

Mgr Robert Kosicki: „Ocena współwystępowania mikotoksyn w surowcach roślinnych, produktach spożywczych i paszowych oraz ludzkim materiale biologicznym”

Streszczenie

Mikotoksyny stanowią liczną grupę związków o zróżnicowanej budowie chemicznej produkowanych przez grzyby pleśniowe. Występują one głównie w produktach roślinnych (zboża, przyprawy, kawa), ale mogą być także obecne w produktach pochodzenia zwierzęcego (mięso, mleko, sery) oraz materiałach budowlanych. W celu zapewnienia ochrony zdrowia ludzi i zwierząt przed najczęściej występującymi mikotoksynami Unia Europejska (UE) wprowadziła regulacje prawne dotyczące ich obecności w żywności i paszach. Pomimo kilkudziesięciu lat badań nad wtórnymi metabolitami pleśni skażenie nimi żywności i pasz ciągle pozostaje globalnym problemem. Według raportów Organizacji Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa szacuje się, że mikotoksyny występują każdego roku w około 25% światowych upraw i powodują ogromne straty w rolnictwie oraz przemyśle spożywczym i paszowym. Skutki ekonomiczne są odczuwalne w łańcuchu produkcji rolnej, obejmującym producentów roślin i zwierząt, przemysł zbożowy oraz konsumentów. Doniesienia o niedostatecznym poziomie bezpieczeństwa w odniesieniu do produktów spożywczych i pasz są od wielu lat ciągle aktualne. Dlatego podjęta tematyka badawcza oceny poziomów skażenia metabolitami i relacji między nimi służy zagwarantowaniu bezpiecznych i zdrowych produktów spożywczych i paszowych. Surowce i produkty są najczęściej skażone kilkoma mikotoksynami, a ocena występowania wielu analitów (współwystępowanie) w badanym materiale stanowi obecnie duże wyzwanie dla naukowców na całym świecie, ze względu na często większą toksyczność w porównaniu z pojedynczymi związkami.

Opracowane w trakcie przygotowywania pracy procedury badawcze, oparte o techniki chromatograficzne z detekcją fluorescencyjną i spektrometrii mas, spełniają kryteria skuteczności metod analitycznych ustanowione przez UE. Badania wykazały że surowce roślinne jak i pasze są w znacznym stopniu zanieczyszczone mikotoksynami, aczkolwiek udział próbek z przekroczonymi wartościami maksymalnych poziomów, wyznaczonymi przez UE, jest względnie niski. Najczęściej występującymi mikotoksynami były deoksyniwalenol (DON) i zearalenon (ZEN) – obecne w ponad 95% próbek, a najbardziej zanieczyszczonymi matrycami były kukurydza i mieszanki paszowe. Wykonanie ponad 8000 oznaczeń w próbkach surowców roślinnych i pasz wykazało powszechne współwystępowanie mikotoksyn – ponad 95% próbek zawierało co najmniej 2 anality, a w 75% wykryto 5 toksyn. Potwierdzono statystycznie istotne korelacje między stężeniami mikotoksyn dla DON i ZEN oraz dla toksyn T-2 i HT-2. Ponadto korelacje o słabej mocy stwierdzono dla mikotoksyn produkowanych przez różne gatunki pleśni (ochratoksyna A (OTA) i DON oraz OTA i ZEN). Badania

żołędzi wykazały wysokie stężenia kwasu mikofenolowego (14,6 mg/kg), a także patuliny (50 µg/kg). Szczególne obawy o bezpieczeństwo tego materiału może budzić jego zanieczyszczenie patuliną, która w żywności i paszach podlega ścisłemu monitorowaniu ze względu na jej toksyczne właściwości. Spośród mikotoksyn oznaczanych w próbkach piwa najczęściej wykrywanymi były OTA, DON oraz toksyna HT-2. Przeprowadzona ocena narażenia konsumentów wykazała, że codzienne spożycie OTA wraz z piwem wynosi od 0,8% do 7,5% tolerowanego codziennego spożycia (TDI). W przypadku DON obliczone narażenie w zależności od scenariusza wahało się od 4,1% do 21% TDI, natomiast dla toksyny HT-2 od 5% do 9,7% TDI. Wyniki badań sugerują, że piwo ze względu na dużą zawartość wody, niewielki udział ekstraktu słodowego oraz relatywnie niską zawartość mikotoksyn nie jest głównym źródłem pobrania mikotoksyn przez człowieka. Stwierdzono występowanie wyższych poziomów mikotoksyn w piwach rzemieślniczych, co sugeruje że powinny one być częściej badane, aby chronić zdrowie „pasjonatów piwa”. Badania zielonej kawy i suplementów diety zawierających jej ekstrakt wykazały częste zanieczyszczenie próbek OTA oraz pleśniami ją wytwarzającymi, nie stwierdzono natomiast obecności cytryniny. OTA występowała w wyższych stężeniach w produktach przetworzonych w porównaniu z surowymi ziarnami kawy, co sugeruje, że zanieczyszczenie mogło wystąpić podczas procesu produkcyjnego. Wyniki badań uzasadniają wdrożenie odpowiednich środków kontroli mikologicznej, zwłaszcza w odniesieniu do produkcji suplementów diety, w których najwyższe stężenie OTA wynosiło 31,4 µg/kg (wartość ponad 6-krotnie wyższa niż najwyższy dopuszczalny poziom dla kawy), a które są powszechnie uważane za zdrowe i bezpieczne. W badaniach ludzkich próbek biologicznych (surowica) nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w stężeniach OTA u osób zdrowych i poddawanych dializie, a także przy porównaniu wyników grupy kontrolnej i poszczególnych grup wiekowych. Średnie poziomy OTA u dializowanych pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek oraz zdrowych ochotników były porównywalne z obserwowanymi w innych krajach europejskich (za wyjątkiem krajów bałkańskich, gdzie występuje bałkańska endemiczna nefropatia).

Mgr Robert Kosicki: „Assessment of the co-occurrence of mycotoxins in plant-based raw materials, food and feed products, as well as human biological material”

Abstract

Mycotoxins, produced by moulds, are a large group of compounds with diversified chemical structure. They are mainly found in plant products (cereals, spices, coffee), but can also be present in animal products (meat, milk, cheese) and building materials. To protect human and animal health from the most common mycotoxins, the European Union (EU) has issued regulations on their presence in food and feed. Despite decades of research on the secondary metabolites of moulds, they contaminate food and feed, which remains a global problem. According to reports by the Food and Agriculture Organisation of the United Nations, mycotoxins are estimated to be present in around 25% of the world's crops each year, causing huge losses in agriculture and the food and feed industries. The economic impact is felt throughout the agricultural production chain, including plant and livestock producers, the grain industry and consumers. Reports of inadequate safety of food products and fodder have been recurring for many years. Therefore, the research topic undertaken to assess levels of metabolite contamination and the relationship between them serves to ensure safe and healthy food and fodder products. Raw materials and products are usually contaminated with multiple mycotoxins and assessing the occurrence (co-occurrence) of multiple analytes in the material under study is currently a major challenge for scientists worldwide due to the higher toxicity compared to single compounds.

During the work on PhD thesis, analytical procedures were developed using chromatographic techniques with fluorescence and mass spectrometry detection. These procedures meet the performance criteria for analytical methods set by the EU. The study has shown that both plant raw materials and animal feed are significantly contaminated with mycotoxins, although the proportion of samples with exceeded EU maximum levels is relatively low. The most prevalent mycotoxins were deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZEN), which were present in more than 95% of the samples, and the most contaminated matrices were maize and compound feed. The performance of more than 8,000 determinations in samples of plant raw materials and feeds showed the widespread co-occurrence of mycotoxins, with more than 95% of samples containing at least 2 analytes, and 5 toxins were detected in 75% samples. Statistically significant correlations between mycotoxin concentrations for DON and ZEN and for T-2 and HT-2 toxins were confirmed. In addition, weak correlations were found for mycotoxins produced by different mould species (ochratoxin A (OTA) and DON as well as OTA and ZEN). The analyzes of acorns revealed high concentrations of mycophenolic acid (14.6 mg/kg) as well as patulin (50 µg/kg). Of particular concern for the safety of acorns may be

their contamination with patulin, which is closely monitored because of its toxic properties. Of the mycotoxins determined in beer samples, OTA, DON and HT-2 toxin were the most frequently detected. The consumer exposure assessment carried out showed that the daily intake of OTA with beer ranges from 0.8% to 7.5% of the tolerable daily intake (TDI). For DON, the calculated exposure ranged from 4.1% to 21% TDI depending on the scenario, while for the HT-2 toxin, from 5% to 9.7% TDI. The results suggest that beer, due to its high water content, low proportion of malt extract and relatively low mycotoxin content, is not a major source of mycotoxin intake for humans. Higher levels of mycotoxins were found in craft beers, suggesting that these should be tested more frequently to protect the health of 'beer lovers'. Analyzes of green coffee and dietary supplements containing its extract found frequent contamination of samples with OTA and the moulds that produce it, but no citrinin. OTA concentrations were higher in processed products than in raw coffee beans, suggesting that contamination may have occurred during the production process. The results of the study justify the implementation of appropriate mycological control measures, especially for the production of food supplements, in which the highest concentration of OTA was 31.4 µg/kg (a value more than 6 times higher than the maximum level for coffee), and which are generally considered healthy and safe. Studies on human biological samples (serum) showed no statistically significant differences in OTA concentrations in healthy individuals and dialysis patients, even when comparing the results of the control group and the different age groups. The average OTA concentrations in patients with chronic renal failure and healthy volunteers were comparable to those observed in other European countries (with the exception of Balkan countries where endemic Balkan nephropathy occurs).