

(仮訳)

FAO/WHO合同食品規格計画  
食品添加物・汚染物質部会  
第31回会合  
ハーグ、オランダ、1999/3/22-29

パツリンに関するポジションペーパー  
(フランス作成)

序文

1. 第28回CCFACにおいて、フランスは、食品中の汚染物質の最大基準値を設定する観点からパツリンに関するポジションペーパーを準備することを依頼された。このポジションペーパーでは毒性学的データ、ドイツ、イギリス、アメリカ及びフランスから提供された分析結果並びに集団の曝露に関するデータを考慮した。第29回CCFACでは提出された意見を基に文書の改訂を行うことがフランスに求められた。第30回CCFACはりんごジュース及びりんごジュースを含む清涼飲料水におけるパツリンの最大基準値案の改正を条件に、フランスの文書をステップ3に進めることを支持した。

2. パツリンは*Aspergillus*属、*Penicillium*属、*Byssosclamyces*属の多くの異なるかびによって産生されるマイコトキシンである。パツリンは飼料ばかりでなく、かびた果実、野菜、穀物からも検出される。またチーズからも検出される。パツリンは*Penicillium*属によって自然汚染をうけた多くの種類の生鮮あるいは加工された果実及び野菜（ジュース、ソース、コンポート、ゼリー）で見られるが、最もよくある汚染は表面が損傷した果実における青かびのような腐敗したりんごの一部において見受けられる*Penicillium expansum*によるものである。しかしながら外観上は安全である果実におけるパツリンの存在を排除することは出来ない。汚染の程度は腐敗の程度と関連があり、パツリンは腐敗した組織からあまり広がらない。よって、人の汚染は加工果実からのみであると考えられる。1972～1979年に多くのパツリンの分析が行われ、汚染濃度は5～2500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ と多様であることが明らかとなった。

物理化学的特性

3. パツリンは分子量150.12のラクトン（4-hydroxy-4h-furo[3,2-c] pyran-2-(6h)-one）である。パツリンは無色の結晶を形成し、融点は111°Cである。また、水、エタノール、アセトン、酢酸エチル、エーテル及びクロロホルムに溶解するが、ベンゼンや石油エーテルには不溶である。パツリンは熱によって破壊されず、pHが酸性でも安定である。パツリン含量は長期の保存、亜硫酸塩の作用と高温、アスコルビン酸の添加、アルコール発酵及び活性炭素処理によって減少する。パツリンはアルカリ溶液中及びシステインやグルタチオンのようなメルカプト基を含む分子の存在下では

生物学的活性を失う。

## 分析方法

4. パツリンの検出方法は一般的には以下のような流れである。

- a) 抽出
- b) 精製あるいは不要成分の除去
- c) 濃縮
- d) クロマトグラフィー手法による定性的及び定量的な検出

5. りんごジュース中のパツリン濃度を検出する標準化された方法がある。ISOは2つの標準を公表している。ISO 8128-1:1993とISO 8128-2:1993で、1つは薄層クロマトグラフィー、もう1つは高速液体クロマトグラフィー(HPLC)である。これらの方法はAOAC International Handbook on official methods of analysisが発表しているAOAC 974-18及びAOAC995-10と非常に類似している。他の方法も用いられており、例えばAFNOR NF V76-116 method of November of 1985はフランスの公定法である。その適用範囲はりんごジュース、濃縮りんごジュース及びサイダーである。スイスにもMitt. Gebiete Lebensm, Hyg. 75, 506-513 (1984) で発表されている公定法がある。これらの方法は技術的な特徴及び併行精度、室間再現精度のレベルと共に添付の表1に掲げた。またEU諸国におけるマイコトキシン分析法の選択および標準化に向けて、イギリスによって調整されたEUの計画が1996年9月30日に開始され、それらがCEN標準として存在している。パツリンのために選ばれたマトリックスはりんごジュースとアップルコンポートである。

## 吸収、分布、排泄

6. C<sup>14</sup>で標識されたパツリンをSDラットに3mg/kgの用量で単回経口投与した結果、24時間以内に大部分が糞及び尿中に排泄された。しかしながら、7日後で2~3%が軟部組織(脾臓、腎臓、肺及び肝臓)や血中に残存した。

## 毒性学的問題の確認

### 急性毒性

7. マウスでは投与経路により、LD<sub>50</sub>は15~35mg/kgである。パツリンは細胞毒性効果を有し、抗生物質、抗真菌、抗原虫作用がある。この細胞毒性は膜透過性を介して起こる。パツリンは細胞質のマイクロフィラメントの秩序を乱す。パツリンは*in vitro*でRNAポリメラーゼやDNAポリメラーゼを含むいくつかの酵素を阻害する。またDNAに直接作用することによって転写や翻訳に影響を及ぼす。

### 遺伝毒性－発がん性

8. 発がん性試験はマウス及びラットで実施されている。しかしながら、3つの試験のうち2つは催奇形性試験で用いられた第一世代の動物に関するものである。遺伝毒性試験の結果は一定でなく、*Bacillus subtilis*の場合は陽性、*E. Coli*や*Salmonella Typhimurium*の場合は陰性である。パツリンはDNAの損傷を引き起こすが、不定期DNA合成は引き起こさない。また、染色体の異常を引き起こすが、姉妹染色分体の交換は引き起こさない。よって、毒性学者はラット以外の動物種による発がん性試験の必要性について広く合意しているが、パツリンに発がん性があるかどうかは明らかではない。最後に、パツリンは免疫毒性に対する影響があるが、これらは影響が認められない用量よりもはるかに高い用量で起こる。

### 最大耐容摂取量

9. 最初の毒性学的評価は1990年の第35回JECFAで行われ、暫定的な最大耐容週間摂取量 (PTWI) として7  $\mu$ g/kg体重を設定した。1995年の第44回JECFAにおける2回目の評価ではラットによって摂取されたパツリンの大部分が48時間以内に排泄され、7日後には98%が排泄されたことを考慮した。この蓄積性の欠如により、JECFAは暫定的な最大耐容一日摂取量 (PTDI) を設定した。パツリンの影響をみるための生殖、長期毒性及び発がん性併合試験により43  $\mu$ g/kg体重/日は有害でない摂取量であることが示された。この結果及び一般的な安全係数100を用いてJECFAはPTDIを0.4  $\mu$ g/kgに設定した。

### 曝露評価

10. 曝露評価にあたっては、利用可能な分析結果 (添付の表2、3) と汚染される可能性がある製品の消費量に関するデータ (添付の表4) を考慮した。これらのデータはパラグラフ1に掲げられた国から提供された。部会の目的は消費者の安全に影響を及ぼさない手法を決定することであり、そのためには、JECFAで設定された最大耐容摂取量 (0.4  $\mu$ g/kg体重/日) が基になる。

11. これに対応する1日最大量は体重60kgの大人では24  $\mu$ g、体重20kgの子供では8  $\mu$ g、体重10kgの子供では4  $\mu$ gである。

12. 個別包装の果実ジュース (幼児用であるかどうかに関係なく) は125~200ml入りである。部会はCX/FAC 98/17を再検討し、標準的に供される一般的な消費量あるいは包装単位では消費者に対していかなるリスクもないようにすべきとの決定をした。従って、もし体重10kgの子供が1日に小売り単位125mlのりんごジュースを消費した場合、PTDIを超えないためには、このりんごジュース中のパツリン含量は32  $\mu$ g/lを上回ってはならないことになる。体重20kgの子供が1日当たり小売り単位200mlのりんごジュースを消費した場合では、パツリン含量は40  $\mu$ g/lを超えてはならないことになる。

13. しかしながら、精密な消費データ (表4) は、200mlのりんごジュース (フランスの2~65歳の国

民1500人においては223ml、イギリスでは大人290ml、子供150ml) が一定の消費者においては1日で標準的に消費されることを示している(フランスではりんごジュースの消費者の5%)。最後にフランスでは幼児用に特別に準備されていないジュースの消費割合3%を含めて、30ヶ月以下の子供の20%以上が果実ジュースを消費している(Study SOFRES/Alliance 7,1997)。

14. 食品の原料となる固形のりんご(表3)は常に $50\mu\text{g}/\text{kg}$ を下回る汚染濃度である一方、利用可能なデータはりんごジュースの10~30%が $50\mu\text{g}/\text{kg}$ を超える汚染濃度であり(表2)、果実ジュースの55%が $25\mu\text{g}/\text{kg}$ を超える汚染濃度であることを示している(出典: Union Nationale des producteurs et distributeurs de jus de fruits - France)。これらのデータからPTDIを超えるリスクが確認された。

## 議論

15. パツリンは発がん性が疑われる毒性物質である。このリスクの正式な証拠はないが、JECFAは1995年に暫定的な耐容一日摂取量(PTDI)を $0.4\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重と設定した。

16. かびた果実や野菜のうち、非常に高濃度のパツリンが含まれるのはりんごのみである。このようなりんごはそのままの状態では明らかに消費されないため、パツリンのリスクは加工された製品に起因する。ジュース以外の製品(固形食品、コンポートなど)は技術的な加工により破壊されたり、高濃度に汚染された果実は感覚的な理由で製品から排除されることから、通常、汚染濃度は $50\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下である。よって、これらの食品で耐容摂取量を超えるリスクはほとんどありそうもない。サイダーは子供向けでない他に、発酵で大部分のパツリンが破壊されるので暫定的な最大耐容一日摂取量を超える可能性はほとんどありそうもない。

17. りんごジュースは高濃度に汚染されているが、かびた果実を加工工程から排除することは技術的に可能かつ良い結果が得られ、これはgood agricultural/manufacturing practiceの全く典型的な部分である。これは自動(果実の浮遊)あるいは手動により行われる。後者はより良い結果を導くがより時間が掛かる。

18. パツリンの一日摂取量が固形食品よりも多いことが予想されることから、パツリンの汚染を清涼飲料水に適用することは重要である。これは子供の保護の観点から特に重要である。

19. 包装単位である200ml、主な国々によって報告された標準的に供されている量237mlあるいは1日摂取量200mlのうち、いずれの消費量を用いて計算した場合でも、全てにおいてこれらの製品の若年消費者を保護することが必要である。

## 推奨

## 20. 既定事実

- ・ 果実（主にりんご）から得られた製品のパツリン汚染が一般的に起こる
- ・ 特定の人口集団、特に子供では体重と比較してりんごジュースの摂取量が非常に多いことが時々ある
- ・ 特定の地理的地域でこれらの製品の取引が重要でないということはない
- ・ りんごジュースや時々その他の製品中のパツリンの最大値に関するガイドラインがオーストラリア、フィンランド、フランス、ギリシャ、アイスランド、スウェーデン、イギリスのような国々で既に存在する

食品中の汚染物質や毒素に関するコーデックス一般基準で述べられている手続きを用いてパツリンの最大基準値を設定するために試験が推奨される。

21. 一定のりんごジュースの大量消費者を含めた、大部分の子供を確実に保護するためにはりんごジュースにおけるパツリンの最大値 $25 \mu\text{g/kg}$ が設定されるべきである。

22. しかしながら、りんごジュース製造者は常に $25 \mu\text{g/kg}$ の基準値に従うことは出来ない可能性があり、国際流通に支障を来す恐れもある。りんごジュース及びりんごジュースを含む清涼飲料水におけるパツリンの最大基準値 $50 \mu\text{g/kg}$ は飲料の消費量にばらつきがある中で大部分の消費者の保護に十分であると思われる。その結果、第30回CCFACで示された要請に従って基準値 $50 \mu\text{g/kg}$ がコーデックスの手続き上ステップ3として提案された。この基準値はパツリンの毒性に関する新たな知見に鑑みて、必要があれば後に改正される。

23. いかなる場合でも、りんご加工場はgood manufacturing practiceの適用が奨励されるべきである。特に加工工程からかびた果実が排除されるべきであり、これらの存在が汚染量の良い指標となる。

24. 加工場は収穫や保存状態が好ましくないときは予備的な分別の他にジュースの汚染を除去する手法の導入が奨励されるべきである。このような処置としては長期の保存、亜硫酸塩の添加と高温、アスコルビン酸の添加あるいはポリフェノールの吸収に伴うジュースの退色があるが活性炭素処理がある。

25. パツリンについての毒性学的な研究が推奨される（特に発がん作用について）。

26. パツリン含量の検出法を決定するため分析方法・サンプリング部会に依頼する必要があるかも知れない。

# codex alimentarius commission

FOOD AND AGRICULTURE  
ORGANIZATION  
OF THE UNITED NATIONS

WORLD HEALTH  
ORGANIZATION

JOINT OFFICE: Via delle Terme di Caracalla 00100 ROME Tel.: 39 6 57051 Telex: 625825-625853 FAO I Email: codex@fao.org Facsimile: 39 6 5705.4593

Agenda Item 14(c)

CX/FAC 99/16  
January 1998

## JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME

### CODEX COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS

Thirty-first Session

The Hague, The Netherlands, 22-29 March 1999

#### POSITION PAPER ON PATULIN

(Prepared by France)

#### INTRODUCTION

1. At the 28th session of the CCFAC, France was asked to prepare a position paper on patulin with a view to setting maximum limits of contamination in food. This position paper takes into account existing toxicological data, analytical results supplied Germany, the United Kingdom, the United States and France, and data on exposure of the population. At the 29th session of the CCFAC, France was invited to revise the document in the light of comments submitted. The 30th session of the CCFAC endorsed the advance of the document of France to Step 3, subject to amendment of the proposed maximum patulin limit in apple juice and ready made soft drinks containing apple juice.

2. Patulin is a mycotoxin produced by a large number of different moulds of the genera *Aspergillus*, *Penicillium* and *Byssoschlamys*. It can be detected in mouldy fruit, vegetables and cereals as well as in fodder; it can also be detected in cheeses. Patulin is found in many types of fresh or processed fruit and vegetables (juices, sauces, compotes, jellies), after natural infection by *Penicillium*, but the most frequent contamination is that by *Penicillium expansum* which is encountered under certain types of apple spoilage such as "blue mould" on fruit with surface damage. However the presence of patulin in seemingly wholesome fruit cannot be excluded. The degree of contamination correlates with the degree of spoilage and patulin does not spread much from the spoilt tissues; human contamination can therefore only be envisaged from processed fruit. Many patulin analyses were conducted from 1972 to 1979 on apple juices, revealing widely varying contamination levels of between 5 and 2 500 Tg/kg.

#### PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES

3. Patulin is a lactone (4-hydroxy-4h-furo[3,2-c] pyran-2-(6h)-one) with a molecular weight of 150.12. It forms colourless crystals, has a melting point of 111°C, is soluble in water, ethanol, acetone, ethyl acetate, ether and chloroform, but insoluble in benzene and petroleum ether. Patulin is not destroyed by heat and is stable at an acid pH. Its content is reduced by prolonged storage, the action of sulphites and high temperature, the addition of ascorbic acid, alcoholic fermentation and activated carbon treatment. Patulin loses its biological activity in an alkaline medium and in the presence of molecules comprising sulfhydryl groups such as cysteine and glutathion.

#### METHODS OF ANALYSIS

4. The patulin determination methods generally follow the sequence of:
- Extraction
  - Purification or elimination of unwanted compounds

c) Concentration

d) Qualitative and quantitative determination by chromatographic techniques

5. There are standardized methods to determine patulin levels in apple juices. The ISO has published two standards: ISO 8128-1:1993 and ISO 8128-2:1993, one involving thin-layer chromatography and the other High Performance Liquid Chromatography (HPLC). These methods are very similar to those published in the AOAC International Handbook on official methods of analysis: AOAC 974-18 and AOAC 995-10. Other methods are also used, for example the AFNOR NF V76-116 method of November of 1985, which is the official method in France. Its field of application includes apple juices, apple juice concentrates and ciders. Switzerland also has its official methods which were published in Mitt. Gebiete Lebensm, Hyg. 75, 506-513 (1984). These methods are presented in appended Table 1 together with their technical characteristics and levels of repeatability and reproducibility. Also of note is a European Union project coordinated by the United Kingdom, launched on 30 September 1996 and directed towards selecting and standardizing mycotoxin analysis methods for the EU countries and presenting them as CEN standards. For patulin, the chosen matrixes are apple juice and apple compote.

## ABSORPTION, DISTRIBUTION AND EXCRETION

6. Patulin labelled with carbon 14 and administered orally in a single dose of 3mg/kg body weight to Sprague-Dawley rats is largely eliminated in the faeces and urine within 24 hours. After seven days, however, 2 to 3 percent remains in the soft tissues (spleen, kidneys, lung, and liver) and blood.

## IDENTIFICATION OF TOXICOLOGICAL PROBLEMS

### Acute toxicity

7. For mice, LD 50 is 15 to 35 mg/kg, depending on the mode of administration. Patulin has a cytotoxic effect giving it antibiotic, antifungal and antiprotozoal properties. This cytotoxicity is mediated by a rise in membranous permeability. Patulin disorganizes the cytoplasmic microfilaments. It inhibits *in vitro* several enzymes including RNA polymerase and DNA polymerase. It also affects transcription and translation by a direct effect on DNA.

### Mutagenicity - carcinogenicity

8. Carcinogenicity studies have been conducted on mice and rats. However, two of the three studies concerned first generation offspring of animals used for teratogenesis studies. The results of the mutagenicity tests are variable: positive for *Bacillus subtilis* and negative for *E. Coli* and *Salmonella Typhimurium*. Patulin causes breaks in DNA but no non-programmed synthesis of DNA. It causes chromosome aberrations but without an exchange of sister chromatids. There is therefore no clear evidence that patulin is carcinogenic even if toxicologists widely agree on the need for a carcinogenesis study on species other than rats. Finally, patulin has immunotoxic effects but these intervene at intakes far higher than that without effect.

### Maximum tolerable intake

9. A first toxicological evaluation made at the 35th JECFA meeting in 1990 set a maximum provisional tolerable weekly intake (PTWI) of 7 Tg/kg body weight. A second evaluation at the 44th JECFA meeting in 1995 took into account the fact that most of the patulin ingested by rats is eliminated within 48 hours and 98% in seven days. This absence of accumulation led the JECFA to establish a maximum provisional tolerable daily intake (PTDI). A study on the combined effects of patulin on reproduction, long-term toxicity and carcinogenicity pointed to a harmless intake of 43 Tg/kg body weight per day. On the basis of this work and using the customary security factor of 100, the JECFA therefore set the PTDI 0.4 Tg/kg.

## EVALUATION OF EXPOSURE

10. The evaluation of exposure takes into account available analytical results (appended in Tables 2 and 3) and data on consumption of products that may be contaminated (appended in Table 4). These data have been supplied by the countries listed in Paragraph 1. The aim of the Committee is to determine measures that are compatible with consumer safety and that are therefore based on the maximum tolerable intake set by the JECFA, at 0.4 Tg/kg body weight per day.

11. This corresponds to a daily maximum of 24 Tg of patulin for an adult weighing 60 kg, of 8 Tg for a child weighing 20 kg and 4 Tg for a child of 10 kg.

12. Individual fruit juice packages (whether or not for young children) contain between 125 and 200 ml. The Committee decided when reviewing document CX/FAC 98/17 that the regular consumption of a standard serving or unit of packaging should not pose any risk to the consumer. Thus, if a child weighing 10kg consumes in a day the quantity of apple juice in a 125 ml retail unit, the patulin content of this apple juice must not be more than 32 g/l if the PTDI is not to be exceeded. The patulin content must not exceed 40 g/l in the case of a 20 kg child consuming a retail unit of 200 ml per day.

13. Yet, the precise consumption data (Table 4) indicate that some 200 ml of apple juice (223 ml in France for 1500 individuals of between 2 and 65 years of age, 290 and 150 ml for adults and children respectively in the United Kingdom) are consumed regularly per day by certain consumers (in France 5% of apple juice consumers). Finally, in France over 20% of children below the age of 30 months consume fruit juices including 3% consuming juices not specifically prepared for infants (Study SOFRES/Alliance 7, 1997).

14. While solid apple based foods (Table 3) always show a level of contamination of under 50 g/kg, available data indicate that 10 to 30% of apple juices can have a level of contamination above 50 g/kg (Table 2) and that 55% of fruit juices can have a level of contamination above 25 g/kg (Source: Union Nationale des producteurs et distributeurs de jus de fruits - France). All these data therefore confirm the risk of exceeding the PTDI.

## DISCUSSION

15. Patulin is a toxic substance with suspected carcinogenic properties. Even though there is no formal evidence of this risk, the JECFA set a provisional tolerable daily intake (PTDI) of 0.4 Tg/kg body weight in 1995.

16. Only apples present very high patulin contents among spoilt fruit and vegetables. As such apples are obviously never consumed in their existing state, the patulin risk must derive from the processed products. Other than juices, such products (solid foods, compotes, etc.) generally present contamination levels below 50Tg/kg, either because the technological process destroys the patulin or because highly contaminated fruit are discarded from production for organoleptic reasons. The risk of exceeding the tolerable intake is therefore highly improbable for these foods. Fermentation largely destroys patulin in ciders, which besides are not intended for children, making it highly improbable that the maximum provisional tolerable daily intake will be exceeded.

17. Apple juices can be highly contaminated, although the elimination of spoilt fruit from processing is technically possible, gives good results and is a perfectly normal part of good agricultural and manufacturing practices. This can be done by automation (floating the fruit) or manually, the latter producing better results but more time-consuming.

18. It is important to note that the contamination applies to a soft drink, so daily intake may be much higher than for solid foods. This is particularly important as regards the protection of children.



19. Whether consumption is measured in packaging unit of 200 ml, standard serving of 237 ml or daily intake of 200 ml as reported by main countries, these all point to the need to protect young consumers of these products.

## RECOMMENDATIONS

20. Given:

- the common occurrence of patulin contamination of products obtained from fruit, mainly apples;
- the sometimes very high levels of apple juice intake relative to body weight by certain population groups, notably children;
- the not insignificant trade of these products in certain geographical regions;
- the guidelines on maximum patulin limits in apple juice and sometimes other products that already exist in certain countries, like Austria, Finland, France, Greece, Iceland, Sweden and the United Kingdom;

a study is recommended to set a maximum limit for patulin using the procedure described in the Codex General Standard on Contaminants and Toxins in Foods.

21. A maximum patulin limit of 25 g/kg in apple juice could be set to ensure the protection of most children, including those who are regular consumers of large quantities of apple juice.

22. However, apple juice manufacturers may not always be able to comply with a limit of 25 µg/kg which may also cause problems of international trade. A maximum limit of 50 µg/kg of patulin in apple juice and ready-made soft drinks containing apple juice may provide sufficient protection for a large majority of consumers, whose consumption of drinks is sufficiently varied. The 50 µg/kg limit is therefore proposed for Step 3 of the Codex procedure, in accordance with the wishes expressed by the CCFAC at its 30<sup>th</sup> session. This limit could subsequently be revised, if necessary, in the light of new findings on patulin toxicity.

23. In any case, it is of paramount importance that the apple processing industry should be encouraged to adopt the good manufacturing practices. In particular, they should discard spoilt fruit from their production process, their appearance being a good indicator of level of contamination.

24. The processing industry should also be encouraged to introduce measures to decontaminate the juices when harvesting and storage conditions are unfavourable, besides the preliminary sorting. Such treatment could be prolonged storage, the addition of sulphites and higher temperature, the addition of ascorbic acid or activated carbon treatment, although this also discolours the juices with the concurrent absorption of the polyphenols.

25. Toxicological studies should be encouraged on patulin and particularly its carcinogenic action.

26. It may be necessary to ask the Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling to decide on methods of determination of patulin contents.

## REFERENCES

Harrison M.A., 1989, Presence and stability of patulin in apple products: a review. J. Food Safety, 9:147-153.

Lindroth S, 1980, Occurrence, formation and detoxification of patulin mycotoxin. Technical Research Centre of Finland, Publication 24, UDC 615-9:582.24.

Mortimer D.N., Parker I., Shepherd M.J., Gilbert J., 1985, A limited survey of retail apple and grape juices for the mycotoxin patulin. Food Additives and Contaminants, 2 (3): 165-170.

Sydenham E.W., Vismer H.F., Marasas W.F.O., Brown N.L., Schlechter M., Rheeder J.P., 1997, The influence of deck storage and initial processing on patulin levels in apple juice. Food Additives and Contaminants, 14 (5): 429-434.

Table 1 - Methods

Methods	Patulin (µg/l)	Repeatability (µg/l)	Reproducibility (µg/l)	Extraction	Purification	Detection	Quantity limit (Tg/l)
Official French Method NF V 76- 116 Nov. 1985		not stated	not stated	Ethyl acetate	Silica gel column	HPLC confirmation by TCL	20
AOAC Official Method 974.18		not stated	not stated	Ethyl acetate	Silica gel column	TCL	20
AOAC Official Method 995.10	20 Tg/l 50 Tg/l 100 Tg/l 200 Tg/l	12.9 18.5 29.4 66.4	16.5 32.2 56.6 78.4	Ethyl acetate	Washing with sodium carbonate	HPLC UV detection	10
ISO 8128-2 : 1993		33.4	41	Ethyl acetate + chloroform	Silica gel column	TLC	25
ISO 8128-1 : 1993	40 Tg/l 207 Tg/l	8.9 41.9	10.5 47.5	Ethyl acetate	Washing with sodium carbonate	HPLC UV detection	10
Official Swiss method Mitt. Gebiete Lebensm Hyg. 75,506 (1984)		not stated	not stated	Ethyl acetate	Washing with sodium carbonate	HPLC UV detection	5-10
Official Swiss Method Mitt. Gebiete Lebensm Hyg. 75,506 (1984)		not stated	not stated	Extrelut	Silica gel column	HPLC UV detection	5-10

Table 2 - Analyses of Apple Juice

Year	Country	Number	% positives	% > 50µg/kg	min-max
1980	F	27	100	---	10-106
1980	UK	136	16	0	1-38
1980	Pol	46	0	0	---
1981	NZ	20	3	---	106-216
1982	I	58	21	0	5-15
1982	Aust	222	57.5	32	5-1130
1983	F	137	---	17	---
1984	F	112	---	19.6	---
1985	UK	38	26	2.6	5-56
1991	F	7	42	---	---
1992	UK	32	57	16	59-434
1992	F	31	3.2	---	---
1993	UK	62	28	4.8	61-118
1993	F	99	10	---	---
1994	UK	191	57	2	54-497
1994	F	50	8.5	---	---
1995	UK	185	35	6	73-490
1996	UK	174	---	0.5	184
1996	F	66	50	11	10-400
1994/96	GER	---	72	6	---
	USA	102	74	26	>500

**Table 3 - Analyses of Solid Apple Based Foods**

Year	Country	Number	% positives	% >50µg/kg	min-max
1980	UK	113	0	0	---
1981	GER	105	7	0	11-50
1982	AUST	70	25	0	5-32
1983	I	20	50	0	5-50
1993	UK	85	0	0	<25
1991	F	3	0	0	<30
1992	F	1	0	0	<30
1993	F	15	0	0	<30
1993	F	25	0	0	<25
1994	F	21	1	1	---
1996	F	32	9	0	<10
1996 (baby)	F	41	9.7	0	<10

**Table 4 - Consumption of Apple Juices**

The use of a standard serving (method developed by the United Kingdom and described in document CCFAC 96/15) gives a maximum consumption of 237 ml of fruit juice per day (97.5th percentile of consumption).

Surveys in France and the United Kingdom indicate the following consumption levels:

Country	Age	Average (ml/day)	97.5th percentile (ml/day)
UK*	2-5	50	150
UK*	Adults	61.5	290
F**	Adults/Children	---	223
G***	4-6	158	---
G***	7-9	160	---
G***	25-50	61	---

\* Data to the 97.5th percentile of only consumers among the whole population.

\*\* Data to the 97.5th percentile of only consumers among the whole population; maximum regular consumption over seven days through individual consumption surveys corrected for seasonal variation.

\*\*\* Data for average daily consumption of fruit juices.