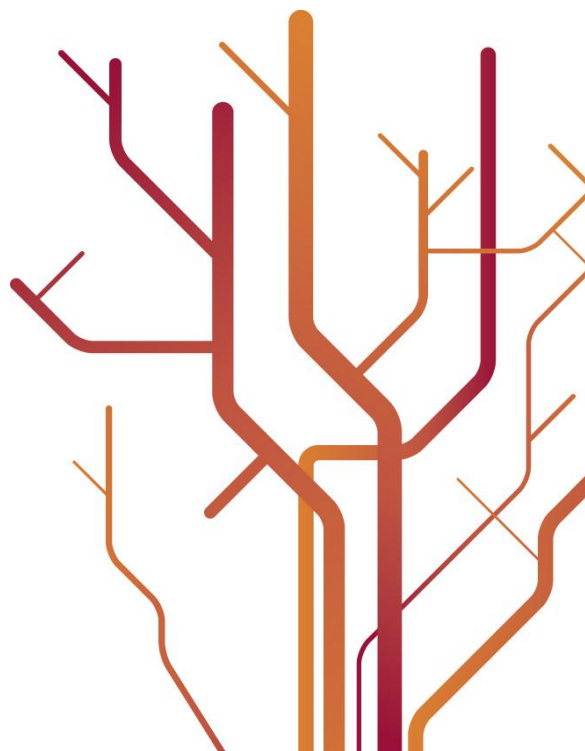


# Bestemmelse av saltinnhold i mat ved hjelp av natrium selektiv elektrode og potentiometrisk kloridtitrering

**Anette Almås**

Masteroppgave i fiskeri- og havbruksvitenskap  
Marine næringsmidler (60 studiepoeng)

Mai 2012





## **Forord**

Denne oppgaven ble skrevet ved Norges Fiskerihøgskole, Universitetet i Tromsø. Forsøkene ble gjennomført hos SINTEF Fiskeri og havbruk AS, Trondheim. Oppgaven var en del av Low Salt prosjektet; Low salt products, prosjektnummer 185063/I10 støttet av Norges forskningsråd. Prosjektet er ledet av SINTEF Fiskeri og havbruk AS.

Jeg vil rette en stor takk til ansvarlig veileder Ragnar L. Olsen for god støtte og veiledning gjennom hele prosessen. Takk til veilederne Kirsti Greiff og Ulf G. Erikson hos SINTEF som har hjulpet til med arbeidet i den tiden jeg har vært her.

Vil også takke Marte Schei, Merethe Selnes, Vera Kristinova og Lise Bersmo som har hjulpet til med analyser og kommet med gode råd under arbeidet på laboratoriet.

Jeg vil også takke mine foreldre som alltid stiller opp, og til mine søsken Hilde og Lars Even som har motivert og kommet med gode råd under prosessen.

Tilslutt vil jeg takke Andreas for sitt gode humør, og for å ha vært en god støttespiller gjennom studietiden.

Anette Almås

Trondheim, Mai 2012



## Sammendrag

Salttilsetning (NaCl) har vært benyttet i lang tid i næringsmiddelindustrien både for å forbedre sensoriske egenskaper og for å konservere matvarer. Inntak av salt er imidlertid generelt for høyt i den vestlige verden, også i Norge. Det er nå vel kjent at det høye saltinntaket bidrar til å øke blodtrykket. Siden et høyt blodtrykk kan føre til en rekke livstruende sykdommer er det derfor viktig å redusere saltinntaket. Cirka tre fjerdedeler av saltinntaket kommer fra prosessert mat og fokuset er derfor på å redusere salttilsetning i denne typen produkter. Det er natriumkomponenten i saltet som er helseskadelig. Allikevel benyttes kloridtitrering i stor grad ved måling av saltinnhold. I mange bearbeidede matvarer blir natrium ofte også tilført som andre salter enn bare NaCl. Måling av kloridinnholdet i slike produkter vil gi et for lavt natriuminnhold. Det er derfor et behov for å benytte en metode som måler natrium spesifikt. Dette også fordi næringsmiddelindustrien kan få påbud om merking av natriuminnhold på produkter i fremtiden.

Formålet med oppgaven var å sammenligne saltinnholdet i mat ved å bruke natrium selektiv elektrode og potentiometrisk kloridtitrering. Natrium selektiv elektrode måler natriuminnholdet mens kloridtitreringen gir kloridinnholdet. Saltinnholdet kan så beregnes. Tre produkter; tint fiskefarse, skinke og fiskepudding, laget ved SINTEF Fiskeri og havbruk AS og tre industriprodusert produkter; skinke, potetgull og røykelaks, ble undersøkt. Resultatene viste at natrium selektiv elektrode kan lett brukes ved bestemmelse av natriuminnholdet i mat. Natrium selektiv elektrode med direkte måling fungerte bedre enn såkalt single known addition metode ved de relativt høye saltkonsentrasjoner man ofte finner i mat. I produkter hvor det bare er brukt NaCl som tilsetningsstoff til en konsentrasjon på 2 – 3 %, vil kloridtitrering gi et noenlunde riktig nivå av natrium tilsvarende det man finner med natrium selektive elektrode. I mange av bearbeidede produktene som for eksempel skinke, er det imidlertid ofte tilsatt flere andre natriumsalter enn NaCl. I slike tilfeller viste resultatene at natrium selektiv elektrode er det eneste alternative dersom innhold av natrium eller natriumklorid må deklarerer. Forsøket med røykelaks viste at saltinnholdet var ganske høyt og at prøveuttaket har betydning for analyseresultatet. Det bør derfor være egne retningslinjer for hvordan prøveuttaket skal tas hvis det kommer påbud om merking av dette produktet.

Konklusjonen er at natrium selektiv elektrode er en metode som næringsmiddelindustrien kan benytte seg av for bestemmelse av natrium og saltinnhold i produkter.



## Innholdsfortegnelse

Forord .....	ii
Sammendrag .....	iv
Innholdsfortegnelse .....	vi
1. Introduksjon og formål .....	2
2. Bakgrunn .....	5
2.1 Titrering av kloridinnhold .....	5
2.2 Natrium selektiv elektrode .....	7
2.3 Hvordan salt fungerer i mat .....	10
3. Materialer og metoder .....	13
3.1 Materialer .....	13
3.2 Metoder .....	15
4. Resultater .....	17
4.1 Bruk av natrium selektiv elektrode .....	17
4.2 Innhold av natrium i springvann, destillert vann og deionisert vann .....	19
4.3 Saltinnholdet i fiskefarse .....	20
4.4 Saltinnhold i kokt skinke .....	21
4.5 Saltinnholdet i industrilaget skinke .....	22
4.6 Saltinnhold i fersk hysefilet, fiskefarse og fiskepudding .....	23
4.7 Saltinnhold i produktet Salt potetgull .....	26
4.8 Saltinnhold i røykelaks .....	27
5. Diskusjon .....	29
6. Referanser .....	33





## 1. Introduksjon og formål

Rent kjemisk er salt en syrerest og et metall. I næringsmiddelsammenheng oppfattes salt i midlertidig som natriumklorid (NaCl). Salttilsetning er over lang tid blitt benyttet i næringsmiddelindustrien fordi saltets egenskaper gjør det godt egnet som tilsetningsstoff. Salttilsetning vil kunne forsterke næringsmidlets smak, struktur, konsistens og vannbinding. Salt kan også brukes for å konservere mat (Ehling et al., 2010). Alle disse faktorene i tillegg til at salt er billig å få kjøpt gjør at salt blir flittig brukt i næringsmiddelindustrien (Albarracin et al., 2011).

Prosessert mat bidrar med ca. tre fjerdedeler av saltinntaket i den vestlige verden i dag (Danaei et al., 2009; Strazzullo et al., 2009; Bibbins-Domingo et al., 2010). Nyere forbrukerundersøkelser fra 2007-2009 viser at også i Norge kommer mesteparten av saltinntaket fra prosessert mat. Kjøttprodukter og fiskeprodukter utgjør henholdsvis 29 % og 9 % av saltinntaket. Andre matvarer (blandingsprodukter) utgjør 24 %, mens kornvarer, spisefett og oster står for 22 %, 9 % og 7 % (Nasjonalt råd for ernæring, 2011b). Rene råvarer inneholder små mengder salt og utgjør til sammen 10 % i de ulike matvarene nevnt ovenfor. Saltinntaket er individuelt for hver person, da det avhenger av forbrukerens matvaner og landets mattradisjoner. Salttilsetning under tillagning og bespisning av mat utgjør også en andel av saltinntaket og vil være individuelt for hver person.

Saltinntaket er nødvendig for kroppen da natriumkomponenten i salt er viktig for kroppens metabolske prosesser, syre og base balanse, blodvolum, nervefunksjon, hormonell regulering og transportmekanisme for glukose og enkelte aminosyrer. Utskillelsen av natrium foregår hovedsakelig i nyrene, og blir regulert i forhold til saltinntaket. Det blir også skilt ut salt gjennom svette og avføring. Det er derfor nødvendig med mer tilførsel av salt gjennom kosten ved høy fysisk aktivitet. Hos voksne med normal fysisk aktivitet vil et daglig saltinntak på 1,5 g salt være tilstrekkelig til å dekke behovet etter utskillelse av natrium. Saltinntak på 1 g salt tilsvarer 0,4 g natrium, og 1 g natrium tilsvarer 2,5 g salt. Selv om kroppen er avhengig av natriumkomponenten i saltet er dette i små mengder. Ved høyt saltinntak er det påvist at natriumkomponenten i saltet kan føre til høyt blodtrykk, og derved hjerte og karsykdommer (Elliott, 1988). Dette er påvist gjennom kliniske observasjoner, dyreforsøk og epidemiologiske undersøkelser. En studie av en isolert befolkningsgruppe som hadde et lavt saltinntak viste at disse menneskene hadde et lavt blodtrykk. Dette ble sammenlignet med flere befolkninger uten isolasjon som hadde et høyt natriuminntak som gav et høyt blodtrykk (Shaper, 1972; Simpson, 1979; Elliott and Marmot, 1984). En

reduksjon av natrium er dokumentert å ha positiv effekt, og dødeligheten av hjerte og karsykdommer vil synke betydelig (Bibbins-Domingo et al., 2010; Danaei et al., 2009; Strazzullo et al., 2009). Sammenhengen mellom natriuminntak og høyt blodtrykk gjør at en ønsker å rette fokuset mot hvilke kilder som bidrar til høyt saltinntak, og derved kunne redusere befolkningens saltinntak.

Bestemmelse av saltinntak kan gjennomføres ved to metoder. Kostholdsundersøkelser er en metode hvor en må registrere hvilke matvarer som forbrukeren spiser. Dette er en metode som kan være vanskelig å følge opp, da matvarene kan ha dårlig merking, og forbrukeren selv benytter salt under tillagning og bespisning. Den andre metoden er å måle natriumutskillelse i urinen. Måling av natriumutskillelse vil være enklere å kontrollere enn kostholdsundersøkelser (Nasjonalt råd for ernæring, 2011a). Saltinntaket hos Norges befolkning er i dag høyt. Nyere nasjonale kostholdsundersøkelser viser at voksne har et daglig saltinntak på 10 g salt som tilsvarer 4,1 g natrium. Ser en på de andre nordiske landene har Sverige et daglig saltinntak på 8,5 g salt (3,4 g Na), Finland 11 g salt (4,4 g Na), Danmark 10g salt (4,1 g Na) og Island 9 g salt (3,7 g Na) (Becker and Pearson, 2002; Männistö et al., 2003; Steingrimsdottir et al., 2003; Danmarks Fødevarerforsking, 2005) Dette inkluderer ikke salttilsetning under bespisning. Nasjonalt råd for ernæring anbefaler et daglig saltinntak hos voksne på 3-4 g salt. For barn på 4-8 år er det anbefalt 3 g salt daglig, barn på 1-3 år er det anbefalt 2,5 g salt daglig og hos barn på 7-12 måneder er det anbefalt 0,9 g salt (Nasjonalt råd for ernæring, 2011a). Anbefalingene som Nasjonalt råd for ernæring har gitt er betydelig lavere enn dagens saltinntak. Det er derfor nødvendig å redusere saltinntaket, og se på saltinnholdet i prosessert mat da dette er hovedkilden til saltinntaket.

Det er i dag ingen retningslinjer eller krav om merking av saltinnhold i matvarer i Norge (Nasjonalt råd for ernæring, 2011b). Dette fører til at merking av saltinnholdet er opp til hver enkelt produsent å bestemme. Enkelte produsenter merker ikke sine produkter og andre merker det med NaCl innhold, og fåtall merker sine produkter med natriuminnhold. Dette gjør det vanskeligere for forbrukeren å velge matvarer som har lavt saltinnhold. Det finnes i dag et utvalg av nøkkelhullmerkede matvarer som forbrukerne kan benytte seg av. Matvarer som har nøkkelhullmerket har en maksimumsgrense for natriuminnhold (Mattilsynet, 2009). Dette gjelder den totale mengden natrium i næringsmidlet som inkluderer natrium fra råvarer, ingredienser og tilsetningsstoffer.

Maksimumsgrensen på natriuminnholdet er angitt for hver enkelt næringsmiddelgruppe. Et eksempel er ferdigretter (inkluderer ikke pizza, smørbrød og supper) hvor det er angitt 0,4 g Na per 100 g. Andre maksimumsgrenser for natriuminnhold kan leses i forskrift om frivillig merking av næringsmidler med Nøkkelhullet (Helse og omsorgsdepartementet, 2009). Da det er et fåtall med produkter som har Nøkkelhullmerket, og det viser seg å være en klar sammenheng mellom høyt natriuminntak og høyt blodtrykk er det viktig å merke produktene med natriuminnhold. Det vil hjelpe forbrukerne til å ta bevisste valg slik at de kan redusere saltinntaket. Bedrifter vil også bli mer bevisst over produktene sine hvis det settes krav om merking av natriuminnhold. I dag benytter næringsmiddelindustrien seg i stor grad av kloridtitrering for å dokumentere saltinnholdet i næringsmidler. Ulempen med denne metoden er at den gir et for høyt natriuminnhold fordi andre metaller også kan foreligge som kloridsalter. Det motsatte kan være tilfellet i foredlede produkter fordi mange vanlige tilsetningsstoffer er natriumsalter. Eksempler er natriumsitrat (E 331), natriumlaktat (E 325) natriumaskorbat (E 301) og natriumnitritt (E250). Næringsmiddelindustrien kan derfor ikke benytte seg av kloridtitrering hvis de skal bestemme natriuminnholdet nøyaktig. En må derfor se på andre metoder som næringsmiddelindustrien kan benytte seg av for å bestemme natriuminnhold.

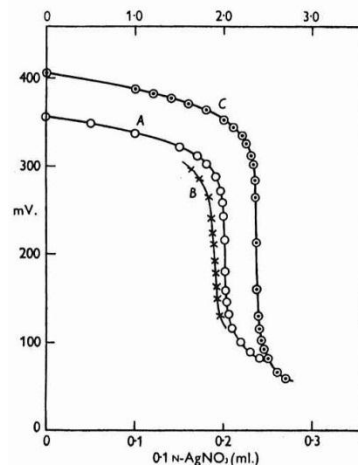
Formålet med denne oppgaven var å bestemme saltinnholdet i mat ved hjelp av natrium selektiv elektrode og potentiometrisk kloridtitrering. Ved å benytte natrium selektiv elektrode kan en måle natrium og beregne saltinnholdet i næringsmidler, og ved bruk av potentiometrisk kloridtitrering kan en måle klorid og så beregne saltinnholdet. Ved å benytte begge metodene har en mulighet for å sammenligne saltinnholdet i næringsmidlene med hverandre. En kan dermed se om natrium selektiv elektrode er en metode som næringsmiddelindustrien kan benytte seg av for å bestemme natriuminnholdet i næringsmidler.

## 2. Bakgrunn

### 2.1 Titrering av kloridinnhold

Dette er den vanligste metoden for å måle NaCl innhold i næringsmidler, og gjøres ved å titrere kloridmengden med sølvnitrat ( $\text{AgNO}_3$ ). Ved titrering kan en påvise endepunktet med å benytte fargeindikator eller gjennomføre potensiometrisk analyse. I begge tilfellene blir kloridionene felt ut som sølvklorid ( $\text{AgCl}$ ).

Potentiometrisk titrering av klorid med sølvnitrat har blitt benyttet i lang tid. Metoden er utviklet av Kolthoff og Furman for 80 år siden (Kolthoff and Furman, 1931). Ved titreringen av klorid blir det tilsatt sølvnitrat og i begynnelsen vil sølvionene ha en lav konsentrasjon i løsningen fordi de felles ut som  $\text{AgCl}$ . Den økende konsentrasjonen av sølvnitrat gjør at den elektriske potensialforskjellen (mV) mellom sølv og referanse elektroden vil synke sakte. På et punkt under titreringen (ekvivalenspunktet) vil det ikke være mer kloridioner i løsningen.  $\text{Ag}^+$  konsentrasjonen i løsningen vil nå øke raskt og potensialforskjellen faller brått (Sanderson, 1952). Dette kan framstilles grafisk ved å plote  $\text{AgNO}_3$  mot det elektriske potensialet (figur 1).



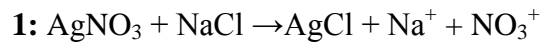
**Figur 1:** Titreringskurve av 0,2 ml. 0,1 N-NaCl (A); 0,2 ml normal plasma (B) og 1ml urin (C). Ved stigende konsentrasjon av sølvnitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) vil kloridmengden gradvis avta og når det ikke er mer kloridioner vil potensialforskjellen falle raskt (Sanderson, 1952).

Den andre metoden for å påvise endepunktet ved titrering med sølvnitrat er å benytte fargeindikator (reaksjon 1, 2 og 3). Den første reaksjonen ved bruk av fargeindikator er den samme som ved potensiometrisk analyse. Kloridet blir felt ut om sølvklorid, men overskuddet av sølv ( $\text{Ag}$ ) blir i dette tilfellet titrert med ammoniumthiocyanat ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ ). Dette vil føre til utfelling av sølvthiocyanat ( $\text{AgSCN}$ ). Når alt sølvet har reagert vil  $\text{NH}_4\text{SCN}$  reagere med

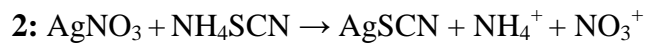
fargeindikatoren som er Jern(III)ammoniumsulfat( $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ ) og et rødt/brunt fargekompleks ( $\text{Fe}(\text{SCN})_3 \times \text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ ) dannes. Fargekomplekset indikerer hvor mye sølv som ikke har falt ut som sølvklorid. Mengden klorid i den opprinnelige løsningen kan beregnes.

### Reaksjoner:

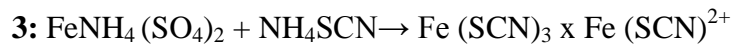
Kloridet blir felt ut som sølvklorid ( $\text{AgCl}$ )



Overskuddet av sølvnitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) titreres med ammoniumthiocyanat ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ )



Dannelse av fargekompleks mellom Jern(III)ammoniumsulfat ( $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ ) når det ikke er mer  $\text{Ag}^+$  igjen.



I min oppgave har potensiometrisk titrering blitt benyttet for å bestemme kloridinnholdet i næringsmidlene.

## 2.2 Natrium selektiv elektrode

Natrium selektiv elektrode er en metode for å måle natrium ( $\text{Na}^+$ ) innholdet og så eventuelt beregne NaCl innholdet. Dette er en potentiometrisk metode da det elektriske potensialet (mV) hos natriumionene blir målt. Det elektriske potensialet avhenger av natriumionenes aktivitet som igjen blir påvirket av konsentrasjonen og pH. Elektroden er koblet til et instrument som registrerer det elektriske potensialet og gir konsentrasjonen direkte i ppm.

Elektroden er utviklet i løpet av de siste tiårene sammen med andre elektroder som måler metallioner (Kuhne, 1988). Natrium selektiv elektrode er bygd opp med en glassmembran som inneholder 2 molar ammoniumklorid ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ). Natriumionene har positiv ladning som gjør at de migrerer til glassmembranen og til ammoniumklorid som har positive og negative ladninger. Det fører til likevekt, og det elektriske potensialet kan måles. Det vil derfor være aktiviteten til natriumionene som blir målt og ikke konsentrasjonen. Det elektriske potensialet og natriumionenes aktivitet kan framstilles ved Nernsts ligning.

$$E = E_0 + S \log(A)$$

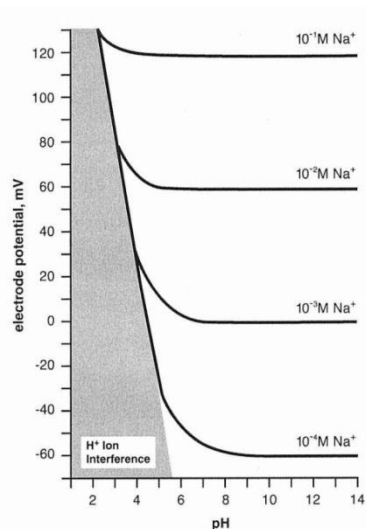
E= Elektriske potensial

$E_0$ = Konstant potensiale hos elektroden

A= Natriumionenes aktivitet

S= Elektrodens stigningstall

Ved å måle natriumionenes aktivitet kan konsentrasjonen av natriuminnholdet og NaCl beregnes. Elektroden reagerer raskt på migreringen av natriumionene, men er avhengig av en pH som ligger innenfor et bestemt område. Løsningene som skal måles må ha en pH mellom 6-14 (Thermo Electron Corporation, 2003). Det må derfor tilsettes en alkalisk buffer (ISA= Ionic Strength Adjuster) som inneholder ammoniumklorid og ammoniumhydroksid i alle løsninger før måling. Denne alkaliske bufferen leveres med instrumentet. Den optimale pH bør ligge mellom 9-12 ved måling. Ved  $\text{pH} < 6$  kan en ikke måle det elektriske potensialet fordi hydrogenionene vil interferere. Dette kan framstilles grafisk ved å plote pH mot det elektriske potensialet (mV) (figur 2).



**Figur 2:** Målt elektrisk potensiale i saltløsninger med 100 mM, 10mM, 1mM og 0,1 mM Na<sup>+</sup> ved ulike pH verdier (Thermo Electron Corporation, 2003).

Ved bruk av natrium selektiv elektrode kan en benytte tre metoder, og alle har samme prinsipp ved å måle det elektriske potensialet hos natriumionene. Metodene er såkalt direkte måling, known addition og måling ved analate subtraksjon. Known addition metoden er delt i tre som er multiple known addition, double known addition og single known addition. I denne oppgaven er metodene direkte måling og single known addition benyttet. Ved bruk av natrium selektiv elektrode er det angitt en nedre grense for natriummåling på 0,02 ppm (10<sup>-6</sup>). Dette er den laveste natriumkonsentrasjonen som natrium selektiv elektrode har mulighet for å måle (Thermo Electron Corporation, 2003). Ved måling av lave natriumkonsentrasjoner er det anbefalt å benytte en known addition metode.

### Kalibrering og måling

Kalibrering av elektroden må gjennomføres uavhengig av hvilken målemetode en velger. Dette er en to punkts kalibrering hvor en finner elektrodens stigningstall som må ligge mellom -54 og -60 mV. Kalibreringen blir gjennomført med 100 ml destillert vann i et 150 ml begerglass med tilsetning av 10 ml alkalisk buffer. Så tilsettes 1 ml natrium standard (1000 ppm). Når det elektriske potensialet oppstår kan en lese av mV verdien på instrumentet. Så tilsettes 10 ml natrium standard (1000 ppm), og en kan lese av mV verdien på nytt. Forskjellen mellom de to mV målingene som er observert ved tidobling av konsentrasjonen kalles stigningstallet. Dette stigningstallet blir benyttet ved bruk av single known addition metoden. Temperaturen må ligge mellom 20-25 °C. Ved direkte måling må det i tillegg gjennomføres en kalibrering som krever minst to standarder som er laget av natrium standard

(1000 ppm) og deionisert vann. Standardene kan være 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm og 1000 ppm. Dette gjennomføres ved 20 ml standard i et 25 ml begerglass med 2 ml alkalisk buffer.

Direkte måling blir gjennomført ved 20 ml prøve i et 25 ml begerglass med 2 ml alkalisk buffer, tilsvarende med single known addition. Ved bruk av single known addition benytter en stigningstallet som må ligge mellom -54 og 60 mV. Før måling må en oppgi prøvevolum (20 ml), totale volum (22 ml), stigningstallet, og konsentrasjonen av natrium known addition standard m/alkalisk buffer (1000 ppm) som skal benyttes underveis (2 ml).

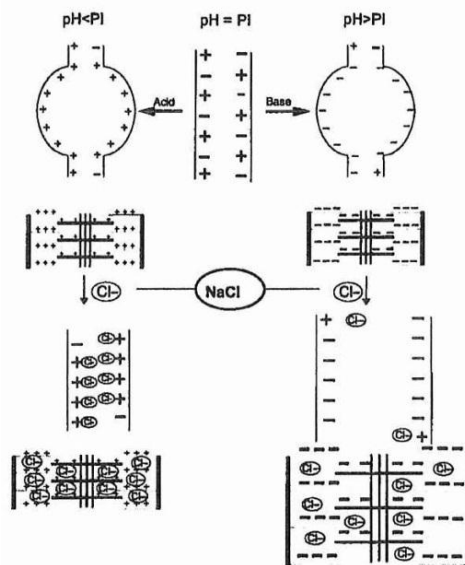


### 2.3 Hvordan salt fungerer i mat

Salttilsetning i foredlet mat er utbredt fordi det påvirker egenskapene til næringsmidlet som nevnt tidligere. Ofte bruker man saltkonsentrasjoner på 2 - 4 %. Bruk av salt som konserveringsmiddel har lange tradisjoner og i Norge er man godt kjent med produksjon av saltfisk og klippfisk. I slike produkter er saltkonsentrasjonene høye, oftest 20 % eller mer.

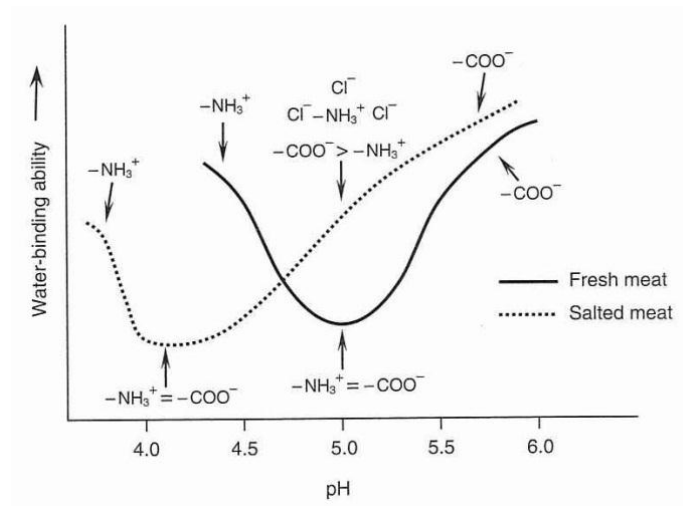
Salt kan både gi saltsmak og fungere som smaksforsterker i næringsmidler. Det er først og fremst kationet ( $\text{Na}^+$ ) som bidrar til saltsmaken mens anionet ( $\text{Cl}^-$ ) også bidrar i smaksforsterkningen (se oversiktsartiklene: Ruusunen and Puolanne, 2005; Albarracin et al., 2011). Kalium og lithium, andre gruppe 1A metaller i det periodiske system, vil også kunne gi salt smak, men det førstnevnte gir også bitterhet mens det sistnevnte er giftig (Lindsay, 2008). Salt fungerer som smaksforsterker ved at kloridionene diffunderer inn i celler i munnhulen (tunga) og stimulerer smaksreseptorene. Kloridionenes størrelse gjør at diffusjonen lett skjer mens større anioner (bromid, iodid) diffunderer mye saktere (Delwiche et al., 1999; Murphy et al., 1981). Salter med bromid er dessuten uaktuelt på grunn av giftigheten til bromid.

Vannbindingsevnen i næringsmidlet er en viktig faktor for å opprettholde gode sensoriske egenskaper. I tillegg er vannbindingsevnen viktig for produsentene av et foredlet produkt fordi prisen de får beregnes per kilo. Kan man selge vann så blir fortjenesten bedre. Vannbindingsevne er definert som evnen et næringsmiddel har til å hindre tap av vann fra den tre-dimensjonale strukturen (nettverk) i produktet (Chantrapornchai and McClements, 2002). Egenskapen er i stor grad avhengig av proteinene i næringsmidlet og er avhengig av temperatur, proteinenes struktur, pH i produktet og balansen mellom proteiner og vann. Proteinene i næringsmidlet vil både ha positive og negative ladninger. Det isoelektriske punkt er den pH som gir en nøytral nettoladning i proteinene. Proteinene i muskelkjøtt inkludert fiskekjøtt, har et isoelektrisk punkt ca. pH 5 – 5,5. Ved pH over det isoelektriske punkt som er det normale for kjøttprodukter, har proteinene en negativ overskuddsladning. Frastøtingen mellom de negative ladningene fører til at proteinene har en «oppvulmet» struktur som gir plass til vann i strukturen (Figur 3). Ved pH lik det isoelektriske punkt har kjøttproteinene en nøytral ladning og dårligst vannbindingsevne.



**Figur 3:** Illustrer hvordan proteinstrukturen påvirkes av pH. Ved  $pH < pI$  (isoelektriske punkt) har proteinene en positiv overskuddsladning, ved  $pH = pI$  er de nøytrale og ved  $pH > pI$  har de en negativ overskuddsladning. Figuren viser også hvordan salt (kloridioner) påvirker proteiner strukturen (Girard, 1991).

Som det framgår av figur 3 så vil proteinene ved pH lavere enn det isoelektriske punkt få en positiv overskuddsladning som fører til frastøting og plass til vann i proteinstrukturen. En pH lavere enn isoelektrisk punkt finner man sjelden i kjøttbasert matvarer. Selv om pH har betydning for vannbindingsevnen i for eksempel fiskekjøtt, er også andre faktorer viktige (Rustad, 1992; Ofstad et al., 1996; Olsson et al., 2003). I figur 3 ser man også at frastøtingen i proteinstrukturen øker når salt tilsettes ved  $pH > pI$ . De negative kloridionene øker frastøtingen mellom ulike deler av proteiner og det blir mer plass til vann. I praksis fører det til at det isoelektriske punktet til proteinene blir lavere og vannbindingsevnen ved den aktuelle kjøtt-pH blir derfor bedre (figur 4). De positive natriumionene er så sterkt hydratisert at størrelsen blir for stor til å trenge inn i proteinstrukturene og disse ionene vil derfor påvirke vannbindingsevnen i liten grad. Selv om vannbindingsevnen kan økes ved å tilsette salt til rått kjøtt så vil vann tapes ved sterk varmebehandling fordi proteinstrukturene denatureres kraftig og derved tapes effekten av kloridionene.



**Figur 4:** Illustrerer forholdet mellom pH og vannbinding hos proteinene i ferskt kjøtt og saltet kjøtt. Ved salting blir det isoelektriske punktet til proteinene lavere og vannbindingsevnen blir bedre i forhold til det ferske kjøttet (Strasburg et al., 2008).

Salt blir også benyttet som konserveringsmiddel. Det benyttes da store saltmengder og saltkonsentrasjonen i kjøttet blir høy. Når salt trenger inn kjøtt vil vann (væske) presses ut for å opprettholde den osmotiske balansen. I fullsaltede produkter som saltfisk og klippfisk, kan vanninnholdet bli så lavt som 50 – 55 % (Bjørkevoll et al., 2004). Den lave vannaktiviteten hindrer vekst av mikroorganismer og produktene kan lagres i ubegrenset tid (Lorentzen et al., 2010). Før fisken kan konsumeres må den utvannes til en saltkonsentrasjon på 2-3 %. For å forlenge holdbarheten til produkter kan man bruke lavere saltkonsentrasjoner sammen med andre konserveringsmetoder slik som f. eks vakuumpakning og røyking.

### 3. Materialer og metoder

#### 3.1 Materialer

Produktene som ble undersøkt var både industrielt produserte varer og produkter framstilt i laboratoriet ved SINTEF Fiskeri og havbruk AS. I tillegg ble konsentrasjonen av  $\text{Na}^+$  målt i springvannet, det destillerte vannet og det deioniserte vannet i laboratoriet ved SINTEF Fiskeri og havbruk AS.

#### Produkter framstilt ved SINTEF Fiskeri og havbruk AS;

1. To typer skinker; en med 1,4 % NaCl og en med 2,99 % NaCl. Under produksjonen ble lake som inneholdt natriumlaktat benyttet. Nærmere beskrivelse av produksjonsprosessen gis ikke fordi jeg ikke var involvert i prosessen.
2. To varianter av tint fiskefarse som tidligere var produsert ved SINTEF Fiskeri og havbruk AS. En var tilsatt 0,4 % NaCl mens den andre var tilsatt 1 % NaCl.
3. Fiskepudding laget av fersk hysefilet kjøpt hos Fiskehallen, Trondheim. Framgangsmåten for lagingen av fiskepuddingen beskrives senere.

#### Industrielt produserte varer:

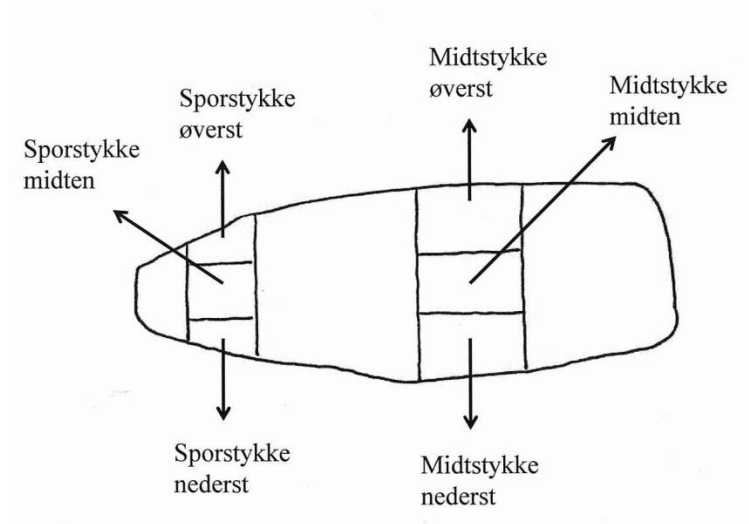
1. Tre ulike typer kokt skinke industrilaget av produsenten Espeland AS. En standard kokt skinke (n=3), en kokt skinke hvor 1/3 av NaCl er erstattet med KCl (n=3) og kokt skinke med reduksjon av natriuminnhold (n=3) (tabell 1).

**Tabell 1:** Skinkeprøvene er industrilaget av produsenten Espeland AS. Standard kokt skinke (n=3), kokt skinke hvor 1/3 av NaCl er erstattet med KCl (n=3) og kokt skinke med reduksjon av natriuminnhold (n=3).

Skinkeprøve	Oppgitt NaCl %
Standard kokt skinke (n=3)	2,99 % NaCl
Kokt skinke med tilsatt KCl (n=3)	2,07 % NaCl
Kokt skinke med redusert NaCl innhold (n=3)	1,4 % NaCl

2. Salt potetgull (Maarud) kjøpt i dagligvarehandel. Tre poser ble innkjøpt. Natriuminnholdet var oppgitt å være 0,6 gram/100 gram potetgull. Tre prøver ble analysert av hver pose (n=9). Potetgullflakene ble knust med en morter før ekstraksjon av salt.

3. To fileter med vakuumpakket røykelaks fra forskjellige produsenter. Norges Laksen, Norwegian Salmon Røkt Laks (røykelaks 1), og Norsk Sjømat (røykelaks 2). Prøveuttaket og måling av saltinnhold ble gjort i midtstykket og sporstykket (figur 5).



**Figur 5:** Illustrerer hvordan prøveuttaket ble tatt ut i røykelaks 1 og 2 i midtstykket og sporstykket.

### Tillaging av fiskepudding

Hysefileten ble grovkvernet med 3mm hullskive (Kenwood major) og blandet godt sammen med salt og deionisert vann (tabell 2). Blanding av batchene ble gjennomført ved bruk av miksmaster (Kenwood major) (tabell 3). Saltet som ble benyttet var Jozo fint husholdningssalt uten tilsatt Jod og med tilsetning av antiklumpemidler (E551 og E535).

**Tabell 2:** Reseptene av tillaging av fiskepudding. Veiing av kvernet fiskefarse, NaCl og deionisert vann ved hver batch på reseptene 0,4 % NaCl, 1 % NaCl og 2 % NaCl.

Resept	2 % NaCl	1 % NaCl	0,4 % NaCl
<b>Første batch</b>			
Kvernet fiskefarse(g)	465,21	465,08	465,24
NaCl (g)	15,04	7,50	3,01
Deionisert vann (H2O)	277,50	277,50	277,51
<b>Andre batch</b>			
Kvernet fiskefarse (g)	465,08	465,05	465,00
NaCl (g)	15,03	7,51	3,00
Deionisert vann (H2O)	277,52	277,53	278,01

**Tabell 3:** Blanding av begge batchene ved bruk av miksmaster og tidtaker. Først ble farsen blandet i 15 sekunder før salt ble tilsatt i løpet av 30 sekunder. Deretter ble deionisert vann tilsatt og den spedde farsen ble mikset til en jevn blanding i 105 sekunder.

Tid (sekunder)	Handling
0	Sett blander på lav fart (nivå 3)
15	Tilsett salt jevnt
45	Spe med deionisert vann
130	Stopp og skrap, start opp igjen (høy fart, nivå 9)
150	Ferdig

Etter blanding ble begge batchene fra hver resept rørt sammen i en bolle, bortsett fra resept 1 % NaCl da andre batch fikk feil blandingsforhold. Ved resept 1 % NaCl ble første batch fordelt på to skåler (n=2). Resept 2 % NaCl ble fordelt på tre skåler (n=3) og resept 0,4 % NaCl fordelt på tre skåler (n=3). Totalt ble 8 puddinger med 300-400 gram satt til steking i plastskåler dekket med aluminiumsfolie. Temperaturen til ovnen (Rational self Cooking) ved steking var satt til 80 °C og kjernetemperaturen ble fulgt med tempologgere (DS1922L-F5#-Thermochron iButtion produsert av Maxim). Etter at kjernetemperaturen i puddingene var blitt 80 °C stod puddingene i ovnen i 10 minutter. Relativ fuktighet i ovnen under steking var 50 %. Etter endt steking ble fiskepuddingene satt i kjøletemperatur til over natten før de ble analysert. Koketapet (væsketap) ble tatt og puddingene ble løsnet fra skålene og veltet over på kaffefilter på rist i 1 minutt. Skålene ble tørket med papir og puddingene ble veltet tilbake og koketapet ble beregnet av puddingen før steking og etter at puddingene var veltet tilbake.

### Opparbeiding av prøver for måling av natrium og klorid

Det ble veid ut ca. 7,5 g prøve (råstoff eller produkt) i et begerglass og tilsatt 100 ml deionisert vann. Dette ble homogenisert ved bruk av Ultra Turrax Max (IKA) i 20 sekunder per prøve (11000 omdreininger per minutt) og satt i varmeskap på 90 °C i 30 minutter. Etter endt varmebehandling ble prøvene avkjølt til romtemperatur og helt over i 250 ml målekolber. Begerglasset ble vasket med deionisert vann og målekolbene ble etterfylt til 250 ml. Dette ble så filtrert ved hjelp av trakt og Whatman 589/Rundfilter (185 mm) og målingene ble utført på filtratet. Ved opparbeiding av potetgullet ble prøvene sentrifugert (Jouan) framfor filtrering.

## 3.2 Metoder

### Måling av natrium

Bestemmelse av natriuminnhold i de opparbeidede prøvene ble gjennomført ved å bruke Natrium Selektiv Elektrode som er koblet på instrumentet pH/ISE Meter (Thermo Fischer Scientific Inc). Målingene ble gjort ved direkte måling i produktene og standardløsningene

og single known addition måling ble gjort ved standardløsningene og springvann, destillert vann og deionisert vann. Målingene ble gjort i henhold til anbefalingene som er gitt i brukerveiledningen Sodium Electrode Instruction Manual og pH/ISE Meter User Guide. Natrium og NaCl innholdet i prøvene ble deretter beregnet.

### **Standardløsninger**

Standardløsningene ble produsert av konsentrert Na<sup>+</sup> standard 1000 ppm (Thermo Fisher Scientific) og deionisert vann (ionebyttet vann) i laboratoriet hos SINTEF. De standardløsningene som ble laget var 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200 og 1000 ppm. Som tidligere nevnt ble det benyttet alkalisk buffer (ISA=Ionic Strength Adjuster) levert av Thermo Fischer Scientific Inc.

### **Måling av kloridinnhold**

Kloridmålingene ble gjennomført med elektroder (M295AG og REF601) koblet på instrumentet TIM 980 Titration Manager (Radiometer Analytical SASytical S.A). Målingene er gjort i henhold til brukerveiledningen Chloride in Food Products, Radiometer Analytical. Etter den potentiometriske titreringen ble saltinnholdet i prøvene beregnet. Kalibreringen ble gjort ved kjent saltløsning.

### **pH og vanninnhold**

Det ble målt pH i standardløsningene med og uten tilsatt ISA buffer (Thermo Fisher Scientific Inc). Bakgrunnen for å måle pH var for å se om ISA buffer hadde innvirkning på pH i løsningene. Målingene ble gjennomført med et pH-Meter (Sen Tix 41, Wissenschaftlich – Technische Werkstätten GmbH) som måler pH og temperatur. Vanninnholdet ble bestemt ved å veie et dramglass med og uten ca. 2 gram prøve, og dramglasset med prøve ble satt i varmeskap på 105 °C i 24 timer.

## 4. Resultater

### 4.1 Bruk av natrium selektiv elektrode

I første del av resultatene presenteres innledende arbeider som ble gjennomført for å bli kjent med bruken av natrium selektive elektrode. Først ble effekten av alkalisk buffer (ISA) på pH i standardløsningene undersøkt (Tabell 4). Tilsats av ISA ga en pH i alle standardløsningene fra 1 ppm til 1000 ppm på cirka pH 9,5. Uten ISA tilsats ble det målt en relativ lav pH i løsningene med 1 og 5 ppm, henholdsvis pH 5,45 og 6,54. Ved høyere konsentrasjoner av Na<sup>+</sup> varierte pH mellom 8,27 og 8,89 uten at det var noe mønster.

**Tabell 4:** Måling av pH i standard løsninger med og uten tilsatt alkalisk buffer (n=1)

Standardløsning Na <sup>+</sup> ppm	pH u/buffer	pH m/buffer
1	5,45	9,54
5	6,54	9,55
10	8,89	9,55
20	8,27	9,54
50	8,87	9,55
100	8,61	9,54
200	8,82	9,52
1000	8,36	9,54

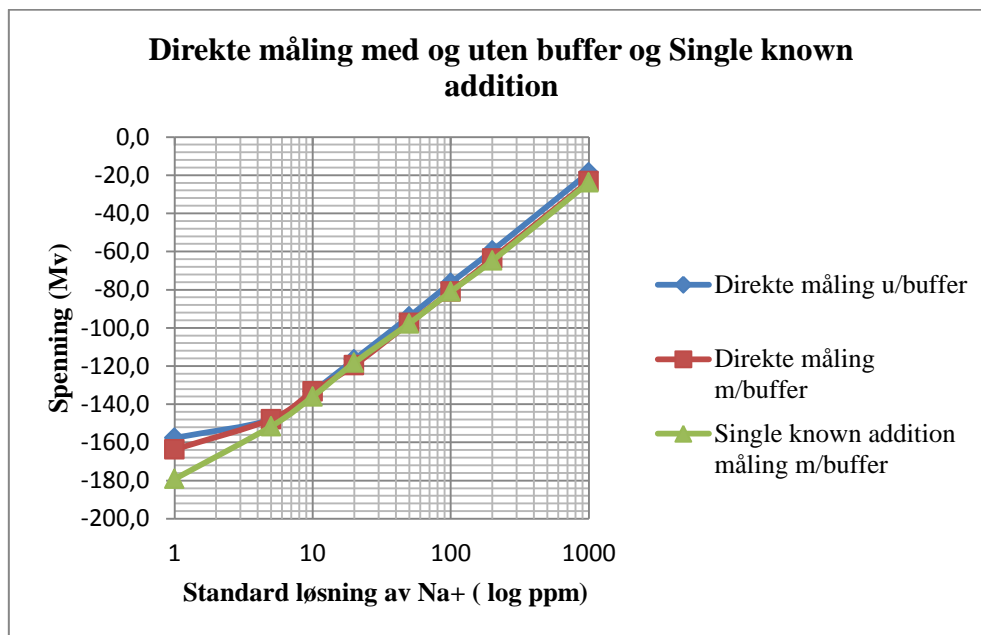
Det ble også gjennomført målinger av spenningen i standardløsningene ved direkte måling med og uten tilsatt ISA buffer og single known addition måling i begerglass (tabell 5). Ved den direkte målingen ble hver standardløsning målt 8 ganger (n=8) for å se om driften av elektroden fungerte godt. Elektroden ble ikke tatt opp av standardløsningen mellom hver måling.

**Tabell 5:** Målt spenning i standardløsningene med og uten alkalisk buffer ved direkte måling (n=8). Middelerverdi ± SD. Målt spenning med single known addition metoden med alkalisk buffer ble gjennomført en gang (n=1).

Standardløsning Na <sup>+</sup> ppm	Direkte måling u/buffer (mV)	Direkte måling m/buffer (mV)	Single known addition måling m/buffer (mV)
1	-157,6±0,3	-163,7±0,8	-179,2
5	-148±1,7	-147,9±0,6	-151,6
10	-133,4±0,6	-133,4±0,1	-136,0
20	-116,6±0,4	-119,6±0,2	-118,3
50	-94,1±0,3	-97,4±0,2	-97,7
100	-76,4±0,2	-81±0,2	-81,0
200	-59,5±0,2	-63,8±0,2	-64,6
1000	-18,6±0,2	-23,2±0,1	-23,8



Direkte måling hadde lave standardavvik ved måling av spenning i standardløsningene. Dette viser at elektroden er stabil. Direkte måling av standardløsningene uten alkalisk buffer hadde litt lavere spenningsmålinger ved høyere konsentrasjoner enn standardene med alkalisk buffer. For å kunne sammenligne direkte måling og singel known addition metoden bedre ble resultatene plottet i en semi – logaritmisk figur (figur 6).



**Figur 6:** Direkte måling av spenning (mV) med og uten alkalisk buffer ved ulike standard løsninger av Na<sup>+</sup> (ppm) (n=8). Single known addition måling av spenning ved ulike standard løsninger av Na<sup>+</sup> med alkalisk buffer og natrium- known addition standard m/alkalisk buffer (n=1).

Resultatene fra tabell 5 og figur 6 tyder på at single known addition var mer følsom ved lave konsentrasjoner av natrium enn direkte måling.

Natriumkonsentrasjonen ble så målt i standardløsninger i begerglass med tilsatt ISA buffer med direkte måling og ved singel known addition (Tabell 6). Direkte måling av standardløsningene ga et mer korrekt resultat fra 50 til 1000 ppm enn single known addition måling. Målingene ved single known addition ga derimot et mer riktigere resultat ved lave konsentrasjoner av Na<sup>+</sup> (1 ppm og 5 ppm) enn ved direkte måling i begerglass. Direkte måling i plastbeger ved 1 ppm viste en betydelig lavere konsentrasjon og mer korrekt konsentrasjon av Na<sup>+</sup> (0,9 ppm) enn ved måling av 1 ppm i begerglass (2,4 ppm).

**Tabell 6:** Bestemmelse av natriumkonsentrasjonen (ppm) i standardløsningene i begerglass ved direkte måling (n=3) og ved single known addition (n=1). En standardløsning (1 ppm) ble også laget i plastglass og målt med direkte måling. Middelerverdi  $\pm$  SD

Standardløsning Na <sup>+</sup> ppm	Direkte måling i plastbeger (ppm)	Direkte måling i begerglass (ppm)	Single Known Addition måling i begerglass (ppm)
1	0,9 $\pm$ 0,1	2,4 $\pm$ 0,1	1,61
5		5,3 $\pm$ 0,1	5,17
10		10,7 $\pm$ 0,1	9,84
20		19,6 $\pm$ 0,1	20,2
50		50,6 $\pm$ 0,6	47,6
100		105 $\pm$ 0,0	93,1
200		200,3 $\pm$ 0,6	180
1000		984,7 $\pm$ 2,3	809

Basert på disse resultatene ble natrium målt med single known addition ved lave konsentrasjoner og med direkte måling ved antatt høyere konsentrasjoner. Førstnevnte metode ble derfor brukt ved måling av vann mens sistnevnte ble benyttet ved måling i matvarer. Alkalisk buffer (ISA buffer) ble tilsatt ved alle målingene.

#### 4.2 Innhold av natrium i springvann, destillert vann og deionisert vann

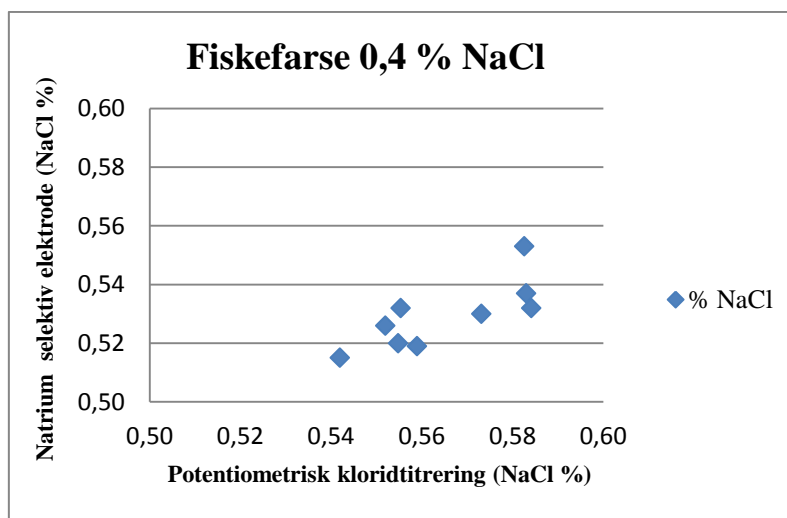
Natriuminnholdet i springvann, destillert vann og deionisert vann ble målt med single known addition metoden. Resultatene viste at springvann hadde cirka 10x høyere konsentrasjon enn destillert og deionisert vann (Tabell 7). Verdiene for springvann var 4,48 $\pm$ 0,15 ppm (4,48 mg/liter) mens destillert og deionisert vann inneholdt henholdsvis 0,45 $\pm$ 0,02 ppm (0,45 mg/l) og 0,41 $\pm$ 0,09 ppm (0,41 mg/l). Dette tilsvarer 11,2 mg NaCl/l for springvannet, 1,125 mg NaCl/l for det destillerte vannet og 1,025 mg NaCl/ for det deioniserte vannet. Dersom man uttrykker resultatene i % NaCl blir de i samme rekkefølge 0,0112, 0,0011 og 0,0010 % NaCl. Alle vanntypene viste en pH som forventet cirka 9,5.

**Tabell 7:** Måling av Na<sup>+</sup> innholdet i springvann, destillert vann og deionisert vann, og pH m/buffer (n=5). Middelerverdi  $\pm$ SD

Vann prøve	pH m/buffer (n=5)	Konsentrasjon Na <sup>+</sup> (ppm)
Springvann	9,56 $\pm$ 0,01	4,48 $\pm$ 0,15
Destillert vann	9,51 $\pm$ 0,01	0,45 $\pm$ 0,02
Deionisert vann	9,49 $\pm$ 0,01	0,41 $\pm$ 0,09

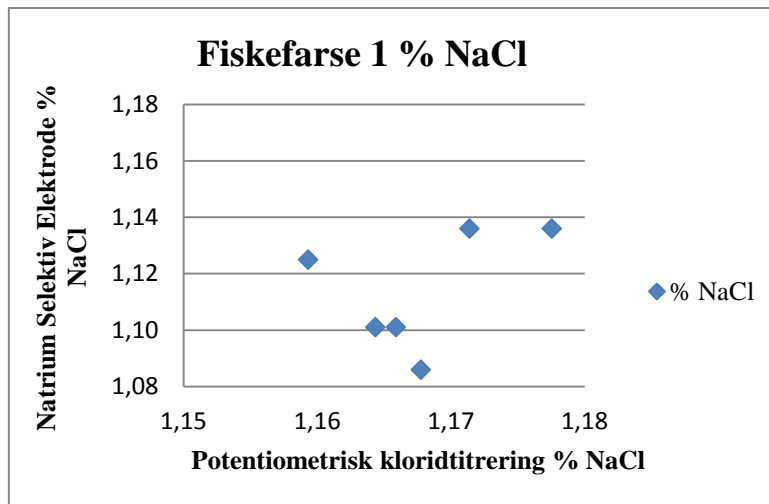
### 4.3 Saltinnholdet i fiskefarse

Saltinnhold i fiskefarsen produsert hos SINTEF Fiskeri og havbruk AS ble målt ved direkte måling med natrium selektiv elektrode og ved potentiometrisk kloridtitrering. Resultatene viser at fiskefarse med 0,4 % NaCl (n=9) hadde et høyere NaCl innhold enn forventet. Verdiene ved bruk av natrium selektiv elektrode var  $0,53\pm 0,01$  % NaCl (tilsvarer 0,209 g natrium per 100 g) og  $0,57\pm 0,02$  % NaCl fra den potentiometriske kloridtitrering (figur 7).



**Figur 7:** Måling av NaCl innholdet i fiskefarse med tilsatt 0,4 % NaCl med natrium selektiv elektrode og potentiometrisk kloridtitrering (n=9).

Begge metodene ga tilsvarende litt for høye verdier ved måling av farsen med 1,0 % NaCl (figur 8). Natrium elektroden gav  $1,11\pm 0,04$  % NaCl (tilsvarer 0,44 g natrium per 100 g) mens den potentiometriske analysen resulterte i  $1,17\pm 0,01$  % NaCl (tilsvarer 0,47 g natrium per 100 g).



**Figur 8:** NaCl innholdet i fiskefarse med tilsatt 1,0 % NaCl målt med natrium selektiv elektrode og potentiometrisk kloridtitrering (n=6).

#### 4.4 Saltinnhold i kokt skinke

Saltinnholdet i kokt skinke produsert hos SINTEF Fiskeri og havbruk AS ble målt ved direkte måling med natrium selektiv elektrode og ved potentiometrisk kloridtitrering. Resultatene viser at kokt skinke med oppgitt 2,99 % NaCl (n=6) ga høyere verdier ved natrium selektiv elektrode enn potentiometrisk kloridtitrering. Verdiene for kokt skinke var  $2,92 \pm 0,05$  % NaCl (tilsvarende 1,15 g natrium per 100 g) ved natrium selektiv elektrode og  $2,31 \pm 0,03$  % NaCl ved potentiometrisk kloridtitrering (tabell 8). Kokt skinke med oppgitt 1,4 % NaCl (n=6) hadde også ved natrium selektiv elektrode høyere verdier enn potentiometrisk kloridtitrering. Verdiene var  $1,45 \pm 0,02$  % NaCl (tilsvarende 0,57 g natrium per 100 g) ved natrium selektiv elektrode og  $0,79 \pm 0,05$  % NaCl ved potentiometrisk kloridtitrering (tabell 8).

**Tabell 8:** NaCl innholdet (%) i kokt skinke med 2,99 % NaCl og 1,4 % NaCl ved natrium selektiv elektrode og potentiometrisk kloridtitrering (n=6). Middelerdi  $\pm$  SD

Kokt skinkeprøve	Natrium selektiv elektrode (% NaCl)	Potentiometrisk kloridtitrering (% NaCl)
2,99 % NaCl	$2,92 \pm 0,05$	$2,31 \pm 0,03$
1,4 % NaCl	$1,45 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,05$

#### 4.5 Saltinnholdet i industrilaget skinke

Saltinnholdet i industrilaget skinke produsert hos Espeland ble målt ved direkte måling med natrium selektiv elektrode og ved potentiometrisk kloridtitrering. Natrium selektiv elektrode ga en verdi på  $3,02 \pm 0,05$  % NaCl i standard kokt skinke (2,99 % NaCl). Den potentiometriske kloridtitreringen ga  $2,25 \pm 0,02$  % NaCl som resultat. Kokt skinke hvor en del av NaCl var erstattet med KCl ga likt resultat 2,23 % NaCl ved begge metodene. Skinke med reduksjon av natrium (1,4 % NaCl) ga 0,80 % NaCl mer ved natrium selektiv elektrode enn ved potentiometrisk kloridtitrering. Verdiene var  $1,80 \pm 0,02$  % NaCl (tilsvarende 0,71 g natrium per 100 g) ved natrium selektiv elektrode og  $1,00 \pm 0,00$  % NaCl ved potentiometrisk kloridtitrering.

**Tabell 9:** NaCl innholdet i standard skinke (2,99 % NaCl), skinke med 1/3 erstatning med KCl (2,07 % NaCl) og skinke med reduksjon av natrium (1,40 % NaCl) (n=3) med natrium selektiv elektrode og potentiometrisk kloridtitrering. Middelerdi  $\pm$  SD

Skinkeprøve	Natrium selektiv elektrode (% NaCl)	Potentiometrisk kloridtitrering (% NaCl)
Standard skinke (2,99 % NaCl)	$3,02 \pm 0,05$	$2,25 \pm 0,02$
Skinke med KCl (2,07 % NaCl)	$2,23 \pm 0,02$	$2,23 \pm 0,03$
Skinke med reduksjon av natrium (1,4 % NaCl)	$1,80 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,00$

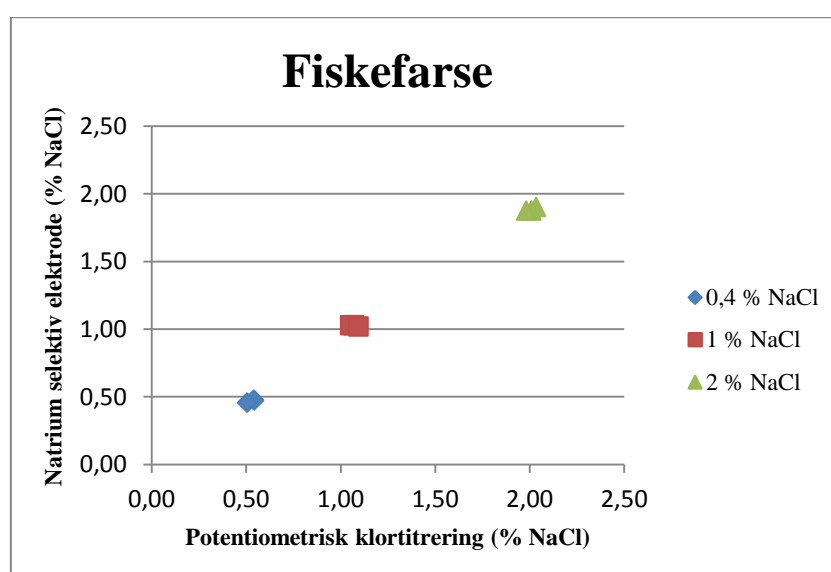
#### 4.6 Saltinnhold i fersk hysefilet, fiskefarse og fiskepudding

Saltinnholdet i fersk hysefilet kjøpt hos Fiskehallen, Trondheim ble målt ved direkte måling med natrium selektiv elektrode og ved potentiometrisk kloridtitrering (tabell 10). Analysene viste  $0,18 \pm 0,00$  NaCl (tilsvarer 0,07 g natrium per 100 g) med natrium selektiv elektrode og  $0,21 \pm 0,01$  % NaCl ved potentiometrisk kloridtitrering.

**Tabell 10:** NaCl innholdet (%) i fersk hysefilet med natrium selektiv elektrode (n=3) og NaCl innholdet ved potentiometrisk kloridtitrering (n=3). Middelerdi  $\pm$  SD

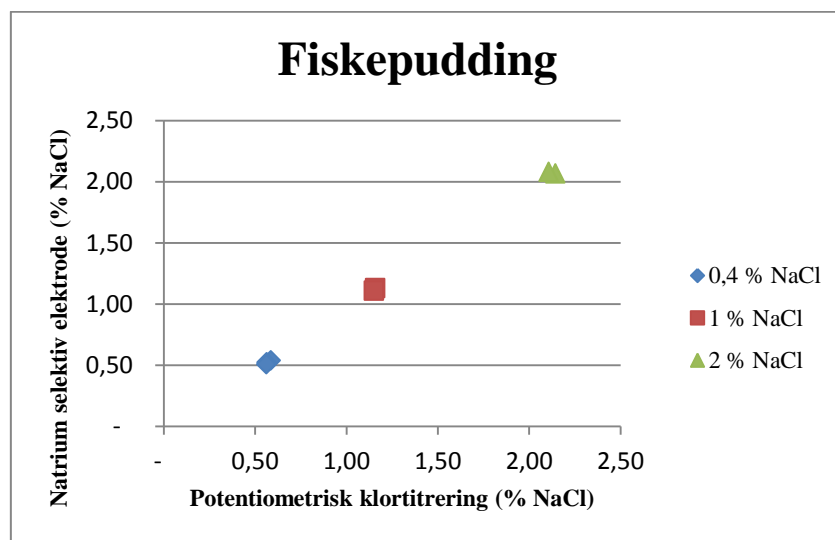
	Natrium selektiv elektrode (% NaCl)	Potentiometrisk kloridtitrering (% NaCl)
Fersk hysefilet	$0,18 \pm 0,00$	$0,21 \pm 0,01$

Saltinnholdet i fiskefarsen ble også målt med begge metodene. Resultatene viste at fiskefarsen med 0,4 % NaCl ga litt høyere verdier ved begge metodene. Verdiene var  $0,47 \pm 0,01$  % NaCl (tilsvarer 0,18 g natrium per 100 g) med natrium selektiv elektrode og  $0,53 \pm 0,02$  % NaCl ved potentiometrisk kloridtitrering (figur 9). Fiskefarsen med 1 % NaCl ga nesten sammenfallende verdier med de to metodene,  $1,02 \pm 0,00$  % NaCl (tilsvarer 0,4 g natrium per 100 g) med natrium selektiv elektrode og  $1,07 \pm 0,02$  % NaCl ved potentiometrisk kloridtitrering. Analysene fra fiskefarsen med 2 % NaCl ga litt lavere verdier med natrium selektiv elektrode enn ved potentiometrisk kloridtitrering, henholdsvis  $1,88 \pm 0,01$  og  $2,01 \pm 0,02$  % NaCl.



**Figur 9:** NaCl innholdet i fiskefarse med 0,4 %, 1 % og 2 % NaCl med natrium selektiv elektrode og potentiometrisk kloridtitrering (n=3).

Analysene av fiskepuddingen med 0,4 % NaCl ga høyere verdier med begge metodene (figur 10). Verdiene for fiskepudding med 0,4 % NaCl var  $0,52\pm 0,01$  % NaCl (tilsvarer 0,21 g natrium per 100 g) med natrium selektiv elektrode og  $0,57\pm 0,01$  % NaCl ved potensiometrisk kloridtitrering (n=3). Fiskepuddingen med 1 % NaCl ga nesten like resultater med begge metodene, henholdsvis  $1,11\pm 0,02$  % NaCl (tilsvarer 0,44 g natrium per 100 g) med natrium selektiv elektrode og  $1,14\pm 0,01$  % NaCl ved potensiometrisk kloridtitrering (n=2). Den siste fiskepuddingen med 2 % NaCl hadde litt høyere verdier med natrium selektiv elektrode. Verdiene var  $2,23\pm 0,26$  % (tilsvarer 0,88 g Na per 100 g) med denne metoden og  $2,12\pm 0,02$  % NaCl ved potensiometrisk kloridtitrering (n=3).



**Figur 10:** NaCl innholdet i fiskepudding med 0,4 % (n=3), 1 % (n=2) og 2 % NaCl (N=3) med natrium selektiv elektrode og potensiometrisk kloridtitrering.

Det ble målt på koketapet fra fiskepuddingene som hver veide ca. 300- 450 g. Bakgrunnen var for å undersøke om ulik tilsetning av NaCl hadde innvirkning på væsketapet ved tillagingen. Resultatene viser at fiskepuddingene med 0,4 % NaCl hadde mest koketap og fiskepuddingene med 2 % NaCl hadde minst koketap. Fiskepuddingene 0,4 % og 1,0 % NaCl tapte henholdsvis  $0,46\pm 0,01$  % og  $0,43\pm 0,00$  % i vekt mens fiskepuddingen med 2 % NaCl tapte  $0,11\pm 0,00$  % (tabell 11).

**Tabell 11:** Koketapet (%) ved fiskepuddingene 0,4 % (n=3), 1 % (n=2) og 2 % NaCl (n=3)

Fiskepudding (% NaCl)	Koketapet (væsketap) (%)
0,4 (n=3)	0,46±0,0052
1,0 (n=2)	0,43±0,0030
2,0 (n=3)	0,11±0,0004

Saltinnholdet ble også målt i koketapvæsken som ble samlet opp etter avkjølingen av de varmebehandlede fiskepuddingene. Analysene viste at koketapet fra fiskepudding med 0,4 % NaCl hadde et saltinnhold på 0,58±0,00 % og 0,51±0,21 % målt med henholdsvis natrium selektiv elektrode og potensiometrisk kloridtitrering (tabell 12). Dette viser at saltinnholdet i koketapet er omtrent tilsvarende det som ble målt i fiskefarsen (figur 8) og i fiskepuddingene (figur 9). Saltinnholdet i koketapet fra fiskepuddingene med 1 % NaCl ble målt til 1,22 % NaCl med natrium selektiv elektrode og 1,23 % NaCl ved potensiometrisk kloridtitrering. Tilsvarende tall for saltinnhold i koketapet fra fiskepudding med 2 % NaCl var 2,06 % og 2,16 % NaCl. Disse verdiene var omtrent lik de som ble funnet i puddingene men litt høyere enn tallene for fiskefarsen.

**Tabell 12:** NaCl innhold i koketapet ved fiskepuddingene med 0,4 % NaCl (n=3), 1,0 % NaCl (n=1) og 2,0 % NaCl (n=1) målt med natrium selektiv elektrode og potensiometrisk kloridtitrering. Middelerdi ±SD.

Fiskepudding (% NaCl i koketapet)	Natrium selektiv elektrode (% NaCl)	Potentiometrisk kloridtitrering (% NaCl)
0,4 (n=3)	0,58±0,00	0,51±0,21
1,0 (n=1)	1,22	1,23
2,0 (n=1)	2,06	2,16

Vanninnhold i fersk hysefilet og i fiskefarsene og fiskepuddingene med 0,4 %, 1 % og 2 % NaCl. Fersk hysefilet (n=2) hadde lavest vanninnhold med 80,08±0,20 % (tabell 13). Vanninnholdet i farsene og puddingene var betydelig høyere, fra 87,07±0,01 til 84,58±0,01 %. Vanninnholdet var lavest i fiskefarsen og fiskepuddingen med 2 % NaCl, henholdsvis 85,40±0,03 og 84,58±0,01 %.



**Tabell 13:** Vanninnhold i fersk hysefilet (n=2), fiskefarse 0,4 % NaCl (n=2), 1,0 % NaCl (n=2), 2,0 % NaCl (n=2) og fiskepudding 0,4 % NaCl (n=6), 1,0 % (n=4) og 2,0 % NaCl (n=6). Middelerverdi  $\pm$ SD.

Prøve	% NaCl	Vanninnhold (%)
Fersk hysefilet	Ukjent	80,08 $\pm$ 0,20
Fiskefarse	0,4	86,90 $\pm$ 0,10
Fiskefarse	1,0	86,56 $\pm$ 0,05
Fiskefarse	2,0	85,40 $\pm$ 0,03
Fiskepudding	0,4	87,07 $\pm$ 0,01
Fiskepudding	1,0	86,58 $\pm$ 0,01
Fiskepudding	2,0	84,58 $\pm$ 0,01

#### 4.7 Saltinnhold i produktet Salt potetgull

Saltinnhold i produktet Salt potetgull kjøpt i dagligvarehandel ble også målt med natrium selektiv elektrode og ved potensiometrisk kloridtitrering. Analysene ga litt forskjellige resultater i de 3 posene av det samme produktet. Pose 1 inneholdt 1,41 $\pm$ 0,04 % NaCl (tilsvarer 0,55 g natrium per 100 g) målt med natrium selektiv elektrode og 1,51 $\pm$ 0,04 % NaCl målt ved potensiometrisk kloridtitrering. De respektive verdiene for pose 2 var 1,52 $\pm$ 0,05 % NaCl (tilsvarer 0,60 g natrium per 100 g) og 1,60 $\pm$ 0,04 % NaCl. Høyest NaCl innhold hadde pose 3 med henholdsvis 1,65 $\pm$ 0,01 % NaCl (tilsvarer 0,65 g natrium per 100 g) og 1,80 $\pm$ 0,01 % NaCl. Gjennomsnittet for produktet ble bestemt til å være 1,53  $\pm$ 0,11 (0,60 g Na/100g vare) og 1,64  $\pm$  0,13 (0,64/100 g vare) målt med henholdsvis natrium elektrodene og kloridtitrering.

**Tabell 14:** NaCl innholdet (%) i tre poser Salt potetgull (n=3) og gjennomsnittsverdien målt med natrium selektiv elektrode og ved potensiometrisk kloridtitrering. Middelerverdi  $\pm$  SD

Salt potetgull	Natrium selektiv elektrode (% NaCl)	Potentiometrisk kloridtitrering (% NaCl)
Pose 1	1,41 $\pm$ 0,04	1,51 $\pm$ 0,04
Pose 2	1,52 $\pm$ 0,05	1,60 $\pm$ 0,04
Pose 3	1,65 $\pm$ 0,01	1,80 $\pm$ 0,01
Salt potetgull gjennomsnitt	1,53 $\pm$ 0,11	1,64 $\pm$ 0,13

#### 4.8 Saltinnhold i røykelaks

Saltinnholdet i to typer røykelaks kjøpt hos dagligvarehandel ble også undersøkt. Målingene ble gjennomført i øvre, midtre og nedre del av midtstykket og tilsvarende i sporstykket. Se figur 5 i Materialer og Metoder. Analysene både med natrium selektiv elektroden og kloridtitreringen viste at for begge laksene at det var en fallende NaCl konsentrasjon fra den øverste delen til den nederste delen (buken) av midtstykket (tabell 15 og 16). Tilsvarende mønster var det i sporstykkene for røykelaks 2 (tabell 16), men ikke i røykelaks 1 (tabell 15). Natrium selektiv elektrode og potensiometrisk titrering ga omtrent likt saltinnhold i 11 av 12 prøver. Det var imidlertid en klar forskjell mellom saltinnholdet i midtstykkene og i sporstykkene. Med natrium selektive elektrode ble gjennomsnittlige saltinnhold i midtstykket av røykelaks 1 og 2 målt til henholdsvis  $3,20 \pm 0,47$  % og  $4,39 \pm 1,16$ . Tilsvarende verdier for sporstykkene var og  $4,84 \pm 0,14$  og  $6,09 \pm 0,22$  % NaCl.

**Tabell 15:** NaCl innholdet (%) i ulike deler av midtstykket og sporstykket av røykelaks 1 målt med natrium selektiv elektrode og potensiometrisk kloridtitrering. Gjennomsnittlig innholdet for de to delene av fileten er også vist.

Røykelaks 1 (del av filet)	Natrium selektiv elektrode (% NaCl)	Potentiometrisk kloridtitrering (% NaCl)
Midtstykke øverst	3,67	3,73
Midtstykke midten	3,20	3,24
Midtstykke nederst	2,72	2,77
Sporstykke øverst	4,68	4,75
Sporstykke midten	4,88	5,05
Sporstykke nederst	4,95	5,00
Gjennomsnitt midtstykke	$3,20 \pm 0,47$	$3,25 \pm 0,48$
Gjennomsnitt sporstykke	$4,84 \pm 0,14$	$4,94 \pm 0,16$

**Tabell 16:** NaCl innholdet (%) i ulike deler av midtstykket og sporstykket av røykelaks 2 målt med natrium selektiv elektrode og potensiometrisk kloridtitrering. Gjennomsnittlig innholdet for de to delene av fileten er også vist.

Røykelaks 2 (del av fileten)	Natrium selektiv elektrode (% NaCl)	Potentiometrisk kloridtitrering (% NaCl)
Midtstykke øverst	4,70	5,71
Midtstykke midten	3,93	4,01
Midtstykke nederst	3,52	3,49
Sporstykke øverst	6,32	6,33
Sporstykke midten	6,07	6,11
Sporstykke nederst	5,89	5,82
Gjennomsnitt midtstykke	4,39±1,16	4,40±1,16
Gjennomsnitt sporstykke	6,09±0,22	6,09±0,26

Vanninnholdet i røykelaks 1 (n=2) hadde verdiene 64,36±0,31 %, og røykelaks 2 (n=2) hadde litt høyere vanninnhold med verdiene 64,70±2,31 % (tabell 17).

**Tabell 17:** Vanninnholdet i røykelaks 1 og 2. Middelerdi ±SD (n=2).

Røykelaks	Vanninnhold (%)
Røykelaks 1	64,36±0,31
Røykelaks 2	64,70±2,31

## 5. Diskusjon

Det er dokumentert at et høyt natriuminntak gir et forhøyet blodtrykk. Det er derfor viktig at produsenter av mat gir nøyaktige opplysninger om natriuminnholdet i varene de selger. Dette kan gjøres ved å oppgi innholdet av natrium eller NaCl. I dag er det ganske vanlig at innholdet av salt (NaCl) i næringsmidler blir bestemt ved å analysere innholdet av klorid. Dette kan gi feilaktige verdier for natrium og NaCl fordi varen kan inneholde andre kloridsalter eller fordi natrium kan være tilført som andre salter enn NaCl. Norsk næringsmiddelindustri står i dag ovenfor et mulig påbud når det gjelder dokumentering av saltinnhold i produktene på en mer eksakt måte enn ved kloridtitrering.

Et av formålene i denne oppgaven var å kunne bruke natrium selektiv elektrode for å se om det var en enkel og praktisk metode som næringsmiddelindustrien kan benytte seg av. Dette er en metode som blir benyttet i utlandet i forbindelse med forskningsprosjekter og ved bestemmelse av saltinnhold (natriuminnhold) i næringsmidler (Johnson and Olson, 1985; Ehling et al., 2010). Natrium selektiv elektrode kan brukes på flere måter, men i denne oppgaven ble to metoder utprøvd; såkalt direkte måling og single known addition måling ble sammenlignet med hverandre ved å måle spenning (mV) og natriumkonsentrasjon (ppm) i kjente standardløsninger av  $\text{Na}^+$ . Ved single known addition er det en to punkts kalibrering før måling mens en ved direkte måling kan kalibrere ved flere kjente standardløsninger av  $\text{Na}^+$ . I oppgaven ble det benyttet fire standarder som gir en firepunktskalibrering (Thermo Fisher Scientific, 2009). Resultatene tyder på at direkte måling av standardløsningene i begerglass var mer presise ved høyere natriumkonsentrasjoner ( $> 50$  ppm) enn single known addition metoden. Single known addition metoden var tilsynelatende mer presis ved lavere natriumkonsentrasjoner ( $< 5$  ppm). Produsenten av instrumentet med natrium selektiv elektrode (Thermo Electron Corporation, 2003) anbefaler å bruke single known addition metoden ved lave natriumkonsentrasjoner. I ettertid er det klart at ved uttestingen av metodene burde flere konsentrasjoner spesielt i det lave området, vært målt.

Det vanlige er å måle løsninger i begerglass med natrium selektiv elektrode. Et forsøk ble gjennomført med direkte måling av 1 ppm Na i plastbeger. Basert på det enkeltstående resultatet kan det tyde på at nøyaktigheten ved lave konsentrasjoner er bedre dersom løsningen er i plastbeger enn i begerglass. Dette bør undersøkes nærmere slik at en kan få klarlagt om direkte måling av natrium både kan brukes både ved høye og lave konsentrasjoner.

Basert på de innledende resultatene ble single known addition metoden benyttet for å måle natriuminnholdet i springvann, destillert vann og deionisert vann fra laboratoriet. Dette ble gjennomført da det benyttes vann under opparbeiding av prøver og at en ved måling utelukker feilkilder som kan forårsake kontaminering av produktene. Springvannet hadde 10x høyere konsentrasjon av natrium enn de to andre vanntypene. Da deionisert vann hadde tilsynelatende litt lavere natriumkonsentrasjon enn det destillerte vannet ble det benyttet i de videre forsøkene. For industri er deionisering av vann antakelig en mindre energikrevende metode enn destillering. Bruk av natrium selektiv elektrode bør være en enkel og praktisk metode for å kontrollere vannet som næringsmiddelindustrien benytte seg av. Det kunne ha vært interessant å sammenligne saltinnhold i sjøvann og ferskvann ved å måle med kloridtitrering og natrium selektiv elektrode, men dette ble ikke gjennomført.

Videre i oppgaven ble saltinnholdet i 3 produkter framstilt hos SINTEF Fiskeri og havbruk AS og 3 industriframstilte produkter undersøkt med natrium selektiv elektrode og kloridtitrering. Ved valg av industrilagde produkter ble det også valgt produkter som inneholder fett (røykelaks og potetgull) for å se om det hadde negativ innvirkning på natrium selektiv elektrode.

I det første forsøket ble tint fiskefarse som var tilsatt 0,4 eller 1,0 % NaCl undersøkt. Målingene av produktet med 0,4 % NaCl ga et saltinnhold som var 30 – 40 % høyere mens produktet med 1,0 % tilsatt NaCl fikk et målt saltinnhold som var 10 -20 % høyere. Dette forklares ved at fiskefiletet i seg selv inneholder en viss mengde salt. I forsøk 4.6 ble det dokumentert at fersk hysefilet inneholder cirka 0,2 % salt. Kloridtitreringene ga et litt høyere nivå av salt enn den natrium selektive elektroden ved alle analysene. Det kan antakelig forklares med at i fiskefileten vil ha andre metaller som for eksempel kalium og magnesium, som også kan foreligge som kloridsalt.

I forsøk nummer 2 (punkt 4.4) ble saltinnholdet undersøkt i to typer skinker produsert ved SINTEF Fiskeri og havbruk AS. Denne typen var merket med 2,99 % NaCl mens den andre hadde 1,4 % NaCl. Det ble også opplyst om at skinkene var produsert ved å benytte en lake som også inneholdt natriumlaktat. Dette kommer tydelig fram i resultatene. Bruk av natrium selektive elektrode ga et saltinnhold tilsvarende det oppgitte mens kloridtitreringen ga et saltinnhold som var betydelig lavere i begge skinkeproduktene. Ut fra resultatene kan det være fristende å si at det er misvisende å merke produktene med % NaCl. Konsentrasjonen av natrium i gram/100 gram vare er mer presist.

Konklusjonene i det forrige avsnittet blir støttet av resultatene fra undersøkelsene av de industrilagede skinkeproduktene (punkt 4.5). Det er ikke kjent hvordan disse produktene er framstilt, men sannsynligvis brukes natriumlaktat som surhetsregulerende middel ved industriproduksjon av skinke. Det er heller ikke kjent hvordan produsenten har beregnet saltinnholdet, men antakelig er det beregnet, ikke målt med kloridtitrering. For produktene med oppgitt 2,99 og 1,4 % NaCl er det tydelig at natrium selektiv elektrode gir mest nøyaktig resultat med hensyn natriuminnhold. Kloridtitreringene gir for lave tall. Skinke hvor 1/3 av NaCl innholdet var erstattet med KCl viste at kaliumtilsetningen ikke hadde noen innvirkning ved måling med natrium selektiv elektrode. Da KCl er benyttet i kjøttprodukter som salterstatter for NaCl er det viktig at kaliumerstatningen ikke påvirker natriummålingene som blir foretatt med natrium selektiv elektrode (Verma and Banerjee, 2012). Det er også viktig i forhold til videre bruk av KCl i andre produkter at det ikke påvirker natriumet da en ønsker å merke produktene med natriuminnhold. I KCl produktet ble NaCl innholdet målt til å være likt med begge metodene. Det er antakelig bruken av KCl som bidrar til en relativt høy verdi ved den potentiometriske titreringen.

I et forsøk ble det produsert fiskepudding med 0,4, 1,0 og 2,0 % NaCl tilsatt. Utgangspunktet var hysefilet kjøpt på Fiskehallen i Trondheim. Den oppmalte fileten hadde et litt høyere NaCl innhold (0,21 %) målt med potentiometrisk titrering sammenlignet med resultatet fra natrium elektroden (0,18 %). Som tidligere nevnt så kan forskjellen være forårsaket av andre kloridsalter i fileten. Ved alle 3 saltnivåene i fiskefarsene og i de 2 fiskepuddingene med lavest saltinnhold var saltinnholdet målt med titreringen litt høyere enn verdien som ble funnet med natrium elektroden. Siden ikke andre natriumsalter eller klorider ble benyttet ved framstilling av farsene og puddingene, blir resultatene fra begge saltmålingsmetodene noenlunde like. Ved tillagning av fiskepudding ble det målt koketap (væsketap) for å dokumentere at vannbindingsevnen øker ved salttilsetning (Girard, 1991). Resultatet viste kokeprosessen ga et lavt vanntap ved alle 3 saltnivåene, men teorien bekreftes. Det prosentvise tapet var lavest fra produktet som inneholdt 2 % NaCl. Saltinnholdet ble også målt i det oppsamlede væsketapet og resultatene gir tilsvarende resultat som det fins i de enkelte puddingene. Vanninnholdet i oppmalt filet er likt det man vanligvis finner i en mager fiskefilet. Det svakt synkende vanninnhold i farsene og puddingene med økende saltinnhold kan forklares med osmotiske effekter og massebalanse.

Saltinnholdet i produktet Salt potetgull (punkt 4.7) er et av de få produktene som oppgir natriuminnholdet (0,6 g/100g). En annen årsak er at produktet inneholder fett som gjør

det interessant å se om natrium selektiv elektrode var sensitiv ved å måle i næringsmidler med fett. Resultatene viste at fettinnholdet ikke hadde påvirkning på natriummålingene, og at natrium selektiv elektrode også fungerer godt i slike produkter. Målingene med begge metodene ga et resultat som stemmer godt overens med det oppgitte natriuminnholdet. Dersom bare NaCl brukes som tilsetning til et tilnærmet saltfritt råstoff er det rimelig at begge metodene gir noenlunde likt resultat.

I det siste forsøket (4.8) ble saltinnholdet undersøkt i røykelaks fra 2 produsenter. Analysene viste at det var liten forskjell mellom metodene. Årsaken er at saltinnholdet i produktene er relativt høyt og at det er bare NaCl som tilføres før røykingen. Denne saltingen skjer gjerne ved at filetene legges i en saltlake før de settes inn i røykeovnen. Røykelaksen fra den ene produsenten (røykelaks 2) hadde et betydelig høyere saltinnhold enn røykelaksen fra den andre produsenten. Årsaken er at enten ligger fisken med høyst saltinnhold lengere tid i saltlaken eller så benyttes det mer konsentrert lake. Det er også interessant å se at saltinnholdet i sporstykkene er høyere enn i midtstykkene. Årsaken er antakelig at i det tykke midtstykket har ikke saltet blitt jevnt fordelt i fileten når fisken tas ut av laken. I det tynne sporstykket har saltet hatt tid til å fordele seg jevnt gjennom hele fileten og derved blir det totale saltinnholdet høyere. Dette viser at saltinnholdet i et produkt kan variere i forhold til hvor prøveuttaket blir tatt. Det understreker at hvis næringsmiddelindustrien skal kunne merke sine produkter riktig, så bør det bli tatt ut flere prøveuttak fra samme produkt. Vanninnholdet i røykelaksen ble målt til å være cirka 64 %. Laks oppfattes som et helsemessig sunt produkt. Et høyt saltinnhold vil kunne ødelegge noe av det faktumet. Hovedårsaken til det lave vanninnholdet sammenlignet med hysefileten undersøkt tidligere er at laks har et høyt fettinnhold i muskelen. I tillegg kommer tap av vann under saltingen.

Som konklusjon kan det sies at natrium selektiv elektrode kan brukes ved bestemmelse av NaCl innholdet i næringsmidler. Næringsmiddelindustrien kan benytte seg av instrumentet hvis det skulle komme påbud om merking. Denne typen instrument er ikke et dyrere instrument enn det man må bruke ved potentiometrisk kloridtitrering. I produkter hvor det bare er brukt NaCl som tilsetningsstoff til en konsentrasjon på 2 – 3 %, vil kloridtitrering gi et ganske riktig nivå av natriuminnholdet. Mange av produktene som selges i dag er mye mer sammensatt med hensyn på tilsetningsstoffer og det er ganske vanlige at flere andre natriumsalter enn NaCl benyttes. I slike tilfeller er natrium selektiv elektrode det eneste alternative dersom innhold av natrium eller natriumklorid må deklarerer. Kloridtitrering vil gi et for lavt innhold.

## 6. Referanser

- ALBARRACIN, W., SANCHEZ, I. C., GRAU, R. & BARAT, J. M. 2011. Salt in food processing; usage and reduction: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1329-1336.
- BECKER, W. & PEARSON, M. 2002. Riksmaten 1997-98. Method- och resultatrapport (Dietary habits and nutrient intake in Sweden 1997-98). Livsmedelsverket.
- BIBBINS-DOMINGO, K., CHERTOW, G. & COXSON, P. 2010. Projected effect of dietary salt reductions on future cardiovascular disease. 362, 590-9.
- BJØRKEVOLL, I., OLSEN, J. V. & OLSEN, R. L. 2004. Rehydration of salt-cured cod using injection and tumbling technologies. *Food Research International*, 37, 925-931.
- CHANTRAPORNCHAI, W. & MCCLEMENTS, D. J. 2002. Influence of NaCl on optical properties, large-strain rheology and water holding capacity of heat-induced whey protein isolate gels. *Food Hydrocolloids*, 16, 467-476.
- DANAIE, G., DING, E. & MOZAFFARIAN, D. 2009. The preventable causes of death in the United States: comparative risk assessment of dietary, lifestyle, and metabolic risk factors. . 6 (4):e1000058.
- DANMARKS FØDEVAREFORSKNING. 2005. Hovedresultater (Dietary habits of Danes 2000-2002. Main results).
- DELWICHE, J. F., HALPERN, B. P. & DESIMONE, J. A. 1999. Anion size of sodium salts and simple taste reaction times. *Physiology & Behavior*, 66, 27-32.
- EHLING, S., TEFERA, S., EARL, R. & COLE, S. 2010. Comparison of Analytical Methods to Determine Sodium Content of Low-Sodium Foods. *Journal of Aoac International*, 93, 628-637.
- ELLIOTT, P. 1988. INTERSALT - AN INTERNATIONAL STUDY OF ELECTROLYTE EXCRETION AND BLOOD-PRESSURE - RESULTS FOR 24 HOUR URINARY SODIUM AND POTASSIUM EXCRETION. *British Medical Journal*, 297, 319-328.
- ELLIOTT, P. & MARMOT, M. 1984. International studies of salt and blood pressure. . 16 (suppl 43), 67-71.
- GIRARD, J. P. 1991. *Tecnologia de la Carne y los Productos Carnicos*. 295.
- HELSE OG OMSORGSDEPARTEMENTET. 2009. *Forskrift om frivillig merking av næringsmidler med Nøkkelhullet* [Online]. Available: <http://www.lovdatab.no/for/sf/ho/xo-20090617-0665.html>
- JOHNSON, M. E. & OLSON, N. F. 1985. A COMPARISON OF AVAILABLE METHODS FOR DETERMINING SALT LEVELS IN CHEESE. *Journal of Dairy Science*, 68, 1020-1024.
- KOLTHOFF, I. M. & FURMAN, N. H. 1931. *Potentiometric titrations: a theoretical and practical treatise*, John Wiley & Sons, New York; Chapman & Hall: London.
- KUHNE, D. 1988. ANALYSIS OF COMMON SALT AND SODIUM IN MEAT-PRODUCTS. *Fleischwirtschaft*, 68, 1007-1010.
- LINDSAY, R. C. 2008. Flavors, kap 10, Fennemas`s Food Chemistry 4. Utg. In: DAMODARAN, S., PARKIN, K. L. & FENNEMA, O. R. (eds.). CRC Press, London.
- LORENTZEN, G., OLSEN, R. L., BJØRKEVOLL, I., MIKKELSEN, H. & SKJERDAL, T. 2010. Survival of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* in muscle of cod (*Gadus morhua* L.) during salt-curing and growth during chilled storage of rehydrated product. *Food Control*, 21, 292-297.
- MATTILSYNTET. 2009. *Veileder til Forskrift 17. juni 2009 nr 665 om frivillig merking av næringsmidler med Nøkkelhullet* [Online]. Available: <http://www.nokkelhullsmarket.no/nokkelhull/incoming/article612.ece/BINARY/Veileder+til+N%C3%B8kkelhullsforskriften+%28PDF%29>



- MURPHY, C., CARDELLO, A. V. & BRAND, J. G. 1981. TASTES OF 15 HALIDE SALTS FOLLOWING WATER AND NaCl - ANION AND CATION EFFECTS. *Physiology & Behavior*, 26, 1083-1095.
- MÄNNISTÖ, S., OVASKAINEN, M.-L. & VALSTA, L. 2003. The national Findiet 2002 study. Publications of the National Public Health Institute B3/2003. Helsinki
- NASJONALT RÅD FOR ERNÆRING 2011a. Kostråd for å fremme folkehelsen og forebygge kroniske sykdommer, Metodologi og vitenskapelig kunnskapsgrunnlag 14, 179-187.
- NASJONALT RÅD FOR ERNÆRING. 2011b. Strategi for reduksjon av saltinntaket i befolkningen. Anbefaling fra Nasjonalt råd for ernæring. Available: <http://helsedirektoratet.no/folkehelse/ernering/strategier-og-satsninger/Documents/saltstrategi.pdf>
- OFSTAD, R., EGELANDSDAL, B., KIDMAN, S., MYKLEBUST, R., OLSEN, R. L. & HERMANSSON, A. M. 1996. Liquid loss as effected by post mortem ultrastructural changes in fish muscle: Cod (*Gadus morhua* L) and salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71, 301-312.
- OLSSON, G. B., OLSEN, R. L., CARLEHOG, M. & OFSTAD, R. 2003. Seasonal variations in chemical and sensory characteristics of farmed and wild Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 217, 191-205.
- RADIOMETER ANALYTICAL SAS, V. C., FRANCE 2002. Method TTEP01-04AFD/2001-05A: Chloride in Food Products, In Titration applications- Food and Beverages analysis.
- RUSTAD, T. 1992. MUSCLE CHEMISTRY AND THE QUALITY OF WILD AND FARMED COD. In: HUSS, H. H., JAKOBSEN, M. & LISTON, J. (eds.) *Quality Assurance in the Fish Industry*. Amsterdam: Elsevier Science Publ B V.
- RUUSUNEN, M. & PUOLANNE, E. 2005. Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70, 531-541.
- SANDERSON, P. H. 1952. Potentiometric Determination of Chloride in Biological Fluids. *Biochemical Journal*, 52, 502-505.
- SHAPER, A. 1972. Cardiovascular disease in the tropics. III. Blood pressure and hypertension Br Med J., 805-7.
- SIMPSON, F. 1979. Salt and hypertension: a sceptical review of the evidence. *Clin Sci*. 57, 463-80.
- STEINGRIMSDOTTIR, L., PORGEIRSDOTTIR, H. & ÒLAVSDOTTIR, A. 2003. The Diet of Icelanders. Dietary Survey of the Icelandic Nutrition Council 2002. Main findings. Public Health Institute, Reykjavík, Iceland
- STRASBURG, G., XIONG, Y. L. & CHIANG, W. 2008. Physiology and Chemistry of Edible Muscle Tissues, kap 16 . Fennema's Food Chemistry. In: DAMODARAN, S., PARKIN, K. L. & FENNEMA, O. R. (eds.). CRC Press, London.
- STRAZZULLO, P., D'ELIA, L., KANDALA, N. & CAPPuccio, F. 2009. Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta- analysis of prospective studies. *339:b4567*.
- THERMO ELECTRON CORPORATION. 2003. Orion ROSS Sodium Electrodes Instruction Manual. (9).
- THERMO FISHER SCIENTIFIC 2009. *Thermo Scientific Orion DUAL STAR pH/ISE Meter User Guide*.
- VERMA, A. K. & BANERJEE, R. 2012. Low-Sodium Meat Products: Retaining Salty Taste for Sweet Health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 72-84.