

Dr hab. Wiesław Wiczowski, prof. Instytutu  
Zakład Chemii i Biodynamiki Żywności  
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności  
Polska Akademia Nauk w Olsztynie

Olsztyn, 03.10.2022

## RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Piotra Pokrzywy pt. „*Wpływ wybranych czynników na zawartość trichotecenów z grupy A i B w produktach zbożowych, w tym przeznaczonych dla dzieci*” wykonanej w Katedrze Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywnienia Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie pod kierunkiem dr hab. Magdaleny Surmy, prof. URK.

Dostępne dane wskazują, że zanieczyszczenie żywności naturalnymi toksynami, zwłaszcza mykotoksynami, stanowi poważny problem w rolnictwie i przemyśle spożywczym, zarówno w obszarze produktów pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. W przypadku produktów roślinnych zagrożenie zanieczyszczeniem mykotoksynami dotyczy przede wszystkim ziarna zbóż, nasion roślin oleistych, kawy, owoców, przypraw i orzechów.

Dotychczas poznano kilkaset różnych mykotoksyn wytwarzanych przez grzyby z gatunku *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Szczególnie szerokie spektrum toksycznych skutków wykazują mykotoksyny wytwarzane przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, rozpowszechnione w strefie klimatu umiarkowanego, w tym w Europie. Do grupy toksyn wytwarzanych przez grzyby z tego rodzaju należą trichoteceny, fumonizyny, moniliformina i zearalenon i jego pochodne.

Pomimo, że w ostatnich latach dokonał się istotny postęp w toksykologii żywności, technikach diagnostycznych i strategiach zapobiegania występowaniu mykotoksyn w żywności jednak zjawisko zanieczyszczenia produktów spożywczych tymi niebezpiecznymi substancjami nadal istnieje i wymaga dalszych badań oraz nowych

rozwiązań. Ponadto, globalizacja rynku żywnościowego i związany z nią transport surowców i produktów na duże odległości w różnych warunkach wzmaga istniejące zagrożenia.

Zatem, przedstawiona do recenzji praca doktorska dobrze wpisuje się w trendy oceny stanu zanieczyszczenia mykotoksynami żywności pochodzenia roślinnego oraz poszukiwania nowych metod umożliwiających ograniczenie ich powstawania. Tym bardziej, że szereg dotychczasowych badań naukowych wskazuje, że spośród istniejących metod ograniczania powstawania mykotoksyn techniki/metody wzbogacania/suplementacji surowców i produktów roślinnych związkami/materiałami o charakterze przeciwutleniającym charakteryzują się dużym potencjałem aplikacyjnym. Przypuszcza się zatem, że po odpowiednim i gruntownym przebadaniu dzięki tym technikom/metodą stanie się możliwe zwiększenie bezpieczeństwa żywności. Jednocześnie oczekuje się, że kolejne badania dostarczą charakterystyki pełnego profilu występowania mykotoksyn w szeregu produktach spożywczych, w tym dla dzieci.

Oceniana rozprawa doktorska licząca 57 stron obejmuje cztery zagadnienia opisane i opublikowane w latach 2019-2022 w trzech oryginalnych pracach naukowych w czasopiśmie indeksowanym w Journal Citation Reports o łącznym „Impact Factor” równym 3,876 punktów oraz sumarycznej ilości 270 punktów MNiSW (rozdział „WYKAZ PUBLIKACJI”, str. 8-9). O wartości tych prac świadczy opublikowanie ich w dobrym czasopiśmie naukowym, tj. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (IF: 0,982 za rok 2019 i 1,447 za rok 2021/2022; punktacja MNiSW: 70 pkt. za rok 2019 i 100 pkt. za rok 2021/2022). Przed opublikowaniem prace te były poddane ocenie recenzentów, musiały spełnić wszystkie wymagania dotyczące sposobu przedstawiania wyników, ich interpretacji oraz dyskusji, a przyjęcie ich do druku świadczy o ich sprawdzonej wartości naukowej. We wszystkich artykułach Doktorant jest pierwszym autorem i zgodnie z informacjami zawartymi w rozdziale „WYKAZ PUBLIKACJI” (str. 8-9) i ZAŁĄCZNIKU II (str. 55-57) „Oświadczenia współautorów” jego udział w powstaniu tych prac był wiodący i polegał na opracowaniu koncepcji badań, gromadzeniu danych, analizie i interpretacji danych oraz pisaniu artykułów. Wkład Doktoranta został oszacowany na poziomie 60%, 55% i 80%, odpowiednio w pracy pierwszej, drugiej i trzeciej.

Oprócz wykazu publikacji stanowiących rozprawę doktorską (str. 8-9), załączonych pełnych tekstów publikacji (str. 32-54) oraz informacji o charakterze udziału współautorów

w publikacjach (str. 55-57) dysertacja zawiera bardzo pomocny w lekturze pracy wykaz stosowanych skrótów (str. 7), wprowadzenie (str. 10-12), hipotezy badawcze i cel pracy (str. 13), charakterystykę materiału badawczego i opis zastosowanych metod (str. 14-19), omówienie wyników (str. 20-26), wnioski (str. 27) oraz perspektywy badawcze (str. 28). Całość uzupełnia streszczenie w języku polskim (str. 4-5) i angielskim (str. 6) oraz bibliografia (str. 29-31).

W dwustronicowym wprowadzeniu Autor w sposób bardzo syntetyczny przedstawił aktualny stan wiedzy na temat występowania i rodzajów mykotoksyn, skupiając się przede wszystkim na grzybach z rodzaju *Fusarium*. Wskazał również czynniki wpływające na wzrost grzybów, podkreślając, na podstawie szeregu doniesień naukowych, ograniczające działanie naturalnych substancji przeciwutleniających. Podkreślił, że olejki eteryczne przypraw, w tym mięty, cynamonu, bazylii i oregano skutecznie hamowały wzrost grzybni *Fusarium*.

W mojej ocenie przedstawione wprowadzenie jest ściśle związane z przedmiotem pracy doktorskiej, mogłoby jednak zostać opracowane w szerszym zakresie. Z drugiej strony należy podkreślić, że wszystkie trzy prace stanowiące rozprawę doktorską zawierają odpowiednie wprowadzenia naświetlające w zadawalający sposób problemy w nich poruszane.

W kolejnym rozdziale Autor przedstawia cztery jasno sformułowane cele badawcze oraz trzy hipotezy badawcze.

Rozdział „MATERIAŁY I METODY” składa się z dziewięciu podrozdziałów i liczy sześć stron. W jego początkowej części opisano rodzaje wykorzystanych w badaniach surowców i produktów oraz ich pochodzenie z podziałem według opublikowanych prac naukowych. W kolejnej części opisano przebieg doświadczeń określających wpływ warunków przechowywania zbóż oraz produktów zbożowych na powstawanie mykotoksyn oraz określających wpływ wzbogacenia produktów zbożowych materiałem roślinnym o potencjale przeciwutleniającym na powstawanie mykotoksyn. W ostatniej części rozdziału „MATERIAŁY I METODY” przedstawiono metodyki analizy poszczególnych mykotoksyn, potencjału antyoksydacyjnego, ogólnej liczby pleśni i opis analizy statystycznej.

Według mojej oceny w opisie zastosowanej metodyki badawczej występuje kilka nieścisłości lub/i podane informacje są niepełne, tj.

- na jakich danych oparto wybór rodzaju ziarna zbóż o najwyższym spożyciu w Polsce (str. 14)?
- jaką prędkość zmiksowania oznacza sformułowanie „przy dużej prędkości”? (str. 16 i 17);
- w jakiej wilgotności powietrza prowadzono eksperymenty przechowalnicze oraz czy do przechowywanych próbek był dostęp światła?
- jakie były przesłanki wyboru wskazanego procentowego dodatku źródeł przeciwutleniaczy?
- użyty na stronie 17 i 18 skrót „RF 20Axs” dotyczy typu detektora i powinien znajdować się po nazwie wykorzystanego detektora, tj. „z detektorem fluorescencyjnym RF 20Axs”;
- brak zakresu krzywej wzorcowej dla Troloxu (str. 18);

Podkreślenia wymaga fakt, że zastosowane techniki przygotowania próbek do analiz oraz metody analityczne były złożone i czasochłonne oraz potrzebowały dużego nakładu pracy aby w pełni umożliwić zrealizowanie założonych celów badawczych. Dzięki temu jednak możliwe było uzyskanie wielu nowych informacji o poziomie mykotoksyn w próbkach zbóż i ich produktach oraz eksperymentach przechowalniczych i suplementacji surowcami o wysokim potencjale przeciwutleniającym. Podsumowując stwierdzam, że wykorzystana metodyka została poprawnie dobrana i zastosowana.

Liczący pięć stron rozdział „OMÓWIENIE WYNIKÓW” składa się z czterech podrozdziałów. Na podstawie zestawień liczbowych, będących rezultatem pracy organizacyjnej i analitycznej Doktorant przedstawił w poszczególnych podrozdziałach opis własnych osiągnięć. W ramach przyjętej organizacji badań w pierwszej kolejności omówił wyniki dotyczące oceny stopnia zanieczyszczenia mykotoksynami produktów zbożowych. Doktorant dokonał analizy występowania deoksyniwalenolu, zearalenonu i fumonizyny. Wykazał, że spośród badanego asortymentu deoksyniwalenol, zearalenon i fumonizyna najczęściej występowały w mące kukurydzianej, ale tylko w jednym przypadku przekraczały najwyższy dopuszczalny poziom określony w przepisach. Ponadto, nie stwierdził obecności tych mykotoksyn w produktach zbożowych przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci. Kolejnym etapem badań była analiza trichotecenów typu A i B w próbkach zbóż, otrąb oraz produktów zbożowych dla dzieci. Doktorant wykazał obecność HT-2 w kilku próbkach pszenicy, owsa, otrąb pszennych i owsianych, diacetoksyscirpenolu w dwóch próbkach pszenicy, natomiast nie znalazł trichotecenów typu A i B w produktach zbożowych dla dzieci. Podsumowując ten etap badań uważam, że określenie występowania deoksyniwalenolu,

zearalenonu, fumonizyny i trichotecenów typu A i B w badanych próbkach zbóż i produktów zbożowych stanowi ważne osiągnięcie pracy Doktoranta.

Drugi obszar badań przedstawiony w rozdziale „OMÓWIENIE WYNIKÓW” dotyczył oceny potencjalnego zagrożenia konsumentów wynikającego ze spożycia produktów zbożowych, w tym produktów przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci, zanieczyszczonych mykotoksynami. Na podstawie otrzymanych wyników i dostępnych wskazań Doktorant oszacował dawkę ekspozycji na deoksyniwalenol i zearalenon i wykazał, że zaobserwowana w jego badaniach średnia dawka ekspozycji nie stanowi zagrożenia dla zdrowia konsumentów. Doktorant stwierdził jednak zagrożenie w zakresie dziennego przyjęcia mykotoksyny HT-2 po spożyciu badanych otrąb pszennych i owsianych oraz produktów zbożowych dla dzieci w ilości wskazanej przez producenta tych produktów.

Kolejny obszar badań opisany w rozdziale „OMÓWIENIE WYNIKÓW” dotyczył oceny wpływu warunków przechowywania zbóż oraz produktów zbożowych na powstawanie mykotoksyn. Doktorant przeprowadził eksperymenty i analizy, w których sprawdził jak temperatura (6 i 28°C) i czas (14 i 28 dni) wpływały na poziom mykotoksyn w próbkach zbóż, otrąb i produktów zbożowych dla dzieci, gdy ich wilgotność wyjściowa została doprowadzona do 19%. W swoich badaniach wykazał statystycznie istotny wzrost poziomu mykotoksyny HT-2 w przechowywanych próbkach zbóż, otrąb i produktów zbożowych dla dzieci. Nie zaobserwował natomiast wpływu temperatury na gromadzenie się wspomnianej substancji w próbkach zbóż i otrąb. Z drugiej strony zaobserwował jednak, że temperatura 6°C sprzyjała wytwarzaniu HT-2 w próbkach produktów zbożowych dla dzieci.

W ostatniej części rozdziału „OMÓWIENIE WYNIKÓW” Doktorant przedstawił wpływ wzbogacenia produktów zbożowych surowcami roślinnymi o charakterze przeciwutleniającym (liofilizaty z borówki amerykańskiej i żurawiny oraz cynamonu) na powstawanie mykotoksyn. Zebrane przez Doktoranta dane analityczne dotyczące potencjału przeciwutleniającego badanych próbek wskazały, że najwyższym potencjałem charakteryzowały się próbki cynamony i ich dodatek powodował wzrost badanego potencjału we wszystkich zbożach i produktach zbożowych. Natomiast w przypadku dodatku liofilizatu z borówki amerykańskiej i żurawiny, podwyższenie wartości badanego parametru nastąpiło tylko w próbkach zbóż i otrąb. Oceniając możliwości zastosowania bogatych w przeciwutleniacze surowców roślinnych do hamowania procesów produkcji mykotoksyn Doktorant stwierdził różne kierunki zmian poziomu tych substancji, zależne od rodzaju badanej próbki oraz procentowego dodatku suplementu. Należy jednak podkreślić, że dodatek

cynamonu obniżał zawartość HT-2 we wszystkich badanych próbkach. Uważam, że te bardzo ciekawe wyniki powinny zostać dokładniej omówione i zinterpretowane w przedłożonej pracy doktorskiej. Należy jednak wskazać, że podobnie jak w przypadku rozdziału „WPROWADZENIE”, prace stanowiące rozprawę doktorską zawierają zadawalającą dyskusję uzyskanych wyników na tle dostępnej literatury.

Badania podsumowuje siedem poprawnie sformułowanych wniosków. Są one dobrze udokumentowane i wynikają z przeprowadzonych eksperymentów oraz odpowiadają założonym celom. Jednakże, w pracy brakuje jednego generalnego wniosku podsumowującego całość przeprowadzonych prac.

Bibliografia pracy liczy 28 pozycji przedstawiających zagadnienia związane z tematem prowadzonych badań. Wszystkie prace są anglojęzyczne.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Piotra Pokrzywy jest oryginalnym osiągnięciem naukowym, badania są ważne z punktu widzenia naukowego i społecznego. Pracę doktorską mgr inż. Piotra Pokrzywy pt. *„Wpływ wybranych czynników na zawartość trichotecenów z grupy A i B w produktach zbożowych, w tym przeznaczonych dla dzieci”* oceniam pozytywnie.

#### Uwagi końcowe

Stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Piotra Pokrzywy pt. *„Wpływ wybranych czynników na zawartość trichotecenów z grupy A i B w produktach zbożowych, w tym przeznaczonych dla dzieci”* spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789) i niniejszym wnoszę do Rady Dyscypliny Technologia Żywności i Żywienia Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie o dopuszczenie mgr inż. Piotra Pokrzywy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

