

Modyfikowane mykotoksyny – ukryte zagrożenia poza urzędową kontrolą

Lukasz Panasiuk¹, Marta Piątkowska², Katarzyna Pietruszka¹, Piotr Jedziniak¹, Andrzej Posyniak¹

z Zakładu Farmakologii i Toksykologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach¹ oraz Centrum Chemii Analitycznej w Tulln Uniwersytetu Zasobów Naturalnych i Nauk Przyrodniczych w Wiedniu (Austria)²

Mycotoksyny to chemicznie zróżnicowane wtórne metabolity wytwarzane przez grzyby pleśniowe. Pleśnie to organizmy fitopatogenne zakażające rośliny w trakcie wzrostu na polu oraz grzyby saprofityczne kolonizujące produkty roślinne już po zbiorach, w trakcie ich przechowywania (1). Do najważniejszych rodzajów pleśni wytwarzających mykotoksyny wykrywanych w żywności oraz w paszach należą: *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. i *Penicillium* spp. Najczęściej wykrywanymi toksynami, które posiadają określone limity w paszach, są: deoksyniwalenol (DON), fumonizyna B1 i B2 (FB1 i FB2), ochratoksyna A (OTA), toksyna T-2 i HT-2 (T-2 i HT-2) oraz zearalenon (ZEN) (tabela 1) (1). Występowanie zakażeń grzybiczych, a następnie zanieczyszczeń mykotoksynami różnych upraw stanowi poważny problem ze względu na konsekwencje dla bezpieczeństwa żywności i pasz.

Mykotoksyny od lat uważane są za istotny problem w toksykologii weterynaryjnej. Pomimo tego, że rzadko dochodzi do ostrych zatrąć mykotoksynami, ich obecność w paszach może powodować w zależności od gatunku zwierząt: utratę masy ciała, wymioty, hiperestrogenizm, wywoływać efekt immunosupresyjny, teratogeny, karcynogeny bądź nefrotoksyczny, a w konsekwencji prowadzić do związanych z tym strat ekonomicznych (2). Badania naukowe ostatnich lat pokazują, że stężenia mykotoksyn stwierdzone w żywności i paszach w trakcie rutynowych badań mogą być niedoszacowane, na skutek obecności tzw. modyfikowanych form mykotoksyn – pochodnych mykotoksyn powstających w wyniku biotransformacji form macierzystych m.in. w roślinach poprzez sprzężanie toksyn ze związkami hydrofilowymi (np. aminokwasami, cukrami) bądź w wyniku metabolizmu bakterii

Modified mycotoxins – a hidden threats beyond official control

Panasiuk Ł.¹, Piątkowska M.², Pietruszka K.¹, Jedziniak P.¹, Posyniak A.¹, Department of Pharmacology and Toxicology, National Veterinary Research Institute, Puławy¹, University of Natural Resources and Life Science Vienna, Center for Analytical Chemistry, IFA Tulln (Austria)²

Mycotoxins are chemically diverse compounds produced by moulds. Toxicogenic fungi often growth on variety of crops, thus may contaminate food and feedstuffs. The occurrence of mycotoxins could pose a risk for animals and cause economical losses. In recent years researchers point out the levels of the mycotoxins may be underestimated, as a consequence of occurrence in food and feedstuffs so called "modified" or "masked" mycotoxins in food and feedstuffs (e.g. deoxynivalenol-3-glucoside, 3-acetyl-deoxynivalenol, 15-acetyl-deoxynivalenol or zearalenone-14-glucoside). These toxins remains undetected during the routine analysis, which are usually aimed for parent toxins. Modified form of mycotoxins can be produced by e.g. fungi or plant as a part of defence mechanisms of plant metabolism by conjugation of small polar molecules to parent toxin during growth period. Nevertheless, these substances may be hydrolysed to the precursor mycotoxins during the mammalian digestion. Toxicological data are scarce, but few studies performed so far demonstrated potential threat to animals' health safety from these toxins. Therefore, in this paper few aspects regarding to definition, occurrence, analytical aspects and toxicological data about modified and masked forms of mycotoxins has been reviewed.

Keywords: mycotoxins, modified mycotoxins, masked mycotoxins.

lub grzybów (np. redukcja) (3). Obecność modyfikowanych mykotoksyn może mieć duże znaczenie toksykologiczne, ponieważ niektóre mogą wykazywać toksyczność wyższą niż formy podstawowe, bądź mogą one uwalniać się do form macierzystych w przewodzie pokarmowym zwierząt i ludzi.

Tabela 1. Podstawowe formy mykotoksyn i ich modyfikowane formy

| Forma podstawowa | Wytwarzające grzyby | Wpływ na zdrowie zwierząt | Modyfikowane formy |
|------------------|---|---|--|
| DON | <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium graminearum</i> | Utrata masy ciała, niechęć do pobierania pokarmu, wymioty, biegunka | DON-3-glukozyd; DON-S-cysteina; DON-glutation; DON-malonylo-glukozyd; 15-acetyl-DON-3-glukozyd; 3-acetyl-DON; DON-3-siarczan; DON-15-siarczan; de-epoxy DON; DON-glukuronid; de-epoxy DON-3-siarczan; de-epoxy DON-15-siarczan |
| ZEN | <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium heterosporum</i> | Hiperestrogenizm, problemy z rozrodem | ZEN-16-glukozyd; ZEN-14-O-β-glukozyd; α-zearalenol; β-zearalenol; α-zearalenol-glukozyd; β-zearalenol-glukozyd; ZEN-4-glukozyd; ZEN-4-siarczan |
| OTA | Gatunki <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> | Efekt immunosupresyjny, teratogeny, karcynogeny, nefrotoksyczny | ochratoksyna α; 4S-hydroksyochratoksyna A; hydroksyochratoksyna A-β-glukozyd; ester metylowy ochratoksyny A; amid ochratoksyny α |
| T-2 i HT-2 | <i>Fusarium sporotrichoides</i> | Zahamowanie syntezy białek, efekt immunotoksyczny | HT2-3-glukozyd; T-2-α-glukozyd; T-2-β-glukozyd; hydroksy-HT2-glukozyd; 3-acetyl-HT2; 3-acetyl-T2; HT2-siarczan |
| FB1 i FB2 | <i>Fusarium proliferatum</i> , <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Aspergillus niger</i> | Efekt hepatoksyczny, nefrotoksyczny, immunosupresyjny | ukryte fumonizyny; N-(carboxymethyl) fumonisina B1; N-Acyl hydrolyzed fumonisin B1; bound hydrolyzed fumonisins |

Tabela została opracowana na podstawie artykułu Freire i wsp. (12)

Rys historyczny

Kiedy w latach 80. ubiegłego wieku nie zawsze udało się skorelować występujące objawy mykotoksykozy u zwierząt z oznaczonymi niskimi stężeniami mykotoksyn w paszy, zwrócono uwagę na zagadnienie „mykotoksyn modyfikowanych”. W tym czasie po raz pierwszy sformułowano także hipotezę metabolicznej transformacji DON w kukurydzy zaszczepionej *Fusarium graminearum* do mniej toksycznych pochodnych *in planta* (4). Określenie „mykotoksyna modyfikowana” po raz pierwszy zostało użyte w 1990 r. w odniesieniu do glikozydowej pochodnej ZEN znalezionej w kukurydzy i zhydrolizowanej do formy macierzystej w przewodzie pokarmowym świń (5). Następnie w 1992 r. z zawiesiny komórek kukurydzy hodowanej z DON wyizolowano najbardziej rozpuszczalny spośród jego metabolitów – deoksyniwalenol-3-β-D-glukozyd (DON-3-Glc) (6). W kolejnych latach wykazano, że po zainfekowaniu pszenicy DON wytwarza ona DON-3-Glc (7). Kolejnym ważnym momentem było wyizolowanie i pełne scharakteryzowanie DON-3-Glc z pszenicy w 2005 r. (8). Od tego czasu prowadzi się szereg badań nad mechanizmami powstawania i toksycznością modyfikowanych mykotoksyn.

Mykotoksyny maskowane – niepełna definicja

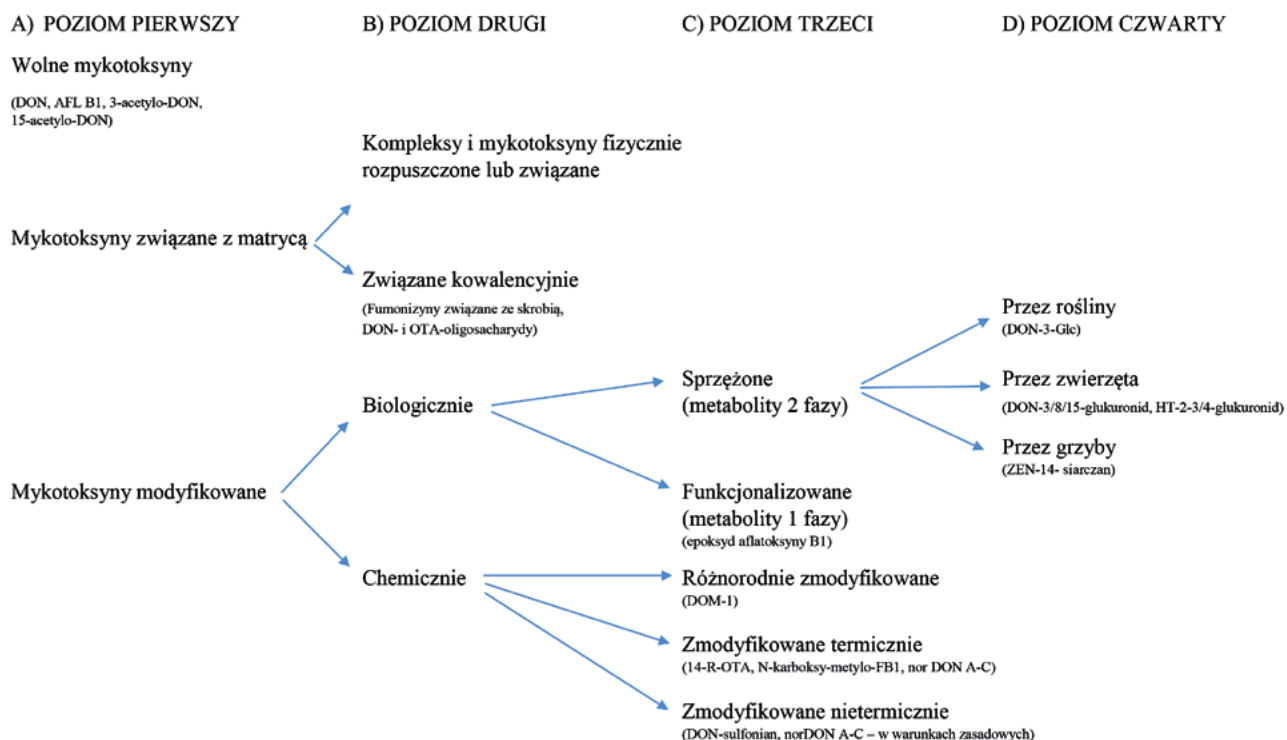
Początkowo termin „mykotoksyny maskowane” stosowany był w odniesieniu do podkreślenia trudności w ich wykryciu w drodze rutynowych analiz. Obecnie sytuacja diametralnie się zmieniła, szerokie zastosowanie spektrometrii mas (MS) pozwoliło wielu grupom badawczym na wykorzystanie w badaniach metod wieloskładnikowych (9, 10). Kiedy mykotoksyny maskowane stały się elementem rutynowej analizy, termin ten przestał być adekwatny. W literaturze można spotkać również takie określenia jak „ukryte”, „sprzężone” i „związane” mykotoksyny.

Ponieważ pierwotne określenie „mykotoksyny maskowane” obejmowało tylko koniugowane formy mykotoksyn, wytworzone przez rośliny, Rychlik i wsp.

(11) zaproponowali systematyczną definicję obejmującą wszystkie formy modyfikacji składającą się z 4 poziomów hierarchicznych. W pierwszej kolejności rozróżniono formy wolne i niemodyfikowane mykotoksyn związane z matrycą oraz strukturalnie zmodyfikowane (ryc. 1A). Następnie rozróżniono formy modyfikacji biologicznej i chemicznej (ryc. 1B), w obrębie których rozróżniono mykotoksyny uformowane termicznie i nietermicznie (ryc. 1C). Czwarty poziom w tej hierarchii to mykotoksyny modyfikowane skoniugowane przez rośliny, zwierzęta i grzyby (ryc. 1D). Aby ujednoczyć nazewnictwo, przyjęto, że termin „mykotoksyny modyfikowane” powinien być używany w kontekście pochodnych form mykotoksyn oraz ich metabolitów, zaś pojęcia „mykotoksyny maskowane” można używać odnosząc się tylko do form powstałych w wyniku działania metabolizmu roślinnego (metabolity fazy II).

Powstawanie i występowanie mykotoksyn modyfikowanych

Modyfikowane mykotoksyny mogą powstawać w wyniku działania systemu obronnego roślin (np. DON-3-Glc, zearalenon-14-glukozyd (ZEN-14-Glc), niwalenol-3-glukozyd (NIV-3-Glc), HT-2-glukozyd (HT-2-Glc)), metabolizmu bakterii (depoxy-DON), grzybów (np. 3-acetyl-deoksyniwalenol (3-Ac-DON), 15-acetyl-deoksyniwalenol (15-Ac-DON)), zwierząt (np. powstawanie aflatoksyny M1 z aflatoksyny B1), ale także w wyniku przetwarzania żywności (12). Jednakże to maskowane mykotoksyny mają jak na razie największe znaczenie spośród wszystkich modyfikowanych mykotoksyn. Formy te powstają, kiedy rośliny (np. różne gatunki pszenicy) chronią się przed formami wolnymi mykotoksyn, przekształcając je w formy bardziej polarnych metabolitów, często mniej toksycznych. Następnie metabolity te są akumulowane w wakuoli lub sprzężane do biopolimerów (ryc. 2) (13). Ponieważ na polu najczęściej dochodzi do zakażeń grzybami z rodzaju *Fusarium*, mykotoksyny takie jak DON, ZEN, FB1, FB2, T2, HT-2 i niwalenol (NIV) są najczęściej metabolizowane przez rośliny.

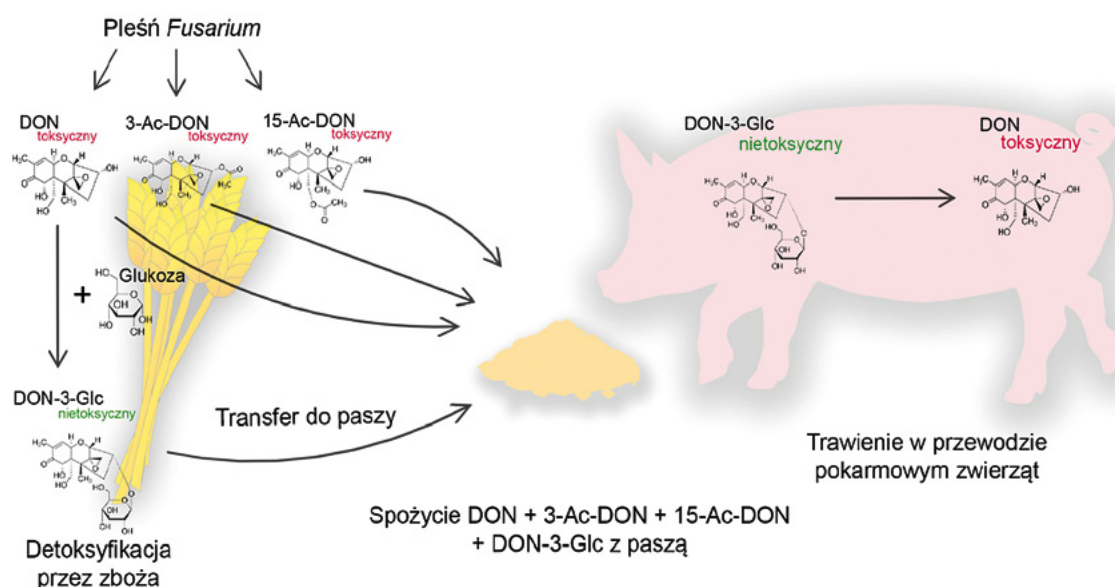


Rycina 1. Systematyczna definicja „modyfikowanych mykotoksyn”. Rycina wykonana na podstawie artykułu Rychlika i wsp. (11).
Objaśnienie skrótów: DON – deoksyniwalenol; OTA – ochratoksyna; AFL B₁ – aflatoksyna B₁; DOM-1 – deepoxydeoksyniwalenol;
DON-3-Glc – deoksyniwalenol-3-glukozyd; ZEN – zearalenon

Spośród wszystkich dotychczas oznaczonych modyfikowanych form mykotoksyn najwięcej danych istnieje na temat występowania DON-3-Glc. Stosunek DON-3-Glc do formy niemodyfikowanej waha się od 20 do 70%, w zależności od rodzaju badanej matrycy, kraju i w poszczególnych latach. Niektóre wyniki badań wskazują także, że stężenia DON-3-Glc mogą wynosić nawet ponad 1000 µg/kg i stanowić ponad 100% formy macierzystej (14). Inni badacze odnotowali także obecność NIV-3-Glc (15) oraz T-2-Glc i HT-2-Glc (16) w pszenicy, jak również w życie. Z kolei metabolity ZEN (m.in. ZEN-14-Glc, ZEN-14-S) były oznaczane

w kukurydzy oraz zbożach, jednakże w niskich stężeniach (17). Jednakże nadal niewiele jest dostępnych danych na temat występowania modyfikowanych form pozostałych mykotoksyn.

W Zakładzie Farmakologii i Toksykologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – PIB w Puławach również podjęto prace nad oznaczaniem modyfikowanych mykotoksyn w paszach dla zwierząt. Opracowano metodę LC-MS/MS pozwalającą na oznaczanie DON-u oraz jego form modyfikowanych (DON-3-Glc, 3-Ac-DON oraz 15-Ac-DON) w paszach. Ze wstępnych wyników badań wynika, że DON-3-Glc występuje



Ryc. 2. Transfer deoksyniwalenolu i jego pochodnych w łańcuchu żywnościowym zwierząt.
Objaśnienia skrótów:
DON – deoksyniwalenol;
DON-3-Glc – deoksyniwalenol-3-glukozyd;
3-Ac-DON – 3-acetylo-deoksyniwalenol;
15-Ac-DON – 15-acetylo-deoksyniwalenol

równie często co DON. Przy zastosowaniu nowo opracowanej metody DON był oznaczany we wszystkich do tej pory przebadanych próbkach (n=40), zaś DON-3-Glc w ponad 90% próbek. Co więcej stosunek stężeń DON-3-Glc do toksyny macierzystej wynosił około 25%. Wyniki te świadczą o tym, że stężenia DON w paszach mogą być niedoszacowane.

Aspekty toksykologiczne

Potencjalny efekt toksyczny modyfikowanych mykotoksyn w porównaniu z formami macierzystymi ciągle jest badany. W przypadku DON spożycie paszy skażonej tą mykotoksyną może powodować utratę masy ciała, wymioty, niechęć do pobierania paszy czy anoreksję. Kolejność wrażliwości na toksyczne działanie DON przedstawia się następująco: świnie > myszy > szczury > drób ≈ przeżuwacze (18). Na poziomie komórkowym dzięki obecności grupy epoksydowej DON wiąże się do dużej (60S) podjednostki eukariotycznego rybosomu, powodując zatrzymanie biosyntezy białek (19). Ze względu na różnice w strukturze chemicznej metabolity DON wykazują zróżnicowaną toksyczność. DON-3-Glc wykazuje dużo niższą w porównaniu z DON, dzięki obecności reszty cukrowej słabiej wiąże się do rybosomu, przez co biosynteza białek nie jest hamowana. Jednakże w trawieniu w przewodzie pokarmowym u świń jest on w większości hydrolizowany przez bakterie jelitowe do formy macierzystej i może ona wywoływać objawy kliniczne (20, 21). Metabolity pochodzenia grzybowego DON-u, 3-Ac-DON i 15-Ac-DON mogą być deacylowane i wracać do formy podstawowej, co więcej, w porównaniu do DON wykazują porównywalną bądź nawet wyższą toksyczność (15-Ac-DON ma wyższą toksyczność niż DON u brojlerów (22, 23). Modyfikowane formy ZEN-u, ZEN-14-Glc jak i ZEN-16-Glc wykazują niższą toksyczność niż podstawowa forma ZEN, przez dołączenie reszty cukrowej do toksyny macierzystej, w związku z czym metabolit ten nie wykazuje powinowactwa do receptorów estrogennych (24). Inna forma, ZEN-14-S w badaniach na liniach komórkowych również nie wykazywała właściwości estrogennych (25). Z kolei hydroksylowane formy ZEN: α -zearalenol (α -ZEL) oraz β -zearalenol (β -ZEL) wykazują zróżnicowany potencjał estrogenny. α -ZEL posiada potencjał nawet 60-krotnie wyższy niż forma podstawowa, natomiast β -ZEL niższy (26). W przypadku innych modyfikowanych form mykotoksyn (np. NIV-3-Glc, T-2-Glc, HT-2-Glc) dane na temat ich toksyczności są ograniczone.

Aspekty analityczne

Szybki rozwój metod analitycznych, w tym zastosowanie spektrometrii mas (MS), pozwoliły na oznaczenie i zidentyfikowanie wielu nieznanych wcześniej form metabolitów roślinnych mykotoksyn. Możliwość oznaczania nie tylko wolnych, ale także zmodyfikowanych i związanych z matrycą form mykotoksyn jest kluczowa z punktu widzenia prawidłowego oszacowania narażenia ludzi i zwierząt na spożycie mykotoksyn.

Pomimo dostępnych w literaturze danych na temat metod oznaczania różnych modyfikowanych

form mykotoksyn w paszach dla zwierząt, największym problemem dla analityków jest brak dostępnych na rynku standardów analitycznych. Obecnie dostępne są pochodne DON (DON-3-Glc, 3-Ac-DON i 15-Ac-DON). Co więcej, brakuje również certyfikowanych materiałów referencyjnych potrzebnych do prawidłowej oceny parametrów metod analitycznych. Konieczność zastosowania techniki MS oraz drogich standardów wewnętrznych powoduje, że analiza mykotoksyn modyfikowanych jest trudna i kosztowna.

Brak regulacji prawnych dla modyfikowanych mykotoksyn

Aktualnie w Unii Europejskiej regulacjom prawnym w żywności i paszach podlega 14 mykotoksyn, w tym aflatoksyna B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, patulina (27) DON, ZEN, OTA, FB₁ i FB₂ (28), T-2 i HT-2 (29) oraz cytrynina (30). Jednakże oprócz regulowanych prawnie form podstawowych mykotoksyn oznaczanych w czasie rutynowych analiz, w badanych próbkach powszechnie występują ich formy modyfikowane. W związku z tym Komisja Europejska w 2013 r. zwróciła się do Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) o opinię na temat ryzyka dla zwierząt i zdrowia publicznego związanego z obecnością metabolitów, form związanych i/lub modyfikowanych różnych mykotoksyn ze źródła, jakim są żywność i pasze (NIV, ZEN, T-2, HT-2, FB). W 2014 r. EFSA opublikowała raport (31), w którym po ocenie ryzyka zaleca dalsze badania nad opracowywaniem nowych metod, jak również nad identyfikacją nowych modyfikowanych form. W kolejnym raporcie tej agencji dotyczącym DON-u i jego modyfikowanych form (32) podkreśliła tym samym po raz kolejny potrzebę rutynowego oznaczania modyfikowanych form DON-u, jak również opracowania materiałów referencyjnych, gdyż nie są one dostępne na rynku, a także zaleciła międzylaboratoryjną walidację metod oznaczania tych toksyn. Występowanie mykotoksyn modyfikowanych wraz z formami podstawowymi powinno skłonić Komisję Europejską do nowelizacji obowiązującego prawa dotyczącego limitów mykotoksyn w paszach dla różnych gatunków zwierząt, w którym uwzględnione powinny być także modyfikowane formy.

Podsumowanie

Obecnie kładzie się coraz większy nacisk na opracowywanie nowych metod analitycznych oznaczania form podstawowych mykotoksyn, jak również ich modyfikowanych pochodnych. Mykotoksyny modyfikowane występują równie powszechnie co formy macierzyste, co może powodować niedoszacowanie ilości mykotoksyn podstawowych w paszach, jak i żywności. W związku z tym powinien być prowadzony pełny monitoring występowania wszystkich form mykotoksyn, tak aby móc ocenić możliwe tendencje dotyczące występowania tych toksyn, w zależności od zmian klimatycznych, technologii uprawy czy przetwarzania żywności. Pomimo coraz większej liczby danych na temat obecności modyfikowanych mykotoksyn w paszach dalej trudno

jest dokonać prawidłowej oceny ryzyka ich występowania, ze względu na brak szczegółowych danych na temat ich toksyczności u różnych grup zwierząt. Zatem konieczne są dalsze badania porównujące toksyczność form podstawowych i modyfikowanych, a także określenie dopuszczalnego dziennego spożycia poszczególnych grup mykotoksyn. Z drugiej strony istnieje potrzeba opracowywania nowych standardów analitycznych, certyfikowanych materiałów referencyjnych, przeprowadzania międzylaboratoryjnych walidacji metod LC-MS/MS, jak również badań biegłości sprawdzających kompetencje laboratoriów. Co więcej, brak jest także regulacji prawnych dotyczących obecności mykotoksyn modyfikowanych w paszach. Dlatego przyszłe rozważania powinny skupić się również na ustaleniu limitów obejmujących zarówno mykotoksyny podstawowe, jak i formy modyfikowane.

Źródło finansowania

Badania nad opracowaniem metody oznaczania deoksynivalenolu i jego form modyfikowanych sfinansowano ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”; decyzja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 05-1/KNOW2/2015

Piśmiennictwo

- Bryła M., Waśkiewicz A., Podolska G., Szymczyk K., Jędrzejczak R., Damaziak K., Sułek, A.: Occurrence of 26 mycotoxins in the grain of cereals cultivated in Poland. *Toxins* 2016, **8**, 160.
- Bhat R., Rai R.V., Karim A.A.: Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety* 2010, **9**, 57–81.
- Bryła M., Waśkiewicz A., Ksieniewicz-Woźniak E., Szymczyk K., Jędrzejczak R.: Modified fusarium mycotoxins in cereals and their products – metabolism, occurrence, and toxicity: an updated review. *Molecules*, 2018, **23**, 963.
- Miller J.D., Young J.C., Trenholm H.L.: Fusarium toxins in field corn. I. Time course of fungal growth and production of deoxynivalenol and other mycotoxins. *Can. J. Bot.* 1983, **61**, 3080–3087.
- Gareis M., Bauer J., Thiem J., Plank G., Grabley S., Gedek B.: Cleavage of zearalenone-glycoside, a "masked" mycotoxin, during digestion in swine. *J. Vet. Med. B.* 1990, **37**, 236–240.
- Sewald N., Lepschy von Gleisenthall J., Schuster M., Müller G., Aplin R. T.: Structure elucidation of a plant metabolite of 4-desoxyvalenol. *Tetrahedron* 1992, **3**, 953–960.
- Lemmens M., Scholz U., Berthiller F., Koutnik A., Dall'Asta C., Schuhmacher R., Adam G., Mesterhazy A., Krska R., Buerstmayr H., Ruckebauer P.: A major QTL for Fusarium head blight resistance in wheat is correlated with the ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2005, **18**, 1318–1324.
- Berthiller F., Dall'Asta C., Schuhmacher R., Lemmens M., Adam G., Krska R.: Masked mycotoxins: determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by LC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* 2005, **53**, 3421–3425.
- Błajet-Kosicka A., Kosicki R., Twarużek M., Grajewski J.: Determination of moulds and mycotoxins in dry dog and cat food using liquid chromatography with mass spectrometry and fluorescence detection. *Food Addit. Contam. Part B*, 2014, **7**, 302–308.
- Malachová A., Sulyok M., Beltrán E., Berthiller F., Krska R.: Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography-tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all regulated mycotoxins in four model food matrices. *J. Chromatogr A*, 2014, **1362**, 145–156.
- Rychlik M., Humpf H.U., Marko D., Dänicke S., Mally A., Berthiller F., Klaffke H., Lorenz N.: Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including "masked" mycotoxins. *Mycotoxin Res.* 2014, **30**, 197–205.
- Freire L., Sant'Ana A. S.: Modified mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence, and toxic effect. *Food Chem. Toxicol.* 2018, **111**, 189–205.
- Berthiller F., Crews C., Dall'Asta C., Saeger S.D., Haesaert G., Karlovsky P., Oswald I. P., Seefelder W., Speijers G., Stroka J.: Masked mycotoxins: A review. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013, **57**, 165–186.
- Berthiller F., Corradini R., Dall'Asta C., Marchelli R., Sulyok M., Krska R., Adam G., Schuhmacher R.: Occurrence of deoxynivalenol and its 3- β -D-glucoside in wheat and maize. *Food Addit. Contam.* 2009, **26**, 507–511.
- Yoshinari T., Sakuda S., Furihata K., Furusawa H., Ohnishi T., Sugita-Konishi Y., Ishizaki N., Terajima J.: Structural determination of a nivalenol glucoside and development of an analytical method for the simultaneous determination of nivalenol and deoxynivalenol, and their glucosides, in wheat. *J. Agric. Food Chem.* 2014, **62**, 1174–1180.
- Busman M., Poling S.M., Maragos C.M.: Observation of T-2 toxin and HT-2 toxin glucosides from *Fusarium sporotrichioides* by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Toxins*. 2011, **3**, 1554–1568.
- De Boevre M., Di Mavungu J.D. Maene, P. Audenaert, K. Deforce, D. Haesaert, G. De Saeger S.: Development and validation of an LC-MS/MS method for the simultaneous determination of deoxynivalenol, zearalenone, T-2-toxin and some masked metabolites in different cereals and cereal-derived food. *Food Addit. Contam.* 2012, **29**, 819–835.
- Pestka J.J.: Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2007, **137**, 283–298.
- Maresca M.: From the gut to the brain: Journey and pathophysiological effects of the food-associated trichothecene mycotoxin deoxynivalenol. *Toxins*, 2013, **5**, 784–820.
- Berthiller F., Krska R., Domig K.J., Kneifel W., Juge N., Schuhmacher R., Adam G.: Hydrolytic fate of deoxynivalenol-3-glucoside during digestion. *Toxicol. Lett.* 2011, **206**, 264–267.
- Nagl V., Woechtl B., Schwartz-Zimmermann H.E., Hennig-Pauka I., Moll W.D., Adam G., Berthiller F.: Metabolism of the masked mycotoxin deoxynivalenol-3-glucoside in pigs. *Toxicol. Lett.* 2014, **229**, 190–197.
- Broekaert N., Devreese M., De Mil T., Fraeyman S., Antonissen G., De Baere S., Vermeulen A., Croubels S.: Oral bioavailability, hydrolysis, and comparative toxicokinetics of 3-acetyldeoxynivalenol and 15-acetyldeoxynivalenol in broiler chickens and pigs. *J. Agric. Food Chem.* 2015, **63**, 8734–8742.
- Pinton P., Tsybul'sky D., Lucioi J., Laffitte J., Callu P., Lyazhri F., Grosjean F., Bracarense A.P., Kolf-Clauw M., Oswald, I.P.: Toxicity of deoxynivalenol and its acetylated derivatives on the intestine: differential effects on morphology, barrier function, tight junction proteins, and mitogen-activated protein kinases. *Toxicol Sci.* 2012, **130**, 180–190.
- Poppenberger B., Berthiller F., Bachmann H., Lucyshyn D., Peterbauer C., Mitterbauer R., Schuhmacher R., Krska R., Glössl J., Adam G.: Heterologous expression of Arabidopsis UDP-glucosyltransferases in *Saccharomyces cerevisiae* for production of zearalenone-4-O-glucoside. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, **72**, 4404–4410.
- Gratz S.W.: Do plant-bound masked mycotoxins contribute to toxicity? *Toxins*. 2017, **9**, 85.
- EFSA CONTAM Panel: Appropriateness to set a group health-based guidance value for zearalenone and its modified forms. *EFSA Journal* 2016, **14**.
- Dyrektywa 2002/32/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 7 maja 2002 r. w sprawie niepożądanych substancji w paszach zwierzęcych. *Dz. Urz. UE* z 30.05.2002, **L 140**, 1–15.
- Zalecenie Komisji (2006/576/WE) z dnia 17 sierpnia 2006 r. w sprawie obecności deoksynivalenolu, zearalenonu, ochratoxyny A, T-2 i HT-2 oraz fumonizyn w produktach przeznaczonych do żywienia zwierząt. *Dz. Urz. UE* z 23.08.2006, **L 229**, 7–9.
- Zalecenie Komisji (2013/165/EC) z dnia 27 marca 2013 r. w sprawie obecności toksyn T-2 i HT-2 w zbożach i produktach zbożowych. *Dz. Urz. UE* z 3.04.2013, **L 91**, 12–15.
- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 212/2014 z dnia 6 marca 2014 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów zanieczyszczenia „cytrynina” w suplementach diety na bazie ryżu poddanego fermentacji grzybami *Monascus purpureus*. *Dz. Urz. UE* z 07.03.2014, **L 67**, 3–4.
- EFSA CONTAM Panel: Scientific opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal*, 2014, **12**.
- EFSA CONTAM Panel: Risks to human and animal health related to the presence of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms in food and feed. *EFSA Journal* 2017, **15**.

Mgr Lukasz Panasiuk, e-mail: lukasz.panasiuk@piwet.pulawy.pl