



ELMA VE ELMA ÜRÜNLERİNDE PATULİN MİKTARINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Çetin KADAKAL, Sebahattin NAS

Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çamlık/Denizli

Geliş Tarihi : 29.12.1999

ÖZET

Patulin bazı *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Byssoschlamys* türleri tarafından üretilen metabolittir. Doğada çeşitli ürünlerde ve bu arada elma ve elma ürünlerinde de yaygın olarak bulunur. Patulin, insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkisinden dolayı elma suyu ve çeşitli elma ürünlerinde önemli kalite parametresi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca patulinin suda çözünme özelliği ve ısıya karşı dirençliliği patuline elma suyu ve konsantresi üretiminde ayrı bir önem kazandırmıştır. Elma suyu ve konsantresine işlenecek elmaların çürük kısımlarının uzaklaştırılması, son ürünü patulin açısından güvenli kılmaktadır. Elma suyu ve konsantresi işleyen fabrikalarda elma suyuna geçen patulinin uzaklaştırılmasında aktif kömür yaygın şekilde kullanılmaktadır. Aktif kömür dışında elma suyuna askorbik asit ve/veya sorbatlar, sülfidril bileşikleri veya çeşitli gıda ingredientlerinin (tarçın yağı, potasyum sorbat vb.) ilavesi ile düşük dozda radyasyon ve modifiye atmosfer uygulaması patulinin azaltımında etkili olmaktadır. Isıl işlem ve depolamanın patulin stabilitesine etkisi üzerinde ise çelişkili sonuçlar mevcuttur.

Anahtar Kelimeler : Elma ürünleri, Patulin, Stabilité

FACTORS EFFECTING TO THE AMOUNT OF PATULIN IN APPLE AND APPLE PRODUCTS

ABSTRACT

Patulin is a mycotoxin produced by several species of *Penicillium*, *Aspergillus* and *Byssoschlamys*. In nature, it is found diffusely at various products and also in apple and apple products. Because of the negative effects of patulin on human health, it is started to be used as an important quality parameter especially in apple juice and various apple products. On the other hand, having water solubility and stability to the heat treatment properties acquired another importance to the patulin in apple juice and apple juice concentrate. Removal of rotten parts of apples that will be processed to the apple juice and apple juice concentrate made the end product reliable in view of patulin. At apple juice and apple juice concentrate factories, activated charcoal is used diffusely for the removal of patulin passed to the apple juice. Exterior of activated charcoal, with the addition of ascorbic acid and/or sorbates, sulfhydryl (SH) components or different food ingredients (cinnamon oil, potassium sorbate e.t.c) and treatment of low dose radiation and modified atmosphere to the apple juice were being effective at the reduction of patulin. There are contradictory results about the inactivation of patulin with heat treatment and storage.

Key Words : Apple products, Patulin, Stability

1. GİRİŞ

Toprak, hava, su gibi doğal kaynaklardan hammadde ve işlenmiş gıdalara bulaşan küfler, oluşturdukları kalite bozuklukları ve ürün kayıplarıyla ekonomik

zararlanmalara yol açarken, toksik karakterli olanların ürettikleri "mikotoksinler" sağlık risklerine de neden olmaktadır. Mikotoksinler, küflerin bulaştıkları ortamlarda vejetatif gelişmelerini tamamladıktan sonra "idiofaz" safhasına girerek

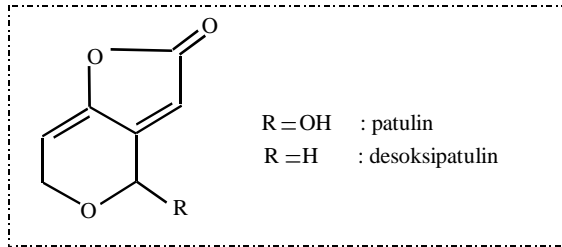
ürettikleri sekonder metabolitlerdir (Topal, 1996). Bilinen önemli mikotoksinler patulin, aflatoksin, trikotesen, okratoksin, sitrinin, sterigmatoksin, zearalenon ve penisillik asittir (Artık ve ark., 1991).

1. 1. Patulin Üreten Küfler

Varlığı elma suyu ve konsantrelerinde önemli bir problem olan patulin, bazı *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Byssoschlamys* türleri tarafından oluşturulan bir küf metabolitidir (Scott ve Kennedy, 1973; Harrison, 1989; Artık ve ark., 1995). İlk defa *Penicillium patulum* ve *Penicillium expansum* tarafından oluşturulan metabolite "Patulin" adı verilmiştir. *Penicillium patulum* ve *Penicillium expansum* dışında gıdalarda yaygın halde bulunabilen *Penicillium melinii*, *Penicillium equinum*, *Penicillium claviforme*, *Penicillium granatum*, *Penicillium lanasum*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium novae-zeelandiae*, *Penicillium divergens*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium leucopus*, *Penicillium lopicosum*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus gigantes*, *Aspergillus terreus*, *Byssoschlamys fulva* ve *Byssoschlamys nivea* tarafından da patulin üretildiği bildirilmektedir (Scott, 1974; Frank, 1980; Artık ve ark., 1992; Karadeniz ve Ekşi, 1995).

1. 2. Patulinin Kimyasal Yapısı ve Genel Özellikleri

Patulinin (4-hydroxy-4H-furo(3,2-c) pran-2(6H)-one) amprik formülü $C_7H_6O_4$ şeklinde olup yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir (Artık ve ark., 1992; Karadeniz ve Ekşi, 1995).



Şekil 1. Patulinin açık kimyasal yapısı

Renksiz ve kristal bir bileşik olan patulinin ergime noktası 110-112 °C'dir. Yüksek vakum altında 70-100 °C'de süblimasyonla saf olarak elde edilebilmektedir. Patulin; su, etil alkol, aseton, etil asetat ve kloroformda çok iyi çözünür, dietiler ve benzende daha az, petrol eterde ise hiç çözünmez. Su ve metil alkolde çözündüğü zaman kolaylıkla değişime uğramakta, benzen, kloroform ve diklorometanda ise değişime uğramamakta ve stabilitesini uzun süre muhafaza etmektedir (Scott, 1974; Artık ve ark., 1995).

Patulin doğada yaygın olarak elma ve elma ürünlerinde bulunur (Prieta et al., 1992; Wheeler et al., 1987; Taniwaki et al., 1992). Ayrıca gıda maddelerinin bir çoğunda, özellikle meyve ve sebzelerde küfler tarafından patulin oluşturulmaktadır. Elma, armut, şeftali, kayısı ve domateste küfler tarafından patulin sentezlenmekte, ancak lahana, turp, kereviz ve soğan gibi sebzeler, portakal ve portakal suyunda patulin sentezlenememekte veya stabil halde kalamamaktadır. Belirtilen ürünlerde patulinin sentezlenememesi veya stabil halde kalamamasının meyve ve sebzelerin bileşimi ile yakından ilişkili olduğu ve bu ürünlerde bulunan -SH gruplarının patulin sentezini etkilediği veya stabilitesini bozduğu ileri sürülmektedir. Sucuk, salam gibi et ürünlerinde oluşan patulinin bir süre sonra stabilitesini kaybetmesi de aynı nedene bağlanmaktadır (Frank, 1976;1977; Acar ve Arsan, 1989; Artık ve ark., 1995). Hayvanlar üzerinde yapılan denemelerle patulinin mutajen, teratojen (Ciegler et al., 1976; Prieta et al., 1992) ve karsinojen (Özçelik, 1979; Taniwaki et al., 1992) etki yapabildiğinin gösterilmesi patulinin insan sağlığı açısından bazı ürünlerde ve özellikle elma suyu ve konsantresinde önemli kalite parametresi haline getirmiştir. Patulinin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri dikkate alınarak Dünya Sağlık Örgütü ve birçok ülke gıdalarda ve bu arada elma suyunda bulunmasına izin verilen patulin miktarını 50µg/l veya kg ile sınırlandırmıştır (Harrison, 1989; Prieta et al., 1992; Burda, 1992; Artık ve ark., 1995). Ayrıca çocukları korumak amacıyla elma suyunda patulin limitinin 25µg/kg düzeyine düşürülmesine çalışıldığı belirtilmektedir (Uygun, 1998).

1. 3. Patulin Üzerine Sıcaklık ve Depolamanın Etkisi

Patulinin ısı ile parçalanması konusunda çelişkili sonuçlar mevcuttur. Genel olarak asit ortamda stabil olduğu ve ısı işlem, pastörizasyon ve depolamayla inaktif hale getirilemediği belirtilmektedir (Scott and Kennedy; 1973; Acar ve Arsan, 1989; Artık ve ark., 1995; Mutlu ark., 1997).

Özçelik (1979), patulinin ısı işlemlerden etkilenme düzeyini belirlemek için *Penicillium expansum* CBS 486.75 ile aşıladığı Erzincan elmalarından ürettiği elma sularını iki kısma ayırmış ve birinci grup örnekler ısı işlem uygulamadan, ikinci grup örnekler ise değişik derecelerde ısı işlem uygulandıktan sonra örneklerin patulin miktarını belirlemiştir (Tablo 1). Sonuçta 70, 80, 90 ve 100 °C'de 20 dakika süreyle uygulanan ısı işlemin patulin üzerinde önemli bir etki meydana getirmediğini tespit etmiştir.

Tablo 1. Patulin Üzerine Sıcaklığın Etkisi (Özçelik, 1979)

Elma Çeşitleri	Laboratuvar Sıcaklığında	Isıtılan Örneklerde		
	Patulin miktarı (µg/lm)	Sıcaklık (°C)	Süre (d)	Patulin miktarı (µg/ml)
Golden	2.0	70	20	2.0
Starking	29.75	80	20	34.0
Aksaki	156.00	90	20	156.0
Steymerd	5.00	100	20	5.6

Woller ve Majerus (1982) tarafından yapılan bir çalışmada elma suyuna 1 mg/l patulin eklenerek 72 ve 90 °C'de 5-20 dakika ısıtım uygulamasının patulin miktarında önemli bir azalmaya sebep olmadığı belirlenmiştir.

Wheeler et al. (1987), patulin içeriği 244-3993 µg/l arasında değişen pastörize elma sularında yüksek sıcaklık- kısa zaman (HTST) (60, 70, 80 ve 90 °C'de 10 sn; 90 °C'de 20, 40, 80 ve 160 sn) ve kesikli pastörizasyon uygulamasının (90 °C'de 10 dk.) patulin stabilitesine etkisini çalışmışlardır. Çalışmada 60, 80 ve 90 °C'de 10 sn ve 90 °C'de 10 d'lık ısıtım uygulamasının elma sularının patulin konsantrasyonunda önemli azalma meydana getirdiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada 90 °C'de 10 sn ısıtım işlemi (HTST) uygulamasının patulin içeriğinde % 18.8'lik azalışa sebep olduğu, ancak ısıtım süresinin arttırılmasının patulin içeriğinin azaltılmasında önemli bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Sonuçta ısıtım işleminin elma suyunda patulin içeriğini azaltabileceği, fakat kullanılan ısıtım proseslerinin patulinin tamamen parçalamada etkisiz kaldığı belirtilmiştir. Aynı araştırmacılar aynı çalışmada patulinli elma sularının 22 °C'de 1 ay depolanması ile patulin içeriğinde herhangi bir değişim olmadığını da ifade etmişlerdir.

Scott ve Somers (1968), pH içerikleri 3.5 olan taze ve konserve (canned) elma sularının 50 ml'sine 200 µg patulin ilave ettikten sonra 22 °C'de 0, 1, 2, 3, 4 ve 5 hafta depolanmışlardır. Çalışma sonucunda 22 °C'de 3 haftalık depolama sonucunda konserve elma suyunda patulinin % 25'inin, taze elma suyunda ise % 15'inin, 5 haftalık depolama sonucunda ise konserve elma suyunda patulinin % 50-60'ının, taze elma suyunda ise % 100'ünün aktivitesini kaybettiğini belirlemişlerdir. Aynı çalışmada 80 °C'de 20 dakika ısıtılan konserve elma suyunda patulinin % 50-60 oranında azaldığı belirlenmiştir.

1. 4. Modifiye Atmosferin Patulin Üzerine Etkisi

Lovett et al. (1975), Red Delicious elmalarını 0, 6 °C'de normal ve modifiye atmosfer koşullarında (% 1 CO₂, % 3 O₂ ve % 96 N₂) *Penicillium expansum* suşu ile inoküle etmiştir. Çalışma

sonucunda modifiye atmosfer koşullarına göre normal atmosfer koşullarında daha fazla patulin oluştuğunu belirlenmiştir.

Modifiye atmosferin elmalarda hem küf gelişimi hem de patulin sentezini engellediği, ancak % 10 CO₂ içeren modifiye atmosferin patulin sentezinin azaltılmasında etkili olmasına rağmen küf gelişimini önemli düzeyde etkilemediği belirtilmektedir (Karadeniz ve Ekşi, 1995). Diğer taraftan % 2-3 O₂ ve % 2-5 CO₂ içeren modifiye atmosferdeki elma ve armutlarda *Penicillium expansum*'un gelişiminin önlenmediğini belirtmesinin rağmen, böyle bir muhafaza yönteminin bir meyve suyu işletmesinde pratiğe geçirilmesinin zor olduğu ifade edilmektedir. (Woller ve Majerus, 1982).

1. 5. Su Aktivitesinin (a_w) Patulin Üretimine Etkisi

Meyve-sebzeler ve birçok meyve-sebze ürünlerinde su aktivitesi değerleri iyi bir küf gelişimi, dolayısıyla patulin sentezi için çok uygun bir ortam oluşturur. Bu gıdalarda uygun sıcaklık koşullarında 14-15 günlük bir sürenin patulin sentezi için yeterli olacağı belirtilmektedir (Acar ve Arsan, 1989).

Roland ve Beuchat (1984a) tarafından elma şuruplarında *Bysochlamys nivea* tarafından patulin üretimine 21, 30 ve 37 °C'de 44 günlük inkübasyon periyodunda sıcaklık ve su aktivitesinin etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 21, 30 ve 37 °C'de *Bysochlamys nivea*'nın gelişim gösterebildiği minimum a_w değerlerinin sırasıyla 0.915, 0.886 ve 0.871 olduğu, aynı sıcaklıklarda patulin üretimi için gerekli minimum a_w değerlerinin ise 0.978, 0.968 ve 0.959 olduğu tespit edilmiştir.

Northolt et al. (1978) tarafından elmalarda *Penicillium expansum*, *Penicillium patulum*, *Penicillium crostosum* ve *Aspergillus clavatus*'un bazı suşları tarafından patulin üretimine sıcaklık ve su aktivitesinin kombine etkisi ve doku çürümesine bağlı olarak suşların farklı inkübasyon periyotlarında patulin üretimleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda *Penicillium expansum* suşları ile *Penicillium crostosum* RIV 58 ve *Aspergillus clavatus* ile inoküle edilen Golden Delicious (a_w 0.984) elmalarında hızlı bir çürüme ve patulin üretimi belirlendiği, ancak *Penicillium patulum* suşları ile

Aspergillus clavatus'un 2 suşunun çürüme oluşturma yeteneğinde olmadığı belirtilmiştir. İlave olarak Golden delicious elmalarında Penicillium expansum RIV 11 tarafından patulin üretimi için optimum sıcaklığın 24 °C olduğu da belirtilmiştir.

1. 6. Çürük ve Sağlam Doku Arasında Patulinin Davranışı

Çeşitli şekillerde zedelene meyvelere bulaşan patulin üreten küfler; taşıma ve kısa süreli depolamada hızla gelişmekte ve meyvelerde patulin oluşturmaktadır. Patulin yalnızca küf üremesi görülen bölgede meydana gelmekte ve bu bölge uzaklaştırıldığında elmanın diğer kısımları meyve suyu üretiminde kullanılabilir (Artık ve ark., 1995).

Olgunluk düzeyine bağlı olarak bazı elmalarda çürümüş dokudan sağlam dokuya patulin difüzyonu çok az olmakta veya hiç olmamaktadır. Bu durum elma dokusundaki hücrelerarası hava boşluğunun ve hücrelerarası boşluklarda bulunan gazın patulin difüzyonunu engellemesi şeklinde açıklanmaktadır (Frank, 1976). İyi olgunlaşmış ve fazla sulu meyvelerde hücrelerarası boşluklar su ile dolmakta ve bu tip meyvelerde patulin çürük dokudan sağlam dokuya difüze olabilmektedir. Elmalarda patulinin çürümüş dokudan sağlam dokuya difüzyonunun az olmasına karşılık, fazla olgunlaşmış ve su oranı yüksek meyvelerle diğer gıda maddelerinde çürük bölgelerden sağlam bölgelere patulin difüzyonunun önemli oranda gerçekleştiği belirtilmektedir (Özçelik, 1979).

Özçelik (1979), Penicillium expansum CBS 486.75 suşu ile Amasya, Penicillium expansum HPB

050576 suşu ile Erzincan'dan temin edilen elma çeşitlerini aşılıyarak, elma örneklerinin küfler tarafından çürütülmesini sağlamıştır. Daha sonra elma örneklerinin küfler tarafından çürütülen kısımlarında ve çürüten dokuya bitişik 1.0-1.5 cm kalınlığındaki sağlam dokuda patulin analizi yapmıştır. Sonuçta çürüyen elmalardan çürümüş kısımların ayrılmasıyla patulinin % 94.9-100.0 oranında temizlenmiş olduğunu, yani çürümüş dokudan sağlam dokuya patulin difüzyonunun çok az veya hiç olmadığını tespit etmiştir.

Elma suyu üretiminde elmaların küflü kısımlarının uzaklaştırılmasında basınçlı su yaygın olarak kullanılmaktadır (Frank, 1977). Yine çürük veya kısmen çürük elmaları etkin bir şekilde ayrabilecek bantların kullanılması da tavsiye edilen diğer bir yöntemdir (Artık ve ark., 1992). Elmaların çürük kısımlarının uzaklaştırılmadan elma suyu üretiminde kullanılması durumunda hem elma suyuna geçen hem de posada kalan patulin miktarı önemli olmaktadır. Posada kalan patulin, posanın yeme eklenmesiyle hayvan yemlerine geçmekte, böylece hayvan ve dolaylı olarak ta insan sağlığı için zararlı olmaktadır (Özçelik, 1979).

Özçelik (1979), Penicillium expansum CBS 486.75 suşu ile aşılınmış Niğde elmaları ile Penicillium expansum HPB 050576 suşu ile aşılınmış Amasya elmalarından elde edilen elma sularında ve aynı örneklerin posalarında yaptığı patulin analizi sonucunda önemli miktarda patulinin posada kaldığını ve posada kalan patulin miktarının elma çeşidine, çeşidin alındığı yöreye göre değiştiğini belirlemiştir. Çalışmada posada kalan patulinin toplam patulinin % 18.96-51.88'i olduğu saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Elma Suyunda ve Posada Ölçülen Patulin Miktarları (Özçelik, 1979)

İl	Çeşitler	Suda		Posada	
		µg/ml	%	µg/ml	%
Niğde	Golden	10.40	67.97	4.90	32.03
	Starking	4.50	48.12	4.85	51.88
	Misket	102.25	67.71	48.75	32.29
	Hüryemez	6.35	66.14	3.25	33.86
Amasya	Golden	14.43	80.58	3.48	19.42
	Starking	13.90	81.04	3.25	18.96
	Misket	56.66	64.96	30.56	35.04
	Tahar	6.08	77.38	1.78	22.62

Taniwaki et all. (1992), ortalama ağırlığı 160 g, uzunluğu 6.5 cm, çapı 7.0 cm ve tekstürü 8.4 kg/cm² olan sağlam elmalara Penicillium expansum suşu inokule ettikten sonra, elmaları karton kutularda 25 °C'de hücre zararlı dokuların çapı yaklaşık 3.6 veya 4.8 cm'ye ulaşmaya kadar inkübe etmişlerdir. İnkübasyon sonunda patulin analizine tabi tutulan elmalarda mevcut patulinin büyük bir çoğunluğunun

hücre zararlı kısmın ilk 1 cm'sinde bulunduğu, patulin içeren son hücre zararlı kısmın 1 cm altındaki doku kısmında ise patulin bulunmadığı tespit edilmiştir. Bundan dolayı küfler tarafından oluşturulan hücre zararlı kısmın etrafının 1 cm ayıklanmasının patulin varlığından sakınmak için yeterli olduğunu, bununla birlikte sadece çürük dokunun temizlenmesinin elmayı patulin

bakımından tamamen arınmış duruma getirmek için yeterli olmadığını belirtmişlerdir.

1. 7. Aktif Kömürün Patulin Azaltımına Etkisi

Elma suyu ve elma suyu konsantresi üretiminde patulin kontrolü için en etkin yöntem aktif kömür kullanımıdır. Elma suyuna aktif kömür uygulamasıyla kalitesi yüksek ve ihracata uygun elma suyu konsantresi üretimi mümkün olabilmektedir.

Artık ve ark. (1995), elma suyu konsantrelerini 12 brix'e sulandırıp biri toz ve ikisi granül (meyve suyuna ilave edilince süspansiyon şeklinde çözünme özelliğinde) formundaki 3 farklı yapıya sahip aktif kömür ile muamele ederek patulin miktarını azaltma üzerinde çalışmışlardır. Çalışmada üç değişik formdaki aktif kömürün 3-5 g/l düzeyinde 5 dakika süreyle uygulanması ile patulin miktarındaki azalmanın, diğer uygulama doz ve süreleri ile mukayese edildiğinde yeterli kabul olduğunu belirlemişlerdir. Farklı fiziksel yapıdaki aktif kömür formlarının uygulanmasıyla patulin miktarındaki en fazla azalmanın ise toz aktif kömür uygulaması ile elde edildiği belirlenmiştir.

Sands et al. (1976), aktif kömürün patulin azalımı üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmada 30 µg/ml patulin ilave edilen elma suyunun 20µg/ml aktif kömür ile karıştırılması halinde patulinin tamamının, 5 µg/ml aktif kömür ile karıştırılması halinde ise patulinin % 91.36' sının aktif kömür tarafından adsorbe edildiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada, 30 µg/ml patulin ilave edilen elma suyunun aktif kömür ile hazırlanmış kolondan geçirilmesi halinde yine patulinin tamamının adsorbe edildiği belirlenmiştir.

Van (1989), elma suyundan patulinin uzaklaştırılması amacıyla etkin karıştırılmalı kesikli sistemler ve sabit yatak mini kolonlarda 4 adet granül ve 5 adet toz aktif kömür uygulamasını denemiştir. Deneme sonucunda aktif kömürle patulin adsorbsiyonunun çok hızlı olduğu, granül ve toz aktif kömürün patulin adsorbsiyonunda doygunluğa ulaşma süresinin sırasıyla 10 ve 5 dakika olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada toz aktif kömürün adsorbsiyon kapasitesinin granül aktif kömürden 10 kat fazla olduğu saptanmıştır.

Kadakal ve Nas (2000a; 2000b), düşük (62.3 ppb) ve yüksek (510.3ppb) patulin içeriğine sahip elma sularında farklı doz (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, ve 3.0 g/l) ve farklı sürelerde (0, 5, 10, 20, 30 dk.) toz aktif kömür uygulamasının patulin azalımı üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmalardan birincisinde, başlangıçtaki patulin içeriği 62.3 ppb olan elma suyu

örneğinde en fazla patulin azalımının 3 g/l düzeyinde toz aktif kömürün 30 dakika süreyle uygulanmasıyla elde edildiği ve patulin içeriğinin 26.7 ppb değerine indiği saptanmıştır. İkinci çalışmada ise başlangıçtaki patulin içeriği 510.3 ppb olan elma suyu örneğinde en fazla patulin azalımının 3 g/l düzeyinde aktif kömürün 5 dakika süreyle uygulanması sonucu elde edildiği ve patulin içeriğinin 177.8 ppb değerine indiği belirlenmiştir. Her iki çalışmada da toz aktif kömürün uygulama dozunun arttıkça elma suyunun patulin içeriğinin genelde düzenli olarak azaldığı ancak uygulama etkinliği bakımından elma suyunun 5 dakika süreyle muamele edilmesinin yeterince etkin olduğu, uygulama süresinin artırılmasının patulin azalımı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Huebner et al. (2000), sabit-yatak adsorbsiyon kolonları içine yerleştirilen kompozit karbon adsorbanının (CCA) sulu solusyonlarda ve elma suyunda patulin düzeyinin azaltımına etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışmada 0.25, 0.5 ve 1.0 g CCA içerikli kolonlar sürekli olarak patulin solusyonu (10µg/ml) ile yüklenmiş ve 1 ml/dk akış hızında elüasyon uygulanmıştır. 0.25, 0.5 ve 1.0 g CCA dolgululu kolonlarda patulin için %50 azaltım kapasitelerinin sırasıyla 19.9, 38.5 ve 137.5 µg olduğu ve CCA adsorbsiyonunun patulin toksitesini % 76'ya varan kapasitede azalttığını belirlemişlerdir. Yine aynı çalışmada 1.0 g CCA içerikli sabit yatak adsorbsiyonunun doğal kontamineli elma suyunda patulin konsantrasyonunun (20 µg/l) azaltılmasında etkili olduğu ve azaltım kapasitesinin sıcaklık artışı ile arttığını tespit etmişlerdir. İlave olarak, paralel deneylerle karşılaştırma sonucunda CCA'nın pellet aktif kömürden daha yüksek başlangıç azaltma kapasitesi gösterdiği ifade edilmektedir.

1. 8. pH'nın Patulin Üzerine Etkisi

Patulin ortamın pH'sına bağlı olarak farklı düzeyde değişime uğramaktadır (Lovett and Peeler, 1973). Alkali ortamda kararsız olan patulinin biyolojik aktivitesini kaybettiği, asidik ortamda ise stabil kaldığı belirtilmektedir (Artık ve ark., 1995).

Damoglou ve Campbell (1986), 2.8'den 4.0'e kadar değişen farklı pH değerlerine sahip elma sularını, mililitresine 1000 adet *Penicillium expansum* sporu gelecek şekilde aşılama ve 25 °C'de 0, 10, 20 ve 35 gün inkübe ederek patulin oluşumunu incelemişlerdir. Çalışma sonucunda 3.4, 3.6 ve 3.8 pH değerlerine sahip elma sularında patulin üretiminin diğer pH değerlerine göre daha fazla olduğu tesbit edilmiştir. Elma suyu örneklerinden 3.6 pH değerine sahip olan hariç diğer örneklerin patulin konsantrasyonunun 10. günden 20. güne kadar çok az arttığı, sonra azaldığı belirlenmiştir.

Sonuçta süre ve pH arasında önemli bir ilişki tespit edilemezken, patulinin 3.2'den yüksek ve 4.0'dan daha düşük pH değerine sahip elma sularında daha fazla miktarda üretildiği ve pH arttıkça biokütle üretiminin de arttığı tespit edilmiştir.

1. 9. Askorbik Asidin Patulin Üzerine Etkisi

Acar ve Arsan (1989), sağlam ve beresiz Amasya elmalarından elde ettikleri bulanık elma suyunu iki partiye ayırmış ve birinci partiye 1 mg/l patulin ve ikinci partiye de 1 mg/l patulin ile 500mg/l askorbik asit ilave ettikten sonra her iki partiye de pratikte uygulanan yöntemle benzer şekilde enzimatik durultma, jelatin ile berraklaştırma ve filtrasyon uygulayarak berrak elma suyu elde etmişlerdir. Daha sonra berrak elma suyunu döner evaporatörde 55° brix'e kadar konsantre etmişlerdir. Elde ettikleri 55° brix'lik konsantreden saf su ilavesi ile hazırladıkları elma suyunu koyu renkli şişelere pratiğe uygun biçimde 200 g doldurarak şişelerin ağzını taç kapakla kapatmış ve kaynayan suda 20 dakika süreyle pastörize etmişler ve oda sıcaklığında 6 ay süreyle depolamışlardır. Araştırma sonucunda, 1 mg/l düzeyinde patulin içeren elma suyu örneklerinde durultma, berraklaştırma ve filtrasyon işleminden sonra patulin miktarında % 61.11, 1 mg/l patulin + 500 mg/l askorbik asit içeren örneklerde ise % 78.57'lik bir azalmanın meydana geldiği saptanmıştır. Ancak aynı örneklerde konsantre etme ve pastörizasyondan sonra patulin düzeyinde meydana gelen azalmanın önemsiz olduğu belirtilmiştir. Üretim başlangıcından 6 aylık depolama sonuna kadar askorbik asit ilaveli örneklerde % 100, askorbik asit içermeyen örneklerde ise % 68.90 düzeyinde bir azalmanın meydana geldiği belirtilmiştir.

Brackett ve Marth (1979), askorbik asit ve sodyum askorbatın patulin üzerine etkisini çalışmışlardır. Bunun için 1. 5000 µg/l patulin içeriğine sahip tampon çözeltiye (pH 7.5) 0 ve 6. günlerde 25 °C'de % 2 (ağırlık/hacim) sodyum askorbat ilave, 2. 5000 µg/l patulin içeriğine sahip tampon çözeltiye (pH 3.5) 25 °C'de % 0, % 0.15, % 0.5, % 1 ve % 3 (ağırlık/hacim) askorbik asit ilave etmişler ve patulin içeriğindeki azalmayı belirlemişlerdir. Sodyum askorbat ilaveli örneklerin patulin içeriğinde 0 ve 6. gün analizleri sonucunda hızlı bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. pH değeri 3.5 olan tampon çözeltide askorbik asidin konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak patulin içeriğindeki azalma miktarının oransal olarak arttığı belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada 300 µg/l patulin içeren elma suyunun % 5 askorbik asit ilave edilmiş ve örnekler depolanmıştır. Depolamanın 0, 3, 7, 11, 14, 21. günlerinde yapılan patulin analizleri sonucunda patulinin depolamayla

azaldığı ve 21 gün depolanan örneklerde patulinin tamamen parçalandığı saptanmıştır.

Aytaç ve Acar (1992), *Penicillium expansum* ile aşılı olarak 20 °C'de 10 gün inkübe ettikleri elmalardan ürettikleri ham elma suyunu (patulin içeriği 6000µg/l) 3 kısma ayırarak, birinci kısma 100 ppm SO₂ verecek şekilde sodyum piro-sülfat (Na₂S₂O₅), ikinci kısma ise 500 mg/l L-askorbik asit ilave etmiş, üçüncü kısma ise hiçbir şey ilave etmemişlerdir. Ardından bütün örnekler enzimatik durultma ve berraklaştırma uygulanmış ve rotary vakum evaporatörde kurumadde oranı yaklaşık % 65 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra her üç gruptaki konsantrelerden destile su ile elma suyu hazırlanarak kaynayan su içerisinde şişelerde pastörize edilmiş ve örnekler oda sıcaklığında 0, 2 ve 4 ay depolanmıştır. Çalışma sonucunda, başlangıçta 6000 µg/l patulin içeren elma ham suyunun ilave edilen SO₂'nin patulin miktarını % 25'lik bir azalma ile 4500 µg/l'ye, 500 mg/l L-askorbik asidin ise % 33'lük bir azalma ile başlangıçtaki patulin miktarını 4000 µg/l'ye düşürdüğü belirtilmiştir. Yalnızca patulin içeren ham elma suyunun enzimatik durultma ve berraklaştırma uygulandıktan sonra elde olunan elma suyunun patulin miktarında başlangıca göre % 25, SO₂ ilave edilen patulinli elma suyunun % 41.7, L-askorbik asit içeren örnekte ise % 50'lik bir azalma saptanmıştır. Aynı çalışmada 0, 2, 4 aylık depolama aşamasında depolama süresinin uzamasına bağlı olarak patulin miktarında önemli oranda azalmalar gözlemlendiği ve 4 aylık depolama sonucunda yalnızca patulin içeren örnekte başlangıca göre azalmanın % 50, SO₂ içeren örnekte % 96.7 ve L-askorbik asit içeren örnekte ise % 99.0 olduğu belirtilmiştir.

1. 10. Radyasyonun Patulin Üzerine Etkisi

Zegota et al. (1988a), 1986 ve 1987 yıllarında temin edilen ve başlangıçtaki patulin içerikleri sırasıyla 2100 µg/kg ve 1810 µg/kg olan elma suyu konsantrelerinde farklı dozlarda uygulanan iyonize radyasyonun patulin içeriğinin azaltımına etkisini araştırmışlardır. 1986 yılına ait örnekler 5 ay süreyle 5 °C'de karanlıkta depolanmış ve Co-60 kaynağı kullanılarak oda sıcaklığında 1-10 kGy arasında değişen oranlarda radyasyona maruz bırakılmıştır. 1987 yılına ait örnekler ise 2 haftalık soğuk depolamadan sonra oda sıcaklığında 0.35-3.5 kGy arasında değişen oranlarda radyasyona maruz bırakılmıştır. Çalışma sonucunda elma suyu konsantrelerinde absorblanan dozlara bağlı olarak radyasyonun patulini azalttığı ve 2.5 kGy'lik radyasyon dozunun 1986 yılında temin edilen örneklerde patulin içeriğini 51 µg/kg'a, 1987 yılında temin edilen örneklerde ise 0 µg/kg'a indirdiğini

tespit etmişlerdir. Bu sonuçların ışığında araştırmacılar patulin kontamine elma suyu konsantrelerinin detoksifikasyonunda radyasyon uygulamasının kullanılabilirliği kararına varmışlardır.

Zegota et al. (1988b), başlangıçtaki patulin içerikleri 1810 µg/kg ve 950 µg/kg olan elma suyu konsantrelerini polietilen torbalara doldurduktan sonra 0.35 'den 2.45 kGy'e kadar değişen dozlarda radyasyona maruz bırakılmasının ve 4 °C'de 8 hafta süreyle depolanmasının elma suyunun patulin içeriği ve kimyasal kompozisyonu üzerine etkisini çalışmışlardır. Radyasyona maruz bırakılan elma suyu konsantrelerinin her biri 3 gruba ayrılmış ve 1. grup radyasyon uygulamasından hemen sonra, 2. grup 4 hafta depolamadan sonra ve 3. grup 8 hafta depolamadan sonra analiz edilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda radyasyonun absorblanan doza bağlı olarak eksponansiyel olarak patulini azalttığını ve patulinin %50 azaltılması (D₅₀) için gerekli radyasyon dozunun 0.35 kGy olduğunu tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada radyasyon uygulandıktan sonra depolamanın elma suyu konsantresinin patulin içeriğinde bir değişim meydana getirmediği de belirtilmiştir.

1. 11. Sülfidril Bileşiklerinin Patulin Üzerine Etkisi

Patulinin sistein, glutation ve proteinler gibi sülfidril grubu içeren bileşikler ile hızlı bir şekilde reaksiyona girdiği belirtilmektedir (Lindroth, 1980). Artık ve ark. (1991), glutamik asidin model sistemlerde patulin miktarını 24 saatte büyük ölçüde azalttığını, sisteinin ise hem model hemde kompleks yapıli sistemlerde patulin miktarını azalttığını belirtmektedir.

Scott ve Somers (1968), pH'sı 2.3-3.0 arasında olan elma sularında patulinin glutation tarafından parçalandığını ve düşük konsantrasyonda sülfidril bileşeni içeren meyve sularında başlangıçtaki patulin konsantrasyonunun yüksek olması durumunda işlenmiş meyve suyunda da patulin kalabildiğini belirtmektedir. Ancak kimyasal madde ilavesiyle patulinin azaltımında, kimyasal maddelerle patulinin oluşturduğu bileşik veya bileşiklerin sağlık üzerine etkileri araştırılmadan elde edilen ürünlerin kullanımı tavsiye edilmemektedir. Zira, sistein ile patulinin oluşturduğu bileşiğin tavuk embriyosu üzerine teratojen etkisi olduğu belirtilmektedir (Karadeniz ve Ekşi, 1995).

1. 12. Çeşitli Ingredientlerin Patulin Üzerine Etkisi

Roland ve Beuchat (1984b), elma suyunda *Bysochlamys nivea* gelişimi ve buna bağlı olarak

Bysochlamys nivea tarafından patulin üretimi üzerine potasyum sorbat (0, 50 ve 100 µg/ml), sodyum benzoat (0, 200, 400 µg/ml), SO₂ (0, 25, 50 µg/ml) ve inkübasyon periyodunun etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda her üç koruyucu madde açısından en fazla patulin üretiminin 21 °C'de ve 20 günlük inkübasyon periyodu sonunda elde edildiği, genel olarak 30 ve 37 °C'de 6-9 gün inkübasyondan sonra patulin içeriğinin maksimuma ulaştığı, ardından hızlı bir azalış gösterdiği belirtilmiştir. Ancak 12 °C'de gerçekleştirilen inkübasyon sonucunda ise konsantrasyona bağlı olarak patulin üretiminde SO₂'in en fazla azalmayı sağladığı ve bunu sırasıyla potasyum sorbat ve sodyum benzoatın izlediği belirtilmiştir.

Ryu ve Holt (1993) tarafından elma ve elma suyunda *Penicillium expansum* gelişimine karşı inhibitör olarak çeşitli gıda ingredientleri (tarçın yağı, sinmaldehit, karanfil yağı, eugenol, potasyum sorbat, benomyl) denenmiştir. Çalışma sonucunda % 0.3 tarçın yağı veya % 0.5 sorbat ilave edilen elma suyunun *Penicillium expansum* ile 25 °C'de 7 gün inkübasyonu sonucunda patulin saptanamadığı belirtilmektedir. Ayrıca 0.5 ve 2.5 ppm benomyl uygulaması neticesinde patulin üretiminin uyarıldığı ve sırasıyla 100 ve 500 ppm'den daha yüksek değerlere ulaşıldığı, 5 ppm civarında benomyl uygulamasının ise patulin üretimini durdurduğu belirtilmektedir. Çalışma sonucunda araştırmacılar tarçın yağı veya potasyum sorbatın elmaların yüzeyine uygulanmasının elmalarda hasat sonrası etkili olacağı ve bu bileşiklerin ilaveten ısı işlem görmeyen elma suyu ürünlerine eklenmesinin (örneğin taze elma suyu) *Penicillium expansum* tarafından patulin üretimini önleyeceği ifade edilmektedir.

Adam (1980), başlangıçtaki patulin konsantrasyonu 100 ppb olan elma suyunun bir kısmına 100 veya 200 ppm SO₂ ilave ederek, bir kısmını SO₂ ilave etmeden ve bir kısmına ise 75 °C'de 15 dakika doğrudan ısıtma işlemi uyguladıktan sonra 100 ppm SO₂ vererek karanlıkta oda sıcaklığında ve azot gazı altında yaklaşık 300 gün depolanmış ve depolamanın çeşitli aşamalarında patulin konsantrasyonundaki değişimi belirlemiştir. Depolama sonunda SO₂ ilave edilmeyen örneklerde patulin konsantrasyonunun yavaş yavaş azalarak başlangıç değerinin % 55'ine indiği belirlenmiştir. 200 ppm SO₂ ilave edilen örnekler ile 100 ppm SO₂ içerikli ısıtılmış örneklerde yaklaşık 10 günde, 100 ppm SO₂ içeren ısıtılmamış örneklerde ise yaklaşık 40 günde patulin konsantrasyonunun başlangıç değerinin yaklaşık % 50'sine indiği belirtilmektedir.

2. SONUÇ

Çeşitli şekillerde zedelenen elmalarda gelişen patulin oluşturan küfler yalnızca küf üremesi görülen bölgelerde patulin oluşturdıklarından, bu bölgenin uzaklaştırılmasından sonra elma, elma suyu ve konsantresi üretiminde kullanılabilir Bunun için de küf ve patulin içeren bölgeleri uzaklaştıran uygun sistemlerin (basınçlı sıcak su, çürük ve kısmen çürük elmaları ayırabilecek uygun bantlar) fabrikalarda kurulması gereklidir

Patulinin ısı ve depolama stabilitesi ile ilgili oldukça farklı literatür bilgileri mevcut olup genel olarak patulinin asidik ortamlarda stabil olması nedeniyle pastörizasyon yada depolama sırasında inaktif hale getirilemediği belirtilmektedir (Artık ve ark., 1995; Mutlu et al., 1997). Elma suyu ve konsantresinin pH ve a_w değerleri küf gelişimi ve dolayısıyla patulin sentezi için uygundur. Elma suyu ve konsantresinin a_w değerleri şeker katkısı ile azaltılabilmesine rağmen (Karadeniz ve Ekşi, 1995), pH değerinin uygun bir kimyasal kullanarak ayarlanması pratikte mümkün olmamaktadır. Elma suyu ve konsantresinde patulinin azaltılması amacıyla aktif kömür yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yine düşük dozda radyasyon uygulamasının patulin tahribine yol açtığı belirlenmesi (Zegota et al., 1988a; Zegota et al., 1988b), patulin kontamineli elma suyu konsantrelerinin detoksifikasyonunda radyasyon uygulamasını gündeme getirmiştir.

Elma suyunda koruyucu madde olarak kullanılabilen SO_2 aynı zamanda patulinin azalmasını da sağlamakta (Scott, 1974; Aytaç ve Acar, 1992; Karadeniz ve Ekşi, 1995) depolama ise bu etkiyi daha da arttırmaktadır (Aytaç ve Acar, 1992). Tarçın yağı ve potasyum sorbat gibi gıda ingredientlerinin hasat sonrası elmaların yüzeyine uygulanması ile elmalarda çürümenin azaltılabildiği ve ısı işlem görmemiş elma suyu ürünlerine (örneğin taze elma suyu) ilavesinin ilave ısı işlem uygulamasına ihtiyaç bırakmayacağı belirtilmektedir (Ryu ve Holt, 1993). Patulinin; sisten, glutation, glutamik asit ve sülfidril bileşikleri ile askorbik asit ve/veya askorbat ilavesiyle azaltılabildiği (Lindroth, 1980; Acar ve Arsan, 1988; Artık ve ark., 1991) belirtilmektedir. Ancak, elma suyu ve konsantresinde kimyasal madde ilavesi ile patulinin azaltımında, kimyasal maddelerle patulinin oluşturduğu bileşik veya bileşiklerin sağlık üzerine olan etkilerinin araştırılmaksızın kullanımı tavsiye edilmemektedir (Karadeniz ve Ekşi, 1995).

3. KAYNAKLAR

Acar, J. ve Arsan, B. T. 1989. Meyve Sularında Patulinin Stabilitesi Üzerine C Vitamininin Etkisi. I.

Ulusal Biyoteknoloji Sempozyumu, 5-7 Eylül, Ankara.

Adam, R. 1980. Studies on Effects of Bisulfite Ions on the Mycotoxin Patulin. II. Studies With Apple Juice. *Deutsche-Lebensmittel-Rundschau* 76 (4), 123-125.

Artık, N., Cemeroglu, B., Aydar, G ve Sağlam, N. 1995. Aktif Kömür Kullanılarak Elma Suyu Konsantresinde Patulin Miktarını Azaltma Olanakları. *Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi* (19), 259-265.

Artık, N., Cemeroglu, B., Aydar, G ve Sağlam, N. 1992. Elma suyu Konsantresi Üretiminde Aktif Kömür Kullanımı Üzerinde Araştırmalar. *TOAG-753*, Ankara.

Artık, N., Velioğlu, S. ve Sağlam, N. 1991. Mikotoksinler: Patulinin Oluşumu ve Meyve Sularındaki Önemi. *Araştırma* 3 (33), 13-17.

Aytaç, S. A. ve Acar, J. 1992. Elma Suyu Üretim ve Depolanması Sırasında Kükürt Dioksit ve L-Askorbik Asidin Patulin Stabilitesine Etkisi. *Kükem Dergisi* 15 (1), 11-17.

Brackett, R. E. ve Marth, E. H. 1979. Patulin in Apple Juice from Roadside in Wisconsin. *Journal of Food Protection* (42), 862-863.

Burda, K. 1992. Incidence of Patulin in Apple, Pear, and Mixed Fruit Products Marketed in New South Wales. *Journal of Food Protection* (55) 796-798.

Ciegler, A, Beckwith, A. C. ve Jackson, L. K. 1976. Teratogenicity of Patulin and Patulin adducts formed with cysteine. *Applied and Environmental Microbiology* (31), 664-667.

Damoglou, A. P. ve Campbell, D. S. 1986. The Effect of pH on the Production of Patulin in Apple Juice. *Letters in Applied Microbiology* (2), 9-11.

Frank, H. K. 1976. Das Problem der Mykotoxine in Lebensmitteln. *Chenia* (30), 455-456.

Frank, H. K. 1977. Meyve Sularının İşlenmesinde Patulinin Anlamı (Çeviri: Aziz Ekşi) *Gıda* (2), 72-74.

Frank, H. K. 1980. Patulin in Produkten Pflanzlicher Herkunft. *Cofruca* 25, (3-4), 107-108.

Harrison, M. A. 1989. Presence and Stability of Patulin in Apple Products: A Review. *Journal of Food Safety* (9), 147-153.

- Huebner, H. J., Mayura, K., Pallaroni, L., Ake, C.L., Lemke, S.L., Herrera, P. ve Phillips, T. D. 2000. Development and Characterization of Carbon-Based Composite Material for Reducing Patulin Levels in Apple Juice. *Journal of Food Protection* 63 (1), 106-110.
- Kadakal, Ç ve Nas, S. 2000a. The Effect of Different Doses and Various Mixing Periods of Treated Dust Activated Charcoal on Patulin, HMF, Fumaric Acid, Colour and Clearness of Apple Juice. *Journal of Food Sciences* (Submitted for publication).
- Kadakal, Ç. ve Nas, S. 2000b. Patulin İçeriği Yüksek Elma Sularına Farklı Doz ve Süre ile Toz Aktif Kömür Uygulamasının Elma Sularının Patulin, HMF, Fumarik Asit, Renk ve Berraklığı Üzerine Etkisi. *Food Blacksea and Central Asian Symposium on Food Technology* (Kongreye gönderildi).
- Karadeniz, F. ve Ekşi, A. 1995. Elma Suyu Konsantrlerinde Patulin Miktarı ve Değişkenliği. *Gıda Sanayii* (39), 14-18.
- Lindroth, S. 1980. Occurrence, Formation, Detoxification of Patulin Mycotoxin. *Academic Disseration, Espoo, Finland*. 215 p.
- Lovett, J. Thompson, R. G. ve Boutin, B. K. 1975. Patulin Production in Apples Stored in a Controlled Atmosphere. *Journal of Association off Analytical Chemists*, 58 (5), 912-914.
- Lovett, J. ve Peeler, J.T. 1973. Effect of pH on the Thermal Destruction Kinetics of Patulin in Aqueous Solution. *Journal of Food Science* (38), 1094-1095.
- Mutlu, M., Hızarcıoğlu, N. ve Gökmen, V. 1997. Patulin Adsorption Kinetics on Activated Carbon, Activation Energy and Heat of Adsorption. *Journal of Food Science* 62 (1), 128-130.
- Northolt, M. D., Egmond, H. P ve Paulsch, W.E. 1978. Patulin production by Some Fungal Species in Relation to Water Activity and Temperature. *Journal of Food Protection* 41 (11), 885-890.
- Özçelik, S. 1979. Niğde, Amasya ve Erzincan İllerinde Üretilen Önemli Elma Çeşitlerinde Mikrobiyal Bozulmalar ve Bozulan Elmalarda Patulin Oluşumu, Doçentlik Tezi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum.
- Prieta, J., Moreno, M. A., Blanco, J. L., Suarez. G. ve Dominguez, L. 1992. Determination of Patulin by Diphasic Dialysis Extraction and Thin-Layer Chromatography. *Journal of Food Protection* 55 (12), 1001-1002.
- Roland, J. O. ve Beuchat, L.R. 1984a. Influence of Temperature and Water Activity on Growth and Patulin Production by *Byssoschlamys nivea* in Apple Juice. *Applied and Environmental Microbiology* 47 (1), 205-207.
- Roland, J. O. ve Beuchat, L.R. 1984b. Biomass and Patulin Production by *Byssoschlamys Nivea* in Apple Juice as Affected by Sorbate, Benzoate, SO₂ and Temperature. *Journal of Food Science* (44), 402-406.
- Ryu, D. ve Holt, D.L. 1993. Growth Inhibition of *Penicillium Expansum* by Several Commonly Used Food Ingredients. *Journal of Food Protection* 56 (10), 862-867.
- Sands, D.C., McIntyre, J.I. ve Walton, G. S. 1976. Use of Activated Charcol for the Removal of Patulin from Cider. Apple. *Environmental Microbiololy* 32, 388-391.
- Scott, P. M. 1974. Collaborative Study of a Chromatographic Method for Determination of Patulin in Apple Juice. *Journal of Association off Analytical Chemists* 57 (3), 621-625.
- Scott, P.M. ve Kennedy B.P.C. 1973. Improved Method for the Thin Layer Chromatographic Determination of Patulin in Apple Juice. *Journal of Association off Analytical Chemists* 56 (4), 813-816.
- Scott, P.M. ve Somers, E. 1968. Stability of Patulin and Penicillic Acid in Fruit Juices and Flour. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 16 (3), 483-485.
- Taniwaki, M.H., Hoenderboom, C.J.M., Vitali, A.A. ve Eiroe, M.N.U. 1992. Migration of Patulin in Apples. *Journal of Food Protection* 55 (11), 902-904.
- Topal, Ş. 1996. Gıda Güvenliği ve Kalite Yönetim Sistemleri. TÜBİTAK-Marmara Araştırma Merkezi, Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü, Gebze-Kocaeli.
- Uygun, M. 1998. Elma Suyunda Sıvı Kromatografisi ile Patulin Analiz Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Van, J. A. R. 1989. Removal of Patulin From Apple Juice by Charcoal Treatment. *Dissertation-Abstracts-International,-B*; 49 (9) 3257: Order No. DA8824901.

Wheeler, J. L., Harrison, M.A. ve Koehler, P. E. 1987. Presence and Stability of Patulin in Pasteurized Apple Cider. *Journal of Food Science* 52 (2), 479-480.

Woller, R. ve Majerus, P. 1982. Patulin in Obsterzeugnissen-Eigenschaften, Bildung und Vorkommen. *Flüssiges Obst*. 49, 564-570.

Zegota, H., Zegota, A. ve Bachman, S. 1988a. Effect

of Irradiation on the Patulin Content and Chemical Composition of apple juice concentrate. *Zeitschrift für Lebensmittel -Untersuchung und Forschung* (187), 235-238.

Zegota, H., Zegota, A. ve Bachman, S. 1988b. Effect of Irradiation and Storage on Patulin Disappearance and Some Chemical Constituents of Apple Juice Concentrate. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* (187), 321-324.
