



*A kép illusztráció / The picture is illustration*

Farkas József<sup>1</sup>, Szeitzné Szabó Mária<sup>2</sup>, Mohácsiné Farkas Csilla<sup>3</sup>

Érkezett/Received: 2014. február/February – Elfogadva/Accepted: 2014. június/June

# Mikotoxinok álarcban – új takarmány- és élelmiszer- biztonsági kihívás?

**Kulcsszavak:** maszkolt mikotoxinok, rejtett mikotoxinok, takarmány-biztonság, élelmiszer-biztonság

## 1. Összefoglalás

Terjed az a felismerés, hogy a növénytermesztés közben a gazdanövényen megtelepedő toxinogén penészgombák toxinjait a gazdanövények a védekezésük részeként megváltoztathatják: extrahálható konjugátumot képeznek belőlük („maszkolt” mikotoxinok), illetőleg sejtfal-komponensekké rögzítik vagy más biopolimerekhez, extrahálhatatlanul kötik őket („rejtett” mikotoxinok). A maszkolt vagy rejtett mikotoxinok a jelenlegi rutin vizsgálati és ellenőrzési-jogszabályozási körülmények között a mikotoxin kitettség becslésénél figyelmen kívül maradnak. A jelen, figyelemfelkeltést célzó rövid ismertetés példákat ad ilyen mikotoxin származékokra és a velük kapcsolatos analitikai és más kutatási feladatokra.

## 2. Bevezetés

A penészgombák számos faja különféle toxintermelésük miatt az utóbbi évtizedek meghatározó jelentőségű takarmányozási-állategészségügyi és élelmiszer-ellátási problémájává vált [1]. Ezért a mikotoxinok okozta szennyezettség megállapítása a takarmány- és élelmiszer-ellenőrzés, illetve jogszabályozás fontos feladatai közé tartozik. A probléma világszerte növekszik, egyebek között a termesztett növényeink számára is fokozott stresszhatást okozó időjárási extrémítások gyakoribbá és súlyosabbá válása, valamint a gazdanövények penészgombák-  
nak való kitettségének növekedése miatt [2],[3]. Az élelmezés alapját képező gabonafélék közül a kukoricát és a búzát megtámadó/szennyező toxinogén penészgombák okozzák a legfontosabb kihívást. A probléma Földünk minden benépesült területét sújtja [4], bár a különböző régiókban a mikotoxinok mibenléte és a fő gazdanövények különbözőek.

## 3. „Maszkolt” és „rejtett” mikotoxinok

Az elmúlt években terjed az a felismerés, hogy a toxinogén penészgombák egy részének (a már a növénytermesztés közben károsítóknak) a toxinjait

a gazdanövény mintegy a xenobiotikumokkal szembeni védekezése részeként kémiaiilag megváltoztathatja és extrahálható konjugátumot képez belőlük, vagy extrahálhatatlanul megköti őket. Extrahálhatatlanná válnak a mikotoxinok, ha például sejtfal-komponensekként rögzülnek vagy más biopolimerekhez kötődnek. Ha a mikotoxin származékok is toxikusak, illetőleg az ember vagy állat szervezetében visszaalakulnak az eredeti összetételű toxinokká, akkor a mostani szituációban ezek a jelenlegi vizsgálati, ellenőrzési-jogszabályozási körülmények között az élelmezési-takarmányozási mikotoxin kitettség becslésénél figyelmen kívül maradnak. Az oldott formában a növényben „elraktározott” metabolitokat „maszkos” vagy „maszkolt”, a nem oldott formában lévő, kötött mikotoxinokat „rejtett” toxinoknak nevezik. A maszkolt és a rejtett mikotoxinokat a rutin szűrővizsgálatok jelenleg nem mutatják ki, és ezekre vonatkozóan jogszabályozás sincs.

Szakirodalmi információk erről a potenciális kockázatról elsősorban a *Fusarium* fajok által képzett mikotoxinok egy részéről (nivalenol, dezoxinivalenol: DON, zearalenon: ZEN és fumonizinek) állnak rendelkezésre. Emellett azt is megállapították már, hogy például a DON a toxinogén mikroszkopikus gomba

<sup>1</sup> Budapesti Corvinus Egyetem Hűtő- és Állattermék-Technológiai Tanszéke

<sup>2</sup> Nemzeti Élelmiszerláncbiztonsági Hivatal Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság

<sup>3</sup> Budapesti Corvinus Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

<sup>1</sup> *Corvinus University of Budapest, Department of Refrigeration and Livestocks' Products Technology*

<sup>2</sup> *National Food chain Safety Office, Food Safety Risk Assessment Directorate*

<sup>3</sup> *Corvinus University of Budapest, Department of Microbiology and Biotechnology*

búzában való terjedéséhez szükséges virulencia faktor. Azt is hangsúlyozni kell, hogy a cereália és cereália-alapú élelmiszerek egy kockázatbecslés szerint [5] az Európai Unió népességének fő fuzario-toxin terhelését jelentik. E rövid közleményünkben a teljesség igénye nélkül vázolt témakört a közelmúltban az ILSI Europe nemzetközi konzorcium [6] tárgyalta részleteiben.

#### 4. A maszkolt mikotoxinok kémiai jellege, metabolizálásuk és analitikai problémájuk

A mikotoxin konjugátumok olyan származékok, amelyekben a toxin polárosabb vegyületekhez, pl. glükózhoz, szulfát csoportokhoz, aminosavakhoz kapcsolt formában van. Mikotoxin glükozidok képződésével olyan élelmiszer-biotechnológiáknál is lehet számolni, amelyeknél a gabonaféleségek fermentációs folyamaton mennek keresztül (kenyérkészítés, sörpar stb.). A maszkolt mikotoxinok az emésztés szervezeteiben az emésztés közben bekövetkező hidrolízissel vissza is alakulhatnak az eredeti mikotoxin molekulákká.

Példák a fuzárium toxinok ismertté vált, a növényi anyagcsere következtében képződő származékaira: deoxinivalenol-3-glükozid (D3G), 3-acetil-deoxinivalenol (3ADON), 15-acetil-deoxinivalenol (15ADON), deoxinivalenol-glukuronid (DON-Glc-A), zearalenon-14-glükozid (Z14G), zearalenon-14-szulfát (Z14S), *In vitro* kísérletek azt mutatják, hogy a humán vastagbél mikrobiotájának a baktériumai ilyen mikotoxin származékokból képesek az eredeti mikotoxinokat felszabadítani [7],[8]. Egy másik fontos fuzárium toxin, a fumonizin B1 zsírsav észtereit is kimutatták kukoricából [9], de más mikotoxinok, például az ochratoxin (OTA) és a patulin lehetséges származékaira, ill. megkötődésére vonatkozóan is vannak tapasztalatok [6].

A „maszkolt” mikotoxinok a kimutatása eltérő extrahálhatóságuk, illetőleg a megváltozott fizikokémiai sajátágaik és az eredeti molekulájuktól eltérő elválasztástechnikai és immunológiai viselkedésük miatt a szokásos mikotoxin vizsgálati módszerek alkalmazásakor bizonytalan, a kötött mikotoxinoké pedig nem lehetséges [6]. Ezeket a problémákat figyelembe véve a brit Food Safety Authority (FSA) kutatási támogatásával egy HPLC-MS-MS módszert már kidolgoztak, ami mind a szabad, mind a maszkolt fuzariotoxinokat képes megbízhatóan detektálni és kvantifikálni cereáliából és cereália alapú élelmiszerekből. ([http://www.foodbase.org.uk/results.php?f\\_category\\_id=&f\\_report\\_id=417](http://www.foodbase.org.uk/results.php?f_category_id=&f_report_id=417)). A szóban forgó mikotoxin vizsgálati problémákhoz az is hozzátartozik, hogy még nincsenek forgalomban megfelelő referencia vegyületek.

#### 5. Következtetések

Még nem kellően ismert a gazdanövények által kialakított mikotoxin származékok biológiai hozzáférhetősége és toxicitásának a mértéke. Valószínű azonban,

hogy a mikotoxin származékok is hozzájárulnak valamilyen mértékben az ember vagy az állatok mikotoxin kitettségéhez. Szükség van tehát a vázolt problémakör alaposabb megismeréséhez további kémiai és biológiai kutatómunkára, módszertani fejlesztésekre és ezek alapján indokoltta és lehetségessé váló jogszabályozás-módosításra. A problémakörrel az EFSA illetékes testületei is foglalkoznak megfelelő EU biztonsági álláspont kialakítása érdekében.

#### 6. Irodalom/References

- [1] Kovács M. (szerk.) (2010): Aktualitások a mikotoxin kutatásban. Agroinform Kiadó, Budapest, pp. 156
- [2] Mesterházy Á., Lechoczka-Krsjak Sz., Kótai Cs. (2011): Kalász fuzárium elleni védekezés. Gabonakutató Híradó, p. 25 (2) p. 8-9
- [3] Kovács M., Beczner, J., Szeitzné Szabó, M. et al. (2013): Potential Impact of Climate Change of the Mycotoxin Contamination of Feeds. In: Proceedings of the 16th International Symposium on Animal Nutrition: Effect of Climate Change on Animal Nutrition. Kaposvár, 30 August 2013 p. 33-57
- [4] Nährer, K., Kovalsky, P. (2014): Global State of Mycotoxins: Part. 2. All About Feed, 22 (3) p. 6-8
- [5] Schothorst, R. C., van Egmond, H.P. (2004): Report from SCOOP Task 3.2.10.s „Collection of Occurrence Data of Fusarium Toxins in Food and Assessment of Dietary Intake by the Population of EU Member States”, Subtask: Trichotecenes. Toxicology Letters, 153 p. 133-143
- [6] Berthiller, F., Crews, C., Dall’Asta, C. et al. (2013): Masked Mycotoxins: A Review. Mol. Nutr. Food Res. 57 p. 165-186
- [7] Dall’Erta, A., Cirilini, M., Dall’Asta, M. et al. (2013): Masked Mycotoxins are Efficiently Hydrolyzed by Human Colonic Microbiota Releasing their Aglycones. Chem Res. Toxicol., 26 p. 305-312
- [8] Gratz, S., Duncan, G., Richardson, A. (2013): The Human Fecal Microbiota Metabolizes Deoxynivalenol and Deoxynivalenol-3-glucoside and May Be Responsible For Urinary Deepoxy-Deoxynivalenol. Appl. Environ. Microbiol., 79 (6) p. 1821-1825
- [9] Flavigna, C., Lazzaro, I., Galaverna, G. et al. (2013): Fatty Acid Esters of Fumonisin: First Evidence of their Presence in Maize. Food Additives & Contaminants, Part A 30 p. 606-1613



# Mycotoxins in masks – a new food and feed safety challenge?

József Farkas<sup>1</sup>, Mária Szeitzné Szabó<sup>2</sup>, Csilla Mohácsiné Farkas<sup>3</sup>

**Keywords:** masked mycotoxins, hidden mycotoxins, feed safety, food safety

## 1. Summary

The realization is spreading that toxins of toxinogenic molds colonizing host plants during plant growing are altered by the host plants as part of their defense: extractable conjugates are formed from them („masked” mycotoxins), or they are immobilized as cell wall components or are bound to other biopolymers in a way that they cannot be extracted („hidden” mycotoxins). Masked or hidden mycotoxins are not taken into consideration when estimating mycotoxin exposure, under current routine analytical and control-legislative conditions. Examples of just such mycotoxin derivatives, and analytical and other research tasks related to them are given in the present brief overview, which is aimed at raising awareness.

## 2. Introduction

Several mold species have become feeding-animal health and food supply problems of decisive significance in the last few decades, due to their production of different toxins [1]. Therefore, determination of contamination caused by mycotoxins is among the important tasks of food and feed control, and also of legislation. The problem has been increasing worldwide, because of weather extremities, causing increased stress to our cultivated crops, becoming more frequent and severe, among other things, and also because of the increased exposure of the host plants to molds [2],[3]. The most important challenge is posed by toxinogenic molds colonizing/contaminating corn and wheat, which are among cereals forming the basis of our food supply. This problem affects all populated areas of the Earth [4], although the nature of mycotoxins and main host plants are different in the different regions.

## 3. „Masked” and „hidden” mycotoxins

The realization has been spreading over recent years that toxins of some of the toxinogenic molds (ones that cause damage during plant growing already) are chemically altered by the host plant as part of its defense against xenobiotics and extractable conjugates are formed, or are bound in an unextractable way. Mycotoxins become unextractable if, for example, they are immobilized as cell wall components or are bound to other biopolymers. If mycotoxin derivatives are also toxic, or if they revert to the original toxins in the human or animal body, then, in the current situation, they are not taken into consideration when estimating food and feed mycotoxin exposure, under current analytical and control-legislative conditions. Metabolites „stored” in the plant in a dissolved form are called „masked” toxins, while bound mycotoxins in not dissolved form are called „hidden” toxins. Masked and hidden mycotoxins are currently not detected by routine screening tests, and there is no legislation for them.

Literature information about this potential risk is mainly available for some of the mycotoxins produced by *Fusarium* species (nivalenol, deoxynivalenol: DON, zearalenone: ZEN and fumonisins). In addition, it was already determined that, for example, DON is the virulence factor ne-

cessary for the spreading of the toxinogenic microscopic fungi in wheat. It has to be emphasized also that cereals and cereal based foods, according to a risk assessment [5], are the main culprits for the *Fusarium* toxin load of the population of the European Union. The topic outlined in this brief communication, with no claim to being exhaustive, was discussed recently in detail by the ILSI Europe international consortium [6].

## 4. Chemical nature of masked mycotoxins, their metabolism and analytical problem

Mycotoxin conjugates are derivatives in which toxins are present in a form bound to more polar compounds, such as glucose, a sulfate group or amino acids. Formation of mycotoxin glucosides is expected in the case of food biotechnologies where cereals undergo fermentation procedures (bread making, brewing of beer etc.). Masked mycotoxins might revert to the original mycotoxin molecules in mammals via hydrolysis occurring during digestion.

Examples of known *Fusarium* toxin derivatives produced during plant metabolism: deoxynivalenol-3-glucoside (D3G), 3-acetyldeoxynivalenol (3ADON), 15-acetyldeoxynivalenol (15ADON), deoxynivalenol glucuronide (DON-Glc-A), zearalenone-14-glucoside (Z14G), zearalenone-14-sulfate (Z14S). *In vitro* experiments have shown that original mycotoxins can be released from such mycotoxin derivatives by bacteria of the human colon microbiota [7],[8]. Fatty acid esters of another important *Fusarium* toxin, fumonisin B1, were also detected in corn [9], but there are also observations regarding possible derivatives and binding of other mycotoxins, for example ochratoxin (OTA) and patulin [6].

Detection of „masked” mycotoxins is uncertain when using the usual mycotoxin analytical methods, because of their different extractability, altered physico-chemical properties, and because their separation technological and immunological behavior is different from that of the original molecule, while detection of bound mycotoxins is not possible [6]. Considering these problems, an HPLC-MS-MS method has already been developed that can reliably detect and quantify both free and masked *Fusarium* toxins in cereals and cereal-based foods, with the research support of the British Food Safety Authority (FSA). ([http://www.foodbase.org.uk/results.php?f\\_category\\_id=&f\\_report\\_id=417](http://www.foodbase.org.uk/results.php?f_category_id=&f_report_id=417)). It is also part of the mycotoxin analytical problem in question that there are no suitable reference compounds available commercially.

## 5. Conclusions

Biological availability and toxicity of mycotoxin derivatives produced by host plants are not yet well known. It is likely, however, that these mycotoxin derivatives contribute to some extent to the mycotoxin exposure of humans and animals. It is necessary, therefore, to investigate this problem more thoroughly via further chemical and biological research and methodology development, and to enact, based on these, justified and possible changes in legal regulation. The problem is also addressed by relevant bodies of EFSA, in order to be able to establish a suitable EU Commission position.