

Maciej Bilek, Natalia Matłok¹⁾, Józef Gorzelany¹⁾, Janina Kaniuczak²⁾

ZASTOSOWANIE METODY HPLC-ELSD I HPIC-CD DO OCENY SKŁADU CHEMICZNEGO OWOCÓW POMIDORA SZKLARNIOWEGO

Wydziałowe Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego, Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego
Kierownik: prof. dr hab. inż. J. Kaniuczak

¹⁾ Katedra Inżynierii Produkcji Rolno-Spożywczej
Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego
Kierownik: prof. dr hab. inż. S. Sosnowski

²⁾ Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii
Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego
Kierownik: prof. dr hab. inż. J. Kaniuczak

W pracy określono przydatność metod chromatograficznych do oceny zawartości cukrów prostych i anionów nieorganicznych w owocach. Wybrano cztery odmiany pomidora szklarniowego, pochodzące ze szklarni o jednorodnych warunkach wzrostu i rozwoju roślin. Uzyskane wyniki są zgodne z otrzymywanymi tradycyjnymi metodami analitycznymi. Potwierdzono przydatność zestawu HPLC-ELSD do badania cukrów w owocach oraz chromatografii jonowej do badania anionów nieorganicznych.

Słowa kluczowe: chromatografia cieczowa HPLC z detekcją ELSD, chromatografia jonowa HPIC z detekcją konduktometryczną, cukry proste, aniony nieorganiczne, pomidor szklarniowy.

Key words: high performance liquid chromatography with ELSD detection, ion chromatography with conductometric detection, sugars, inorganic anions, greenhouse tomato.

Zawartość węglowodanów i anionów nieorganicznych jest istotnym parametrem jakościowym i zdrowotnym owoców i warzyw (1). Z tego też powodu badania zawartości tych składników są wykonywane w laboratoriach analitycznych bardzo często. Dla oznaczania zawartości cukrów prostych stosuje się najczęściej metody miareczkowe: *Luff-Schoorla* (2), *Shaffera-Hartmana* i *Lothrop-Holmesa* (3) *Lane-Eynona* (4) lub metodą kolorymetryczną *Somogyi-Nelsona* (5). Natomiast ocenę zawartości anionów nieorganicznych ogranicza się do azotanów (V) i azotanów(III), które oznacza się metodą spektrofotometryczną, zalecaną przez Polskie Normy (PN-92/A-75112 „Owoce, warzywa i ich przetwory. Oznaczenie zawartości azotanów i azotynów”) (6, 7).

Od stosunkowo niedawna w laboratoriach o typowo rolniczym i żywnościowym profilu wprowadzono dla oznaczania zawartości cukrów metody chromatograficzne.

W owocach pomidorów chromatograficznie cukry analizowano z użyciem detekcji refraktometrycznej (8, 9, 10). Natomiast w oznaczaniu zawartości anionów nieorganicznych w produktach żywnościowych – głównie azotanów(III) i azotanów(V) – znaczenia nabrała ostatnio elektroforeza kapilarna (11) i klasyczna chromatografia cieczowa z detekcją spektrofotometryczną (12), podczas gdy metoda chromatografii jonowej nadal pozostaje standardowym narzędziem do analizy wodnych próbek środowiskowych i płynnych próbek żywnościowych (13, 14).

W pracy podjęto próbę zastosowania metod chromatograficznych do analizy składu owoców. Do oszacowania zawartości cukrów prostych użyto metodę chromatografii cieczowej wysokosprawnej z detekcją rozproszonego światła laserowego, zaś do oceny anionów nieorganicznych – metodę chromatografii jonowej z detekcją konduktometryczną. Jako obiekt badań wybrano owoce czterech odmian pomidora, gatunku powszechnie znanego i cenionego ze względu na smakowe i zdrowotne walory owoców.

MATERIAŁ I METODY

Dla wykazania potencjalnej przydatności wymienionych metod chromatograficznych do oceny zawartości cukrów i anionów nieorganicznych w owocach, pobrano do analizy owoce pomidora czterech odmian: VPI F₁ Pink King, Faworyt, Malinowy Olbrzym i Akron F₁, uprawianych w jednej szklarni, metodą ekologiczną z wykorzystaniem kropelkowego systemu nawadniania oraz ochrony i nawożenia przy użyciu efektywnych mikroorganizmów (EM). Pomidory uprawiane były na naturalnym substracie BioKing. Nasiona przed wysianiem zaprawiane były 10% roztworem EM Naturalnie Aktywny. W trakcie procesu wegetacji systematycznie prowadzone były zabiegi bezpośredniego oprysku roślin preparatem EM Naturalnie Aktywny o stężeniu ok. 15% oraz rozcieńczonym w stosunku 1:10 wodnym maceratem z pokrzyw.

Owoce badanych odmian pomidorów szklarniowych, pobrane w stadium dojrzałości konsumpcyjnej, przewieziono do Wydziałowego Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego, gdzie bezpośrednio po dostarczeniu wykonano analizy.

Próbki do analizy zawartości cukrów przygotowywane były wg następującej procedury: trzy owoce każdej z czterech odmian homogenizowano osobno w młynku laboratoryjnym, a następnie odważano po 10 g materiału i przenoszono do trzech kolbek okrągłodennych. Dodawano 30 cm³ 96% etanolu i 10 cm³ wody destylowanej. Próbki następnie utrwalano poprzez gotowanie pod chłodnicą zwrotną przez 30 min i odwirowywano w wirówce (4500 obrotów, 30 min). Supernatanty zlewano do kolbek miarowych i uzupełniano wodą dejonizowaną do obj. 50 cm³. Analizę chromatograficzną uzyskanych w ten sposób dwunastu próbek (po trzy dla każdej z czterech odmian) poprzedzało przesączenie przez filtry strzykawkowe MCE (mieszanka estrów celulozy) o średnicy porów 0,45 μm, pochodzące z firmy Alchem.

Do analizy zawartości cukrów w badanych owocach pomidora zastosowano wysokosprawny chromatograf cieczowy firmy Varian, składający się z dwóch pomp wysokociśnieniowych Varian LC 212, automatycznego podajnika prób Varian ProStar 410,

ewaporacyjnego detektora promieniowania rozproszonego Varian ELSD 385 LC oraz modułu integrującego Varian Star 800. Do rozdzielania chromatograficznego użyto kolumny chromatograficznej Cosmosil Sugar D 5 μm , 250 mm \times 4,6 mm. Ustalono optymalne parametry analizy chromatograficznej: przepływ izokratyczny; skład fazy ruchomej: acetonitryl:woda 80:20 v/v; prędkość przepływu fazy ruchomej: 1 cm^3/min ; objętość nastrzyku: 25 μl ; temp. wewnątrz termostatu kolumnowego: 35°C; temp. tacy automatycznego podajnika próbek: 4°C.

Oszacowano podstawowe parametry walidacyjne zastosowanej metody analitycznej. Specyficzność metody została potwierdzona nastrzykami pojedynczych wzorców badanych cukrów: fruktozy, glukozy i sacharozy oraz ich mieszaniny. Precyzję potwierdzano poprzez trzykrotne powtórzenia nastrzyku zestawu wzorców i każdej z próbek. Dla trzech wymienionych cukrów określona została również liniowość odpowiedzi detektora na zadane stężenia roztworów wzorcowych w zakresie od 1,0 do 20 mg/cm^3 . Pełna kalibracja została przeprowadzona na początku i na końcu analizy (36 nastrzyków, 12 godz.). Krzywe kalibracyjne dla każdej serii otrzymywano wyciągając średnią z dwóch wartości uzyskanych dla każdego poziomu kalibracyjnego w odstępie 12 godz. Dla fruktozy uzyskano krzywą o wzorze $y = 39,642x - 38,064$ i współczynniku $R^2 = 0,9992$, dla glukozy o wzorze $y = 40,652x - 45,175$ i współczynniku $R^2 = 0,999$, zaś dla sacharozy o wzorze $y = 39,25x - 53,378$ i współczynniku $R^2 = 0,998$. Wzorce cukrów pochodziły z firmy Sigma-Aldrich.

Próbki do oceny zawartości anionów nieorganicznych przygotowywane były wg następującej procedury: trzy owoce każdej z czterech badanych odmian homogenizowano osobno z użyciem młynka laboratoryjnego. Następnie, do zlewek obj. 250 cm^3 , przenoszono 10 g naważki, które zalewano wodą dejonizowaną do objętości ok. 90 cm^3 i intensywnie wytrząsano przez 15 min. Otrzymany wodny ekstrakt przenoszono do kolbek miarowych obj. 100 cm^3 i uzupełniano wodą dejonizowaną do kreski. Tak otrzymano po trzy próbki dla każdej z czterech odmian, które przed nastrzyknięciem na układ chromatograficzny były sączone przez filtry strzykawkowe MCE 0,45 μm , pochodzące z firmy Alchem.

Do oceny zawartości anionów w owocach pomidorów zastosowano metodę chromatografii jonowej z wykorzystaniem aparatu Dionex ICS 1000, sterowanego przez program Chromeleon w wersji 6.8. Roztwór wzorcowy, zawierający siedem anionów, pochodził z firmy Thermo Scientific. Fazę ruchomą sporządzono rozcieńczając stukrotnie roztwór wyjściowy węglańki i wodorowęglanu sodu (0,8 $\text{mol}/\text{dm}^3 \text{Na}_2\text{CO}_3/0,1 \text{mol}/\text{dm}^3 \text{NaHCO}_3$) firmy Thermo Scientific, dedykowany kolumnie analitycznej AS 14A. Stosowano przepływ izokratyczny o prędkości 1 cm^3/min . Rozdział chromatograficzny prowadzono za pomocą kolumny analitycznej IonPack AS 14A wraz z kolumną ochronną AS 14G firmy Thermo Scientific. Kolumnę termostutowano w temp. 30°C. Stosowano detekcję konduktometryczną, a temp. celki pomiarowej wynosiła 35°C. Do tłumienia przewodnictwa fazy zastosowano supresor ASRS-4 mm. Częstotliwość sczytywania danych ustalono na 5.0 Hz. Chromatogramy opracowywano za pomocą programu Chromeleon 6.8.

Oszacowano podstawowe parametry walidacyjne zastosowanej metody analitycznej. Specyficzność metody została potwierdzona nastrzykami zestawu wzorców siedmiu anionów nieorganicznych. Określona została liniowość odpowiedzi detektora na zadane stężenia roztworów wzorcowych w zakresie od 1 do 20 mg/dm^3 dla

fluorków, od 5 do 100 mg/dm³ dla chlorków, azotanów(III), bromków, azotanów(V) i siarczanów(VI) oraz od 10 do 200 mg/dm³ dla fosforanów. Dla anionów fluorkowych uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,3329x - 0,1869$ i współczynnika $R^2 = 0,9989$, dla anionów chlorkowych uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,2932x - 1,4205$ i współczynnika $R^2 = 0,9989$, dla anionów azotanowych(III) uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,1477x - 0,3295$ i współczynnika $R^2 = 0,9992$, dla anionów bromkowych uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,1075x - 0,5488$ i współczynnika $R^2 = 0,9979$, dla anionów azotanowych(V) uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,154x - 0,8624$ i współczynnika $R^2 = 0,9977$, dla anionów fosforanowych uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,0791x - 1,0334$ i współczynnika $R^2 = 0,9972$, zaś dla anionów siarczanowych(VI) uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,2x - 1,0863$ i współczynnika $R^2 = 0,9978$.

Precyzję opisanej metody analitycznej potwierdzano poprzez trzykrotne powtórzenia nastrzyku zestawu wzorców i każdej z próbek. Stabilność układu chromatograficznego kontrolowana była w 5 godz. odstępach poprzez nastrzyki zestawu wzorców w którym stężenia anionów odpowiadały najczęściej uzyskiwanym wynikom dla przygotowanych próbek. Ponadto, celem potwierdzenia identyfikacji poszczególnych analitów, dla każdej próbki prowadzono kontrolę poprzez fortyfikację wzorcem siedmiu anionów.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tab. I przedstawiono wyniki analiz chromatograficznych oznaczania zawartości cukrów prostych w owocach pomidora szklarniowego. W żadnej z badanych odmian nie odnotowano obecności sacharozy, w każdej zaś stwierdzono zawartość fruktozy i glukozy. Średnia zawartość fruktozy w owocach badanych odmian pomidorów szklarniowych wynosiła od 0,86 g/100 g surowca dla owoców odmiany VP1 F₁ „Pink King” do 1,24 g/100 g surowca dla odmiany Akron F₁. Średnia zawartość fruktozy w owocach czterech badanych odmian pomidorów szklarniowych wynosiła 1,05 g/100 g surowca. Natomiast zawartość glukozy w badanych owocach pomidorów była w zakresie od 0,57 g/100 g surowca dla odmiany VP F₁ „Pink King” do 0,93 g/100 g surowca dla owoców pomidora odmiany Akron F₁. Średnia zawartość glukozy dla wszystkich badanych odmian pomidorów wynosiła 0,74 g/100 g surowca.

Największą zawartością cukrów prostych wśród badanych czterech odmian pomidorów szklarniowych uprawianych metodą ekologiczną odznaczała się odmiana Akron F₁. Średnia suma glukozy i fruktozy w owocach pomidorów tej odmiany wynosiła 2,16 g/100 g surowca. Średnie sumy cukrów w pomidorach odmiany Faworyt i Malinowy Olbrzym były zbliżone i wynosiły odpowiednio: 1,74 g/100 g surowca i 1,81 g/100 g surowca. Najmniejszą średnią sumę cukrów prostych, wynoszącą 1,44 g/100 g surowca, odnotowano dla odmiany VP F₁ „Pink King”.

Otrzymane wyniki są zbieżne z wynikami otrzymanymi klasycznymi metodami miareczkowymi. Według danych historycznych, w zależności od miejsca poboru i odmiany, zawartość glukozy w świeżych owocach pomidorów wynosi od 1,89 do 2,50 g/100 g, zaś fruktozy od 1,59 do 2,04 g/100 g (3). Szereg publikacji podaje wy-

niki dla sumy tzw. „cukrów redukujących” lub „cukrów ogółem”, co w przypadku owoców pomidora oznacza zawartość glukozy i fruktozy. W badaniach polskich autorów uzyskiwano m.in. następujące wyniki zawartości cukrów redukujących w 100 g świeżej masy owoców pomidora: od 2,62 do 2,83 (2), od 2,07 do 3,93 (3), od 1,37 do 2,06 (15). Według danych uzyskanych metodą HPLC z detekcją refraktometryczną (RI), zawartość sacharozy w różnych odmianach pomidorów jest śladowa (poniżej 0,1%). Natomiast dwoma wykrywanymi cukrami redukującymi są glukoza i fruktoza, które łącznie, w zależności od odmiany i pory zbioru, stanowią od 2,17 do 5,00 g/100 g świeżych owoców (8) i od 2,21 do 4,66 g/100 g świeżych owoców (9). Z użyciem detekcji refraktometrycznej określana była także zawartość poszczególnych cukrów w świeżej masie owoców pomidora, która wynosiła od 1,017 do 1,202 dla fruktozy i od 1,064 do 1,346 dla glukozy (10).

Tab e l a I. Zawartość fruktozy i glukozy w badanych próbkach
 Tab l e I. Content of fructose and glucose in the studied samples

Odmiana	Naważka	Zawartość (g/100 g surowca)			
		fruktoza ± SD, (n=3)	glukoza ± SD, (n=3)	suma cukrów	średnia suma cukrów
VP1 F ₁ „Pink King”	1	0,74±0,052	0,47±0,074	1,21	1,44±0,246
	2	1,02±0,067	0,68±0,028	1,70	
	3	0,84±0,055	0,57±0,161	1,41	
Faworyt	1	1,08±0,050	0,80±0,050	1,88	1,74±0,120
	2	0,99±0,199	0,66±0,200	1,65	
	3	0,92±0,068	0,78±0,059	1,70	
Malinowy Olbrzym	1	0,96±0,037	0,62±0,022	1,58	1,81±0,225
	2	1,20±0,108	0,83±0,154	2,03	
	3	1,13±0,084	0,71±0,129	1,84	
Akron F ₁	1	0,96±0,008	0,70±0,027	1,66	2,16±0,525
	2	1,23±0,057	0,90±0,074	2,13	
	3	1,52±0,117	1,19±0,195	2,71	

W tab. II zamieszczono wyniki dotyczące zawartości anionów nieorganicznych w owocach pomidora szklarniowego.

W profilu anionów nieorganicznych możliwe było zidentyfikowanie fluorków, chlorków, azotanów(V), fosforanów i siarczanów(VI). Problematiczne jest natomiast określenie zawartości azotanów(III), ze względu na koelucję z niezidentyfikowanym składnikiem przy opisanych warunkach chromatografowania. Najwyższe stężenia odnotowano dla fosforanów. Średnia ich zawartość była w zakresie od 84,78 mg/100 g surowca dla odmiany Akron F₁ do 131,09 mg/100 g surowca dla odmiany VIP F₁ „Pink King”. Zawartość chlorków w badanych owocach pomidorów wynosiła średnio od 23,88 mg/100 g surowca dla odmiany Akron F₁ do 43,17 mg/100 g surowca dla odmiany Malinowy Olbrzym. Średnie zawartości azotanów(V) wynosiły od 7,44 mg/100 g surowca dla odmiany Akron F₁ do 11,11 mg/100 g surowca dla odmiany

Malinowy Olbrzym, natomiast siarczanów(VI) od 17,48 mg/100 g surowca dla odmiany VP1 F₁ „Pink King” do 22,81 mg/100 g surowca dla odmiany Akron F₁. Najniższą stwierdzoną zawartością w badanym profilu anionów nieorganicznych odznaczały się fluorki. Ich średnia zawartość wynosiła od 3,65 mg/100 g surowca dla odmiany Faworyt do 5,08 mg/100 g surowca dla odmiany Malinowy Olbrzym.

Tabela II. Zawartość anionów nieorganicznych w badanych próbkach

Table II. Content of inorganic anions in the studied samples

Odmiana	Naważka	Zawartość (mg/100 g surowca)				
		fluorków ±SD, (n=3)	chlorków ± SD, (n=3)	azotanów ± SD, (n=3)	fosforanów ± SD, (n=3)	siarczanów ± SD, (n=3)
VP1 F ₁ „Pink King”	1	3,79±0,034	34,88±0,190	9,77±0,020	130,19±0,151	16,52±0,009
	2	3,58±0,115	38,59±0,089	9,89±0,036	132,91±0,900	17,32±0,031
	3	4,49±0,067	44,68±0,069	10,19±0,017	130,18±0,130	18,62±0,020
Faworyt	1	4,96±0,010	32,35±0,120	9,01±0,030	86,71±0,075	20,94±0,015
	2	2,66±0,056	28,94±0,097	8,76±0,090	84,57±0,056	20,96±0,041
	3	3,35±0,076	28,87±0,090	9,30±0,014	88,02±0,091	20,50±0,081
Malinowy Olbrzym	1	4,67±0,109	43,19±0,083	10,39±0,023	129,28±0,102	19,03±0,010
	2	5,62±0,012	40,06±0,131	10,61±0,054	125,17±0,009	16,69±0,091
	3	4,95±0,098	46,26±0,191	12,34±0,010	137,24±0,056	19,87±0,063
Akron F ₁	1	3,47±0,030	22,87±0,090	7,30±0,004	81,02±0,081	22,17±0,009
	2	3,79±0,082	23,84±0,012	7,23±0,027	84,16±0,090	22,70±0,019
	3	4,05±0,029	24,94±0,109	7,81±0,049	89,18±0,113	23,57±0,027

Spośród anionów nieorganicznych najczęściej badana była do tej pory w owocach pomidora zawartość azotanów(III) i azotanów(V) metodą spektrofotometryczną. Odnotowane zawartości azotanów(V) w pomidorach pochodzących z regionu łódzkiego, zebranych w okresie wiosenno-letnim, wynosiły od 68,9 do 125,3 mg/kg świeżych owoców (7), w pomidorach pozyskanych z handlu detalicznego w Olsztynie na przestrzeni dwóch okresów wegetacyjnych od 3,72 do 90,84 mg/kg świeżych owoców (6), zaś w trzech odmianach pomidorów, uprawianych w stacji eksperymentalnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, od 76,54 do 337,17 mg/kg świeżych owoców (16). Podobnie kształtowały się zawartości azotanów(V) oznaczone w pomidorach metodą chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną: w zakresie od 30 do 100 mg/kg świeżych owoców (17).

Zawartości innych anionów nieorganicznych w świeżych owocach pomidora nie badano do tej pory. Zagadnienie siarczanów(VI) pojawia się w wynikach badań wyłącznie w kontekście upraw pomidora, w których modyfikowano doglebową podaż tego anionu w nawozach mineralnych (18) lub zawartości w liściach i korzeniach, nie zaś owocach (19). Dostępnych jest wiele wyników badań zawartości fluorków w przetwarzanych produktach spożywczych, takich jak soki, czy przeciery owocowe i warzywne, także pomidorowe. Nieliczne dotyczą obecności fluorków w świeżych owocach. Jedyna praca analityczna, w której badano zawartość fluorków w po-

midorach dotyczy suszonego materiału roślinnego, a zastosowaną techniką była jonoselektywna elektroda fluorkowa (20).

WNIOSKI

1. Zastosowanie metod chromatograficznych, z opisaniem sposobem przygotowywania próbki, potwierdza wyniki uzyskane przez innych autorów klasycznymi metodami analitycznymi;
2. Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją ELSD pozwala, w przeciwieństwie do tradycyjnych metod miareczkowych, określić zawartość poszczególnych cukrów prostych w badanej próbce: fruktozy i glukozy;
3. Metoda chromatografii jonowej pozwala na jednoczesne określenie zawartości w próbce pięciu anionów nieorganicznych, w tym najczęściej badanych azotanów (V), jednak oznaczenie zawartości azotanów (III), przy opisanych warunkach chromatografowania, jest problematyczne.
4. Metody chromatograficzne, dzięki wysokiej precyzji i automatyzacji, pozwalają na szybkie i rutynowe analizy próbek owoców.

M. Bilek, N. Matłok, J. Gorzelany, J. Kaniuczak

APPLICATION OF THE HPLC-ELSD AND HPIC-CD METHODS TO EVALUATE CHEMICAL COMPOSITION OF GREENHOUSE TOMATO FRUITS

Summary

The aim of the study was to determine the usefulness of high performance liquid chromatography with the evaporation light scattering radiation detection (HPLC-ELSD) and ion chromatography with conductometric detection (HPIC-CD) to analyze the chemical contents of fruits, i.e. sugars and inorganic anions. Currently, these analyzes are performed mostly by the conventional analytical titration methods. Four greenhouse tomato varieties were selected and obtained from one greenhouse with uniform conditions of plant growth and development. The results are consistent with the results obtained by conventional analytical methods and chromatographic methods with other types of detection. Usefulness of HPLC-ELSD set to test the sugar content in fruits and ion chromatograph to examine the content of inorganic anions was confirmed. High performance liquid chromatography with ELSD detection allows – in contrast to traditional titration methods – determine the content of each monosaccharide in the sample. Similarly, ion chromatography method enables the simultaneous determination of the content of five inorganic anions, including the most frequently studied nitrates. The disadvantage of this method is the inability to determine the content of nitrites in the specified chromatographic conditions. These chromatographic methods, owing to the high precision and automation, in combination with the described methods of sample preparation, facilitate rapid routine analysis of the contents of fruits. .

PIŚMIENNICTWO

1. Raben A., Hermansen K.: Health Aspects of Mono- and Disaccharides. Eliasson A. (red.): Carbohydrates in Food, Taylor&Francis Boca-Raton, 2006; 89-128. – 2. Kleiber T., Markiewicz B.: Application of „Tytanit” in greenhouse tomato growing. Acta Sci. Pol. Hort. Cult., 2013; 12(3): 117-126. – 3. Saywell L.G., Robertson D.P.: Carbohydrate content of tomato fruit. Plant Physiol. 1932; 7(4): 705-710. – 4. Winiarska S., Kolota E.: Porównanie plonowania i wartości odżywczej wybranych odmian pomidora w uprawie przy palikach w tunelu foliowym. Roczn. Akad. Rol. Pozn. 2007; 383(41): 655-659. – 5. Jabłońska-Ryś

E., Zalewska-Korona M.: Ocena przydatności do przetwórstwa owoców pomidora gruntowego nowych linii hodowlanych. *Nowości Warzywnicze*, 2010; 50(1): 19-28. – 6. *Murawa D., Banaszekiewicz T., Majewska E., Błaszczuk B., Sulima J.*: Zawartość azotanów (III) i (V) w wybranych gatunkach warzyw i ziemniakach dostępnych w handlu w Olsztynie w latach 2003–2004. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 41(1): 67-71. – 7. *Gajewska M., Czajkowska A., Bartodziejska B.*: Zawartość azotanów (III) i (V) w wybranych warzywach dostępnych w handlu detalicznym regionu łódzkiego. *Ochr. Środ. Zas. Nat.*, 2009; 40: 388-395. – 8. *Georgelis N., Scott J.W., Baldwin E.A.*: Relationship of tomato fruit sugar concentration with physical and chemical traits and linkage od RAPD markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 2004; 129(6): 839-845. – 9. *Georgelis N.*: High fruit sugar characterization, inheritance and linkage of molecular markers in tomato. University of Florida 2002: 16-18. – 10. *Smoleń S., Wierzbicka J., Liszka-Skoczylas M., Rakoczy R.*: Wpływ formy jodu na plonowanie oraz jakość owoców pomidora uprawianego w systemie hydroponicznym CKP. *Ochr. Środ. Zas. Nat.*, 2011; 48: 59-66.

11. *Olędzka I., Konieczna L.*: Opracowanie metody oznaczania zawartości azotanów (III) i (V) w przetworach mięsnych z zastosowaniem kapilarnej elektroforezy strefowej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 42(3): 503-507. – 12. *Jobgen W.S., Meininger S. C., Li H., Meininger C. J., Wu G.*: Analysis of nitrite and nitrate in biological Samples Using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B.*, 2007; 851(1-2): 71-82. – 13. *Bilek M., Stawarczyk K., Kaniuczak J.*: Fluorki w wybranych herbatach ekspresowych. *Zesz. Nauk. Pol.-Wsch. Oddz. Pol. Tow. Inż. Ekol. i PTG O Rzeszów*, 2013; 16(1): 7-12. – 14. *M. Bilek, M. Stawarczyk, A. Stepien, M. Pieniążek*: Analiza wybranych parametrów jakościowych i zdrowotnych win wytrawnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 46(4): 440-448. – 15. *Zalewska-Krona M., Jabłońska-Ryś E., Michalak-Majewska M.*: Wartości odżywcze i prozdrowotne owoców pomidora gruntowego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 46(2): 200-205. – 16. *Majkowska-Gadomska J., Arcichowska K., Wierzbicka B.*: Nitrate content of the edible part of vegetables and spice plants. *Acta Sci. Pol., Hort. Cult.*, 2009; 8(3): 25-35. – 17. *Tamme T., Reinik M., Roasto M., Juhkam K., Tenno T., Kiis A.*: Nitrates and nitrites in vegetables and vegetable-based products and their intakes by Estonian population. *Food Addit. Contam.*, 2006; 23(4): 355-361. – 18. *Rożek S., Sady W., Kowalska I., Smoleń S.*: The effect of the sulphate concentration in the nutrient solution on nitrate content and on some components of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum Mill.*). *Horticulture and Vegetable Growing*, 2004; 23(2): 343-351. – 19. *Kowalska I.*: Effects of sulphate level in the nutrient solution on plant growth and sulphur content in tomato plants. *Folia Horticulturae*, 2005; 17(1): 91-100. – 20. *Yadav R.K., Dharma S., Bansal M., Singh A., Panday V., Maheshwari R.*: Effects of Fluoride Accumulation on Growth of Vegetables and Crops in Dausa District, Rajasthan, India. *Advances in Bioresearch*, 2012; 3(4): 14-16.

Adres: 35-601 Rzeszów, ul. Ćwiklińskiej 2