Instytut Podstaw Chemii Żywności
Politechniki Łódzkiej

Prof. dr hab. inż. Janina E. Kamińska

Łódź 02.09.2016

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Darii Kaczmarczyk

Rozprawa doktorska mgr Darii Kaczmarczyk zatytułowana *„Wpływ wybranych produktów naturalnych na właściwości czynnościowe skóry"* wykonana została w Zakładzie Chemii Bioorganicznej na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Stanisława Lochyńskiego.

Główna część dysertacji poświęcona jest ocenie wpływu przygotowanych przez Doktorantkę preparatów kosmetycznych zawierających ekstrakty z zielonej i białej herbaty oraz kwas L-mlekowy na właściwości czynnościowe skóry. W badaniach tych mgr Daria Kaczmarczyk zastosowała nowoczesne techniki aparaturowe pozwalające zmierzyć takie parametry jak poziom nawilżenia i natłuszczenia skóry, przez-naskórkowa utrata wody i stan powierzchni skóry. Kosmetologia nie jest dziedziną, w której czuję się kompetentna, mam więc nadzieję, że tę część pracy oceni druga recenzentka. Jako chemik ustosunkuję się do pierwszych dwóch etapów badań przeprowadzonych przez Doktorantkę, dotyczących warunków hodowli tzw. Kombucha Tea oraz opracowania receptur i badań fizyko-chemicznych preparatów kosmetycznych do pielęgnacji skóry zawierających ekstrakty zielonej i białej herbaty. Kombucha Tea jest napojem wytwarzanym w procesie fermentacji osłodzonego naparu z liści herbaty (najczęściej czarnej) przez specyficzne konsorcjum bakterii octowych i grzybów potocznie nazywane „grzybem herbacianym". Spożywaniu tego napoju przypisuje się dobroczynny wpływ na zdrowie człowieka oraz działanie zapobiegające nowotworom, chorobom układu sercowo-naczyniowego, hepato-protekcyjne, stymulujące układ immunologiczny i wiele innych.

Rośliny są niezwykle bogatym i odnawialnym źródłem różnorodnych substancji organicznych, które ze względu na właściwości użytkowe takie jak np. cechy organoleptyczne (zioła stosowane jako przyprawy) czy działanie lecznicze były i są obiektem zainteresowania. W medycynie ludowej od wieków stosowano rośliny w celach terapeutycznych bez znajomości mechanizmu działania czy budowy

składników aktywnych. Ogromny postęp w dziedzinie technik wyodrębniania pojedynczych komponentów ze złożonych mieszanin produktów naturalnych i metod analitycznych umożliwił poznanie budowy składników aktywnych, określenie ich działania biologicznego i opracowania metod syntezy, które jednak w przypadku cząsteczek o skomplikowanej budowie są zwykle nieopłacalne. Obserwowany aktualnie trend „powrotu do natury" sprzyja zastępowaniu substancji syntetycznych produktami roślinnymi o znanej aktywności biologicznej, zwłaszcza w wyrobach spożywczych, kosmetycznych, farmaceutycznych. Cechą produktów naturalnych jest ich duża zmienność, wynikająca z mnogości czynników wpływających na wegetację roślin. W dobie standaryzacji wszelkich surowców konieczne są metody analityczne umożliwiające ocenę jakościową i ilościową, a także poznanie czynników wpływających na zmienność naturalnego surowca.

Praca doktorska mgr Darii Kaczmarczyk ma potencjał aplikacyjny, gdyż Autorka opracowując receptury preparatów do pielęgnacji skóry w oparciu o dane literaturowe dotyczące składu ekstraktów herbaty i aktywności zawartych w nich substancji przeprowadziła ocenę ich rzeczywistego wpływu na stan skóry stosując badania aparaturowe poparte analizą statystyczną.

Dysertacja liczy 217 stron, w tym 62 strony stanowi przegląd literatury, 122 strony zajmuje opis badań własnych Autorki podzielony na 3 podrozdziały, 4 strony - podsumowanie i wnioski, 8 stron – wykaz cytowanej literatury. Układ pracy jest nieco odmienny od typowego, gdyż nie zawiera wyodrębnionej części eksperymentalnej poświęconej omówieniu materiałów i metod stosowanych w badaniach doświadczalnych. Dane te umieściła Doktorantka odrębnie w każdym z trzech podrozdziałów badań własnych, podobnie jak wyniki badań i ich dyskusję.

Wykaz cytowanej w pracy literatury obejmuje 198 pozycji, przy czym są to najczęściej artykuły oryginalne, publikowane w ostatnich latach w renomowanych międzynarodowych czasopismach naukowych. Zastrzeżenia moje budzi tylko kilka pozycji książkowych, które są podręcznikami akademickimi (np. poz. 46, 90, 131) lub publikacjami o charakterze popularnym (np. poz. 29, 31, 32).

Tekst rozprawy jest przejrzyście zredagowany oraz estetycznie i poglądowo opracowany pod względem graficznym. Wszystkie tabele i rysunki są czytelne, wyczerpująco podpisane i omówione w tekście. W tej sytuacji wydaje mi się zbędne umieszczanie sześciostronicowego spisu tabel i rysunków na końcu pracy.

Praca napisana jest poprawnym i zrozumiałym językiem, a korekta autorska staranna - nieliczne są błędy literowe, choć niektóre podczas czytania wywołują uśmiech czytelnika (np. zdanie na str. 37 „Napój Komucha kultywowany jest głównie w warunkach domowych"...; na str 40 „na skład ilościowy i jakościowy Komuchy wpływa jej pochodzenie"...). Niestety Autorka rozprawy nie ustrzegła się przed użyciem pewnej liczby nieprecyzyjnych zwrotów będących najczęściej typowym żargonem laboratoryjnym. Na str. 7 rozwinięcie skrótu WTWM brzmi „wodna mgiełka z białą herbatą", podczas gdy chodzi o wykonany przez nią preparat zawierający ekstrakt z liści białej herbaty.

Przegląd literatury Doktorantka podzieliła na dwa rozdziały – „Produkty naturalne" i „Anatomia i fizjologia skóry". W pierwszym z nich zwięźle omówiła:

- zastosowanie produktów roślinnych w kosmetologii,
- herbatę jako źródło fitozwiązków dla kosmetologii,
- Kombuchę - jej wytwarzanie, właściwości i zastosowanie w medycynie naturalnej oraz aktywność biologiczną,
- zastosowania miejscowe aktywnych związków naturalnych.

Rozdział drugi Autorka poświęciła omówieniu:

- budowy, funkcji i właściwości czynnościowych skóry,
- nieprawidłowościom funkcjonowania i procesom degeneracyjnym
- mechanizmom działania substancji aktywnych
- metodom badań skóry i diagnostyce kosmetologicznej

Wybór zagadnień przedstawionych w obu rozdziałach przeglądu literatury jest właściwy i logicznie powiązany z materiałem doświadczalnym pracy. W części poświęconej związkom naturalnym Doktorantka pokazuje budowę wybranych substancji aktywnych wzorami strukturalnymi, w których niestety nie ustrzegła się błędów. Wiadomo, że konfiguracja przestrzenna centrów stereogenicznych jest często kluczowa dla bioaktywności. I tak:

- na str. 30 błędny jest wzór (-)-epigalokatechiny
- na str. 38 wzór kwasu L-mlekowego przedstawia kwas D-mlekowy, we wzorze kwasu D-glukonowego brak konfiguracji czterech centrów stereogenicznych, natomiast wzór kwasu D-glukuronowego przedstawia jego enancjomer.
- na str.47 wśród kwasów α-hydroksylowych Autorka wymienia kwas octowy

- na str. 39 Doktorantka twierdzi, że w produktach spożywczych (kwaśne mleko, jogurt, kiszona kapusta itp.) występuje racemiczny kwas mlekowy. Prosiłabym o podanie źródła tej informacji.
- na tej samej stronie Autorka pisze, że kwas pirogronowy „w połączeniu z wodą przekształca się w kwas L-mlekowy" – czy jest Pani tego pewna?

Przytaczając w tabelach dane literaturowe dotyczące zawartości składników mineralnych oraz kwasów i etanolu w Kombuchy Doktorantka korzystała z kilku źródeł i podaje je wszystkie przy tytule tabeli, co uniemożliwia przypisanie podanych wartości do odpowiednich publikacji.

Odnośnie wyrażonej przez Doktorantkę na str. 43 opinii dotyczącej konieczności dalszych badań Kombuchy, jej składu, właściwości biologicznych i bezpieczeństwa stosowania polecam dwa bardzo aktualne i krytyczne arykuły:

"A Review on Kombucha Tea – Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus" opublikowany przez R. Jayabalana i współprac. w Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety w 2014 roku (vol. 13, str. 538-550) oraz

"Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics" opublikowany przez S. Chakravorty i współprac. w styczniu 2016 w International Journal of Food Microbiology (vol. 220, str. 63-72).

"Kombucha tea" do celów konsumpcyjnych wytwarzana jest najczęściej z czarnej herbaty. W ramach badania zmian zachodzących podczas biotransformacji naparu herbaty w obecności sacharozy mgr Daria Kaczmarczyk przeprowadziła ten proces dla trzech rodzajów herbat – czarnej, zielonej i białej przy dwóch wyjściowych stężeniach sacharozy oznaczając zmiany pH, zawartość kwasów, oraz masę wytworzonej celulozy bakteryjnej w funkcji czasu. Dla wszystkich rodzajów herbaty obserwowała ten sam kierunek zmian badanych parametrów lecz pojawiły się różnice ilościowe. Dla naparu z zielonej herbaty przeprowadziła badania mikrobiologiczne w celu identyfikacji dominujących w konsorcjum mikroorganizmów i prześledziła zmiany ich liczebności w czasie.

W kolejnej części badań własnych Doktorantka zaprojektowała cztery receptury preparatów wodnych do pielęgnacji skóry, zawierających ekstrakty z białej lub zielonej herbaty z dodatkiem lub bez kwasu L-mlekowego. Przygotowane przez nią preparaty zostały poddane w specjalistycznej jednostce zewnętrznej badaniom fizyko-chemicznym, mikrobiologicznym, dermatologicznym oraz testom stabilności

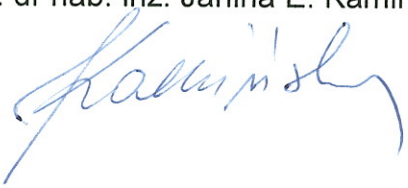
i jako spełniające wszystkie kryteria, użyte w aparaturowych testach kosmetologicznych. Ocena działania wytworzonych przez Doktorantkę preparatów na skórę stanowi zasadniczą część dysertacji. W rezultacie przeprowadzonych testów mgr Daria Kaczmarczyk stwierdziła, że wodne preparaty zawierające ekstrakty z białej lub zielonej herbaty wpływają na poprawę nawilżenia skóry, zmniejszenie jej natłuszczenia oraz na obniżenie transepidermalnej utraty wody. Dodatek kwasu L-mlekowego wzmacnia obserwowane efekty. Jedynie w badaniach powierzchni skóry Doktorantka nie uzyskała istotnej poprawy oznaczanych parametrów.

Z obowiązku recenzenta chciałabym podzielić się kilkoma uwagami krytycznymi, które nasunęły mi się podczas lektury rozprawy, w nadziei, że Doktorantka wyjaśni moje wątpliwości podczas publicznej obrony:

1. W opisie eksperymentów biotransformacji (str. 80) nie podano żadnych informacji o rodzaju i pochodzeniu użytych herbat, ani o zastosowanym konsorcjum mikroorganizmów.
2. Na str. 88 opis pomiaru przyrostu warstwy celulozowej jest niejednoznaczny – czy jest to przyrost względny (stosunek masy końcowej do początkowej), czy też różnica pomiędzy masą końcową i początkową?
3. Czy poprawne są współrzędne na rys. 4.12 (str. 89) „przyrost masy" i „przyrost zawartości kwasów"? Czy nie powinno być „względny przyrost masy celulozy" i „zawartość kwasów"?
4. Co oznacza zwrot „analiza składu mikrobiologicznego" na str. 90?
5. Na rys. 4.20 (str. 95) porównuje Pani wyniki swoich oznaczeń z wynikami innych autorów podając ich nazwiska, ale nie podaje Pani odsyłaczy do oryginalnych prac.
6. Projektując mgiełki wodne stosuje Pani ekstrakty wodne z liści białej i zielonej herbaty do preparatów bez kwasu L-mlekowego (str. 101), natomiast do preparatów z kwasem L-mlekowym używa Pani ekstraktów glicerolowo-wodnych (str. 104, nie podano producenta). Proszę o wyjaśnienie dlaczego zastosowała Pani różne ekstrakty.

Efektem pracy badawczej mgr Darii Kaczmarczyk jest opracowanie receptur preparatów do pielęgnacji skóry zawierających ekstrakty białej lub zielonej herbaty oraz kwas L-mlekowy i potwierdzenie ich rzeczywistego wpływu na właściwości

czynnościowe skóry. Uzyskane przez Doktorantkę wyniki mogą być wykorzystane do produkcji preparatów zarówno do celów kosmetycznych jak i do wspomagania leczenia farmakologicznego w przypadku dermatoz.

Podsumowując ocenę pracy doktorskiej mgr Darii Kaczmarczyk pragnę stwierdzić, że w mojej opinii spełnia ona wymogi stawiane pracom doktorskim określone w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Wnioskuję zatem do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr Darii Kaczmarczyk do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. inż. Janina E. Kamińska