

SMJERNICE

za prevenciju i smanjenje kontaminacije
patulinom u sokovima od jabuka i
sastojcima sokova od jabuka u drugim
pićima

Smjernice su kombinacija prijevoda FAO dokumenta „[CODE OF PRACTICE FOR THE PREVENTION AND REDUCTION OF PATULIN CONTAMINATION IN APPLE JUICE AND APPLE JUICE INGREDIENTS IN OTHER BEVERAGES CAC/RCP 50-2003](#)“ i prilagodbe teksta za potrebe Republike Hrvatske. Prijevod je nastao u Hrvatskoj agenciji za hranu, a tekst je prihvatio Znanstveni odbor za kemijske opasnosti Hrvatske agencije za hranu u sastavu: izv.prof.dr.sc. Jelka Pleadin, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, predsjednica ZO; prof.dr.sc. Helga Medić, Prehrambeno biotehnološki fakultet Zagreb, zamjenica predsjednice ZO; prof.dr.sc. Jasna Bošnjir, Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“; prof. dr.sc. Tomislav Klavec, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek; dr. sc. Nino Dimitrov, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb; i Leonard Matijević mag. nut., stručni suradnik u HAH-u. Recenziju su napravili dr. sc. Dario Ivić i dr. sc. Željko Budinščak, Zavod za zaštitu bilja, Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo. Hrvatska agencija za hranu zahvaljuje svima koji sudjelovali u nastanku ovih Smjernica.

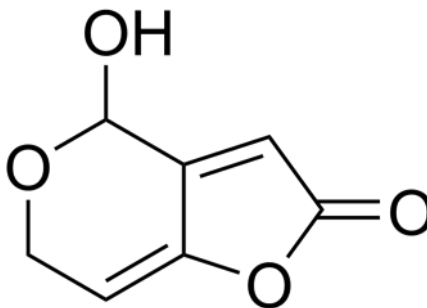
S A D R Ž A J

IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI: MIKOTOKSIN PATULIN.....	1
Općenito o patulinu.....	1
Tehnološke operacije koje utječu na pojavnost patulina.....	1
Toksikološki profil patulina.....	2
Pogodni uvjeti za nastanak patulina.....	3
PREPORUKE ZA SMANJENJE KONTAMINACIJE PATULINOM.....	5
I. PREPORUČENE MJERE TEMELJENE NA GAP-u.....	5
Prije berbe.....	5
Tijekom berbe i transporta plodova.....	8
Nakon berbe i prilikom skladištenja.....	10
Razvrstavanje plodova nakon skladištenja (za konzumaciju ili proizvodnju sokova).....	12
II. PREPORUČENE MJERE TEMELJENE NA GMP-U.....	13
Prijevoz, inspekcija i prešanje plodova.....	13
Pakiranje i završna obrada soka.....	14
PROCJENA KVALITETE SOKA.....	15
ZAKLJUČAK.....	16

IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI: MIKOTOKSIN PATULIN

Općenito o patulinu

Patulin je sekundarni metabolit kojeg proizvode određene vrste plijesni iz rodova *Penicillium*, *Aspergillus* i *Byssochlamys* od kojih *Penicillium expansum* spada u najučestalije vrste. Patulin je pronađen kao kontaminant u raznom pljesnivom voću, povrću, žitaricama i drugoj hrani. Međutim, glavni izvor kontaminacije su jabuke i proizvodi od jabuka.



Slika 1 Strukturna formula patulina

Tehnološke operacije koje utječu na pojavnost patulina

Alkoholna fermentacija voćnih sokova uništava patulin i stoga fermentirani proizvodi, kao što su voćna vina (cideri), neće sadržavati patulin. Međutim, patulin je uočen u jabučnom vinu u kojem je sok od jabuke dodan nakon fermentacije. Zabilježeno je da askorbinska kiselina uzrokuje nestajanje patulina iz soka od jabuka, iako optimalni uvjeti za inaktivaciju patulina još nisu u potpunosti ustanovljeni. Patulin je relativno termostabilan, pogotovo pri niskim pH vrijednostima (u kiseloj sredini). Zabilježeno je da kratko izlaganje visokim temperaturama (150 °C) rezultira s otprilike 20 %-tnim smanjenjem koncentracija patulina. Međutim, termička obrada sama po sebi nije dovoljna da se osigura proizvod bez patulina.

Toksikološki profil patulina

Ne postoje jasni dokazi da je patulin kancerogen, međutim, kod životinja je izazvao imunotoksične učinke i neurotoksičnost. Međunarodna agencija za istraživanje raka (*engl. The International Agency for Research on Cancer, IARC*) je zaključio da nije moguće procijeniti kancerogenost patulina kod ljudi i da postoje neadekvatni dokazi kod eksperimentalnih životinja. Patulin je procijenjen od strane Zajedničkog FAO/WHO stručnog odbora za prehrambene aditive (*engl. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA*) 1990. i ponovno procijenjen 1995. godine. Ova zadnja procjena uzela je u obzir činjenicu da je većina patulina, koju su štakori konzumirali, izlučena unutar 48 sati, a 98 % unutar 7 dana. Studija o zajedničkim učincima patulina na reprodukciju, dugoročnu toksičnost i kancerogenost, ukazala je na bezopasni unos od 43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne mase na dan. Na temelju ovog rada i koristeći sigurnosni faktor od 100, JECFA je uspostavila privremeni najveći podnošljivi dnevni unos (*engl. Provisional maximum tolerable daily intake, PMTDI*) od 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne mase.

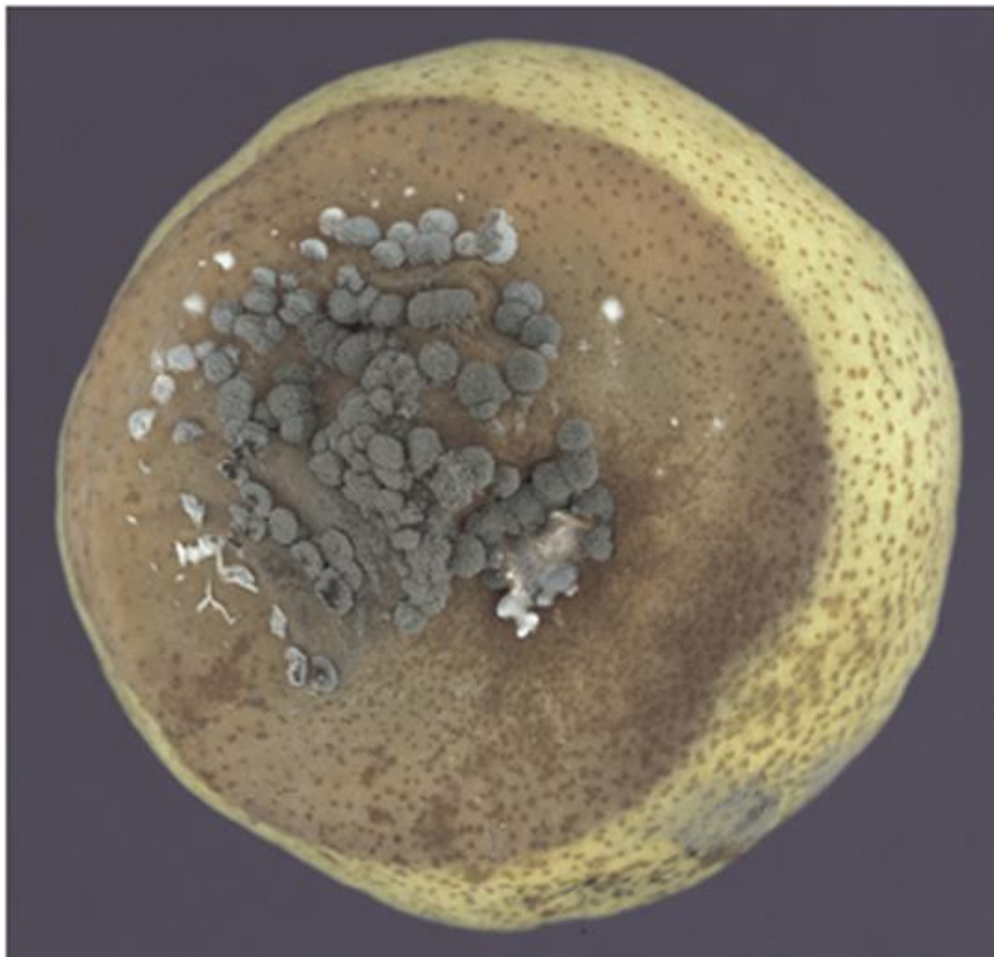


Slika 2 Sok od jabuke

Pogodni uvjeti za nastanak patulina

Patulin se pojavljuje najčešće u pljesnivom voću, iako prisutnost plijesni ne mora nužno ukazivati na prisutnost patulina u voću, nego samo ukazivati na tu mogućnost. U nekim slučajevima, rast plijesni unutar ploda može biti posljedica prisustva insekata ili drugih invazivnih pojava na inače zdravom tkivu, što rezultira pojavnošću patulina u plodovima koji izvana izgledaju neoštećeno. Međutim, također se može pojaviti u udarenim plodovima koji su nakon uskladištenja u kontroliranoj atmosferi bili izloženi sobnim uvjetima, a da mogu i ne moraju imati trulež koja zahvaća unutrašnji dio ploda. Pranje voća ili uklanjanje pljesnivih dijelova neposredno prije prešanja neće nužno ukloniti sav patulin koji se nalazi u plodu, pošto se određeni dio može proširiti i u naizgled zdravo tkivo. Zabilježeno je da pranje jabuka s ozoniziranom vodom značajno doprinosi kontroli patulina tijekom prerade.

Iako će spore mnogih plijesni, sposobnih za proizvodnju patulina, biti prisutne u plodovima i u vrijeme dok je ono još na drveću, one se u pravilu neće razvijati na plodu sve do nakon berbe. Međutim, razvoj plijesni i proizvodnja patulina se može dogoditi u voću i prije berbe ukoliko plodove napadne bolest ili ih oštete insekti ili se kontaminiraju kod prikupljanja otpalih plodova za daljnju preradu. Stanje plodova prilikom berbe, način na koji se rukuje s njima u daljnjim fazama (prvenstveno tijekom skladištenja) te obujam u kojem su uvjeti skladištenja inhibitorni na rast plijesni, sve to može utjecati na vjerojatnost kontaminacije patulinom sokova i drugih proizvoda napravljenih od svježeg ili uskladištenog voća.



Slika 3 Trulež jabuke zbog rasta plijesni *Penicilium expansum**

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

PREPORUKE ZA SMANJENJE KONTAMINACIJE PATULINOM

Preporuke za smanjenje kontaminacije patulinom u sokovima od jabuka u ovom dokumentu su podijeljene na dva dijela:

- I) Preporučene mjere temeljene na Dobroj poljoprivrednoj praksi (*engl. Good Agricultural Practice, GAP*)
- II) Preporučene mjere temeljene na Dobroj proizvođačkoj praksi (*engl. Good Manufacturing Practice, GMP*)

I. PREPORUČENE MJERE TEMELJENE NA GAP-u

Preporuke prije berbe

Tijekom faze mirovanja vegetacije, ukloniti i uništiti sve bolesne grane i mumificirane plodove. Pravilno orezivati voćke, formirajući oblik krošnje koji će omogućiti dobro prozračivanje, kao i pristup svjetlosti u sve dijelove krošnje. Na taj način će se postići bolja osvjetljenost plodova i njihovo prozračivanje te bolja pokrovnost plodova škropivima u kojima se nalaze sredstva za zaštitu bilja.



Slika 4 Drvo jabuke u cvatu

Provesti mjere za kontrolu štetočina i bolesti koje direktno uzrokuju truljenje plodova ili stvaraju ulazna mjesta za plijesni koje proizvode patulin. Neke od najčešćih takvih bolesti i štetočina su: rak kore (*Nectria* spp.), siva plijesan (*Botrytis cinerea*), smeđa trulež (*Monilia fructigena*), jabučni savijač (*Cydia pomonella*) i drugi savijači koji oštećuju plodove jabuke, jabučna osica (*Hoplocampa testudinea*), mali mrazovac (*Operophtera brumata*), savijači kože ploda (*Pandemis* spp., *Archips* spp., *Adoxophies* spp.) i kukuruzni moljac (*Ostrinia nubilalis*).



Slika 5 Jabučni savijač (*Cydia pomonella*)*

* Preuzeto s: http://idtools.org/id/leps/tortai/Cydia_pomonella.htm

Vlažni vremenski uvjeti u razdoblju od nekoliko tjedana prije berbe, kao i za vrijeme berbe, najvjerojatnije će povećati rizik od pojave truleži plodova. U takvim je uvjetima potrebno razmotriti odgovarajuće mjere, kao što su primjena fungicida (sredstava za zaštitu bilja), namijenjenih suzbijanju truleži plodova jabuka. Ti se fungicidi koriste za suzbijanje različitih tipova truleži plodova jabuke i sprječavanje ili smanjivanje truleži tijekom vegetacije i nakon berbe te tijekom skladištenja.

Slabije ili neravnomjerno ishranjene biljke jabuke podložnije su fiziološkim poremećajima tijekom skladištenja i stoga su osjetljivije na određene tipove truleži, pogotovo na gorku trulež (*Colletotrichum* spp.) i plavu plijesan (*Penicillium expansum*). Ukoliko su razine minerala u plodovima konzumnih jabuka izvan optimalnih raspona, poboljšanje razina kalcija i fosfora u plodovima, pogotovo povećanje omjera kalcij/kalij pomoću kontrolirane primjene gnojiva, poboljšati će staničnu strukturu, što će u konačnici dovesti do smanjenja osjetljivosti na pojavu truleži plodova.

Godišnje evidencije razmjera pojave truleži plodova trebaju se voditi za svaki voćnjak jer ti su podaci najbolji vodič (trenutno) za procjenu pojave truleži plodova, što će ukazati na potrebu primjene fungicida te na skladišni potencijal plodova iz tog voćnjaka.

Preporuke tijekom berbe i transporta plodova

Jabuke za daljnju preradu mogu potjecati iz dva izvora:

a) Mehanički obrano voće

Mehanička berba plodova se odvija trešnjom drveća i sakupljanjem plodova sa zemlje odgovarajućom mehanizacijom.

Sa svim plodovima mora se rukovati što pažljivije u svrhu smanjenja fizičkih oštećenja pri svim fazama berbe i transporta.

Prije trešnje drveća, otprije otpali neodgovarajući plodovi (truli, oštećeni itd.) moraju biti uklonjeni sa zemlje ne bi li se postiglo da se samo svježi i čitavi plodovi sakupe.

Mehanički obrani plodovi moraju biti transportirani na daljnju preradu u pogon unutar 3 dana od berbe.

Svi spremnici za transport obranih plodova moraju biti čisti, suhi i bez ostataka.



Slika 6 Obrane jabuke spremne za transport

b) Konzumno voće

Plodovi iz voćnjaka u kojima je zabilježena jača pojava truleži plodova trebaju biti obrani odvojeno i ne smiju biti namijenjeni za skladištenje.

Idealno bi bilo kada bi svi plodovi bili ubrani prilikom suhog vremena, kada je voće zrelo te skupljeno u čiste kante i ostale spremnike (npr. boksove) prikladne za transport izravno u skladište. Kante i boksovi moraju biti očišćeni, oprani čistom vodom, a preporučuje se oribati ih sa sapunom i vodom te ukloniti ostatke voća i lišća. Očišćene kante i boksovi moraju biti osušeni prije upotrebe. Izbjegavati ostavljati voće na kiši.

Adekvatna edukacija i nadzor trebaju biti osigurani u svrhu dobre prakse branja neoštećenog voća.

Svi plodovi s oštećenom pokožicom i usplođem, kao i svo bolesno voće, moraju biti odbačeni u voćnjaku za vrijeme berbe, a daljnje oštećenje plodova treba biti svedeno na najmanju moguću mjeru.

Svi plodovi na kojima ima ostataka zemlje/blata ne smiju biti uskladišteni.

Treba posvetiti pozornost da ostaci lišća, grančica i sl. ne dospiju u ubrano voće.

Plodovi moraju biti uskladišteni u hladnjaču unutar 18 sati nakon berbe te ohlađeni na preporučene temperature (vidjeti **Tablicu 1**), unutar 3 - 4 dana nakon branja.

Tijekom transporta i skladištenja, moraju biti poduzete mjere za izbjegavanje kontaminacije zemljom/blatom.

Mora se posvetiti briga tijekom rukovanja i transporta spremnika i boksova u voćnjaku te između voćnjaka i skladišta, da bi se izbjegla kontaminacija spremnika i voća zemljom te da bi se maksimalno smanjila fizička oštećenja.

Obrane plodove ne bi trebalo ostaviti u voćnjaku tijekom noći, nego premjestiti u neki objekt, po mogućnosti natkriveni.

Preporuke nakon berbe i prilikom skladištenja

Sa svim plodovima, bilo konzumnim ili za daljnju preradu, mora se rukovati što je opreznije moguće te uložiti dodatne napore u svrhu smanjenja fizičkih oštećenja, npr. udaraca u svim fazama rukovanja nakon berbe, a prije prešanja.

Uzgajivači jabuka i drugi proizvođači sokova koji nemaju uvjete za kontrolirano skladištenje, moraju osigurati prešanje plodova što je prije moguće nakon branja.

Za skladištenje u kontroliranoj atmosferi, tamo gdje je to primjereno, napraviti provjeru skladišnog prostora na nepropusnost plinova i sve opreme za monitoring prije početka berbe. Temeljito ohladiti skladišta prije upotrebe.

Tamo gdje je primjereno, fungicidi se mogu koristiti nakon berbe uz uvjet da su odobreni za takvu primjenu.

Uskladištene jabuke trebaju biti redovno pregledavane, barem jednom mjesečno, u svrhu provjere intenziteta pojave skladišnih bolesti (truleži plodova); zabilješke o intenzitetu pojave bolesti (truleži) plodova tijekom skladištenja treba voditi svake godine. Metoda uzorkovanja treba biti primjerena radi smanjenja rizika od atmosferskih promjena u skladištima s kontroliranim atmosferom.

Nasumični uzorci plodova moraju se pohraniti u odgovarajuće spremnike (npr. mrežaste vreće) smještene blizu kontrolnih otvora radi praćenja stanja plodova tijekom vremena skladištenja. Uzorci trebaju biti pregledani na pojavu truleži, općenito stanje plodova i rok trajanja barem jednom mjesečno. Kraći intervali mogu se preporučiti u skladištima gdje su uvjeti skladištenja niži od optimalnih i/ili gdje plodovi imaju predviđen rok trajanja manji od 3 mjeseca, zbog nepovoljnih uvjeta tijekom dozrijevanja i/ili berbe.

U slučaju kada uzorci ukazuju na probleme sa stanjem plodova, moraju se poduzeti prikladne mjere za uklanjanje plodova radi upotrebe prije nastanka većih oštećenja.

Razvoj plijesni obično se odvija u toploj okolini. Brzo hlađenje i održavanje atmosferskih uvjeta skladištenja poboljšati će stanje plodova. U idealnom slučaju, plodovi bi trebali biti pohranjeni i ohlađeni na manje od 5 °C u trajanju od 3 do 4 dana te na optimalnu temperaturu unutar dodatna 2 dana (**Tablica 1**). Uvjeti kontrolirane atmosfere trebaju se postići unutar 7 - 10 dana od početka skladištenja, a režim izrazito niskog kisika (tj. manje od 1,8 % kisika) treba se uspostaviti unutar daljnjih 7 dana.



Slika 7 Skladište jabuka

Preporuke za razvrstavanje plodova nakon skladištenja (za konzumaciju ili proizvodnju sokova)

Svi truli plodovi, čak i oni malo zahvaćeni truleži, trebaju biti uklonjeni u što je moguće većoj mjeri, a zdrave plodove treba držati u čistim spremnicima.

Kada su spremnici za odabir plodova za maloprodajnu distribuciju uklonjeni iz skladišta, spremnici plodova koji su ostali za sokove trebaju biti posebno označeni i vraćeni u hladnjaču unutar 12 sati od sortiranja. Vrijeme koje plodovi provedu na sobnim temperaturama mora se svesti na minimum. Idealno, plodovi za proizvodnju sokova trebaju biti čuvani pri temperaturama manjim od 5 °C između povlačenja iz skladišta i proizvodnje sokova i trebaju biti upotrijebljeni što je prije moguće.

Plodovi koji su namijenjeni za proizvodnju sokova trebaju biti upotrijebljeni što je prije moguće i unutar normalnog roka trajanja koje će biti preporučeno za plodove iz istog skladišta. Bilo kakvi natučeni dijelovi potaknuti će stvaranja patulina, stoga udarce treba svesti na minimum, posebno ako će se plodovi uskladištiti duže od 24 sata na sobnoj temperaturi prije proizvodnje sokova.

Tablica 1: Preporučene temperature zraka za skladištenje jabuka

Sorta	Temperatura [°C]
Idared	1.9
Jonagold	0.9
Zlatni delišes	0.5
Gala	1.3
Granny Smith	0.6

II. PREPORUČENE MJERE TEMELJENE NA GMP-U

Preporuke za prijevoz, inspekciju i prešanje plodova

a) konzumno voće

Uskladišteni plodovi trebaju biti preneseni iz hladnjače u pogon u što je moguće kraćem roku (idealno u manje od 24 sata na prešanje, osim ako nisu bili u hladnjači).

Različite sorte s otvorenim cvjetnim čaškama (kaliksom) posebno su podložne truleži ploda. Ove sorte treba pregledati na unutarnju trulež uobičajenim pregledima neposredno prije prešanja. Prikladan nasumični uzorak jabuka treba biti uzet iz svake pošiljke. Svaku takvu jabuku potrebno je prerezati na pola i pregledati na pojavu micelija plijesni iznutra. Ako učestalost unutarnje truleži premaši tolerirani broj, tu pošiljku ne bi trebalo koristiti za proizvodnju sokova. Proizvođač treba navesti najveći udio plodova sa znakovima truleži unutar pošiljke, uzimajući u obzir vlastite mogućnosti za uklanjanjem takvih plodova tijekom početnih pregleda. Ako je ovaj udio premašen, cijela pošiljka plodova treba biti odbačena.

Prilikom dolaska u pogon, plodovi trebaju biti ispitani na kvalitetu, posebno na znakove kako vanjskih, tako i unutarnjih oštećenja uzrokovanih plijesnima.

b) mehanički obrano voće i konzumno voće

Tijekom tehnoloških procesa, ali prije prešanja, plodove treba pažljivo sortirati kako bi se uklonili vidljivo pljesnivi plodovi (provjeriti nasumično i rutinski unutarnju pljesnivost rasijecajući neke plodove) i temeljito oprati, koristeći vodu za ljudsku potrošnju ili odgovarajuće tretiranu vodu.

Preše i ostala oprema za proizvodnju soka moraju biti oprani i dezinficirani u skladu s „najboljom industrijskom praksom“. Preše i ostalu opremu treba oprati vodom pod tlakom i dezinficirati primjenom odgovarajućeg dezinficijensa te isprati vodom za ljudsku potrošnju. U nekim tvornicama, koje rade gotovo kontinuirano, ovi postupci čišćenja se po mogućnosti trebaju provesti jednom u smjeni ili jednom dnevno.

Nakon prešanja, uzorci soka trebaju biti podvrgnuti analizi. Reprezentativni skupni uzorak treba biti analiziran na patulin adekvatnom metodom u laboratoriju koji je akreditiran za provođenje ovakve analize.

Sok po mogućnosti treba biti ohlađen na temperaturu nižu od 5 °C koju treba održavati dok procesi koncentracije, pakiranja i pasterizacije ne završe.

Sok treba poslati na pakiranje nakon što se analizama utvrdi da razine patulina ne premašuju najveće dogovorene vrijednosti. Specifikacije kojima sok od jabuke mora udovoljavati prilikom kupnje trebaju sadržavati prikladnu granicu za patulin koja mora biti podložna prihvaćanju od strane kupca.

Preporuke za pakiranje i završnu obradu soka

Plijesni koje su u stanju proizvesti patulin mogu se naći, zajedno s drugim plijesnima i kvascima, posebno u soku koji nije dobiven iz voćnog koncentrata, već izravno iz voća (*engl. Not from concentrate, NFC*). Od izuzetne je važnosti spriječiti razvoj plijesni tijekom transporta i skladištenja radi sprječavanja kvarenja proizvoda, a samim time i sprječavanja proizvodnje patulina.

Ako će se sok držati određeno vrijeme prije upotrebe, temperatura po mogućnosti treba biti snižena na 5 °C ili manje, s ciljem smanjenja razvoja mikroorganizama.

Većina sokova će biti termički obrađena u svrhu inaktivacije enzima i uništavanja organizama odgovornih za kvarenje. Ovdje je važno za napomenuti da, iako će ovi procesi općenito uništiti spore i micelij plijesni, neće uništiti patulin koji je otprije prisutan.

PROCJENA KVALITETE SOKA

Specifikacije kojima sok od jabuke ili koncentrat soka od jabuke trebaju udovoljavati prilikom kupnje trebaju sadržavati najveću granicu za patulin temeljenu na prikladnoj metodi analize.

Plan uzorkovanja treba omogućiti nasumično uzorkovanje proizvoda radi osiguranja da je završni proizvod unutar maksimalnih granica za patulin.

Subjekti odgovorni za pakiranje moraju biti uvjereni da je opskrbljivač sokom u stanju pravilno kontrolirati vlastite tehnološke operacije radi osiguranja provedbe prethodno navedenih preporuka.

Procjena kvalitete soka od jabuka od strane subjekata odgovornih za pakiranje obuhvatiti će određivanje °Brix-a (topljiva suha tvar), ukupnih kiselina, okusa, boje, zamućenosti itd. Mikrobiološku kvalitetu treba pažljivo nadzirati pošto ovaj parametar ukazuje ne samo na razinu rizika od potencijalnih organizama sposobnih za stvaranje patulina, nego i na higijenska stajališta prethodnih faza proizvodnog lanca.

Daljnje provjere trebaju biti provedene na upakiranom proizvodu radi osiguranja da nije došlo do kvarenja tijekom faze skladištenja u finalnu ambalažu.

ZAKLJUČAK

Ove smjernice sadržavaju opća načela za prevenciju patulina u sokovima od jabuka. Važno je da ove principe odobre nacionalna službena tijela, uzimajući u obzir lokalne sorte jabuka, klimu, skladišne prostore i uvjete proizvodnje, ne bi li bili što korisniji za proizvođače i prerađivače.

Preporučuje se i primjena sustava upravljanja poslije berbe koji se temelji na HACCP-u za smanjenje patulina u sokovima od jabuka.



Slika 8 Sok od jabuke u ambalaži „bag in box“