

A fumonizin kutatás újabb eredményei

Bartók Tibor - Miklós Gabriella

Fumizol Kft.

nébih

XIII. Hungalimentária Konferencia, Online 2021.11.09.

Az első fumonizines közlemény

**Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins
from *Fusarium moniliforme***

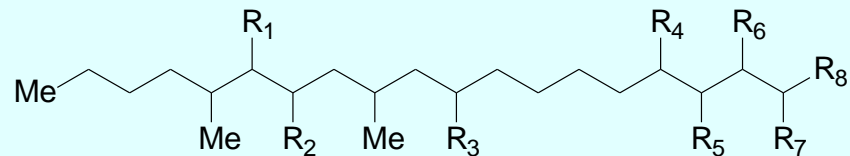
S.C. Bezuidenhout, W.C.A. Gelderblom, C.P. Gorst-Allman,
R.M. Horak, W.F.O. Marasas, G. Spiteller, R. Vleggaar

***J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1988, 743-745**

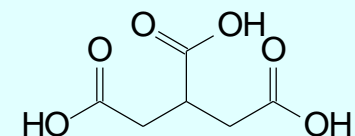
A fumonizin-termelő fonalas gomba fajok

- A fő fumonizin-termelő fajok a *Fusarium verticillioides* (korábban *F. moniliforme*) és a *F. proliferatum*, amelyek a mérsékelt égövön leggyakrabban a kukoricát fertőzik.
- A fumonizinek bioszintézisét 14 más *Fusarium*, 1 *Alternaria*, valamint néhány fekete *Aspergillus* és *Tolyposcladium* faj esetében is leírták.
- A fekete *Aspergillus* fajok fertőzésével kapcsolatban találtak már fumonizin-szennyezést pl. kávébabban, mangóban, szőlőben, mazsolában, mustban, borban, fokhagymában és vöröshagymában is.

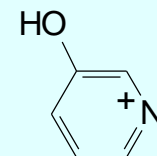
A fumonizinek szerkezete



Csoport	Komponens	A fumonizin alapváz szubsztituensei							
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
FA	FA ₁	TCA	TCA	OH	OH	H	OH	NHCOMe	Me
	FA ₂	TCA	TCA	H	OH	H	OH	NHCOMe	Me
	FA ₃	TCA	TCA	OH	H	H	OH	NHCOMe	Me
	PHFA _{3a}	TCA	OH	OH	H	H	OH	NHCOMe	Me
	PHFA _{3b}	OH	TCA	OH	H	H	OH	NHCOMe	Me
	HFA ₃	OH	OH	OH	H	H	OH	NHCOMe	Me
	FAK ₁	=O	TCA	OH	OH	H	OH	NHCOMe	Me
FB	FBK ₁	=O	TCA	OH	OH	H	OH	NH ₂	Me
	FB ₁	TCA	TCA	OH	OH	H	OH	NH ₂	Me
	izo-FB ₁	TCA	TCA	OH	H	OH	OH	NH ₂	Me
	PHFB _{1a}	TCA	OH	OH	OH	H	OH	NH ₂	Me
	PHFB _{1b}	OH	TCA	OH	OH	H	OH	NH ₂	Me
	HFB ₁	OH	OH	OH	OH	H	OH	NH ₂	Me
	FB ₂	TCA	TCA	H	OH	H	OH	NH ₂	Me
	FB ₃	TCA	TCA	OH	H	H	OH	NH ₂	Me
	FB ₄	TCA	TCA	H	H	H	OH	NH ₂	Me
	FB ₅	Hexahidroxialkil alapváz, pontos szerkezete még ismeretlen							
	3- <i>epi</i> -FB ₃	TCA	TCA	OH	H	H	OH	NH ₂	Me
	3- <i>epi</i> -FB ₄	TCA	TCA	H	H	H	OH	NH ₂	Me
FB ₆	TCA	TCA	OH	OH	OH	H	NH ₂	Me	
FC	FC ₁	TCA	TCA	OH	OH	H	OH	NH ₂	H
	<i>N</i> -acetyl-FC ₁	TCA	TCA	OH	OH	H	OH	NHCOMe	H
	izo-FC ₁	TCA	TCA	OH	H	OH	OH	NH ₂	H
	<i>N</i> -acetyl-izo-FC ₁	TCA	TCA	OH	H	OH	OH	NHCOMe	H
	OH-FC ₁	TCA	TCA	OH	OH	OH	OH	NH ₂	H
	<i>N</i> -acetyl-OH-FC ₁	TCA	TCA	OH	OH	OH	OH	NHCOMe	H
	FC ₃	TCA	TCA	OH	H	H	OH	NH ₂	H
FC ₄	TCA	TCA	H	H	H	OH	NH ₂	H	
FP	FP ₁	TCA	TCA	OH	OH	H	OH	3-HP	Me
	FP ₂	TCA	TCA	H	OH	H	OH	3-HP	Me
	FP ₃	TCA	TCA	OH	H	H	OH	3-HP	Me



trikarballilsav
(TCA)



3-hidroxiipridínium
(3-HP)

ÉLELMISZEREK

A BIZOTTSÁG 1881/2006/EK RENDELETE

2006. december 19-i, az élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékeinek meghatározása

- mikotoxin **határértékek**
- ez a rendelet teljes egészében kötelező és közvetlenül alkalmazandó valamennyi tagállamban
- 2006 óta 36 módosítás
- utolsó módosítás 2021.08.27.

TAKARMÁNYOK

- **Aflatoxin B1 határérték**, 44/2003. (IV. 26.) FVM rendelet, a Magyar Takarmánykódex kötelező előírásairól
- A BIZOTTSÁG **AJÁNLÁSA**, (2006. augusztus 17.), a dezoxinivalenol, a zearalenon, az ochratoxin-A, a T-2, a HT-2 és a **fumonizinek** állati takarmányozásra szánt termékekben való előfordulásáról

Élelmiszerek: Fumonizinek	Határérték (µg/kg) B ₁ és B ₂ összege
Feldolgozatlan kukorica, a nedves őrléssel történő feldolgozásra szánt feldolgozatlan kukorica kivételével	4 000
Közvetlen emberi fogyasztásra szánt kukorica, közvetlen emberi fogyasztásra szánt kukorica alapú élelmiszerek, a 2.6.3. és 2.6.4. pontban felsorolt élelmiszerek kivételével	1 000
Kukorica alapú reggeli gabonapelyhek és kukorica alapú snackek	800
Feldolgozott kukorica alapú élelmiszerek és bébiételek csecsemők és kisgyermek számára	200
Az 1103 13 vagy 1103 20 40 KN-kód alá tartozó, 500 mikron feletti szemcseméretű kukorica őrlési frakciói és az 1904 10 10 KN-kód alá tartozó, 500 mikron feletti szemcseméretű, közvetlen emberi fogyasztásra nem használt egyéb kukoricaőrlési termékek	1 400
A 1102 20 KN-kód alá tartozó, legfeljebb 500 mikron szemcseméretű kukorica őrlési frakciói és az 1904 10 10 KN-kód alá tartozó, ≤ 500 mikron szemcseméretű, közvetlen emberi fogyasztásra nem használt egyéb kukoricaőrlési termékek	2 000
Takarmányok: Fumonizinek	Jelenleg nincs határérték

Takarmányok: Fumonizinek

Tervezet (2021) Takarmány határértékekre: Fumonizinek tekintetében	Maximális szint mg/kg-ban (ppm) a 12%-os nedvesség tartalmú takarmányra vonatkoztatva
Teljes értékű takarmányok	
Teljes értékű takarmány, kivéve:	5,0
- felnőtt kérődzők és prémes állatok	30
- borjak (< 4 hónapos), bérányok és gidák	10
- baromfi, a kacsza kivételével	20
- lovak	2,0
- nyulak	1,0
- sertések	0,5

- érdekvédelmi szervezetek részéről vétőzés (egyres területeken nem tudják tartani a határértékeket)
- növényvédőszeres kivezetése (súlyos gondot fog okozni a toxinszennyezetség viaszorítása elleni harcban)

A fumonizinek azonosításának lépései

Fuzárium izolátumok begyűjtése (főként kukoricáról)



Fuzáriumok izolálása *Fusarium* fajokra szelektív módosított PCNB táptalajon



Fusarium verticillioides izolátumok azonosítása PDA táptalajon



Fumonizinek szilárd-fázisú fermentációs termeltetése a *F. verticillioides* törzsek egyspóra-eredetű konídium szuszpenzióival beoltott rizstenyészetekben



A tenyészetek szárítása és megőrlése



A fumonizinek őrleményekből történő kivonása (extrakció)

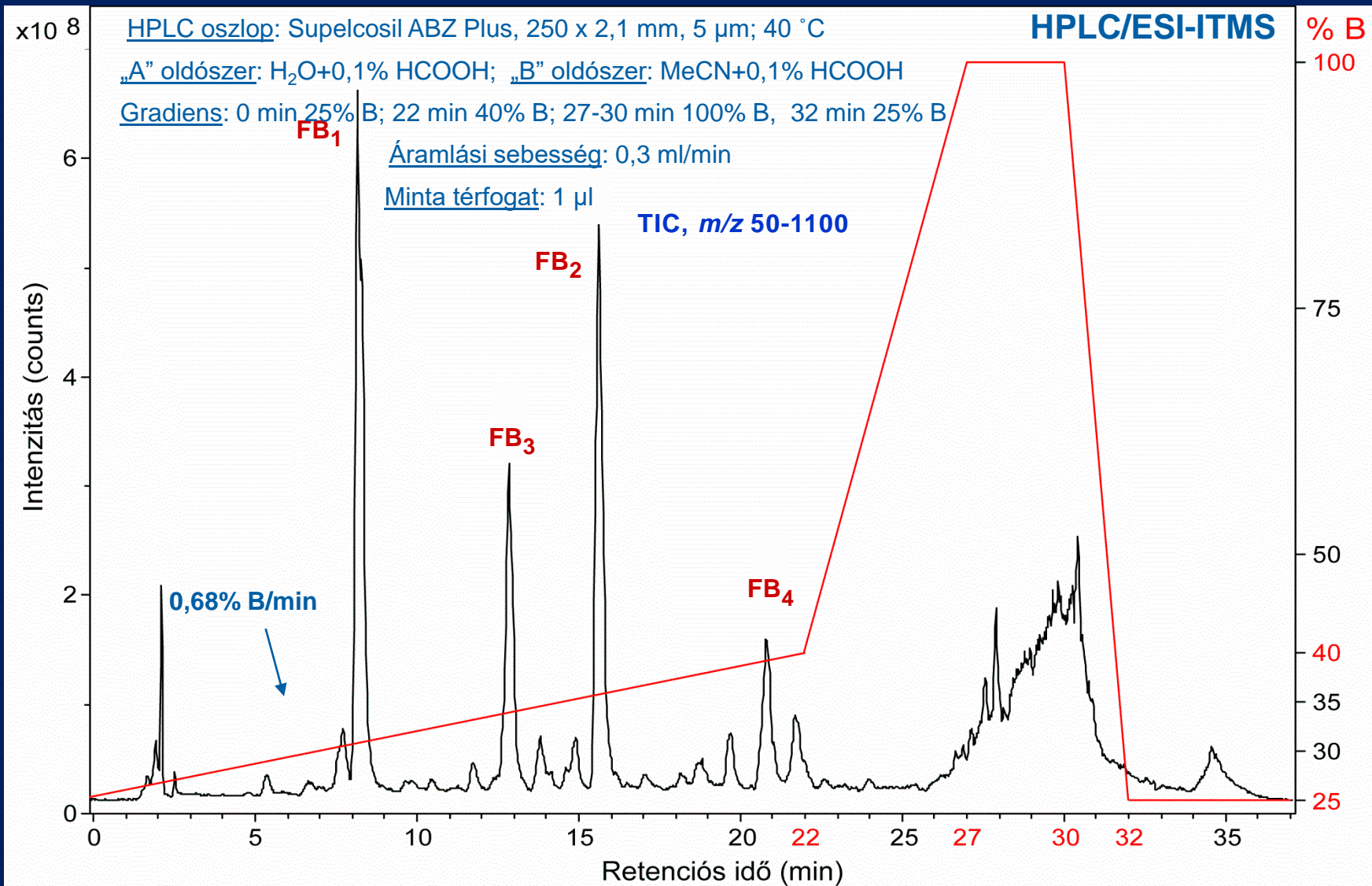


A kivonatok analízise HPLC/ESI-ITMS és TOFMS módszerrel

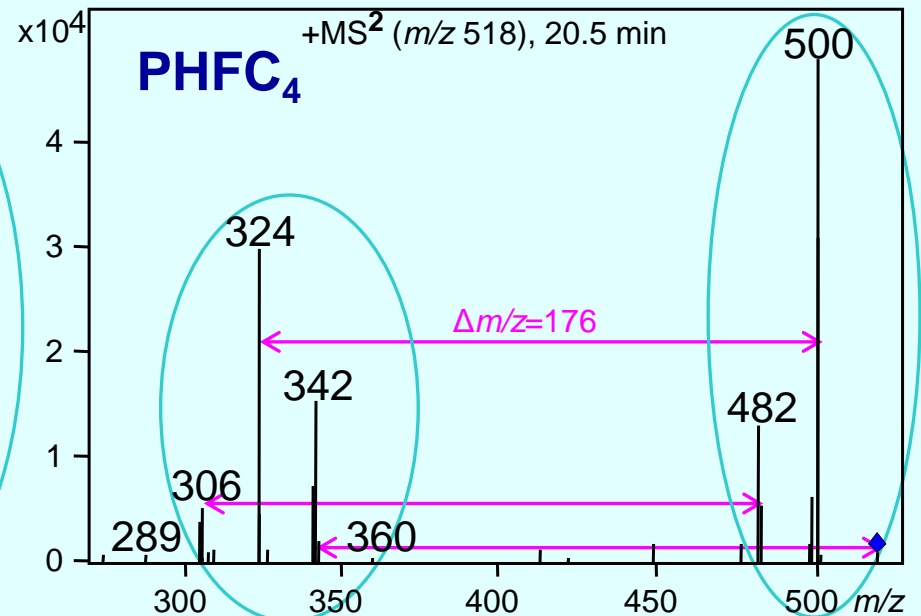
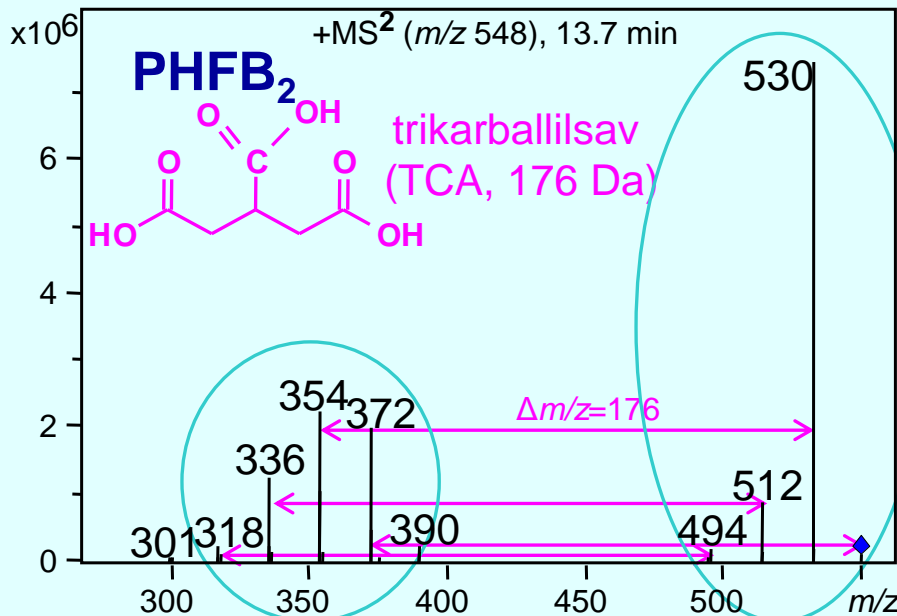
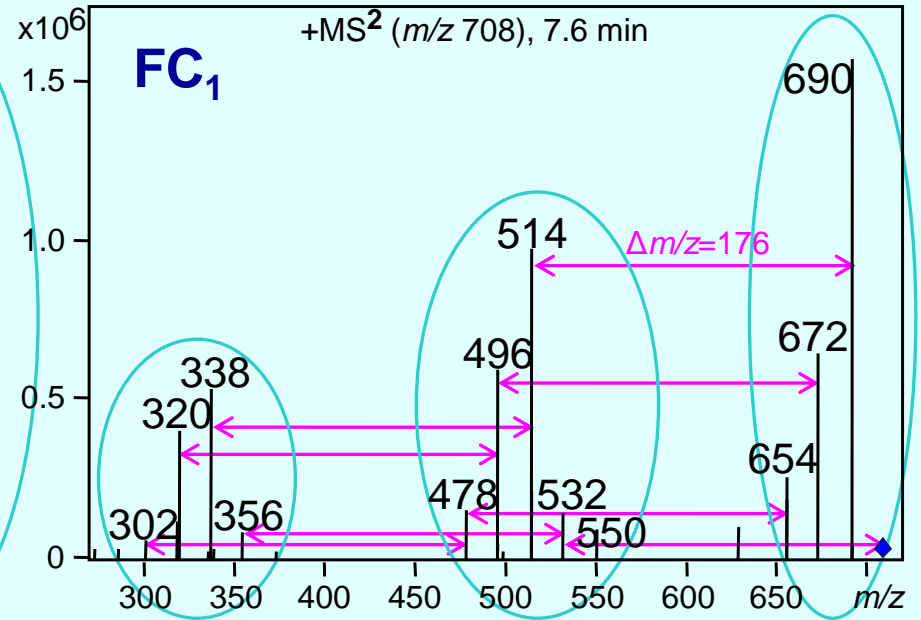
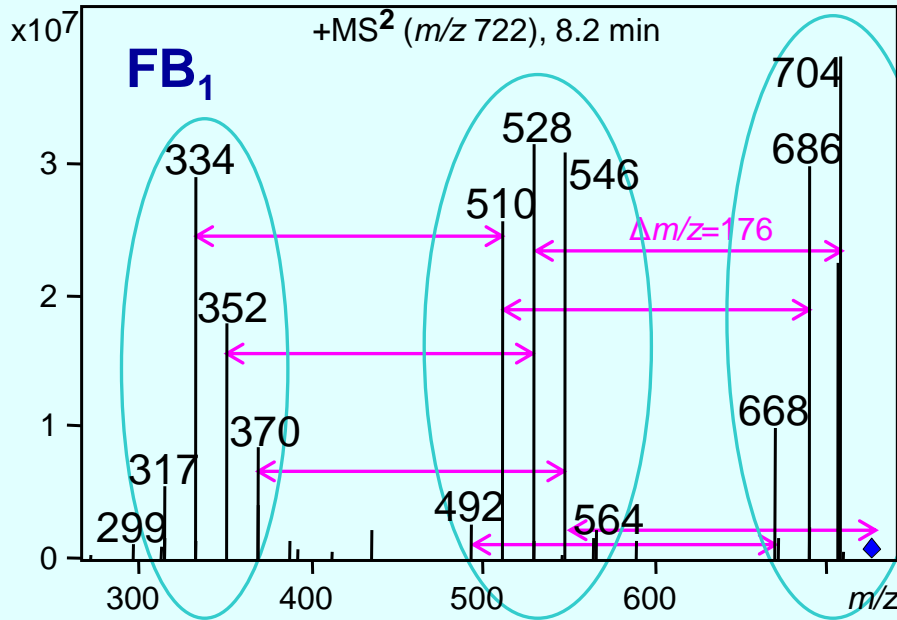


Az MS és MS² spektrumok kiértékelése, a korábban leírt és az új fumonizinek azonosítása

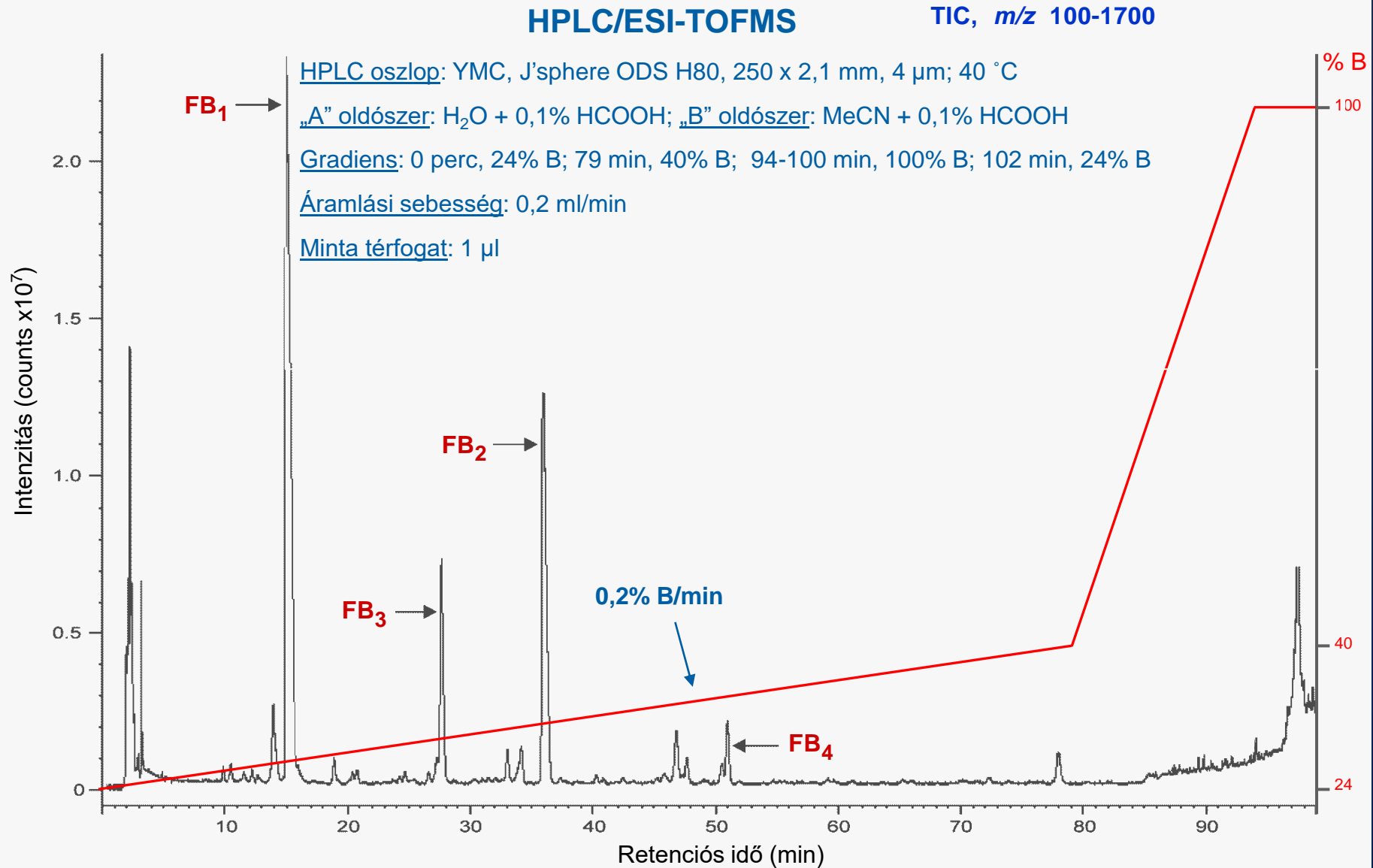
A kutatás elején alkalmazott meredekebb gradiens HPLC elválasztással kapott rizstenyészet kivonat kromatogramja



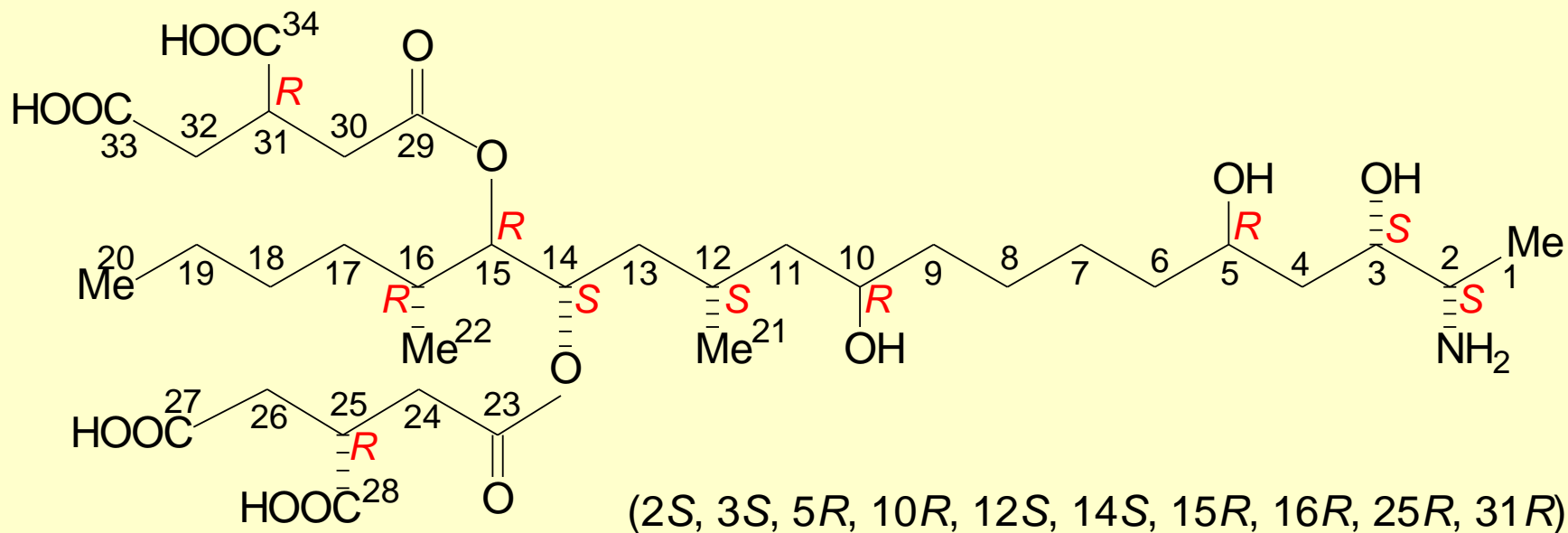
Fumonizinek molekulaionjai MS² spektruma



Szerkezeti izomerek elválasztására javasolt HPLC oszlop és kevésbé meredek gradiens elválasztás alkalmazásával kapott kromatogram

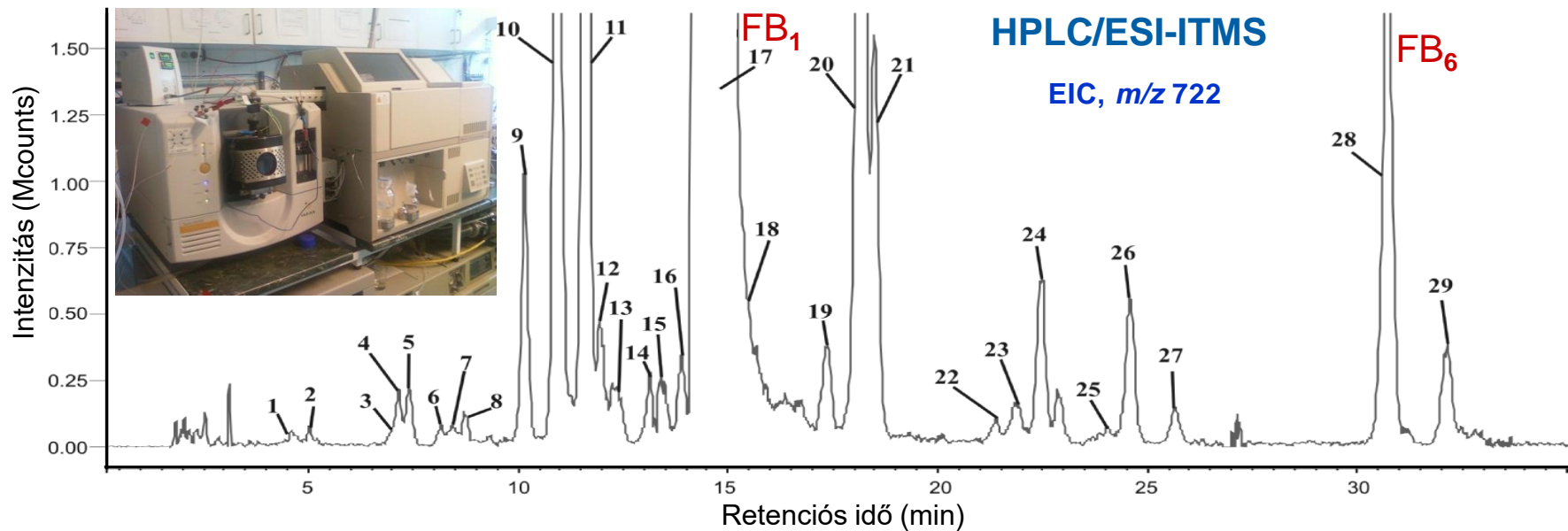
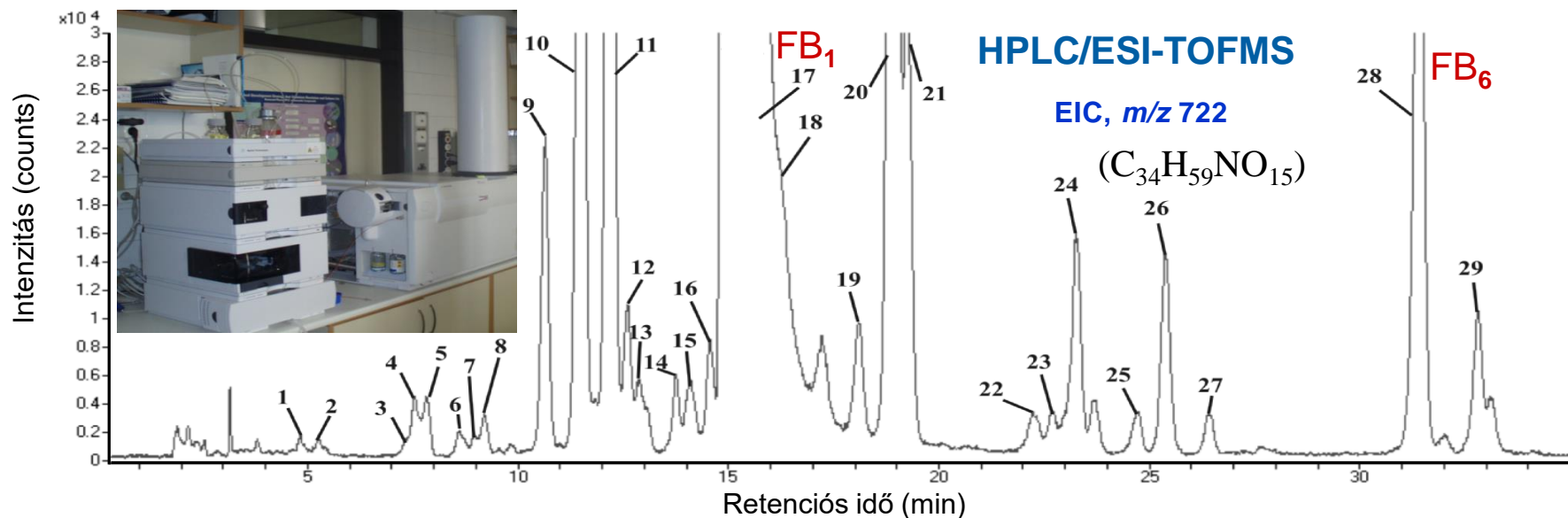


Az FB₁ toxin szerkezete és a királis szénatomok abszolút konfigurációja

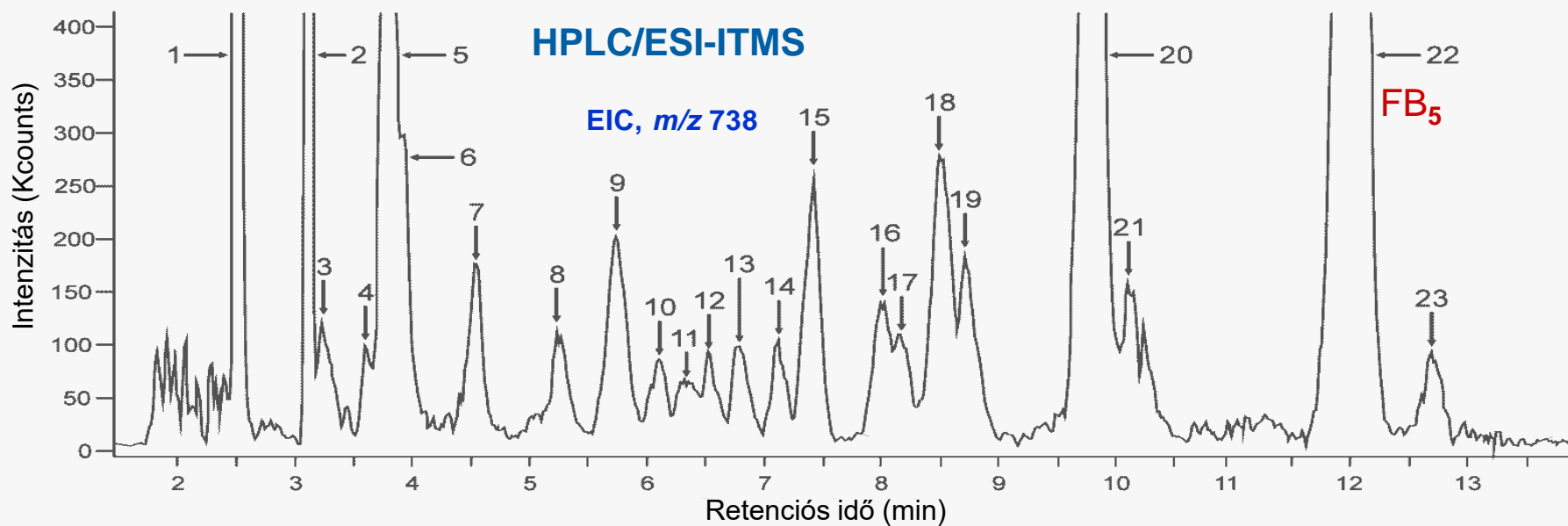
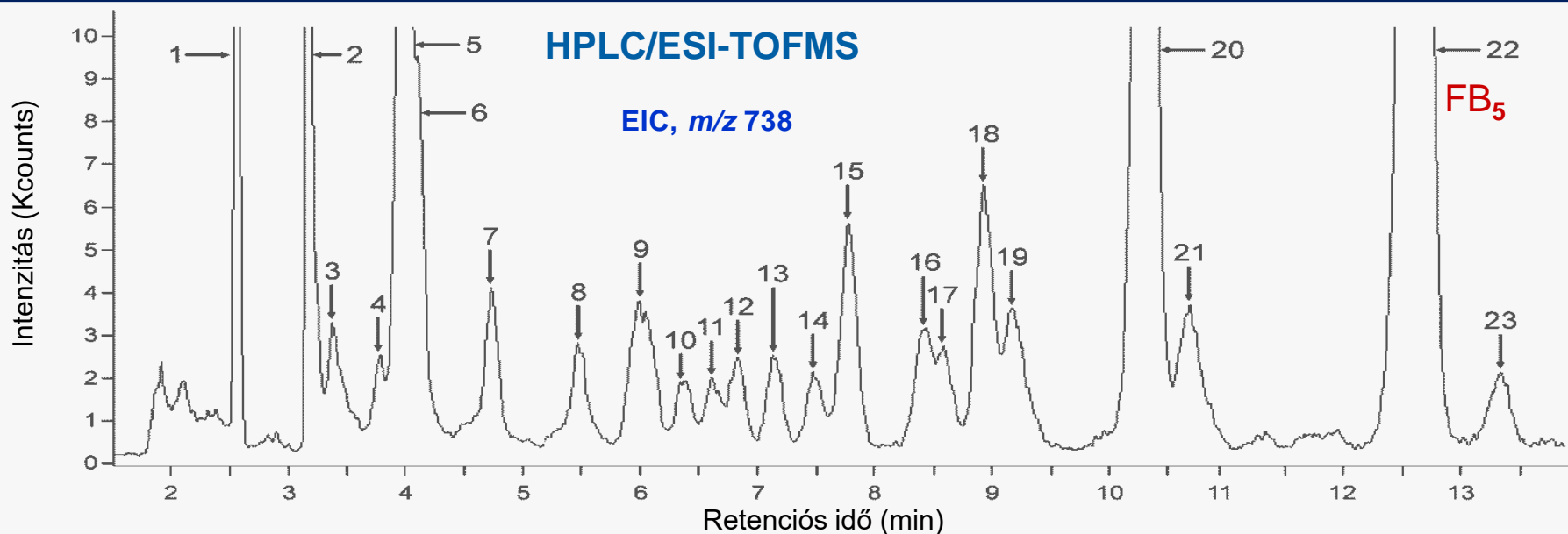


A 10 királis szénatom miatt elméletben $2^{10}=1024$ izomer lehetséges!

Az FB₁ toxin és 28 izomerje azonosítása rizstenyészetből



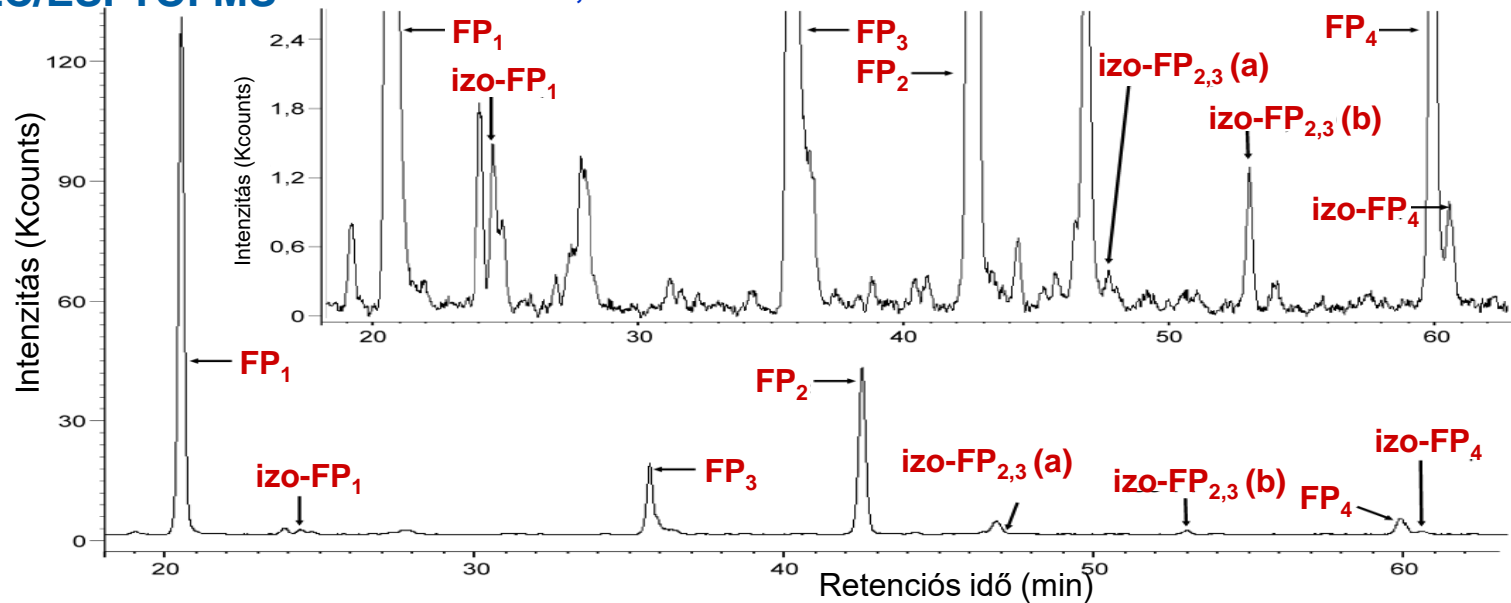
Az FB₅ toxin és 22 izomerje azonosítása rizstenyészetből



Az FP₄ toxin és 4 új FP₁₋₄ izomer azonosítása rizstenyészetből

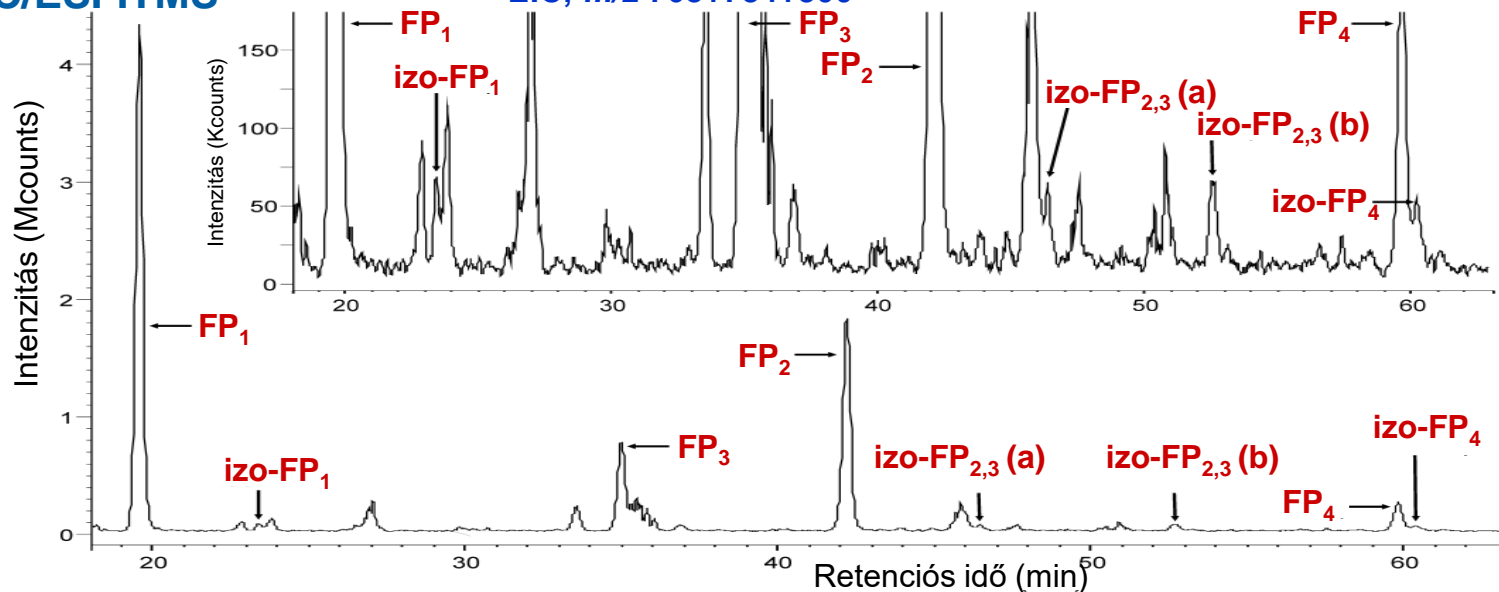
HPLC/ESI-TOFMS

EIC, m/z 768+784+800



HPLC/ESI-ITMS

EIC, m/z 768+784+800



Fatty acid esters of fumonisins: first evidence of their presence in maize

Claudia Falavigna^a, Irene Lazzaro^b, Gianni Galaverna^a, Paola Battilani^b and Chiara Dall'Asta^{a*}

^aDepartment of Food Science, University of Parma, Parco Area delle Scienze 17/A, 43124 Parma, Italy; ^bInstitute of Entomology and Plant Pathology, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, 29122, Piacenza, Italy

(Received 13 March 2013; final version received 2 May 2013)

Fumonisin derivatives obtained by esterification of fumonisin B₁ (FB₁) with palmitic, oleic and linoleic fatty acids have been recently described, but never reported in raw maize so far. In this study, the presence of oleoyl-EFB₁ (EFB₁OA) and linoleoyl-EFB₁ (EFB₁LA) in raw maize is reported by means of a suitable LC-ESI-MS/MS method. In addition, the production of EFB₁ derivatives by three *Fusarium verticillioides* strains is described on malt extract-based media and on corn meal-based growth media. EFB₁OA and EFB₁LA were produced by all considered strains in corn meal medium, with EFB₁LA > EFB₁OA. On the contrary, EFB₁OA and EFB₁LA were never observed in *Fusarium* cultures grown on a malt extract medium, suggesting that the esterification of FB₁ can occur only in a complex matrix such as maize.

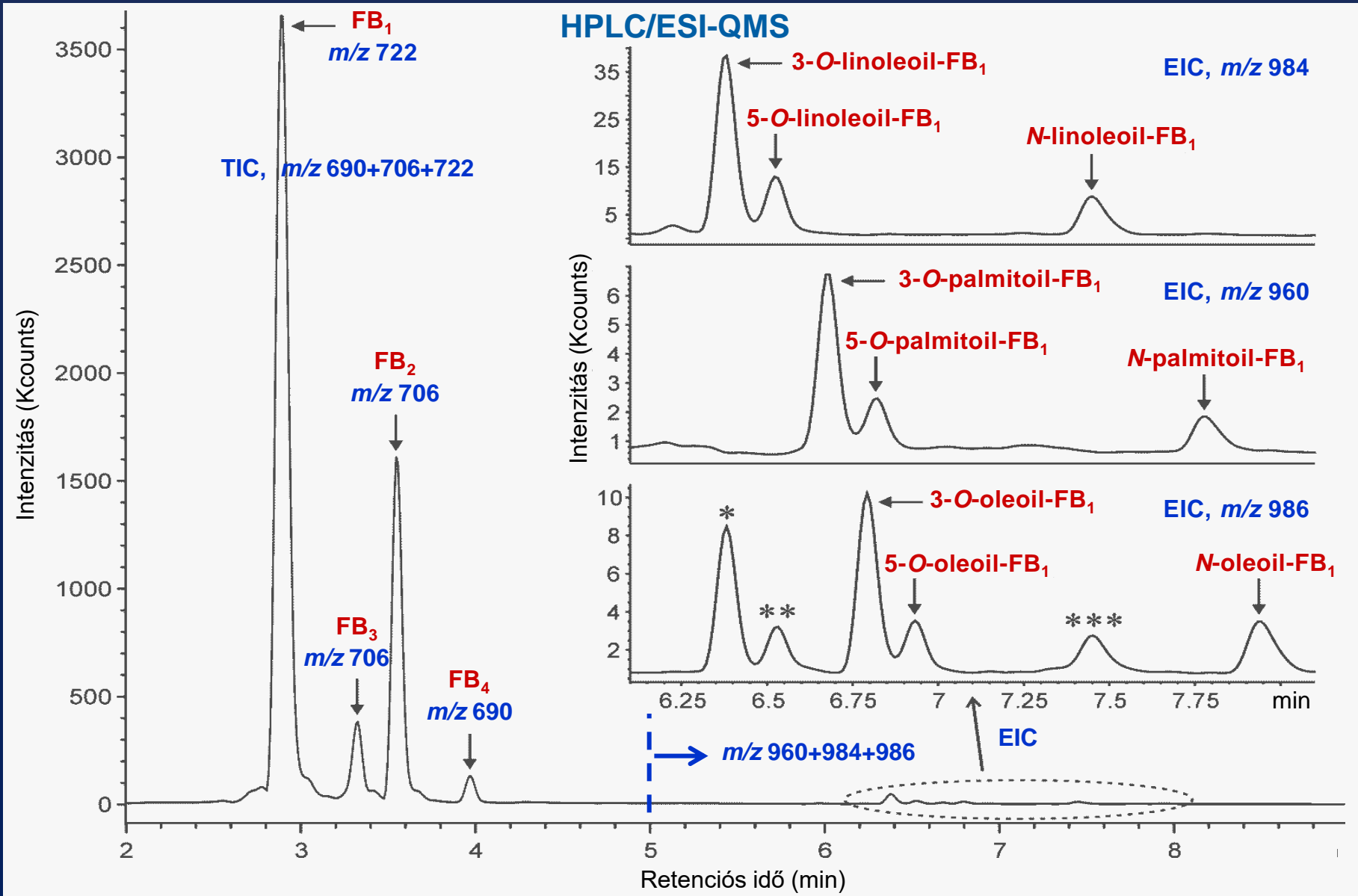
Keywords: masked fumonisins; Zea Mays; *Fusarium verticillioides*; plant pathogen interaction

Introduction

Fusarium verticillioides, together with *F. proliferatum*, are filamentous fungi able to colonise maize crops after silk emergence, causing a typical disease known as “pink ear rot”, with the simultaneous fumonisin accumulation in kernels (Marasas 2001; Rheeder et al. 2002). Since 1988, more than 28 fumonisin analogues have been identified and classified into four groups, named A-, B-, C- and P-series fumonisins (Bezuidenhout et al. 1988;

the study performed by Bartók et al. (2010) in which three fumonisin derivatives obtained by the esterification of FB₁ with palmitic, oleic and linoleic fatty acids (the proposed structures are reported in Figure 1) were detected and characterised in solid cultures of *F. verticillioides* grown on cracked rice. Such derivatives, called palmitoyl-, oleoyl- and linoleoyl-EFB₁ (EFB₁PA, EFB₁OA and EFB₁LA, respectively), can be considered as masked fumonisins and, more specifically, as bound fumonisins.

6 O-acil- és 3 N-acil-FB₁ származék azonosítása rizstenyészetből



RESEARCH ARTICLE

Identification of *N*-acyl-fumonisin B1 as new cytotoxic metabolites of fumonisin mycotoxins

Henning Harrer^{1*}, Elad L. Laviad^{2*}, Hans Ulrich Humpf^{1**} and Anthony H. Futerman²

¹ Institute of Food Chemistry, Westfälische Wilhelms-Universität, Münster, Germany

² Department of Biological Chemistry, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel

Scope: Fumonisin B1 (FB1) is a mycotoxin produced by *Fusarium* species. The predominant derivative, fumonisin B1 (FB1), occurs in food and feed and is of health concern due to its hepatotoxic and carcinogenic effects. However, the role of FB1 metabolites on the mechanism of the toxicity, the inhibition of the ceramide synthesis, is unknown. The aim of this study was to identify new fumonisin metabolites and to evaluate their cytotoxic potential.

Methods and results: MS, molecular biology, and in vitro enzyme assays were used to investigate fumonisin metabolism in mammalian cells overexpressing human ceramide synthase (CerS) genes. *N*-acyl-FB1 derivatives were detected as new metabolites in cultured cells at levels of up to 10 pmol/mg of protein. The *N*-acylation of FB1 and hydrolyzed FB1 was analyzed in several cell lines, including cells overexpressing CerS. The acyl-chain length of the *N*-acyl fumonisins depends on the CerS isoform acylating them. The *N*-acyl fumonisins are more cytotoxic than the parent fumonisin B1.

Conclusion: The identification of *N*-acyl fumonisins with various acyl chain lengths together with the observed cytotoxicity of these compounds is a new aspect of fumonisin-related toxicity. Therefore, these new metabolites might play an important role in the mode of action of fumonisins.

Received: July 19, 2012

Revised: October 20, 2012

Accepted: November 5, 2012

Food Sci. Biotechnol. 22(S): 147-152 (2013)

DOI 10.1007/s10068-013-0060-6

RESEARCH ARTICLE

Analysis of *N*-Fatty Acyl Fumonisin in Alkali-processed Corn Foods

Je Won Park, Peter M. Scott, and Ben P.-Y. Lau

Received: 7 June 2012 / Revised: 20 September 2012 / Accepted: 21 September 2012 / Published Online: 28 February 2013

© KoSFoST and Springer 2013

ADOPTED: 23 January 2018

doi: [10.2903/j.efsa.2018.5172](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5172)

Appropriateness to set a group health-based guidance value for fumonisins and their modified forms

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM),

Helle-Katrine Knutsen, Lars Barregård, Margherita Bignami, Beat Brüsweiler, Sandra Ceccatelli, Bruce Cottrill, Michael Dinovi, Lutz Edler, Bettina Grasl-Kraupp, Christer Hogstrand, Laurentius (Ron) Hoogenboom, Carlo Stefano Nebbia, Annette Petersen, Martin Rose, Alain-Claude Roudot, Tanja Schwerdtle, Christiane Vleminckx, Günter Vollmer, Heather Wallace, Chiara Dall'Asta, Arno C Gutleb, Hans-Ulrich Humpf, Corrado Galli, Manfred Metzler, Isabelle P Oswald, Dominique Parent-Massin, Marco Binaglia, Hans Steinkellner and Jan Alexander

ADOPTED: 22 March 2018

doi: 10.2903/j.efsa.2018.5242

Risks for animal health related to the presence of fumonisins, their modified forms and hidden forms in feed

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM),

Helle-Katrine Knutsen, Jan Alexander, Lars Barregård, Margherita Bignami, Beat Brüscheweiler, Sandra Ceccatelli, Bruce Cottrill, Michael Dinovi, Lutz Edler, Bettina Grasl-Kraupp, Christer Hogstrand, Laurentius (Ron) Hoogenboom, Carlo Stefano Nebbia, Annette Petersen, Martin Rose, Alain-Claude Roudot, Tanja Schwerdtle, Christiane Vleminckx, Günter Vollmer, Heather Wallace, Chiara Dall'Asta, Gunnar-Sundstøl Eriksen, Ionelia Taranu, Andrea Altieri, Ruth Roldán-Torres and Isabelle P Oswald



KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!

