

میزان پاتولین در لواشک سیب و آب سیب عرضه شده در شهرستان شهرکرد در سال ۱۳۹۳

ابراهیم رحیمی^{۱*}، زینب ترکی باغبادرانی^۲، امیر شاکریان^۱

- ۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: ebrahimrahimi55@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۳/۳/۲۹ پذیرش نهایی: ۹۴/۹/۱۵)

چکیده

پاتولین مایکوتوکسینی است که بوسیله گونه‌های مختلف از کپک‌ها تولید می‌شود. در مطالعه حاضر ۷۰ نمونه شامل ۳۵ نمونه لواشک و ۳۵ نمونه آب سیب به‌طور تصادفی از فروشگاه‌های شهرستان شهرکرد جمع‌آوری و جهت بررسی حضور پاتولین به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC-DAD) مطابق روش استاندارد ملی ایران مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان داد که پاتولین در ۱۴ نمونه لواشک سیب (۴۰ درصد) و ۷ نمونه آب سیب (۲۰ درصد) وجود دارد. میانگین غلظت پاتولین در نمونه‌های لواشک و آب سیب به ترتیب $۳۴/۹ \pm ۲۶/۳$ و $۲۶ \pm ۱۹/۷$ میکروگرم در کیلوگرم بود. اگرچه غلظت میانگین پاتولین در نمونه‌های مورد مطالعه کمتر از حداکثر میزان مجاز ایران (۵۰ میکروگرم در کیلوگرم) می‌باشد ولی غلظت پاتولین در ۵/۷ درصد نمونه‌های لواشک سیب و ۲/۹ درصد نمونه‌های آب سیب بالاتر از حداکثر مجاز اتحادیه اروپا و ایران (۵۰ میکروگرم در کیلوگرم) بود.

واژه‌های کلیدی: لواشک، پاتولین، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، مایکوتوکسین، سیب

مقدمه

میوه‌ها و فرآورده‌های تبدیلی آن‌ها با همه تفاوت‌هایشان، جزو عمده‌ترین کالاهای تجاری در سطح جهان هستند و بخشی از حیات اقتصادی بسیاری از کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص می‌دهند. با توجه به بالا بودن میزان ضایعات تولید میوه در اکثر کشورها، لذا به‌منظور کاهش میزان ضایعات این محصول، توجه زیادی به فرآوری و تولید فرآورده‌های جدید مانند کمپوت، آب میوه و لواشک شده است. لواشک مخلوط عصاره و پالپ چند میوه یا سبزی است که پس از طی مراحل فرایند تا اندازه معینی خشک شده و عمدتاً به‌صورت ورقه و گاهی به اشکال دیگر بسته‌بندی و عرضه می‌شود (Spadaro et al., 2007). از ویژگی‌های این ماده می‌توان به سادگی نگهداری و مصرف و از طرف دیگر صرفه‌جویی در هزینه‌های حمل و نقل و انبارداری اشاره کرد. لواشک به‌عنوان یک فرآورده سنتی همواره مورد توجه عموم به‌ویژه کودکان بوده است. علاوه بر مصرف تغذنی، لواشک در پخت و پز غذاها نیز به‌عنوان چاشنی استفاده می‌شود. از آن‌جا که اغلب میوه‌ها نیازی به افزودن شیرین‌کننده ندارد، بیماران دیابتی می‌توانند از لواشک میوه به‌عنوان یک منبع غذایی دارای مقدار بسیار کم ساکارز استفاده کنند (Irwandi et al., 1998; Phimpharian et al., 2011). لواشک از نظر ارزش غذایی و نداشتن مواد نامطلوب از جمله مواد شیمیایی، جزو غذاهای ارزشمند محسوب می‌شود (Vatthanakul et al., 2010). با توجه به این‌که ماده اولیه هر نوع لواشک، گوشت میوه (ترکیبات عمده غذایی میوه‌ها) می‌باشد. لواشک به‌علت داشتن مواد

قندی بالا ماده غذایی فساد پذیر می‌باشد (Perera, 2005).

پاتولین در حالت خالص یک ماده کریستالی سفیدرنگ با نقطه ذوب ۱۱۱-۱۱۰ درجه سلسیوس و وزن مولکولی ۱۵۴ دالتون می‌باشد. این سم قارچی، مقاوم به حرارت می‌باشد که در محیط اسیدی پایدار ولی در محیط قلیایی ناپایدار است. پاتولین بوسیله ۶۰ گونه مختلف از کپک‌های متعلق به بیش از ۳۰ جنس تولید می‌شود (Acar and Gokmen 1998). اکثر این قارچ‌ها از جنس آسپرژیلوس مانند آسپرژیلوس کلاواتوس، آسپرژیلوس ریگانتنوس و آسپرژیلوس ترئوس، جنس پنی‌سیلیوم مانند پنی‌سیلیوم اورتیکا و پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم و جنس بایسوکلامیس مثل بایسوکلامیس نیوا می‌باشند که بر روی میوه‌ها به‌ویژه سیب، گلابی و هلو رشد می‌کنند (Artik et al., 1995). پاتولین ترکیبی موتاژنیک و در نتیجه مخدر اعصاب، سیستم ایمنی و اثرگذار بر دستگاه گوارش در جوانان است (Yuan et al., 2010). اگر چه اثرات سمی آن در دام و طیور گزارش شده است که منجر به جهش‌زایی، سرطان‌زایی ضعیف و تراژون می‌گردد اما این اثرات بر سلامت انسان به‌طور قطع ثابت نشده است (Artik et al., 1995; Linglai et al., 2000) با توجه به این‌که این مایکوتوکسین دارای خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی می‌باشد، لذا استاندارد جهانی، حضور این ماده را در کنسانتره‌ها و فرآورده‌های میوه محدود کرده و در بسیاری از کشورها مقدار مجاز پاتولین در مواد غذایی ۵۰ mg/L تعیین شده است (Couto do Amparo, 2000; Linglai et al., 2012). هدف تعیین حضور و میزان پاتولین در نمونه‌های

سرعت حرکت یک میلی‌لیتر در دقیقه و آشکار ساز UV در طول موج ۲۷۵ نانو متر استفاده شد. کلیه مواد مورد مصرف از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

به منظور سنجش میزان پاتولین در محلول حاصل از استخراج ابتدا استاندارد پاتولین و هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) که از نظر ساختار بسیار شبیه به پاتولین است و در زمان بازداری بسیار مشابه به پاتولین جدا می‌شود، به ستون تزریق شد. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد کاری با غلظت‌های ۱۰۰، ۱۲۵، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ng/ml در حلال با pH= ۴ به دستگاه تزریق شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول هیدروکسی متیل فورفورال در اتیل استات به ستون تزریق شد. منحنی کالیبراسیون (نمودار ۱) به طوری که روی محور عرض‌ها تغییرات مربوط به غلظت استاندارد پاتولین برحسب نانوگرم و بر روی محور طول‌ها تغییرات مربوط به سطح زیر منحنی یا ارتفاع پیک را نشان می‌دهد. پس از اجرای این روش زمان بازداری برای سم پاتولین ۵-۴ دقیقه و برای محلول هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) ۴-۳ دقیقه به دست آمد.

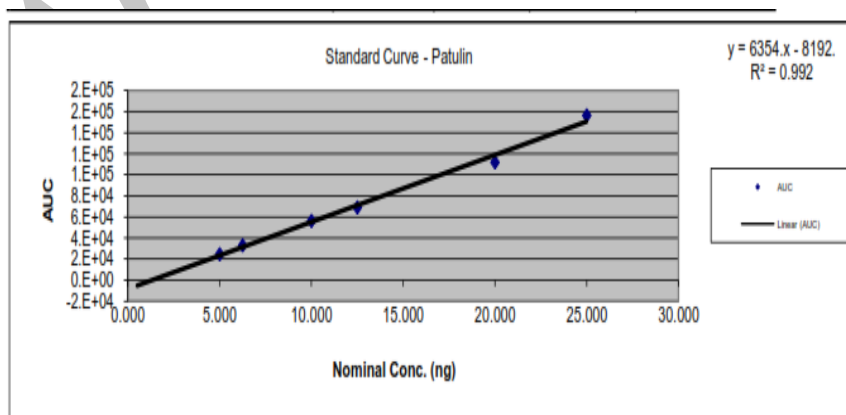
لواشک و آب سیب عرضه شده در شهرستان شهرکرد طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

مطالعه حاضر از نوع توصیفی و جامعه آماری آن لواشک و آب سیب‌های عرضه شده در فروشگاه‌های شهرستان شهرکرد بود. در این مطالعه در مجموع ۷۰ نمونه لواشک و آب سیب (جدول ۱) به طور تصادفی ساده از فروشگاه‌های شهرستان شهرکرد جمع‌آوری و در شرایط مناسب در دمای ۴ درجه سلسیوس به مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد منتقل و تا زمان انجام مطالعه در ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

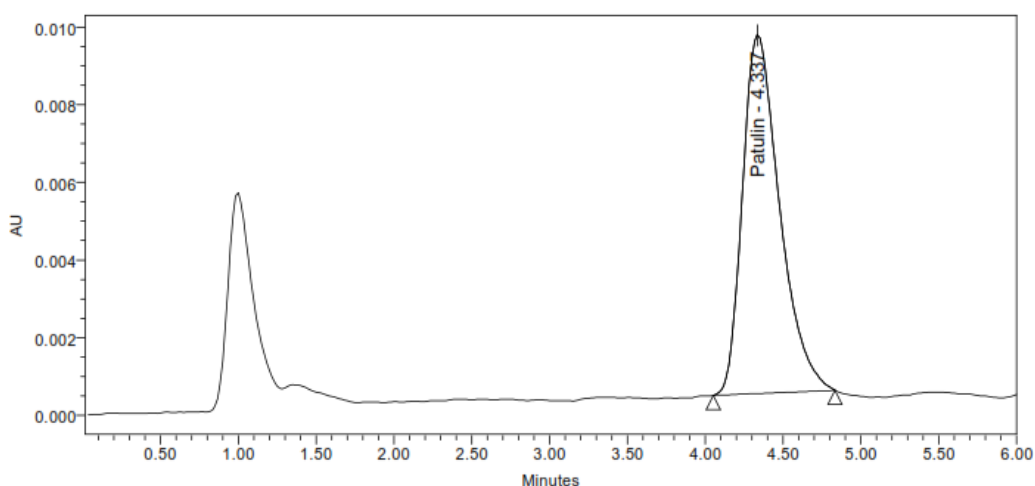
برای آنالیز پاتولین از روش HPLC استفاده شد. در این تحقیق از دستگاه HPLC-DAD مدل WATERS USA 2695 با ستون C18 به طول ۱۵ سانتی‌متر و قطر داخلی ۴/۱۶ میلی‌متر با اندازه قطر ذرات فاز ثابت ۵ میکرون استفاده شد. فاز متحرک استونیتریل - آب مقطر با



نمودار (۱) - منحنی کالیبراسیون پاتولین با استفاده از محلول‌های استاندارد

میزان آلودگی با استفاده از منحنی کالیبراسیون محاسبه گردید (شکل ۱).

در ادامه ۵۰ میکرولیتر از محلول حاصل از استخراج پاتولین به ستون تزریق شد سپس پیک‌های حاصله از نظر زمان بازداری با پیک‌های استاندارد مقایسه و نوع و



شکل (۱) - کروماتوگرام حاصل از اندازه‌گیری پاتولین به وسیله دستگاه HPLC-DAD

یافته‌ها

جهت ارزیابی دقت و صحت آزمون، درصد بازیافت پاتولین محاسبه شد، که این میزان در نمونه‌های لواشک ۸۴ درصد و در نمونه‌های آب سیب ۸۹ درصد به دست آمد. نتایج این آزمایش نشان داد که از ۳۵ نمونه لواشک سیب مورد آزمایش، ۱۴ نمونه (۴۰ درصد) حاوی پاتولین در غلظتی بین ۱۳ تا ۹۶ میکروگرم در کیلوگرم بود. همچنین از ۳۵ نمونه آب سیب مورد مطالعه، ۷ نمونه (۷ درصد) حاوی پاتولین در غلظتی بین ۹ تا ۶۵ میکروگرم در کیلوگرم بود.

پاتولین از آب سیب یا از لواشک، با مخلوطی از اتیل استات و هگزان در حضور سدیم سولفات و سدیم هیدروژن کربنات استخراج شد. بخشی از محصول استخراج، به وسیله استخراج فاز جامد، خالص‌سازی و سپس تبخیر شد. باقی‌مانده، دوباره در آب با pH برابر ۴ حل شد و پاتولین توسط HPLC با فاز معکوس (RP) شناسایی و به‌طور کمی با آشکارسازی فرابنفش (UV) تعیین مقدار شد.

جدول (۱) - فراوانی و میزان آلودگی لواشک سیب و آب عرضه شده در شهرستان شهرکرد به پاتولین بر حسب میکروگرم در کیلوگرم

نمونه	تعداد نمونه	نمونه‌های مثبت (درصد)	میانگین \pm انحراف معیار	میان	محدوده آلودگی
لواشک سیب	۳۵	۱۴	۳۴/۹ \pm ۲۶/۳	۲۲	۹۶-۱۳
آب سیب	۳۵	۷	۲۶ \pm ۱۹/۷	۱۹	۶۵-۹
مجموع	۷۰	۲۱	۳۱/۹ \pm ۲۴/۲	۲۲	۹۶-۹

بحث و نتیجه‌گیری

از لحاظ پاتولین مورد بررسی قرار گرفتند. تمام نمونه‌های آلوده شده با پاتولین در محدوده ۷ تا ۳۷۶ میکروگرم در لیتر بوده و ۹۸ نمونه از آن سطح پاتولین بیش از ۵۰ میکروگرم در لیتر داشته است (Gokmenand Acar, 1996). نتایج حاصل از بررسی ۶۰ محصول سیب تجاری در آفریقای جنوبی برای آلودگی پاتولین نشان داد که پاتولین در هیچ‌یک از نمونه‌ها بالاتر از ۵۰ میکروگرم در لیتر نبوده و حداکثر سطح آلودگی مشاهده شده برابر با ۴۵ میکروگرم در لیتر بوده است (Leggott and Shephard, 2001). طی مطالعه‌ای از سیلویا و همکاران (۲۰۱۰) ۳۷ نمونه آب سیب تجاری عرضه‌شده در بازار جنوب برزیل از نظر میزان پاتولین به روش HPLC مورد بررسی قرار گرفت که فقط در سه نمونه غلظت پاتولین بیشتر از سطح مجاز (۵۰ میکروگرم در لیتر) سازمان بهداشت جهانی بوده است (Silvia et al., 2010). جلالی و همکاران (۲۰۱۰) ۱۵۰ نمونه از آب سیب (محصول محلی) را از منطقه جنوب غربی ایران، از نظر حضور پاتولین به روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) با آشکارساز UV مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که میزان پاتولین در ۹۰ درصد از آب سیب‌ها بالاتر از ۱۰ میکروگرم بر لیتر بود. در مجموع ۳/۱۳ درصد از نمونه‌های آب سیب سطوح بالاتر از ۵۰ میکروگرم در

پاتولین به‌عنوان یک توکسین مهم فرآورده‌های سیب و فرآورده‌های آن، یکی از متابولیت‌های ثانویه قارچی است که به‌وسیله گونه‌های مختلفی از کپک‌ها تولید می‌شود و بر روی میوه‌های کاملاً رسیده و در حال فساد به‌ویژه سیب، گلابی و هلو رشد می‌کند. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) حداکثر مصرف روزانه قابل تحمل پاتولین (PMTDI Provisional Maximum Tolerable Daily Intake) را ۰/۴۳ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن/روز یا ۳/۰۱ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن/روز به‌عنوان سطح مطمئن و بی‌خطر تخمین زده است (Bonerba et al., 2010). بررسی‌های متعددی بر روی پاتولین در سیب و محصولات آن در سال‌های گذشته انجام شده است. این مطالعات نشان می‌دهد حدود ۵۰ درصد از نمونه‌های آب سیب آزمایش شده در سراسر جهان حاوی سطوح قابل تشخیص پاتولین بوده است (Piemontese et al., 2005; Sant et al., 2008; Yuan et al., 2010; Bonerba et al., 2010; Monica et al., 2011). که در مقایسه با مطالعه حاضر وضعیت نسبتاً مشابهی را نشان می‌دهد. با این وجود در برخی از مطالعات میزان و سطح آلودگی آب سیب به پاتولین بیشتر گزارش شده است (Gokmenand Acar, 1998). کنسانتره‌های آب سیب تولیدی در ترکیه در سال ۱۹۹۶

مطالعه از ۳۵ نمونه لواشک سیب مورد آزمایش، ۱۴ نمونه (۴۰ درصد) حاوی پاتولین در غلظتی بین ۱۳ تا ۹۶ میکروگرم در کیلوگرم بود که از این میان ۱ نمونه (۲/۸۶ درصد) دارای غلظت پاتولین بالای ۵۰ میکروگرم در کیلوگرم بود که بیش از حد مجاز استاندارد جهانی و ایران بود. نتایج بررسی حاضر با مطالعه اولیه از منتظری و همکاران (۲۰۱۳) وضعیت مناسب تری را نشان می‌دهد. در مطالعه منتظری و همکاران ۳۵ نمونه لواشک سیب طی سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۹۰ جمع‌آوری و از نظر حضور پاتولین به روش HPLC آزمایش شده است. در این مطالعه ۱۰۰ درصد نمونه‌های لواشک سیب حاوی پاتولین با غلظتی کمتر از ۱۰ تا ۲۵۵۹ میکروگرم در کیلوگرم بوده است (Montasari et al., 2010). میانگین غلظت پاتولین در نمونه‌های لواشک ۶۲۰ میکروگرم در کیلوگرم بود و غلظت پاتولین ۹۱/۴ درصد از نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز اتحادیه اروپا، WHO، FDA و ایران بوده است (۵۰ میکروگرم در کیلوگرم). درصد و غلظت آلودگی نمونه‌های لواشک سیب در مطالعه حاضر کمتر از گزارش ثبت شده از منتظری و همکاران (۲۰۱۳) می‌باشد و بیانگر آن است که در طی سال‌های اخیر وضعیت بهداشتی و کیفیت لواشک‌های عرضه شده در بازار مصرف ایران تا حدودی بهتر شده است با این وجود هم‌چنان کیفیت لواشک‌های عرضه شده در بازار مصرف ایران از نظر حضور پاتولین نامناسب است. علاوه بر آن برخی از عوامل هم‌چون افزودن درصد بالای اسید اسکوربیک (۷۰-۳ میکروگرم در ۱۰۰ گرم) می‌تواند در کاهش غلظت پاتولین در فرآورده میوه مؤثر باشد.

هر لیتر با حداکثر سطح ۱۰۶/۰۱ میکروگرم در هر لیتر داشتند. میانگین غلظت پاتولین در آب سیب ۲۶/۹۲ میکروگرم در هر لیتر بود (Jalali et al., 2010). در مطالعه‌ای از کریمی و همکاران (۲۰۰۸)، ۵۸ نمونه آب سیب جمع‌آوری شده از فروشگاه‌های مشهد از نظر حضور و میزان پاتولین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که ۴۴ نمونه از نمونه‌های آب سیب (۷۵/۹ درصد) حاوی سطح پاتولین بالاتر از ۱۰ میکروگرم در لیتر و سطح پاتولین در بیش از ۱۰ درصد از نمونه آب سیب بیشتر از ۵۰ میکروگرم در لیتر (حد مجاز استاندارد جهانی) گزارش شده است (Karimi et al., 2008). در مقابل مطالعه‌ای مشابه از فاطمی-آچاچلویی و همکاران (۲۰۰۷) ۱۴۴ نمونه آبمیوه مقدار پاتولین در آب انگور، هلو و سیب از مقدار مجاز آن پایین‌تر و در تعدادی از نمونه‌ها خیلی ناچیز بوده است. فقط در یک مورد مقدار پاتولین در آب انگور یکی از کارخانه‌ها حدود ۴۵۰/۳ میکروگرم در لیتر اندازه‌گیری شد که در بین تمام نمونه‌ها دارای بیشترین مقدار پاتولین بوده است (Fathi-Achachlouei et al., 2007).

موکاس و همکاران (۲۰۰۸) در یونان ۲۹ نمونه آب سیب را از نظر پاتولین مورد بررسی قرار داد که از این تعداد ۲۹ نمونه حاوی پاتولین بوده است. غلظت این توکسین در محدوده بین ۰/۹ تا ۱۱/۸ میکروگرم در لیتر گزارش شده است (Moukas et al., 2008).

بر پایه گزارشات موجود بیشتر مطالعات در خصوص ارزیابی آلودگی مواد غذایی به پاتولین بر روی آب سیب، پوره سیب و کنسانتره سیب و کمتر بر روی فرآورده‌های میوه از جمله لواشک بوده است. در این

منتظری و همکاران (۲۰۱۳) این مقدار در نمونه‌های لواشک سیب بسیار بالاتر بود (متوسط ۶۲۰ میکروگرم در کیلوگرم).

اگر چه فرآیندهای تجاری به کار گرفته شده در تولید لواشک سیب و آب سیب قادر به کاهش قابل توجه در غلظت پاتولین می‌باشند (Montaseri et al., 2013). بر این اساس، جهت کنترل پاتولین در محصولات سیب از جمله لواشک و آب سیب باید بر استفاده از سیب سالم، ذخیره‌سازی بهداشتی، جداسازی سیب‌های آسیب‌دیده و پوسیده و پیرایش بافت‌های فاسد دقت نمود.

لواشک سیب شامل گوشت میوه است و اگر بافت فاسد شده وارد محصول گردد، سطح پاتولین به‌طور چشم‌گیری در لواشک افزایش می‌یابد (Montaseri et al., 2013). برتا و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که در قسمت‌های فاسد سیب، غلظت پاتولین ممکن است به ۱۱۳ میلی‌گرم در کیلوگرم برسد، در حالی که در آب سیب غلظت پاتولین هنوز کمتر از ۵۰ میکروگرم در لیتر است (Beretta et al., 2000). به‌طور کلی متوسط غلظت پاتولین در آب سیب‌های شفاف عرضه شده در بازار ایران کمتر از ۵۰ میکروگرم در لیتر بود (Phimpharian et al., 2011)، در حالی که طبق مطالعه

منابع

- Artik, N., Cemeroglu, B., Aydar, G. and Saglam, N. (1995). Use of activated carbon for patulin control in apple juice concentrates. *Journal of Agriculture and Forestry*, 19(4): 259-265.
- Beretta, B., Gaiaschi, A., Galli, C.L. and Restani, P. (2000). Patulin evaluation in applebased food: Occurrence and safety evaluation. *Journal of Food Additives and Contaminants*, 17: 399-406.
- Bonerba, E., Ceci, E., Conte, R. and Tantillo, G. (2010). Survey of the presence of patulin in fruit juices. *Journal of Food Additives and Contaminants, Part B*, 3(2): 114-119.
- Couto do Amparo, H., Cavichon, E., Milton Baratto, C., César Tondo, E. and LafayetteNevesGelinski, J.M. (2012). Determination of Patulin in Apple Juice from Fuji Apples Stored in Different Conditions in Southern Brazil. *Journal of Food Research*, 1(3): 54-57.
- Fathi-Achachlouei, B., Ahmadi-Zenouz, A., Assadi, Y., Hesari, J. (2007). Reduction of patulin content in apple juice concentrate using activated carbon and its effects on several chemical constituents. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 5(1):84-88.
- Gokmen, V. and Acar, J. (1998). Incidence of patulin in apple juice concentrates produced in Turkey. *Journal of Chromatography, A*, 815: 99-102.
- Gokmen, V. and Acar, J. (1996). Rapid reversed-phase liquid chromatographic determination of patulin in apple juice. *Journal of Chromatography, A*, 730: 53-58.
- Irwandi, J., Man, Y.B.C., Yusof, S., Jinap, S. and Sugisawa, H. (1998). Effects of type of packaging materials on physicochemical, microbiological and sensory characteristics of durian fruit leather during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(3): 427-434.
- Jalali, A., Khorasgani, Z.N., Goudarzi, M. and Khoshlesan, N. (2010). HPLC Determination of Patulin in Apple Juice: A Single Center Study of Southwest Area of Iran. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 5: 208-214.
- Karimi, G., Hassanzadeh, M., Yazdanpanah, H., Nazari, F., Iianshahi, M. and Nili, M. (2008). Contamination of patulin in clear apple juice in Mashhad, Iran. *Journal of Food Safety*, 28: 413-421.
- Leggott, N.L. and Shephard, G.S. (2001). Patulin in south commercial apple products. *Food Control*, 12: 73-76.

- Linglai, C., You, M. and Yang, C.D. (2000). Detection of mycotoxin patulin in apple juice. *Journal of Food and Drug Analysis*, 8(2): 85-96.
- Monica, C., Luminița, C., Gabriela, L., Mioara, N., Enuța, I., Nastasia, B., *et al.* (2011). Determination of patulin in apple juice, *Journal of the Romanian Association of Food Professionals*, 1(1): 65 –69.
- Montaseri, H., Eskandari, M.H., Yeganeh, A.T., Karami, S., Javidnia, K., Dehghanzadeh, G.R., *et al.* (2013). Patulin in apple leather in Iran. *Food Additives and Contaminants, Part B*, 3: 1–4.
- Moukas, A., Panagiotopoulou, V. and Markaki, P. (2008). Determination of patulin fruit juices using HPLD–DAD and GS–MSD techniques. *Food Chemistry*, 109: 860–867.
- Perera, C.O. (2005). Selected quality attributes of dried foods. *Drying Technology*, 23(4): 717-730.
- Phimpharian, C., Jangchud, A., Jangchud, K., Therdthai, N. and Prinyawiwatkul, W. (2011). Physico-chemical characteristics and sensory optimisation of a pineapple leather snack as affected by glucose syrup and pectin concentrations. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(5): 972-981.
- Piemontese, L., Solfrizzo, M. and Visconti, A. (2005). Occurrence of patulin in conventional and organic fruit products in Italy and subsequent exposure assessment. *Food Additives and Contaminants*, 22: 437–442.
- Sant’ Ana, A.S., Rosenthal, A. and Massaguer, P.R. (2008). The fate of patulin in apple juice processing: A review. *Food Research International*, 41: 441-453.
- Sargenti, S.R. and Almeida, C.A.A. (2010). Determination of patulin in apple juice by HPLC using a simple and fast sample preparation method. *EleticaQuímica Sao Paulo*, 35(2): 14 – 21.
- Spadaro, D., Ciarovella, A., Frati, S., Garibaldi, A. and Gullino, M.L. (2007). Incidence and level of patulin in pure and mixed apple juices marketed in Italy. *Food Control*, 18: 1098–1102.
- Vatthanakul, S., Jangchud, A., Jangchud, K., Therdthai, N. and Wilkinson, B. (2010). Gold kiwifruit leather product development using a quality function deployment approach. *Food Quality and Preference*, 21(3): 339-345.
- Yuan, Y., Hong, Z. and Jingbo, L. (2010). Patulin content in apple products marketed in Northeast China. *Food Control*, 21(11): 1488-1491.