

**MASTEROPPGAVE**  
**Mat, ernæring og helse**  
**2010**

Oksidasjonsnivå i marine omega-3 produkter  
tilgjengelig for norske forbrukere

Trine Thorkildsen



## Forord

Denne studien ble utført ved Nofima Mat AS i perioden august 2009 til mai 2010 med Gjermund Vogt som kontaktperson. Arbeidet med oppgaven har vært tilknyttet prosjekt 4647: ”En screening av Omega-3 oljer med hensyn til variasjon i oksidasjonsgrad, innhold av oksidasjonsprodukter og effekt på markørsystemer”, finansiert av stiftelsen Rubin.

Først og fremst vil jeg rette en stor takk til mine to fantastiske veiledere Gjermund Vogt og Inger Ottestad. Dere har vært til enorm støtte og dere har begge betydd utrolig mye for meg i året som har gått. Dere har alltid vært der når jeg har trengt dere – tusen takk!

Gjermund, takk for at du gav meg anledning til å gjøre denne oppgaven. Din kunnskap og entusiasme er til stor inspirasjon. Takk for ditt alltid smittende humør og for alt du har lært meg.

Inger, du har vært utrolig hjelpsom og til uvurderlig støtte gjennom hele skriveprosessen. Du hadde alltid gode råd å komme med. Takk for at du hjalp meg å nå målet mitt!

I tillegg må jeg få takke Mari Østvold for hjelp og veiledning på laboratoriet.

Til Stine Ulven, takk for gjennomlesing og tips.

John-Erik Haugen, takk for at du leste oppgaven og statistisk hjelp.

Takk til Marie Hervold Riise for at du tok deg tid til å lese oppgaven og hjelpe meg med lay out.

Ås, mai 2010

Trine Thorkildsen



## Sammendrag

Marine omega-3 (n-3) oljer til humant konsum baseres hovedsakelig på fiskeolje, men også olje fra sel, krill, hai og musling. Disse oljene inneholder de høyt flerumettede fettsyrene eikosapentaensyre (EPA) og dokoseheksaensyre (DHA). Konsentrasjonen av disse fettsyrene varierer i oljer fra ulike arter, og i tillegg er konsentrasjonen av n-3 forskjellig avhengig av geografisk opprinnelse. Fisk med opprinnelse i Sør-Amerika/Nord-Afrika har et høyere n-3 innhold enn fisk fanget i Nord-Europa. I tillegg produseres det oljer med et oppkonsentrert innhold av EPA og DHA. Høy konsentrasjon av disse fettsyrene gjør marine n-3 oljer utsatt for oksidasjon.

Myndighetene setter ingen krav til maksimum tillatt nivå av oksidasjonsprodukter i n-3 produkter som selges til forbruker. I europeiske farmakopømonografier angis oksidasjonskrav for fiskeoljeproduksjon. Flere fiskeoljeprodusenter har gjennom *Global Organization for EPA and DHA omega-3s* (GOED) deltatt i utarbeidelsen av en frivillig monografi som setter strengere grenseverdier for oksidasjon i n-3 oljer og i n-3 produkter. Nivået av oksidasjonsprodukter i n-3 produkter som selges kommersielt er ikke kjent.

Hensikten med denne studien var å kartlegge nivå av oksidasjonsprodukter i marine n-3 produkter som var tilgjengelig for forbruker, og å sammenligne nivået av oksidasjonsprodukter med grenseverdier i farmakopø og GOEDs monografi.

Høsten 2009 ble 113 marine n-3 produkter kjøpt inn. Femtisju produkter ble ekskludert fra analyser av oksidasjonsprodukter fordi tilsetningsstoffer i produktene interfererte med analysemetodene. Resultater for innhold av primære og sekundære oksidasjonsprodukter, angitt som peroksidverdi (PV) og anisidinverdi (AV), samt beregning av total oksidasjonsverdi (TOTOX-verdi), er presentert for 56 n-3 produkter. Konsentrasjonen av EPA og DHA ble i tillegg analysert i samtlige n-3 produkter.

Resultatene fra denne studien viser at 28 av 56 n-3 produkter hadde PV over den europeiske farmakopøgrenseverdi og 52 av 56 hadde PV over GOEDs grenseverdi. Ett produkt hadde AV over europeisk farmakopøgrenseverdi og to produkter hadde AV over GOEDs grenseverdi. Sju n-3 produkter hadde TOTOX-verdi over beregnet farmakopøgrenseverdi og 33 hadde over GOEDs grenseverdi. Cirka halvparten av de oppkonsentrerte fiskeoljene og seloljene, samt sju

av åtte fiskeoljer med opprinnelse i Sør-Amerika/Nord-Afrika, hadde PV over farmakopøens grenseverdi, mens samtlige haileveroljer og fire av fem nordeuropeiske fiskeoljer var innenfor farmakopøens grenseverdi. Økende oksidasjonsnivå korrelerte med økende konsentrasjon av EPA og DHA. Det var ingen forskjell i oksidasjonsnivå mellom innkapslede og flytende n-3 produkter.

## **Abstract**

Marine omega-3 (n-3) oils for human consumption is primarily based on fish oil, but oil from seal, krill, shark and mussels are also used. These oils contain the highly polyunsaturated fatty acids eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). The concentration of these fatty acids varies in oils from different species, and the concentration of n-3 is also depending on geographical origin. Fish originating in South America/North-Africa has a higher n-3 content than fish caught in Northern Europe. In addition, concentrated oils are produced with a higher content of EPA and DHA. High concentration of these fatty acids makes marine n-3 oils prone to oxidation.

Governments give no recommendation for maximum permitted levels of oxidation products in n-3 products that are sold to the consumer. Oxidation recommendations for fish oil production are given in The European Pharmacopoeia monographs. Several fish oil manufacturers have participated in the elaboration of a voluntary monograph through *Global Organization for EPA and DHA omega-3s* (GOED) which sets stricter limits for oxidation in n-3 oils and n-3 products. The level of oxidation products in n-3 products commercially sold is not known.

The aim of this study was to determine the level of oxidation products in marine n-3 products available to the consumer, and to compare the level of oxidation products with limits given in pharmacopoeia and GOED monograph.

In the autumn of 2009 113 marine n-3 products were purchased. Fifty-seven products were excluded from the analysis of oxidation products as additives in the products interfered with the analysis methods. Results of the content of primary and secondary oxidation products, identified as peroxide value (PV) and anisidine value (AV), and the calculation of the total

oxidation value (TOTOX-value), are presented for 56 n-3 products. The concentration of EPA and DHA were also analyzed in all n-3 products.

The results of this study show that 28 of 56 n-3 products had PV above the limit in the European pharmacopoeia and 52 of 56 had PV over the limit given by GOED. One product had AV above the limit in The European and two products had AV above the limit given by GOED. Seven n-3 products had TOTOX value above the estimated limit for the pharmacopoeia and 33 had above the limit given by GOED. Approximately half of the concentrated fish oils and seal oils, and seven out of eight fish oils originating in South America/North Africa, had PV above the limit in the pharmacopoeia, while all shark liver oils and four out of five Northern European fish oils were within the limit of the pharmacopoeia. Increasing oxidation levels correlated with increasing concentrations of EPA and DHA. There was no difference in the oxidation level in the encapsulated and liquid form n-3 products.

# Innholdsfortegnelse

<b>Forord</b> .....	iii
<b>Sammendrag</b> .....	v
<b>Abstract</b> .....	Vi
<b>Innholdsfortegnelse</b> .....	Viii
<b>Forkortelser</b> .....	x
<b>1. Introduksjon</b> .....	1
1.1. Fiskeoljer til humant konsum .....	2
1.2. Karakterisering av fiskeoljer til humant konsum .....	3
1.3. Alternative marine n-3 kilder .....	4
1.4. Produksjon av fiskeoljer/n-3 oljer til humant konsum .....	5
1.4.1. Råolje, raffinering og kvalitet .....	5
1.4.2. Oppkonsentrering av fiskeolje .....	6
1.5. Oksidasjon i n-3 oljer .....	7
1.5.1. Den klassiske veien i danningen av frie radikaler .....	8
1.5.2. Oksidasjonshastighet .....	10
1.5.3. Bruk av antioksidanter .....	11
1.5.4. Hydrolytisk harskning .....	12
1.5.5. Måling av oksidasjon i n-3 oljer .....	12
1.6. Kvalitetskrav for fiskeoljer .....	13
1.7. Kontroller og tilsyn med tilgjengelige n-3 produkter .....	14
1.8. n-3 oljer, kvalitet og helse .....	15
<b>2. Mål med studien</b> .....	16
<b>3. Material og metoder</b> .....	17
3.1. Utvalg .....	17
3.2. Metoder .....	20
3.2.1. Peroksidverdi .....	20
3.2.1.1. Måling av peroksidverdi ved titrering .....	20
3.2.2. PeroxySafe™ STD Kit .....	21
3.2.2.1. Måling av peroksidverdi med PeroxySafe™ STD Kit .....	22
3.2.2.2. Validering av PeroxySafe™ STD Kit .....	22



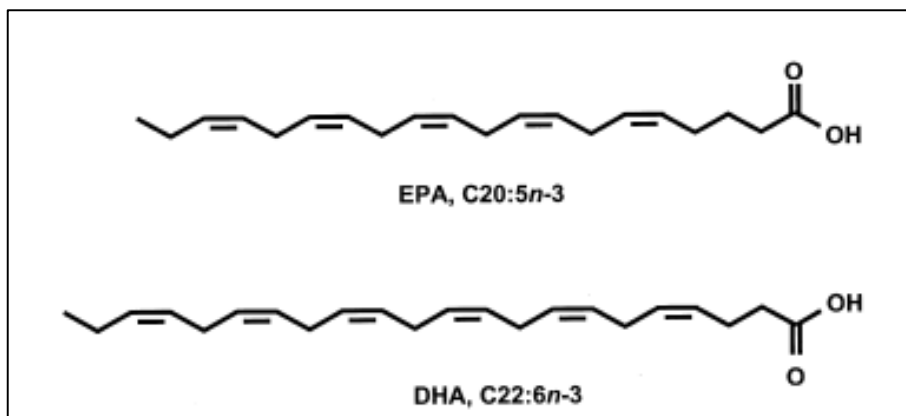
3.2.3. Anisidinverdi .....	23
3.2.3.1. Måling av anisidinverdi ved spektrofotometri .....	23
3.2.4. TOTOX-verdi .....	24
3.2.5. Fettsyrederivatisering .....	25
3.2.5.1. Metode for derivatisering av fettsyrer .....	25
3.2.6. Kromatografi .....	26
3.2.6.1. Gasskromatografisk analyse og fettsyreidentifisering .....	28
3.3. Statistiske analyser .....	29
<b>4. Resultater</b> .....	<b>30</b>
4.1. Utvalg .....	30
4.2. Oksidasjonsnivå i n-3 produkter .....	30
4.2.1. Grenseverdier for oksidasjon .....	31
4.2.2. Oksidasjonsverdier og konsentrasjon av EPA og DHA .....	33
4.2.3. Oksidasjonsnivå og ulike oljer .....	34
4.2.4. Innkapslede og flytende n-3 produkter .....	38
<b>5. Diskusjon</b> .....	<b>40</b>
5.1. Utvalg .....	40
5.2. Statistiske analyser .....	42
5.3. Resultatdiskusjon .....	43
5.3.1. Bruk av monografi.....	44
5.3.2. Oksidasjonsnivå og oljetyper.....	46
5.3.3. Oksidasjonsnivå og konsentrasjon av EPA og DHA.....	48
5.3.4. Oksidasjonsnivå innkapslede versus flytende oljer..	49
5.3.5. Potensielle feilkilder i indeling av marine oljetyper.....	50
5.4. Metodediskusjon.....	51
5.4.1. Reproduserbarhet.....	54
5.5. Konklusjon .....	55
<b>6. Litteraturliste</b> .....	<b>56</b>
<b>7. Vedlegg</b> .....	<b>61</b>

## Forkortelser

AOCS	American Oil Chemists' Society
AV	anisidinverdi
DHA	dokosaheksaensyre (C22:6n-3)
EPA	eikosapentaensyre (C20:5n-3)
FAME	fettsyremetylestere
FID	flammeionisasjonsdetektor
GC	gasskromatografi,
GC/MS	gasskromatografi/massespektrometer
GOED	<i>Global Organization for EPA and DHA omega-3s</i>
IUPAC	The International Union of Pure and Applied Chemistry
Meq	milliekvivalenter
mmol	millimol
n	omega
n-3	omega-3 fettsyrer
nm	nanometer
PV	peroksidverdi
TOTOX-verdi	total oksidasjonsverdi (2*PV+AV)

# 1. Introduksjon

Marint, animalsk og vegetabilsk fett og olje består nesten utelukkende av de enkle lipidene triglyserider. Disse består av et glyserolmolekyl, hvor hver av de tre hydroksylgruppene er esterifisert med en fettsyrekjede. Fettsyrene kan være mettede eller umettede, og kan inneholde ulike substituerte grupper (Christie, 2008). Fettsyrer navngis med både systematiske navn ut fra fettsyremolekylets kjemiske struktur og trivialnavn, i tillegg til forkortelser med tall. Fettsyren (5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z)-eikosa-5,8,11,14,17-pentaensyre<sup>1</sup>, har forkortelsen eikosapentaensyre [EPA], trivialnavnet timnodonsyre og kalles også C20:5 (n-3). I sistnevnte navngiving angir det første tallet antall karbonatomer, derav bokstaven C, i den alifatiske kjeden, mens tallet etter kolon angir antall dobbeltbindinger (Christie, 2008). Omega-3 fettsyrer, heretter forkortet n-3, er en familie av flerumettede fettsyrer som har til felles at den siste dobbeltbindingen i molekylet befinner seg på karbonatom 3 fra metylenden, også kalt omega-enden [n], på fettsyren. EPA og dokosaheksaensyre [DHA], C22:6(n-3), er langkjedete n-3 fettsyrer som typisk karakteriserer oljer av marin opprinnelse, og som normalt utgjør mellom 10 og 35 prosent av totalt fettsyreinhold i oljen (Alasalvar & Taylor, 2002; Allen, 1995; Nichols, 2007).



**Figur 1.1. EPA og DHA**

Kjemisk struktur av fettsyrene eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA) (Kamal-Eldin & Yanishlieva, 2002).

<sup>1</sup>The International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids, IUPAC nomenklatur. Systematisk navngiving ut fra molekylets kjemiske struktur (Christie, 2008).

Fettsyresammensetningen i fiskeoljer<sup>2</sup> skiller seg fra den i planter og andre dyr ved at det er en større variasjon i fettsyrenes karbonkjedelengde, som kan være fra 12 til 24 karbonatomer. Fiskeoljer har også en høyere grad av umettethet med opptil seks dobbeltbindinger i cis-konfigurasjon. I motsetning til vegetabiliske oljer og annet dyrefett inneholder fiskeoljer betydelige mengder med C14:0 og C16:1, samt fettsyrer med 20 og 22 karbonatomer. Rundt 80 prosent av det totale fettsyreinnholdet i fisk utgjøres av de åtte fettsyrene C14:0, C16:0, C16:1, C18:1, C20:1, C22:1, C20:5 og C22:6 (Allen, 1995).

## 1.1 Fiskeoljer til humant konsum

Til produksjon av n-3 oljer til humant konsum benyttes hovedsakelig fisk fra Chile og Peru, til dels Marokko, samt Argentina og Vest-Sahara (International Fishmeal and Fish Oil Organisation, 2006). Fiskeslagene som i størst grad benyttes fra disse områdene er ansjos, sardiner, pilchard (type sardin), menhaden og hestemakrell (Alasalvar & Taylor, 2002; Nichols, 2007). Oljene fra de ulike fiskeslagene blandes ofte til en fiskeolje som inneholder om lag 18 prosent EPA og 12 prosent DHA. Disse selges under betegnelsen 18/12-oljer og gjenspeiler dermed konsentrasjonen av de to fettsyrene. Fiskeslagene som benyttes i 18/12-oljer har et høyere innhold av n-3 enn oljer fra nordeuropeiske fiskeslag (Nichols, 2007). Nordeuropeiske fiskeslag som benyttes til oljer for humant konsum er hovedsakelig torsk, som inneholder om lag 13 prosent EPA og 11 prosent DHA og laks, som inneholder om lag åtte prosent EPA og ti prosent DHA (Alasalvar & Taylor, 2002; Allen, 1995; Kamal-Eldin & Yanishlieva, 2002). Høyere innhold av flerumettede fettsyrer gjør 18/12-oljer mer utsatte for oksidasjon enn nordeuropeiske fiskeoljer med lavere konsentrasjon av n-3. I tillegg har fisk som benyttes til 18/12-oljer stort sett et høyere jodinnhold, som kan fungere som en prooksidant<sup>3</sup> (Allen, 1995). Fra 1999 har oljer fra helfisk blitt mer vanlig å benytte i oljer til humant konsum enn leveroljer (Hjaltason & Haraldsson, 2007).

---

<sup>2</sup> Med begrepet fiskeoljer menes både oljer utvunnet fra helfisk og leveroljer.

<sup>3</sup> Prooksidanter er komponenter som kan initiere eller fremme oksidasjon (Reische, Lillard, & Eitenmiller, 1998).

## 1.2 Karakterisering av fiskeoljer til humant konsum

Konsentrasjonen og sammensetningen av fettsyrer i en fiskeolje varierer med type fisk, men også hvor fisken geografisk er fanget, sjøvannets temperatur, samt hvordan mat fisken har spist. For å skille mellom fiskeoljer av ulik opprinnelse kan konsentrasjonen mellom enkelte fettsyrer vurderes. Det er for eksempel større forskjeller i EPA-innhold mellom fiskeslag, mens forskjeller i DHA-innhold er mindre (Allen, 1995). Et unntak fra dette er imidlertid tunfiskolje, som kan ha konsentrasjon av DHA på over 25 prosent (Nichols, 2007).

Ved å dividere konsentrasjon av EPA på konsentrasjon av DHA i en olje får man et forholdstall mellom de to fettsyrene som kan benyttes til å anslå om en fiskeolje er basert på fisk fanget i Sør-Amerika/Nord-Afrika eller Nord-Europa. Oljer utvunnet fra søramerikansk/nordafrikansk fisk har ofte en høyere konsentrasjon av EPA (opp mot 20 prosent) enn DHA (maksimum 14 prosent). Disse oljene vil typisk ha en verdi over 1.2. Fiskeoljer fra nordeuropeisk fisk har ofte høyere konsentrasjon av DHA enn EPA og vil typisk ha en verdi under 1.0 (Alasalvar & Taylor, 2002; Nichols, 2007).

Nordeuropeiske pelagiske<sup>4</sup> fiskeslag inneholder i tillegg høyere konsentrasjoner av fettsyren C20:1 enn søramerikansk/nordafrikansk fisk. Dette gjør at oljer basert på nordeuropeisk fisk skiller seg fra søramerikansk/nordafrikansk fisk, samt fra vegetabiliske oljer og annet animalsk fett, som har et lavere innhold av fettsyren. Innholdet av C20:1 kan derfor brukes for å identifisere olje fra nordeuropeisk fisk (Allen, 1995).

For å skille lakseolje fra torskeleverolje, som begge har relativt lik konsentrasjon av EPA og DHA, så kan man studere konsentrasjonen av okosapenaensyre [DPA] i oljen. Dersom konsentrasjonen av DPA er halvparten av konsentrasjonen av DHA er oljen

---

<sup>4</sup> Fisk som befinner seg i ulike dybder i vannsøylen i store stimer og som vanligvis fanges nær overflaten når de kommer for å spise eller gyte (Allen, 1995).

sannsynligvis å betrakte som en lakseolje. Lakseolje har generelt et høyere nivå av DPA enn torskeleverolje (Nichols, 2007).

Konsentrasjonen av EPA og DHA i en fiskeolje kan benyttes til å vurdere om en fiskeolje er oppkonsentrert eller ikke. Oljer på markedet som inneholder omkring 30 prosent EPA og 20 prosent DHA eller mer, ansees å være oppkonsentrerte. Unntaket er tunfiskolje som kan inneholde over 25 prosent DHA (Nichols, 2007).

### 1.3 Alternative marine n-3 kilder

I de senere årene har det blitt et økt fokus på alternative kilder til fisk for n-3 fettsyrer, og hvilke fortrinn disse potensielt kan ha. En av disse er krill. Krill er rik på fosfolipider<sup>5</sup> og antioksidanten astaxanthin, og inneholder omkring 20 prosent EPA og 10 prosent DHA, men fettsyreprofilen vil variere avhengig av region og tid på året (Logan, 2003; Nichols, 2007). Det hevdes at EPA og DHA i fosfolipidform gir bedre opptak enn fettsyrer i triglyseridform og forbedrer lipidprofil i blod (Bunea, Farrah & Deutsch, 2004; Werner, Havinga, Kuipers & Verkade, 2004). Det foreligger liten vitenskapelig dokumentasjon vedrørende krillolje og helse.

Selolje utvinnes hovedsakelig av sel fanget i områder omkring Grønland og prosesseres i Canada. Fordi sel er et pattedyr, har den en noe annerledes posisjonsisomerisering<sup>6</sup> av n-3 fettsyrene på triglyseridet enn fiskeoljer. Denne strukturelle forskjellen kan trolig føre til ulik absorpsjon, distribusjon og metabolisme av n-3 fettsyrene, men dette er ikke tilstrekkelig dokumentert (Murphy, Wright, Scott, Timmins & Ackman, 1999; Vognild et al., 1998). Selolje inneholder om lag åtte prosent DHA, sju prosent eller mer EPA, og mellom fire og seks prosent dokosapentaensyre [DPA] (Murphy, Wright, Scott, Timmins & Ackman, 1999; Nichols, 2007) Hovedsakelig på grunn av fangstmetoden

---

<sup>5</sup> I fosfolipider er en fosfatgruppe bundet til 3-posisjonen i triglyseridet, som igjen ofte er forestret (Frankel, 2005).

<sup>6</sup> De langkjedete flerumettede fettsyrene er primært i sn-1(3) posisjon på triglyseridet, i motsetning til fiskeoljer hvor de primært er i sn-2 posisjon (Nichols, 2007).

vil salg av produkter fra sel sannsynligvis bli forbudt i EU-land i løpet av 2010 (Regulation on trade in seal products, 2009).

Haileverolje har blitt mindre vanlig fordi mange haiarter er utrydningstruede. Haileverolje på markedet i dag er stort sett basert på bifangst. Nordatlantisk haileverolje kan inneholde fra tre til sju prosent EPA og mellom fem og ti prosent DHA (Schaufler, Heintz, Sigler & Hulbert, 2005).

Muslingolje inneholder i tillegg til fettsyrer, forskjellige sterolestere og noe fosfolipider. Oljeinnholdet i muslinger er lavt, men konsentrasjonen av EPA og DHA er høy. Avhengig av art, sesong og geografisk fangststed har det blitt vist at konsentrasjonen av EPA for enkelte arter kan være på opp mot 38 prosent, og DHA kan i andre arter være opp mot 26 prosent (Chan et al. 2007; Taylor & Savage, 2006). Det er få produkter på det norske markedet som inneholder muslingolje.

## 1.4 Produksjon av n-3 oljer for humant konsum

### 1.4.1 Råolje, raffinering og kvalitet

Produksjon av fiskeoljer skjer ofte i kombinasjon med fiskemelproduksjon. Proteinet i fisken er hovedproduktet, og oljen blir et biprodukt fra fiskemelproduksjonen (Nichols, 2007). Uraffinert fiskeolje, også kalt råolje, inneholder forurensninger som må fjernes eller reduseres dersom oljen er ment for humant konsum (Allen, 1995). Raffinering av råolje foregår ofte et annet sted enn der prosesseringen skjer. De fleste n-3 oljeraffineriene i verden er lokalisert i Norge (Hjaltason & Haraldsson, 2007; RUBIN, 2009).

Forurensningene i råoljer er først og fremst miljøgifter, frie fettsyrer, fosfolipider, pigmenter, spormetaller, oksidasjonsprodukter, svovel- og halogenkomponenter. Det er flere årsaker til at forurensningene er til stede i råoljen, og dekan være et naturlig resultat av geografisk område, fiskens kost og sesong. Disse faktorene kan også påvirke graden av umettethet i oljen og dens oksidative stabilitet (Allen, 1995).

Ferskhet på fisken forut for prosessering er en viktig faktor for kvaliteten på råoljen. Grad av ferskhet vil påvirke innholdet av frie fettsyrer, nivået av oksidasjonsprodukter, farge på oljen, samt innhold av tokoferoler. Skånsom og effektiv utvinning vil kunne gi en olje med et lavere innhold av frie fettsyrer, oksidasjonsprodukter, proteinrester og spormetaller som kobber og jern. Oljen vil i tillegg være av lysere farge og med et høyere tokoferolinnhold. n-3 oljer som er skånsomt utvunnet fra ferskt råstoff vil være mer stabile mot oksidasjon enn n-3 oljer utvunnet fra råstoff av dårligere kvalitet (Allen, 1995; Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1986). Et hygienedirektiv fra EU setter en grense på 36 timer fra fangst til prosessering dersom fisken er lagret uten kjøling og hvis oljen skal gå til humant konsum (Commission Regulation (EC) No 1020/2008, 2008).

Alle råoljer varmes opp uten tilgang til oksygen under raffineringen. Primære og flyktige sekundære oksidasjonsprodukter som har blitt dannet vil da reduseres eller fjernes. Det samme vil nivået av naturlige antioksidanter. En olje som i utgangspunktet er meget oksidert, vil få et lavt innhold av primære oksidasjonsprodukter etter raffinering. Det er likevel sannsynlig at nedbrytingsproduktene av de primære oksidasjonsproduktene vil kunne fortsette oksidasjonen i oljen (Allen & Hamilton, 1994).

Raffinerte oljer basert på oksidert råstoff vil ha en viss smak i forhold til ikke-oksiderte oljer fordi den vil inneholde aldehydoglyserider, også kalt corealdehyder (Allen & Hamilton, 1994). Corealdehyder er et oksidasjonsprodukt som dannes når hydroperoksider bundet i triglyserider brytes ned og aldehydgruppen forblir festet til glyseridet (Frankel, 2005). Disse vil ikke fjernes under raffineringen. (Allen & Hamilton, 1994). Nedbrytingsprodukter av hydroperoksider, innhold av corealdehyder og lavere innhold av naturlige antioksidanter gjør at en meget oksidert råolje vil være mer utsatt for oksidasjon også etter raffinering (Allen & Hamilton, 1994; Frankel, 2005).



## 1.4.2 Oppkonsentrering av fiskeolje

Fordi marine oljer er komplekse blandinger av fettsyrer med varierende kjedelengde og grad av umettethet, er separering av de enkelte fettsyrene en teknologisk utfordring.

Dette gjør oppkonsentrering til høykonsentrerte n-3 produkter vanskelig å få til. De fleste n-3 produkter som selges er i den naturlige triglyseridform, eller oppkonsentrerte n-3 produkter i form av frie fettsyrer eller etylestere.

Fremstilling av oppkonsentrerte n-3 oljer gjøres vanligvis ved ureafraksjonering og/eller molekylærdestillasjon. Under molekylærdestillasjon vil corealdehyder, i tillegg til andre urenheter fjernes (Alasalvar & Taylor, 2002; Frankel, 2005). Det høye innholdet av C20:1 i de nordeuropeiske pelagiske fiskeslagene utgjør en teknologisk utfordring når det gjelder å oppkonsentrere disse oljene, fordi denne fettsyren ofte er vanskelig å skille fra EPA og DHA under oppkonsentrering. Lav konsentrasjon av EPA og DHA, samt høyt innhold av C20:1 i nordeuropeisk fiskeolje gjør at 18/12-oljer ofte foretrekkes til oppkonsentrering.

## 1.5 Oksidasjon i n-3 oljer

Fett med høyt innhold av flerumettede fettsyrer kan lett oksidere. Umettede fettsyrer kan gjennomgå fotooksidasjon ved lyseksponering, enzymatisk oksidasjon i nærvær av lipoksygenaser eller autooksidasjon (Frankel, 2005). Autooksidasjon påvirkes av oljetype og fettsyresammensetning, tilgang på oksygen, overflate/volum-forhold, temperatur, lys, oljens raffineringegrad, antioksidantinnhold, samt innhold av spormetaller eller andre prooksidanter. Oksidasjon av fettsyrer er en autokatalytisk kjedereaksjon som fortsetter gjennom mellomprodukter av frie radikaler (Chan, 1987; Frankel, 2005). Fotooksidasjon og enzymatisk oksidasjon antas å ha liten betydning for ferdigraffinerte marine n-3 oljer ved normale lagringsforhold fordi de normalt ikke eksponeres for lys, og fordi enzymer fjernes under raffineringen. På bakgrunn av dette vil tilgang på oksygen og temperaturnivå være de faktorene som primært påvirker oksidasjonen i en raffinert olje (Frankel, 2005). I denne studien brukes ordet oksidasjon konsekvent om radikaloksidasjon og likestiller ordet oksidasjon med harskning der annet ikke er nevnt.

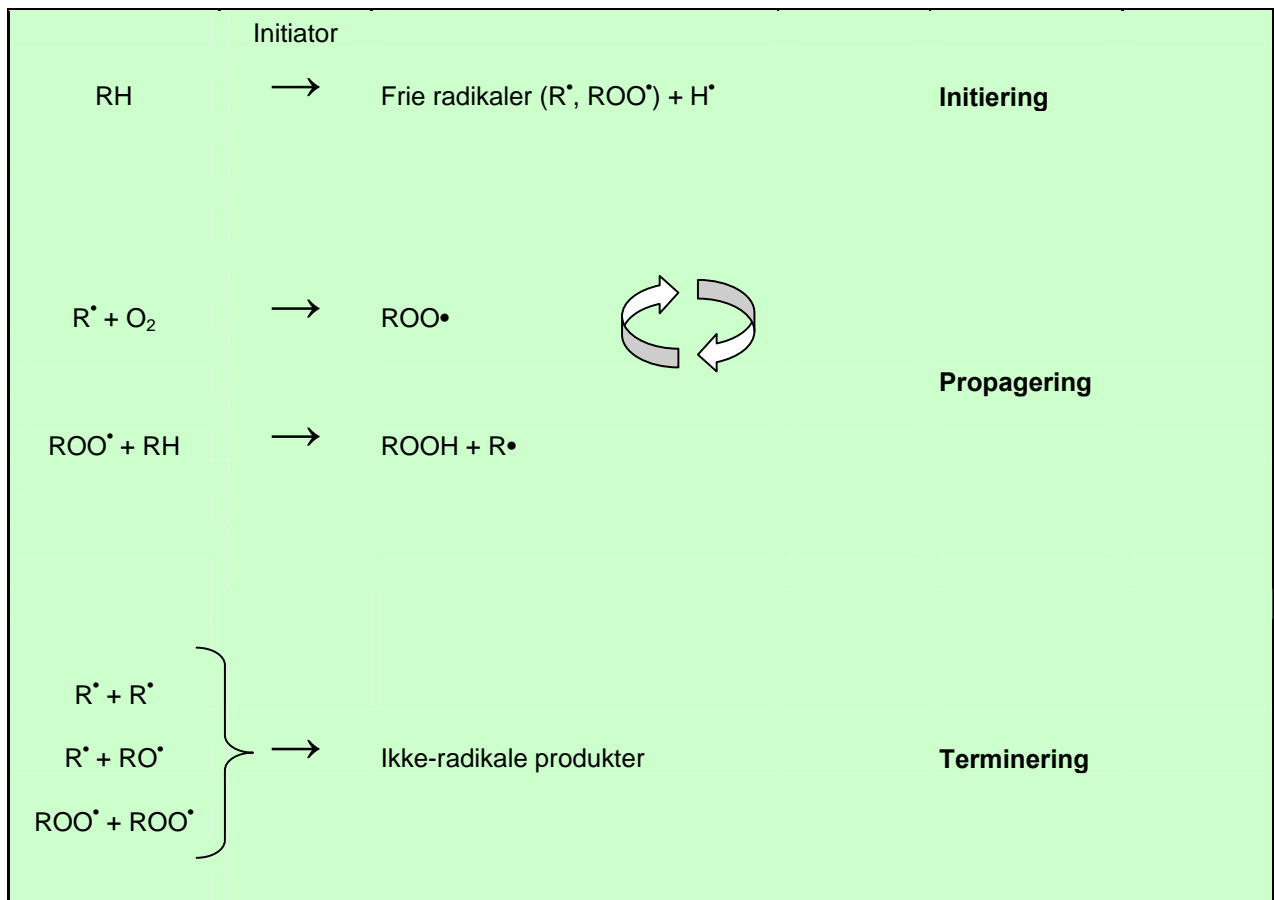
### 1.5.1 Den klassiske veien i danningen av frie radikaler

Oksidativ oksidasjon i lipider skyldes reaksjon mellom dobbeltbindingene i umettede fettsyrer og oksygen i triplet og eksitert singlet<sup>7</sup> form. Eksitert singlet oksygen reagerer mye raskere med dobbeltbindingene i en umettet fettsyre enn triplet oksygen, som er grunntilstanden for oksygen. Under reaksjon dannes hydroperoksider. Dette fører til at frie radikaler dannes og autooksidasjon initieres. Singlet oksygen kan dannes kjemisk, enzymatisk, fotokjemisk eller ved dekomponering av hydroperoksider (Frankel, 2005; Min, 1998; Min & Boff, 2002).

Autooksidasjon deles inn i tre ulike faser. Disse fasene er initierings-, propagerings- og termineringsfasen, og er vist skjematisk i *Figur 1*. Under initieringen dannes frie radikaler. Det frie radikalet,  $R^*$ , dannes ved at lipidmolekyler,  $RH$ , reagerer med oksygen i nærvær av en katalysator. Et fritt radikal er en molekylær forbindelse som har et uparet elektron og som derfor er meget reaktivt. Det frie radikalet  $R^*$  kan videre reagere og danne et peroksyradikal  $ROO^*$ . Dannelsen av de frie radikalene under initieringen ( $R^*$  og  $ROO^*$ ) kan skyldes varme eller dekomponering av hydroperoksider, metallkatalyse eller UV-belysning. Peroksyradikalet  $ROO^*$  kan reagere videre og danne hydroperoksidet  $ROOH$ . Initieringen kan også starte via reaksjon i karbonatomet i  $\alpha$ -posisjon i forhold til dobbeltbindingen ved at et hydrogenradikal mistes i nærvær av metall, varme eller lys. Dette gir et lipid- eller alkylradikal som kan reagere med oksygen og danne peroksyradikal i kjedereaksjonen. Peroksyradikalet  $ROO^*$  kan ta opp hydrogen fra  $\alpha CH_2$ -gruppen til en umettet fettsyre og danne et hydroperoksid. Hydroperoksider er de primære oksidasjonsproduktene ved oksidasjon av umettede fettsyrer (Allen & Hamilton, 1994; Frankel, 2005).

---

<sup>7</sup> Eksitert singlet oksygen (i  $\Delta$  state) er når elektronene befinner seg i en høyenergetisk orbitalform som gjør oksygenet svært elektrofil og reaktivt (Min & Boff, 2002).



**Figur 1.2. Trinnene i autoksidasjon av fettsyrer (Adaptert fra Frankel, 2005; Olsen, 2005)**

Oksidativ oksidasjon kan ha en eksponensiell utvikling. Startfasen kan ha varierende lengde, men kjedereaksjonen mellom fett og atmosfærisk oksygen kan øke voldsomt i hastighet. Frie radikaler inngår som en del av denne kjedereaksjonen. Under dannelsen av hydroperoksider inngår det ofte en reaksjon med andre frie fettsyrer, slik at disse også starter veien mot hydroperoksider. På denne måten blir dannelsen av hydroperoksider en kjedereaksjon. Hydroperoksidene er ustabile og kan spaltes videre til stabile sekundære sluttprodukter som alkoholer, aldehyder eller keto-forbindelser. Det er i hovedsak umettede aldehyder og ketoner, som har den laveste terskelverdi, som gir den uønskede lukten og smaken i oksiderte oljer og fett (Frankel, 2005; Min, 1998)

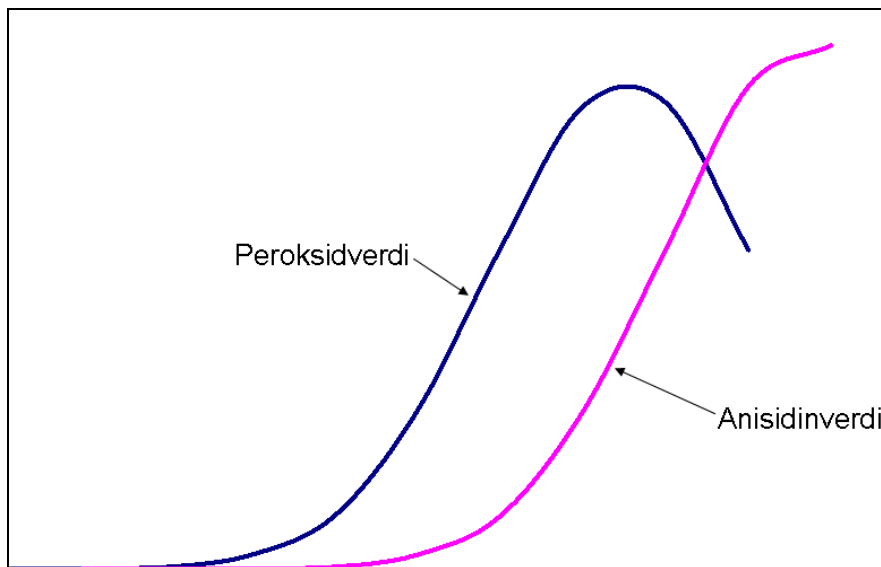
## 1.5.2 Oksidasjonshastighet

Maksimumsnivå av hydroperoksider under oksidasjonen opptrer tidligere jo mer umettet og ustabil oljen er. Dekomponeringshastigheten av hydroperoksidene til sekundære oksidasjonsprodukter er avhengig av fettsyresammensetningen i oljen og oksidasjonsforholdene, og den vil også øke i hastighet dersom temperaturen økes (Frankel, 2005).

Oksidasjonshastigheten øker med fettsyrens grad av umettethet. Ved autooksidasjon har linolsyre, C18:2 (n-6), og linolensyre, C18:3 (n-3), blitt vist å oksidere henholdsvis 40 og 98 ganger raskere enn oljesyre C18:1 (n-9) (Holman & Elmer, 1947). En ekstra dobbeltbinding i en fettsyre har blitt vist å øke reaktiviteten lineært med en faktor på to (Gray, 1978).

Autooksidasjon har lav aktiveringsenergi og er ikke avhengig av lys. Reaksjonen kan ikke stanses, men derimot bremses ved å senke temperatur. Den innledende fasen av autooksidasjonen går relativt langsomt og kan være av varierende lengde. Dersom tilgangen på oksygen ikke begrenses, kan den oksidative oksidasjonen ha en eksponensiell utvikling (Ingold, 1961; Thomas & Harle, 1959). Når oksidasjonen har nådd et visst punkt går reaksjonen inn i neste fase hvor kjedereaksjonen mellom fett og atmosfærisk oksygen, hvor frie radikaler inngår, gjør at oksidasjonen øker til en hastighet som er mange ganger større enn den i den innledende fasen. Hydroperoksidene som dannes er labile, og reaksjonen drives fremover ved at hydroperoksider reagerer med frie fettsyrer (Allen & Hamilton, 1994; Min, 1998).

Termineringsfasen av autooksidasjon involverer dannelsen av ikke-radikale stabile produkter som følge av reaksjon mellom hydroperoksidene og frie radikaler. Disse stabile sekundære oksidasjonsproduktene er estere, alkoholer, aldehyder, ketoner, laktoner, hydrokarboner og korte fettsyrer (Allen & Hamilton, 1994; Frankel, 2005; Min, 1998). I *Figur 1.3* er utviklingen og nedbrytingen av hydroperoksider til sekundære oksidasjonsprodukter illustrert.



**Figur 1.3. Utvikling av peroksidverdi og anisidinverdi**

Figuren viser utviklingen av Hydroperoksider, målt ved peroksidverdi, og nedbryting av hydroperoksider til sekundære oksidasjonsprodukter, målt ved anisidinverdi, under autooksidasjon av umettede fettsyrer. (adaptert fra Frankel, 2005).

### 1.5.3 Bruk av antioksidanter

Antioksidanter fungerer ved at de hemmer oksidasjon. Autooksidasjon kan hemmes eller bremses ved å tilsette lave konsentrasjoner av antioksidanter, og er av praktisk betydning i beskyttelse av flerumettede fettsyrer. Antioksidanter i oljer kan deles i to. Primære antioksidanter stanser eller hemmer dannelsen av frie radikaler og reaktivt oksygen, og hemmer dermed dannelsen av hydroperoksider og dekomponeringsprodukter ved at de direkte reagerer med frie radikaler og dermed selv reduseres. De resulterende antioksidantradikalene er relativt stabile og vil derfor ikke reagere videre (Allen & Hamilton, 1994; Frankel, 2005).

Sekundære antioksidanter kan hemme oksidasjon gjennom andre måter enn direkte påvirkning av kjedereaksjonen. Disse kan hemme initiering av oksidasjon og dekomponering av hydroperoksider ved å binde opp metaller, oksygen, eller andre stoffer som fungerer som katalysatorer i oksidasjonsprosessen (Allen & Hamilton, 1994; Frankel, 2005).

Den oksidative stabiliteten i en olje kan forbedres ved å tilsette antioksidanter, spesielt når naturlige antioksidanter mangler eller er i lave konsentrasjoner. Antioksidanter bør tilsettes så raskt som mulig etter raffinering for maksimalt utbytte. Antioksidanter vil ikke fjerne oksidasjonsprodukter som allerede har blitt dannet (Allen & Hamilton, 1994; Reische, Lillard & Eitenmiller, 1998). Antioksidanter kan tilsettes enkeltvis eller i kombinasjon. Stabilisering av olje og måling av antioksidanteffekt kan være vanskelig fordi ulike typer olje vil reagere forskjellig. Feil bruk av antioksidanter kan en prooksidativ effekt (Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996).

#### 1.5.4 Hydrolytisk harskning

Betegnelsen hydrolytisk harskning benyttes ofte for avspalting av frie fettsyrer fra triglyserider. Frie fettsyrer er mer utsatt for oksidasjon enn fettsyrer bundet i triglyserider. Innholdet av frie fettsyrer er derfor en determinant for oljens oksidative stabilitet og risiko for videre oksidering (Shahidi & Wanasundara, 1996).

#### 1.5.5 Måling av oksidasjon i n-3 oljer

Det er ulike metoder tilgjengelig for måling av lipidoksidasjon. Tilgjengelige målemetoder kan deles i to hovedgrupper, avhengig av om det er primære eller sekundære oksidasjonsprodukter som skal måles. Primære oksidasjonsprodukter er uten farge, smak og lukt, mens enkelte sekundære oksidasjonsprodukter, spesielt aldehyder, er luktintense (Min, 1998; Olsen, 2005). For sekundære oksidasjonsprodukter skilles det mellom flyktige og ikke-flyktige oksidasjonsprodukter. Måling av peroksidverdi [PV] og anisidinverdi [AV] er de to mest brukte metodene som mål for oksidasjon i oljer. Det er disse verdiene som benyttes for å angi krav under produksjonen av n-3 oljer. I industriell handel av n-3 oljer sertifiseres også oljene med med PV og AV (European Pharmacopoeia, 2009; RUBIN, 2009). *The American Oil Chemists' Society* [ ] har angitt måling av PV og AV som offisielle målemetoder i kommersielt fett og oljer (AOCS, 1990a; AOCS, 1990b)

## 1.6 Kvalitetskrav for fiskeoljer

*Forskrift om fiskemel, fiskeolje m.v.* omfatter råstoff, behandling, produksjon, lagring, omsetning, transport, innførsel og utførsel fra villfanget fisk og råvarer til produksjon. Fiskeolje eller dens råstoff skal tilfredsstille krav fastsatt i forskriften. Denne forskriften omhandler rutinemessige krav til behandling av råstoff, men den omhandler ikke oksidasjon (*Forskrift om fiskemel, fiskeolje m.v.*, 1999).

Det stilles ingen krav til n-3 produkter<sup>8</sup> som selges når det gjelder oksidasjon. Derimot inneholder den europeiske farmakopø<sup>9</sup> krav som gjelder i forbindelse med raffinering av fiskeoljer. Det foreligger ulike farmakopømonografier for ulike fiskeoljer, avhengig av hvilke fiskeslag som er opphav til oljen. I oppkonsentrerte oljer angis kravene i sammenheng med om fettsyrene er i form av etylestere eller triglyserider. Maksimum tillatt innhold av oksidasjonsprodukter etter endt raffinering for torskeleverolje og 18/12-oljer er lik PV 10 milliekvivalenter [meq] per kg og AV lik 30. De samme maksimumsgrenser gjelder for oppkonsentrerte fiskeoljer på triglyseridform (Council of Europe, 2008). I tillegg foreligger farmakopømonografier for oljer utvunnet fra oppdrettslaks og oppdrettstorsk, tunfiskolje og oppkonsentrerte fiskeoljer i etylesterform. Laveste angitte nivå er PV lik 5 og AV lik 10, som gjelder for oppdrettslaks og –torsk. Farmakopømonografiene omhandler verken musling-, krill-, sel- eller haileveroljer.

*Council for Responsible Nutrition*, som representerer kosttilskuddprodusenter i USA, utarbeidet i 2002 en monografi basert på daværende europeiske farmakopømonografier og farmakopøforslag. I denne monografien blir grenseverdiene satt til PV maksimum 5 meq/kg og AV maksimum 20, som gjenspeiler de strengeste grenseverdiene i den anvendte litteraturen. I tillegg inkluderer monografien maksimumsverdi for TOTOX til 26, for å indikere at en olje ikke skal ha høyeste verdier på begge parametre (Council of Responsible Nutrition, 2002; Council for Responsible Nutrition, 2006). Denne monografien heter nå *GOED Voluntary Monograph. Global Organization for EPA and DHA omega-3s [GOED]*, er en internasjonal sammenslutning av produsenter, distributører, markedsførere, forhandlere og støttespillere av produkter som

---

<sup>8</sup> Med begrepet *n-3 produkter* menes i denne studien kosttilskudd tilgjengelig for norske forbrukere.

<sup>9</sup> En farmakopø omhandler vanligvis informasjon om legemidler og hvordan disse skal produseres og brukes, men omhandler i tillegg også blant annet fiskeoljer som kosttilskudd til humant konsum (Council of Europe, 2008).

inneholder EPA og DHA (GOED, 2007). Monografien gitt av GOED er ment å gjelde for n-3 oljer til kosttilskudd fra kildene fisk, planter og encellede organismer, men derimot ikke for torskeleveroljer, produkter med høyere konsentrasjon av EPA og DHA enn 80 prosent, eller n-3 i form av frie fettsyrer. I motsetning til farmakopømonografiene presiserer denne monografien at n-3 produktene er ment å være innenfor maksimumsverdiene hele produktets holdbarhetsperiode (GOED, 2006). Kanadiske helsemyndigheter anbefaler også at produsenter av seloljer følger de samme grenseverdiene (Health Canada, 2009). I Norge er det oljeprodusentene selv som ansvaret for å overholde kravene i de europeiske farmakopømonografiene (Mattilsynet, 2010). Flere produsenter har i tillegg interne retningslinjer for ytterligere å minimere oksidasjonen. Det arbeides i tillegg i disse dager med å utarbeide *Codex Alimentarius*<sup>10</sup> for *Edible fish oil* som skal gjelde maksimumsgrenseverdier for innhold av oksidasjonsprodukter i ferdigraffinerte oljer. I utkastet som nå er til internasjonal høring stilles det foreløpig samme krav til alle typer fiskeoljer, inkludert haileverolje (Utkast til Codex Alimentarius for edible fish oil, 2010).

## 1.7 Kontroll og tilsyn med tilgjengelige n-3 produkter

*Mattilsynet* forvalter alle lover som omhandler produksjon og omsetning av mat og kosttilskudd i Norge, og skal blant annet sikre forbrukerne helsemessig trygg mat. Virksomheter plikter selv å etterleve lover og forskrifter, og *Mattilsynet* utfører kontroller og følger opp pålagte krav (Mattilsynet, 2010).

I Norge ble i 2006 n-3 produkter solgt for 488 millioner kroner. Disse tallene utgjør 22 prosent av det totale helsekostmarkedet, og gjør dermed n-3 produkter til den mest solgte varegruppen innen helsekostsegmentet (Bransjerådet for Naturmidler, 2010). Likevel fører verken *Mattilsynet*, *Bransjerådet for Naturmidler*, eller andre instanser tilsyn med hvilke n-3 produsenter som er på markedet i Norge, heller ikke hvor mange n-3 produkter som importeres eller selges. Dette medfører at det per i dag ikke finnes noen oversikt over n-3 produkter som er tilgjengelig for forbruker. Det finnes følgelig heller ingen oversikt over hvilke n-3 produkter som det selges mest av. Rutinemessige kvalitetskontroller av n-3 produkter foretas ikke, verken når det gjelder oksidasjon eller andre kvalitetsparametre, og det foreligger heller ingen enkeltstående kontroll av oksidasjonskvalitet hos n-3 oljeprodusenter eller av n-3 produkter.

---

<sup>10</sup> Et FN-organ under FNs matvare- og landbruksorganisasjon (FAO) og Verdens helseorganisasjon (WHO).



## 1.8 n-3 oljer, kvalitet og helse

Fiskeoljer blir i økende grad tilsatt i matvarer, kalt *functional food*. Kravene til disse oljene når det gjelder oksidasjon må av praktiske årsaker være strengere for at smaken skal være akseptabel for forbruker. Oljer med lavt nivå av oksidasjonsprodukter blir derfor benyttet til dette formålet. Functional food oljer har normalt oksidasjonsverdier PV under 0.5, AV under 2 og total oksidasjonsverdi [TOTOX-verdi] under 5. Dette viser at det er mulig å produsere oljer av svært høy kvalitet (Upubliserte resultater, Nofima Mat AS; Utkast til Codex Alimentarius for edible fish oil, 2010).

På bakgrunn av dokumenterte helseeffekter av EPA og DHA er det ønskelig at disse inkluderes i kostholdet (Harper & Jacobsen, 2005; Landmark, Aursnes, Reikvam & Alm, 2007; Nordic Council of Ministers, 2004; Wang et al., 2006). Det har i den senere tid blitt fremmet påstander om at oksiderte flerumettede fettsyrer eller oksidasjonsprodukter av disse kan ha ugunstige effekter på helsen (Turner, McLean & Silvers, 2006). Derimot foreligger det få humane studier hvor effekten av oksiderte fiskeoljer er undersøkt. I tillegg fremkommer sjeldent, om ikke aldri, oksidasjonsgraden i n-3 produkter benyttet i kliniske studier hvor helseeffekter av n-3 blir studert. Hvorvidt oksidasjonskvaliteten på n-3 oljer påvirker effekten av n-3 fettsyrer er ukjent. Samtidig er nivået av oksidasjonsprodukter i n-3 produkter er ukjent. *Vitenskapskomiteen for mattrygghet* har på oppdrag fra *Mattilsynet* nedsatt en arbeidsgruppe for risikovurdering av oksidasjonsprodukter i i fiskeoljer for human helse som forventes å være ferdig i løpet av 2010 (Vitenskapskomiteen for mattrygghet, 2010).

## 2. Mål med studien

Fiskeoljer utvinnes primært fra fisk fra Sør-Amerika og Nord-Afrika eller Nord-Europa, i tillegg benyttes andre kilder til å produsere marine n-3 oljer, som krill, sel, hai og musling. Marine oljer inneholder spesielt mye av de høyt flerumettede fettsyrene EPA og DHA. Konsentrasjonen av EPA og DHA er høyere i oljer med opprinnelse i fisk fra Sør-Amerika og Nord-Afrika, enn i oljer med utgangspunkt i nordeuropeisk fisk. I tillegg oppkonsentreres fiskeoljer for å få høyere konsentrasjon av EPA og DHA. På grunn av høy konsentrasjon av disse fettsyrene er marine n-3 oljer utsatt for oksidasjon.

I 2006 ble n-3 produkter i Norge solgt for nærmere en halv milliard kroner. Likevel foreligger ingen offisielle krav, verken nasjonalt eller internasjonalt, vedrørende kvalitet på n-3 produkter som selges, med tanke på oksidasjonsnivå. Da det heller ikke gjennomføres rutinemessige kontroller av marine n-3 oljer, er det ikke kjent hvorvidt nivået av oksidasjonsprodukter i n-3 produkter på markedet er forskjellig fra de krav som settes for fiskeoljeproduksjon i de europeiske farmakopømonografier eller grenseverdier for oksidasjon i frivillig monografi gitt av GOED, som i tillegg gjelder for n-3 produkter i salg.

Hensikten med denne studien er å undersøke nivå av primære og sekundære oksidasjonsprodukter, målt ved PV og AV, samt ved beregnet total oksidasjonsverdi (TOTOX-verdi) i marine n-3 produkter tilgjengelig for norske forbrukere. Oksidasjonsnivået i n-3 produktene skal i tillegg sammenlignes med grenseverdier angitt i europeiske farmakopømonografier og monografi utarbeidet av GOED.

I tillegg ønsker vi å studere hvorvidt det er forskjell i oksidasjonsnivå mellom n-3 produkter

- i) med ulik marin oljetype
- ii) med ulik konsentrasjon av EPA og DHA
- iii) som er innkapslet eller flytende på flaske

## 3. Material og metoder

### 3.1 Utvalg

Fra markedsundersøkelsesbyrået *AC Nielsen* fikk vi en liste over n-3 produkter i dagligvarehandelen, men denne var ikke komplett. Vi forsøkte å utarbeide en mest mulig komplett liste over n-3 produkter tilgjengelig for norske forbrukere ved å ta kontakt med produsenter, butikkjedekontorer og grossister. Dette var svært tidkrevende, i tillegg til at interessen for å bidra med informasjon hos enkelte ikke var til stede.

Produktlisten fra *AC Nielsen* ble redigert og supplert med informasjon fra fire produsenter, tre grossister og seks større kjedekontorer innen dagligvare, helsekost, sportsforretninger og apotek. Vår liste omfatter cirka 155 produkter (*Vedlegg 1*). Utarbeidelse av listen og innkjøp av n-3 produkter ble gjort parallelt i perioden august til november 2009 i forretninger i Oslo- og Akershusområdet. Arbeidet med å lage en oversikt over tilgjengelige n-3 produkter var tidkrevende og i desember ble perioden mellom hver gang nye produkter ble funnet i butikkhyllene lengre. Innkjøp av n-3 produkter opphørte samtidig som utarbeidelse av produktliste ble avsluttet. Produktlisten kan ikke anses å være komplett i forhold til alle n-3 produkter tilgjengelig for forbrukere i samme tidsrom. I tillegg var det ikke mulig innenfor tidrammen av en masteroppgave på ett år å finne frem til alle n-3 produkter som var tilgjengelige i den gjeldende tidsperioden.

De marine n-3 produktene inkludert i dette utvalget var i salg for forbruker i innkjøpsperioden og produktene ble hentet fra helsekostforretninger (n = 41), apotek (n = 21), dagligvare (n = 18), sportsbutikker (n = 6) og via internett/post (n = 17). I tillegg var enkelte n-3 produkter å finne i forretninger som var kombinasjon av parfymeri og helsekost (n = 7), og butikker som selger ulike artikler og til dels mat (n = 3). Liste over inkluderte produkter (n = 113) er vist i *Vedlegg 2*.

Internettprodukter (n = 16) ble valgt ut ved å bruke søkemotoren *Google*, og søkeord *omega 3* begrenset til søkervalget *Sider fra Norge* den 8. september 2009. Søket gav cirka 120 000 treff

den aktuelle dagen. Av disse ble n-3 produkter som lå som annonser valgt ut. I tillegg kom et produkt tilfeldig som prøvepakke med reklamepost i innkjøpsperioden som også er inkludert.

Inklusjonskriterier var at produktene måtte ha minst seks måneders gjenstående holdbarhet, samt være deklarerert med minst en marin oljekilde. Der hvor tilsvarende produkt fantes med og uten aroma, ble produktet uten aroma valgt.

De fleste produktene i dette utvalget var i kapselform (n = 94) eller som flytende oljer<sup>11</sup> (n = 17), i tillegg til i tablettform (n = 1) og kapsler med pulver (n = 1).

Informasjon fra varedeklarasjonene viste at de fleste av n-3 produktene inneholdt utelukkende én marin oljekilde, men enkelte inneholdt en kombinasjon av fiskeolje og krillolje (n = 6) eller sel- og fiskeolje (n = 1). Marine oljekilder i produktene var fiskeolje (n = 86), selolje (n = 17), krillolje (n = 12), haileverolje (n = 4) og muslingolje (n = 1). Mange av produktene inneholdt i tillegg andre ikke-marine oljekilder (*Tabell 3.1*). Generelt oppgis verken fettsyreform for oppkonsentrerte produkter eller fiskeoljetype i varedeklarasjon.

---

<sup>11</sup> Med flytende oljer er i denne studien ikke-innkapslede oljer tappet på flasker ment.

<b>Oljekilde</b>	<b>n</b>	<b>(%)</b>
<b>Fisk</b>	86	(76)
<b>Sel</b>	17	(15)
<b>Krill</b>	12	(11)
<b>Hailever</b>	4	(4)
<b>Musling</b>	1	(1)
<b>Soya</b>	10	(9)
<b>Borago</b>	7	(6)
<b>Kjempenattlys</b>	7	(6)
<b>Solsikke</b>	5	(4)
<b>Oliven</b>	3	(3)
<b>Linfrø</b>	3	(3)
<b>Raps</b>	2	(2)
<b>Palme</b>	1	(1)
<b>Druekjerne</b>	1	(1)
<b>CLA</b>	1	(1)

**Tabell 3.1. Oljekilder i et utvalg marine n-3 produkter.**

Tabellen gir oversikt over ulike oljekilder, og hvor stor andel som inneholdt disse, i de marine omega-3 produktene i vårt utvalg (n = 113). Et produkt kan inneholde flere kilder til omega-3 fettsyrer.

## 3.2 Metoder

Flaskene med flytende oljer ble umiddelbart etter prøveuttaking flushet med nitrogengass. Gassen fortrenger oksygen og danner en beskyttende atmosfære i headspacerommet i flasken. Flaskene ble oppbevart i kjøleskap mellom hver analyse. Innkapslede produkter ble oppbevart som de var, i romtemperatur uten lyseksponering, da dette var angitt som anbefalt lagringsform på de forpakninger hvor lagring var angitt. Alle analyser (PV, AV og fettsyresammensetning) er kjørt som paralleller, og alle resultater er presentert som gjennomsnittet av to paralleller. To oljer med kjent oksidasjonsverdi ble benyttet som standard i analysene av oksidasjonsprodukter for å kontrollere målemetodene ved hver sekvenskjøring. Liste over kjemikalier og instrumenter er vist i *Vedlegg 3*.

### 3.2.1 Peroksidverdi

Nivået av hydroperoksider kan fastslås ved å måle PV, som er en av de eldste og mest benyttede metodene for vurdering av oksidativ status i oljer (Frankel, 2005; European Pharmacopoeia, 2009; GOED, 2006). Det finnes flere analytiske metoder og ulike analytiske målemetoder er kommersielt tilgjengelig på markedet. Resultatene man får vil derfor variere, avhengig av hvilken metode som benyttes. Resultater fra ulike metoder er derfor ikke alltid direkte sammenlignbare.

For fett og oljer fastsettes ofte PV ved bruk av en jodometrisk metode. Metoden baseres på at hydroperoksidgrupper reduseres av jodioner ( $I^-$ ). Mengden jod ( $I_2$ ) som frigjøres er proporsjonal med konsentrasjonen av peroksider til stede i oljen. Frigjort  $I_2$  måles ved titrering mot en standardløsning av natriumthiosulfat ved bruk av en stivelsesløsning som indikator. PV uttrykkes som milliekvivalenter jod per kg av lipider<sup>12</sup> (Frankel, 2005; Shahidi & Wanasundara, 1998b). Metoden har normalt en sensitivitet på 0.5 meq/kg (Frankel, 2005).

#### 3.2.1.1 Måling av peroksidverdi ved titrering

Fem gram prøve ble veid inn i 250ml Erlenmeyer kolbe og tilsatt 30ml kloroform-eddiksyre løsning (2:1) (*Merck/Merck*). Kolben ble deretter satt på en magnetmikser for å løse opp prøven,

---

<sup>12</sup> PV kan også uttrykkes som millimol hydroperoksider per kg lipider. Dette gjøres ved å multiplisere PV uttrykt som meq jod/kg mmol/kg med to (Frankel, 2005).

og tilsatt 0,5ml mettet kaliumjodid løsning (*Merck*) som oksideres av hydroperoksider, eller andre komponenter som er til stede i prøven, og gir et fargeomslag. Etter ett minutt omrøring ble 30ml destillert vann tilsatt for å stoppe reaksjonen. Løsningen ble så gradvis titrert med 0,01 N natriumthiosulfat (*Merck*) under konstant omrøring til fargen nesten var borte. Deretter ble 0,5ml stivelsesindikatorløsning (*Merck*) tilsatt og prøveløsningen ble videre titrert til fargeomslag (omslag mørkeblå → klar). PV ble kalkulert ved formelen:

$$PV = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{\text{Vekt av prøve i g}}$$

I formelen er *B* antall ml natriumthiosulfat titrert i blank prøve, *S* er antall ml natriumthiosulfat titrert i prøven, og *N* er normaliteten av natriumthiosulfat løsningen (AOCS, 1990b; Frankel, 2005).

Målemetoden ble utført i henhold til *AOCS Official Method Cd 8-53* på 14 n-3 produkter. For n-3 produkter som viste seg å være lavoksiderte ble 0.01 N natriumthiosulfat benyttet.

### 3.2.2 PeroxySafe™ STD Kit

*PeroxySafe™ STD Kit* er en kjemisk kolorimetrisk målemetode, som er basert på overføring av frie radikaler til et metallkromogent kompleks. I spektrofotometri måles absorbansen i en væskefase ved en bestemt bølgelengde, som væskens evne til å hemme lysgjennomtrengeligheten ved den angitte bølgelengden. I kittet avleses absorbans ved på 570 nanometers bølgelengde [nm]. I tillegg benyttes en referansebølgelengde på 690nm for å korrigere for egenabsorbans i prøven. Resultater kan avleses som meq/kg prøve, og økning i hydroperoksider er direkte proporsjonal med økning i absorbans. Målemetoden angir PV i området mellom 0,02 og 50 meq/kg. Kittet består av en alkoholholdig løsning som oljen løses i. Deretter tilsettes en alkoholbasert reagent (*Reagent A*), pH-indikator (*Reagent B*) og jernsalter (*Reagent C*). For å kalibrere metoden benyttes tre kalibratorer med ulike konsentrasjoner av hydroperoksider (MP Biomedicals, 1994; MP Biomedicals, årstall ikke oppgitt).

### 3.2.2.1 Måling av peroksidverdi med *PeroxySafe™ STD Kit*

100mg prøve ble veid inn i reagensrør og tilsatt 1,8ml *Standard Preparation Reagent* og mikset i ett minutt. 50 µl prøveløsning ble overført til nye 12mm glassrør og tilsatt *Reagent A*, *Reagent B* og *Reagent C*, og mikset i 30 sekunder. Eksakt 15 minutter senere ble prøvene avlest i spektrofotometer (*MICROCHEM™ II ANALYZER*) ved 570 nm. Kalibreringskurve ble laget ved hjelp av *Reagent Blank* og tre medfølgende kalibreringsløsninger. Resultatene oppgir PV i meq/kg prøve, og oljens egenvekt i produktet må derfor korrigeres for for å kunne direkte sammenligne med referansemetoden.

### 3.2.2.2 Validering av *PeroxySafe™ STD Kit*

*PeroxySafe™ STD Kit* ble validert mot *AOCS Official Method Cd 8-53*. Vi analyserte PV i 24 marine oljer uten tilsetninger (utover antioksidanter) ved bruk av *PeroxySafe™ STD Kit*. De ulike oljene hadde en kjent PV fra analyse ved bruk av *AOCS Official Method Cd 8-53* metoden.

Vi fant at *PeroxySafe™ STD Kit* metoden hadde, i våre analyser, en systematisk feil som måtte korrigeres for. Etter korrigering viste PV målt ved *PeroxySafe™ STD Kit* god korrelasjon med referansemetoden ( $r = 0,98$ ). Alle resultater av kittet ble omregnet i henhold til formelen for å direkte kunne sammenligne resultatene med *AOCS Official Method Cd 8-53*. PV ble kalkulert ved formelen:

$$\text{PV referansemetode} = (\text{PV PeroxySafe™ STD Kit}/0.42) \times \text{oljens egenvekt i produktet}$$

I denne studien er 99 produkter analysert ved bruk av *PeroxySafe™ STD Kit*. Alle resultater av *PeroxySafe*-metoden er konvertert til *AOCS*-verdier. For hver serie av prøver som ble analysert ble tre medfølgende standarder i kittet analysert for å kontrollere systemet. Dersom resultatet av en prøve ble flagget som lav eller høy absorbans ble prøven henholdsvis konsentrert opp eller fortynnet, og analysert på nytt. Differansen mellom parallellene skulle være maksimum 5% , ellers ble prøven analysert på nytt.



### 3.2.3 Anisidinverdi

Måling av AV gir et estimat av innhold av sekundære oksidasjonsprodukter, hovedsakelig i form av aldehyder som følge av nedbrytning av hydroperoksider. Måling av AV ved spektrofotometri er en vanlig metode for å anslå nivå av sekundære oksidasjonsprodukter i marint, animalsk og vegetabilsk fett og oljer. Aldehyder i oljen reagerer med p-anisidin i en eddik/isooktanløsning. Nivået av reaksjonsprodukter fastslås deretter spektrofotometrisk ved 350 nanometers bølgelengde (Allen & Hamilton, 1994; Shahidi & Wanasundara, 1998b). AV er definert som 100 ganger absorbansen i en løsning hvor ett gram fett eller olje er løst i 100 ml blanding av løsemiddel og p-anisidin, avlest ved 350 nanometers [nm] bølgelengde i en 1 cm celle (AOCS, 1990a; Allen & Hamilton, 1994; Shahidi & Wanasundara, 1998b). Det er aldehydene 2-alkenaler og 2,4-dienaler som primært har blitt antatt å utgjøre de største utslagene på AV (AOCS, 1990a). Senere studier har likevel vist at det kan være at metoden ikke er så spesifikk i hvilke sekundære oksidasjonsprodukter den måler (Frankel, 2005; Olsen, 2005). Anisidintall har ingen benevnning.

Fargeintensiteten på reaksjonsproduktet som dannes avhenger ikke kun av mengde aldehydkomponenter, men også av deres struktur. P-anisidin måler både mettede og umettede aldehyder (Allen & Hamilton, 1994).

#### 3.2.3.1 Måling av anisidinverdi ved spektrofotometri

Ett gram prøve ble veid inn i 25 ml volumetriske flasker, løst opp i isooktan (*Merck*) til 25 ml og mikset. Absorbansen ble deretter avlest i 2,5 ml løsemiddelresistente kyvetter ved 350 nm bølgelengde i et spektrofotometer (*Pharmacia Biotech Ultrospec 3000*) i celler på 1 cm, med isooktan som referanse. 5 ml løsning ble deretter pipetert over i reagensrør og tilsatt 1 ml p-anisidin (*Merck*) løst i eddiksyre (*Merck*) og mikset. Ved nærvær av eddiksyre reagerer p-anisidin med aldehydkomponenter i prøven. Etter ti minutter ble absorbansen avlest, med isooktan tilsatt p-anisidin som referanse. AV ble kalkulert ved formelen:

$$AV = \frac{25 \times (1,2As - Ab)}{m}$$

I formelen er  $Ab$  absorbans for prøven løst i isooktan,  $As$  er absorbans for prøven etter reaksjon med p-anisidin, og  $m$  er massen i gram olje i 25 ml isooktan. Faktoren 1,2 skyldes at løsningen som inneholder oljen sammen med p-anisidin er fortynnet som følge av anisidinreagenten, mens løsningen med olje i isooktan,  $Ab$ , ikke er fortynnet (Allen & Hamilton, 1994).

p-anisidin ble renset i henhold til AOCS Official Method Cd 18-90 (AOCS, 1990a). Metoden er gjennomført i henhold til AOCS Official Method Cd 18-90. Samtlige produkter er analysert ved bruk av metoden. Dersom verdiene ved noen av målingene oversteg 1,5 i absorbans ble prøvene fortynnet og analysert på nytt. Differansen mellom parallellene skulle være mindre enn 0,005 i absorbans, ellers ble prøvene analysert på nytt.

### 3.2.4 TOTOX-verdi

Fordi PV i en olje endres over tid, og fordi AV øker som følge av at hydroperoksider brytes ned, vil oksidasjonskvaliteten på en olje best beskrives ved å se disse to verdiene i sammenheng med hverandre. I industrien gjøres dette ofte ved å beregne den totale oksidasjonsverdien, TOTOX-verdien. TOTOX-verdien kombinerer dermed historien til en olje (gjenspeilet i AV) med dens nåværende tilstand (ved PV). Derfor har beregning av TOTOX-verdien blitt utført i utstrakt grad for å estimere den oksidative forringelsen i en olje (Allen, 1986; Allen & Hamilton, 1994). PV multipliseres fordi en PV-ekvivalent antas å gi opphav til to AV-ekvivalenter (Allen & Hamilton, 1994) TOTOX-verdi kan beregnes ved formelen:

$$TOTOX = 2 \times PV + AV$$

### 3.2.5 Fettsyrederivatisering

For å raskt kunne bestemme den fullstendige fettsyresammensetningen i en olje kan gasskromatografi [GC] benyttes. I forkant av en gasskromatografisk analyse må fettsyrene i oljen derivatiseres<sup>13</sup> for å øke deres flyktighet slik at de kan separeres. Derivatene må være upolare og ha lav molekylvekt. Vanligvis forestres fettsyrene med metanol for å danne fettsyremetylestere [FAME]. FAME er ikke-reaktive derivater av fettsyrene, samtidig som de er mer flyktige (Christie, 1989; Greibrokk, Lundanes & Rasmussen, 1994).

#### 3.2.5.1 Metode for derivatisering av fettsyrer

Ca 50mikroliter prøve ble overført til reagensrør med skrukork. Prøven ble løst i 1ml benzen (*Merck*), ristet og tilsatt 2ml 3N metanolisk HCl (*Supelco*) som metyleringsreagens. For å forskyve likevekten mot mer fullstendig ble 200µl 2,2 dimetoksypropan (*Sigma-Aldrich*) tilsatt for å binde opp frigjort glyserol fra reaksjonsblandingen. Prøvene ble så mikset i fem sekunder og satt i vannbad i 20 minutter ved 80°C med kork for fullstendig derivatisering. Etter avkjøling ble prøvene tilsatt 1ml isooktan (*Merck*) og 1ml 5% natriumkloridløsning for bedre faseseparasjon, mikset og sentrifugert i 5 minutter ved 1000 G i romtemperatur (*Heraeus Multifuge 4KR*). Den organiske fasen ble overført til nye reagensrør og tilsatt 1ml 2% natriumbikarbonatløsning, NaHCO<sub>3</sub> (*Merck*) for å nøytralisere overskudd av HCl, mikset og sentrifugert som over. Den organiske fasen ble overført til *GC-vials* (GC-glass med krympekork). For å trekke til seg eventuelle vannrester i prøven ble en spatelspiss vannnnfri natriumsulfat, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (*Merck*), tilsatt. Metoden er standard metode for derivatisering av fettsyrer hos *Nofima Mat AS*.

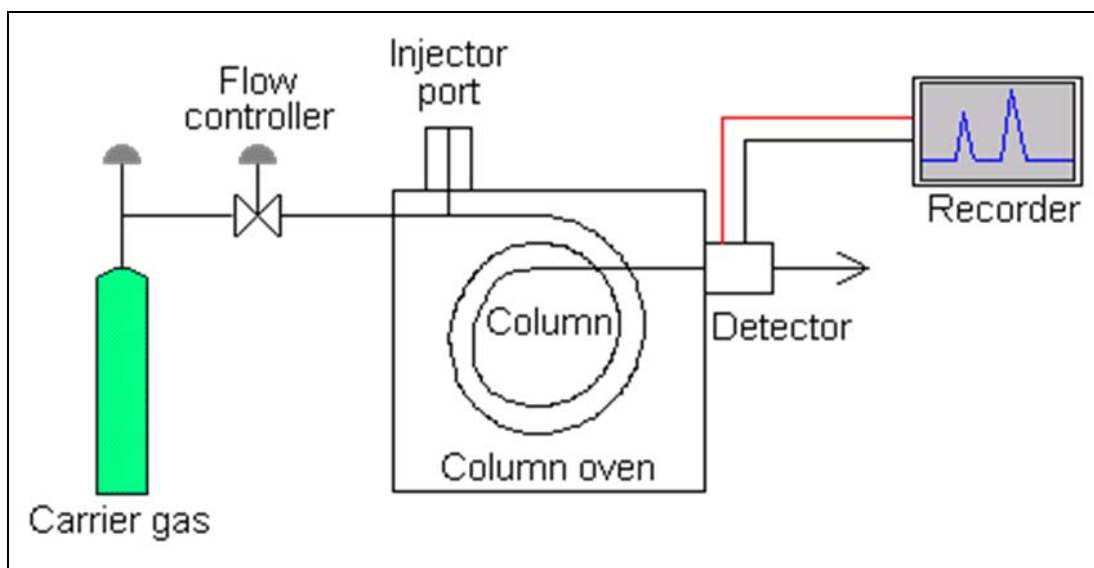
---

<sup>13</sup> Kjemisk modifisering av fettsyrene slik at de blir flyktige (Christie, 1989).

### 3.2.6 Kromatografi

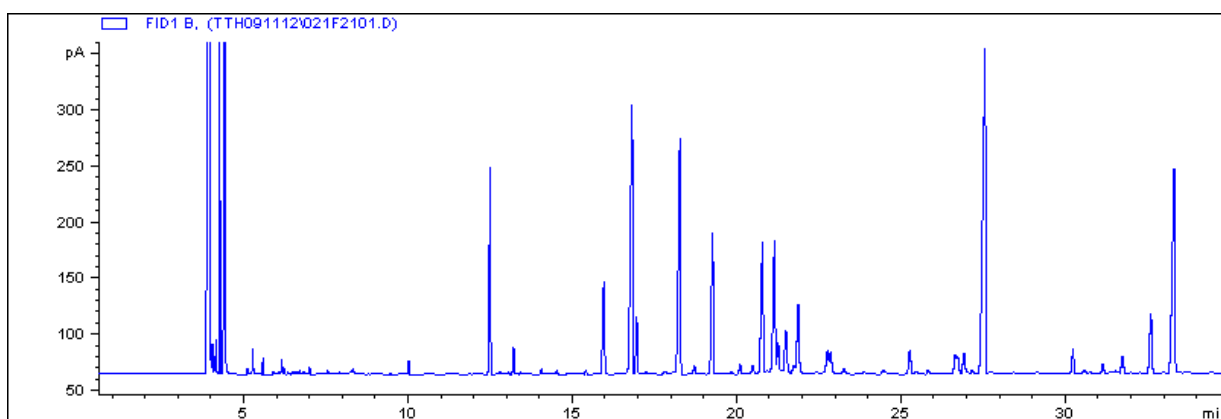
Kromatografi er et samlebegrep på separasjonsmetoder som baserer seg på prinsippet om at stoffer som skal separeres fordeler seg mellom en mobil fase og en stasjonær fase. I *Figur 3.1* er en skjematisk fremstilling av GC vist. I analyse av lipider med GC, også kalt gass-liquid/væske kromatografi, blir komponentene i lipidblandingen separert fra hverandre i flyktig likevektstilstand mellom en mobil gassfase, kalt bæregassen og en stasjonær ikke-flyktig flytende fase fordelt på en ikke-reaktiv grunn i et kromatografisk system (Christie, 1989; Greibrokk, Lundanes & Rasmussen, 1994; Shahidi & Wanasundara, 1998a).

De ulike komponentene i en prøve vil bevege seg med ulik hastighet gjennom kolonnen fordi graden av affinitet til den stasjonære fasen varierer. Komponentene har ulik affinitet på grunn av ulik polaritet, kjedelengde og umettethet med påfølgende flyktighet. Vandringshastigheten gjennom kolonnen blir bestemt av komponentens likevektsfordeling mellom mobil- og stasjonærfase. Det er molekylfraksjonen som er i mobil fase som avgjør et stoffs hastighet gjennom kolonnen fordi molekyler i stasjonærfasen ikke kan bevege seg. Jo større fraksjon et stoff har i stasjonærfasen, jo saktere vil derfor stoffet bevege seg gjennom kolonnen. Ulike komponenter i en blanding vil i ulik grad diffundere inn i stasjonærfasen og på den måten flytte seg nedover kolonnen i ulik hastighet. På den måten blir det en spredning langs kolonnen. Det er denne forskjellen i vandringshastighet som er basis for en kromatografisk separasjon (Christie, 1989; Greibrokk, Lundanes & Rasmussen, 1994). Den mest vanlige detektoren i analyse av fettsyrer er flammeionisasjonsdetektor [FID]. Når kun bæregass passerer detektoren vil skriveren tegne en rett linje kalt grunnlinjen. Ved forbrenning av organiske stoffer i flammen vil det skrives ut en topp på skriveren (*Figur 3.2*) (Greibrokk, Lundanes & Rasmussen, 1994).



**Figur 3.1. Skjematisk presentasjon av en gasskromatograf.**

En gasskromatograf består av en høytrykkssylinder med bæregass, reduksjonsventil, injektor, kolonneovn, kolonne, detektor og integrator. En termostatert ovn styrer temperaturen i injektoren, kolonnen og detektoren. Bæregassens oppgave er å frakte fettsyremetylerne gjennom kolonnen. Den er inert og reagerer ikke med prøven eller stasjonærfasen. De mest brukte gassene til dette formålet er nitrogen, helium og hydrogen. Bæregassen strømmer gjennom injektoren, kolonnen og til detektoren via reduksjonsventiler. En angitt mengde av prøven som skal analyseres sprøytes inn i den oppvarmede injektoren til fordampning, for så å bringes til kolonnen med bæregassen. Her separeres stoffene i prøven og passerer til slutt detektoren hvor det skapes et elektrisk signal som etter forsterkninger skrives ut som et kromatogram på en skriver (Greibrokk, Lundanes & Rasmussen, 1994).



**Figur 3.2. Kromatogram**

Figuren viser utskrift av en analyse av fettsyresammensetning på en gasskromatograf. En topp i kromatogrammet gjenspeiler en organisk forbindelse, i dette tilfellet en fettsyre-metyler. Fettsyrer blir separert som følge av ulik flyktighet på grunn av ulik karbonkjedelengde, grad av umettethet, samt posisjonsisomerisering i fettsyrene (Christie, 1989).

### 3.2.6.1 Gasskromatografisk analyse og fettsyreidentifisering

De opparbeidede FAME prøvene ble injisert split 50:1 ved 240 °C på en *Agilent 5890* gasskromatograf med helium som bæregass, og separert på *SGE BPX-70* kapillærkolonne (60 m\* 0,25 mm i.d\* 0,25 µm film ). Temperaturprogrammet startet på 70 °C i ett minutt og økte med 30 °C i minuttet til 170 °C, deretter 1,5 °C i minuttet til 200 °C og 3 °C i minuttet til 220 °C hvor temperaturen ble holdt i fem minutter. FAME ble detektert av en flammeionisasjonsdetektor. Kromatografiske topper ble integrert med *Agilent Chemstation* software og identifisert ved sammenligning av retensjonstider til kjente fettsyrer i den eksterne standardblandingen *68D (Nu-Check Prep Inc)*. Blanke prøver (isooktan) og standard ble kjørt ved hver sekvenskjøring for å kontrollere systemet og kalibrering. Dersom parallellene hadde et totalareal som var mer enn 10% forskjellig eller dersom forskjellen i antallet kromatografiske topper var fem eller mer mellom parallellene ble prøvene analysert på nytt. Dersom prøver gav færre enn 35 kromatografiske topper ble også disse analysert på nytt. Absolutte arealer ble brukt i bearbeidingen av data, og senere omregnet til prosentarealer. Prosentarealene ble videre benyttet for å beregne mg/g olje av EPA og DHA i n-3 produktene.

### 3.3 Statistiske analyser

I denne studien er resultatene presentert ved bruk av deskriptive analyser. Dataene var ikke normalfordelte verken for PV, AV eller TOTOX-verdi eller innhold av EPA og DHA, derfor er resultatene presentert som median og med minimums- og maksimumsverdi (spredning). Ved sammenligning av to undergrupper ble *Mann-Whitney U Test* benyttet. For å undersøke hvorvidt det var lineær sammenheng mellom konsentrasjon av sum EPA og DHA med målte oksidasjonsverdier (PV, AV og TOTOX-verdi) ble *Spearman's Rho* analyse benyttet. *Wilcoxon Signed Rank Test* ble benyttet for å sammenligne deklarerert innhold av EPA og DHA versus innhold av EPA og DHA målt ved GC. Statistisk signifikans er definert som  $p \leq 0.05$ . Alle analyser er gjennomført i *Statistical Package for the Social Sciences*, SPSS, versjon 16.0.

## 4. Resultater

### 4.1 Utvalg

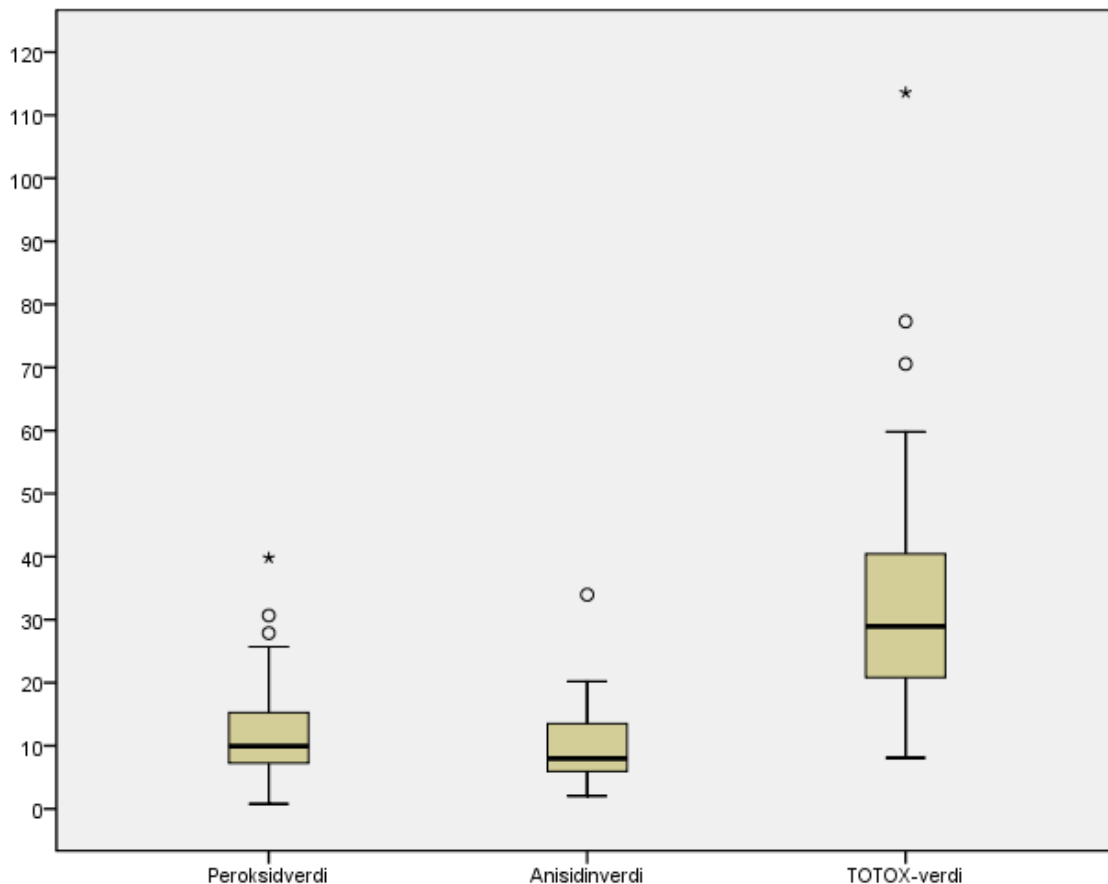
Det ble gjennomført måling av oksidasjon på alle n-3 produktene (n = 113) ved bruk av PV- og AV-metodene slik beskrevet tidligere i studien (side 20-24). Imidlertid viste det seg at PV og AV for en rekke n-3 produkter ikke lot seg detektere, eller resultatet viste ekstremt høye verdier i forhold til øvrige n-3 produkter i utvalget. I tillegg, AV viste negative verdier for flere n-3 produkter. Vi fant at i n-3 produkter hvor det var tilsatt ulike komponenter til oljene, så påvirket dette analysene på en slik måte at vi måtte anta at resultatene var feilmålinger. Dette førte til at alle produkter som inneholdt krillolje og alle produkter som var i emulsjonsform ble ekskludert fra PV- og AV-analysene. n-3 produkter som var tilsatt aroma, fargestoff, Q10, samt produktet i tablettform, tenderte også til å gi resultater som vi måtte anta var feilaktige. Utvalget ble dermed redusert fra 113 til totalt 56 n-3 produkter.

I dette reduserte utvalget var 38 av n-3 produktene deklarerert med fiskeolje som eneste marine oljekilde, 13 var deklarerert med selolje, tre var deklarerert med haileverolje, ett produkt var deklarerert med kombinasjon av sel- og fiskeolje og ett n-3 produkt var deklarerert med muslingolje som marin oljekilde.

### 4.2 Oksidasjonsnivå i n-3 produkter

Denne studien viser at median verdi av PV (i meq/kg), AV og TOTOX-verdi for hele gruppen av n-3 produkter (n = 56) var henholdsvis 9.9 (0.8-39.8), 8.0 (2.1-34.0), og 29.0 (8.1-113.6). *Figur 4.1* viser spredningen i materialet. 25% av n-3 produktene hadde verdier tilsvarende eller lavere enn 7.3, 9.9 og 15.3 for henholdsvis PV, AV og TOTOX, mens 25% hadde PV, AV og TOTOX-verdi tilsvarende eller høyere enn 15.3, 13.6 og 40.9. Tre produkter skiller seg ut med høye verdier for både PV og TOTOX-verdi. I tillegg hadde ett produkt høy AV.





**Figur 4.1. "Box and whiskers plott", peroksidverdi, anisidinverdi og TOTOX-verdi**

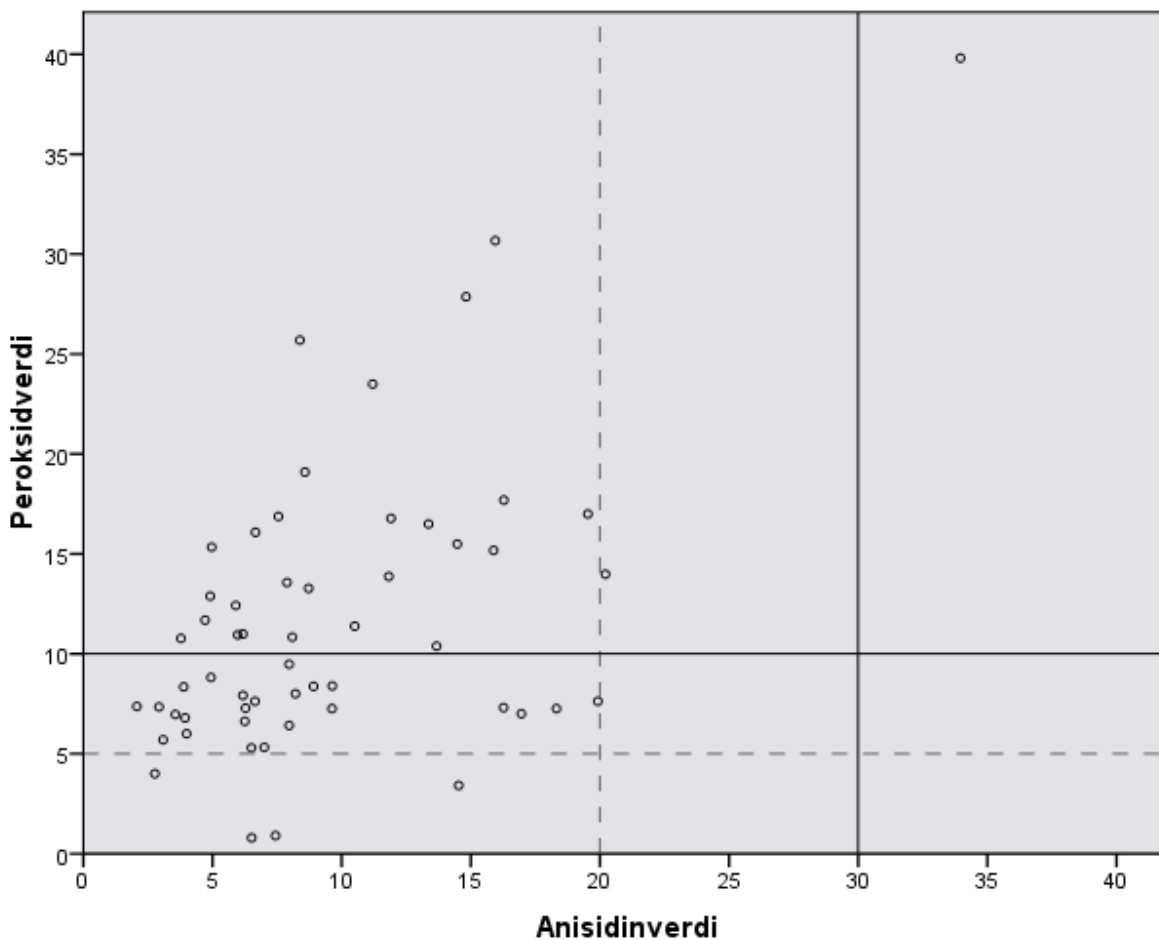
Figuren viser fordelingen av peroksidverdi (PV), anisidinverdi (AV) og TOTOX-verdi for 56 omega-3 produkter. Median, 25- og 75-persentiler er angitt ved midtre, nedre og øvre linje i boksene, og laveste og høyeste verdi er angitt ved "whiskerne". Uteliggere er markert med sirkler (verdier som er 1.5 bokselengder eller mer over hver boks) eller stjerner (verdier som er 3 bokselengder eller mer over hver boks).

#### 4.2.1 Oksidasjonsnivå sammenlignet med grenseverdier

Det er, som nevnt tidligere, ulike grenseverdier for oksidasjon i de europeiske farmakopømonografiene avhengig av fiskeoljetype. Høyeste angitte grenseverdi for PV er 10 og for AV 30. Grenseverdi for TOTOX benyttes ikke i denne sammenheng, men kan ved bruk av verdiene nevnt over beregnes til maksimum 50. Det var interessant å undersøke nivå av oksidasjon i n-3 produktene i forhold til disse grenseverdiene angitt i flere farmakopømonografier.

Vi finner at 28 av de 56 n-3 produkter hadde en PV over høyeste angitte grenseverdi angitt i flere farmakopømonografier. Ett n-3 produkt hadde høyere AV enn grenseverdien, og dette produktet hadde i tillegg høyeste nivå av PV (*Figur 4.2*). Sju n-3 produkter hadde TOTOX-verdi over 50.

Når vi sammenligner nivå av oksidasjonsprodukter med grenseverdier i monografi fra GOED, som har noe strengere krav enn den europeiske farmakopøen (PV < 5, AV < 20, TOTOX-verdi < 26) finner vi at 52 av 56 n-3 produkter i denne studien hadde PV høyere enn GOEDs grenseverdi, og at to n-3 produkter hadde AV over grenseverdien angitt i GOEDs monografi (*Figur 4.2*). 33 av 56 n-3 produkter hadde TOTOX-verdi over 26.



**Figur 4.2. Oksidasjonsverdier og grenseverdier**

Figuren viser peroksidverdi (PV) og anisidinverdi (AV) i hver av omega-3 produktene ( $n = 56$ ) i forhold til grenseverdi angitt i europeiske farmakopømonografier som heltrukne linjer (for PV 10 og AV 30) og i forhold til grenseverdi angitt i monografi fra GOED (PV 5 og AV 20) vist som stiplede linjer i diagrammet. Figuren viser at kun fire produkter har PV og AV innenfor grenseverdi fra GOED.

#### 4.2.2 Oksidasjon og konsentrasjon av EPA og DHA

Fordi høy konsentrasjon av flerumettede fettsyrer gjør en olje mer utsatt for oksidasjon ønsket vi å undersøke om konsentrasjonen av fettsyrene EPA og DHA målt ved GC korrelerte med nivå av PV og AV målt i denne studien, og med beregnet TOTOX-verdi. Alle n-3 produkter i det reduserte utvalget er inkludert ( $n = 56$ ) i denne analysen.

Vi fant en positiv korrelasjon mellom økende konsentrasjon av EPA og DHA og PV ( $r = 0.3$ ,  $p = 0.025$ ), AV ( $r = 0.6$ ,  $p < 0.001$ ) og TOTOX-verdi ( $r = 0.5$ ,  $p < 0.001$ ).

Ved oksidasjon er EPA og DHA de mest utsatte fettsyrene, og disse kan potensielt nedbrytes under oksidasjonsprosessen. Det var derfor interessant å sammenligne deklarerert konsentrasjon av EPA og DHA med analysert konsentrasjon av EPA og DHA i hele utvalget av 113 n-3 produkter. Alle produkter er likevel ikke inkludert, fordi varedeklarasjon for enkelte produkter var mangelfull.

Vi finner et statistisk signifikant høyere nivå estimert fra GC-analyser<sup>14</sup> av EPA, median 170 (8-670) mg/g olje versus 188 (10-590) mg/g olje ( $p < 0.001$ ), DHA, median 145 (8-455) mg/g olje versus 142 (14-538) mg/g olje ( $p < 0.001$ ), og sum EPA og DHA, 300 (49-86) mg/g olje versus 318 (40-790) mg/g olje ( $p < 0.001$ ), enn deklarerert konsentrasjon ( $n = 96$ ).

#### 4.2.3 Oksidasjonsnivå og ulike oljer

Fisk som benyttes i n-3 oljer har opprinnelse primært i Sør-Amerika/Nord-Afrika (18/12-oljer) eller Nord-Europa. Fiskeoljer kan også være i oppkonsentrert form. I tillegg kan annet marint råstoff benyttes i marine n-3 oljer. Vi ønsket å undersøke om det var forskjell i oksidasjonsnivå mellom: n-3 produkter med ulik geografisk opprinnelse, ulik konsentrasjon av EPA og DHA eller ulik marin opprinnelse.

Inndelingen ble foretatt på bakgrunn av informasjon fra varedeklarasjon. For n-3 produkter som hadde fiskeolje som eneste deklarererte marine oljekilde ( $n = 38$ ) ble i tillegg resultat av analyser av fettsyresammensetning benyttet til å bestemme opprinnelsesområde, samt om produktet var oppkonsentrert eller ikke. Konsentrasjonen av fettsyrene EPA, DHA, DPA, samt C20:1 ble studert (for prinsipper se side 2). Dette ble gjort fordi kun et fåtall av produktene angir fiskeoljetype på varedeklarasjonen. For n-3 produkter som ikke var basert på fiskeolje ble informasjon fra varedeklarasjonen benyttet for å angi marin opprinnelse. n-3 produkter som ble deklarerert med selolje og haileverolje ble inndelt i hver sine undergrupper. I *Tabell 4.1* er

---

<sup>14</sup> Konsentrasjoner av fettsyrene er estimert ved bruk av prosentarealer fra bearbejdet resultater av gasskromatografiske analyser.

inndeling av de ulike undergruppene vist. I tillegg viser tabellen median konsentrasjon av EPA og DHA målt ved GC-analyser for hver av undergruppene.

Førtisju av 56 n-3 produkter er inkludert i analysen av undergruppene. Følgende n-3 produkter ble ikke tatt med: tre produkter basert på fiskeolje som lot seg ikke kategorisere ved bruk av analyser av fettsyresammensetning, to produkter som var en blanding av flere marine oljekilder og ett produkt var basert på muslingolje.

Oljetype (n)	Konsentrasjon av sum EPA og DHA mg/g
18/12-olje <sup>1</sup> (8)	310 (270-330)
oppkonsentrert fiskeolje <sup>1*</sup> (18)	590 (490-790)
Nordeuropeisk fiskeolje <sup>1**</sup> (5)	210 (140-240)
Selolje <sup>2***</sup> (13)	170 (120-320)
Haileverolje <sup>2</sup> (3)	120 (70-130)

**Tabell 4.1. Inndeling av oljetyper og konsentrasjon av EPA og DHA**

Tabellen viser inndeling og antall av omega-3 produkter for oljetyper med ulik marin opprinnelse, samt oppkonsentrerte fiskeoljer (n = 47) basert på varedeklarasjon og/eller analyser av fettsyresammensetning. Konsentrasjonen av fettsyrene eikosapentaensyre (EPA) og dokosaheksaensyre (DHA) oppgitt i mg/g er beregnet på bakgrunn av analyser av fettsyresammensetning ved bruk av GC-resultater.

Konsentrasjon av EPA og DHA er presentert som median (spredning).

<sup>1</sup>produkter deklarerert med fiskeolje er klassifisert på bakgrunn av analyser av fettsyresammensetning og prinsipper i kapittel 1.2 *Karakterisering av fiskeoljer til humant konsum*

<sup>2</sup>inndelt på bakgrunn av oppgitt marin artsopprinnelse på varedeklarasjon

\*Fire oppkonsentrerte fiskeoljer er ekskludert fordi de ikke kunne utelukkes å være i kombinasjon med ikke-oppkonsentrerte fiskeoljer. Produktene inneholdt store mengder vegetabiliske oljer. \*\*Kun et produkt tydet på å være basert på lakseolje. Fordi produktet hadde lik oksidasjonsprofil som torskeleveroljene, er dette produktet slått sammen med torskeleveroljene til kategorien *Nordeuropeiske fiskeoljer*. \*\*\* Et produkt var kombinasjon av selolje og fiskeolje og er derfor ekskludert.

Medianverdi for PV, AV og TOTOX-verdi inndelt i forhold til de ulike oljetyperne: 18/12-oljer, oppkonsentrerte fiskeoljer, nordeuropeiske fiskeoljer, seloljer og haileveroljer er vist i *Tabell 4.2*. Denne studien viser at 18/12-oljer hadde høyere medianverdier for PV, AV og TOTOX-verdi enn de øvrige gruppene og i tillegg stor spredning i nivå av oksidasjonsprodukter. Nordeuropeiske fiskeoljer, seloljer og haileveroljer hadde alle median under grenseverdi i den europeiske

farmakopø for PV, i motsetning til 18/12-oljer, hvor median PV var over grenseverdi i den europeiske farmakopø. I tillegg hadde 18/12-oljer høyere median AV enn de øvrige undergruppene.

	PV	AV	TOTOX
<b>18/12-oljer (n = 8)</b>	15.8 (7.3-39.8)	15.9 (8.7-34.0)	46.3 (30.9-113.6)
<b>Oppkonsentrerte fiskeoljer* (n = 18)</b>	9.6 (5.3-27.9)	8.7 (6.2-19.9)	31.9 (17.7-70.6)
<b>Nordeuropeiske fiskeoljer** (n = 5)</b>	7.4 (4.0-23.5)	8.0 (2.1-11.2)	20.8 (10.8-58.2)
<b>Seloljer*** (n = 13)</b>	8.4 (0.8-16.1)	4.9 (3.1-6.7)	22.0 (8.1-38.8)
<b>Haileveroljer (n = 3)</b>	7.3 (5.3-7.4)	6.5 (2.9-9.6)	17.6 (17.1-24.2)

**Tabell 4.2 Oljetyper og oksidasjonsverdier**

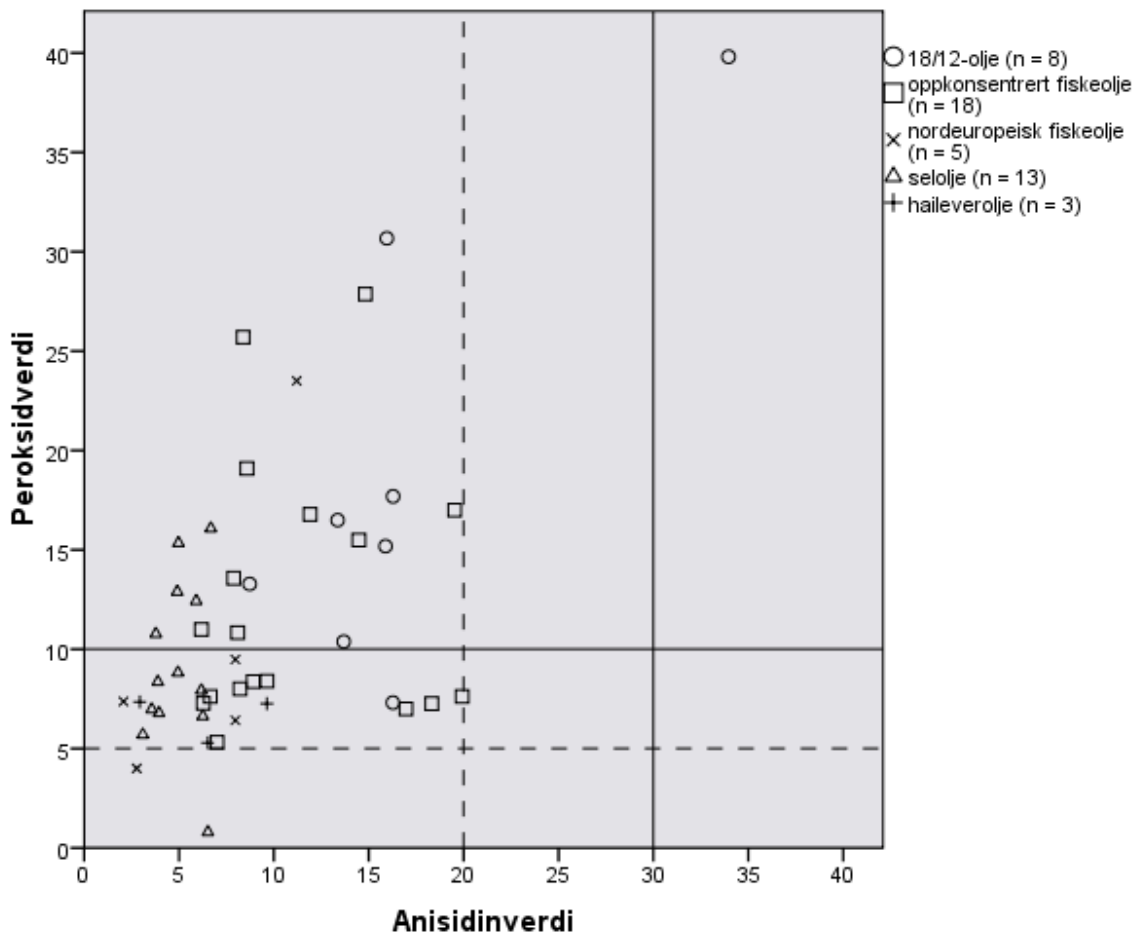
Tabellen viser medianverdier (spredning) for peroksidverdi (PV), anisidinverdi (AV) og TOTOX-verdi for omega-3 produktene inndelt i ulike oljetyper (n = 47). To produkter inneholdt store mengder vegetabiliske oljer og hadde konsentrasjon av EPA og DHA til sammen lavere enn 10%, og lot seg ikke identifisere, ett produkt var basert på muslingolje, og et produkt tydet på å være kombinasjon av 18/12-olje og torskeleverolje (bekreftet ved varedeklarasjon). Disse er ekskludert. Tabellen viser at 18/12-oljer har høyeste medianverdier for nivå av oksidasjon og størst spredning i oksidasjonsverdier.

\*Fire oppkonsentrerte fiskeoljer er ekskludert fordi de ikke kunne utelukkes å være i kombinasjon med ikke-oppkonsentrerte fiskeoljer. Produktene inneholdt store mengder vegetabiliske oljer. \*\*Kun et produkt tydet på å være basert på lakseolje. Fordi produktet hadde lik oksidasjonsprofil som torskeleveroljene, er dette produktet slått sammen med torskeleveroljene til kategorien *Nordeuropeiske fiskeoljer*. \*\*\* Et produkt var kombinasjon av selolje og fiskeolje og er derfor ekskludert.

*Figur 4.3* viser nivå av PV og AV for hver av undergruppene i forhold til høyeste angitte grenseverdi i farmakopømonografiene og GOEDs monografi. Sju 18/12-oljer, ni oppkonsentrerte fiskeoljer, en nordeuropeisk fiskeolje og fem seloljer hadde høyere PV enn 10. Ingen haileveroljer hadde PV over grenseverdien i den europeiske farmakopø. En 18/12-olje hadde AV over høyeste grenseverdi angitt i den europeiske farmakopø. Dette var i tillegg det mest oksiderte n-3 produktet i dette utvalget for PV. Tre 18/12-oljer, tre oppkonsentrerte fiskeoljer og en nordeuropeisk fiskeolje hadde TOTOX-verdi over 50.

Sammenlignet med grenseverdier angitt av GOED hadde samtlige 18/12-oljer, oppkonsentrerte fiskeoljer og haileveroljer, i tillegg til fire nordeuropeiske fiskeoljer og 12 seloljer PV over GOEDs grenseverdi, men ingen rene haileveroljer hadde PV over grenseverdien. Sju av åtte

18/12-oljer hadde AV over grenseverdien angitt av GOED (Figur 4.3). Samtlige 18/12-oljer, 13 oppkonsentrerte fiskeoljer og to nordeuropeiske fiskeoljer og fire seloljer hadde TOTOX-verdi over 26. Ingen haileveroljer hadde TOTOX-verdi over GOEDs grenseverdi.



**Figur 4.3. Oksidasjonsverdier og oljetyper**

Figuren viser peroksidverdi (PV) og anisidinverdi (AV) i hver av omega-3 produktene (n = 47) inndelt i oljer av ulik marin opprinnelse, samt oppkonsentrerte fiskeoljer, i forhold til grenseverdi angitt i europeiske farmakopømonografier som heltrukne linjer (PV 10 og AV 30) og i forhold til grenseverdi angitt i monografi gitt av GOED (PV 5 og AV 20) vist som stiplede linjer i diagrammet. Figuren viser at én 18/12-olje har PV og AV over grenseverdiene i farmakopø, og kun en 18/12-olje har PV og AV under grenseverdiene i farmakopø. En nordeuropeisk fiskeolje og en selolje er innenfor grenseverdier gitt av GOED for både PV og AV.

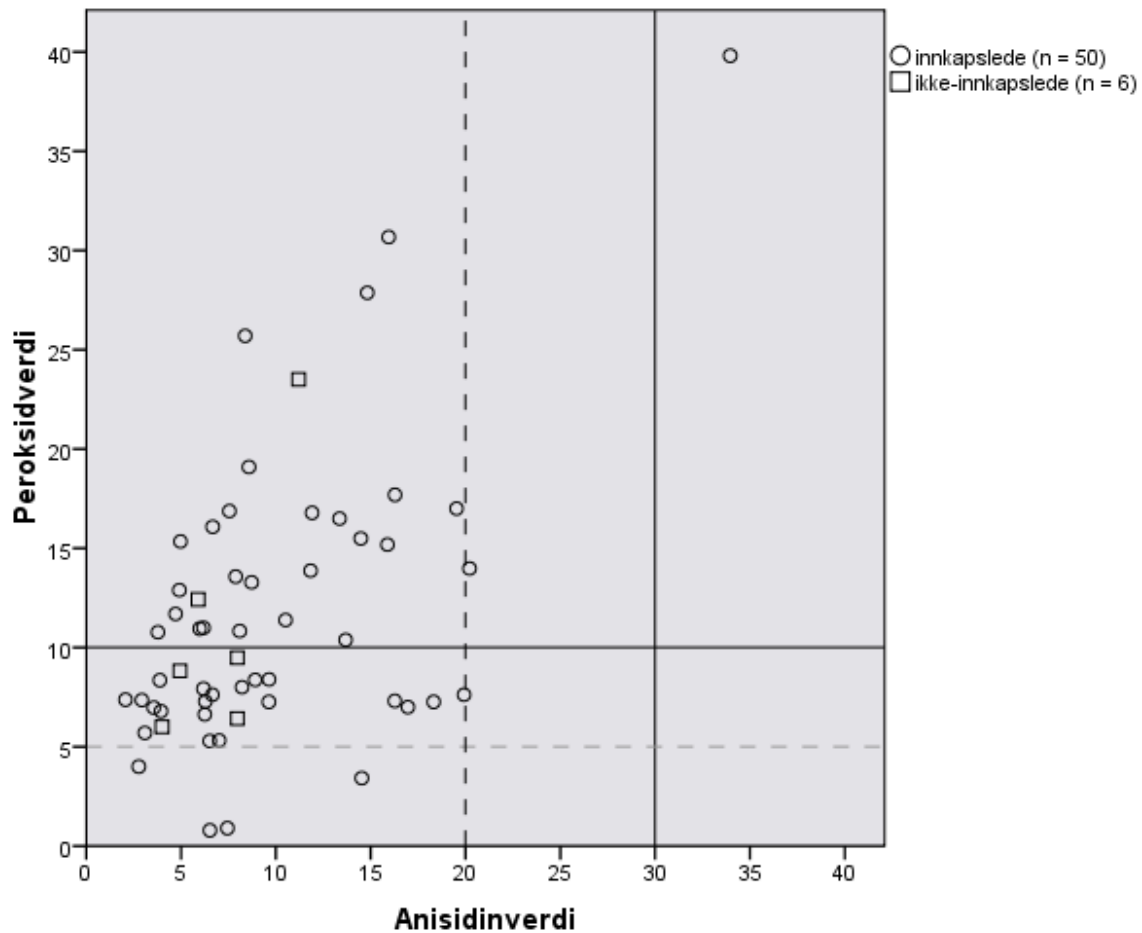
#### 4.2.4 Innkapslede og flytende n-3 produkter

Vi ønsket å undersøke om innkapslede n-3 produkter (n = 50) hadde ulikt oksidasjonsnivå enn flytende (n = 6) n-3 produkter, og deretter sammenligne dette med grenseverdier i farmakopømonografier og monografi gitt av GOED. I denne studien fant vi ingen statistisk signifikant forskjell mellom henholdsvis innkapslede n-3 produkter og flytende n-3 produkter for PV, 10.6 (0.8-39.8) versus 9.2 (6.0-23.5) (p = 0.8), AV, 8.2 (2.1-34.0) versus 6.9 (4.0-11.2) (p = 0.3), eller TOTOX-verdi, 30.2 (8.1-113.6) versus 24.8 (16.4-58.2) (p = 0.5).

Tjuseks innkapslede og to flytende n-3 produkter hadde PV over høyeste angitte grenseverdi i den europeiske farmakopø. Ett innkapslet n-3 produkt var over høyeste angitte grenseverdi for AV (*Figur 4.4*), og seks innkapslede og ett flytende n-3 produkt var over beregnet TOTOX-grenseverdi.

Alle de flytende (n = 6) og 46 av 50 innkapslede n-3 produkter hadde PV over GOEDs grenseverdi. For PV skilte en flytende olje seg fra de øvrige flytende n-3 produktene med høyere PV. De øvrige flytende n-3 produktene hadde PV mellom 6 og 12. To innkapslede n-3 produkter hadde AV høyere enn 20, som er GOEDs krav, men ingen av de flytende. Samtlige n-3 produkter som hadde AV over 12 var innkapslede (n = 15) (*Figur 4.4*). Tretti innkapslede og 3 flytende n-3 produkter hadde TOTOX-verdi over 26.





**Figur 4.4. Oksidasjonsverdier i innkapslede og flytende oljer.**

Figuren viser peroksidverdi (PV) og anisidinverdi (AV) i hver av n-3 produktene (n = 47) inndelt innkapslede og flytende n-3 produkter, i forhold til grenseverdi angitt i europeiske farmakopømonografier som heltrukne linjer (PV 10 og AV 30) og i forhold til grenseverdi angitt i monografi gitt av GOED (PV 5 og AV 20) vist som stiplede linjer i diagrammet. Et innkapslet n-3 produkt hadde PV og AV over grenseverdier i farmakopø. To flytende n-3 produkter hadde PV over grenseverdien for PV i farmakopø. Fire innkapslede n-3 produkter hadde PV og AV innenfor grenseverdiene gitt av GOED.

## 5. Diskusjon

### 5.1 Utvalg

Utvalget i denne studien er basert på et utvalg av produkter som inneholder marint n-3 i salg i forretninger i Oslo og Akershus i perioden august til november 2009. Innkjøp av n-3 produkter var en stor utfordring. Ingen instans fører tilsyn med tilgjengelige n-3 produkter på markedet, verken når det gjelder antall eller mest solgte, og samtidig foregår det en kontinuerlig utskiftning av produkter. Produktene i denne studien er handlet inn i et begrenset geografisk område, og det kan derfor være en mulighet for at andre produkter vari salg i andre deler av landet i samme periode.

En annen begrensning ved utvalget i denne studien er at antall produkter ble kraftig redusert som følge av analytiske utfordringer med de begrensinger PV- og AV-metoden har, knyttet til tilsetninger i produkter. Vi kan ikke utelukke at enkelte analyser av innhold av oksidasjonsprodukter for ekskluderte n-3 produkter kan være korrekte, men hvilke dette eventuelt kan være er uvisst. I teorien kan de ekskluderte n-3 produktene ha et høyere nivå av oksidasjonsprodukter fordi flere av disse produktene inneholder prooksidanter som jern, mineraler og kromoforer, eller andre komponenter som aroma som kan kamuflere en eventuell harsk smak. På den annen side inneholder flere av de ekskluderte n-3 produktene andre komponenter som kan fungere som antioksidanter, slik som blåbærekstrakt og ingefær. Dette kan ved riktig bruk hemme oksidasjonsprosessen i produktene, men også akselerere den ved feil bruk (Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996).

Innkjøp ble gjort parallelt med oppstart av analyser, for at vi i størst mulig grad skulle kunne innhente så mange n-3 produkter som mulig. Sett i sammenheng med oversikten vi utarbeidet over tilgjengelige n-3 produkter på marked (*Vedlegg 1*) kan man anta at en stor andel av de marine n-3 produktene på markedet i den gjeldende perioden er inkludert i studien.

Det er vist at variasjon i innhold av hydroperoksider mellom ulike produksjonsserier kan forekomme (Fritsche & Johnston, 1988). Det er derfor en svakhet ved vår studie at vi ikke har samme produkt fra ulike produksjonsserier. På den annen side ville dette medført at innkjøpene og laboratorieanalysene ville tatt mye lenger tid enn hva rammene for en masteroppgave er ment å være.

I studien er kun et lite utvalg av n-3 produkter som selges via internett inkludert (n = 16). I 2006 ble sju prosent av kosttilskuddene som brukes i Norge kjøpt via internett og postordre (Bransjerådet for Naturmidler, 2010). Internettkjøpte produkter ble på bakgrunn av dette inkludert i studien som en del av markedet i Norge og vi inkluderte produkter som betaler for plassering i søkeverktøyet *Google*. Det kan tenkes at kjøp av n-3 produkter på internett i stor grad også gjøres via ulike temasider som *sport og trening* eller *helse*, slik at produktene handlet via internett ikke er representative for dette segmentet. Analyser viste at internettkjøpte n-3 produktene ikke skiller seg fra de butikkjøpte n-3 produktene (resultater ikke vist).

Det er vanskelig å skulle konkludere med at utvalget av n-3 produkter er representativt for alle n-3 produkter som er tilgjengelig for forbruker. Flere studier vil derfor være nødvendig for i større grad å kunne generalisere til alle n-3 produkter tilgjengelig for forbruker.

## 5.2 Statistiske analyser

Hensikten med denne studien er å beskrive nivå av oksidasjonsprodukter i n-3 produktene, og resultatene i denne studien er hovedsakelig presentert ved bruk av deskriptive analyser.

I de tilfeller hvor statistiske analyser ikke er presentert gav ikke slike analyser, så langt vi kunne vurdere, ytterligere informasjon. I tillegg, der statistiske analyser har blitt presentert bør disse resultatene tolkes med forsiktighet. Data i denne studien er skjevfordelte, og antallet produkter i enkelte undergrupper lavt. Det vil derfor medføre høy grad av usikkerhet knyttet til resultater av slike analyser.

## 5.3 Resultatdiskusjon

Denne studien viser at det er stor variasjon i målt PV og AV og beregnet TOTOX-verdi i n-3 produkter. Halvparten av n-3 produktene er over europeisk farmakopømonografiens grenseverdi og at nesten alle er over GOEDs monografi for PV, med unntak av fire produkter. De fleste n-3 produktene er innenfor maksimumsverdiene for AV, både når vi sammenligner med den europeiske farmakopø og monografi angitt av GOED. Det er derfor PV som bidrar mest til over halvparten av produktene har TOTOX-verdi over GOEDs grenseverdi i dette materialet. Funnene for PV og AV i vår studie sammenlignet med monografiene kan trolig forklares med at de ferdig raffinerte oljene som er benyttet i produksjonen av n-3 produktene er forholdsvis ferske og at oksidasjonsprosessen i den raffinerte oljen ikke har pågått over lang tid. Hydroperoksider dannet etter endt raffinering har dermed ikke rukket å bli omdannet til sekundære oksidasjonsprodukter.

Under raffineringen reduseres eller fjernes innholdet av hydroperoksider, men derimot ikke innholdet av ikke-flyktige sekundære oksidasjonsprodukter (Allen & Hamilton, 1994). Fordi innholdet av sekundære oksidasjonsprodukter, målt ved AV, for de fleste n-3 produktene i dette utvalget er innenfor grenseverdiene, kan dette tyde på at råoljene før raffinering har vært lite oksiderte. Påbegynt oksidasjonsprosess ikke har med andre ord ikke nådd så langt at nivået av sekundære oksidasjonsprodukter har begynt å øke betraktelig. Alternativt kan det spekuleres i om de angitte grenseverdiene for AV er høye. Derimot er eventuelle helseeffekter av oksidasjonsprodukter ikke kjent, slik at en diskusjon av etablerte grenseverdier for innhold av slike komponenter gir liten mening. Det ser heller ikke ut til at fettsyresammensetningen i en olje påvirkes av oksidasjonsnivåer i normalområdet for PV (Fritshe & Johnston, 1988).

I vår studie er et produkt uteligger både når det gjelder PV og AV. Dette kan tyde på at den raffinerte oljen benyttet i produktet ikke er så fersk som i de øvrige produktene, eller at produktet under produksjon, eller senere har blitt feil behandlet. En annen mulig årsak kan være feil bruk av antioksidanter i oljen (Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996). De samme faktorene vil også kunne gjelde for de to øvrige uteliggerne for PV og TOTOX-verdi.

Det foreligger begrenset dokumentasjon på nivå av oksidasjonsprodukter i ulike n-3 produkter. I en dansk undersøkelse av 14 n-3 produkter utført i 1988 varierte PV fra null til 7.5, og ingen produkter hadde PV over 10, slik som i farmakopømonografiene, men fem

produkter hadde PV over 5 (jmfør GOED) (Vinter, 1995). Dette er lavere nivå enn i vår studie, hvor 75 prosent av produktene hadde PV over 7.3. I den danske undersøkelsen varierte derimot AV mellom 3.6 og 51.8. Tre produkter hadde AV over 30, slik som i farmakopømonografiene, og ytterligere ett hadde AV over GOEDs grenseverdi. Når TOTOX-verdi ble beregnet hadde to produkter verdi over 50, og ytterligere tre hadde verdi over 26, tilsvarende kravet i GOEDs monografi. Variasjon i TOTOX-verdi i den danske undersøkelsen var mellom 9.8 og 61 (Vinter, 1995). Dersom man utelukker uteliggerne for TOTOX-verdi i vår studie, er funnene i samsvar med den danske undersøkelsen.

I en belgisk studie publisert i 2007 hadde fire av 16 fiskeoljeprodukter PV over farmakopøens maksimumsgrense på 10, og ytterligere ett produkt hadde PV over GOEDs grense på 5. Ingen produkter hadde AV over 30, slik som grenseverdien i farmakopømonografiene, men to produkter hadde AV over 20, som er kravet satt av GOED. Spredningen i oksidasjonsverdier var for PV mellom null ( $n = 3$ ) og 17.2 og for AV mellom 2 og 27. PV i den belgiske studien er lavere enn i vår studie, mens AV derimot var i samsvar med funnene presentert i denne studien. Undersøkelsen er gjort på et lite utvalg, og inkluderer verdier for fem produkter tilsatt komponenter som kan påvirke analysene. Metodene i denne undersøkelsen er de samme som benyttet i vår studie for AV, men ikke direkte for PV (Fierens & Corthout, 2007).

Sammenlignet med de to nevnte undersøkelsene, som ble gjort på små utvalg, viste disse studiene lavere PV, og tilsvarende eller noe høyere AV enn vår studie. Det kan derfor være at n-3 produktene i vårt utvalg er basert på ferskere raffinert olje. Råoljene, spesielt i den danske undersøkelsen, kan også ha vært mer oksiderte enn for produktene i vår studie.

I vår studie hadde to produkter PV under 1 og et annet produkt hadde AV 2.1, som er tilsvarende nivå av primære oksidasjonsprodukter i oljer som tilsettes til matvarer (Utkast til Codex Alimentarius for edible fish oil, 2010). Ingen produkter hadde TOTOX-verdi som tilsvarer verdiene i functional food oljer. Denne studien viser at n-3 produkter som selges som kosttilskudd har et oksidasjonsnivå som generelt er høyere enn oksidasjonsnivået i n-3 oljer som benyttes i functional food.

### 5.3.1 Bruk av monografier

Kravene i de europeiske farmakopømonografiene gjelder ikke n-3 produkter, men for ferdigraffinerte oljer. Dette er eneste eksisterende kvalitetskrav for oksidasjon. GOEDs

monografi er frivillig å etterfølge, men samtidig en monografi som fiskeoljeprodusenter selv har vært med på å utarbeide. Denne er også ment å gjelde for n-3 produkter i kommersielt salg. Farmakopømonografiene og grenseverdier i GOEDs monografi, gjengitt i denne studien, gjelder for fiskeoljer. Vi har likevel valgt å inkludere produkter basert på selolje sammen med fiskeoljer, fordi det ikke eksisterer en egen monografi for disse oljene, og fordi enkelte nasjoner anbefaler produsenter av seloljer å benytte GOEDs monografi (Health Canada, 2009). Vi har også valgt å sammenligne torskeleveroljer med GOEDs monografi fordi det ikke gis noen tydelig begrunnelse for hvorfor den ikke gjelder disse oljene. Produktene som inneholder muslingolje og haileverolje er også sammenlignet med monografiene for fiskeoljer da det heller ikke eksisterer egne monografier for disse oljene.

Vi kan anta at grenseverdiene hentet fra den europeiske farmakopø vil gjelde for mange av fiskeoljene som er benyttet i produktene i vårt utvalg, fordi flere produkter antas å være basert på 18/12-oljer eller torskeleveroljer. I oppkonsentrerte produkter kan fettsyreformene variere. Det er vanskelig å vite hvorvidt fettsyrene i de oppkonsentrerte produktene i denne studien er i form av frie fettsyrer, triglyserider eller etylestere. GOEDs monografi er ikke ment å gjelde for oppkonsentrerte fiskeoljer i form av frie fettsyrer, men fordi ingen av de oppkonsentrerte produktene oppgir at fettsyrene er i denne formen kunne vi ikke kontrollere for dette. Det kan være at enkelte av de oppkonsentrerte fiskeoljene ikke skulle vært sammenlignet med de benyttede monografiene. Fettsyrene i enkelte av de oppkonsentrerte produktene i denne studien kan være i etylesterform, som har egen farmakopømonografi, hvor grenseverdien for AV er 20 (tilsvarende GOEDs krav). Grenseverdien for PV er derimot tilsvarende verdien gjengitt fra farmakopømonografiene i denne studien. Vår studie viste likevel at samtlige av de oppkonsentrerte fiskeoljene ligger innenfor GOEDs grenseverdi for AV. Det er også mulig at enkelte av produktene, hvor type fiskeolje ikke er identifisert, også skulle vært sammenlignet med en annen monografi. Likevel er torskeleveroljer, 18/12-oljer og oppkonsentrerte fiskeoljer de mest brukte fiskeoljene i n-3 produkter. Det foreligger ingen krav for tillatt maksimumsinnhold av oksidasjonsprodukter i n-3 produkter i kommersielt salg, og man vet lite om helseeffekter av oksiderte fettsyrer og oksidasjonsprodukter av disse. Hvorvidt det er forbundet med en økt helserisiko å innta fiskeoljer som ligger over angitte grenseverdier i GOEDs monografi eller farmakopømonografier er ikke kjent.

### 5.3.2 Oksidasjonsnivå og oljetyper

En ferdig raffinert olje tilsettes antioksidanter for å beskyttes mot oksidasjon. Eventuelle forskjeller mellom ulike typer marine oljer når det gjelder oksidasjon vil derfor ofte, direkte eller indirekte, kunne forklares med oljens forhistorie, ikke optimal antioksidanttilsetning, samt dens konsentrasjon av de høyt flerumettede fettsyrene EPA og DHA.

I denne studien har kun ett produkt basert på 18/12-olje både PV og AV innenfor grenseverdier i den europeiske farmakopø. Ingen produkter basert på 18/12-olje tilfredsstillt kravene fra GOED når det gjelder PV, og er eneste gruppe hvor ingen produkter er innenfor GOEDs grenseverdi for TOTOX. Produktene basert på 18/12-oljer har generelt høyere oksidasjonsverdier enn produktene basert på oljer av annen marin opprinnelse. I tillegg er laveste nivå av oksidasjonsprodukter for 18/12-oljer høyere enn for de øvrige gruppene. Produktet som hadde AV over grenseverdiene i både farmakopømonografiene og GOEDs monografi tilhørte også denne gruppen (*Figur 4.3*).

En mulig forklaring på det høye nivået av oksidasjonsprodukter, spesielt PV, i 18/12-oljene sammenlignet med de øvrige undergruppene kan være at råoljene har hatt lengre transportvei til raffineri. Få, om ingen, fiskeoljeraffinerier er lokalisert i Sør-Amerika eller Nord-Afrika (Hjaltason & Haraldsson, 2007). Råoljer er som nevnt meget utsatt for oksidasjon på grunn av potensielt lavt nivå av naturlige antioksidanter, manglende tilsatte antioksidanter og flere prooksidante komponenter (Allen, 1995). I tillegg er det tillatt å oppbevare råstoff til fiskeolje for humant konsum uten kjøling i inntil 36 timer (Commission Regulation (EC) No 1020/2008, 2008).

Temperatur er en annen faktor som kan være med og påvirke oksidasjonsprosessen. Høy temperatur akselererer oksidasjon, mens lav temperatur vil kunne bremse den (Min, 1998). Dersom fisken lagres uten kjøling, vil temperaturen i områder hvor fisk til 18/12-oljer fanges være med på å akselerere oksidasjonsprosessen. Temperaturen i områder hvor nordeuropeiske fiskeslag og sel til oljer fanges er derimot lavere, og råstoffet vil derfor kunne bli raskere nedkjølt. Råstoffet og råoljen til nordeuropeisk fiskeolje og selolje vil generelt kunne holde en lavere temperatur under transport enn råstoff og råolje til 18/12-oljer dersom kunstig nedkjøling ikke benyttes. Råstoff som har blitt skånsomt behandlet vil være mer stabilt mot



videre oksidasjon (Allen, 1995; Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1986; RUBIN, 2009)

Samtlige n-3 produkter basert på haileveroljer og alle nordeuropeiske fiskeoljer med unntak av ett, er innenfor grenseverdiene i farmakopøen for PV og AV. Seloljer har gjennomgående lav AV, men med spredning av PV både over og under farmakopøens grenseverdi. PV for seloljer er likevel generelt lavere enn for 18/12-oljer (*Figur 4.3*). Variasjonen i PV hos seloljene kan skyldes ulik behandling av det opprinnelige råstoffet, ulik ferskhetsgrad på den raffinerte oljen eller ulik antioksidantbruk. Variasjonen kan også forklares med høyere antall i denne gruppen enn i gruppene for nordeuropeiske fiskeoljer, 18/12-oljer og haileveroljer.

Torskelever, som utgjorde råstoffet i fire av fem produkter i gruppen basert på nordeuropeiske fiskeoljer er, i motsetning til 18/12-oljer, ikke et biprodukt av annen produksjon. Derfor vil det kunne antas at rutiner for utvinning av disse oljene bedre vil ivareta kvaliteten på oljen under prosessering, fordi oljen er det primære utvinningsproduktet, i motsetning til 18/12-oljer som er et biprodukt av fiskemelproduksjon (Nichols, 2007; Bimbo, 2007).

PV i oppkonsentrerte fiskeoljer har i denne studien stor spredning. De fleste oppkonsentrerte fiskeoljene har PV tilsvarende de nordeuropeiske fiskeoljene og seloljene, mens de resterende oppkonsentrerte fiskeoljene har noe høyere PV. Med unntak av uteliggeren for AV i gruppen av 18/12-oljer, har oppkonsentrerte fiskeoljer størst spredning i AV (*Figur 4.3*). Større spredning i oksidasjonsnivå kan skyldes at antallet produkter i gruppen av oppkonsentrerte fiskeoljer er høyere enn antallet i de øvrige gruppene i inndelingen av oljetyper. I tillegg kan mest sannsynlig rense- og oppkonsentreringsprosessen forklare at flere av de oppkonsentrerte oljene har lavere nivå av oksidasjonsprodukter enn 18/12-oljer, til tross for høyere konsentrasjon av EPA og DHA. Under oppkonsentrering kan prooksidanter bli redusert i større grad enn under raffinering, og corealdehyder kan fjernes. En mulig forklaring på den store spredningen i observert oksidasjonsnivå i gruppen av oppkonsentrerte fiskeoljer i denne studien kan derfor også skyldes variasjon i oppkonsentreringsteknikk (Breivik, 2007).

### 5.3.3 Oksidasjonsnivå og konsentrasjon av EPA og DHA

I kjøp og salg av marine n-3 oljer i industrien oppgis blant annet konsentrasjonen av EPA og DHA og denne settes normalt lavere enn faktisk innhold. Konsentrasjonen av n-3, som videre deklarerer på produktet, vil være basert på disse tallene. En olje vil dermed, mest sannsynlig, ha høyere konsentrasjon av EPA og DHA enn det som er deklarerert. Det er derfor som forventet at våre analyser viser høyere konsentrasjon av EPA og DHA enn det som står deklarerert på produktene. Videre finner vi ikke at oksidasjonsnivået i n-3 produktene i denne studien har påvirket den opprinnelige konsentrasjonen av EPA og DHA i betydelig grad, da nivået målt i n-3 produktene er høyere enn deklarerert innhold. Det har også tidligere blitt vist at høy PV ikke endrer fettsyresammensetningen i fiskeolje (Fritsche & Johnston, 1988).

Vi finner en svak korrelasjon mellom konsentrasjonen av EPA og DHA og PV, og en middels sterk korrelasjon mellom disse fettsyrene og AV og TOTOX. En korrelasjon gir riktignok ingen forklaring mellom årsak og virkning, den forklarer kun sammenhengen mellom to kontinuerlige variabler. Konsentrasjon av EPA og DHA kan derfor ikke forklare økt oksidasjonsnivå i oljene, men vi observerer at økt konsentrasjon av disse fettsyrene korrelerer med økt oksidasjon.

Korrelasjonen mellom konsentrasjonen av EPA og DHA og PV vil aldri kunne bli veldig sterk, fordi hydroperoksidene etter hvert brytes ned (Allen & Hamilton, 1994; Min, 1998). En nyraffinert olje vil på den annen side kunne ha lav PV, uavhengig av marin opprinnelse og oljens forhistorie. Våre funn i oksidasjonsverdier kan som nevnt tidligere tyde på at den raffinerte oljen benyttet i produktene ikke er gammel. Dette kan trolig til dels også være en del av forklaringen for at korrelasjonen mellom PV og konsentrasjon av EPA og DHA er svak. Undergruppen av fiskeoljer med oppkonsentrert innhold av EPA og DHA har spesielt stor spredning i PV (*Figur 4.3*). Dette kan være med å illustrere at nivå av PV kan henge sammen med andre faktorer enn konsentrasjon av EPA og DHA.

AV vil i større grad enn PV fortsette å øke i løpet av oksidasjonsprosessen. EPA- og DHA-konsentrasjonens korrelasjon med TOTOX-verdi indikerer at det er en middels sterk sammenheng mellom de to variablene når PV og AV kombineres. Sterkere korrelasjon med AV enn med PV kan indikere at oljer med høy konsentrasjon av EPA og DHA er basert på noe mer oksidert råstoff og/eller råolje. Oljene med høyest konsentrasjon av EPA og DHA,

som er de oppkonsentrerte fiskeoljene og 18/12-oljene, vil i stor grad være basert på fisk fra Sør-Amerika og dels Nord-Afrika, som har et høyere jodinnhold (Allen, 1995; RUBIN, 2009). På den annen side kan 18/12-oljer, og dels oppkonsentrerte fiskeoljer, være på et høyere oksidasjonsnivå på grunn av høyere konsentrasjon av EPA og DHA sammenlignet med oljer av annen marin opprinnelse.

Produktene med haileverolje, selolje og nordeuropeisk fiskeolje har relativt like oksidasjonsverdier. Dette kan trolig henge sammen med at nordeuropeiske fiskeoljer, seloljer og haileveroljer har lavere konsentrasjoner av EPA og DHA enn 18/12-oljer og oppkonsentrerte fiskeoljer. Haileveroljene har lav PV og AV, og alle produktene er innenfor kravene i den europeiske farmakopø. Samtidig har haileveroljene i denne studien laveste målte konsentrasjoner av EPA og DHA. Produktene basert på haileveroljer utgjøres riktignok av kun tre produkter, slik at våre funn av oksidasjonsnivå i denne gruppen må tolkes med varsomhet.

Man må også være forsiktig med å trekke konklusjoner ut fra korrelasjonen mellom oksidasjonsnivå og konsentrasjon av EPA og DHA. Det er en usikkerhet knyttet til dette fordi vi ikke med sikkerhet kan vite hvor på kurven (illustrert i *Figur 1.3*) oksidasjonen er kommet i n-3 produktene, og hvorvidt oksidasjonen målt i PV og AV er lineær.

#### 5.3.4 Oksidasjonsnivå i innkapslede versus flytende oljer

Det kan spekuleres i om det under produksjon av n-3 produkter kan benyttes en olje som er mindre oksidert i flytende n-3 produkter sammenlignet med innkapslede, fordi harsk smak lettere vil oppdages ved inntak av flytende olje. Samtidig vil innkapslede produkter kunne kamuflere en eventuell uønsket smak på en oksidert olje. Det er ikke kjent om innkapslingsmaterialet i kapsler kan påvirke oksidasjonsprosessen i oljer, men det har blitt spekulert i om gelatin kan reagere med oljen og føre til økte oksidasjonsverdier (Breivik, 2007). Denne studien kan ikke bekrefte dette. To av seks flytende oljer var over grenseverdien angitt i den europeiske farmakopø for PV. Medianverdi for PV er omtrent tilsvarende grenseverdien i farmakopøen for både innkapslede og flytende produkter. Samtlige produkter, med unntak av ett var innenfor farmakopøens grenseverdi for AV (*Figur 4.4*).

I de fleste flytende oljene i denne studien var det tilsatt aroma. Dette medførte at få produkter av denne typen kunne inkluderes i analyse av oksidasjonsprodukter. Denne studien viser ingen statistisk signifikant forskjell mellom innkapslede og flytende produkter for oksidasjon, men resultatene er beheftet med høy grad av usikkerhet da det er få produkter i gruppen av flytende oljer (n = 6). Man må derfor være varsom med å trekke konklusjoner av dette resultatet.

### 5.3.5 Potensielle feilkilder i inndeling av marine oljetyper

I inndelingen av fiskeoljer i geografisk opprinnelse i denne studien er prinsippene benyttet for å gjennomføre dette veldig generelle, og tar kun for seg konsentrasjonen av fire ulike fettsyrer (EPA, DHA, DPA og C20:1). Det kan ikke utelukkes at noen fiskeoljer derfor har blitt feil kategorisert. Derimot er det konsentrasjonen av disse fire fettsyrene som i størst grad skiller fiskeoljer fra ulike områder fra hverandre. I inndelingen av oljetyper har vi for produkter som ikke er basert på fiskeolje foretatt inndelingen på bakgrunn av deklarerert kilde til marint n-3. Vi kan ikke utelukke at enkelte produkter kan være feilaktig deklarerert, og dermed feil kategorisert i denne studien. Derimot viste statistiske analyser i denne studien at deklarerert konsentrasjon av EPA og DHA samsvarer godt med analysert innhold.

Det kan i tillegg være at vår sammenligning av oljer av ulik marin opprinnelse er beheftet med en potensiell feil. Det er hevdet at AV primært måler aldehyder, spesielt 2,4-dienaler og 2-alkenaler (AOCS, 1990a; Allen & Hamilton, 1994). Etersom maksimumet for absorbanse går mot en lengre bølgelengde med økende umettethet, og fordi fargeintensiteten er høyere for 2,4 dienaler enn for 2-alkenaler, vil absorbansemaksimumet og absorbanseintensiteten kunne variere mellom ulike oljer.

## 5.4 Metodediskusjon

I denne studien ble n-3 produktene analysert for fettsyresammensetning ved GC. Dette er den teknikken som i de fleste tilfeller blir valgt for analyser av fettsyrekomponenter i lipider. Identifiseringen av kromatografiske topper baserer seg på direkte sammenligning av toppenes retensjonstider med retensjonstidene til kjente metylestere i en standardløsning på samme kolonne under identiske forhold. Standardblandinger med kjente mengder metylestere ble derfor benyttet under hver sekvenskjøring for å kontrollere retensjonstider og for å kontrollere at responsen av fettsyrene i analysen var korrekt av fettsyrene i standardblandingen var korrekt. Individuelle fettsyrer kan for det meste identifiseres ved hjelp av GC med rimelig stor grad av sikkerhet ut fra deres relative retensjonstider. Metoden gir mulighet for hurtige analyser, høy oppløsningsevne og deteksjon av selv svært lave konsentrasjoner (Christie, 1989; Greibrokk, Lundanes & Rasmussen, 1994; Shahidi & Wanasundara, 1998a).

Oljer med høy konsentrasjon av umettede fettsyrer kan ha stabilitetsproblemer (Allen & Hamilton, 1994). I litteraturen er det beskrevet at fettsyresammensetningen i oljer vil endres ved oksidasjon ved at dobbeltbindingene i de flerumettede fettsyrene ødelegges (Christie, 1989; Allen, 1995). Forholdsregler for å unngå oksidasjon under fettsyrederivatisering er derfor beskrevet i litteraturen (Christie, 1989).

Det har blitt vist at selv meget oksiderte oljer ikke får signifikant endret fettsyreprofil. Lagringsforsøk med menhaden olje har vist at selv ved en økning av hydroperoksidkonsentrasjon, målt ved peroksidverdi, fra mellom 6 og 22 til 320 meq/kg, ikke medførte signifikant endring av fettsyresammensetning i oljen. Kvantitative analyser viste at innholdet av EPA og DHA, som er de mest oksidasjonsutsatte fettsyrene, sank noe med økende PV. En økning av PV fra 13 til 45 meq/kg viste at 96 og 97 prosent av henholdsvis EPA og DHA, fortsatt var intakt. En økning til 65 meq/kg viste at 92 og 94 prosent av fettsyrene fortsatt var intakte (Fritsche & Johnston, 1988). Vi vil derfor anta at fettsyresammensetningen ikke har blitt signifikant påvirket under fettsyrederivatiseringen som ble utført. I tillegg viser våre analyser at n-3 produktene, som forventet, inneholder mer EPA og DHA enn deklart.

Måling av PV ved titrering (AOCS, 1990b) og AV ved spektrofotometri (AOCS, 1990a) er veletablerte metoder for bestemmelse av oksidasjon i oljer. Det er disse metodene som

benyttes som produksjonskrav og til å sertifisere marine n-3 oljer (European Pharmacopoeia, 2009; RUBIN, 2009). Til tross for at PV er en mye anvendt metode når det gjelder bestemmelse av innhold av primære oksidasjonsprodukter i n-3 oljer kan man i litteraturen finne at PV i mindre grad benyttes i vurdering av kvaliteten til oljer med høy grad av umettethet, slik som fiskeoljer. Dette er sannsynligvis fordi hydroperoksidene som dannes i seg selv er umettede og derfor ustabile, noe som fører til at de både dannes og nedbrytes raskt til sekundære oksidasjonsprodukter (Allen & Hamilton, 1994). Allikevel er denne metoden godt etablert i produksjon og handel av fiskeoljer og ble derfor også benyttet i denne studien.

Til tross for dens praktiske fordel har ikke TOTOX-verdi noen solid vitenskapelig basis, og den kombinerer variabler med ulik benevnning (Shahidi & Wanasundara, 1998b). På den annen side blir TOTOX-verdi ofte ansett som nyttig fordi den kombinerer bevis for oljens fortid, gjennom AV, med oljens nåværende tilstand, gjennom PV.

Denne studien viser at metodene benyttet for å måle innhold av oksidasjonsprodukter har store svakheter, spesielt når det gjelder å analysere n-3 oljer tilsatt ulike komponenter. Det er tidligere ikke publisert vitenskapelige artikler vedrørende interferenser av komponenter i n-3 oljer for måling av PV og AV. Det ser ikke ut til at metodene er reliable når produktet inneholder krillolje. Det kan være at astaxanthin, eller andre forbindelser i krilloljen innvirker på analysemetodene våre. Vann, eller eventuelle andre komponenter i produktene i emulsjonsform interfererer trolig med analysen. Ekstraksjon av fett fra produkter som var i emulsjonsform kunne blitt gjort, men usikkerhet knyttet til oksidasjon under ekstrahering gjorde at vi anså feilkildene for dette som for store (Olsen, 2005). Tilsatt aroma, fargestoff og Q10, eller dersom n-3 produktet er i tablettform ser også ut til å påvirke analysemetodene. Prøveløsninger til de spektrofotometriske analysene av PV og AV gav for enkelte av de ekskluderte n-3 produktene heterogene løsninger med fnokking og bunnfall.

Enhver variasjon i fremgangsmåten i måling av PV vil kunne påvirke resultatene av den offisielle metoden gitt av AOCS. Resultater av måling av PV kan også påvirkes av strukturen og reaktiviteten av peroksidene, samt reaksjonstemperatur og tid benyttet til å gjennomføre metoden (Allen & Hamilton, 1994; Frankel, 2005; Shahidi & Wanasundara, 1998b). Fordi det kan være vanskelig å bestemme når endepunktet for titreringen er, vil måling i oljer med lave verdier kunne gi feilaktige resultater (Allen & Hamilton, 1994; Shahidi & Wanasundara, 1998b). På hvilket tidspunkt endepunktet av titreringen angis å være, vil også kunne være en

systematisk feil ved bruk av metoden fordi dette endepunktet er en til dels subjektiv vurdering. Det ble derfor valgt å primært benytte *PeroxySafe<sup>TM</sup> STD Kit*. Likevel er det vanskelig å anslå potensielle feilkilder for metoden, da vi ikke kjenner det fullstendige innholdet i kjemikaliene som inngår i kittet. Kittet er ikke godkjent av *AOCS*, men det har tidligere blitt vist god korrelasjon mellom *AOCS Official Method Cd 8-53* og *PeroxySafe<sup>TM</sup> STD Kit* målt i vegetabiliske oljer med ulik PV (Yildiz, Wheling & Cuppett, 2003). Vi validerte i tillegg metoden, som beskrevet tidligere, og fant en god korrelasjon, etter å ha korrigert for den systematiske feilkilden, på rene oljer. Vi fant at *PeroxySafe<sup>TM</sup> STD Kit* har samme begrensninger som *AOCS Official Method Cd 8-53* når det gjelder tilsetninger i n-3 produktene.

AV blir angitt å måle primært aldehyder. Imidlertid utvider Frankel begrepet til å gjelde karbonyler, fordi det ikke vitenskapelig har blitt bevist hvilke forbindelser AV spesifikt måler (Frankel, 2005). I en lagringsstudie av torskeleveroljer som benyttet ulike målemetoder for å detektere oksidasjon, forble AV uendret gjennom hele forsøket. Det ble derfor hevdet at den AV man fant primært ble utgjort av corealdehyder (Olsen, Vogt, Saarem, Greibrokk & Nilsson, 2005).

Det finnes ulike alternative målemetoder av oksidasjon i oljer (Frankel, 2005; Olsen 2005), og de ekskluderte n-3 produktene blir nå analysert ved bruk av Headspace GC-MS<sup>15</sup>. Det var likevel ikke mulig innenfor tidsbegrensningen av denne masteroppgaven å få disse resultatene med her. Til tross for at de benyttede målemetodene i denne studien har tydelige begrensninger, kan ingen av de alternative metodene for måling av oksidasjon sammenlignes med angitte grenseverdier for PV og AV (Frankel, 2005).

Måling av innhold av frie fettsyrer kunne gitt ytterligere informasjon om sannsynligheten av produktenes stabilitet i forhold til videre oksidasjon. Dette ble ikke gjort i denne studien fordi vi ønsket et øyeblikksbilde av nivå av oksidasjonsprodukter i n-3 produktene, og vi anså derfor innhold av frie fettsyrer som mindre relevant for vår studie.

PV- og AV-målinger vil kun angi oksidasjonsnivået ved et gitt tidspunkt. Denne studien gir dermed kun et øyeblikksbilde av oksidasjonsstatus i oljene. Dermed vet man vet ikke hvor

---

<sup>15</sup> Gasskromatografisk analyse hvor man analyserer på gassfasen over en prøve. Detekterte komponenter identifiseres av et massespektrometer (Greibrokk, Lundanes & Rasmussen, 1994).

stabil oljen er mot oksidasjon. I en studie vedrørende oksidasjon ville det være naturlig å se på antioksidanter og oksidasjonsstabilitet. Ulike raffinerier benytter ulike antioksidanter i ulike kombinasjoner og konsentrasjoner. Å bestemme konsentrasjon og type antioksidant(er) i en olje, samt antioksidantkapasitet og oljens stabilitet er en meget stor og krevende oppgave som det ikke var mulig å inkludere i en masteroppgave.

#### 5.4.1 Reproduserbarhet

Alle analyser ble utført som paralleller for å verifisere at målemetoden gav samme resultat. Resultatene i denne studien vil likevel ikke kunne være reproduserbare fordi oksidasjonsnivå i n-3 produkter vil kunne variere mellom produksjonsserier (Fritsche & Johnston, 1988). Samtidig er oksidasjon en pågående prosess som ikke kan stanses (Allen & Hamilton, 1994; Min, 1998). Alle analyser er utført ved *Nofima Mat AS* sitt laboratorium. Målinger i andre laboratorier vil ikke nødvendigvis gi samme resultater.



## 5.5 Konklusjon

Denne studien gir en beskrivelse av oksidasjonsnivå i et utvalg marine n-3 produkter tilgjengelig for norske forbrukere. De benyttede analysemetodene i denne studien har begrensninger når det gjelder tilsetningsstoffer i oljer og 57 n-3 produkter måtte ekskluderes fra analysene av PV og AV. Våre resultater viser at cirka halvparten av n-3 produktene hadde PV over grenseverdien i den europeiske farmakopø og at 52 av 56 n-3 produkter hadde PV over GOEDs grenseverdi. Ett produkt hadde AV over farmakopøgrenseverdien og to produkter hadde AV over GOEDs monografi. Sju n-3 produkter hadde TOTOX-verdi over beregnet farmakopøgrenseverdi, mens 33 produkter hadde over grenserdien gitt av GOED.

Sju av åtte søramerikanske/nordafrikanske fiskeoljer, halvparten av seloljene og om lag halvparten av de oppkonsentrerte fiskeoljene hadde PV over farmakopøens grenseverdi. Samtlige haileveroljer og fire av fem nordeuropeiske fiskeoljer var innenfor farmakopøens grenseverdi. Oksidasjonsnivå korrelerte med konsentrasjon av EPA og DHA. Det var ingen forskjell i oksidasjonsnivå mellom innkapslede og flytende n-3 produkter.

Forskjeller mellom ulike marine oljer i oksidasjonsnivå vil hovedsakelig, direkte eller indirekte, kunne forklares med oljens forhistorie, antioksidanttilsetning, i tillegg til konsentrasjon av de høyt flerumettede fettsyrene EPA og DHA.

Fordi halve utvalget i denne studien måtte ekskluderes fra analyser av oksidasjonsnivå er det knyttet usikkerhet til resultatene presentert i denne studien. Flere studier vil være nødvendig for i større grad å kunne generalisere oksidasjonsnivået i n-3 produkter tilgjengelig for norske forbrukere.

## 6. Litteraturliste

- Alasalvar, C. & Taylor, T. (2002). *Seafoods – Quality, Technology and Nutraceutical Applications*. Berlin: Springer.
- Allen, D.A. (1995). Fish oil compositions. I: Hamilton, R.J. (Red.) & Rice, R.D. (Red.), *FISH OIL. Technology, Nutrition and Marketing* (s. 95-108). Hull: Society of Chemical Industry. Oils & Fats Group.
- Allen, J.C. & Hamilton, R.J. (1994). *Rancidity in Foods* (3. utg). **London: Chapman & Hall.**
- American Oil Chemists' Society [AOCS]. (1990a). *Official Methods and Recommended Practises of the American Oil Chemists' Society*. SAMPLING AND ANALYSIS OF COMMERCIAL FATS & OILS. AOCS Official Method Cd 18-90. Champaign, IL: AOCS Press.
- AOCS. (1990b). *Official Methods and Recommended Practises of the American Oil Chemists' Society*. SAMPLING AND ANALYSIS OF COMMERCIAL FATS & OILS. AOCS Official Method Cd 8-53. Champaign, IL: AOCS Press.
- Bimbo, A.P. (2007). Processing of marine oils. I: Breivik, H. (Red.), *Long-Chain Omega-3 Speciality Oils* (s. 77-110). Bridgewater: The Oily Press.
- Bransjerådet for Naturmidler (2010). *Markedsdata*. Oslo: Bransjerådet for Naturmidler. Lest 17. februar 2010, <http://www.brn.no/wsp/brn/webon.cgi?session=Lyht v7JjZEPal QhAa7 Xc hVE SU5jZY&func=index>
- Breivik, H. (2007). Concentrates. I: Breivik, H. (Red.), *Long-Chain Omega-3 Speciality Oils* (s. 111-140). Bridgewater: The Oily Press.
- Bunea, R., Farrah, K.E. & Deutsch, L. (2004). Evaluation of the Effects of Neptune Krill Oil on the Clinical Course of Hyperlipidemia. *Alternative Medicine Review*, 9 (4), 420-428.
- Burdge, G.C. & Calder, P.C. (2005). Conversion of  $\alpha$ -linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reproduction Nutrition Development*, 45, 581-597.
- Chan H.W.-S. (1987). *Autoxidation of Unsaturated Lipids*. London: Academic Press.
- Chan, K.Y., Gao, Q.F., Yip, W.H., Wong, W.H., Shin, P.K.S. & Cheung, S.G. (2007). Lipid content and fatty acid composition in the green-lipped mussel *Perna Viridis* (L.). *Journal of Food Lipids*, 11(2), 123-130.
- Christie, W.W. (1989). *GAS CHROMATOGRAPHY AND LIPIDS. A Practical Guide*. Bridgewater: The Oily Press.

- Christie, W.W. (2008). *WHAT IS A LIPID?* Dundee: Scottish Crop Research Institute (and Mylnefield Research Services Lipid Analysis Unit)/American Oil Chemists' Society. Lest 11. januar 2010, <http://lipidlibrary.aocs.org/Lipids/whatlip/index.htm>
- Commission Regulation (EC) No 1020/2008. (2008). *amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific hygiene rules for food of animal origin and Regulation (EC) No 2076/2005 as regards identification marking, raw milk and dairy products, eggs and egg products and certain fishery products*
- Council of Responsible Nutrition. (2002). *CRN PROPOSED MONOGRAPH ON OMEGA-3 EPA AND DHA: EXPLANATORY NOTES FROM SAM ZELLER, CHAIRMAN OF THE TECHNICAL COMMITTEE. March 2002.* Washington D.C.: Council for Responsible Nutrition.
- Council for Responsible Nutrition (2006). *VOLUNTARY MONOGRAPH. Omega-3 DHA Omega-3 EPA Omega-3 DHA & EPA.* Washington D.C.: Council for Responsible Nutrition.
- Council of Europe. (2008). *European Pharmacopoeia 6<sup>th</sup> Edition. Supplement 6.3.* Strasbourg: Council of Europe.
- Fierens, C. & Corhout, J. (2007). Omega-3 fatty acid preparations – a comparative study [English abstract]. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 62(4), 115-119.
- Food and Agriculture Organization of The United Nations. (1986). The production of fish meal and oil. FAO FISHERIES TECHNICAL PAPER – 142. Roma: Food and Agriculture Organization of The United Nations
- Forskrift om fiskemel, fiskeolje m.v. (1999). FOR-1999-03-26-416. Fiskeri- og kystdepartementet.
- Frankel, E.N. (2005). *Lipid Oxidation.* 2nd edition. Bridgewater; The Oily Press
- Fritsche, K.L. & Johnston, V. (1988). Rapid Autoxidation of Fish Oil in Diets without Added Antioxidants. *The Journal of Nutrition*, 118, 425-426.
- Global Organization for EPA and DHA omega-3s. (2006). *GOED Voluntary Monograph (v. 3).* Sted ikke oppgitt: Global Organization for EPA and DHA omega-3s. Lest 21. april 2010, <http://www.goedomega3.com/portals/0/public/GOEDMonograph.pdf>
- Global Organization for EPA and DHA omega-3s. (2007). *About us.* Sted ikke oppgitt: Global Organization for EPA and DHA omega-3s. Lest 21. april 2010, <http://www.goedomega3.com/AboutUs/tabid/59/Default.aspx>
- Gray, J.I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil*

- Chemists' Society*, 55(6), 539-546.
- Greibrokk, T., Lundanes, E. & Rasmussen, K.E. (1994). *Kromatografi*. Oslo: Universitetsforlaget AS.
- Harper, C.R. & Jacobsen, T.A. (2005). Usefulness of Omega-3 Fatty Acids and the Prevention of Coronary Heart Disease. *The American Journal of Cardiology*, 96(11), 1521-1529.
- Health Canada. (2009). *SEAL OIL*. Ottawa: Health Canada
- Hjaltason, B. & Haraldsson, G.G. (2007). Markets for fish oils and fish oil concentrates. I: Breivik, H. (Red.), *Long-Chain Omega-3 Speciality Oils* (s. 263-289). Bridgewater: The Oily Press.
- Holman, R.T. & Elmer, O.C. (1947). The Rates of Oxidation of Unsaturated Fatty Acids and Esters. *The Journal of The American Oil Chemists' Society*, 24(4), 127-129.
- Hooper, L., Thompson, R.L., Harrison, R.A., Summerbell, D.D., Ness, A.R., Moore, H.J. et al. (2006). Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review. *The British Medical Journal*, 332, 752-760.
- Ingold, K.U. (1961). Inhibition of the Autoxidation of Organic Substances in the Liquid Phase. *Chemical Reviews*, 61(6), 563-589.
- International Fishmeal and Fish Oil Organisation. (2006). *Industry Overview*. Hertfordshire: International Fishmeal and Fish Oil Organisation. Lest 12. mai 2010, <http://www.iffonet/default.asp?fname=1&sWebIdiom=1&url=253>
- Kamal-Eldin, A. & Appelqvist, L-Å. (1996). The Chemistry and Antioxidant Properties of Tocopherols and Tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671-701.
- Kamal-Eldin, A. & Yanisliewa, N.V. (2002). N-3 fatty acids for human nutrition: stability considerations. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(12), 825-836.
- Landmark, K., Aursnes, I., Reikvam, Å. & Alm, C.S. (2007). N-3-fettsyrer er fortsatt gunstig ved hjertesykdom. *Tidsskrift for Den norske legeforsning*, 127(2), 202-203.
- Logan, A.C. (2003). Neurobehavioral Aspects of Omega-3 Fatty Acids: Possible Mechanisms and Therapeutic Value in Major Depression. *Alternative Medicine Review*, 8(4), 410-425.
- Mattilsynet (2010). *Om Mattilsynet*. Oslo: Mattilsynet. Lest 20. april 2010, [http://www.mattilsynet.no/om\\_mattilsynet](http://www.mattilsynet.no/om_mattilsynet)
- Min, D.B. (1998). Lipid Oxidation of Edible Oil. I: Akoh, C.C. (Red.) & Min, D.B. (Red). *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology* (s. 283-296). New York:

- Marcel Dekker Inc.
- Min, D.B. & Boff, J.M. (2002). Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 1*, 58-61.
- MP Biomedicals. (1994). MicroChem™ II Analyzer. Operator's Manual.
- MP Biomedicals. (årstall ikke oppgitt). SafTest®, Inc. Instruction Manual.
- Murphy, M.G., Wright, V., Scott, J., Timmins, A. & Ackman, R.G. (1999). Dietary Menhaden, Seal, and Corn Oils Differentially Affect Lipid and *Ex vivo* Eicosanoid and Thiobarbituric Acid-Reactive Substances Generation in the Guinea Pig. *Lipids 34*, 115–124.
- Nichols, P.D. (2007). Fish oil sources. I: Breivik, H. (Red.), *Long-Chain Omega-3 Speciality Oils* (s. 23-42). Bridgewater: The Oily Press.
- Nordic Council of Ministers. (2004). *Nordic Nutrition Recommendations 2004. 4<sup>th</sup> edition. Integrating nutrition and physical activity*. København: Nordic Council of Ministers.
- Olsen, E. (2005). *Analysis of early lipid oxidation in foods with n-3 fatty acids. Doctor Scient Thesis*. Ås: Universitetet for miljø og biovitenskap.
- Olsen, E., Vogt, G., Saarem, K. & Nilsson, A. (2005). Autooxidation of Cod Liver Oil with Tocopherol and Ascorbyl Palmitate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(2), 97-103.
- Regulation on trade in seal products. (2009). Regulation (EC) No 1007/2009 of the European Parliament and of the Council of 16 September 2009 on trade in seal products (Text with EEA relevance).
- Reische, D.W., Lillard, D.A. & Eitenmiller, R.R. (1998). Antioxidants I: Akoh, C.C. (Red.) & Min, D.B. (Red). *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology* (s. 423-448). New York: Marcel Dekker Inc.
- RUBIN (2009). *Rapport nr. 173. N-3 oljer fra ferskt marint råstoff. En mulig konkurransestrategi for den norske n-3 industrien*. Trondheim: Stiftelsen RUBIN.
- Schaufler, L. Heintz, R., Sigler, M. & Hulbert, L. (2005). *Fatty acid composition of sleeper shark (Somniosus pacificus) liver and muscle reveals nutritional dependence on planktivores*. Annual Science Conference. Aberdeen.
- Shahidi, F. & Wanasundara, U.N. (1996). Methods for Evaluation of the Oxidative Stability of Lipid-Containing Foods. *Food Science and Technology International, 2*(2), 73-81.
- Shahidi, F. & Wanasundara, J.P.D. (1998a). Extraction and Analysis of Lipids. I: Akoh, C.C. (Red.) & Min, D.B. (Red). *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*

- (s. 115-136). New York: Marcel Dekker Inc.
- Shahidi, F. & Wanasundara, U.N. (1998b). Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils. I: Akoh, C.C. (Red.) & Min, D.B. (Red). *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology* (s. 377-396). New York: Marcel Dekker Inc.
- Taylor, A.G. & Savage, C. (2006). Fatty acid composition of New Zealand green-lipped mussels, *Perna canaliculus*: Implications for harvesting for n-3 extracts. *Aquaculture*, 261(1), 430-439.
- Thomas, J.R. & Harle, O.L. (1959). Substrate Effects on the Decomposition of Alkyl Hydroperoxides and Their Influence upon Autoxidation. *The Journal of Physical Chemistry*, 63(7), 1027-1032.
- Turner, R., McLean, C.H. & Silvers, K.M. (2006). Are the health benefits of fish oils limited by products of oxidation? *Nutrition Research Reviews*, 19, 53-62.
- Utkast til Codex Alimentarius for edible fish oil. (2010). *Codex Standard for Named Marine Oils*.
- Vinter, H. (1995). Production of high quality fish oils. I: Hamilton, R.J. (Red.). & Rice, R.D. (Red.), *FISH OIL. Technology, Nutrition and Marketing* (s. 27-33). Hull: Society of Chemical Industry. Oils & Fats Group.
- Vitenskapskomiteen for mattrygghet. (2010). *Marine oljer del 1: Risikovurdering av nedbrytingsstoffer og oksidasjonsprodukter i fiskeoljer*. Oslo: Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Lest 17. mai 2010, [http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content\\_6523&Main\\_6177=6500:0:31,2296:1:0:0:::0:0&Content\\_6500=6523:0:31,2587:1:0:0:::0:0&Content\\_6523=6187:1662070::1:6271:1:::0:0](http://www.vkm.no/eway/default.aspx?pid=277&trg=Content_6523&Main_6177=6500:0:31,2296:1:0:0:::0:0&Content_6500=6523:0:31,2587:1:0:0:::0:0&Content_6523=6187:1662070::1:6271:1:::0:0)
- Vognild, E., Elvevoll, E.O., Brox, J., Olsen, R.L., Barstad, H., Aursand, M., & Østerud B. (1998). Effects of Dietary Marine Oils and Olive Oil on Fatty Acid Composition, Platelet Membrane Fluidity, Platelet Responses, and Serum Lipids in Healthy Humans. *Lipids*, 33(4), 427-436.
- Wang, C., Harris, W.S., Chung, M., Lichtenstein, A.H., Balk, E.M., Kupelnick, B. et al. (2006). n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not a-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(1), 5-17
- Werner, A., Havinga, R., Kuipers, F. & Verkade, H.J. (2004). Treatment of EFA deficiency with dietary triglycerides or phospholipids in a murine model of extrahepatic cholestasis. *American Journal of Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 286, 822-832.

Yildiz, G, Wheling, R.L. & Cuppett, S.L. (2003). Comparison of four analytical methods for the determination of peroxide value in oxidized soybean oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(2), 103-107.

## 7. Vedlegg



## Vedlegg 1

### Produktoversikt, n-3 produkter tilgjengelig

Navn	Produsent/Merke
Amundsen omega 3 ultra EPA	AMUNDSEN OMEGA
Amundsen omega 3 ultra DHA	AMUNDSEN OMEGA
AMUNDSEN OMEGA 3 SELOLJE,	AMUNDSEN OMEGA
AMUNDSEN OMEGA 3 NATURAL,	AMUNDSEN OMEGA
AMUNDSEN OMEGA3,	AMUNDSEN OMEGA
AMUNDSEN OMEGA 369 SELOLJE	AMUNDSEN OMEGA
AMUNDSEN OMEGA 3E FISKOLJE	AMUNDSEN OMEGA
AMUNDSEN OMEGA 3 SELOLJE TRAN	AMUNDSEN OMEGA
AMUNDSEN OMEGA TRAN	AMUNDSEN OMEGA
Animal Parade omega 3-6-9 jr sitron, kapsler	Nature's Plus Nordic AS
ARTIC OMEGA-3 SELOLJE	ANDRE MANUF.
BIOFORM KIDS OMEGA-3 KPSL	
Bioform sølvhai kapsler	
BIO-SPORT 240 KPSL+30 TBL	
Bio Marin Pluss , kapsler	Pharma Nord Norge AS
BIOPHARMA OMEGA 3 M/KRILL KAPSLER	NORDSVEEN AS, BIOPHARMA
BIOPHARMA OMEGA 3 FLYTENDE	NORDSVEEN AS, BIOPHARMA
BIOPHARMA HJERTEGODT	NORDSVEEN AS, BIOPHARMA
BIOPHARMA SELOLJE FLYTENDE	NORDSVEEN AS, BIOPHARMA
BIOPHARMA BLÅOMEGA	NORDSVEEN AS, BIOPHARMA
BIOPHARMA SEL-OLJE, KAPSLER	NORDSVEEN AS, BIOPHARMA
BIOPHARMA OMEGA-3 TYGGEKAPSLER	NORDSVEEN AS, BIOPHARMA
BIOPHARMA OMEGA-3 TRIPPEL	
BIOVITA OMEGA 3 EXTRA	REMA 1000 NORGE, BIOVITA
BIOVITA TRAN M/SITRONSMAK	REMA 1000 NORGE, BIOVITA
BIOVITA TRAN NATURELL	REMA 1000 NORGE, BIOVITA
BIOVITA TRANKAPSLER	REMA 1000 NORGE, BIOVITA

Bona Vita Krill-Omega, kapsler	
Complete krillolje kaps	WEIFA AS
Complete omega 3 tyggekapsler	WEIFA AS
Complete omega-3 antioksidant	WEIFA AS
Complete omega-3 for barn	WEIFA AS
Complete omega-3 ingefær kaps	WEIFA AS
Complete Folat og omega-3 kaps	WEIFA AS
DW BIOMEGA FISKEOLJE 1000MG	
DW BIOMEGA FISKEOLJE 500MG	
DW BIOMEGA FISKEOLJE FLYT	
DW NATURLIG FISKEOLJE KPS	
DW NATURLIG FISKEOLJE FLYTENDE	
DW SELOLJE 1000MG KPSL	
DW SELOLJE 500MG KPSL	
DW SELOLJE FLYTENDE	
Efalex Rigel, flytende	Midelfart Sonesson AS
Efalex Rigel, kapsler	
Efalex flytende	
Efalex kapsler	
EFALEX CHEWIES 120 KAPSLER	
EFAMOL EFANATAL KPSL	
ELDORADO OMEGA-3,100 STK	NORGESGRUPPEN ASA
ELDORADO TRAN,500 ML	NORGESGRUPPEN ASA
ESKIMO 3 KIDS,210 ML	MEDTECH PHARMA AS
ESKIMO-3 M/VITAMIN-E FLYTENDE	MEDTECH PHARMA AS
ESKIMO-3,105 STK	MEDTECH PHARMA AS
Eye Q, kapsler	New Nordic
Eye Q, flytende	New Nordic
Eye Q tyggekapsler	New Nordic
FISKEOLJE 150,150 STK	ANDRE MANUF.
GEVITA OMEGA-3 SELOLJE,	GEVITA AS
Gevita omega 3+6 kaps	GEVITA A/S

Gevita omega-3 m/kalsium kaps	GEVITA A/S
Gevita omega-3 kaps	GEVITA A/S
GreenMed Omega-3	
GreenMed Dagsdosen	
JA OMEGA SITRON	ANDRE MANUF.
JA OMEGA 3 M/MARKJORDBÆR	ANDRE MANUF.
KAL Ultra omega 3-6-9 kapsler	
Lifeline kosttilsk barn 0+ kap	LIFELINE CARE AS
Lifeline kosttilsk barn 3+ kap	LIFELINE CARE AS
LIFELINE GRAVID	LIFELINE CARE AS
LIFELINE AMMENDE	LIFELINE CARE AS
LOFOTEN TRAN	LOFOTPRODUKT AS
LOFOTEN VESTFJORD TRAN	LOFOTPRODUKT AS
Lyprinol	Medis Pharmaceuticals AS
Lyprinol sport edition	Medis Pharmaceuticals AS
MARLIN OMEGA 3-6-9 KPSL	
Maxim vitamin complex	
MÖLLERS TRAN	AXELLUS AS
MÖLLERS TRAN M/SITRONSMÅK	AXELLUS AS
MÖLLERS OMEGA-3 FLYT	AXELLUS AS
MÖLLERS TRAN EKSTRA BLÅBÆR	AXELLUS AS
MÖLLERS DOBBEL	AXELLUS AS
MÖLLERS GODT FOR HJERTET KAPSLER	AXELLUS AS
MÖLLERS GODT FOR LEDDENE KAPSLER	AXELLUS AS
MÖLLERS OMEGA-3 HØYKONSEN	AXELLUS AS
MÖLLERS OMEGA-3 TYGGEKAPS JORDB,	AXELLUS AS
Møllers omega-3+folat kaps - 76	Axellus AS
Møllers total, 28 dagsdoser	AXELLUS AS
Møller's omega-3 anti-refluks, kapsler	AXELLUS AS
MUMOMEGA FOR GRAVIDE 30 KPSL	30 KPSL
NORDIC NATURALS COMPL.OMEGA 3-6-9,	ANDRE MANUF.
NORDIC NATURE OMEGA 3+6,200 ML	ANDRE MANUF.

NORDIC NATURE OMEGA 3+6 KAPSLER,	ANDRE MANUF.
NORDIC NATURE OMEGA 3 FOR BARN,	ANDRE MANUF.
NORDIC NATURE OMEGA 3,240 STK	ANDRE MANUF.
NORWEGIAN CHOICE K.SABELTANN TRAN	NORDSVEEN AS, NORWEGIAN CHOICE
Nycoplus apotekets tran mild	NYCOMED PHARMA AS
Nycoplus apotekets tran sitron	NYCOMED PHARMA AS
Nycoplus for hjertet kaps	NYCOMED PHARMA AS
Nycoplus krillolje kaps	NYCOMED PHARMA AS
Nycoplus omega-3 basic kaps	NYCOMED PHARMA AS
Nycoplus omega-3 kaps 1000mg	NYCOMED PHARMA AS
Nycoplus omega-3 multi kaps	NYCOMED PHARMA AS
Nycoplus selolje 1000mg kaps	NYCOMED PHARMA AS
Nycoplus omega-3 kaps 500mg -	Nycomed Pharma AS
OIL4LIFE CARDIO OLJE	
OIL4LIFE CARDIO KPSL	
OLIVITA KPSL	
OLIVITA OLJE flytende	
OMEGANOR FLYTANDE OMEGA-3,	ANDRE MANUF.
OMEGA-3 MULTI,90 STK	ANDRE MANUF.
OMEGA-3 KAP,120 STK	ANDRE MANUF.
PIKASOL LEDD	AXELLUS AS
PIKASOL HJERTE	AXELLUS AS
PIKASOL HELE DEG	AXELLUS AS
PIKASOL MEMOREX	AXELLUS AS
PIKASOL OMEGA 3 UTEN OPPSTØT	AXELLUS AS
PIKASOL TYGGEKAPSLER GOD FRUKTSMAK	AXELLUS AS
RUIS SELOLJE OMEGA-3 KAPSLER	NATURKOST S. RUI AS
RUIS SELOLJE OMEGA-3,300 ML	NATURKOST S. RUI AS
RUI SELOLJE HØYKONSENTRERT	
RUI OLIMAR OMEGA-3,250 ML	NATURKOST S. RUI AS
RUI OLIMAR OMEGA-3,100 STK	NATURKOST S. RUI AS

SELOLJE NORD NORSK,	ANDRE MANUF.
SELOLJE KAP,60 STK	ANDRE MANUF.
SELOLJE KAPSLER,100 STK	ANDRE MANUF.
SMARTFISH OMEGA 3 KPS,	BONAVENTURA SALES AS
SMARTFISH OMEGA 3 EMULERT OLJE	BONAVENTURA SALES AS
SMARTFISH OMEGA 3 OLJE FLASKE	BONAVENTURA SALES AS
SOLARAY OMEGA 3-6-9 ULTRA KAL	TERAPI CONSULT AS
Solaray OMEGA 3 ULTRA KAL 60 KPS	
SPORTS OMEGA, SELOLJE KPSL	
Superba krillolje	Macronova AS
Superba krill, krillkonsentrat	
Tech Nutrition START Omega, kapsler	
Tech Nutrition START Omega, flytende	
TRIOMAR OMEGA-3, ORIGINAL	AXELLUS AS
TRIOMAR MEMOREX KAPSLER,	AXELLUS AS
Triomar hjerte kaps	AXELLUS AS
Triomar ledd kaps	AXELLUS AS
Triomar omega-3 antireflu kaps	AXELLUS AS
Triomar sunn og sterk	AXELLUS AS
Triomar aktiv	AXELLUS AS
TRIOMEGA HØYKONS. OMEGA-3,120 STK	MIDELFART SONESSON A/S
TRIOMEGA WOMAN,90 STK	MIDELFART SONESSON A/S
TRIOMEGA HJERTE OMEGA3,80 STK	MIDELFART SONESSON A/S
TRIOMEGA KIDS ESKE,60 STK	MIDELFART SONESSON A/S
TRIOMEGA KONSENTRERT OMEGA-3,200 ML	MIDELFART SONESSON A/S
VECTOMEGA 60 TBL	
Vitaplex krillolje	CEDERROTH A/S
Vitaplex Alt i ett	CEDERROTH A/S
XL-1 Multi	
XL-1 Omega 3, kapsler	

## *Vedlegg 2*

### **Inkluderte n-3 produkter**

Amundsen OMEGA 3 Ultra EPA  
Animal PARADE Omega 3/6/9  
Arctic Omega 3 SELOLJE flytende  
Arctic Omega 3 SELOLJE kapsler  
Balanse Omega-3 SELOLJE  
BioFORM KIDS OMEGA 3  
BioFORM OMEGA 3+E  
BioFORM Sølvhai  
Biopharma BlåOMEGA  
Biopharma OMEGA-3 Med krill antioksidant  
Biopharma OMEGA-3 TYGGEKAPSLER  
Biopharma SEL-OLJE  
Biopharma trippel Omega-3  
BIOSYM EPA-GLA+  
BIOSYM EPA-GLA+ Liquid  
BlueOmega  
BonaVita Krill-Omega  
ColdSea Krill Oil Omega-3  
Daily Wellness SELOLJE Omega-3  
Daily Wellness SELOLJE Omega-3  
Efalex flytende  
Efalex kapsler  
ELDORADO OMEGA-3  
eskimo-3 kapsler  
eskimo-3 kids  
eskimo-3 med pufanox  
eye q flytande  
FRI FLYT OMEGA-3

GEVITA OMEGA 3+6  
GEVITA OMEGA-3 MED KALSIUM  
GEVITA SELOLJE  
GreenMed Dagsdosen  
GreenMed Omega-3 for hjerte og blodomløp  
HAI  
IGLO SELOLJE  
KAL Ultra Omega 3•6•9  
Lofoten LOFOT TRAN  
Lofotkapselen. Ren høykonsentrert omega-3  
Lyprinol  
MARLIN OMEGA 3•6•9  
maxim VITAMIN COMPLEX  
MÖLLER'S DOBBEL  
MÖLLER'S Ekstra omega-3 tran  
MÖLLER'S Godt for hjertet  
MÖLLER'S Godt for leddene  
MÖLLER'S OMEGA-3 HØYKONSENTRERT  
MÖLLER'S TOTAL  
MÖLLER'S TRAN, naturell  
NATURLIG KRILL. 100% krillolje  
NATURPOST  
Naturterapeuten HAIOLJE  
newomega høykonsentrert Omega-3  
Nordic Naturals Arctic Cod Liver Oil  
Nordic Naturals DHA JUNIOR LIQUID  
Nordic Naturals ProEFA  
NORWEGIAN Fish Oil Haileverolje  
NORWEGIAN Fish Oil Høykonsentrert  
NORWEGIAN Fish Oil Lakse-olje  
NORWEGIAN Fish Oil Omega-3 og Krill  
nycoplus Apotekets Tran  
nycoplus for Hjertet

nycoplus Krillolje  
nycoplus Omega-3 1000 mg  
nycoplus Omega-3 500 mg  
nycoplus Omega-3 Basic  
nycoplus Omega-3 Multi  
nycoplus Selolje 1000 mg  
OmegaMed NATURAL Omega-3 + Krill  
omegaPro et komplett omega 3 tilskudd  
Pharbio Alt i ett  
Pharma Nord Bio-Marin Pluss  
Pharma Nord Bio-Sport  
Pikasol HELE DEG  
Pikasol HJERTE  
Pikasol LEDD  
Pikasol MEMOREX  
Previshop Omega-3 Forte  
PreviShop SELOLJE Ren Omega-3 olje  
ruis OliMar Pluss OMEGA-3 SELOLJE  
ruis OMEGA-3 SELOLJE  
ruis OMEGA-3 SELOLJE  
ruis OMEGA-3 SELOLJE. Høykonsentrert  
Smartfish kapsler til barn  
smartKID OMEGA-3  
Solaray Ultra Omega 3•6•9  
START Omega  
SUNCAP OMEGA-3  
Suncap OMEGA-3 (m/vit D+E)  
Sunkost LEDD OMEGA  
Sunkost OMEGA 3-6-9  
Sunkost OMEGA3  
Sunkost SELOLJE  
Super Krill - for hele familien  
SUPERBA KRILL



SUPERBA KRILL OIL

Triomar HJERTE

Triomar LEDD

Triomar MEMOREX

Triomar ORIGINAL

Triomega hjerte

Triomega høykonsentrat

Triomega kids

Triomega woman

Vital Artic Oil. Selolje sitronsmak

Vitaplex Krillolje

WEIFA Complete FOLAT OG OMEGA-3

WEIFA Complete KRILLOLJE

WEIFA Complete OMEGA-3

WEIFA Complete OMEGA-3 FOR BARN

WEIFA Complete OMEGA-3 TYGGEKAPSLER

XL-1 multi

x-life FISHOIL. Norskraffinert omega 3 fra fiskeolje 1000mg

### Vedlegg 3

## KJEMIKALIE- OG INSTRUMENTSLISTE

### Kjemikalier:

### Produsent:

Benzen pa	<i>VWR / Merck</i>
Metanolisk saltsyre 3N	<i>Supelco analytical</i>
2,2-dimethoxy propan	<i>Sigma-Aldrich</i>
Isooktan pa	<i>VWR / Merck</i>
natriumbikarbonat (NaHCO <sub>3</sub> )	
natriumklorid (NaCl pa)	<i>VWR/Merck</i>
Vannfri natriumsulfat pa	<i>VWR/Merck</i>
Ekstern standard (68D)	<i>Nu-Check-Prep. Inc.</i>
(Is)Eddiksyre 100%	<i>VWR / Merck</i>
p-anisidin	<i>VWR/Merck</i>
Kaliumjodid pa	<i>VWR/Merck</i>
Kloroform pa	<i>VWR / Merck</i>
Natrium-thiosulfatløsning 0,1 N	<i>VWR/Merck</i>
Stivelse	<i>VWR/Merck</i>

### Instrumenter:

Magnetmikser	<i>Heigar / M21/1 Framo-Gerätetechnik</i>
Vekt	<i>Bergman / PG 503-S Delta Range Metler Toledo</i>
Vortex mikser	<i>MS2 Minishaker IKA</i>
Vannbad	<i>GFL</i>
Sentrifuge	<i>Heraeus Multifuge 4KR</i>
Gasskromatograf	<i>Agilent HP 6890 med FID</i>
Kolonnetype	<i>SGE BPX 70x0.25 60m, 0,25mm</i>
Spektrofotometer	<i>Pharmacia Biotech Ultrospec 3000 UV/Visible</i>

Software GC  
Tallberegning GC  
Statistikkprogram

*GC ChemStation Rev B.01.01[164]SR1*  
*Microsoft Office Excel 2003*  
*Statistical Package for the Social*  
*Sciences, SPSS*

*PeroxySafe™ STD Kit*

---

*MicroChem™ II Analyser med filterblokk 570/690*

*Reagent A*

*Reagent B*

*Reagent C*

*Preparation Reagent*

*PeroxySafe™ Standard 1*

*PeroxySafe™ Standard 2*

*PeroxySafe™ Standard 3*

*Reagent Blank*

*Control Low*

*Control Medium*

*Control High*

