



## ZNANSTVENO IZVJEŠĆE

o patulinu u sokovima od jabuka

Usvojeno 11. veljače 2016.

## UVOD

Patulin je mikotoksin kojeg proizvode određene vrste plijesni, kao što su *Penicillium* (pogotovo *P. expansum*), *Aspergillus* i *Byssoschlamys*, a koje mogu rasti na različitim namirnicama uključujući voće, žitarice i sir (FDA, 2001). Toksičan je za mnoge biološke sustave (toksičan za stanice i tkiva životinja), ali njegovo značenje u izazivanju bolesti u ljudi i životinja još nije potpuno objašnjeno. Simptomi akutne toksičnosti su: uznemirenost, u nekim slučajevima grčevi, otežano disanje, plućna zagušenja, oticanje i ulceracija, krvarenje i rastezanje gastrointestinalnog trakta. Kod subakutne i subkronične toksičnosti najčešće uzrokuje dodatne i teže poremećaje u gastrointestinalnom, a pri visokim dozama i promjene u funkciji bubrega (Puel i sur., 2010). Također je toksičan za bakterije (u početnim istraživanjima nakon otkrića je smatran antibiotikom širokog spektra), plijesni, praživotinje, sisavce i biljke. Zbog nedovoljnih spoznaja o karcinogenosti patulina, Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC, engl. *International Agency for Research of Cancer*) ga je svrstala u Skupinu 3 „*Not classifiable as to its carcinogenicity to humans*“, odnosno „nije klasificiran kao kancerogen za ljude“ (IARC, n.d.). Trenutno važeći PMTDI za patulin iznosi 0,4 µg/kg/ t.m. (SCF, 2000), a prema Uredbi Komisije (EZ) br. 1881/2006 od 19. prosinca 2006. o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani, najveće dopuštene količine patulina u sokovima od jabuka su do 50 µg/kg. Jabuke i sok od jabuka, najvažniji su izvor kontaminiranih namirnica patulinom u ljudskoj prehrani, a posebno sokovi koji se proizvode prešanjem svježih jabuka. Naime, ukoliko se ne provodi dobra poljoprivredna praksa (koja uključuje odstranjivanje trulih i oštećenih plodova prilikom berbe, određene uvjete skladištenja i čitav niz drugih mjera) te dobra proizvođačka praksa (dodatno odstranjivanje nesukladnih plodova, pranje, odabir adekvatne ambalaže i dr.), koncentracije patulina u sirovini i finalnom proizvodu mogu premašiti zakonski uspostavljene najveće dopuštene količine patulina i predstavljati potencijalni rizika za zdravlje ljudi.

Unutar svog plana rada, zadnjih nekoliko godina Ministarstvo zdravlja je provodilo monitoring patulina u odabranim proizvodima, a u svrhu nadzora i zaštite potrošača. Na 2. sastanku Znanstvenog odbora za kemijske opasnosti (u daljnjem tekstu: ZO) Hrvatske agencije za hranu (HAH), dogovoreno je da se monitoring za proizvode iz berbe jabuka iz 2014. godine (jer je godina bila dosta vlažna i pogodna za razvoj mikotoksina) provede u suradnji s HAH-om. Nadalje, dogovoreno je da se naglasak stavi na sokove od jabuka iz domaće proizvodnje, koje proizvode obiteljsko – poljoprivredna gospodarstva (OPG-ovi) jer je zbog specifičnog proizvodnog procesa u ovoj vrsti proizvoda prepoznat dodatan rizik. Isto tako, zadnjih godina je došlo do ekspanzije OPG-ova koji na tržištu nude svoje proizvode. Zaključeno je da se kemijska analiza ovih proizvoda obavi u akreditiranom laboratoriju u RH, HAH će obraditi podatke, koji će se dalje slati Europskoj agenciji za sigurnost hrane (EFSA) kao doprinos zajedničkoj europskoj bazi podataka te na osnovu svega donijeti znanstveno izvješće o patulinu u sokovima od jabuka.

U samom početku bilo je teško doći do popisa OPG-ova koji imaju prijavljenu proizvodnju sokova od jabuka. Nakon što se uspjelo stupiti u kontakt s nekima od njih, zaključeno je da se tu radi o izuzetno malim proizvodnim kapacitetima (koji ne bi bili relevantni za opću populaciju RH), da

proizvodi nisu dostupni na tržištu putem uobičajenih kanala distribucije i prodaje te da velika većina OPG-ova u biti niti nema svoju proizvodnu liniju, nego samo svoje jabuke prodaje većim otkupljivačima. Stoga je na 3. sastanku ZO-a predložen izmijenjen plan projekta, kojim bi bili obuhvaćeni i veći domaći proizvođači koji svoje proizvode (sokove od jabuka, dobivene hladnim prešanjem) plasiraju u trgovačke centre u cijeloj RH, a čiji je popis sastavljen uvidom u stanje na tržištu. Preinake na projektu su jednoglasno usvojene od strane članova ZO-a te je dodatno zaključeno da se uzorkovanje provede u dva navrata tijekom godine ne bi li se prema datumu proizvodnje/roku upotrebe, vidjelo proizvode li proizvođači sokove u jednom navratu (nakon berbe) ili u više navrata tijekom godine, odnosno utječe li dužina skladištenja sirovine na pojavnost patulina.

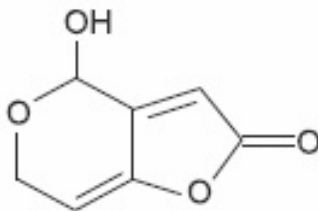
S Centrom za kontrolu namirnica pri Prehrambeno – biotehnološkom fakultetu u Zagrebu (CKN), kao laboratorijem koji ima akreditiranu metodu za određivanje patulina, dogovoreno je uzorkovanje i ispitivanje ukupno 60 uzoraka sokova od jabuka.

## PROCJENA RIZIKA

### 1. Identifikacija i karakterizacija opasnosti

Patulin (4-hidroksi-4H-furo[3,2-c]piran-2(6H)-on; CAS broj 149-29-1) je mikotoksin kojeg proizvode određene vrste plijesni, kao što su *Penicillium*, *Aspergillus* i *Byssoschlamys*, a koje mogu rasti na različitim namirnicama uključujući voće, žitarice i sir (FDA, 2001). Kemijski, patulin je poliketid lakton, relativno mala molekula (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) koja je topiva u vodi (Lawley, 2013). Može se izolirati u obliku bezbojnih do bijelih kristala. Točka tališta mu je na oko 110°C, a sublimira u visokom vakuumu na 70 do 100°C. Osim u vodi, topiv je i u metanolu, etanolu, acetonu i etil ili amil acetatu, a manje je topiv u dietil eteru i benzenu. Stabilan je u kiselim otopinama, ali se može razgraditi kuhanjem u sumpornoj kiselini (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) u trajanju od 6 sati. Kada se SO<sub>2</sub> koristi kao konzervans u voćnim sokovima ili drugoj hrani, patulin se razgrađuje (Kos i Krska, n.d.).

Birkinshaw i sur. (1943) su prvi uspjeli izolirati patulin iz plijesni *Penicillium griseofulvum* i *Penicillium expansum* u nadi da će pronaći nove metabolite plijesni koji će imati antibiotska svojstva. Iz tog razloga je patulin prvotno bio klinički testiran kao antibiotik, ali je interes za njegova antibiotska svojstva ubrzo nestao, nakon otkrića o njegovoj toksičnosti za ljude i životinje (Puel i sur., 2010).



Slika 1 Strukturna formula patulina

### Biosinteza patulina

Najveći proizvođač patulina je plijesan *Penicillium expansum* koja je odgovorna za čestu bolest koja se pojavljuje na jabukama nakon berbe (gnjiljenje, truljenje), odnosno tijekom skladištenja. Intenzitet biosinteze patulina ovisi o sljedećim okolišnim i endogenim čimbenicima:

- $a_w$  – vrijednosti
- temperaturi
- pH
- stanju atmosfere (%-tni udio O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>)

Dakle, povećana koncentracija CO<sub>2</sub> tijekom skladištenja može utjecati na biosintezu patulina, no visoke koncentracije dovode do nekih promjena i u jabuci poput smanjenja kakvoće, gubitka okusa i promjena na kori. Utjecaj nižeg udjela O<sub>2</sub> (pri 25°C) rezultira određenom promjenom koncentracije

patulina, ali i fiziološkim promjenama na plodu jabuke. Sljedeći parametar koji utječe na biosintezu je temperatura. Ovisno o soju plijesni, njezin optimalan porast i biosinteza patulina zabilježena je pri temperaturama od 4°C do 25°C. Niže temperature ne zaustavljaju njegovu sintezu, već ju zbog sporijeg rasta plijesni, odgađaju. Isto tako, niske pH vrijednosti potiču sintezu patulina (Vasić – Rački, 2010). Nadalje, neke sorte plijesni (kao npr. *Byssoclamys nivea*) su termostabilne pa se stoga može reći da standardna pasterezacija (pri temperaturama od 70 do 85 °C, 10-30 min) nije učinkovita u uništavanju patulina u krajnjem proizvodu (Arnér, 2015).

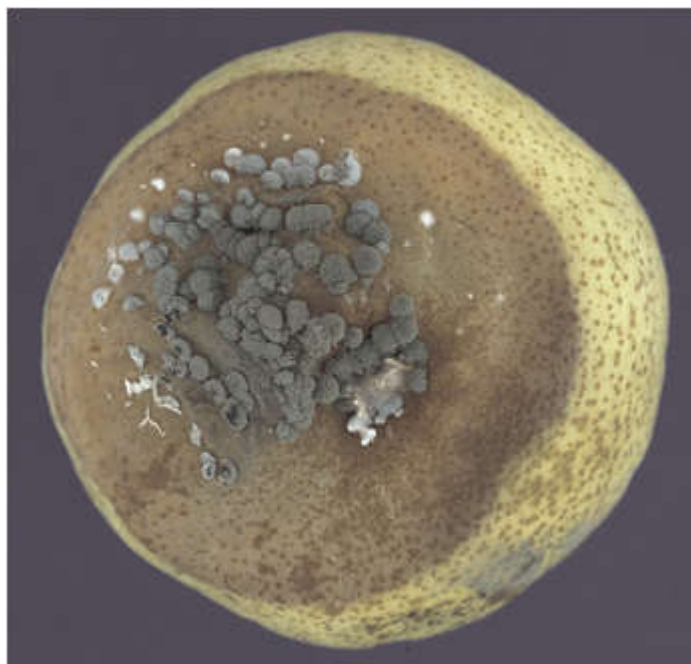
Još neki čimbenici mogu utjecati na konačne koncentracije patulina u jabukama. Jabuke koje imaju oštećenja (djelovanjem insekata, uslijed berbe, tj. mehaničke obrade i sl.) i koje su natučene uslijed pada na zemlju sa stabla, podložnije su zarazi s plijesni od drugih jabuka (čak iako plijesan nije vidljiva, tako oštećene jabuke svejedno mogu imati velike koncentracije patulina). Uočeno je da jabuke koje su sakupljene sa zemlje imaju veće koncentracije patulina od onih koje su ubrane sa stabla (Arnér, 2015). Kako se u zadnjih nekoliko godina podiže svijest o tome da se pokuša umanjiti bacanje hrane te postići što veća iskoristivost, u kontekstu pojavnosti patulina to može imati negativan utjecaj. Američka agencija za hranu i lijekove (*engl. Food and Drug Administration, FDA*) je pretpostavila da jedna trula jabuka unutar 200 zdravih, može dovesti do premašivanja zakonskih najvećih dopuštenih koncentracija patulina u konačnom proizvodu (FDA 2004).

Neprikladni uvjeti skladištenja, koje obilježava visoka vlažnost, prljave posude u kojima su jabuke pohranjene te povišena temperatura, mogu pridonijeti jačem razvoju i rastu plijesni. Ako su jabuke uskladištene zajedno s nečistoćama, kao što su ostaci drugih jabuka, grane i lišće, može doći do potencijalnog prijenosa zaraze. Nadalje, duži period skladištenja također može utjecati na pojavnost plijesni. S druge strane, sudbina patulina u uskladištenim proizvodima nije posve jasna. Postoje različiti izvještaji o degradaciji patulina ili izostanku iste tijekom skladištenja. Kada je sok od jabuka bio uskladišten 3 tjedna na 22°C, uočena je mala redukcija patulina, dok je kod soka u limenkama uskladištenog 5 tjedana, uočeno smanjenje razina patulina (Arnér, 2015).

Na pojavnost patulina može utjecati i sorta jabuka. Na primjer, sorta koksoranž (Cox's Orange pippin) podložnija je napadima plijesni, nego sorta zlatni delišes (Golden Delicious) (Arnér, 2015).

Međutim, kod sprječavanja svih nabrojanih indikatora koji doprinose pojavnosti patulina, on i dalje može biti prisutan i u naizgled zdravom voću (Arnér, 2015).

Kada se govori o procesima koji doprinose smanjenju pojavnosti plijesni, a samim time i koncentracija patulina, pranje voća prije same prerade se pokazalo učinkovito za tu svrhu. Nadalje, procesi u proizvodnji sokova, kao što su bistrenje i filtracija, u pravilu smanjuju razine patulina. Smatra se da patulin tvori aduktove s proteinskim česticama u gustom soku, koje se odstrane filtracijom te su razine patulina u bistrom soku smanjenje. Sumporni dioksid i askorbinska kiselina su se pokazali kao dodaci koji utječu na smanjenje koncentracija patulina (Arnér, 2015).



Slika 2 Trula jabuka zbog rasta plijesni *P. expansum* (Motarjemi i sur., 2014)

### Toksokinetika i toksodinamika patulina

Po pitanju **metabolizma** patulina, u studijama na štakorima, uočeno je da se većina primijenjene doze izlučila iz organizma putem fecesa i urina unutar 48 sati. Manje od 2 % se izlučilo u obliku ugljičnog dioksida te nisu bili uočeni drugi metaboliti. Oko 2 % od dane doze zadržalo se u organizmu i nakon 7 dana, većinom u eritrocitima (Wouters i Speijers, 1996).

Patulin ima snažan afinitet prema sulfhidrilnim skupinama, što objašnjava njegovo inhibirajuće djelovanje na mnoge enzime. Spojevi patulina s cisteinom pokazali su manju toksičnost od nepromijenjenog oblika u studijama o akutnoj toksičnosti, teratogenosti i mutagenosti (Wouters i Speijers, 1996).

Većina informacija o toksičnosti patulina dobivena je iz studija na životinjama, odnosno postoji vrlo ograničena količina podataka (eksperimentalnih ili epidemioloških) o akutnoj ili kroničnoj toksičnosti na ljudima (Lawley, 2013).

U studijama o **akutnoj toksičnosti** patulina na glodavcima, oralna doza LD<sub>50</sub> se kretala od 29 do 55 mg/kg t.m. Perad se pokazala otpornijom s oralnom dozom LD<sub>50</sub> od 170 mg/kg t.m. Kada se primjeni intravenozno, intraperitonealno ili supkutano, patulin je 3 do 6 puta toksičniji. Simptomi toksičnosti su: uznemirenost, u nekim slučajevima grčevi, otežano disanje, plućna zagušenja, oticanje i ulceracija, krvarenje i rastezanje gastrointestinalnog trakta (Puel i sur., 2010).

Kada se primjenjuje **subakutno** i **subkronično**, patulin najčešće uzrokuje dodatne i ozbiljnije poremećaje u gastrointestinalnom traktu, a pri visokim dozama i promjene u funkciji bubrega (**Tablica 1**).

**Tablica 1** Pregled subakutnih i subkroničnih studija koje opisuju djelovanje patulina (Puel i sur., 2010)

Vrsta	Doza	Trajanje	Uočeni učinci
Miševi	24-36 mg/kg t.m. svaki dan ili svaki drugi dan	14 dana	crijevni poremećaji
Štakori	28-41 mg/kg t.m. svaki dan ili svaki drugi dan	14 dana	crijevni poremećaji
Štakori	25-295 mg/l u vodi za piće	28 dana	Smanjena tjelesna težina, snižen Cl kreatinin, čir na želudcu pri visokim dozama
Štakori	0,1 mg/kg t.m. svaki dan	30 dana	Sniženi lipidi, sniženi trigliceridi, povećan kolesterol, inhibicija crijevne ATP-aze
Štakori	6-150 mg/L u vodi za piće	13 dana	Smanjeni unos hrane, smanjena tjelesna težina pri visokim dozama
Štakori	0,1 mg/kg t.m. svaki dan	60 i 90 dana	Povišene razine testosterona i LH-a, promjene u morfologiji testisa i tiroidne žlijezde
Štakori	0,1 mg/kg t.m. svaki dan	60 i 90 dana	Smanjen broj spermija i promjene u njihovoj morfologiji
Hrčci	16 mg/kg t.m. svaki dan ili svaki drugi dan	14 dana	Crijevni poremećaji
Kokoši	100 µg svaki drugi dan	30 dana	Crijevni poremećaji, promjene u funkciji bubrega, inhibicija crijevnih i bubrežnih ATP-aza
Majmuni	5; 50; 500 µg/kg t.m. te 5 mg/kg t.m. svaki dan	30 dana; 45 dana	Nema toksičnosti, odbijanje hrane (pri visokoj dozi), promjene u funkciji bubrega (srednja doza)

Iako postoje različiti podaci o **genotoksičnosti** patulina, većina testova provedenih na stanicama sisavaca bila je pozitivna, dok su testovi na bakterijama bili negativni. Osim toga, neke studije pokazuju da patulin slabi sintezu DNA. Ovi genotoksični učinci mogu se odnositi na njegovu sposobnost da reagira sa sulhidrilnim skupinama te da izaziva oksidativna oštećenja. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO, *engl. World Health Organization*), zaključila je temeljem dostupnih podataka da je patulin genotoksičan (WHO, 1998).

Nekoliko studija dugoročne toksičnosti patulina pokazalo je nepostojanje tumora kod štakora koji su bili oralno izloženi patulinu u dozama od 0.1 do 2.5 mg/kg t.m./dan u trajanju od 74 do 104 tjedna. Prema IARC-u, patulin je svrstan u grupu 3 kao „nije klasificiran kao kancerogen za ljude“ (IARC, n.d.).

U studijama na štakorima, koje su ispitivale **embriotoksičnost** i **teratogenost**, patulin je pri dozama od 1,5 mg/kg t.m./dan uzrokovao smanjenje tjelesne težine kod potomaka, a pri dozi od 2 mg/kg t.m. pobačaj svih embrija. Kod miševa, ista oralna doza je uzrokovala smrt potomaka s krvarenjima mozga, pluća i kože. Kada se patulin ubrizgavao u kokošja jaja, pokazivao je embriotoksične učinke pri dozama od 2,35 do 68,7 µg/jaje i teratogenost pri dozama od 1 do 2 µg/jaje.

Kao što je slučaj i kod drugih mikotoksina, patulin može promijeniti **imunološki** odgovor domaćina. Mnogobrojne *in vitro* i *in vivo* studije su pokazale da patulin ima antibiotsko djelovanje.

Međutim, razine pri kojima je uočeno takvo djelovanje su veće od NOEL vrijednosti za akutnu, reproduktivnu, kroničnu toksičnost i kancerogenost (Puel i sur., 2010; Wouters i Speijers, 1996).

Dojenčad i mala djeca su najrizičnije skupine populacije te se smatra da su podložniji na utjecaj toksina, nego odrasli zbog svoje manje tjelesne mase, bržeg metabolizma, manje sposobnosti za detoksikaciju te nepotpunog razvitka pojedinih organa i tkiva. Osim toga, zbog visoke konzumacije proizvoda od jabuka, smatraju se najizloženijom skupinom populacije na patulin (Piqué, 2013).

Zajednički stručni odbor FAO/WHO za prehrambene aditive (JECFA, *engl. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) je prvotno 1990. god. na svom 35. zasjedanju uspostavila PTWI za patulin od 7 µg/kg t.m (JECFA, 1990). Ova odluka se temeljila na 109 – tjednoj studiji hranjenjem koju su proveli Becci i sur. (1981). U njoj su koristili doze od 0; 0,1; 0,5 i 1,5 mg/kg t.m. koje su se primjenjivale na oba spola štakora, 3 puta tjedno. Patulin je pri visokim dozama uzrokovao značajno povećanje smrtnosti štakora oba spola (u odnosu na kontrolnu grupu). Nisu zabilježeni štetni učinci (NOAEL, *engl. No Observed Adverse Effect Level*) u grupi koja je primala najnižu dozu od 0,1 mg/kg t.m./tri puta tjedno.

Naknadno je JECFA, na svom 44. zasjedanju 1995. donijela PMTDI (JECFA, 1995), na temelju iste studije (Becci i sur., 1981), pošto je patulin bio primjenjivan samo 3 puta tjedno (a ne nakuplja se u tijelu), izračunat je NOEL na 43 µg/kg t.m./dan. Korištenjem faktora nesigurnosti od 100, uspostavljen je **PMTDI od 0,4 µg/kg t.m.** Znanstveni odbor za hranu Europske unije (SCF, *engl. Scientific Committee on Food*), tijekom svog plenarnog zasjedanja 2000. god., potvrdio je ovaj PMTDI te isti vrijedi i danas (SCF, 2000).

### Zakonska regulativa

Patulin se ubraja u kratku listu mikotoksina (aflatoksin, ohratoksin A, zearalenon, fumonizin i trihoteceni) čija razina u hrani je zakonski regulirana u mnogim zemljama diljem svijeta pa tako i europskim koje su među prvima postavila granice u njegovim razinama. Na području Europske unije, patulin je zakonski reguliran sljedećim pravnim aktima:

- Uredba Komisije (EZ) br. 1881/2006 od 19. prosinca 2006. o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani
- Uredba Komisije (EZ) br. 401/2006 od 23. veljače 2006. o utvrđivanju metoda uzorkovanja i analize za službenu kontrolu razina mikotoksina u hrani
- Commission Recommendation of 11 August 2003 on the prevention and reduction of patulin contamination in apple juice and apple juice ingredients in other beverages (2003/598/EC)

Uredbom 1881/2006 uspostavljene su najveće dopuštene količine za patulin u određenim prehrambenim proizvodima. **Tablica 2** prikazuje isječak iz tablice koja se nalazi u Prilogu Uredbe 1881/2006, Odjeljak 2.: *Mikotoksini*, a koja propisuje najveće dopuštene količine za patulin.



**Tablica 2** Najveće dopuštene količine za patulin u određenim prehranbenim proizvodima (1881/2006/EZ)

2.3.	Patulin	Najveće dopuštene količine (µg/kg)
2.3.1.	Voćni sokovi, rekonstituirani koncentrirani voćni sokovi i voćni nektari <sup>14</sup>	50
2.3.2.	Alkoholna pića <sup>15</sup> , jabukovača i druga fermentirana pića dobivena od jabuka ili koja sadrže jabučni sok	50
2.3.3.	Jabučni proizvodi u krutom stanju, uključujući jabučni kompot i jabučni pire, za izravnu prehranu ljudi, osim hrane navedene u točkama 2.3.4. i 2.3.5.	25
2.3.4.	Jabučni sok i jabučni proizvodi u krutom stanju, uključujući jabučni kompot i jabučni pire, za dojenčad i malu djecu <sup>16</sup> , označeni i stavljeni na tržište kao takvi <sup>4</sup>	10,0
2.3.5.	Dječja hrana, osim prerađene hrane na bazi žitarica za dojenčad i malu djecu <sup>3 4</sup>	10,0

<sup>3</sup> Hrana navedena u ovoj kategoriji kako je definirana u Direktivi Komisije 96/5/EZ od 16. veljače 1996. o prerađenoj hrani na bazi žitarica i hrani za dojenčad i malu djecu (SL L 49, 28.2.1996., str. 17.), kako je zadnje izmijenjena Direktivom 2003/13/EZ (SL L 41, 14.2.2003., str. 33.).

<sup>4</sup> Najveća dopuštena količina odnosi se na proizvode spremne za uporabu (koji se kao takvi stavljaju na tržište ili nakon pripreme prema uputama proizvođača).

<sup>14</sup> Hrana navedena u ovoj kategoriji kako je definirana u Direktivi Vijeća 2001/112/EZ od 20. prosinca 2001. o voćnim sokovima i određenim sličnim proizvodima namijenjenim prehrani ljudi (SL L 10, 12.1.2002., str. 58.).

<sup>15</sup> Hrana navedena u ovoj kategoriji kako je definirana u Uredbi Vijeća (EEZ) br. 1576/89 od 29. svibnja 1989. o utvrđivanju općih pravila za definiranje, opis i prezentiranje jakih alkoholnih pića (SL L 160, 12.6.1989., str. 1.), kako je zadnje izmijenjena Protokolom o uvjetima i aranžmanima pristupanja Republike Bugarske i Rumunjske Europskoj uniji.

<sup>16</sup> Dojenčad i mala djeca kako su definirana u Direktivi 91/321/EEZ i Direktivi 96/5/EZ.

Uredba 401/2006 točno propisuje metode uzorkovanja za pojedine prehranbene proizvode te kriterije učinkovitosti primjenjivane laboratorijske metode.

Preporuka 2003/598/EC donosi čitav niz preventivnih mjera koje se trebaju poduzeti radi smanjenja kontaminacije patulinom soka od jabuke i ostalih napitaka koji sadrže sok od jabuke. I Codex Alimentarius je 2003. god. donio preporuku s nizom sličnih preventivnih mjera (Codex Alimentarius, 2003).

U Republici Hrvatskoj (RH), patulin je zakonski reguliran Zakonom o kontaminantima (2013), koji sadrži odredbe koje su u skladu s Uredbama 1881/2006/EZ i 401/2006/EZ.

## 2. Procjena izloženosti

### Izvori izloženosti

Patulin je pronađen u mnogim namirnicama uključujući: sok od jabuke, jabuke i kruške zahvaćene smeđom truleži, grožđe i brašno, a može ga se naći i u sladu u hrani za životinje. Međutim, s obzirom na prirodu same namirnice, tehnološki proces obrade ili način konzumacije mnogih namirnica, patulin ne bi trebao predstavljati sigurnosni problem. Na primjer, truli dijelovi većine voća i žitarica obično se odstranjuju prije konzumacije. U namirnicama kao što je sir, visoke koncentracije cisteina reagiraju s patulinom i tako ga inaktiviraju. Isto tako, zabilježeno je da se patulin uništava fermentacijom i stoga nije pronađen niti u voćnim alkoholnim pićima niti u octu napravljenom od voćnih sokova, ali je u jabučnom vinu (cideru) u koje se dodaje nefermentirani sok od jabuka. Termička obrada utječe na umjereno smanjenje razina patulina te se stoga patulin, koji se nađe u soku od jabuka, zadržava u soku i nakon pasterizacije (FDA, 2001). Jabuke i sok od jabuka, najvažniji su izvor kontaminiranih namirnica patulinom u ljudskoj prehrani, a posebno sokovi koji se proizvode prešanjem svježih jabuka. Ostali voćni sokovi također mogu biti potencijalni izvor patulina ako su pomiješani sa sokom od jabuka (Kos i Krska, n. d.).

### Provedba istraživanja koncentracija patulina u sokovima od jabuka

Istraživanje je provedeno u suradnji s Centrom za kontrolu namirnica (CKN) pri Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu u Zagrebu i uključivalo je uzorkovanje i laboratorijske analize 100%-tnih sokova od jabuka koji su dobiveni hladnim prešanjem (nisu koncentрати) i odnose se na srednje velike proizvođače, čiji su proizvodi prisutni u velikim trgovačkim centrima. Na taj se način planiralo staviti pod dodatni nadzor i ovu kategoriju proizvođača. Kako je 2014. godina bila klimatski pogodna za nastanak mikotoksina pa tako i patulina, ovaj monitoring je imao dodatan značaj.

Na osnovu popisa proizvođača sokova od jabuka prisutnih u trgovačkim centrima te na osnovu financijskih sredstava predviđenih za ovaj projekt, provelo se uzorkovanje, nakon čega je uslijedila laboratorijska analiza uzoraka akreditiranom metodom te obrada podataka. Broj uzoraka od pojedinog proizvođača proporcionalno se odredio na osnovu njegove godišnje proizvodnje (kapaciteta) i ukupne proizvodnje u RH. Uzorkovanje je provedeno u dva navrata, u proljeće 2015. godine, prema *Pravilniku o planu uzorkovanja i metodama analiza za službenu kontrolu količina mikotoksina u hrani (2008)* te u jesen 2015. (rujan) pred berbu novih jabuka. Na taj način se planiralo uzorkovati proizvode od jabuka iz berbe 2014. god. te vidjeti ima li vrijeme skladištenja utjecaj na pojavnost patulina. Kako se u prvom uzorkovanju uočila pojavnost patulina kod određenih proizvođača, a kod drugih nije, plan uzorkovanja se promijenio te je broj uzoraka kod proizvođača kod kojih nije pronađen patulin smanjen, a kod ostalih povećan. Ukupan broj uzoraka je bio 60 (**Tablica 3**).

Ispitivanja su se provela u instrumentalnom laboratoriju CKN-a metodom tekućinske kromatografije visokog učinka (HPLC). Ispitna metoda je prema međunarodnoj normi HRN EN

15890:2010 za određivanje sadržaja patulina u soku od jabuke i proizvodima, a akreditirana 2011. godine prema normi HRN EN ISO/IEC 17025:2006. Princip metode je bio sljedeći: patulin se iz uzorka ekstrahirao s otapalom za ekstrakciju (smjesa etil-acetata i n-heksana), ekstrakt se pročistio na silica SPE koloni (*Sampli Q Silica* 500 mg / 3 ml proizvođača *Agilent Technologies*) i eluirao sa istim otapalom. Dobiveni se eluat upario do suhe tvari u struji dušika, a rezidu se otopio u vodi (pri pH=4) i odredio HPLC-metodom uz UV detekciju. Kromatografska separacija se provela na koloni *Hypersil ODS* dimenzija 250 x 4.6 mm, veličine punila 5 µm, na HPLC instrumentima *Agilent 1100* i *Thermo Scientific Accela*, uz detekciju na 276 nm. Kalibracijske otopine za izradu baždarnog pravca patulina, na temelju kojeg su provedena identifikacija i izračun količine patulina u uzorcima, priređene su korištenjem certificiranog referentnog materijala Patulin solution, 100 µg/ml u *acetonitrile Oekanal Sigma – Aldrich Product 34127*. Kromatografski uvjeti na instrumentima su bili kako slijedi:

- protok: oko 1 ml/min
- MF: voda + acetonitril + perklorna kiselina 95 + 5 + 0,1
- volumen injektiranja: oko 100 µl
- temperatura kolone: oko 40°C
- detektor: UV, valna duljina 276 nm

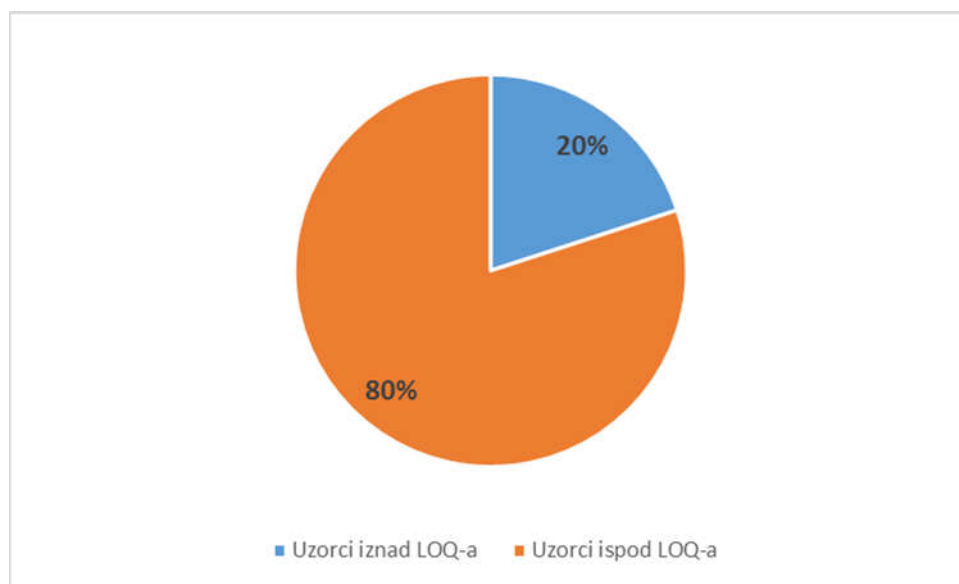
Granica kvantifikacije (*engl. Limit of Quantification, LOQ*) je postavljena na 5 µg/kg.

**Tablica 3** Rezultati istraživanja koncentracija patulina u sokovima od jabuka dobivenih hladnim prešanjem

Redni br. uzorka	Period uzorkovanja	Rok trajanja	Koncentracija patulina [µg/kg]
1.	lipanj	28.06.2016.	6,22 ± 1,83
2.	lipanj	22.08.2015.	<5
3.	svibanj	02.07.2016.	<5
4.	svibanj	21.12.2016.	<5
5.	svibanj	09.01.2017.	<5
6.	svibanj	30.10.2015.	<5
7.	svibanj	18.05.2016.	<5
8.	svibanj	10.05.2016.	<5
9.	svibanj	15.05.2016.	<5
10.	lipanj	veljača, 2016.	<5
11.	lipanj	srpanj, 2016.	25,5 ± 7,49
12.	lipanj	listopad, 2015.	<5
13.	lipanj	travanj, 2016.	8,42 ± 2,47
14.	svibanj	lipanj, 2016.	6,14 ± 1,81
15.	svibanj	svibanj, 2016.	<5
16.	svibanj	veljača 2016.	12,4 ± 3,66

17.	lipanj	srpanj, 2016.	129,6 ± 11,3
18.	lipanj	veljača, 2016.	9,6 ± 2,82
19.	lipanj	30.10.2015.	<5
20.	lipanj	04.11.2015.	<5
21.	lipanj	17.03.2017.	<5
22.	svibanj	30.10.2015.	<5
23.	lipanj	26.08.2016.	<5
24.	svibanj	prosinac, 2016.	<5
25.	svibanj	25.03.2016.	20,4 ± 6,01
26.	svibanj	21.05.2016.	<5
27.	lipanj	25.12.2015.	<5
28.	lipanj	24.04.2016.	<5
29.	svibanj	19.12.2015.	<5
30.	lipanj	19.05.2016.	<5
31.	rujan	20.07.2016.	<5
32.	rujan	16.07.2016.	<5
33.	rujan	02.07.2016.	<5
34.	rujan	28.03.2017.	<5
35.	rujan	17.03.2017.	<5
36.	rujan	24.02.2017.	<5
37.	rujan	listopad 2015.	<5
38.	rujan	09.05.2016.	<5
39.	rujan	18.06.2016.	<5
40.	rujan	01.04.2016.	<5
41.	rujan	11.05.2016.	<5
42.	rujan	18.05.2016.	<5
43.	rujan	travanj, 2016.	<5
44.	rujan	lipanj, 2016.	<5
45.	rujan	rujan, 2016.	<5
46.	rujan	kolovoz, 2016.	<5
47.	rujan	29.01.2016.	<5
48.	rujan	29.01.2016.	12,0 ± 3,52
49.	rujan	22.04.2017.	<5
50.	rujan	18.06.2017.	<5
51.	rujan	08.01.2016.	<5
52.	rujan	19.08.2017.	<5
53.	rujan	22.04.2017.	<5
54.	rujan	prosinac, 2016.	<5

55.	rujan	prosinač, 2016.	19,7 ± 5,79
56.	rujan	prosinač, 2016.	7,97 ± 2,34
57.	rujan	svibanj, 2016.	12,0 ± 3,52
58.	rujan	siječanj, 2016.	<5
59.	rujan	24.06.2016.	<5
60.	rujan	19.12.2015.	<5



**Slika 3** Udio uzoraka soka od jabuka iznad i ispod LOQ-a za patulin

Kao što je vidljivo iz **Tablice 3** i **Slike 3**, od ukupno 60 uzoraka, 12 ih je imalo vrijednosti veće od granice kvantifikacije (LOQ-a; tzv. pozitivni uzorci), odnosno 20 %. Od tih 20 %, u jednom uzorku (**uzorak br. 17 = 129,6 ± 11,3 µg/kg**) izmjerena je vrijednost koja prelazi zakonski postavljene najveće dopuštene količine (**Tablica 2**). S obzirom da je nadležno Ministarstvo zdravlja ovaj proizvod proglasilo nesukladnim i povuklo s tržišta, nije rađena procjena rizika samo za taj proizvod, već je on bio obuhvaćen u statističkoj obradi, zajedno sa svim ostalim vrijednostima.

Sljedeći parametar od interesa bio je rok trajanja jer se htjelo vidjeti utječe li duljina skladištenja jabuka, prije nego što uđu u sam proizvodni proces soka, na nastanak patulina i njegovo zadržavanje u soku. Prema njemu bi se teoretski moglo zaključiti vrijeme kada je sok proizveden. Naime, pretpostavka je da svaki proizvod ima rok trajanja 2 godine od datuma proizvodnje na temelju navoda na deklaraciji određenog broja proizvoda gdje je naveden rok trajanja dvije godine od datuma proizvodnje. Stoga, ako proizvod ima rok trajanja npr. do 29.01.2016., znači da je proizveden 29.01.2014. godine. Međutim, ova pretpostavka je vrlo upitna jer je npr. za uzorak br. 27 (**Tablica 3**) naznačeno da mu je rok trajanja do 25.12.2015., što bi onda značilo da je proizveden upravo na Božić 2013. god., što je pak vrlo malo vjerojatno.

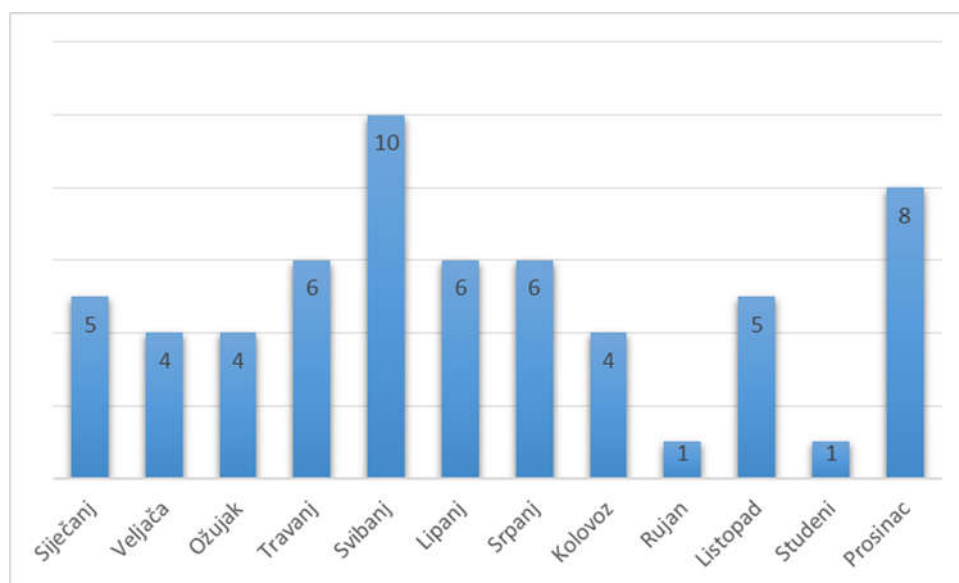
Nadalje, prema planu projekta za ovo istraživanje, planirano je uzorkovati jabuke iz berbe 2014. godine. Uzorkovanje je bilo planirano provesti u dva navrata, što je i napravljeno (svibanj-lipanj te

rujan 2015.), a u svrhu utvrđivanja postoji li ikakva razlika u datumima kada je sok od jabuka proizveden. Naime, prilikom provođenja kraće ankete s većinom proizvođača čiji su proizvodi bili obuhvaćeni ovim istraživanjem, ustanovljeno je da se jabuke rijetko skladište na duža razdoblja (prvenstveno zbog nedostatka adekvatnog skladišnog prostora) te se najčešće unutar 60 dana nakon berbe odmah koriste u proizvodnji soka. Prema pretpostavljenim datumima proizvodnje, ta tvrdnja nije dokazana, što se može vidjeti iz **Slike 4** (vidljivo je da se glavina proizvodnje odvija u kasnu jesen/ranu zimu i kasno proljeće/rano ljeto). Koristeći se podacima o roku trajanja, preko kojih se indirektno može odrediti datum proizvodnje, može se zaključiti da uzorkovanje nije u potpunosti odrađeno u skladu s planom projekta jer mnoge jabuke svoje podrijetlo vuku iz 2013. godine, a za pretpostaviti je i iz 2012. god. (uzorak br. 2; **Tablica 4**). Preciznije, može se pretpostaviti da je oko 25 % uzorkovanih sokova od jabuka iz berbe iz 2014. god.

**Tablica 4** Podaci o roku trajanja, odnosno datumu proizvodnje

Redni br. uzorka	Rok trajanja	Pretpostavljeni datum proizvodnje
2.	22.08.2015.	22.08.2013.
12.	listopad, 2015.	listopad, 2013.
37.	listopad 2015.	listopad 2013.
6.	30.10.2015.	30.10.2013.
19.	30.10.2015.	30.10.2013.
22.	30.10.2015.	30.10.2013.
20.	04.11.2015.	04.11.2013.
29.	19.12.2015.	19.12.2013.
60.	19.12.2015.	19.12.2013.
27.	25.12.2015.	25.12.2013.
58.	siječanj, 2016.	siječanj, 2014.
51.	08.01.2016.	08.01.2014.
47.	29.01.2016.	29.01.2014.
48.	29.01.2016.	29.01.2014.
10.	veljača, 2016.	veljača, 2014.
16.	veljača 2016.	veljača 2014.
18.	veljača, 2016.	veljača, 2014.
25.	25.03.2016.	25.03.2014.
13.	travanj, 2016.	travanj, 2014.
40.	01.04.2016.	01.04.2014.
43.	travanj, 2016.	travanj, 2014.
28.	24.04.2016.	24.04.2014.
15.	svibanj, 2016.	svibanj, 2014.
57.	svibanj, 2016.	svibanj, 2014.

38.	09.05.2016.	09.05.2014.
8.	10.05.2016.	10.05.2014.
41.	11.05.2016.	11.05.2014.
9.	15.05.2016.	15.05.2014.
7.	18.05.2016.	18.05.2014.
42.	18.05.2016.	18.05.2014.
30.	19.05.2016.	19.05.2014.
26.	21.05.2016.	21.05.2014.
14.	lipanj, 2016.	lipanj, 2014.
44.	lipanj, 2016.	lipanj, 2014.
39.	18.06.2016.	18.06.2014.
59.	24.06.2016.	24.06.2014.
1.	28.06.2016.	28.06.2014.
11.	srpanj, 2016.	srpanj, 2014.
17.	srpanj, 2016.	srpanj, 2014.
3.	02.07.2016.	02.07.2014.
33.	02.07.2016.	02.07.2014.
32.	16.07.2016.	16.07.2014.
31.	20.07.2016.	20.07.2014.
46.	kolovoz, 2016.	kolovoz, 2014.
23.	26.08.2016.	26.08.2014.
45.	rujan, 2016.	rujan, 2014.
24.	prosinac, 2016.	prosinac, 2014.
54.	prosinac, 2016.	prosinac, 2014.
55.	prosinac, 2016.	prosinac, 2014.
56.	prosinac, 2016.	prosinac, 2014.
4.	21.12.2016.	21.12.2014.
5.	09.01.2017.	09.01.2015.
36.	24.02.2017.	24.02.2015.
21.	17.03.2017.	17.03.2015.
35.	17.03.2017.	17.03.2015.
34.	28.03.2017.	28.03.2015.
49.	22.04.2017.	22.04.2015.
53.	22.04.2017.	22.04.2015.
50.	18.06.2017.	18.06.2015.
52.	19.08.2017.	19.08.2015.



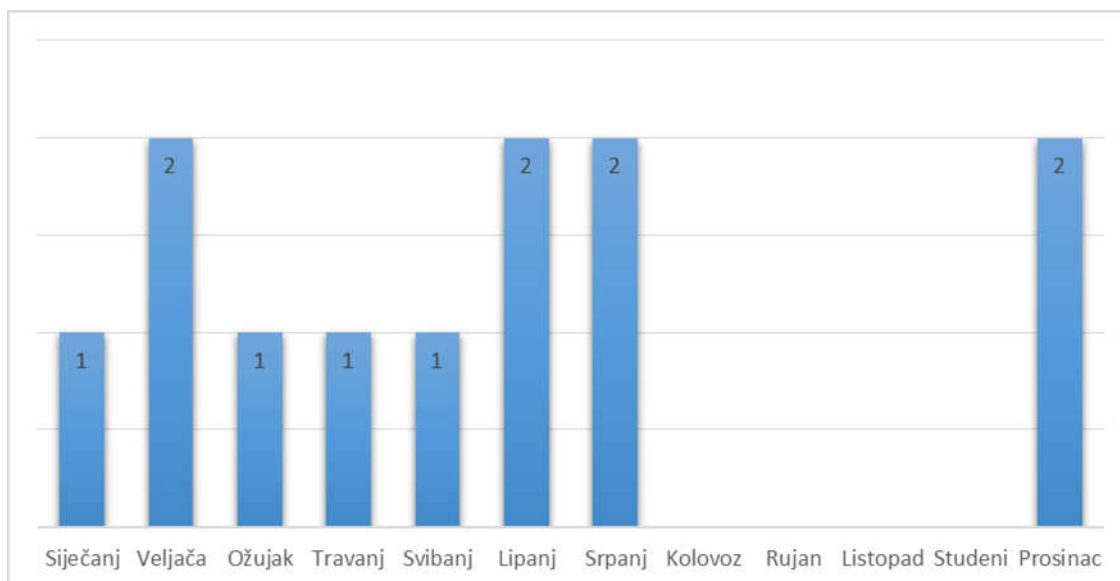
**Slika 4** Prikaz broja uzoraka prema mjesecima u kojima se pretpostavlja da su proizvedeni

Gledajući samo uzorke u kojima su kvantificirane koncentracije patulina, tj. njihov pretpostavljeni datum proizvodnje, pokušala se utvrditi nezavisnost ove dvije varijable, tj. utječe li datum proizvodnje na pojavnost, odnosno koncentracije patulina (**Slika 5**). Ove hipoteze se obično testiraju chi-square testom, no zbog malog broja podataka, njega je u ovoj slučaju nemoguće provesti. Iz tog razloga se podatke grupiralo u dvije veće skupine koje bi predstavljale jabuke koje se relativno brzo nakon berbe koriste u proizvodnji sokova (uzorci s pretpostavljenim datumom proizvodnje od rujna do studenog) i one koje se tek nakon određenog perioda skladištenja koriste za istu svrhu (uzorci s pretpostavljenim datumom proizvodnje od prosinca do kolovoza; **Tablica 5**).

**Tablica 5** Broj uzoraka u kojima ili je ili nije kvantificiran patulin, grupirani prema vremenskom periodu

	Rujan - studeni	Prosinac - kolovoz
<b>Br. uzoraka bez patulina</b>	7	41
<b>Br. uzoraka s patulinom</b>	0	12





**Slika 5** Broj kvantificiranih uzoraka prema pretpostavljenom mjesecu proizvodnje

U računalnom programu „Statistica 12“ (Statsoft, 2013) testirala se nezavisnost mjeseca proizvodnje soka od jabuka i prisutnost patulina pomoću 2x2 tablice frekvencija, koristeći Fisherov egzaktni test za nezavisnost. Iz **Tablice 6** je vidljivo da je vrijednost Fisherovog egzaktnog testa 0.3261, što je veće od razine značajnosti od 0,05 pa se na toj razini značajnosti ne može tvrditi da prisutnost patulina zavisi o mjesecu proizvodnje sokova.

**Tablica 6** 2x2 tablica frekvencije (Statsoft, 2013)

	2 x 2 Table		
	Stupac 1	Stupac 2	Red (Ukupno)
Frekvencije, redak 1	7	41	48
Postotak od ukupnog br. uzoraka	11,667%	68,333%	80,000%
Frekvencije, redak 2	0	12	12
Postotak od ukupnog br. uzoraka	0,000%	20,000%	20,000%
Stupci ukupno	7	53	60
Postotak ukupno	11,667%	88,333%	100,000%
Chi-square (df=1)	1,98	p=0,1593	
V-square (df=1)	1,95	p=0,1628	
Yates corrected Chi-square	0,82	p=0,3656	
Phi-square	0,3302		
Fisher exact p, one-tailed		p=0,1906	
<b>two-tailed</b>		<b>p=0,3261</b>	
McNemar Chi-square (A/D)	0,84	p=0,3588	
Chi-square (B/C)	39,02	p=0,0000	

U **Tablici 7** prikazane su ukupne (sumarne) vrijednosti dobivene nakon obrade rezultate ispitivanja svih 60 uzoraka. Za uzorke koji nisu kvantificirani, koristio se klasični pristup koji je uključivao 3 scenarija:

- 1) Scenarij 1 (najbolji mogući): za vrijednosti <LOQ-a, uzima se 0
- 2) Scenarij 2 (najrealniji): za vrijednosti <LOQ-a, uzima se ½ LOQ-a
- 3) Scenarij 3 (najgori mogući): za vrijednosti <LOQ-a, uzima se puni LOQ

**Tablica 7** Ukupne vrijednosti koncentracija patulina u ispitivanim uzorcima

Metoda izračuna	Srednja vrijednost [µg/kg]	Medijan [µg/kg]
Scenarij 1	4,5	0
Scenarij 2	6,5	2,5
Scenarij 3	8,5	5

Piqué i sur. (2013) su napravili pregled nekih studija koje su ispitivale vrijednosti patulina u različitim vrstama sokova od jabuka pa je u **Tablici 8** te **Slikama 6** i **7** prikazana usporedba rezultata ovog istraživanja s tim rezultatima.

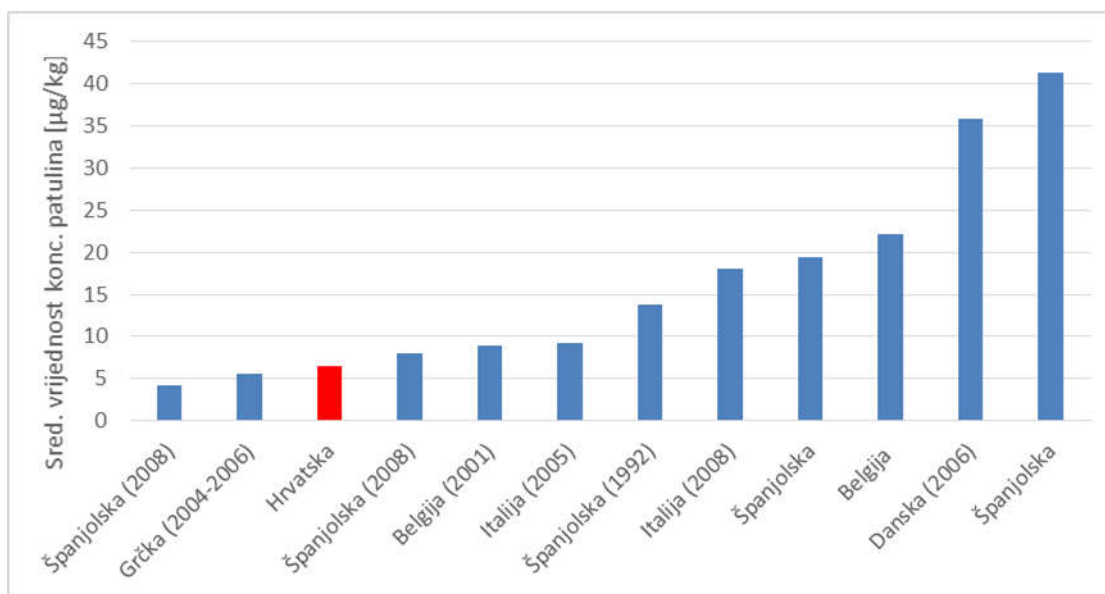
**Tablica 8** Usporedba rezultata analiza proizvoda na patulin u RH s rezultatima nekih europskih istraživanja

Zemlja (period istraživanja)	Broj uzoraka	% pozitivnih*	Najveća utvrđena vrijednost [µg/kg]	Srednja vrijednost [µg/kg]
Belgija	177	12	65,7	22,2
Belgija (2001)	43	81,4	38,8	9
Danska (2006)	20	70	122,5	35,9
Njemačka (1996-1997)	12	nema podatka	26	nema podatka
Grčka (2004-2006)	29	100	11,8	5,6
Italija (2008)	35	88,6	30	18,1
Italija (2005)	53	47,2	47,9	9,3
Italija	26	58	22	nema podatka
Italija (2003-2004)	57	49	69,3	nema podatka
Italija	15	40	56,4	nema podatka
Italija	33	nema podatka	1150	nema podatka

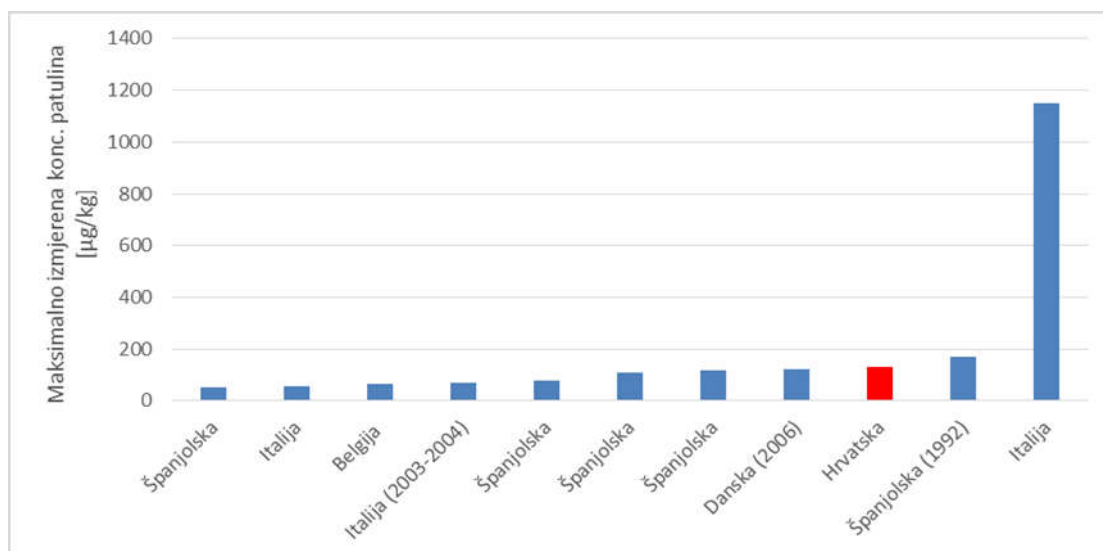
Portugal (2007-2009)	68	41	42	nema podatka
Portugal	12	83,3	12,6	nema podatka
Španjolska (2008)	28	7,14	6	4,2
Španjolska (2008)	20	70	29,61	8
Španjolska (2008)	83	39,7	15	nema podatka
Španjolska	100	67	118	19,4
Španjolska	28	7,1	6	nema podatka
Španjolska	20	100	107	41,3
Španjolska	17	29,4	50,9	nema podatka
Španjolska (2004-2005)	25	8	7,5	nema podatka
Španjolska (1992)	100	82	170	13,8
Španjolska	8	75	78	nema podatka
Švedska	39	12,8	<50	nema podatka
Nizozemska	10	20	nema podatka	nema podatka
<b>Hrvatska (2015)</b>	<b>60</b>	<b>20</b>	<b>129,6</b>	<b>6,5**</b>

\* Neki autori su za pozitivne uzorke uzimali one koji premašuju LOQ, a neki one koji premašuju LOD (*engl. Limit of detection*), odnosno granicu detekcije, što u konačnici dovodi do većih odstupanja

\*\* Kako za rezultate iz ostalih studija ne postoji pojašnjenje koji scenarij su uzimali u obzir prilikom izračuna srednjih vrijednosti, za rezultat srednje vrijednosti ove hrvatske studije se uzimao Scenarij 2, kao najrealniji.



Slika 6 Usporedba srednjih vrijednosti konc. patulina, dobivenih iz raznih europskih studija



**Slika 7** Usporedba najvećih izmjerenih koncentracija patulina u RH s nekim europskim studijama

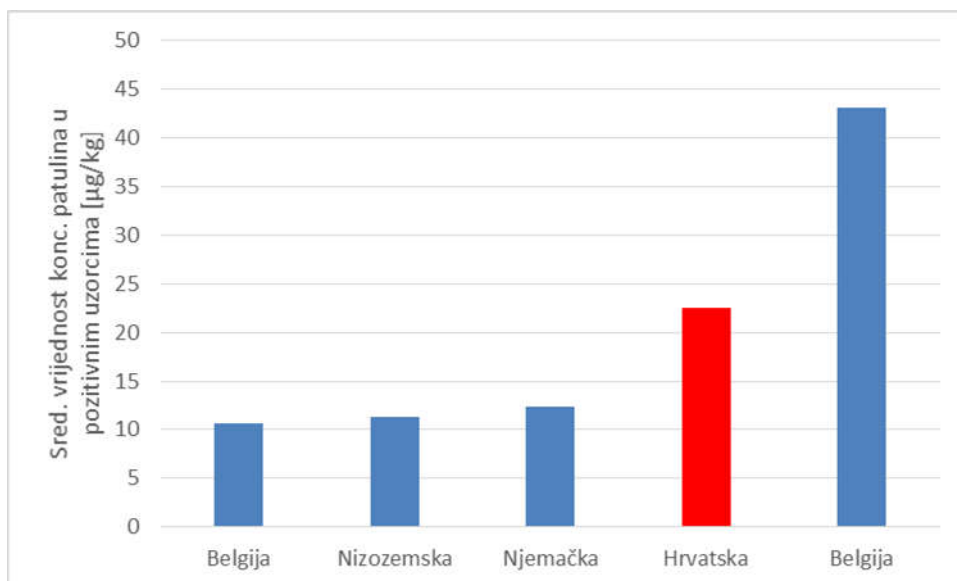
Brandon i sur. (2012) napravili su pregled nekih studija koje su također istraživale koncentracije patulina u sokovima od jabuka, ali su srednje vrijednosti koncentracija dobivene iz tih studija prikazali samo uzimajući u obzir pozitivne uzorke. U **Tablica 9** i **Slici 8** nalazi se usporedba rezultata iz hrvatske studije s rezultatima iz europskih studija.

**Tablica 9** Usporedba rezultata analiza s rezultatima europskih istraživanja s naglaskom na srednju vrijednost koncentracija pozitivnih uzoraka

Zemlja	Broj uzoraka	% pozitivnih*	Najveća utvrđena vrijednost [µg/kg]	Srednja vrijednost pozitivnih uzoraka
Nizozemska	69	22	57	11,3
Njemačka	1049	29	145	12,4
Belgija	112	13	15,6	10,6
	65	12	123	43,1
<b>Hrvatska</b>	<b>60</b>	<b>20**</b>	<b>129,6</b>	<b>22,5</b>

\* Postotak pozitivnih se temelji na broju uzoraka iznad LOD-a

\*\* Postotak pozitivnih se temelji na broju uzoraka iznad LOQ-a



**Slika 8** Usporedba srednjih vrijednosti konc. patulina dobivenih iz raznih europskih studija i RH, uzimajući u obzir samo pozitivne uzorke

### Procjena izloženosti

Procjena izloženosti (**Tablica 11** i **12**) temeljila se na koncentracijama patulina u ispitivanim proizvodima (**Tablica 7**) te podacima o konzumaciji (**Tablica 10**). Prilikom računanja, u obzir se uzimalo nekoliko scenarija, koji uključuju tri različita scenarija vezana za koncentracije patulina s jedne strane te uzimajući u obzir prosječnu konzumaciju (gledajući na ukupnu populaciju i samo na konzumente) te visoku konzumaciju na 95. percentili (također gledajući na ukupnu populaciju u samo na konzumente) s druge strane. Podaci o konzumaciji sokova od jabuka su preuzeti iz studije o prehranbenim navikama stanovništva RH koje je proveo HAH na 1971 ispitaniku, tijekom 2011. godine.

**Tablica 10** Konzumacija sokova od jabuka

	Broj	Prosječna težina [kg]	Srednja vrijednost konzumacije [g/dan]	Konzumacija na P95 [g/dan]
Svi ispitanici	1971	76,65	16,93	98,79
Samo konzumenti	124	74,32	269,04	706,50

U RH postoje podaci o prehranbenim navikama samo za odraslu populaciju (od 18 do 64 godine starosti) te je stoga izloženost bilo moguće izračunati samo za njih.

**Tablica 11** Procijenjena izloženost na patulin na cjelokupnu populaciju  
**Odrasli (18 – 64 god.), svi ispitanici (prosječne t. m. 76,65 kg)**

Srednja vrijednost konc. patulina u sokovima [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Scenarij 1 (4,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		Scenarij 2 (6,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		Scenarij 3 (8,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
	Prosječna	P95	Prosječna	P95	Prosječna	P95
Konsumacija soka [kg/dan]	0,01693	0,09879	0,01693	0,09879	0,01693	0,09879
Izloženost na patulin [ $\mu\text{g}/\text{kg t.m./dan}$ ]	0,001	0,006	0,001	0,008	0,002	0,0110
% PMTDI-a	< 1	2	< 1	2	1	3

**Tablica 12** Procijenjena izloženost na patulin na konzumente soka od jabuka  
**Odrasli (18 – 64 god.), samo konzumenti (prosječne t. m. 74,32 kg)**

Srednja vrijednost konc. patulina u sokovima [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Scenarij 1 (4,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		Scenarij 2 (6,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		Scenarij 3 (8,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
	Prosječna	P95	Prosječna	P95	Prosječna	P95
Konsumacija soka [kg/dan]	0,26904	0,7065	0,26904	0,7065	0,26904	0,7065
Izloženost na patulin [ $\mu\text{g}/\text{kg t.m./dan}$ ]	0,0163	0,0428	0,0235	0,0618	0,0308	0,0808
% PMTDI-a	4	11	6	15	8	20

U **Tablici 13** je dana usporedba procjene izloženosti na patulin u nekim europskim zemljama s procjenom izloženosti za RH (Piqué i sur, 2013).

**Tablica 13** Usporedba procjene izloženosti u RH s nekim od europskih zemalja

Zemlja	t.m. [kg]	Konzumacija [kg/dan]	Izloženost na patulin [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ t.m./dan]	% PMTDI-a
Belgija	60	-	0,030	7,5
Grčka	70	0,1 – 0,25	0,010 – 0,020	2,5 - 5
Italija	70	16,4	0,001	< 1
Španjolska	74,6	64	0,03	< 1
Španjolska	70	200	0,055	13,8
Španjolska	64	200	0,015	3,8
Švedska	-	-	0,004 – 0,011	1,0 – 2,8
<b>Hrvatska</b>	<b>76,65</b>	<b>16,96*</b>	<b>0,001**</b>	<b>&lt; 1</b>
<b>Hrvatska</b>	<b>74,32</b>	<b>269,04*</b>	<b>0,0235**</b>	<b>6</b>

\* Kako za ostale studije ne postoji dodatno pojašnjenje odnose li se podaci o konzumaciji na sve ispitanike ili samo na konzumente, za RH su dani podaci za oba slučaja

\*\*Uzimali su se podaci za Scenarij 2, kao najrealniji

### 3. Karakterizacija rizika

Prema rezultatima istraživanja koncentracija patulina u sokovima od jabuka (**Tablica 7**) vidljivo je da su one unutar zakonski dopuštenih razina (do 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Prema podacima o prehrambenim navikama, odnosno konzumaciji soka od jabuka kod odrasle populacije u RH (**Tablica 8**), izračunata je procjena izloženosti (**Tablica 11 i 12**), kako za ukupnu populaciju, tako i za samo konzumente. U obzir se uzimala procjena izloženosti pri prosječnoj konzumaciji sokova od jabuka te pri visokoj konzumaciji, na 95. percentili. Gledajući ukupnu populaciju (sve ispitanike), vidljivo je da izloženost na patulin doseže **do 3% PMTDI-a** u najgorem mogućem scenariju (najveća srednja vrijednost koncentracija i konzumacija na 95. percentili; **Tablica 11**). Kada se pak radi o samo konzumentima, izloženost u najgorem mogućem scenariju doseže **do 20 % PMTDI-a**. S obzirom da je udio PMTDI-a u najgorim scenarijima prilično nizak, nema potrebe komentirati ostale scenarije.

## ZAKLJUČCI

Ukupno je analizirano 60 uzoraka soka od jabuka koji su dostupni u većini trgovačkih lanaca diljem RH. U 12 uzoraka (20%) patulin je kvantificiran pri koncentracijama između 6,14 do 25,5 µg/kg, dok je u jednom uzorku patulin pronađen u koncentracijama od 129,6 µg/kg. Ovako dobivene vrijednosti ne odstupaju od vrijednosti dobivenih u drugim europskim zemljama.

Gledajući rok trajanja uzoraka, tj. pretpostavljeni datum proizvodnje, može se zaključiti da uzorkovanje nije provedeno u skladu s planom projekta za ovu studiju gdje je navedeno da se uzorkovanje napravi na proizvodima od jabuka iz berbe iz 2014. godine. Može se pretpostaviti da je takvih uzoraka samo oko 25 %, a svi ostali su iz berbe iz 2013., a vjerojatno i iz 2012. godine. Prema pretpostavljenom datumu proizvodnje, vidljivo je da se sokovi proizvode tijekom cijele godine (najviše u zimu i kasno proljeće/rano ljeto), ali na temelju ovih rezultata nije dokazano da period skladištenja utječe na pojavnost patulina u finalnom proizvodu. Da bi se ubuduće dobili precizniji podaci, potrebno je istraživanje realizirati u suradnji sa sanitarnom inspekcijom jer jedino inspektori imaju mogućnost doći do točnih podataka o vremenu berbe, skladištenja jabuka, proizvodnje i skladištenja soka te svih ostalih podataka od interesa.

Procjena izloženosti temeljila se na prosječnim vrijednostima utvrđenih koncentracija patulina te podacima o prehrambenim navikama koje se odnose na odraslu populaciju RH. U najgorem mogućem scenariju, za ukupnu populaciju, izloženost na patulin doseže do 3 % PMTDI-a, a za populaciju konzumenata, do 20 % PMTDI-a te se može zaključiti da rizika po zdravlje odrasle populacije, nema. Iako procjena izloženosti nije rađena za malu djecu, ne može se zanemariti da unutar ove grupe populacije također ima određen broj konzumenata ove vrste proizvoda. Kako je prisutnost patulina pronađena u 20 % uzoraka, djeca bi zbog svoje manje tjelesne mase mogla biti izloženija patulinu i samim time u većem riziku po zdravlje. Stoga se maloj djeci (do 15 kg t.m.) ne preporučuje konzumacija ovog proizvoda u količinama većim od 0,25 l/dan.

Proizvođačima se pak preporučuje da i dalje provode sve preventivne mjere koje su predložene u Preporuci 2003/598/EC, kao i u Codex Alimentariusu (Codex Alimentarius, 2003), vezane za smanjenje koncentracija patulina, kako u sirovini, tako i u konačnom proizvodu.



## LITERATURA (REFERENCE)

Arnér J (2015): A risk assessment of patulin in home-made apple must. *Institutionen för mikrobiologi*. 2015:4, ISSN 1101-8151

Becci PJ, Hess FG, Johnson WD, Gallo MA, Babish JG, Dailey RE, Parent RA (1981): Long-term carcinogenicity and toxicity studies of patulin in the rat. *Journal of Applied Toxicology*, 1(5):256-261.

Birkinshaw JH, Michael SE, Bracken A, Raistrick H (1943): Patulin in the common cold collaborative research on a derivative of *Penicillium patulum* Bainier. II. Biochemistry and Chemistry. *Lancet*, 245, 625.

Brandon EFA, Baars AJ, Biesebeek JD, Blokland Mh, Oomen Ag, Bakker MI, de Heer C (2013): Risk assessment of patulin intake from apple containing products by young children. *National Institute for Public Health and the Environment*. Bilthoven.

Codex Alimentarius (2003): *Code of Practice for the Prevention and Reduction of Patulin Contamination in Apple Juice and Apple Juice Ingredients in Other Beverages*. Codex Alimentarius, CAC/RCP 50-2003.

*Commission Recommendation of 11 August 2003 on the prevention and reduction of patulin contamination in apple juice and apple juice ingredients in other beverages (2003/598/EC)*. Official Journal of the European Union, L203/54.

FDA, U.S. Food and Drug Administration (2001): *Patulin in Apple Juice, Apple Juice Concentrates and Apple Juice Products*. Dostupno na: <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/NaturalToxins/ucm212520.htm> (15.10.2015.).

FDA, U.S. Food and Drug Administration (2004): *Guidance for Industry: Juice HACCP Hazards and Controls Guidance First Edition; Final Guidance*. Dostupno na: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Juice/ucm072557.htm> (16.10.2015.)

IARC, International Agency for Research on Cancer (n.d.): List of Classifications, Volumes 1-113, dostupno na: [http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest\\_classif.php](http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php)

JECFA, The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1990): *Evaluation of certain food additives and contaminants*. WHO Technical Report Series, No.789,1990, and corrigenda

JECFA, The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1995): *Evaluations of certain food additives and contaminants*. WHO Technical Report Series, No.859,1995

Kos G, Krska R (n.d.): *Patulin*. ENAM, dostupno na:

<http://services.leatherheadfood.com/eman/FactSheet.aspx?ID=26> (30.09.2014.).

Lawley R (2013): *Patulin*. Food Safety Watch, dostupno na:

<http://www.foodsafetywatch.org/factsheets/patulin/> (29.09.2014.).

Motarjemi Y, Moy G, Todd E (2014): *Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier, Inc. San Diego.

Piqué E, Vargas-Murga L, Gomez-Catalan J, Llobet JM (2013): 8. Occurrence of patulin in organic and conventional apple juice. Risk assessment. *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences III*. 131-144 ISBN: 978-81-7895-605-3

Puel O, Galtier P, Oswald IP (2010): Biosynthesis and Toxicological Effects of Patulin. *Toxins*, 2, 613-631; doi:10.3390/toxins2040613.

SCF, Scientific Committee on Food (2000): *Minute Statement on Patulin Expressed by the Scientific Committee on Food during the plenary meeting on 8 March 2000*.

Statsoft, computer software (2013): Dostupno na: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com) [10.10.2013.]

*Uredba Komisije (EZ) br. 1881/2006 od 19. prosinca 2006. o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određениh kontaminanata u hrani*. Official Journal of the European Union, L364/5.

*Uredba Komisije (EZ) br. 401/2006 od 23. veljače 2006. o utvrđivanju metoda uzorkovanja i analize za službenu kontrolu razina mikotoksina u hrani*. Official Journal of the European Union, L70/12.

Vasić – Rački Đ, Galić K, Delaš F, Klapac T, Kipčić D, Katalenić M, Dimitrov N, Šarkanj B (2010): *Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani*, Hrvatska agencija za hranu (HAH), Osijek.

Wouters MFA, Speijers GJA (1996): *Patulin*. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva.

WHO, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food additives (JECFA) (1998): *Position paper on patulin, 30th session*. The Hague, The Netherlands, 9-13.

*Zakon o kontaminantima* (2013). Narodne novine, br. 39/13.