

**A módosított, a mátrixhoz kötött és intakt mikotoxinok egységes fogalomrendszere és a mátrixhoz kötött mikotoxinok alternatív meghatározása**

**Unitary definition of the modified, matrix-associated and free mycotoxins and alternative determination of the matrix-associated mycotoxins. A minireview**

*Szabó-Fodor Judit*

[fodor.judit@ke.hu](mailto:fodor.judit@ke.hu)

*MTA KE Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport, Kaposvári Egyetem*

*7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.*

## **Abstract**

**The healthy organism is able to transform a relatively high proportion of mycotoxins. The original molecular form of some mycotoxins may be altered via the enzymatic xenobiotic transformation ability of the liver, or even by the intestinal microbiota, but in some instances as early as the site of production by the mould or in the host plant they may be transformed, as well. Moreover, divergent chemical effects may play a role in the modification of the original chemical form. Along this process, the emerging new molecules can be more toxic and biologically more active than the parent compound. The hidden (bound) mycotoxin theory is rather new. For the clarification of the erroneously and unequivocally used terminology in the year 2014, a new, systematic definition criterion has been worked out, in which mycotoxins are classified into four hierarchic levels, based on their formation. This mini-review introduces this**

**classification system with numerous examples and shows alternative method for the preparation of samples before analysis of matrix associated mycotoxins.**

## **Összefoglalás**

**Az egészséges szervezet a mikotoxinok jelentős részét képes átalakítani. Néhány mikotoxin eredeti kémiai formája megváltozhat a máj xenobiotikum-transzformáló enzimrendszere, illetve az intesztinális mikrobiota által, de már keletkezésük helyén, a növényi szervezetben vagy akár a penészgomba által is átalakulhatnak. Ezen túlmenően a legkülönbözőbb kémiai hatások is szerepet játszhatnak az eredeti szerkezet megváltoztatásában. Ennek során a kiindulási molekulánál toxikusabb, biológiailag aktívabb vegyületek is keletkezhetnek. A rejtett (kötött) mikotoxinok kérdésköre viszonylag új keletű. A nem egyértelműen és következetesen használt fogalmak tisztázására 2014-ben új, szisztematikus definíciórendszert dolgoztak ki, amely szerint négy hierarchikus szintre osztották a mikotoxinokat kialakulásuk szerint. A mini-review ezt a fogalomrendszert ismerteti számos példával bemutatva, illetve egy alternatív módszert ismertet a mátrixhoz kötött mikotoxinok analízisének előkészítésére.**

## **Bevezetés**

Ma már több mint ezer toxikus penészgomba metabolit ismert, közülük közel száz káros hatását bizonyították. Kiemelkedő humán- és állategészségügyi jelentőséggel azonban, jelen ismereteink szerint, mindössze 15-20 mikotoxin rendelkezik. A penészgombák között vannak olyanok, amelyek az általuk termelt mikotoxinokkal már a szántóföldön szennyezik a növényeket (ezek növekedésükhöz több vizet igényelnek, ún. szántóföldi penészgombák), vannak továbbá olyanok, amelyek főképp a raktározás során termelnek mikotoxinokat (raktári penészgombák). Az előbbieket csoportjába tartoznak a *Fusarium* fajok, amelyeknek állat- és humán-egészségügyi szempontból fontosabb toxinjai a zearalenon (F-2 toxin, ZEA), a

trichotecének (T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol [NIV], deoxynivalenol [DON], diacetoxyscirpenol [DAS], fusarenon-X [FX]) és a fumonizinek (FBs). A raktári penészgombák főbb képviselői az *Aspergillus* és a *Penicillium* fajok, amelyek a következő fontosabb toxinokat termelik: aflatoxinok (AB1), ochratoxin-A (OTA), citrinin, patulin és rubratoxin B. Említést érdemelnek még a leggyakrabban a *Claviceps purpurea* faj által termelt ergot toxinok, amelyek napjainkban már csak ritkán okoznak állat-és humánegészségügyi problémát. Napjainkban a *Claviceps purpurea* fajhoz tartozó törzsekkel, valamint egyéb, *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetséghez tartozó, fajokkal például gyógyszeripari felhasználásra termeltetnek ergot alkaloidokat.

A mikotoxinok kis dózisu, hosszantartó fogyasztása, mint környezeti terhelés, humán- és állategészségügyi vonatkozásban is rendkívül káros hatású. Az egészséges szervezet azonban a mikotoxinok jelentős részét átalakíthatja. Néhány mikotoxin eredeti kémiai formája megváltozhat a máj xenobiotikum-transzformáló enzimrendszer, illetve az intesztinális mikrobiota által is, de már a keletkezésük helyén, a növényi szervezetben vagy a penészgomba által is átalakulhatnak. Ezen túlmenően a legkülönbözőbb kémiai hatások is szerepet játszhatnak az eredeti szerkezet megváltoztatásában. Ennek során azonban a kiindulási molekulánál toxikusabb, biológiailag aktívabb, vegyületek is keletkezhetnek.

### **1. Új fogalomrendszer az eredeti formától eltérő szerkezetben előforduló mikotoxinok meghatározására**

A rejtett (kötött) mikotoxinok kérdésköre viszonylag újkeletű. A 'masked mycotoxin' fogalmát Gareis és mtsai. (9) használták először a zearalenon-glikozidra, amely rutin analitikai eljárással nem mutatható ki a takarmányból vagy az élelmiszerből, viszont az emésztőkészülékben az enzimek hatására (hidrolízis) szabaddá váló zearalenon felszívódik, így gyakorlatilag a szervezetet sokkal nagyobb mikotoxin terhelés éri, mint ahogyan azt az

analitikai eredmények alapján becsülni lehet. Az International Life Science Institute (ILSI) 2011-ben fogadta el a 'masked mycotoxin' fogalmát, amelyet 2014-ben Berthiller és mtsai. (2) javaslatára felülvizsgáltak és pontosítottak (17). E szerint azok a mikotoxin származékok, amelyen nem detektálhatóak a hagyományos technikákkal, mert szerkezetük a növényi anyagcsere, vagy a detoxifikáló folyamatok során, módosult, „masked” mikotoxinoknak nevezzük. Berthiller és mtsai. (2) közleményükben megerősítésképpen hangsúlyozták, hogy csakis a növények által átalakított mikotoxin metabolitokat célszerű maszkolt (masked) mikotoxinok névvel illetni. Egyéb olyan metabolitok, amelyek bár szintén nem mutathatók ki a rutin analízis során, de nem a növényekben keletkeztek, hanem pl. hőhatásra alakulnak ki, nem tartoznak a „masked” mikotoxinok közé. A maszkolt mikotoxinok toxikológiája és toxikokinetikája napjainkban még alig ismert. Habár bebizonyosodott, hogy pl. a ZEN (ZEN-14-Glc) és a DON (DON-3-Glc) glükozidjai toxikus hatással bírnak, ezekre vonatkozóan nincsenek toxikológiai referencia értékek, és az élelmiszerekben vagy takarmányokban maximálisan tolerálható szintjeik sincsenek meghatározva. A kivételek eddig: 1) aflatoxin M1 metabolit maximális szintje tejben (EC no. 1881/2006) és 2) provizórikus maximálisan tolerálható napi felvétel (PMTDI), csakúgy, mint az akut referencia dózis (ARfD) a DON csoportra és annak két metabolitjára/prekurzorára, a 3-acetil-DON-ra és a 15-acetil-DON-ra (13). Berthiller és mtsai. (2) szerint bár a növények által kialakított metabolitokról hozzáférhető ismereteink is hiányosak még, erősen feltételezhető, hogy ezek alacsonyabb toxicitással bírnak (hiszen detoxifikáló folyamat során alakultak ki). Ez utóbbi review-ban a 'masked' mikotoxinokat extrahálható és kötött (bound) (non-extractable) mikotoxinokra osztották, illetve ez utóbbin belül kovalensen vagy nem kovalensen kötött (szénhidrát vagy fehérje mátrixhoz) formákat különítették el. Rychlik és mtsai (17) új, minden formára kiterjedő, szisztematikus definíciórendszerrel dolgoztak ki, melyben négy hierarchikus szintre sorolták be a mikotoxinokat kialakulásuk szerint (**1. táblázat**).

A rendszer legmagasabb szinten a mikotoxinokat aszerint osztályozza, hogy azok szabad formában („*free*”) (módosítás nélkül), mátrixhoz kötött formában („*mátrix-associated*”) vagy kémiai szerkezetükben módosított („*modified*”) formában jelennek meg.

#### *Szabad mikotoxinok („free”)*

Ebbe a kategóriába tartoznak az alap mikotoxin szerkezeti formával rendelkező mikotoxinok, amelyek a különböző penészgombák jól ismert bioszintetikus útvonalán keresztül alakulnak ki. Így például az OTA, AFB<sub>1</sub>, FB<sub>1</sub>, ZEA és a DON. A 3-és 15-acetil-DON szintén a bioszintetikus útvonal során képződnek, de több kategóriába is besorolhatóak, mert ezeket a transzgenikus növények enzimrendszere (trichotecén-O-acetiláz) is képes DON-ból átalakítani (14), ezért ezek a növények által kialakított ún. „masked” mikotoxinok kategóriába is besorolhatók.

#### *Mátrixhoz kötött formák („mátrix associated”)*

Ez a fogalom azokra a mikotoxinokra használatos, amelyek: 1) komplexet képeznek a mátrix összetevőkkel, vagy fizikailag kötődnek a mátrixhoz, vagy 2) kovalens kötéssel kötődnek a mátrix komponensekhez. Erre tipikus példa, amikor a fumonizin trikarballil csoportjával kötődik a mátrix rost vagy fehérje frakcióihoz. Ezt először Shier (18) mutatta ki, Seefelder és mtsai. (19) pedig megerősítették. Hasonlóképpen ún. „mátrix-associated” formák az OTA és a DON oligoszacharidhoz kötött formái is (3; 22).

#### *Módosított mikotoxinok („modified forms”)*

Ebbe a kategóriába sorolunk minden olyan mikotoxin formát, amelyek eredeti szerkezete kémiai vagy biológiai úton módosult.

#### *Biológiailag módosított („biologically modified”) mikotoxinok*

A biológiailag módosított mikotoxinok közé tartozik az aflatoxin B1-epoxid, amely a májban, a xenobiotikum transzformáció során keletkezik és a DNS-hez kovalensen kötődik (*funkcionalizált*), kialakítva egy olyan mellékterméket, amely a toxikus, jelen esetben karcinogén, hatásért felelős. A *növényekben* a metabolizmus II. fázisában alakul ki pl. a DON-3-glükozid vagy a ZEN-14-glükozid (*konjugált* forma), amelyek az ILSI szerint tipikusan „masked” mikotoxinok (2). Az *állati szervezet által* kialakított konjugált formák pl. a DON-3/8/15-glükuronid vagy a HT2-3/4-glükuronidok (24; 21). A *penészgomba által* konjugált forma pl. a ZEN-14-szulfát (16) vagy az N-acil és O-acil fumonizin (1). Minden más biológiai módosulatot a különbözőképpen módosított (*differently modified*) csoportba soroltak. Ilyen pl. a deepoxi-DON (DOM-1), mint a DON elsődleges metabolitja, amelyet az állati és humán szervezet mikrobiotája alakít ki (4; 10).

Kémiaailag módosított („*chemically modified*”) mikotoxinok

A kémiaailag módosított mikotoxinok kategória a legterjedelmesebb, amelyekbe beletartoznak a hőhatásra kialakult („*thermally formed*”) és a nem hőhatásra kialakult („*non-thermally formed*”) származékok. Hőhatásra létrejövő degradációt edig már számos mikotoxin esetében leírtak. Ennek egyik legtipikusabb példája a FB1, amely Maillard típusú reakcióban redukáló cukrokkal lép reakcióba, kialakítva az N-(1-deoxi-D-fruktóz-1-yl) fumonizin B1-et és az N-karboximetil fumonizin B1-et (11). A kávészemek pörkölése során az OTA eredeti formából izomerizáció során alakul ki a 14-(R)-ochratoxin A és dekarboxiláció során a 14-dekarboxi-ochratoxin A. A nem hőhatásra kialakult mikotoxinok egyik tipikus példája a HFB1 (fumonizin hidrolizált formája), amely alkalikus hidrolízis során alakul ki (11). Ugyanez a metabolit Fodor és mtsai. (8) közleménye szerint az intesztinális mikrobiota által is kialakulhat, így akár a biológiailag módosított kategóriába is sorolható.

## **2. Mátrixhoz kötött fumonizinekkel kapcsolatos kutatások**

A legújabb irodalmi közlemények alapján a módosított formában jelenlévő fumonizinek mennyiségének mérését és jelenlétük tényét a további vizsgálatokban feltétlenül figyelembe kell venni. Ez utóbbi származékok ugyanis a hagyományos analitikai meghatározás során nem mérhetők, így megnehezítik az eredmények élelmiszerbiztonsági megítélését, mivel a hidrolizált és a kötött fumonizinek a gasztrointestinális traktusban az emésztés során szabadabbá válhatnak és felszívódhatnak (5). Ennek alapján joggal feltételezhető, hogy a fogyasztókat jóval magasabb fumonizin-terhelés éri, mint ahogyan azt a rutin módszerek alapján eddig becsülték.

Az extrahálható mikotoxinok könnyen detektálhatók, a mátrixhoz kötött mikotoxinok azonban nem közvetlen mérhetők, azokat az analízis előtt kémiai vagy enzimatis elökezeléssel fel kell szabadítani a mátrixból. Dall'Asta és mtsai. (6), akik nem-kovalensen kötött fumonizinek előfordulását írták le nyers kukoricában, szimulált humán *in vitro* emésztési modellt javasoltak ennek meghatározására. Ezzel a módszerrel nyers kukorica mintákban szignifikánsan több (30-40%) fumonizint mértek összehasonlítva azt a konvencionális extrakciós előkészítést követően mért mennyiséggel. Az utóbbi évtizedekben számos tanulmány foglalkozott a mátrixhoz kötött (hidden, rejtett) mikotoxinok szerepével a természetes úton kontaminálódott takarmányokkal és élelmiszerekkel kapcsolatosan.

Az extrakciós mintaelőkészítést követő nagyműszeres (HPLC, LC-MS) analitikai eljárásokkal ki nem mutatható fumonizinek megismerése az eddigi állatkísérletek eredményeinek újragondolását is szükségessé teszi. Az *in vivo* toxikológiai kutatásokban általában mesterséges toxintermelésre használt gombatenyészet takarmányokba való keverésével érik el a kívánt toxinterhelést, mivel kémiai tisztaságú toxinok használata nem minden esetben lehetséges (pl. nagytestű állatok). Ennek kapcsán is felmerül, hogy a tervezett expozíció (a nagyműszeres analízissel mért koncentráció) nem azonos a biológiailag hozzáférhető toxin

mennyiségével. A kockázatbecslés során azonban ezen arányok pontos ismerete elengedhetetlen.

### **3. Szimulált humán *in vitro* emésztési modell a kötött, de hidrolizálható fumonizin B1 mennyiségének *Fusarium verticillioides* gombatenyészetben történő meghatározására**

Az *in vitro* emésztéses vizsgálatot, amelynek során humán emésztési körülményeket szimulálva vizsgálható az ilealis chymusban mérhető, tehát „hozzáférhető” mikotoxinok mennyisége, Versantvoort és mtsai. (23) írták le először.

A modellben mesterséges úton, liofilizált enzimeket (mucin, alfa-amiláz, pepszin, pankreáz, lipáz és liofilizált epe) és körülményeket alkalmazva (pH, hőmérséklet, enzimaktivitás, motilitás) állítható elő a modell emésztési folyamat. A folyamat sematikus ábráját az **1. ábra**, a mesterséges emésztőnedvek összetételét pedig a **2. táblázat** mutatja.

Korábbi munkánkban (19) meghatároztuk az állatkísérletekben rendszeresen használt, mesterséges fertőzéssel kukorica és búza mátrixon előállított *F. verticillioides* gombatenyészet biológiailag hozzáférhető fumonizin koncentrációját szimulált humán emésztést követően; továbbá az így kapott eredményeinket összevetettük az extrahálással kinyert és LC-MS/MS-el meghatározott FB1 mennyiségével.

Vizsgáltuk a termeltetés során létrejött mátrixhoz való kötődést és meghatároztuk, hogy milyen mértékben következik be a mátrixhoz való kötődés. A minták fumonizin-tartalmát párhuzamosan két módszerrel vizsgáltuk. Az előállított minták fumonizin koncentrációját megmértük hagyományos (csak extrakciós), illetve *in vitro* emésztést követő analízissel is.

Megállapítottuk, hogy mindkét mátrix esetében (kukorica, búza) az emésztést követően mért összes FB1 mennyisége jelentősen meghaladta az extrahálás után mért szabad FB1 koncentrációját. Kukorica esetében a rejtett fumonizin B1 aránya 38,6% ( $\pm 18,5$ ) volt, míg



búzánál ez az arány 28,3% ( $\pm 17,8$ ) volt, az összes fumonizin százalékos arányában kifejezve. Szoros korreláció volt megállapítható az extrahálható és az összes FB1 koncentrációja között, búza ( $r^2=0,88$ ,  $P<0,005$ ) és kukorica ( $r^2=0,95$ ,  $P<0,005$ ) esetében is (**2. és 3. ábra**). Adataink összhangban vannak Dall'Asta és mtsai. (6) eredményeivel, amelyek szerint a rejtett FB1 arány 35,6%-ot ( $\pm 22,3$ ) képviselt természetes úton szennyeződött kukorica tételekben. Mindezek alapján megállapítottuk, hogy az évtizedek óta állatkísérletekben használt, mesterségesen előállított gombatenyészet nemcsak a termelődött fumonizinek aránya (15) tekintetében, de a rejtett FB1 arányának vonatkozásában sem tér el a természetben található fumonizinnel szennyezett mintáktól. Humán- és állategészségügyi vonatkozásban is figyelemreméltó az a tény, hogy a szervezetet jóval magasabb FB1 terhelés érheti, mint ahogyan azt a rutin módszerek alapján felállított határértékek megállapítása során becsülték.

### **Konklúzió**

A legújabb irodalmi közlemények alapján a mátrixhoz kötött ('matrix-associated') és a módosult formában jelen lévő ('modified mycotoxins') mikotoxinok mennyiségének mérését és jelenlétüknek tényét feltétlenül figyelembe kell venni a kockázatbecslés során. Az egyes intakt mikotoxin molekulák izomer formái, illetve a feltehetően jelentős mennyiségben előforduló és még ismeretlen hatással bíró fent említett, módosult és mátrixhoz kötött formák, akár toxicitásukat, akár előfordulási jelentőségüket tekintve pedig teljesen ismeretlen területnek számítanak a mikotoxin-kutatásban.

### **Köszönetnyilvánítás**

A kutatást a Magyar Tudományos Akadémia (az MTA KE „Mikotoxinok az Élelmiszerláncban” Kutatócsoport támogatásával) és a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta (BO\_499\_13, Sz-F. J.).

## Irodalomjegyzék

1. BARTÓK T. - SZÉCSI A. - JUHÁSZ K. - BARTÓK M. - MESTERHÁZY A. : 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 Addit. Contam.* 2013. 30:1651–1659.
2. BERTHILLER F.- CREWS C. et al.: Masked mycotoxins: A review. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013. 57, 165–186.
3. BITTNER A.- CRAMER B. et al.: Matrix binding of ochratoxin a during roasting. *J. Agric. Food Chem.* 2013. 61:12737–12743.
4. ERIKSEN GS.- PETTERSSON H. et al.: Transformation of trichothecenes in ileal digesta and faeces from pigs. *Arch. Tierernaehr.* 2002. 56:263–274.
5. DALL'ASTA C.- GALAVERNA G. et al.: Free and bound fumonisins in gluten-free food products. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009, 53, 492–499.
6. DALL'ASTA C.- FALAVIGNA C. et al.: In vitro digestion assay for determination of hidden fumonisins in maize. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 12042–12047.
7. FODOR J. - KAMETLER L. - KOVÁCS M.: Practical aspects of fumonisin production under laboratory conditions. *Mycotoxin Res.* 2006. 22:211–216.
8. FODOR J. - BALOGH K. - WEBER M. - MÉZES M. - KAMETLER L. - PÓSA R. - MAMET R. - BAUER J. - HORN P. - KOVÁCS F.- KOVÁCS M.: Absorption, distribution and elimination of fumonisin B(1) metabolites in weaned piglets. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal Control Expo. Risk. Assess.* 2008. 25:88–96.
9. GAREIS M. - BAUER J. et al.: Cleavage of zearalenone-glycoside, a “masked” mycotoxin, during digestion in swine. *Zentralbl. Veterinarmed. B* 1990. 37(3):236–240.

10. GRATZ SW. - DUNCAN G. et al.: The human fecal microbiota metabolizes deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside and may be responsible for urinary deepoxy-deoxynivalenol. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. 79:1821–1825.
11. HUMPF HU.- VOSS KA.: Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. *Mol Nutr Food Res* 2004. 48:255–269.
12. ILSI (International Life Sciences Institute) Workshop 2011
13. JECFA in: JOINT FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, *WHO Technical Report Series* 2011, 959:37–48.
14. KARLOVSKY P.: Biological detoxification of the mycotoxin deoxynivalenol and its use in genetically engineered crops and feed additives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011. 91:491–504.
15. MARÍN S. V.- SANCHIS I. et al.: Effect of water activity and temperature on growth and fumonizin B1 and B2 production by *Fusarium proliferatum* and *F. moniliforme* in grain. *Lett. Appl. Microbiol.* 1995. 21:298-301.
16. PLASENCIA J.- MIROCHA CJ.: Isolation and characterization of zearalenone sulfate produced by *Fusarium* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 1991. 57(1):146–150.
17. RYCHLIK M. - HUMPF HU. et al.: Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including “masked” mycotoxins. *Mycotoxin Res.* 2014, 30, 197–205.
18. SHIER WT.: The fumonisin paradox: a review of research on oral bioavailability of fumonisin B1, amycotoxin produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 2000. 19:161–187.
19. SEEFELDER W.- KNECHT A. et al.: Bound Fumonisin B1: analysis of Fumonisin-B1 Glyco and amino acid conjugates by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food. Chem.* 2003. 51:5567–5573.

20. SZABÓ-FODOR J.- DALL'ASTA C.- FALAVIGNA C.- KACHLEK M.- SZÉCSI Á.- SZABÓ A.- KOVÁCS M.: Determination of the amount of bioaccessible fumonisin B1 in different matrices after in vitro digestion. *World Mycotoxin J.* 2015. 8:261-267.
21. UHLIG S.- IVANOVA L. et al.: Enzyme-assisted synthesis and structural characterization of the 3-, 8-, and 15-glucuronides of deoxynivalenol. *J. Agric. Food Chem.* 2013. 61:2006–2012.
22. ZACHARIASOVA M.- VACLAVIKOVA M. et al.: Deoxynivalenol oligoglycosides: new “masked” fusarium toxins occurring in malt, beer, and breadstuff. *J. Agric. Food Chem.* 2012. 60:9280–9291.
23. VERSANTVOORT CHM. - OOMEN AG. et al.: Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food Chem. Toxicol.* 2005 43:31-40.
24. WELSCH T.- HUMPF HU.: HT-2 toxin 4-glucuronide as new T-2 toxin metabolite: enzymatic synthesis, analysis, and species specific formation of T-2 and HT-2 toxin glucuronides by rat, mouse, pig, and human liver microsomes. *J. Agric. Food Chem.* 2012. 60:10170–10178.

1. táblázat. A módosított mikotoxinok szisztematikus definíciója\*

Table 1. Definition system of the modified mycotoxins

1. szint	2. szint	3. szint	4. szint	Példák
<b>Szabad „free” mikotoxinok</b>				DON, Aflatoxin B1, 3/15-acetil-DON
<b>Mátrixhoz kötött formák „matrix associated”</b>	komplexet képeznek, vagy fizikailag kötődnek a mátrixhoz / kovalens kötéssel kötődnek a mátrixhoz			OTA és a DON oligoszacharidhoz kötött formái, rost vagy fehérje frakcióhoz kötött fumonizinek
		<i>Funkcionalizált</i> (metabolizmus I. fázisa)		Aflatoxin B1-epoxid
			Növény által konjugált (=„masked”- ILSI)	DON-3-glükozid
	Biológiailag módosított „biologically modified”	<i>Konjugált</i> (metabolizmus II. fázisa)	Állati szervezet által konjugált	DON-3/8/15- glükuronid, HT2-3/4- glükuronid
			Penészgomba által konjugált	ZEN-14-szulfát
<b>Módosított mikotoxinok „modified”</b>		Különbözőképpen módosított „differently modified”		Deepoxi-DON (DOM-1)
	Kémiaailag módosított „chemically modified”	hőhatásra kialakult „thermally formed”		N-(1-deoxi-D- fructóz-1-yl) FB1, N- karboximetil-FB1, 14-(R)-OTA, 14- dekarboxi-ochratoxin A
		nem hőhatásra kialakult „non-		DON-szulfonát, hidrolizált fumonizin

*thermally  
formed*

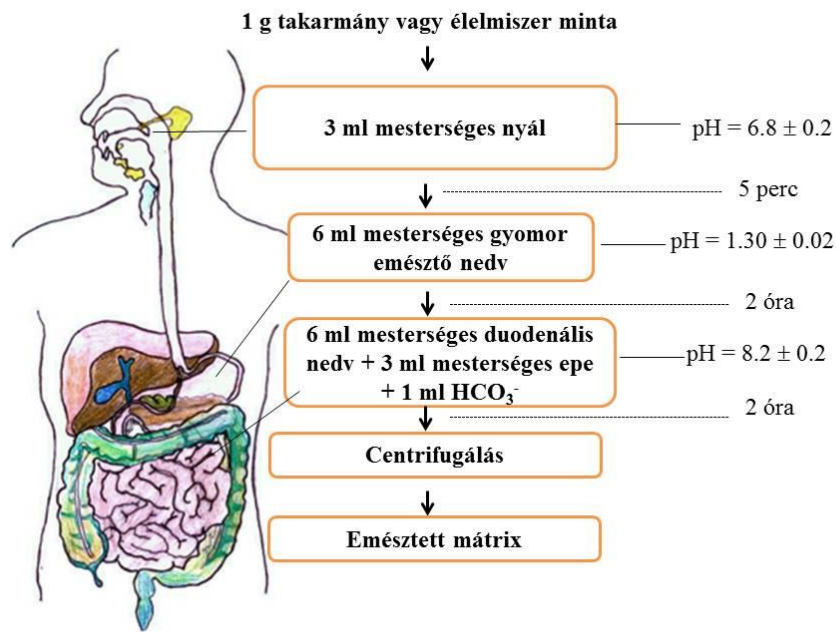
B1 (HFB1)

*\*Rychlik és mtsai (2014) alapján*

*2. táblázat. A mesterséges emésztőnedvek összetétele*

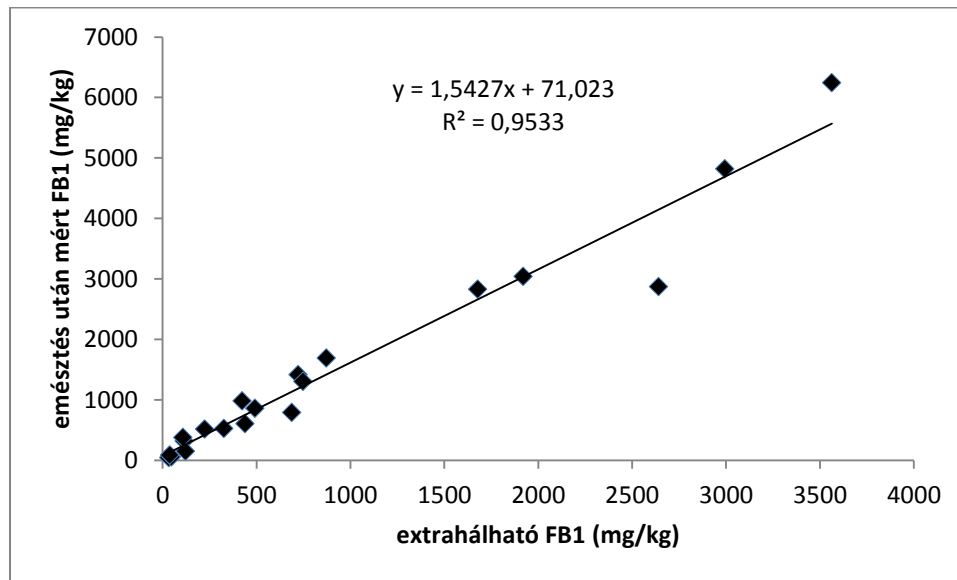
*Table 2. Composition of the artificial digestion juice*

	<b>Nyál</b>	<b>Gyomornedv</b>	<b>Duodenalis nedv</b>	<b>Epe nedv</b>
<b>Szervetlen összetevők</b>	5 ml KCl 89,6 g/l	7,85 ml NaCl 175,3 g/l	20 ml NaCl 175,3 g/l	15 ml NaCl 175,3
	5 ml KSCN 20 g/l	1,5 ml NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 88,8 g/l	20 ml NaHCO <sub>3</sub> 84,7 g/l	34,15 ml NaHCO <sub>3</sub> 84,7 g/l
	5 ml NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 88,8 g/l	4,6 ml KCl 89,6 g/l	5 ml KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 8 g/l	2,1 ml KCl 89,6 g/l
	5 ml Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 57 g/l	9 ml CaCl <sub>2</sub> 16,65 g/l	3,15 ml KCl 89,6 g/l	75 µl HCl 37% g/g
	850 µl NaCl 175,3 g/l	5 ml NH <sub>4</sub> Cl 30,6 g/l	5 ml MgCl <sub>2</sub> 5 g/l	
	10 ml NaHCO <sub>3</sub> 84,7 g/l	3,25 ml HCl 37% g/g	90 µl HCl 37% g/g	
<b>Szerves összetevők</b>	4 ml karbamid 25 g/l	5 ml glükóz 65 g/l	2 ml karbamid 25 g/l	5 ml karbamid 25 g/l
		5 ml glükuronsav 2 g/l		
		1,7 ml karbamid 25 g/l		
		5 ml glükózamin- hidroklorid 33 g/l		
<b>Egyéb komponensek</b>	290 mg/l α-amiláz	1g/l BSA	9 ml/l CaCl <sub>2</sub> 16,65 g/l	10 ml/l CaCl <sub>2</sub> 16,6 g/l
	15 mg/l húgysav	2,5 g/l pepszin	1 g/l BSA	1,8 g/l BSA
	25 mg/l mucin	3 g/l mucin	9 g/l pankréáz 1,5 g/l lipáz	30 g/l epe
<b>pH</b>	6,8 ± 0,2	1,30 ± 0,02	8,1 ± 0,2	8,2 ± 0,2



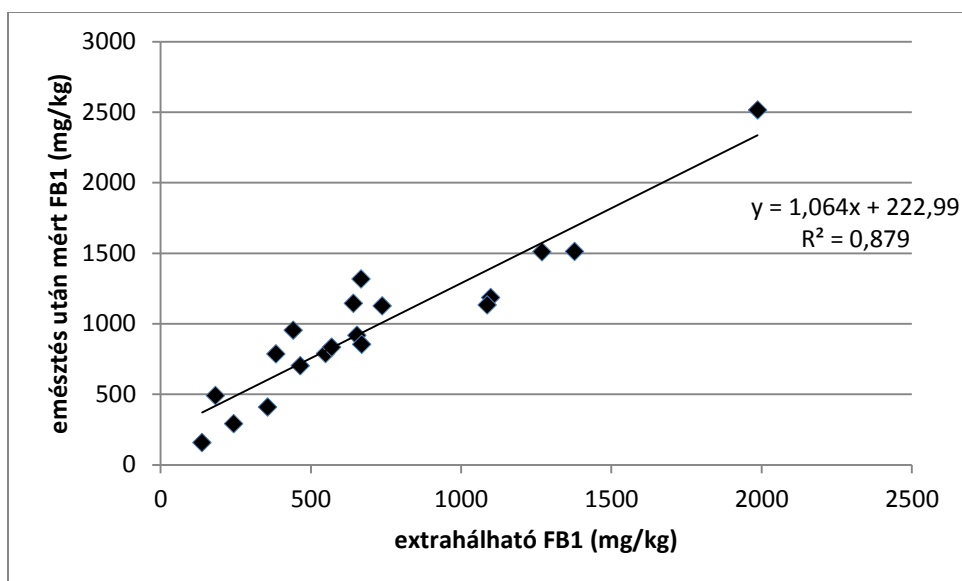
1. ábra. Szimulált humán in vitro emésztési modell sematikus ábrája

Figure 1. Sematic representation of the human, in vitro digestion model



2. ábra. Összefüggés az extrahálható és az összes (emésztés után mérhető) FB1 koncentrációja között kukorica esetében

Figure 2. Correlation between extractable and total FB1 concentration in corn



3. ábra. Összefüggés az extrahálható és az összes (emésztés után mérhető) FB1 koncentrációja között búza esetében

Figure 3. Correlation between extractable and total FB1 concentration in wheat