

Válasz Prof. Dr. Fodor Péternek, az MTA doktorának
Bartók Tibor: Új fumonizin mikotoxinok azonosítása HPLC/MS módszerekkel című
akadémiai doktori értekezéséről készített bírálata

Mindenekelőtt megköszönöm Fodor Professzor Úrnak, hogy elvállalta MTA doktora címért benyújtott értekezésem bírálatát és az értekezés részletes áttanulmányozását. Észrevételeire, megjegyzéseire a bírálatban megtalálható sorrendben válaszolok.

Opponensem hiányolja a szilárdfázisú fermentációs eljárás optimalizálásának leírását. Természetesen kutatócsoportunk is végzett fermentációs kísérleteket (az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetében Prof. Szécsi Árpád vezetésével), különös tekintettel a természetes-eredetű tápközegre (rizs, kukorica), a tápközeghez hozzáadott víz mennyiségére, a fermentáció hőmérsékletére és a tenyésztés időtartamára. A szakirodalomban számos közlemény foglalkozik a tenyésztési paraméterek optimalizálásával. Mivel a már közltekhez képest nem kaptunk új eredményt, a közleményeinkben és az értekezésben is csak azon optimálisnak talált tenyésztési paraméterek szerepelnek, amelyekkel a fermentációt végeztük és mind a mai napig végezzük. Valóban, az anyagok és módszerek fejezetben megemlíthettem volna, hogy milyen paramétereket, milyen tartományban optimalizáltuk a fermentáció során.

Opponensem azon véleményével is egyetértek, hogy hivatkozhattam volna a fumonizinek meghatározására vonatkozó hazai szabványokra, sőt akár az AOAC szabványokra is. Megjegyzem azonban, hogy a hazai és a nemzetközi mikotoxin analitikai szabványok megjelenése is csak évekkel követi a legkorszerűbb technikákat, amely jelen esetben a HPLC/ESI-MS és MSMS módszerek. Így, ma a szabványos módszerek a HPLC oszlop előtti vagy utáni származékképzést alkalmazza fluoreszcens módszerrel kombinálva, mint az MSZ EN 13585:2002, az MSZ EN 14352:2004, valamint az AOAC-UIPAC módszerek is (49.5.01 és 49.5.02).

Bírálóm megjegyzi, hogy a vizsgálataink során referencia anyagként alkalmazott FB₁₋₂ toxinok eredete ismeretlen, az anyag és módszer fejezetben azonban szerepel, hogy a Sigma FB₁ és FB₂ referencia anyagait használtuk, még ha nem is említettem az anyagok tisztaságát. A Sigma honlapja szerint az FB₁ és FB₂ tisztasága is $\geq 98\%$ (HPLC illetve TLC módszerrel meghatározva). Az FB₃ és FB₄ referenciaanyagokat a tisztaságukra vonatkozó információ nélkül a két legnevesebb fumonizin kutatócsoporttól Dél-Afrikából és az USA-ból kaptuk ajándékba, így nem volt kétségem a tisztaságukról, amit igazolt az, hogy az oldataikból a HPLC oszlopra injektálva az FB₁₋₂ toxinokhoz hasonló csúcsterületeket kaptunk, így biztonsággal használtuk azokat a továbbiakban referencia anyagként a *F. verticillioides* törzsekkel való szilárdfázisú fermentációs kísérletekben az FB₁₋₄ tartalom kiértékelése során.

Bővebben meg kell, hogy magyarázzam a „meredekebb” és „kevésbé meredek” gradiens elválasztás kérdését. Az értekezésben megtalálható, hogy mikor és miért alkalmaztuk az egyiket és a másikat. Természetesen végeztünk optimálást, de csak a szükséges mértékben, hiszen rendelkezésre álltak a fumonizinek terén előttünk már publikált HPLC/ESI-MS vizsgálatok eredményei. Mintegy 70 dolgozat jelent meg a fumonizinek HPLC/MS adatairól 2006 előtt, köztük 34 ESI-MS közlemény, amelyek 31 fumonizinről számoltak be. Azt gondolom, hogy bármely kutatónak aki hosszú évek HPLC és HPLC/MS gyakorlata, a legfontosabb közlemények elolvasása és azok eredményeinek szintézise után kezd el foglalkozni egy új vegyületcsoport vizsgálatával, igen jó esélye van arra, hogy akár az Opponensem által említett módszer nélkül is eredményre jusson.

Fumonizin kutatásunk egyszerű rutin feladatként indult az FB₁₋₄ toxin meghatározása céljából *F. verticillioides* törzsek által beoltott rizstenyészetekből. Ehhez használtunk egy adott, megfelelő hatékonyságú HPLC oszlopot, az irodalomban közölt oldószer összetételt és meredekebb gradiens HPLC elválasztást, ami tökéletesen megfelelt az FB₁₋₄ toxinok rizstenyészetekből történő meghatározásához. Már az első HPLC elválasztások jól sikerültek, a

már közöltekhez hasonló csúcsfelbontást kaptunk, így a HPLC elválasztás tekintetében nem volt szükség további optimalizációs feladatok elvégzésére. A legfontosabb optimalizálás a tömegspektrométer behangolása volt az FB₁₋₄ toxinokra, különös tekintettel az ionforrás paramétereire, beleértve a porlasztás hatékonyságának beállítását is. A rizstenyészet kivonatok HPLC/MS mérése után, a tömegspektrumok kiértékelésekor figyeltünk fel arra, hogy számos akkor még ismeretlen fumonizin is van a mintákban, amelyek közül több az FB₁-nél polárisabb és az FB₄ toxinnál apolárisabb, sőt több esetben egy csúcsban 2-4 fumonizin is egyszerre eluálódott a HPLC oszlopról (pl. 3-*epi*-FB₄ és FB₄), amit az erre a célra egyik legmegfelelőbb készülékkel az ITMS-sel sikerült észrevennünk. Ettől kezdve fumonizin kutatásunk az alap kutatás irányába mozdult és beszereztünk egy, a gyártó által izomerek elválasztására javasolt RP-HPLC oszlopot. Mindösszesen csak annyit kellett optimalizálnunk, hogy az FB₁ toxinnál polárisabb fumonizinek is megfelelően elváljanak, amit a kiindulási oldószerösszeg minimális csökkentésével értünk el. A következő lépésben a gradiens meredekségét csökkentettük úgy, hogy a korábban koelúcióval detektált fumonizinek, különös tekintettel a két trikarballil-csoportot tartalmazó legapolárisabb fumonizinekre (3-*epi*-FB₄ és FB₄, FP₄ és izo-FP₄) közül a lehető legtöbb legalább vállban elváljon egymástól. Ez nyilvánvalóan ilyen nagyszámú komponens esetén igen hosszú analízis időt eredményezett (összességében 120 perc), azonban itt nem az analízis gyorsasága volt a cél. Végeredményként elértük, hogy a mások által leköszölt 31 fumonizin mellett, az eddigi közleményeinkben mintegy 100 új fumonizint publikáltunk. Az alkalmazott HPLC oszlop és mérési paraméterek hatékonyságát jelzi a 28 FB₁ illetve 22 FB₅ izomer elválasztása, amely kromatogramok jelenleg a szakirodalomban a legjobb csúcsfelbontású fumonizin kromatogramok még ha nem is lett minden paraméter (pl. szerves oldószer összetétel, oszlophőmérséklet) optimalizálva. Természetesen ez nem azt jelenti, hogy egy-egy csúcsban nem lehet több diasztereomer és nem lehet tovább javítani az elválasztást. Nincs tudomásom arról, hogy bármely alacsonyabb- vagy magasabb rendű elő szerkezet bármely komponense ilyen sok izomerjének HPLC elválasztását bemutatták volna.

A 4.1. fejezettel kapcsolatos észrevételek egy részére a fentiekben már válaszoltam. A rizstenyészetekből történő fumonizin kinyerés hatásfokát akkor lehetett volna jól vizsgálni, ha mi is találtunk volna már Magyarországon fumonizineket nem termelő kemo típust és az ezzel a kemo típussal beoltott rizstenyészetet „spike”-oltuk volna meg több szintben és ismétlésben. Nem láttuk értelmét annak, hogy fonalas gombával nem beoltott, azaz a gomba primer- és szekunder metabolitjait nem tartalmazó rizst vagy beoltott magas fumonizintartalmú mintát „spike”-oljunk. Vannak mérési adataink a fumonizin izolálási munkánkból arra vonatkozóan, hogy az első oldószeres extrakció a fumonizinek (FB₁₋₄) 70-75%-át oldotta ki a rizstenyészetekből, a második további 15-20%-ot, míg a harmadik extrakció után már csak 1-2% maradt az örleményekben.

Bírálom a 4.3.1. illetve a 4.3.2. alfejezetekkel kapcsolatban megjegyzi, az új izomerek elválasztása elfogadható, azonban „az pedig, hogy más felbontást eredményező analitikai mérőrendszerekben további hasonló izomerek léteznek-e a dolgozat nem ad választ”. Ez így van, azonban ez is a jövő feladata. Tervezzük a kapilláris folyadék-kromatográfia, és kapilláris elektroforézis (CE) kipróbálását is (mindegyik MS-sel kapcsolva). CE-MS készülékkel nem rendelkezünk, így ehhez megfelelő partnert kell találnunk. Sajnos, az egyik legjobb felbontású ún. kapcsolt technika, a kapilláris GC/MS eljárás a fumonizinek esetében nem használható, mivel még származékképezve sem lesznek eléggé illékonyak a fumonizinek. Teljes mértékben egyetértek azzal a megjegyzéssel is, hogy a mennyiségi eredményeket semmilyen kalibráció nem igazolja. Az értekezés benyújtása után jóval később, megfelelő önkritikát gyakorolva, ezt magam is hiányoltam. A kalibrációs görbéket, de legalább az FB₁ és FB₂ toxinokkal kapcsolatos görbeillesztési függvényeket feltüntethettem volna.

A 4.3.3. fejezetben bemutatott ábrával kapcsolatban feltett kérdésére azt válaszom, hogy RP-HPLC elválasztásról lévén szó, a kromatogram végén a mintában lévő számos erősen apoláris komponens eluálódik, természetesen az újonnan leírt 6 db három acil-csoportot tartalmazó fumonizinek is. Ebben a régióban eluálódva egyéb „minor” fumonizinek is találhatók, közülük 3 további, 3 acil-csoportot tartalmazó fumonizin (*N*-linoleoil-FB₁, *N*-palmitoil-FB₁, *N*-oleoil-FB₁) is, amelyek közlése folyamatban van (Bartók és mtsai 2013). Ezzel kapcsolatban egy igen új közlemény leírja, hogy a szintetikus úton előállított *N*-acil-FB₁ származékok a ma ismert legtoxikusabb fumonizinek (Harrer és mtsai 2013), mivel sejtenyészetekben tízszer toxikusabbnak bizonyultak, mint maga az FB₁ toxin. A 3 acil-csoportot tartalmazó FB₁ származékok fontosságát jelzi, hogy a közleményünk alapján (amelyet 7 alkalommal hivatkoznak a közleményünkben) az *O*-linoleoil-FB₁ (EFB₁ LA) és az *O*-oleoil-FB₁ (EFB₁ OA) izomereket már természetes fertőzőttségű kukoricában is megtalálták (Falavigna és mtsai 2013).

A bíráló kérdezi, hogy a fumonizinek fragmentációs mintázata alapján megtanítható-e a szoftver a fumonizinek azonosítására. Természetesen a fragmentáció (különösen a fragmens ionok intenzitás aránya) készülék- és készülék beállítás függő is, azonban a CID-MS paramétereket optimalizálva minden MS/MS készüléken beállíthatók olyan értékek, hogy megfelelő fragmentációt kapva egy fumonizinek MS azonosítására írt szoftver segíthesse az ismert és ismeretlen fumonizinek azonosítását. A szoftvernek fel kell ismerni, hogy A, B, C vagy P analógról van-e szó, mennyi OH-csoportot észtereszít szerves sav és milyen szerves sav/savak találhatók a fumonizin vázon és mennyi szabad OH-csoport található rajta, valamint a relatív retenciós időket is figyelve ez az azonosítások igen hatékony eszköze lehet.

Valóban, a 3-*epi*-FB₄ és FB₄ toxinok elválasztásával kapcsolatos tézispont nem olyan súlyos, mint az új komponensek azonosítása, a felvetett probléma azonban nem hanyagolható el. Ugyanis, több közlemény megadja a mintákban mért FB₄ koncentrációt is (referencia anyag hiányában az FB₁ vagy az FB₂ toxinokra készített kalibrációs görbék alapján kiértékelve), azonban ezeknél az LC/MS méréseknél nem elég hatékony elválasztást alkalmazva a két komponens együtt eluálódott, még egyik saját közleményünk esetében is (Szécsi és mtsai 2010), meggátolva külön mennyiségi kiértékelésüket. Közleményünk először hívta fel a figyelmet erre a szakmai problémára.

A 4.3.4. alfejezettel kapcsolatban Opponensem hiányolja az új FP izomerek NMR-es vagy egyéb szerkezetvizsgáló eljárással történő szerkezetazonosítást. Az FP izomerek TOFMS és ITMS adatai elegendők voltak arra, hogy biztonsággal kijelenthessük izolálás és szerkezetvizsgálat nélkül is, hogy ezek a „minor” izomerek FP analógok. A legtöbb FP izomer olyan kis mennyiségben fordul elő a mintákban, hogy jelenleg nem látok reális esélyt az NMR vizsgálathoz szükséges mennyiségben történő kinyerésükre.

A 4.4. fejezettel kapcsolatban a mazsola minták mérésénél külső standard kalibrációt használtunk. A kalibrációs oldatokat a fentiekben említett FB₁ és FB₂ referencia anyagokból készítettük. A kalibrációs standardok mérése a készülék számára ugyanolyan minta, mint egy növényi kivonatból származó ismeretlen összetételű minta (ezért alkalmaztam a kalibrációs minta megnevezést). Ugyanakkor valóban, helyesebb lett volna a kalibrációs standard, illetve referencia oldat kifejezést használnom. Amennyiben ún. mátrix kalibrációt („matrix-matched calibration”) alkalmaztunk volna mátrix kalibrációs mintákkal, akkor a közleményünkben és az értekezésben is ez a kifejezés szerepelt volna.

A bíráló említi, hogy még nem tapasztaltak a saját vegyületeik HPLC/MS vizsgálatánál 3 nagyságrend linearitást (általában mi sem). A lineáris dinamikus tartomány is erősen komponens-, készülék-, készülék beállítás- és készülék tisztaságfüggő. A gyártók szerint a legjobb dinamikus tartománya a kvadrupól és különösen a hármas kvadrupól és QTrap tömegspektrométereknek van, amely egyes vegyületeknél az 5 nagyságrendet is elérheti. QTrap típusú készülékkel pl. az aflatoxin M₁ esetében ESI és APPI ionforrásokkal is 5

nagyságrend lineáris dinamikus tartományt közöltek (Cavaliere és mtsai 2006). A fumonizinekkel kapcsolatban meglepődve tapasztaltuk, hogy még az ITMS készülékeknél is legalább 2-2,5 nagyságrend a lineáris dinamikus tartomány. Sőt, ez a Varian 500 ITMS készülékünkénél az FB₁ és FB₂ toxinok esetében elérte a három nagyságrendet (az érzékenység mellett ez volt a fő ok, amiért ezt a típust vásároltuk meg a készülék kipróbálása után). Figyelembe kell venni azt is, hogy a fumonizinek molekulatömege elég magas ahhoz, hogy a mintában és a háttérzajban főként előforduló kisebb molekulatömegű zavaró komponensek ne csökkentsék a lineáris dinamikus tartományt. Fontos megjegyezni, hogy a fumonizinekről nemcsak a mi csoportunk, hanem más csoportok is közöltek három nagyságrend (Faberer és mtsai 2005, Liu és mtsai 2007, Yang és Wu 2012), sőt egy közleményben az FB₁ és FB₂ toxinok esetében négy nagyságrend lineáris dinamikus tartományt is (Cavaliere és mtsai 2007).

Messzemenőig egyetérték Opponensemmel abban, hogy a mazsola esetében többpontos „spike”-olást, több ismétlésben kellett volna alkalmazni, azonban a fumonizin referencia anyagok jelentős ára és a publikációs elsőbbség miatt az egy pontos „spike”-olás mellett döntöttünk. Már akkor tudtuk, hogy néhány éven belül saját referencia anyagaink lesznek beleértve az FB₁₋₄ toxinokat (az FB₁ toxin már izolálva van 99%-os tisztaságban), amelyekkel ezeket a kísérleteket jóval alacsonyabb költséggel el fogjuk tudni végezni. A táptalajon történt fumonizin termelés terén valóban jelentős eltérés volt a különböző *Aspergillus* törzsek között, az átlagérték megadásával azonban nem követtünk el jelentős szakmai hibát, figyelembe véve azt, hogy más közleményekben is megjelentek hasonló átlagértékek. A bírálóval egyetérték, megadhattuk volna az átlagértéket a kiemelkedő érték/értékek figyelembe vétele nélkül is.

A 4.5. fejezettel kapcsolatos kritikai megjegyzést is el kell fogadnom. Valóban, a 3-*epi*-FB₄ és FB₄ toxinok kiértékelése mind a mazsola, mind a vöröshagymaminták esetében nélkülözi a pontos kvantitatív alapot, azonban más sem tudta volna referencia anyag hiányában jobban meghatározni, kivéve azt, aki maga előállította a referencia anyagokat. Ami a csúcsintenzitások összehasonlíthatóságát illeti, az alábbi kiegészítést szeretném tenni. A 3-*epi*-FB₄ és FB₄ toxinok kémiai szerkezete igen hasonló, általában egy csúcsban, vagy hatékonyabb elválasztási rendszerben egymás mellett, illetve vállban eluálódhatnak a HPLC oszlopról. Tömegspektrometriás viselkedésük is szinte azonos lehet, különös tekintettel arra, hogy a 3 acil-csoportot tartalmazó fumonizineket kivéve ezek a mikotoxinok a legapolárisabb fumonizinek közé tartoznak és nem zavarja az ionizációjukat mátrixkomponens koelúciója, mivel még a gradiens elválasztás kevésbé meredek szakaszában eluálódtak az oszlopról. Emiatt és mivel az eddigi több száz fumonizin-tartalmú minta mérése alapján csak egyetlen minta (vöröshagyma kivonat) esetében találtunk olyat, amelyben a 3-*epi*-FB₄ csúcsintenzitása meghaladta az FB₄ intenzitását, az számomra valóban érdekes eredmény, különösen abban a megvilágításban, hogy a többi mintában az FB₄ csúcsintenzitása jelentősen meghaladta a 3-*epi*-FB₄ intenzitását.

Az 1. tézisontról szóló opponensi véleményre megjegyzem, valószínűleg jelentősége lehet annak, hogy az egyes földrészekben és országokban begyűjtött izolátumokban milyen kemotípusok fordulnak elő, illetve találnak-e a már leírtakhoz képest új kemotípust. Egy a közelmúltban megjelent közleményben olasz kutatók (Lazzaro és mtsai 2012) a mi közleményünkre (Szécsi és mtsai 2010) hivatkozva leírják, hogy az általunk Magyarországon leírt három fumonizin kemotípus (FB₁>FB₂>FB₃>FB₄, FB₁>FB₃>FB₂>FB₄, FB₂>FB₄>FB₁>FB₃) közül kettőt (FB₁>FB₂>FB₃>FB₄, FB₁>FB₃>FB₂>FB₄ ők is megtalálták. Korábban Plattner és mtsai (1996) valamint Proctor és mtsai (2006) az USA-ban és Kanadában begyűjtött *F. verticillioides* izolátumokban kimutatták a leggyakoribb FB₁>FB₂>FB₃>FB₄, az FB₂>FB₄ kemotípusokat, továbbá a fumonizineket nem termelő kemotípusokat. Ami igen érdekes az az, hogy a megjelent közlemények alapján kijelenthető, hogy a legtöbb *F. verticillioides* izolátumot mi gyűjtöttük be, illetve azonosítottuk, mégsem találtunk

Magyarországon olyan izolátumot, amely ne termelt volna fumonizint. Természetesen többek között emiatt is tovább kell folytatni az izolálási munkákat.

A bíráló 3. tézisponttal kapcsolatos megjegyzésére válaszolva, a TOFMS technika elsőként történő alkalmazását új fumonizin izomerek azonosításában, azért kellett kiemelni az új eredmények között, mivel pl. a 3 acil-csoportot tartalmazó FB analógokat mégsem a nálunk jóval fejlettebb kutatási infrastruktúrával illetve anyagi lehetőségekkel rendelkező országok kutatói írták le először.

Opponensem három kérdésére az alábbiakban válaszolok:

1. Noha mások közleményei alapján elvégeztem a két legfontosabb paraméter, a kiindulási oldószererősség és gradiens meredekség optimalizálását, az értekezésben nem mutattam be az ezzel kapcsolatos kromatogramokat, mivel kutatómunkám és értekezésem fő célkitűzése nem a HPLC elválasztás optimalizálása volt. Az alkalmazott elúciós paraméterekkel készült HPLC/ESI-ITMS és HPLC/ESI-TOFMS adat file-ok kiértékelése egyértelműen jelez további 25-30 „minor” mennyiségben megtalálható fumonizint, amelyek közül három új komponensnek (*N*-acil-FB₁ származékok) a közlése, mint a fentiekben már említettem, folyamatban van (Bartók és mtsai 2013). A jövőben szeretnénk többféle HPLC oszlopot (beleértve a legújabb ún. „core-shell” típusú töltetet tartalmazó oszlopokat) és oldószer rendszert is kipróbálni a fumonizin izomerek még hatékonyabb elválasztására és mint a fentiekben már szintén említettem, terveink között szerepel a kapilláris folyadék-kromatográfia és kapilláris elektroforézis kipróbálása is (mindegyik MS-sel kapcsolva).
2. Mivel az előbb említettek szerint jelenleg csak az FB₁₋₃ toxinok vásárolhatók meg referencia anyagként, legjobb mennyiségi kiértékelésről véleményem szerint nem lehet beszélni, csak rossz és kevésbé rossz eljárásról. Természetesen tömegspektrometriás detektálás esetén a legjobb az lenne, ha a legtöbb komponens esetében stabil izotóp jelzett belső standard lenne minden mintával együtt injektálva a HPLC oszlopra, de ettől még nagyon messze vagyunk. A minden komponensre kiterjedő kalibrált kiértékelés hiányában a területszázalékos kiértékelést is meg lehetett volna csinálni, de helyesebbnek tartottuk a kalibrált fő komponens (FB₁ toxin) százalékaiban megadni a relatív mennyiségeket, ugyanis így könnyen kiszámítható, hogy az egészségügyi határértékkel még nem rendelkező fumonizinek a fő komponens hány százalékat teszik ki. Az egyik jelentős olasz fumonizin kutató csoport a „minor” fumonizinek esetében szintén az FB₁ toxin kalibrációs görbét használták a kiértékeléshez (Lazzaro és mtsai 2012, Falavigna és mtsai 2013), azaz ezt találták a legjobb megoldásnak. Opponensemvel egyetértve ezek az adatok csak közelítő értékek, mivel a különböző fumonizinek gázfázisba történő átjutásának hatékonysága az ionforrásban, az esetlegesen együtt eluálódó mátrixkomponensek jelcsökkentő és jelnövelő hatása, valamint az ionforrásban esetlegesen bekövetkező fragmentáció mértéke (in-source CID) illetve MS/MS mérésnél a CID zónában bekövetkező fragmentáció mértéke és a fragmentációs mintázat eltérő lehet.
3. Kérdése igen fontos területet érint. Jelenleg Európában az FB₁ és FB₂ összegére az USA-ban pedig az FB₁, FB₂ és FB₃ összegére vannak előírt határértékek. Ugyanakkor, a *F. verticillioides* több mint százharminc fumonizint képes termelni, igaz nagy részüket csak „minor” mennyiségben, amelyek közül többet már kukoricában is kimutattak. Kiterjedt vizsgálatok szükségesek azon terményekkel, élelmiszer alapanyagokkal, élelmiszerekkel kapcsolatban, amelyekben fumonizinek előfordulhatnak. A szerkezet meghatározáshoz és a toxicitás vizsgálathoz a lehető legtöbb olyan fumonizint izolálni kellene, amelyek *in vivo* előfordulását leírták. Fontosnak tartanám továbbá olyan viszonylag egyszerű módszernek a kidolgozását, amely jelezné a minták tényleges összes fumonizin tartalmát beleértve a „major” és a

„minor” komponenseket is. Erre valószínű, hogy nem a HPLC-MS/MS lesz a legjobb megoldás, amely hatékony eljárás ugyan, de igen költséges és egyszerűnek semmiképp sem mondható.

Végezetül tisztelettel megköszönöm Fodor Professzor Úr opponensi munkáját, elismerő és bíráló szavait is, amelyeket a jövőben igyekszem munkám során felhasználni. Külön köszönöm, hogy tézispontjaim jelentős részét elfogadta.

Szeged, 2013. 06. 28.

Tisztelettel:

Dr. Bartók Tibor

Hivatkozások:

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 Addit Contam* (TFAC 809626 in press)

Cavaliere C, Foglia P, Pastorini E, Samperi R, Lagana A (2006) Liquid chromatography/tandem mass spectrometric confirmatory method for determining aflatoxin M1 in cow milk: Comparison between electrospray and atmospheric pressure photoionization sources. *J Chromatogr A* 1101:69-78

Cavaliere C, Foglia P, Guarino C, Motto M, Nazzari M, Samperi R, Laganà A, Berardo N (2007) Mycotoxins produced by *Fusarium* genus in maize: Determination by screening and confirmatory methods based on liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem* 105:700-710

Faberi A, Foglia P, Pastorini E, Samperi R, Lagana A (2005) Determination of type B fumonisin mycotoxins in maize and maize-based products by liquid chromatography/tandem mass spectrometry using a QqQ linear ion trap mass spectrometer. *Rapid Commun Mass Spectrom* 19:275-282

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 Addit Contam* DOI: 10.1080/19440049.2013.802839

Harrer H, Laviad EL, Humpf H-U, Futerman AH (2013) Identification of N-acyl-fumonisin B1 as new cytotoxic metabolites of fumonisin mycotoxins. *Mol Nutr Food Res* 57:516-522

Lazzaro I, Falavigna C, Dall'Asta C, Proctor RH, Galaverna G, Battilani P (2012) Fumonisins B, A and C profile and masking in *Fusarium verticillioides* strains on fumonisin-inducing and maize-based media. *Int J Food Microbiol* 159:93-100

Liu C, Xu W, Liu F, Jiang S (2007) Fumonisin production by *Fusarium proliferatum* strains isolated from asparagus crown. *Mycopathologia* 164:127-134

Plattner RD, Desjardins AE, Leslie JF, Nelson PE (1996) Identification and characterization of strains of *Gibberella fujikuroi* mating population A with rare fumonisin production phenotypes. *Mycologia* 88:416-424

Proctor RH, Plattner RD, Desjardins AE, Busman M, Butcko AE (2006) Fumonisin production in the maize pathogen *Fusarium verticillioides*: genetic basis of naturally occurring chemical variation. *J Agric Food Chem* 54:2424-2430

Szécsi Á, Szekeres A, Bartók T, Oros G, Bartók M, Mesterházy Á (2010) Fumonisin B₁₋₄-producing capacity of Hungarian *Fusarium verticillioides* isolates. *World Mycotoxin J* 3:67-76

Yang QF, Wu YL (2012) Fast determination of fumonisin B1 and B2 in corn using a modified QuEChERS method and LC-MS-MS. *Chromatographia* 75:1075-1080