

# APARATURA

## BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

### Ocena zawartości patuliny w zagęszczonym soku jabłkowym z uwzględnieniem etapów procesu produkcyjnego

JANUSZ SĘKUL<sup>1</sup>, ELWIRA WOROBIEJ<sup>1</sup>, MARCIN BRYŁA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO, WYDZIAŁ NAUK O ŻYWNOSĆCI,  
KATEDRA BIOTECHNOLOGII, MIKROBIOLOGII I OCENY JAKOŚCI, ZAKŁAD OCENY JAKOŚCI ŻYWNOSĆCI

<sup>2</sup> INSTYTUT BIOTECHNOLOGII PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO, ZAKŁAD ANALIZY ŻYWNOSĆCI

#### STRESZCZENIE

Celem pracy była ocena jakości zagęszczonego soku jabłkowego pod względem zawartości patuliny oraz próba zbadania zmian zawartości tej mikotoksyny w siedmiu głównych etapach procesu produkcji w wybranym zakładzie przetwórczym w środkowym okresie kampanii. Przedmiotem analizy były pobrane w zakładzie przetwórczym próbki: surowca, półproduktów i produktu końcowego tj. zagęszczonego soku jabłkowego. Zawartość patuliny oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Otrzymane wyniki odniesiono do aktualnych regulacji prawnych w zakresie najwyższych dopuszczalnych zawartości mikotoksyny w produktach spożywczych. Granice wykrywalności i oznaczalności metody dla produktów stałych wynosiły odpowiednio 3,2 i 9,7 µg/kg, zaś dla produktów płynnych 1,5 i 4,6 µg/kg. Zawartość patuliny w próbkach płynnych, w tym koncentratu nie przekroczyła 10 µg/kg. Najwyższą zawartość patuliny stwierdzono w jabłkach pobranych w jednym z terminów w listopadzie ok. 49 µg/kg.

#### Assessment of patulin content in apple juice concentrate in regard to production process stages

#### ABSTRACT

The aim of this work was to assess apple juice concentrates quality in regard to the patulin content as well as an attempt to investigate the mycotoxin content changes at seven main processing stages in a selected production plant in the middle of a campaign. An object of the analysis were raw material (apples), semi-products, and final product (apple juice concentrate) samples taken in the plant. Patulin content was determined by means of high-performance liquid chromatography. Results obtained were compared with statutory regulations as to the maximum acceptable patulin concentrations in foodstuffs. Limits of detection and quantitation for the method developed were 3,2 and 9,7 µg/kg and 1,5 and 4,6 µg/kg for solid and liquid samples, respectively. Patulin content in liquid samples did not exceed 10 µg/kg. The highest patulin content was found in apples taken in one of the batches from November – approx. 49 µg/kg.

## 1. WPROWADZENIE

Jednym z podstawowych kierunków działalności polskiego przemysłu owocowo-warzywnego jest produkcja zagęszczonego soku jabłkowego. Warunki klimatyczno-glebowe w Polsce sprzyjają uprawie jabłek, a soki z nich otrzymane cieszą się na świecie uznaniem ze względu na odpowiednią smakowość tzn. zawartość cukrów i kwasów [1-3].

Mikotoksyny stanowią trujące produkty przemiany materii określonych rodzajów pleśni, wytwarzane podczas ich wzrostu na substratach roślinnych, przede wszystkim w sytuacji, gdy występuje wystarczająco dużo wilgoci dla wzrostu grzybów. Wywołują one patologiczne zmiany u ludzi i zwierząt. Związki te są wyjątkowo odporne na wpływ środowiska naturalnego. Proste zabiegi fizyczne nie wywołują ich degradacji.

Patulina obok aflatoksyny B<sub>1</sub>, ochratoksyny A, deoksynivalenolu, zearalenonu, fumonizyny B<sub>1</sub> i satratoksyny jest zaliczana do najbardziej znaczących i najczęściej występujących mikotoksyn w skali światowej [4].

Głównymi źródłami patuliny w diecie człowieka są produkty z jabłek. W świetle najnowszych przepisów Unii Europejskiej obowiązkowe jest badanie zanieczyszczenia żywności mikotoksynami. Patulina jest jedną z mikotoksyn, dla których wyznaczono dopuszczalne limity zawartości w produktach spożywczych, zgodnie z Rozporządzeniem Komisji Europejskiej nr 1881/2006 [5].

Ustalone limity dotyczą w głównej mierze soku jabłkowego otrzymanego po rozcieńczeniu koncentratu, a także szeregu innych produktów, takich jak: puree jabłkowe czy kompot jabłkowy oraz żywność przeznaczona dla małych dzieci.

Celem pracy była ocena jakości koncentratów soku jabłkowego pod względem zawartości patuliny oraz próba zbadania zmian zawartości tej mikotoksyny na poszczególnych etapach procesu produkcji. Materiałem do badań były próbki pobrane w jednym z wiodących zakładów województwa mazowieckiego produkujących koncentrat jabłkowy. Zakres pracy obejmował ocenę jakości próbek z siedmiu głównych etapów procesu produkcji. Probki zostały pobrane w październiku i listopadzie 2008 r. Ponadto zbadano dodatkowo próbki produktu końcowego – koncentratu – pochodzące z czterech listopadowych terminów produkcji.

## 2. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Probki do badań pobierano z siedmiu etapów procesu produkcyjnego, uznanych za kluczowe dla jakości produktu końcowego. Materiał badawczy stanowiły: jabłka tuż po rozładunku ze środka transportu (przed myciem), jabłka po myciu, miazga gotowa do tłoczenia, moszcz surowy, moszcz po pasteryzacji i depektynizacji, ultrafiltrat i koncentrat.

Probki zbiorcze zostały pobrane zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 401/2006 r. [6] ustanawiającym metody pobierania próbek i analizy do celów urzędowej kontroli poziomów mikotoksyn w środkach spożywczych (Dz. Urz. UE L 70 z 09.03.2006 r.).

Zgodnie z podpunktem H.1 Załącznika I do Rozporządzenia 401/2006, podczas każdej wizyty w zakładzie pobierano po trzy próbki pierwotne: moszczu surowego, moszczu po pasteryzacji i depektynizacji, ultrafiltratu i koncentratu składające się na objętość 1 litra próbki zbiorczej. Stosownie do wymagań określonych w podpunkcie I.1 pobrano po 10 próbek pierwotnych: jabłek przed myciem, jabłek po myciu oraz miazgi. Masa próbek pierwotnych była nie mniejsza niż 100 g. Probki pierwotne składały się na próbkę zbiorczą, której masa była nie mniejsza niż 1 kilogram.

Jabłka mielono w młynku laboratoryjnym Retsch GRINDOMIX GM 200 przy 4500 obr/min przez 12 s. Probki płynne i miazga przenoszone były do plastikowych pojemników o pojemności 120 ml, mrożone i przechowywane w temperaturze -18°C do czasu przeprowadzenia analiz. Wszystkie oznaczenia wykonano w co najmniej trzech powtórzeniach.

W celu umożliwienia porównania wyników dalszych badań pomiędzy próbkami, rozcieńczano je wodą dejonizowaną do stałej wartości ekstraktu 11,2°Bx. Stosownie do wymogów rozporządzenia Komisji Wspólnoty Europejskiej 1881/2006 [5] oznaczono gęstość badanych próbek płynnych, aby wyrazić końcowe wyniki zawartości patuliny w µg/kg produktu.

### 2.1. Oznaczenie patuliny metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej

Podstawę metodyki oznaczania patuliny dla próbek o konsystencji płynnej w badanych półproduktach i produktach jabłkowych stanowiła Polska Norma PN-EN 14177:2005 „Artykuły żywnościowe – oznaczanie patuliny w klarownym i w mętnym soku jabłkowym oraz w przecierze jabłkowym – metoda HPLC z oczyszczaniem za pomocą ekstrakcji ciecz-ciecz” [7]. Modyfikacja autorska obejmowała zastosowanie obróbki enzymatycznej przed ekstrakcją. Dla próbek

o konsystencji stałej a także dla próbek o konsystencji płynnej ale mętnych zastosowano własne modyfikacje korzystając z danych publikowanych przez Welke, Hoeltz'a, Dottori i Noll'a [8].

## 2.2. Preparatyka wstępna próbek płynnych

Próbki koncentratu, ultrafiltratu, moszczu po depektylizacji oraz moszczu surowego, po doprowadzeniu do ekstraktu 11,2<sup>o</sup>Bx, pobierano w ilości 20 ml do próbek wirówkowych. Następnie do próbek dodawano po 150 µl roztworu enzymu pektynolitycznego o aktywności 1400 U/g. Probówki wirówkowe termostatowano w temperaturze 40°C przez 2 godziny. Po tym czasie próbki wirowano przez 5 minut przy 7500 obr/min (co odpowiadało ok. 4500 x g). Do ekstrakcji patuliny pobierano 10 ml uzyskanego supernatantu.

## 2.3. Preparatyka wstępna próbek stałych

Próbki jabłek przed myciem, jabłek po myciu oraz miazgi odważano do próbek wirówkowych w ilości 10 g. Następnie dodawano po 150 µl roztworu enzymu oraz po 10 ml wody dejonizowanej. Zawartość mieszano i termostatowano przez 2 godziny w łaźni wodnej w temperaturze 40°C. Po upływie tego czasu próbki poddawano wirowaniu przez 5 minut przy 7500 obr/min w temperaturze 20°C. Podobnie jak w przypadku próbek płynnych do ekstrakcji patuliny pobierano 10 ml uzyskanego supernatantu, co odpowiadało 5 g produktu stałego.

Ekstrakcję przygotowanych próbek i usuwanie składników o charakterze kwaśnym prowadzono zgodnie z normą PN-EN 14177:2005 [7]. Etap usuwania składników o charakterze kwaśnym przeszkadzających w oznaczaniu patuliny trwał nie dłużej niż 3 min ze względu na niską stabilność mikotoksyny w środowisku zasadowym.

Ekstrakty zagęszczano przy użyciu wyparki próżniowej w temperaturze 40°C do objętości około 1,5 ml. Następnie zawartość kolby przenoszono do kolby szklanej. Całość odparowywano do sucha w łaźni wodnej w temp. 40°C w strumieniu azotu. Pozostałość w kolbie rozpuszczano w 1ml mieszaniny woda: acetonitryl (93:7, v/v), a następnie sączono przez filtr strzykawkowy (wielkość porów 0,45 µm, średnica filtra 4mm) do szklanych fiolek o pojemności 1,5 ml, zaopatrzonych w dwuwarstwowe (silikon/politetrafluoroetylen) zatyczki.

## 2.4. Przygotowanie roztworów wzorcowych patuliny w celu wykreślenia krzywej wzorcowej

Roztwory wzorcowe patuliny otrzymano poprzez rozcieńczenie roztworu podstawowego o stężeniu 0,5 µg/ml (Sigma Aldrich) mieszaniną woda : acetonitryl 93:7 (v/v), uzyskując roztwory robocze o stężeniach: 0,400, 0,250, 0,100, 0,050 oraz 0,025 µg/ml. Dodatkowo przygotowano roztwór o stężeniu 0,010 µg/ml. Oznaczanie ilościowe patuliny przeprowadzono przy użyciu chromatografu cieczowego firmy Shimadzu z detektorem z matrycą diodową. Rozdzielenie prowadzono na kolumnie GraceSmart RP 18,5µm, 4.6 x 250 mm w układzie faz odwróconych, stosując elucję gradientową. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina: woda dejonizowana i acetonitryl. Rozpuszczalniki przed wykorzystaniem filtrowano stosując filtry membranowe.

Objętość dozowanych próbek (w tym roztworów wzorcowych) wynosiła 50 µl. Temperatura pracy kolumny była równa 29°C. Przepływ fazy ruchomej ustalono na 1ml/min, a całkowity czas analizy wyniósł 41 minut. Program gradientowy przedstawiono w Tabeli 1. Detekcję i oznaczenie ilościowe patuliny

**Tabela 1.** Program gradientowy oznaczenia patuliny metodą HPLC

Czas w minutach	Stężenie fazy B (Acetonitryl) [%]
0-10	7
10-18	100
18-25	100
25-28	7
28-41	7

prowadzono przy długości fali  $\lambda=276$  nm. Dodatkowo rejestrowano pełne widma UV w zakresie długości fal od 190 nm do 370 nm. Identyfikację patuliny w próbkach prowadzono w oparciu o porównanie czasów retencji z wzorcem zewnętrznym oraz na podstawie analizy widma UV pod względem cech charakterystycznych i czystości pików, obliczanej przez program do obróbki danych chromatograficznych LabSolutions LCMSSolution ver. 3.20 Shimadzu.

## 3. OPRACOWANIE WYNIKÓW

Zawartość patuliny w próbkach obliczono wykorzystując krzywe kalibracyjne wyznaczone w oparciu o powierzchnie i wysokości pików chromatograficznych. Parametry krzywych kalibracyjnych ilustrujących zależność między powierzchnią (wysokością) zareje-

strowanych pików chromatograficznych a stężeniem patuliny w próbce oszacowano za pomocą techniki regresji odwrotnej jednej zmiennej niezależnej. Wybór techniki regresji podyktowany był wyższą przydatnością tak uzyskanego modelu do interpolacji wyników [9] oraz jego przeznaczeniem. Otrzymany model posłużył do obliczania stężenia patuliny w próbkach w oparciu o odczyt z chromatogramów [10]. Dla opracowanych modeli wykonano analizę reszt [11].

Obliczono granice wykrywalności i oznaczalności opracowanej metody (wartości zamieszczono w Tab. 2 i 3).

Istotność różnicy średniej zawartości patuliny na poszczególnych etapach procesu produkcji oraz między próbkami koncentratów z różnych terminów produkcji i do badań krzyżowych oceniono za pomocą testu Tukey'a przy założonym poziomie istotności ( $\alpha=0,05$ ).

Obliczenia wykonano w programie Statistica 8.0 oraz w arkuszu kalkulacyjnym Excel.

W badaniach zawartości patuliny uwzględniono siedem etapów procesu produkcyjnego, które uznano za kluczowe dla końcowej jakości koncentratu. Uzyskane wyniki przedstawiono w Tabelach 2 i 3.

Podczas analizy próbek z 20 listopada stwierdzono obecność patuliny w próbkach z czterech z siedmiu badanych etapów procesu produkcyjnego (Tab. 3, Rys. 1). Zawartości patuliny w próbkach jabłek przed myciem, moszczu po depektynizacji i koncentratu z 20 listopada kształtowały się na poziomie kolejno 49,4; 9,0 i 7,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i były wyższe od obliczonych wartości granicy oznaczalności (LOQ) dla próbek stałych (9,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) i płynnych (4,6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Zawartość patuliny w ultrafiltracie była niższa niż LOQ ale

**Tabela 2.** Wyniki analizy zawartości patuliny w próbkach pobranych 30 października z siedmiu głównych etapów procesu produkcyjnego

Etap procesu produkcyjnego	Średnia zawartość patuliny [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	LOD [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
Jabłka przed myciem	<LOD	3,2	9,7
Jabłka po myciu	<LOD	3,2	9,7
Miazga	<LOD	3,2	9,7
Moszcz surowy	<LOD	1,5	4,6
Moszcz po depektynizacji	<LOD	1,5	4,6
Ultrafiltrat	<LOD	1,5	4,6
Koncentrat	<LOD	1,5	4,6

LOD – granica wykrywalności; LOQ – granica oznaczalności

**Tabela 3.** Wyniki analizy zawartości patuliny w próbkach pobranych 20 listopada z siedmiu głównych etapów procesu produkcyjnego

Etap procesu produkcyjnego	Średnia zawartość patuliny ( $x_{sr} \pm SD$ ) [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	LOD [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
Jabłka przed myciem	49,4 <sup>a</sup> $\pm$ 1,9	3,2	9,7
Jabłka po myciu	<LOD	3,2	9,7
Miazga	<LOD	3,2	9,7
Moszcz surowy	<LOD	1,5	4,6
Moszcz po depektynizacji	9,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,1	1,5	4,6
Ultrafiltrat	<LOQ	1,5	4,6
Koncentrat	7,4 <sup>b</sup> $\pm$ 0,1	1,5	4,6

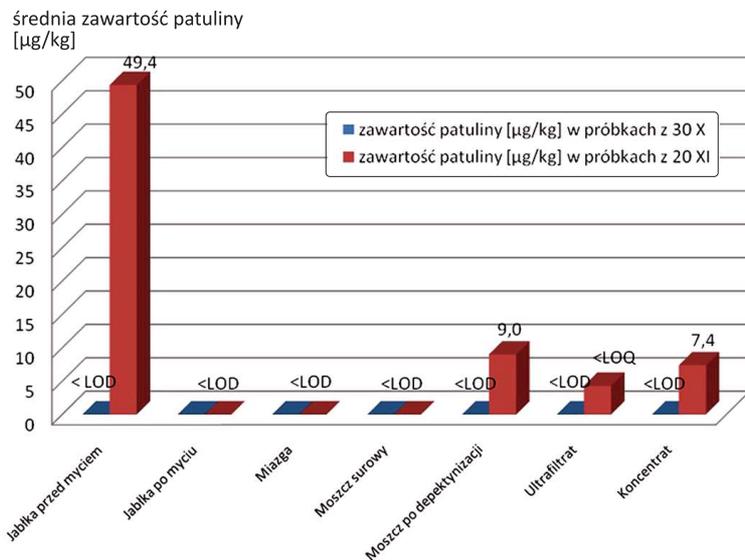
$x_{sr}$  – średnia arytmetyczna z trzech powtórzeń; SD – odchylenie standardowe zawartości patuliny w produkcji obliczone dla trzech powtórzeń; LOD – granica wykrywalności; LOQ – granica oznaczalności; <sup>a,b</sup> – jednorodne grupy średnich (test Tukey'a,  $\alpha=0,05$ )

wyższa od przyjętej granicy wykrywalności metody analitycznej LOD. Oznaczenie ilości patuliny w próbkach z ostatnich trzech etapów procesu produkcji nie przekraczało najniższej dopuszczalnej granicy w produktach spożywczych to jest 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ustalonej dla produktów dla niemowląt i małych dzieci (Rozp. WE 1881/2006 [5]).

Wyniki analizy zawartości patuliny w zbadanych koncentratkach zilustrowano na Rysunku 2. W pięciu spośród badanych koncentratów stwierdzono obecność patuliny w ilości powyżej wyznaczonej granicy wykrywalności metody (1,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). W próbkach z 30 października nie stwierdzono przekroczenia ustalonej wartości LOD. Fakt wystąpienia wykrywalnych ilości patuliny w koncentratkach wyprodukowanych w listopadzie sugeruje, że wraz z przebiegiem kampanii jakość surowca ulega obniżeniu.

Średnia zawartość patuliny w próbkach z 6, 20, 22 i 30 listopada wahała się od 4,7 do 7,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Oznaczona zawartość patuliny pozostawała na bezpiecznie niskim poziomie nawet przy uwzględnieniu bardziej rygorystycznego kryterium 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i była znacznie niższa od ilości dopuszczalnej w sokach – 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Gökmen i wsp. [12] wykazali, że średnia zawartość patuliny w próbkach przemysłowych koncentratów jabłkowych kształtowała się na poziomie  $21 \pm 11 \mu\text{g}/\text{l}$ . W żadnej z próbek nie stwierdzono przekroczenia granicy 50  $\mu\text{g}/\text{l}$ .

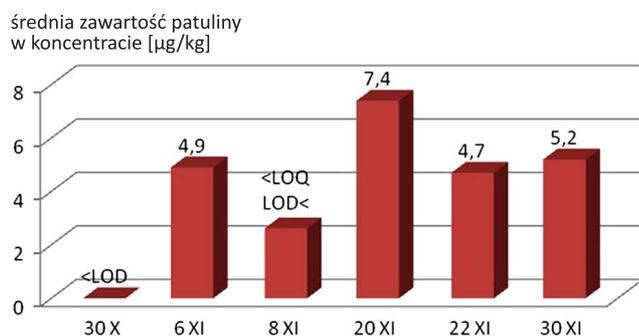
Spadaro i wsp. [13] stwierdzili obecność patuliny w próbkach soków jabłkowych pochodzących z różnych części świata. Beretta i wsp. [14] ustalili, że zawartość patuliny w próbkach klarownych i mętnych



**Rysunek 1.** Porównanie zawartości patuliny w próbkach z głównych etapów procesu produkcyjnego pobranych 30 X i 20 XI

soków jabłkowych pochodzących z Włoch nie przekraczała 10 µg/kg w produktach dla dzieci i 50 µg/kg w pozostałych produktach. Iha i Sabino [15] stwierdzili obecność patuliny jedynie w czterech spośród zbitych 134 próbek napojów jabłkowych, w których zawartość patuliny nie przekraczała 7 µg/l.

Średnia zawartość patuliny w koncentracie wyprodukowanym 20 listopada była istotnie wyższa od średniej zawartości mikotoksyny w produktach z 6, 22 i 30 listopada. Trzy wymienione koncentraty nie różniły się statystycznie istotnie pod względem średniej zawartości patuliny. Wyższa zawartość patuliny w próbce z 20 listopada mogła być spowodowana jednorazowo gorszą jakością dostarczanego surowca w porównaniu z produktami z analogicznego okresu kampanii (22 i 30 listopada). Sydenham i wsp. [16] stwierdzili, że zawartość patuliny w jabłkach może być znacznie zróżnicowana nawet pomiędzy poszczególnymi skrzyniopaletami. Ci sami autorzy wskazali nierównomierne występowanie patuliny



**Rysunek 2.** Wyniki analizy zawartości patuliny w koncentracie soku jabłkowego pochodzących z końca października i z listopada. < LOD – zawartość patuliny poniżej ustalonej granicy wykrywalności metody; < LOQ – zawartość patuliny poniżej ustalonej granicy oznaczalności metody

w surowcu jako przyczynę trudności pobrania reprezentatywnych próbek do oszacowania zawartości mikotoksyny. Zauważono, że zmienność zawartości patuliny spowodowana zróżnicowaną jakością surowca może wystąpić nie tylko w obrębie danej kampanii, ale także pomiędzy poszczególnymi sezonami kampanijnymi [17]. Brak trendu liniowego w zmianach ilości patuliny w kolejnych porównywanych dniach produkcyjnych i zaobserwowane zamiast tego wahania zawartości toksyny w zagęszczonych sokach jabłkowych również mogą wskazywać na silne uzależnienie jakości koncentratu od jakości partii surowca, z którego jest on wyprodukowany. Podkreśla to wagę początkowych etapów procesu produkcji, takich jak mycie jabłek i inspekcja surowca, które w znacznej mierze

przyczyniają się do wyeliminowania zagrożenia, jakie stanowi wysoka zawartość patuliny w produkcie końcowym.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że jakość koncentratów wyprodukowanych w środkowym i na początku późnego okresu kampanii (październik, listopad) jest wysoka, o czym świadczy niska zawartość patuliny w analizowanych próbkach. Niski poziom patuliny w badanych koncentraty jabłkowych wskazuje tym samym na dobrą jakość użytego surowca. Uzyskane wyniki wydają się ponadto potwierdzać skuteczność zabiegów mycia i inspekcji oraz trafność doboru parametrów zabiegów technologicznych stosowanych w zakładzie produkcyjnym, w którym pobierane były próbki także w przypadku surowca gorszej jakości pochodzącego z listopada.

Zawartość patuliny w koncentracie wyprodukowanego w listopadzie potwierdza możliwość wystąpienia mikotoksyny w łańcuchu technologicznym nawet wtedy, gdy surowiec jest dobrej jakości (pod koniec środkowego okresu kampanii i na początku późnego). Przyczyną może być termostabilność patuliny, na którą wskazuje wielu badaczy takich jak: Welke [8], Gökmen i wsp. [12, 19], Moreau [18]. Uzyskane wyniki sugerują potrzebę ciągłego monitorowania zawartości patuliny w całym łańcuchu technologicznym szczególnie w późniejszym okresie kampanii, kiedy do przerobu trafiają jabłka przechowalnicze, w których zgodnie z Szymczyk i wsp. [20] zawartość patuliny może być wyższa. Zasadność objęcia kontrolą surowca wynika z faktu, że patulina przechodzi do końcowego produktu, jakim jest zagęszczony sok jabłkowy.

#### 4. WNIOSKI

1. Oznaczona zawartość patuliny nie przekroczyła maksymalnej dopuszczalnej zawartości 50 µg/kg w żadnej z badanych próbek. Wskazuje to na wysoką jakość użytego surowca oraz gotowych koncentratów i świadczy o skuteczności i poprawnym doborze operacji technologicznych w zakładzie, w którym pobrano próbki, gwarantującym bezpieczeństwo produkowanego koncentratu jabłkowego.
2. Uzyskane dane wskazują, że podczas produkcji następuje uśrednienie i obniżenie zawartości patuliny w łańcuchu technologicznym. Pomimo że stwierdzono wysoką zawartość patuliny w jabłkach przed myciem pobranych w jednym z wybranych terminów w listopadzie (49,4 µg/kg) nie stwierdzono niepokojąco wysokiej ilości tej
3. Wyższa zawartość patuliny w próbkach pobranych w listopadzie w porównaniu z tymi uzyskanymi w końcu października sugeruje, że w miarę przebiegu kampanii ogólna jakość surowca ulega pogorszeniu.
4. Zaobserwowane wahania stężenia patuliny w koncentraty soku jabłkowego z różnych terminów produkcji pozwalają przypuszczać, że zawartość patuliny w produkcie końcowym jest zależna od jakości jednostkowej partii surowca.
5. Stwierdzona obecność patuliny w próbkach koncentratu jabłkowego wydaje się potwierdzać doniesienia o termostabilności mikotoksyny w produkcie końcowym. Pozwala to na stwierdzenie że niektóre operacje technologiczne, w szczególności mycie i hydrotransport, mogą przyczyniać się do redukcji poziomu patuliny w łańcuchu produkcyjnym.

#### LITERATURA

- [1] Kubiak K., Czeakański M., Mirkowska Z. (1986). Handel zagraniczny jabłkami i koncentratem jabłkowym. COBRO, Warszawa.
- [2] Kowalczyk R. (2006). Analiza technologiczno-techniczna produkcji zagęszczonego soku jabłkowego. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
- [3] Świetlikowska K. (2008). Surowce spożywcze pochodzenia roślinnego. Wyd. II. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
- [4] Grajewski J. (2006). Mikotoksyny i grzyby pleśniowe-zagrożenia dla człowieka i zwierząt. Wydawnictwo Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy.
- [5] 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.).
- [6] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 401/2006 z dnia 23 lutego 2006 r. ustanawiające metody pobierania próbek i analizy do celów urzędowej kontroli poziomów mikotoksyn w środkach spożywczych (Dz. Urz. UE L 70 z 09.03.2006 r.).
- [7] Polska Norma PN-EN 14177:2005. Artykuły żywnościowe – oznaczanie patuliny w klarownym i w mętnym soku jabłkowym oraz w przecierze jabłkowym – metoda HPLC z oczyszczaniem za pomocą ekstrakcji ciecz-ciecz.
- [8] 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.
- [9] Martens H., Ncs T. (1989). *Multivariate calibration*. Wiley, Chichester.
- [10] Brereton R.G. (2007). *Applied chemometrics for scientists*. Wiley, Chichester.
- [11] Schroeder L.D., Sjqvist D.L., Stephan P.E. (1986). *Understanding regression analysis. An introductory guide*. SAGE Publications Ltd., London.
- [12] Gökmen V., Acar J., Sariođlu K. (2005). Liquid chromatographic method for the determination of patulin in apple juice using solid phase extraction. *Analytica Chimica Acta*, 543, 64-69.
- [13] Spadaro D., Ciavorella 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.
- [14] Beretta B., Gaiaschi A., Galli C.L., Restani P. (2000). Patulin evaluation in applebased food: occurrence and safety evaluation. *Food Additives and Contaminants*, 17, 399-406.
- [15] Iha M., Sabino I. (2008). Incidence of patulin in Brazilian apple-based drinks. *Food Control*, 19, 417-422.
- [16] 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.
- [17] Gökmen V., Acar J. (2000). Long-term survey of patulin in apple juice concentrates produced in Turkey. *Food Additives and Contaminants*, 17, 933- 936
- [18] Moreau C. (1979). *Moulds, toxins and food*. Wiley, Chichester.
- [19] Gökmen V., Acar J. (1998). An Investigation on the Relationship between Patulin and Fumaric Acid in Apple Juice Concentrates. *Lebensittel.-Wissenschaft und-Technologie*, 31, 480-483.
- [20] Szymczyk H., Szteke B., Goszcz H. (2004). Występowanie patuliny w krajowych sokach jabłkowych. *Roczniki PZH*, 55, 255-260.