

Mögel och mykotoxiner i ris – fokus på basmati och rårís

av Elisabeth Fredlund och Anna Maria Thim



**LIVSMEDELS
VERKET**

NATIONAL FOOD
ADMINISTRATION, Sweden

Produktion:

Livsmedelsverket, Box 622
SE-751 26 Uppsala, Sweden

Teknisk redaktör:

Merethe Andersen

Tryck: Kopieringshuset, Uppsala
Uppsala 2008-02-08

Livsmedelsverkets rapportserie är avsedd för publicering av projektrapporter, metodprövningar, utredningar m m. I serien ingår även reserapporter och konferensmaterial. För innehållet svarar författarna själva.

Rapporterna utges i varierande upplagor och tilltrycks i mån av efterfrågan. De kan rekvireras från Livsmedelsverkets kundtjänst (tel 018-17 55 06) till självkostnadspris (kopieringskostnad + expeditonsavgift).

Projektgrupp

Mikrobiologiska enheten

Elisabeth Fredlund, mikrobiolog, projektledare

Ann Gidlund, laboratorieingenjör

Monica Olsen, biolog

Pernilla Johnsson, mikrobiolog

Kemiska enheten 2

Anna Maria Thim, kemist

Tord Möller, kemist

Siv Brostedt, laboratorieassistent

Marianne Nyberg, laboratorieingenjör

Tillsynsavdelningen

Anders Jansson, statsinspektör

Toxikologiska enheten

Lilianne Abramsson Zetterberg, toxikolog

Utarbetande av projektplan

Elisabeth Fredlund, projektledare, i samråd med projektgrupp. Projektplanen togs fram med LOTS® med stöd av Monica Olsen.

Sammanställning av slutrapport

Elisabeth Fredlund och Anna Maria Thim.

Innehåll

INNEHÅLL	2
SAMMANFATTNING	3
SUMMARY IN ENGLISH	4
SLUTSATSER UR ETT RISKHANTERINGSPERSPEKTIV	5
INLEDNING	6
RIS SOM LIVSMEDEL.....	6
MÖGEL OCH MYKOTOXINER I RIS	7
LAGSTIFTNING OCH KONTROLL AV MÖGEL OCH MYKOTOXINER I RIS	10
DEN SVENSKA RISMARKNADEN.....	10
KONSUMTION AV RIS I SVERIGE	11
KARTLÄGGNINGSTUDIEN – MÖGEL OCH MYKOTOXINER I RIS	12
BAKGRUND	12
MÅL MED STUDIEN.....	13
AVGRÄNSNINGAR	13
MATERIAL OCH METODER	14
PROVTAGNING	14
PROVHANTERING	14
ANALYS AV MÖGELSVAMPAR	14
<i>Kvantifiering av mögel</i>	14
<i>Identifiering av mögel</i>	15
ANALYS AV MYKOTOXINER	15
<i>Analys av aflatoxin B₁, B₂, G₁ och G₂</i>	15
<i>Analys av ochratoxin A</i>	15
<i>RIDA®QUICK Aflatoxin</i>	15
RESULTAT OCH DISKUSSION	17
RISPROVERNA	17
FÖREKOMST AV MÖGELSVAMPAR I RISPROVERNA	18
<i>Aspergillus</i>	18
<i>Penicillium</i>	19
OCHRATOXIN A I RISPROVERNA.....	19
AFLATOXIN I RISPROVERNA	19
<i>Kemisk analysmetod (HPLC)</i>	19
<i>RIDA®QUICK Aflatoxin</i>	20
HANTERING AV ÖVERSKRIDANDE AV GRÄNSVÄRDEN	21
INTAGSBERÄKNING AV AFLATOXIN FRÅN RIS.....	21
SAMMANFATTANDE SLUTSATSER	23
TACK!	24
REFERENSER	24
BILAGA 1: FÖLJESEDEL PROVTAGNING	26

Sammanfattning

Studien ”Mögel och mykotoxiner i ris” omfattar mykologisk och kemisk analys av aflatoxin och ochratoxin A i cirka 100 risprover tagna i svenska livsmedelsbutiker. Projektets fokus var framför allt analys av basmatiris, men även ris med högre andel fibrer, det vill säga råris och fullkornsrís. Basmatiris utgjorde 72 procent av det totala antalet prover och fiberrika rís sorter 15 procent.

Mögelgiftet aflatoxin påvisades i 47 procent av det totala antalet risprover och i 63 procent av basmatiriset. Tolv av risproverna hade halter av aflatoxin som låg nära eller över det europeiska gränsvärdet på två mikrogram per kilo för aflatoxin B₁ eller fyra mikrogram per kilo för summan av aflatoxin B₁, B₂, G₁ och G₂. Två av de prover som överskred gränsvärdet var av typen jasminris (varav ett råris), men övriga var av typen basmati (varav ett råris). Ochratoxin A påvisades inte i något av proverna. Endast i enstaka fall rådde överensstämmelse mellan halten mögelgift och halten mögelsvamp, vilket visar att mykologisk analys inte är något bra mått på halten mögelgift i torkat ris. Det beror bland annat på att mögelsvamparna dör under den långa lagringstiden, men också på att mögelsvamparna under processen kan ha avlägsnats med skaldelarna, medan mögelgiftet kan ha trängt in i själva riskornet. Däremot visade de mykologiska studierna att den aflatoxinbildande arten *Aspergillus flavus* är vanligt förekommande i ris och att felhantering av riset i produktionsledet innebär risk för tillväxt och bildning av aflatoxin.

Endast åtta jasminris analyserades totalt, varav två (25 procent) hade en påvisbar halt av aflatoxin som överskred gränsvärdet för den totala halten aflatoxin. Det kan innebära att aflatoxin är vanligt även i jasminris och detta bör studeras närmare.

Baserat på resultaten från denna studie och en uppskattning av hur mycket ris som konsumeras i Sverige gjordes en uppskattning för intaget av aflatoxin från ris. Den visade att konsumenter som äter ris två gånger per dag sju dagar i veckan och som framför allt äter basmatiris kan ha ett intag av aflatoxin på cirka fyra nanogram per kilo kroppsvikt och dag. Ett nanogram per kilo kroppsvikt och dag, vilket motsvarar en livstidsrisk på ett extra cancerfall per 100 000 till 1 000 000 individer (enligt JECFAs riskvärdering), anses vara en tolerabel nivå för naturligt förekommande toxiner.

Två slutsatser kan dras från denna studie, dels att det finns ris i svenska livsmedelsbutiker som överskrider lagstadgade gränsvärden för aflatoxin, dels att påvisbara halter av aflatoxin är vanligt förekommande i framför allt basmatiris och kanske även i jasminris. Studien visar att det är befogat med utökade kontrollåtgärder som kompletterar livsmedelsföretagens egenkontroll, som införande av importkontroll på framför allt basmatiris samt att Livsmedelsverket inkluderar ris i sitt kontrollprogram för aflatoxin i spannmål. Kommunerna bör även ta större ansvar för kommunikation till och tillsyn av de enskilda livsmedelsföretagen som importerar och säljer ris till de svenska livsmedelsbutikerna.

Summary in English

The survey "Moulds and mycotoxins in rice" includes mycological and chemical analysis of ochratoxin A and aflatoxins in approximately 100 rice samples taken from the Swedish retail. The project focused on basmati rice and rice with increased fibre content, i.e brown rice and whole meal rice and these types represented 72 % and 15 %, respectively, of the total number of samples.

The toxic substance aflatoxin, produced by the mould species *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*, was detected in 47 % of the rice samples and 63 % of the basmati rice. Twelve samples contained aflatoxin levels over the regulated European maximum levels (MLs) of 2 µg/kg (ppb) for aflatoxin B₁ and 4 ppb for the sum of aflatoxin B₁, B₂, G₁, and G₂. Two of these samples were jasmine rice from Thailand (including one brown rice) and 10 were basmati rice (including one brown rice) from India or Pakistan. Ochratoxin A was not detected in any of the samples. Except in a few samples, no correlation could be found between the levels of aflatoxin producing fungi and the level of aflatoxin. On the other hand, the mycological analysis showed that low levels of the aflatoxin producing mould species *A. flavus* are common in rice, which means that incorrect management of rice during production and storage implies a risk for mould growth and subsequent production of aflatoxin.

Only eight samples of jasmine rice were analysed of which two (25 %) contained aflatoxin B₁ over the ML. This implies that aflatoxins may be common also in jasmine rice but this should be further investigated.

Based on results from this study and an estimation of the consumption of rice in Sweden the intake of aflatoxin from rice was calculated. This showed that consumers that eat rice two times a day, every day of the week, especially basmati rice bought in their local food shops with products of mainly ethnical origin, may have an intake of aflatoxin of 4 nanogram per kilo bodyweight and day. One nanogram per kilo bodyweight and day corresponds to a life-time risk of one more case of cancer per 100 000 to 1000 000 individuals (JECFA risk evaluation).

Two main conclusions can be drawn from this project. First of all, rice on the Swedish retail market might contain aflatoxins at levels above maximum limits according to European community legislation and secondly, detectable levels of aflatoxin is common in basmati and perhaps also in jasmine rice. This study shows that there is a need to increase the control of rice imported to Sweden and Europe but also that rice should be included in the national control programme of aflatoxin in grain. It is also important that this new knowledge is communicated to the food industry and to the local control authorities.

Slutsatser ur ett riskhanteringsperspektiv

Slutsatserna är framtagna i samråd med Livsmedelsverkets tillsynsavdelning.

Resultatet från studien ”Mögel och mykotoxiner i ris” visar på ett behov av ökad kontroll av aflatoxin i framförallt basmatiris.

Mögelgiftet aflatoxin är ett cancerframkallande ämne som omfattas av ett europeiskt regelverk vad gäller gränsvärden och provtagning. Riskerna för höga halter av aflatoxin i ris har tidigare ansetts låga och det finns därför inga särskilda regler vad gäller importkontroll av ris till EU. Ris omfattas inte heller av det nationella kontrollprogrammet för mögeltoxiner i spannmål. Denna studie visar att mögelgiftet aflatoxin är vanligt förekommande i basmatiris i svenska livsmedelsbutiker trots det regelverk som finns. För att förbättra företagets egenkontroll av ris krävs det att kommunerna tar ett större ansvar i kommunikationen och kontrollen av de enskilda livsmedelsföretagen. Livsmedelsverket har informerat Kommissionen om överskridande värden av aflatoxin i basmati- och jasminris och diskussioner förs om eventuell ökad kontroll av aflatoxin i basmatiris som importeras till Europa. Det bör även diskuteras huruvida basmatiris bör omfattas av Livsmedelsverkets nationella kontrollprogram för mögelgifter i spannmål.

Inledning

Ris som livsmedel

Ris är en av världens viktigaste grödor och utgör basföda för över halva jordens befolkning¹. Cirka 20 arter av släktet *Oryzae* finns beskrivna men nästan allt odlat ris utgörs av *Oryzae sativa* L. Till de största risproducenterna hör Kina, Indien, Indonesien, Bangladesh, Thailand och Vietnam men ris odlas även i många andra länder som till exempel USA, Italien och Australien. Under de tusentals år som människan har odlat ris har växten anpassat sig till att kunna växa i en mängd olika miljöer från torra bergssluttningar till vattentäckta landområden.

Riskornen kan vara långkorniga, mellankorniga eller kortkorniga. Vanligt matris, liksom de aromatiska rissorterna jasminris och basmatiris, är långkorniga. Till de kortkorniga sorterna hör avorioris, grötris och sushiris. Vildris (*Zizania aquatica*) tillhör inte samma släkte som vanligt ris utan är närmare släkt med havre¹.

När risplantan blommat färdigt och risets vattenhalt är cirka 20 % skördas fröhuset för att sedan processas vidare till olika typer av risprodukter. Fröhuset består av ett yttre skyddande lager som skiljs från riskornen redan på fältet, ett inre skal och själva riskärnan eller frukten. Råriset består av det inre skalet (som i sin tur består av flera olika lager) och risfrukten. Riskornen saltorkas till en vattenhalt på cirka 14 % och tröskas sedan för att avlägsna skaldelar. När det inre skalet tröskats bort återstår fortfarande klidelen utanpå riskornen. Riset poleras sedan för att avlägsna klidelarna och det karaktäristiska vita riset erhålls. Det vita riset har betydligt mindre fibrer, vitaminer och mineraler än råriset eftersom dessa ämnen framförallt finns i risskalet. Poleringsprocessen är mycket viktig för risets kvalitet och kokegenskaper.

För att minska koktiden hos konsumenten och samtidigt bibehålla de näringsrika skaldelarna kan råriset ångbehandlas innan torkning och produkten kallas då för fullkornsriss. Genom en process som kallas parboiling kan man framställa vitt ris med mer näring än det polerade riset. Processen går till så att råriset blötläggs i ett till två dygn varefter det kokas eller ångas. Efter kokningen saltorkas riskornen och behandlas precis som vanligt ris med skillnaden att de gelatiniserade, proteinrika inre delarna av skalet sitter kvar på riskärnan efter skalning och polering av riskornen. Risskalet är en biprodukt från malningsprocessen som kan användas för framställning av riskli och rismjöl som i sin tur kan användas som ingrediens i djurfoder.

Basmatiris är ett samlingsnamn för de aromatiska (bas=arom) rissorter som odlas nedanför Himalayas berg i Indien och Pakistan. Basmatirisets karaktäristiska arom beror framförallt på genetiska faktorer² men påverkas också av miljön, till exempel odlingsklimatet³. Till skillnad från basmatiriset får det thailändska jasminriset sina aromatiska egenskaper genom att det odlas i närheten av jasminbuskar och inte genom genetiska faktorer. Basmati- och jasminris finns både som polerat ris och som råris.

Mögel och mykotoxiner i ris

Under odling och lagring av ris kan risplantan respektive riskornen infekteras av sporer från mögelsvampar som om de ges tillfälle att växa kan bilda mögelgifter, så kallade mykotoxiner. Mykotoxiner är kemiska ämnen som är giftiga för människa och djur och bildas framförallt av arter inom släktet *Aspergillus*, *Penicillium* och *Fusarium*. Exempel på mykotoxiner som kan bildas av de tre släktena är aflatoxin, ochratoxin A och deoxynivalenol (DON). Infektion av mögel och bildning av mykotoxiner kan ske både före skörd, det vill säga i fält, och efter skörd, till exempel vid lagring. Infektionsnivå och produktion av mykotoxiner i fält påverkas av miljöfaktorer som till exempel översvämningar, torka och temperatur. För att förhindra tillväxt av mögel efter skörd är det viktigt att riset snabbt torkas till en lagringsstabil vattenhalt på 13-14 % och att riset sedan lagras på ett sätt så att den vattenhalten inte överstigs. Lagringen sker ofta i stora kvantiteter där det är svårt att få homogena lagringsförhållanden i hela lagret. Den mikrobiella aktiviteten påverkas framförallt av fuktighet och temperatur, vilka båda kan variera kraftigt i en rissilo. Tillväxt av mögel i ris behöver inte vara synligt för ögat. Tillväxten kan ha skett i det oskalade riset före skalning och polering av riskornen och dessa kan då innehålla toxiner trots endast låga påvisbara halter av mögel. Värmebehandling, solljus eller långvarig torka kan också döda mögelsvampar men eventuella toxiner som bildats innan mögelsvamparna dött finns då kvar eftersom de flesta mykotoxiner är mycket stabila ämnen.

Mögelinfektion i fält

Analys av mögel i ris direkt efter skörd ger en bild av vilka mögel som växt i risplantan på fältet och ger en indikation på vilka mögelgifter som kan ha bildats i riskornen. Ett flertal arter av *Fusarium* har isolerats från ris direkt efter skörd^{4,5} (Tabell 1) och flera studier har visat att fusariumtoxiner deoxynivalenol, zearalenon och fumonisin B₁ kan bildas men i relativt låga nivåer (Tabell 1). *Fusarium* och fusariumtoxiner anses därför inte vara ett problem i ris (Kommisionens förordning nr 856/2005).

Mögelinfektion under process och lagring

Hantering av riset efter skörd påverkar i vilken utsträckning mögel och mögelgifter bildas i riset under lagringen. Flera studier har gjorts på förekomst av mögel och mykotoxiner i lagrat ris och det framgår tydligt att det finns brister i rishantering i många länder (Tabell 1). Det finns studier som visar att infektionsgraden och diversiteten av mögel är större i råris än i skalat ris⁴ men det finns även studier som visar att 100 % kontamination (utplacering av riskorn) kan förekomma även i polerat ris^{6,7}. Variationen kan bero på i vilket steg av produktionen som kontaminationen skett i kombination med betingelserna under lagringen. Vanligt förekommande lagringsmögel i ris är arter av *Aspergillus* och *Penicillium* (Tabell 1).

Tabell 1. Sammanställning av förekomst av mögel och mögelgifter i ris (ND=ej detekterat).

Land ^{Ref}	Antal prov ^a	Mykotoxin	Förekomst (%)	Halt (ppb) ^b	Mögel (vanligaste arterna)
Cuba ⁸	715	Aflatoxin B ₁	2	1-10	-
Ecuador ⁵	6 ^c	-	0,5	10-20	-
			-	-	<i>A. flavus</i> (50 %) <i>F. verticillioides</i> (67 %) <i>F. oxysporum</i> (83 %) <i>P. janthinellum</i> (50 %)
Korea ^{9,10}	88	Aflatoxin B ₁ Ochratoxin A Fumonisin B ₁ Deoxynivalenol	6 9 2 3	1,8-7,3 2,1-6,0 48-61 105-159	<i>P. citrinum</i> (27 %) <i>A. candidus</i> (26 %) <i>Alternaria</i> -arter (23 %) <i>A. versicolor</i> (20 %) <i>A. niger</i> (18 %), <i>A. flavus</i> (17 %)
Malaysia ¹¹	50 ^d	-			<i>A. flavus/parasiticus</i> (4 %)
	84 ^{d,e}	Aflatoxin B ₁ Aflatoxin G ₁ , G ₂	0 6 ⁶	0 37-96	
Thailand ⁴	18 ^c	-	-	-	<i>F. semitectum</i> (94 %) <i>Alternaria</i> -arter (22-67 %) <i>A. candidus</i> (8 %), <i>A. flavus</i> (8 %)
	24 ^d	-	-	-	
Korea ¹²	60 ^c 30 ^f	Fumonisin B ₁ Fumonisin B ₁	40 0	4-144	-
Sri Lanka ¹³	156 ^d 325 ^g	Aflatoxin B ₁ Aflatoxin G ₁ Aflatoxin B ₁ Aflatoxin G ₁	- - - -	0-49 ^h 9-493 60-185 175-963	-
Filippinerna ⁷	41 9 ^f 28 ⁱ	Aflatoxin (tot) Aflatoxin (tot) Aflatoxin (tot)	100 100 86	ND-2,67 0,03-8,66 ND-1,12	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> (57 % i polerat ris och 100 % i opolerat ris)
Förenade Arabemiraten ¹⁴	250 ^e	Aflatoxin B ₁	64	1,3±1,2 ^j 15,7±0,9 ^k 17,4±2,1 ^l	<i>A. flavus</i> ^o (1±1 %) <i>A. flavus</i> ^p (82±6 %) <i>A. flavus</i> ^q (77±3 %) (övriga mögel ej identifierade)
Indien ¹⁵	1511 ^g	Aflatoxin B ₁	38 17	>5 >30	-
Elfenbenskusten ¹⁶	10 ^d	Ochratoxin A Aflatoxin B ₁ Fumonisin Zearalenon	100 100 100	0,16-0,91 <1,5-10 ND 50-200	-

^a ej provtagna enligt provtagningsföreskrift (EG) 401/2006 för mykotoxiner

^b ppb = parts per billion, detsamma som mikrogram per kilo

^c mögel isolerat från ris vid skörd (eng. paddy rice)

^d prover inköpta från butik, marknad eller hotell

^e prover från privata hem

^f ris med skaldelar kvar (råris eller fullkornsriss)

^g parboiled

^h aflatoxin B₁ detekterades i ris från tre av sex regioner med medelvärdet mellan 17 och 49 ppb, övriga toxiner detekterades från alla sex regioner.

ⁱ importerat ris från Thailand och Vietnam

^j i långkornigt, fint ris

^k i långkornigt möjligt ris.

^l i långkornigt insektsskadat ris.

Mykotoxiner

Utifrån de forskningsrapporter som är tillgängliga i internationella tidskrifter är det framförallt aflatoxin men även ochratoxin A som utgör de största mykologiska riskerna i ris och risprodukter. Det finns endast ett fåtal studier som är gjorda på ris importerat till Europa^{17,18}. De europeiska gränsvärdena, det vill säga de regler för hur mycket aflatoxin och ochratoxin A som får finnas i ris, är 4 ppb^a för summan av aflatoxin B₁, B₂, G₁ och G₂, 2 ppb för aflatoxin B₁ och 3 ppb för Ochratoxin A. Gränsvärden för mykotoxiner i ris varierar mycket mellan olika länder. Det europeiska gränsvärdet för summan av aflatoxiner är till exempel 4 ppb medan det i Indien är 30 ppb. Det bidrar sannolikt till att ris med lägre toxinhalt exporteras medan ris med högre toxinhalt säljs i producentlandet.

De aflatoxinbildande arterna *Aspergillus flavus* och *A. parasiticus* har isolerats från ris i många kartläggningsstudier och infektionsgraden kan vara så mycket som 100 % av de analyserade riskornen^{7,19} (Tabell 1). Aflatoxin i ris har i flera länder identifierats som en risk för människo- och djurhälsa. Det finns studier som visat att råris, det vill säga otröskat och oputsat ris innehåller mer aflatoxin än polerat ris och att cirka 80 % av aflatoxinet kan avlägsnas genom tröskning och putsning^{7,19}. Risskalet som blir över under produktionen av polerat ris används i många länder som djurfoder och Jayaraman *et al.*^{20,21} har påvisat mycket höga halter av *A. flavus* och aflatoxin (40-120 ppb) i risskal (eng. rice bran). Det finns även studier som visat att ångbehandlat ris (parboiled) innehållit mer aflatoxin än råris^{6,13} och detta sägs bero på att ångkokningen kan göra riset mer känsligt för kontamination och tillväxt av *Aspergillus* under lagring. Bandara *et al.*^{6,13} uppmätte höga halter av aflatoxin i både råris och ångbehandlat ris (parboiled) från Sri Lanka.

Ochratoxin A bildas av *Penicillium verrucosum* och några få arter av släktet *Aspergillus*. Ochratoxin A har påvisats i halter över det Europeiska gränsvärdet (3 ppb för bearbetade spannmålsprodukter) i bland annat polerat ris från Korea¹⁰ och även i ris av olika ursprung som importerats till Spanien¹⁸. Park *et al.*¹⁰ kunde korrelera ochratoxin A till prover med förekomst av *P. verrucosum* men inte till prover med ochratoxin A-bildande arter av *Aspergillus* och drog slutsatsen att *P. verrucosum* var den huvudsakliga producenten av ochratoxin A i ris.

Ris är en säker produkt så länge torkning och lagring sker på ett tillfredställande sätt och därför varierar värden för toxiner och mögel mycket mellan olika studier.

^a ppb = parts per billion, detsamma som mikrogram per kg

Lagstiftning och kontroll av mögel och mykotoxiner i ris

Den lagstiftning som gäller i Sverige för mykotoxiner i livsmedel bestäms på europeisk nivå och är gemensam för alla länder inom EU. I de fall där europeisk lagstiftning saknas kan det dock finnas nationella lagar. De EU-förordningar som beskriver regler som omfattar ris är förordning 1881/2006^b som beskriver gällande gränsvärden för mykotoxiner och förordning 401/2006^c som beskriver gällande regler för provtagning.

Kommissionens förordning 1881/2006 fastställer gränsvärden för en mängd olika mykotoxiner i olika livsmedel. För ris (bearbetat spannmål) finns det gränsvärden för aflatoxin (4 ppb för summan av aflatoxiner, B₁, B₂, G₁ och G₂, och 2 ppb för B₁), ochratoxin A (3 ppb), deoxynivalenol (750 ppb) och zearalenon (75 ppb). Totalt följer 29 länder dessa gränsvärden, framförallt länder inom och EU och EFTA²². Gränsvärden för aflatoxin i länder utanför Europa ligger generellt högre, till exempel 20 ppb i USA, 30 ppb i Indien och 35 ppb i Malaysia, samtliga för den totala halten aflatoxin.

Kommissionens förordning 401/2006 beskriver vilka regler som finns för provtagning och analys i den offentliga kontrollen av mykotoxiner i livsmedel. Mykotoxiner är mycket heterogent fördelade i ett livsmedelsparti, i synnerhet i partier med stor partikelstorlek, till exempel torkad frukt. I provtagningsförordningen finns anvisningar för hur många och hur stora delproven skall vara för en viss partistorlek för att ge ett analysresultat som är representativt för hela partiet. I de fall provtagningen inte kan utföras enligt förordningen kan en alternativ provtagning ske förutsatt att den beskrivs noggrannt. Provtagning i butiksled görs genom att tillräckligt många delprov tas så att provtagningen representerar det risparti som finns i butiken. Provet kommer dock inte att representera hela det importerade rispartiet.

För mögel i livsmedel finns inga lagstadgade gränsvärden. Hög halt av potentiellt mykotoxinbildande mögelarter kan ge en indikation på att mögelgifter har bildats i livsmedlet. Producenten har själv ansvar för sin produkt och vad som kan vara normala respektive höga halter av mögel (se Livsmedelsverkets Vägledning för Livsmedelsprovtagning i offentlig kontroll och mikrobiologisk bedömning av livsmedelsprov).

Företagen har ansvar för att den produkt de släpper ut på marknaden är säker. Kommunerna har tillsynsansvar över företagen vilket bland annat innebär att de skall kontrollera att företagen följer föreskrivna regler och att företagarnas egenkontroll är anpassad efter de risker som är förknippade med de livsmedel som de producerar och/eller säljer.

Den svenska rismarknaden

Utbudet av olika typer av ris i svenska livsmedelsbutiker är stort. Det finns till exempel traditionellt långkornigt ris, rundkornigt ris, sushiris, avorioris, rött ris, grönt ris, svart ris, basmatiris och jasminris. Av samtliga ristyper finns det även ekologiska produkter och produkter med olika halt av skaldelar, det vill säga fullkornsris och råris.

Den enskilda butiken eller butikskedjan köper vanligtvis in ris från svenska grossister som importerat ris direkt från producentländerna eller via utländska, framförallt europeiska, grossister. Utöver det ris som importeras som en färdigförädlad risprodukt importeras även obehandlat eller semi-förädlad ris för fortsatt förädling i Sverige. Det finns tre riskvarnar i Sverige som förädlar ris. Skälen till att förädla ris i Sverige kan vara för att öka kvalitén eller för att kunna importera obehandlat ris enligt andra tullregler än det förädlade riset. Det

^b Kommissionens förordning (EG) 1881/2006.

^c Kommissionens förordning (EG) 401/2006.

finns även riskvarnar i andra europeiska länder som i sin tur säljer det förädlade riset vidare till Sverige.

Konsumtion av ris i Sverige

Livsmedelsverket har undersökt svenskarnas konsumtion av olika livsmedel, bland annat ris, i undersökningen "Riksmaten" 1997-98. Ris ingick då i produktgruppen "ris/risrätter/gryn" vilken även inkluderade risotto, Paella, Nasi Goreng och Ris á la Malta (risrätter), bulgur, couscous, korngryn och polenta (gryn). År 2003 genomfördes även en kostundersökning för barn "Riksmaten - barn 2003".

Enligt Riksmaten 1997-98 åt vuxna kvinnor 23 gram ris per dag och vuxna män 31 gram ris per dag²³. Högkonsumenten (95:e percentilen) åt 71 respektive 96 gram per dag för kvinnor respektive män. Högkonsumenterna fanns framförallt bland konsumenter under 44 år (86 gram per dag för kvinnor mellan 25 och 44 år och 118 till 129 gram per dag för män mellan 17 och 44 år). Medelvärdena baserades på hela befolkningen även om endast 60 % av konsumenterna uppskattades äta ris (baserat på deltagarnas svar). Mängden ris i kostundersökningarna avsåg kokt ris. Enligt boken Mått för mat²⁴ uppskattas en normalportion ris till 60 gram torrt ris vilket motsvarar 180 gram kokt ris.

Tio år har gått sedan kostvaneundersökningen gjordes för vuxna. Sedan dess har många nya risprodukter och risrätter introducerats och blivit populära i de svenska köken. Enligt FAOSTAT^d har konsumtionen av ris i Sverige ökat från 52 000 till 107 000 ton eller 16 till 32 gram per capita och dag mellan 1997 och 2005 (Tabell 2). FAOSTAT har beräknat medelvärdena utifrån hela befolkningen och för konsumtion av all sorts ris. Det ger en indikation på att konsumtionen av ris i Sverige har ökat under de senaste 10 åren.

En särskild grupp högkonsumenter av ris är personer med utländsk bakgrund, framförallt från Indien, Pakistan, Kina, Japan och vissa afrikanska länder^e. De uppskattas äta ris dagligen, både till lunch och till middag. Baserat på uppskattningen att en normalportion väger 180 gram innebär det att dessa personer konsumerar 360 gram kokt ris per dag vilket motsvarar 120 gram torrt, okokt ris. Yngre personer äter mer ris än äldre, och stadsbor, särskilt i stora städer, äter mer ris än de som bor på landsbygden^e.

Enligt en av Sveriges stora butikskedjor står basmatiris för 11 %, fullkornsrisk för 12 % och råris för 2 % av den totala försäljningen av ris (i kronor).

Tabell 2. Statistik framtagen av FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) över konsumtionen av ris i Sverige (medelvärden för hela befolkningen) mellan 1997 och 2005.

År	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
ton (x1000)	52	52	57	63	68	73	83	96	107
gram per capita per dag	16	16	18	19	21	23	26	29	32

FAOSTAT^a | © FAO Statistics Division 2007 | 28 November 2007

^d FAOSTAT är en nätbaserad statistisk databas som för närvarande innehåller data från över 210 länder och områden. Databasen täcker områden som jordbruk, nutrition, fiske, skogsbruk, livsmedel och befolkning. <http://faostat.fao.org/>

^e Enligt Monika Pearson, Livsmedelsverkets Nutritionsavdelning.

Kartlägningsstudie – mögel och mykotoxiner i ris

Bakgrund

Under våren 2006 upptäcktes aflatoxin M₁ (12-13 nanogram per kilo) under branschens egenkontroll av förpackad konsumtionsmjölk från Skåne²⁵. Aflatoxin M₁ bildas när djur äter foder som är kontaminerat med aflatoxin B₁ som sedan omvandlas till M₁ i djurets lever och därefter passerar över till mjölken. Det europeiska gränsvärdet för M₁ är 50 nanogram per kilo mjölk och branschens aktionsvärde är 7 nanogram per kilo mjölk. En utredning inleddes och hos enskilda mjölkleverantörer påvisade upp till 257 nanogram M₁ per kilo mjölk. Foderprover analyserades och aflatoxin påvisades i ett foder som var gemensamt för alla gårdar där mjölken innehöll aflatoxin. Vidare testades alla ingredienserna i fodret och aflatoxin kunde härledas till ett risfodermjöl från en lokal producent av basmatiris för livsmedelsändamål²⁵.

Fallet med aflatoxin i rismjölet väckte frågan om hur mycket aflatoxin det i sin tur fanns i basmatiriset för livsmedelsändamål och hur det generellt ser ut med halten av mykotoxiner och mögel i ris och risprodukter. Kontroll av mykotoxiner och förekomst av mykotoxinbildande mögelsvampar sker idag genom företagens egenkontrollprogram som i sin tur skall följas upp av kommunernas livsmedelsinspektörer vid regelbundna inspektioner. Det mesta av det förädlade riset importeras via små och stora grossister men det finns även enstaka riskvarnar som förädlar importerat obehandlat ris. Inom EU har inte ris ansetts vara en riskprodukt med avseende på aflatoxin, men med många aktörer på marknaden (importörer, grossister, försäljningsställen) är det svårt att kontrollera att regler följs och kunskapen om den faktiska situationen är bristfällig.

För att få ökad kunskap om mykologiska risker med konsumtion av ris genomförde Livsmedelsverket under 2007 en kartlägningsstudie över relevanta mykotoxiner och mykotoxinbildande mögelsvampar i cirka 100 risprover från butiksled. Provtagning skedde genom inköp av ris från små och stora affärer i framförallt Uppsala och Stockholm men också ifrån andra delar av Sverige. Aflatoxin i den skånska mjölken²⁵ och preliminära resultat från Statens Veterinärmedicinska Anstalt (muntlig kommunikation med Pär Häggblom) hade visat att basmatiris kan innehålla aflatoxin. Enligt litteraturen inom området fanns det anledning att misstänka att det kan finnas mer mykotoxin i fiberrikt ris än i polerat ris. Därför beslutades det att fokusera på dessa produkter.

Mål med studien

- Vi vet vilka av våra mest kända mykotoxinbildande svampar som förekommer och bildar toxin i ris.
- Vi har ett underlag utifrån vilket vi kan bedöma risken med denna förekomst och ge underlag för Livsmedelsverkets Tillsynsavdelning att fatta beslut om eventuella åtgärder.

Avgränsningar

Undersökningarna koncentrerades på relevanta mykotoxinbildande mögelarter (*Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *Penicillium verrucosum* och svarta arter av *Aspergillus*) och mykotoxiner (aflatoxin och ochratoxin A) i basmatiris (polerat ris, råris, fullkornsrís) och rissorter med högre andel fibrer (råris och fullkornsrís).

Material och Metoder

Provtagning

De flesta proverna togs från butik i Uppsala, Märsta, Stockholm och Malmö. Provtagningen utfördes av personal på Mikrobiologiska enheten, Livsmedelsverket, och följde så långt det var möjligt Kommissionens förordning 401/2006 som beskriver regler för analys och provtagning i den offentliga kontrollen av mykotoxiner i livsmedel inklusive detaljhandeln. Vid små förpackningar (0,5-2 kilo) togs fyra delprov (förpackningar) som sedan slogs ihop till ett samlingsprov och vid större förpackningar (9-20 kilo) togs minst 10 delprov (minst 100 gram styck) ur en och samma förpackning. Vid varje provtagning skrevs en följesedel (Bilaga 1).

Utöver provtagningen som utfördes av Mikrobiologiska enheten analyserades även prov från Livsmedelsverkets nationella kontrollprogram för pesticider i ris. Dessa prover togs av respektive kommuns livsmedelsinspektör på uppdrag av Livsmedelsverket. Denna provtagning följde inte provtagningsförordningen för mykotoxiner då endast ett delprov på 1-2 kilo provtogs.

Provhantering

Då proverna anlände till Livsmedelsverket blandades delproverna till homogena samlingsprov i en blandare (IGF 2400/S382) under 15 minuter. Ett kilo från varje samlingsprov vägdes upp och maldes till ett fint pulver. Endast 200-300 gram maldes åt gången för att undvika avdödning av mögel på grund av hög värmeutveckling. Från varje malt samlingsprov togs 40 gram ut för mikrobiologisk analys och för en del prov 10 gram för analys av aflatoxin med snabbkitet RidaQuick®. Det resterande malda provet blandades igen innan den kemiska analysen av mykotoxiner på Livsmedelsverkets Kemiska enhet 2. Proverna förvarades i rumstemperatur.

Analys av mögelsvampar

Mögelanalyserna utfördes av Livsmedelsverkets mikrobiologiska enhet. Samtliga prover analyserades med avseende på halten mögel enligt SLV MI-m019.9. *Aspergillus flavus/parasiticus* identifierades enligt SLV MI-m022.7 och *Penicillium verrucosum* enligt SLV MI-m021.9. Livsmedelsverket är ackrediterat för metoderna.

Kvantifiering av mögel

Risproverna (40 gram) spädades i 0,1 % peptonvatten och en spädningsserie med tre spädningar (1:10) gjöts in (1 ml för lägsta spädningen) eller spreds (100 mikroliter) på dubbla dichloran 18 % glycerol agarplattor (DG18). Plattorna inkuberades i 25 °C i 7 dagar varefter mögelkolonierna räknades. Resultaten beräknades som antalet cfu (colony forming

units = kolonibildande enheter) mögel per gram ris. Detektionsgränsen var 10 cfu per gram (=log 1^f)

Identifiering av mögel

Projektets fokus var att identifiera de mögelsvampar som kan bilda aflatoxin (*A. flavus* och *A. parasiticus*) och ochratoxin A (*P. verrucosum*, *A. ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. westerdijkiae* och *A. niger*). Misstänkta kolonier av *A. flavus/parasiticus* renströks och konfirmerades på AFPA (Aspergillus flavus/parasiticus agar) enligt SLV MI-m022.7. *P. verrucosum* identifierades direkt på DG18 enligt SLV MI-m021.9. Svarta arter av *Aspergillus* sparades för vidare identifiering om risprovet visade sig innehålla ochratoxin A. Typning av övriga mögelarter gjordes enligt SLV MI-m020.5 och Samson *et al.*²⁶. Vid identifiering av *Penicillium* (andra än *P. verrucosum*) renströks kolonier från DG18 på MEA, CREA, Czapek, YES och CYA enligt Samson *et al.*²⁶ och inkuberades i 25 °C, 7 dagar, för morfologisk artbestämning.

Analys av mykotoxiner

Mykotoxinanalyserna utfördes av Livsmedelsverkets Kemiska enhet 2. För samtliga prover analyserades aflatoxin B₁, B₂, G₁ och G₂ (metod nr SLV K2-m250-f 10) samt ochratoxin A (metod nr SLV K2-m250-f9). Livsmedelsverket är ackrediterat för metoderna.

Analys av aflatoxin B₁, B₂, G₁ och G₂

För extraktion vägdes 50 gram av det malda provet in i en glasflaska med skruvlock varefter 200 milliliter acetonitril (84 %) tillsattes och provet skakades på skakbord i 30 minuter. Efter filtrering genom veckfilter applicerades provlösningen på en MultiSep-kolonn för rening av provet. Föroreningarna fastnar och aflatoxinerna går rakt igenom kolonnen. Det eluerade provet från kolonnen koncentrerades genom indunstning och injicerades på HPLC (högtrycksvätskekromatograf) försedd med fluorescensdetektor. Kvantifieringsgränsen^g för metoden var 0,1 mikrogram per kilo.

Analys av ochratoxin A

Efter invägning av 50 gram malt prov extraherades det med 200 milliliter acetonitril (60 %) innehållande natriumvätekarbonat (0.4 %) i 30 minuter. Efter filtrering genom veckfilter spädde provet och applicerades på en immunoaffinitetskolumn för rening av provet. Eluatet koncentrerades, injicerades på HPLC och detekterades med fluorescensdetektion. Kvantifieringsgränsen^c för metoden var 0,1 mikrogram per kilo.

RIDA®QUICK Aflatoxin

Ett snabbkit för analys av den totala halten aflatoxin användes på 76 av risproven för att utvärdera om testet kunde användas för att ge ett snabbt svar på om provet innehöll mer än 4 ppb toxin (detektionsgräns för metoden). Det snabbkit som användes var av märket RIDA®QUICK Aflatoxin och produceras av R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany. Testet

^f log 1= tiologaritmen av 10.

^g Den lägsta halt för vilket ett statistiskt säkert resultat kan ges.

bygger på en immunokromatografisk metod med en specifik antikropp mot aflatoxin som binder till aflatoxin i provet och sedan till ett antigen som gör att ett band i testremsan får en blå färg. Intensiteten på bandet motsvarar koncentrationen aflatoxin i provet. Metoden är tidigare testad på spannmål, sojamjöl, nötter, kokosnötmjöl, solrosfrön, fikon, dadlar och cashewnötter men inte på ris. Provet avlästes vid tre tidpunkter: 4 minuter, 8 minuter och 16 minuter efter applicering av provet. Beroende på när det blå bandet framträdde kunde resultatet anges som mindre än 4 ppb, 4-10 ppb, 10-20 ppb eller mer än 20 ppb.

Resultat och diskussion

Risproverna

Totalt analyserades 102 prov. Samtliga prover togs i butiksled utom tre som togs från importkontrollen av genmodifierat ris från USA. Drygt 20 % av proverna togs inom det nationella kontrollprogrammet för pesticider i ris, det vill säga inte enligt Kommissionens förordning 401/2006. Drygt hälften (55 %) av proverna köptes från butiker med övervägande etniska produkter (Tabell 3).

Tabell 3. Antal prov per typ av provtagningsplats

Typ av butik	Antal prov av totalt 102
Butik med övervägande etniska produkter	56
Större butikskedja	35
Ekologisk butik	5
Hälsokostbutik	3
Ej inköpta i butik (importkontroll av GMO ris)	3

Vid planeringen av projektet beslöts att fokuseringen skulle vara på basmatiris och ris med högre andel fibrer, det vill säga råris och fullkornsrís (av alla typer av ris). Av totalt cirka 100 prover var drygt 70 % av proverna basmatiris och cirka 15 % ris med högre andel fibrer (Tabell 4).

Tabell 4. Antal prov per typ av ris

Typ av butik	Antal prov av totalt 102
Basmatiris	73
Råris ^a	12
Jasminris	8
Långkornigt ris	6
Fullkornsrís ^b	3

^avarav sex ”råris” eller långkornigt råris, ett jasmin råris, två basmati råris, ett rundkornigt råris och ett rött respektive svart råris.

^bvarav ett basmati fullkornsrís, ett långkornigt fullkornsrís och ett ”brunt” jasminris.

Tabell 5. Antal prov från respektive ursprungsland

Ursprungsland	Antal prov av totalt 102 (%)	Rissorter
Indien	30 (29)	basmati. matris
Pakistan	13 (13)	basmati
Indien/Pakistan/Himalaya	12 (12)	basmati
Thailand	12 (3)	jasmin, råris
Italien	7 (7)	råris, ekologiskt ris
USA	3 (3)	långkornigt ris
Australien	1 (1)	råris
Framgår ej	24 (24)	långkornigt ris, råris, fullkornsrís

Basmatiris odlas endast nedanför Himalayas berg i Indien och Pakistan vilket förklarar varför majoriteten av risproverna kommer från dessa länder (Tabell 5).

Förekomst av mögelsvampar i risproverna

Mögel påvisades i 85 % av risproverna^h. Medelvärde för de prover där mögel påvisades var cirka 2×10^3 mögelkolonier per gram ris, det vill säga log 3.1. Ett av risproverna innehöll betydligt mer, cirka 5×10^4 mögelkolonier per gram ris (log 4.7), varav 1×10^3 utgjordes av *A. flavus* (prov-ID Mib 419).

Tabell 6. De vanligast isolerade mögelarterna från risproven

Mögelsvamp	Isolerad från antal prover	Kommentar
<i>Aspergillus</i> -arter:		
<i>A. candidus</i>	49	I 22 av proven dominerade <i>A. candidus</i> helt
<i>A. flavus</i>	21	Enstaka kolonier utom på ett prov med log 3.
<i>A. fumigatus</i>	13	Enstaka kolonier utom på ett prov med log 2.
<i>A. niger</i>	5	Enstaka kolonier.
<i>Penicillium</i> -arter	38	Enstaka kolonier. På två risprover dominerade <i>P. polonicum</i> (log 4.3 och log 2.2). <i>P. chrysogenum</i> identifierades från enstaka prover.
<i>Eurotium</i> -arter	28	Dominerande flora i enstaka prover, oftast som enstaka kolonier.

Mögelsvampar kan inte växa i ris vid en vattenaktivitetⁱ (a_w) lägre än 0.7²⁷. Under torkningen av riset och under den långa lagringstiden i den torra miljön (a_w 0.3-0.6) dör därför mögelsporeerna och det är möjligt att mögelhalten kan ha varit högre initialt, det vill säga innan torkningen. Arter av *Aspergillus* var vanligast förekommande och isolerades från 66 % av proverna men även arter av *Penicillium* och *Eurotium* isolerades från många prov (Tabell 6). Övriga svampar som isolerades tillhörde släktena *Wallemia*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Alternaria* och *Trichotecium*. Även arter från gruppen *Zygomycetes* isolerades.

Aspergillus

Aspergillus candidus var den vanligast förekommande mögelarten och isolerades från 49 av totalt 102 risprover. *A. candidus* isolerades framförallt från basmatiris men även från råris, jasminris och matris. *A. candidus* har tidigare rapporterats förekomma i lagrat ris²⁷ och är även vanligt förekommande som lagringsmögel i andra typer av spannmål²⁶. *A. candidus* bildar inte något mykotoxin som har fastställda gränsvärden. *A. flavus* isolerades från totalt 21 prov av basmatiris, jasminris, råris, långkornigt ris och fullkornsriss, vanligtvis som enstaka kolonier på lägsta spädningen (det vill säga cirka log 1) men ett av proverna, ett basmati råris, innehöll så mycket som log 3. *A. flavus* har rapporterats förekomma i ris i en mängd studier (Tabell 1) och kan bilda aflatoxin B₁ och B₂. Den patogena mögelsvampen *A. fumigatus* isolerades från 13 risprover. *A. fumigatus* förekommer som kontaminant i livsmedel och kan bland annat bilda mykotoxinerna gliotoxin, verrucologen och fumitremorgin A och B. *A. fumigatus* kan även innebära en arbetsmiljörisk för dem som arbetar i risfabriken. *A. niger* isolerades från 5 prov. Enstaka isolat av *A. niger* kan bilda ochratoxin A²⁶. Den aflatoxinbildande arten *A. parasiticus* isolerades inte från något av proverna.

^h Detektionsgränsen var 10 kolonibildande enheter (cfu) per gram ris.

ⁱ Mått på hur mycket vatten i riset som är tillgängligt för tillväxt av mikroorganismer. Rent vatten har värdet 1.

Penicillium

Penicillium-arter isolerades från 38 risprov men inget av isolaten tillhörde den ochratoxin A-bildande arten *P. verrucosum*. *P. chrysogenum*, som bland annat kan bilda roquefortin C, isolerades från enstaka prover. I två av proverna (basmati) dominerade *P. polonicum* som kan bilda glykopeptider och penicillinsyra. Det finns inga gränsvärden för dessa ämnen.

Ochratoxin A i risproverna

Ochratoxin A påvisades inte i något av proverna (kvantifieringsgränsen var 0,1 mikrogram per kilo). Resultatet stämmer väl överens med resultatet från den mykologiska analysen där endast enstaka kolonier av den potentiellt ochratoxin A-bildande mögelarten *A. niger* isolerades från ett fåtal prover.

Aflatoxin i risproverna

Kemisk analysmetod (HPLC)

Aflatoxin påvisades (kvantifieringsgräns 0,1 mikrogram per kilo) i 47 % av risproverna (48 av 102). Två av de positiva risproverna var av typen jasminris (varav ett råris) men övriga var av typen basmati. Det innebär att 63 % av basmatirisproverna som analyserades innehöll en påvisbar halt av aflatoxin. Ett av de positiva proverna var av typen råris basmati. Av totalt 73 prover av basmatiris innehöll 23 % av proverna mer än 1 ppb (1 mikrogram per kilo) aflatoxin B₁. Gränsvärdet för aflatoxin i behandlad spannmål, inklusive ris, är 4 ppb för summan av aflatoxinerna B₁, B₂, G₁ och G₂ och 2 ppb för aflatoxin B₁. Av cirka 100 prover överskred 7 prover gränsvärdet för summan av aflatoxiner och ytterligare 5 prover överskred gränsvärdet för aflatoxin B₁ (Tabell 7). Inget prov innehöll aflatoxin G₁ eller G₂ vilket konfirmerar de mykologiska analyserna att det är *A. flavus* som bildar aflatoxin i ris och inte *A. parasiticus* eftersom *A. flavus* endast kan bilda B-toxinerna till skillnad från *A. parasiticus* som kan bilda både B- och G-toxiner. Endast åtta jasminris analyserades varav två (25 %) innehöll en påvisbar halt av aflatoxin som båda överskred gränsvärdet för aflatoxin B₁.

Samtliga av de överskridande risproverna utom tre var inköpta i butiker med övervägande etniska produkter. Två av de överskridande risproverna var av typen råris (basmati och jasmin). Tio av de prover där gränsvärdena överskreds hade provtagits enligt Kommissionens förordning 401/2006.

Tabell 7. Prover som överskred europeiska gränsvärden för aflatoxin i ris. Typ av ris, ursprung, bäst-före-datum och aflatoxininnehåll

Prov (Mib nr)	Ristyp	Bäst före datum	Ursprung	Typ av butik	Aflatoxin (mikrogram per kilo)		
					B ₁	B ₂	summa
355	Basmati	dec-07	Pakistan	etniska produkter	3,7	0,3	4,0
363	Basmati	aug-08	framgår ej	etniska produkter	5,9	0,8	6,7
370	Jasmin ^a	jun-08	Thailand	etniska produkter	7,4	0,6	8,0
382	Basmati	dec-08	Indien	stor butikskedja	5,9	0,7	6,6
397	Basmati	framgår ej	framgår ej	etniska produkter	5,2	0,5	5,7
413	Basmati	dec-09	Indien	etniska produkter	9,4	1,1	10,5
419	Basmati ^a	dec-09	Indien	etniska produkter	46,2	4,5	50,7
425	Basmati	maj-09	framgår ej	etniska produkter	4,6	0,4	5,0
427	Basmati	framgår ej	Himalaya	etniska produkter	3,0	0,3	3,3
429	Basmati	jun-08	Pakistan	etniska produkter	2,3	0,2	2,5
436 ^b	Jasmin	dec-08	Thailand	stor butikskedja	23,2	2,1	25,3
441 ^b	Basmati	dec-08	framgår ej	stor butikskedja	3,2	0,4	3,6

^a rårís

^b ej provtaget enligt Kommissionens förordning 401/2006

RIDA®QUICK Aflatoxin

Totalt analyserades 76 antal prov med RIDA®QUICK Aflatoxin. Positiva prover, det vill säga prover med mer än 4 ppb (testets detektionsgräns) är sammanfattade i Tabell 8.

Tabell 8. Aflatoxin analyserat med snabbtestet RIDA®QUICK Aflatoxin

Provbeteckning (Mib nr)	Aflatoxin (ppb ^a) med RIDA®QUICK	Aflatoxin (ppb ^a) med HPLC
355	4-10	4,0
363	10-20	6,7
370	4-10	8,0
371	4-10	0,5
382	10-20	6,6
397	4-10	5,7
413	10-20	10,5
419	>20	50,7
425	4-10	5,0
427	<4	3,3
429	<4	2,5

^a ppb = parts per billion, detsamma som mikrogram per kg

Snabbkitet Rida®Quick gav en grov uppskattning av halten aflatoxin i provet. Snabbmetoden identifierade ett prov som falskt positivt då det i den kemiska metoden visade sig innehålla endast 0,5 ppb aflatoxin. Snabbmetoden lyckades identifiera alla risprov med en halt över 4 ppb, det vill säga inget prov identifierades som falskt negativt (Tabell 8). Det fanns en grov överensstämmelse mellan halten aflatoxin som detekterades med HPLC respektive Rida®Quick i sex av proven (Tabell 8). Slutsatsen är att Rida®Quick är en bra screening metod för att snabbt identifiera prover som kan innehålla mer än 4 ppb aflatoxin men att kvantifiering och konfirmering måste ske med den kemiska metoden.

Hantering av överskridande av gränsvärden

Sju prov överskred det europeiska gränsvärdet för summan av aflatoxiner och ytterligare fem prov överskred det europeiska gränsvärdet för aflatoxin B₁. Sammanlagt överskred 12 prover, det vill säga cirka 12 % av det totala antalet prover, gränsvärdena. Av basmatirisen överskred tio av 73, det vill säga 14 % av proverna gränsvärdena.

De företag som importerar ris till Sverige och säljer det vidare till butiksled har också ansvar för att risets kvalitet uppfyller kraven i gällande europeisk lagstiftning, det vill säga livsmedel som släpps ut på marknaden ska vara säkra. Varje kommun har tillsynsansvar för de enskilda företagen inom kommunen och har därmed ansvar för att följa upp att företagen vidtar åtgärder för prov som överskrider lagstadgade gränsvärden. När de kemiska aflatoxinanalyserna var färdiga skickade Livsmedelsverket genom Enheten för kontrollprogram (T/KP) ut analysrapporter på de överskridande proverna till berörda kommuner. Kommunerna tog i sin tur kontakt med företagen och eventuella åtgärder såsom omprov eller återkallning av produkten från marknaden. Kommunen begärde in uppgifter om leverantör, storlek på parti, huruvida delar av partiet sålts vidare till andra länder och rapporterade tillbaka uppgifterna till T/KP. RASFF^j notifieringar gjordes i sju fall (två prover var lösvikt, två provtogs inte enligt direktivet och ett prov låg för nära gränsvärdet för att RASFF-notifieras). I samtliga sju fall återkallades det ris som fanns kvar på marknaden.

Intagsberäkning av aflatoxin från ris

Ris är en basföda för många människor, till skillnad från nötter^k och kryddor^k som vanligtvis anses som de viktigaste källorna till aflatoxin. Därför kan hög frekvens av relativt låga halter av aflatoxin i ris ändå ge en ökad risk för svenska konsumenter.

Konsumtionen av ris i Sverige skiljer sig mellan olika konsumentgrupper beroende på till exempel ålder, var man bor och etnisk bakgrund. Tyvärr saknas färsk konsumtionsdata på ris i Sverige och data saknas helt vad gäller eventuella skillnader mellan grupper av olika etniskt ursprung och konsumtion av olika typer av ris. Till grund för intagsberäkningarna ligger konsumtionsdata från Riksmaten 1997-1998 men även uppskattningar av hur mycket vissa konsumentgrupper äter samt statistik från FAOSTAT^d som visar hur mycket konsumtionen av ris har ökat i Sverige från 1997 och fram till 2005. Intaget har beräknats utifrån medelvärdet av halten aflatoxin i det totala antalet risprover, i antalet risprover av typen basmati och i antalet risprover inköpta i butiker med övervägande etniska produkter.

^j The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Ett kommunikationssystem för informationsutbyte mellan kontrollmyndigheter gällande faror som identifierats i livsmedel och foder. http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index_en.htm

^k Enligt EFSA's Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain 22. Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain E. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the potential increase of consumers health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxin in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products 2007. konsumerar svenska konsumenter (genomsnitt hela befolkningen) 0,1-0,8 gram nötter per dag och 1,1 gram kryddor per dag.

Tabell 9. Intagsberäkningar av ris för olika grupper av konsumenter och för konsumtion av olika typer av ris

Konsumentgrupp	Intag av aflatoxin (nanogram per kilo kroppsvikt och dag)		
	Medelvärde i samtliga risprover (1,34 mikrogram per kilo ris) ^a	Medelvärde i basmatiris, inkl. råris (1,67 mikrogram per kilo ris) ^a	Medelvärde i risprover inköpta i butik med övervägande etniska produkter (2,18 mikrogram per kilo ris) ^a
Medelkonsument kvinna ^b	0,2	0,2	0,2
Högekonsument ^c kvinna ^d	0,6	0,6	0,7
Medelkonsument man ^c	0,2	0,3	0,3
Högekonsument ^c man ^f	0,6	0,80	1,0
Högekonsument ^c med invandrabakgrund ^g	2,3	3,0	3,7
Högekonsument ^c kvinna/man vid 100 % ökning av riskonsumtionen från 1997 till 2005 (FAOSTAT) ^h	0,9/1,2	1,2/1,6	1,5/2,0

^a medelvärde från kemiska analyser av aflatoxin. Negativa prover, det vill säga där aflatoxin inte kunde påvisas, sattes till 0,05 mikrogram per kilo ris, det vill säga halva kvantifieringsgränsen

^b 23 gram kokt ris per dag motsvarar 8 gram torrt ris

^c baserat på 95:e percentilen

^d 71 gram ris per dag motsvarar 24 gram torrt ris

^e 31 gram ris per dag motsvarar 10 gram torrt ris

^f 96 gram ris per dag motsvarar 32 gram torrt ris

^g uppskattning baserat på en riskonsumtion på 180 gram (normalportion) två gånger per dag, sju dagar i veckan, vilket motsvarar 120 gram torrt ris per dag

^h uppskattning av riskonsumtion för högekonsument baserat på konsumtionsdata från 1997 och en 100 % ökning fram till 2005 (FAOSTAT). För kvinnor 142 gram kokt ris/dag vilket motsvarar 47 gram torrt ris och för män, 192 gram kokt ris/dag vilket motsvarar 64 gram torrt ris

Eventuella hälsorisker förknippade med toxiner i livsmedel bedöms genom att jämföra intaget av livsmedlet (nanogram per kilo kroppsvikt och dag) med internationellt fastställda värden för tolerabelt dagligt intag (TDI) av toxinet i fråga. För genotoxiska ämnen såsom aflatoxin finns inget tröskelvärde för säkert intag och därmed inget fastställt TDI utan intaget bör begränsas så mycket som möjligt. Som riktvärde för en tolerabel risk kan en exponering av 1 nanogram per kilo kroppsvikt och dag användas. Detta motsvarar enligt JECFA¹ en livstidsrisk på ett extra cancerfall per 100 000 till 1000 000 individer och är en risknivå som Livsmedelsverket anser som tolerabel för naturligt förekommande toxiner. Enligt Tabell 9 framgår det att konsumentgruppen med invandrabakgrund som äter ris två gånger per dag, sju dagar i veckan, uppskattas ha ett intag på över 1 nanogram aflatoxin per kilo kroppsvikt och dag från ris (intag från till exempel nötter, fröer, torkade kryddor och torkad frukt är inte medräknad). Om hänsyn tas till en ökning av riskonsumtionen i Sverige på 100 % mellan 1997 och 2005 hamnar alla högekonsumenter av basmatiris strax över riktvärdet, det vill säga 1 nanogram per kilo kroppsvikt och dag, oavsett från vilket typ av butik riset är inköpt. Om man utesluter basmati råris från beräkningarna sänks det uppskattade intaget av aflatoxin från basmatiris till 2 nanogram aflatoxin per kilo kroppsvikt och dag för konsumenter med invandrabakgrund och till 0,8 respektive 1,1 nanogram aflatoxin per kilo kroppsvikt och dag för högekonsumenter av kvinnor respektive män (baserat på statistik från FAOSTAT).

¹ Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/en/>

Sammanfattande slutsatser

Studien ”Mögel och mykotoxiner i ris” omfattar mykologisk och kemisk analys av aflatoxin och ochratoxin A i 102 risprover varav 99 prover togs i butiksled i svenska livsmedelsaffärer i framförallt Stockholm, Uppsala och Malmö. Majoriteten av proverna (72 %) var av typen basmati och inköptes från butiker med övervägande etniska produkter (55 %).

Mögelgiftet aflatoxin påvisades i 47 % av det totala antalet risprover och i 63 % av basmatiriset. Tolv av risproverna innehöll halter av aflatoxin som låg på gränsen eller över det europeiska gränsvärdet på 2 ppb (mikrogram per kilo) för aflatoxin B₁ eller 4 ppb för summan av aflatoxin B₁, B₂, G₁ och G₂. Två av proverna var av typen jasminris (varav ett rårís) men övriga var av typen basmati (varav ett rårís). Ochratoxin A påvisades inte i något av proverna. Endast i enstaka fall fanns en överensstämmelse mellan halten mögelgift och halten mögelsvamp vilket visar att mykologisk analys inte ger ett bra mått på halten mögelgift i torkat ris. Det beror bland annat på att mögelsvamparna dör under den långa lagringstiden men också på att mögelsvamparna kan ha avlägsnats med skaldelarna under processen medan mögelgiftet kan ha trängt in i själva riskornet. Däremot visade de mykologiska studierna att den aflatoxinbildande arten *Aspergillus flavus* är vanligt förekommande i ris och att felhantering av riset i produktionsled innebär en risk för tillväxt och bildning av aflatoxin.

Endast åtta jasminris analyserades totalt varav två (25 %) innehöll en påvisbar halt av aflatoxin som båda överskred gränsvärdet för aflatoxin B₁. Det kan innebära att aflatoxin är vanligt även i jasminris och detta bör studeras närmare.

Eftersom ris är en basföda för många etniska grupper behöver inte halten vara så hög för dessa konsumenter skall få ett dagligt intag av aflatoxin som överskrider riktvärdet för tolerabelt dagligt intag på 1 nanogram per kilo kroppsvikt och dag. Baserat på resultaten från denna studie och en uppskattning av hur mycket ris som konsumeras i Sverige gjordes en uppskattning för intaget av aflatoxin från ris. Den visade att konsumenter som äter ris två gånger per dag, sju dagar i veckan, och som framförallt äter basmatiris från lokala butiker med övervägande etniska produkter, kan ha ett intag av aflatoxin på cirka 4 nanogram per kilo kroppsvikt och dag. Det innebär en livstidsrisk på fyra extra cancerfall per 100 000 till 1000 000 individer (enligt JECFA riskvärdering).

De europeiska gränsvärdena för aflatoxiner är lägre än motsvarande gränsvärden i de länder där ris odlas och förädlas. Det är därför sannolikt att det ris som konsumeras i dessa länder innehåller lika mycket eller mer aflatoxin som det ris som importeras till Sverige. Konsumtionen av ris är också mycket mer omfattande i producentländerna eftersom hela befolkningen har en hög konsumtion av ris jämfört med i Sverige, där endast en mindre grupp av hela befolkningen konsumerar lika mycket ris per dag. För befolkningen i producentländerna innebär intaget av aflatoxin från ris däremot en förhöjd risk för cancer till följd av aflatoxin i ris.

Denna studie visar att det är befogat med utökade kontrollåtgärder som kompletterar livsmedelsföretagens egenkontroll såsom införande av importkontroll på basmatiris samt att Livsmedelsverket inkluderar ris och främst basmatiris i sitt kontrollprogram för aflatoxin i spannmål.

Tack!

Vi vill tacka FOOD DIAGNOSTICS i Göteborg för ett förmånligt pris på snabbkitet RIDA®QUICK Aflatoxin från R-Biopharm AG.

Referenser

1. Juliano B. Rice in human nutrition. Rome: Food and agriculture organization of the United Nations, 1993.
2. Bradbury L, Fitzgerald T, Henry R, Waters D. The gene for fragrance. *Plant Biotechnology Journal* 2005;3:363-370.
3. Bhattacharjee P, Singhal R, Kulkarni P. Basmati rice: a review. *International Journal of Food Science and Technology* 2002;37:1-12.
4. Pitt J, Hocking A, Bhudhasamai K, Miscamble B, Wheeler K, Tanboon-Ek P. The normal mycoflora of commodities from Thailand. 2. Beans, rice, small grains and other commodities. *Int J Food Microbiol.* 1994;23:35-53.
5. Pacin A, Gonzáles H, Etcheverry M, Resnik S, Vivas L, Espin S. Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia* 2002;156:87-92.
6. Bandara J, Vithanage A, Bean G. Effect of parboiling and bran removal on aflatoxin levels in Sri Lankan rice. *Mycopathologia* 1991;115:31-35.
7. Sales E, Yoshizawa T. Updated profile of aflatoxin and *Aspergillus* section *Flavi* contamination in rice and its byproducts from the Philippines. *Food Additives and Contamination* 2005;22:429-436.
8. Escobar A, Regueiro O. Determination of aflatoxin B₁ in food and feedstuffs in Cuba (1990 through 1996) using an immunoenzymatic reagent kit (Aflacen). *Journal of Food Protection* 2002;65:219-221.
9. Park J, Kim E, Kim Y. Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B₁ through food consumption. *Food Additives and Contamination* 2004;21:70-75.
10. Park W, Choi S, Hwang H, Kim Y. Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans. *International Journal of Food Microbiology.* 2005;103:305-314.
11. Abdullah N, Nawawi A, Othman I. Survey of fungal counts and natural occurrence of aflatoxins in Malaysian starch-based foods. *Mycopathologia* 1998;143:53-58.
12. Kim E, Kim Y, Shon D, Ryu D, Chung S. Natural occurrence of fumonisin B₁ in Korean rice and its processed food by enzyme-linked immunosorbent assay. *Food Science and Biotechnology* 1998;7:221-224.
13. Bandara J, Vithanage A, Bean G. Occurrence of aflatoxin in paraboiled rice in Sri Lanka. *Mycopathologia* 1991;116:65-70.

14. Osman N, Abdelgadir A, Moss M, Bener A. Aflatoxin contamination of rice in the United Arab Emirates. *Mycotoxin Research* 1999;15:39-44.
15. Toteja G, Mukherejee A, Diwakar Set al. Aflatoxin B₁ contamination of parboiled rice samples collected from different states of India: A multi-centered study. *Food Additives and Contamination* 2006;23:411-414.
16. Sangare-Tigori B, Moukha S, Koudadio H, Betbeder A-M, Dano D, Creppy EE. Co-occurrence of aflatoxin B₁, fumonisin B₁, ochratoxin A and zearalenone in cereals and peanuts from Côte d'Ivoire. *Food Additives and Contamination* 2006;23:1000-1007.
17. Candlish A, Pearson S, Aidoo K, Smith J, Kelly B, Irvine H. A survey of ethnic food for microbial quality and aflatoxin content. *Food Additives and Contamination* 2001;18:129-136.
18. Gonzáles L, Juan C, Soriano J, Moltó J, Mañes J. Occurrence and daily intake of ochratoxin A of organic and non-organic rice and rice product. *International Journal of Food Microbiology* 2006;107:223-227.
19. Liu Z, Gao J, Yu J. Aflatoxin in stored maize and rice grains in Liaoning. *Journal of Stored Products Research* 2006;42:468-479.
20. Jayaraman P, Kalyanasundaram I. Natural occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in rice bran. *Mycopathologia* 1990;110:81-85.
21. Jayaraman P, Kalyanasundaram I. Changes in moisture content, mycoflora and aflatoxin content of rice bran during storage. *Mycopathologia* 1994;126:115-120.
22. Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain E. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the potential increase of consumers health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxin in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products 2007.
23. Becker W, Pearson M. Kostvanor och näringsintag i Sverige - Metod och resultatanalys *Riksmaten 1997-98*. Uppsala: Livsmedelsverket, 1997.
24. Provkök KoI. Mått för mat. ICA Förlaget, Västerås, 2000.
25. Nordström E. En biprodukt från ris som källa till aflatoxin i mjölk *SVA-vet*, 2007:10-11.
26. Samson R, Hoekstra E, Frisvad J. Introduction to food- and airborne fungi. Utrecht: Centraalbureau voor schimmelcultures, 2004.
27. Manabe M, Tsuruta O. Mycoflora and mycotoxins in stored rice grain. In: Chelkowski J, ed. *Cereal grain: Mycotoxins, Fungi and Quality in Drying and Storage*. Amsterdam: Elsevier, 1991.

Bilaga 1: Följesedel provtagning

Endast ett prov per följesedel. Vänligen fyll, om möjligt, i alla uppgifter.
Denna följesedel kan användas som ett stöd vid inhandlandet av prover och vid sammanställning av provdata.

1. **Provtagarens namn:**

2. **Provtagningsdatum:**

3. **Prov ID:**
M-nummer

4. Prov

Endast torra prov utan inblandning av andra produkter kan undersökas.

- Basmatiris
- Fullkornsrís
- Jasminrís
- Matris
- Ráris
- Annat

Namn på fabrikat: _____

Förpackningsdag: Framgår ej

Bäst-före-datum: Framgår ej

Ursprungsland: Framgår ej

5. Provtagningsplats

Namn på butik: _____

Typ av butik:

- Större butikskedja (ex ICIRKA. Coop)
- Mindre lokal butik
- Hälsokostbutik
- Butik med övervägande etniska produkter
- Övrig butik:

6. Typ av förpackning

- Förpackning av papper/kartong/plast

- Lösvikt

7. Delprovets antal och storlek

Proverna för detta projekt skall tas i butiker (inte grossister) och där förekommer troligen mest små partier (≤ 100 kg) varför 10 eller färre antal delprov (enskilda prov) anses räcka. Provtagning i butiksled skall i möjligaste mån följa direktivet (LIVS FS 2002:49), men när detta inte är möjligt får alternativ provtagning ske förutsatt att den är tillräckligt representativ och dokumenterad. Nedanstående förslag ska följas i detta projekt. Ett samlingsprov bör, om möjligt, inte bestå av blandningar från olika "batcher". För produkter i lösvikt tas delproven ut i olika delar av partiet/förvaringskärlet.

Antal delprover	Delprovets vikt	Samplingsprovets vikt
(4-)10	100 g	≥ 1 kg

Antal delprov:

- 10
- 4
- Annat:

Delprovets vikt (förpackningsstorlek):..... (uppskattat i g)

Samplingsprovets vikt:.....(g)

8. Övrig information om provets skick, provtagning eller annat

.....
.....
.....

9. Adresser

Samplingsprovet skickas/lämnas till Ann Gidlund eller Lisa Fredlund, Livsmedelsverket.

1. Algtoxiner i avsaltat dricksvattena.
2. Nationellt tillsynsprojekt 2006 om livsmedelsmärkning.
3. Indikatorer för bra matvanor av W Becker.
4. Interkalibrering av laboratorier: Mikrobiologi – Livsmedel, januari 2007 av C Normark och K Mykkänen.
5. Proficiency Testing – Food Chemistry, Nutritional Components of Food, Round N-39 by L Merino and M Åström.
6. Nutrient Analysis of Dairy Foods and Vegetarian Dishes by M Arnemo, M Arnemo, S Johansson, L Jorhem, I Mattisson, S Wretling and C Åstrand.
7. Proficiency Testing: Food Chemistry, Trace Elements in Food, Round T:14 by C Åstrand and L Jorhem.
8. Riskprofil: Yersinia enterocolitica av S Thisted Lambertz.
9. Riskvärdering av persistenta klorerade och bromerade miljöföroreningar i livsmedel av E Ankarberg, M A, G Concha, P O Darnerud, A Glynn, S Lignell och A Törnkvist.
10. Riskvärdering av metylkvicksilver i fisk av K Petersson-Grawé, G Concha och E Ankarberg.
11. Risk assessment of non-developmental health effects of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in food by A Hanberg, M Öberg, S Sand, P O Darnerud and A Glynn.
12. Fiskkonsumtion: risk och nytta av W Becker, P O Darnerud och K Petersson-Grawé.
13. Riksprojekt 2006: Mögel och mykotoxiner av P Johnsson och A M Thim.
14. Interkalibrering av laboratorier: Mikrobiologi – Livsmedel, April 2007 av C Normark och K Mykkänen.
15. Rapportering av livsmedelskontrollen 2006 av Doris Rosling.
16. Interkalibrering av laboratorier: Mikrobiologi – Dricksvatten 2007:1, mars av T Šlapokas och C Gunnarsson.
17. Rapportering av dricksvattenkontrollen 2006 av D Rosling.
18. Kontroll av rests substanser i levande djur och animaliska livsmedel; Resultat 2006 av I Nordlander, H Green och I Nilsson.
19. Lead Extracted from Ceramics under Household Conditions by L Jorhem, P Fjeldal, B Sundström and K Svensson.
20. Proficiency Testing – Food Chemistry, Nutritional Components of Food, Round N-40 by L Merino and M Åström.
21. Proficiency Testing – Food Chemistry, Vitamins in Foods, Round V-5 by H S Strandler and A Staffas.
22. Proficiency Testing – Food Chemistry, Trace Elements in Food, Round T-15 by C Åstrand and L Jorhem.
23. Fördjupad kartläggning av bekämpningsmedelsrester i färska ekologiska frukter och grönsaker 2006-2007; slutrapport av P Bergkvist, L Wallin, A Andersson, A Strömberg, M Pearson och A Önell.
24. Interkalibrering av laboratorier; – Mikrobiologi – Dricksvatten 2007:2 September av T Šlapokas och C Gunnarsson.
25. Interkalibrering av laboratorier – Mikrobiologi - Livsmedel Oktober 2007 av C Normark och K Mykkänen.
26. Kontrollprojekt om nyckelhålmärkning 2007 av I Lindeberg, A Laser Reuterswärd och L Janson.

1. Mikroprofil Nötkreatur. Kartläggning av mikroorganismer på slaktkroppar av M Lindblad.
2. Mögel och mykotoxiner i ris – fokus på basmati och rårís av E Fredlund och A M Thim.

