

Lublin, 09.11.2021 r.

Prof. dr hab. Jose Luis Valverde Piedra  
Katedra Farmakologii, Toksykologii i Ochrony Środowiska  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Marka Pajurka pt. „Analiza porównawcza stężeń oraz profili dioksyn i polichlorowanych bifenyli w paszach”, wykonana pod kierunkiem Prof. dr hab. Krzysztofa Kwiatka w Zakładzie Radiobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach**

Dioksyny od lat budzą zainteresowanie środowisk naukowych ze względu na ich wyjątkową toksyczność. Spośród wielu potencjalnych chemicznych zanieczyszczeń żywności, to one są powszechnie uważane za jedne z najbardziej niebezpiecznych dla zdrowia ludzi i zwierząt ze względu na ich właściwości toksykologiczne, trwałość i zdolność do biokoncentracji w łańcuchu żywnościowym. Środowiskowe narażenie na te związki może wpływać na wiele procesów fizjologicznych u człowieka. Wśród niekorzystnych skutków zdrowotnych związanych z przewlekłym narażeniem na dioksyny zalicza się wzrost ryzyka wystąpienia chorób nowotworowych, zaburzeń układu odpornościowego i rozrodczego oraz zaburzeń neurobehawioralnych. Głównym źródłem narażenia człowieka na tę grupę zanieczyszczeń jest żywność, zwłaszcza pochodzenia zwierzęcego. Z najnowszych badań wynika, że w wielu populacjach europejskich narażenie na dioksyny przekracza ustalone przez międzynarodowe instytucje tolerowane dzienne lub tygodniowe pobranie. Niepokojący jest fakt, że dzieci stanowią większy odsetek populacji ludzkiej u których pobranie dioksyn przekracza wartości odniesienia.



Oszacowanie wielkości narażenia na te zanieczyszczenia i związana z tym ocena ryzyka dla zdrowia konsumentów jest w Unii Europejskiej jednym z priorytetowych zagadnień w obszarze bezpieczeństwa żywności.

Obecność dioksyn w surowcach paszowych różnego pochodzenia oraz w gotowych paszach dla zwierząt stanowi problem weterynaryjnej ochrony zdrowia publicznego, dlatego podjęte przez Doktoranta badania uważam za słuszne.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska **mgr inż. Marka Pajurka** została napisana w języku polskim i przedstawiona do recenzji w postaci wydruku komputerowego na 122 stronach formatu A4. Dysertację przedstawiono w układzie zawierającym spis treści, wykaz stosowanych skrótów i akronimów, wstęp, cel i uzasadnienie podjęcia badań, Materiał i metody, wyniki badań, dyskusja, wnioski, streszczenie w języku polskim i w języku angielskim (summary), piśmiennictwo, załączniki stanowiące wykaz zamieszczonych tabel i rycin.

Rozprawa zawiera 34 rycin, 25 tabel i 145 pozycji piśmiennictwa w języku angielskim, z czego 34% pochodzi z ostatnich 10 lat. Szata graficzna dysertacji jest staranna i estetyczna. Praca została napisana poprawnym językiem i w sposób zrozumiały.

Wstęp zajmuje 17 stron i zawiera przegląd piśmiennictwa wzbogacony o cztery tabele i trzy ryciny. Autor opisał problem zanieczyszczenia pasz grupą związków znanych jako trwałe związki organiczne do których zaliczane są dioksyny i polichlorowane bifenyle. Przedstawił ich budowę, właściwości fizykochemiczne, źródła, występowanie, transfer do środowiska, toksyczność, drogi narażenia oraz epidemiologię zatruc ludzi i zwierząt. Wprowadza czytelnika w przepisy prawne związane z ograniczaniem emisji dioksyn do środowiska i obniżeniem dopuszczalnych poziomów dioksyn i bifenyli w żywności i paszach w celu obniżenia narażenia na nie ludzi i zwierząt oraz ochrony zdrowia konsumentów.

Rozdział ten zawiera dostępne dane ze światowej literatury opisujące incydenty zatruc dioksynami i bifenylami na świecie oraz regulacje prawne Unii Europejskiej wprowadzające wysokie wymagania dla laboratoriów prowadzących badania urzędowe w tej materii. Tematyka ta stała się inspiracją do podjęcia badań objętych w dysertacji doktorskiej.



W rozdziale II „Cel i uzasadnienie podjęcia badań”, zajmujący 2 strony, autor umotywował podjęcie badań koniecznością analiz wyników analiz dioksyn i PCB w surowcach i mieszankach paszowych uzyskanych metodami potwierdzającymi, gdyż w dostępnej literaturze istnieje niewielka liczba danych uwzględniających nową siedmiokrotnie niższą dawkę tolerowanego tygodniowego pobrania dioksyn i związków dioksynopodobnych wyznaczoną przez Europejską Agencję ds. Bezpieczeństwa Żywności. Do realizacji tego celu postanowił określić zawartość 35 toksycznych kongenerów dioksyn w próbkach surowców paszowych i różnego rodzaju pasz przy zastosowaniu techniki wysokiej rozdzielczości spektrometrii mas. Ponadto, Doktorant nakreślił sobie ocenić zagrożenie i ryzyko jakie stanowią dioksyny i PCB w krajowych surowcach paszowych i gotowych mieszankach paszowych oraz wynikające z tego negatywne skutki narażenia.

Rozdział III. „Materiał i metody” zajmuje 13 stron, zawiera 2 ryciny i 2 tabele. Doktorant zamieszcza tu informacje o materiale badawczym używanego do analiz. Wymienia unijne rozporządzenia w sprawie sposobu klasyfikacji materiałów badawczych na kategorie oraz o aktualnych wymaganiach pobierania prób do celów urzędowej kontroli poziomów dioksyn, dioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli i niedioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli w niektórych środkach spożywczych.

W tabeli 5 zamieszcza szczegółowy wykaz badanych prób badanych w okresie od 2013 r do 2018r. W dalszej części rozdziału wyszczególnia jakie surowce lub materiały paszowe były przedmiotem badań.

W podrozdziale 2. Doktorant zamieścił informacje nt. używanej głównej i pomocniczej aparatury badawczej oraz odczynników i wzorców analitycznych. W podrozdziale 3 opisał metody użyte do oznaczenia badanych związków. Zamieścił szczegółowy schemat przedstawiający proces postępowania analitycznego oraz opisał istotę stosowania poszczególnych czynności w poszczególnych etapach procesu analitycznego. W tabeli 6 zamieścił parametry operacyjne programów stosowanych do ekstrakcji badanych związków z próbek pasz i opisał celowość przeprowadzenia tego etapu. W dalszej części tego rozdziału opisał przebieg analizy chromatograficznej PCDD, PCDF, dl-PCB, ndl-PCB oraz proces detekcji tych związków przy zastosowaniu techniki HRGC-HRMS. Wyjaśnił sposób przedstawienia wyników oraz metody zapewnienia jakości badań objętych dysertacją.

Szczegółowe przedstawienie procedur metodycznych z łatwością pozwoli osobie biegłej w technice spektrometrii mas odtworzyć badania.

Do analizy statystycznej wyników Doktorant stosował test Shapiro-Wilka do sprawdzenia normalności rozkładu uzyskanych wyników, test Kruskala-Wallisa do określenia statystycznie istotnych różnic między stężeniami badanych związków w próbkach badanego oraz test Manna-Kendalla do określenia istotnych trendów zmiany stężeń w czasie w różnych materiałach paszowych.

W rozdziale wyniki badań zajmujący 42 strony Doktorant zamieścił wyniki analiz uwzględniające poziomy i zakresy stężeń badanych związków w materiałach paszowych, gotowych mieszankach paszowych i karmach dla zwierząt domowych oraz ryb. Zaprezentował profile kongenerów dioksyn i PCB występujących w badanych matrycach. Opisał trendy czasowe oraz częstość występowania kongenerów PCDD/PCDF, dl-PCB oraz ndl-PCB w okresie sześciu lat prowadzonych badań. Ponadto, poświęcił podrozdział materiałom paszowym, które przekraczały maksymalne dopuszczalne limity badanych związków oraz oszacował narażenie zwierząt gospodarskich na dioksyny i możliwe zagrożenie dla zdrowia ludzi spożywających produkty żywności pochodzenia zwierzęcego. Rozdział ten został wzbogacony o 28 rycin i 18 tabel. Doktorant zamieścił informacje opisujące narażenie konsumentów na ekspozycję dioksyn i związków dioksynopodobnych i niedioksynopodobnych w oparciu o odsetek tolerowanego pobrania tygodniowego (TWI) na podstawie łącznej zawartości kongenerów w próbkach przekraczających maksymalne dopuszczalne limity wg. przepisów Unii Europejskiej.

Należy podkreślić, że prezentowane „Wyniki” potwierdzają, że autor bardzo dobrze opanował warsztat badawczy i swobodnie posługuje się nowoczesnymi technikami analitycznymi.

W rozdziale V „Dyskusja” doktorant na 17 stronach skonfrontował swoje wyniki z wynikami uzyskanymi przez innych autorów i w jasny sposób wyekspozował oryginalne wyniki własne, co dowodzi dobrego opanowania tematyki badawczej i odczytania, oraz umiejętności kierowania logicznym wywodem, w którym ważne miejsce pełni celne dobieranie argumentów z piśmiennictwa naukowego. Wzbogacił rozdział o 1 tabelę, zawierającą literaturowe dane o poziomach dioksyn, furanów, dioksynopodobnych i nie-dioksynopodobnych PCB dla poszczególnych pasz wg. rozporządzenia UE 277/2012. Na podstawie uzyskanych wyników



Autor sformułował 6 wniosków końcowych podkreślających wagę prowadzenia badań monitoringowych dioksyn, dioksyno i nie dioksynopodobne związki w łańcuchu żywnościowym człowieka.

Z obowiązku recenzenta pragnę zwrócić uwagę na drobne uchybienia edytorskie zauważone przeze mnie podczas czytania rozprawy, które powinny zostać poprawione przy oddaniu pracy do druku.

Omawiając metody statystyczne stosowane dla potwierdzenia istotności uzyskanych wyników Doktorant nie podał nazwy i wersji użytego komputerowego programu do analizy statystycznej, a powinno być podane.

W rozdziale wyniki badań , na stronie 44, w pierwszym wierszu podaje informację, że cytuję „Dodatkowo przeanalizowanych zostało 8 prób z kategorii pozostałych produktów pozyskiwanych od zwierząt lądowych .....” i odwołuje się do tabeli 7 z początku rozdziału, w której liczba próbek wynosi 5.

Na stronie 72, poza ostatnim zdaniem, zawarte informacje powinny zostać przeniesione do rozdziału „Materiał i metody”, gdyż opisują one sposób wykonywania obliczeń. To samo ma zastosowanie do pierwszego akapitu na stronie 74 „Transfer PCDD/PCDF z paszy do mleka krowiego” oraz pierwszego akapitu na stronie 75 „Transfer PCDD/PCDF z paszy do tkanek świń”.

W rozdziale „Dyskusja” zabrakło podrozdziałów, które by uczyniły ją bardziej uporządkowaną i przejrzystą dla czytelnika.

W rozdziale „Piśmiennictwo” brak jest numeracji cytowanych pozycji.

Należy poprawić nazwisko autora pozycji 39 ze „Skomiała” na „Skomial”, zarówno w cytowaniach w tekście jak i w tym rozdziale.

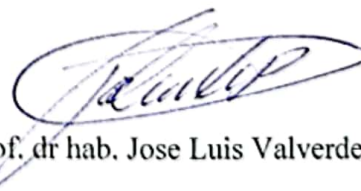


### **Wniosek końcowy**

Po dokładnym zapoznaniu się z pracą doktorską mgr Marka Pajurka uważam, że autor pracy posiadał wymaganą znajomość warsztatu metodycznego, potrafi te umiejętności odpowiednio wykorzystać w pracy analitycznej, a otrzymane wyniki logicznie zinterpretować. W moim przekonaniu praca dokumentuje ważne zagrożenie ekspozycji ludzi na działanie toksycznych dioksyn obecnych w łańcuchu żywnościowym, a uwagi krytyczne dotyczą jedynie usterek redakcyjnych i nie umniejszają wysokiej wartości naukowej dysertacji.

Mając powyższe na uwadze pragnę stwierdzić, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Marka Pajurka pt. „Analiza porównawcza stężeń oraz profili dioksyn i polichlorowanych bifenyli w paszach”, w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003r. „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” i wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Państwowego Instytutu Weterynarii, Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach wniosek o dopuszczenie mgr inż. Marka Pajurka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Mając na uwadze wysoki poziom merytoryczny oraz ważny charakter recenzowanej dysertacji wnioskuję o jej wyróżnienie stosowną nagrodą.



Prof. dr hab. Jose Luis Valverde Piedra

