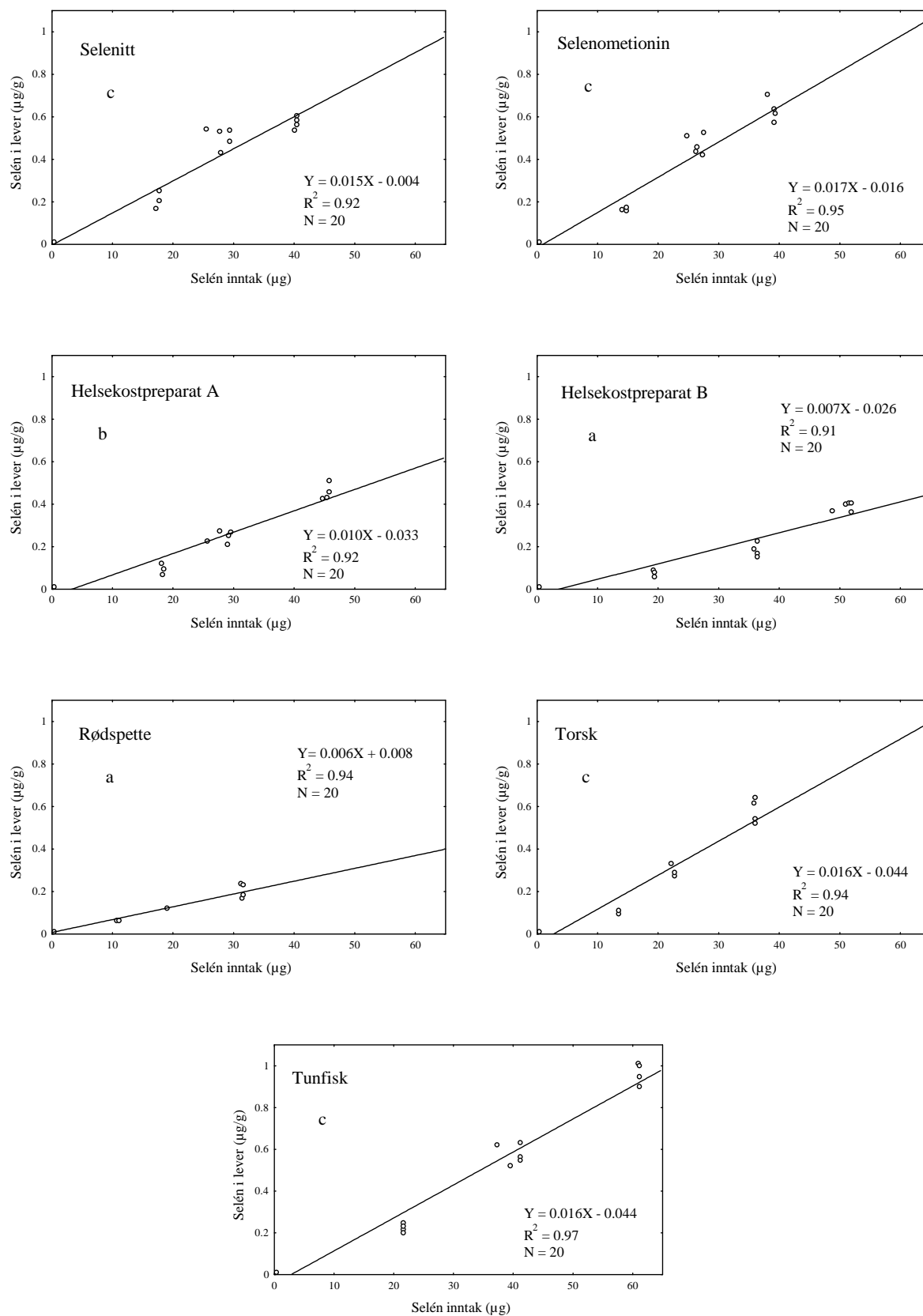
Selénkonsentrasjonen ble analysert i femur, lever, muskel og plasma. Våtvekt, tørrstoff %, tørrvekt, selénkonsentrasjon i femur, lever og muskel for den enkelte rotte er gitt i Vedlegg IV, V og VI.

Regresjonslinjer med ligning, determinasjonskoeffisienter ( $R^2$ ) og antall observasjoner (N) for selénretensjon i femur, lever, muskel og plasma hos rotter gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager er gitt i figurene 4.3 – 4.6. Alle stigningstall var signifikant større enn null ( $p < 0,001$ ) og viste lineærhet. Determinasjonskoeffisienten var ( $> 0,7$ ) for alle regresjonslinjene.

## RESULTAT



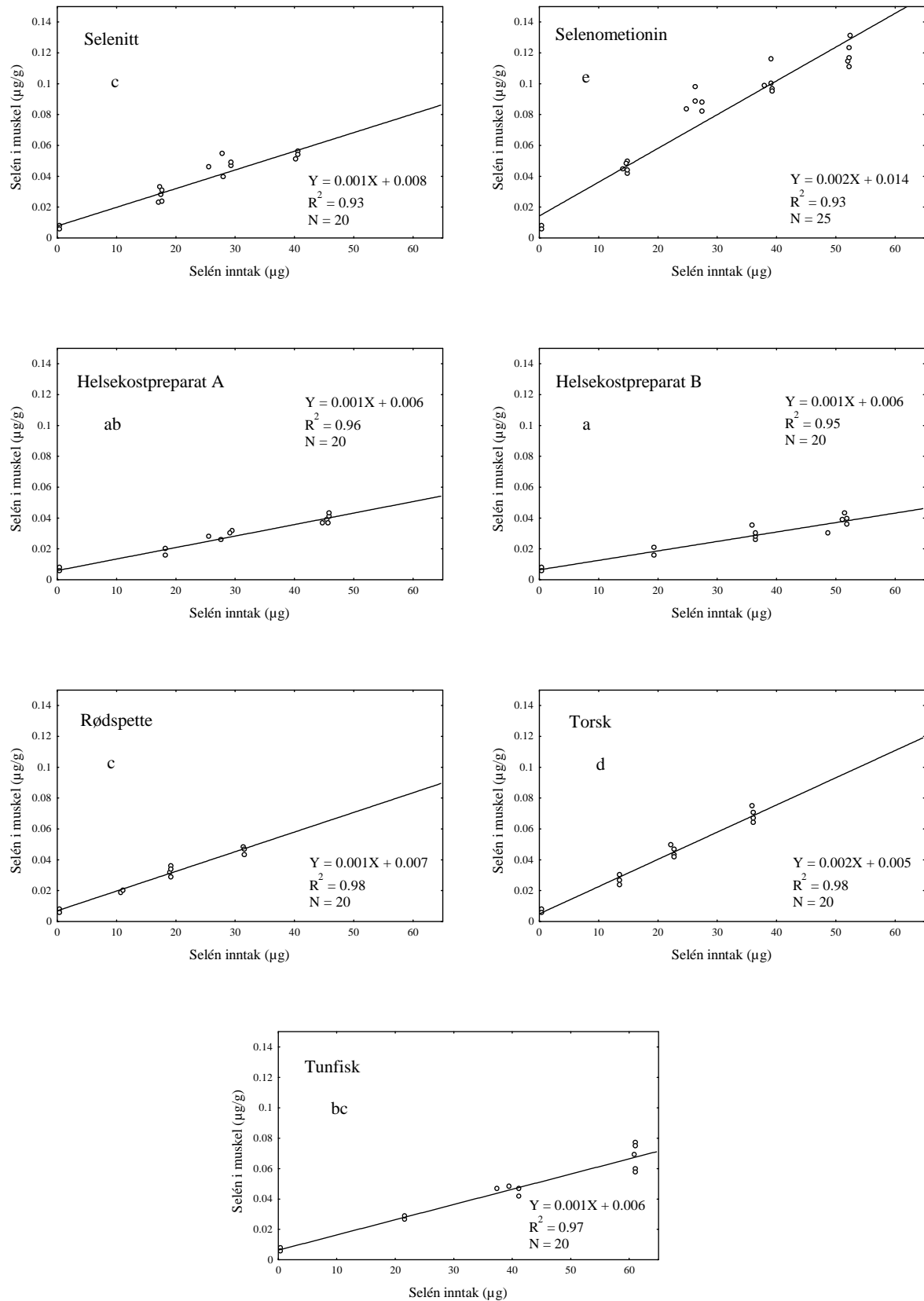
**Figur 4.3** Regresjonslinjer for konsentrasjonen av selén i femur hos rotter gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager. Ulike bokstaver markerer signifikant forskjellig stigningstall,  $p < 0,05$ .



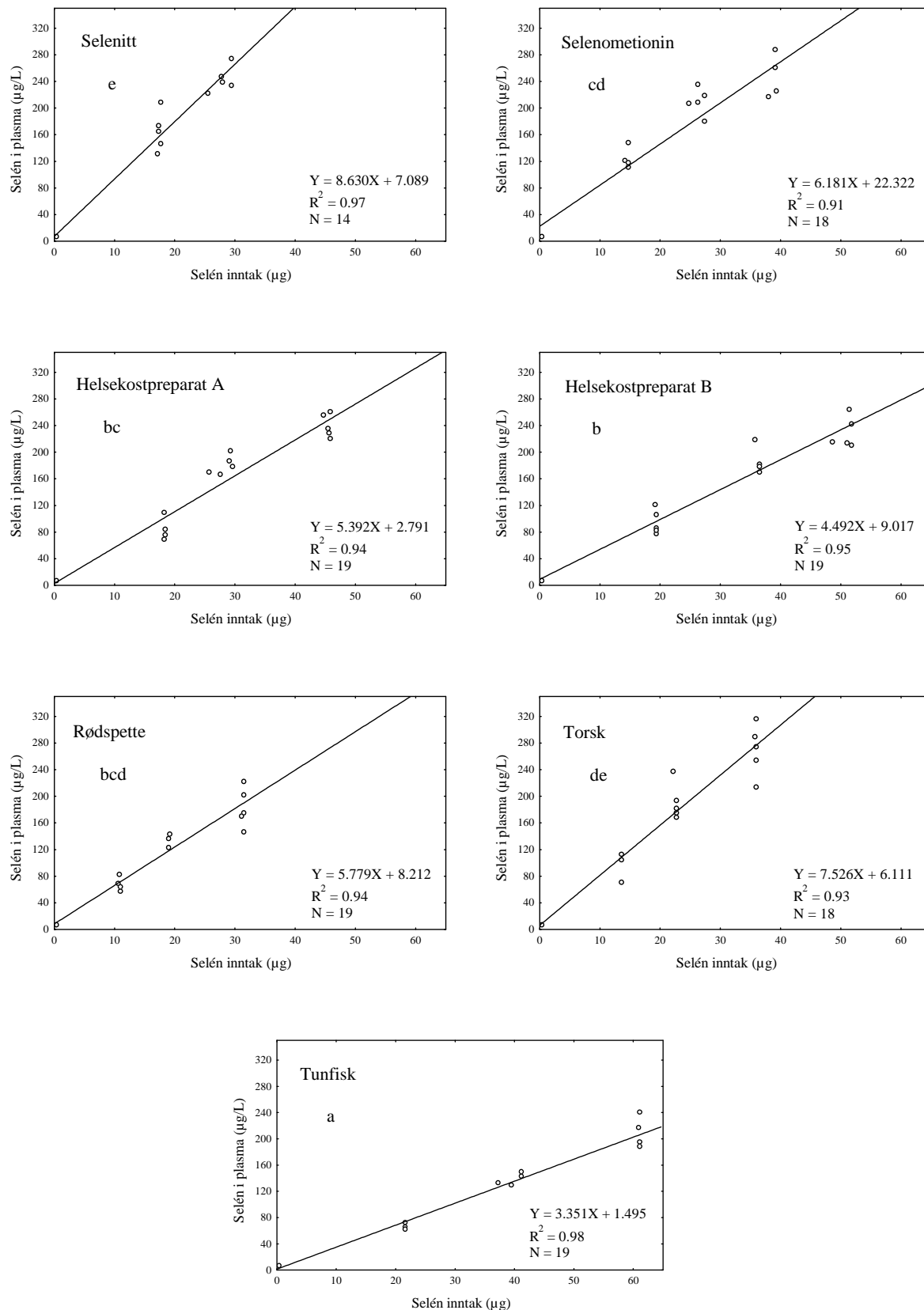
**Figur 4.4** Regresjonslinjer for konsentrasjonen av selén i lever hos rotter gitt eksperimentelle fôr tilstatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager. Figurer merket med ulike bokstaver har signifikant forskjellig stigningstall,  $p < 0,05$ .



## RESULTAT



**Figur 4.5** Regresjonslinjer for konsentrasjonen av selén i muskel hos rotter gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager. Figurer merket med ulike bokstaver har signifikant forskjellig stigningstall,  $p < 0,05$ .



**Figur 4.6** Regresjonslinjer for konsentrasjonen av selén i plasma hos rotter gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager. Figurer merket med ulike bokstaver har signifikant forskjellig stigningstall,  $p < 0,05$ . En blodprøve tapt i gruppen som fikk nullfôr, og en tapt i gruppen som fikk  $0,03\mu\text{g/g}$  torsk.

Datapunktene til regresjonslinjene for selenitt og selenometionin viste en tendens til metning. For å oppnå lineær regresjon ble derfor gruppen som fikk selenitt 0,15 µg/g ikke tatt med. Ved bruk av femur og plasma som lineær regresjon ble i tillegg selenitt 0,11 µg/g fjernet. Selenometionin 0,14 µg/g ble tatt bort både ved bruk av lever og plasma som lineær regresjon.

Selén fra helsekostpreparat B og A hadde signifikant lavest retensjon i femur, mens de rottene som fikk torsk, selenometionin, tunfisk og selenitt hadde signifikant høyest retensjon i femur.

Regresjonslinjene for selén retensjon i lever viser at selén fra rødspette og helsekostpreparat B hadde signifikant lavest retensjon, etterfulgt av helsekostpreparat A. Signifikant høyest retensjon i lever hadde de rottene som fikk selenitt, tunfisk, torsk og selenometionin.

Selén fra helsekostpreparat A og B hadde signifikant lavest retensjon i muskel, etterfulgt av tunfisk. Det var ingen signifikant forskjell på tunfisk, selenitt og rødspette. De rottene som fikk selenometionin hadde signifikant høyest retensjon i muskel.

Selén fra tunfisk hadde signifikant lavest retensjon i plasma. Det var ingen signifikant forskjell på de rottene som fikk helsekostpreparat B, helsekostpreparat A og rødspette. Signifikant høyest retensjon hadde de rottene som fikk torsk og selenitt.

### **Relativ biologisk tilgjengelighet**

Biotilgjengeligheten til selenometionin, helsekostpreparat A og B, rødspette, torsk og tunfisk relativt til selenitt, til rotter gitt eksperimentelt fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager er vist i Tabell 4.4.

**Tabell 4.4** Relativ biologisk tilgjengelighet (%) i femur, lever, muskel og plasma, bestemt hos rotter gitt eksperimentelt fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager.

Selénkilde	Relativ biologisk tilgjengelighet (%)			
	Femur	Lever	Muskel	Plasma
Selenitt	100 <sup>d</sup>	100 <sup>c</sup>	100 <sup>c</sup>	100 <sup>e</sup>
Selenometionin	94 <sup>d</sup>	110 <sup>c</sup>	181 <sup>e</sup>	71 <sup>cd</sup>
Helsekostpreparat A	54 <sup>ab</sup>	66 <sup>b</sup>	61 <sup>ab</sup>	61 <sup>bc</sup>
Helsekostpreparat B	42 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	50 <sup>a</sup>	50 <sup>b</sup>
Rødspette	68 <sup>bc</sup>	40 <sup>a</sup>	104 <sup>c</sup>	65 <sup>bcd</sup>
Torsk	80 <sup>cd</sup>	103 <sup>c</sup>	142 <sup>d</sup>	83 <sup>de</sup>
Tunfisk	97 <sup>d</sup>	102 <sup>c</sup>	81 <sup>bc</sup>	37 <sup>a</sup>

Ulike bokstaver i samme kolonne viser at det er signifikant forskjell,  $p < 0,05$ .

Den relative biologiske tilgjengeligheten bestemt ved bruk av selén konsentrasjon i femur var fra 42 – 100%. Helsekostpreparat B og A hadde den signifikant laveste relative biologiske tilgjengelighet, med henholdsvis 42 og 54%, deretter fulgte rødspette med 68%. Rødspette og torsk (80%) hadde signifikant lavere relativ biologisk tilgjengelighet enn selenometionin, tunfisk og selenitt, med henholdsvis 94, 97 og 100%.

Den relative biologiske tilgjengeligheten bestemt ved bruk av selén konsentrasjon i lever var fra 40 – 110%. Rødspette og helsekostpreparat B hadde den signifikant laveste relative biologiske tilgjengeligheten med henholdsvis 40 og 48%. Det var ingen signifikante forskjeller på selenitt (100%), tunfisk (102%), torsk (103%) og selenometionin (110%).

Den relative biologiske tilgjengeligheten bestemt ved bruk av selén konsentrasjon i muskel var i størrelsesorden 50 – 181%. Selén i helsekostpreparat B og A hadde lavere relative biologiske tilgjengelighet, med henholdsvis 50 og 61%, enn selén fra tunfisk med 81%. Tunfisk, selenitt (100%) og rødspette (104%) hadde signifikant lavere relativ biologisk tilgjengelighet enn torsk med 142%. De rottene som fikk selenometionin hadde signifikant høyest relativ biologisk tilgjengelighet (181%).

## RESULTAT

Den relative biologiske tilgjengeligheten bestemt ved bruk av selén konsentrasjon i plasma varierte fra 37 – 100%. Tunfisk hadde den signifikant laveste relative biologiske tilgjengelighet med 37%, deretter fulgte helsekostpreparat B, helsekostpreparat A og rødspette med henholdsvis 50, 61 og 65%. Signifikant høyest relativ biologisk tilgjengelighet hadde torsk og selenitt, med 83 og 100%.

## 5 DISKUSJON

### 5.1 VURDERING AV METODE

Resultatene i dette forsøket er basert på dose-respons kurver, som er avhengig av pålitelige kjemiske metoder. Analytiske data vil alltid være forbundet med en viss usikkerhet, derfor er det ikke mulig å finne den sanne verdien av f.eks. et element i en ukjent prøve. Man må derfor vurdere analytiske data ved å studere metodens deteksjonsgrense, bestemmelsesgrense, presisjon og riktighet.

Kvalitetssikringsprosedyrene ved Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt (FDE) ble utført (Ernæringsinstituttet, 1998). Kvalitetssikring av en analysemetode krever dokumentasjon av deteksjonsgrense, bestemmelsesgrense, presisjon (reproduserbarhet) og riktighet.

#### **Deteksjonsgrense og bestemmelsesgrense**

Deteksjonsgrense beskriver den minste mengden av en analytt som kan bli målt i en ren blanding. Denne verdien bestemmes som tre ganger standardavviket til 10 blindprøver når relativt standardavvik, RSD, er mindre enn 50 %. Med blindprøve menes en løsning uten prøvemateriale, men som ellers er behandlet som en prøve. Disse prøvene skal i teorien ikke ha noe innhold av analytten. Metoden som ble brukt i dette forsøket hadde en nedre deteksjons-grense på 0,1 µg/L.

Bestemmelsesgrensen er den minste verdien av analytten som med sikkerhet kan bestemmes. Verdien er satt til ti ganger standardavvik av 10 blindprøver med mindre enn 30 RSD %, og er 20 µg/kg tørrstoff for HGAAS-metoden (Ernæringsinstituttet, 1998). Alle de biologiske prøvene hadde selénkonsentrasjoner høyere enn deteksjonsgrensen.

#### **Presisjon**

Presisjon kan kontrolleres for instrumentet og for selve metoden. Ved å sammenligne resultatene fra 10 parallelle injeksjoner av samme prøve av et standard referansemateriale (SRM) og en blindprøve, kan instrumentpresisjonen bestemmes. Det standard referanse-materialet som ble brukt var SRM Non Fat Milk Powder. Det relative standardavviket (RSD) er et uttrykk for presisjonen. Resultatene viste en RSD på 2%, for prøver med en

konsentrasjon på 0,11 µg/g. En lav RSD viser god presisjon (Ernæringsinstituttet, 1998). Resultatene viste lav RSD for det SRM som ble brukt. For blindprøven var derimot RSD relativt høy (Tabell 3.5). Blindprøvene vil være følsomme for små variasjoner i instrumentet og eventuelle forurensinger i prøvene. Dette skyldes at analyttkonsentrasjonen i disse prøvene ligger nær deteksjonsgrensen til apparatet. Presisjonen ble funnet å være svært god for instrumentet.

For å få et mål for metodepresisjonen ble 10 parallelle prøver av standardreferansematerialet og blankprøve oppsluttet og analysert. Metodepresisjonen blir påvirket både av variasjonen fra analyseinstrumentet og prosedyren. Resultatene viste en metodepresisjon, gitt som RSD (%), som er lavere enn 2%, tabell 3.6. Den gode metodepresisjonen er et resultat av høy instrumentpresisjonen, og at metoden gjør det enkelt å lage paralleller. Det vil si at de tilfeldige feilene fra tillaging av prøvene er små. På grunn av flere trinn ved tillaging av spesielt plasmaprøvene, blir sjansene større for at tilfeldige feil skal påvirke resultatene og gi dårlige paralleller.

### **Riktighet**

Riktighet av analyseresultatene blir kontrollert ved å benytte standard referansemateriale. Riktighet av en metode beskriver samsvaret mellom sertifisert og målt verdi av et standard referansemateriale. Det standardreferansematerialet som ble brukt hadde en sertifisert verdi på  $0,11 \pm 0,01$  (Non Fat Milk Powder). De oppnådde resultatene var  $0,10 \pm 0,01$  (Tabell 3.4).

De analyserte prøveverdiene ble forkastet dersom verdien av det målte referanse materialet avvek mer enn 10% fra verdien av den sertifiserte referanse verdien (Ernæringsinstituttet, 1998). Ut fra Nordisk metodikomite for næringsmidler (1996) kan en akseptere et avvik på over 10% når det gjelder riktigheten, ved analyser av element ved lave konsentrasjonsnivå, uten at en trenger å korrigere.

## 5.2 VURDERING AV EKSPERIMENTELT DESIGN

Når man skal bestemme den ernæringsmessige verdien til selén i matvarer er biologisk tilgjengelighet viktig. Flere metoder har vært brukt for å bestemme biologisk tilgjengelighet av selén, men metodiske og etiske vanskeligheter kompliserer arbeidet med å få gode data for biologisk tilgjengelighet av selén hos mennesker (Levander, 1986). Forsøk med dyr har vist seg nyttige til å anslå biologisk tilgjengelighet til næringsstoffer hos mennesker (Greger, 1992). Det er mange fordeler forbundet med å bruke dyremodeller. En endring av selénstatus i kroppen vil for eksempel enklest bli målt hos enkelt individer med lav selénstatus. Laboratoriedyr, som f.eks. rotter, er enkle å tappe for selén og vevsprøver er enkle å ta ut. Bruken av dyr i studier av biologisk tilgjengelighet kan gi verdifull informasjon vedrørende metabolismen til selén, men det må understrekes at overføringsverdien til mennesker er begrenset. Ulike måleparametre kan gi ulike resultat for biologisk tilgjengelighet. Dette kan forklares med hypotesen om at utnyttelsesgraden for selén varierer fra art til art, og også innad i artsgruppen, for ulike fysiologiske formål (Combs & Combs, 1986). Begrensningene ved bruk av rotter som modell for mennesker kan f.eks. ligge i forskjellene i matinntak og i energiforbrenning i forhold til kroppsstørrelse (Greger, 1992).

Når man skal bestemme biologisk tilgjengelighet av selén er det anbefalt å holde konsentrasjonen av selén i kosten under det anbefalte nivået for å oppnå maksimal respons når næringsstoffet gis (Fox *et al.*, 1981; Mutanen, 1986). The National Research Council (1978) anbefaler en konsentrasjon på 0.10 µg Se/g fôr for rotter i vekst. Men en undersøkelse utført av Smith & Picciano (1987) antyder, uavhengig av kjemisk form, at denne selénmengden ikke var tilstrekkelig for å oppnå metning hos voksne rotter. I dette forsøket ble ca. 3 uker gamle rotter benyttet og en fôrkonsentrasjon på 0, 0.05, 0.10 og 0.15 µg Se/g ble valgt. I tillegg ble en fôrkonsentrasjon på 0.20 µg Se/g brukt i fôr med selenitt og selenometionin som selénkilde. Grunnen til å velge tre-fire ulike konsentrasjoner er at dette gjør oppdagelsen av metning hos den valgte responsparameteren enklere. Den eksperimentelle modellen som ble brukt i dette forsøket ville dermed tillate fjerning av datapunkter slik at en lineær kurve kunne etableres. De lineære regresjonslinjene muliggjør også ganske enkle statistiske sammenligninger av biologisk tilgjengelighet av selén fra ulike kilder.



### 5.3 FÔRSAMMENSETNING

I dette forsøket ble biologisk tilgjengelighet av selén fra fôr tilsatt graderte konsentrasjoner av selén fra syv forskjellige kilder sammenlignes. Tre av fôrene hadde fiskemuskelmel fra rødspette, torsk og tunfisk som selénkilde. To av fôrene hadde to forskjellige helsekostpreparat og de to siste hadde selenometionin og selenitt som selénkilde. For å kunne sammenligne biologisk tilgjengelighet fra forskjellige fôr, bør fôrene ha likt innhold av protein, energi og andre faktorer som kan virke på biotilgjengeligheten av selén (Greger & Marcus, 1981; Mutanen & Mykkänen, 1984). I forsøket var det kun selénkilde og selénkonsentrasjon som skulle variere.

Ved å tilsette svinefett og sukrose til fôr med fiskemuskelmel, og fiskefett til fôr med høy andel basalfôr, fikk fôrene likt innhold av energi. Tilsetning av fiskeolje burde gi tilstrekkelig mengde  $\omega$ -3 fettsyrer.

Innholdet av metionin og vitamin-E var lavt i basalfôret. Ved kosthold med for lite metionin kan endring i selénmetabolismen oppstå fordi mer selenometionin blir innbygd i proteiner (Sunde et al., 1981) og måling av selénkonsentrasjoner gir høyt innhold av selén som ”kroppen tror er metionin”. Metionin ble derfor tilsatt hvert enkelt fôr. Både vitamin E og selén er antioksidanter som hindrer oksidering av fett (Combs & Combs, 1986). Tilstrekkelig mengde vitamin E er derfor viktig i kosthold med lite selén. DL- $\alpha$ -tokoferylacetat ble derfor tilsatt hvert enkelt fôr i henhold til ”Nutrient Requirements of Laboratory Animals” (NRC, 1978). Både mineral- og vitaminblanding ble tilsatt i overskudd i følge anbefalte konsentrasjoner til NRC (1978).

Ut fra analyser av selén i muskel av rødspette, torsk, tunfisk og helsekostpreparater ble mengden fiskemuskelmel og helsekostpreparat som skulle til for å oppnå ønsket selénkonsentrasjon i fôret beregnet. De målte selénverdiene i de ferdige eksperimentelle fôrene lå i underkant av forventet. Forskjellen mellom estimert og målt selénkonsentrasjon i fôrene kan skyldes at fiskemuskelmelene ble analysert med en annen metode (ETAAS) enn de eksperimentelle fôrene. I tillegg kan noe selén ha gått tapt når selenitt og selenometionin løsningen ble blandet med basalfôret. Men siden dose-respons i det biologiske forsøket ble basert på individuelle seléninntak og ikke selénnivå i fôrene, hadde ikke de ulike selén-

konsentrasjonene i fôrene noen negativ innvirkning på bestemmelsen av den biologiske tilgjengeligheten.

For å sikre god homogenitet i fôrprøvene, ble fôringrediensene gradvis blandet sammen med basalfôret ved tillagingen. De små forskjellene mellom 9 parallelle målinger av hvert fôr, viser at de eksperimentelle fôrene var homogene.

## 5.4 GJENNOMFØRING AV ROTTEFORSØKET

Rotteforsøk er mye brukt for å teste effekten av ulike typer fôr. Ved bruk av dyremodeller i forsøk er det vanlig å starte den eksperimentelle behandlingen av dyrene på samme tid for å unngå tidspunktavhengige variasjoner. En slik tilnærming var ikke praktisk mulig i dette forsøket på grunn av stort antall forsøksdyr. Ved å starte dyrene på ulike dager medførte også uttak på ulike dager og dermed praktisk gjennomførbart. Alle forsøksdyrene gikk i like mange dager på det eksperimentelle fôret og forskyvning i tid var maks 4 dager.

### Fôrinntak og vekst

Alle rottene hadde en fin og jevn vektutvikling gjennom forsøket. Det har vært vist at selénmangel hemmer vekst hos rotter (Sasaki *et al.*, 1994). Selv om rottene som fikk nullfôr hadde et relativt høyt fôrinntak hadde gruppen en tendens til noe svakere vektøkning enn de andre gruppene. Dette kan skyldes at det lave seléninntaket til nullfôrgruppen kan ha hemmet veksten. Rottene som fikk selenitt tilsatt fôret hadde også en tendens til noe svakere vektøkning enn de andre gruppene. Dette kan komme av det relativt lave fôrinntaket disse gruppene hadde.

Rottene som gikk i metabolismebur hadde lavere fôrinntak enn de rottene som gikk i vekstbur. Selv om metabolismegruppene hadde noe lavere fôrinntak, hadde de en tendens til gjennomsnittlig større vektøkning (unntatt selenometionin 0.08 µg/g gruppen). Disse forskjellene kan skyldes at rottene som gikk i metabolismebur ble holdt under mer nøye kontroll enn de som gikk i vanlige vekstbur. En annen forklaring kan være at rottene som gikk i metabolismebur var mer isolert pga. utformingen av burene. Dette førte til mindre muligheter til aktivitet, noe som kan ha medført lavere energiforbruk.

Smaken på fôret så ut til å bestemme fôrinntaket og dermed vekten hos rottene. En annen viktig faktor for vekst til rottene er proteinkvaliteten. Tendensen til økt tilvekst hos de rottene som fikk fiskemuskelmel tilsatt fôret kan altså skyldes en høyere næringsverdi med hensyn til proteinkvaliteten.

## **5.5 BIOLOGISK TILGJENGELIGHET AV SÉLEN**

### **5.5.1 VEKST**

I dette forsøket ble det undersøkt om vekst var mulig å bruke som responsparameter på biologisk tilgjengelighet. Figur 4.2 viser at regresjonslinjene ikke var lineære, og siden lineæritet er en hovedforutsetning ved bruk av slope-ratio som metode bør ikke disse bli brukt. Det kan derfor fastslås at vekst ikke var et godt mål på biologisk tilgjengelighet av selén i dette forsøket. Dette er i overensstemmelse med slutninger i tidligere forsøk (Ørnsrud, 1998). Vekst må derfor bli supplert med andre indikatorer på biologisk tilgjengelighet av selén.

De rottene som fikk fôr med fisk som selénkilde hadde høyere fôrinntak og vektøkning enn de rottene som fikk fôr uten fisk eller med lite fisk. Forskjellene i vektøkning var trolig et utslag av ulike fôrinntak. Den analytiske usikkerheten ville vært mye større dersom det i forsøket hadde blitt brukt enda lavere selén-konsentrasjoner i fôrene enn det som ble brukt.

### **5.5.2 METABOLSK BALANSE**

Absorpsjon og retensjon ble regnet ut for rottene som gikk i metabolismebur. Disse rottene fikk selenitt 0.08 µg/g, selenometionin 0.08 µg/g, helsekostpreparat A 0.08 µg/g, rødspette 0.05 µg/g og tunfisk 0.10 µg/g som selénkilde. Det er antatt at tilnærmet hele utskillelsen av selén var i urin og feces. I balanseforsøk som dette blir det gitt selén i lave konsentrasjoner. Det antas derfor at utskillelsen via lungene er ubetydelig.

## Absorpsjon

Siden absorpsjonen av selén er høy er dette ikke en avgjørende faktor for den biologiske tilgjengelighet til selén (Mutanen, 1986; Fairweather-Tait, 1997). I dette forsøket var også absorpsjonen av selén generelt høy (Tabell 4.3) og så ikke ut til å være en begrensende faktor for biologisk tilgjengelighet av selén. Mengden selén som ble absorbert varierte fra 10 til 24 µg, denne forskjellen kommer først og fremst av de ulike selénkonsentrasjonene i fôret. En mulig forklaring kan være at forskjeller henger sammen med variasjon i sinkinnholdet i de ulike fôrene. House og Welch (1989) påviste at absorpsjonen av selén ble lavere når sinkinntaket økte. Den varierende absorpsjonen kan også skyldes at selén i fiskemuskelmelene foreligger i en blanding av forskjellige selénforbindelser som absorberer i forskjellig grad. Helsekostpreparat A hadde signifikant lavest absorpsjon og relativ absorpsjon ( $p < 0.05$ ).

Dette forsøket viste at selén fra forskjellige kilder metaboliseres forskjellig. For helsekostpreparat A ser fordøyelsen ut å være mer begrensende ettersom en mindre del av selén fra fôret blir absorbert. Absorpsjonen av selén fra rødspette og tunfisk var nesten det doble av den for helsekostpreparat A. Absorpsjonen av selén fra torsk ble ikke testet i dette oppsettet men er tidligere funnet å ha en god absorpsjon (Knudsen *et al.*, 1992).

Greger og Marcus (1981) antyder at selenitt ble dårligere absorbert i lav-protein fôr. Forskjell i inntak av protein kan derfor være en forklaring på ulik absorpsjon av selén. Forsøket viser at selenometionin ble bedre absorbert enn selenitt, noe som samsvarer med tidligere forsøk (Bopp *et al.*, 1982; Lorentzen, 1990; Swanson *et al.*, 1991). Den lave relative absorpsjonen til helsekostpreparat A kan vise at preparatet består av en svært liten del selenometionin. Rødspette og tunfisk hadde nesten dobbelt så høy relativ absorpsjon prosent som helsekostpreparat A. Dette tyder på at noe selén fra de to fiskefôrene kan være selenometionin. Forsøksfôret viser at rottene absorberte rene former (selenitt, selenometionin) for selén bedre enn naturlig selén (rødspette, tunfisk) i maten. Dette samsvarer med resultater som Lorentzen (1990) har funnet. Resultatet er ikke usannsynlig fordi de rene formene ikke er innebygd i protein som må nedbrytes før absorpsjon, men er direkte tilgjengelig for absorpsjon. Gruppen som fikk tunfisk hadde dobbelt så høyt seléninntak (µg) i forhold til gruppen som fikk rødspette. Likevel har rødspette en bedre relativ absorpsjon (Tabell 4.3). Dette kan skyldes at selén i fiskemuskelmelene foreligger i en blanding av forskjellige selénforbindelser som absorberer i forskjellig grad. Forsøket viser at det er forskjell i

metabolisme av selén fra de ulike fiskeslagene, dette skyldes trolig at selén foreligger bundet i ulike protein.

Andre uidentifiserte faktorer i de eksperimentelle fôrene kan ha påvirket selén absorpsjonen. F.eks. ulikt innhold av forbindelser som konkurrerer om de samme transportmekanismene som selénformene, som for eksempel svovelholdige analoger til de selénholdige forbindelsene.

Det hadde vært interessant å tatt med de rottene som fikk torsk som selénkilde i metabolismebur. Tidligere undersøkelser på FDE viser at torskefôr gitt til rotter ble best absorbert med ca. 90% gjennom en forsøksperiode på 10 dager sammenlignet med selenometionin (83%), uer (79%), selenitt (74%) og sild (74%) (Lorentzen, 1990; Knudsen *et al.*, 1992). I tillegg hadde det vært interessant å sett forsøksoppsettet over tid. Kanskje en da kunne observert en avtagende absorpsjon i forsøksperioden?

### **Retensjon**

Det er ikke tilstrekkelig å bare studere absorpsjon for å vurdere den biologiske tilgjengeligheten av selén. Retensjon gir et bedre bilde av mengden som blir benyttet i organismen. Ved en god regulering blir det ikke retinert mer i organismen enn det som kan utnyttes.

Total selénretensjon relativt til seléninntak var generelt høyt. Resultatene viser at de fem ulike kildene var signifikant forskjellig ( $p < 0.05$ ) fra hverandre. Mellom gruppene var det forskjeller i mengden selén som ble skilt ut i urin. Selén fra selenitt og tunfisk hadde høyest mengde selén utskilt i urin. Henholdsvis 16 og 18% av inntatt mengde selén ble funnet i urin, og det var mye høyere enn både hos de rottene som fikk selén fra helsekostpreparat A og selenometionin. Likevel er det i samsvar med andre undersøkelser der selenitt hadde høy utskillelse i urin i forhold til selenometionin og fiskemuskelmel (Lorentzen, 1990). Resultatene stemmer også med observasjoner om at uorganisk selén har en høyere nyreklarering enn organisk bundet selén (Swanson *et al.*, 1991). Dette kan indikerer at tunfisk har en høy andel av uorganiske selén former. Funnene i dette rotteforsøket viste at dyrene retinerte mer selén fra selenometionin og selenitt enn selén fra rødspette, tunfisk og helsekostpreparat A. Denne ulikheten kan skyldes at rene former for selén tas bedre opp, og resulterer i høyere konsentrasjon i organ. Den høye retensjonen av selén fra selenometionin

kan også skyldes høyere grad av uspesifikk innbygging av selenometionin i proteiner. For selén fra helsekost-preparat A ser det ut som fordøyelsen har vært begrensende, siden helsekostpreparat A hadde lavest relativ retensjon.

### 5.5.3 ORGANRETENSJON AV SELÉN

Selénkonsentrasjonen ble målt i femur, lever, muskel og plasma. Responsparametrene som ble brukt i dette forsøket kan ses på som gode indikatorer på selénstatus i kroppen siden alle parameterne var følsomme for endringer av selénnivå i kosten. Slope-ratio ble brukt for å sammenligne resultatene, og er vist i figur 4.3 – 4.6. Regresjonskoeffisienten er et mål på hvor effektivt kosten har blitt utnyttet. Rottene som fikk selenometionin hadde retinert mer selén i lever og muskel enn de som fikk selenitt. Dette samsvarer med tidligere forskning der selenometionin fra kosten økte selénkonsentrasjonen i muskel i større grad enn selenitt (Lorentzen *et al.*, 1994) og selenat (Deagen *et al.*, 1987; Behne *et al.*, 1991). Denne forskjellen kan skyldes at selenometionin lettere innbygges uspesifikt i protein enn selenitt. Forklaringen kan også være at det ikke skilles mellom metionin og selenometionin ved proteinsyntese (Levander, 1976; Behne *et al.*, 1991). Oppkonsentrering av selén skulle derfor forekomme i vev med høyt metionininnhold, som f.eks. skjelettmuskel (Windisch *et al.*, 1998).

Generelt sett, kan oppkonsentrering av selén i vev bli tolket som et tegn på at selenometionin har en overlegen biologisk tilgjengelighet i forhold til selenitt. Men siden selenometionin innbygges i generelle kroppsproteiner, vil ikke selénivået i vevet vise den fysiologiske selénstatusen i kroppen. Kroppen gjenkjenner ikke selenometionin som selén, og er ikke i stand til å trekke ut selén fra vev som inneholder selenometionin (Windisch *et al.*, 1998). Men selenometionin i vevet fungerer trolig som en viktig kilde for selén over tid p.g.a. omsetning av kroppsproteiner (Sunde *et al.*, 1981).

Ved bruk av torsk som selénkilde ble en høy andel selén retinert i muskel, dette viser at selén kan være tilstede som selenometionin. Til en viss grad viser også oppsamling av selén i muskel at noe selén kan være tilstede som selenometionin i rødspette og tunfisk.

Både muskel, femur, lever og plasma ble mettet av selén fra selenitt etter 28 dager. I tillegg ble lever og plasma mettet av selén fra selenometionin. Metningen tyder på at selén var

primært tilstede i biologisk aktive selénoproteiner. Det faktum at metning ikke ble oppnådd verken for femur, lever, muskel eller plasma fra fiskemuskelmel, kan tyde på at noe selén fra fiskeartene var selenometionin uspesifikt innbygd i proteiner. Metning indikerer at 28 dager kan være en for lang forsøksperiode.

Resultatene ved bruk av femur som responsparameter er vanskelig å forklare. Både selen fra selenitt, tunfisk, selenometionin og torsk går til en viss grad inn i mineralstrukturen, mens for rødspette, og helsekostpreparat A og B foreligger selén i en form som ikke retineres i stor grad i femur.

Lever er direkte knyttet til metabolismen av selén. Resultatene viser at selén fra selenometionin ble bedre retinert enn selenitt. Dette kan tolkes som om protein-omsetningen har gjort større mengder selén fra selenometionin tilgjengelig for omgjøring i leveren, og dermed bedre retinert enn selenitt. Metningstendensen som regresjonslinjen for lever viste kan støtte antagelsen om at proteinomsetningen har gjort mer selén fra selenometionin tilgjengelig for bearbeiding og syntese av aktive selenproteiner. Resultatene viser at selén fra rødspette, helsekostpreparat B og A ikke var tilgjengelig for prosessering. Selén fra torsk og tunfisk var ikke signifikant forskjellig fra selenometionin, for lever som responsparameter, dette viser at noe selén kan foreligge som selenometionin eller en annen form som er tilgjengelig.

Plasma ble valgt som responsparameter til fordel for fullblod. Når heparinisert fullblod står, vil blodlegemene synke til bunns. Ved å sentrifugere heparinisert fullblod går denne prosessen raskere og det blir lett å ta ut plasma. I fullblod er jernkonsentrasjonen høy (ca. 500 µg/ml) og jernet kan forårsake interferens ved den bølgelengden der selén absorberer energi (196,0 nm). I plasma derimot, er jerninnholdet mye lavere (ca. 1µg/ml) og interferens fra jern er redusert. Plasma er hovedsakelig et transportmedium for selén til ulike organ og gjenspeiler seléninntaket i den siste tiden. Plasmaselén er dermed et godt mål for korttids selénstatus. Resultatene viste at plasmaselén ikke gir et godt bilde av selénstatus når inntaket er over et visst nivå. Metning som regresjonslinjen for plasma viste ved selén fra selenitt og selenometionin bekrefter dette. *Forskjell i retensjon av selén i plasma skyldes ulike kjemiske former. Resultatene kan vise at selén fra tunfisk transporteres fort fra plasma til lever. Mens derimot selén fra rødspette blir en noe høyere andel målt i plasma. Som igjen kan forklare det lave nivået av selén fra rødspette i lever, fordi selén på en eller annen måte blir holdt tilbake i plasma eller at selén fra rødspette har et forsinket opptak i lever.*

Totalt sett viste resultatene for organretensjon som mål på biologisk tilgjengelighet at selén i tunfisk foreligger i en kjemisk form som er vanskelig å utnytte. Dette kan forklares med kompleksing til kvikksølv (Ganther *et al.*, 1972) eller andre tungmetaller. Resultatene viser også at selén i rødspette foreligger i kjemisk form som delvis hemmer retensjonen i organ, spesielt i lever. Lavere retensjon av selén i organ fra helsekostpreparat A og B enn fra selenitt basert på alle responsparametrene etter 28 dager, indikerte at selén fra preparatene ikke består av selenometionin. Den dårlige biologiske tilgjengeligheten til helsekostpreparatene var en gjennomgående trend. En forklaring kan være at det eksisterer en hemmende faktor i gjærpreparatene.





## 6 KONKLUSJON

### **Den eksperimentelle modellen**

Modellen som ble brukt i forsøket fungerte godt. Regresjonslinjene ga fine, rette og sammenlignbare kurver. Selénretensjon i femur, muskel, lever og plasma kan betraktes som gode responsparametre fordi de aller er følsomme for endring av selénnivå i kosten. Muligheten for å bruke vekst som responsparameter for biologisk tilgjengeligheten av selén ble imidlertid avvist, fordi effekten av selén på vekst var altfor diffus til å bli brukt i studier av biologisk tilgjengelighet ved bruk av slope-ratio modell.

### **Sammenligning av biologisk tilgjengeligheten av selén fra fisk og helsekostpreparater**

Resultatene viste at absorpsjon av rene kjemiske former for selén var høyere enn for naturlig selén (rødspette, tunfisk). Videre viste forsøket at selenometionin ble bedre absorbert enn selenitt. Selén fra selenometionin viste også høy retensjonsgrad, noe som kan skyldes høy grad av uspesifikk innbygging av selenometionin i protein. For helsekostpreparat A ser fordøyelsen ut å være mer begrensende ettersom en mindre del av selén fra fôret ble absorbert. Den lave relative absorpsjonen til helsekostpreparat A kan vise at preparatet inneholder bare en svært liten del selenometionin. Absorpsjonen av selén fra rødspette og tunfisk var nesten det dobbelte av den for helsekostpreparat A. Torsk er i tidligere forsøk funnet å ha en god absorpsjon. Forsøket viste at det er forskjell i metabolisme av selén fra de ulike fiskeslagene, dette kan skyldes at selén foreligger bundet i ulike protein.

Organretensjon som mål på biologisk tilgjengelighet av selén viste at en høy andel selén fra torsk ble retinert både i muskel, femur, lever og plasma. Det viste seg helt klart at torsk som kilde til selén har den beste biologiske tilgjengeligheten i dette forsøket. Resultatene for rødspette og tunfisk som selénkilde er vanskeligere å tolke. Resultatene med lever som en viktig responsparameter viste at noe selén fra tunfisk retineres, mens selén fra rødspette ikke er tilgjengelig for prosessering i lever. Derimot hadde selén fra rødspette en bedre retensjon i forhold til inntaket, enn selén fra tunfisk. En totalvurdering av organretensjon viste at selén i fra tunfisk og rødspette hadde like god biologisk tilgjengelighet. Signifikant dårligst biologisk tilgjengelighet hadde selén fra helsekostpreparatene. Lavest retensjon i organ av selén fra helsekostpreparat A og B enn fra selenitt basert på alle responsparametrene etter 28 dager,

indikerer at selén fra helsekostpreparatene ikke består av selenometionin, slik som beskrevet på varedeklarasjonene. Forsøket viste at en heller bør velge et helsekostpreparat av selenitt som har bedre biologisk tilgjengelighet av selén enn preparater av bio- selén. Forskjell i konsentrasjon av selén trenger ikke nødvendigvis skyldes ulike kjemiske former, men det faktum at det i dette forsøket ble funnet varierende absorpsjon. For både selén fra helsekostpreparat A og B var den tilsynelatende absorpsjonen av selén begrensende for den biologiske tilgjengelighet av selén.

Sammenligning av den biologiske tilgjengeligheten av selén fra rødspette, torsk, tunfisk og gjærbaserte helsekostpreparater, konkluderes i følgende rekkefølge:

torsk > tunfisk/ rødspette > helsekostpreparat A og B

## LITTERATURLISTE

- Alexander, A.R., Whanger, P.D. & Miller, L.T. (1983) Bioavailability to rats of selenium in various tuna and wheat products. *J. Nutr.*, 113, 196 - 204.
- Alfthan, G., Aro, A., Arvilommi, H. & Huttunen, J.K. (1991) Selenium metabolism and platelet glutathione peroxidase activity in healthy Finnish men: effects of selenium yeast, selenite, and selenate. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 120-125.
- Anundi, I., Högberg, J. & Ståhl, A. (1984) Absorption of selenite in the rat small intestine: Interactions with glutathione. *Acta. Pharm. Tox.*, 54, 273-277.
- Aro, A. (1993) Disorders related to selenium deficiency in man. *Norwegian J. Agric. Sci.*, 11, 127-133.
- Behne, D. & Wolters, W. (1983) Distribution of selenium and glutathion peroxidase in the rat. *J. Nutr.*, 113, 456-461.
- Behne, D., Kyriakopoulos, A., Scheid, S. & Gessner, M. (1991) Effects of chemical form and dosage on the incorporation of selenium into tissue proteins in rats. *J. Nutr.*, 121, 806-814.
- Bopp, B.A., Sonders, R.C. & Westerton, J.W. (1982) Metabolic fate of selected selenium compounds in laboratory animals and man. *Drug Metab. Rev.* 13, 271-318.
- Burk, R.F. (1991) Molecular biology of selenium with implications for its metabolism. *FASEB J.*, 5, 2274-2279.
- Burk, R.F. & Hill, K.E. (1993) Regulation of selenoproteins. *Annu. Rev. Nutr.* 13, 65-81.

- Cantor, A.H., Moorhead, P.D. & Musser, M.A. (1981) Biological availability of selenium in selenium compounds and feed ingredients. In: *Selenium in Biology and Medicine* (Spallholz, J.E, Martin, J.L. & Ganther, H.E., eds.), Westport, CT, AVI Publishing Co, 192-202.
- Chen, X., Chen, X., Yang, G., Wen, Z., Chen, J. & Ge, K. (1981) Relation of selenium deficiency on the occurrence of Keshan disease. In: *Selenium in Biology and Medicine* (Spallholz, J.E, Martin, J.L. & Ganther, H.E., eds.), Westport, CT, AVI Publishing Co, 171-175.
- Clark, L.C. (1996) Effects of Selenium Supplementation for Cancer Prevention in Patients With Carcinoma of the Skin. A Randomized Controlled Trial. *JAMA*, 276, 1957-1963.
- Combs, G.F. & Combs, S.B. (1984) The nutritional biochemistry of selenium. *Ann. Rev. Nutr.*, 4, 257 – 280.
- Combs, G.F. & Combs, S.B. (1986) The role of selenium in nutrition. Academic Press, USA
- Crooke, W.M. & Simpson, W.E. (1971) Determination of ammonium in Kjeldahl digest of crops by an automated procedure. *J. Sci. Food Agric.* 22, 9-11.
- Deagen, J.T., Butler, J.A., Beilstein, M.A. & Whangen, P.D. (1987) Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethionine on selenocysteine lyase and glutathione peroxidase activities on selenium levels in rat tissues. *Journal of Nutrition*, 117, 91-98.
- Diplock, A.T. (1987) Trace elements in human health with special reference to selenium. *Am. J. Clin. Nutr.* 45, 1313-1322.
- Diplock, A.T. (1993) Indexes of selenium status in human populations. *Am. J. Clin. Nutr. Suppl.* 57, 256S-258S.

- Douglass, J. S., Morris, V.C., Soares Jr., J.H. & Levander, O.A. (1981) Nutritional availability to rats of selenium in tuna, beef, kidney and wheat. *J. Nutr.*, 111, 2180–2187.
- Ducros, V., Richard, M.J., & Favier, A. (1994) The distribution of selenium in human plasma proteins for 24 hours after ingestion of <sup>74</sup>Se (in sodium selenite form). *J. Inorg. Biochem.*, 55, 157-163.
- Ekermans, L.G. & Schneider, J.V. (1982) Selenium in livestock production: A review. *S. Afr. Vet. Ass., J.*, 53, 223-228.
- Ernæringsinstituttet (1998) *Kvalitetshåndbok for Fiskeridirektoratets ernæringsinstitutt*, utgave 1.2, Bergen.
- Esaki, N., Nakamura, T., Tanaka, H., Suzuki, T., Morino, Y. & Soda, K. (1981) Enzymatic synthesis of selenocysteine in rat liver. *Biochemistry*, 20, 4492-4496.
- Esaki, N., Nakamura, T., Tanaka, H. & Soda, K. (1982) Selenocysteine lyase, a novel enzyme that specifically acts on selenocysteine. *J. Biol. Chem.* 257, No. 8, 4386-4391.
- Eskeland, B. (1988) Mineraler: Forekomst og tap under ulike matvarefremstillingsprosesser. *InforMAT 1*, 99-101.
- Fairweather-Tait, S.J. (1992) Bioavailability of trace elements. *Food Chem.*, 43, 213-217.
- Fairweather-Tait, S.J. (1997) Bioavailability of selenium. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51, 20-23.
- Forbes, R.M. & Erdman Jr., J.W. (1983) The bioavailability of trace mineral elements. *Ann. Rev. Nutr.*, 3, 213-231.
- Fox, M.R.S., Jacobs, R.M., Jones, A.O.L., Fry, B.E., Rakowska, M., Hamilton, R.P., Harland, B.F., Stone, C.L. & Tao, S.H. (1981) Animal models for assessing bioavailability of essential and toxic elements. *Cereal. Chem.*, 58, 6-11.

- Fritz, J.C. & Pla, G.W. (1972) Application of the animal hemoglobin repletion test to measurement of iron availability in foods. *J. AOAC.*, 35, 1128-1132.
- Frøslie, A., Karlsen, J.T. & Rygge, J. (1980) Selenium in animal nutrition in Norway. *Acta Agric. Scand.*, 30, 17-25.
- Frøslie, A., Moksnes, K. & Øvernes, G. (1985) The effect of selenium supplementation of animal feeds in Norway. *Acta Agric. Scand.*, 35, 139-152.
- Ganther, H.E., Goudie, C., Sunde, M.L., Kopecky, M.J., Wagner, P., Oh, S. & Hoekstra, W.G. (1972) Selenium: relation to decreased toxicity of methyl mercury added to diets containing tuna. *Science* 175, 1122-1124.
- Ge, K. & Yang, G. (1993) The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China. *Am. J. Nutr. Suppl.* 57, 259-263.
- Greger, J.L. (1992) Using animals to assess bioavailability of minerals: Implications for human nutrition. *J. Nutr.* 122, 2047-2052.
- Greger, J.L. & Marcus, R.E. (1981) Effect of dietary protein, phosphorus, and sulphur amino acids on selenium metabolism of adult males. *Ann. Nutr. Metab.*, 25, 97-108.
- He, C.K., Liu, S.G. & Wu, Z.S. (1988) The observation on the effect of oral supplementation of sodium selenite on Kashin-Beck disease. *Chin. J. Endemiol.*, 7, 242-243.
- Higgs, D.L., Morris, V.C. & Levander, O.A. (1972) Effect of cooking on selenium content of foods. *J. Agric Food Chem.*, 20, 678.
- Holden, J.M., Gebhardt, S., Davis, C.S. & Lurie, D.G. (1991) A nationwide study of the selenium contents and variability in white bread. *J. Food Comp. Anal.*, 4, 183-195.

- House, W.A. & Welch, R.M. (1989) Bioavailability of and interactions between zinc and selenium in rats fed wheat grain intrinsically labeled with  $^{65}\text{Zn}$  and  $^{75}\text{Se}$ . *J. Nutr.* 119, 916-921.
- Högberg, J. & Alexander, J. (1986) Selenium. In: *Handbook on the Toxicology of Metals* (Friberg, L., Nordberg, G.F., Vouk, V.B., red.), Vol. 2, 2<sup>nd</sup> ed., Elsevier, Amsterdam, 482-520.
- Jonsson, I. (1992) Mineralämnen. I: *Näringslära för högskolan* (Beckman-Ståhl, A-M. & Salomon, A., red.), Almqvist & Wiksell Förlag AB, Malmö, Sverige, 107-109/144-148.
- Julshamn, K., Ringdal, O., Slinning, K-E. & Brækkan, O.R. (1982) Optimization of the determination of selenium in marine samples by atomic absorption spectrometry: Comparison of a flameless graphite furnace atomic absorption system with a hybride generation atomic absorption system. *Spectrochimica Acta*, Vol. 37B, No. 6, 473-482.
- Knudsen, E.R., Lorentzen, M.K. & Julshamn, K. (1992) Biological availability to rats of selenium from cod (*Gadus morhua*) and selenomethionine relative to sodium selenite. *Fisk. Dir. Skr. Ern.* 5, (2).
- Lajunen, L.H.J. (1992) Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission. *The Royal Society of Chemistry*.
- Levander, O.A. (1976) Selected aspects of the comparative metabolism and biochemistry of selenium and sulfur. In: *Trace elements in human health and disease* (Prasad, ed.) 2, 135-164.
- Levander, O.A. (1986) In: *Trace elements in human and animal nutrition* (Mertz, W. ed.) 5<sup>th</sup> edition, Vol. 2, 209-266, Academic Press, Florida, USA.
- Levander, O.A. (1987) In: *Modern Nutrition in health and disease* (Shils, M.E., Olson, J.A. & Shike, M. eds.) 8<sup>th</sup> edition, Vol. 1, 242-251, Lea & Febiger, Philadelphia, USA.



- Levander, O.A. & Burk, R.F. (1994) Selenium. In: *Modern nutrition in health and disease*, 8<sup>th</sup> ed. (Shils, M.E., Olson, J.A., Shike, M., eds.) Lea & Febiger, USA, 242-251.
- Levander, O.A., DeLoach, D.P., Morris, V.C., Moser, P.B. (1983) Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. *J. Nutr.*, 113, 55-63.
- Levander, O.A., Sutherland, B., Morris, V.C. & King, J.C. (1981) Selenium balance in young men during selenium depletion and repletion. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 2662-2669.
- Liang, S.T. (1984) Observation on the preventive effect of selenium against Kaschin-Beck disease. In: *Collection of the investigation of Kaschin-Beck disease in Yangshou County in 1979-1982.*, 142-147.
- Lie, Ø., Lied, E., Måge, A., Njaa, L.R. & Sandnes, K. (1994) Nutrient content of fish and shellfish. *Fisk. Dir. Skr. Ern.*, 6, 83-105.
- Lorentzen, M.K. (1990) Fiskemel som selénkilde - en vurdering av forskjellige selénformers biologiske tilgjengelighet hos rotter med lav selénstatus. Hovedfagsoppgave, Universitetet i Bergen /FDE.
- Lorentzen, M.K., Maage, A. Og Julshamn, K. (1994) Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 121, 359-367.
- Luo, X., Wei, H., Yang, C., Xing, J., Xing, L., Qiao, C., Feng, Y., Liu, J., Liu, Y, Wu, Q., Liu, X., Guo, J., Stoecker, B.J., Spallholz, J.E. & Yang, S.P. (1985) Bioavailability of selenium to residents in a low-selenium area of China. *Am. J. Clin. Nutr.* 42, 439-448.
- McConnell, K.P. & Cho, G.J. (1965) Transmucosal movement of selenium. *Am. J. Physiol.*, 208, 1191-1195.
- Meltzer, H.M. (1995) Selenium bioavailability and interactions in humans – Eksperimental

- studies. Ph.D dissertation, Nordic School of Nutrition, Faculty of Medicine, University of Oslo.
- Meltzer, H.M., Bibow, K., Paulsen, I.T., Mundal, H., Norheim, G. og Holm, H. (1993) Different bioavailability in humans of wheat and fish selenium as measured by blood platelet response to increased dietary Sé. *Biol. Trace Elem. Res.*, 229-241.
- Mitchell, A., Bale, A.E., Lee, B.J., Hatfield, D., Harley, H., Rundle, S.A., Fan, Y.S., Fukushima, Y., Shows, T.B. & McBride, O.W. (1992) Regional localization of the selenocysteine tRNA gene (TRSP) on human chromosome 19. *Cytogenet Cell Genet*, 61, 117-120.
- Morris, V.L. & Levander, O.A. (1970) Selenium content of food. *J. Nutr.*, 100, 1383-1388.
- Mutanen, M. (1986) Bioavailability of selenium. *Ann. Clin. Res.*, 18, 48-54.
- Mutanen, M. & Mykkänen, H.M. (1984) Effect of dietary fat on plasma glutathione peroxidase levels and intestinal absorption of <sup>75</sup>Se-labeled sodium selenite in chicks. *J. Nutr.*, 114, 829-834.
- National Research Council, NRC (1978) Nutrient Requirements of Laboratory Animals. *National Academy of Sciences*, Washington D.C., USA, 3.opplag, 10, 7-37
- Nord 91: 40: Risk evaluation of health food products - report of a Nordic project group. *Nordisk Ministerråd*.
- Nordiska Näringsrekommendationer 1996 (1996) *Nord 1996:28*. Nordisk Ministerråd, Nordisk forlagshus, København.
- Nordisk metodikkomite for næringsmidler (1996) Validering av kjemiske analysemetoder. *NMKL-prosedyre 4.*, NMKLs generalsekretariat, Finland.
- Næringsmiddeltilsynet i Indre Østfold (1994) Rapport fra prosjekt helsekost - en gjennomgang av helsekostprodukter i helsekostforretninger og to helsestudioer. Mysen.

- Ochoa-Solano, A. & Gitler, C. (1968) Incorporation of  $^{75}\text{Se}$ -Selenomethionine and  $^{35}\text{S}$ -Methionine into chicken egg white proteins. *J. Nutr.*, 94, 243-248.
- Patterson, B.H., Levander, O.A., Helzlsouer, K., McAdam, P.A., Lewis, S.A, Taylor, P.R., Veillon, C. & Zech, L.A. (1989) Human selenite metabolism: a kinetic model. *Am. J. Physiol.*, 257, R5 56- 67.
- Patterson, R.H. & Zech, L.A. (1992) Development of a model for selenite metabolism in Humans. *J. Nutr.* 122, 709-714.
- Robinson, M.F., Rea, H.M., Friend, G.M., Steward, R.H.D., Snow, P.C. & Thomson, C.D. (1978) On supplementing the selenium intake of New Zealanders. 2. Prolonged metabolic experiments with daily supplement of selenomethionine, selenite and fish. *Br. J. Nutr.*, 39, 589-600.
- Robinson, M.F. & Thomson, C.D. (1983) The role of selenium in the diet. *Nutr. Abst. Rev. Clin. Nutr.*, 53, 3-26.
- Roti, E., Minelli, R., Gardini, E., Bianconi, L., Ronchi, A., Gatti, A. & Minoia, C. (1993) Selenium administration does not cause thyroid insufficiency in Subjects with mild iodine deficiency and sufficient selenium intake. *J. Endocrinol. Invest.*, 16, 481-484.
- Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B. & Hoekstra, W.G. (1973) Selenium: biochemical role as a component of glutathion peroxidase. *Science*, 179, 588-590.
- Salonen, J.T., Alfthan, G., Pikkarainen, J., Huttunen, J.K. and Puska, P. (1982) Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matchedpair longitudinal study. *Lancet*, 2: 175-178.
- Sasaki, S., Iwata, H., Ishiguro, N., Habuchi, O. & Miura, T. (1994) Low-selenium diet, bone,

- and articular cartilage in rats. *Nutrition* 10(6), 538-543.
- Schubert, A., Holder, J.M. & Walf, W.R. (1987) Selenium content of a core group of foods based on a critical evaluation of published analytical data. *J. Amer. Dietetic Association* 87, 285-299.
- Schwarz, K. & Foltz, C.M. (1957) Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver generation. *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 3292-3293.
- Sharma, S. & Singh, R. (1983) Selenium in soil, plant and animal systems. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 13, 23-53.
- Shi, B. & Spallholz, J.E. (1994a) The bioavailability of selenium from raw and cooked ground beef assessed in selenium deficient Fisher rats. *J. Amer. College of Nutrition*, 13, 95-101.
- Shi, B. & Spallholz, J.E. (1994b) Selenium from beef is highly bioavailable as assessed by liver glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activity and tissue selenium. *Br. J. Nutr.*, 72, 873-881.
- Simopoulos, A.P. (1986) Summary of the conference on the health effects of poly-unsaturated fatty acids in seafood. *J. Nutr.*, 116, 2350-2354.
- Skoog, D.A. & West, D.M. (1982) *Fundamentals of analytical chemistry.*, 249-251.
- Smith, A.M. & Picciano, M.F. (1987) Relative bioavailability of Seleno-compounds in the lactating rat. *J. Nutr.* 117, 725-731.
- Statens Ernæringsråd (1997) *Norske næringsstoffanbefalinger 1997.*
- Statens næringsmiddeltilsyn (1986) *Forskrift for produksjon og frambud m.v. av vitamin- og mineraltilskudd av 25. sep. 1986, nr 1918.*

- Statens næringsmiddeltilsyn/ Helsedirektoratet (1992) Forvaltning av helsekostpreparater. Rapport fra en prosjektgruppe. Oslo.
- Stewart, R.H., Griffiths, N.M., Thomson, C.D. & Robinson, M.F. (1978) Quantitative selenium metabolism in normal New Zealand women. *Br. J. Nutr.*, 40, 45-54.
- Sunde, R.A., Gutzke, G.E. & Hoekstra, W.G. (1981) Effect of dietary methionine on the biopotency of selenite and selenomethionine in rat. *J. Nutr.* 111, 76-86.
- Sunde, R.A. (1984) In: *Trace elements in Human and Animal Nutrition* (Mertz, W. Ed.) 5<sup>th</sup> edition, Vol. 2, 209-266. Academic Press, Florida, USA.
- Swanson, C.A., Patterson, B.H., Levander, O.A., Veillon, C., Taylor, P.R., Helzlouer, K., McAdam, P.A. & Zech, L.A. (1991) Human [<sup>74</sup>Se]selenomethionine metabolism: a kinetic model. *Am. J. Clin. Nutr.*, 257, 556-557.
- Thomson, C.D., Robinson, M.F., Campbell, D.R. & Rea, H.M. (1982) Effect of prolonged supplementation with daily supplements of selenomethionine and sodium selenite on glutathione peroxidase activity in blood of New Zealand residents. *Am. J. Clin. Nutr.*, 36, 24-31.
- Varo, P., Alfthan, G., Huttunen, J.K. & Aro, A. (1994) Nationwide selenium supplementation in Finland – effects on diet, blood and tissue levels and health. In: *Selenium in Biology and Medicine*. (Burk, R.F., ed.) Springer, New York, 198-218.
- Wen, H.Y., Davis, R.L., Shi, B., Chen, J.J., Chen, L., Boylan, M. & Spallholz, J.E. (1997) Bioavailability of selenium from veal, chicken, beef, pork, lamb, flounder, tuna, seleno-methionine and sodium selenite assessed in selenium-deficient rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 229-241.
- Whanger, P.D., Pedersen, N.D., Hatfield, J. & Westvig, P.H. (1976) Absorption of selenite and selenomethionine from ligated digestive tract segments in rats. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 153, 295-301.

- Willett, W.C. & Stampfer, M.J. (1988) In: *Modern Nutrition in health and disease* (Shils, M.E., Olson, J.A. and Shike, M. eds) 8<sup>th</sup> edition, Vol. 1, 242-251, Lea & Febiger, Philadelphia, USA.
- WHO (1987) Selenium. *Environmental Health Criteria 58*, World health Organization, Geneva.
- Windisch, W., Gabler, S. & Kirchgessner, M. (1998) Effect of selenite, seleno cysteine and seleno methionine on the selenium metabolism of <sup>75</sup>Se labeled rats. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 78, 67-74.
- Wu, H.Y., Xia, Y.M., Ha, P.C. & Chen, X.S. (1997) Changes in myocardial thyroid hormone metabolism and  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase activity in rats deficient in iodine and selenium. *Br. J. Nutr.*, 78, 671-676.
- Yang, G.Q. (1966) Research on the etiology of an endemic disease characterized by loss of nails and hair i Enshi county. A preliminary report, *The Chinese Academy of Medical Sciences*.
- Yang, G.Q., Wang, S., Zhou, R. & Sun, S. (1983) Endemic selenium intoxication of human in China. *Am. J. Clin. Nutr.*, 37, 872-881.
- Yang, G.A, Zhu, L.Z., Liu, S.J., Gu, L-Z., Qian, P-C, Huan, J-H (1987) Human selenium requirements in China. In: *Selenium in biology and medicine* (Combs, G.F., Spallholz, J.E., Levander, O.A & Oldfield, J.E., eds.) New York: Nostrand Rheingold/AVI, 587-607.
- Yang, G., Yin, S., Zhou, R., Gu, L., Yan, B., Liu, Y. & Liu, Y. (1989) Studies on safe maximal daily dietary Se-intake in a seleniferous area in China. *J. Trace. Elem. & Electrolytes Health Dis.*, 3, 123-130. (fra Nordiska næringsrek)

Zar, J.H. (1996) Biostatistical analysis. Third Edition, Department of Biological Sciences, Northern Illinois University.

Ørnsrud, R. (1998) Bioavailability of selenium from selenomethionine-enriched ("tailor-made") filets of Atlantic salmon. Hovedfagsoppgave, Universitetet i Bergen /FDE.

Aaseth, J. & Vaaler, S. (1987) Mineraler og helsekost - medisin for alle? Universitetsforlaget AS, 33-40.

Aaseth, J., Frey, H., Glatte, E., Norheim, G., Ringdal, J., Thomassen, Y. (1990) Selenium concentration in the human thyroid gland. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 24, 147-152.

VEDLEGG I Enkeltdata for inntak av fôr og selén og vekt ved 0, 7, 14, 21 og 28 dager.

Selénkilde	Rotte	Inntak	Inntak	Vekt	Vekt	Vekt	Vekt	Vekt	
Nivå	nr.	av fôr	av Sé	dag 0	dag 7	dag14	dag 21	dag 28	
µg/g		(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	
Nullfôr	0,00	24	373,6	0,4	60,0	75,1	95,6	121,0	132,9
		48	390,7	0,4	67,2	86,3	109,7	141,4	172,9
		72	376,9	0,4	61,1	75,9	100,4	124,7	152,9
		96	362,5	0,4	67,0	86,9	103,8	131,5	153,8
		120	397,0	0,4	78,7	94,0	119,1	151,7	188,8
Gj.snitt		380,1	0,4	66,8	83,6	105,7	134,1	160,3	
Selenitt	0,05	1	352,5	17,1	70,0	80,1	105,5	132,0	166,4
		25	359,0	17,4	58,9	69,6	98,1	126,3	144,6
		49	356,1	17,3	54,0	68,7	93,7	124,7	156,0
		73	365,0	17,7	63,7	71,9	98,4	128,4	159,0
		97	364,6	17,7	56,8	73,5	104,2	133,4	165,6
Gj.snitt		359,4	17,4	60,7	72,8	100,0	129,0	158,3	
Selenitt	0,08	2	364,8	29,4	57,9	73,3	102,4	132,8	169,6
		26	347,0	27,9	63,6	81,3	111,7	142,5	165,7
		50	345,2	27,8	58,4	71,0	95,9	127,0	146,7
		74	365,0	29,4	55,6	73,2	104,0	135,5	172,3
		98	317,3	25,5	53,4	76,2	101,2	119,9	148,1
Gj.snitt		347,9	28,0	57,8	75,0	103,0	131,5	160,5	
Selenitt	0,11	3	361,6	40,2	72,4	80,1	105,8	138,0	169,7
		27	365,0	40,5	67,2	78,9	104,4	133,6	165,5
		51	363,7	40,4	55,4	67,9	93,4	120,6	151,0
		75	363,9	40,4	50,4	65,3	94,0	121,7	160,0
		99	365,0	40,5	52,6	66,5	94,3	123,4	153,0
Gj.snitt		363,8	40,4	59,6	71,7	98,4	127,5	159,8	
Selenitt	0,15	4	365,0	55,4	61,2	73,1	97,8	127,5	160,6
		28	365,0	55,4	61,1	70,4	94,2	123,0	153,0
		52	365,0	55,4	65,4	77,9	108,8	136,3	168,0
		76	365,0	55,4	63,8	73,6	102,1	130,9	163,8
		100	365,0	55,4	56,5	72,4	98,5	124,2	154,0
Gj.snitt		365,0	55,4	61,6	73,5	100,3	128,4	159,9	
Se-met <sup>1</sup>	0,04	5	365,0	14,8	55,3	71,2	97,2	132,9	168,3
		29	364,7	14,8	52,6	65,0	89,2	122,5	155,9
		53	349,1	14,1	61,2	73,7	74,3	125,5	159,4
		77	365,0	14,8	64,5	77,3	107,7	131,7	164,9
		101	365,0	14,8	62,7	73,3	102,9	131,8	166,1
Gj.snitt		361,8	14,7	59,3	72,1	94,3	128,9	162,9	
Se-met <sup>1</sup>	0,08	6	329,0	24,8	62,4	78,1	105,5	132,2	150,2
		30	349,6	26,3	50,1	65,1	92,8	127,9	155,7
		54	364,0	27,4	56,7	75,9	106,1	133,3	162,8
		78	364,3	27,4	63,2	76,7	110,5	139,5	171,5
		102	348,2	26,2	50,2	70,3	97,1	128,2	156,5
Gj.snitt		351,0	26,4	56,5	73,2	102,4	132,2	159,3	
Se-met <sup>1</sup>	0,10	7	375,1	39,2	50,8	70,0	94,9	128,1	166,0
		31	376,0	39,3	61,7	73,7	96,7	129,9	169,3
		55	375,1	39,2	75,0	86,4	111,7	142,9	181,7
		79	363,8	38,0	59,9	75,1	96,3	128,2	156,9
		103	375,7	39,2	52,4	69,3	94,9	119,7	163,4
Gj.snitt		373,1	39,0	60,0	74,9	98,9	129,8	167,5	



Selénkilde	Nivå µg/g	Rotte nr.	Inntak av før (g)	Inntak av Sé (g)	Vekt dag 0 (g)	Vekt dag 7 (g)	Vekt dag 14 (g)	Vekt dag 21 (g)	Vekt dag 28 (g)
Se-met <sup>1</sup>	0,14	8	376,0	52,4	51,5	72,4	96,8	130,1	161,7
		32	374,5	52,2	54,3	73,4	97,5	130,1	165,4
		56	373,7	52,1	53,1	70,2	93,5	125,7	169,7
		80	375,1	52,3	69,6	82,7	107,1	139,6	173,6
		104	374,7	52,2	63,4	78,2	103,7	136,3	167,2
Gj.snitt		374,8	52,2	58,4	75,4	99,7	132,4	167,5	
Hk A <sup>2</sup>	0,05	9	371,2	18,2	55,9	72,9	97,3	130,7	163,6
		33	373,1	18,3	76,8	85,6	111,8	144,2	180,8
		57	376,0	18,4	46,0	66,3	89,9	122,1	161,4
		81	376,0	18,4	57,0	73,3	100,9	128,8	169,2
		105	376,0	18,4	63,3	74,3	99,0	130,9	168,9
Gj.snitt		374,5	18,3	59,8	74,5	99,8	131,3	168,8	
Hk A <sup>2</sup>	0,08	10	375,2	29,6	57,9	75,7	102,5	140,0	178,7
		34	368,6	29,0	53,4	74,1	101,8	132,7	171,5
		58	351,1	27,7	50,2	72,8	100,6	129,3	160,8
		82	325,2	25,7	65,3	78,7	102,6	122,8	157,0
		106	370,1	29,2	50,9	74,0	98,8	131,7	173,0
Gj.snitt		358,0	28,2	55,5	75,1	101,3	131,3	168,2	
Hk A <sup>2</sup>	0,12	11	372,6	45,4	54,4	71,6	96,9	127,8	165,6
		35	366,5	44,7	49,3	67,2	92,8	122,3	155,8
		59	374,3	45,7	72,5	80,4	102,4	126,8	166,4
		83	376,0	45,9	60,2	78,1	106,4	137,5	176,8
		107	375,5	45,8	51,0	67,9	94,0	128,5	161,4
Gj.snitt		373,0	45,5	57,5	73,0	98,5	128,6	165,2	
Hk B <sup>2</sup>	0,05	12	374,1	19,3	54,1	73,3	100,1	133,9	167,1
		36	376,0	19,4	61,7	80,0	108,1	137,1	176,8
		60	376,0	19,4	53,4	69,0	94,3	123,7	160,1
		84	376,0	19,4	74,5	87,7	112,5	144,4	179,5
		108	375,6	19,4	53,1	71,4	96,3	129,4	166,5
Gj.snitt		375,5	19,4	59,4	76,3	102,3	133,7	170,0	
Hk B <sup>2</sup>	0,09	13	387,0	36,4	62,0	80,1	96,7	125,7	153,3
		37	387,0	36,4	57,9	77,1	99,5	130,0	167,2
		61	387,0	36,4	56,7	77,2	100,3	132,1	172,6
		85	380,9	35,9	47,3	66,2	93,6	125,6	161,3
		109	387,0	36,4	57,3	77,6	102,0	133,6	166,6
Gj.snitt		385,8	36,3	56,2	75,6	98,4	129,4	164,2	
Hk B <sup>2</sup>	0,13	14	363,3	48,7	61,1	77,7	102,2	136,2	163,8
		38	387,0	51,8	56,3	77,1	101,0	137,6	169,4
		62	380,8	51,0	55,6	73,9	97,6	126,5	159,1
		86	384,0	51,4	48,7	69,7	93,4	123,8	153,2
		110	387,0	51,8	61,6	79,8	99,1	131,4	167,1
Gj.snitt		380,4	50,9	56,7	75,6	98,7	131,1	162,5	
Rødsp.	0,03	15	375,1	10,8	62,5	78,4	104,1	140,9	172,9
		39	387,0	11,1	60,6	82,6	109,0	141,4	178,1
		63	387,0	11,1	58,9	77,4	101,3	134,6	170,6
		87	372,9	10,7	46,8	69,6	92,8	127,4	160,2
		111	382,5	10,9	59,6	79,6	107,4	141,1	175,9
Gj.snitt		380,9	10,9	57,7	77,5	102,9	137,1	171,5	

Selénkilde	Rotte Nivå µg/g	Rotte nr.	Inntak av fôr (g)	Inntak av Sé (g)	Vekt dag 0 (g)	Vekt dag 7 (g)	Vekt dag14 (g)	Vekt dag 21 (g)	Vekt dag 28 (g)
Rødsp.	0,05	16	377,7	18,9	70,0	88,3	117,7	159,4	195,0
		40	382,1	19,2	62,0	82,0	111,2	151,6	194,6
		64	383,8	19,2	52,3	76,7	106,9	149,5	190,3
		88	378,3	19,0	55,1	79,3	107,9	148,1	184,9
		112	380,5	19,1	57,3	79,7	108,4	144,4	182,8
Gj.snitt		380,5	19,1	59,3	81,2	110,4	150,6	189,5	
Rødsp.	0,08	17	386,2	31,4	65,3	84,2	111,0	150,6	189,5
		41	387,0	31,5	59,3	81,0	112,2	148,4	190,0
		65	387,0	31,5	61,9	82,4	109,1	145,6	187,2
		89	382,9	31,2	50,2	78,7	107,3	142,2	186,6
		113	387,0	31,5	63,8	86,5	112,8	149,2	187,4
Gj.snitt		386,2	31,4	60,1	82,6	110,5	147,2	188,1	
Torsk	0,03	18	387,0	13,5	65,9	84,9	109,2	148,8	186,7
		42	387,0	13,5	56,4	82,9	110,8	146,2	186,7
		66	384,8	13,4	64,8	79,7	105,2	140,3	170,6
		90	387,0	13,5	51,0	73,7	100,6	134,0	172,7
		114	387,0	13,5	61,3	78,2	102,5	138,1	174,8
Gj.snitt		386,6	13,5	59,9	79,9	105,7	141,5	178,3	
Torsk	0,06	19	396,4	22,7	59,0	82,6	113,9	147,8	190,0
		43	397,0	22,7	71,2	91,0	120,0	158,6	202,4
		67	387,7	22,2	60,8	85,9	115,1	153,2	183,9
		91	396,2	22,7	51,0	80,2	110,3	146,5	188,5
		115	397,0	22,7	73,0	96,7	127,6	165,4	206,7
Gj.snitt		394,9	22,6	63,0	87,3	117,4	154,3	194,3	
Torsk	0,09	20	397,0	36,0	60,7	85,3	115,2	154,3	185,8
		44	397,0	36,0	68,4	90,8	122,0	161,4	205,0
		68	395,8	35,9	63,7	80,4	119,7	155,0	197,2
		92	394,7	35,8	49,7	80,0	111,5	147,0	190,6
		116	397,0	36,0	73,0	99,8	130,4	166,1	211,4
Gj.snitt		396,3	35,9	63,1	87,3	119,8	156,8	198,0	
Tunfisk	0,05	21	395,7	21,6	64,2	80,5	106,2	139,1	173,7
		45	395,7	21,6	66,7	83,3	110,0	140,8	179,3
		69	394,1	21,5	63,1	77,2	99,8	130,7	166,8
		93	397,0	21,7	61,8	79,0	103,6	134,5	166,5
		117	393,8	21,5	71,9	90,8	115,9	150,8	181,9
Gj.snitt		395,3	21,6	65,5	82,2	107,1	139,2	173,6	
Tunfisk	0,10	22	380,4	39,5	62,5	86,1	115,4	145,6	181,6
		46	396,5	41,2	73,1	91,5	120,2	155,9	198,1
		70	396,1	41,1	61,6	86,4	119,6	155,8	195,3
		94	359,3	37,3	54,4	78,2	107,1	136,5	176,0
		118	397,0	41,2	78,1	95,3	124,4	157,3	192,7
Gj.snitt		385,9	40,1	65,9	87,5	117,3	150,2	188,7	
Tunfisk	0,15	23	397,0	61,1	60,1	81,8	108,1	138,5	177,2
		47	397,0	61,1	68,8	89,3	115,9	149,5	187,5
		71	395,7	60,9	58,2	76,9	101,7	132,5	172,1
		95	397,0	61,1	46,5	75,5	98,7	134,6	172,3
		119	396,6	61,0	74,0	92,1	119,3	154,7	196,1
Gj.snitt		396,7	61,0	61,5	83,1	108,7	142,0	181,0	

<sup>1</sup> Se-met = Selenometionin<sup>2</sup> Hk = Helsekostpreparat

VEDLEGG II Enkeltdata av mengde urin (ml) og feces (g) utskilt, selenkonsentrasjonen i urin ( $\mu\text{g/l}$ ) og feces ( $\mu\text{g/g}$ ) og mengden selén i urin ( $\mu\text{g}$ ) og feces( $\mu\text{g}$ ) i metabolismegruppene.

Selénkilde	Rotte	Mengde	[Se] i urin	Mengde	Mengde	[Se] i feces	Mengde
Nivå	nr.	urin		Se i urin	feces		Se i feces
( $\mu\text{g/g}$ )		(ml)	( $\mu\text{g/L}$ )	( $\mu\text{g}$ )	(g)	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g}$ )
Selenitt 0,08	2	500	8,81	4,40	32,6	0,20	6,44
	26	500	8,89	4,45	29,7	0,23	6,74
	50	1000	4,66	4,66	31,6	0,20	6,34
	74	500	9,58	4,79	32,9	0,18	6,03
	98	1000	8,19	4,10	31,9	0,17	5,34
Gj.snitt		600 $\pm$ 224	8,03 $\pm$ 1,95	4,48 $\pm$ 0,27	31,8 $\pm$ 1,2	0,20 $\pm$ 0,02	6,18 $\pm$ 0,53
Se-met <sup>1</sup> 0,08	6	1000	1,57	1,57	27,6	0,13	3,70
	30	1000	1,46	1,46	29,0	0,13	3,76
	54	500	4,21	2,11	30,5	0,13	3,89
	78	500	3,43	1,72	33,3	0,12	4,05
	102	500	3,41	1,71	30,5	0,14	4,12
Gj.snitt		700 $\pm$ 274	2,82 $\pm$ 1,23	1,71 $\pm$ 0,24	30,2 $\pm$ 2,1	0,13 $\pm$ 0,01	3,90 $\pm$ 0,18
Hk A <sup>2</sup> 0,08	10	500	3,68	1,84	35,0	0,53	18,40
	34	1000	1,81	1,81	35,2	0,53	18,45
	58	500	3,61	1,81	29,0	0,60	17,26
	82	1000	1,24	1,24	31,2	0,52	16,26
	106	1000	0,92	0,92	34,0	0,54	18,42
Gj.snitt		800 $\pm$ 274	2,25 $\pm$ 1,31	1,52 $\pm$ 0,42	32,9 $\pm$ 2,7	0,54 $\pm$ 0,03	17,76 $\pm$ 1,0
Rødspett 0,05	16	1000	2,68	2,68	33,7	0,19	6,44
	40	500	6,02	3,01	28,8	0,20	5,79
	64	500	6,10	3,05	28,9	0,22	6,23
	88	500	5,81	2,90	28,9	0,22	6,24
	112	500	6,48	3,24	31,9	0,21	6,61
Gj.snitt		600 $\pm$ 224	5,42 $\pm$ 1,55	2,98 $\pm$ 0,21	30,4 $\pm$ 2,2	0,21 $\pm$ 0,01	6,26 $\pm$ 0,31
Tunfisk 0,10	22	500	14,36	7,18	32,9	0,48	15,78
	46	1000	8,28	8,28	31,0	0,50	15,58
	70	500	14,63	7,32	33,0	0,49	16,06
	94	1020	6,76	6,90	27,1	0,51	13,83
	118	500	13,01	6,50	37,6	0,51	19,08
Gj.snitt		704 $\pm$ 279	11,41 $\pm$ 3,6	7,24 $\pm$ 0,66	32,3 $\pm$ 3,8	0,50 $\pm$ 0,01	16,06 $\pm$ 1,9

## VEDLEGG III Absorpsjon og retensjon av selén for den enkelte rotte.

Selénkilde	Rotte	Selén	Absorbent	Relativ	Retinert	Relativ
Nivå	nr.	inntak	selén	absorpsjon	selén	retensjon
(µg/g)		(µg)	(µg)	(%)	(µg)	(%)
Selenitt 0,08	2	29,36	22,91	78,1	18,51	63,1
	26	27,92	21,18	75,9	16,74	59,9
	50	27,78	21,44	77,2	16,78	60,4
	74	29,37	23,34	79,5	18,55	63,2
	98	25,53	20,20	79,1	16,10	63,1
	Gj.snitt		28,0±1,6	21,8±1,3	77,9±1,5	17,3±1,1
Se-met <sup>1</sup> 0,08	6	24,77	21,07	85,1	19,51	78,7
	30	26,32	22,56	85,7	21,10	80,2
	54	27,41	23,52	85,8	21,41	78,1
	78	27,43	23,37	85,2	21,66	79,0
	102	26,22	22,10	84,3	20,39	77,8
	Gj.snitt		26,4±1,1	22,5±1,0	85,2±0,6	20,8±0,9
Hk A <sup>2</sup> 0,08	10	29,56	11,16	37,7	9,32	31,5
	34	29,04	10,58	36,4	8,78	30,2
	58	27,66	10,40	37,6	8,60	31,1
	82	25,62	9,36	36,5	8,11	31,7
	106	29,15	10,74	36,8	9,82	33,7
	Gj.snitt		28,2±1,6	10,4±0,7	37,0±0,6	8,9±0,7
Rødspett 0,05	16	18,94	12,5	66,0	9,82	51,9
	40	19,16	13,37	69,8	10,37	54,1
	64	19,24	13,01	67,6	9,96	51,8
	88	18,97	12,73	67,1	9,83	51,8
	112	19,08	12,47	65,4	9,23	48,4
	Gj.snitt		19,1±0,1	12,8±0,4	67,2±1,7	9,8±0,4
Tunfisk 0,10	22	39,51	23,73	60,1	16,55	41,9
	46	41,18	25,60	62,2	17,32	42,1
	70	41,14	25,08	61,0	17,77	43,2
	94	37,32	23,49	63,0	16,59	44,5
	118	41,23	22,15	53,7	15,65	38,0
	Gj.snitt		40,1±1,7	24,0±1,4	60,0±3,7	16,8±0,8

VEDLEGG IV Våtvekt, tørrstoff %, tørrvekt og selénkonsentrasjonen i tørrvekt og våtvekt i femur for den enkelte rotte, gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selen fra ulike kilder i 28 dager.

Selénkilde	Rotte	Våtvekt	Tørrvekt	Tørrstoff %	[Se]	[Se]	
Nivå	nr	(g)	(g)		tørrvekt	våtvekt	
(µg/g)					(µg/g)	(µg/g)	
Nullfôr	0,00	24	0,66	0,34	51,52	0,022	0,011
		48	0,71	0,43	60,52	0,017	0,010
		72	0,68	0,37	54,41	0,015	0,008
		96	0,76	0,40	52,63	0,025	0,013
		120	0,71	0,41	57,75	0,020	0,012
Gj.snitt		0,70±0,04	0,39±0,04	55,37±3,74	0,020±0,004	0,011±0,002	
Selenitt	0,05	1	0,68	0,40	58,82	0,096	0,056
		25	0,73	0,37	50,68	0,111	0,056
		49	0,73	0,37	50,68	0,111	0,056
		73	0,67	0,39	58,21	0,098	0,057
		97	0,65	0,39	60,00	0,097	0,058
Gj.snitt		0,69±0,04	0,38±0,01	55,68±4,61	0,102±0,008	0,057±0,001	
Selenitt	0,08	2	0,67	0,36	53,73	0,160	0,086
		26	0,65	0,38	58,46	0,139	0,081
		50	0,50	0,30	60,00	0,154	0,092
		74	0,56	0,35	62,50	0,138	0,086
		98	0,57	0,33	57,89	0,136	0,078
Gj.snitt		0,59±0,07	0,34±0,03	58,52±3,22	0,145±0,011	0,085±0,005	
Selenitt	0,11	3	0,78	0,43	55,13	0,134	0,074
		27	0,82	0,42	51,22	0,167	0,085
		51	0,71	0,34	47,89	0,142	0,068
		75	0,65	0,36	55,38	0,144	0,079
		99	0,60	0,35	58,33	0,146	0,085
Gj.snitt		0,71±0,09	0,38±0,04	53,59±4,07	0,146±0,012	0,078±0,007	
Selenitt	0,15	4	0,69	0,39	56,52	0,144	0,081
		28	0,71	0,39	54,93	0,141	0,077
		52	0,74	0,39	52,70	0,155	0,082
		76	0,66	0,38	57,58	0,135	0,077
		100	0,60	0,38	63,33	0,161	0,102
Gj.snitt		0,68±0,05	0,39±0,01	57,01±3,98	0,147±0,011	0,084±0,010	
Se-met <sup>1</sup>	0,04	5	0,86	0,42	48,84	0,129	0,063
		29	0,78	0,41	52,56	0,116	0,061
		53	0,68	0,39	57,35	0,115	0,066
		77	0,72	0,41	56,94	0,117	0,067
		101	0,65	0,37	56,92	0,121	0,069
Gj.snitt		0,74±0,08	0,40±0,02	54,52±3,73	0,119±0,006	0,065±0,003	
Se-met <sup>1</sup>	0,08	6	0,59	0,35	59,32	0,200	0,118
		30	0,64	0,35	54,69	0,196	0,107
		54	0,63	0,32	50,79	0,201	0,102
		78	0,68	0,38	55,88	0,195	0,109
		102	0,59	0,32	54,24	0,181	0,098
Gj.snitt		0,63±0,04	0,34±0,03	54,98±3,08	0,194±0,008	0,107±0,008	
Se-met <sup>1</sup>	0,10	7	0,71	0,39	54,93	0,241	0,132
		31	0,71	0,37	52,11	0,230	0,120
		55	0,73	0,41	56,16	0,216	0,121
		79	0,78	0,40	51,28	0,229	0,117
		103	0,68	0,37	54,41	0,242	0,132
Gj.snitt		0,72±0,04	0,39±0,02	53,78±2,03	0,232±0,11	0,125±0,007	

Selénkilde	Rotte nivå (µg/g)	Rotte nr	Våtvekt (g)	Tørrvekt (g)	Tørrstoff %	[Se] tørrvekt (µg/g)	[Se] våtvekt (µg/g)
Se-met <sup>1</sup>	0,14	8	0,63	0,36	57,14	0,259	0,148
		32	0,65	0,36	55,38	0,252	0,138
		56	0,67	0,36	53,73	0,274	0,147
		80	0,67	0,37	55,22	0,284	0,157
		104	0,69	0,39	56,52	0,244	0,138
Gj.snitt			0,66±0,02	0,37±0,01	55,60±1,31	0,263±0,016	0,146±0,008
Hk A <sup>2</sup>	0,05	9	0,66	0,37	56,06	0,077	0,043
		33	0,82	0,46	56,10	0,069	0,039
		57	0,64	0,36	56,25	0,076	0,043
		81	0,71	0,36	50,70	0,082	0,042
		105	0,56	0,33	58,93	0,068	0,040
Gj.snitt			0,68±0,10	0,38±0,05	55,61±3,00	0,074±0,006	0,041±0,002
Hk A <sup>2</sup>	0,08	10	0,68	0,35	51,47	0,111	0,057
		34	0,67	0,38	56,72	0,132	0,075
		58	0,63	0,35	55,56	0,123	0,068
		82	0,70	0,35	50,00	0,111	0,056
		106	0,66	0,34	51,52	0,126	0,065
Gj.snitt			0,67±0,03	0,35±0,02	53,05±2,91	0,121±0,009	0,064±0,008
Hk A <sup>2</sup>	0,12	11	0,74	0,40	54,05	0,145	0,078
		35	0,75	0,38	50,67	0,128	0,065
		59	0,74	0,38	51,35	0,147	0,075
		83	0,66	0,37	56,06	0,141	0,079
		107	0,62	0,34	54,84	0,150	0,082
Gj.snitt			0,70±0,06	0,37±0,022	53,39±2,30	0,142±0,009	0,076±0,007
Hk B <sup>2</sup>	0,05	12	0,75	0,40	53,33	0,077	0,041
		36	0,80	0,42	52,50	0,057	0,030
		60	0,70	0,37	52,86	0,060	0,032
		84	0,75	0,41	54,67	0,060	0,033
		108	0,58	0,33	56,90	0,061	0,034
Gj.snitt			0,72±0,08	0,39±0,04	54,05±1,80	0,063±0,008	0,034±0,004
Hk B <sup>2</sup>	0,09	13	0,65	0,38	58,46	0,092	0,053
		37	0,66	0,36	54,55	0,108	0,059
		61	0,69	0,37	53,62	0,109	0,058
		85	0,64	0,36	56,25	0,104	0,059
		109	0,73	0,38	52,05	0,103	0,054
Gj.snitt			0,67±0,04	0,37±0,01	54,99±2,47	0,103±0,007	0,057±0,003
Hk B <sup>2</sup>	0,13	14	0,68	0,37	54,41	0,120	0,065
		38	0,70	0,40	57,14	0,126	0,072
		62	0,67	0,39	58,21	0,124	0,072
		86	0,66	0,39	59,09	0,119	0,070
		110	0,62	0,37	59,68	0,110	0,066
Gj.snitt			0,67±0,03	0,38±0,01	57,71±2,01	0,120±0,006	0,069±0,003
Rødsp.	0,03	15	0,82	0,46	56,10	0,059	0,033
		39	0,78	0,45	57,69	0,055	0,032
		63	0,70	0,39	55,71	0,059	0,033
		87	0,64	0,37	57,81	0,058	0,034
		111	0,66	0,38	57,58	0,061	0,035
Gj.snitt			0,72±0,08	0,41±0,04	56,98±1,00	0,058±0,002	0,033±0,001
Rødsp.	0,05	16	0,75	0,40	53,33	0,075	0,040
		40	0,76	0,43	56,58	0,086	0,049
		64	0,67	0,40	59,70	0,088	0,053
		88	0,72	0,41	56,94	0,091	0,052
		112	0,69	0,39	56,52	0,090	0,051
Gj.snitt			0,72±0,04	0,41±0,02	56,61±2,26	0,086±0,006	0,049±0,005

Selénkilde	Rotte nivå (µg/g)	Rotte nr	Våtvekt (g)	Tørrvekt (g)	Tørrstoff %	[Se] tørrvekt (µg/g)	[Se] våtvekt (µg/g)
Rødsp.	0,08	17	0,75	0,44	58,67	0,125	0,073
		41	0,79	0,44	55,70	0,125	0,069
		65	0,75	0,44	58,67	0,113	0,066
		89	0,73	0,41	56,16	0,121	0,068
		113	0,72	0,42	58,33	0,114	0,066
Gj.snitt			0,75±0,03	0,043±0,01	57,51±1,45	0,119±0,006	0,069±0,003
Torsk	0,03	18	0,89	0,49	55,06	0,076	0,042
		42	0,82	0,43	52,44	0,081	0,042
		66	0,82	0,42	51,22	0,075	0,038
		90	0,72	0,40	55,56	0,073	0,041
		114	0,71	0,40	56,34	0,079	0,045
Gj.snitt			0,79±0,08	0,43±0,04	54,12±2,19	0,077±0,003	0,042±0,002
Torsk	0,06	19	0,74	0,41	55,41	0,122	0,068
		43	0,85	0,45	52,94	0,117	0,062
		67	0,74	0,39	52,70	0,128	0,067
		91	0,80	0,43	53,75	0,134	0,072
		115	0,81	0,44	54,32	0,121	0,066
Gj.snitt			0,79±0,05	0,42±0,02	53,82±1,10	0,124±0,007	0,067±0,004
Torsk	0,09	20	0,77	0,45	58,44	0,162	0,095
		44	0,77	0,45	58,44	0,150	0,088
		68	0,69	0,39	56,52	0,157	0,089
		92	0,80	0,43	53,75	0,165	0,089
		116	0,85	0,46	54,12	0,161	0,087
Gj.snitt			0,78±0,06	0,44±0,03	56,25±2,26	0,159±0,006	0,089±0,003
Tunfisk	0,05	21	0,71	0,40	56,34	0,147	0,083
		45	0,63	0,38	60,32	0,133	0,080
		69	0,70	0,39	55,71	0,138	0,077
		93	0,63	0,37	58,73	0,145	0,085
		117	0,68	0,39	57,35	0,148	0,085
Gj.snitt			0,67±0,04	0,39±0,01	57,69±1,86	0,142±0,006	0,082±0,003
Tunfisk	0,10	22	0,64	0,40	62,50	0,264	0,165
		46	0,76	0,43	56,58	0,229	0,130
		70	0,69	0,39	56,52	0,222	0,125
		94	0,74	0,37	50,00	0,244	0,122
		118	0,74	0,36	48,65	0,228	0,111
Gj.snitt			0,71±0,05	0,39±0,03	54,85±5,62	0,237±0,017	0,131±0,020
Tunfisk	0,15	23	0,66	0,40	60,61	0,334	0,208
		47	0,81	0,47	58,02	0,308	0,178
		71	0,69	0,38	55,07	0,254	0,140
		95	0,71	0,40	56,34	0,298	0,168
		119	0,77	0,43	55,84	0,327	0,183
Gj.snitt			0,73±0,06	0,42±0,04	57,18±2,20	0,306±0,034	0,175±0,025

<sup>1</sup> Se-met = Selenometionin<sup>2</sup> Hk = Helsekostpreparat

VEDLEGG V Våtvekt, tørrstoff %, tørrvekt og selénkonsentrasjonen i tørrvekt og våtvekt i lever for den enkelte rotte, gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder selén fra ulike kilder i 28 dager.

Selénkilde	Rotte	Våtvekt	Tørrvekt	Tørrstoff %	[Se]	[Se]	
Nivå	nr	(g)	(g)		tørrvekt	våtvekt	
(µg/g)					(µg/g)	(µg/g)	
Nullfôr	0,00	24	2,89	0,87	30,10	0,040	0,012
		48	3,55	1,08	30,42	0,039	0,012
		72	3,16	0,93	29,43	0,036	0,011
		96	2,86	0,81	28,32	0,046	0,013
		120	4,04	1,22	30,20	0,045	0,014
	Gj.snitt		3,30±0,50	0,98±0,17	29,69±0,85	0,041±0,004	0,012±0,001
Selenitt	0,05	1	4,25	1,32	31,06	0,536	0,166
		25	3,94	1,16	29,44	0,561	0,165
		49	4,02	1,13	28,11	0,626	0,176
		73	4,24	1,27	29,95	0,842	0,252
		97	3,49	1,06	30,37	0,681	0,207
	Gj.snitt		3,99±0,31	1,19±0,11	29,79±1,11	0,649±0,122	0,193±0,037
Selenitt	0,08	2	4,06	1,21	29,80	1,626	0,485
		26	3,84	1,16	30,21	1,436	0,434
		50	2,93	0,89	30,38	1,756	0,533
		74	2,79	0,84	30,11	1,791	0,539
		98	3,27	0,96	29,36	1,852	0,544
	Gj.snitt		3,38±0,56	1,01±0,17	29,97±0,40	1,692±0,165	0,507±0,047
Selenitt	0,11	3	4,72	1,41	29,87	1,793	0,536
		27	4,15	1,29	31,08	1,939	0,603
		51	3,27	0,99	30,28	1,863	0,564
		75	3,44	1,04	30,23	1,925	0,582
		99	3,17	0,93	29,34	2,026	0,594
	Gj.snitt		3,75±0,66	1,13±0,21	30,16±0,64	1,909±0,087	0,576±0,027
Selenitt	0,15	4	4,22	1,28	30,33	1,999	0,606
		28	3,29	0,98	29,79	1,734	0,517
		52	4,47	1,34	29,98	2,020	0,603
		76	3,39	1,00	29,50	1,860	0,549
		100	3,49	1,01	29,02	2,179	0,632
	Gj.snitt		3,77±0,54	1,12±0,17	29,72±0,50	1,956±0,168	0,581±0,047
Se-met <sup>1</sup>	0,04	5	4,89	1,50	30,67	0,515	0,158
		29	3,53	1,03	29,18	0,564	0,162
		53	3,74	1,10	29,41	0,562	0,165
		77	4,02	1,15	28,61	0,580	0,166
		101	3,22	0,95	29,50	0,587	0,173
	Gj.snitt		3,88±0,636	1,15±0,21	29,47±0,75	0,560±0,028	0,165±0,006
Se-met <sup>1</sup>	0,08	6	2,79	0,83	29,75	1,715	0,510
		30	3,50	1,06	30,29	1,506	0,456
		54	4,59	1,39	30,28	1,385	0,419
		78	3,12	0,91	29,17	1,811	0,528
		102	4,25	1,26	29,65	1,478	0,438
	Gj.snitt		3,65±0,76	1,09±0,23	29,83±0,47	1,579±0,177	0,470±0,047
Se-met <sup>1</sup>	0,10	7	4,84	1,48	30,58	1,870	0,572
		31	4,49	1,32	29,40	2,093	0,615
		55	4,13	1,23	29,78	1,961	0,584
		79	3,77	1,11	29,44	2,403	0,707
		103	3,53	1,05	29,75	2,135	0,635
	Gj.snitt		4,15±0,53	1,24±0,17	29,79±0,47	2,092±0,203	0,623±0,054



Selénkilde	Rotte nivå (µg/g)	Rotte nr	Våtvekt (g)	Tørrvekt (g)	Tørrstoff %	[Se] tørrvekt (µg/g)	[Se] våtvekt (µg/g)
Se-met <sup>1</sup>	0,14	8	3,61	1,08	29,92	2,147	0,642
		32	4,58	1,45	31,66	2,049	0,649
		56	4,46	1,31	29,37	2,138	0,628
		80	4,22	1,30	30,81	2,350	0,724
		104	3,74	1,09	29,14	2,378	0,693
		Gj.snitt		4,12±0,43	1,25±0,16	30,18±1,05	2,212±0,144
Hk A <sup>2</sup>	0,05	9	3,92	1,38	35,20	0,337	0,119
		33	5,01	1,44	28,74	0,242	0,070
		57	4,04	1,18	29,21	0,211	0,062
		81	4,00	1,16	29,00	0,262	0,076
		105	2,81	0,79	28,11	0,332	0,093
		Gj.snitt		3,96±0,78	1,19±0,26	30,05±2,91	0,277±0,056
Hk A <sup>2</sup>	0,08	10	4,00	1,20	30,00	0,893	0,268
		34	3,67	1,10	29,97	0,712	0,213
		58	3,55	1,04	29,30	0,938	0,275
		82	3,17	0,95	29,97	0,749	0,224
		106	3,64	1,12	30,77	0,815	0,251
		Gj.snitt		3,61±0,30	1,08±0,09	30,00±0,52	0,821±0,095
Hk A <sup>2</sup>	0,12	11	3,18	0,95	29,87	1,451	0,433
		35	4,05	1,21	29,88	1,434	0,428
		59	4,21	1,20	28,50	1,543	0,440
		83	4,01	1,17	29,18	1,563	0,456
		107	3,15	0,90	28,57	1,780	0,509
		Gj.snitt		3,72±0,51	1,09±0,15	29,20±0,67	1,554±0,138
Hk B <sup>2</sup>	0,05	12	4,34	1,34	30,88	0,290	0,090
		36	3,98	1,16	29,15	0,193	0,056
		60	3,58	1,04	29,05	0,274	0,080
		84	4,04	1,15	28,47	0,240	0,068
		108	3,71	1,07	28,84	0,316	0,091
		Gj.snitt		3,93±0,30	1,15±0,12	29,28±0,93	0,263±0,048
Hk B <sup>2</sup>	0,09	13	3,80	1,16	30,53	0,554	0,169
		37	4,91	1,53	31,16	0,497	0,155
		61	3,66	1,11	30,33	0,745	0,226
		85	4,00	1,22	30,50	0,622	0,190
		109	3,16	0,93	29,43	0,804	0,237
		Gj.snitt		3,91±0,64	1,19±0,22	30,39±0,62	0,644±0,128
Hk B <sup>2</sup>	0,13	14	3,47	1,20	34,58	1,073	0,371
		38	3,94	1,18	29,95	1,218	0,365
		62	3,39	1,17	34,51	1,161	0,401
		86	3,44	0,99	28,78	1,407	0,405
		110	3,73	1,12	30,03	1,356	0,407
		Gj.snitt		3,59±0,23	1,13±0,09	31,57±2,76	1,243±0,138
Rødsp.	0,03	15	4,66	1,48	31,76	0,191	0,061
		39	3,50	1,06	30,29	0,210	0,064
		63	4,18	1,23	29,43	0,245	0,072
		87	3,76	1,13	30,05	0,211	0,063
		111	4,07	1,22	29,98	0,252	0,076
		Gj.snitt		4,03±0,44	1,22±0,16	30,30±0,87	0,222±0,026
Rødsp.	0,05	16	4,09	1,22	29,83	0,411	0,123
		40	4,54	1,34	29,52	0,419	0,124
		64	3,81	1,13	29,66	0,418	0,124
		88	4,26	1,32	30,99	0,430	0,133
		112	3,92	1,19	30,36	0,425	0,129
		Gj.snitt		4,12±0,29	1,24±0,09	30,07±0,60	0,421±0,007

Selénkilde	Rotte nivå (µg/g)	Rotte nr	Våtvekt (g)	Tørrvekt (g)	Tørrstoff %	[Se] tørrvekt (µg/g)	[Se] våtvekt (µg/g)
Rødsp.	0,08	17	4,59	1,46	31,81	0,521	0,166
		41	4,93	1,48	30,02	0,545	0,164
		65	3,74	1,12	29,95	0,610	0,183
		89	3,75	1,14	30,40	0,782	0,238
		113	4,36	1,31	30,05	0,777	0,233
Gj.snitt			4,27±0,52	1,30±0,17	30,45±0,78	0,647±0,125	0,197±0,036
Torsk	0,03	18	3,89	1,19	30,59	0,315	0,096
		42	3,64	1,08	29,67	0,330	0,098
		66	5,25	1,33	25,33	0,427	0,108
		90	3,53	1,07	30,31	0,401	0,122
		114	3,17	0,94	29,65	0,400	0,119
Gj.snitt			3,90±0,80	1,12±0,15	29,11±2,15	0,375±0,049	0,109±0,012
Torsk	0,06	19	5,57	1,69	30,34	0,900	0,273
		43	5,28	1,59	30,11	0,956	0,288
		67	4,00	1,26	31,50	1,061	0,334
		91	3,85	1,16	30,13	0,917	0,276
		115	3,21	0,98	30,53	0,971	0,296
Gj.snitt			4,38±1,00	1,34±0,30	30,52±0,57	0,961±0,063	0,294±0,025
Torsk	0,09	20	3,85	1,18	30,65	1,766	0,541
		44	4,97	1,52	30,58	1,699	0,520
		68	3,52	1,06	30,11	2,049	0,617
		92	4,82	1,46	30,29	1,791	0,542
		116	3,96	1,23	31,06	2,061	0,640
Gj.snitt			4,22±0,64	1,29±0,19	30,54±0,37	1,873±0,169	0,572±0,053
Tunfisk	0,05	21	4,10	1,22	29,76	0,733	0,218
		45	3,62	1,10	30,39	0,662	0,201
		69	3,18	0,94	29,56	0,847	0,250
		93	3,68	1,07	29,08	0,799	0,232
		117	3,52	1,05	29,83	0,718	0,214
Gj.snitt			3,62±0,33	1,08±0,10	29,72±0,47	0,752±0,072	0,223±0,019
Tunfisk	0,10	22	3,55	1,04	29,30	1,770	0,519
		46	4,02	1,22	30,27	2,092	0,633
		70	3,23	1,01	31,27	1,807	0,565
		94	3,64	1,12	30,77	2,019	0,621
		118	3,78	1,14	30,16	1,822	0,550
Gj.snitt			3,65±0,30	1,11±0,08	30,35±0,74	1,902±0,144	0,578±0,049
Tunfisk	0,15	23	4,41	1,35	30,61	2,948	0,902
		47	4,08	1,22	29,90	3,160	0,945
		71	4,58	1,40	30,57	3,303	1,010
		95	3,06	0,94	30,72	3,250	0,998
		119	3,08	0,90	29,22	3,116	0,910
Gj.snitt			3,84±0,73	1,16±0,23	30,20±0,64	3,155±0,137	0,953±0,049

<sup>1</sup> Se-met = Selenometionin<sup>2</sup> Hk = Helsekostpreparat

VEDLEGG VI Våttvekt, tørrvekt, tørrstoff % og selénkonsentrasjonen i tørrvekt og våttvekt i muskel, samt selénkonsentrasjonen i plasma for den enkelte rotte, gitt eksperimentelle fôr tilsatt graderte mengder sélen fra ulike kilder i 28 dager.

Selénkilde	Nivå (µg/g)	Rotte nr	Muskel						
			Våttvekt (g)	Tørrvekt (g)	Tørrstoff %	[Se] tørrvekt (µg/g)	[Se] våttvekt (µg/g)	[Se] i plasma (µg/l)	
Nullfôr	0,00	24	4,20	1,11	26,43	0,030	0,008	-	
		48	7,09	1,92	27,08	0,027	0,007	6,4	
		72	6,14	1,55	25,24	0,025	0,006	7,2	
		96	5,94	1,48	24,92	0,028	0,007	5,7	
		120	6,74	1,92	28,49	0,025	0,007	8,8	
		Gj.snitt		6,02±1,12	1,60±0,34	26,43±1,45	0,027±0,002	0,007±0,001	7,0±1,4
Selenitt	0,05	1	6,04	1,54	25,50	0,091	0,023	131,2	
		25	4,38	1,12	25,57	0,111	0,028	165,5	
		49	4,06	1,12	27,59	0,118	0,033	173,1	
		73	5,72	1,65	28,85	0,106	0,031	207,9	
		Gj.snitt	97	5,85	1,48	25,30	0,096	0,024	146,8
				5,21±0,92	1,38±0,25	26,56±1,58	0,104±0,011	0,028±0,004	164,9±29,1
Selenitt	0,08	2	6,01	1,55	25,79	0,183	0,047	275	
		26	6,27	1,64	26,16	0,152	0,040	239,8	
		50	4,80	1,28	26,67	0,207	0,055	248,1	
		74	6,16	1,69	27,44	0,180	0,049	234,7	
		98	6,27	1,63	26,00	0,177	0,046	222,5	
		Gj.snitt		5,90±0,63	1,56±0,16	26,41±0,66	0,180±0,020	0,048±0,006	244±19,7
Selenitt	0,11	3	3,68	1,04	28,26	0,180	0,051	252,1	
		27	4,89	1,32	26,99	0,206	0,056	259,9	
		51	4,19	1,16	27,68	0,193	0,053	241,7	
		75	5,52	1,52	27,54	0,188	0,052	268,1	
		99	5,23	1,40	26,77	0,202	0,054	137,1	
		Gj.snitt		4,70±0,76	1,29±0,19	27,45±0,59	0,194±0,010	0,053±0,002	251,8±12,7
Selenitt	0,15	4	4,83	1,26	26,09	0,182	0,047	182,4	
		28	4,78	1,18	24,69	0,193	0,048	252,2	
		52	4,36	1,14	26,15	0,211	0,055	202,9	
		76	5,20	1,43	27,50	0,177	0,049	207,5	
		100	5,33	1,33	24,95	0,194	0,048	236,5	
		Gj.snitt		4,90±0,38	1,27±0,12	25,88±1,12	0,191±0,013	0,049±0,003	216,3±27,9
Se-met <sup>1</sup>	0,04	5	3,91	1,16	29,67	0,167	0,050	148,6	
		29	4,14	1,10	26,57	0,182	0,048	221,6	
		53	5,01	1,27	25,35	0,178	0,045	120,9	
		77	5,48	1,38	25,18	0,166	0,042	117,4	
		101	5,33	1,51	28,33	0,155	0,044	111,5	
		Gj.snitt		4,77±0,71	1,28±0,17	27,02±1,94	0,170±0,011	0,046±0,003	144,0±45,7
Se-met <sup>1</sup>	0,08	6	5,97	1,55	25,96	0,324	0,084	206,5	
		30	6,48	1,64	25,31	0,387	0,098	236,0	
		54	6,19	1,58	25,53	0,343	0,088	219,0	
		78	7,10	1,81	25,49	0,321	0,082	180,5	
		102	5,61	1,41	25,13	0,353	0,089	208,6	
		Gj.snitt		6,27±0,56	1,60±1,15	25,48±0,31	0,346±0,027	0,088±0,006	210,1±20,3
Se-met <sup>1</sup>	0,10	7	5,13	1,41	27,49	0,422	0,116	288,5	
		31	6,23	1,57	25,20	0,386	0,097	225,9	
		55	5,80	1,47	25,34	0,393	0,100	261,3	
		79	5,77	1,46	25,30	0,393	0,099	217,1	
		103	6,45	1,68	26,05	0,364	0,095	223,4	
		Gj.snitt		5,88±0,51	1,52±0,11	25,88±0,96	0,392±0,021	0,101±0,008	243,2±30,6

Selénkilde	Nivå (µg/g)	Rotte nr	Muskel					[Se] i plasma (µg/l)
			Våtvekt (g)	Tørrvekt (g)	Tørrstoff %	[Se] tørrvekt (µg/g)	[Se] våtvekt (µg/g)	
Se-met <sup>1</sup>	0,14	8	6,24	1,61	25,80	0,508	0,131	248,8
		32	6,48	1,72	26,54	0,463	0,123	281,9
		56	6,43	1,63	25,35	0,453	0,115	255,7
		80	6,54	1,72	26,30	0,446	0,117	282,5
		Gj.snitt	104	6,93	1,72	24,82	0,447	0,111
			6,52±0,25	1,68±0,06	25,76±0,70	0,463±0,026	0,119±0,008	271,8±18,3
Hk A <sup>2</sup>	0,05	9	5,98	1,59	26,59	0,076	0,020	110,2
		33	5,93	1,48	24,96	0,064	0,016	69,5
		57	5,50	1,46	25,61	0,068	0,017	84,7
		81	6,40	1,62	25,31	0,061	0,015	75,4
		105	6,03	1,51	25,04	0,062	0,016	72,7
Gj.snitt		6,01±0,25	1,53±0,07	25,50±0,66	0,659±0,066	0,017±0,002	82,5±16,5	
Hk A <sup>2</sup>	0,08	10	6,76	1,86	27,51	0,116	0,032	177,6
		34	6,09	1,63	26,77	0,117	0,031	186,1
		58	5,92	1,49	25,17	0,105	0,026	166,2
		82	6,70	1,75	26,12	0,109	0,028	169,8
		106	6,57	1,77	26,94	0,113	0,030	201,9
Gj.snitt		6,41±0,38	1,70±0,14	26,50±0,89	0,112±0,005	0,030±0,002	180,3±14,3	
Hk A <sup>2</sup>	0,12	11	5,91	1,49	25,21	0,156	0,039	234,9
		35	6,63	1,65	24,89	0,148	0,037	255,0
		59	6,69	1,69	25,26	0,148	0,037	229,3
		83	5,75	1,53	26,61	0,153	0,041	220,5
		107	6,70	1,70	25,37	0,171	0,043	260,2
Gj.snitt		6,34±0,47	1,61±0,10	25,47±0,66	0,155±0,009	0,040±0,003	240,0±17,0	
Hk B <sup>2</sup>	0,05	12	5,70	1,52	26,67	0,080	0,021	121,6
		36	6,36	1,56	24,53	0,064	0,016	77,5
		60	5,56	1,41	25,36	0,069	0,017	86,5
		84	6,81	1,78	26,14	0,066	0,017	81,7
		108	5,92	1,65	27,87	0,061	0,017	106,6
Gj.snitt		6,07±0,51	1,58±0,14	26,11±1,27	0,068±0,007	0,018±0,002	94,8±18,7	
Hk B <sup>2</sup>	0,09	13	6,43	1,62	25,19	0,105	0,026	170,8
		37	7,59	1,93	25,43	0,110	0,028	173,0
		61	5,98	1,64	27,42	0,110	0,030	182,2
		85	6,14	1,61	26,22	0,135	0,035	218,6
		109	6,53	1,59	24,35	0,108	0,026	179,1
Gj.snitt		6,53±0,63	1,68±0,14	25,72±1,16	0,114±0,012	0,029±0,004	184,7±19,5	
Hk B <sup>2</sup>	0,13	14	5,79	1,58	27,29	0,110	0,030	215,8
		38	7,73	1,92	24,84	0,146	0,036	242,2
		62	5,60	1,48	26,43	0,149	0,039	213,8
		86	6,84	1,74	25,44	0,168	0,043	265,0
		110	6,57	1,68	25,57	0,156	0,040	210,3
Gj.snitt		6,51±0,86	1,68±0,17	25,91±0,96	0,146±0,022	0,038±0,005	229,4±23,6	
Rødsp.	0,03	15	6,12	1,55	25,33	0,076	0,019	82,5
		39	7,73	2,08	26,91	0,076	0,020	63,5
		63	6,54	1,71	26,15	0,084	0,022	57,2
		87	6,97	1,80	25,82	0,086	0,022	69,3
		Gj.snitt	111	7,60	1,89	24,87	0,080	0,020
		6,99±0,69	1,81±0,20	25,82±0,78	0,080±0,005	0,021±0,001	67,0±9,7	
Rødsp.	0,05	16	6,83	1,74	25,48	0,127	0,032	122,2
		40	7,86	2,04	25,95	0,112	0,029	122,7
		64	6,88	1,80	26,16	0,136	0,036	143,4
		88	6,98	1,90	27,22	0,123	0,033	136,0
		Gj.snitt	112	7,32	1,87	25,55	0,133	0,034
		7,17±0,43	1,87±0,11	26,07	0,126±0,009	0,033±0,002	132,2±9,4	

Selénkilde	Nivå (µg/g)	Rotte nr	Muskel					[Se] i plasma (µg/l)
			Våtvekt (g)	Tørrvekt (g)	Tørrstoff %	[Se] tørrvekt (µg/g)	[Se] våtvekt (µg/g)	
Rødsp.	0,08	17	7,54	2,14	28,38	0,169	0,048	221,4
		41	7,76	1,99	25,64	0,167	0,043	175,1
		65	6,84	1,73	25,29	0,176	0,045	146,8
		89	7,28	1,93	26,61	0,181	0,048	169,3
		113	7,56	1,97	26,06	0,180	0,047	202,1
Gj.snitt		7,40±0,36	1,95±0,15	26,38±1,21	0,175±0,006	0,046±0,002	182,9±29,2	
Torsk	0,03	18	7,56	1,96	25,93	0,093	0,024	105,0
		42	6,93	1,74	25,11	0,101	0,025	71,2
		66	6,45	1,73	26,82	0,094	0,025	-
		90	7,10	1,88	26,48	0,115	0,030	112,9
		114	7,78	1,98	25,45	0,105	0,027	107,6
Gj.snitt		7,16±0,53	1,86±0,12	25,96±0,71	0,102±0,009	0,026±0,002	99,2±18,9	
Torsk	0,06	19	7,86	2,04	25,95	0,182	0,047	175,7
		43	7,37	1,95	26,46	0,161	0,043	168,9
		67	6,91	1,86	26,92	0,186	0,050	238,1
		91	7,06	1,82	25,78	0,176	0,045	192,9
		115	7,89	2,03	25,73	0,164	0,042	181,6
Gj.snitt		7,42±0,45	1,94±0,10	26,17±0,51	0,174±0,011	0,045±0,003	191,4±27,5	
Torsk	0,09	20	6,94	1,88	27,09	0,262	0,071	316,8
		44	8,23	2,13	25,88	0,259	0,067	274,2
		68	6,90	1,84	26,67	0,254	0,068	254,3
		92	6,99	1,86	26,61	0,283	0,075	289,8
		116	7,22	1,92	26,59	0,239	0,064	213,9
Gj.snitt		7,26±0,56	1,93±0,12	26,57±0,44	0,259±0,016	0,069±0,004	269,8±38,7	
Tunfisk	0,05	21	7,26	1,79	24,66	0,109	0,027	66,1
		45	6,97	1,80	25,82	0,103	0,027	65,5
		69	5,58	1,42	25,45	0,106	0,027	72,3
		93	5,94	1,55	26,09	0,113	0,029	61,9
		117	7,15	1,80	25,17	0,113	0,028	68,1
Gj.snitt		6,58±0,77	1,67±0,18	25,44±0,56	0,109±0,004	0,028±0,001	66,8±3,8	
Tunfisk	0,10	22	6,76	1,73	25,59	0,189	0,048	129,1
		46	6,24	1,70	27,24	0,156	0,042	150,1
		70	7,58	2,18	28,76	0,164	0,047	143,0
		94	6,81	1,71	25,11	0,186	0,047	132,9
		118	7,45	2,09	28,05	0,166	0,047	141,8
Gj.snitt		6,97±0,55	1,88±0,23	26,95±1,57	0,172±0,014	0,046±0,001	139,4±8,4	
Tunfisk	0,15	23	7,45	2,04	27,38	0,283	0,077	188,9
		47	7,12	1,81	25,42	0,235	0,060	189,3
		71	6,79	1,76	25,92	0,267	0,069	216,5
		95	6,72	1,76	26,19	0,287	0,075	140,4
		119	6,24	1,67	26,76	0,218	0,058	195,9
Gj.snitt		6,86±0,45	1,81±0,14	26,33±0,76	0,258±0,030	0,068±0,009	206,2±22,2	

<sup>1</sup> Se-met = Selenometionin<sup>2</sup> Hk = Helsekostpreparat