

Analiza vitamina C, nitrata i nitrita u soku od paradajza primenom visokoeфикаsne tečne hromatografije

Zorica Basić*,
Jelena Bumbić*,
Slavica Ražić**

1. Institut za higijenu VMA, Beograd,
2. Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu

Kratak sadržaj: U radu su prikazani rezultati analize vitamina C, nitrata i nitrita u plodovima paradajza organski i konvencionalno gajenog, kao i jednog industrijskog soka od paradajza. Konvencionalno gajen paradajz je nabavljen na četiri beogradske pijace i u jednom od najvećih beogradskih supermarketa, a organski je uzgajan u regionu Vršca. U analizi je primenjena reverzno-fazna visokoeфикаsna tečna hromatografija sa UV detekcijom, a određivanje sadržaja je izvedeno primenom eksterne kalibracije. Određeni su limiti detekcije i kvantifikacije, koji iznose 0,03 µg/mL odnosno 0,05 µg/mL za vitamin C, a 0,05 µg/mL odnosno 0,10 µg/mL za nitrite i nitrata. Dobra linearnost za određivanja vitamina C, nitrata i nitrata potvrđena je u opsegu koncentracija od 1,0 µg/mL do 20,0 µg/mL. Ispitivanjem sadržaja vitamina C u različitim uzorcima soka od paradajza, pokazano je da sadržaj istog varira u opsegu 0,26 - 20,46 mg/100 g. Analizom sadržaja nitrata i nitrita u 6 različitih uzoraka soka od paradajza utvrđeno je da sadržaj nitrata varira u rasponu 4,788 - 16,632 mg/100 g. Sadržaj nitrita u svim analiziranim uzorcima je ispod granice kvantifikacije primenjene metode (1 mg/kg).

Кljučne reči: sok od paradajza, vitamin C, nitrati, nitriti, HPLC.

UVOD

Zdravstvena ispravnost i kvalitet namirnica su veoma značajni u očuvanju zdravlja ljudi. Radi zaštite zdravlja neophodno je da se sprovedu unapred utvrđeni standardi, koji se odnose na proizvodnju, distribuciju, čuvanje, rukovanje namirnicama, kao i na njihovu redovnu kontrolu, kako bi se postigao kvalitet a time i osigurala bezbednost zdravlja ljudi. Svetska zdravstvena organizacija (WHO)¹ navodi težinu problema neispravnosti namirnica i ističe ga kao jedan od najrasprostranjenijih zdravstvenih problema u svetu, kako u nerazvijenim tako i u razvijenim zemljama. U kooperaciji sa FAO² objavljen je vodič [1] u kojem su razmotreni mnogi faktori rizika u ishrani, kao načini kojim bi se sistem uredio radi očuvanja zdravlja. Analiza vitamina C, nitrata i nitrita u voću i povrću je posebno značajna. Vitamin C je indikator svežine proizvoda, a u ishrani zauzima posebno mesto kao snažan antioksidans. Nitrati se mogu naći u biljkama kao rezultat dubrenja zemljišta, ali takode ih ima i u vazduhu i vodi. Nitriti se u industriji dodaju radi konzervisanja proizvoda, a mogu nastati u organizmu iz unetih nitrata.

Vitamin C je neophodan za rast i razvoj hrskavice, zuba i potpornog tkiva, sintezu steroidnih hormona. Osim toga, snažan je antioksidans (uklanjanje slobodnih radikala), utiče na stimulaciju sinteze i oslobađanja adrenalina i noradrenalina iz srži nadbubrežnih žlezda, a pojačava i apsorpciju gvožđa. Iako je svega 10mg vitamina C dnevno dovoljno da bi se sprečila pojava skorbuta, unos manje od 50 mg vitamina C dnevno može znatno uvećati rizik

od bolesti srca i katarakte. Primećeno je takođe da je kod žena sa niskim sadržajem vitamina C u krvi povećan rizik od nastajanja žučnih kamenaca [2].

Imajući ovo u vidu, važno je saznanje o preporučenim dozama vitamina C (RDA³). RDA predstavlja prosečnu količinu koja je neophodna da bi se zadovoljile potrebe organizma za vitaminima ili mineralnim sastojcima kod zdravih pojednaca i mogu varirati u zavisnosti od pola, godina ili posebnih stanja kao što je trudnoća. Agencija za hranu i lekove (FDA⁴) preporučuje optimalan dnevni unos od 60 mg/dan. Kako pušači imaju smanjenu količinu vitamina C, potreban im je unos dodatnih količina i do 100 mg dnevno. Upotreba kontraceptiva kortizona ili estrogenska terapija u menopauzi takođe povećava potrebu za dodatnim unosom. Vitamin C deluje brzo, tako da telo "iskoristi" potrebnu količinu, a ostatak u kratkom roku eliminiše. Stoga ukupan unos treba rasporediti u nekoliko (4 do 6) doza tokom celog dana [3].

Određivanje sadržaja vitamina C u različitim namirnicama je izuzetno značajno. Shimada i Ko [4] su primenili metodu visokoeфикаsne tečne hromatografije za određivanje sadržaja askorbinske kiseline u povrću. Posle homogenizacije i redukcije dehidroaskorbinske u askorbinsku kiselinu DL-homocisteinom urađena je (HPLC⁵) analiza, primenom UV detektora, a apsorbancija je merena na λ = 265 nm. Pokazalo se da biber i brokoli sadrže više od 80 mg vitamina C na 100 g proizvoda, dok pojedino povrće kao paradajz ima manje od 20 mg/100g. Sadržaj vitamina C varira u zavisnosti od vrste povrća i uslova uzgajanja. Dobiđenim podacima je ukazano na post-

ojanje razlika u sadržaju askorbinske i dehidroaskorbinske kiseline u različitim povrću. Askorbinska kiselina se brzo pretvara u dehidroaskorbinsku kiselinu pomoću oksidaze askorbinske kiseline. Autori nisu uočili značajniju razliku u ukupnom sadržaju askorbinske kiseline jer dehidroaskorbinska kiselina pokazuje istu fiziološku aktivnost kao i askorbinska. İsmail i Fun [5] su određivali vitamin C, kao i druge vitamine, u organski i konvencionalno gajenom povrću. Primenom reverzno-fazne HPLC dobili su rezultate kojima je ukazano da nije sve povrće organski gajeno bogatije vitaminima. U literaturi je zabeležena primena ciklične voltametrije, kao i titrimetrijske metode primenom N-bromosukcinimida za određivanje vitamina C u lisnatom povrću [6] na osnovu dobiđenih rezultata data procena o relevantnosti medicinske upotrebe pojedinih vrsta.

Neorganski nitriti su jedinjenja kristalne forme, rastvoreni u vodi, pokazuju redukcione osobine i apsorbovani u organizmu brzo se oksidišu u nitrata. U krvotoku nastaje oksidacija hemoglobina. Višak nitrata čvrsto se vezuje za oksidovano gvožđe, čime se sprečava transport kiseonika. Uneseni nitrati se brzo i u potpunosti apsorbuju u gornjem delu tankog creva, a mogu i direktno iz želuca. Zbog vezivanja žuči, mogu da utiču na poremećaj rada treoidne žlezde. Ako se hranom unosi dovoljno joda (150 do 300mg dnevno), efekat nitrata je manje izražen [7].

Nitrati su jedinjenja kristalne strukture, rastvoreni u vodi i ponašaju se kao jaka oksidaciona sredstva. Upotrebljavaju se mnogo kao mineralna đubriva, eksplozivi, boje kao i u medicini. Nivo nitrata u hrani je veoma nizak, najčešće ispod 100 mg/kg i retko prelazi 100 mg/kg. Izuzetak je povrće koje je bilo oštećeno, loše uskladišteno, ili uskladišteno duže vreme od propisanog, kao i konzervisano i fermentisano povrće. U takvim uslovima nivo nitrata može biti i 400 mg/kg. Povrće i voće uz konzervisano meso su glavni izvor nitrata i nitrita. UV - zračenje u staklenicima utiče na pojačano stvaranje nitrata i nitrita u povrtarskim kulturama.

Sadržaj nitrata u povrću zavisi od načina obrade zemljišta (primena veštačkih đubriva), uslova rasta (naročito temperature zemljišta i intenziteta dnevne svetlosti), zaštite namirnica u toku rasta i obrade hrane. Procenjeno je da se povrćem unosi približno 80 do 92% nitrata i 16 do 43% nitrita. Zato se i nitrati i nitriti obavezno određuju pri kontroli kvaliteta namirnica. Metaboličkim reakcijama u organizmu iz nitrata i nitrita nastaju nitrozoamini koji su karcinogeni i za koje se smatra da izazivaju met-hemoglobinemiju.

Evropska komisija je 1997. utvrdila maksimalan dozvoljeni nivo nitrata i nitrita koji može da se nalazi u povrću. Ove vrednosti su prihvatile mnoge zemlje kao Velika Britanija i Kina, gde su definisani maksimalni nivoi do 3000 mg/kg/dan. Osim toga GAP⁶ propisuje posebne zahteve za proizvođače povrća, kako bi se obezbedilo smanjenje nivoa nitrata a time i zaštitilo zdravlje potrošača.

Nitrati i nitriti se često dodaju kao aditivi da produže svežinu proizvoda i ostvare dejstvo konzervansa, što se koristi kod proizvoda od mesa i nekih vrsta sireva [8]. Upotreba nitrata i nitrita kao aditiva je regulisana zakonima [9] i značajna je u prevenciji botulizma, tj. rasta vrste Clostridium botulinum koja kao produkt svog metabolizma proizvodi toksin botulinum. Clostridium botulinum je G(+) anaerobna bakterija čije su spore prisutne u zemljištu i vodi, a prirodni rezervoar su domaće i pojedine divlje životinje. U spoljnu sredinu dospeva putem fekalija i kontaminira meso, ribu, voće, povrće. Najčešće se trovanja ovim toksinom dešavaju nakon konzumiranja konzerviranih i suhomesnatih proizvoda kao i suvog mesa.

Cheng i Tsang [10] su određivali sadržaj nitrata i nitrita u povrću primenom HPLC metode UV-detekcijom. Apsorbancija je merena na λ = 213 nm. Ispitivanjem rezultata 12 različitih uzoraka povrća sa tržišta HPLC metodom zaključeno je da vrednosti sadržaja nitrata i nitrita znatno variraju u rasponu od 225 do 4410 mg/kg. Elektrohemijski senzori su takođe primenjeni za detekciju nitrata i nitrita [11], ali u uzorcima vođa koji su svakako jednostavniji i rasterećeni potencijalnih smetnji kakve postoje u složenijim uzorcima. Gaya i Alimi [12] su nitrata u povrću određivali spektrofotometrijski merenjem apsorbancije natrijum-nitrofenoksida nastalog u reakciji nitarata iz povrća sa fenolom u prisustvu sumpome kiseline. Iako su dobiti relativno dobri procenti prinosa (76 do 123%), metoda zahteva više vremena u poređenju sa HPLC metodom.

U ovom radu je opisana analiza vitamina C, nitrata i nitrita u paradajzu, nabavljenog na nekoliko beogradskih pijaca, plodova uzgajanih bez dodatnog hemijskog tretmana u regionu Vršca, kao i u jednom komercijalnom proizvodu industrijskog soka od paradajza. Analiza je izvedena primenom visokoeфикаsne tečne hromatografije (HPLC).

METOD RADA

Za određivanje sadržaja vitamina C, nitrata i nitrita u soku od paradajza upotrebljeni su plodovi paradajza sa četiri beogradske pijace, iz jednog supermarketa, jedne bašte gde je gajen bez hemijskog tretmana, kao i komercijalnog proizvoda, industrijskog soka Tomatina[™].

Rastvori i reagensi

U analizi su primenjene standardne supstance vitamina C, natrijum-nitrata i natrijum-nitrita proizvođača Sigma Co (St Louis, MO, USA), od kojih su pripremani rastvori za ispitivanje limita detekcije i limita kvantifikacije (serija rastvora od 0,01 do 0,5 µg/mL), kao i rastvori za kalibracionu krivu (1,0, 2,5, 5,0, 10,0 i 20,0 µg/mL). Korišćeni su organski rastvarači HPLC čistoće (Merck, Darmstadt, Germany), voda HPLC čistoće (sistemski dobijena demineralizovana voda prečišćena na komercijalnom „Millipore Milli-Q“ sistemu), a ostale

* Autor za korespondenciju: Slavica Ražić, Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Tel/Faks: +381 11 3951208, e-mail: slavica.razic@pharmacy.bg.ac.rs

1 World Health Organization
2 Food and Agriculture Organization of the United Nations

4 Recommended Daily Allowance
5 Food and Drug Administration

hemikalije čistoće za analizu (p.a.).

Operativni uslovi rada HPLC sistema su prikazani u tabeli 1.

Tabela 1 - Operativni uslovi HPLC sistema

Pumpa:	Waters M600 E, izokratsko eluiranje
Injektor:	Rheodyne 7125, petlja 20 µl
Analiitička kolona:	
za vitamin C	RP-HPLC C18, promera 5 µm,
za nitrite i nitrate	RP-C8, promera 5 µm,
Detektor:	Waters UV/VIS
Mobilna faza:	
za vitamin C	50 mM KH ₂ PO ₄ pH = 3,0
za nitrite i nitrate	0,01M oktil-amin u 0,1 M NaCl, pH = 6,1
Protok	1,0 mL/min
Temperatura kolone	~20 °C
Talasne dužine:	
za vitamin C	λ = 245 nm,
za nitrite i nitrate	λ = 210 nm
Aktivacija/ obrada podataka:	Clarity chromatography station for Windows

Priprema uzoraka paradajza za analizu vitamina C

Priprema uzorka mora biti efikasna i brza, a vreme između merenja mora biti što kraće zbog nestabilnosti vitamina C. Posle homogenizacije uzorci se podvrgavaju ekstrakciji. Deset grama uzorka odmeri se na analitičkoj vagi i doda se 90 mL 0,1% oksalne kiseline. pH vrednost je podešena na 3,0 upotrebom fosfatnog pufera⁷ (50 mmol/L KH₂PO₄). Filtriranje se izvodi kroz nabrani i membranski filter promera 0,45 µm.

Analiza vitamina C

Ukupno vreme hromatografske analize je iznosilo 5 min., a retenciono vreme vitamina C 2,13 min. Signal je obrađen „Clarity“ softverom, a na osnovu uporedne analize pikova standarda i uzoraka izračunat sadržaj vitamina C.

Priprema uzoraka za analizu nitrita i nitrata

Posle homogenizacije uzoraka paradajza uradna je ekstrakcija vodom radi dobijanja 10% rastvora (10 g uzorka na 100 g rastvora). Potom se rastvori filtriraju kroz nabrani i membranski filter-papir prečnika pora 0,45 µm, i radi se njihovo injiciranje.

Analiza nitrita i nitrata

Komponenta sa najmanjim afinitetom će se prva detektovati. Sistem je povezan sa „Clarity“ softverom. Analiziranjem dobijenih pikova i njihovim

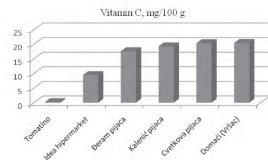
poređenjem sa pikom standarda određen je sadržaj analita u uzorcima. Određeni su limit detekcije i limit kvantifikacije, specifičnost metode, zbog moguće interferencije, linearnost odnosa površine pika i koncentracije za standardne rastvore vitamina C, kao i nitrita i nitrata u rasponu od 1,0 µg/mL do 20 µg/mL, ispitana je preciznost za koncentraciju od 5,0 µg/mL, kao i analitički prinos metoda. Na tržištu se javlja sve veći broj zdravstveno neispravnih proizvoda usled izražene nesvesnosti proizvođača, te je stoga kontrola kvaliteta i ispravnosti proizvoda osnovna karika bez koje se ne može obezbediti zdravlju i kvalitetniji život.

Visokoeffikasna hromatografija je veoma moćna analitička tehnika u analizi brojnih analita i u ovom radu su prikazani rezultati kvantitativne analize vitamina C, nitrata i nitrita soka od paradajza.

REZULTATI I DISKUSIJA

Sadržaj vitamina C je u većini uzoraka prilično ujednažen (slika 1) osim u industrijskom soku od paradajza čiji je sadržaj znatno niži od očekivanog i iznosi 0,26 mg/100 g.

Ispitivanjem sadržaja vitamina C u različitim uzorcima soka od paradajza pokazano je da sadržaj varira u rasponu 0,26 do 20,46 mg/100g. Na osnovu ovih podataka možemo zaključiti da su sve vrednosti u opsegu prosečnih, ali je sadržaj dva uzorka znatno ispod očekivanog i iznosi 9,49 mg/100 g i 0,26 mg/100 g, što znači da je ovaj paradajz manje svežine od ostalih. Ipak, mora se imati u vidu da je jedan od glavnih uzroka nižeg sadržaja vitamina C u industrijskom soku od paradajza tehnološki postupak pripreme koji uključuje i termički obradu (blaširanje, pasterizacija).

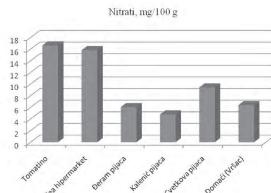


Slika 1. Sadržaj vitamina C u uzorcima paradajza

Za detekciju vitamina C, nitrita i nitrata primenjena je reverzno-fazna, odnosno jonska tečna hromatografija visoke performanse uz UV/VIS detektor, dovoljno osetljiva i specifična metoda za određivanje prihvatljivih vrednosti vitamina C, nitrita i nitrata u povrću i proizvodima od povrća. Postupak tečno-tečne ekstrakcije 0,1% oksalnom kiselinom vitamina C, odnosno vodom, nitrata i nitrita i filtriranje kroz membrani filter dovodi uzorke u stanje pogodno za određivanje. Određeni su limit detekcije i limit kvantifikacije, koji iznose 0,03 µg/mL odnosno 0,05 µg/mL za vitamin C, a 0,05 µg/mL odnosno 0,10 µg/

mL za nitrite i nitrate. Linearnost odnosa koncentracija i površina odgovarajućih pikova je određena analizirajući šest standardnih rastvora vitamina C, nitrita i nitrata koncentracija od 1,0 µg/mL do 20,0 µg/mL. Kalibracione krive su dobijene kao rezultat četiri injiciranja za svaki koncentracioni nivo i određeni su koeficijent korelacije: $r = 0,99937$ za vitamin C, $r = 0,9991$ za nitrite, odnosno $r = 0,99924$ za nitrate. Tačnost metode je ispitana određivanjem procenta prinosa na standardne rastvore koncentracije 10,0 µg/mL i izvosi 98,4% za vitamin C, 97,2% za nitrite, odnosno 97,5% za nitrate. Svi ispitani parametri validacije za nitrite i nitrate potvrdili su dobru preciznost i reproduktivnost metode (RSD = 1,43%, 2,11%, odnosno 0,78%), sa visokim prinosom, linearnošću u širem opsegu od očekivanih vrednosti.

Analizom sadržaja nitrata i nitrita u šest različitih uzoraka soka od paradajza HPLC metodom, utvrđeno je da sadržaj nitrata varira u opsegu 4,788 do 16,632 mg/100 g (slika 2). Sadržaj nitrata varira u zavisnosti od uslova uzgajanja, a posebno tretiranja zemljišta veštačkim đubrivom. Ova metoda se pokazala kao veoma efikasna u određivanju nitrata, a dobijene vrednosti su u granicama prihvatljivih.



Slika 2. Rezultati određivanja sadržaja nitrata u uzorcima paradajza.

Sadržaj nitrita u svim analiziranim uzorcima je ispod granice kvantifikacije primenjene metode (1 mg/kg).

ZAKLJUČAK

Život savremenog čoveka je veoma stresan, zagađenost životne okoline je sve veća a briga o sopstvenom zdravlju zanemarljiva. Na tržištu se javlja sve veći broj zdravstveno neispravnih proizvoda usled visoke nesvesnosti proizvođača, te je stoga kontrola kvaliteta i ispravnosti proizvoda, osnovna karika bez koje se ne može obezbediti zdravlju i kvalitetniji život.

Visokoeffikasna hromatografija je veoma moćna analitička tehnika u analizi brojnih analita i u ovom radu su prikazani rezultati kvantitativne analize vitamina C, nitrata i nitrita soka od paradajza. Ova metoda se pokazala kao veoma efikasna i precizna, sa velikom brzinom izvođenja, te se stoga sve više primenjuje u ovakvim ispitivanjima. Za sveobuhvat-

nju sliku bilo bi potrebno analizirati veći broj uzoraka, sa različitih lokaliteta i pijaca. Određivanjem sadržaja vitamina C, nitrata i nitrita u povrću ispunjavaju se osnovni uslovi bez kojih ovakvi proizvodi ne mogu biti plasirani na tržište Evropske unije. Iako su analize bitnih komponenta hrane danas neophodne, one se, na žalost, u praksi nedovoljno primenjuju.

BIBLIOGRAFIJA

- Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, Food safety risk analysis: A guide for national food safety authorities, FAO Food and Nutrition Paper, No. 87, Rome, Italy, 2006.
- Padayatty S, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Chen S, Corpe C, Dutta A, Levine M. Vitamin C as an Antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr* 2003; 22(1): 18-35.
- Ball GFM. Vitamins in foods, Analysis, Bioavailability and Stability. Taylor & Francis USA, 2006, 300-4.
- Shimada Y, Ko S. Quantitative Determination of Ascorbic Acid in Vegetables by High-Performance Liquid Chromatography. *J Chugokugakuen* 2006; 5(1): 14-6.
- Ismail A, Fun Ch S. Determination of Vitamin C, β-carotene and Riboflavin Contents in Five Green Vegetables Organically and Conventionally Grown. *Mal J Nutr* 2003; 9(1): 31-9.
- Ogunlesi M, Okiel W, Azeez L, Obakachi V, Osumsanmi M, NkenchorG. Vitamin C Contents of Tropical Vegetables and Foods Determined by Voltammetric and Titrimetric Methods and Their Relevance to the Medicinal Uses of the Plants. *Int J Electrochem Sci* 2010; 5: 105-15.
- Case Studies in Environmental Medicine (CSEM) Nitrate/Nitrite Toxicity. What Are the Physiological Effects of Exposure to Nitrates/Nitrites? http://www.atsdr.cdc.gov/csem/nitrate/nitrate-no-3physiologic_effects.html (24.09.2007).
- Mirić M, Šobajić S: Zdravstvena ispravnost namirnica, Zavod za izdavanje udžbenika, Beograd, 2002
- Pravilnik o kvalitetu i uslovima upotrebe aditiva u namirnicama i o drugim zahtevima za aditive i njihove mešavine ("Sl. list SCG", br. 56/2003, 4/2004 - dr. pravilnik, 5/2004 - ispr. i 16/2005).
- Cheng CF, Tsang CW. Simultaneous determination of nitrite, nitrate and ascorbic acid in canned vegetable juices by reverse-phase ion-interaction HPLC. *J Food and Drug Analysis* 2003; 11(3): 233-8.
- Badea M, Amine A, Palleschi G, Moscone D, Volpe G, Curulli A. New electrochemical sensors for detection of nitrites and nitrates. *J Electroanal Chem* 2001; 509: 66-72.
- Gaya UI, Alimi S. Spectrophotometric Determination of Nitrate in Vegetables Using Phenol, *J Appl Sci*

³ High Performance Liquid Chromatography
⁷ Good Agricultural Practice – Dobra poljoprivredna praksa

⁷ Fosfatni pufer lako kristališe pa je potrebno obezbediti kontinuiran rad. Takođe, uvek se upotrebljava svež pufer, pripreman istog dana kada se radi ispitivanje i eventualno se može koristiti još i sutradan.

BIBLID: 0018-6872, 51 (2010) 1-2

Analysis of vitamin C, nitrates and nitrites in tomato juice with highly efficient liquid chromatography

Z. Basić¹, J. Bumbić², S. Ražić²
 1. The Institute for Hygiene, Military Medical Academy, Belgrade
 2. Faculty of Pharmacy, University of Belgrade

Summary: The results of analysis of vitamin C, nitrates and nitrites in tomato organically and conventionally grown as well as one commercial tomato juice are reported. Conventionally grown tomato was provided from four markets in Belgrade and one of the largest hypermarkets. Organically grown tomato originated from Vršac region. Analysis was performed by high performance liquid chromatography with UV detection and determination of analytes content was done by external calibration. Limit of detection and limit of quantification limits were determined for vitamin C (0, 03 µg/mL and 0,05 µg/mL), nitrates and nitrites (0,05 µg/mL and 0,10 µg/mL). Good linearity for all analytes was confirmed in the range 1,0 - 20,0 µg/mL. According to the results, content of vitamin C in analyzed samples varied from 0,26 mg/100g to 20,46 mg/100 g. Concentration of nitrates in 6 different samples of tomato juice was in the range between 4,788 and 16,632 mg/100 g. Concentration of nitrites were below limit of quantification of applied method (1 mg/kg).

Key words: vitamin C, nitrates, nitrites, tomato juice, liquid chromatography.

OBAVEŠTENJA - INFORMATION

7th INTERNATIONAL CONGRESS OF FOOD TECHNOLOGIST, BIOTECHNOLOGIST AND NUTRITIONISTS

20-23 September 2011 - Opatija, Croatia
 Grand Hotel Adriatic



DEADLINES

Closing Date for Submission of Abstracts:	January 31 st 2011
Closing Date for Notification of Abstract Acceptance:	March 31 st 2011
Closing Date for Submission of Papers:	May 31 st 2011
Closing Date for Early Registration:	April 15 th 2011
Congress Dates:	September 20-23 rd 2011

REGISTRATION

Registration	Registration deadline: August 15 th 2011	Registration deadline: August 15 th 2011
Registration fee	until April 16 th	from April 16 th and onsite
Full entry fee:	€ 370,00	€ 420,00
One-day registration fee:	€ 100,00	€ 100,00
Student entry fee:	€ 180,00	€ 180,00
Accompanying person:	€ 270,00	€ 270,00

*CROFASTM members can obtain discount of 50 - EUR on registration fee provided that they are CROFASTM members for 1 year minimum.

Visit www.pbncongress2011.hr to find more information on the 7th International Congress of Food Technologist, Biotechnologist and Nutritionists.

15th INTERNATIONAL ECO-CONFERENCE®
 9th ECO-CONFERENCE® ON ENVIRONMENTAL PROTECTION OF URBAN AND SUBURBAN SETTLEMENTS
 - NOVI SAD, SERBIA, 21st - 24th September 2011
 Organizer: ECOLOGICAL MOVEMENT OF NOVI SAD
 e-mail: emov@emov.rs
 Website: www.ekobioforum.org

JOIN US AT FEMS 2011
 4th Congress of European Microbiologists
 Geneva, Switzerland
 June 26-30, 2011

SAVE THE DATE! Advancing Knowledge on Microbes
www.kenes.com/fems-microbiology

15th INTERNATIONAL ECO-CONFERENCE®
9th ECO-CONFERENCE® ON ENVIRONMENTAL PROTECTION OF URBAN AND SUBURBAN SETTLEMENTS
NOVI SAD, SERBIA, 21st - 24th September 2011

MICROBIOLOGIA BALKANICA 2011
 7th BALKAN CONGRESS OF MICROBIOLOGY
 20th CONGRESS OF SERBIAN MICROBIOLOGISTS
 Serbian Society for Medical Microbiology
 Serbian Society for Microbiology
 October 25-29, 2011
 Continental Hotel, Belgrade, SERBIA

11th EUROPEAN NUTRITION CONFERENCE
fensmadrid2011
 OCTOBER 26-29

Diversity vs Globalization:
 A Nutritional Challenge for a Changing Europe

Madrid Convention Centre
 Paseo de la Castellana, 99. 28046 Madrid - Spain
www.fensmadrid2011.com • info@fensmadrid2011.com

11th EUROPEAN NUTRITION CONFERENCE
 Diversity vs Globalization:
 A Nutritional Challenge for a Changing Europe

To Download the **Commercial Dossier**

European Project Symposia

11th EUROPEAN NUTRITION CONFERENCE
fensmadrid2011
 Madrid Convention Centre
 Paseo de la Castellana, 99. 28046 Madrid - Spain
 OCTOBER 26-29

www.fensmadrid2011.com