



UNIwersytet
Opolski

WYDZIAŁ CHEMII

ul. Oleska 48, 45-052, Opole
tel. 077 452 71 00
fax 077 452 71 01
chemia@uni.opole.pl
www.chemia.uni.opole.pl

Prof. dr hab. inż. Piotr P. Wieczorek
e-mail: Piotr.Wieczorek@uni.opole.pl

Opole, 2025-03-27

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr. Moniki Krzyżostan

zatytułowanej

„Opracowanie nowej linii dermokosmetyków naturalnych i biodegradowalnych, zgodnie z zasadami zrównoważonego rozwoju oraz wymaganiami Ecocert/COSMOS, przyjaznych środowisku i skórze”

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr. Moniki Krzyżostan została wykonana na Wydziale Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu we współpracy z firmą dr Koziej Sp. z o.o. Sp.k. jako Partnera, w ramach ministerialnego projektu „Doktorat wdrożeniowy”, pod kierunkiem prof. dr hab. Izabeli Nowak jako promotora i dr. Sylwii Jarmolińskiej jako promotora pomocniczego. Natomiast opiekunami z ramienia Partnera projektu byli dr n. farm. Piotr Koziej w latach 2020-2024 oraz mgr Justyna Koziej w czasie listopad-grudzień 2024. Przedmiotem ocenianej rozprawy są zagadnienia związane z opracowaniem sposobów otrzymywania naturalnych i biodegradowalnych dermokosmetyków przeznaczonych do pielęgnacji skóry atopowej, zawierających saponiny triterpenowe zawarte w wąkrocie azjatyckiej (*Centella asiatica* L.) jako składniki aktywne.

Atopowe zapalenie skóry (AZP) to przewlekła, nawrotowa, zapalna choroba skóry, która charakteryzuje się występowaniem silnego świądu, dużą suchością skóry, a także miejscowych zmian rumieniowych i złuszcżających się gródków. Choroba ta rozpoczyna się najczęściej w dzieciństwie i może utrzymywać się u osób dorosłych, co niekorzystnie wpływa na jakość życia osób chorych i ich bliskich. Dlatego też ciągle poszukuje się efektywnych sposobów leczenia tego schorzenia. Zatem ciekawą propozycją jest opracowanie nowych

skutecznych preparatów użytecznych we wspomaganiu leczenia AZS, zawierających substancje pochodzenia naturalnego i otrzymywane zgodnie zarówno z zasadami Zielonej Chemii, jak i zrównoważonego rozwoju.

Oceniana rozprawa posiada strukturę mieszaną. Zasadnicza jej część została napisana w klasycznym układzie rozdziałów i zawiera wszystkie elementy cechujące dobrze przygotowaną i napisaną rozprawę doktorską. Integralną część rozprawy, zgodnie z przepisami opublikowanymi w Dz. U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455, art. 13, ust. 2 stanowi spójny tematycznie dodatek 5 artykułów, 2 prac przeglądowych i 3 prac eksperymentalnych, opublikowanych w ogólnopolskich (2 prace) i międzynarodowych czasopismach o wysokim współczynniku oddziaływania (3 prace). Przy czym nie jest to standardowo przedkładany, w tego typu opracowaniu, cykl publikacji poprzedzony krótkim Autoreferatem. W tym przypadku bowiem Autoreferat jest całościowym, metodycznym, ponad 120 stronicowym opracowaniem i może być potraktowany jako podstawa rozprawy doktorskiej, tym bardziej, że oprócz omówienia wyników, które zostały szczegółowo omówione w publikacjach, zawiera również wyniki nieopublikowane. Na pracę tę składają się, wykaz skrótów, życiorys naukowy Doktorantki, wykaz publikacji wchodzących w skład pracy i dodatkowych publikacji w czasopismach branżowych, wykaz prezentacji na konferencjach naukowych. Ponadto abstrakty w języku polskim i angielskim oraz streszczenie pracy, następnie krótki wstęp i część literaturowa będąca podstawą do sformułowania celu pracy. Część ta w dużej mierze została opracowana na podstawie dwóch opublikowanych artykułów przeglądowych. Po części literaturowej następuje część badawcza, na którą składają się opracowanie metodyki oznaczania madekasozydu i azjatykozydu za pomocą HPLC oraz ich oznaczanie w surowcach otrzymanych z wąkroty azjatyckiej opisane w publikacji D3. Następnie opis produktów dermokosmetycznych przeznaczonych do pielęgnacji skóry z AZS, na podstawie kolejnych dwóch artykułów (D4 i D5). Tę część kończy rozdział dotyczący badania produktów dermokosmetycznych stanowiących istotną część wdrożeniową pracy i nie opisanych w publikacjach wchodzących w skład rozprawy. Po części badawczej następuje krótkie podsumowanie i wnioski oraz spis cytowanej literatury, na którą składają się 142 pozycje. Integralną częścią tej rozprawy są kopie pięciu publikacji stanowiących podstawę pracy poprzedzone oświadczeniami ich współautorów.

Część literaturową rozpoczyna od omówienia wymogów i standardów obowiązujących w przemyśle kosmetycznym wynikających z zasad zrównoważonego rozwoju i Zielonego Ładu, w tym kryterii doboru surowców naturalnych i organicznych, kryterii ich przetwarzania oraz rodzajów surowców z upcyklingu i biofermentacji, użytych do przygotowania dermokosmetyków. Po czym szczegółowo opisuje atopowe zapalenie skóry (AZS), jego patogenezę oraz sposoby pielęgnacji skóry z takim chorzeniem. Część tę kończy szczegółowe omówienie wąkroty azjatyckiej, rośliny która może być użyta we wspomaganiu leczenia AZS, ekstraktów i biofermentów uzyskiwanych z jej liści oraz użytecznych składników tych ekstraktów. Część literaturowa poparta jest wieloma aktualnymi i dobrze dobranymi cytacjami z literatury. Na podstawie omówienia literatury Pani mgr. Monika Krzyżostan sformułowała cel pracy, którym było opracowanie zoptymalizowanej technologii wytwarzania pięciu naturalnych produktów dermokosmetycznych opartych o działanie emolientów oraz substancji aktywnych z ziela wąkroty azjatyckiej, przeznaczonych do kompleksowej pielęgnacji i wspomagania leczenia skóry atopowej z zachowaniem zasad zrównoważonego rozwoju i standardami COSMOS dla kosmetyków naturalnych i organicznych.

Kolejna część to część badawcza, zawierająca zarówno stosowane materiały i odczynniki, opis metodyki przeprowadzonych badań, omówienie uzyskanych wyników oraz ich interpretację i wnioski. Badania Autorka rozpoczęła od opartego na publikacji D3, opisu opracowania procedur analitycznych do oznaczania madekasozydu i ajztykozydu zarówno w surowcach, jak i przygotowanych podłożach kosmetycznych i w płynie akceptorowym podczas procesu kontrolowanego uwalniania tych substancji z różnych podłoży kosmetycznych. Dobrała optymalne warunki analizy z użyciem HPLC i przeprowadziła pełną jej walidację. Sporządziła niezbędne krzywe kalibracyjne i oznaczyła zawartość tych związków w surowcach handlowych, jak i otrzymanych z liści wąkroty azjatyckiej ekstraktach i biofermentach. Stwierdziła, że ich zawartość zależy od rodzaju surowca i że znacznie mniejszą zawartością medaksozydu charakteryzował się bioferment, w którym na dodatek nie wykryła obecności ajztykozydu. Ponadto, posiłkując się informacjami zawartymi w części literaturowej stwierdziła, że bioferment zawiera inne wartościowe dla skóry atopowej substancje. Następnie, również na bazie publikacji D3, omawia preparatykę i badanie właściwości fizykochemicznych, stabilności i kontrolowanego uwalniania tych związków z podłoży najczęściej stosowanych w przemyśle kosmetycznych, czyli emulsji typu

w/o, emulsji o/w i żelu. Dla wymienionych podłoży określiła pH, lepkość, gęstość, stabilność, rozkład wielkości cząstek, potencjał zeta i stabilność substancji aktywnych w tych podłożach. W następnym etapie wykonała badania kontrolowanego uwalniania madekasozydu i azjatykozydu z wymienionych nośników. Określiła profile uwalniania tych substancji i do tych profili dopasowała modele kinetyczne uwalniania. Stwierdziła, że dla emulsji typu o/w najlepsze dopasowanie opisują modele Korsmeyera-Peppasa i Hixsona-Crowella. Przy czym ten pierwszy jest najczęściej stosowany w przypadku kiedy uwalnianie zależy od więcej niż jednego typu uwalniania i mechanizm tego procesu nie jest dobrze rozpoznany. Podobnie dla żelu, dla którego krzywe kinetyczne również są najlepiej opisywane przez ten sam model. Natomiast badania uwalniania z emulsji typu w/o wskazują, że krzywe kinetyczne każdej z substancji aktywnych opisać można innym modelem. I tak, dla madekasozydu profil uwalniania najlepiej opisuje model Korsmeyera-Peppasa, a dla azjatykozydu model Hixsona-Crowella. Kolejna część pracy, której podstawą były publikacje D4 i D5, dotyczy opracowania formułacji trzech dermokosmetyków, balsamu do ciała i kremów do rąk i do ciała, bazujących na omówionych wcześniej podłożach. Przy czym bazą balsamu do ciała i kremu do rąk były emulsje typu w/o, natomiast bazą kremu do ciała emulsja typu o/w, z dodatkiem ekstraktu i biofermentu z wąkroty azjatyckiej. Opisała sposób opracowania tych formułacji oraz zbadała *in vivo* ich skuteczność działania. Badania te prowadzone były na grupie 20 wolontariuszy i dotyczyły pomiaru wybranych parametrów skóry, takich jak przeznaskórkowa utrata wody (TEWL), nawilżenie warstwy rogowej naskórka, wygładzenia i szorstkości powierzchni oraz stopnia złuszczenia naskórka, mierzonych przed zastosowaniem tych produktów, a także po 2 i 4 tygodniach ich stosowania. Wyniki tych badań potwierdziły użyteczność stosowanych formułacji, czego dowodem było statystycznie istotne zmniejszenie TEWL, znaczący wzrost nawilżenia warstwy rogowej naskórka spowodowane użyciem kremów do rąk i do twarzy, a także zwiększenia gładkości oraz zmniejszenia szorstkości i złuszczenia naskórka, przy stosowaniu tych formułacji oraz balsamu do ciała.

W ostatnim rozdziale doświadczalnej części pracy Doktorantka opisuje nieopublikowane badania *in vivo* dotyczące opracowania produktów dermokosmetycznych przeznaczonych do mycia skóry atopowej i olejku do demakijażu, których celem było potwierdzenie skuteczności ich działania. W tym przypadku oprócz omówionych w poprzednim badaniu *in vivo* parametrów skóry zbadano wpływ tych kosmetyków na pH jej powierzchni, wykonano badania towarzyszącego AZS rumienia oraz oceniono jej mikrobiom. Wszystkie te badania

potwierdziły skuteczność działania tych produktów. Na podstawie przeprowadzonych badań Autorka wnioskuje, że połączenie saponin triterpenowych i postbiotyków pochodzących z ekstrakcji i fermentacji liści z wąkroty azjatyckiej oraz emolientów pozwala na zmniejszenie stanu zapalnego i odbudowę bariery naskórkowej skóry, czyli zapewnia kompleksową pielęgnację skóry twarzy i ciała osoby dotkniętej AZS.

Treści zawarte w poszczególnych częściach rozprawy podane są we właściwych proporcjach i są zgodne z zakresem podjętych badań. Zarówno pod względem merytorycznym, jak i edytorskim praca nie budzi większych zastrzeżeń.

Podsumowując omówioną pracę stwierdzam, że jestem pod wrażeniem szerokiego zakresu zrealizowanych badań i osiągniętych wyników. Pani mgr. Monika Krzyżostan wykazała się bowiem znajomością wielu aspektów z różnych dyscyplin, poczynając od chemii i chemii analitycznej poprzez zagadnienia zakresu nauk biologicznych i medycznych, skończywszy na aplikacyjnych elementach badań. Praca ma bowiem charakter interdyscyplinarny i wymagała znajomości wielu różnych zagadnień, z czym Doktorantka znakomicie sobie poradziła. Na uwagę zasługuje również fakt, że Pani mgr. M. Krzyżostan wykazuje dużą aktywność w zakresie popularyzacji zagadnień związanych z realizowaną pracą, czego dowodem oprócz publikacji naukowych jest siedem publikacji monautorskich w czasopiśmie branżowym i kilkanaście prezentacji ustnych i plakatowych na konferencjach międzynarodowych i krajowych.

Mam jednak kilka uwag do dyskusji oraz pytań dotyczących przedstawionej pracy:

1. Czy rzeczywiście w literaturze podawane są dane dotyczące aplikowanej dawki 0,2 i 0,4% ekstraktu w ilości 40 lub 80 mg/cm² i z czego to wynika?
2. Proszę o wyjaśnienie stwierdzenia ze strony 84, iż emulsja w/o wykazuje tendencję do flokulacji, czego nie potwierdzają wyniki przedstawione na Rysunku 12. Ponadto na kolejnej stronie Autorka pisze, że wartość ZP (potencjał zeta) bliska zeru sugeruje niestabilność emulsji wynikającą z procesów flokulacji lub koalescencji.
3. Dlaczego badania uwalniania substancji aktywnych wykonano tylko w dwóch powtórzeniach (Rysunek 15), podczas gdy standardowo tego typu badania wykonuje się co najmniej w trzech ?

4. Dlaczego uzyskane wyniki nie są zastrzeżone patentami lub wzorami użytkowymi i czy opisane dermokosmetyki są już produkowane? Przynajmniej nie ma takich informacji w przesłanych materiałach.

5. Stwierdzenie : „...że połączenie saponin triterpenowych i postbiotyków pochodzących z ekstrakcji i fermentacji liści z wąkroty azjatyckiej oraz emolientów pozwala na zmniejszenie stanu zapalnego i odbudowę bariery naskórkowej skóry, czyli zapewnia kompleksową pielęgnację skóry twarzy i ciała osoby dotkniętej AZS” wydaje mi się nie do końca uprawnione ponieważ nie przeprowadzono badań formułacji zawierających tylko jeden z wymienionych składników np. tylko ekstraktów lub tylko biofermentów.

Na uwagę zasługuje fakt, iż rozprawa jest bardzo dobrze napisana. Nieliczne, dostrzeżone przeze mnie, drobne błędy redakcyjne i niefortunne sformułowania, przedstawiam poniżej:

str. 59 „...ścieńczenia naskórka...”?

str. 62 na Rysunku 6 niekonsekwencja w zapisie grupy metylowej raz jako -CH₃, a innym razem bez tego oznaczenia

str. 83 raz określenie „ ...w/o... ” małymi, a raz dużymi literami

str. 85 co oznacza zapis: „...ZP większy niż ± 30 mV ?

str. 95 powinno być „...zamiennie dla ...”

str. 101 powinno być „...zwiększy się znacząco ...”

Podsumowując należy podkreślić, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska, zakres badań, zawarte w niej wyniki doświadczalne, sposób interpretacji oraz wnioskowania wskazują, że mgr. Monika Krzyżostan wykazała umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych i wniosła istotny wkład w rozwój badań nad otrzymywaniem i formułowaniem nowych kosmetyków naturalnych o interesujących właściwościach pielęgnacyjnych skóry oraz użytecznych w leczeniu atopowego zapalenia skóry co jest bardzo ważne również z aplikacyjnego punktu widzenia. Po zapoznaniu się z rozprawą mgr Moniki Krzyżostan **stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia kryteria ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.z 2023 r. poz. 742 z późniejszymi zmianami) i wnoszę o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

T. Wlęzord

Wniosek o wyróżnienie rozprawy

Przedmiotem ocenianej rozprawy są zagadnienia związane z opracowaniem sposobów otrzymywania naturalnych i biodegradowalnych dermokosmetyków przeznaczonych do pielęgnacji skóry atopowej, zawierających saponiny triterpenowe zawarte w wąkrocie azjatyckiej (*Centella asiatica L.*) jako składniki aktywne.

Biorąc pod uwagę znaczące osiągnięcia naukowe, które zostały szczegółowo omówione w przedstawionej recenzji oraz fakt, że jest to praca nowatorska, dojrzała, będąca dorobkiem przemysłu i systematycznych badań wnioskuję o wyróżnienie pracy doktorskiej mgr Moniki Krzyżostan. W przedstawionej do recenzji pracy chciałbym zwrócić uwagę przede wszystkim na fakt, iż Doktorantka opracowała procedurę otrzymywania i formułą nowych kosmetyków naturalnych o interesujących właściwościach pielęgnacyjnych skóry oraz użytecznych w leczeniu atopowego zapalenia skóry co jest bardzo ważne z aplikacyjnego punktu widzenia. Co również ważne, nowe formuły opracowała z zachowaniem wszystkich zasad zrównoważonego rozwoju i Zielonej Chemii. Przedstawiana praca mieści się w tym zakresie i z tego powodu jest ważna zarówno z naukowego, jak i praktycznego punktu widzenia. Oprócz procedur formuły, opracowała metody oznaczania madeksozydu i ajzykozydu zarówno w surowcach, jak i przygotowanych podłożach kosmetycznych i w płynie akceptorowym podczas procesu kontrolowanego uwalniania tych substancji z różnych podłoży kosmetycznych. Dobrała optymalne warunki analizy z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) i przeprowadziła pełną jej walidację. Sporządziła niezbędne krzywe kalibracyjne i oznaczyła zawartość tych związków w surowcach otrzymanych z liści wąkroty azjatyckiej, zarówno handlowych, jak i w otrzymanych ekstraktach i biofermentach. Przeprowadziła badania właściwości fizykochemicznych, stabilności i kontrolowanego uwalniania tych związków z podłoży najczęściej stosowanych w przemyśle kosmetycznych, czyli emulsji typu w/o, emulsji o/w i żelu. Dla wymienionych podłoży określiła pH, lepkość, gęstość, stabilność, rozkład wielkości cząstek, potencjał zeta i stabilność substancji aktywnych w tych podłożach. W następnym etapie wykonała badania kontrolowanego uwalniania madeksozydu i ajzykozydu z wymienionych nośników. Określiła profile uwalniania tych substancji i do tych profili dopasowała modele kinetyczne. Ponadto na podstawie badań *in vivo* wykazała ich użyteczność zarówno w pielęgnacji, jak i leczeniu atopowego zapalenia skóry.

Jestem pod wrażeniem szerokiego zakresu zrealizowanych badań i osiągniętych wyników. Pani mgr. Monika Krzyżostan wykazała się bowiem znajomością wielu aspektów z różnych dyscyplin, poczynając od chemii i chemii analitycznej poprzez zagadnienia zakresu nauk biologicznych i medycznych, skończywszy na aplikacyjnych elementach badań. Praca ma bowiem charakter interdyscyplinarny i wymagała znajomości wielu różnych zagadnień, z czym Doktorantka znakomicie sobie poradziła. Istotny jest również fakt, iż praca została wykonana w ramach programu Ministerstwa Edukacji i Nauki „Doktorat wdrożeniowy”, co świadczy o tym że, oprócz elementów nowości naukowej, praca musi mieć charakter aplikacyjny, a jej efekty powinny skutkować wdrożeniem.

Jestem również pod wrażeniem imponującego dorobku naukowego osiągniętego w krótkim czasie studiów doktoranckich. Mgr Krzyżostan jest bowiem współautorką 5 prac z listy filadelfijskiej wchodzących w skład rozprawy doktorskiej. Pomimo tego, że prace wchodzące w skład rozprawy doktorskiej mgr Moniki Krzyżostan są wieloautorskie to chciałbym również zwrócić uwagę na fakt, iż we wszystkich tych pracach jest Ona pierwszym autorem co świadczy o tym, że udział Doktorantki zarówno w realizacji, jak i w opracowaniu manuskryptów publikacji był znaczący. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że Pani mgr. M. Krzyżostan wykazuje dużą aktywność w zakresie popularyzacji zagadnień związanych z realizowaną pracą, czego dowodem oprócz publikacji naukowych jest siedem publikacji monoautorskich w czasopiśmie branżowych i kilkanaście prezentacji ustnych i plakatowych na konferencjach międzynarodowych i krajowych.

Biorąc powyższe pod uwagę z pełnym przekonaniem składam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Moniki Krzyżostan.


Prof. dr hab. inż. Piotr P. Wieczorek