UNIWERSYTET
WARMIŃSKO-MAZURSKI
W OLSZTYNIE

WYDZIAŁ: Medycyna Weterynaryjna

Dziedzina: Nauki Weterynaryjne

Dyscyplina: Weterynaria

mgr Marcin Grzegorz Wróbel

Rozprawa doktorska

Ocena możliwości i efektywności biodegradacji deoksyniwalenolu w materiałach paszowych zastosowanych w procesie produkcji biomasy larw mącznika młynarka.

Assessment of the potential and efficiency of deoxynivalenol biodegradation in feed materials used in the biomass production process of yellow mealworm larvae.

oraz pozostała dokumentacja na potrzeby przeprowadzenia postępowania w sprawie nadania stopnia doktora

Praca wykonana w Katedrze Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz

Promotor: dr hab. Tadeusz Bakuła, prof. UWM, Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Olsztyn, rok 2025

Spis treści

Wykaz artykułów naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej 4

Kopie opublikowanych prac wchodzących w skład cyklu publikacji stanowiącego rozprawę doktorską 5

Streszczenie 35

Abstract 36

Wykaz skrótów 37

1. Wstęp 39

1.1. Wyzwania żywnościowe i rola owadów w zrównoważonej produkcji białka 39

1.2. Właściwości odżywcze mącznika młynarka i jego potencjał w produkcji pasz 40

1.3. Deoksyniwalenol (DON) i jego znaczenie w kontekście bezpieczeństwa żywności 41

1.4. Toksykokinetyka DON u zwierząt 43

1.5. Znaczenie badań nad metabolizmem DON w *Tenebrio molitor* 44

2. Hipotezy, cele badawcze oraz zakres badań 45

2.1. Hipotezy badawcze 45

2.2. Cele badawcze 45

2.3. Zakres badań 46

3. Materiały i metody 48

3.1. Materiał biologiczny i przebieg eksperymentu 48

3.2. Metody badawcze 49

3.2.1. Oznaczenie zawartości deoksyniwalenolu w larwach i odchodach 49

3.2.2. Analiza DON i jego metabolitów 50

3.2.3. Analiza wolnych aminokwasów 51

3.2.4. Analiza profilu kwasów tłuszczowych 51

3.2.5. Analiza statystyczna do oceny wyników 52

4. Wyniki 53

4.1. Wpływ deoksyniwalenolu na rozwój larw 53

4.2. Kumulacja DON w biomasie larw 53

4.3. Poziom DON w odchodach larw 54

4.4. Profil metabolitów deoksyniwalenolu w biomasie larw 54

4.5. Profil wolnych aminokwasów w biomasie larw 56
4.6. Profil kwasów tłuszczowych w biomasie larw 58
5. Podsumowanie 60
6. Wnioski 62
Spis literatury 63
Spis tabel 70
Spis rysunków 71
Spis wykresów 71
Finansowanie 72
Oświadczenia 73

Wykaz artykułów naukowych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej

Podstawę niniejszej rozprawy doktorskiej stanowi cykl dwóch powiązanych tematycznie publikacji naukowych dotyczących badań nad biokonwersją mikotoksyny deoksyniwalenolu (DON) przez larwy mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) i jej wpływu na bezpieczeństwo oraz wartość odżywczą uzyskiwanej biomasy.

P1: Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Bakuła, T., Gruchała, N., i Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes. *Toxins*, *17*(8), 420. https://doi.org/10.3390/toxins17080420

IF = 4,0; MNiSW[1] = 100 pkt

P2: Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Waśkiewicz, K., Bakuła, T., Nowicki, Ł., i Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins*, *17*(10), 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478

IF = 4,0; MNiSW[1] = 100 pkt

Sumarycznie:

IF = 8,0

MNiSW = 200

1 Liczba punktów zgodna z komunikatem Ministra Nauki z dnia 5 stycznia 2024 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych.

Kopie opublikowanych prac wchodzących w skład cyklu publikacji stanowiącego rozprawę doktorską

toxins

MDPI

Article

Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes

Marcin Wróbel [1,2], Michał Dąbrowski [2], Michał Łuczyński [1], Tadeusz Bakuła [2], Natalia Gruchała [2] and Łukasz Zielonka [2,*]

[1] Department of Research and Development, Chemprof, Gutkowo 54B, 11-041 Olsztyn, Poland; marcin.wrobel@chemprof.pl (M.W.); michal.luczynski@chemprof.pl (M.Ł.)
[2] Department of Veterinary Prevention and Feed Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 13/29, 10-718 Olsztyn, Poland; michal.dabrowski@uwm.edu.pl (M.D.); bakta@uwm.edu.pl (T.B.); natalia.gruchala@student.uwm.edu.pl (N.G.)
* Correspondence: lukasz.zielonka@uwm.edu.pl

Abstract

Deoxynivalenol (DON) is a prevalent mycotoxin in feed, raising concerns about its impact on animal health and feed safety. Insects such as yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) may play a role in the biodegradation of DON-contaminated feed. This study presents the results of a two-week rearing experiment, where 19-week-old yellow mealworm larvae were fed diets with varying concentrations of DON. The larvae were divided into three groups (C, A, and B) that differed in the amount of mycotoxin added to the feed. Larval survival, body mass, and DON accumulation in larvae and their frass were evaluated. A statistical analysis revealed no significant differences in larval survival or body mass gain between the groups. The results point to the low accumulation of DON in larvae, reaching 13.13 ± 2.06 µg/kg (A) and 32.18 ± 4.20 µg/kg (B) after two weeks of feeding. Moreover, at the end of the experiment, DON was detected in larval frass at high concentrations of 507.65 ± 15.31 µg/kg (A) and 862.61 ± 18.53 µg/kg (B), suggesting that larvae are capable of effectively excreting this mycotoxin. The analyzed mycotoxin had no significant effect on larval survival or growth. Deoxynivalenol did not accumulate in the larval biomass and was excreted with frass. These findings enhance our understanding of the interactions between DON and yellow mealworm larvae and have potential implications for using insects in feed production and mycotoxin neutralization within ecosystems. *Tenebrio molitor* larvae tolerate DON-contaminated feed and effectively excrete the toxin, making them potential candidates for feed detoxification systems.

Keywords: yellow mealworm; biodegradation; deoxynivalenol (DON); detoxification; PAP (Processed Animal Protein)

Key Contribution: The results of this study indicate that yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) exhibit a tolerance to deoxynivalenol-contaminated feed and that DON has no adverse effects on their development. Furthermore, the resulting larval biomass exhibits minimal DON accumulation, making it suitable for use as animal feed.

check for updates

Received: 16 July 2025
Revised: 10 August 2025
Accepted: 12 August 2025
Published: 19 August 2025

Citation: Wróbel, M.; Dąbrowski, M.; Łuczyński, M.; Bakuła, T.; Gruchała, N.; Zielonka, Ł. Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes. *Toxins* **2025**, *17*, 420. https://doi.org/10.3390/toxins17080420

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Mycotoxins are secondary metabolites produced by filamentous fungi that exert toxic effects on animals. These fungi can colonize crops during growth or agricultural products during storage. Mycotoxins pose a serious threat to the health and welfare of both humans and animals and raise significant food safety concerns [1]. This large group of chemical compounds can induce a wide range of adverse health effects in both animals and humans [2].

Deoxynivalenol (DON), a type-B trichothecene commonly known as "vomitoxin", is one of the most prevalent mycotoxins [3]. This toxin is produced mainly by pathogenic fungi such as *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* that colonize cereals, including wheat, maize, rye, barley, oats, and rice, in temperate climates. Deoxynivalenol is often accompanied by its acetylated derivatives, including 3-acetyl-DON (3-Ac-DON) and 15-acetyl-DON (15-Ac-DON) [4,5].

Deoxynivalenol is considered a thermostable compound that can tolerate temperatures of up to 350 °C and is difficult to eliminate through thermal processing [6,7]. In the European Union, the guidance values for DON have been set at 0.9–12 mg/kg in animal feed [8] and at 0.15–1.75 mg/kg in food intended for human consumption [9]. The International Agency for Research on Cancer (IARC) has classified DON as a Group 3 substance, which implies that it is not classifiable as to its carcinogenicity to humans [10]. However, DON can cause acute gastrointestinal symptoms, such as vomiting, in both animals and humans [4].

Animal studies have demonstrated that chronic DON exposure disrupts protein synthesis, impairs body mass gain, reduces feed efficiency, and negatively impacts the immune system [1,11]. Animal species differ in their sensitivity to DON. Monogastric animals, particularly pigs, are most susceptible, whereas poultry and ruminants are more tolerant [3,12].

Deoxynivalenol is most prevalent in temperate regions, including Europe (especially Northern and Central Europe), North America, East Asia, and China [13–20]. According to the literature and global research, animal feeds are widely contaminated with mycotoxins and regional trends are often observed, subject to climate and weather [20]. For instance, rainfall is a key factor influencing DON contamination levels in maize [13]. Favorable conditions for *Fusarium* growth include warm temperatures (21–25 °C) and high humidity. Grains stored under moist conditions are particularly susceptible to damage [12]. *Fusarium* infections can be prevented through proper crop management and rapid post-harvest drying, which significantly reduce DON contamination in grain [6]. The highest DON levels are typically found in unprocessed wheat, maize, oats, and their by-products [4].

Mycotoxin contamination of animal feed poses a significant challenge in the livestock industry and a serious threat to animal health. Although various decontamination methods exist, they are not always sufficiently effective and may incur additional costs [12,21].

In Commission Regulation (EU) No 2017/893 of 24 May 2017, seven insect species, including yellow mealworm (*Tenebrio molitor*), have been recognized as farmed animals. This regulation permits the use of insect-derived Processed Animal Protein (PAP) in feed for aquaculture, carnivorous fur animals, and livestock [22]. Since August 2021, the use of insect-derived PAP has also been allowed in pig and poultry nutrition [23]. Furthermore, Regulation (EU) 2022/169 of 8 February 2022 authorized the marketing of frozen, dried, and powdered yellow mealworm larvae (*T. molitor*) as a novel food for humans [24].

The nutritional value of insects varies depending on the developmental stage, production conditions, and feed composition. According to the literature, *T. molitor* larvae are a rich source of protein with a favorable amino acid profile. Dried larvae may contain over 50% protein and approximately 30% fat, making them a good source of energy. Larval fat is rich in unsaturated fatty acids, particularly oleic and linoleic acids, as well as essential amino acids such as leucine, lysine, tyrosine, and valine [25–27].

Industrial insect production is an economically viable, energy-efficient, and environmentally friendly method of protein production. It causes less environmental pollution than traditional livestock farming [28]. Yellow mealworms are capable of effectively bioconverting low-quality feed and plant-based waste into high-value, protein-rich biomass [25].

In a review article, Vandeveyer [29] concluded that the use of *T. molitor* larvae as a feed ingredient entails substantial biological safety risks, particularly those associated with pathogenic bacteria and mycotoxins. Spore-forming bacteria such as *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp., and *Staphylococcus aureus* represent the most frequently reported microbial hazards in mealworms. These microorganisms may persist in the larval gut or as spores, making them difficult to eliminate through conventional processing methods.

Recent advances in multi-omics approaches have shown that dietary composition, gut microbiota, and host metabolism are closely interconnected, influencing nutrient utilization and xenobiotic detoxification processes [30]. Such integrative perspectives may also be relevant to understanding how *T. molitor* larvae metabolize or tolerate DON-contaminated feed. Considering the chemical stability of mycotoxins and the resilience of bacterial spores, preventive measures such as thermal treatments, species–specific risk assessments, and continuous microbiological monitoring should be implemented throughout the production process to mitigate risks.

Therefore, this study was undertaken to evaluate the suitability of low-quality feed contaminated with DON for rearing *T. molitor* larvae intended for the production of animal feed. The aim of the experiment was to determine whether DON-contaminated diets adversely affect rearing parameters and whether toxin accumulation levels limit the applicability of the resulting biomass for feed production.

2. Results

2.1. Effect of Deoxynivalenol on Insect Development

At the end of the first week of the experiment, the average number of dead larvae was 101.00 ± 15.13 in the control group (C), 88.33 ± 6.51 in group A, and 100.00 ± 30.61 in group B. However, no significant differences were observed between the groups ($p > 0.05$). After two weeks of feeding, no significant differences in mortality were observed between groups C, A, and B. The total number of dead larvae collected at the end of the experiment was 190.67 ± 32.52 (C), 172.67 ± 8.14 (A), and 158.67 ± 10.41 (B).

An analysis of larval metamorphosis into pupae and adult insects conducted at the end of the first week revealed 24.33 ± 7.57 (C), 12.00 ± 5.00 (A), and 15.67 ± 7.64 (B) transformed individuals. No adult insects were observed at this stage. No significant differences were found between the groups ($p = 0.16$). Adult insects began to emerge in the second week of the study. At the end of the experiment, the total number of pupae and adult insects reached 83.67 ± 12.01 (C), 103.33 ± 2.08 (A), and 103.33 ± 8.62 (B). Although ANOVA yielded a borderline *p*-value ($p = 0.05$), Tukey's HSD test did not reveal significant differences between the groups (Table 1).

Table 1. Survival of *Tenebrio molitor* larvae during the experiment. Letter (a) indicates significant differences ($p < 0.05$).

Group	Average Number of Dead Larvae		Average Number of Pupae and Adults	
	Week 1	Week 2	Week 1	Week 2
Control (C)	101.00 ± 15.13 [a]	190.67 ± 32.52 [a]	24.33 ± 7.57 [a]	83.67 ± 12.01 [a]
A	88.33 ± 6.51 [a]	172.67 ± 8.14 [a]	12.00 ± 5.00 [a]	103.33 ± 2.08 [a]
B	100.00 ± 30.61 [a]	158.67 ± 10.41 [a]	15.67 ± 7.64 [a]	103.33 ± 8.62 [a]

The initial average body mass of larvae used in the experiment was 112.47 ± 23.95 mg. After one week of feeding, the larval body mass increased by 41.70% in group C, 36.69% in

group A, and 41.54% in group B. The post hoc analysis revealed no significant differences between the groups ($p = 0.13$). After two weeks, the larval biomass increased by 74.78% (C), 79.74% (A), and 74.93% (B). Once again, Tukey's HSD test did not reveal significant differences between the groups ($p = 0.05$) (Table 2).

Table 2. Average body mass of *Tenebrio molitor* larvae administered deoxynivalenol (DON)-contaminated diets for one and two weeks. Letter (a) indicates significant differences ($p < 0.05$).

Group	Average Larval Body Mass (mg)		Increase in Larval Body Mass (%)	
	Week 1	Week 2	Week 1	Week 2
Control (C)	159.37 ± 4.40 [a]	196.58 ± 1.38 [a]	41.70	74.78
A	153.73 ± 0.83 [a]	202.15 ± 3.41 [a]	36.69	79.74
B	159.19 ± 3.30 [a]	196.74 ± 1.87 [a]	41.54	74.93

2.2. Deoxynivalenol Accumulation in the Biomass of Yellow Mealworm Larvae

The mean concentration of DON in larvae, determined by LC-MS/MS (Table 3), reached 1.83 ± 0.41 µg/kg in the control group after one week and 5.18 ± 2.9 µg/kg after two weeks. In group A larvae (administered diets containing 663 µg DON/kg), DON levels were determined at 6.30 ± 1.45 µg/kg after one week and 13.13 ± 2.06 µg/kg after two weeks. In group B larvae (administered diets containing 919 µg DON/kg), DON levels reached 15.57 ± 1.85 µg/kg and 32.18 ± 4.20 µg/kg, respectively.

Table 3. Deoxynivalenol (DON) levels (determined by LC-MS/MS) in yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) administered DON-free or DON-contaminated diets. Different letters (a, b, and c) indicate significant differences ($p < 0.05$).

Group	DON (µg/kg)		Transfer Coefficient from Feed to Larval Biomass (%)	
	Week 1	Week 2	Week 1	Week 2
Control (C)	1.83 ± 0.41 [c]	5.18 ± 2.9 [c]	-	-
A	6.30 ± 1.45 [b]	13.13 ± 2.06 [b]	0.95 ± 0.22	1.98 ± 0.31
B	15.57 ± 1.85 [a]	32.18 ± 4.20 [a]	1.69 ± 0.20	3.50 ± 0.46

At the end of the experiment, the transfer coefficient of DON from feed to larval biomass reached 1.98 ± 0.31% in group A and 3.50 ± 0.46% in group B. Significant differences were found between the groups in both weeks of the experiment ($p < 0.05$).

2.3. Deoxynivalenol Levels in Larval Frass

Deoxynivalenol levels in larval frass were high (Table 4). At the end of the first week, the DON concentration was determined at 400.05 ± 18.53 µg/kg in group A and 689.15 ± 38.18 µg/kg in group B, accounting for 60.34 ± 2.80% and 74.99 ± 4.15% of the original values in feed, respectively. After two weeks, DON levels further increased to 507.65 ± 15.31 µg/kg in group A (76.57 ± 2.31%) and 862.61 ± 18.53 µg/kg in group B (93.86 ± 2.02%). Significant differences between groups were found in both weeks of the experiment ($p < 0.05$).

Table 4. Concentration and percentage of deoxynivalenol (DON) (determined by LC-MS/MS) excreted by *Tenebrio molitor* larvae. Different letters (a, b, and c) indicate significant differences ($p < 0.05$).

Group	DON (µg/kg)		Transfer Coefficient from Larval Biomass to Frass (%)	
	Week 1	Week 2	Week 1	Week 2
Control (C)	10.56 ± 6.74 [c]	7.40 ± 3.22 [c]	-	-
A	400.05 ± 18.53 [b]	507.65 ± 15.31 [b]	60.34 ± 2.80	76.57 ± 2.31
B	689.15 ± 38.18 [a]	862.61 ± 18.53 [a]	74.99 ± 4.15	93.86 ± 2.02

3. Discussion

3.1. Larval Development

The experiment revealed a satisfactory growth performance of larvae reared on the analyzed feed. After two weeks of feeding, the average increase in larval body mass ranged from 74.93% to 79.74%. The results of the larval mortality analysis and the number of pupae and emerged adults indicate that the presence of DON in the diet had no negative effect on body mass gain or larval survival.

Similar findings were reported by other authors who observed that DON concentrations of up to 12,000 µg/kg did not compromise the growth of *T. molitor* larvae in terms of body mass and average daily gain (ADG) [31]. Likewise, Van Broekhoven et al. [32] found no differences in larval development between larvae fed a control diet and those fed naturally contaminated or DON-supplemented diets.

Larvae exposed to fumonisin B1 initially grew at rates comparable to the control group. A decrease in the larval growth rate was noted only after 28 days of feeding, which was indicative of slow, chronic intoxication, especially in response to the highest toxin levels [33]. Other studies have also shown that exposure to aflatoxin B1 (AFB1) for 10 days had no significant impact on larval survival or body mass regardless of the administered dose, which confirms that *T. molitor* has a high tolerance to AFB1 [34].

Similarly, no significant increase in larval mortality was observed over a 50-day feeding period in experiments involving AFB1, ochratoxin A (OTA), and fumonisin B1 (FB1) [35]. These results suggest that short-term exposure to moderate concentrations of DON and other mycotoxins does not impair the development of *T. molitor*.

However, Jankovic-Tomanic et al. [36] reported a decrease in the body mass of larvae administered DON-contaminated feed for two weeks, and this effect was intensified as DON concentrations increased. The greatest decrease was noted in groups exposed to very high DON levels (16–25 mg/g). These findings point to the presence of a threshold concentration beyond which larval detoxification mechanisms are overwhelmed, resulting in impaired growth and survival.

3.2. Deoxynivalenol in Larvae

After two weeks of feeding DON-contaminated diets, the maximum DON concentration in larvae reached 32.18 ± 4.20 µg/kg, corresponding to a transfer rate of only 3.5%. This concentration is well below the maximum limits established for both food and feed in current regulations [8,9].

However, DON levels in larvae increased proportionally with both the concentration of DON in feed and the duration of exposure. Therefore, prior to further processing, it is advisable to fast larvae for at least 24 h. This practice facilitates the elimination of contaminated feed from the digestive tract and likely enhances detoxification and the excretion of DON. In other animal models, metabolomic analyses have demonstrated that DON exposure can disrupt amino acid metabolism and sphingolipid signaling pathways, contributing to intestinal toxicity and metabolic stress [37]. Although the physiological architecture of *T. molitor* differs substantially from vertebrates, similar biochemical pathways may be involved in DON detoxification or tolerance, warranting further targeted metabolomic studies in insects. Similar fasting protocols were found to be effective in previous studies involving zearalenone, ochratoxin A, and T-2 toxin, resulting in rapid reductions in mycotoxin residues in larval tissues [38].

The content of AFB1, OTA, and FB1 in larvae was reduced by 57–100% after a 24 h detoxification period, achieving levels considered safe for consumption [35]. Overall, the available literature confirms that *T. molitor* larvae demonstrate a high tolerance to DON and other mycotoxins.

For example, Bosch et al. [34] showed that yellow mealworm larvae tolerated AFB1 levels of up to 0.415 mg/kg in dry feed. After the administration of AFB1-contaminated feed, larvae retained only trace amounts of the toxin, corresponding to approximately 10% of the EU limit for feed materials (0.02 mg/kg) [39]. In another study where larvae were fed wheat bran contaminated with 50–200 µg/kg of AFB1, conversion rates reached up to 87.85%, while residual AFB1 levels in larvae remained below 2 µg/kg [40].

In another experiment, larvae reared for four weeks on feed naturally contaminated with DON accumulated no more than 131 µg/kg of the mycotoxin in their biomass, despite the fact that the DON concentration in the feed reached up to 12,000 µg/kg. Deoxynivalenol levels were as high as 200 µg/kg even in the control group's feed [31]. In the work of Van Broekhoven et al. [32], DON was not detected in the larval biomass, but the detection limit of the method used was 30 µg/kg.

These findings suggest that lower-quality feed containing moderate levels of DON can be used to produce safe larval biomass for feed purposes. It has been demonstrated that larvae reared on wheat contaminated with up to 30,730 µg/kg of DON can be used as an effective protein source in poultry diets [41]. Therefore, it appears that the safety thresholds for DON in *T. molitor* feed may be higher than those applied in conventional livestock production.

A similar conclusion was drawn in a study of *Alphitobius diaperinus*, another tenebrionid beetle species that was fed a diet containing a mixture of AFB1, DON, zearalenone, and OTA at concentrations exceeding regulatory limits by up to 25 times. Researchers found no dangerous accumulation of these toxins in the larval biomass [42]. This is particularly relevant, as feed is often contaminated with multiple mycotoxins.

3.3. Deoxynivalenol in Frass

The presence of high DON levels in larval frass was one of the key findings of the experiment. After two weeks of feeding contaminated diets, the DON concentration in frass reached up to 862.61 ± 18.53 µg/kg, which implies that up to 93.86 ± 2.02% of the ingested DON was excreted.

Deoxynivalenol levels in frass were directly correlated with dietary toxin concentrations and increased on successive days of the experiment. A similar trend was observed in a study by Carlos Ochoa Sanabria et al. [31], where DON levels in frass peaked at 742 µg/kg in larvae fed the highest DON concentrations. The presence of DON in larval frass was also reported by Van Broekhoven et al. [32]. Their study demonstrated that the percentage of excreted DON was higher in *T. molitor* larvae fed enriched flour (41%) than naturally contaminated flour (14%). Similar results were reported in larvae exposed to other mycotoxins. For example, depending on the initial concentration, 20–35% of dietary AFB1 was directly excreted by the larvae [40].

Abado-Becognee also reported that *T. molitor* larvae excreted between 38% and 42% of fumonisin B1 with frass [33]. These findings suggest that the low absorption of DON in the digestive tract is one of the main tolerance mechanisms in *T. molitor*.

Further research is needed to explore the pathways responsible for mycotoxin metabolism in *T. molitor*. These insects may also possess metabolic routes that degrade DON into less toxic or undetectable compounds that cannot be detected with standard analytical techniques.

4. Conclusions

The analysis of the experimental results and the literature data suggests that *T. molitor* larvae exhibit a relatively high resistance to DON in feed. No apparent negative effects on larval development were observed during short-term exposure to the mycotoxin. Addi-

tionally, the absence of significant DON accumulation in larval biomass indicates that the obtained material can be further processed into animal feed.

These findings imply that *T. molitor* larvae can be used for the bioconversion, biodegradation, and detoxification of mycotoxin-contaminated feed. Their ability to tolerate feed contaminants and maintain normal development in the presence of toxins suggests that yellow mealworms could be an effective biological detoxification tool in the feed and agricultural industries.

5. Materials and Methods

5.1. Chemicals

The DON standard for chromatographic analysis and feed preparation was obtained from Sigma-Aldrich (Poznań, Poland). LC-MS-grade acetonitrile, methanol, water, and the reagents used for chromatography, extraction, and mobile phase preparation, including ammonium formate (NH_4COOH), formic acid (FA), and ammonium fluoride (AF), were purchased from Merck (Poznań, Poland).

5.2. Feeding Substrates and Diet Preparation

Two experimental diets with different concentrations of DON were prepared. The basal feed contained 23.64% protein, 5.28% crude fat, 37.68% starch, 3.99% crude fiber, 6.64% ash, 10.61% moisture, and DON at a concentration of 28.71 µg/kg. The composition of basal feed was determined using a Foss InfraXact™ analyzer (FOSS Poland, Warszawa, Poland).

To prepare diets A and B, DON (Sigma Aldrich, Poznań, Poland) was dissolved in methanol and sprayed onto the basal feed. The feed was thoroughly mixed and dried at approximately 50 °C under reduced pressure. Samples from various locations within the batch were collected to assess homogeneity and DON content in the LC-MS/MS assay. The final compositions of the experimental diets are shown in Table 5. The elemental composition of the base feed was determined using a near-infrared (NIR) spectroscopy-based analyzer (Foss InfraXact™). While this method allows for rapid and non-destructive analysis, it does not account for all chemical constituents of the feed, particularly some nitrogen-containing compounds and specific carbohydrate fractions. Therefore, the sum of the quantified components does not reach 100%, and the missing fraction likely includes undetectable minor constituents.

Table 5. Proximate composition of the experimental diets.

Ingredient	Content [%]		
	Diet C	Diet A	Diet B
Ash		6.64	
Crude fiber		3.99	
Starch		37.68	
Protein		23.64	
Fat		5.28	
Moisture		10.61	
	Mycotoxin concentration (µg/kg)		
Deoxynivalenol	28.71	663	919

5.3. Feeding Experiment

Nineteen-week-old *T. molitor* larvae with an average body mass of 112.47 ± 23.95 mg were supplied by TENEBRIA Sp. z o.o., Lubawa, Poland, and randomly assigned to three experimental groups. Each group had six replicates with approximately 50 g of larvae per replicate. The larvae were housed in polypropylene containers (31 × 17 × 9.5 cm).

Group C: Control group administered basal feed;
Group A: Administered feed contaminated with 663 µg DON/kg;
Group B: Administered feed contaminated with 913 µg DON/kg.

Larvae were reared for two weeks in a Memmert HPP 749 incubator at 27 ± 2 °C and 70 ± 5% relative humidity. Half of the larvae (three containers per group) were analyzed after the first week (C1, A1, and B1) and the remaining half after the second week (C2, A2, and B2).

Larvae were separated from unconsumed feed and frass using 0.5 mm sieves. Larvae were fasted for 24 h to cleanse the gut. Fasted larvae were weighed and euthanized by freezing at −24 °C.

Throughout the experiment, larvae were fed a mixture composed of 80% dry feed (control or DON-contaminated) and 20% fresh carrot pulp as a water source. Larvae were fed once daily at 5:00 p.m. Dead larvae were counted daily, and the number of pupae and adult insects was recorded at the end of each week.

The amount of the administered feed was increased daily in proportion to larval growth, as shown in Table 6.

Table 6. Daily increase in the dose of dry feed.

Day	Daily Amount of Dry Feed (g)
1	15.63
2	17.58
3	19.78
4	22.25
5	25.02
6	28.16
7	31.68
8	35.64
9	40.09
10	45.10
11	50.74
12	57.08
13	64.22
14	72.24

5.4. Extraction of Deoxynivalenol from Larvae and Frass

Approximately 5 g of frozen larvae were ground for 30 s in a Millmix 20 ball mill (Millmix Agro, Madona, Latvia) at a vibrating frequency of 20 Hz. One gram of the ground sample was transferred to a 15 mL Falcon tube, and 5 mL of 80% acetonitrile with 1% formic acid was added. The samples were sonicated for 30 s in a Sonics Vibra Cell (Sonics, Singapore) at 40% amplitude.

The samples were then shaken in an Eberbach shaker (model EL.680.Q.25) for 30 min at 400 oscillations/min and centrifuged at 10,000 rpm for 10 min at 4 °C (Eppendorf Centrifuge 5804 R, Eppendorf, Hamburg, Germany). The supernatants were filtered through 0.22 µm Teflon syringe filters into LC vials and analyzed by LC-MS/MS. Each sample was prepared in triplicate. The same procedure was applied to frass samples.

5.5. Deoxynivalenol Analysis by LC-MS/MS

Deoxynivalenol concentrations in feed, larvae, and frass were measured using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) in an Agilent 1260 Infinity II chromatograph connected to an Agilent 6470 Triple Quadrupole detector

(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). A modified version of the method developed by Paschoal was used in the extraction and chromatographic analysis [43].

Separation was performed at a flow rate of 0.5 mL/min using an Agilent Poroshell 120 SB-C18 column (Agilent, Santa Clara, CA, USA, 2.7 µm, 2.1 × 100 mm). The mobile phase consisted of the following:

Phase A: H_2O with 0.2% FA, 5 mM ammonium formate, and 0.5 mM ammonium fluoride;

Phase B: Methanol with 0.5% FA and 0.5 mM ammonium fluoride.

The following gradient elution method was used:

0–1 min: 10% B;
1–2 min: Increase to 50% B;
2–10 min: Linear increase to 95% B;
10–14 min: Hold at 95% B;
14–18 min: Return to 10% B for re-equilibration.

The samples were injected using a sandwich technique (40 µL H_2O + 2.5 µL sample). The column temperature was maintained at 40 °C. The injection needle was rinsed with 50% methanol for 3 s. The following ion source parameters were used: ESI + AJS, gas temp—250 °C, gas flow—8 L/min, nebulizer—45 psi, sheath gas temperature—350 °C, flow rate—11 L/min, and capillary voltage—3300 V.

Deoxynivalenol was monitored in the multiple reaction monitoring (MRM) mode using *m/z* 297.2 → 249.2 (quantifier) and *m/z* 297.2 → 203.2 (qualifier) transitions. Data were acquired and processed using Agilent MassHunter software (version 10.1). The detection limit (LOD) for DON in larvae and frass was approximately 2 ng/g and the limit of quantification (LOQ) was 6 ng/g.

5.6. Statistical Analysis

Data were analyzed using Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA). The normality and homogeneity of variance were assessed using the Shapiro–Wilk test and Levene's test, respectively. If the assumptions of normality and equal variances were met, larval mass, survival, and adult/pupa counts were analyzed by one-way ANOVA with Tukey's post hoc test ($p < 0.05$).

The concentration of DON in larvae and frass was determined using the non-parametric Kruskal–Wallis test ($p < 0.05$). All values were expressed as means ± standard deviation (SD).

Author Contributions: Conceptualization, T.B. and M.W.; methodology, M.W.; software, M.D.; validation, M.W. and M.D.; formal analysis, M.W.; investigation, M.W. and N.G.; resources, M.Ł.; data curation, N.G.; writing—original draft preparation, M.W.; writing—review and editing, Ł.Z.; visualization, M.D.; supervision, Ł.Z.; project administration, T.B.; funding acquisition, M.Ł. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Funded by the Minister of Science under the Regional Initiative of Excellence Program. Work carried out as part of the Industrial PhD program (4th edition) financed by the Polish Ministry of Education and Science (application number: 486036, contract number: DWD/4/80/2020) and by the Department of Research and Development, Chemprof, Olsztyn.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Dataset available on request from the authors.

Acknowledgments: The research reported in this manuscript has been filed as a patent application with the Polish Patent Office (Patent Application No. P.452947), "Method of producing insect feed biomass based on mycotoxin-contaminated feed".

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Bryden, W.L. Mycotoxin Contamination of the Feed Supply Chain: Implications for Animal Productivity and Feed Security. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2012**, *173*, 134–158. [CrossRef]
2. Alshannaq, A.; Yu, J.-H. Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2017**, *14*, 632. [CrossRef] [PubMed]
3. Pestka, J.J. Deoxynivalenol: Toxicity, Mechanisms and Animal Health Risks. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2007**, *137*, 283–298. [CrossRef]
4. EFSA. Deoxynivalenol in Food and Feed: Occurrence and Exposure. *EFSA J.* **2013**, *11*, 3379. [CrossRef]
5. EFSA. Evaluation of the Increase of Risk for Public Health Related to a Possible Temporary Derogation from the Maximum Level of Deoxynivalenol, Zearalenone and Fumonisins for Maize and Maize Products. *EFSA J.* **2014**, *12*, 3699. [CrossRef]
6. Mousavi Khaneghah, A.; Martins, L.M.; von Hertwig, A.M.; Bertoldo, R.; Sant'Ana, A.S. Deoxynivalenol and Its Masked Forms: Characteristics, Incidence, Control and Fateduring Wheat and Wheat-Based Products Processing—A Review. *Trends Food Sci. Technol.* **2018**, *71*, 13–24. [CrossRef]
7. Kamle, M.; Mahato, D.K.; Gupta, A.; Pandhi, S.; Sharma, B.; Dhawan, K.; Vasundhara; Mishra, S.; Kumar, M.; Tripathi, A.D.; et al. Deoxynivalenol: An Overview on Occurrence, Chemistry, Biosynthesis, Health Effects and Its Detection, Management, and Control Strategies in Food and Feed. *Microbiol. Res.* **2022**, *13*, 292–314. [CrossRef]
8. Commission Recommendation 2006/576/EC of 17 August 2006 on the Presence of Deoxynivalenol, Zearalenone, Ochratoxin A, T2 and HT2 and Fumonisins in Products Intended for Animal Feeding. *Off. J. Eur. Union* **2006**, *L229*, 7–9.
9. Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on Maximum Levels for Certain Contaminants in Food and Repealing Regulation (EC) No 1881/2006. *Off. J. Eur. Union* **2023**, *L119*, 1–41.
10. IARC. *Agents Classified by the IARC Monographs*; IARC: Lyon, France, 2023; Volume 1–135.
11. Evans, N.M.; Shao, S. Mycotoxin Metabolism by Edible Insects. *Toxins* **2022**, *14*, 217. [CrossRef] [PubMed]
12. Dänicke, S.; Valenta, H.; Döll, S. On the Toxicokinetics and the Metabolism of Deoxynivalenol (DON) in the Pig. *Arch. Anim. Nutr.* **2004**, *58*, 169–180. [CrossRef] [PubMed]
13. Gruber-Dorninger, C.; Jenkins, T.; Schatzmayr, G. Global Mycotoxin Occurrence in Feed: A Ten-Year Survey. *Toxins* **2019**, *11*, 375. [CrossRef]
14. DSM. World Mycotoxin Survey. The Global Threat January–December 2021. Available online: https://www.dsm.com/anh (accessed on 6 June 2025).
15. Binder, E.M.; Tan, L.M.; Chin, L.J.; Handl, J.; Richard, J. Worldwide Occurrence of Mycotoxins in Commodities, Feeds and Feed Ingredients. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2007**, *137*, 265–282. [CrossRef]
16. Hao, W.; Li, A.; Wang, J.; An, G.; Guan, S. Mycotoxin Contamination of Feeds and Raw Materials in China in Year 2021. *Front. Vet. Sci.* **2022**, *9*, 929904. [CrossRef]
17. Chen, Y.; Zhang, R.; Tong, E.; Wu, P.; Chen, J.; Zhao, D.; Pan, X.; Wang, J.; Wu, X.; Zhang, H.; et al. Occurrence and Exposure Assessment of Deoxynivalenol and Its Acetylated Derivatives from Grains and Grain Products in Zhejiang Province, China (2017–2020). *Toxins* **2022**, *14*, 586. [CrossRef]
18. Muñoz Solano, B.; González Peñas, E. Co-Occurrence of Mycotoxins in Feed for Cattle, Pigs, Poultry, and Sheep in Navarra, a Region of Northern Spain. *Toxins* **2023**, *15*, 172. [CrossRef]
19. Liu, M.; Xia, Z.; Zhang, Y.; Yang, R.; Luo, W.; Guo, L.; Liu, Y.; Lamesgen, D.; Sun, H.; He, J.; et al. Contamination of aflatoxin B1, deoxynivalenol and zearalenone in feeds in China from 2021 to 2024. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2025**, *16*, 66. [CrossRef]
20. Casu, A.; Camardo Leggieri, M.; Toscano, P.; Battilani, P. Changing climate, shifting mycotoxins: A comprehensive review of climate change impact on mycotoxin contamination. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2024**, *23*, e13323. [CrossRef] [PubMed]
21. Xu, R.; Kiarie, E.G.; Yiannikouris, A.; Sun, L.; Karrow, N.A. Nutritional Impact of Mycotoxins in Food Animal Production and Strategies for Mitigation. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2022**, *13*, 69. [CrossRef]
22. Commission Regulation (EU) 2017/893 of 24 May 2017 Amending Annexes I and IV to Regulation (EC) No 999/2001 and Annexes X, XIV and XV to Commission Regulation (EU) No 142/2011 as Regards the Provisions on Processed Animal Protein. *Off. J. Eur. Union* **2017**, *L138*, 92–116.
23. Commission Regulation (EU) 2021/1372 of 17 August 2021 Amending Annex IV to Regulation (EC) No 999/2001 as Regards the Prohibition to Feed Non-Ruminant Farmed Animals, Other than Fur Animals, with Protein Derived from Animals. *Off. J. Eur. Union* **2021**, *L295*, 1–17.

24. Commission Implementing Regulation (EU) 2022/169 of 8 February 2022 Authorising the Placing on the Market of Frozen, Dried and Powder Forms of Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a Novel Food. *Off. J. Eur. Union* **2022**, *L28*, 74–78.
25. van Broekhoven, S.; Oonincx, D.G.A.B.; van Huis, A.; van Loon, J.J.A. Growth Performance and Feed Conversion Efficiency of Three Edible Mealworm Species (Coleoptera: Tenebrionidae) on Diets Composed of Organic By-Products. *J. Insect Physiol.* **2015**, *73*, 1–10. [CrossRef]
26. Rumpold, B.A.; Schluter, O.K. Nutritional Composition and Safety Aspects of EdibleInsects. *Mol. Nutr. Food Res.* **2013**, *57*, 802–823. [CrossRef]
27. Hong, J.; Han, T.; Kim, Y.Y. Mealworm (*Tenebrio molitor* Larvae) as an Alternative Protein Source for Monogastric Animal: A Review. *Animals* **2020**, *10*, 2068. [CrossRef] [PubMed]
28. Gahukar, R.T. Edible Insects Farming: Efficiency and Impact on Family Livelihood, Food Security, and Environment Compared with Livestock and Crops. In *Insects as Sustainable Food Ingredients*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2016; pp. 85–111. [CrossRef]
29. Vandeweyer, D.; De Smet, J.; Van Looveren, N.; Van Campenhout, L. Biological Contaminants in Insects as Food and Feed. *J. Insects Food Feed.* **2021**, *7*, 807–822. [CrossRef]
30. Zhang, Y.; Zhang, X.; Cao, D.; Yang, J.; Mao, H.; Sun, L.; Wang, C. Integrated multi-omics reveals the relationship between growth performance, rumen microbes and metabolic status of Hu sheep with different residual feed intakes. *Anim. Nutr.* **2024**, *18*, 284–295. [CrossRef]
31. Ochoa Sanabria, C.; Hogan, N.; Madder, K.; Gillott, C.; Blakley, B.; Reaney, M.; Beattie, A.; Buchanan, F. Yellow Mealworm Larvae (*Tenebrio molitor*) Fed Mycotoxin-Contaminated Wheat—A Possible Safe, Sustainable Protein Source for Animal Feed? *Toxins* **2019**, *11*, 282. [CrossRef] [PubMed]
32. Van Broekhoven, S.; Mota Gutierrez, J.; De Rijk, T.C.; De Nijs, W.C.M.; van Loon, J.J.A. Degradation and Excretion of the Fusarium Toxin Deoxynivalenol by an Edible Insect, the Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor* L.). *World Mycotoxin J.* **2017**, *10*, 163–169. [CrossRef]
33. Abado-Becognee, K.; Lessard, F.; Creppy, E.; Melcion, D. Effects of Fumonisin B1 on Growth and Metabolism of Larvae of the Yellow Mealworm, *Tenebrio molitor*. *Entomol. Exp. Appl.* **1998**, *86*, 135–143. [CrossRef]
34. Bosch, G.; van der Fels-Klerx, H.J.; de Rijk, T.C.; Oonincx, D.G.A.B. Aflatoxin B1 Tolerance and Accumulation in Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) and Yellow Mealworms (*Tenebrio molitor*). *Toxins* **2017**, *9*, 185. [CrossRef]
35. Mancini, A.; Dreassi, E.; Botta, M.; Tarchi, F.; Francardi, V. Bioaccumulation Risk Assessment of Aflatoxin B1, Ochratoxin and Fumonisin B1 in *Tenebrio molitor* Larvae. *Redia* **2020**, *103*, 101–108. [CrossRef]
36. Jankovic-Tomanic, M.; Petkovic, B.; Todorovic, D.; Vrankovic, J.; Peric-Mataruga, V. Physiological and Behavioral Effects of the Mycotoxin Deoxynivalenol in *Tenebrio molitor* Larvae. *J. Stored Prod. Res.* **2019**, *83*, 236–242. [CrossRef]
37. Wang, Y.; Wang, L.; Du, Y.; Yao, F.; Zhao, M.; Cai, C.; Shao, S. Metabolomics study reveals DON-induced intestinal toxicity in adult zebrafish through disruption of amino acid metabolism and sphingolipid signaling pathway. *Aquat. Toxicol.* **2025**, *282*, 107324. [CrossRef] [PubMed]
38. Van Broekhoven, S.; Doan, Q.H.T.; van Huis, A.; van Loon, J.J.A. Exposure of Tenebrionid Beetle Larvae to Mycotoxin-Contaminated Diets and Methods to Reduce Toxin Levels. *Proc. Neth. Entomol. Soc. Meet.* **2014**, *25*, 47–58.
39. Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on Undesirable Substances in Animal Feed—Council Statement. *Off. J. Eur. Union* **2002**, *L140*, 10–21.
40. Zhao, D.; Xie, H.; Gao, L.; Zhang, J.; Li, Y.; Mao, G.; Zhang, H.; Wang, F.; Lam, S.S.; Song, A. Detoxication and Bioconversion of Aflatoxin B1 by Yellow Mealworms (*Tenebrio molitor*): A Sustainable Approach for Valuable Larval Protein Production from Contaminated Grain. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2022**, *242*, 113935. [CrossRef]
41. Duhra, D.; Buchanan, F.; Newkirk, R.; Schwean-Lardner, K. Utilising Yellow Mealworm Larvae Reared on Deoxynivalenol-Contaminated Wheat as a Feed Ingredient for Poultry Diets. *J. Insects Food Feed* **2022**, *8*, 967–976. [CrossRef]
42. Camenzuli, L.; Van Dam, R.; De Rijk, T.; Andriessen, R.; Van Schelt, J.; Van der Fels-Klerx, H.J. Tolerance and Excretion of the Mycotoxins Aflatoxin B1, Zearalenone, Deoxynivalenol, and Ochratoxin A by *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens* from Contaminated Substrates. *Toxins* **2018**, *10*, 91. [CrossRef]
43. Paschoal, F.N.; de Azevedo Silva, D.; von Sperling de Souza, R.; de Oliveira, M.S.; Pereira, D.A.A.; de Souza, S.V.C. A Rapid Single-Extraction Method for the Simultaneous Determination of Aflatoxins B1, B2, G1, G2, Fumonisin B1, and Zearalenone in Corn Meal by Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Food Anal. Methods* **2017**, *10*, 1631–1644. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

toxins

MDPI

Article

Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value

Marcin Wróbel [1,2], Michał Dąbrowski [2], Michał Łuczyński [1], Krzysztof Waśkiewicz [1,2], Tadeusz Bakuła [2], Łukasz Nowicki [3] and Łukasz Zielonka [2,*]

[1] Department of Research and Development, Chemprof, Gutkowo 54B, 11-041 Olsztyn, Poland; marcin.wrobel@chemprof.pl (M.W.); michal.luczynski@chemprof.pl (M.Ł.); krzysztof.waskiewicz@chemprof.pl (K.W.)
[2] Department of Veterinary Prevention and Feed Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 13/29, 10-718 Olsztyn, Poland; michal.dabrowski@uwm.edu.pl (M.D.); bakta@uwm.edu.pl (T.B.)
[3] Altium International Sp. z o.o., ul. Puławska 303, 02-785 Warszawa, Poland; lukasz.nowicki@altium.net
* Correspondence: lukasz.zielonka@uwm.edu.pl

Abstract

Deoxynivalenol (DON) is one of the most common trichothecene mycotoxins found in cereals, posing a significant hazard to food and feed safety. Insects, especially the yellow mealworm (*Tenebrio molitor*), offer promising alternative protein sources; however, their capacity to metabolise mycotoxins and the nutritional implications are still not fully understood. In this study, *T. molitor* larvae were reared for two weeks on diets containing DON at 663 or 913 µg/kg, and their biomass was analysed using Liquid Chromatography–Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry (LC-QTOF) for DON metabolites and free amino acids, as well as Gas Chromatography–Flame Ionization Detector (GC-FID) for fatty acid profiles. Larvae metabolised DON via multiple pathways, including sulfonation, glucuronidation, sulfation, glucosylation, and de-epoxidation, with a time- and dose-dependent shift towards glucosylation and de-epoxidation. DON exposure significantly reduced the levels of essential amino acids such as methionine, lysine, phenylalanine, and isoleucine, and lowered metabolic intermediates like aspartic and glutamic acid. Conversely, prolonged DON exposure increased linoleic acid levels in larval fat, indicating altered lipid metabolism. These findings demonstrate that *T. molitor* larvae detoxify DON but incur measurable metabolic costs, leading to changes in amino acid and fatty acid profiles. The dual effect—reduction of toxin levels and nutritional shifts—highlights both the potential and the challenges of using insects for sustainable feed production.

Keywords: deoxynivalenol (DON); *Tenebrio molitor*; bioconversion; insect protein; mycotoxin detoxification; amino acid profile; fatty acid composition

Key Contribution: *T. molitor* larvae biotransform DON into less toxic metabolites, while altering amino acid and fatty acid composition; highlighting their role as both biological transformers of mycotoxins and sustainable feed resources.

Received: 29 August 2025
Revised: 17 September 2025
Accepted: 21 September 2025
Published: 25 September 2025

Citation: Wróbel, M.; Dąbrowski, M.; Łuczyński, M.; Waśkiewicz, K.; Bakuła, T.; Nowicki, Ł.; Zielonka, Ł. Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins* **2025**, *17*, 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

The increasing global demand for sustainable protein sources has spurred efforts to identify alternative ingredients for feed and food. Among these, insects have become promising options because of their nutritious content, efficient feed conversion, and low environmental impact [1,2]. The yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) has attracted particular interest, as its larvae are rich in proteins, essential amino acids, polyunsaturated fatty acids, and micronutrients [2,3]. Moreover, mealworms can be cultivated on low-value side streams and agricultural by-products, making them an attractive component of circular economy models [2,3]. Their approval as a novel food and feed ingredient by the European Food Safety Authority (EFSA) further confirms their safety and potential in human and animal nutrition [4]. One of the primary risks to food and feed safety is contamination with mycotoxins. These toxic fungal metabolites, mainly produced by *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium* species, are commonly found in cereal grains and their derivatives [5–8]. It is estimated that up to 25% of global crops are contaminated with mycotoxins, with prevalence exceeding 60–80% in certain commodities, especially cereals [9–11]. Among these, deoxynivalenol (DON), a type B trichothecene produced by *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*, is one of the most frequently detected contaminants in wheat, maize, barley, and oats [7,8,12,13]. DON contamination affects animal performance by reducing feed intake, growth, gut health, and immunity [12,14,15]. In humans, acute exposure can cause nausea, vomiting, and abdominal pain, while long-term exposure is linked to weakened immunity and potential metabolic problems [15]. Notably, climate change scenarios forecast an increased risk of DON and other mycotoxins in Europe and worldwide, emphasising the importance of effective management strategies [14–18]. The toxicokinetics and metabolism of DON have been extensively studied in vertebrates. After ingestion, DON is quickly absorbed in the gastrointestinal tract and distributed to tissues [12,14]. In pigs, which are among the most sensitive livestock species, detoxification capacity is limited; DON mainly appears in plasma and urine as the parent compound or glucuronide conjugates, causing significant productivity losses even at low dietary levels [12,14]. In poultry, tolerance is higher due to faster intestinal transit and more efficient liver conjugation, with DON-3-glucuronide as the main metabolite [12,14]. In ruminants, microbial activity in the rumen provides a natural detoxification pathway via de-epoxidation to deepoxy-DON (DOM-1), a less toxic metabolite [12,14]. However, detoxification efficiency can vary depending on rumen conditions, diet, and microbial diversity [8]. Fish and aquaculture species also exhibit differing sensitivities to DON, with rainbow trout being particularly susceptible. The metabolism in these species mainly depends on liver conjugation and some microbial activity [19]. These interspecies differences highlight the importance of species-specific toxicokinetic assessments to properly evaluate DON-related risks in food-producing animals.

Insects provide a unique and relatively underexplored model for studying mycotoxin metabolism. *T. molitor* larvae have been shown to tolerate diets contaminated with DON without significant mortality or growth inhibition [20,21]. Several studies suggest that insects can biotransform DON into less toxic metabolites, possibly through cytochrome P450-mediated hydroxylation and de-epoxidation, followed by conjugation pathways such as glycosylation or sulfation [21–24]. Importantly, the insect gut microbiota may play a role similar to that of ruminal microbiota in cattle, aiding in the degradation of DON [25]. Feeding studies with *T. molitor* also demonstrated the bioconversion of other mycotoxins, including zearalenone and T-2/HT-2 toxins, further highlighting the metabolic versatility of insects [21,26,27]. Beyond detoxification, exposure to DON can alter nutrient metabolism in insects. In *T. molitor* larvae, DON intake has been linked to changes in fatty acid profiles, such as a decrease in polyunsaturated fatty acids and a shift in the n-3/n-6 ratio, along with disrupted amino acid utilisation and protein turnover [3,24]. These

findings suggest that although larvae may mitigate mycotoxin toxicity, the process could entail metabolic costs that affect biomass composition and nutritional value. Such dual outcomes—detoxification ability and metabolic adjustments—highlight the importance of carefully assessing the safety and quality of insect-derived biomass.

From a practical standpoint, understanding the metabolic fate of DON in *T. molitor* is vital for two main reasons. First, it ensures the safety of insect biomass used as feed and food ingredients by determining whether DON or its metabolites remain in tissues [8,20]. Second, it highlights the potential of insects as biological tools for valorising contaminated feedstuffs, transforming otherwise unusable materials into safe and valuable sources of protein and lipids [2,17,18]. Besides their role as a novel feed ingredient in terrestrial livestock production, *T. molitor* larvae show particular promise for aquaculture systems. The aquaculture sector is increasingly challenged by sustainability issues related to traditional protein and lipid sources, particularly fishmeal and fish oil, which are predominantly derived from wild-caught forage fish [1,2]. Larvae of *T. molitor* contain 45–60% crude protein on a dry matter basis and 25–35% fat, including beneficial mono- and polyunsaturated fatty acids [2,3]. This nutritional profile makes mealworm meal and oil appealing alternatives to conventional marine ingredients. Feeding trials have shown that partially replacing fishmeal with insect-derived protein can maintain or even enhance growth performance, feed efficiency, and gut health in species like tilapia, rainbow trout, and salmonids, as long as diets are appropriately balanced to meet essential amino acid and fatty acid requirements [1]. Additionally, mealworm oil, rich in oleic and linoleic acids, can partly substitute fish oil in aquafeeds. However, supplementation with long-chain n-3 fatty acids (EPA, DHA) from other sources remains crucial [2,3]. From a sustainability perspective, incorporating *T. molitor* biomass into aquafeeds helps reduce pressure on wild fish populations, lowers the environmental impact of aquaculture, and promotes circular economy practices by recycling agricultural by-products into valuable feed ingredients [2,17,18]. Moreover, the larvae's capacity to biotransform and potentially detoxify mycotoxins such as DON offers an additional safety benefit, decreasing the risk of toxin transfer into farmed fish and ultimately into the human food chain [8,24]. Similar carry-over phenomena have been reported in poultry, where *Fusarium* toxins were detected in tissues and eggs after dietary exposure [28]. Therefore, this study aims to explore how DON is processed in *T. molitor* larvae and to evaluate its impact on fatty acid and protein metabolism. These findings will provide insights into the safety of insect-based biomass and help develop innovative strategies for sustainable feed production and mycotoxin detoxification.

2. Results

2.1. Metabolite Profiling of Deoxynivalenol in Tenebrio molitor Larvae

The Q-TOF analysis revealed distinct profiles of deoxynivalenol (DON) metabolites in Tenebrio molitor larvae, varying by experimental group and exposure duration. The results are summarised in Figures 1 and 2.

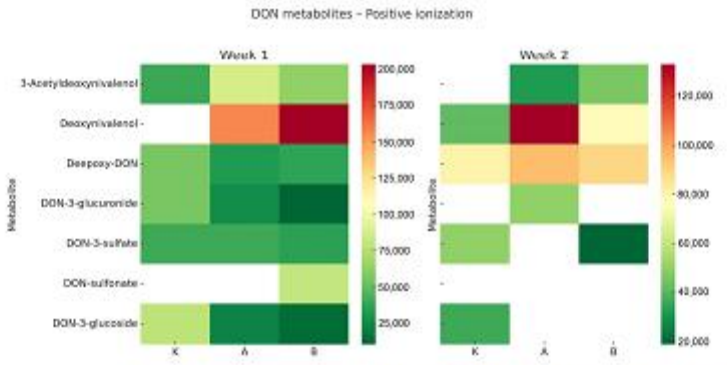


Figure 1. Heatmap showing deoxynivalenol (DON) and its metabolites in *Tenebrio molitor* larvae after one and two weeks of dietary exposure (positive ionisation mode). Group K—control, group A—low-dose DON, group B—high-dose DON. Relative abundance = normalised LC-QTOF signal intensity (arbitrary units). The colour scale (green–yellow–red) indicates low–medium–high metabolite levels.

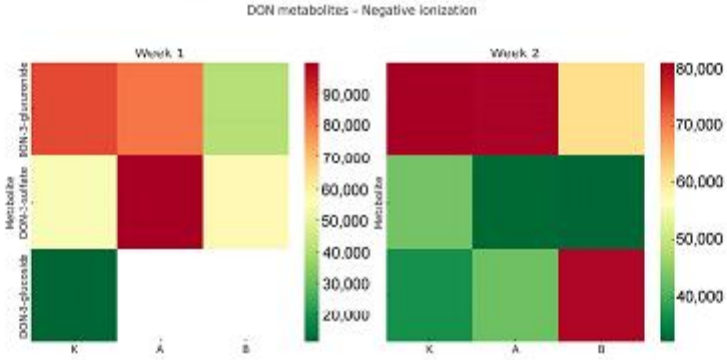


Figure 2. Heatmap showing deoxynivalenol (DON) and its metabolites in *Tenebrio molitor* larvae after one and two weeks of dietary exposure (negative ionisation mode). Group K—control, Group A—low-dose DON, Group B—high-dose DON. Relative abundance = normalised LC-QTOF signal intensity (arbitrary units). The colour scale (green–yellow–red) indicates low–medium–high metabolite levels.

In positive ionisation mode (Figure 1), DON was the most abundant molecule in the larvae from both experimental groups (A and B), with notably high levels after the first week. The presence of DON-sulfonate was detected only in the high-dose group (B) during week 1, suggesting that sulfonation may serve as an inducible detoxification pathway activated under higher exposure conditions. Additionally, small amounts of DON-3-glucuronide and DON-3-glucoside were detected, indicating that conjugation processes occurred, albeit at lower levels than the parent toxin. By week two, DON levels decreased in the high-dose group (B) but remained elevated in the low-dose group (A). Meanwhile, levels of de-epoxy-DON increased in both groups, indicating the ongoing activation of reductive detoxification pathways. In the negative ionisation mode (Figure 2), conjugated

metabolites dominated the metabolic profile. DON-3-glucuronide and DON-3-sulfate were consistently present in all groups, including the control, which may reflect baseline detoxification processes in the larvae. DON-3-glucoside notably increased in the high-dose group (B) during the second week, suggesting that glucosylation became a key detoxification pathway under sustained DON exposure. This finding supports the idea that glycosylation functions as a vital protective mechanism against trichothecene mycotoxins. Overall, these findings demonstrate that T. molitor larvae can metabolise DON through various biotransformation pathways, including sulfonation, glucuronidation, glucosylation, and de-epoxidation. The observed patterns, depending on time and dose, show that higher DON levels initially lead to increased sulfonation, while prolonged exposure shifts the metabolism towards glucosylation and reduction. Interestingly, DON concentrations were higher in groups C and A after two weeks compared to week one. This may reflect cumulative effects due to variable feed intake and slower metabolic clearance at lower exposure levels. In contrast, the high-dose group (B) exhibited reduced DON levels at week two, indicating faster activation of detoxification pathways under stronger exposure pressure.

2.2. *Amino Acid Profile of Tenebrio molitor Larvae*

The analysis of free amino acid content in *T. molitor* larvae revealed distinct effects of dietary deoxynivalenol (DON) exposure that became increasingly evident over time. Week 1: after the first week of feeding, notable differences were observed in several amino acids among the experimental groups (Table 1). The complete LC–QTOF amino-acid dataset for all groups, time points, and replicates is provided in the Supplementary Material S1.

Table 1. Relative abundance of free amino acids in Tenebrio molitor larvae after one week of feeding on control (C) or DON-contaminated diets (Group A; Group B). Values are presented as mean ± SD. Different superscript letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$). Results show the relative abundance obtained through LC-QTOF analysis, not absolute concentrations.

Amino Acids	Week 1		
	Control (C)	Group A	Group B
L-Arginine	282,815.7 ± 16,013.5 ^{a}	272,011.0 ± 24,435.1 ^{a}	291,036.7 ± 10,274.3 ^{a}
L-Aspartic Acid	243,678.7 ± 19,744.5 ^{a}	189,926.3 ± 46,524.8 ^{a}	240,021.0 ± 21,019.0 ^{a}
L-Cysteine	13,703.3 ± 2523.5 ^{a}	13,496.3 ± 4140.8 ^{a}	12,687.0 ± 4234.3 ^{a}
L-Glutamic acid	1,642,210.7 ± 184,031.7 ^{a}	1,381,604.0 ± 458,771.5 ^{a}	1,654,420.3 ± 271,522.8 ^{a}
L-Glutamine	400,164.0 ± 197,852.1 ^{a}	533,476.3 ± 269,281.8 ^{a}	291,587.7 ± 48,977.7 ^{a}
L-Histidine	720,202.0 ± 12,770.8 ^{a}	744,021.3 ± 67,631.7 ^{a}	669,297.0 ± 35,320.7 ^{a}
L-Isoleucine	3,291,067.7 ± 215,250.0 ^{a}	2,845,289.3 ± 548,891.6 ^{a}	3,361,560.0 ± 264,704.1 ^{a}
L-Lysine	71,704.7 ± 4519.7 ^{a}	60,250.3 ± 16,736.8 ^{a}	69,602.7 ± 1934.8 ^{a}
L-Methionine	386,367.7 ± 35,184.9 ^{a}	287,492.3 ± 74,653.1 ^{a}	394,162.7 ± 28,928.1 ^{a}
L-Phenylalanine	3,596,554.7 ± 253,678.9 ^{a}	3,072,111.3 ± 979,713.1 ^{a}	3,568,435.7 ± 377,955.0 ^{a}
L-Proline	86,156.7 ± 15,017.0 ^{a}	58,263.3 ± 33,964.2 ^{a}	66,164.3 ± 11,755.1 ^{a}
L-Serine	92,762.0 ± 8590.2 ^{a}	83,429.3 ± 2628.9 ^{a}	87,795.7 ± 6812.9 ^{a}
L-Threonine	272,263.7 ± 14,326.8 ^{a}	219,948.0 ± 25,463.6 ^{b}	242,936.3 ± 17,099.0 ^{ab}
L-Tryptophan	1,697,254.3 ± 67,430.3 ^{a}	1,767,340.7 ± 325,829.0 ^{a}	1,989,960.3 ± 215,419.2 ^{a}
L-Tyrosine	514,143.7 ± 160,899.7 ^{a}	557,547.0 ± 99,607.2 ^{a}	420,043.7 ± 25,973.0 ^{a}

Compared to the control group, larvae exposed to DON showed reduced levels of aspartic acid, glutamic acid, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, and threonine ($p < 0.05$). In contrast, there were no significant changes in the levels of

arginine, cysteine, glutamine, histidine, tryptophan, or tyrosine. These findings suggest that short-term DON exposure selectively decreases amino acids involved in protein synthesis and energy metabolism.

After two weeks, the differences between groups became more noticeable (Table 2).

Table 2. Relative abundance of free amino acids in *Tenebrio molitor* larvae after two weeks of feeding on either control (C) or DON-contaminated diets (Group A: 663 µg/kg; Group B: 913 µg/kg).

Amino Acids	Week 2		
	Control (C)	Group A	Group B
L-Arginine	292,570.7 ± 13,152.1 ^{a}	275,944.3 ± 20,840.5 ^{a}	275,801.0 ± 9632.0 ^{a}
L-Aspartic Acid	302,491.3 ± 46,072.7 ^{a}	241,711.7 ± 32,895.8 ^{ab}	154,897.7 ± 30,152.3 ^{b}
L-Cysteine	5998.7 ± 1102.9 ^{a}	10,241.0 (single value) ^{a}	8597.5 ± 614.5 ^{a}
L-Glutamic acid	1,639,666.3 ± 159,828.8 ^{a}	1,455,465.7 ± 216,570.3 ^{ab}	1,073,695.0 ± 111,784.5 ^{b}
L-Glutamine	348,709.0 ± 65,978.2 ^{a}	478,472.7 ± 156,535.5 ^{a}	477,642.7 ± 108,813.7 ^{a}
L-Histidine	586,522.0 ± 44,468.7 ^{a}	618,370.7 ± 71,084.7 ^{a}	590,327.3 ± 45,560.8 ^{a}
L-Isoleucine	3,097,908.3 ± 79,801.1 ^{a}	2,766,483.7 ± 299,800.2 ^{ab}	2,381,444.7 ± 213,192.8 ^{b}
L-Lysine	79,244.0 ± 11,694.9 ^{a}	66,183.7 ± 15,088.6 ^{a}	55,289.0 ± 11,283.7 ^{a}
L-Methionine	474,866.0 ± 61,335.3 ^{a}	368,437.7 ± 69,098.6 ^{ab}	242,663.0 ± 37,060.1 ^{b}
L-Phenylalanine	3,033,179.3 ± 214,963.4 ^{a}	2,489,748.0 ± 345,590.3 ^{ab}	2,257,815.7 ± 219,568.0 ^{b}
L-Proline	60,228.7 ± 7738.7 ^{a}	44,248.7 ± 9109.1 ^{ab}	31,436.3 ± 9718.5 ^{b}
L-Serine	107,283.0 ± 5227.1 ^{a}	95,788.0 ± 4821.6 ^{ab}	84,510.3 ± 6971.5 ^{b}
L-Threonine	255,015.7 ± 15,768.7 ^{a}	226,650.3 ± 22,599.6 ^{ab}	201,217.0 ± 16,484.0 ^{b}
L-Tryptophan	1,823,412.0 ± 269,837.6 ^{a}	1,905,375.0 ± 262,081.5 ^{a}	2,248,000.7 ± 220,528.6 ^{a}
L-Tyrosine	350,860.3 ± 4588.8 ^{a}	470,978.7 ± 134,063.6 ^{a}	369,504.7 ± 117,102.9 ^{a}

Values are presented as mean ± SD. Different superscript letters indicate statistically significant differences between groups ($p < 0.05$). These results show relative abundance values obtained through LC-QTOF analysis, not absolute concentrations. For L-cysteine in Group A, the compound was detectable above the quantification threshold in only one of three replicates; therefore, only a single value is reported, and no standard deviation could be calculated.

Notable decreases were observed in larvae exposed to DON for amino acids such as aspartic acid, glutamic acid, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, and threonine compared to the control group ($p < 0.05$). The most significant declines were seen in methionine and phenylalanine, with levels in Group B dropping by approximately 50% relative to the controls. Conversely, tryptophan levels tended to increase in DON-fed groups, although this was not statistically significant. These differences are illustrated in Figure 3, which shows representative essential and non-essential amino acids substantially affected by DON exposure.

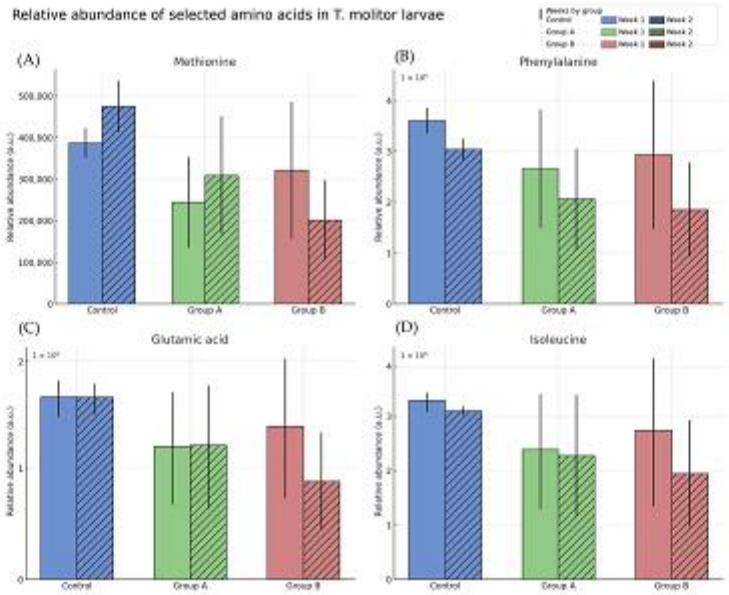


Figure 3. Relative abundance of selected amino acids in Tenebrio molitor larvae after one and two weeks of feeding on control (C) and DON-contaminated diets (Group A: 663 µg/kg, Group B: 913 µg/kg). Representative essential and non-essential amino acids are shown: (A) L-Methionine, (B) L-Phenylalanine, (C) L-Glutamic acid, and (D) L-Isoleucine. Values are expressed as mean ± SD. Relative abundance = normalised LC-QTOF signal intensity (arbitrary units).

Overall, prolonged DON exposure caused a consistent decrease in both essential and non-essential amino acids, particularly those involved in protein synthesis (methionine, lysine, and threonine) and major metabolic pathways (aspartic and glutamic acid). These findings indicate that DON metabolism in larvae may impose a metabolic burden that disturbs amino acid balance and protein turnover.

2.3. *Fatty Acid Profile of Tenebrio molitor Larvae*

The fatty acid composition of *T. molitor* larvae was examined after one and two weeks of feeding on either the control diet (C) or diets contaminated with deoxynivalenol (Group A, Group B). Oleic acid (C18:1 cis-9) and linoleic acid (C18:2 cis-9,12) were the dominant fatty acids across all treatments, with palmitic acid (C16:0) also detected. Smaller amounts of myristoleic acid (C14:1 cis-9), palmitoleic acid (C16:1 cis-9), and stearic acid (C18:0) were additionally identified.

After one week of feeding, no significant differences were observed among the groups concerning the concentrations of major fatty acids (Table 3). The complete GC-FID fatty-acid dataset (replicate-level values) is provided in the Supplementary Material S2.

Table 3. Fatty acid composition (mg/g fresh weight, mean ± SD) of *Tenebrio molitor* larvae after one week of feeding on a control (C) diet and a DON-contaminated diet (Group A, Group B). Superscript letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

Fatty Acids (mg/g)	Week 1		
	Control (C)	Group A	Group B
C14:1 cis 9 (myristoleic acid)	3.828 ± 0.325 [a]	3.655 ± 0.145 [a]	3.688 ± 0.115 [a]
C16:0 (palmitic acid)	16.416 ± 0.459 [a]	16.221 ± 0.994 [a]	16.799 ± 1.083 [a]
C16:1 cis 9 (palmitoleic acid)	3.324 ± 0.516 [a]	2.848 ± 0.201 [a]	2.904 ± 0.047 [a]
C18:0 (stearic acid)	4.278 ± 0.403 [a]	4.243 ± 0.017 [a]	4.264 ± 0.136 [a]
C18:1 cis 9 (oleic acid)	44.044 ± 1.371 [a]	44.267 ± 0.619 [a]	44.805 ± 2.647 [a]
C18:2 cis 9,12 (linoleic acid)	22.234 ± 0.511 [a]	22.300 ± 0.879 [a]	23.002 ± 1.029 [a]

Oleic acid made up about 44% of total fatty acids, linoleic acid was around 22–23%, and palmitic acid was approximately 16–17%. Stearic acid remained steady at about 4%. In the second week, the overall fatty acid profile stayed mostly the same, except for linoleic acid, which was significantly higher in larvae from the DON-fed groups compared to the control ($p < 0.05$). Specifically, linoleic acid increased from 22.60 ± 0.32 mg/g in the control group to 24.75 ± 0.73 mg/g in Group A and 24.35 ± 0.91 mg/g in Group B. A slight trend towards lower palmitic acid levels was also seen in the DON-exposed groups, although these changes were not statistically significant. Oleic acid remained the most common fatty acid (~41–42%) and was unaffected by the dietary treatment (Table 4).

Table 4. Fatty acid composition (mg/g fresh weight, mean ± SD) of *Tenebrio molitor* larvae after two weeks of feeding on control (C) and DON-contaminated diets (Group A, Group B). Superscript letters indicate significant differences between groups ($p < 0.05$).

Fatty Acids (mg/g)	Week 2		
	Control (C)	Group A	Group B
C14:1 cis 9 (myristoleic acid)	3.603 ± 0.150 [a]	3.888 ± 0.076 [a]	3.821 ± 0.161 [a]
C16:0 (palmitic acid)	15.083 ± 0.700 [a]	15.860 ± 0.938 [a]	15.707 ± 0.244 [a]
C16:1 cis 9 (palmitoleic acid)	2.877 ± 0.305 [a]	2.908 ± 0.154 [a]	2.894 ± 0.168 [a]
C18:0 (stearic acid)	4.541 ± 0.763 [a]	3.880 ± 0.083 [a]	4.089 ± 0.089 [a]
C18:1 cis 9 (oleic acid)	41.03 ± 1.438 [a]	42.446 ± 3.052 [a]	42.151 ± 0.632 [a]
C18:2 cis 9,12 (linoleic acid)	22.602 ± 0.318 [b]	24.753 ± 0.729 [a]	24.352 ± 0.910 [a]

Overall, the results suggest that prolonged exposure to DON may change the fatty acid profile of *T. molitor* larvae, mainly by increasing levels of linoleic acid. These changes could reflect a metabolic response linked to DON detoxification, potentially involving modifications in lipid metabolism.

3. Discussion

The current study shows that *Tenebrio molitor* larvae can withstand diets contaminated with DON and break down the toxin through different biotransformation pathways. Importantly, these detoxification processes are associated with clear changes in amino acid and fatty acid profiles, suggesting that detoxification is not a metabolically neutral process. Our findings offer mechanistic insights into insect resilience against mycotoxins and underscore their potential for sustainable feed production.

3.1. Metabolism of Deoxynivalenol in *T. molitor*

Several DON metabolites were identified, including DON-sulfonate, DON-3-glucuronide, DON-3-sulfate, DON-3-glucoside, and deepoxy-DON, which indicate that

multiple detoxification pathways are active [14,21,24,29]. The brief detection of DON-sulfonate in the high-dose group during the first week suggests that sulfonation acts as an inducible, short-term response to acute exposure. Sulfonated trichothecene derivatives have been identified in mammals and are regarded as detoxification products with reduced activity [14]. In contrast, glucuronidation and sulfation were consistently detected across all groups, reflecting detoxification mechanisms well known in vertebrates [12,14]. The significant increase in DON-3-glucoside with prolonged exposure highlights the importance of glucosylation. In plants, DON-3-glucoside is considered a modified mycotoxin [29–32]; its detection in insects suggests that similar conjugation pathways may also operate in invertebrates. Since modified forms can be hydrolysed back to DON in the gastrointestinal tract [29], their presence has important safety implications. The detection of deepoxy-DON (DOM-1) is particularly noteworthy, as this metabolite has significantly lower toxicity [12,14], and its formation is well established in ruminants via ruminal microbiota [14]. Our findings suggest that a similar de-epoxidation process occurs in insects, probably facilitated by their gut microbes [33–35], consistent with other insect species where symbionts are involved in mycotoxin breakdown [36]. Both host enzymes and microbial activity likely drive the metabolic changes observed. Cytochrome P 450 monooxygenases, which are highly diverse in insects, may catalyse hydroxylation and subsequent conjugation (e.g., glucuronidation, glucosylation) [22,23], while sulfotransferases could explain the temporary sulfonation seen in the high-dose group. This integrated host–microbiota system offers a broader metabolic capacity than many vertebrate species and may account for the high tolerance of T. molitor larvae to DON. Similar adaptive responses have also been noted for other *Fusarium* toxins, including zearalenone and T-2/ht-2 [26,27,36,37].

3.2. Comparative Toxicological Perspectives across Species

The metabolic responses of *T. molitor* resemble those of vertebrates but also display insect-specific adaptations. In pigs, one of the most sensitive species, DON metabolism is restricted to glucuronidation, which does not sufficiently reduce toxicity [12,14]. Poultry tolerate DON better due to rapid intestinal transit and liver conjugation [12,14]. Ruminants benefit from ruminal de-epoxidation to DOM-1 [12]. Fish show variable sensitivity: rainbow trout are highly susceptible [19], whereas carp mainly exhibit immune changes rather than growth suppression [38]. In contrast, *T. molitor* employs conjugation pathways similar to those of vertebrates but also activates sulfonation and glucosylation. This broader metabolic spectrum probably results from evolutionary adaptation to frequent exposure to fungal metabolites in natural environments. Such metabolic flexibility may help explain the remarkable resilience of insects compared to vertebrates [22]. These interspecies comparisons highlight the importance of insect-specific toxicokinetic assessments when evaluating feed safety.

3.3. Effects of DON on Amino Acid Metabolism

DON exposure caused consistent reductions in several essential and non-essential amino acids, especially methionine, lysine, phenylalanine, isoleucine, aspartic acid, and glutamic acid. These amino acids are crucial for protein synthesis and fundamental cellular functions. The reduction—up to 50% for methionine and phenylalanine and about 25% for lysine relative to controls—is nutritionally relevant. When compared to poultry and swine dietary requirements, such decreases may lower the protein quality of insect-derived biomass. While detoxification reduces the risk of DON carry-over, it comes at the cost of diminished amino acid availability. Interestingly, tryptophan levels tended to increase in DON-fed larvae, possibly suggesting a shift towards serotonin or kynurenine

pathways, which may be associated with stress or immune responses. Similar shifts have been linked to DON-induced immune dysregulation in vertebrates [15].

3.4. Effects of DON on Fatty Acid Composition

The fatty acid profile of *T. molitor* was primarily composed of oleic and linoleic acids, consistent with previous reports [2,3]. Extended DON exposure significantly raised linoleic acid levels, suggesting an adaptive change in lipid metabolism under toxic stress.

Trichothecenes are known to disrupt enzymes that regulate fatty acid desaturation and elongation, thereby affecting membrane composition and signalling [15]. Increased levels of linoleic acid (C18:2n–6) may help maintain membrane fluidity or reduce oxidative stress. In insects, n-6 PUFA also serve as precursors for signalling molecules that govern development and moulting [2,3].

Nutritionally, higher linoleic acid improves the feed value of mealworm oil for monogastric animals and fish, which cannot produce this fatty acid [2]. However, an increased PUFA content may reduce oxidative stability, necessitating the use of antioxidants during storage. Similar changes in fatty acid profiles have been seen in other insects exposed to *Fusarium* toxins [24]. In vertebrates, such as Atlantic salmon, exposure to DON has been shown to lower plasma cholesterol and triglycerides [39]. This suggests a conserved effect of DON on lipid metabolism across different species.

From an applied perspective, the shift in fatty acid composition may not be harmful. An increased level of linoleic acid could enhance the potential of mealworm oil as a partial replacement for plant oils in aquafeeds. However, supplementation with long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids (EPA, DHA) remains crucial [2,3].

In our previous study, conducted under the same experimental design, we demonstrated that *T. molitor* larvae tolerated DON-contaminated diets without adverse effects on survival or growth performance. We also observed that most of the ingested toxin was efficiently excreted in the frass, leading to only minimal accumulation in larval biomass [40]. The present study builds on these findings by offering mechanistic insights into DON metabolism in larvae, identifying multiple transformation pathways (sulfonation, glucuronidation, sulfation, glucosylation, and de-epoxidation), and linking these processes to noticeable changes in amino acid and fatty acid profiles. Together, these two complementary studies highlight a dual outcome: while *T. molitor* effectively prevents DON carryover into larval biomass, thereby improving feed safety, detoxification is not metabolically neutral but involves nutritional shifts that may influence the quality of insect-derived protein and lipid fractions. This comparative perspective thus underscores both the safety potential and the nutritional trade-offs of using mealworms in sustainable feed production systems.

3.5. Ecological and Circular Economy Perspectives

The ability of *T. molitor* to metabolise DON has broader implications for food security and sustainability. Climate change is likely to increase *Fusarium* infections and DON contamination in cereals [16–18]. Therefore, strategies for safely utilising contaminated crops are essential. Insects offer a biological solution: by metabolising DON, they convert otherwise unusable feedstocks into high-quality protein and lipids, thereby supporting waste valorisation and circular economy models [2,6,41,42].

This approach also decreases dependence on traditional feed resources, such as soy and fishmeal, which have significant environmental impacts [1,4]. By enabling the safe use of contaminated substrates, insects can reduce food waste and enhance the resilience of feed supply chains against mycotoxin threats, supporting EU sustainability goals and circular bioeconomy strategies.

4. Conclusions

In summary, *T. molitor* larvae detoxify DON through multiple pathways, including sulfonation, glucuronidation, sulfation, glucosylation, and de-epoxidation, with significant contributions from gut microbiota. These processes reduce DON toxicity but involve metabolic costs, as indicated by changes in amino acid and fatty acid profiles. The dual outcome of detoxification and nutritional adjustment highlights the potential of insects as sustainable feed sources, while also emphasizing the need for combined assessments of feed safety, nutritional quality, and microbial roles. Additionally, the ecological role of insects in valuing contaminated biomass underscores their importance in future sustainable food systems.

Key Contribution

T. molitor larvae metabolise DON through multiple pathways, such as sulfonation, glucuronidation, sulfation, glucosylation, and de-epoxidation, which reduces its toxicity.

DON exposure significantly modifies the amino acid profile of larvae, with notable reductions in essential amino acids (methionine, lysine, phenylalanine, and isoleucine) and key metabolic intermediates (aspartic and glutamic acids).

Extended exposure increases linoleic acid levels in larval fat, suggesting alterations in lipid metabolism associated with detoxification processes.

These results emphasise the dual role of *T. molitor* as a biological transformer of mycotoxins and a sustainable feed source. Our findings suggest that although DON undergoes detoxification, this process is accompanied by changes in the amino acid and fatty acid composition of the biomass. Therefore, feed safety assessments should consider not only residual toxin levels but also the nutritional quality of the material.

5. Materials and Methods

5.1. Feeding Substrates and Diet Preparation

The composition of the basal feed was analysed using a Foss InfraXact™ analyser (FOSS Poland, Warsaw, Poland).

To prepare diets A and B, DON (Sigma Aldrich, Poznań, Poland) was dissolved in methanol and sprayed onto the basal feed. The feed was thoroughly mixed and dried at approximately 50 °C under reduced pressure. Samples were collected from different locations within the batch to evaluate homogeneity and DON content using LC-MS/MS. The proximate compositions of the experimental diets are shown in Table 5.

Table 5. Proximate composition of the experimental diets.

Ingredient	Content [%]		
	Diet C	Diet A	Diet B
Ash		6.64	
Crude fiber		3.99	
Starch		37.68	
Protein		23.64	
Fat		5.28	
Moisture		10.61	
		Mycotoxin concentration (µg/kg)	
Deoxynivalenol	28.71	663	913

Although near-infrared (NIR) spectroscopy (Foss InfraXact™) enables rapid, non-destructive assessment of feed composition, this method does not account for all nitrogen-containing compounds and specific carbohydrate fractions. As a result, the total of

quantified nutrients does not reach 100%, and the remaining portion likely consists of undetectable minor constituents.

5.2. Feeding Experiment

Nineteen-week-old *Tenebrio molitor* larvae (average body mass: 112.47 ± 23.95 mg) were sourced from TENEBRIA Sp. z o.o. (Poland) and randomly divided into three dietary groups. Each group had six replicates, with about 50 g of larvae per replicate, housed in polypropylene containers (31 × 17 × 9.5 cm).

- Group C: Control group fed basal diet;
- Group A: Fed DON-contaminated diet (663 µg/kg);
- Group B: Fed DON-contaminated diet (913 µg/kg).

Although the control diet (C) was prepared without intentionally adding DON, natural background contamination (28.7 µg/kg) was detected. This low level reflects unavoidable environmental contamination of cereal-based substrates and therefore prevented the use of a true negative control without DON. As a result, Diet C served as a practical control, representing the baseline contamination typically encountered in feed materials.

The DON concentrations in Diets A (663 µg/kg) and B (913 µg/kg) were chosen to represent low- and high-contamination scenarios. These values were selected based on levels frequently reported in naturally contaminated feeds in Europe [6,7,9,12], with Diet A approximating the lower range of field contamination and Diet B corresponding to higher but still realistic levels observed in cereals. This approach enabled us to model both moderate and severe dietary exposure conditions for larvae.

Larvae were raised for two weeks in a Memmert HPP 749 incubator (Memmert GmbH, Schwabach, Germany) at 27 ± 2 °C with 70 ± 5% relative humidity. Half of the replicates (n = 3 per group) were sampled after one week (C1, A1, B1), and the rest after two weeks (C2, A2, B2).

Unconsumed feed and frass were separated using 0.5 mm sieves. Larvae were starved for 24 h to empty their guts, then weighed and euthanised by freezing at −24 °C. During the trial, larvae were fed a mixture of 80% dry feed (control or DON-contaminated) and 20% fresh carrot pulp, which served as their water source. Feeding occurred once daily at 5:00 PM. Mortality was monitored daily, while pupae and adult emergence were recorded weekly.

5.3. Determination of Deoxynivalenol, Its Metabolites, and Free Amino Acids Using HPLC-Q-TOF

5.3.1. Extraction of Deoxynivalenol, Its Metabolites, and Free Amino Acids

Approximately 5 g of frozen larvae were ground using a ball mill (Millmix Agro, Madona, Latvia); amplitude 20, 30 s). One gram of homogenized larval biomass was transferred into 15 mL Falcon tubes, followed by the addition of 4 mL of solvent (methanol [VWR, Cat. No. 85800.320] (VWR International, Gdańsk, Poland) methanol–water 1:1, or water [VWR, Cat. No. 83645.320]), each containing 0.1% formic acid (Merck Sp. z o.o., Warsaw, Poland). Samples were shaken for 60 min using an Eberbach EL.680.Q.25 shaker (400 oscillations per minute) and centrifuged at 5000× g for 10 min at 4 °C (Thermo Scientific Sorvall X Pro Series, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Supernatants were filtered through PTFE syringe filters (13 mm, 0.22 µm; VWR, Cat. No. 514-1275, VWR International, Gdańsk, Poland). A 980 µL aliquot of the filtrate was transferred to LC vials and spiked with 20 µL of enrofloxacin as the internal standard.

5.3.2. Extraction Strategy for LC-QTOF Analysis

To optimize metabolite recovery, three extraction solvents were initially tested: (i) methanol, (ii) methanol–water (1:1, *v*/*v*), and (iii) water, each containing 0.1% formic acid. This approach was applied to account for the different polarities of target analytes, including DON, its metabolites, and free amino acids. Methanol was used to improve the recovery of less polar compounds, methanol–water mixtures enabled broad-spectrum extraction of moderately polar metabolites, while water favored highly polar analytes. After comparative evaluation, the extract showing the highest overall signal abundance and reproducibility in LC-QTOF analysis was selected for subsequent measurements. This strategy ensured efficient detection of DON-derived metabolites and amino acids while minimizing the risk of selective underestimation due to solvent polarity.

5.3.3. LC–MS Reagents

The following LC–MS grade solvents and reagents were used: methanol, water, formic acid, and ammonium formate (Merck, Warsaw, Poland). All chemicals were purchased from commercial suppliers and used without further purification.

5.3.4. Instrumentation–Chromatographic Conditions

Chromatographic analyses were performed using an Agilent 1260 Infinity III HPLC system (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a binary pump (up to 600 bar), a thermostatted autosampler, and a column oven. Separation was achieved with an Agilent Technologies InfinityLabZorbax Eclipse Plus C18 Rapid Resolution HD 2.1 × 50 mm, 1.8-micron column (Part Number: 959757-902). The chromatography was carried out under these conditions: column temperature of 40 °C, flow rate of 0.4 mL/min, injection volume of 1 µL, mobile phase comprising channel A: H_2O with 0.1% formic acid and 5 mM ammonium formate, and channel B: MeOH with 0.1% formic acid and 5 mM ammonium formate. The gradient program is detailed in Table 6. Total analysis time was 27 min.

Table 6. Gradient program used for chromatographic separation in LC–QTOF analysis. The table shows the proportion of mobile phases A (water with 0.1% formic acid and 5 mM ammonium formate) and B (methanol with 0.1% formic acid and 5 mM ammonium formate) over time.

Time (min)	A (%)	B (%)	Flow (mL/min)
0.00	95.0	5.0	0.400
1.00	95.0	5.0	0.400
15.00	5.0	95.0	0.400
21.00	5.0	95.0	0.400
21.01	95.0	5.0	0.400
27.00	95.0	5.0	0.400

5.3.5. Instrumentation–LC–MS Conditions

The HPLC system was coupled to an Agilent Revident Q-TOF mass spectrometer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with an Agilent JetStream Dual ESI ion source. The instrument was tuned in high-resolution mode with a mass range up to 1700 *m*/*z*. Mass spectrometry conditions are presented in Table 7.

Table 7. Mass spectrometry source and acquisition parameters used for LC–QTOF analysis. The table lists ion source conditions, fragmentor, skimmer, collision energies, and acquisition settings.

All Ions Acquisition Parameters	• *m*/z range: 50–1000 • Acquisition rate: 6.0 spectra/s • Time per spectrum: 166.7 ms
Ion Source Parameters	• Gas temperature: 250 °C • Drying gas flow: 8 L/min • Nebulizer pressure: 40 psi • Sheath gas temperature: 350 °C • Sheath gas flow: 12 L/min • Capillary voltage: 4000 V • Nozzle voltage: 0 V
Additional Parameters	• Fragmentor: 120 V • Skimmer: 65 V • Oct 1 RF Vpp: 400 V • Quad Amu: 148

5.3.6. Data Acquisition Mode

Mass spectrometric data were gathered in All Ions mode over the 50–1000 *m*/z range at a rate of 6 spectra per second in both positive and negative ionisation modes. Three collision energies (0, 15, and 30 V) were used. Data were recorded in centroid mode.

5.3.7. Software and Databases

Mass spectrometry data were processed using MassHunter Qualitative Analysis software (Version 10, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). For targeted data mining, the Target/Suspect Screening workflow was applied, which uses the Find by Formula algorithm with the PCDL Mycotoxins PCDL B.07.00 database. For untargeted analyses, the Compound Discovery workflow was employed, based on the Molecular Feature Extraction algorithm. Metabolite identification was supported by comparison against the PCDL Metlin_Metabolites_AM_PCDL database.

Heatmaps were created to show the relative levels of DON and its metabolites across different treatment groups and timepoints. The colour gradient (green–yellow–red) indicates normalized signal intensity from LC-QTOF analysis, where green signifies low levels, yellow intermediate, and red high levels. White areas denote values below detection limits or non-detectable signals. This visual approach allows for comparison of relative differences between groups but does not convey actual concentration values.

5.4. Fatty Acid Profile Analysis by GC-FID

Fatty acids were analysed using a modified Folch lipid extraction, followed by methylation and gas chromatography. About 5 g of frozen larvae were ground in a ball mill (Millmix 20, Tehtnica, Slovenia; amplitude 20, 30 s). Four grams of the homogenized biomass were transferred into 50 mL Falcon tubes with 30 mL of chloroform (Chempur, Cat. No. 112344305; Chempur, Piekary Śląskie, Poland)–methanol (VWR, Cat. No. 200864.320; VWR International, Gdańsk, Poland) in a 2:1 (*v*/*v*) ratio. Extraction was carried out in two cycles, each involving 30 min of shaking (Eberbach EL.680.Q.25, 400 oscillations per minute) and 10 min of sonication (Ultron U504 bath, Dywity, Poland, at 90% power).

Filtrates were collected using Whatman grade 597½ filters (4–7 µm; Cytiva, Wilmington, DE, USA, Cat. No. 10311844) and evaporated under nitrogen at 60 °C. Lipid residues were stored overnight at 4 °C. For methylation, 10 mL of chloroform–methanol–sulfuric acid (100:100:1, *v*/*v*/*v*; Chempur, Cat. No. 115750002; Chempur, PiekaryŚląskie, Poland) was added. One milliliter of the mixture was sealed in glass ampoules and incubated at

100 °C for 2 h in a Wamed SUP 30 W oven (Wamed, Warsaw, Poland). After cooling, samples were diluted 20-fold in methanol before analysis.

5.4.1. Chromatographic Conditions

Fatty acid methyl esters (FAMEs) were analysed using a Perkin Elmer Clarus 500 GC-FID system (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) equipped with a ZB-FAME capillary column (30 m × 0.25 µm × 0.25 mm; Phenomenex, Torrance, CA, USA). The chromatographic separation was carried out under the following conditions: injection volume, 1 µL; split ratio, 50:1; oven temperature, 240 °C; carrier gas, helium; and constant flow, 40 cm/s. Oven program: 80 °C (2 min), ramp at 10 °C/min to 140 °C, ramp at 2 °C/min to 190 °C, ramp at 30 °C/min to 260 °C (hold 2 min), detector: FID at 260 °C, total runtime: 37 min.

5.4.2. Calibration and Identification

Quantification of fatty acids was performed using an external calibration curve prepared with pentadecanoic acid (C15:0; Sigma-Aldrich, Poznań, Poland, Cat. No. P6125). The calibration curve included five concentration levels (79.76, 99.70, 199.4, 398.8, and 797.6 µg/mL), each measured in triplicate. Concentrations of individual fatty acids were determined based on this calibration curve. For qualitative identification, retention times were compared with a certified FAME Mix standard (C4–C24; Sigma-Aldrich, Poznań, Poland, Cat. No. 18919), enabling the identification of individual fatty acids present in the samples.

5.5. Statistical Analysis

All data were tested for normality (Shapiro–Wilk test) and homogeneity of variances (Levene's test) before analysis. Differences between dietary groups (Control, A: 663 µg/kg DON, B: 913 µg/kg DON) and timepoints (week 1 vs. week 2) were assessed using one-way analysis of variance (ANOVA). Tukey's HSD test was used when ANOVA showed significant effects ($p < 0.05$). For non-parametric data, Kruskal–Wallis tests were performed, followed by Dunn's post hoc test with the Bonferroni correction. Results are presented as mean ± SD. Statistical analyses were conducted with Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA) and GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: https://www.mdpi.com/article/10.3390/toxins17100478/s1, Supplementary Material S1: Amino acids (LC MS assay), Supplementary Material S2: Fatty acids (GC FID assay).

Author Contributions: Conceptualization, T.B. and M.W.; methodology, M.W.; software, M.D. and Ł.N.; validation, M.W. and M.D.; formal analysis, M.W.; investigation, M.W. and K.W. and Ł.N.; resources, M.Ł.; data curation, M.D. and M.W.; writing—original draft preparation, M.W.; writing—review and editing, Ł.Z.; visualization, M.D.; supervision, Ł.Z.; project administration, T.B.; funding acquisition, M.Ł. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Minister of Science under the Regional Initiative of Excellence Program. Work carried out as part of the Industrial PhD program (4th edition) financed by the Polish Ministry of Education and Science (contract number: DWD/4/80/2020) and by the Department of Research and Development, Chemprof, Olsztyn.

Data Availability Statement: The original contributions presented in this study are included in the article and in the Supplementary Material. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

Acknowledgments: The authors gratefully acknowledge Altium International Sp. z o.o. (Warsaw, Poland) for providing access to the QTOF mass spectrometry equipment used in this study and for their valuable technical support during the analytical procedures. During the preparation of this study, the authors used ChatGPT 5 Pro (OpenAI) for the purposes of creating Figures 1–3. The authors have reviewed and edited the output and take full responsibility for the content of this publication.

Conflicts of Interest: Some of the authors are employees of companies (Marcin Wróbel, Michał Łuczyński, and Krzysztof Waśkiewicz—Chemprof; Łukasz Nowicki—Altium International Sp. z o.o.). The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

ANOVA	Analysis of Variance
DON	Deoxynivalenol
DOM-1	Deepoxy-deoxynivalenol
DHA	Docosahexaenoic Acid
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Eicosapentaenoic Acid
ESI	Electrospray Ionization
FID	Flame Ionization Detector
GC-FID	Gas Chromatography–Flame Ionization Detector
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
LC-QTOF	Liquid Chromatography–Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry
MS/MS	Tandem Mass Spectrometry
NIR	Near-Infrared Spectroscopy
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids

References

1. van Huis, A.; Oonincx, D.G.A.B. The environmental sustainability of insects as food and feed: A review. *Agron. Sustain. Dev.* **2017**, *37*, 43. https://doi.org/10.1007/s13593-017-0452-8.
2. Khanal, P.; Pandey, D.; Næss, G.; Cabrita, A.R.J.; Fonseca, A.J.M.; Maia, M.R.G.; Timilsina, B.; Veldkamp, T.; Sapkota, R.; Overrein, H. Yellow mealworms (*Tenebrio molitor*) as an alternative animal feed source: A comprehensive characterization of nutritional values and the larval gut microbiome. *J. Clean. Prod.* **2023**, *389*, 136104. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136104.
3. Tognocchi, M.; Conte, G.; Rossi, E.; Perioli, R.; Mantino, A.; Serra, A.; Mele, M. Characterization of polar and non-polar lipids of *Hermetia illucens* and *Tenebrio molitor* meals as animal feed ingredients. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2023**, *295*, 115524. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115524.
4. EFSA NDA Panel. Safety of dried yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA J.* **2021**, *19*, e06343. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6343.
5. Oliveira, M.; Vasconcelos, V. Occurrence of mycotoxins in fish feed and its effects: A review. *Toxins* **2020**, *12*, 160. https://doi.org/10.3390/toxins12030160.
6. Streit, E.; Schatzmayr, G.; Tassis, P.; Tzika, E.; Marin, D.; Taranu, I.; Tabuc, C.; Nicolau, A.; Aprodu, I.; Puel, O.; et al. Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed—Focus on Europe. *Toxins* **2012**, *4*, 788–809. https://doi.org/10.3390/toxins4100788.
7. Palumbo, R.; Crisci, A.; Venâncio, A.; Cortiñas Abrahantes, J.; Dorne, J.L.; Battilani, P.; Toscano, P. Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in cereal-based feed and food. *Microorganisms* **2020**, *8*, 74. https://doi.org/10.3390/microorganisms8010074.
8. Tolosa, J.; Rodríguez-Carrasco, Y.; Ruiz, M.J.; Vila-Donat, P. Multi-mycotoxin occurrence in feed, metabolism and carry-over to animal-derived food products: A review. *Food Chem. Toxicol.* **2021**, *158*, 112661. https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112661.
9. Morshedi, A.; Shakerardekani, A.; Karazhian, R.; Morshedi, M.; Valdes, M.E.; Mohammadi-Moghaddam, T.; Kariminejad, M. Mycotoxins' contamination in food and feeds: A review. *J. Food Chem. Nanotechnol.* **2023**, *9*, 141–149. https://doi.org/10.17756/jfcn.2023-160.

10. Niaz, W.; Iqbal, S.Z.; Ahmad, K.; Majid, A.; Haider, W.; Li, X. Mycotoxins: A comprehensive review of its global trends in major cereals, advancements in chromatographic detections and future prospectives. *Food Chem. X* 2025, *27*, 102350. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102350.
11. Liu, M.; Xia, Z.; Zhang, Y.; Yang, R.; Luo, W.; Guo, L.; Liu, Y.; Lamesgen, D.; Sun, H.; He, J.; et al. Contamination of aflatoxin B1, deoxynivalenol and zearalenone in feeds in China from 2021 to 2024. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2025, *16*, 66. https://doi.org/10.1186/s40104-025-01213-w.
12. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Deoxynivalenol in food and feed: Occurrence and exposure. *EFSA J.* 2013, *11*, 3379. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3379.
13. Pinotti, L.; Ottoboni, M.; Giromini, C.; Dell'Orto, V.; Cheli, F. Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain: A focus on cereal byproducts. *Toxins* 2016, *8*, 45. https://doi.org/10.3390/toxins8020045.
14. Sun, Y.; Jiang, J.; Mu, P.; Lin, R.; Wen, J.; Deng, Y. Toxicokinetics and metabolism of deoxynivalenol in animals and humans. *Arch. Toxicol.* 2022, *96*, 2639–2654. https://doi.org/10.1007/s00204-022-03337-8.
15. Payros, D.; Alassane-Kpembi, I.; Pierron, A.; Loiseau, N.; Pinton, P.; Oswald, I.P. Toxicology of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms. *Arch. Toxicol.* 2016, *90*, 2931–2957. https://doi.org/10.1007/s00204-016-1826-4.
16. Casu, A.; Camardo Leggieri, M.; Toscano, P.; Battilani, P. Changing climate, shifting mycotoxins: A comprehensive review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2024, *23*, e13323. https://doi.org/10.1111/1541-4337.13323.
17. Van der Fels-Klerx, H.J.; Liu, C.; Battilani, P. Modelling climate change impacts on mycotoxin contamination. *World Mycotoxin J.* 2016, *9*, 717–726. https://doi.org/10.3920/WMJ2016.2066.
18. Moretti, A.; Pascale, M.; Logrieco, A.F. Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. *Trends Food Sci. Technol.* 2019, *84*, 38–40. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.008.
19. Hooft, J.M.; Ferreira, C.; Lumsden, J.S.; Sulyok, M.; Krska, R.; Bureau, D.P. The effects of naturally occurring or purified DON on rainbow trout. *Aquaculture* 2019, *505*, 319–332. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.032.
20. Ochoa Sanabria, C.; Hogan, N.; Madder, K.; Gillott, C.; Blakley, B.; Reaney, M.; Beattie, A.; Buchanan, F. Yellow mealworm larvae (*T. molitor*) fed mycotoxin-contaminated wheat—A possible safe, sustainable protein source for animal feed? *Toxins* 2019, *11*, 282. https://doi.org/10.3390/toxins11050282.
21. van Broekhoven, S.; Mota Gutierrez, J.; de Rijk, T.C.; de Nijs, W.C.M.; van Loon, J.J.A. Degradation and excretion of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol by an edible insect, the yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.). *World Mycotoxin J.* 2017, *10*, 163–169. https://doi.org/10.3920/WMJ2016.2102.
22. Lu, K.; Song, Y.; Zeng, R. The role of cytochrome P450-mediated detoxification in insect adaptation to xenobiotics. *Curr. Opin. Insect Sci.* 2021, *43*, 103–107. https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.11.004.
23. Dermauw, W.; Van Leeuwen, T.; Feyereisen, R. Diversity and evolution of the P450 family in arthropods. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2020, *127*, 103490. https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2020.103490.
24. Evans, N.M.; Shao, S. Mycotoxin metabolism by edible insects. *Toxins* 2022, *14*, 217. https://doi.org/10.3390/toxins14030217.
25. Zhang, S.; Wang, Z.; Luo, Q.; Zhou, L.; Du, X.; Ren, Y. Effects of microbes on insect host physiology and behavior mediated by the host immune system. *Insects* 2025, *16*, 82. https://doi.org/10.3390/insects16010082.
26. Niermans, K.; Woyzichovski, J.; Kröncke, N.; Benning, R.; Maul, R. Feeding study for the mycotoxin zearalenone in yellow mealworm larvae—Investigation of biological impact and metabolic conversion. *Mycotoxin Res.* 2019, *35*, 231–242. https://doi.org/10.1007/s12550-019-00346-y.
27. Candian, V.; Scarpino, V.; Bona, A.; Tedeschi, R.; Blandino, M. Mycotoxins-contaminated wheat matrices bioconversion by Tenebrio molitor larvae (*Coleoptera: Tenebrionidae*). *Insect Sci.* 2025, *Early View*. https://doi.org/10.1111/1744-7917.70066.
28. Tangni, E.K.; Van Pamel, E.; Huybrechts, B.; Evelyne, D.; Els, V.H.; Els, D. Carry-over of some *Fusarium* mycotoxins in tissues and eggs of chickens fed experimentally mycotoxin-contaminated diets. *Food Chem. Toxicol.* 2020, *145*, 111715. https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111715.
29. Broekaert, N.; Devreese, M.; De Baere, S.; De Backer, P.; Croubels, S. Modified *Fusarium* mycotoxins unmasked: From occurrence in cereals to animal and human excretion. *Food Chem. Toxicol.* 2015, *80*, 17–31. https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.02.015.
30. Berthiller, F.; Crews, C.; Dall'Asta, C.; Saeger, S.D.; Haesaert, G.; Karlovsky, P.; Oswald, I.P.; Seefelder, W.; Speijers, G.; Stroka, J. Masked mycotoxins: A review. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013, *57*, 165–186. https://doi.org/10.1002/mnfr.201100764.
31. Gareis, M.; Bauer, J.; Thiem, J.; Plank, G.; Grabley, S.; Gedek, B. Cleavage of deoxynivalenol-3-glucoside during digestion in swine. *J. Vet. Med. Ser. B* 1990, *37*, 236–240. https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1990.tb01052.x.
32. Eccari, G.; Tini, F.; Jørgensen, H.J.L. Current advances in the metabolism of mycotoxins in plants. *Front. Plant Sci.* 2023, *14*, 1343855. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1343855.

33. Wang, Y.; Wang, G.; Dai, Y.; Wang, Y.; Lee, Y.-W.; Shi, J.; Xu, J. Biodegradation of deoxynivalenol by a novel microbial consortium. *Front. Microbiol.* 2020, *10*, 2964. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02964.
34. Pinto, A.C.S.M.; De Pierri, C.R.; Evangelista, A.G.; Gomes, A.S.d.L.P.B.; Luciano, F.B. Deoxynivalenol: Toxicology, degradation by bacteria, and phylogenetic analysis. *Toxins* 2022, *14*, 90. https://doi.org/10.3390/toxins14020090.
35. Cai, C.; Zhao, M.; Yao, F.; Zhu, R.; Cai, H.; Shao, S.; Li, X.-Z.; Zhou, T. Deoxynivalenol degradation by various microbial communities and its impacts on different bacterial flora. *Toxins* 2022, *14*, 537. https://doi.org/10.3390/toxins14080537.
36. Shamjana, U.; Vasu, D.A.; Hembrom, P.S.; Nayak, K.; Grace, T. The role of insect gut microbiota in host fitness, detoxification and nutrient supplementation. *Antonie Leeuwenhoek* 2024, *117*, 71. https://doi.org/10.1007/s10482-024-01970-0.
37. Piacenza, N.; Kaltner, F.; Maul, R.; Gareis, M.; Schwaiger, K.; Gottschalk, C. Distribution of T-2 toxin and HT-2 toxin during experimental feeding of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*). *Mycotoxin Res.* 2021, *37*, 11–21. https://doi.org/10.1007/s12550-020-00411-x.
38. Pietsch, C.; Michel, C.; Kersten, S.; Valenta, H.; Dänicke, S.; Schulz, C.; Kloas, W.; Burkhardt-Holm, P. In vivo effects of deoxynivalenol (DON) on innate immune responses of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Food Chem. Toxicol.* 2014, *68*, 44–52. https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.03.012.
39. Bernhoft, A.; Høgåsen, H.R.; Rosenlund, G.; Moldal, T.; Grove, S.; Berntssen, M.H.G.; Thoresen, S.I.; Alexander, J. Effects of dietary deoxynivalenol or ochratoxin A on performance and selected health indices in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Chem. Toxicol.* 2018, *121*, 374–386. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.079.
40. Wróbel, M.; Dąbrowski, M.; Łuczyński, M.; Bakuła, T.; Gruchała, N.; Zielonka, Ł. Bioconversion of deoxynivalenol-contaminated feed by yellow mealworm (*T. molitor*) larvae in the production of biomass intended for feed purposes. *Toxins* 2025, *17*, 420. https://doi.org/10.3390/toxins17080420.
41. Tian, Y.; Zhang, D.; Cai, P.; Lin, H.; Ying, H.; Hu, Q.-N.; Wu, A. Elimination of *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol (DON) via microbial and enzymatic strategies: Current status and future perspectives. *Trends Food Sci. Technol.* 2022, *124*, 96–107. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.002.
42. Bosch, G.; Swanson, K.S. Effect of using insects as feed on animals: Pet dogs and cats. *J. Insects Food Feed* 2021, *7*, 795–805. https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0084.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Streszczenie

Zanieczyszczenie pasz deoksyniwalenolem (DON) stanowi istotne zagrożenie dla zdrowia zwierząt i bezpieczeństwa żywności. W odpowiedzi na potrzebę rozwoju zrównoważonych źródeł białka i zagospodarowania surowców niskiej jakości to owady, w szczególności larwy mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*), mogą stanowić potencjalne narzędzie do biokonwersji skażonych pasz w bezpieczną i wartościową biomasę.

Celem badania była ocena wpływu DON na larwy mącznika młynarka oraz identyfikacja mechanizmów detoksykacji. W dwutygodniowym doświadczeniu larwy karmiono dietami zawierającymi DON w ilości 663 i 919 µg/kg (grupy A, B) oraz dietą kontrolną (K). Przeanalizowano przeżywalność, przyrost masy, zawartość DON i jego metabolitów w biomasie, a także profil aminokwasów i kwasów tłuszczowych po pierwszym i drugim tygodniu ekspozycji. Nie stwierdzono istotnego wpływu DON na przeżywalność ani wzrost larw. Kumulacja deoksyniwalenolu w biomasie była niska (≤32,18 µg/kg), natomiast w odchodach stwierdzono jej wysokie stężenia (>860 µg/kg), co wskazuje na efektywne wydalanie.

W larwach zidentyfikowano metabolity, takie jak DON-sulfonian, DON-3-glukuronid, DON-3-siarczan, DON-3-glukozyd i de-epoksy-DON (DOM-1), co potwierdza aktywność szlaków detoksykacyjnych obejmujących sulfonowanie, glukuronidację, siarczanowanie, glukozylację i de-epoksydację. Profil aminokwasowy ujawnił spadek poziomu większości aminokwasów egzo- i endogennych (m.in. kwasu asparaginowego i glutaminowego, lizyny, metioniny), przy jednoczesnym wzroście tryptofanu, co sugeruje adaptacyjne zmiany w metabolizmie białek. W profilu lipidowym dominowały kwasy oleinowy i linolowy, przy istotnym wzroście zawartości kwasu linolowego po dwóch tygodniach ekspozycji. Wyniki wskazują, że larwy *T. molitor* skutecznie metabolizują DON poprzez różne mechanizmy detoksykacji, jednak proces ten wiąże się z kosztami metabolicznymi, odzwierciedlonymi zmianami w metabolizmie aminokwasów i kwasów tłuszczowych.

Słowa kluczowe: deoksyniwalenol, *Tenebrio molitor*, biokonwersja pasz, detoksykacja, profil metaboliczny

Abstract

Feed contamination with deoxynivalenol (DON) poses a significant threat to animal health and food safety. In response to the need for sustainable protein sources and the utilization of low-quality raw materials, insects-particularly yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) are considered a potential tool for bioconverting contaminated feed into safe and valuable biomass.

The aim of this study was to assess the impact of DON on *T. molitor* larvae and to identify detoxification mechanisms. In a two-week experiment, larvae were fed diets containing DON at concentrations of 663 and 919 µg/kg (groups A and B) and a control diet (K). Survival, weight gain, DON content and its metabolites in the biomass, as well as amino acid and fatty acid profiles, were analyzed after the 1st and 2nd week of exposure. No significant effect of DON on larval survival or growth was observed. DON accumulation in the biomass was low (≤32,18 µg/kg), whereas high concentrations were detected in frass (>860 µg/kg), indicating efficient excretion.

Metabolites such as DON-sulfonate, DON-3-glucuronide, DON-3-sulfate, DON-3-glucoside, and de-epoxy-DON (DOM-1) were identified in larvae, confirming the activity of detoxification pathways including sulfonation, glucuronidation, sulfation, glycosylation, and de-epoxidation. The amino acid profile revealed a decrease in most essential and non-essential amino acids (e.g., aspartic and glutamic acids, lysine, methionine), accompanied by an increase in tryptophan, suggesting adaptive changes in protein metabolism. The lipid profile was dominated by oleic and linoleic acids, with a significant increase in linoleic acid after two weeks of exposure. These findings indicate that *T. molitor* larvae effectively metabolize DON through multiple detoxification mechanisms; however, this process entails metabolic costs, reflected in alterations of amino acid and fatty acid metabolism.

Keywords: deoxynivalenol; *Tenebrio molitor*; feed bioconversion; detoxification; metabolic profile

Wykaz skrótów

AFB1 – aflatoksyna B1

3-Ac-DON – 3-acetylo-deoksyniwalenol

15-Ac-DON – 15- acetylo-deoksyniwalenol

ANOVA – analiza wariancji

C14:1 cis-9 – kwas mirystoleinowy

C16:0 – kwas palmitynowy

C16:1 cis-9 – kwas palmitoleinowy

C18:0 – kwas stearynowy

C18:1 cis-9 – kwas oleinowy

C18:2 cis-9,12 – kwas linolowy

DOM-1 lub de-epoksy-DON – deepoksydeoksyniwalenol

DON – deoksyniwalenol

DON-sulfonian lub DON-S – sulfonian deoksyniwalenolu

DON-3-siarczan – 3-siarczan deoksyniwalenolu

DON-3-glukuronid – 3-glukuronid deoksyniwalenolu

DON-3-glukozyd lub DON-3G – 3-glukozyd deoksyniwalenolu

DHA – kwas dokozaheksaenowy

EFSA – Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności

EPA – kwas eikozapentaenowy

ESI – jonizacja elektrosprejem

FA – kwas mrówkowy

FB1 – fumonizyna B1

FID – detektor jonizacji płomieniowej

GC-FID – chromatografia gazowa z detekcją jonizacji płomieniowej

HPLC – wysokosprawna chromatografia cieczowa

LC-QTOF – chromatografia cieczowa sprzężona z spektrometrią mas typu czas-przelotu z analizatorem kwadrupolowym

MS/MS – tandemowa spektrometria mas

NIR – spektroskopia bliskiej podczerwieni

OTA – ochratoksyna A

PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe

LOD – granica wykrywalności

LOQ – granica oznaczalności

ZEN – zearalenon

1. Wstęp

1.1. Wyzwania żywnościowe i rola owadów w zrównoważonej produkcji białka

Zwiększające się zapotrzebowanie na żywność pozostaje w ścisłym związku ze stałym globalnym przyrostem populacji (Siddiqui i in., 2023; Gu i in., 2021). Jednocześnie rosnące zapotrzebowanie na zrównoważone źródła białka intensyfikuje wysiłki mające na celu znalezienie alternatywnych składników pasz i żywności. Wśród nich owady stały się obiecującą opcją ze względu na ich wartość odżywczą, efektywne wykorzystanie paszy i niewielki wpływ na środowisko (Huis i Oonincx, 2017; Khanal i in., 2023). Mącznik młynarek (*Tenebrio molitor*) wzbudza szczególne zainteresowanie, ponieważ jego larwy są bogate w białko, niezbędne aminokwasy, wielonienasycone kwasy tłuszczowe i mikroelementy (Khanal i in., 2023; Tognocchi i in., 2023) Już w 2017 roku owad ten rozporządzeniem Komisji (UE) nr 2017/893 zostały uznany za zwierzę hodowlane, a stosowanie przetworzonego białka zwierzęcego (PAP) pochodzącego z owadów zostało dozwolone do stosowania w paszach dla akwakultury, mięsożernych zwierząt futerkowych i zwierząt gospodarskich (Komisja Europejska, 2017). Od sierpnia 2021 r. dozwolone jest również stosowanie PAP pochodzącego z owadów w żywieniu trzody chlewnej i drobiu (Komisja Europejska, 2021). Warto podkreślić, że PAP (processed animal protein) to produkt paszowy, przeznaczony wyłącznie do żywienia zwierząt (Parlament Europejski i Rada, 2009).

Równolegle rozwijały się regulacje dotyczące owadów jako składnika żywności przeznaczonej dla ludzi. Rozporządzenie wykonawcze (UE) 2022/169 z dnia 8 lutego 2022 r. pozwoliło na wprowadzanie do obrotu mrożonych, suszonych i sproszkowanych larw mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) jako nowej żywności (*novel food*) dla ludzi (Komisja Europejska, 2022). „Novel food" to żywność lub składnik żywności, który nie był spożywany w znacznym stopniu na terenie Unii Europejskiej przed 15 maja 1997 r. i który musi przejść szczegółową procedurę oceny bezpieczeństwa oraz autoryzacji przed dopuszczeniem do obrotu (Parlament Europejski i Rada, 2015). Opinie naukowe EFSA z lat 2023 i 2025 dotyczące proszku z larw *Tenebrio molitor* poddanego działaniu promieniowania UV oraz form mrożonych i suszonych stanowią kompleksową ocenę bezpieczeństwa tych produktów jako nowej żywności i potwierdzają ich przydatność jako alternatywnego źródła białka w diecie człowieka (EFSA NDA Panel, 2023; EFSA NDA Panel, 2025). Przemysłowa produkcja owadów to ekonomicznie opłacalna, energooszczędna i przyjazna dla środowiska

metoda produkcji białka. Powoduje ona mniejsze zanieczyszczenie środowiska niż tradycyjna hodowla zwierząt gospodarskich (Gahukar, 2016; Siddiqui i In., 2023). Zdolność larw mącznika młynarka do biokonwersji niskowartościowych surowców roślinnych i produktów ubocznych rolnictwa w wysokiej jakości, bogatą w białko biomasę sprawia, że owad ten staje się obiecującym elementem w modelach gospodarki o obiegu zamkniętym (Van Broekhoven i in., 2015; Khanal i in., 2023; Tognocchi i in., 2023).

1.2. Właściwości odżywcze mącznika młynarka i jego potencjał w produkcji pasz

Larwy *Tenebrio molitor* charakteryzują się dobrymi właściwościami odżywczymi, ponieważ zawierają 45-60 % białka surowego w suchej masie, o korzystnym profilu aminokwasowym, zawierającym niezbędne aminokwasy, takie jak leucyna, lizyna, tyrozyna i walina (Van Broekhoven i in., 2015; Rumpold i Schlüter, 2013; Hong i in., 2020). Suszone larwy zawierają 25-35 % tłuszczu, w tym korzystne jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe (Khanal i in., 2023; Tognocchi i in., 2023). Jednak wartość odżywcza tych owadów może różnić się w zależności od fazy rozwojowej, warunków produkcji i składu paszy (Kröncke i in., 2023; Meyer-Rochow i in., 2021). Ten korzystny profil odżywczy sprawia, że mączka i olej z mącznika młynarka stanowią atrakcyjną alternatywę dla konwencjonalnych składników pochodzenia morskiego. Badania żywieniowe wykazały, że częściowe zastąpienie mączki rybnej białkiem pochodzącym z owadów może utrzymać, a nawet poprawić wydajność wzrostu, efektywność karmienia i zdrowie jelit u gatunków takich jak tilapia, pstrąg tęczowy i łososiowate, pod warunkiem, że dieta jest odpowiednio zbilansowana, aby zaspokoić zapotrzebowanie na niezbędne aminokwasy i kwasy tłuszczowe (Huis i Oonincx, 2017). Jako, że olej z mącznika młynarka, bogaty jest w kwasy oleinowy i linolowy (Van Broekhoven i in., 2015; Rumpold i Schlüter, 2013; Hong i in., 2020), dlatego może częściowo zastąpić olej rybi w paszach dla ryb. Jednak suplementacja długołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi n-3 (EPA, DHA) z innych źródeł nadal pozostaje kluczowa (Khanal i in., 2023; Tognocchi i in., 2023). Zastosowanie mącznika młynarka w procesie produkcji pasz dla ryb hodowlanych przyczynia się do zrównoważonego rozwoju, ponieważ redukuje presję na dzikie populacje ryb oraz obniża negatywny wpływ akwakultury na środowisko naturalne. Działania takie wspierają jednocześnie gospodarkę o obiegu zamkniętym poprzez recykling ubocznych produktów rolnictwa w celu pozyskania

wartościowych składników paszowych (Khanal i in., 2023; Makkar i in., 2014). Vandeweyer i in. (2021) podkreślają, że wykorzystanie larw *T. molitor* jako składnika paszy wiąże się ze znacznym ryzykiem dla bezpieczeństwa biologicznego, zwłaszcza w przypadku bakterii chorobotwórczych i mikotoksyn. Bakterie tworzące przetrwalniki, *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp. i *Staphylococcus aureus* są najczęściej zgłaszanymi zagrożeniami mikrobiologicznymi związanymi z hodowlą mącznika młynarka. Mikroorganizmy te mogą przetrwać w jelitach larw lub w postaci przetrwalników, co utrudnia ich eliminację konwencjonalnymi metodami przetwarzania.

1.3. Deoksyniwalenol (DON) i jego znaczenie w kontekście bezpieczeństwa żywności

Jednym z głównych zagrożeń dla bezpieczeństwa żywności i pasz jest zanieczyszczenie mikotoksynami. Te toksyczne metabolity wtórne grzybów strzępkowych z rodzaju *Fusarium*, *Aspergillus* i *Penicillium*, powszechnie występują w ziarnach zbóż (Oliveira i Vasconcelos, 2020, Streit i in., 2012; Palumbo i in., 2020; Tolosa i in., 2021). Szacuje się, że skażeniem dotkniętych jest nawet 25 % światowych upraw, a w przypadku niektórych produktów, zwłaszcza zbóż, odsetek ten przekracza 60-80 % (Morshedi i in., 2023; Niaz i in., 2025; Liu i in., 2025).

Wśród mikotoksyn to deoksyniwalenol (DON), który jest wytwarzany w największych ilościach przez *Fusarium graminearum* i *Fusarium culmorum*, jest jedną z najczęściej wykrywanych substancji w pszenicy, kukurydzy, jęczmieniu i owsie (Palumbo i in., 2020; Tolosa i i n., 2021; EFSA, 2013; Pinotti i in., 2016). Deoksyniwalenol, zaliczany jest do trichotecenów typu B, które wyróżnia obecność grupy ketonowej w pozycji C-8. Kluczowym elementem strukturalnym warunkującym jego toksyczność jest grupa epoksydowa zlokalizowana w pierścieniu (Sobrova i in., 2010; Feizollahi i Roopesh, 2021). Obecność tej grupy umożliwia tworzenie wiązań wodorowych oraz interakcji z podjednostką 60S rybosomu. Wiążąc się z miejscem A (aminoacylowym) w centrum peptydylotransferazy rybosomu, DON fizycznie blokuje dostęp do tego regionu, co prowadzi do zahamowania elongacji i w konsekwencji do przerwania syntezy białek i stresu rybotoksycznego (Pestka, 2007; Payros i in., 2016; Knutsen i in., 2017). Deoksyniwalenol często występuje w towarzystwie swoich acetylowanych pochodnych, w tym 3-acetylo-DON (3-Ac-DON) i 15-acetylo-DON (15-Ac-DON) (EFSA, 2013, 2014). Deoksyniwalenol jest najbardziej

rozpowszechniony w regionach o klimacie umiarkowanym, w tym w Europie (szczególnie północnej i środkowej), Ameryce Północnej, Azji Wschodniej i Chinach (Gruber-Dorninger i in., 2019; DSM, 2021; Binder i in., 2007; Wei i in., 2022; Chen i in., 2022, Muñoz-Solano i González-Peñas, 2023; Liu i in., 2025; Casu i in., 2024). Co istotne, scenariusze zmian klimatu przewidują zwiększone ryzyko występowania DON i innych mikotoksyn w Europie i na świecie, co podkreśla znaczenie skutecznych strategii zarządzania tym zagrożeniem (Casu i in., 2024; Van der Fels-Klerx i in., 2016; Moretti i in., 2019). Patogenne grzyby mogą kolonizować uprawy w okresie wzrostu lub produkty rolne w okresie przechowywania. Mikotoksyny stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia i dobrostanu ludzi i zwierząt oraz budzą poważne obawy dotyczące bezpieczeństwa żywności (Bryden, 2012). Ta duża grupa związków chemicznych może powodować szereg niekorzystnych skutków zdrowotnych zarówno u zwierząt, jak i u ludzi (Alshannaq i Yu, 2017). Chociaż istnieją różne metody dekontaminacji pasz, nie zawsze są one wystarczająco skuteczne i mogą wiązać się z dodatkowymi kosztami (Dänicke i in., 2004; Xu i in., 2022). Deoksyniwalenol uważany jest za związek termostabilny, który może wytrzymać temperatury do 350 °C i jest trudny do wyeliminowania poprzez obróbkę cieplną (Mousavi Khaneghah i in., 2018; Kamle i in., 2022).

W Unii Europejskiej orientacyjne poziomy deoksyniwalenolu w paszach dla zwierząt, zależnie od rodzaju paszy i gatunku zwierząt, wynoszą od 0,9 do 12 mg/kg (Komisja Europejska, 2006). Natomiast najwyższe dopuszczalne poziomy DON w żywności zostały określone w Rozporządzeniu Komisji (UE) 2023/915, z późniejszą zmianą wprowadzoną Rozporządzeniem (UE) 2024/1022. Wartości te różnią się w zależności od kategorii produktu i mieszczą się w zakresie od 150 µg/kg w przypadku żywności przeznaczonej dla niemowląt i małych dzieci do 1750 µg/kg dla nieprzetworzonych ziaren owsa z niejadalną łuską. (Komisja Europejska, 2023; Komisja Europejska, 2024). Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) sklasyfikowała DON jako substancję grupy 3, co oznacza, że nie jest rakotwórcza dla ludzi (IARC, 2023). Gatunki zwierząt różnią się pod względem wrażliwości na DON (Pestka, 2007; Dänicke i in., 2004). Obecność deoksyniwalenolu w diecie może powodować ostre objawy żołądkowo-jelitowe, takie jak wymioty, zarówno u zwierząt, jak i u ludzi (Knutsen i in., 2017). Badania na zwierzętach wykazały, że przewlekła ekspozycja na DON zaburza syntezę białek, upośledza przyrost masy ciała, zmniejsza efektywność wykorzystania paszy i negatywnie wpływa na układ odpornościowy (Bryden, 2012; Evans i Shao, 2022). Zanieczyszczenie paszy tą mikotoksyną wpływa na wydajność chowu zwierząt poprzez zmniejszenie spożycia paszy, wzrostu, zdrowia jelit i odporności (EFSA, 2013; Sun

i in., 2022; Payros i in., 2016). U ludzi ostra ekspozycja może powodować nudności, wymioty i bóle brzucha, natomiast długotrwała ekspozycja wiąże się z osłabieniem odporności i potencjalnymi problemami metabolicznymi (Payros i in., 2016).

1.4. Toksykokinetyka DON u zwierząt

Toksykokinetyka i metabolizm DON były szeroko badane u kręgowców. Po spożyciu, DON szybko wchłania się w przewodzie pokarmowym i jest dystrybuowany do tkanek (EFSA, 2013; Sun i in., 2022). U świń, które należą do najbardziej wrażliwych gatunków zwierząt gospodarskich, zdolność detoksykacyjna jest ograniczona. DON występuje głównie w osoczu i moczu jako związek macierzysty lub w formie koniugatów glukuronidowych, powodując znaczne straty wydajności produkcji nawet przy niskich poziomach w diecie (EFSA, 2013; Sun i in., 2022; Pestka, 2007; Dänicke i in., 2004). U drobiu tolerancja jest wyższa ze względu na szybszy pasaż jelitowy i skuteczniejsze sprzęganie w wątrobie, przy czym głównym metabolitem jest DON-3-glukuronid (EFSA, 2013; Sun i in., 2022). U przeżuwaczy aktywność mikrobiologiczna w żwaczu zapewnia naturalną ścieżkę detoksykacji poprzez de-epoksydację do de-epoxy-DON (DOM-1), mniej toksycznego metabolitu (EFSA, 2013; Sun i in., 2022). Skuteczność detoksykacji może się jednak różnić w zależności od stanu żwacza, diety i różnorodności mikroorganizmów (Tolosa i in., 2021). Gatunki ryb i akwakultury również wykazują różną wrażliwość na DON, przy czym uważa się że pstrąg tęczowy jest szczególnie wrażliwy. Metabolizm u tych gatunków zależy głównie od koniugacji wątrobowej i aktywności mikrobiologicznej (Hooft i in., 2019). Te różnice międzygatunkowe podkreślają, jak ważne jest przeprowadzanie gatunkowo-specyficznych ocen toksykokinetycznych aby rzetelnie ocenić ryzyko związane z obecnością DON u zwierząt hodowanych na cele żywnościowe. Owady stanowią wyjątkowy i stosunkowo słabo poznany model do badania metabolizmu mikotoksyn. Wykazano, że larwy mącznika młynarka tolerują diety zanieczyszczone deoksyniwalenolem bez znaczącej śmiertelności lub zahamowania wzrostu (Ochoa Sanabria i in., 2019; Van Broekhoven i in., 2017). Kilka badań sugeruje, że owady mogą biotransformować DON w mniej toksyczne metabolity, prawdopodobnie poprzez hydroksylację i de-epoksydację za pośrednictwem cytochromu P450, a następnie uruchamiane są szlaki koniugacji, takie jak glukozylacja lub siarkowanie (Van Broekhoven i in., 2017; Lu i in., 2021; Dermauw i in., 2020; Evans i Shao, 2022). Co ważne, mikrobiota jelitowa owadów może odgrywać ważną rolę podobną do mikrobiomu

żwacza u bydła, wspomagając rozkład DON (Zhang i in., 2025). Badania eksperymentalne na mączniku młynarku wykazały, że posiada on zdolność biokonwersii innych mikotoksyn, w tym zearalenonu i toksyn T-2/HT-2, co dodatkowo podkreśla wszechstronność metaboliczną owadów (Van Broekhoven i in., 2017; Niermans i in., 2019; Candian i in., 2025). Poza detoksykacją, ekspozycja na DON może zmieniać metabolizm składników odżywczych u owadów. U larw mącznika młynarka (*Tenebrio molitor)* spożycie deoksyniwalenolu jest powiązane ze zmianami w profilach kwasów tłuszczowych, takimi jak zmniejszenie ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i zmianą stosunku n-3/n-6, a także z zaburzeniami wykorzystania aminokwasów i obiegu białek (Tognocchi i in., 2023; Evans i Shao, 2022). Odkrycia te sugerują, że chociaż larwy mogą łagodzić toksyczność mikotoksyn, to proces ten może wiązać się z kosztami metabolicznymi, które wpływają na skład biomasy i wartość odżywczą.

1.5. Znaczenie badań nad metabolizmem DON w *Tenebrio molitor*

Z praktycznego punktu widzenia zrozumienie przemian metabolicznych DON w organizmie *Tenebrio molitor* jest kluczowe z dwóch głównych powodów. Po pierwsze, zapewnia bezpieczeństwo biomasy owadów wykorzystywanej jako składniki pasz i żywności, ustalając, czy DON lub jego metabolity pozostają w tkankach (Ochoa Sanabria i in., 2019). Po drugie, podkreśla potencjał owadów jako biologicznych narzędzi do waloryzacji zanieczyszczonych pasz, przekształcające nieużyteczne materiały w bezpieczne i wartościowe źródła białka i lipidów (Khanal i in., 2023; Mannaa i in. 2023; Ravi i In., 2020). Poza tym, że owady mogą być nowym wartościowym składnikiem paszy dla zwierząt lądowych, larwy mącznika młynarka są szczególnie obiecujące dla akwakultury. Sektor ten boryka się z coraz większymi problemami, ponieważ do produkcji tradycyjnych źródeł mączki rybnej i oleju, wykorzystuje się masowo dziko żyjące ryby, co jest niekorzystne dla środowiska naturalnego (Huis i Oonincx, 2017; Khanal i in., 2023).

2. Hipotezy, cele badawcze oraz zakres badań

2.1. Hipotezy badawcze

W oparciu o analizę problemu badawczego oraz aktualny stan wiedzy dotyczącej skażenia pasz mikotoksynami, biologii i hodowli mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) oraz jego tolerancji na deoksyniwalenol (DON), sformułowano następujące hipotezy badawcze, które stanowią podstawę realizacji niniejszych badań.

H1: Larwy *Tenebrio molitor* tolerują obecność deoksyniwalenolu (DON) w paszy bez istotnego wpływu na przeżywalność i tempo wzrostu.

H2: DON nie kumuluje się w biomasie larw w ilościach przekraczających dopuszczalne limity bezpieczeństwa dla pasz i żywności.

H3 Detoksykacja DON w larwach *T. molitor* zachodzi wieloma szlakami biotransformacji, prowadząc do powstania mniej toksycznych metabolitów.

H4: Proces detoksykacji DON powoduje zmiany w metabolizmie larw, w tym w profilu aminokwasowym i kwasów tłuszczowych.

2.2. Cele badawcze

Głównym celem projektu było zbadanie możliwości i efektywności biodegradacji deoksyniwalenolu (DON) w paszach skontaminowanych tą mikotoksyną przy wykorzystaniu larw mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*). Badania miały na celu opracowanie podstaw technologii produkcji bezpiecznej biomasy owadziej przeznaczonej na cele paszowe oraz identyfikację produktów degradacji DON. Realizacja celu głównego wymagała podjęcia następujących zadań badawczych:

Cele szczegółowe:

C1: Ocena wpływu różnych stężeń DON w diecie na przeżywalność i przyrost masy larw *T. molitor*.

C2: Określenie poziomu akumulacji DON w biomasie larw oraz w odchodach.

C3: Identyfikacja metabolitów DON w larwach i charakterystyka głównych szlaków detoksykacji.

C4: Analiza zmian w metabolizmie larw narażonych na DON, obejmująca m.in. profil aminokwasowy i kwasów tłuszczowych.

2.3. Zakres badań

Zakres badań mający na celu zweryfikowanie hipotez badawczych obejmował:

Przygotowanie materiału badawczego

Pierwszym etapem procedury badawczej było wytypowanie paszy podstawowej i określenie jej składu chemicznego. Następnie pasza ta została wzbogacona deoksyniwalenolem (DON) do określonych stężeń, a zawartość DON w paszy została potwierdzona ilościowym oznaczeniem z wykorzystaniem chromatografii LC-MS/MS.

Eksperyment hodowlany

Badanie zostało przeprowadzone z wykorzystaniem trzech grup eksperymentalnych. Grupa kontrolna otrzymywała paszę bazową. Grupy eksperymentalne były żywione paszą skażoną DON odpowiednio 663 µg/kg (grupa A) i 919 µg/kg (grupa B). Larwy do analizy były pobierane w dwóch punktach czasowych: po pierwszym i drugim tygodniu trwania doświadczenia.

Analizy laboratoryjne

Zakres analiz laboratoryjnych obejmuje trzy główne obszary badawcze:

Analiza parametrów hodowlanych, które dotyczyły rozwoju i przeżywalności larw: Wykonano pomiary masy larw, zliczono ilości poczwarek, osobników dorosłych oraz osobników martwych.

Oznaczenie zawartości DON i jego metabolitów: Oznaczono ilościowo zawartość DON w larwach oraz ich odchodach z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Wykorzystując spektrometrię mas wysokiej rozdzielczości (LC-QTOF) przeprowadzono identyfikację i oznaczanie profilu metabolitów DON w larwach.

Analiza profilu aminokwasów i kwasów tłuszczowych: Przeprowadzono analizę profilu wolnych aminokwasów w larwach z użyciem LC-QTOF oraz analizę profilu kwasów tłuszczowych w larwach z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID).

Interpretacja wyników

Na podstawie zebranych danych z pomiarów hodowlanych i analiz laboratoryjnych przeprowadzono kompleksową interpretację wyników. Zebrane informacje pozwoliły na sformułowanie wniosków i zweryfikowanie hipotez badawczych.

3. Materiały i metody

3.1. Materiał biologiczny i przebieg eksperymentu

Materiał badawczy stanowiły 19 tygodniowe larwy mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) pochodzące z komercyjnej hodowli TENEBRIA Sp. z o.o. (Polska). Średnia masa ciała larw na początku eksperymentu wynosiła 112,47 mg ± 23,95 mg. Larwy zostały losowo podzielone na trzy grupy żywieniowe, po sześć powtórzeń w każdej grupie. Każde powtórzenie obejmowało około 50 g larw umieszczonych w polipropylenowych pojemnikach o wymiarach 31 x 17 x 9.5 cm (dł. x szer. x wys.). Hodowlę prowadzono w kontrolowanych warunkach w inkubatorze Memmert HPP 749 (Memmert, Schwabach, Niemcy) przy temperaturze 27 °C ± 2 °C oraz wilgotności 70 % ± 5 % RH.

Do przygotowania eksperymentalnych diet wykorzystano paszę bazową, której skład chemiczny określono za pomocą spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIR) przy użyciu analizatora Foss InfraXact™ (FOSS Poland, Warszawa, Poland). Diety przygotowano poprzez dodanie do paszy bazowej deoksyniwalenolu (DON; Sigma Aldrich, Poznań, Polska). Wzorzec DON rozpuszczono w metanolu, a następnie roztwór równomiernie rozpylono na paszę i dokładnie wymieszano w celu uzyskania jednorodnej mieszaniny. Następnie paszę suszono w temperaturze 50 °C pod zmniejszonym ciśnieniem w celu całkowitego usunięcia rozpuszczalnika. Ostateczne stężenia DON w dietach eksperymentalnych oznaczono metodą LC-MS/MS i wynosiły one odpowiednio: 28,71 µg/kg w diecie kontrolnej (grupa K), 663 µg/kg w diecie z niską dawką DON (grupa A) oraz 919 µg/kg w diecie z wysoką dawką DON (grupa B). Ostateczny skład pasz eksperymentalnych dla poszczególnych grup badawczych przedstawia tabela nr 1.

Tabela 1. Skład podstawowy trzech pasz eksperymentalnych.

Składnik	**Zawartość [%]**		
	Pasza K	**Pasza A**	**Pasza B**
Popiół	6,64		
Włókno surowe	3,99		
Skrobia	37,68		
Białko	23,64		
Tłuszcz	5,28		
Wilgotność	10,61		
	Zawartość mikotoksyny (µg/kg)		

DON	28,71	663	919

Eksperyment hodowlany trwał dwa tygodnie. Grupa kontrolna (K) otrzymywała paszę bazową, natomiast grupy eksperymentalne (A i B) karmiono paszami zanieczyszczonymi deoksyniwalenolem. Larwy karmiono raz dziennie o godzinie 17:00 mieszanką składającą się z 80 % suchej paszy i 20 % rozdrobnionej marchewki, która stanowiła źródło wody. Dzienne dawki paszy zwiększano proporcjonalnie do wzrostu masy larw, zgodnie z ustalonym planem (P1 tabela nr 6). Podczas trwania eksperymentu codziennie monitorowano śmiertelność larw. Po upływie pierwszego oraz drugiego tygodnia eksperymentu, z każdej grupy pobrano połowę powtórzeń (n = 3) do dalszych analiz. Larwy owadów oddzielono od niezjedzonej paszy i odchodów. Wykorzystując sita z wielkością oczek 0,5 mm odseparowano odchody owadów. W celu oczyszczenia przewodu pokarmowego z pozostałości paszy, larwy poddano 24-godzinnej głodówce, a następnie je zważono. Przed wykonaniem pozostałych badań larwy zostały poddane eutanazji poprzez zamrożenie w temperaturze -24 °C.

3.2. Metody badawcze

3.2.1. Oznaczenie zawartości deoksyniwalenolu w larwach i odchodach

Deoksyniwalenol z zamrożonych próbek larw i odchodów ekstrahowano według procedury opisanej w publikacji P1 punkt *5.4. Extraction of Deoxynivalenol from Larvae and Frass*. Każdą próbkę przygotowano w trzech powtórzeniach. Zawartość deoksyniwalenolu oznaczano za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Analizy przeprowadzono na systemie Agilent 1260 Infinity II sprzężonym z detektorem potrójnego kwadrupola Agilent 6470 Triple Quadrupole (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Rozdział chromatograficzny próbek wykonano z użyciem kolumny Agilent Poroshell 120 SB-C18 (Agilent, Santa Clara, CA, USA, 2,7 µm, 2,1 × 100 mm). Zastosowane warunki chromatograficzne zaprezentowano w tabeli nr 2.

Źródło jonów pracowało w trybie ESI+ przy następujących parametrach: temperatura gazu 250 °C, przepływ gazu 8 L/min, ciśnienie nebulizatora 45 psi, temperatura gazu osłaniającego 350 °C, przepływ 11 L/min oraz napięcie kapilarne 3300 V. Detekcję DON prowadzono w trybie monitorowania wybranych reakcji (MRM) z wykorzystaniem przejść jonowych: m/z 297,2 → 249,2 (jon kwantyfikujący) oraz m/z 297,2 → 203,2 (jon

kwalifikujący). Granica wykrywalności (LOD) wynosiła ok. 2 ng/g, a granica oznaczalności (LOQ) 6 ng/g.

Tabela 2. Warunki chromatograficzne LC-MS/MS do oznaczenia zawartości DON.

Parametr	Wartość		
Faza ruchoma	A) H_2O z dodatkiem 0,2 % FA, 5 mM mrówczanu amonu i 0,5 mM fluorku amonu B) Metanol z dodatkiem 0,2 % FA i 0,5 mM fluorku amonu		
Przepływ	0,5 ml/min		
Warunki gradientowe	Czas (min)	A [%]	B [%]
	0	90	10
	1	90	10
	2	50	50
	10	5	95
	14	5	95
	18	90	10
Wielkość nastrzyku	40 µl H_2O + 2,5 µl próbki (nastrzyk kanapkowy)		
Temperatura kolumny	40 °C		
Czas analizy	28 min		

3.2.2. Analiza DON i jego metabolitów.

Do oznaczenia deoksyniwalenolu oraz jego metabolitów i wolnych aminokwasów zastosowano wspólną procedurę ekstrakcji. Zmielone próbki zamrożonej biomasy larw ekstrahowano z wykorzystaniem trzech rozpuszczalników ekstrakcyjnych: (i) metanol, (ii) metanol-woda (1:1, v/v) oraz (iii) woda, każdy z dodatkiem 0,1 % kwasu mrówkowego. Etapy ekstrakcji są szczegółowo opisane w rozdziale 5.3.1 publikacji P2. Zastosowanie trzech różnych rozpuszczalników miało na celu uwzględnienie zróżnicowanej polarności poszukiwanych analitów. Ekstrakty wykazujące najwyższą ogólną obfitość sygnału i powtarzalność w analizie LC-QTOF zostały wybrane do interpretacji uzyskanych wyników. Strategia ta zapewniła skuteczne wykrywanie metabolitów DON i aminokwasów, minimalizując jednocześnie ryzyko selektywnego niedoszacowania z powodu polarności rozpuszczalnika. Uzyskane próbki przebadano z wykorzystaniem systemu HPLC połączonego ze spektrometrem masowym Agilent Revident Q-TOF (Agilent Technologies, Santa Clara,

CA, USA) wyposażonym w źródło jonów Agilent JetStream Dual ESI. Dane zbierano w trybie All Ions w zakresie 50-1000 m/z, z prędkością 6 widm na sekundę, zarówno w trybie jonizacji dodatniej, jak i ujemnej z trzema poziomami energii kolizji (0, 15, 30 V). Badania wykonano z wykorzystaniem chromatografu cieczowego Q-TOF udostępnionego przez firmę Altium International Sp. z o.o. (Warsaw, Poland). Szczegółowe parametry chromatograficzne oraz etapy ekstrakcji opisano w publikacji P2 rozdziale *5.3. Determination of Deoxynivalenol, Its Metabolites, and Free Amino Acids Using HPLC-Q-TOF*

3.2.3. Analiza wolnych aminokwasów

Skład jakościowy wolnych aminokwasów oznaczono w próbkach ekstrahowanych z wykorzystaniem wody. Sposób ekstrakcji opisano w publikacji P2 rozdziale *5.3. Determination of Deoxynivalenol, Its Metabolites, and Free Amino Acids Using HPLC-Q-TOF.* Profil aminokwasów oznaczono w trybie jonizacji negatywnej.

3.2.4. Analiza profilu kwasów tłuszczowych

W celu oznaczenia profilu kwasów tłuszczowych z biomasy larw mącznika młynarka zastosowano zmodyfikowaną procedurę ekstrakcji lipidów metodą Folcha, połączoną z metylacją i analizą za pomocą chromatografii gazowej. Do badania wykorzystano 4 gramy homogenizowanej zamrożonej biomasy larw, którą dwukrotnie ekstrahowano mieszaniną chloroformu i metanolu (2:1, v/v). Próbki wstrząsano mechaniczne oraz poddano sonikacji w celu zwiększenia wydajności procesu ekstrakcji. Otrzymane ekstrakty odfiltrowano, a rozpuszczalnik odparowywano w atmosferze azotu. Pozostałość lipidową poddano metylacji, dodając mieszaninę chloroformu, metanolu i 96 % kwasu siarkowego (100:100:1, v/v/v), a następnie inkubując w temperaturze 100 °C przez 2 godziny. Próbki ochłodzono i rozcieńczono, uzyskując estry metylowe kwasów tłuszczowych, które przekazano do analizy metodą chromatografii gazowej. Szczegółowe dane odnośnie przygotowania próbek do badania zawarte są w P2 rozdział nr 5.4.

Analizy przeprowadzono na chromatografie gazowym Perkin Elmer Clarus 500 wyposażonym w detektor płomieniowo-jonizacyjny (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA). Warunki chromatograficzne przedstawiono w tabeli nr 3. Identyfikację jakościową poszczególnych kwasów tłuszczowych przeprowadzono na podstawie porównania czasów retencji analizowanych pików z certyfikowanym standardem F.A.M.E Mix (C4-C24) (C4-C24; Sigma-Aldrich, Poznań, Poland, numer katalogowy: 18919). Do oznaczenia ilościowego

kwasów tłuszczonych użyto pięciopunktowej krzywej wzorcowej wykonanej z użyciem wzorca kwasu pentadekanowego (C15:0; Sigma-Aldrich, Poznań, Poland, numer katalogowy: P6125).

Tabela 3. Warunki chromatograficzne GC-FID do oznaczeniu kwasów tłuszczowych.

Parametr	Wartość
Kolumna	ZB-FAME (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm)
Nastrzyk	współczynnik podziału próbki 50:1, 240 °C, 1 µL
Program grzewczy	80 °C (2 min) 10 °C/min do 140 °C 2 °C/min do 190 °C 30 °C/min do 260 °C (2 min)
Przepływ gazu	hel, 40 cm/sec (stały przepływ)
Przepływ gazu w detektorze	powietrze zero plus: 450 ml/min, wodór: 45 ml/min
Detektor	FID, 260 °C
Czas analizy	37 min

3.2.5. Analiza statystyczna do oceny wyników

Przed przystąpieniem do właściwych analiz, wszystkie dane były sprawdzane pod kątem normalności rozkładu za pomocą testu Shapiro-Wilka oraz jednorodności wariancji przy użyciu testu Levene'a. W analizie różnic między grupami oraz między punktami pomiarowymi zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). W przypadku, gdy ANOVA wykazała istotne statystycznie efekty ($p < 0,05$), to do dalszych porównań post hoc używano testu HSD Tukeya. Natomiast dla danych nieparametrycznych (np. stężenie DON w larwach i odchodach) wykorzystywano testy Kruskala-Wallisa. W publikacji P2, dla danych nieparametrycznych po teście Kruskala-Wallisa stosowano test post hoc Dunna z korekcją Bonferroniego. W obu publikacjach różnice uznawano za istotne statystycznie, jeśli wartość p była mniejsza niż 0,05 ($p < 0,05$). Wyniki wszystkich analiz przedstawiano jako średnia ± odchylenie standardowe (SD). Analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu oprogramowania Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA) i GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

4. Wyniki

4.1. Wpływ deoksyniwalenolu na rozwój larw

Na podstawie przeprowadzonych badań, stwierdzono, że obecność deoksyniwalenolu (DON) w paszy na poziomach 663 µg/kg i 919 µg/kg nie miała istotnego statystycznie wpływu na rozwój larw zarówno po pierwszy jak i drugim tygodniu doświadczenia. Nie zaobserwowano negatywnego wpływu na przyrost masy ciała larw. Szybkość wzrostu biomasy była porównywalna we wszystkich grupach i wynosiła po 2 tygodniach od 74,78 % do 79,74 % w stosunku do początkowej masy (P1, tabela 2). Ponadto wyniki wykazały, że śmiertelność larw nie różniła się znacząco pomiędzy grupą kontrolną karmioną paszą bez dodatku DON (grupa K), a grupami doświadczalnymi żywionymi skontaminowaną paszą (A i B). Całkowita liczba martwych larw po dwóch tygodniach eksperymentu wynosiła odpowiednio 190,67 ± 32,52 (K), 172,67 ± 8,14 (A) oraz 158,67 ± 10,41 (B), a testy statystyczne również nie wykazały różnic między grupami. Co więcej przekształcanie się larw w poczwarki i owady dorosłe przebiegało bez zakłóceń, ponieważ ich liczba na koniec eksperymentu nie wykazywała różnic statystycznych i wynosiła odpowiednio 83,67 ± 12,01 (K), 103,33 ± 2,08 (A) oraz 103,33 ± 8,62 (B). (P1, tabela 1).

4.2. Kumulacja DON w biomasie larw

Analiza zawartości deoksyniwalenolu w biomasie larw *T. molitor* wykazała bardzo niski poziom kumulacji tej mikotoksyny. Po pierwszym tygodniu żywienia larw na paszach zanieczyszczonych DON, maksymalne zmierzone stężenia mikotoksyny w biomasie wynosiły odpowiednio 6,30 ± 1,45 µg/kg (grupa A) i 15,57 ± 1,85 µg/kg (grupa B). Po dwóch tygodniach trwania eksperymentu stężenie mikotoksyny w larwach wzrosło do poziomów wynoszących odpowiednio 13,13 ± 2,06 µg/kg w grupie A oraz 32,18 ± 4,20 µg/kg w grupie B. Uzyskane wyniki stężenia DON różniły się istotnie statystycznie między wszystkimi 3 grupami badawczymi. Natomiast maksymalne współczynniki przeniesienia deoksyniwalenolu z paszy do tkanek larw były wyjątkowo niskie i wynosiły na koniec trwania eksperymentu 1,98 ± 0,31 % dla grupy A oraz 3,50 ± 0,46 % dla grupy B (Tabela nr 4)

Tabela 4. Stężenie deoksyniwalenolu (DON) (oznaczone metodą LC-MS/MS) w larwach mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) karmionych dietą bazową i skażoną DON. Różne litery (a, b, c) oznaczają istotne różnice ($p < 0,05$).

Grupy badawcze	DON (µg/kg)		Współczynnik transferu mikotoksyny do biomasy larw (%)	
	1 tydzień	2 tydzień	1 tydzień	2 tydzień
Kontrola (K)	1,83 ± 0,41[c]	5,18 ± 2,9[c]	-	-
A	6,30 ± 1,45[b]	13,13 ± 2,06[b]	0,95 ± 0,22	1,98 ± 0,31
B	15,57 ± 1,85[a]	32,18 ± 4,20[a]	1,69 ± 0,20	3,50 ± 0,46

4.3. Poziom DON w odchodach larw

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że larwy wydaliły wraz z odchodami znaczną część spożytego deoksyniwalenolu. Odchody w grupie A, która otrzymywała paszę o niższym stężeniu DON, zawierały 507,65 ± 15,31 µg/kg DON po dwóch tygodniach tuczu. Natomiast w odchodach grupy B, która żywiła się paszą o wyższym stężeniu mikotoksyny, wartość ta osiągnęła aż 862,61 ± 18,53 µg/kg. Analiza bilansu deoksyniwalenolu wskazuje, że ilość DON wydalona z organizmu dla grupy A wynosiła średnio 76,57 ± 2,31 % początkowej zawartości mikotoksyny w paszy, podczas gdy w grupie B wartość ta była jeszcze wyższa i osiągnęła 93,86 ± 2,02 % (Tabela 5). Wydalanie deoksyniwalenolu było bezpośrednio skorelowane z jego stężeniem w paszy i wzrastało w miarę trwania eksperymentu.

Tabela 5. Stężenie i procent wydalonego deoksyniwalenolu (DON) przez larwy mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*). Litery (a, b, c) oznaczają istotne różnice ($p < 0,05$).

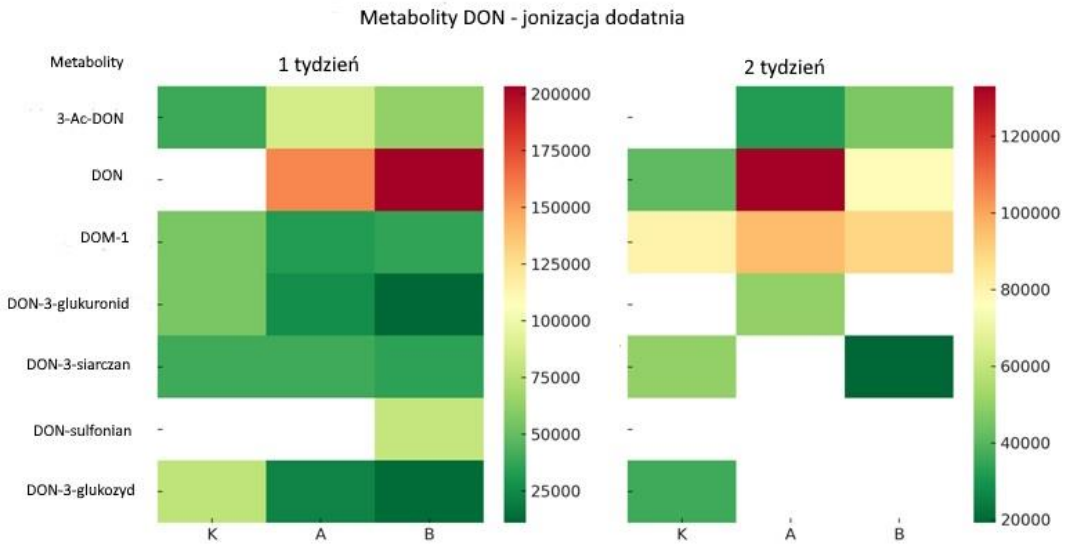
Grupy badawcze	DON (µg/kg)		Współczynnik transferu mykotoksyny do odchodów (%)	
	1 tydzień	2 tydzień	1 tydzień	2 tydzień
Kontrola (K)	10,56 ± 6,74[c]	7,40 ± 3,22[c]	-	-
A	400,05 ± 18,53[b]	507,65 ± 15,31[b]	60,34 ± 2,80	76,57 ± 2,31
B	689,15 ± 38,18[a]	862,61 ± 18,53[a]	74,99 ± 4,15	93,86 ± 2,02

4.4. Profil metabolitów deoksyniwalenolu w biomasie larw

Badanie Q-TOF wykazało zróżnicowane profile metaboliczne deoksyniwalenolu (DON) w larw mącznika młynarka, które różniły się w zależności od dawki i czasu ekspozycji.

W trybie jonizacji dodatniej (Rysunek 1), deoksyniwalenol był najbardziej dominującym związkiem w obu grupach eksperymentalnych (A i B) osiągając szczególnie

wysokie stężenia w pierwszym tygodniu ekspozycji. Co istotne, DON-sulfonian wykryto wyłącznie w grupie o wysokiej dawce (B) po pierwszym tygodniu żywienia. Może to sugerować, że sulfonowanie jest szlakiem detoksykacji indukowanym w warunkach wyższej ekspozycji na DON. Dodatkowo, zaobserwowano obecność DON-3-glukuronidu oraz DON-3-glukozydu, aczkolwiek w znacznie mniejszych ilościach niż macierzysta toksyna, co wskazuje na zachodzące procesy koniugacji.



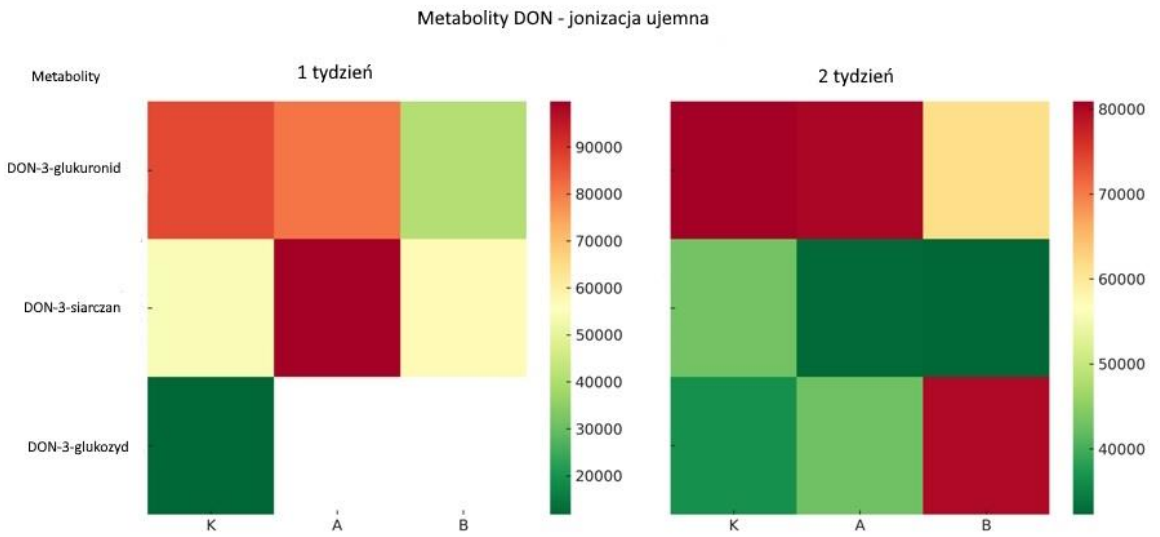
Rysunek 1. Mapa cieplna przedstawiająca deoksyniwalenol (DON) i jego metabolity w larwach *Tenebrio molitor* po jednym i dwóch tygodniach doświadczenia (tryb jonizacji dodatniej). Grupa K - kontrolna, grupa A - niska dawka DON, grupa B - wysoka dawka DON. Względna obfitość = znormalizowana intensywność sygnału LC-QTOF (jednostki arbitralne). Skala kolorów (zielony-żółty-czerwony) wskazuje niski-średni-wysoki poziom metabolitów.

Po drugim tygodniu stężenie DON w grupie o wysokiej dawce (B) uległo obniżeniu, natomiast w grupie o niskiej dawce (A) nadal pozostało na podwyższonym poziomie. Jednocześnie odnotowano w obu grupach wzrost stężenia de-epoksy-DON, co może wskazywać na trwającą aktywację redukcyjnych szlaków detoksykacji.

Badanie w trybie jonizacji ujemnej (Rysunek 2) wykazało, że w profilu metabolicznym dominowały metabolity sprzężone. Zarówno DON-3-glukuronid oraz DON-3-siarczan były stale obecne we wszystkich grupach, włączając w to grupę kontrolną, co może świadczyć o ich roli w podstawowym procesie detoksykacji u larw. W grupie o wysokiej dawce (B) po drugim tygodniu wyraźnie wzrosło stężenie DON-3-glukozydu, to sugeruje, że proces glukozylacji stał się kluczowym szlakiem detoksykacji w warunkach przedłużającej

ekspozycji na DON. Odkrycie to potwierdza hipotezę, że mechanizm ten odgrywa istotną funkcję ochronną przed mikotoksynami trichotecenowymi.

Podsumowując, uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że larwy mącznika młynarka posiadają zdolność do metabolizowania deoksyniwalenolu poprzez różnorodne szlaki biotransformacji, takie jak sulfonacja, glukuronidacja, glukozylacja i deepoksydacja. Zaobserwowane zmiany, zależne od czasu i dawki, wskazują, że wysokie stężenie DON na początku indukuje nasilone sulfonowanie, natomiast przedłużona ekspozycja przesuwa procesy detoksykacyjne w kierunku glukozylacji i redukcji. Wyższe stężenia DON w grupach K i A w drugim tygodniu mogą wskazywać na kumulatywne efekty zmiennego spożycia i wolniejszego klirensu metabolicznego. Z kolei w grupie B, otrzymującej wysokie dawki, spadek poziomu DON w drugim tygodniu może świadczyć o szybszej aktywacji szlaków detoksykacyjnych, spowodowanej większym obciążeniem.



Rysunek 2. Mapa cieplna przedstawiająca deoksyniwalenol (DON) i jego metabolity w larwach *Tenebrio molitor* po jednym i dwóch tygodniach doświadczenia (tryb jonizacji ujemnej). Grupa K - kontrolna, grupa A - niska dawka DON, grupa B - wysoka dawka DON. Względna obfitość = znormalizowana intensywność sygnału LC-QTOF (jednostki arbitralne). Skala kolorów (zielony-żółty-czerwony) wskazuje niski-średni-wysoki poziom metabolitów.

4.5. Profil wolnych aminokwasów w biomasie larw

Analiza zawartości wolnych aminokwasów w larwach *T. molitor* ujawniła skutki narażenia na deoksyniwalenol (DON) w diecie, które nasilały się wraz z czasem trwania doświadczenia. Po pierwszym tygodniu karmienia zauważono znaczące różnice w poziomach

kilku aminokwasów pomiędzy grupami doświadczalnymi (P2, tabela 1). W porównaniu z grupą kontrolną larwy narażone na DON w diecie wykazywały obniżony poziom kwasu asparaginowego, kwasu glutaminowego, izoleucyny, lizyny, metioniny, fenyloalaniny, proliny, seryny i treoniny ($p < 0,05$). Nie stwierdzono natomiast znaczących zmian w poziomach argininy, cysteiny, glutaminy, histydyny, tryptofanu i tyrozyny. Wyniki te sugerują, że krótkotrwała ekspozycja na DON selektywnie zmniejsza pulę aminokwasów zaangażowanych w syntezę białek i metabolizm energetyczny.

Tabela 6. Względna obfitość wolnych aminokwasów w larwach *Tenebrio molitor* po dwóch tygodniach karmienia dietą kontrolną (K) lub dietami skażonymi DON (Grupa A: 663 µg/kg; Grupa B: 919 µg/kg).

Aminokwasy	**2 tydzień**		
	Kontrola (K)	**Grupa A**	**Grupa B**
L-arginina	292570,7 ± 13152,1 [a]	275944,3 ± 20840,5 [a]	275801,0 ± 9632,0 [a]
L-kwas asparaginowy	302491,3 ± 46072,7 [a]	241711,7 ± 32895,8 [ab]	154897,7 ± 30152,3 [b]
L-cysteina	5998,7 ± 1102,9 [a]	10241,0 (pojedyncza wartość)[a]	8597,5 ± 614,5 [a]
L-kwas glutaminowy	1639666,3 ± 159828,8 [a]	1455465,7 ± 216570,3 [ab]	1073695,0 ± 111784,5 [b]
L-glutamina	348709,0 ± 65978,2 [a]	478472,7 ± 156535,5 [a]	477642,7 ± 108813,7 [a]
L-histydyna	586522,0 ± 44468,7 [a]	618370,7 ± 71084,7 [a]	590327,3 ± 45560,8 [a]
L-izoleucyna	3097908,3 ± 79801,1 [a]	2766483,7 ± 299800,2 [ab]	2381444,7 ± 213192,8 [b]
L-lizyna	79244,0 ± 11694,9 [a]	66183,7 ± 15088,6 [a]	55289,0 ± 11283,7 [a]
L-metionina	474866,0 ± 61335,3 [a]	368437,7 ± 69098,6 [ab]	242663,0 ± 37060,1 [b]
L-fenyloalanina	3033179,3 ± 214963,4 [a]	2489748,0 ± 345590,3 [ab]	2257815,7 ± 219568,0 [b]
L-prolina	60228,7 ± 7738,7 [a]	44248,7 ± 9109,1 [ab]	31436,3 ± 9718,5 [b]
L-seryna	107283,0 ± 5227,1 [a]	95788,0 ± 4821,6 [ab]	84510,3 ± 6971,5 [b]
L-treonina	255015,7 ± 15768,7 [a]	226650,3 ± 22599,6 [ab]	201217,0 ± 16484,0 [b]
L-tryptofan	1823412,0 ± 269837,6 [a]	1905375,0 ± 262081,5 [a]	2248000,7 ± 220528,6 [a]
L-tyrozyna	350860,3 ± 4588,8 [a]	470978,7 ± 134063,6 [a]	369504,7 ± 117102,9 [a]

Wartości przedstawiono jako średnia ± SD. Różne litery w indeksie górnym oznaczają statystycznie istotne różnice między grupami ($p < 0,05$). Wyniki przedstawiają względne wartości obfitości uzyskane w analizie LC-QTOF, a nie stężenia absolutne. W przypadku L-cysteiny w grupie A związek był wykrywalny powyżej progu oznaczalności tylko w jednej z trzech powtórzeń; dlatego podano jedynie pojedynczą wartość, a odchylenie standardowe nie mogło zostać obliczone.

Po drugim tygodniu doświadczenia różnice między grupami stały się bardziej zauważalne (Tabela 6). W grupach narażonych na DON odnotowano wyraźne spadki poziomu aminokwasów tj. kwas asparaginowy, kwasu glutaminowy, izoleucyna, lizyna, metionina, fenyloalanina, prolina, seryna i treonina w porównaniu z grupą kontrolą ($p < 0,05$).

Najbardziej znaczące spadki wśród aminokwasów egzogennych wystąpiły dla metioniny i fenyloalaniny, których poziomy w grupie B zmniejszyły się nawet o około 50% względem grupy kontrolnej. Z kolei poziom tryptofanu wykazywał tendencję wzrostową w grupach karmionych DON, choć nie były to zmiany istotne statystycznie. Różnice te zilustrowano na Rysunku 3 (P2), który przedstawia wybrane egzogenne i endogenne aminokwasy, znacząco zmienione pod wpływem ekspozycji na DON.

Podsumowując, długotrwała ekspozycja na DON spowodowała stały spadek poziomu aminokwasów egzogennych, jak i endogennych, zwłaszcza tych zaangażowanych w syntezę białek (metionina, lizyna i treonina) oraz główne szlaki metaboliczne (kwas asparaginowy i glutaminowy). Wyniki te wskazują, że metabolizm DON w larwach może powodować obciążenie metaboliczne, które zaburza równowagę aminokwasową i obrót białek.

4.6. Profil kwasów tłuszczowych w biomasie larw

Skład kwasów tłuszczowych larwach *T. molitor* oceniano po jednym oraz po dwóch tygodniach karmienia eksperymentalnymi dietami. Dominującymi kwasami tłuszczowymi we wszystkich grupach badawczych był kwas oleinowy (C18:1 cis-9), kwas linolowy (C18:2 cis-9,12) i kwas palmitynowy (C16:0). W mniejszych ilościach zidentyfikowano również kwas mirystoleinowy (C14:1 cis-9), kwas palmitooleinowy (C16:1 cis-9) i kwas stearynowy (C18:0).

Po jednym tygodniu karmienia nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami pod względem stężeń głównych kwasów tłuszczowych (P2, tabela 3). Kwas oleinowy stanowił około 44 % całkowitej puli kwasów tłuszczowych, kwas linolowy ok. 22-23 %, a kwas palmitynowy ok. 16-17 %. Natomiast stężenie kwasu stearynowego utrzymywało się na poziomie około 4 %.

W drugim tygodniu doświadczenia ogólny profil kwasów tłuszczowych pozostał właściwie niezmieniony, z wyjątkiem kwasu linolowego, którego poziom był istotnie wyższy w grupach karmionych deoksyniwalenolem w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,05$). Zawartość kwasu linolowego wzrosła z 22,60 ± 0,32 mg/g w grupie kontrolnej do 24,75 ± 0,73 mg/g w grupie A oraz 24,35 ± 0,91 mg/g w grupie B. Zaobserwowano także niewielką tendencję spadkową w przypadku kwasu stearynowego u larw narażonych na DON, lecz różnice te były nieistotne statystycznie. Kwas oleinowy pozostał najliczniejszym kwasem tłuszczowym (ok. 41-42 %) i nie ulegał zmianie pod wpływem diety (Tabela 7).

Tabela 7. Skład kwasów tłuszczowych (mg/g świeżej masy, średnia ± SD) w larwach *Tenebrio molitor* po dwóch tygodniach karmienia dietą kontrolną (K) oraz dietami skażonymi DON (Grupa A, Grupa B). Indeksy górne oznaczają istotne różnice między grupami ($p < 0,05$).

Kwasy tłuszczowe (mg/g)	**2 tydzień**		
	Kontrola (K)	**Grupa A**	**Grupa B**
C14:1 cis 9 (kwas mirystoleinowy)	3,603 ± 0,150 [a]	3,888 ± 0,076 [a]	3,821 ± 0,161 [a]
C16:0 (kwas palmitynowy)	15,083 ± 0,700 [a]	15,860 ± 0,938 [a]	15,707 ± 0,244 [a]
C16:1 cis 9 (kwas palmitoleinowy)	2,877 ± 0,305 [a]	2,908 ± 0,154 [a]	2,894 ± 0,168 [a]
C18:0 (kwas stearynowy)	4,541 ± 0,763 [a]	3,880 ± 0,083 [a]	4,089 ± 0,089 [a]
C18:1 cis 9 (kwas oleinowy)	41,03 ± 1,438 [a]	42,446 ± 3,052 [a]	42,151 ± 0,632 [a]
C18:2 cis 9,12 (kwas linolowy)	22,602 ± 0,318 [b]	24,753 ± 0,729 [a]	24,352 ± 0,910 [a]

Podsumowując, wyniki sugerują, że długotrwała ekspozycja na DON może modyfikować profil kwasów tłuszczowych larw mącznika młynarka, głównie poprzez zwiększenie poziomu kwasu linolowego. Zmiany te mogą odzwierciedlać metaboliczną odpowiedź związaną z detoksykacją DON, która potencjalnie obejmuje modyfikacje w metabolizmie lipidów.

5. Podsumowanie

Celem głównym przeprowadzonych badań związanych z rozprawą doktorską było zbadanie możliwości i efektywności biodegradacji deoksyniwalenolu (DON) w paszach skażonych tą mikotoksyną przy wykorzystaniu larw mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*), z uwzględnieniem bezpieczeństwa uzyskanej biomasy. Uzyskane wyniki w pełni potwierdzają trafność przyjętego celu badawczego oraz weryfikują wszystkie sformułowane hipotezy.

W odniesieniu do hipotezy H1, wyniki wykazały, że larwy *T. molitor* tolerują obecność DON w paszy bez istotnego wpływu na przeżywalność i tempo wzrostu. Nie stwierdzono istotnych różnic w śmiertelności ani przyroście masy ciała pomiędzy grupami kontrolnymi a grupami karmionymi dietami skażonymi DON.

Hipoteza H2 została potwierdzona, ponieważ wykazano, że DON nie kumuluje się w biomasie larw w ilościach przekraczających dopuszczalne limity bezpieczeństwa. Po dwóch tygodniach ekspozycji maksymalne stężenie DON w larwach wynosiło 32,18 µg/kg i był to poziom znacznie poniżej wartości granicznych dla pasz i żywności. Większość spożytej toksyny była wydalana z odchodami.

Hipoteza H3 znajduje potwierdzenie w analizie metabolomicznej, która wykazała wielościeżkową biotransformację DON w organizmach larw. Zidentyfikowano metabolity takie jak DON-sulfonian, DON-3-glukuronid, DON-3-siarczan, DON-3-glukozyd oraz de-epoksy-DON, co dowodzi obecności zarówno reakcji koniugacji, jak i redukcji, które prowadzą do powstania mniej toksycznych form.

Hipoteza H4 również została potwierdzona. Proces detoksykacji deoksyniwalenolu wiązał się z istotnymi zmianami w metabolizmie larw. Stwierdzono spadek zawartości aminokwasów egzogennych i endogennych oraz wzrost udziału kwasu linolowego w profilu lipidowym, co wskazuje na adaptacyjne zmiany w metabolizmie larw.

Podsumowując, uzyskane wyniki potwierdzają, że *T. molitor* może być skutecznym narzędziem biokonwersji i detoksykacji pasz skażonych deoksyniwalenolem, przy jednoczesnym zachowaniu bezpieczeństwa biomasy przeznaczonej na cele paszowe. Jednocześnie wykazano, że proces ten nie jest neutralny metabolicznie, co wymaga uwzględnienia w ocenie jakości odżywczej uzyskanej biomasy larw. Wyniki badań stanowią podstawę do opracowania technologii wykorzystania owadów w systemach zrównoważonej

produkcji pasz, wpisując się w założenia gospodarki o obiegu zamkniętym i bezpieczeństwa żywnościowego. Dodatkowo, opracowana koncepcja umożliwia zagospodarowanie pasz niskiej jakości oraz surowców skażonych mikotoksynami, które dotychczas były wyłączone z obrotu, przekształcając je w wartościowe źródło białka i tłuszczu dla przemysłu paszowego.

Rezultatem prac badawczych i uzyskanych wyników było zgłoszenie wniosku patentowego, zatytułowanego *„Sposób wytwarzania owadziej biomasy paszowej na bazie pasz skażonych mikotoksynami”* (zgłoszenie nr P.452947, Urząd Patentowy RP, 18.08.2025). Fakt ten podkreśla wdrożeniowy charakter projektu realizowanego w ramach doktoratu wdrożeniowego i jego potencjał aplikacyjny w sektorze paszowym.

6. Wnioski

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę możliwości wykorzystania larw mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) do biokonwersji pasz skażonych deoksyniwalenolem oraz zrozumienie mechanizmów detoksykacji tej mikotoksyny. Analiza wyników pozwala na sformułowanie kluczowych wniosków o znaczeniu zarówno poznawczym, jak i aplikacyjnym.

- Larwy T. molitor wykazują wysoką tolerancję na obecność DON w paszy. Nie stwierdzono istotnych różnic w przeżywalności ani w tempie wzrostu pomiędzy grupami kontrolnymi a grupami karmionymi dietami skażonymi DON, co wskazuje na możliwość ich wykorzystania w biokonwersji pasz niskiej jakości.
- Analizy chemiczne wykazały, że deoksyniwalenol nie kumuluje się w biomasie, ponieważ po dwóch tygodniach ekspozycji maksymalne stężenie DON w larwach wynosiło jedynie 32,18 µg/kg. Taki poziom stężenia DON jest znacznie poniżej dopuszczalnych limitów bezpieczeństwa. Zdecydowana większość spożytej toksyny została wydalona z odchodami. Oznacza to, że biomasa larw pozostaje bezpieczna do dalszego wykorzystania w produkcji pasz.
- Analizy metabolomiczne ujawniły, że larwy posiadają zdolność wielościeżkowej detoksykacji DON. Obecność zróżnicowanych metabolitów potwierdza, że proces detoksykacji jest złożonym mechanizmem obronnym larw, w którym potencjalnie uczestniczy mikrobiota jelitowa.
- Detoksykacja DON wiąże się z kosztami metabolicznymi. Stwierdzono spadek zawartości kluczowych aminokwasów egzogennych, jak i endogennych oraz wzrost udziału kwasu linolowego w profilu lipidowym larw. Zmiany te mogą wpływać na wartość odżywczą biomasy, co należy uwzględnić przy produkcji owadów na cele paszowe.
- Wyniki badań potwierdzają możliwość wykorzystania *T. molitor* jako biologicznego narzędzia do detoksykacji pasz skażonych DON, co ma istotne znaczenie dla bezpieczeństwa pasz i żywności. Takie innowacyjne podejście umożliwia zagospodarowanie pasz niskiej jakości oraz surowców skażonych mikotoksynami, które dotychczas były wyłączane z obrotu i pozwoli przekształcić je w wartościowe źródło białka i tłuszczu.

Spis literatury

Alshannaq, A., i Yu, J.-H. (2017). Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*(6), 632. https://doi.org/10.3390/ijerph14060632

Binder, E. M., Tan, L. M., Chin, L. J., Handl, J., i Richard, J. (2007). Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Animal Feed Science and Technology*, *137*(3–4), 265–282. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.005

Bryden, W. L. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animals productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology*, *173*(1–2), 134–158. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.12.014

Candian, V., Scarpino, V., Bona, A., Tedeschi, R., i Blandino, M. (2025). Mycotoxins-contaminated wheat matrices bioconversion by Tenebrio molitor larvae (Coleoptera: Tenebrionidae). *Insect Science*. https://doi.org/10.1111/1744-7917.70066

Casu, A., Camardo Leggieri, M., Toscano, P., i Battilani, P. (2024). Changing climate, shirting mycotoxins: A comprehensive review of climate change impact on mycotoxin contamination. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *23*(2), e13323. https://doi.org/10.1111/1541-4337.13323

Chen, Y., Zhang, R., Tong, E., Wu, P., Chen, J., Zhao, D., Pan, X., Wang, J., Wu, X., Zhang, H., Qi, X., Wu, Y., Fang, L., i Zhou, B. (2022). Occurrence and exposure assessment of deoxynivalenol and its acetylated derivatives from grains and grain products in Zhejiang Province, China (2017–2020). *Toxins*, *14*(9), 586. https://doi.org/10.3390/toxins14090586

Dänicke, S., Valenta, H., i Döll, S. (2004). On the toxicokinetics and the metabolism of deoxynivalenol (DON) in the pig. *Archives of Animal Nutrition*, *58*(2), 169–180. https://doi.org/10.1080/00039420410001667548

Dermauw, W., Van Leeuwen, T., i Feyereisen, R. (2020). Diversity and evolution of the P450 family in arthropods. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *127*, Article 103490. https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2020.103490

DSM. (2021). *World mycotoxin survey: The global threat January–December 2021*. Retrieved June 6, 2025, from https://www.dsm.com/anh

European Food Safety Authority. (2013). Deoxynivalenol in food and feed: Occurrence and exposure. *EFSA Journal*, *11*(10), 3379. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3379

European Food Safety Authority. (2014). Evaluation of the increase of risk for public health related to a possible temporary derogation from the maximum level of deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins for maize and maize products. *EFSA Journal*, *12*(5), Article 3699. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3699

EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA). (2023). *Safety of UV-treated powder of whole yellow mealworm (Tenebrio molitor larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283*. EFSA Journal, 21(6), 8009. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8009

EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA). (2025). *Safety of frozen and dried forms of whole yellow mealworm (Tenebrio molitor larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283*. EFSA Journal, 23(1), 9155. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2025.9155

Evans, N. M., i Shao, S. (2022). Mycotoxin metabolism by edible insects. *Toxins*, *14*(3), 217. https://doi.org/10.3390/toxins14030217

Feizollahi, E., i Roopesh, M. S. (2021). Mechanisms of deoxynivalenol (DON) degradation during different treatments: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(21), 5903–5924. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1895056

Gahukar, R. T. (2016). Edible insects farming: Efficiency and impact on family livelihood, food security, and environment compared with livestock and crops. W A. T. Dossey, J. A. Morales-Ramos, i M. G. Rojas (Red.), *Insects as sustainable food ingredients* (s. 85–111). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802856-8.00004-1

Gruber-Dorninger, C., Jenkins, T., i Schatzmayr, G. (2019). Global mycotoxin occurrence in feed: A ten-year survey. *Toxins*, *11*(7), 375. https://doi.org/10.3390/toxins11070375

Gu, D., Andreev, K., i Dupre, M. E. (2021). Major trends in population growth around the world. *China CDC Weekly*, *3*(28), 604–613. https://doi.org/10.46234/ccdcw2021.160

Hong, J., Han, T., i Kim, Y. Y. (2020). Mealworm (*Tenebrio molitor* larvae) as an alternative protein source for monogastric animal: A review. *Animals*, *10*(11), 2068. https://doi.org/10.3390/ani10112068

Hooft, J. M., Ferreira, C., Lumsden, J. S., Sulyok, M., Krska, R., i Bureau, D. P. (2019). The effects of naturally occurring or purified deoxynivalenol (DON) on growth performance, nutrient utilization and histopathology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, *505*, 319–332. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.032

Huis, A., i Oonincx, D. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *37*, Article 43. https://doi.org/10.1007/s13593-017-0452-8

International Agency for Research on Cancer. (2023). *Agents classified by the IARC Monographs (Vols. 1–135)*. IARC.

Kamle, M., Mahato, D. K., Gupta, A., Pandhi, S., Sharma, B., Dhawan, K., Vasundhara, Mishra, S., Kumar, M., Tripathi, A. D., Rasane, P., Selvakumar, R., Kumar, A., Gamlath, S., i Kumar, P. (2022). Deoxynivalenol: An overview on occurrence, chemistry, biosynthesis, health effects and its detection, management, and control strategies in food and feed. *Microbiology Research*, *13*(2), 292-314. https://doi.org/10.3390/microbiolres13020023

Khanal, P., Pandey, D., Naess, G., Cabrita, A. R. J., Fonseca, A. J. M., Maia, M. R. G., Timilsina, B., Veldkamp, T., Sapkota, R., i Overrein, H. (2023). Yellow mealworms (*Tenebrio molitor*) as an alternative animal feed source: A comprehensive characterization of nutritional values and the larval gut microbiome. *Journal of Cleaner Production*, *389*, Article 136104. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136104

Knutsen, H. K., Alexander, J., Barregård, L., Bignami, M., Brüschweiler, B., Ceccatelli, S., Cottrill, B., Dinovi, M., Grasl-Kraupp, B., Hogstrand, C., Hoogenboom, L. R., Nebbia, C. S., Oswald, I. P., Petersen, A., Rose, M., Roudot, A.-C., Schwerdtle, T., Vleminckx, C., Vollmer, G., Wallace, H., De Saeger, S., Eriksen, G. S., Farmer, P., Fremy, J.-M., Gong, Y. Y., Meyer, K., Naegeli, H., Parent-Massin, D., Rietjens, I., van Egmond, H., Altieri, A., Eskola, M., Gergelova, P., Ramos Bordajandi, L., Benkova, B., Dörr, B., Gkrillas, A., Gustavsson, N., van Manen, M., i Edler, L. (2017). Scientific opinion on the risks to human and animal health related to the presence of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms in food and feed. *EFSA Journal*, *15*(9), 4718. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4718

Komisja Europejska. (2006). *Commission recommendation 2006/576/EC of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T2 and HT2 and fumonisins in products intended for animal feeding*. Official Journal of the European Union, *L229*, 7–9.

Komisja Europejska. (2017). *Commission Regulation (EU) 2017/893 of 24 May 2017 amending Annexes I and IV to Regulation (EC) No 999/2001 and Annexes X, XIV and XV to Commission Regulation (EU) No 142/2011 as regards the provisions on processed animal protein*. Official Journal of the European Union, *L 138*, 92–116. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2017/893/oj/eng

Komisja Europejska. (2021). *Commission Regulation (EU) 2021/1372 of 17 August 2021 amending Annex IV to Regulation (EC) No 999/2001 as regards the prohibition to feed non-ruminant farmed animals, other than fur animals, with protein derived from animals*. Official Journal of the European Union, *L 295*, 1–17. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2021/1372/oj/eng

Komisja Europejska. (2022). *Commission Implementing Regulation (EU) 2022/169 of 8 February 2022 authorising the placing on the market of frozen, dried and powder forms of yellow mealworm (Tenebrio molitor larva) as a novel food*. Official Journal of the European Union, *L 28*, 74–78. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2022/169/oj/eng

Komisja Europejska. (2023). *Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006*. Official Journal of the European Union, *L119*, 1–41.

Komisja Europejska. (2024). *Commission Regulation (EU) 2024/1022 of 8 April 2024 amending Regulation (EU) 2023/915 as regards maximum levels of deoxynivalenol in food*. Official Journal of the European Union, L 1022

Kröncke, N., Wittke, S., Steinmann, N., i Benning, R. (2023). Analysis of the composition of different instars of *Tenebrio molitor* larvae using near-infrared reflectance spectroscopy for prediction of amino and fatty acid content. *Insects*, *14*(4), 310. https://doi.org/10.3390/insects14040310

Liu, M., Xia, Z., Zhang, Y., Wei, H., Anping, L., i Jinyong, W. (2025). Contamination of aflatoxin B1, deoxynivalenol and zearalenone in feeds in China from 2021 to 2024. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *16*, 66. https://doi.org/10.1186/s40104-025-01213-w

Lu, K., Song, Y., i Zeng, R. (2021). The role of cytochrome P450-mediated detoxification in insect adaptation to xenobiotics. *Current Opinion in Insect Science*, *43*, 103–107. https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.11.004

Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., i Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, *197*, 1–33.

Mannaa, M., Mansour, A., Park, I., Lee, D. W., i Seo, Y. S. (2023). Insect-based agri-food waste valorization: Agricultural applications and roles of insect gut microbiota. *Environmental Science and Ecotechnology*, *17*, 100287. https://doi.org/10.1016/j.ese.2023.100287

Meyer-Rochow, V. B., Gahukar, R. T., Ghosh, S., i Jung, C. (2021). Chemical composition, nutrient quality and acceptability of edible insects are affected by species, developmental stage, gender, diet, and processing method. *Foods*, *10*(5), 1036. https://doi.org/10.3390/foods10051036

Moretti, A., Pascale, M., i Logrieco, A. F. (2019). Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. *Trends in Food Science & Technology*, *84*, 38–40. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.008

Morshedi, A., Shakerardekani, A., Karazhian, R., Morshedi, M., Valdes, M. E., i in. (2023). Mycotoxins' contamination in food and feeds: A review. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*, *9*(3), 141–149.

Mousavi Khaneghah, A., Martins, L. M., von Hertwig, A. M., Bertoldo, R., i Sant'Ana, A. S. (2018). Deoxynivalenol and its masked forms: Characteristics, incidence, control and fate during wheat and wheat based products processing – A review. *Trends in Food Science & Technology*, *71*, 13–24. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.012

Muñoz-Solano, B., i González-Peñas, E. (2023). Co-occurrence of mycotoxins in feed for cattle, pigs, poultry, and sheep in Navarra, a region of Northern Spain. *Toxins*, *15*(3), 172. https://doi.org/10.3390/toxins15030172

Niaz, W., Iqbal, S. Z., Ahmad, K., Majid, A., Haider, W., i Li, X. (2025). Mycotoxins: A comprehensive review of its global trends in major cereals, advancements in chromatographic detections and future prospectives. *Food Chemistry: X*, *27*, 102350. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102350

Niermans, K., Woyzichovski, J., Kröncke, N., i in. (2019). Feeding study for the mycotoxin zearalenone in yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae—Investigation of biological impact and metabolic conversion. *Mycotoxin Research*, *35*, 231–242. https://doi.org/10.1007/s12550-019-00346-y

Ochoa Sanabria, C., Hogan, N., Madder, K., Gillott, C., Blakley, B., Reaney, M., Beattie, A., i Buchanan, F. (2019). Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) fed mycotoxin-contaminated wheat—A possible safe, sustainable protein source for animal feed? *Toxins*, *11*(5), 282. https://doi.org/10.3390/toxins11050282

Oliveira, M., i Vasconcelos, V. (2020). Occurrence of mycotoxins in fish feed and its effects: A review. *Toxins*, *12*(3), 160. https://doi.org/10.3390/toxins12030160

Palumbo, R., Crisci, A., Venâncio, A., Cortiñas Abrahantes, J., Dorne, J.-L., Battilani, P., i Toscano, P. (2020). Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in cereal-based feed and food. *Microorganisms*, *8*(1), 74. https://doi.org/10.3390/microorganisms8010074

Parlament Europejski i Rada. (2009). *Rozporządzenie (WE) nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r. określające przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi, i uchylające rozporządzenie (WE) nr 1774/2002.* Dz. Urz. UE L 300/1.

Parlament Europejski i Rada. (2015). *Rozporządzenie (UE) nr 2015/2283 z dnia 25 listopada 2015 r. w sprawie nowej żywności, zmieniające rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady oraz rozporządzenie Komisji (WE) nr 1852/2001.* Dz. Urz. UE L 327/1.

Payros, D., Alassane-Kpembi, I., Pierron, A., Loiseau, N., Pinton, P., i Oswald, I. P. (2016). Toxicology of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms. *Archives of Toxicology*, *90*(12), 2931–2957. https://doi.org/10.1007/s00204-016-1826-4

Pestka, J. J. (2007). Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal Feed Science and Technology*, *137*(3–4), 283–298. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.006

Pinotti, L., Ottoboni, M., Giromini, C., Dell'Orto, V., i Cheli, F. (2016). Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain: A focus on cereal byproducts. *Toxins*, *8*(2), 45. https://doi.org/10.3390/toxins8020045

Ravi, H. K., Degrou, A., Costil, J., Trespeuch, C., Chemat, F., i Vian, M. A. (2020). Larvae mediated valorization of industrial, agriculture and food wastes: Biorefinery concept through bioconversion, processes, procedures, and products. *Processes*, *8*(7), 857. https://doi.org/10.3390/pr8070857

Rumpold, B. A., i Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, *57*(5), 802–823. https://doi.org/10.1002/mnfr.201200735

Siddiqui, S. A., Osei-Owusu, J., Yunusa, B. M., Rahayu, T., Fernando, I., Shah, M. A., i Centoducati, G. (2023). Prospects of edible insects as sustainable protein for food and feed – a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, *10*(2), 191-217. https://doi.org/10.1163/23524588-20230042

Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L., i Kizek, R. (2010). Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary Toxicology*, *3*(3), 94–99. https://doi.org/10.2478/v10102-010-0019-x

Streit, E., Schatzmayr, G., Tassis, P., Tzika, E., Marin, D., Taranu, I., Tabuc, C., Nicolau, A., Aprodu, I., Puel, O., i Oswald, I. P. (2012). Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed—Focus on Europe. *Toxins*, *4*(10), 788-809. https://doi.org/10.3390/toxins4100788

Sun, Y., Jiang, J., Mu, P., Lin, R., Wen, J., i Deng, Y. (2022). Toxicokinetics and metabolism of deoxynivalenol in animals and humans. *Archives of Toxicology*, *96*(10), 2639–2654. https://doi.org/10.1007/s00204-022-03337-8

Tognocchi, M., Conte, G., Rossi, E., Perioli, R., Mantino, A., Serra, A., i Mele, M. (2023). Characterization of polar and non-polar lipids of *Hermetia illucens* and *Tenebrio molitor* meals as animal feed ingredients. *Animal Feed Science and Technology*, *295*, Article 115524. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115524

Tolosa, J., Rodríguez-Carrasco, Y., Ruiz, M. J., i Vila-Donat, P. (2021). Multi-mycotoxin occurrence in feed, metabolism and carry-over to animal-derived food products: A review.

Food and Chemical Toxicology : An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, *158*, 112661. https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112661

Van Broekhoven, S., Gutierrez, J. M., De Rijk, T.C., De Nijs, W.C.M., i Van Loon, J.J.A. (2017). Degradation and excretion of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol by an edible insect, the yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.). *World Mycotoxin Journal*, *10*(2), 163-170. https://doi.org/10.3920/WMJ2016.2102

Van Broekhoven, S., Oonincx, D. G. A. B., van Huis, A., i van Loon, J. J. A. (2015). Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology*, *73*, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.12.005

Van der Fels-Klerx, H. J., Liu, C., i Battilani, P. (2016). Modelling climate change impacts on mycotoxin contamination. *World Mycotoxin Journal*, *9*(5), 717-726. https://doi.org/10.3920/WMJ2016.2066

Vandeweyer, D., De Smet, J., Van Looveren, N., i Van Campenhout, L. (2021). Biological contaminants in insects as food and feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, *7*(5), 807-822. https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0060

Wei, H., Anping, L., Jinyong, W., Gang, A., i Shu, G. (2022). Mycotoxin contamination of feeds and raw materials in China in year 2021. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.929904

Xu, R., Kiarie, E. G., Yiannikouris, A., i Others. (2022). Nutritional impact of mycotoxins in food animal production and strategies for mitigation. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *13*, 69. https://doi.org/10.1186/s40104-022-00714-2

Zhang, S., Wang, Z., Luo, Q., Zhou, L., Du, X., i Ren, Y. (2025). Effects of microbes on insect host physiology and behavior mediated by the host immune system. *Insects*, *16*(1), 82. https://doi.org/10.3390/insects16010082

Spis tabel

Tabela 1. Skład podstawowy trzech pasz eksperymentalnych. 48
Tabela 2. Warunki chromatograficzne LC-MS/MS do oznaczenia zawartości DON..... 50
Tabela 3. Warunki chromatograficzne GC-FID do oznaczeniu kwasów tłuszczowych. 52

Tabela 4. Stężenie deoksyniwalenolu (DON) (oznaczone metodą LC-MS/MS) w larwach mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) karmionych dietą bazową i skażoną DON. Różne litery (a, b, c) oznaczają istotne różnice ($p < 0,05$). 53
Tabela 5. Stężenie i procent wydalonego deoksyniwalenolu (DON) przez larwy mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*). Litery (a, b, c) oznaczają istotne różnice ($p < 0,05$). 54
Tabela 6. Względna obfitość wolnych aminokwasów w larwach *Tenebrio molitor* po dwóch tygodniach karmienia dietą kontrolną (K) lub dietami skażonymi DON (Grupa A: 663 µg/kg; Grupa B: 919 µg/kg). 57
Tabela 7. Skład kwasów tłuszczowych (mg/g świeżej masy, średnia ± SD) w larwach *Tenebrio molitor* po dwóch tygodniach karmienia dietą kontrolną (K) oraz dietami skażonymi DON (Grupa A, Grupa B). Indeksy górne oznaczają istotne różnice między grupami ($p < 0,05$)..... 59

Spis rysunków

Rysunek 1. Mapa cieplna przedstawiająca deoksyniwalenol (DON) i jego metabolity w larwach *Tenebrio molitor* po jednym i dwóch tygodniach doświadczenia (tryb jonizacji dodatniej). Grupa K - kontrolna, grupa A - niska dawka DON, grupa B - wysoka dawka DON. Względna obfitość = znormalizowana intensywność sygnału LC-QTOF (jednostki arbitralne). Skala kolorów (zielony-żółty-czerwony) wskazuje niski-średni-wysoki poziom metabolitów. 55
Rysunek 2. Mapa cieplna przedstawiająca deoksyniwalenol (DON) i jego metabolity w larwach *Tenebrio molitor* po jednym i dwóch tygodniach doświadczenia (tryb jonizacji ujemnej). Grupa K - kontrolna, grupa A - niska dawka DON, grupa B - wysoka dawka DON. Względna obfitość = znormalizowana intensywność sygnału LC-QTOF (jednostki arbitralne). Skala kolorów (zielony-żółty-czerwony) wskazuje niski-średni-wysoki poziom metabolitów. 56

Spis wykresów

Finansowanie

Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Doktorat Wdrożeniowy” (edycja IV), nr umowy DWD/4/80/2020.

Badania finansowane przez ChemProf Doradztwo Chemiczne s.c.

Katarzyna Łuczyńska i Michał Łuczyński w ramach działalności badawczo-rozwojowej firmy.





Oświadczenia

Załącznik nr 2 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 26.09.2025 r.

Dr hab. Tadeusz Bakuła, prof. UWM
(stopień/tytuł naukowy, imię nazwisko promotora/~~promotora pomocniczego~~*)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
promotora/~~promotora pomocniczego~~* rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że rozprawa doktorska mgr Marcina Wróbla pod tytułem **Ocena możliwości i efektywności biodegradacji deoksyniwalenolu w materiałach paszowych zastosowanych w procesie produkcji biomasy larw mącznika młynarka** została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

.....
(podpis promotora)

* *niepotrzebne skreślić*

Załącznik nr 4 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 02.09.2025

mgr Marcin Wróbel
(imię i nazwisko kandydata)

Weterynaria
(dyscyplina naukowa)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
autora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Bakuła, T., Gruchała, N., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes. *Toxins*, *17*(8), 420** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu, udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje oraz przygotowanie zgłoszenia patentowego na podstawie uzyskanych wyników.

.....
(podpis kandydata)

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 02.09.2025

Dr n. wet. Michał Dąbrowski
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Bakuła, T., Gruchała, N., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes. *Toxins*, *17*(8), 420** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na współwykonaniu części eksperymentalnej, pomocy w przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, pomocy w interpretacji uzyskanych wyników i edycji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu, udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje oraz przygotowanie zgłoszenia patentowego na podstawie uzyskanych wyników.

Michał Dąbrowski
podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 02.09.2025

Dr Michał Krzysztof Łuczyński
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Bakuła, T., Gruchała, N., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes. *Toxins*, *17*(8), 420** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na pozyskaniu finansowania, nadzorze nad prowadzeniem doświadczenia i badań laboratoryjnych oraz pomocy w przygotowaniu manuskryptu publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu, udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje oraz przygotowanie zgłoszenia patentowego na podstawie uzyskanych wyników.

.....
podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 02.09.2025

Dr hab. Tadeusz Bakuła, prof. UWM
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Bakuła, T., Gruchała, N., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes. *Toxins*, *17*(8), 420** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, nadzorze nad prowadzeniem doświadczenia i badań, interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu i edycji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu, udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje oraz przygotowanie zgłoszenia patentowego na podstawie uzyskanych wyników.

Tadeusz Bakuła
.....
podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 02.09.2025

Lek. wet. Natalia Gruchała
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Bakuła, T., Gruchała, N., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes. *Toxins*, *17*(8), 420** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na, współuczestnictwie w przeprowadzeniu doświadczenia i weryfikacji uzyskanych wyników.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu, udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje oraz przygotowanie zgłoszenia patentowego na podstawie uzyskanych wyników.

Natalia Gruchała

podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 02.09.2025

Dr hab. Łukasz Zielonka, prof. UWM
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Bakuła, T., Gruchała, N., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol-Contaminated Feed by Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae in the Production of Biomass Intended for Feed Purposes. *Toxins*, *17*(8), 420** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na współpracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, nadzorze nad prowadzeniem doświadczenia, interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu publikacji oraz przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu, udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje oraz przygotowanie zgłoszenia patentowego na podstawie uzyskanych wyników.

Zielonka Łukasz
podpis/podpisy

Załącznik nr 4 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 26.09.2025

mgr Marcin Wróbel
(imię i nazwisko kandydata)

Weterynaria
(dyscyplina naukowa)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
autora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Waśkiewicz, K., Bakuła, T., Nowicki, Ł., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins*, *17*(10), 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu, udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje.

.....
(podpis kandydata)

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora .

Olsztyn, 26.09.2025

Dr n. wet. Michał Dąbrowski
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Waśkiewicz, K., Bakuła, T., Nowicki, Ł., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins*, *17*(10), 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na współwykonaniu części eksperymentalnej, pomocy w przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, pomocy w interpretacji uzyskanych wyników i edycji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowania manuskryptu oraz udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje.

Michał Dąbrowski
.....
podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 26.09.2025

Dr Michał Krzysztof Łuczyński
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Waśkiewicz, K., Bakuła, T., Nowicki, Ł., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins*, *17*(10), 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na pozyskaniu finansowania, nadzorze nad prowadzeniem doświadczenia i badań laboratoryjnych oraz pomocy w przygotowaniu manuskryptu publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowania manuskryptu oraz udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje.

podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 26.09.2025

mgr Krzysztof Waśkiewicz
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Waśkiewicz, K., Bakuła, T., Nowicki, Ł., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins*, *17*(10), 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na, współuczestnictwie w przeprowadzeniu doświadczenia i weryfikacji uzyskanych wyników.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowania manuskryptu oraz udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje.

.....
podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 26.09.2025

Dr hab. Tadeusz Bakuła, prof. UWM
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Waśkiewicz, K., Bakuła, T., Nowicki, Ł., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins*, *17*(10), 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, nadzorze nad prowadzeniem doświadczenia i badań, interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu i edycji manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowania manuskryptu oraz udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje.

Tadeusz Bakuła
.....
podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 26.09.2025

Dr Łukasz Nowicki
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Waśkiewicz, K., Bakuła, T., Nowicki, Ł., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins*, *17*(10), 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na współwykonaniu analiz laboratoryjnych, pomocy w obróbce i interpretacji uzyskanych wyników.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowania manuskryptu oraz udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje.

.....
podpis/podpisy

Załącznik nr 5 do Załącznika nr 1
do Uchwały Nr 362
Senatu Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
z dnia 27 czerwca 2023 roku
wprowadzającej procedurę postępowania
w sprawie nadania stopnia doktora

Olsztyn, 26.09.2025

Dr hab. Łukasz Zielonka, prof. UWM
(tytuł zawodowy/stopień/tytuł naukowy, imię i nazwisko)

Przewodniczący Rady Naukowej Dyscypliny
Weterynaria
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

OŚWIADCZENIE
współautora

Oświadczam, że w pracy pod tytułem **Wróbel, M., Dąbrowski, M., Łuczyński, M., Waśkiewicz, K., Bakuła, T., Nowicki, Ł., & Zielonka, Ł. (2025). Bioconversion of Deoxynivalenol by Mealworm (*Tenebrio molitor*) Larvae: Implications for Feed Safety and Nutritional Value. *Toxins*, *17*(10), 478. https://doi.org/10.3390/toxins17100478** mój wkład merytoryczny w jej przygotowanie polegał na współpracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, nadzorze nad prowadzeniem doświadczenia, interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu manuskryptu do publikacji oraz przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w pracy przez mgr Marcina Wróbla jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład kandydata mgr Marcina Wróbla polegający na opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu części eksperymentalnej, przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowania manuskryptu oraz udzielaniu odpowiedzi na otrzymane recenzje.

.....
podpis/podpisy