



Dr hab. Marcin Bryła, prof. IBPRS-PIB
Zakład Bezpieczeństwa i Analizy
Chemicznej Żywności

Warszawa, 15.01.2023 r.

RECENZJA

Rozprawa doktorska Pani mgr Iwony Altyn, pt.: „Analiza substancji niepożądanych – wtórnych metabolitów grzybów pleśniowych w surowcach zbożowych oraz otrzymanych z nich suplementów diety” wykonanej pod kierunkiem Pani dr hab. Magdaleny Twarużek, prof. Uczelni (UKW) w Katedrze Fizjologii i Toksykologii Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy

Mykotoksyny należą do wtórnych metabolitów grzybów pleśniowych, które mogą być biosyntetyzowane przez wiele gatunków grzybów, na wielu płodach zarówno podczas wzrostu roślin, a także podczas ich magazynowania. Związki te stanowią różnorodną grupę pod względem budowy chemicznej, co decyduje o ich szerokim spektrum toksyczności zarówno dla ludzi, zwierząt, jak i roślin. Obecność toksyn w surowcach roślinnych niesie zatem ze sobą ryzyko związane zagrożeniem dla bezpieczeństwa żywności. Obecnie znanych jest ponad 500 wtórnych metabolitów grzybowych i dzięki rozwojowi technik opartych na spektrometrii mas liczba poznawanych mykotoksyn stale rośnie. W skali świata za najbardziej istotne, pod względem toksykologicznym, a także ekonomicznym, uznawane są mykotoksyny takie jak aflatoksyny, ochratoksyna A, niektóre trichoteceny, zearalenon oraz fumonizyny. W ostatnich latach na poziomie Unii Europejskiej do tej grupy zaliczone zostały cytrynina i alkaloidy sporyszu. Niektóre z tych substancji wykazują działanie kancerogenne, nefrotoksyczne, hepatotoksyczne, immunotoksyczne, mutagenne oraz teratogenne. Ich obecność w surowcach roślinnych związana jest z rozwojem niektórych gatunków grzybów należących do *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Claviceps* spp. oraz *Monascus* spp. (cytrynina).

Jednym z produktów, w których mogą znajdować się mykotoksyny są suplementy diety, które bardzo często pozyskiwane są z roślin zielarskich cechujących się obecnością związków o charakterze bioaktywnym. Niestety, jak większość roślin, mogą być infekowane patogenicznymi grzybami pleśniowymi, których skutkiem może być biosynteza wtórnych metabolitów. Oprócz mykotoksyn, w suplementach diety mogą występować metale ciężkie, pestycydy, WWA i wiele innych ksenobiotyków. Zgodnie z ustawą o bezpieczeństwie



żywności i żywienia z dnia 25 sierpnia 2006 roku, suplementy diety zaliczane są do środków spożywczych. A więc, suplementy diety podlegają europejskiemu i krajowemu prawu żywnościowemu, które w odniesieniu do wielu produktów spożywczych, szczególnie w kontekście obecności patogenów i ksenobiotyków jest bardzo restrykcyjne. Niestety, pomimo coraz większego zasobu wiedzy z zakresu obecności zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych w tej grupie żywności, nie ma obowiązujących limitów prawnych dla wielu substancji z tych grup związków.

Mając na uwadze ryzyko obecności substancji skażających w suplementach diety, Pani mgr Iwona Ałtyn postanowiła w swojej dysertacji wykonać badania związane z identyfikacją grzybów pleśniowych w próbkach surowców roślinnych oraz suplementach diety, a także przeprowadzić charakterystykę obecności wybranych mykotoksyn. Ostatecznym celem Doktorantki było przeprowadzenie oceny pobrania mykotoksyn wraz z suplementami diety. Należy zaznaczyć, że informacje dotyczące występowania mykotoksyn w różnego rodzaju suplementach diety, nie są często opisywane w światowej literaturze.

Ocena formalna pracy

Rozprawa doktorska jest rozbudowana i liczy w sumie 266 stron. Układ pracy jest typowy dla dysertacji o charakterze eksperymentalnym. Praca zawiera 33 tabele, 94 wykresy i 40 rysunków. Ponadto w pracy umieszczono 20 załączników, w tym załącznik 11 – 4 tabele i 3 wykresy, załączniki 12, 13, 15, 16, 18 i 19 – po 8 tabel, załączniki 14, 17 i 20 – po 2 tabele. Praca obejmuje także 1,5 stronicowy wstęp, część teoretyczną składającą się z 54 stron, cel i zakres pracy – 1 strona, część doświadczalna, w skład której wchodzi: materiał badawczy – 16 stron, metody – 8 stron, wyniki – 59 stron, dyskusja – 6 stron, wnioski końcowe – 1 strona. Cytowane piśmiennictwo liczy aż 477 pozycji literaturowych. Praca zawiera także spis treści oraz wykaz skrótów i akronimów zastosowanych w pracy. Liczba stron pracy jest uzasadniona rozbudowaną częścią opisową materiału badawczego oraz ilością przeprowadzonych analiz.

Ocena merytoryczna pracy

Część teoretyczna pracy składa się z dość obszernej charakterystyki potencjalnych zanieczyszczeń suplementów diety w kontekście grzybów pleśniowych i ich metabolitów, m. in. *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. oraz mykotoksyn wytwarzanych przez te patogeniczne grzyby – aflatoksyn, ochratoksyny A,



patuliny, trichotecen, zearalenonu. Zagadnieniom tym towarzyszą ciekawe ilustracje grzybów z obrazu mikroskopowego pozyskanych z kolekcji Katedry Fizjologii i Toksykologii Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego. Dość szczegółowo omówiono również aspekty toksykologiczne wtórnych metabolitów. Choć ta część pracy została przedstawiona poprawnie, ciekawsze w mojej opinii byłoby skoncentrowanie się na nowszych aspektach badań mykotoksyn, choćby dokonanie podsumowania postępów badań w zakresie charakterystyki toksykologicznej wtórnych metabolitów zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* w kontekście ich wzajemnego oddziaływania (efekt synergistyczny, addytywny oraz antagonistyczny).

Drugim zagadnieniem podejmowanym w części teoretycznej pracy jest charakterystyka prawa żywnościowego na poziomie krajowym i wspólnotowym. Doktorantka bardzo szczegółowo i rozlegle opisuje źródła prawa krajowego i europejskiego w kontekście bezpieczeństwa żywności, w tym suplementów diety. Część ta składa się z rozdziałów „Ogólne zasady prawa żywnościowego”; „Suplementy diety”; „Aspekty prawne bezpieczeństwa suplementów diety na terenie Unii Europejskiej” oraz „Bezpieczeństwo stosowania suplementów diety”. Tę część uważam za zbyt szczegółową i obszerną, ponieważ jest to wiedza mająca charakter informacyjny, która jest ogólnie dostępna i zawiera liczne interpretacje. Ponadto różne opracowania w tym zakresie są powszechnie dostępne w Internecie oraz broszurach informacyjnych urzędowej kontroli żywności. Co ważne, poruszając się w przepisach prawa żywnościowego bardzo łatwo jest popełnić błędy powołując się na niewłaściwe akty prawne, ze względu na ich wielokrotne nowelizacje i zmiany. Właśnie w tym kontekście Doktorantka nie ustrzegła się pomyłek.

Przykłady:

Str. 32: Rozporządzenie Komisji Nr 466/2001 z dnia 8 marca 2001 – nie obowiązuje; zastąpiło je Rozporządzenie Komisji 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. Podobnie nieaktualne jest Rozporządzenie Nr 856/2005 z dnia 6 czerwca 2005 r. Z kolei Rozporządzenie Nr 1126/2007 jest Rozporządzeniem zmieniającym Rozporządzenie 1881/2006 w kontekście najwyższych dopuszczalnych zawartości w odniesieniu do toksyn grzybów *Fusarium* w kukurydzy i produktach z kukurydzy.



Str. 33-36: Tabela 5 zawiera niepoprawne dane w odniesieniu do maksymalnej dopuszczalnej zawartości dla sumy toksyn HT-2 i T-2. Zaprezentowane dane w tabeli, pochodzą z Zalecenia Komisji z dnia 27 marca 2013 r., a podane zawartości nie dotyczą maksymalnej dopuszczalnej zawartości, ale poziomów wskaźnikowych, tj. poziomów powyżej których (przy częstym wykryciu) konieczne jest przeprowadzenie badań dotyczących charakterystyki czynników prowadzących do obecności toksyn T-2 i HT-2. Poziomy wskaźnikowe nie stanowią poziomów bezpieczeństwa dla żywności. W odróżnieniu od unijnych rozporządzeń i dyrektyw, zalecenia nie są obligatoryjne w krajach członkowskich. Doktorantka w Tabeli 5 pominęła wartość maksymalnej dopuszczalnej zawartości dla cytryniny. Wartość ta została wprowadzona Rozporządzeniem Komisji (UE) 2019/1901 z dnia 7 listopada 2019 r., które zmieniało Rozporządzenie (WE) Nr 1881/2006 i dotyczy suplementów diety na bazie ryżu fermentowanego grzybami *Monascus purpureus*.

Str. 37: Rozporządzenie Komisji 669/2009 zostało uchylone przez rozporządzenie wykonawcze Komisji 2019/1793 z dnia 22 października z 2019 r.

Str. 39: Rozporządzenie Komisji Nr 882/2004 oraz Nr 854/2004 zostało uchylone i zastąpione Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/625 z dnia 15 marca 2017 r., które obejmuje późniejsze aktualizacje.

Str. 50: Dyrektywa Nr 2001/82/WE została uchylona i zastąpiona Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/6 z dnia 11 grudnia 2018 r.

Na przyszłość zalecam, aby przy przygotowaniu opracowań w tym zakresie Doktorantka korzystała z bazy EUR-Lex, w której można weryfikować aktualność dokumentów prawnych i korzystać z wersji skonsolidowanych, co umożliwi wyeliminowanie tego rodzaju pomyłek.

Główny cel i zakres badań został sformułowany prawidłowo, choć w mojej opinii brakuje hipotez badawczych, których weryfikacja ułatwiłaby wnioskowanie. Materiał badawczy został bardzo starannie dobrany i scharakteryzowany. Na uwagę zasługuje ilość i różnorodność materiału badawczego (290 próbek suplementów diety), w skład których wchodziły błonnik i babka płesznik, głąg dwuszyjkowy, korzeń maca, czerwony ryż drożdżowy, ostropest plamisty, pyłek pszczeli, soja, stewia, wierzbownica drobnokwiatowa, zielony jęczmień. Doktorantka przedstawiła fotografie roślin, z których pozyskano suplementy



diety oraz fotografie materiału badawczego w różnych postaciach (nasiona, proszek, kapsułki, tabletki). Brakuje informacji w jakim czasie zakupiono badane próbki.

Metody badań wykorzystywane w pracy zostały opisane szczegółowo. Dotyczyły one oznaczania ogólnej liczby grzybów pleśniowych oraz identyfikację rodzajową grzybów na podstawie oceny mikroskopowej zgodnie z procedurami opisanymi w PN. Metody te dobrano poprawnie, niemniej jednak w opinii Recenzenta, można byłoby posłużyć się pewniejszymi metodami opartymi na biologii molekularnej lub przy zastosowaniu spektrometrii mas z użyciem desorpcji laserowej wspomaganej matrycą z analizatorem czasu przelotu (MALDI TOF - *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of Flight*). Uwaga ta nie umniejsza ogromu pracy jaki został włożony przez Doktorantkę, a dobór metod przypuszczalnie wynikał z możliwości aparaturowych w tym zakresie. Poza identyfikacją grzybów Pani mgr Iwona Ałtyn przeprowadziła prace związane z analizą ilościową wybranych mykotoksyn (CIT, PAT, AFs, OTA, wybrane trichoteceny oraz ZEN). Wysoko oceniam wykorzystanie metod do analizy mykotoksyn, które opierały się na zaawansowanych technikach chromatografii ciekłej i spektrometrii mas. Mają one wiele zalet oraz na całym świecie stają się „standardem”. Jakość uzyskanych wyników była wspierana poprzez posiłkowanie się wzorcami toksyn znakowanych izotopowo. Do oznaczenia zawartości AFs, OTA i CIT w próbkach suplementów diety Doktorantka posłużyła się metodami referencyjnymi opartymi na technice chromatografii ciekłej połączonej z detektorem fluorescencyjnym. Zakładam, że dobór ten wynikał z potrzeby uzyskania niskich wartości granic oznaczalności, które w przypadku techniki LC-MS/MS trudno byłoby uzyskać. Na koniec rozdziału „Metody” Autorka scharakteryzowała metodę szacowania oceny narażenia mykotoksyn pobranych przez człowieka, opartą na porównaniu szacunkowego pobrania toksyny z wartością TDI poszczególnych związków. Brakuje informacji, w jaki sposób wyznaczono wartość dziennego spożycia suplementów diety przez człowieka. Czy ta wartość opiera się na opracowaniach jakiejś instytucji, czy na skali importu i produkcji własnej przeznaczonej na polski rynek? Czy może Autorka opierała się na zaleceniach określonych na etykiecie produktu? Źródło tych danych jest istotne, ponieważ umożliwi wskazanie grupy docelowej, której ta ocena narażenia dotyczy. Również w przypadku rozdziału „Metody” zaobserwowano niejasności, które wymagają sprostowania albo wyjaśnienia. Recenzent nie dopatrył się informacji w ilu niezależnych powtórzeniach przeprowadzono wszystkie analizy? Dlaczego w przypadku oznaczenia trichotecen i ZEN, wzorzec 13C-ZEN dodawano do ekstraktu przed jego



naniesieniem na kolumnkę Bond Elut Mycotoxin, a w przypadku pozostałych znakowanych wzorców dodawano po naniesieniu tego roztworu (tj. do oczyszczonego ekstraktu)? Brakuje informacji w jaki sposób prowadzono analizy w przypadku toksyn, dla których nie było wzorców wewnętrznych. Czy była to metoda kalibracji zewnętrznej? Czy może wykorzystywane standardy wewnętrzne stosowano też w odniesieniu do pozostałych toksyn? Dlaczego w fazie ruchomej stosowano aż 1% dodatku kwasu octowego? Zbyt wysokie stężenie kwasu skutkuje podniesieniem szumów w trakcie jonizacji. Generalnie takie stężenia kwasu stosuje się podczas analiz przy zastosowaniu techniki LC-MS/MS, ale w przypadku analiz mykotoksyn niekoniecznie jest to pożądane. Brakuje również informacji w jaki sposób eliminowano wpływ matrycy oraz w jaki sposób wyznaczono wartości LOQ i LOD? Doktorantka nie zamieściła również informacji na temat poziomów wzmocnienia dla poszczególnych matryc, co do których została zrealizowana walidacja metody. Czy wartość odzysku jest wartością średnią? Jaka była liczba powtórzeń niezależnych, dla których wyznaczono wartość odzysku? Brakuje także wartości powtarzalności metody. Wyjaśnienie konieczne jest w przypadku wyniku dotyczącego wartości odzysku w Tabeli 10. Autorka pracy zamieściła dane, że wartość odzysku dla ochratoksyny A w przypadku ostropestu plamistego wynosi 11%. Ponieważ Doktorantka w całej dysertacji odnosi się do potrzeb wprowadzenia legislacji w kontekście dopuszczalnej zawartości mykotoksyn w suplementach diety, w opinii Recenzenta wyniki eksperymentu walidacyjnego powinny być odniesione do kryteriów skuteczności metody określonych w Rozporządzeniu 401/2006 z dnia 23 lutego 2006. Oczywiście dla potrzeb badań opisanych w dysertacji nie jest to wymóg obligatoryjny. Brakuje informacji w Metodach, w jakiej temperaturze termostатовano kolumnę HPLC oraz wykazu jonów prekursorów oraz jonów fragmentacyjnych, które wybrano do identyfikacji badanych mykotoksyn. W przypadku oznaczenia aflatoksyn podano informację, że do fazy ruchomej dodawano KBr, natomiast nie wspomniano, że dodatek tej soli jest związany z koniecznością przeprowadzenia derywatywacji pokolumnowej podczas analizy techniką HPLC-FLD.

Otrzymane wyniki zostały zaprezentowane w różnych układach, tj. z podziałem na surowiec oraz formę badanych próbek. W każdej z tych grup, wyniki zostały scharakteryzowane wyczerpująco i wskazują, że suplementy diety mogą charakteryzować się wysokim stopniem zanieczyszczenia grzybami pleśniowymi. Świadczy o tym wysoki odsetek próbek zanieczyszczonych grzybami pleśniowymi szczególnie w przypadku suplementów na bazie głogu dwuszyjkowego, korzenia maca, ostropestu plamistego, pyłku pszczelego oraz



wierzbownicy drobnokwiatowej, co może sugerować obecność mykotoksyn w tych próbkach. Zapis w Tabelach 11 – 21 dotyczący sumy ogólnej liczby grzybów, w tym pleśni i drożdży jest niezrozumiały. Co należy rozumieć pod pojęciem „suma ogólnej liczby tych organizmów” wyrażonej w jtk/g?

Wyniki zawartości mykotoksyn w badanych próbkach suplementów diety wskazują, że substancje te występowały we wszystkich badanych grupach produktów, niekiedy na relatywnie wysokim poziomie. Recenzent nie znalazł wyjaśnienia, dlaczego do badań mykotoksyn wzięto 246 próbek spośród 290, a także dlaczego w przypadku PAT i CIT analizowano odpowiednio tylko 29 i 15 próbek. Ponadto opisywane wyniki wskazują, że w przypadku suplementów diety na bazie głogu dwuszyjkowego analizowano tylko PAT, natomiast suplementów na bazie czerwonego ryżu drożdżowego tylko CIT. W związku z tym, Recenzent prosi o wyjaśnienie tej kwestii.

Interesujący w opinii Recenzenta jest rozdział poświęcony analizie statystycznej wyników, w którym Doktorantka dokonała próby ustalenia istotnych związków pomiędzy zawartością grzybów pleśniowych a zawartością mykotoksyn w projekcji korelacji rang Spermmana. Analizę tę zastosowano dla wszystkich badanych próbek, a także w grupach z podziałem na kategorię produktów. Doktorantka wyjaśniła powody, dla których zdecydowała się zastosować wspomnianą metodę statystyczną. W dużej liczbie przypadków ustalono, że wzrost niektórych nietypowych dla danych mykotoksyn pleśni wiązał się ze wzrostem lub spadkiem zawartości tych mykotoksyn, co może budzić zastanowienie. Jednakże siła tych związków na ogół była słaba lub umiarkowana. Recenzent zaobserwował relatywnie wysoki stopień zanieczyszczenia próbek suplementów diety na bazie błonnika i babki płesznik trichotecenami. Jest to zastanawiające, gdyż w tych samych próbkach identyfikowano inne grzyby niż *Fusarium* spp. Podobną obserwację Recenzent odnotował w przypadku próbek na bazie ostropestu plamistego, soi, wierzbownicy drobnokwiatowej i zielonego jęczmienia. Czy te obserwacje można wyjaśnić zdolnością innych mikroorganizmów niż *Fusarium* spp., zidentyfikowanych w próbkach do biosyntezy tych substancji? Czy są jakieś dane literaturowe w tym zakresie? Jak autorka wytłumaczy relatywnie wysokie zawartości deoksyniwalenolu oraz sumy toksyn HT-2 i T-2 sięgające odpowiednio nawet około 4000 i 2500 µg/kg?

Ostatnim aspektem omówienia wyników jest ocena narażenia ludności na mykotoksyny pobrane przez człowieka wraz z suplementami diety przy przyjęciu założenia, że zawartość



mykotoksyn w suplementach diety jest równa wartości mediany zawartości tych związków. Brakuje informacji, czy wartość mediany została wyznaczona z wartości stężenia w próbkach pozytywnych? Czy może wzięto pod uwagę wszystkie badane próbki, przy czym zawartości mykotoksyn w próbkach, w których nie wykryto mykotoksyn powyżej poziomu LOQ przyjęto założenie, że zawartość każdej z mykotoksyn wynosi $0,5 \cdot \text{LOQ}$? Drugie podejście jest bardziej urealnione i często stosowane w ocenie narażenia. Relatywnie wysoki poziom narażenia Doktorantka odnotowała w przypadku toksyn HT-2 i T-2 obecnych w suplementach na bazie ostropestu plamistego, jednakże ogólnie ocena ryzyka wykazała niski stopień narażenia na mykotoksyny pobrane przez człowieka z suplementów diety. Na stronie 153, w Omówieniu wyników Doktorantka cytuje: „Współczynnik %TDI na poziomie 20,06% wskazuje na chroniczne narażenie na T-2 i HT-2 w przypadku ostropestu plamistego...”. Niestety nie mogę zgodzić się z tym stwierdzeniem, ponieważ z założenia suplementy diety mają uzupełniać niedobory organizmu człowieka, więc spożywa się je przez określony czas, a nie w sposób ciągły. Mimo tego należy pamiętać, że główne ryzyko narażenia człowieka na mykotoksyny wynika z faktu spożycia produktów spożywczych, szczególnie zbożowych. Częste sięganie po suplementy diety może powodować wzrost ryzyka narażenia na tego typu substancje.

Dyskusja wyników jest odrębnym rozdziałem, w którym Doktorantka dokonała charakterystyki wyników uzyskanych w badaniach w zestawieniu z danymi dostępnymi w literaturze. Za słabą stronę tego rozdziału uważam brak nawiązania choćby do kwestii dotyczących braku powiązania pomiędzy zidentyfikowanymi grzybami, a oznaczonymi mykotoksynami w badanych próbkach, o których wspomniano wcześniej. Według Recenzenta słabą stroną jest również brak dyskusji w odniesieniu do wyników uzyskanych w analizie statystycznej, a także do wyników dotyczących oceny ryzyka narażenia. Z drugiej strony Recenzent zdaje sobie sprawę, że dyskusja ta jest bardzo utrudniona ze względu na deficyt literatury w zakresie oceny zanieczyszczenia suplementów diety grzybami pleśniowymi i mykotoksynami.

Na zakończenie pracy Autorka przedstawiła 6 wniosków końcowych, dotyczących występowania grzybów w suplementach diety, mykotoksyn oraz oceny narażenia pobrania mykotoksyn wraz z suplementami diety przez ludność. Uważam, że wnioski w dużym stopniu mają charakter opisowy, a niekiedy mają charakter pilnej konieczności, a nie sugestii: *W wielu przypadkach stężenia tych związków były wysokie (ZEN, PAT, HT-2, T-2, DON) co potwierdza*



konieczność wprowadzenia określonych regulacji prawnych dotyczących maksymalnych dopuszczalnych poziomów mikotoksyn w poszczególnych grupach suplementów diety. Wyniki te wskazują na konieczność wprowadzenia obowiązkowej kontroli ...

Ocena formy językowej i technicznej pracy

Pomimo, że przedstawiona do oceny praca doktorska jest starannie przygotowana, Doktorantce nie udało się uniknąć potknięć językowych, błędów i nieścisłości, których wybiórcze zestawienie wynikające z obowiązku recenzenta wyszczególniam poniżej:

Nie ma możliwości wyeliminowania pleśni i mikotoksyn z zasobów żywności, mimo to zastosowanie odpowiednich praktyk rolnych, właściwe przechowywanie i przede wszystkim kontrola zarówno surowców jak i produktu końcowego może obniżyć poziomy tych substancji (str. 13).

Oznaczenie tych związków pozwoli na charakterystykę ryzyka i opracowanie najwyższych dopuszczalnych poziomów wtórnych metabolitów w suplementach diety oraz na uwzględnienie ich w regulacjach prawnych (str. 14).

... Do produkcji aflatoksyn potrzebna jest temperatura o współczynniku $a_w = 12^\circ\text{C}$ (min), 27°C (optymalna), $40\text{--}42^\circ\text{C}$ (max) (Davis i Diener, 1970) oraz wilgotność na poziomie $a_w = 0,83$ (Northolt i in., 1979) ... (str. 25).

Patulina występuje także w niefermentowanym soku jabłkowym, ale nie wykazuje odporności na fermentację w produktach pochodzących z cydru, gdzie jest skutecznie metabolizowana przez drożdże (Moss i Long, 2002) (str. 27).

Trichoteceny należą do grupy związków chemicznych odpornych na wysoką temperaturę (str. 28).

Prowadzone badania wykazały, że ZEN bardzo szybko wchłaniany jest z przewodu pokarmowego. W wątrobie ulega przekształceniu do β -zearalenonu (związek nietoksyczny) oraz α -zearalenonu, który wiąże się z receptorami estrogenowymi 10-20 razy silniej niż ZEN (Zinedine i in., 2007) (str. 32).

... „reakcję układu biologicznego na kilka chemikaliów po jednoczesnym lub sekwencyjnym narażeniu” ... (str. 38).



Babka plesznik może być stosowana jako bioaktywny oligosacharyd o właściwościach probiotycznych (Askari i in., 2008) (str. 73).

Jęczmień jest uważany za żywność o niskim indeksie glikemicznym ($IG < 55$). Wartość ta sprawia, że produkty na bazie jęczmienia są wskazane dla osób wrażliwych na gluten, a także diabetyków (str. 85-86).

Młodociany osobnik jęczmienia ... (str. 85).

Rozpuszczalne włókna zielonego jęczmienia fermentują w okrężnicy i tworzą małe, łańcuchowe kwasy tłuszczowe, które wchłaniane w wątrobie, hamują syntezę cholesterolu (Kamiyama i Shibamoto, 2012) ... (str. 86).

... Następnie kolumnę wysuszono powietrzem, przemyto 20 ml H_2O destylowanej i ponownie wysuszono powietrzem.; Pod kontrolą pH-metru (Crison GLP 21) wyposażonego w elektrodę pH (Crison pH 5010T), pH roztworu (w domyśle H_3PO_4) doprowadzono do 2,5 za pomocą 2M i 1M roztworów HCl. Następnie z kolby pobrano 750 ml roztworu i pH pozostałej objętości doprowadzono do 7,5 2M i 1M roztworów NaCl (str. 90)

Obliczone wartości EDI wyrażono jako %TDI dla związków o ustalonej wartości tego parametru, zgodnie z Rozporządzeniem UE z 2005, 2006 i 2013 r. (str. 94).

Wniosek końcowy

Oceniając dysertację stwierdzam, że Doktorantka włożyła wiele pracy w ocenę stopnia zanieczyszczenia grzybami i mykotoksynami wybranych suplementów diety dostępnych na polskim rynku. Wynikało to nie tylko z liczby przeanalizowanych próbek, ale i z faktu, że Autorka bazowała na różnorodnych złożonych matrycach, co potęgowało konieczność dostosowania i sprawdzenia stosowanych metod badawczych. Praca ta jest cennym uzupełnieniem wiedzy, w której występuje deficyt danych literaturowych dotyczących stopnia zanieczyszczenia suplementów diety mykotoksynami. Ponadto, recenzowana praca dostarcza dowodów naukowych przydatnych w dyskusyjnych panelach naukowych opiniujących ocenę ryzyka narażenia na mykotoksyny pobrane przez człowieka wraz z suplementami diety. Sformułowane uwagi krytyczne nie wpływają istotnie na wartość poznawczą pracy, a także znaczenie problemu naukowego jakim jest bezpieczeństwo żywności na przykładzie suplementów diety.



Biorąc powyższe pod uwagę wyrażam opinię, że praca doktorska Pani mgr Iwony Ałtyn pt. „Analiza substancji niepożądanych – wtórnych metabolitów grzybów pleśniowych w surowcach roślinnych oraz otrzymanych z nich suplementów diety” spełnia wymagania Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce i wnoszę do Wysokiej Rady Dziedziny Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy o dopuszczenie Pani mgr Iwony Ałtyn do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Z wyrazami szacunku,
Dawid Rępe

