

wycof 15.12.94 (Uch: nr 26/94-0)
ob. PN-A-75957:94

UKD 663.81

PRZETWORY OWOCOWO- -WARZYWNE	NORMA BRANŻOWA	BN-90
	Przetwory owocowe	8115-01
	Soki owocowe zagęszczone	Zamiast BN-67/8115-01
		Grupa katalogowa 1254

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy są soki owocowe zagęszczone niesłodzone przeznaczone do obrotu krajowego.

1.2. Określenia

1.2.1. soki owocowe zagęszczone - produkty otrzymane z niezafermentowanych, nieutrwalonych chemicznie soków surowych, z których usunięto wodę metodami fizycznymi.

1.2.2. sok owocowy zagęszczony klarowny - sok poddany klarowaniu sposobami enzymatycznymi i fizycznymi. Preparaty enzymatyczne stosowane do klarowania soków powinny być dopuszczone przez kompetentne jednostki resortu zdrowia.

1.2.3. sok owocowy zagęszczony nieklarowny - sok surowy zagęszczony, zawierający do 2% objętościowych osadu.

1.2.4. ekstrakt umowny - umownie przyjęty ekstrakt dla danego soku zagęszczonego, do którego odnoszą się zawartością kwasowości ogólnej, lotnej i alkoholu.

2. PÓDZIAŁ I OZNACZANIE

2.1. Rodzaje. Rozróżnia się dwa rodzaje soków zagęszczonych:

- klarowne,
- nieklarowne.

2.2. Przykład oznaczenia

a) soku zagęszczonego jabłkowego klarownego o zawartości ekstraktu 65%:

SOK ZAGĘSZCZONY JABŁKOWY KLAROWNY 65%
BN-90/8115-01

b) soku zagęszczonego jabłkowego nieklarownego o zawartości ekstraktu 65%:

SOK ZAGĘSZCZONY JABŁKOWY NIEKLAROWNY 65%
BN-90/8115-01

3. WYMAGANIA

3.1. Wymagania organoleptyczne dla soku zagęszczonego jabłkowego - wg tabl. 1.

Tablica 1

Lp.	Cechy	Wymagania	
		Klarowny	Nieklarowny
1	Klarowność Ocena metodą instrumentalną, % T, nie mniej niż	klarowny lub klarowny z nieznaczoną opalizacją 80	nieklarowny z zawartością do 2% osadu nie określa się
2	Barwa	złocistobursztynowa w odcieniach dopuszcza się nieznaczne zbrązowienie	
3	Zapach	jabłkowy, osłabiony w wyniku oddzielenia aromatu, bez zapachów obcych dopuszcza się lekką nutę karmelu	
4	Smak	jabłkowy lub jabłkowomiodowy, charakterystyczny, bez posmaków obcych dopuszcza się lekki posmak karmelu	

3.2. Wymagania organoleptyczne dla soków zagęszczonych z owoców pozostałych - wg tabl. 2.

Tablica 2

Lp.	Cechy	Wymagania	
		Klarowne	Nieklarowne
1	Klarowność	klarowny	nieklarowny z zawartością do 2% osadu
2	Barwa	intensywna, charakterystyczna dla rodzaju owoców, z których został wyprodukowany sok dopuszcza się nieznaczne zbrązowienie	
3	Zapach	charakterystyczny dla rodzaju owoców, z których został wyprodukowany sok, osłabiony w wyniku oddzielenia aromatu, bez zapachów obcych dopuszcza się lekką nutę karmelu	
4	Smak	charakterystyczny dla rodzaju owoców, z których został wyprodukowany sok, bez posmaków obcych dopuszcza się lekki posmak karmelu	

Zgłoszona przez Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
Ustanowiona przez Dyrektora Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego dnia 8 marca 1990 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 stycznia 1991 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 7/1990, poz. 15)

3.3. Wymagania fizykochemiczne - wg tabl. 3 i 4.

Tablica 3

Rodzaj soku zagęszczonego	Ekstrakt ¹⁾ wg refraktometru, %m/m, nie mniej niż	Ekstrakt umowny %m/m	Kwasowość ogólna w przeliczeniu na kwas jabłkowy, %m/m, nie mniej niż	Kwasowość lotna w przeliczeniu na kwas octowy w 1 kg produktu, nie więcej niż	Zawartość alkoholu % (V/V)		Zawartość ²⁾ patuliny, µg/l, nie więcej niż
					sok klarowny	sok nieklarowny	
z jabłek	55	65	3,0	1,2	0,5	1,0	niedopuszczalna
z czarnych porzeczek	50	60	10,0	1,2	0,5	1,0	nie normalizuje się
z czerwonych porzeczek	50	60	10,0	1,2	0,5	1,0	nie normalizuje się
z malin	50	50	7,0	1,2	0,5	1,0	nie normalizuje się
z truskawek	40	40	3,0	1,2	0,5	1,0	nie normalizuje się
z wiśni	50	65	7,0	1,2	0,5	1,0	nie normalizuje się
z pozostałych	50	nie normalizuje się			0,5	1,0	nie normalizuje się

¹⁾ Dopuszcza się odchylenia zawartości ekstraktu w stosunku do deklarowanego ± 1 .

²⁾ Zawartość patuliny odnosi się do 1 l soku o ekstrakcie 12,4%, odtworzonego z soku zagęszczonego jabłkowego.

Wymagania fizykochemiczne w zakresie ekstraktu, kwasowości ogólnej i kwasowości lotnej dla soków nie wymienionych w niniejszej normie powinny odpowiadać normom zakładowym.

Tablica 4

Cechy	Wymagania
Zawartość zanieczyszczeń mineralnych	niedopuszczalna
Zawartość zanieczyszczeń organicznych	niedopuszczalna
Zawartość metali szkodliwych dla zdrowia w przeliczeniu na sok surowy mg/kg nie więcej niż:	
arsenu	0,2
ołowiu	0,3
cynku	5,0
miedzi	1,0
cyny: w opakowaniach szklanych	20,0
w opakowaniach metalowych	150,0
Wymagania mikrobiologiczne dla soku owocowego zagęszczonego w opakowaniach hermetycznych: obecność drożdży i pleśni w opakowaniu	niedopuszczalna
Masa netto soku owocowego zagęszczonego powinna odpowiadać deklarowanej na opakowaniu jednostkowym z tolerancją % wag. dla opakowań:	
do 200 g	± 5
201 ÷ 500 g	± 3
501 ÷ 1000 g	± 2

4. PAKOWANIE, PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT

4.1. Pakowanie - wg PN-77/A-75032.

4.2. Przechowywanie

4.2.1. Warunki przechowywania. Soki owocowe zagęszczone powinny być przechowywane w zbiornikach (metalowych, z tworzyw sztucznych lub innych) z materiałów odpornych na działanie kwasów i barwników lub w zbiornikach zabezpieczonych od wewnątrz wykładziną odporną na kwasy i barwniki. Soki owocowe zagęszczone o zawartości ekstraktu 50% i powyżej 50% powinny być przechowywane w temperaturze do $+4^{\circ}\text{C}$.

Soki owocowe zagęszczone o zawartości ekstraktu poniżej 50% oraz sok truskawkowy zagęszczony i sok malinowy zagęszczony niezależnie od ekstraktu, powinny być przechowywane w temperaturze nie wyższej niż 18°C .

Dopuszcza się przechowywanie soku jabłkowego zagęszczonego na wolnym powietrzu w warunkach podanych w PN-77/A-75032 w temperaturze nie wyższej niż 12°C .

Opakowania muszą mieć atest kompetentnych jednostek resortu zdrowia.

4.2.2. Okres przechowywania

- dla soków owocowych zagęszczonych, przechowywanych zgodnie z 4.2.1, wynosi 24 miesiące,

- dla soków owocowych zagęszczonych, przechowywanych w opakowaniach hermetycznych w temperaturze do 18°C , wynosi 12 miesięcy.

4.3. Transport powinien odbywać się w warunkach zabezpieczających produkt przed uszkodzeniem, zepsuciem lub zanieczyszczeniem oraz działaniem wpływów atmosferycznych.

5. BADANIA

5.1. Program badań

5.1.1. Badania pełne obejmują:

- określanie klarowności,
- określanie barwy,
- określanie zapachu,

- d) określanie smaku,
- e) oznaczanie ekstraktu ogólnego,
- f) oznaczanie kwasowości ogólnej,
- g) oznaczanie kwasowości lotnej,
- h) oznaczanie zawartości alkoholu etylowego,
- i) oznaczanie zanieczyszczeń mineralnych,
- j) oznaczanie zanieczyszczeń organicznych,
- k) oznaczanie zawartości metali szkodliwych dla zdrowia,

l) określanie szczelności opakowań jednostkowych i sprawdzanie masy netto,

m) wykrywanie obecności drożdży i pleśni w opakowaniach hermetycznych,

n) oznaczanie zawartości patuliny.

Dodatkowo w próbkę soku jabłkowego zagęszczonego badania pełne obejmują oznaczanie zawartości patuliny (poz. n).

Badania pełne należy wykonywać co najmniej raz w roku oraz w przypadku:

- zmian technologicznych i aparatury,
- na żądanie odbiorcy i jednostek kontrolujących.

5.1.2. Badania niepełne obejmują badania wymienione w 5.1.1, z wyjątkiem poz. i), k), n). Badania niepełne należy przeprowadzić dla każdej partii produktu.

5.2. Pobieranie próbek

5.2.1. Pobieranie próbek opakowań jednostkowych - wg PN-72/A-75050. Do oceny organoleptycznej i fizykochemicznej należy pobrać z wytypowanych opakowań jednostkowych około 600 ml soku owocowego zagęszczonego.

5.2.2. Pobieranie próbek z cystern i zbiorników - wg PN-72/A-75050 p. 2.5 przeprowadza się następująco: za pomocą zglębniaka lub czerpaka z różnych miejsc zbiornika pobrać 6 ÷ 8 próbek pierwotnych, z których sporządzić średnią próbkę laboratoryjną w ilości jak w 5.2.1.

5.2.3. Pobieranie próbek soków owocowych zagęszczonych zamrożonych - wg PN-81/A-75051 tabl. 3, po rozmrożeniu i wymieszaniu.

5.3. Badania organoleptyczne

5.3.1. Zasady ogólne wykonywania badań organoleptycznych. Badania organoleptyczne soków owocowych zagęszczonych wykonywać wg ogólnych zasad określonych w PN-66/A-04020 i PN-65/A-04021.

5.3.2. Przygotowanie próbek do badań organoleptycznych

- dla soku jabłkowego zagęszczonego: do oceny barwy i klarowności część próbki soku zagęszczonego rozcieńczyć wodą destylowaną o temperaturze 20°C do zawartości ekstraktu 12,4% wg refraktometru; do oceny smaku i zapachu część próbki soku zagęszczonego rozcieńczyć wodą przegotowaną (gotowaną 5 min) i ochłodzoną do temperatury 20°C (w stosunku wagowym 1:1),

- dla soków z owoców pozostałych: do oceny barwy, klarowności, smaku i zapachu część próbki

soku zagęszczonego rozcieńczyć wodą destylowaną o temperaturze 20°C do zawartości ekstraktu wg refraktometru, podanego w tabl. 5.

Wszystkie próbki do oceny smaku i zapachu powinny być rozcieńczone co najmniej na 1 h przed oceną i przykryte szkiełkiem zegarkowym.

Tablica 5

Rodzaj soku zagęszczonego	Zawartość ekstraktu w próbce rozcieńczonej, %
z czarnych porzeczek	10,0 ± 0,5
z czerwonych porzeczek	8,0 ± 0,5
z malin	7,0 ± 0,5
z truskawek	6,5 ± 0,5
z wiśni	12,0 ± 0,5
z pozostałych	wg PN-64/A-75952

5.4. Badania fizykochemiczne

5.4.1. Przygotowanie próbek do badań fizykochemicznych wykonać zgodnie z PN-71/A-75101 dla poszczególnych oznaczeń. Do oznaczania klarowności metodą spektrofotometryczną w soku jabłkowym zagęszczonym próbkę należy rozcieńczyć wodą destylowaną do ekstraktu 12,4% wg refraktometru w temperaturze 20°C. Dalej postępować wg 5.4.3.

5.4.2. Oznaczanie zawartości ekstraktu ogólnego, kwasowości ogólnej, kwasowości lotnej, zawartości zanieczyszczeń mineralnych, zanieczyszczeń organicznych - wg PN-71/A-75101. W przypadku pomiaru kwasowości ogólnej, kwasowości lotnej i alkoholu etylowego w soku zagęszczonym o mniejszej lub większej zawartości ekstraktu w stosunku do ekstraktu umownego podanego w 3.3 tabl. 3, wykonać następujące przeliczenia:

- kwasowość ogólną (X) w przeliczeniu na ekstrakt umowny obliczyć wg wzoru

$$X = \frac{E \cdot K}{C} \quad (1)$$

w którym:

E - ekstrakt umowny danego soku zagęszczonego wg 3.3, % wag,

K - oznaczona kwasowość ogólna soku zagęszczonego badanego, % wag,

C - ekstrakt soku zagęszczonego badanego, % wag.

- kwasowość lotną (X₁) w przeliczeniu na ekstrakt umowny obliczyć wg wzoru

$$X_1 = \frac{E \cdot L}{C} \quad (2)$$

L - oznaczona kwasowość lotna soku zagęszczonego badanego, g/kg,

E, C - jak we wzorze (1).

- zawartość alkoholu etylowego (X_2') w przeliczeniu na ekstrakt umowny obliczyć wg wzoru

$$X_2 = \frac{E \cdot A}{C} \quad (3)$$

w którym:

A - oznaczona zawartość alkoholu etylowego w soku zagęszczonym badanym, % wag,

E, C - jak we wzorze (1).

5.4.3. Oznaczenie klarowności soku jabłkowego zagęszczonego metodą spektrofotometryczną:

- metoda rutynowa: wykonać przy użyciu aparatu SPECOL firmy C. Zeiss-Jena,

- metoda odwoławcza: wykonać przy użyciu aparatu firmy Milton Roy Company (typ aparatu SPECTRONIC) lub firmy Pye Unicam. Aparat do pomiarów przygotować zgodnie z instrukcją dołączoną do przyrządu. Próbkę soku przygotować wg 5.4.1. Pomiar wykonać przy długości fali 620 nm, w kuwetach 10 mm ze szkła bezbarwnego. Jako odnośnik stosować wodę destylowaną. Wynik pomiaru podać w % przepuszczalności (%T) z dokładnością do 1%.

5.4.4. Oznaczenie zawartości osadów. Sok owocowy zagęszczony rozcieńczyć wodą destylowaną do ekstraktu minimalnego podanego w 5.3.2 tabl. 5. 400 ml rozcieńczonego soku wlać do czterech kuwet i wirować w wirówce laboratoryjnej przy 2599 obrotów przez 15 min. Odwirowany sok zlać z nad osadu do dwóch pomiarowych legalizowanych cylindrów pojemności 250 ml. Z ilości zmierzonego soku w cylindrach należy obliczyć w procentach objętościowych zawartość osadu X wg wzoru

$$X = \frac{a \times 100}{400} \quad (4)$$

w którym a - różnica między wyjściową objętością soku (400 ml) i objętością soku zmierzoną po odwirowaniu (ml).

5.4.5. Oznaczenie zawartości patuliny w soku jabłkowym zagęszczonym

- metodą chromatografii cienkowarstwowej zalecaną przez Międzynarodową Agencję do spraw Badań Raka wg J. Assoc. of Anal. Chem. 57, 621-625, 1974 - załącznik 1 (metoda rutynowa),

- metodą chromatografii cieczowej wg J. Assoc. of Anal. Chem. 61, 6, 1978 - załącznik 2 (metoda odwoławcza).

5.4.6. Oznaczenie zawartości metali szkodliwych dla zdrowia wykonać wg norm:

- a) arsenu - wg PN-59/A-04010,
- b) ołowiu - wg PN-80/A-04011,
- c) miedzi - wg PN-80/A-04012,
- d) cynku - wg PN-59/A-04013,
- e) cyny - wg PN-80/A-04014.

5.4.7. Sprawdzanie masy netto produktu. Opakowanie jednostkowe z zagęszczonym sokiem umyć dokładnie, usunąć etykietę i wytrzeć do sucha. Następnie zdjąć zamknięcie, oczyścić miejsce po nim i zważyć opakowanie jednostkowe wraz z zawartością na wadze z dokładnością do 0,5 g. Sok zagęszczony po zważeniu przelać, a opakowanie jednostkowe dokładnie wymyć gorącą wodą, wysuszyć i ponownie zważyć. Z różnicy mas opakowania jednostkowego wraz z zawartością i pustego obliczyć masę netto soku zagęszczonego. Masę netto uważa się za zgodną z normą, jeśli zachowuje tolerancję zgodnie z 3.3 tabl. 4.

5.4.8. Określanie szczelności opakowań jednostkowych

- butelki zamkniętej kapslem koronowym: sprawdzić ręcznie, czy kapsel nie ma tendencji do obracania się wokół osi butelki. Jeśli nie, wykonać próbę szczelności w laboratoryjnej suszarce próżniowej. Na kapsel koronowy butelki założyć krążek bibuły o średnicy 10 cm, zagiąć go i docisnąć do szyjki butelki przez założenie np. gumki recepturki. Tak przygotowaną butelkę umieścić w suszarce próżniowej w pozycji leżącej, suszarkę zamknąć. Butelkę trzymać przez 1 min w suszarce przy ciśnieniu 480 hPa (360 mm Hg). W przypadku wadliwego zamknięcia butelki, na bibule założonej na kapsel stwierdza się wyciek soku. Butelki z sokiem zamknięte prawidłowo nie wykazują wycieku,

- pozostałych: wykonać wg PN-80/A-75052 p. 3.1.

5.4.9. Badanie obecności drożdży i pleśni (w opakowaniach hermetycznych) - wykonać wg PN-80/A-75052.

5.5. Ocena partii. Partię produktu należy uznać za zgodną z wymaganiami normy, jeżeli wyniki badań próbek pobranych wg 5.2 zgodne są z postanowieniami normy.

K O N I E C

Załączniki 2

Informacje dodatkowe

ZAŁĄCZNIK 1

OZNACZANIE PATULINY W SOKU JABŁKOWYM METODĄ CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ

1. Odczynniki

- a) 3-metylo-2-benzotiazalinonu chlorowodorek (MBTH) - Aldrich Chemical Company, USA.
- b) Kwas mrówkowy 90% - cz.d.a.
- c) Patulina - roztwór podstawowy w chloroformie o stężeniu 10 µg/ml - Sigma Chemical Co., USA.
- d) Rozpuszczalniki: aceton, benzen, chloroform, eter etylowy bezwodny, etanol absolutny, heksan, metanol, octan etylu redestylowany, toluen - cz.d.a.
- e) Siarczan sodowy krystaliczny, bezwodny, cz.d.a.
- f) Silica żel 60, 0,063 ÷ 0,200 mm - E. Merk.

2. Aparatura i przyrządy

- a) Fiolki pojemności 16 ml.
- b) Łaźnia wodna.
- c) Kolumna chromatograficzna 22 × 30 mm z kranami teflonowymi i wkładką ze szkła spiekanego.
- d) Rozdzielacz, 250 ml.
- e) Zestaw do chromatografii cienkowarstwowej.
- f) Zlewki pojemności 25 ml i 250 ml.
- g) Waga analityczna, o dokładności ważenia 0,0002 mg.

3. Wykonanie oznaczenia

3.1. Przygotowanie roztworu standardowego patuliny. Używając dokładnej strzykawki, przenieść 5 ml roztworu podstawowego patuliny w chloroformie o stężeniu 10 µg/ml do ampułki pojemności 16 ml, odparować do sucha pod strumieniem azotu. Niezwłocznie dodać 5,0 ml absolutnego etanolu i rozpuścić. Stężenie patuliny w etanolu będzie takie samo, jak w wyjściowym roztworze chloroformu. Standardowy roztwór przechowywać w 1 ml porcjach w małych kolbach pomiarowych lub ampułkach w temperaturze poniżej 0°C owiniętych w folię aluminiową. Przed użyciem do analizy, standard doprowadzić do temperatury pokojowej nie zdejmując folii aluminiowej z ampułki.

3.2. Przygotowanie roztworu MBTH. Rozpuścić 0,5 g monohydratu chlorowodoru MBTH, w 100 ml wody destylowanej. Przechowywać w lodówce. Trwałość 3 dni.

3.3. Ekstrakcja. Z dobrze wymieszanej próbki odmierzyć 50 ml soku jabłkowego lub 10 ml soku zagęszczonego. Sok zagęszczony rozcieńczyć do objętości 50 ml wodą destylowaną. Próbkę umieścić w 250 ml rozdzielaczu i ekstrahować trzema 50 ml porcjami octanu etylu. Do połączonych ekstraktów umieszczonych w kolbie stożkowej pojemności 250 ml dodać około 20 g bezwodnego siarczanu sodowego i pozostawić na 30 min, mieszając co pewien czas, aby nie tworzyły się grudki. Następnie przesączyć ekstrakt do 250 ml zlewki z podziałką. Przemyc pozostały Na₂SO₄ dwiema 25 ml porcjami octanu etylu. Połączone ekstrakty odparować do około 25 ml na łaźni wodnej w łagodnym strumieniu azotu, następnie ochłodzić do temperatury pokojowej

i doprowadzić objętość do 25 ml, uzupełniając, jeśli potrzeba, octanem etylu. Następnie rozcieńczyć benzenem do objętości 100 ml.

3.4. Chromatografia kolumnowa. Na dnie kolumny chromatograficznej umieścić zatyczkę z waty szklanej, dodać 10 ml benzenu a następnie wprowadzić 15 g rozmoczonego w benzenie silica żelu. Obmyć brzegi kolumny benzenem i osuszyć wierzchołek absorbentu. Ostrożnie podać ekstrakt próbki na kolumnę. Elucję patuliny prowadzić 200 ml mieszaniny benzenu z octanem etylu (150 + 50) przy przepływie 100 ml/min. Odparować eluat prawie do sucha na łaźni parowej nad delikatnym strumieniem azotu. Przenieść ilościowo pozostałość za pomocą 16 ml chloroformu do kolby stożkowej i odparować do sucha na łaźni parowej nad delikatnym strumieniem azotu. Suchą pozostałość rozpuścić niezwłocznie w 500 µl chloroformu, wytrąsając zamkniętą kolbę na wytrząsarce.

Jeżeli nie wykonuje się oznaczenia patuliny metodą chromatografii cienkowarstwowej w tym samym dniu, należy przechować roztwór z minimalną ilością rozpuszczalnika w zamrażalniku.

3.5. Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

3.5.1. Przygotowanie silica żelu wykonać następująco: odważyć 30 g silica żelu do zlewki i dodać ilość wody zgodnie z wymaganiami producenta. Wytrząsać energicznie 1 min, a następnie doprowadzić przez dodatek wody do konsystencji umożliwiającej powlekanie płytek. Przenieść do aplikatora i natychmiast powlekać 5 szklanych płytek (20×20 cm) warstwą silica żelu o grubości 0,25 mm. Pozostawić nieporuszone płytki około 10 min, następnie suszyć powierzchnię płytek w ciągu 2 h w temperaturze 80°C lub 1 h w temperaturze 110°C.

3.5.2. Oznaczanie zawartości patuliny w próbce. Na płytce narysować linie zatrzymania rozpuszczalnika w odległości 16 cm od krawędzi dolnej i 0,5 cm od pozostałych krawędzi. Na linię startu nanieść dwa razy po 5 µl i jeden raz (bez dzielenia) 10 µl roztworu chloroformowego oczyszczonego ekstraktu próbki oraz 1, 3, 5 i 7 µl roztworu standardowego patuliny.

Następnie nanieść również 5 µl roztworu standardowego patuliny na powierzchnię pierwszej 5 µl nakropionej plamki roztworu ekstraktu badanego.

Rozwijać płytę w komorze chromatograficznej mieszaniną: toluen - i octan etylu - 90% (V/V) kwas mrówkowy (5:4:1). Kiedy rozpuszczalnik osiągnie poziom 4 cm poniżej wierzchołka, płytkę wyjąć z komory i osuszyć pod przykryciem.

Chromatogram wywołać przez spryskanie płytki 0,5% (m/m) roztworem chlorowodoru MBTH, aż do wystąpienia cieczy na warstwie żelu, a następnie ogrzać do 130°C przez 15 min.

Wizualne porównanie intensywności fluorescencji plamek patuliny w ekstrakcie badanej próbki i roztworach standardowych wykonać w długofalowym świetle lampy UV.

Patulina ukazuje się jako żółtobrazowa, lub żółta fluoryzująca plamka przy $R_f = 0,5$. Można ją również zobaczyć jako żółtą plamkę w świetle widzialnym, jeżeli ilość patuliny jest $\geq 0,05 \mu\text{g}$. Fluorescencja plamki ekstraktu badanej próbki musi mieć identyczną wartość R_f i barwę z próbką roztworu standardowego.

Plamka próbki ekstraktu z dodatkiem standardu powinna być bardziej intensywna niż plamka samej próbki ekstraktu i plamki samego roztworu standardowego.

Jeśli fluorescencja plamki ekstraktu badanej próbki zawiera się pomiędzy dwoma plamkami roztworu standardowego, należy wynik interpolować lub powtórzyć nakrapiając stosowną objętość próbki ekstraktu i standardu.

Jeśli fluorescencja plamki ekstraktu badanej próbki przekracza intensywność standardu, należy ekstrakt próbki rozcieńczyć i powtórzyć oznaczenie.

Obliczyć stężenie patuliny ($\mu\text{g/l}$) w soku wg wzoru

$$P = \frac{P_s \cdot V_s \cdot V_1}{V_2 \cdot V_3}$$

w którym:

P_s - zawartość patuliny w roboczym roztworze standardowym ($\mu\text{g/ml}$),

V_s - objętość roboczego roztworu standardowego dającego plamkę o fluorescencji odpowiadającej fluorescencji ekstraktu plamki (μl),

V_1 - objętość końcowa ekstraktu badanej próbki (500 μl),

V_2 - objętość ekstraktu próbki dającej plamkę o natężeniu fluorescencji odpowiadającej fluorescencji V_s roztworu standardowego, μl ,

V_3 - objętość soku jabłkowego pobranego do oznaczenia, ml .

3.5.3. Potwierdzenie. Nanieść ekstrakt z próbki w postaci smugi na płytkę. Na brzegu płytki nanieść roztwór wzorca patuliny i 10 μl ekstraktu wraz ze standardem wewnętrznym.

Rozwijając płytkę w mieszaninie toluen - octan etylu - kwas mrówkowy 90%(V/V) (5:4:1).

Przykryć płytkę za pomocą 2 szklanych płytek w taki sposób, żeby można było spryskać wszystkie plamki odpowiadające standardom oraz około 1 cm szerokości frakcji smugi ekstraktu z próbki. Spryskiwać używając 0,5%(m/m) roztworu chlorowodoru MBTH i ogrzewać 15 min w 130°C.

Następnie usunąć część niespryskanej smugi patuliny z wyprażonej płytki szklanej metodą próżniową lub zeskrobać. Eluować silica żel za pomocą 10 ml mieszaniny chloroformu z acetonem (2:1) w słabym przepływie powietrza lub azotu. Odparować eluat w 16 ml ampułce i natychmiast rozpuścić pozostałość w 100 μl chloroformu. Nanieść 10 do 20 μl roztworu ekstraktu, 5 μl roztworu standardowego patuliny do testu potwierdzającego TLC, stosując następujące rozpuszczalniki:

- heksan: bezwodny eter etylowy (1:3),
- chloroform: metanol (95:5),
- chloroform: aceton (90:10).

Wartości R_f patuliny są odpowiednio: 0,4; 0,4; 0,5.

ZALĄCZNIK 2

OZNACZANIE PATULINY W SOKU JABŁKOWYM METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ (HPLC)

1. Odczynniki

- Rozpuszczalnik - toluen, octan etylu, metanol cz.d.a.
- Silica żel 60 0,063 ÷ 0,200 mm - E. Merck.
- Faza ruchoma dla MPLC - woda destylowana.
- Roztwór podstawowy - rozpuścić 10 mg patuliny w 100 ml mieszaniny: octan etylu - metanol (10:90).

2. Aparatura i przyrządy

- Chromatograf cieczowy - Spectra - Physics. Model 3500 (Spectra - Physics. Santa Clara. CA) z 10 μl zaworem wprowadzającym i detektorem SP8200 (UV) z filtrem na 280 nm.
- Kolumna: 25 cm × 4,6 mm, Partisil - 10 ODS.
- Kolby pomiarowe: 30 ml i 100 ml.
- Łaźnia wodna.

e) Zlewki pojemności 50 ml i 250 ml.

f) Waga analityczna o dokładności ważenia 0,0002 mg.

3. Wykonanie oznaczenia

3.1. Ekstrakcja. Ekstrahować 50 ml soku jabłkowego trzema 50 ml porcjami octanu etylu. Suszyć połączone ekstrakty przez 30 min nad bezwodnym siarczanem sodu (20 g Na_2SO_4 bezw.). Następnie przesączyć ekstrakt do 250 ml zlewki. Przemycić Na_2SO_4 dwiema 25 ml porcjami octanu etylu. Roztwór po przemyciu dodać do połączonego ekstraktu. Odparować do około 30 ml na łaźni parowej (wodnej), nad delikatnym strumieniem azotu, następnie ochłodzić do temperatury pokojowej i doprowadzić objętość do 30 ml za pomocą octanu etylu. Następnie rozcieńczyć do objętości 100 ml toluenem.

3.2. Oczyszczanie próbki metodą chromatografii kolumnowej. Na dnie kolumny chromatograficznej umieścić zatyczkę z waty szklanej. Dodać 10 ml toluenu, a następnie wprowadzić do kolumny 15 g rozmoczonego w toluenie silica żelu. Obmyć brzegi kolumny toluenem i osuszyć wierzchołek absorbentu. Ostrożnie podać ekstrakt próbki na kolumnę. Elucję patuliny prowadzić 200 ml mieszaniny: toluen - octan etylu (70 + 30) przy przepływie 10 ml/min. Odparować eluat prawie do sucha na łaźni parowej, nad delikatnym strumieniem azotu. Przenieść ilościowo pozostałość za pomocą octanu etylu, do kolby stożkowej i odparować do sucha na łaźni parowej, nad delikatnym strumieniem azotu. Rozpuścić pozostałość w 500 µl mieszaniny: octan etylu - metanol (10 + 90), zamknąć kolbę i wytrząsnąć za pomocą mechanicznego miksera.

3.3. Wykonanie oznaczania na chromatografii cieczowym. Rozcieńczyć podstawowy roztwór patuliny (100 µg/ml) mieszaniną: octan etylu - woda (10 + 90) do odpowiednich stężeń, przygotowując w ten sposób roztwory wzorcowe patuliny (1 ÷ 20 µg/ml). Ustawić prędkość przepływu 1 ml/min i kontrolę czułości na 0,01 absorpcji jednostki całego zakresu skali. Wstrzyknąć 10 µl próbki. Jeżeli piki patuliny wybiegają poza zakres skali, wybrać inny zakres detektora i powtórzyć wprowadzenie próbki. Chromatografować roztwory wzorcowe. Wyliczyć stężenie patuliny w roztworze próbki i pomnożyć przez 10 do otrzymania zawartości patuliny w soku jabłkowym.

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę - Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Warszawa.

2. Istotne zmiany w stosunku do BN-67/8115-01

a) uaktualniono badania organoleptyczne; sprecyzowano wymagania dla poszczególnych wyróżników jakości zgodnie z zasadami prowadzenia ocen sensorycznych,

b) wykorzystano metody badań fizykochemicznych międzynarodowych (badania klarowności, zawartości patuliny),

c) uaktualniono wymagania w zakresie ekstraktu, kwasowości ogólnej i lotnej, zawartości alkoholu,

d) wprowadzono wymagania dotyczące zawartości patuliny w soku jabłkowym zagęszczonym,

e) wprowadzono wymagania mikrobiologiczne,

f) uaktualniono punkt dotyczący pakowania, przechowywania i transportu.

3. Normy i dokumenty związane

PN-59/A-04010	Artykuły żywnościowe.	Oznaczanie zawartości arsenu
PN-80/A-04011	Produkty spożywcze.	Oznaczanie zawartości ołowiu
PN-80/A-04012	Produkty spożywcze.	Oznaczanie zawartości miedzi
PN-59/A-04013	Artykuły żywnościowe.	Oznaczanie zawartości cynku
PN-80/A-04014	Produkty spożywcze.	Oznaczanie zawartości cyny

PN-66/A-04020 Analiza sensoryczna. Zasady ogólne
PN-65/A-04021 Artykuły żywnościowe. Metody sprawdzania wrażliwości sensorycznej w zakresie smaku i wężu

PN-77/A-75032 Przetwory owocowe, warzywne, warzywno-mięsne, grzybowe, wina i miody pitne. Pakowanie, przechowywanie, transport

PN-72/A-75050 Przetwory owocowe, warzywne, wina i miody pitne. Pobieranie próbek

PN-81/A-75051 Mrożone owoce i warzywa. Pobieranie próbek i metody badań

PN-80/A-75052 Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Badania mikrobiologiczne

PN-71/A-75101 Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych

PN-64/A-75952 Półprodukty owocowe. Soki owocowe surowe (Moszcze)

Oznaczanie patuliny w soku jabłkowym metodą chromatografii cienkowsarstwowej P. M. Scott. J. Assoc. of Anal. Chem. 57, 621-625, 1974

Oznaczanie patuliny w soku jabłkowym metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) Helge Stray. J. Assoc. of Anal. Chem. 61, 6, 1352-1362, 1978

4. Symbol wg SWW - 2461-2.

5. Autorzy projektu normy - mgr inż. Grażyna Wilczyńska, mgr inż. Danuta Reszko.