

Magdalena POLAK – ŚLIWIŃSKA, Stefan S. SMOZYŃSKI, Andrzej KUNCEWICZ, Zbigniew BOREJSZO
Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności
Wydział Nauki o Żywności
Uniwersytet Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Zastosowanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) do oceny zanieczyszczenia patuliną soków owocowo – warzywnych z upraw ekologicznych i konwencjonalnych

Streszczenie

Stale rosnąca rola zapewniania bezpieczeństwa żywności w ochronie konsumenta skłania do podejmowania badań nad problematyką występowania mikotoksyn w wybranych grupach produktów spożywczych wytworzonych różnymi metodami produkcji. Celem badań była ocena zanieczyszczenia patuliną soków owocowo – warzywnych poprzez zastosowanie techniki HPLC. Materiałem do badań były soki owocowo – warzywne (klarowne i mętne) pochodzące z produkcji ekologicznej (n=7) zakupione w sklepach z żywnością ekologiczną oraz z produkcji konwencjonalnej (n=15), zakupione w supermarketach na terenie Warmii i Mazur. Analizy wykazały, że soki owocowo – warzywne ekologiczne charakteryzowały się niższą zawartością tej toksyny w porównaniu z ich odpowiednikami konwencjonalnymi. Badania zanieczyszczenia patuliną soków rynkowych pochodzących z różnych metod produkcji są znaczące dla konsumentów, gdyż przyczyniają się do zwiększenia ich świadomości oraz kształtują preferencje zakupowe.

Słowa kluczowe: mikotoksyny, patulina (PAT), soki ekologiczne i konwencjonalne, uprawa ekologiczna i konwencjonalna

The evaluation of patulin contamination in fruit and vegetable juices from organic and conventional farming using high performance liquid chromatography (HPLC)

Summary

The constantly growing role of food safety in consumer protection tends to make research on the issues of the occurrence of mycotoxins in selected groups of food products produced different methods of production. The aim of present study was the assessment of patulin contamination in fruit and vegetable juices through the use of HPLC method. The material for the study were the juices of fruits and vegetables (clear and cloudy) derived from organic production (n = 7) purchased in stores with organic food and the production of conventional (n = 15) purchased in supermarket in region Warmia and Mazury. The analysis showed that organic fruit and vegetable juices contained the lower content of this toxin in comparison with their conventional counterparts. The studies of patulin contamination in juices market from different methods of production are significant for consumers, as they contribute to increasing awareness and shape their shopping preferences.

Key words: mycotoxin, patulin (PAT), organic and conventional juices, organic and conventional farming

Wstęp

Współczesny stan wiedzy żywieniowej wskazuje, że warzywa i owoce oraz ich przetwory powinny mieć stałe miejsce w diecie człowieka i być spożywane nawet kilka razy w ciągu dnia (Świetlikowska i in. 2012). Popyt na soki owocowo – warzywne wzrósł wraz ze wzrostem świadomości i wymagań konsumentów, ich rosnącej wiedzy na temat żywności (Janiszewska, Sakowski 2012). Spośród szerokiego asortymentu soków, soki przecierowe zyskują największe uznanie (Kubiak 2001; Mitek, Kalisz 2003; Lubecka, Pogorzelski 2006). Owoce i warzywa wprowadzają do diety witaminy, składniki mineralne, błonnik, przeciwutleniacze (np. polifenole). Stanowią bogate źródło cukrów prostych, olejków eterycznych, kwasów organicznych i innych cennych dla organizmu substancji, stanowiąc tym samym naturalne źródło związków, pozwalających na zwiększenie potencjału oksydacyjnego w organizmie człowieka (Krugala i in. 2001; Mitek, Kalisz 2003). Aby uzyskać przetwory owocowo – warzywne, w tym soki o najwyż-

szej jakości żywieniowej należy dbać o jakość surowca, którą kształtuje system produkcji oraz sposób przetwarzania surowców (Sękul i in. 2011; Świetlikowska i in. 2012).

W ostatnich latach zauważa się duże zainteresowanie żywnością ekologiczną oraz porównywanie jej z żywnością wytwarzaną w sposób konwencjonalny, co wynika także z badań objętych monitoringiem żywności. Nie jest to zaskakujące, biorąc pod uwagę, że typowe praktyki rolnictwa ekologicznego charakteryzują się bardzo ścisłymi ograniczeniami, co do stosowania pestycydów syntetycznych (fungicydy, herbicydy, insektycydy) oraz stosowania nawozów syntetycznych (Świetlikowska i in. 2012). Fakt ten może prowadzić do produkcji żywności bardziej podatnej na rozwój grzybów toksynotwórczych, a co za tym idzie, na zanieczyszczenie mikotoksynami (Polak – Śliwińska i in. 2013). Należy wziąć pod uwagę, że najważniejszymi czynnikami, które wpływają na obecność mikotoksyn w żywności jest atak owadów, uszkodzenia warzyw i owoców podczas zbioru,

temperatura oraz wilgotność podczas przechowywania (Magkos i in. 2006; Reddy i in. 2010). W ostatnich latach spożycie produktów ekologicznych stało się popularniejsze z wielu powodów, z których najważniejszymi są korzyści zdrowotne związane z naturalnie wytwarzaną żywnością, promowaną jako bezpieczniejsza, lepsza do degustacji, przyjazna środowisku i rolnictwu, choć zbierane są w tej kwestii dowody naukowe, bowiem wiele badań wydaje się temu zaprzeczać (Piqué i in. 2013). Na podstawie bieżącej literatury trudno jednoznacznie stwierdzić, że żywność ekologiczna jest bezpieczniejsza i korzystniej wpływa na organizm człowieka niż żywność konwencjonalna, stąd potrzeba wzmocnionych prac w tym kierunku (Hoefkens i in. 2010). Głównie w przypadku nieodpowiedniego doboru surowca do produkcji, soki owocowo – warzywne mogą być zanieczyszczone przez mikotoksynę o nazwie patulina (PAT). Patulina, to substancja o masie cząsteczkowej 154,12 g·mol⁻¹, stabilna w środowisku kwaśnym, lecz nietrwała w środowisku zasadowym, o temperaturze topnienia 110,5°C, o maksimum absorpcji przy $\lambda = 276$ nm w roztworze alkoholowym. Jest toksyną o właściwościach mutagennych, teratogennych i prawdopodobnie rakotwórczych. Stanowi ona najczęściej zanieczyszczenie jabłek i produktów z jabłek (soków, koncentratów, przecierów) (Gökmen, Açar 1996; 1998; 2000; Beretta i in. 2000; Szymczyk i in. 2004; Gökmen i in. 2005; Spadaro i in. 2007; Iha, Sabino 2008). Jej występowanie stwierdza się również w innych owocach, jak banany, gruszki, ananasy, winogrona, brzoskwinie, czarna porzeczka, morele, nektarynki i wiśnie. Może być wykrywana także w zapleśniałych pomidorach i oliwkach (Barkai-Golan, Nachman 2008; Piqué i in. 2013). Z tego powodu patulina służy jako marker jakości owoców użytych do produkcji koncentratów soku jabłkowego (Rovira i in. 1993; Koca, Ekşi 2005). Substancja ta jest wtórnym metabolitem niektórych gatunków grzybów z rodzaju: *Penicillium* (*P. patulum*, *P. claviforme*, *P. expansum*), *Aspergillus* (*A. clavatus*, *A. terreus*, *A. giganteus*), *Byssochlamys* (*B. nivea*, *B. fulva*) (Piqué i in. 2013).

PAT powstaje tylko w uszkodzonych owocach, na których zaczynają rosnąć grzyby toksynotwórcze (Piqué i in. 2013), w konsekwencji zanieczyszczając soki na bazie owoców, które wcześniej długo były przechowywane w magazynach (Welke i in. 2009). Pleśnie wytwarzające PAT rozwijają się w szerokim zakresie temperatury – od 0 do 42°C. Proces pasteryzacji i wyjąławianie w autoklawach nie działają destrukcyjnie na tę substancję. Zakres pH tworzenia patuliny wynosi od 3 do 6,5, więc środowisko kwaśne sprzyja jej występowaniu w produktach spożywczych (Barkai-Golan, Nachman 2008). Jednak podczas obróbki temperaturowej soku jabłkowego (80 °C) można osiągnąć redukcję poziomu patuliny od 15 do 75% po czasie 10 min oddziaływania i 50 - 80% redukcję po czasie 20 min (Scott, Somers 1968). PAT wykazuje stabilność zwłaszcza w produktach przetworzonych tj. soki jabłkowe, koncentraty soków jabłkowych, jabłka w syropie, nektary i inne soki na bazie jabłek. W sytuacji, kiedy sok jabłkowy zostaje poddany fermentacji alkoholowej podczas produkcji wina PAT jest redukowana podczas tego procesu (Barkari – Golan, Nachman 2008). Unikanie zbioru owoców zapleśniałych, filtrowanie soku czy wyciskanie soku bezpośrednio po zbiorze owoców oraz poddawanie owoców procesowi fermentacji alkoholowej lub dodatek kwasu askorbinowego mogą w różnym stopniu unieczynnić tę mikotoksynę, bądź ją zniszczyć (Marth 1992; Prieta i in. 1994;

Sydenham i in. 1995; Koca, Ekşi 2005; Barkai-Golan, Nachman 2008). Stąd zasadnym jest podejmowanie badań pozwalających na kontrolę poziomu tej mikotoksyny w sokach owocowych i owocowo – warzywnych pozyskanych różnymi metodami produkcji.

Cel badań

Celem badań była ocena poziomu patuliny w sokach owocowych i owocowo-warzywnych pochodzących z produkcji ekologicznej oraz z produkcji konwencjonalnej.

Materiały i metody

Materiał

Materiał do badań stanowiły soki owocowe i owocowo - warzywne z uprawy ekologicznej (n=7) i konwencjonalnej (n=15) dostępne w sieciach sprzedaży na terenie Warmii i Mazur (tabela 1 i 2). Analizę próbek przeprowadzano w latach 2010 - 2011 w trzech równoległych powtórzeniach.

Tabela 1. Zestawienie soków konwencjonalnych do badań

Table 1. The list of conventional juices used to study

Nr próbki; No of sample	Rodzaj soku; Type of juice
1	jabłkowy, klarowny; apple, clear
2	jabłkowy 100%, klarowny; apple 100%, clear
3	jabłkowo-brzoskwiniowy, klarowny; apple-peach, clear
4	marchwiowo-jabłkowo-brzoskwiniowy, mętny; carrot-apple-peach, cloudy
5	jabłkowy, klarowny; apple, clear
6	jabłkowy, klarowny; apple, clear
7	jabłko – liczi – limetka, klarowny; apple – lychee – lime, clear
8	marchew – jabłko – brzoskwinia, mętny; carrot – apple – peach, cloudy
9	jabłkowy 100%, klarowny; apple 100%, clear
10	jabłkowo-winogronowy, klarowny; apple-grape, clear
11	jabłkowy, klarowny; apple, clear
12	jabłkowo-malinowy, mętny; apple-raspberry, clear
13	jabłkowo-śliwkowy, mętny; apple-plum, cloudy
14	brzoskwiniowo-jabłkowo-marchwiowy, mętny; peach-apple-carrot, cloudy
15	jabłkowo-marchwiowo-morelowy, mętny; apple-carrot-apricot, cloudy

Izolowanie i oznaczanie patuliny

Oznaczanie zawartości patuliny w badanych sokach owocowo – warzywnych przeprowadzono metodą wysoko-

sprawnej chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych (HPLC-RP) według modyfikacji metod zaproponowanych przez Gökmen i Açar (1996) oraz Rój i Przybyłowski (2007).

Do cylindra miarowego o pojemności 100 ml odmierzone 5 ml próbki soku. Dodano 10 ml octanu etylu i wytrząsano przez 1 minutę. Powstałą górną warstwę odpipetowano za pomocą pipetki Pasteura do drugiego cylindra miarowego o pojemności 100 ml i powtórzono ekstrakcję dwukrotnie. Po ekstrakcji próbki, do cylindra miarowego dodawano 2 ml 1,5% węgla sodu i wytrząsano przez 1 minutę. Następnie oddzieloną górną warstwę przeniesiono do kolbki stożkowej o pojemności 100 ml i całość przesączono przez sączek ilościowy miękki ($\Phi = 125$ mm) wobec 2,5 g bezwodnego siarczanu sodu do kolby okrągłodennej ze szlifem o pojemności 100 ml. Przesącz poddano odparowaniu przy użyciu wyparki próżniowej firmy Unipan typ 356 P z łaźnią wodną typ 350, pozostawiając 2 ml roztworu, którą to pozostałość zateżano w strumieniu azotu o czystości 4,0. Suchą pozostałość wymieszano z 500 μ l wody zakwaszonej o pH 4,0 za pomocą mieszadła laboratoryjnego typu vortex firmy IKA® MSZ. Tak przygotowaną próbkę poddano analizie HPLC.

Tabela 2. Zestawienie soków ekologicznych do badań

Table 2. The list of ecological juices used to study

Nr próbki; No of sample	Rodzaj soku; Type of juice
1	jabłkowo-burakowy, klarowny; apple-beet, clear
2	marchwiowo-jabłkowy, mętny; carrot-apple, cloudy
3	jabłkowo-selerowy, mętny; apple-celery, cloudy
4	jabłko-czarna porzeczka, klarowny; apple-black currant, clear
5	jabłkowo-marchwiowy, mętny; apple-carrot, cloudy
6	jabłko-mango, mętny; apple-mango, cloudy
7	jabłko-czarna porzeczka, klarowny; apple-black currant, clear

Rozdział chromatograficzny badanych próbek przeprowadzono na aparacie LC-10 A firmy Shimadzu (Kioto, Japonia). Warunki analizy HPLC były następujące: kolumna chromatograficzna – Phenomenex® Synergy 4u Hydro-RP 80A, 250 x 4,6 mm z prekolumną Phenomenex® Security Guard Cartiges AQ C18 (4 x 3,0 mm; faza ruchoma: acetonitryl – woda (75:25, v/v); temperatura pracy kolumny: 20°C; prędkość przepływu: 1 ml·min⁻¹; objętość dozowania: 50 μ l; detektor spektrofotometryczny z matrycą fotodiod SPD – M 20A, detekcja przy długości fali $\lambda = 276$ nm; czas analizy: 6 min.

Interpretację jakościową i ilościową otrzymanych chromatogramów przeprowadzono na podstawie porównania czasu retencji i wielkości pola powierzchni piku patuliny w roztworach standardowych o znanym stężeniu PAT a czasem retencji i wielkością pola powierzchni pików tego analitu w próbkach badanych. Na podstawie otrzymanych

chromatogramów próbek badanych obliczono stężenie PAT w analizowanych sokach, posługując się równaniem krzywej wzorcowej PAT opisanej jako $y = 0,62x + 0,65$ ($R^2=0,999$), gdzie: x – stężenie PAT ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), y – pole powierzchni piku patuliny.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie testem Tukey przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wszystkie analizowane produkty były zanieczyszczone patuliną na poziomie nieprzekraczającym najwyższego dopuszczalnego poziomu (NDP) który reguluje Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1881/2006. W badanych sokach najwyższy poziom patuliny oznaczono w soku jabłkowym, klarownym – 12,50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w 1. roku badań i 11,93 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w 2. roku badań (próbka nr 6) oraz w soku jabłkowo – marchwiowo – mofelowym, mętnym – 12,14 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w 1. roku badań (próbka nr 15) i 10,24 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w 2. roku badań (próbka nr 14). Najniższe poziomy tej mikotoksyny wykryto w soku jabłko – liczi – limetka, klarownym i był to poziom 3,46 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w 1. roku badań, zaś 3,43 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w 2. roku badań (próbka nr 7) oraz w soku brzoskwinia – jabłko – marchew – 0,80 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w 1. roku badań (próbka nr 14) oraz 1,47 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w 2. roku badań (próbka nr 15).

Spśród 7 badanych rodzajów soków z certyfikatem rolnictwa ekologicznego dostępnych w rejonie Warmii i Mazur (tabela 2), wszystkie odznaczały się niskim poziomem patuliny, nieprzekraczającym NDP zalecanego dla tej substancji, czyli 50 ppb (tabela 3). Najwyższy oznaczony poziomem PAT charakteryzowały się sok jabłko-seler w 1. roku badań (próbka nr 3) – 2,17 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ oraz sok jabłko – mango w 2. roku badań – 1,73 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (próbka nr 6). Najniższy poziom PAT stwierdzono w soku jabłko-czarna porzeczka (próbka nr 7) w 1. roku badań, który wynosił 0,22 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ oraz w sokach: marchew – jabłko (próbka nr 2) i jabłko-czarna porzeczka (próbka nr 7) w 2. roku badań, który wynosił dla każdego z tych soków 1,03 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Tabela 3. Średnie stężenie patuliny [$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$] w sokach konwencjonalnych i ekologicznych

Table 3. The average concentration of patulin [$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$] in conventional and organic juices

Metoda produkcji; Method of production	Rodzaje soków; Type of juices	Próbki pozytywne; Positive samples	Stężenie PAT, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; Concentration of PAT, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$					
			1 rok badań; 1 year of study			2 rok badań; 2 year of study		
			\bar{x}	min.	max.	\bar{x}	min.	max.
Konwencjonalna; Conventional (n = 15)	Klarowne; Clear (n = 9)	9	7,40 ^a	3,46	12,50	7,53 ^a	3,43	11,93
	Mętne; Cloudy (n = 6)	6	6,18 ^b	0,80	12,14	5,44 ^b	1,48	10,24
Ekologiczna; Organic (n = 7)	Klarowne; Clear (n = 3)	3	1,15 ^c	1,72	0,22	1,27 ^c	1,03	1,43
	Mętne; Cloudy (n = 4)	4	1,66 ^d	1,22	2,17	1,47 ^d	1,03	1,73

Problem zanieczyszczenia patuliną produktów na bazie jabłek podejmuje także wielu badaczy w Europie. Wysokie poziomy PAT (powyżej 250 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) stwierdzono w 52%

jabłek pochodzących z Hiszpanii ($n = 104$) (Jelinek i in. 1989). Warto przy tym podkreślić, że poziom zanieczyszczenia PAT soków jest zazwyczaj niższy, prawdopodobnie z powodu usuwania spleśniałych części owoców wziętych do przetwórstwa. W tym też względzie, obecność PAT oznaczono w 43 ze 100 hiszpańskich soków jabłkowych na poziomie od 10 do 170 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Prieta 1994). Bardzo wysoki poziom PAT (100% próbek) na poziomie od 5 do 75 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ stwierdzono w 44 próbkach tureckich soków jabłkowych (Kardenizm, Ekşi 1997), które to wyniki są zbliżone z badaniami wykonanymi przez Gökmen i Açar (1998), potwierdzającymi zanieczyszczenie PAT 215 próbek soków jabłkowych z Turcji (100% próbek pozytywnych), w których PAT wystąpiła na poziomie od 7 do 376 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, co potwierdzają także badania własne. We Francji patulinę oznaczono w 100% próbek na poziomie powyżej 610 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ w sokach jabłkowych zagęszczonych ($n = 27$) i w 69% próbek win na bazie jabłek ($n = 13$) na poziomie powyżej 300 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Jelinek i in. 1989). Badania prowadzone przez Martins i in. (2002) na obecność mikotoksyn w 351 próbkach różnych odmian jabłek zebranych w Portugalii ujawniły występowanie PAT (powyżej 80,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) w 89% analizowanych próbek. W badaniach przeprowadzonych w Belgii i we Włoszech (Piemontese i in. 2005; Baert i in. 2006) zanieczyszczenie PAT stwierdzono na istotnie wyższym poziomie w sokach ekologicznych jabłkowych niż w sokach z upraw konwencjonalnych. Niemniej jest wyraźna potrzeba wzmoczonych badań w tym kierunku, gdyż dane literaturowe nie wskazują jednoznacznego stanowiska, co do wyższości produkcji ekologicznej nad konwencjonalną także w kontekście stopnia zanieczyszczenia patuliną produktów, w tym soków ekologicznych i konwencjonalnych. Różnicą pomiędzy dwiema metodami produkcji jest stopień uzależnienia rolnictwa od przemysłowych środków produkcji oraz jego oddziaływanie na środowisko przyrodnicze (Zimny 2007). Dlatego potrzeba monitoringu soków owocowych i owocowo-warzywnych tak ekologicznych, jak i konwencjonalnych pod względem zanieczyszczenia PAT jest niezbędna dla ochrony konsumenta.

Podsumowanie

1. Analizy wykazały, że badane soki owocowo – warzywne ekologiczne charakteryzowały się niższą zawartością patuliny w porównaniu do soków konwencjonalnych.
2. Z uwagi na 100% zanieczyszczenie patuliną badanych soków ekologicznych i konwencjonalnych konieczny jest stały nadzór nad jakością tych produktów oraz wdrożenie procedur technologicznych zapobiegających skażeniu PAT w przetwórstwie owocowo-warzywnym.

Bibliografia

1. Baert K., De Meulenaer B., Verdonck F., Huybrechts I., De Henauw S., Vanrolleghem P.A., Devlieghere F. 2006. *Probabilistic exposure assessment of patulin in apple juice for pre-school children in Flanders*. Communication Applied Biological Sciences, Ghent University, 71(1), 11 – 14.
2. Barkai G., Golan R., Nachman P. 2008. *Mycotoxins in fruits and vegetables*. Academic Press. Elsevier.
3. Beretta B., Gaiaschi A., Galli C.L., Restani P. 2000. *Patulin evaluation in apple based food: occurrence and safety evaluation*. Food Additives & Contaminants, 17, 399 – 406.
4. Gökmen V., Açar J. 1996. *Rapid reversed-phase liquid chromatographic determination of patulin in apple juice*. Journal of Chromatography A, 730, 53 – 58.
5. Gökmen V., Açar J. 1998. *An Investigation on the Relationship between patulin and fumaric acid in apple juice concentrates*. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 31, 480 – 483.
6. Gökmen V., Açar J. 2000. *Long-term survey of patulin in apple juice concentrates produced in Turkey*. Food Additives & Contaminants, 17, 933 – 936.
7. Gökmen V., Açar J., Sariodlu K. 2005. *Liquid chromatographic method for the determination of patulin in apple juice using solid phase extraction*. Analytica Chimica Acta, 543, 64 – 69.
8. Hoefkens, C., Sioen, I., Baert, K., De Meulenaer, B., De Henauw, S., Vandekinderen, I., Devlieghere, F., Opsomer, A., Verbeke, W., Camp, J.V. 2010. *Consuming organic versus conventional vegetables: The effect on nutrient and contaminant intakes*. Food and Chemical Toxicology, 48, 3058 – 3066.
9. Iha M., Sabino I. 2008. *Incidence of patulin in Brazilian apple-based drinks*. Food Control, 19, 417 – 422.
10. Janiszewska E., Śakowski P. 2012. *Wpływ stopnia zagęszczenia soku marchwiowego oraz metody zamrażania na parametry procesu zamrażania*. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 571, 49 – 58.
11. Jelinek C.F., Pohland A.E., Wood G.F. 1989. *Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an update*. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 72, 223 – 230.
12. Koca N., Ekşi A. 2005. *Reduction of patulin in apple juice concentrates during storage*. Journal of Food Safety, 25, 1 – 8.
13. Kubiak K. 2001. *Rynek zagęszczonego soku jabłkowego w Polsce i na świecie*. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo – Warzywny, 9, 13 – 18.
14. Lubecka I., Pogorzelski E. 2006. *Wpływ procesu technologicznego na stężenia związków mineralnych w soku i koncentracie jabłkowym*. Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej, 70, 43 – 52.
15. Magkos, F., Arvaniti, F., Zampelas, A. 2006. *Organic food: buying more safety or just peace of mind? A critical review of the literature*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46(1), 23 – 56.
16. Marth, E.H. 1992. *Mycotoxins: production and control*. Food Laboratory News, 8, 34 – 51.
17. Martins M.L., Gimeno A., Martins H.M., Bernardo F. 2002. *Co-occurrence of patulin and citrinin in Portuguese apples with rotten spots*. Food Additives & Contaminants, 19(6), 568 – 74.
18. Mitek M., Kalisz S. 2003. *Współczesne poglądy na właściwości przeciwutleniające soków owocowych i warzywnych*. Przemysł Spożywczy, 5, 37 – 39.
19. Piemontese L., Solfrizzo M., Visconti A. 2005. *Occurrence of patulin in conventional and organic fruit products in Italy and subsequent exposure assessment*. Food Additives & Contaminants, 22(5), 437 – 42.
20. Piqué E., Vargas-Murga L., Gómez-Catalán J., Llobet J. M. 2013. *Occurrence of patulin in organic and conventional apple juice. Risk assessment*. Recent Advances in Pharmaceutical Sciences III: 131 – 144.
21. Polak – Śliwińska M., Łamejko Ł., Kubiak M.S. 2013. *Zawartość patuliny i 5-HMF w sokach owocowo – warzywnych z produkcji ekologicznej i komercyjnej*. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, XLVI, 1, 80 – 88.

22. Prieta J., Moreno M.A., Diaz S., Suarez G., Dominguez L. 1994. *Survey of patulin in apple juice and children's apple food by the diphasic dialysis membran procedure*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42, 1701 – 1703.
23. Reddy K.R.N., Salleh B., Saad B., Abbas H. K., Abel C. A., Shier W.T. 2010. *An overview of mycotoxin contamination in foods and its implications for human health*. Toxin Reviews, 29(1), 3 – 26.
24. Rój A., Przybyłowski P. 2007. *The content of patulin in apple juices of different degree of processing*. Polish Journal of Natural Sciences, 4, 93 – 96.
25. Rovira R., Ribera F., Sanchis V., Canela R. 1993. *Improvements in the quantitation of patulin in apple juice by high performance liquid chromatography*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41, 214 – 216.
26. Rozporządzenie Komisji Wspólnoty Europejskiej nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 roku ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych (Dz. Urz. UE L 364 z 20.12.2006 r.).
27. Scott P.M., Somers E. 1968. *Stability of patulin and penicillic acid In fruit juices and flour*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 16, 483 – 485.
28. Sękul J., Worobiej E., Bryła M. 2011. *Ocena zawartości patuliny w zagęszczonym soku jabłkowym z uwzględnieniem etapów procesu produkcyjnego*. Aparatura Badawcza i Dydaktyczna, 16(4), 51 – 56.
29. Spadaro D., Ciavarella A., Frati S., Garibaldi A., Gullino M.L. 2007. *Incidence and level of patulin contamination in pure and mixed apple juices marketed in Italy*. Food Control, 18, 1098 – 1102.
30. Świetlikowska K., Hallmann E., Bardadyn I., Rembiałowska E. 2012. *Ocena zawartości związków biologicznie czynnych w wybranych sokach warzywnych pochodzących z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej*. Journal of Research and Application in Agricultural Engineering, 57(4), 141 – 147.
31. Sydenham E.W., Vismer H.F., Marasas W., Brown N., Schlechter M., Westhuizen L., Rheeder J. 1995. *Reduction of patulin in apple juice samples-influence of initial processing*. Food Control, 6, 195 – 200.
32. Szymczyk H., Szteke B., Goszcz H. 2004. *Występowanie patuliny w krajowych sokach jabłkowych*. Roczniki Państwowego Zakładu Higieny, 55, 255 – 260.
33. Ustawa o rolnictwie ekologicznym z dn. 25 czerwca 2009. Dz. U. nr 116, poz. 975.
34. Welke J. E., Hoeltz M., Dottori H. A., Noll I. B. 2009. *Effect of processing stages of apple juice concentrate on patulin levels*. Food Control, 20, 48 – 52.
35. Zimny L. 2007. *Definicje i podziały systemów rolniczych*. Acta Agrophysica, 10(2), 507 – 518.

Magdalena Polak – Śliwińska

Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności
Wydział Nauki o Żywności

Uniwersytet Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
e-mail: magdalena.polak78@gmail.com