

KRYSTYNA SZYMCZYK, BARBARA SZTEKE, HALINA GOSZCZ

## WYSTĘPOWANIE PATULINY W KRAJOWYCH SOKACH JABŁKOWYCH

### PATULIN CONTENT IN POLISH APPLE JUICES

Zakład Analizy Żywności  
Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego  
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa  
Kierownik: prof. dr hab. B. Szteke  
e-mail: szymczyk@ibprs.pl

*Oznaczono zawartość patuliny w 754 próbkach soków jabłkowych zakupionych w sieci handlu detalicznego w latach 1999-2003. Analizy wykonano techniką HPLC z detektorem UV.*

### WSTĘP

Obecność patuliny jest istotnym parametrem oceny jakości zdrowotnej soków jabłkowych. Pośrednio jest też wskaźnikiem jakości surowca (jabłek) użytego do produkcji zagęszczonych soków, z których produkuje się soki pitne. Występuje głównie w jabłkach przechowywanych w chłodniach, gdzie istnieje możliwość rozwoju grzybów.

Patulina jest metabolitem wytwarzanym przez grzyby rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*. Doświadczalnie udowodniono toksyczne działanie patuliny w stosunku do różnych mikroorganizmów, roślin, zwierząt i organizmów wyższych [1, 2, 5]. Pomimo braku jednoznacznych dowodów patulina podejrzewana jest także o działanie mutagenne i rakotwórcze. Obecność patuliny stwierdzono w wielu surowych (zapleśniałych) owocach i warzywach lecz najczęściej występuje ona w jabłkach i produktach z nich otrzymanych. W przypadku owoców przeznaczonych do bezpośredniej konsumpcji patulina nie stanowi zagrożenia, ponieważ nie spożywa się owoców zapleśniałych, natomiast nawet niewielki ich udział w surowcu przeznaczonym do przetwórstwa prowadzi do otrzymania produktów o niewłaściwej jakości zdrowotnej.

Znaczną trwałość i odporność patuliny na warunki stosowane podczas procesów technologicznych potwierdza fakt występowania jej w sokach i przecierach jabłkowych. Pewne zabiegi technologiczne, takie jak staranne sortowanie owoców, mycie, tłoczenie, enzymatyczne klarowanie soków, filtracja, stosowanie odpowiednio preparowanych sorbentów węglowych, reakcja z jonami siarczynowymi w podwyższonej temperaturze lub z kwasem askorbinowym mogą powodować obniżenie zawartości patuliny w sokach [9, 15]. Zmniejszenie zawartości patuliny następuje także w trakcie przechowywania gotowego produktu, podczas lub w wyniku fermentacji alkoholowej [10] albo naświetlania promieniowaniem jonizującym [18].

Wiele państw reguluje zawartość patuliny w sokach i innych przetworach owocowych na poziomie od 20 do 50  $\mu\text{g/l}$ . Komitet Kodeksu Żywnościowego FAO/WHO ds. Substancji Dodatkowych i Zanieczyszczeń Żywności zaproponował przyjęcie maksymalnej dopuszczalnej zawartości patuliny w sokach jabłkowych na poziomie 50  $\mu\text{g/l}$ . Jednak w celu ochrony zdrowia dzieci, które mogą spożywać duże ilości soku jabłkowego, dyskutowana jest także propozycja ograniczenia zawartości patuliny do 25  $\mu\text{g/l}$  [8].

W Polsce obowiązuje Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 30.04.2004 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych [14], wprowadzające postanowienia odpowiednich dokumentów UE. W przypadku patuliny jest to Rozporządzenie Komisji (EC) Nr 1425/2003 z 11 sierpnia 2003 roku, według którego maksymalne dopuszczalne poziomy zanieczyszczenia patuliną środków spożywczych wynoszą:

- soki i nektary owocowe, napoje fermentowane otrzymane z jabłek – 50  $\mu\text{g/kg}$ ,
- produkty z jabłek stałe, przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji – 25  $\mu\text{g/kg}$ ,
- produkty oznakowane i sprzedawane jako przeznaczone dla niemowląt i małych dzieci – 10  $\mu\text{g/kg}$ ,

Dostępne dane literaturowe świadczą o różnym stopniu zanieczyszczenia produktów jabłkowych patuliną. Badania zawartości patuliny w sokach oraz produktach owocowych były prowadzone w Australii, Wlk. Brytanii, Francji, USA, Turcji, Brazylii [3, 4, 6, 7, 16]. W badaniach przeprowadzonych ostatnio we Włoszech zawartość patuliny w zakresie 5,8-74,2  $\mu\text{g/kg}$  ( $\mu\text{g/l}$ ) stwierdzono w 10 spośród 40 analizowanych próbek produktów jabłkowych, w tym w produktach oznakowanym przez producenta jako ekologiczne [13]. W Turcji w latach 1996-1999 zanalizowano zawartość patuliny w 482 próbkach soków jabłkowych odtworzonych z koncentratów. Wyniki badań wykazały obecność tej mikotoksyny na poziomie od poniżej 5 do 376  $\mu\text{g/l}$  przy średniej wynoszącej w poszczególnych latach od 19 do 63  $\mu\text{g/l}$  [7].

Badania patuliny w zagęszczonych sokach jabłkowych i przetworach z jabłek od wielu lat prowadzone są także w Zakładzie Analizy Żywności IBPRS [17]. W ostatnich latach podjęto również badania soków jabłkowych dostępnych na naszym rynku. Niniejsza praca ma na celu przedstawienie wyników uzyskanych w latach 1999-2003.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły soki jabłkowe zakupione w latach 1999-2003 w sieci handlu detalicznego, pochodzące z kilkunastu zakładów produkcyjnych. Łącznie zbadano 754 próbki soków.

### Wykonanie oznaczenia

Patulinę ekstrahowano z próbek soków za pomocą octanu etylu. Ekstrakt oczyszczano przez ekstrakcję podziałową z wodnym roztworem węgla sodu i po odparowaniu rozpuszczalnika analizowano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem UV [12]. Zastosowano następujące warunki analizy chromatograficznej:

- kolumna Nucleosil 120-5 C18, o dł. 250 mm, średn. wewn. 4,6 mm z przedkolumną, Macherey-Nagel lub równoważna,
- ciecz elucyjna acetonitryl: woda, roztwór 7% (v/v),
- przepływ cieczy elucyjnej 0,7-1,0 ml/min,
- temp. pracy kolumny pokojowa,
- długość fali detektora UV 276-280 nm.

Jakościowej interpretacji otrzymanych chromatogramów dokonywano przez porównanie czasów retencji pików uzyskanych dla roztworów wzorcowych i próbek analizowanych. Zawartość patuliny w  $\mu\text{g/l}$  analizowanego soku obliczano stosując metodę standardu zewnętrznego oraz program integryjny współpracujący z chromatografem cieczowym. Za wynik końcowy oznaczania zawartości patuliny przyjmowano średnią arytmetyczną co najmniej dwóch równoległych oznaczeń, wykonanych dla tej samej próbki.

#### Charakterystyka metody

Liniowość metody zweryfikowano w zakresie zawartości patuliny od 5 do 100  $\mu\text{g/l}$  analizowanego soku. Granica oznaczalności patuliny wynosi 5  $\text{mg/l}$  analizowanego soku. Współczynnik zmienności określający rozrzut wyników równoległe wykonanych oznaczeń, a tym samym precyzja metody nie przekracza 5%. Dokładność metody sprawdzano systematycznie poprzez analizę próbek soku, do których dodawano roztwór wzorcowy patuliny w stężeniu od 25 do 100  $\mu\text{g/l}$ . Otrzymano wartość współczynnika odzysku powyżej 80% co wskazuje na dobrą dokładność metody. Wartość ta może być jednak niższa dla soków wzbogacanych w witaminę C. Metoda jest również systematycznie sprawdzana w międzynarodowym programie badania biegłości laboratoriów organizowanym w ramach FAPAS.

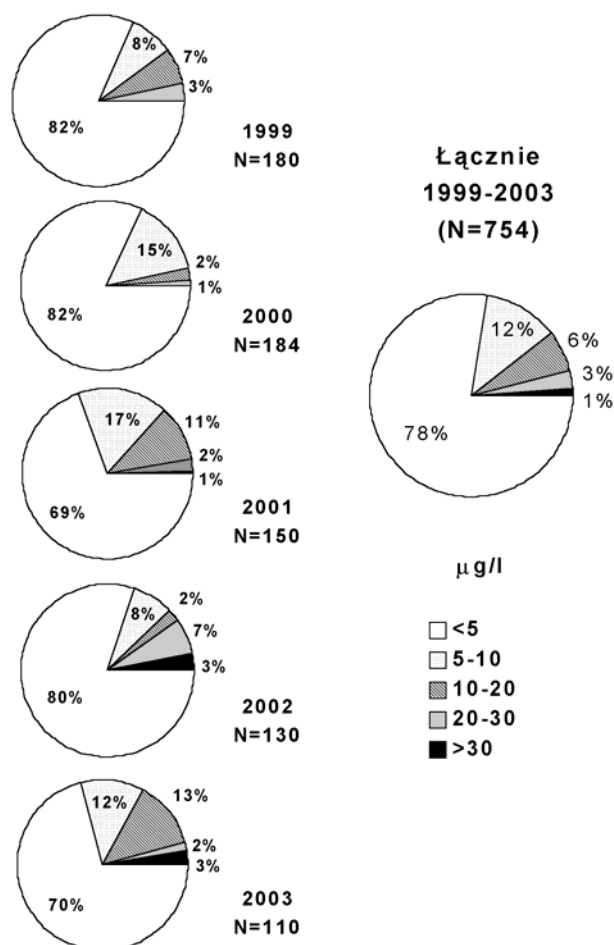
### WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badania zawartości patuliny w sokach jabłkowych oceniano na podstawie obowiązujących w czasie wykonywania badań aktów prawnych: Normy PN-A-75951, 1994, [11] Przetwory owocowe. Soki owocowe (wycofanej 3.02.2004 r.) oraz odpowiednich Rozporządzeń MZiOS oraz MZ z 2000 i 2003 roku (wycofane 1.05.2004 r.). W dokumentach tych maksymalny, dopuszczalny poziom patuliny w soku jabłkowym, zagęszczonym soku jabłkowym, kremogenicznym soku jabłkowym oraz w innych przetworach z udziałem jabłek wynosił 30  $\mu\text{g/l}$  ( $\mu\text{g/kg}$ ).

Zawartość patuliny powyżej granicy oznaczalności (5  $\mu\text{g/l}$  soku) stwierdzano corocznie w 18% do 30% badanych próbek, średnio w ponad 22% próbek (tabela I).

Tabela I. Zawartość patuliny w sokach jabłkowych w latach 1999-2003  
Patulin content in apple juices in 1999-2003

Rok	Liczba badanych próbek	Zawartość patuliny >5 $\mu\text{g/l}$		Zakres zawartości patuliny liczba próbek			
		Liczba próbek	% próbek	5-10 $\mu\text{g/l}$	10-20 $\mu\text{g/l}$	20-30 $\mu\text{g/l}$	>30 $\mu\text{g/l}$
1999	180	33	18,3	15	12	6	0
2000	184	33	17,9	27	4	2	0
2001	150	46	30,7	26	16	3	1
2002	130	26	20,0	10	3	9	4
2003	110	33	30,0	13	14	2	3
Razem	754	171	22,6	91	49	22	8



Ryc. 1. Rozkład zawartości patuliny w próbkach soków jabłkowych zakupionych na polskim rynku w latach 1999-2003

Range of patulin content in apple juice samples purchased in 1999-2003

Średnia zawartość patuliny w sokach w poszczególnych latach wahała się od 8,6 µg/l w roku 2000 do 20,6 µg/l w roku 2002. Większość wyników pozytywnych mieściła się w zakresie 5-20 µg/l. W roku 2002, przy podobnym procentowym udziale próbek pozytywnych, zaobserwowano większy udział próbek o zawartości patuliny powyżej 20 µg/l (50% próbek zawierających patulinę) (Ryc.1). Wiąże się to prawdopodobnie z tym, że w tym roku część jabłek przechowywanych w chłodniach późną wiosną przeznaczona została do przerobu przemysłowego bez odpowiedniej selekcji surowca.

W ostatnich latach stwierdzono jednak przekroczenie dopuszczalnej zawartości patuliny (30 µg/l soku) w 8 próbkach, co stanowi 1,1% ogółu badanych soków. Próbki te pochodziły z 3 zakładów produkcyjnych i zawierały maksymalnie 78 µg patuliny na litr soku (ok. 2,5-krotne przekroczenie).

## PODSUMOWANIE

Ponad 75% analizowanych w latach 1999-2002 soków jabłkowych nie zawierało patuliny. Obecność patuliny stwierdzono w 171 spośród 754 badanych próbek soku jabłkowego, jednak stężenie patuliny w zdecydowanej większości próbek nie przekraczało dopuszczalnej wartości 30 µg/l, a więc próbki te spełniały obowiązujące (w kraju) wymagania dotyczące zawartości patuliny. Zawartość patuliny w stężeniu powyżej 30 µg/l (w tym dwa wyniki powyżej 50 µg/l - 71,4 µg/l; 78,6 µg/l) stwierdzono tylko w 8 próbkach co stanowi 1,1% badanych soków.

Soki jabłkowe najczęściej produkowane są z zagęszczonych soków jabłkowych. Szczególnie wtedy gdy półprodukt otrzymano z jabłek przechowywanych w chłodniach konieczna jest staranna kontrola jakości przerabianego surowca oraz zawartości patuliny w wyprodukowanym zagęszczonym soku jabłkowym.

K. Szymczyk, B. Szteke, H. Goszcz

## PATULIN CONTENT IN POLISH APPLE JUICES

## Summary

Patulin content has been evaluated in 754 samples of apple juices bought on Polish retail markets in the years 1993-2003. The samples were analyzed by means of the HPLC technique with UV detector. Patulin was found above the quantification limit (5 µg/l) in more than 22% of the samples. Most of the positive results did not exceed the permitted level of 30 µg/l. However, the level was exceeded in 8 samples i.e. in 1,1% of the analyzed samples.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Askar A.*: Patulin in apple juice and children's apple food, Part I. Toxicological and legal aspects. *Fruit Processing* 1999, 3/99, 74-79.
2. *Baretta B., Gaiaschi A., Galli C.L., Restani P.*: Patulin in apple-based foods: occurrence and safety evaluation. *Food Addit. Contam.* 2000, 17, 399-406.
3. *Burda K.*: Incidence of patulin in apple, pear and mixed fruit products marketed in New South Wales. *J. Food Prot.* 1992, 796-798.
4. Codex Alimentarius Commission FAO/WHO Committee on Food and Contaminants, Position paper on patulin, January 1997 CX/FAC 97/23-Part II.
5. *Florianowicz T.*: Efekty toksyczne patuliny. *Bromat. Chem. Toksykol.* 1999, 32 303-309.
6. *Gökmen V, Acar J.*: Incidence of patulin in apple juice concentrates produced in Turkey. *J. Chromatogr.* 1998, A 815, 99-102.
7. *Gökmen V, Acar J.*: Long-term survey of patulin in apple juice concentrates produced in Turkey. *Food Addit. Contam.*, 2000 17, 933-936.
8. Joint FAO/WHO Food Standard Programme, Codex Alimentarius Commission, Twenty-Third Session, Rome, Italy, 1999, ALINORM 99/12A, p.13-14.
9. *Leggott N.L., Shephard G.S., Stockenström S., Staal E., van Schalkwyk D.J.* The reduction of patulin in apple juice by three different types of activated carbon. *Food Addit. Contam.* 2001, 18, 825-829.
10. *Lipowska T., Goszcz H., Januszewski T., Kubacki S.J.* Stabilność patuliny ze szczególnym uwzględnieniem fermentacji alkoholowej. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.* 1984, 5/87, 8-10.
11. Norma PN-A-75951, 1994, Przetwory owocowe. Soki owocowe.

12. Norma PN-ISO 8128-1 1997 Sok jabłkowy, zagęszczony sok jabłkowy i napoje zawierające sok jabłkowy – Oznaczanie patuliny – część I: metoda z zastosowaniem techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej.
13. *Ritieni A.*: Patulin in Italian commercial apple products. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 6086-6090.
14. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 30.04.2004 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności. *Dz. U. RP* 2004 nr 120, poz.1257.
15. *Sydenham E.W., Vismar H.F., Marasas W.F.O., Brown N., Schlechter M., van der Westhuizen L., Rheeder J.P.*: Reduction of patulin in apple juice samples – influence of initial processing. *Food Control* 1995, 6, 195-200.
16. *de Sylos C.M., Rodriguez-Amaya D.B.*: Incidence of patulin in fruit juices marketed in Campinas, Brazil. *Food Addit. Contam.* 1999, 16, 71-74.
17. *Szymczyk K., Goszcz H., Szteke B.*: Patulin content in processed apple products. In: *Fruit and vegetables juices and drinks – today and in the XXI century.* ed. L. Michalczyk, W. Płocharski, Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, 1999, 359-362.
18. *Żegota H., Żegota A., Bachman S.*: Effect of irradiation on the patulin content and chemical composition of apple juice concentrate. *Lebensm. Unters. Forsch* 1988, 187, 235-238.

Otrzymano: 2003.12.10