

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Autor: Iwona Ałtyn

Tytuł rozprawy doktorskiej: Analiza substancji niepożądanych – wtórnych metabolitów grzybów pleśniowych w surowcach roślinnych oraz otrzymywanych z nich suplementów diety

Promotor: dr hab. Magdalena Twarużek, prof. uczelni

Słowa kluczowe: grzyby pleśniowe, mikotoksyny, zanieczyszczenie, suplementy diety, ocena narażenia,

Przedmiot badań stanowiły suplementy diety, które zgodnie z prawem są środkami spożywczymi. Produkcja wyrobów leczniczych jest kontrolowana i monitorowana przez inspekcję farmaceutyczną, natomiast w przypadku suplementów diety jedyną formą kontroli jest poinformowanie GIS o wprowadzeniu danego suplementu do obrotu. W powiadomieniu nie jest wymagana żadna informacja na temat m.in. jakości produktu i surowców z jakich powstaje. Także nadzór nad suplementami diety znajdującymi się już w obrocie jest bardzo ograniczony ze względu na zbyt dużą ich ilość na rynku. Brak ogólnych zasad i wymagań prawnych dotyczących jakości suplementów diety, a także brak kontrolowania na każdym etapie produkcji, eksportu i importu, stwarza poważne zagrożenie dla zdrowia konsumentów.

W ramach pracy wyróżniono następujące cele badawcze: 1. Identyfikację zagrożenia związanego z możliwą obecnością grzybów pleśniowych w próbkach surowców roślinnych oraz suplementach diety; 2. Identyfikację zagrożenia związanego z możliwością występowania wybranych mikotoksyn i oznaczeniu ich poziomu stężenia w badanym materiale; 3. Oszacowanie narażenia ludzi na obecność wybranych mikotoksyn w badanych suplementach diety.

Do badań wykorzystano 290 próbek suplementów diety na bazie surowców roślinnych, dostępnych w obrocie handlowym na terenie Polski (apteki, sklepy internetowe, sklepy stacjonarne). W badanej puli znalazły się suplementy diety na bazie błonnika i babki płesznik, jęczmienia zwyczajnego, ostropestu plamistego, głogu dwuszyjkowego, czerwonego ryżu drożdżowego, soi, stewii, pyłku pszczelego, korzenia maca i wierzbownicy drobnokwiatowej.

Badanie mikologiczne przeprowadzono na podłożu YGC (ekstrakt drożdżowy, glukoza z dodatkiem chloramfenikolu). Wyniki ogólnej liczby grzybów pleśniowych wyrażono, jako liczbę jednostek tworzących kolonię (jtk) na gram próbki. Identyfikację uzyskanych kultur grzybów wykonano do rodzaju. Oznaczenie mikotoksyn (trichoteceny, zearalenon (ZEN), ochratoksyna A (OTA), aflatoksyna (AF), cytrynina (CIT), patulina (PAT)) wykonano z wykorzystaniem metody HPLC-FLD oraz HPLC-MS/MS. Wartości stężeń mikotoksyn uzyskane podczas analizy mikotoksykologicznej, zostały wykorzystane do oszacowania oceny narażenia, przy użyciu metody deterministycznej.

W wyniku analizy mikologicznej stwierdzono, że 243 próbki z 290 były zanieczyszczone grzybami pleśniowymi (84%). Najbardziej zanieczyszczoną grupą były suplementy diety na bazie wierzbownicy drobnokwiatowej (100%) oraz pyłku pszczelego (95%). Pleśnie zostały zidentyfikowane w 93% próbek suplementów diety na bazie głogu dwuszyjkowego i korzenia maca, oraz w 92% na bazie ostropestu plamistego. Najmniej porażony grzybami pleśniowymi był czerwony ryż drożdżowy. Wyniki badań wykazały, że ogólna liczba grzybów, obecna we wszystkich próbkach wynosiła $5,2 \times 10^6$ jtk/g, z czego ogólna liczba pleśni w materiale wynosiła $2,9 \times 10^6$ jtk/g, a ogólna liczba drożdży $1,7 \times 10^6$ jtk/g. We wszystkich analizowanych próbkach, najczęstszym rodzajem pleśni, który wyizolowany został z badanego materiału był *Eurotium* spp. (35%), *Aspergillus* spp. (15%) oraz *Penicillium* spp. (13%).

Analiza mikotoksykologiczna wykazała, że 177 próbek ze wszystkich analizowanych suplementów diety było zanieczyszczone mikotoksynami, co stanowi 61% próbek. Najbardziej zanieczyszczone grupy były suplementy diety na bazie ostropestu plamistego i soi (100%). Wyniki wykazały, że do najczęściej występujących mikotoksyn, które obecne były w badanych próbkach należą PAT (52%) oraz ZEN (60%). T-2, DON i HT-2 występowały na podobnym poziomie (39%, 34% i 33%). Zawartość OTA we wszystkich badanych suplementach diety oscylowała na poziomie 16%, aflatoksyną było skażone 7% analizowanego materiału. Natomiast CIT nie była obecna w badanym materiale.

Do analizy współwystępowania toksyn wzięto pozytywne próbki 8 z 10 grup przebadanych suplementów diety, ponieważ suplementy diety na bazie czerwonego ryżu drożdżowego oraz głogu dwuszyjkowego analizowane były pod kątem jednej mikotoksyny. Tylko w suplementach diety na bazie korzenia maca oraz zielonego jęczmienia nie stwierdzono jednoczesnego występowania ≥ 6 mikotoksyn. Spośród pozostałych badanych grup to ostropest plamisty był zanieczyszczonej najwyższą liczbą toksyn (≥ 6 mikotoksyn = 73%). Współwystępowanie 5 mikotoksyn na poziomie 11% stwierdzono w ostropeście plamistym oraz soi, a w błonniku i babce płesznik na poziomie 6%. W pozostałych grupach nie

stwierdzono jednoczesnego występowania 5 mikotoksyn w próbie. W próbkach na bazie korzenia maca, pyłku pszczelego oraz stewii nie wykryto obecności 4 mikotoksyn, w pozostałych grupach współwystępowanie oscyloowało w granicach 9-44%. Korzeń maca i wierzbownica drobnokwiatowa w najwyższym stopniu zanieczyszczone były 3 toksynami jednocześnie, odpowiednio 60% i 59%. Każda analizowana grupa badanego materiału wykazała jednoczesną obecność 2 mikotoksyn.

Wyniki analiz suplementów diety zostały wykorzystane do przeprowadzenia próby oceny narażenia konsumentów na obecność mikotoksyn w produktach. Spośród rozpatrywanych grup, konsumenci spożywający suplementy diety na bazie ostropestu plamistego byli najbardziej narażeni na obecność mikotoksyn. Współczynnik %TDI na poziomie 20,06% wskazuje na chroniczne narażenie na T-2 i HT-2. Wyższe wartości %TDI tych związków, stwierdzono również w wierzbownicy drobnokwiatowej oraz błonniku i babki płesznik. Najwyższy stopień narażenia konsumenta na OTA wykryto w suplementach diety na bazie korzenia maca, gdzie %TDI wyniósł 5%, oraz stewii (1,80%). Powyżej 1% narażenia na DON stwierdzono także w przypadku w suplementach diety na bazie ostropestu plamistego (1,18%). W przypadku pozostałych mikotoksyn stopień narażenia mieścił się poniżej 1% .

Wyniki niniejszych badań mogą pełnić wskazówkę dla rolników, prywatnych firm, a przede wszystkim dla organów rządowych, które powinny kontrolować grzyby pleśniowe i mikotoksyny, aby możliwie najwcześniej wykryć i wyeliminować potencjalne zagrożenie. Ocena narażenia, związana z występowaniem mikotoksyn w suplementach diety, może stanowić podstawę dla uregulowań w prawodawstwie UE, dotyczących ich poziomów w suplementach diety.