



Rapport

Mattilsynets overvåkings- og kartleggingsprogram for mykotoksiner i næringsmidler 2008-2010.

Per-Erik Clasen

Jens Børsum

Forord

På oppdrag for Mattilsynet har Veterinærinstituttet (VI) analysert mykotoksiner i ulike vegetabiliske matvarer solgt på det norske markedet. Prøvene er tatt ut som en del av Mattilsynets overvåkings- og kartleggingsprogram for mykotoksiner i næringsmidler.

Prosjektet har gått over 3 år fra 2008 til 2010 for å ta hensyn til at det er variasjon i mykotoksininnhold og fordeling av mykotoksinet i kornet for de ulike vekstsesonger.

Denne rapporten oppsummerer både prøvene for 2010 og prøver tatt alle 3 årene. Prøvene for 2010 har blitt analysert på Avdeling for fôr- og mattrygghet, Seksjon for kjemi, i perioden februar til desember 2010.

Kontaktpersoner i Mattilsynet har vært Torunn Stalheim og Birgitte Lyrån, Seksjon planter og vegetabilsk mat, Tilsynsavdelingen, Hovedkontoret.

Oslo, mai 2011

Per-Erik Clasen
Overingeniør

Jens Børsum
Seksjonsleder

Sammendrag

I Mattilsynets overvåkings- og kartleggingsprogram for mykotoksiner i næringsmidler ble det i 2010 samlet inn 185 prøver av ulike kornprodukter på det norske markedet. Disse ble analysert for trichothecenene deoksynivalenol (DON), nivalenol, HT-2 og T-2 toksin, samt zearalenon. Alle toksinene dannes av ulike muggsopp fra slekten *Fusarium*. Kornprøvene fordelte seg på 50 prøver av siktet hvetemel, 42 prøver av sammalt hvetemel, 26 prøver av hvetekli (kruskakli), 32 prøver av havregryn og 35 prøver av andre kornprodukter. Det ble analysert for okratoksin A i 26 prøver av rosiner og 15 prøver av aprikos. I tillegg ble det analysert for patulin i 15 prøver av eplejuice og aflatoksin B1, B2, G1 og G2 i 9 prøver av pinjekjerner.

Konsentrasjonen av DON, det vanligste fusariumtoksinet norsk korn, var høye i siktet hvetemel. Den høyeste konsentrasjon av DON i siktet hvetemel var 935 µg/kg. Tilsvarende tall for 2008 og 2009 var henholdsvis 639 og 1123 µg/kg. I 2010 ble den høyeste DON verdien i sammalt hvetemel målt til 997 µg/kg. Tilsvarende tall for 2008 og 2009 var henholdsvis 430 og 623 µg/kg. Den høyeste konsentrasjon av DON i hvetekli var 798 µg/kg. Tilsvarende tall for 2008 og 2009 var henholdsvis 1093 og 295 µg/kg. Det ble funnet omtrentlig samme gjennomsnittsnivå av DON i de ulike hveteproduktene alle de 3 årene.

I 2010 ble den høyeste konsentrasjonen av DON i havregryn målt til 523 µg/kg. Tilsvarende tall for 2008 og 2009 var henholdsvis 520 og 776 µg/kg. Det ble kun funnet spormengder av HT-2 i havregryn i perioden fra 2008-2009, med unntak av en prøve i 2009, som ble målt til 124 µg/kg for summen av HT-2 og T-2 toksin. I 2010 ble det funnet en prøve av siktet hvetemel, en prøve av sammalt hvetemel, samt en prøve av havrekli som hadde verdier over gjeldene grenseverdi for DON (750 µg/kg). Men produktene ble ikke trukket fra markedet da analyseverdiene var under grenseverdien ved fratrukk av utvidet analyseusikkerhet. I 2008 ble 2 prøver av hvetekli funnet over grenseverdien til DON, men kun en av dem var over 750 µg/kg ved fratrukk av utvidet usikkerhet. I 2009 ble to prøver av siktet hvetemel samt en prøve av havregryn funnet over grenseverdien til DON, men partiene ble ikke trukket fra markedet da de ved fratrukk av utvidet usikkerhet kom under grenseverdien til DON.

Det ble i tillegg analysert 34 prøver av ulike frokostblandinger i 2010. Høyeste målte prøve var 623 µg/kg, mens gjennomsnittet var 86 µg/kg. Det ble ikke påvist HT-2 og T-2 toksin i prøvene med unntak av spormengder av HT-2 i en prøve.

I 2008 ble det analysert 21 prøver av ulike barnegrøter. Høyeste målte DON verdi var 70 µg/kg, med et gjennomsnitt på 18 µg/kg. T-2 og HT-2 ble ikke funnet i barnegrøtene.

Det ble totalt analysert 9 prøver av pinjekjerner i 2010, hvorav to ble påvist å inneholde aflatoksin B1 over grenseverdien. Det var imidlertid kun en av dem som var over grenseverdien ved fratrukk av utvidet analyseusikkerhet.

I 2010 ble okratoksin A påvist i samtlige prøver av rosiner (26 prøver). Den høyeste verdien var 15,6 µg/kg, med en snittverdi på 2,0 µg/kg. Grenseverdien for okratoksin A i rosiner er 10 µg/kg. Produktet med okratoksin A over grenseverdien ble ikke trukket fra markedet da analyseverdien var under grenseverdien ved

fratrekk av utvidet analyseusikkerhet. I årene 2008-2009 var den høyeste mengden okratoksin A i rosiner henholdsvis 1,9 og 4,4 µg/kg. Gjennomsnittet var 0,55 µg/kg for 2008 og 0,92 µg/kg for 2009. I aprikosprøvene ble det for 2010 påvist okratoksin A i 14 av totalt 15 prøver men verdiene var svært lave. Tilsvarende lave funn ble gjort i 2008-2009, med et unntak hvor det i 2009 ble funnet en prøve med en verdi på 9,7 µg/kg.

I eplejuiceprøvene ble det for 2010 påvist patulin i 6 av totalt 15 prøver med høyeste verdi lik 37 µg/kg (grenseverdi på 50 µg/kg). En tilsvarende undersøkelse ble gjort i 2008. I totalt 9 av 19 prøver ble det påvist patulin, med høyeste verdi lik 24 µg/kg.

I perioden fra 2008-2009 ble det gjort undersøkelse av aflatoksin nivået i ris, med spesielt fokus på jasmin- og basmatiris. I 2008 og 2009 ble det analysert henholdsvis 10 og 14 prøver av jasminris. Kun en prøve i 2008 inneholdt spormengder av aflatoksin B1. Tilsvarende ble det analysert 16 prøver av basmatiris 2008 og 11 i 2009. I 2008 ble det påvist aflatoksin B1 i totalt 10 av 16 prøver med høyeste målte verdi på 9,8 µg/kg av aflatoksin B1. Dette partiet ble trukket fra markedet da den lå over grenseverdien selv etter fratrett av utvidet usikkerhet. I 2009 ble det påvist aflatoksin i totalt 4 av 11 prøver av basmatiris, med høyeste verdi lik 1,6 µg/kg. Det ble i tillegg gjort analyser av andre typer ris, henholdsvis 15 prøver i 2008 samt 10 prøver i 2009. Det ble ikke påvist aflatoksin i noen av prøvene.

I 2009 ble 12 prøver av peanøtter analysert for aflatoksiner. Det ble ikke påvist aflatoksiner i noen av prøvene.

Hensikten med prosjektet

Hensikten med prosjektet har vært å få en oversikt over innholdet av ulike mykotoksiner i utvalgte næringsmidler solgt på det norske markedet. Det er viktig at en slik kartlegging foregår over flere år da innhold av mykotoksiner i korn er avhengig av været og varierer betydelig fra år til år. Hovedfokus har vært å få en oversikt over nivåene av trichothecener og zearalenon i bearbeidet korn solgt på det norske markedet. Hovedproduktene har vært siktet hvetemel, sammalt hvetemel, hvetekli og havregryn. Målet er å få et best mulig grunnlag for å kunne beregne inntaket av de ulike trichothecenene via kornprodukter. I tillegg har det vært et mål å identifisere de viktigste kildene til de ulike trichothecenene.

Det ble også besluttet å kartlegge aflatoksin (B1, B2, G1 og G2) i ris solgt på det norske markedet. Bakgrunnen for dette var en rapport utgitt av Livsmedelsverket i Sverige i 2008 (Rapport 2, 2008 Livsmedelverket) hvor de fant overskridelser av grenseverdiene for aflatoksiner i flere partier av basmatiris.

De siste årene har det vært et stadig økende antall produkter av diverse tørkede frukter i norske butikker. Nivået av okratoksin A i rosiner har blitt undersøkt tidligere, mens man har lite informasjon om innhold av mykotoksiner i andre tørkede produkter på det norske markedet. Innholdet av mykotoksiner i forskjellige typer tørket frukt ble derfor undersøkt i løpet av prosjektperioden.

Kartleggingen av trichothecen- og zearalenonnivået i norsk matkorn har foregått alle tre år. Hvilke andre mykotoksiner og næringsmidler som har inngått i kartleggingen har variert de tre årene prosjektet har pågått.

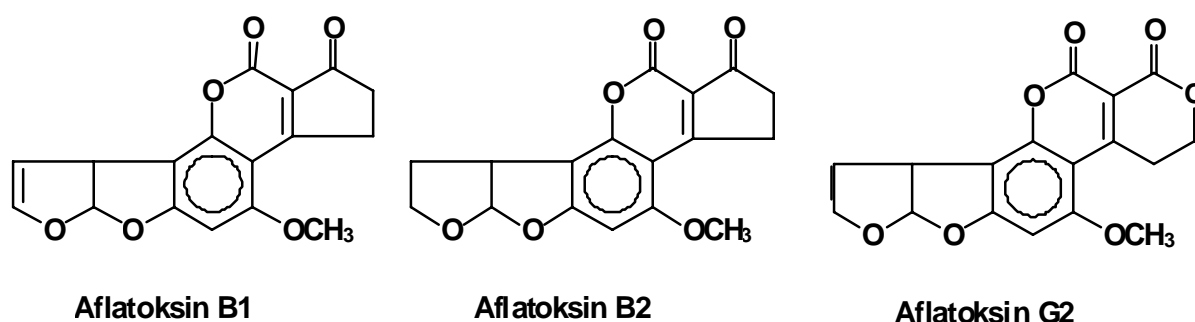
Innledning

Mykotoksiner er sekundære metabolitter produsert av ulike muggsopparter. Det er ikke alle sopparter som produserer mykotoksiner. Noen arter produserer kun et enkelt mykotoksin, mens andre kan produsere flere. Enkelte mykotoksiner kan også produseres av flere sopparter. De mest kjente mykotoksinene inkluderer aflatoksiner, okratoksin A, trichothecener, zearalenon og fumonisiner. Kjente soppleskter er *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* og *Alternaria*.

Klima og de årlige variasjonene i været har en stor innvirkning på hvilke sopparter og hvilke mykotoksiner som dannes. Muggsoppartene kan kontaminere korn ute på åkeren, eller de kan dannes under lagring. På norskprodusert korn har forekomst av fusariumtoksiner høy fokus, mens aflatoksiner i nøtter er viktig for importerte varer.

Aflatoksiner

Aflatoksiner er en gruppe strukturelt svært like mykotoksiner (muggsoppgifter) produsert av soppartene *Aspergillus flavus* og *A. parasiticus*. De vanligste mykotoksinene som forekommer i næringsmidler er aflatoksinene B₁, B₂, G₁ og G₂, der B₁ (se figur 1) normalt dominerer. Aflatoksin B₁ var et av de første mykotoksinene som ble isolert og karakterisert. *Aspergillus* artene trives best under både varme og fuktige klimatiske forhold. Det er landene i de subtropiske områdene som er særlig utsatt for vekst av *Aspergillus* og dannelse av aflatoksiner. Pistasjnøtter, paranøtter, peanøtter, mais, ris, bomullsfrø, fiken og krydder er blant de mest utsatte næringsmidlene.



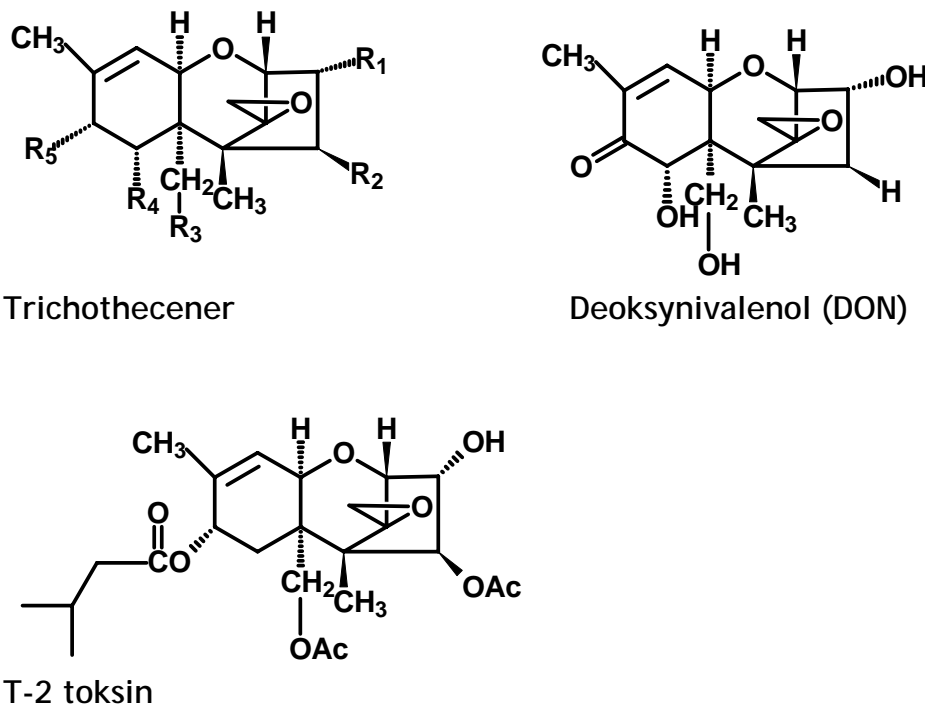
Figur 1. De kjemiske strukturene for aflatoksin B₁, B₂ og G₂.

Aflatoksin B₁ er akutt levertoksisk både for dyr og mennesker, og er i tillegg sterkt leverkreftfremkallende. Toksinet er klassifisert som humant karsinogen av IARC (1993); «Sufficient evidence for carcinogenicity to human», Klasse 1. Det er i flere

epidemiologiske undersøkelser fra Afrika funnet en klar sammenheng mellom eksponering for hepatitt B virus, inntak av aflatoksiner og leverkreft. WHO-eksperter (JECFA, 1999) vurderte disse spørsmålene, og fant at risikoen for leverkreft assosiert med inntak av aflatoksiner er betydelig lavere i befolkningsgrupper hvor hepatitt B er sjelden (som i Norge). Aflatoksin B₁ er i tillegg vist å ha nyretoksisk effekt og virke immunosuppressivt på forsøksdyr. Aflatoksiner anses for å være direkte genskadelige. Det betyr at en hver eksponering for aflatoksin kan medføre en viss økning i risiko for kreft. WHO og FAO sin ekspertkomité for tilsetningsstoffer og kontaminanter i matvarer (JECFA) har beregnet hvor stor risikoen for kreftutvikling er, og grenseverdier er fastsatt blant annet på bakgrunn av disse beregningene (EFSA, 2007).

Trichothecener

Trichothecenene er den største gruppa av fusariumtoksiner. Trichothecenene kan deles opp i gruppene A, B, C og D. Det er først og fremst gruppe A og B trichothecener som dannes av *Fusarium* arter som vokser på korn. Gruppe B omfatter bl.a. deksynivalenol (DON) (se figur 2), som er det fusariumtoksinet som påvises oftest og i høyest konsentrasjoner både i Norge og det meste av verden (Sundheim *et al.* 1988, Chelkowski 1989, Langseth og Elen 1996, 1997). I tillegg tilhører 3-acetyl-DON, nivalenol og fusarenon-X til denne gruppa av trichothecener. Til gruppe A hører bl.a. T-2 toksin (T-2) og HT-2 toksin (HT-2). Hovedforskjellen i den kjemiske strukturen mellom gruppe A og B trichothecener er karbonylgruppen som en finner i gruppe B trichothecener, men som ikke er tilstede i gruppe A trichothecener. Disse ulikhetene gjør at gruppe B trichothecener er mer polare enn gruppe A.



Figur 2. De kjemiske strukturene for DON og T-2 toksin.

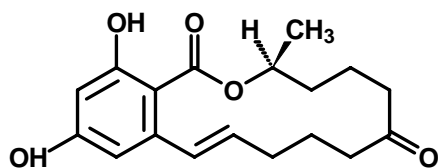
Toksisiteten av trichothecenene har vært forklart med deres evne til å hemme proteinsyntesen, men det har i de senere årene blitt klart at det er flere forklaringer på effektene. Symptomer hos dyr forårsaket av gruppe B trichothecenene er normalt forvegring, redusert forutnyttelse, diaré og tildels oppkast. Det har blitt observert redusert forinntak og redusert tilvekst hos slaktegris som har blitt foret med fôr med nivåer av DON ned til 0,5-2 mg DON pr. kg (Bergsjø *et al.* 1993, Øvernes *et al.* 1997, lave doser av DON har imidlertid vist å kunne være immunstimulerende.

Toksisiteten av nivalenol synes å være på samme nivå som for DON, men det er gjort langt færre foringsforsøk med dette toksinet (Eriksen og Alexander 1998). Gruppe A trichothecenene er generelt mer toksiske enn gruppe B-toksinene. T-2 er antydnet å være ca. 10 ganger mer akutt toksisk enn DON (JECFA, 2002). T-2 kan indusere DNA fragmentering som er karakteristisk for apoptose. T-2 kan også gi nekroser, indre blødninger, og endring av blodparametere. Gruppe A toksinene synes å være relativt sterkt immunsuppressive (JECFA, 2002). Det er også funnet at T-2 har innvirkning på neurotransmitterne i hjernen hos rotter og kylling. Trichothecener brytes ned i magen hos drøvtyggere og er dermed lite giftig for disse.

DON er senest evaluert av FAO/WHO i 2010 der det ble besluttet å opprettholde den tidligere tolerable ukentlige inntaket på 1 µg/kg kv. Denne gjelder for summen av DON og de acetylerede formene. TDI for summen av T-2 og HT-2 ligger på 0,6 µg/kg kv (JECFA 2001).

Zearalenon

Zearalenon er et annet mykotoksin som produseres av *Fusarium* (se figur 3). Zearalenon dannes delvis av de samme *Fusarium* artene som produserer DON. Zearalenon absorberes raskt etter inntak, og α - og β - zearalenol er de viktigste metabolittene. Hos gris og mennesker skiller det i hovedsak ut som α -zearalenol, og da i vesentlig grad gjennom urinen (JECFA, 2000). Halveringstida hos mennesker er ca 22 timer. Zearalenon er lite akutt toksisk, men det har en østrogenlignende effekt. α -zearalenol har ca 5 ganger sterkere østrogen effekt enn zearalenon. Zearalenon er vist å gi ulike reproduksjonsforstyrrelser og hormonelle forstyrrelser. Det er også observert økt frekvens av dødfødte, mindre kull og endret fertilitetssyklus hos gris. Det er gjort få studier av effekten av zearalenon på immunsystemet, men det er kjent at andre østrogener er kjent for å påvirke immunsystemet. Zearalenon er i likhet med trichothecenene betraktet som ikke klassifiserbar som humant karsinogent, klasse 3 (IARC 1993). JECFA har fastsatt en TDI for zearalenon på 0,5 µg/kg kv (JECFA 1999).



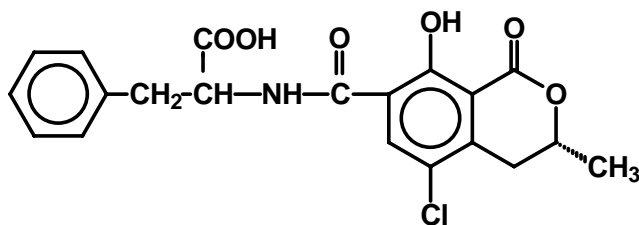
Zearalenon

Figur 3. Den kjemiske strukturen for zearalenon.

Okratoksin A

Okratoksin A er det mest kjente *Penicillium*-toksinet (se figur 4). Det er beskrevet flere okratoksin-metabolitter, men okratoksin A er den metabolitten som forekommer oftest i naturlig kontaminert mat og fôr. Okratoksin A påvises oftest i korn, belgfrukter, kaffebønner, enkelte tørkede frukter, samt saft og vin produsert av druer. Det er først og fremst enmagede dyr, inklusiv mennesket, som er følsomme for okratoksin A. Hos drøvtyggere brytes okratoksin A i stor grad ned i vomma til ochratoksin α , som har meget lav toksisitet (Krogh, 1987), slik at inntak av kumelk ikke har vært betraktet som en kilde til okratoksin A. Toksinet er nyretoksisk, og er antatt å være hovedårsaken til de såkalte muggnefrosene hos svin, som er observert i Danmark siden 1920-tallet. Det har lenge vært mistanke om at okratoksin A er en viktig årsaksfaktor til Balkan nefropati, en endemisk nyrelidelse hos landsbybefolkningen i områder av Romania, Bulgaria og tidligere Jugoslavia. Selv om det er nyreskaden som er mest uttalt, har nyere forskning vist at okratoksin A også har andre effekter, som har vært av vel så stor betydning ved risikovurderinger og beregning av akseptabelt daglig inntak for mennesker. Okratoksin A er karsinogent i en del forsøksdyr. Undersøkelser kan også tyde på at det er sammenheng mellom høy eksponering for okratoksin A og kreft i urinveiene hos mennesker, men bevismaterialet er ikke entydig. Okratoksin A er i dag klassifisert som «Mulig humant karsinogent» (klasse 2B) av International Agency for Research on Cancer (IARC 1993). I nyere risikovurderinger antas det at okratoksin A er indirekte gentoksisk, og dermed at det finnes en terskelverdi der doser lavere enn dette ikke har effekt. I tillegg svekker okratoksin A både den cellulære og humorale delen av immunsystemet. Det er forskere i dag som mener at okratoksin A og enkelte andre mykotoksiner, spesielt i kornet, kan ha vært en viktig medvirkende årsak til en rekke epidemier i Europa fram til siste århundreskiftet. Toksinenes evne til å svekke immunforsvaret gjorde menneskene mer mottakelig for andre sykdommer. Okratoksin A er også funnet å ha fosterskadelig eller embryotoksisk effekt.

TDI for okratoksin A er satt til 0,12 $\mu\text{g}/\text{kg kv}$ av den europeiske ekspertkomiteen for mattrygghet (EFSA, 2006) og JECFA har kommet til en lignende TDI (0,1 $\mu\text{g}/\text{kg kv}$).



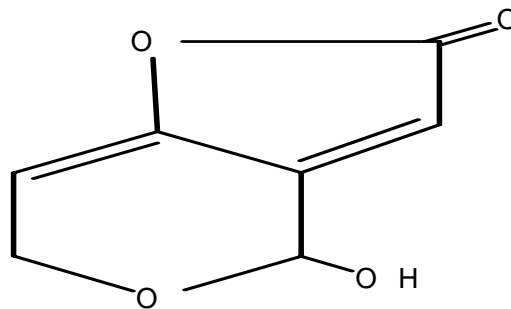
Okratoksin A

Figur 4. Den kjemiske strukturen for okratoksin A.

Patulin

Patulin er en metabolitt som produseres av soppsektene *Penicillium* og *Aspergillus*. Patulin er blitt funnet i en rekke matvarer som aprikos, pære, eple, oliven og korn. Eple er likevel det næringsmidlet hvor en finner de høyeste mengdene. Soppsektene som produserer patulin trives, som de fleste soppsekter, i fuktige omgivelser. Derfor bør en ved spesielt fuktige somre og høst ha en viss kontroll over nivået av patulin og da spesielt i juice og saftprodukter lagd av eple. Patulin kan forårsake skade på nyre og kan påvirke immunforsvaret ved at det påvirker DNA syntesen. Akutte effekter kan være pustevansker og lungeødem (JECFA, 1995).

JECFA fastsatte TDI til 0.4 µg/kg kv (JECFA 1995).



P a t u l i n

Figur 5. Den kjemiske strukturen for patulin.

Grenseverdier og vurdering av analyseresultater

Grenseverdier for mykotoksiner er gitt i forskrift av 27. september 2002 om visse forurensende stoffer i næringsmidler. Denne forskriften henviser til flere EU-rettsakter. Grenseverdiene er vurdert og foreslått av EFSA (Den europeiske myndighet for næringsmiddeltrygghet) og fastsatt av EU. Det er fastsatt grenseverdier for de fleste av de mykotoksinene som dette prosjektet omhandler (se tabell), unntaket er NIV, HT-2 og T-2 toksin.

Tabell 1: Grenseverdi for okratoksin A, patulin, aflatoksiner, zearalenon og DON i OK-programmets utvalgte næringsmidler.

Næringsmiddel	Okratoksin A	Patulin	Aflatoksiner, sum
Rosiner	10 µg/kg	-	-
Tørket frukt	(ikke grenseverdi)		
Eplesaft	-	50 µg/kg	-
Pinjekjerner, ris, peanøtter	-	-	4 µg/kg (B1: 2 µg/kg)
Næringsmiddel	Zearalenon	DON	T2 og HT2- toksiner
Siktet hvetemel	75 µg/kg	750 µg/kg	Det er anbefalt summen av T-2 og HT-2 i korn til mat ikke bør overskride 100 µg/kg
Sammalt hvetemel			
Kli av hvete og havre			
Havregryn	50 µg/kg	500 µg/kg	
Frokostblandinger			
Barnegrøt	20 µg/kg	200 µg/kg	

Alle analyseresultater vurderes opp mot grenseverdier for aktuelt produkt. For å vurdere om et analyseresultat er over grenseverdien, må gjenfinning og måleusikkerhet tas i betraktning. Analyseresultatet korrigeres for gjenfinning og utvidet måleusikkerhet oppgis av laboratoriet.

Mattilsynet vurderer om det er nødvendig å trekke et bestemt produkt fra markedet og om forbrukere skal informeres om tilbaketrekkingen. For produkter med grenseverdi, skjer tilbaketrekking dersom analyseresultatet, korrigert for gjenfinning og fratrukket den utvidede måleusikkerheten ligger over grenseverdien for det aktuelle produktet. For produkter uten grenseverdi, vurderes det om analyseresultatet er høyt og kan tenkes å utgjøre en helsefare.

Materiale og Metoder

Alle prøvene som inngår i overvåkings- og kartleggingsprogrammet for 2010 ble tatt ut av de lokale distriktskontorene i Mattilsynet i perioden april 2010 til desember 2010. Det er et omfattende regelverk for hvordan prøveuttaket for mykotoksinanalyser skal foregå, dette for å sikre at prøvetaking og analysemetoder ved offentlig kontroll av mykotoksiner i næringsmidler utføres ensartet. Prøvetakingsrutinene og kriterier for analyse er gitt i EU-forordning (EF) nr. 401/2006, som er implementert i Norge gjennom forskrift om visse forurensende stoffer i næringsmidler.

Analysemetode for bestemmelse av zearalenon

Prøvene ble analysert etter ZearalaTest Instruction Manual fra Vicam L.P, Watertown, MA, USA med noen modifikasjoner.

25,0 g av den malte kornprøven ble tatt ut og tilsatt 125 mL acetonitril - vann (75 + 25, v+v). Prøven ble ekstrahert først 3 min ved bruk av Ultra Turrax blender, deretter 1 time på ristemaskin. 10 mL prøve-ekstrakt ble fortynnet med 50 mL PBS-løsning og 30 mL av ekstraktet ble overført til en immunoaffinitetskolonne (Vicom). Kolonnen ble deretter vasket med 20 mL vann, for deretter å bli sugd tørr før zearalenon ble eluert ut med 2 mL metanol. Eluatet ble dampet inn til tørrhet, løst i 100 µL acetonitril + 200 µL 0,1 M fosforsyre, mikset og satt på ultralyd i 10 min. Ekstraktet ble igjen mikset før det ble sentrifugert ved 10 000 rpm gjennom et filter (Costar Spinn).

Zearalenon ble kvantifisert på HPLC utstyrt med fluorescens detektor.

Eksitasjonsbølgelengden var da 270 nm og emmisjonsbølgelengden 465 nm.

Analysekolonnen var en C18 kolonne med forkolonne. Mobilfasen bestod av acetonitril-0,01 M fosforsyre (40+60, v+v). Flow-hastigheten var 1 mL/min og injeksjonsvolumet 75 µL.

Analysemetode for bestemmelse av DON, nivalenol (NIV), HT-2 toksin, T-2 toksin

Metoden er basert på opprensning ved bruk av MycoSep#225 kolonner fra Romers Lab.

25 g av den malte kornprøven ble tatt ut og ekstrahert med 125 mL acetonitril - vann (84 + 16, v+v) i en time. 5 mL av ekstraktet ble rensert opp på MycoSep™ #225 kolonne (Romers Lab.). 3 mL av det opprensede ekstraktet ble overført til et derivatiseringsglass og dampet inn til tørrhet under nitrogen. Residuet ble løst i 1 mL benzen for å fjerne rester av vann, før ekstraktet igjen ble dampet inn til

tørhet. Trichothecenene ble derivatisert ved 60°C i en time etter tilsetning av 100 µL pentafluoropropionsyre anhydrid (PFPA) og 500 µL 0,4 M imidazol i toluen-acetonitril (85+15, v+v). Ekstraktet ble fortynnet med 500 µL heksan, og overskudd av derivatiseringsreagens fjernet ved vasking med 1 mL 5 % NaHCO₃ og deretter 1 mL vann. Natriumsulfat ble tilsatt for å fjerne rester av vann, og ekstraktet analysert på GC-MS utstyrt med splittless injektor og autosampler. Injeksjonsvolumet var 1 µL. Massespektrometeret ble operert i EI⁺ 70eV, SIM mode. Fusarenon-X ble benyttet som intern GC standard for DON og NIV. Dette ble gjort for å kompensere for variasjon i instrument responsen. Tilsvarende ble det brukt neosolaniol som internstandard for HT-2 og T-2 toksin. Kvantifiseringen var basert på en ekstern matriks assistert standardkurve bestående av de ulike trichothecenene.

Analysemetode for bestemmelse av aflatoksinene B1, B2, G1 og G2

Metoden baserer seg i stor grad på metode; Norsk Standard, NS-EN 12955; Bestemmelse av aflatoksin B1 og summen av aflatoksinene B1,B2,G1 og G2 i korn, nøtter og produkter av disse.

40 gram prøve ble veid inn og tilsatt 200 mL acetonitril-vann (60+40). Prøven ble deretter ristet på ristemaskin i 60 min. Løsninga ble filtrert gjennom et foldefilter, og 2 mL prøve-ekstrakt tilsatt 50 mL PBS-buffer. Prøve-ekstraktet ble deretter overført til en immunoaffinitetskolonne (Aflaprep, Rhône Diagnostics). Ekstraktet passerte kolonnen med jamn hastighet, 1-2 mL/min, til det var ca 1-2 mm igjen over stasjonærfasen. Kolonnen ble vasket med 10 mL vann, for deretter å bli sugd fullstendig tørr. Aflatoksinene ble eluert med 0,5 mL metanol, deretter ytterligere 0,75 mL metanol over i graderte spissrør. Metanolen ble i hvert tilfelle tilsatt kolonnen 1 min før elueringen startet. Kolonnen ble deretter sugd tørr. Vann ble til slutt tilsatt ekstraktet slik at totalvolumet ble 3,0 mL.

Aflatoksin B₁, B₂, G₁ og G₂ ble kvantifisert på HPLC utstyrt med autosampler, fluoresensdetektor (Shimadzu RF 10-AXL), og Kobra-celle (spenningsenhet) som var plassert mellom analysekolonnen og detektoren. Eksitasjonsbølgelengden var 365 nm og emmisjonsbølgelengden 435 nm. Kolonnen var en 150 x 4,6 mm i.d. Waters NovaPak, 5µm kolonne, og mobilfasen bestod av acetonitril + metanol + vann (18 + 27 + 55, v/v/v) tilsatt 120 mg kaliumbromid og 350 µL salpetersyre (4 mol/L) pr. liter mobilfase. Injeksjonsvolumet var 150 µL for både prøver og standarder. Aflatoksinene ble eluert ut i løpet av 5-10 min.

Analysemetode for bestemmelse av okratoksin A

Metoden baserer seg i stor grad på metode; Norsk Standard; NS-EN14132 og NS-EN 14133.

Hele prøven ble malt med vann i forholdet 1kg/2L vann. Men for enkelte prøvetyper var det nødvendig å tilsette mer vann for å sikre tilstrekkelig kontakt mellom prøven og løsningen. Dette skyldes at prøven "sugde" til seg så mye vann. 60 gram av denne slurryen ble veid inn og tilsatt 4 mL 1 M HCl, 5 gram NaCl og 40 mL kloroform. Prøven ble først ekstrahert med stavmikser (Ultra Turrax) i 3 min, deretter 1 time på ristemaskin. Etter ekstraksjonen ble ekstraktet filtrert og sentrifugert. Deretter ble 20 mL av kloroform fasen tilsatt 20 mL av

0,5 M NaHCO₃. Etter forsiktig ekstraksjon ble 10 mL av vannfasen tatt ut og fortynnet med 30 mL PBS-buffer og 350 µL 1 M HCl. Dette ekstraktet ble deretter overført til Ochraprep® immunoaffinitetskolonner (Rhône-Diagnostics, Scotland). Kolonnen ble vasket med 15 mL vann før okratoksin ble eluert med 3 mL metanol-eddiksyre 98+2 (v/v). Eluatet ble dampet inn til tørrhet under nitrogen, og inndampningsresten gjenoppløst i acetonitril-0,1 M fosforsyre 1+2 (v/v) for kvantifisering.

Okratoksin A ble kvantifisert på HPLC utstyrt med fluorescensdetektor (Shimadzu RF 10 AXL). Eksitasjonsbølglengden var 390 nm og emisjonsbølglengden 440 nm. Mobilfasen bestod av metanol-0,01 M fosforsyre 65+35 (v/v), og flowhastigheten 1 mL/min. Injeksjonsvolumet var 75 µL for både prøver og standarder.

Kvalitetssikring

Laboratoriet har vært akkreditert siden april 1998 og analysemetodene for bestemmelse av aflatoksiner, okratoksin A og trichothecener har vært akkreditert siden den gang.

Metodene for bestemmelse av zearalenon og patulin er ikke akkreditert. Men metodene er fullvalidert og har de samme metodekrav som de akkrediterte analysene.

I hver analyseserie som blir utført, blir det også kjørt referanseprøve eller kontrollprøve samt standard tilsetningsprøver. Hvis disse prøvene ikke kommer innenfor akseptable grenser, vil analyseserien bli kjørt på nytt igjen. Alle prøveresultatene ble korrigert for gjenfinning.

Veterinærinstituttet benytter Premier Analytical Services i England som underleverandør hvis det skulle oppstå instrumentelle problemer ved Veterinærinstituttet. Metodene deres er akkreditert og resultatene korrigeres for gjenfinning.

Resultater og diskusjon

Kornprodukter

Gjennomsnitt, høyeste verdi samt spredning (standard avvik) for ulike kornprodukter på det norske markedet i 2010, er gjengitt i tabellene fra 2-5, mens resultater fra hele 3-årsperioden er presentert i tabell 6 og 7. Beregninger av gjennomsnitt og standard avvik inkluderer også de prøver som er under deteksjonsgrensene. Det er da blitt benyttet halve deteksjonsgrensen som tallverdier.

Siktet hvetemel

50 av totalt 50 prøver av siktet hvetemel (100 %) ble funnet å inneholde DON over deteksjonsgrensen. Deteksjonsgrensen for DON og HT-2 toksin ble bestemt til 20 µg/kg. Deteksjonsgrensen for NIV og T-2 toksin ble bestemt til 30 µg/kg. Det ble ikke funnet NIV, HT-2 og T-2 toksin i prøver av siktet hvetemel. Tilsvarende for zearalenon (ZEA) ble det funnet 11 prøver (22 %) over deteksjonsgrensen (3,0 µg/kg).

Tabell 2: Mykotoksiner i siktet hvetemel fra 2010.

N=49	DON µg/kg	NIV µg/kg	HT-2 µg/kg	T-2 µg/kg	ZEA µg/kg
Gjennomsnitt	140	-	-	-	2,0
Høyeste verdi	935	-	-	-	5,5
Standard avvik	156	-	-	-	1,1

- ikke påvist

Sammalt hvetemel

42 av totalt 42 prøver (100 %) av sammalt hvetemel ble funnet å inneholde DON over deteksjonsgrensen. Det ble ikke funnet NIV, HT-2 og T-2 toksin i prøver av sammalt hvete. Tilsvarende for zearalenon (ZEA) ble det funnet 15 prøver (36 %) over deteksjonsgrensen (3,0 µg/kg).

Tabell 3: Mykotoksiner i sammalt hvetemel fra 2010.

N=42	DON µg/kg	NIV µg/kg	HT-2 µg/kg	T-2 µg/kg	ZEA µg/kg
Gjennomsnitt	121	-	-	-	2,8
Høyeste verdi	997	-	-	-	15,6
Standard avvik	165	-	-	-	2,7

- ikke påvist

Hvetekli

26 av totalt 26 prøver (100 %) av hvetekli (kruskakli) ble funnet å inneholde DON over deteksjonsgrensen på 20 µg/kg. Det ble funnet lave mengder av NIV, HT-2 og T-2 toksin i flere av prøvene, men ikke over 100 µg/kg av NIV og ikke over 50 µg/kg av HT-2 eller T-2 toksin. Tilsvarende for ZEA ble det funnet hele 16 av totalt 26 prøver (62 %) over deteksjonsgrensen.

Tabell 4: Mykotoksiner i hvetekli (Kruskakli) fra 2010

N=20	DON µg/kg	NIV µg/kg	HT-2 µg/kg	T-2 µg/kg	ZEA µg/kg
Gjennomsnitt	208	-	24	31	5,5
Høyeste verdi	798	-	34	34	26,4
Standard avvik	161	-	6,0	1,4	7,2

- ikke påvist

DON i siktet hvetemel, sammalt hvetemel og hvetekli

Gjennomsnittet av DON i siktet hvetemel (tabell 1), sammalt hvetemel (tabell 2) og hvetekli (tabell 3) var henholdsvis 140, 121 og 208 µg/kg. Det er noe overraskende at det ikke er større forskjell i gjennomsnittet mellom de ulike kornproduktene da de fleste undersøkelsene som er funnet i litteraturen viser at innholdet er høyest i de ytre delene av kornet. Faktisk er gjennomsnittet noe høyere i siktet hvetemel sammenlignet med sammalt hvete, men forskjellen er liten. Fra Norgesmøllene er det blitt oppgitt at sammalt hvete består av hele korn mens siktet hvetemel ligger på omtrent 80 % av kornet, det vil si det ytterste skallet (20 %) er tatt bort. DON konsentrasjonen i de ulike delene av hvetekornet kan variere fra år til år. Hvilke faktorer som påvirker hvor langt inn i kornet toksinene havner er lite undersøkt, men smittetidspunktet kan være avgjørende. Det finnes indikasjoner på at det ved år med høye konsentrasjoner av DON, finner en mer DON i selve kjernen enn i år med lite DON. En må likevel være forsiktig med å trekke konklusjoner ut av dette fordi en ikke kan sammenligne prøve for prøve for siktet hvetemel og sammalt hvete da det i denne undersøkelsen ikke er tatt prøver fra samme partier med korn fulgt gjennom prosesseringen på møllene.

Nivået av DON generelt i hvete, solgt på det norske markedet, tilsier at det er nyttig å foreta en kartlegging over flere år, siden det kan være store variasjoner mellom år. Det at tre partier, et av siktet hvetemel, et av sammalt hvete og et av hvetekli inneholdt nivåer av DON over grenseverdien (750 µg/kg), viser at det er nødvendig med en viss overvåking av disse produktene. Partiene ble imidlertid ikke trukket fra markedet fordi ved fratrekk av utvidet usikkerhet, havnet DON verdiene under grenseverdien.

Havregryn

Det ble totalt analysert 32 prøver av havregryn i 2010. Nivåene av DON er relativt lave og bare et parti ble funnet å inneholde DON over 500 µg/kg. Det ble kun funnet spormengder av HT-2 og T-2 i havregryn. Dette var som forventet da det også i fôrhavre ble funnet relativt lave konsentrasjoner av HT-2 og T-2 toksin høsten 2009 og 2010.

Tabell 5: Mykotoksiner i havregryn fra 2010.

n=34	DON µg/kg	NIV µg/kg	HT-2 µg/kg	T-2 µg/kg	ZEA µg/kg
Gjennomsnitt	174	-	-	-	2,1
Høyeste verdi	523	-	-	-	13
Standard avvik	114	-	-	-	2,2

- ikke påvist

Veterinærinstituttet utførte på oppdrag for Mattilsynet i perioden fra 2000-2001, en kartleggingsstudie hvor en så på fordelingen av trichothecener mellom skall og kjernedelene av havre og hvete. I tillegg ble det kjøpt inn kornprodukter fra butikker i Oslo-området. Resultatene for havre fra dette studiet viste at over 90 % av mengden av trichothecenen befant seg i skaldelen av havren. Analyse av

havregrynsprøver fra butikker gav lave mengder av trichothecener. Tilsvarende analyser av hveteprodukter fra butikker gav svært lave resultater for siktet hvetemel, og det ble funnet relativt lave mengder også i hvetekliprodukter, men klart høyere enn i siktet hvetemel. Denne undersøkelsen samsvarer dermed ikke helt med funn i 2010 ved at en ikke bare fant relativt høye verdier av DON i siktet hvetemel, men også høyere verdier i siktet hvetemel sammenlignet med sammalt hvete.

Frokostblandinger

24 av totalt 35 prøver av frokostblandinger (69 %) ble funnet å inneholde DON over deteksjonsgrensen. Nivået var generelt lavt, men en prøve av grop ble funnet å inneholde 623 µg/kg av DON og 28,9 µg/kg av zearalenon. Det ble påvist spormengder av NIV og HT-2 toksin i en prøve.

Tabell 6: Mykotoksiner i diverse frokostblandinger fra 2010.

n=49	DON µg/kg	NIV µg/kg	HT-2 µg/kg	T-2 µg/kg	ZEA µg/kg
Gjennomsnitt	84	-	-	-	3,5
Høyeste verdi	623	-	-	-	28,9
Standard avvik	111	-	-	-	6,1

- ikke påvist

Pinjekjerner

Fra andre europeiske land ble det rapportert om flere overskridelser av grenseverdier for aflatoksiner i pinjekjerner. Det ble derfor besluttet å inkludere uttak av disse produktene i 2010. To prøver av pinjekjerne (2 av totalt 9) ble påvist å inneholde over grenseverdien (2,0 µg/kg) for aflatoxin B1. Det var imidlertid kun en av dem som var over grenseverdien ved fratrekk av utvidet analyseusikkerhet. Resultatene viser at det er behov for en videre overvåking av nivået av aflatoxin i pinjekjerner. Overvåkingen av aflatoksiner i pinjekjerner fortsetter i 2011.

Samlet vurdering av resultater fra 2008-2010

Tabell 6: Snitt av DON i kornprodukter fra 2008-2010.

	Siktet hvetemel (µg/kg)	Sammalt hvete (µg/kg)	Hvetekli (µg/kg)	Havregryn (µg/kg)
2008	204	145	383	285
2009	175	159	141	327
2010	140	121	208	174

Tabell 7: Snitt av Zearalenon i kornprodukter fra 2008-2010.

	Siktet hvetemel (µg/kg)	Sammalt hvete (µg/kg)	Hvetekli (µg/kg)	Havregryn (µg/kg)
2008	1,5	2,6	7,7	2,0
2009	2,3	3,8	6,3	6,0
2010	2,0	2,8	5,5	2,1

Tabell 6 og 7 viser gjennomsnittet av henholdsvis DON og zearalenon i ulike kornprodukter for de tre årene prosjektet har gått over (2008-2010). Fra tabell 6 ser en at gjennomsnittet av DON i siktet hvetemel og sammalt hvete er lavere i 2010 enn de to foregående årene, mens innholdet i hvetekli er litt høyere i 2010 enn i 2009. Dette kan indikere at mer av DON har vært i selve skallet på hvetekornet i 2010. Tilsvarende fordeling så vi i 2008. Tall fra 2009 viste ingen klar tendens til at hoveddelen av mengden DON var å finne i skallet. Til tross for at det kan se ut som at toksinet i hovedsak ble funnet i skaldelen ble det funnet enkelte prøver av siktet hvetemel og sammalt hvetemel som var høye. Om det er mest toksiner i skallet burde en observert høyere nivå av DON i sammalt hvete enn i siktet hvetemel, men det ble det ikke funnet i 2010. Samme tendens ble observert i 2008 og 2009. Sammenlignes nivået av DON funnet i havregryn med det som er funnet av DON i fôrhavre i denne treårsperioden, så er den vesentlig høyere i fôrkornet som da er hel havre. Dette tyder da relativt klart at hoveddelen av DON er å finne i skaldelen av havren. Tilsvarende resultater ble også funnet i skall/kjerne prosjektet beskrevet ovenfor.

Gjennomsnittlig innhold av zearalenon i de ulike hveteproduktene i de 3 årene er relativt like, bortsett fra havregryn der nivået er noe høyere i 2009 enn i de to andre årene. Det må imidlertid påpekes at verdiene er lave og at det dermed er noe høyere usikkerhet i tallverdien enn for høyere nivåer. Mye tyder likevel på at nivået av zearalenon i norsk korn er lavt, selv ved år med relativt høye nivåer av DON.

Alle prøvene ble også analysert for NIV, HT-2 og T-2 toksin, men gjennomgående var nivået svært lavt. NIV-nivået i norsk korn er generelt lavt. I treårs perioden som dette prosjektet har vart, har det vært lave nivåer av HT-2 og T-2 toksin. Dette bekreftes med data hentet fra Mattilsynets fôrovervåkingsprosjekt.

Trichothecener i ulike barnegrøter

I 2008 ble det analysert 21 prøver av ulike barnegrøter. Høyeste målte DON verdi var 70 µg/kg, med et gjennomsnitt på 18 µg/kg. T-2 og HT-2 ble ikke funnet i barnegrøtene. Nivået av de ulike trichothecene er veldig lavt og samsvarer med en tilsvarende med en tidligere undersøkelse utført av Mattilsynet. Men det kan allikevel ikke trekkes for sikre konklusjoner da nivået av trichothecener kan variere fra år til år.

Tørket frukt

Hensikten med å kartlegge nivået av okratoksin A i tørket frukt har vært å få kunnskap om nivå i det stadig økende tilbudet og forbruket av ulike produkter av tørkede frukter og blandinger. Generelt så vekker ikke nivåene av okratoksin A i

denne undersøkelsen bekymring, men produkter som rosiner som enkelte barn kan ha et høyt forbruk av, bør overvåkes kontinuerlig.

Okratoksin A ble påvist i 26 av totalt 26 prøver (100 %) tatt ut av rosiner i 2010 med en maks verdi på 15,6 µg/kg. Grenseverdien for okratoksin A i rosiner er 10 µg/kg. Produktet ble ikke trukket fra markedet da analyseverdien var under grenseverdien ved fratrekk av utvidet analyseusikkerhet. Gjennomsnittlig mengde av okratoksin A i rosiner i prøver tatt ut i 2010 ble funnet å være 1,7 µg/kg. Det ble også utført analyser av okratoksin A i 2008 og 2009. Årene 2008-2009 ble høyeste verdi målt til henholdsvis 1,9 og 4,4 µg/kg.

I aprikosprøvene ble det påvist okratoksin A i 14 av totalt 15 prøver (93 %) i 2010, men verdiene var svært lave. Gjennomsnittet ble beregnet til 0,072 µg/kg. Tilsvarende lave funn ble gjort i 2008-2009, med et unntak hvor det i 2009 ble funnet en prøve med en verdi på 9,7 µg/kg. Mengden okratoksin A var generelt vesentlig høyere i rosiner enn i aprikoser.

De siste årene har det vært et stadig økende antall produkter av diverse tørkede frukter i norske butikker. I 2008 ble det i tillegg til aprikoser og rosiner tatt ut prøver av tørkede epler, ananas, papaya, bananer, mango og svsker. Nivået av okratoksin A i disse produktene var generelt svært lavt. Selv om disse produktene kun ble undersøkt i 2008 så tyder disse undersøkelsen av okratoksin i tørkede frukter på at det i hovedsak er i rosiner en finner høyere mengder av okratoksin A.

Eplejuice

Årsaken til at en ønsket å kartlegge patulin innholdet i norskprodusert eplejuice og eplemost var at en ønsket mer informasjon om nivået av patulin i slike produkter, da dette ikke hadde vært tilstrekkelig kartlagt tidligere.

Prøver av eplejuiceprodukter ble analysert for patulin i 2008 og 2010. Totalt 15 prøver av ulike eplejuiceprodukter ble analysert for patulin i 2010. 6 prøver (40 %) var over deteksjonsgrensen med et gjennomsnitt på 4,3 µg/kg. Alle analysesvarene var godt under grenseverdien for patulin i eplejuice som er satt til 50 µg/kg. Nivået av patulin var gjennomgående lavt for prøver tatt ut i både 2008 og 2010. Den høyeste prøven i 2010 ble målt til 37 µg/kg, mens høyeste funn i 2008 var på 24,3 µg/kg.

Verdiene er generelt lave, men resultatene viser at det enkeltvis kan forekomme høyere verdier. Det vil derfor synes som fornuftig å ha en viss kontroll med nivået av patulin ved en unormalt fuktig sommer eller høst.

Ulike risprodukter

Det ble også besluttet å kartlegge aflatoksin (B1, B2, G1 og G2) i ris solgt på det norske markedet. Bakgrunnen for dette var en rapport utgitt av Livsmedelsverket i Sverige i 2008 (Rapport 2, 2008 Livsmedelverket) hvor de fant overskridelser av grenseverdiene for aflatoksiner i flere partier av basmatiris. Ved uttak av prøver ble det besluttet å ha hovedvekt på jasmin- og basmatiris. Men det ble også tatt ut andre typer ris. I 2008 og 2009 ble det analysert henholdsvis 10 og 14 prøver av jasminris. Kun en prøve i 2008 inneholdt spormengder av aflatoksin B1. Tilsvarende ble det

analysert 16 prøver av basmatiris 2008 og 11 i 2009. I 2008 ble det påvist aflatoksin B1 i totalt 10 av 16 prøver med høyeste målte verdi på 9,8 µg/kg av aflatoksin B1. Dette partiet ble trukket fra markedet da den lå over grenseverdien selv etter fratrekk av utvidet usikkerhet. I 2009 ble det påvist aflatoksin B1 i totalt 4 av 11 prøver av basmatiris, med høyeste verdi lik 1,6 µg/kg. Det ble i tillegg gjort analyser av andre typer ris, henholdsvis 15 prøver i 2008 samt 10 prøver i 2009. Det ble ikke påvist aflatoksiner i noen av disse prøvene.

Selv om nivået av aflatoksiner i basmatiris er vesentlig lavere i 2009 sammenlignet med 2008, så viser resultatene at det er høyest risiko for å finne aflatoksiner i basmatiris.

Aflatoksiner i peanøtter

I 2009 ble det analysert for aflatoksiner i 12 prøver av peanøtter samt 3 prøver av valnøtter. Det ble ikke påvist aflatoksiner i noen av prøvene. Det kan ikke trekkes noen sikre konklusjoner av dette, da nivået av aflatoksiner kan variere mye fra år til år.

Referanser

1. Bergsjø, B., Langseth, W., Nafstad, I., Høgseth Jansen, J., and Larsen, H.J.S. 1993, The effect of naturally deoxynivalenol-contaminated oats on the clinical condition, blood parameters, performance and carcass composition of growing pigs *Vet. Research Commun.*, 17; 283-294
2. Chelkowski J, editor. 1989. *Fusarium, Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity*. Amsterdam: Elsevier.
3. Eriksen, G.S. and Alexander, J., Editors, 1998. *Fusarium toxins in cereals – a risk assessment* Nordic Council of Ministers, TemaNord, Copenhagen
4. Krogh, P. 1987. Ochratoxins in food In: P. Krogh (Ed.) *Mycotoxins in Food*. pp 97-121. Academic Press, London, U.K
5. Langseth, W., and Elen, O. 1996, Differences between barley, oats and wheat in the occurrence of deoxynivalenol and other trichotecenes in Norwegian grain. *Journal of Phytopathology - Phytopathologische Zeitschrift*, 144, 113-118
6. Langseth, W., and Elen, O. 1997, The occurrence of dexynivalenol in Norwegian cereals - differences between years and districts, 1988-1996. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B - Soil and Plant Science* 47, 176-184
7. Sundheim L, Nagayama S, Kawamura O, Tanaka T, Brodal G, Ueno Y. 1988. Trichothecenes and zearalenone in Norwegian barley and wheat *Norwegian Journal of Agricultural Science* 2:49-59
8. Øvernes, G., Matre, T., Sivertsen, T., Larsen, H.J.S., Langseth, W., Reitan, L.J. and Jansen, J.H. 1997. Effects of diets with graded levels of naturally deoxynivalenol-contaminated oats on immune response in growing pigs. *J. Vet. Med.A.* 44; 539-550
9. IARC (1993), Volume 56. Some naturally occurring substances: Food Items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins.
10. JECFA, 1995, forty-fourth report of the Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Evaluation on certain food additives and contaminations
11. JECFA, 1999, forty-ninth report of the Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Evaluation on certain food additives and contaminations
12. JECFA, 2000, fifty-third report of the Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Evaluation on certain food additives and contaminations
13. JEFCA, 2001, WHO Food Additives Series : 47
Safety evaluation of certain mycotoxins in food.
14. JEFCA, 2002, fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Evaluation of certain mycotoxins in food

15. Rapport 2, 2008 : Mögel och mykotoksiner I ris-fokus på basmati och råris, Livsmedelverket
16. The EFSA journal (2006) 365, 1-56
17. The EFSA Journal (2007) 446, 1-127
18. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, seventy-second (2010), Evaluation of Certain Contaminants in Food.