



AZ ACILEZETT FUMONIZINEK LEHETSÉGES KOCKÁZATAI

HORVÁTH LEVENTE

Fumizol Kft. 6725 Szeged, Kisfaludy utca 6/B

ÖSSZEFOGLALÁS

Fusarium penészgomba fajok (főleg *F. verticillioides* és *F. proliferatum*) termelnek. A gomba legnagyobb mennyiségben a fumonizin B1-et és B2-t (FB1 és FB2) termeli, melyek toxikusak emberi és állati szervezetre egyaránt. Az FB1 és FB2 mellett több, mint 130 fumonizint írtak már le, amelyek bár jóval kisebb mennyiségben vannak jelen, mint a B1 és B2, mégis bizonyos fajtáik toxicitása akár jelentősen nagyobb is lehet. Ilyenek az acilezett fumonizinek, amelyek jelenlétével és lehetséges kockázatával több tudományos közlemény is foglalkozik. N-acil-FB1 formáját gombatenyészetben megtalálták már, in vitro és in vivo kísérletekben jóval toxikusabbnak bizonyult az FB1-hez képest, a szervezetben is képződhet és bizonyos élelmiszerfeldolgozási művelet során FB1-ből keletkezhet. O-acil formája szintén toxikusabbnak tűnik, melynek jelenlétét viszont gombatenyészet mellett szántóföldi kukoricamintákban is igazolták már.

POTENTIAL RISKS OF ACYLATED FUMONISINS

ABSTRACT

Fumonisin are among the most common mycotoxins, which are most often produced by *Fusarium* species (mainly *F. verticillioides* and *F. proliferatum*). The fungus produces the highest amounts of fumonisins B1 and B2 (FB1 and FB2), which are toxic to humans and animals. In addition to FB1 and FB2, more than 130 fumonisins have been described which, although present in much smaller quantities than B1 and B2, but the toxicity of certain types can be even significantly higher. These include acylated fumonisins, the presence and potential risks of which have been reported in several scientific publications. The N-acyl form of FB1 has been found in fungal cultures, has been shown to be much more toxic than FB1 in in vitro and in vivo experiments, can be formed in the body and can also be formed from FB1 during certain food processing operations. The O-acyl form also appears to be more toxic, but its presence has been described in field maize samples in addition to fungal cultures.

BEVEZETÉS

A mikotoxinok mikroszkopikus penészgombák másodlagos anyagcseretermékei, azaz nincs szerepük a gombák normál anyagcseréjében, azonban az egymás közti és a baktériumokkal szembeni vetélkedésben szerepet játszhatnak. Ezek a másodlagos anyagcseretermékek általában erős sejtmergek, amelyek toxikusak lehetnek a növényi és az állati szervezetre egyaránt, valamint az emberre is. A mikotoxinokat számos szántóföldi és raktári penészgombafaj képes előállítani.

A fumonizinek a legelterjedtebb mikotoxinok közé tartoznak, melyeket leggyakrabban *Fusarium* fajok (főleg *Fusarium verticillioides* és *Fusarium proliferatum*) termelnek. Már az 1900-as évek elején figyeltek meg lovakban, az agy fehérállományának lágyulásával járó idegrendszeri megbetegedést (ELEM = equine leukoencephalomalacia). Az 1988-ban *F. verticillioides*-szel fertőzött kukorica etetésével, állatkísérletekben is sikerült előidézni lovaknál az ELEM-betegséget. Sertésekkel etetve ugyanez a kukorica tüdővízenyőt és mellvízkórt okozott (*Marasas et al.*, 1988). A sertéseknél ezt a tünetegyüttest a rá jellemző tüneti elváltozások alapján PPE-nek (porcine pulmonary oedema, PPE) nevezték el (*Kriek et al.*, 1981).

A tisztított fumonizín B1 toxin orális és intravénás bevitelével is elő tudták idézni lovaknál az ELEM, sertéseknél a PPE betegségeket. Takarmányhoz adva rágcsálókban májrákot idézett elő (*Gelderblom e. al.*, 1991). 1990-ben Dél-Afrika szegényebb tartományában korrelációt állapítottak meg a természetes módon fumonizín B1-el (FB1) és fumonizín B2-vel (FB2) szennyezett kukorica fogyasztása és a humán nyelőcsőrák között (*Makaula e. al.*, 1996). Az FB1 toxint, a Nemzetközi Rákkutatási Ügynökség (IARC), a 2B karcinogén csoportba (lehetséges rákkeltő) sorolta (IARC 2002).

A fumonizinek szerkezetük alapján négy fő csoportba sorolja a szakirodalom (FA, FB, FC, FP) (*Rheeder et al.*, 2002). Napjainkig közel 130 fumonizín származékot, illetve fumonizín izomert írtak már le. A legfontosabb ezek közül a fumonizín B1 és B2, mivel ezek toxicitása számos közleményben igazolva lett, és a gombák jelentősen többet termelnek belőlük, mint a többi fumonizín fajtából.

Határérték csak élelmiszereknél, az FB1 és FB2 toxinok mennyiségének összegéből van, amelyet a 2023/915-ös EU rendelet szabályoz. Takarmányoknál a 2006/576/EK bizottsági ajánlás létezik, amely a kukorica alapú takarmányoknál, sertések, lovak, nyulak, baromfik, borjak, bárányok, gidák és kérődzők esetében határoz meg irányértéket, melyek betartása fontos, hiszen állategészségügyi kockázatokat számos közleményben leírtak.

A fumonizinek szerkezetileg nagyon hasonlóak a szfingoid bázisokhoz (mint a szfingozin, amely szfingolipid molekula) és képesek gátolni a ceramid szintézist. A szfingolipidek bioszintézisének gátlása, különböző szinteken tapasztalható, amely a szfinganin/szfingozin (Sa/So) arány megváltozásában tükröződik. A szfingolipidek a biológiai membránok fontos alkotóelemei, valamint a sejtek közötti információátadásban is szerepet játszanak, így bioszintézisük gátlása a sejtek lízisét idézheti elő (*Šegvić et al.*, 2001).

A *F. verticillioides* gomba háromféle zsírsavval acilezett fumonizin származékot termel (linoleoil, oleoil és palmitoil), amelyek lehetnek *N*- és *O*-acil-fumonizin-B1. (Bartók *et al.*, 2010, 2013).

Izraeli és német kutatók az acilezett fumonizinek közül az *N*-acil-FB1 származékokkal folytattak vizsgálatokat. Sejttenyészetekben kimutatták, hogy az FB1 és a HFB1 a ceramidszintáz által, *N*-acil-FB1-é és *N*-acil-HFB1-é metabolizálódhat. Ezen kívül vizsgálták szintetikus módon előállított különböző szénláncú (C16, C17, C18, C24) *N*-acil-FB1 származékok citotoxicitását sejttenyészetben és megállapították, hogy a szénlánc hosszától függetlenül azok nagyságrenddel toxikusabbak az FB1-nél (Harrer *et al.*, 2013).

Természetes fertőzöttségű kukoricamintákban, olasz kutatók az FB1 mennyiségéhez viszonyítva 5-7% linoleoil- és oleoil-FB1 szennyeződést mutattak ki (*Falavigna et al.*, 2013).

Megfigyelték, hogy kukoricaalapú élelmiszerek alkalikus közegben, hőkezeléssel történő előállításakor (nixtamalizálás) megjelentek az FB1 toxinnál jóval toxikusabb *N*-acil-FB1 származékok a végtermékben, amelyeket a kiindulási alapanyagok még nem tartalmaztak (*Park et al.*, 2013).

Patkányoknál 5 napos fumonizin B1 etetési kísérlet során kimutatták az *N*-acil-fumonizin B1 származékokat a vesében és a májban, tehát a szervezetben is képes az FB1 *N*-acil származékká metabolizálódni (*Harrer et al.*, 2013).

2018-ban az EFSA az egyéb fumonizin származékok takarmányokban való előfordulásának veszélyeire és annak állategészségügyi kockázataira hívta fel a figyelmet. A közlemény külön tárgyalta az acilezett fumonizineket és kiemelte, hogy nincsenek analitikai standardek, pedig körvizsgálatokra és felmérésekre lenne szükség (*Knutsen et al.*, 2018).

Célkitűzésünk volt, hogy fumonizin B1-ből kiindulva szintézissel előállítsuk az acilezett fumonizineket, különös tekintettel az *O*-acil-fumonizin B1-re, hiszen azokat még senki sem vizsgálta. Ehhez optimalizálnunk kellett a reakciókat, sokféle reakciókörülményt kipróbálva. Az előállított acilezett fumonizineket preparatív HPLC-vel megtisztítva szerkezetüket beazonosítva, a gombakivonatban lévő acilezett fumonizineket is azonosítani szerettük volna velük. A tisztán kinyert mikotoxinokkal *in vivo* toxicitási kísérletet terveztünk végezni, zebradánió embriókon.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A szintetikus acilezési reakciók és a reakciótermékek tisztítása:

A kísérletekhez HPLC-MS (nagy hatékonyságú folyadékkromatográfia – tömegspektrometria) minőségű a VWR International Kft.-től (Debrecen) származó vegyszereket használtunk.

A tiszta FB1 toxint, palmitoil-klorid acilezőszer és trietil-amin (TEA) acil donor segítségével acileztük, frissen desztillált (vízmentes) tetrahidrofurán (THF) oldószerben.

N-acilezésnél a két reagenst közvetlenül frissen készítettük a reakció előtt: A reagens: (THF/TEA 95/5, v/v), B reagens: (THF/palmitoil-klorid 95/5, v/v). Az 10 mg FB1-et 500

μl THF-ben oldottuk, hozzáadtunk 102 μl A reagenst, összeráztuk, majd 47 μl B reagenst és egy Thermo, LP vortex mixer típusú horizontális rázógépen (Massachusetts, USA) kevertettük az elegyet 30 percig. A reakcióelegyet, „Scanvac” centrifugális bepárló (Bjarkesvej, Dánia) segítségével pároltuk be.

O-acilezés esetén az A reagens: (THF/TEA 90/10, v/v), a B reagens: (THF/palmitoil-klorid 80/20, v/v) volt, melyeket szintén frissen készítettük. 10 mg FB1-et feloldottunk 4900 μl THF és 100 μl víz elegyében, ezt követően hozzáadtunk 100 μl A reagenst és 210 μl B reagenst, majd 48 órán keresztül vortex segítségével kevertettük. A reakciót centrifugális bepárlással állítottuk le.

A reakciótermékeket, preparatív HPLC-vel tisztítottuk meg. Az előzőleg bepárolt reakcióelegyet, acetonitril (MeCN)/víz (80/20 v/v) oldószerrel visszaoldottuk, majd 0,45 μm -es pórusméretű nylon membránszűrő segítségével szűrtük. A preparatív HPLC a következő részegységekből állt: kettő Hanbon NP7000 (Csiangszu, Kína) preparatív pumpa, HTA HT3000LV (Brescia, Olaszország) mintaadagoló, Kinetex (Phenomenex, Torrance, CA, USA) C18 preparatív kolonna (250 x 21,2 mm, 5 μm) és egy Foxy R1 (Teledyne Isco, St. Lincoln, NE, USA) frakciószedő. 2 ml mintát injektáltunk. Az A eluens víz, a B eluens acetonitril volt és mindkettő tartalmazott 0,1% hangyasavat. A gradiens program 50% B-ről indult, áramlás nélkül, mely 0,6 perc alatt 65%-ra emelkedett és érte el 17 ml/perces áramlási sebességet (amely ezután már nem változott), tartva ezt az értéket 11,4 percig. Ezt követően 1 perc alatt 85 %-ra emelkedett a B aránya, amely értéket 12 percen keresztül tartotta, majd 1 perc alatt visszatért a kiindulási 50% B eluenst tartalmazó értékre, további 5 perc időtartamig. A frakciószedő 1 percenként szedte a frakciókat. A frakciókat offline HPLC-MS eljárással vizsgáltuk.

Az acilezett fumonizinek gombakivonatban történő azonosítása:

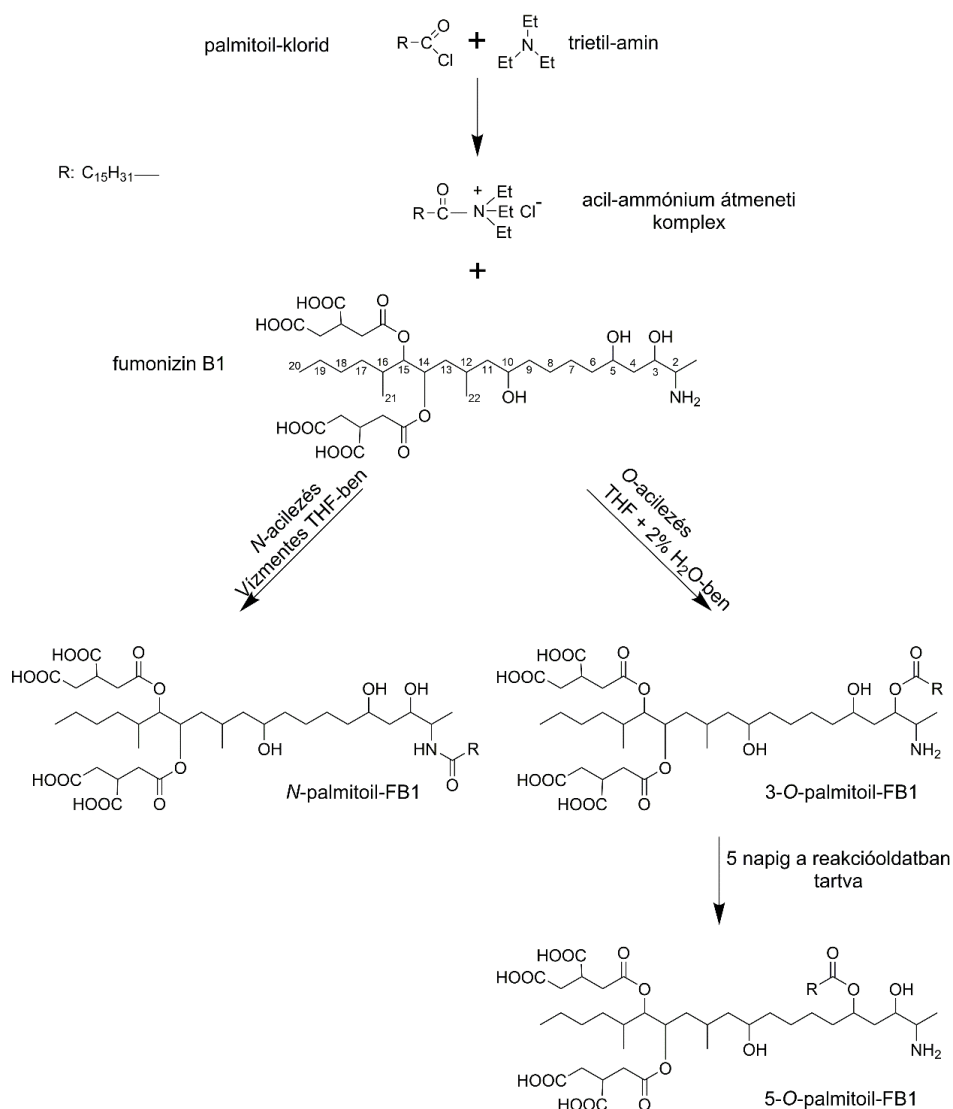
A tisztán kinyert acilezett fumonizinekkal, adalékolási kísérletben azonosítottuk a *F. verticillioides* gomba által termelteket. A vizsgálathoz *F. verticillioides* gombával, rizsen 4 hétig fermentált, majd liofilizált és örölt gombaport használtunk, amelyből 1 g-ot mértünk be egy 30 ml-es centrifugacsöbe és extraháltuk MeCN/víz (80/20 v/v) oldószerrel, átfordulás keverőn 2 órán keresztül. Ezt követően centrifugáltuk a mintát (8000 RPM, 5 min), majd a felülúszót mértük HPLC-MS eljárással. A gombakivonat 1 μl -éhez a HPLC injektor segítségével külön-külön 1 μl tiszta 500 pg/ μl koncentrációjú 3-O-palmitoil, 5-O-palmitoil és N-palmitoil oldatot szívattunk hozzá. A vizsgálatokat Agilent (Santa Clara, CA, USA) 1100 HPLC és egy Agilent 1946D tömegspektrométer segítségével végeztük. A gradiens elválasztás, egy Kinetex C18 analitikai kolonnán (250 x 4,6 mm, 5 μm) történt, az előző bekezdésben leírt A és B eluenssel, 800 $\mu\text{l}/\text{min}$ áramlási sebességgel. A gradiens program 69% B-ről indult, majd 7 perc után 1 perc alatt 85% B-re emelkedett, mely értéket 6 percig tartva 1 perc alatt visszatért a kiindulási arányhoz, további 5 percig. Az MS szelektív ionfigyelő (SIM), pozitív ionizációs módban működött, a 961 m/z tömeget figyelve.

In vivo toxicitási kísérlet

A zebrahal-embriókra gyakorolt toxikus hatások vizsgálatához laboratóriumban nevelt AB zebrahal vonalat használtunk. A zebrahal-embriók 96 órával a megtermékenyítés után, 24 órán keresztül a következő koncentrációjú fumonizin expozíciónak lettek kitéve: 0,78, 1,56, 3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 és 200 μM , négy féle fumonizin származékkal: FB1, FB4, 5-*O*-palmitoil-FB1, *N*-palmitoil-FB1. Az egyes vegyületek törzsoldatai (1000 $\mu\text{g/ml}$) dimetil-szulfoxid oldószerrel készültek, majd a kezelési oldatokat E3 közegben (5 mM nátrium-klorid, 0,33 mM kalcium-klorid, 0,17 mM kálium-klorid, 0,33 mM magnézium-szulfát) hígítottuk. Az embriók 24 lyukú JET Biofil szövettenyésztő lemezekbe helyeztük, ötös csoportokban, négy ismétlésben. Minden mélyedést 2 ml kezelési oldattal, valamint E3 közeggel és oldószerrel töltöttünk fel, a megfelelő koncentrációban. A lemezek $25,5 \pm 1,0$ °C-os inkubátorba kerültek. 24 óra elteltével a mortalitás és a morfológiai deformitás vizsgálatok boncmikroszkóp alatt (Leica Microsystems GmbH; Wetzlar, Németország) történtek.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK:**A szintetikus acilezési reakciók és a reakciótermékek tisztítása:**

Az FB1 palmitoil-kloriddal történő acilezésését kétféleképpen optimalizáltuk. Víztmentes körülmények között a reakció gyorsan végbement, fél óra után már semmilyen változás nem történt az oldatban, az FB1 nagyrésze átalakult *N*-palmitoil-FB1 származékká, melléktermékek és kiindulási anyagok is csak minimálisan voltak jelen. Így a preparatív HPLC segítségével történő tisztítás is viszonylag egyszerű volt. A második esetben, amikor a reakcióelegy tartalmazott 2% vizet *O*-palmitoil-FB1 származékok (3-*O*-palmitoil-FB1 és 5-*O*-palmitoil-FB1) keletkeztek a következőképpen: a reakció elején, főleg köztitermékek voltak jelen kevés 3-*O*-palmitoil-FB1 mellett, amely mennyisége a reakció előrehaladtával folyamatosan nőtt és megjelent az 5-*O*-palmitoil-FB1 is, melynek jelenléte szintén folyamatosan emelkedett. A reakciót 48 óra után állítottuk le, a reakcióelegy centrifugális bepárlásával. Ekkor a két *O*-palmitoil komponens hasonló mennyiségben volt jelen az oldatban, köztitermékekkel együtt (38,9% 3-*O*-palmitoil-FB1, 33,7% 5-*O*-palmitoil-FB1, 27,4% köztitermék). A reakció 5 nap után teljesen eltolódna az 5-*O*-pal-FB1 irányába (Cserne *et al.*, 2023). A bepárolt reakcióelegyet visszaoldottuk MeCN/víz (80/20 v/v) oldószerrel, majd ezt injektáltuk a preparatív HPLC kolonnára és nyertük ki tisztán a komponenseket. A 3-*O*-palmitoil nem csak a reakcióelegyben bizonyult instabillnak, hanem a preparatív kolonnáról távozva, a tiszta frakciókban lévő oldószerben (MeCN/víz 66/34 +0,1% hangyasav) is, ahol 3-*O*-palmitoil-FB1 származékból, *N*-palmitoil-FB1 származékká alakult.

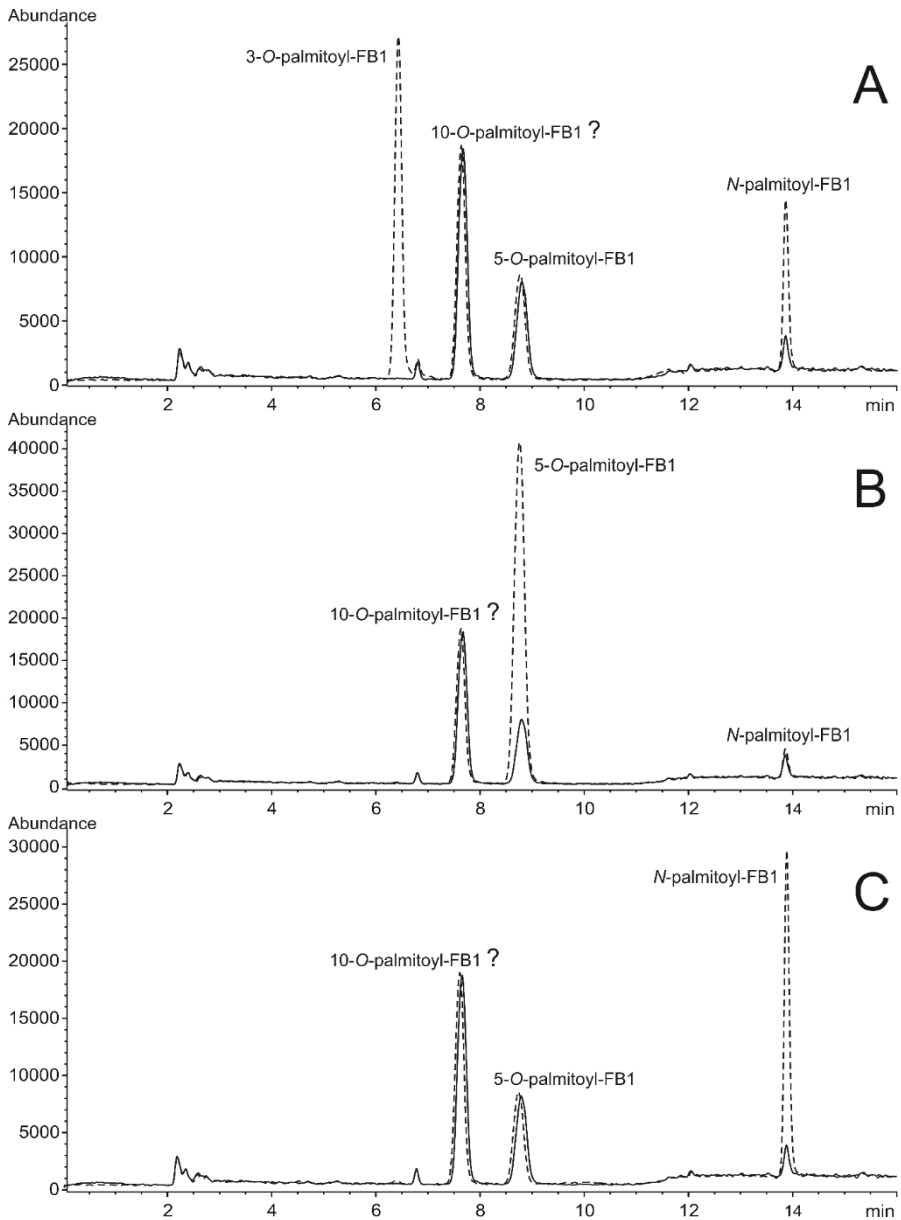


3. ábra: Az FB1 toxin N- és O-acilezése palmitoil-klorid/trietilamin reagens alkalmazásával vízmentes tetrahydrofuranban, illetve 2%-os víztartalmú tetrahydrofuranban

Az acilezett fumonizinek gombakivonatban történő azonosítása:

A tiszta anyagokkal, a *F. verticillioides* gomba által termelt acilezett fumonizineket, adalékolásos kísérlettel azonosítottuk. A mintaadagoló segítségével hozzászívtuk injektáláskor a tiszta anyag oldatát a gombakivonathoz. Ilyenkor azon komponens kromatográfiás csúcsának kellene megnőnie, amelyiket hozzászívtuk, feltéve, ha a gombakivonat tartalmazta azt. Ez alapján megállapítottuk, hogy a gomba valóban termel

N-palmitoil-FB1-et és 5-*O*-palmitoil-FB1-et, de nem termel 3-*O*-palmitoil FB1-et, hanem helyette valószínűleg 10-*O*-palmitoil-FB1-et termel.



4. ábra: *F. verticillioides* gombakivonat (folytonos vonal) (m/z 961), valamint a szintetizált és tisztított 3-*O*-palmitoil-FB1 (A), 5-*O*-palmitoil-FB1 (B) és *N*-palmitoil-FB1 (C) toxinnal adalékolt gombakivonatok (szaggatott vonalak), HPLC-ESI-MS kromatogramjai.

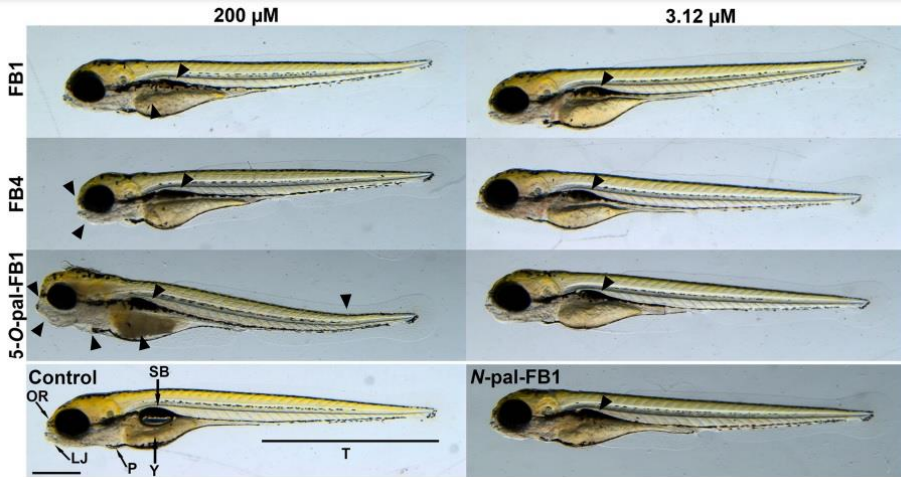
A zebradánió embriók 24 órás kezelése során, nem volt megfigyelhető elhullás az E3 médiumban és az oldószeres kontrollokban. Az FB1 és FB4 expozíció szintén nem okozott pusztulást még a legnagyobb 200 μM -os koncentrációban sem. Ezzel szemben az 5-*O*-pal-FB1 származéknál, a két legmagasabb koncentrációban (100 μM és 200 μM), 2 és 6 egyed pusztult el a 20-ból. Az *N*-pal-FB1 viszont annyira mérgezőnek bizonyult, hogy már viszonylag alacsony 6,25 μM koncentrációnál is, az összes egyed elhullott.

1. táblázat: A táblázatban az elpusztult egyedek száma lett feltüntetve. Minden koncentrációban 20 egyed lett tesztelve (4 ismétlés: 5 egyed/ismétlés). 96 órával a megtermékenyülés után, 24 óra expozíciót követően.

	200 μM	100 μM	50 μM	25 μM	12,5 μM	6,25 μM	3,12 μM
FB1	0	0	0	0	0	0	0
FB4	0	0	0	0	0	0	0
5- <i>O</i> -pal-FB1	6	2	0	0	0	0	0
<i>N</i> -pal-FB1	20	20	20	20	20	20	0

In vivo toxicitási kísérlet

A szubletális hatások morfológiai elváltozásait, még élő zebradánió embriókon vizsgáltuk. A fel nem fúvódott úszóhólyag megfigyelhető volt mindegyik fumonizin származék 3,12 μM -os koncentrációjú expozíciója esetén, különböző mértékben. Ezt leggyakrabban az *N*-pal-FB1 okozta (80%), melyet az 5-*O*-pal-FB1 (50%), az FB4 (30%) és az FB1 (25%) toxin követett. 200 μM esetén már az élő embriók 100%-ban nem nyílt fel az úszóhólyag. Alsó állkapocs torzulás FB1 esetén nem volt megfigyelhető, viszont 200 μM -os koncentrációnál FB4 (40%) 5-*O*-pal-FB1 (100%) volt. Ezek és további egyéb elváltozások a 3. ábrán láthatóak.



5. ábra: Tipikus fejlődési rendellenességek (fekete nyílhegyek) zebradánió embriókban 120 órával a megtermékenyítés után, 24 óras FB1, FB4, 5-O-pal-FB1 és N-pal-FB1 expozíciót követően (OR: szaglórégió; LJ: alsó állkapocs; P: szívburok; T: farok; SB: úszóhólyag; Y: sárgája; lépték: 500 μm) (Csenki *et al.*, 2023).

KÖVETKEZTETÉS

Az előállított acilezett fumonizinekkel igazoltuk, hogy a *F. verticillioides* gomba laboratóriumi körülmények között valóban termeli az 5-O-palmitoil és az N-palmitoil-FB1 származékokat, de nem termel 3-O-palmitoil-FB1 származékot, valamint termel egy olyan O-palmitoil FB1 származékot, amelyet szintézissel nem sikerült előállítani.

A zebradániós toxicitási kísérletekből úgy tűnik, hogy az N-palmitoil-fumonizin B1 származék, jelentősen, akár két nagyságrenddel is toxikusabb lehet az FB1-nél, de az 5-O-palmitoil-FB1 is toxikusabbnak bizonyult.

Az acilezett-fumonizinek potenciális veszélyforrások lehetnek, mind élelmiszerbiztonsági, mind takarmánybiztonsági szempontból, mivel a gomba megtermelheti azokat (az O-acil FB1 származékok jelenlétét már szántóföldön is leírták), toxikusabbnak tűnnek az FB1-nél, viszont nincsenek vizsgálva.

Fontos volna felmérni, hogy az acilezett fumonizinek milyen mértékben vannak jelen a természetes fertőzöttségű gabonamintákban, de ehhez szükség volna körvizsgálatokra, standardokra.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Az itt ismertetett kutatások a következő támogatásokkal valósulhattak meg, melyeket nagyon köszönünk: Innovációs és Technológiai Minisztérium (GINOP-2.3.2-15-2016-00046), Emberi Erőforrások minisztériuma (EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005),

Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (FK138184), Magyar Tudományos Akadémia Bolyai János Kutatási Ösztöndíja (BO/00669/20/4).

IRODALOMJEGYZÉK

- Angeli, C. – Nagy T.M. – Horváth, L. – Varga, M. – Szekeres, A. – Tóth, G.K. – Janáky, T. – Szolomájer, J. – Kovács, M. – Kövér, K.E. – Bartók, T. (2022) Preparation of 3-*O*-, 5-*O*- and *N*-palmitoyl derivatives of fumonisin B₁ toxin and their characterisation with NMR and LC-HRMS methods. *Food Additives & Contaminants: Part A* (10):1759-1771.
- Bartók, T. – Tölgyesi, L. – Mesterházy, Á. – Bartók, M. – Szécsi, Á. (2010): Identification of the first fumonisin mycotoxins with three acyl groups by ESI-ITMS and ESI-TOFMS following RP-HPLC separation, palmitoyl, linoleoyl and oleoyl EFB1 fumonisin isomers from a solid culture of *Fusarium verticillioides*. *Food Additives and Contaminants* 27: 1714-1723
- Bartók, T. – Szécsi, Á. – Juhász, K. – Bartók, M. – Mesterházy, Á. (2013): ESI-MS and MS/MS identification of the first ceramide analogues of fumonisin B1 mycotoxin from a *Fusarium verticillioides* culture following RP-HPLC separation. *Food Additives & Contaminants: Part A* 30: 1651-1659
- Bezuidenhout, G.C. – Gelderblom, W.C.A. – Gorst-Allam, C.P. – Horak, R.M. – Marasas, W.F.O. – Spiteller, G. – Vlegaar, R. (1988): Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* 743-745
- Csenki, Z. – Bartók, T. – Bock, I. – Horváth, L. – Lemli, B. – Zsidó, B.Z. – Angeli, C. – Hetényi, C. – Szabó, I. – Urbányi, B. – Kovács, M. – Poór, M. (2023) Interaction of Fumonisin B₁, *N*-Palmitoyl-Fumonisin B₁, 5-*O*-Palmitoyl-Fumonisin B₁, and Fumonisin B₄ Mycotoxins with Human Serum Albumin and Their Toxic Impacts on Zebrafish Embryos. *Biomolecules*. 27;13(5):755.
- Falavigna, C. – Lazzaro, I. – Galaverna, G. – Battilani, P. – Dall'Asta, C. (2013): Fatty acid esters of fumonisins: first evidence of their presence in maize *Food Additive & Contaminants: Part A*, 30:9, 1606-1613
- Harrer, H. – Laviad, E.L. – Humpf, H.U. – Futerma, A.H. (2013): Identification of *N*-acylfumonisin B₁ as new cytotoxic metabolites of fumonisin mycotoxins. *Molecular Nutrition and Food Research* 57: 516-522
- Harrer, H. – Humpf, H.U. – Voss, K.A. (2015): In vivo formation of *N*-acyl fumonisin B₁. *Mycotoxin Research* 31: 33-40
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (2002): Fumonisin B₁. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, some traditional medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. No. 82. Lyon (France), IARC; 301-366
- Knutsen, H. K. – Alexander, J. – Barregård, L. – Bignami, M. – Brüschweiler, B. – Ceccatelli, S. – Cottrill, B. – Dinovi, M. – Edler, L. – Grasl-Kraupp, B. – Hogstrand, C. – Hoogenboom, L. – Nebbia – C. S. – Petersen, A. – Rose, M. – Roudot, A-C. –

Schwerdtle, T. – Vleminckx, C. – Vollmer, G. – Wallace, H. – Dall'Asta, C. – Eriksen, G. S. – Taranu, I. – Altieri, A. – Roldán-Torres, R. – Oswald, I. P. & EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, Risks for animal health related to the presence of fumonisins, their modified forms and hidden forms in feed, *EFSA Journal*, vol. 16, no. 5 e05242

Kriek, N.P.J. – Kellerman, T.S. – Marasas, W.F.O. (1981): A comparative study of the toxicity of *Fusarium verticillioides* (F. moniliforme) to horses, primates, pigs, sheep and rats. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 48: 129-131

Makaula, N.A. – Marasas, W.F.O. – Venter, F.S. – Badenhorst, C.J. – Bradshaw, D. – Swanevelder, F. (1996): Oesophageal and other cancer patterns in four selected districts of Transkei, southern Africa, 1985-1990. *African Journal of Health Sciences* 3: 11-15

Marasas, W.F.O. – Kellerman, T.S. – Gelderblom, W.C.A. – Coetzer, J.A.W. – Thiel, P.G. – van der Lugt, J.J. (1988): Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium verticillioides*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 55: 197-203

Park, J.W. – Scott, P. M. – Lau, B.P.-Y. (2013): Analysis of N-fatty acyl fumonisins in alkaliprocessed corn foods. *Food Science and Biotechnology* 22: 147-152

Rheeder, J.P. – Marasas, W.F.O. – Vismar, H. F. (2002): Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 2101-2105

Šegvić, M. – Pepeljnjak, S (2001) Fumonisins and their effects on animal health. *Veterinarski arhiv* 71, 299-323,