

JACEK POSTUPOLSKI, KRYSZYNA RYBIŃSKA, JOLANTA KURPIŃSKA-JAWORSKA,
EWA LEDZION, MAŁGORZATA SZCZĘSNA, KAZIMIERZ KARŁOWSKI

NOWE PRZEPISY UNII EUROPEJSKIEJ W ZAKRESIE PATULINY

NEW EUROPEAN UNION LEGISLATION RELATED TO PATULIN

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku,
Państwowy Zakład Higieny,
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik doc. dr hab. K. Karłowski

Przedstawiono nowe przepisy Unii Europejskiej dotyczące zanieczyszczenia żywności patuliną (głównie produktów otrzymanych z jabłek). Omówiono maksymalne dopuszczalne poziomy, zasady pobierania próbek i wymagania dla metod analitycznych stosowanych w urzędowej kontroli żywności, a także zalecenia dla rolnictwa i zakładów przetwórczych mające na celu ograniczenie występowania zanieczyszczenia patuliną.

WSTĘP

Mikotoksyny są liczną grupą wtórnych metabolitów grzybów pleśniowych o udowodnionym szerokim działaniu szkodliwym dla człowieka i zwierząt. Obecnie szczególną uwagę przypisuje się aflatoksynom, ochratoksynie A, patulinie oraz toksynom *Fusarium* – trichotecenom, fumonizynom i zearalenonowi. Liczne państwa limitują zanieczyszczenie żywności i pasz mikotoksynami. W Unii Europejskiej Rozporządzenie Komisji nr 466/2001 wraz ze zmianami podaje oprócz tolerancji dla azotanów, ołowiu, rtęci, 3-MCPD i dioksyn, maksymalne dopuszczalne poziomy mikotoksyn: aflatoksyn B₁, B₂, G₁, G₂ i M₁, ochratoksyny A oraz dla patuliny (od 1 listopada 2003 r.) [3–9].

Patulina jest mikotoksyną produkowaną przez liczne gatunki rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus* i *Byssochlamys*; głównie gatunek *Penicillium expansum* może występować w spleśniałych owocach, ziarnach i innych produktach, niemniej głównym źródłem narażenia na tę mikotoksynę są produkty otrzymane z jabłek [12].

W procesach, stosowanych przy przetwórstwie żywności patulina nie ulega całkowitemu rozkładowi. Fermentacja alkoholowa powoduje rozkład tej toksyny, niemniej może być ona obecna w napojach typu cydr, jeżeli sok jabłkowy będzie dodany do produktu po zakończeniu fermentacji. Patulina jest względnie stabilna w podwyższonej temperaturze, zwłaszcza w niskim pH [11–18].

Patulina wykazuje działanie antybiotyczne o szerokim spektrum i początkowo była badana jako lek stosowany przy przeziębieniu. Z powodu silnej toksyczności nie mogła być użyta w tym celu – powoduje silne podrażnienie żołądka, wywołuje nudności i wymioty, a także przekrwienie przewodu pokarmowego, obrzmienia krwotoczne i owrzodzenia [10].

Komitet Naukowy ds. Żywności Unii Europejskiej ustalił wartość tymczasowego maksymalnego tolerowanego dziennego pobrania (PMTDI), która wynosi 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała. Działanie szkodliwe patuliny było oceniane zarówno przez Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) oraz International Agency for Research on Cancer (IARC) – ustalono, że nie ma danych wskazujących na działanie rakotwórcze patuliny dla człowieka [13–15, 19].

MAKSYMALNY DOPUSZCZALNY POZIOM ZANIECZYSZCZENIA ŻYWNOCI PATULINĄ

W Rozporządzeniu Komisji (EC) Nr 1425/2003 z 11 sierpnia 2003 r. zmieniającym Rozporządzenie (EC) Nr 466/2001 w zakresie patuliny podano maksymalne dopuszczalne poziomy zanieczyszczenia tą mikotoksyną wybranych środków spożywczych, głównie otrzymanych z jabłek (Tab. I). Definicje produktów, o których mowa w rozporządzeniu, są podane w odpowiednich Dyrektywach. Dla soków i nektarów owocowych, głównie jabłkowych, soku stosowanego jako surowiec oraz soku odtworzonego, maksymalny dopuszczalny poziom patuliny wynosi 50,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Taka sama wartość obowiązuje dla napojów alkoholowych otrzymanych z jabłek lub z udziałem soku jabłkowego. Dla stałych produktów otrzymanych z jabłek, w tym puree oraz kompotu, obowiązuje poziom 25,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Maksymalny dopuszczalny poziom patuliny w soku jabłkowym i produktach jabłkowych stałych, przeznaczonych dla dzieci, jak również pozostałej żywności dla dzieci, wynosi 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Wprowadzenie tej wartości ma nastąpić, o ile wyniki badań międzylaboratoryjnych udowodnią, że istnieje metoda analityczna umożliwiająca wiarygodne oznaczanie na proponowanym poziomie. W przypadku negatywnego wyniku badań międzylaboratoryjnych będzie obowiązywał poziom 25,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Tab e l a I. Maksymalne dopuszczalne poziomy zanieczyszczenia patuliną środków spożywczych
Maximum acceptable levels of patulin in foodstuffs

Produkt	Maksymalny poziom zanieczyszczenia ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Soki i nektary owocowe, szczególnie otrzymane z jabłek, oraz sok owocowy będący składnikiem innych napojów Koncentrat soków owocowych po odtworzeniu zgodnie z instrukcją producenta	50,0
Napoje alkoholowe, cydr i inne fermentowane napoje otrzymane z jabłek lub zawierające sok jabłkowy	50,0
Produkty z jabłek stałe, włączając puree jabłkowe, kompot jabłkowy, przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji	25,0
Sok jabłkowy i produkty jabłkowe stałe, włączając puree i kompot jabłkowy dla niemowląt i małych dzieci, które są oznakowane i sprzedawane jako przeznaczone dla niemowląt i małych dzieci Inna żywność dla dzieci	10,0 ¹

¹ Metoda analizy będzie zwalidowana w międzynarodowych badaniach biegłości, których wynik, planowany na 1 listopada 2003 r., pozwoli na ocenę przydatności metody do oznaczeń na poziomie 10,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W przypadku, gdy wyniki badań nie wskażą tego, będzie obowiązywał poziom 25,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

ZASADY POBIERANIA PRÓBEK

Z uwagi na ogromną niejednorodność występowania zanieczyszczenia wiarygodne pobieranie próbek do oznaczania mikotoksyn konieczne jest dobranie odpowiedniej metody, dającej z jednej strony duże prawdopodobieństwo wykrycia toksyn, których stężenie przekracza dopuszczalne granice a z drugiej zmniejszenie masy próbki w celu ułatwienia zarówno jej pobrania jak i dalszej obróbki w laboratorium.

Dyrektywa Komisji 2003/78/EC z 11 sierpnia 2003 r. podaje szczegółowe zasady pobierania próbek dla celów urzędowej kontroli poziomu patuliny w środkach spożywczych [1]. Uwzględnia ona definicje partii (ang. *lot*), podpartii (ang. *sublot*), próbki pierwotnej (ang. *incremental sample*) i zbiorczej (ang. *aggregate sample*). Próbkę mogą być pobierane wyłącznie przez upoważniony personel. Z każdej partii próbki powinny być pobierane oddzielnie. Podkreślono konieczność zachowania wszelkiej staranności przy łączeniu i przygotowaniu próbki laboratoryjnej. Próbki pierwotne powinny być pobierane, w miarę możliwości, z całej objętości partii. Odstępstwa od tej zasady powinny być zapisywane. Połączone próbki pierwotne po wymieszaniu tworzą próbkę zbiorczą, z której wydziela się próbkę laboratoryjną, zgodnie z podaną metodyką. W Dyrektywie podano zasady pobierania kontrpróbki, opakowywania i przewożenia próbek oraz ich pieczętowania i znakowania.

Pobieranie próbek uzależnione jest od wielkości partii. Próbka zbiorcza powinna wynosić co najmniej 1 kg, z wyłączeniem sytuacji kiedy np. pobiera się pojedyncze, jednostkowe opakowanie. Minimalną liczbę próbek pierwotnych, w zależności od masy partii podano w tabeli II. W przypadku produktów płynnych, próbka powinna być pobrana niezwłocznie po ręcznym lub mechanicznym wymieszaniu partii. W tym przypadku może to być wystarczające do zapewnienia homogennego rozkładu patuliny w danej partii. Wystarczy wówczas pobrać 3 próbki pierwotne z partii, aby uzyskać próbkę zbiorczą. Próbki pierwotne powinny mieć podobne masy, nie mniejsze niż 100 g. Połączone próbki pierwotne stanowią próbkę zbiorczą o masie nie mniejszej niż 1 kg.

Tabela II. Minimalna liczba próbek pierwotnych pobieranych z partii
Minimum number of incremental samples to be taken from the lot

Masa partii [kg]	Minimalna liczba pobieranych próbek pierwotnych
< 50	3
50 do 500	5
> 500	10

Zasady pobierania próbek dla partii składających się z opakowań jednostkowych podano w tabeli III.

Laboratorium kontrolne powinno powtórzyć analizę, jeżeli wynik pierwszego oznaczenia był pomiędzy 20% wartości poniżej lub powyżej maksymalnego dopuszczalnego poziomu i obliczyć wartość średnią.

Partia może być zaakceptowana, jeżeli wynik pierwszej analizy jest mniejszy o 20% od wartości maksymalnego dopuszczalnego poziomu lub w przypadku, kiedy powtórna anali-

Tabela III. Liczba opakowań jednostkowych pobieranych z partii
Number of packages to be taken from the lot

Liczba opakowań w partii	Liczba pobieranych opakowań jednostkowych
1 do 25	1 opakowanie
26 do 100	Okolo 5%, nie mniej niż 2 opakowania
> 100	Okolo 5%, nie więcej niż 10 opakowań

za jest niezbędna, i jeżeli średnia nie przekracza maksymalnego poziomu podanego w Rozporządzeniu 466/2001, z uwzględnieniem niepewności i odzysku. Partia jest niezgodna z wymaganiami, jeśli średnia, skorygowana o wartość odzysku, przekracza maksymalny dopuszczalny poziom biorąc pod uwagę niepewność pomiaru.

WYMAGANIA DOTYCZĄCE METOD ANALITYCZNYCH

Dyrektywa Komisji 2003/78/EC określa parametry analityczne metody stosowanej w urzędowej kontroli zanieczyszczenia wybranych środków spożywczych patuliną. W Unii Europejskiej nie zalecono obecnie określonej metody dla oznaczania patuliny w środkach spożywczych, podając wymagania szczegółowe: dla próby ślepej, odzysku i precyzji (Tabela IV). Zgodnie z podanymi definicjami, ta ostatnia wartość musi być ustalona w wyniku międzylaboratoryjnych badań porównawczych.

Tabela IV. Kryteria dla metod analitycznych stosowanych w urzędowej kontroli
Criteria for analytical methods for patulin in official control

Poziom (µg/kg)	Patulina		
	RSD _T	RSD _R	Odzysk %
< 20	≤ 30	≤ 40	50–120
20–50	≤ 20	≤ 30	70–105
> 50	≤ 15	≤ 25	75–105

Granica wykrywalności stosowanych metod nie musi być ustalana, jeżeli wartość precyzji jest znana dla odpowiedniego stężenia.

Wartość precyzji jest obliczana z równania *Horwitza*:

$$RSD_R = 2^{(1-0,5 \log C)},$$

gdzie: RSD_R jest względnym odchyleniem standardowym obliczonym z wyników uzyskanych w warunkach odtwarzalności [(S_R/x) × 100].

C jest stężeniem wyrażonym jako stosunek (np. 1 = 100g/100g; 0,001 = 1000 mg/kg).

Wynik analizy powinien być podany z uwzględnieniem lub bez wartości odzysku; wartość odzysku i sposób przedstawienia wyniku musi być podany w sprawozdaniu. Wynik skorygowany o wartość odzysku jest stosowany do sprawdzenia zgodności z wymaganiami. Wynik analizy powinien być podany z uwzględnieniem (±) niepewności pomiaru.

DOBRA PRAKTYKA ROLNA I DOBRA PRAKTYKA PRODUKCYJNA DLA OGRANICZENIA ZANIECZYSZCZENIA PATULINĄ

Wyniki badań narażenia na patulinę populacji krajów członkowskich Unii Europejskiej wskazują, że poziom ten jest niższy od wartości PMTDI, które wynosi 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{m.c.}/\text{dzień}$. Niemniej, w przypadku niektórych grup populacji, takich jak małe dzieci, pobranie może być znacznie większe [16]. Rozporządzenie Komisji 466/01, zmienione Rozporządzeniem 1425/03, nakazuje dokonanie przeglądu poziomów dla patuliny w celu uwzględnienia postępu naukowego i technologicznego. W tym celu opublikowano Zalecenia Komisji z 11 sierpnia 2003 r. dotyczące zapobiegania i obniżenia zanieczyszczenia patuliną soku jabłkowego i soku jabłkowego jako składnika innych napojów [2]. Celem zalecenia jest obniżenie zanieczyszczenia tak, aby możliwe było obniżenie maksymalnego dopuszczalnego poziomu patuliny w soku jabłkowym do wartości 25,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Zalecenia składają się z dwóch części: dotyczącej uprawy jabłek, uwzględniając zasady Dobrej Praktyki Rolnej (GAP) oraz odnoszącej się do przetwórstwa, uwzględniające zasady Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP).

Pierwsza część odnosi się do zabiegów rolnych, mających na celu obniżenie ryzyka występowania toksynotwórczych pleśni. W okresie przed zbiorem owoców zaleca się usuwanie zeszłorocznych owoców i chorych drzew, zapewnienie odpowiedniej wymiany powietrza w sadzie, stosowanie środków ochrony roślin i fungicydów w celu ograniczenia rozwoju chorób i szkodników jak również chorób fizjologicznych poprzez właściwe nawożenie. Należy prowadzić zapisy dotyczące występowania chorób oraz stosowanych działań zapobiegawczych i wykorzystywać je jako przewodnik do stosowania fungicydów i przechowywania owoców.

W czasie zbioru, transportu i przechowywania owoce powinny być traktowane w sposób uniemożliwiający ich uszkodzenia mechaniczne. Owoce porażone lub uszkodzone powinny być eliminowane. Należy przestrzegać odpowiednich terminów dostarczania owoców do miejsca składowania, jak również właściwych warunków (temperatura, skład atmosfery) ich przechowywania. W tym czasie należy dokonywać systematycznych kontroli zarówno stanów owoców jak i warunków przechowywania.

Przy produkcji soku jabłkowego szczególną uwagę należy zwrócić na segregację owoców w celu eliminacji jabłek ze śladami zewnętrznego lub wewnętrznego porażenia. Urządzenia powinny być utrzymywane w stanie czystości i dezynfekowane. Po wytlóczeniu soku należy reprezentatywne próbki poddać analizie w kierunku zanieczyszczenia patuliną, a do pakowania kierować sok spełniający wymagania. Sok przed pakowaniem powinien być przechowywany w odpowiedniej temperaturze, aby zapobiec rozwojowi drobnoustrojów.

W kraju Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych (Dz. U. Nr 37 poz. 326) podaje maksymalny dopuszczalny poziom zanieczyszczenia patuliną soku jabłkowego, zagęszczonego soku jabłkowego oraz innych przetworów z udziałem jabłek – 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lub 30 $\mu\text{g}/\text{l}$, w przeliczeniu na produkt o zawartości ekstraktu 10% [17]. Wymagania dla patuliny powinny być obecnie ujednocnione z przepisami Unii Europejskiej. Konieczne będzie również prowadzenie systematycznych badań monitoringowych produktów otrzymanych z jabłek – zarówno w fazie produkcji jak i pochodzących z rynku. Niezbędne będzie również wdrożenie zasad GAP wśród sadowników i GMP w produkcji soku jabłkowego.

J. Postupolski, K. Rybińska, J. Kurpińska-Jaworska, E. Ledzion,
M. Szczęsna, K. Karłowski

NEW EUROPEAN UNION LEGISLATION RELATED TO PATULIN

Summary

In the following review, European Union legislation concerning maximum level of patulin in foodstuffs was reported. Commission Regulation (EC) No 1425/2003 of 11 August 2003 amending Regulation (EC) No 466/2001, Commission Directive 2003/78/EC of 11 August 2003 laying down the sampling methods and the methods of analysis for the official control of the levels of patulin in foodstuffs and Commission Recommendation of 11 August 2003 on the prevention and reduction of patulin contamination in apple juice and apple juice ingredients in other beverages as regards patulin was reported.

PIŚMIENNICTWO

1. Commission Directive 2003/78/EC of 11 August 2003 laying down the sampling methods and the methods of analysis for the official control of the levels of patulin in foodstuffs. Official Journal L 203, 40–44.
2. Commission Recommendation of 11 August 2003 on the prevention and reduction of patulin contamination in apple juice and apple juice ingredients in other beverages (notified under document number C (2003) 2866). Official Journal L 203, 54–59.
3. Commission Regulation (EC) No 1425/2003 of 11 August 2003 amending Regulation (EC) No 466/2001 as regards patulin. Official Journal L 203, 1–3.
4. Commission Regulation (EC) No 221/2002 of 6 February 2002 amending Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal L 037, 4–6.
5. Commission Regulation (EC) No 257/2002 of 12 February 2002 amending Regulation (EC) No 194/97 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs and Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal L 041, 12–15.
6. Commission Regulation (EC) No 466/2001 of 8 March 2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal L 077, 1–13.
7. Commission Regulation (EC) No 472/2002 of 12 March 2002 amending Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal L 075, 18–20.
8. Commission Regulation (EC) No 563/2002 of 2 April 2002 amending Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal L 086, 5–6.
9. Council Regulation (EC) No 2375/2001 of 29 November 2001 amending Commission Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal L 321, 1–5.
10. *Harrison, M.A.*: Presence and stability of patulin in apple products *J. Food Safety* 1989, 9, 147–153.
11. *Hopkins J.*: The toxicological hazards of patulin. *Food Chem. Toxicol.* 1993, 6, 455–456.
12. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 40, 1986.
13. JECFA 1990: Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series, 1990 No. 789.
14. JECFA 1995: Evaluations of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series, 1995 No. 859.

15. Minute Statement on Patulin Expressed by the Scientific Committee on Food during the plenary meeting on 8 March 2000.
16. Report of experts participating in Task 3.2.8, Assessment of dietary intake of patulin by the population of EU Member States, March 2002.
17. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności Dz. U. Nr 37 poz. 326.
18. *Syndeham A. et al.*: Reduction of patulin in apple juice samples – influence of initial processing Food Control 1995, 6, 1995–2000.
19. Evaluation of certain food additives and contaminants WHO Tech Rep Ser., 1995, 859, 1–54.

Otrzymano: 2003.03.11