

18. Moore JK, West SA, Robins G. Advances in Celiac Disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2011;27(2):112-118.
19. Fric P, Gabrovska D, Nevoral J. Celiac disease, gluten-free diet, and oats. *Nutr Rev* 2011; 69(2):107-115.
20. Haines ML, Anderson RP & Gibson PR. Systematic review: the evidence base for long-term management of coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 28, 1042-1066.
21. Silano M, Volta U, Mecchia AM, Dessi M, Di Benedetto R, De Vincenzi M. Delayed diagnosis of coeliac disease increases cancer risk. *BMC Gastroenterol* 2007; 7: 8-9.
22. Hall JN, Rubin G, Charnock A. Systematic review: adherence to a gluten-free diet in adult patients with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:315-330.
23. Vasiljević N, Ralević S, Marinković J, Kocev N, Maksimović M, Milosević GS, Tomic J. The assessment of health-related quality of life in relation to the body mass index value in the urban population of Belgrade. *Health Qual Life Outcomes* 2008 Nov 29;6:106.
24. Mustalahti K, Lohiniemi S, Collin P, Vuolteenaho N, Laippala P, Maki M. Gluten-free diet and quality of life in patients with screen-detected celiac disease. *Eff Clin Pract* 2002; 5: 105-113.
25. Vasiljević N, Radaković S, Radjen S, Marmut Z. New nutrition recommendations for healthy aging. *Vojnosanit Pregl.* 2010 Apr;67(4):329-31.
26. Janković S, Raznatović M, Marinković J, Janković J, Kocev N, Tomic-Spiric V, Vasiljević N. Health-related quality of life in patients with psoriasis. *J Cutan Med Surg* 2011 ;15(1):29-36.
27. Vasiljević N, Ralević S, Kolotkin RL, Marinković J, Jorga J. The Relationship Between Weight Loss and Health-related Quality of Life in a Serbian Population. *Eur Eat Disord Rev* 2011 Jul 1. doi: 10.1002/erv.1114.

## Primena različitih metoda mineralizacije uzoraka za određivanje makro i mikroelemenata u mesu atomskom spektrofotometrijom

Zoran Pavlović,<sup>1</sup>  
Milan Mirić,<sup>2</sup>  
Ivanka Mijetić,<sup>3</sup>  
Sladana Sobajić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zavod za javno zdravlje Požarevac,  
Jovana Serbanovića 14, 12000 Požarevac,  
<sup>2</sup>Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu,  
Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

Rad primljen: 27.03.2012.godine

Kontakt adresa:  
Zoran Pavlović,  
Zavod za javno zdravlje Požarevac, Jovana  
Serbanovića 14, 12000 Požarevac,  
e-mail: zpavlovi@poh.gov.rs

**Kratka sadržaj:** Određivanju sadržaja makro i mikroelemenata u namirnicama atomskom spektrofotometrijom prethodi mineralizacija uzorka. Dve tehnike koje se najduže i još uvek i najčešće primenjuju, baziraju se na suvom spaljivanju na definisanoj temperaturi, i na vlažnoj digestiji sa mineralnim kiselinama u otvorenom i zatvorenim sistemima. Cilj ovog rada je razvoj brze i jednostavne metode mineralizacije za određivanje Cu, Fe, Zn, Ca, Mg, Na i K u mesu. Poredene su tri različite metode mineralizacije: suva mineralizacija, vlažna u zatvorenim teflonskim posudama i klasično vlažno spaljivanje. U mineralizovanim uzorcima određen je sadržaj Cu, Fe, Zn, Ca i Mg atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom, i sadržaj Na i K atomskom emisijom spektrofotometrijom. Dobijeni rezultati pokazali su da se za određivanje sadržaja gvožđa, bakra i cinka u uzorcima mesa mogu uspešno primeniti sve tri ispitivane metode dok je za sadržaj kalijuma, natrijuma, magnezijuma i kalcijuma mineralizacija u teflonskim posudama značajno efikasnija od suvog spaljivanja ( $p < 0,05$ ). U isto vreme mineralizacija u teflonskim posudama ima najveći prinos i preciznost, što uz brzinu i jednostavnost izvođenja navodi na zaključak da je to metoda izbora za mineralizaciju uzoraka pri određivanju sadržaja makro i mikroelemenata u mesu atomskom spektrofotometrijom.

**Ključne reči:** meso, mineralizacija uzoraka, atomska spektrofotometrija.

## Medical nutrition therapy of gluten sensitive enteropathy

Nadja Vasiljević<sup>1</sup>  
Ivan Stanković<sup>2</sup>  
Sladana Sobajić<sup>2</sup>  
Mirjana Milanović-Stevanović<sup>3</sup>  
Saša Janković<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Hygiene and Medical Ecology  
Faculty of Medicine, University of Belgrade  
<sup>2</sup>University of Belgrade – Faculty of Pharmacy  
<sup>3</sup>Institute of Hygiene and  
Meat Technology

**Summary:** Gluten sensitive enteropathy or celiac disease is clearly more prevalent than was previously thought. Gluten-sensitive enteropathy is the inherited autoimmune condition characterized by inflammation of the small intestine in response to the ingestion of gluten present in cereals such as wheat, barley, and rye. Elimination of the gluten from the diet assigned as medical nutrition therapy for gluten sensitive enteropathy is the first line of the treatment for coeliac disease. Gluten-free diet is an effective treatment that can alleviate symptoms and allows reduction in small intestinal inflammation and permits mucosal healing with improved absorptive function. However, gluten free diet is very complex and claimed. Also, strict adherence and life-long maintenance to the diet is very important in the aim to prevent macronutrient and micronutrient deficiency. Except that, regular involvement of the gluten free diet is important for preventing some complications such as anemia, osteoporosis, development of a neoplasm, and the risk of additional autoimmune disorders. Although there are many attempts for developing alternatives to the gluten-free diet, it currently still remains the only effective treatment option for gluten sensitive enteropathy.

**Key words:** gluten, celiac disease, nutritional status, nutritional deficit, quality of life.

## Uvod

Određivanju sadržaja mineralnih materija atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom u namirnicama prethodi mineralizacija uzorka. Dve tehnike koje se najduže i još uvek i najčešće primenjuju baziraju se na suvom spaljivanju na definisanoj temperaturi i na vlažnoj digestiji sa mineralnim kiselinama. Obe tehnike imaju prednosti i ograničenja. Izbor metode zavisi od elementa koji se određuje, njegovog sadržaja, odnosno primenjene metode detekcije, matriksa i drugih faktora.

Suvo spaljivanje (sa ili bez dodatka pomoćnog sredstva za spaljivanje) može da se primeni za određivanje većine metala. U ranijim radovima prikazana je mogućnost gubitka nekih elemenata usled isparavanja i/ili retencije na zidovima posuda za mineralizaciju u toku suvog spaljivanja [1,2]. Koitryohann i sar[3] su koristeći radioaktivne izotope pokazali da pri spaljivanju na temperaturama ispod 600 °C nema značajnih gubitaka Cr, Fe, Zn i Cd, a da je retencija na zidovima platinskih ili silikatskih sudova zanemarljiva na temperaturama ispod 500°C. U standardnoj metodi ISO 6869:2000 za određivanje sadržaja Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, K, Na i Zn u hrani za životinje uzorci se spaljuju na 550°C [4]. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) daje nekoliko metoda za mineralizaciju uzoraka suvim spaljivanjem: Ca, Cu, Fe, Mg, Mn i Zn u stočnoj hrani i hrani za kućne ljubimce na 550°C [5], Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, K i Zn u biljnom materijalu i hrani za kućne ljubimce na 500°C [6] i Pb, Cd, Cu, Fe i Zn u hrani na 450°C [7]. Brojna interlaboratorijska ispitivanja u kojima su uzorci mineralizovani na 450°C pokazala su odsustvo sistemskih gubitaka [8]. Do-

datak pomoćnih sredstava za spaljivanje eliminiše potencijalne gubitke i/ili ubrzava proceduru suvog spaljivanja, ali uvek povećava rizik od kontaminacije. Nedostaci suvog spaljivanja su nemogućnost primene za određivanje svih elemenata (npr. žive), dužina pripreme i mogućnost kontaminacije. Prednosti ovog postupka su minimalno angažovanje analitičara u postupku pripreme i mnogo niži detekcioni limit od vlažnog spaljivanja.

Vlažno spaljivanje ima univerzalnu primenu i pod kontrolisanim uslovima može da eliminiše gubitak isparljivih elemenata. Opisani su mnogi postupci vlažnog spaljivanja u otvorenom i zatvorenim sistemima, odnosno digestionim posudama [9-13]. Azotna kiselina se najčešće koristi u vlažnoj digestiji, a pored nje koriste se i sumporna i perhlorna kiselina i vodonik peroksid. Mineralizacija u otvorenom sistemima se ubrzava dodatkom katalizatora uz obaveznu primenu dodatne aparature za sprečavanje gubitaka isparljivih elemenata. Prednosti vlažnog spaljivanja su kraće vreme pripreme od suvog spaljivanja i mogućnost primene za analize isparljivih elemenata. S druge strane, vlažna mineralizacija daje razblažene rastvore uzorka i zahteva upotrebu kiselina velike čistoće, a kod otvorenih sistema postoji i mogućnost kontaminacije. Prime-na zatvorenih posuda za razaranje pojednostavljuje postupak, skraćuje vreme mineralizacije i značajno smanjuje angažovanje analitičara. Za pripremu uzoraka u zatvorenim sistemima koristi se toplotna ili mikrotalasna energija.

Upotreba mikrotalasne energije, kao toplotnog izvora, u vlažnom spaljivanju prvi put je opisana 1975. godine [14]. Od tada su publikovani mnogi radovi o mikrotalasnoj digestiji uzoraka u otvorenim

i zatvorenim posudama. Glavna prednost mikrotalasne digestije je skraćeno vreme pripreme uzoraka na svega nekoliko desetina minuta, a nedostatak je cena opreme.

U literaturi se mogu naći podaci i o vlažnom spaljivanju u zatvorenim teflonskim posudama (teflonska bomba), u kojima se vrši mineralizacija zagrevanjem u sušnici [12,13,15-18]. Ovaj način mineralizacije traje nešto duže od mikrotalasne digestije, ali je za njegovu primenu potrebna samo uobičajena laboratorijska oprema, izuzev teflonskih boca.

Cilj ovog rada bio je razvoj brze i jednostavne metode mineralizacije za određivanje makro i mikroelemenata u mesu. Poredene su tri različite metode mineralizacije: suvo spaljivanje, vlažna mineralizacija u otvorenom sistemu i vlažna mineralizacija u zatvorenim teflonskim posudama.

#### METOD RADA

Ispitivanja su vršena na uzorku svežeg svinjskog mesa (od buta), koje je oslobođeno masnog i vezinog tkiva i homogenizovano u blenderu. Svačkom metodom analizirano je pet paralelnih uzoraka.

#### Reagensi i aparatura

##### (1) Reagensi

- azotna kiselina (kataloški broj 1.00452, proizvođač Merck, Nemačka),
- perhlorna kiselina (kataloški broj 1.00514, proizvođač Merck, Nemačka)
- nitrovodonična kiselina (kataloški broj 1.00317, proizvođač Merck, Nemačka)
- lantan-oksidi (kataloški broj 1.10982, proizvođač Merck, Nemačka)
- cezijum-nitrat (kataloški broj 1.02856, proizvođač Merck, Nemačka)

##### (2) Posude

- staklene čaše od 100 ml
- teflonske boce od 50 ml za koje su napravljena metalna kućišta (oklopi) u koja se stavljaju boce da bi se sprečilo njihovo deformisanje u toku procesa mineralizacije
- staklene epruvete za razaranje u digestionskom bloku
- pipete
- normalni sudovi

Staklene posude je pre početka rada oprano deterdžentom, isprano česmenskom i destilovanom vodom, zatim potopljeno u azotnu kiselinu (1:1) preko noći, isprano destilovanom i redestilovanom vodom i osušeno. Ova procedura je ponavljana pre svake upotrebe.

Teflonske boce su pre prve upotrebe nekoliko puta prošle kroz proces mineralizacije bez uzorka, a zatim su pripremane na isti način kao i staklene posude.

##### (3) Aparati

- sušnica
- peć za žarenje
- digestionski blok Tecator 1007
- atomski apsorpcioni spektrofotometar Varian SpectraAA 10, Australija

#### Metode mineralizacije uzoraka

##### Suvo spaljivanje:

Odmeri se oko 5 grama homogenizovanog uzorka mesa u staklenu čašu i suši u sušnici na 105°C 4 časa. Zatim se prenese u peć za žarenje i zagreva uz postupno povećavanje temperature peći (Tabela 1):

Tabela 1. Temperaturni program suvog spaljivanja

Temperatura (°C)	100	150	200	250	300	350	400
Vreme zagrevanja (min)	30	60	60	60	30	30	30

Spaljivanje se nastavlja na 450°C preko noći. Narednog dana se čaša izvadi iz peći, ohladi, ostatak u čaši nakvasi sa 1 ml rastvora azotne kiseline 1:1 i upari do suva na rešou. Zatim se ponovo žari dva časa na 450°C. Dodatak azotne kiseline i žarenje se ponove još jednom nakon čega je sadržaj u čašama belje boje. Ostatak u čaši se rastvori u 1 ml conc.HCl uz zagrevanje, prenese u normalni sud od 10 ml i dopuni redestilovanom vodom. Sadržaj u normalnom sudu se promeša i prenese u plastičnu epruvetu sa zapašućem u kojoj se čuva do merjenja.

Vlažna mineralizacija u teflonskim bocama: U teflonsku bocu se odmeri oko 1 g mesa, doda 2ml conc. HNO<sub>3</sub>, boca zatvori, stavi u metalno kućište i zagreva u sušnici 2,5 časa na 150°C. Posle hlađenja u bocu se doda 4 ml redestilovane vode, boca zatvori i snažno promućka, pa se sadržaj prenese u normalni sud od 10 ml. Dodatak redestilovane vode se ponovi još jednom i dopuni do crte. Sadržaj u normalnom sudu se promeša i prenese u plastičnu epruvetu sa zapašućem u kojoj se čuva do merjenja.

Vlažna mineralizacija u otvorenom sistemu sa HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> [19]:

U epruvetu za razaranje se odmeri oko 2,5 g uzorka, prelije sa 10 ml conc.HNO<sub>3</sub> i ostavi preko noći. Narednog dana se epruveta prenese u digestionski blok i zagreva jedan čas na 130°C, zatim 30 minuta na 150°C i ukloni sa bloka. Posle hlađenja u epruvetu se doda 3 ml HClO<sub>4</sub> i zagreva na 170°C jedan sat (do pojave belih para HClO<sub>4</sub>). Posle hlađenja u epruvetu se doda redestilovana voda, filtrira i dopuni do 25 ml. Sadržaj u normalnom sudu se promeša i prenese u plastične epruvete u kojima se čuva do merjenja.

#### Metode određivanja

U mineralizovanim uzorcima određen je sadržaj Ca, Mg, Fe, Cu i Zn atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom u plamenu, i Na i K atomskom emisionom spektrofotometrijom. Talasne dužine, struje lampe, širina rezreza i drugi instrumentalni uslovi korišćeni su po uputstvu proizvođača [20]. Hemijske interferencije pri određivanju Ca i Mg uklanjane su dodatkom lantan hlorida u količini od 1% La [20]. Jonizacione interferencije pri određivanju Ca i Na eliminisane su dodatkom kalijum hlorida u količini od 0,2% K, dok je kod određivanja K dođavan cezijum nitrat u količini od 0,1% Cs [20].

Prinos metode određivan je dodatkom

standardnog rastvora pre razaranja u uzorke mesa, a dodate količine elemenata su prikazane u tabeli 2.

Tabela 2. Dodate količine elemenata (mg/kg) za određivanje prinosa metode

Element	Ca	Mg	Na	K	Fe	Cu	Zn
mg/kg	50	200	500	4000	10	5	20

Za statističku obradu rezultata korišćen je statistički program SPSS verzija 11.5. Rezultati određivanja sadržaja elemenata u uzorcima mesa pripremljenim različitim metodama mineralizacije prikazani su kao srednja vrednost 5 paralelnih uzoraka ± standardna devijacija. Srednje vrednosti sadržaja elemenata u uzorcima mesa poredene su analizom varijanse za jedan kriterijum klasifikacije (ANOVA), a vrednosti koje se razlikuju identifikovane su Tukey-evom metodom. Za sve statističke analize primenjen je nivo značajnosti P<0,05.

#### REZULTATI I DISKUSIJA

Primenjena metoda suvog spaljivanja predstavlja modifikaciju AOAC metode za određivanje Pd, Cd, Fe, Cu i Zn u hrani [7]. Modifikovan je temperaturni program i postupak rastvaranja pepela. Na temperaturama do 250°C završava se oslobađanje dima iz uzorka, tako da se eliminiše mogućnost gubitka materijala preko dima. AOAC metoda predviđa povećanje temperature od maksimum 50°C na sat, što je primenjeno, do 250°C, nakon čega se temperatura brže povećava (50°C/30 minuta). Za mineralizaciju su korišćene staklene čaše od aluminijum bor silikatnog stakla. One su se pokazale kao dobra zamena za čaše od kvarcnog stakla. Jedini problem se javio kod određivanja Na, jer je došlo do migracije Na iz stakla što je rezultiralo statistički značajnim većim sadržajem Na u uzorcima pripremljenim suvom mineralizacijom u odnosu na obe metode vlažnog spaljivanja (Tabela 3). Dobljeni prinosi metoda (Tabela 4) su u okviru očekivanih, izuzev za K, kod koga je dobio niži prinos metode u odnosu na sadržaj analita [19]. Relativne standardne devijacije sadržaja K, Na, Mg, Ca, Fe, Cu i Zn (Tabela 5) su u skladu sa preporukama datim u EC dokumentu SANCO/3030/99 [19] rev.4 11/07/00. Dobljene relativne standardne devijacije (RSD) za Fe, Zn i Cu su niže od RSD prikazanih u AOAC međulaboratorijskom ispitivanju [8] i u metodi ISO 6869:2000 [4]. Ova metoda pokazala se pogodnom i za druge matrikse [21].

Tabela 3. Rezultati određivanja sadržaja elemenata (mg/kg) u uzorcima mesa (n=5) pripremljenim različitim metodama mineralizacije

	Suvo spaljivanje	Spaljivanje u teflonskoj bombi	Vlažno spaljivanje
Kalijum	3538 ± 118,8 a*	3797 ± 85,9 b	3659 ± 210,7 a,b
Natrijum	554,8 ± 24,88 a	453,8 ± 7,81 b	448,6 ± 7,22 b

	Suvo spaljivanje	Spaljivanje u teflonskoj bombi	Vlažno spaljivanje
Magnezijum	201,9 ± 11,10 a	215,4 ± 4,97 b	200,4 ± 8,76 a,b
Kalcijum	40,22 ± 2,742 a	44,37 ± 2,620 b	41,52 ± 1,715 a,b
Gvozdje	10,60 ± 0,647	10,82 ± 0,450	10,31 ± 0,174
Bakar	0,752 ± 0,0045	0,812 ± 0,0363	0,76 ± 0,0875
Cink	20,72 ± 0,259	21,60 ± 0,534	20,18 ± 1,441

\* vrednosti u redu označene različitim slovima razlikuju se značajno (p<0.05)

Tabela 4. Prinos primenjenih metoda mineralizacije (%)

	Suvo spaljivanje	Spaljivanje u teflonskoj bombi	Vlažno spaljivanje
Kalijum	88,37	95,56	90,69
Natrijum	103,54	95,16	90,73
Magnezijum	91,04	95,17	84,24
Kalcijum	85,84	99,15	92,70
Gvozdje	91,60	97,56	96,10
Bakar	86,40	97,24	88,72
Cink	93,50	102,00	91,10

Za određivanje sadržaja ispitivanih elemenata u uzorcima mesa vlažnom mineralizacijom u teflonskim bocama korišćena je modifikovana AOAC metoda za određivanje As, Cd, Pb, Se i Zn u hrani [18]. Obzirom na dostupne teflonske posude korišćena je manja količina azotne kiseline, ali je produženo vreme zagrevanja za 30 minuta. Dobljeni rezultati su pokazali efikasnost primenjene metode u mineralizaciji uzoraka. Dobljeni su odlični prinosi metode. Prinosi metode kreću se u opsegu od 95,16% za Na do 102% za Zn i sve vrednosti su u skladu sa preporukama [19]. Relativne standardne devijacije sadržaja svih ispitivanih elemenata ispunjavaju zahteve za ponovljivost, i za K, Na, Mg, Ca i Fe niže su od vrednosti dobijenih suvim spaljivanjem.

Rezultati određivanja sadržaja ispitivanih elemenata u uzorcima mesa pripremljenim klasičnim vlažnim spaljivanjem u otvorenom sistemu, pokazali su manju efikasnost ove metode u odnosu na suvo spaljivanje i spaljivanje u teflonskim bocama. Takođe, za K i Mg dobio je prinos niži od preporuka datih u EC dokumentu SANCO/3030/99 [19] rev.4 11/07/00. U isto vreme, relativna standardna devijacija prilikom određivanja K je nešto veća od vrednosti sugerisanih u prethodno pomenutom dokumentu [19].

Tabela 5. Relativne standardne devijacije određivanja sadržaja elemenata pripremljenim različitim metodama mineralizacije (%)

	Suvo spaljivanje	Spaljivanje u teflonskoj bombi	Vlažno spaljivanje
Kalijum	3,36	2,26	5,76
Natrijum	4,48	1,72	1,61
Magnezijum	5,50	2,31	4,37
Kalcijum	6,82	5,91	4,13
Gvozdje	6,10	4,16	1,68
Bakar	0,59	4,47	11,51
Cink	1,25	2,47	7,14

Određivanje sadržaja Fe, Cu i Zn u uzorcima mesa pripremljenim suvim spaljivanjem, mineralizacijom u teflonskim posudama i klasičnim vlažnim spaljivanjem pokazalo je sličanje rezultata uzoraka pripremljenih ovim metodama mineralizacije (Tabela 3), dok su za sadržaj K, Na, Mg i Ca u teflonskim posudama dobijeni statistički značajno viši rezultati od suvog spaljivanja. Od poredenih metoda, najveći prinosi su dobijeni mineralizacijom u teflonskim posudama (prosečno 97,4%), a nešto niže suvim spaljivanjem (91,5%) dok su klasičnim vlažnim spaljivanjem u otvorenom sistemu dobijeni najniži prinosi metode (prosečno 90,6%) (Tabela 4). Slična situacija je i kod relativnih standardnih devijacija: pri mineralizaciji u teflonskim posudama prosečna RSD je 3,3%, suvoj mineralizaciji 4,0% i klasičnom vlažnom spaljivanju 5,2% (Tabela 5). Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima Moeller i sar, koji su poredili nekoliko metoda pripreme uzoraka za određivanje elemenata u ribama [13] i pronašli da je u poređenju sa suvim spaljivanjem, klasičnim vlažnim spaljivanjem i mikrotalasnim, vlažno spaljivanje u teflonskoj bombi najpreciznije.

#### ZAKLJUČAK

Za određivanje sadržaja gvožđa, bakra i cinka u uzorcima mesa mogu se uspešno primeniti sve tri ispitivane metode mineralizacije: suvo spaljivanje, vlažna mineralizacija u otvorenom sistemu i vlažna mineralizacija u zatvorenom teflonskim posudama, dok je za određivanje sadržaja kalijuma, natrijuma, magnezijuma i kalcijuma, mineralizacija u zatvorenom teflonskim posudama značajno efikasnija od suvog spaljivanja. U isto vreme, mineralizacija u teflonskim posudama ima najveći prinos i preciznost, što uz brzinu i jednostavnost izvođenja navodi na zaključak da je to metoda izbora za mineralizaciju uzoraka pri određivanju sadržaja makro i mikroelemenata u mesu atomskom spektrofotometrijom.

#### NAPOMENA / ACKNOWLEDGMENTS

U radu je predstavljen deo rezultata projekta III-46009 Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

#### LITERATURA

- Gorsuch TT. Losses of trace elements during oxidation of organic materials: the formation of volatile chlorides during dry ashing in presence of inorganic chlorides. *Analyst* 1962; (1031):112-5.
- Gorsuch TT. Radiochemical investigations on the recovery for analysis of trace elements in organic and biological materials. Report to the Analytical Methods Committee by the Society's First Analytical Chemistry Research Scholar. *Analyst* 1959;(996):135-73.
- Koirtzyhann SR, Hopkins CA. Losses of trace metals during the ashing of biological materials. *Analyst* 1976;(1208):870-5.
- ISO 6869:2000. Animal feeding stuffs-Determination of the contents of calcium, copper, iron, magnesium, manganese, potassium, sodium and zinc-method using atomic absorption spectrometry.
- Horowitz W. (Ed) 2000. Official Methods of Analysis 17th Ed. AOAC Arlington, VA, Method 968.08, Minerals in animal and pet foods.
- Horowitz W. (Ed) 2000. Official Methods of Analysis 17th Ed. AOAC Arlington, VA, Method 975.03, Metals in plants and pet foods.
- Horowitz W. (Ed) 2000. Official Methods of Analysis 17th Ed. AOAC Arlington, VA, Method 999.11, Determination of lead, cadmium, copper, iron and zinc in foods-atomic absorption spectrophotometry after dry ashing.
- Jorhem L. Determination of metals in foods by atomic absorption spectrometry after dry ashing: NMKL collaborative study. *JAOAC Int.* 2000; 83:1204-11.
- Gelman AL. Some studies with a Varian VGA-76 hydride generator for selenium determination. *Varian instruments at work* 1985; AA-44.
- Zachariadis GA, Raidou ES, Themelis DG, Stratis JA. Determination of mineral content of active dry yeast used in pharmaceutical formulations. *J Pharm Biomed Anal* 2002; 28(3-4):463-73.
- Adler PR, Wilcox GE. Rapid perchloric acid methods for analysis of major elements in plant tissue. *Commun. Soil Sci. Plant Anal* 1985;16:1153-63.
- Adrian WJ. A comparison of a wet pressure digestion method with other commonly used wet and dry-ashing methods. *Analyst* 1973;(1164): 213-16.
- Moeller A, Ambrose RF, Que Hee SS. A comparison of techniques for preparing fish fillet for ICP-AES multielemental analysis and the microwave digestion of whole fish. *Food Addit Contam* 2001;18(1):19-29.
- Abu-Samra A, Morris JS, Koirtzyhann SR. Wet Ashing of Some Biological Samples in a Microwave Oven. *Anal. Chem* 1975; 47:1475-7.
- Locke J. The application of plasma source atomic emission spectrometry in forensic science. *Analytica Chimica Acta* 1980;113 (1):3-12.
- Scanar J, Milacic R, Benedik M, Bukovec P. Determination of trace elements and calcium in bone of the human iliac crest by atomic absorption spectrometry. *Clin Chim Acta* 2000; 293(1-2):187-97.

- Andrasi E, Igaz S, Szoboszlai N, et al. Several methods to determine heavy metals in the human brain. *Spectrochim. Acta Part B* 1999;54:819-25.
- Horowitz W. (Ed) 2000. Official Methods of Analysis 17th Ed. AOAC Arlington, VA, Method 986.15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods.
- EC document SANCO/3030/99 rev.4 11/07/00. Technical material&preparations: guidance for generating & reprinting methods of analysis in support of pre- and post-registration data requirements for Annex II (part A, Section 4) and Annex III (part A, section 5) of directive 91/414.
- Analytical methods. Publication No 85-100009-00. Varian Australia, Mulgrave Victoria, 1989: 14-40.
- Pavlović Z, Miletić I, Đorđević B, Elezović M. Mineralni sastojci u mlečnim čokoladama. *Hrana i ishrana* 1997; 38 (5-6): 25-7.

### A comparison of different methods for preparing meat samples for determination of mineral content by atomic spectroscopy

Zoran Pavlović,  
 Milan Mirić,  
 Ivanka Miletić,  
 Sładana Sobajić

<sup>1</sup>Institute for Public Health Požarevac  
<sup>2</sup>Faculty of Pharmacy, University of Belgrade

**Summary:** Investigation of the content of elements in food samples requires the destruction of the organic substance by dry, or one of several wet digestion procedures: ashing in open or closed vessels and use of heater or microwave oven. The efficiency of three methods of meat digestion was evaluated for the analytical determination of Cu, Fe, Zn, Ca, Mg, Na and K. These methods were: nitric acid wet digestion in sealed teflon vessels; nitric acid/perchloric acid wet digestion; and dry ashing. The final solutions were subsequently analyzed for Cu, Fe, Zn, Ca and Mg by flame atomic absorption spectroscopy (FAAS) and for Na and K by atomic emission spectroscopy (AES). Cu, Zn and Mg could be reliably determined by any of the tested methods, while for the other elements, mineralisation in sealed teflon vessels showed higher content in the meat than the dry ashing ( $p < 0.05$ ). The with-ashing in sealed teflon vessels was also the most precise method and with the highest recoveries' values.

**Key words:** meat, decomposition methods, atomic spectroscopy.