



Opole 8 września 2017

dr hab. Jacek Lipok, prof. UO

#### OCENA

Rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Fabrowskiej,  
pt.: „Metody izolacji i analiza związków bioaktywnych z wybranych gatunków zielenic  
słodkowodnych ”

wykonanej w Zakładzie Chemii Supramolekularnej  
Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu,  
pod kierunkiem prof. UAM dr hab. Bogusławy Łęskiej

Już w starożytności algi morskie były cenionym źródłem substancji stosowanych w celach kosmetycznych i leczniczych. Postęp wiedzy odnośnie cennych, bioaktywnych komponentów komórek glonów, wraz z rozwojem technologii umożliwiających pozyskiwanie tych substancji sprawiły, że współcześnie niezwykle dynamicznie rośnie zainteresowanie wieloaspektowym wykorzystaniem biomasy alg. Nie bez znaczenia jest dostępność tych organizmów – zasiedlają praktycznie wszystkie ekosystemy wodne, czyli większość powierzchni Ziemi oraz niewygórowane wymagania pokarmowe tych fotoautotrofów. Mimo tak powszechnego występowania i długiej historii różnorodnego wykorzystania alg, nasza wiedza o kompozycji chemicznej tych plechowców jest zadziwiająco nikła. Warto też zauważyć, że zdecydowana większość dostępnych informacji dotyczy alg morskich, a opracowania poświęcone algom słodkowodnym są bardzo nieliczne (mniej niż 1% ogółu). Zatem rzetelne, interdyscyplinarne prace badawcze związane z chemizmem wspomnianych organizmów są cennym i poszukiwanym źródłem wiedzy.

Walory takie posiada tok badań Pani mgr Joanny Fabrowskiej, omówiony w dysertacji doktorskiej przedstawionej mi do oceny. Rozprawa została przygotowana w oparciu o spójny tematycznie cykl artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych i jest relacją dociekań poświęconych opracowaniu efektywnych metod ekstrakcji oraz identyfikacji substancji biologicznie czynnych, pozyskanych z glonów słodkowodnych, występujących w wodach śródlądowych na terenie Wielkopolski. Temu zdecydowanie naukowemu wątkowi badań, towarzyszy ciekawy wątek o charakterze aplikacyjnym – wykazanie, że zarówno

biomasa, jak i ekstrakty z badanych słodkowodnych glonów, mogą stanowić nowy i interesujący surowiec dla przemysłu kosmetycznego.

Zgodnie z informacjami podanymi przez Autorkę, obiektami badań były trzy gatunki słodkowodnych makrozielenic: *Cladophora glomerata*, *Ulva flexuosa* i *Chara fragilis*, występujące masowo w wodach śródlądowych Polski w sezonie wegetacyjnym. Zarastając zbiorniki wodne biomasa wspomnianych makroalg, stanowi problem zaburzając funkcjonowanie tych ekosystemów oraz ograniczając ich np. rekreacyjne wykorzystanie. W tej sytuacji, brak informacji o składzie chemicznym wspomnianych makroalg oraz chęć korzystnego i oryginalnego wykorzystania biomasy tych roślin, stały się racjonalnymi przesłankami podjętych badań. Prace te obejmowały wyodrębnienie kilku grup substancji o uznanej aktywności biologicznej z biomasy glonów słodkowodnych, a następnie ich analizę jakościową i ilościową, a także określenie właściwości antyoksydacyjnych pozyskanych ekstraktów i ich komponentów. Wyzwaniem, któremu Autorka w pełni podołała, było opracowanie skutecznych i wydajnych metod pozyskiwania bioaktywnych frakcji glonowych, w oparciu o techniki ekstrakcyjne akceptowane przez przemysł farmaceutyczny, kosmetyczny i spożywczy oraz zgodne z regułami „zielonej chemii”. Odpowiedni dobór techniki ekstrakcyjnej - dwutlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym (SFE) i warunków prowadzenia procesu pozwolił Doktorantce na efektywne pozyskanie kwasów tłuszczowych z *C. glomerata* oraz karotenoidów i polifenoli z *C. glomerata*, *C. fragilis* i *U. flexuosa*. Z kolei połączenie ekstrakcji gorącą wodą z hydrolizą enzymatyczną (EAE) doprowadziło do wykrycia obecności siarczanowych polisacharydów (ulwanów) w komórkach *C. glomerata* i *U. flexuosa*. Do analizy pierwiastkowej biomasy glonów, Autorka wykorzystwała ekstrakcję poprzez mineralizację na mokro w piecu mikrofalowym. Dzięki umiejętnemu zastosowaniu różnych metod analitycznych, w tym: spektrofotometrii UV-VIS, chromatografii gazowej (GC), wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV-VIS sprzężonej ze spektrometrią mas (HPLC-DAD-MS), analizy elementarnej, spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (<sup>1</sup>H NMR), spektroskopii w podczerwieni (FT-IR) oraz optycznej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w indukcyjnie sprzężonej plazmie (ICP-OES), Pani Joanna oznaczyła jakościowo i ilościowo składniki pozyskanych ekstraktów, a także ustaliła rodzaj i zawartość makro- i mikroelementów w analizowanej biomacie. Warto podkreślić, że większość spośród związków oznaczonych eksperymentalnie przez Doktorantkę, to substancje niewymieniane wcześniej jako składniki komórek badanych słodkowodnych makrozielenic. Ze względu na walory tych związków, Autorka podjęła się również oceny, w warunkach *in vitro*, właściwości przeciwutleniających ekstraktu, w którym zostały oznaczone. Zwieńczeniem tego wątku badań była ocena aktywności *in vivo*, emulsji kosmetycznej używanej w pielęgnacji skóry, w której składzie znalazła się frakcja ekstraktu zawierająca



wspomniane substancje. Wyniki obu serii eksperymentów: *in vitro* i *in vivo*, można uznać za bardzo obiecujące.

Pełny opis przeprowadzonych prac eksperymentalnych i wyników toku badań związanych bezpośrednio z celem sformułowanym przez Panią mgr Joannę Fabrowską, został zawarty w tekstach czterech (4) publikacji wydanych w czasopismach z tzw. listy A MNiSW, których Doktorantka jest współautorką (pierwszym autorem w dwóch przypadkach). Natomiast stan wiedzy i problematyka zagadnień poruszanych w dysertacji, zostały omówione w tekstach dwóch prac o charakterze przeglądowym (jedna z nich w czasopiśmie z listy B MNiSW). Warto podkreślić, że posługując się zestawem słów kluczowych w celu znalezienia informacji literaturowych zbieżnych z tematyką tej rozprawy, w światowych bazach danych znajduje się tylko siedem (7) (*sic!*) publikacji, w tej liczbie dwie (2) współautorstwa Doktorantki.

Kompozycja liczącej 138 stron dysertacji, opartej na cyklu sześciu (6) spójnych tematycznie, opublikowanych artykułów naukowych, odpowiada przyjętej przez Autorkę konwencji. Syntetyczny, miejscami nazbyt uproszczony merytorycznie wstęp poprzedza streszczenia pracy przygotowane w języku polskim i w języku angielskim. Następnie wprowadzając czytelnika w *meritum* problematyki badań, Doktorantka słusznie koncentruje się jedynie na istotnych dla obrazu badań kwestiach; wyjaśnia ich przesłanki, omawia krótko zasady stosowanych technik ekstrakcyjnych, charakteryzuje wybrane grupy metabolitów alg i uzasadnia znaczenie tych naturalnych pochodnych jako komponentów kosmetyków. Kolejnymi wyróżnionymi częściami pracy są podsumowanie, omówienie dorobku naukowego Autorki oraz zestaw pełnych tekstów publikacji stanowiących podstawę ocenianej dysertacji.

Zapewne z powodu zwartej formy rozprawy, niektóre poruszane kwestie budzą wątpliwości. Choć, jak sądzę, wynikają one głównie z naturalnie emocjonalnego stosunku Autorki do przedsięwzięcia, w które była zaangażowana, w moim przekonaniu wymagają komentarza, czasem wyjaśnienia.

- Str. 13 - Wspomniane wcześniej uproszczenia w tekście wstępu, np. „Świat substancji bioaktywnych ...” z pewnością nie ogranicza się do tych produkowanych „w roślinach”.
- Str. 23-24 – Autorka wspomina o przeprowadzeniu „złożonej charakterystyki biochemicznej” badanych glonów, co jak sądzę jest określeniem nieadekwatnym do zakresu przeprowadzonych analiz. Byłbym wdzięczny, gdyby w toku dyskusji towarzyszącej publicznej obronie pracy doktorskiej, Doktorantka zechciała wyjaśnić jakie analizy powinny zostać wykonane, by użycie takiego zwrotu było uprawnione.
- Str. 24 – Jakkolwiek uważam, że opracowanie nowej metody wyodrębniania polisacharydów siarczanowych trudno rozpatrywać w kategorii „nowatorskiego

odkrycia”, jednak może to być procedura na tyle cenna, że warto objąć ją ochroną. Czy zatem przygotowano zgłoszenie patentowe ?

- Czy istnieje specjalny powód, np. niejawnosc części wyników, dla którego współrzędne geograficzne stanowisk poboru próbek; z Jeziora Oporzyńskiego (str. 23) oraz z Jeziora Wielkowiejskiego (str. 26) podano z różną dokładnością?
- Str. 36 – Nie bardzo rozumiem jak dodanie enzymów hydrolitycznych może prowadzić do oczyszczenia matrycy z „cukrów prostych” ... Dlatego będę wdzięczny, jeśli Autorka zechce krótko omówić zakres aktywności enzymów hydrolitycznych w odniesieniu do podanej przez Siebie informacji.
- Str. 47 – Zgodnie z definicją tej klasy związków podanych przez Doktorantkę, kwas kumarynowy (rys. 12) nie jest najlepszym przykładem związku reprezentującego „polifenole”. Częściej zaliczany jest do połączeń fenylopropenoidowych.
- Pytanie ogólne po lekturze publikacji Doktorantki, zawierających informacje o składzie chemicznym badanych makroalg rozwijających się w warunkach naturalnych i hodowanych w laboratorium: Jakie zanieczyszczenia zbiorników wodnych i w jakim zakresie zmieniają/mogą zmienić skład chemiczny makrozielenic uniemożliwiając wykorzystanie tych glonów w przemyśle kosmetycznym?

W ocenianej, bardzo dobrze zredagowanej pracy, znalazłem nieliczne potknięcia edytorskie, które przytaczam wyłącznie z obowiązku recenzenta:

- Str. 13 – zbędne słowo „na” we frazie „ ...na funkcje fizjologiczne i metaboliczne organizmu.”
- Str. 44 – brak orzeczenia w zdaniu „Ulvany są głównie z glukozy, ramnozy, ksylozy, kwasu glukuronowego ...”
- w tekście publikacji - Zał. I, w nagłówkach tabel 1 i 4 jednostkami powinny być chyba  $\text{mg g}^{-1}$

Wyrażone wyżej wątpliwości i uwagi, w żaden sposób nie rzutują na moją bardzo pozytywną ocenę rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Fabrowskiej. Całość opracowania stanowi bowiem ciekawą relację przemyślanego i co chciałbym szczególnie podkreślić pełnego cyklu badań: od dostrzeżenia zjawiska, które może stanowić interesujący problem naukowy, poprzez sformułowanie hipotezy opartej na racjonalnych przesłankach i przeprowadzeniu licznych eksperymentów, po interesujące, oryginalne, bardzo dobrze opublikowane wyniki i wreszcie namacalny efekt badań – naturalne związki bioaktywne stosowane w kosmetyce. Nieczęsto się zdarza, żeby w czasie czterech lat badań w ramach pracy doktorskiej udawało się stworzyć tak kompletny projekt. Prócz przysłowiowego łuta



szczęścia, które sprzyja tylko dobrze przygotowanym badaczom – jak to ma miejsce w przypadku Pani mgr Joanny Fabrowskiej, tak przedstawiona do oceny dysertacja, jak i cały dorobek Doktorantki wskazują na Jej autentyczne zaangażowanie w tok badań. Współautorstwo dwunastu publikacji, w tej liczbie siedmiu z tzw. listy filadelfijskiej, sześciu rozdziałów w monografiach (w większości zagranicznych), piętnaście wystąpień konferencyjnych, udział w dwóch finansowanych przez MNiSW projektach oraz dwa zagraniczne i jeden krajowy staże naukowe związane z tematyką badań, dopełniają obrazu naukowej aktywności Autorki.

Doceniając walory przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Fabrowskiej, chciałbym stwierdzić, że opracowanie to, będące rezultatem oryginalnych dociekań badawczych Autorki, dostarcza unikalnych, wartościowych naukowo informacji, posiadających rzeczywisty potencjał aplikacyjny. W moim przekonaniu, niniejsza rozprawa z naddatkiem spełnia warunki ujęte w art. 13 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym z 2003 r. z późniejszymi zmianami.

Wnoszę zatem o dopuszczenie przez Wysoką Radę Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Pani mgr. Joanny Fabrowskiej, do dalszych etapów postępowania w przewodzie doktorskim.

Ponadto, biorąc pod uwagę poziom merytoryczny niniejszej dysertacji, doceniony także przez recenzentów czasopism o zasięgu międzynarodowym oraz ogólny dorobek naukowy Doktorantki, proponuję Wysokiej Radzie rozważenie możliwości wyróżnienia rozprawy doktorskiej Pani mgr Joanny Fabrowskiej.

