

Dr hab. Anna Karewicz  
Zespół Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów  
Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie  
Ul. Gronostajowa 2



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Kraków dnia 9 maja 2024

**Recenzja rozprawy doktorskiej  
pt. „Opracowanie kolagenowego biomateriału  
jako wdrożenia do przemysłu kosmetycznego:  
maska do cery problemowej”  
autorstwa mgr Katarzyny Adamiak**

Wydział Chemii

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska wdrożeniowa Pani mgr Katarzyny Adamiak zatytułowana „Opracowanie kolagenowego biomateriału jako wdrożenia do przemysłu kosmetycznego: maska do cery problemowej” została wykonana w Katedrze Chemii Biomateriałów i Kosmetyków na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod kierunkiem Pani prof. dr hab. Aliny Sionkowskiej i we współpracy z firmą WellU sp. z o.o. Promotorem pomocniczym rozprawy była Pani dr Marzanna Kurzawa z firmy WellU sp. z o.o.

Biopolimery stanowią niezwykle ciekawą i coraz intensywniej badaną grupą związków, głównie ze względu na swoje naturalne pochodzenie, które z kolei decyduje o ich szczególnych zaletach, takich jak odnawialność, biogodność, biodegradowalność oraz bioaktywność. Ich zastosowania są bardzo szerokie – od medycyny i farmacji, gdzie są używane jako biomateriały do otrzymywania implantów, elementów chirurgicznych czy jako składniki kontrastów i układów do dostarczania leków, poprzez ich przemysłowe wykorzystanie jako elementów opakowań, składników pożywienia czy w oczyszczaniu wód, aż po ich aplikacje kosmetyczne. Te ostatnie obejmują modyfikatory właściwości reologicznych produktów, emulsyfikatory, odżywki, stabilizatory, środki filmotwórcze, a także związki nawilżające i przeciwbakteryjne. Spośród biopolimerów będących białkami na szczególną uwagę zasługuje kolagen. Białko to stanowi główny składnik macierzy zewnątrzkomórkowej, zatem jest

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



łatwo dostępne i charakteryzuje się dużą aktywnością biologiczną. Jednocześnie, ze względu na swoją szczególną, fibrylną budowę nadaje tkankom odporność na rozciąganie. W rzeczywistości istnieje wiele typów kolagenu wykazujących pewne różnice strukturalnie i funkcjonalne, jednak wszystkie, dzięki powtarzającym się sekwencjom tripeptydowym, tworzą domeny o strukturze potrójnej helisy oraz są zdolne do formowania większych agregatów supramolekularnych. Kolagen typu I stanowi do 90 % całkowitej ilości kolagenu w organizmach kręgowców. Jest ważnym składnikiem kości, tkanki łącznej, ścięgien, zębów czy skóry. Ze względu na swoje szczególne właściwości jest szeroko stosowany jako biomateriał w inżynierii tkankowej, zwłaszcza do odbudowy ubytków kostnych i tkanki łącznej, oraz w kosmetyce do nawilżania i naprawy skóry. Jako białko kolagen jest jednak podatny na procesy denaturacji prowadzące do nieodwracanych zmian w jego strukturze II, III i IV-rzędowej, szczególnie pod wpływem wyższych temperatur, a także na procesy degradacji, czyli rozpadu łańcuchów białka na mniejsze pod wpływem różnych czynników fizycznych (np. promieniowanie UV), chemicznych (np. utlenianie) lub enzymatycznych (kolagenazy, metaloproteinazy). Aby uzyskać odpowiednie materiały do zastosowań w inżynierii tkankowej lub kosmetyce, konieczna jest też niejednokrotnie poprawa jego właściwości mechanicznych. Dlatego też kolagen jest często sieciowany fizycznie lub chemicznie. Musi on być również zabezpieczony z wykorzystaniem środków konserwujących przed niekorzystnymi zmianami mikrobiologicznymi oraz przed wpływem enzymów czy utleniaczy.

Choć produkty kosmetyczne zawierające kolagen, w tym maski kolagenowe, są dostępne zarówno na polskim jak i międzynarodowym rynku, wciąż opracowywane są nowe receptury, które pozwalają na ich zaadresowanie do klientów z konkretnymi problemami skórnymi. Przedstawiona mi do oceny praca doktorska o charakterze wdrożeniowym miała na celu opracowanie maski kolagenowej przeznaczonej do pielęgnacji skóry trądzikowej, która korzystnie wpływałaby na procesy naprawcze skóry, redukowałam nadmierne wydzielanie sebum oraz zapobiegała powstawaniu trądziku. W tym celu Doktorantka zbadała wpływ różnych dodatków w postaci ekstraktów roślinnych na właściwości fizykochemiczne zoli oraz filmów kolagenowych,



w tym szczególnie wpływu tych ekstraktów na właściwości reologiczne, mechaniczne, filmotwórcze oraz na bioaktywność uzyskanych materiałów. Na podstawie tak przeprowadzonych badań podstawowych przeprowadziła w ramach firmy WellU sp. z o. o. badania wdrożeniowe: opracowała odpowiednią formułację i zbadała jej skuteczność.

Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest 8 powiązanych tematycznie artykułów naukowych oraz badania wdrożeniowe prowadzone w ramach firmy WellU sp. z o. o. zakończone krajowym zgłoszeniem patentowym złożonym przez firmę w Urzędzie Patentowym RP w dniu 29 kwietnia 2023 zatytułowanym „Kompozycja kosmetyczna, aktywator kompozycji kosmetycznej i sposób aplikacji kompozycji i aktywatora”. Spośród 8 publikacji zamieszczonych w pracy doktorskiej 7 zostało opublikowanych w czasopismach z Listy Filadelfijskiej a ich sumaryczny wskaźnik cytowań IF to 31,331. Łączna ilość punktów ministerialnych wszystkich publikacji w cyklu to 850. Spośród tych artykułów 4 to artykuły przeglądowe, zaś pozostałe to prace oryginalne dotyczące bezpośrednio przeprowadzonych przez Doktorantkę badań naukowych. Doktorantka jest pierwszym autorem 6 artykułów oraz autorem korespondencyjnym w 3 publikacjach. Wymienione artykuły stanowią spójny cykl publikacji, może z wyjątkiem publikacji przeglądowej D4 dotyczącej materiałów alginianowych, dość luźno powiązanej z główną tematyką pracy doktorskiej. Oświadczenia współautorów zamieszczone na końcu pracy doktorskiej pozwoliły stwierdzić, iż zawarte w publikacjach cyklu badania nie stanowiły części innej pracy dyplomowej oraz znalazły się w pracy doktorskiej Pani Adamiak za zgodą wszystkich współautorów. W przypadku 7 publikacji Doktorantka była zaangażowana zarówno w planowanie eksperymentów jak też ich wykonanie, napisała pierwszą wersję manuskryptu oraz brała udział w odpowiedzi na recenzje. Jedynie w przypadku artykułu D2 jej udział dotyczył przygotowania próbek kolagenowych i udziału w interpretacji wyników. **Mogę więc jednoznacznie stwierdzić, że Pani Katarzyna Adamiak miała wiodący udział w 6 publikacjach cyklu stanowiącego podstawę przedłożonej mi do oceny pracy doktorskiej oraz bardzo istotny udział w pozostałych dwóch pracach. Prace te zostały**

Wydział Chemii

ul. Gronostajowa 2  
30-387 Kraków  
tel. +48 12 686 26 00  
fax +48 12 686 27 50  
sekretar@chemia.uj.edu.pl  
www.chemia.uj.edu.pl



UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

Wydział Chemii

**opublikowane w bardzo dobrych, recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym.**

Doktorantka może się pochwalić dobrym dorobkiem naukowym – opublikowała dotąd 13 artykułów, z czego 10 w czasopismach z listy Filadelfijskiej; swoje wyniki prezentowała również w formie 4 komunikatów ustnych i 14 posterów na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Doktorantka uzyskała również dwie Zespołowe Nagrody Rektora UMK za osiągnięcia w dziedzinie naukowo-badawczej oraz nagrodę za Wynalazek Doskonały na Międzynarodowej Wystawie Wynalazków i Technologii InnoWings w Lublinie.

Praca doktorska jest złożona z 76-stronnicowego opracowania, które obejmowało wprowadzenie, przedmiot i cele pracy, krótkie omówienie kolagenu jako materiału stosowanego w medycynie, stomatologii i kosmetyce, stan wdrożeń w branży kosmetycznej dotyczący kolagenu, opis skóry problemowej, krótkie omówienie stosowanych materiałów i metod badawczych oraz część wdrożeniową badań. Opracowanie zostało napisane poprawnym językiem naukowym i starannie wyedytowane – zauważyłam bardzo niewiele literówek i pomyłek językowych. Cele pracy zostały jasno sformułowane. Badania podstawowe miały za zadanie zweryfikować hipotezę badawczą dotyczącą możliwości zastosowania wybranych ekstraktów roślinnych jako domieszek zawiesin kolagenowych w celu poprawy ich właściwości filmotwórczych oraz w celu uzyskania filmów kolagenowych o lepszych właściwościach mechanicznych, adhezyjnych i biologicznych. Badania wdrożeniowe miały natomiast doprowadzić do zastosowania najbardziej korzystnej domieszki, opracowania odpowiedniej formułacji maski kosmetycznej, określenia jej właściwości tak, aby możliwe było przygotowanie zgłoszenia patentowego oraz wdrożenie produktu. Cele te zostały określone na podstawie szczegółowej analizy stanu wdrożeń dotyczących kolagenu. W swoim opracowaniu Doktorantka zebrała 20 patentów dotyczących masek kolagenowych wraz z ich krótkim opisem oraz informacją czy patent jest aktywny i do kiedy. Krótki opis skóry problemowej zawierał głównie jej charakterystykę makroskopową oraz przyczyny występowania problemów skórnych. Być może z punktu widzenia samej

ul. Gronostajowa 2

30-387 Kraków

tel. +48 12 686 26 00

fax +48 12 686 27 50

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl



pracy bardziej interesująca byłaby analiza zmian w strukturze i funkcjach takiej zmienionej chorobowo skóry oraz informacja o stanie wiedzy związanej ze sposobami leczenia, zwłaszcza tymi dotyczącymi formułacji podawanych bezpośrednio na skórę. Część wdrożeniowa obejmowała badania nad optymalizacją postaci maski. Badania nad opracowaną formułą dotyczyły jej stabilności, bezpieczeństwa stosowania, skuteczności ochrony przeciwdrobnoustrojowej. Przeprowadzone zostały również badania dermatologiczne. Badania te nie budziły moich zastrzeżeń, były przeprowadzone zgodnie z obowiązującymi normami ISO. Opracowanie jest zakończone podsumowaniem i wnioskami, w których Doktorantka w sposób kompetentny i syntetyczny zebrała najważniejsze rezultaty pracy oraz przedstawiła jej najważniejsze osiągnięcia. Cytowana literatura obejmuje aż 156 pozycji, z których większość to publikacje z ostatniej dekady.

Prace przeglądowe D1, D3 i D5 stanowią bardzo obszerne wprowadzenie teoretyczne do prowadzonych przez Doktorantkę badań. Publikacja **D1** omawia obecny stan wiedzy dotyczący budowy i biosyntezy kolagenu, jego źródeł i metod ekstrakcji do zastosowań kosmetycznych, a także funkcje pełnione przez kolagen jako składnik formułacji kosmetycznych. Artykuł koncentruje się na wykorzystaniu w kosmetyce kolagenów pozyskiwanych z organizmów morskich takich jak meduzy czy ryby. Tak pozyskane białko wykazuje aktywność podobną do kolagenu typu I produkowanego przez ssaki i jednocześnie stanowi znacznie mniejsze ryzyko związane z przenoszeniem chorób i alergiami niż kolageny wieprzowe czy wołowe. Publikacja **D3** omawia bardzo szeroko chemiczne, fizyczne i enzymatyczne metody sieciowania kolagenu. Obok typowych związków sieciujących takich jak glutaraldehyd, genipina czy układ sprzęgający EDC/NHS wymieniona jest również skrobia dialdehydowa oraz chitozan. Zaklasyfikowanie chitozanu jako związku sieciującego nieco mnie zdziwiło, jako że nie posiada on reaktywnych grup funkcyjnych zdolnych do spontanicznego sieciowania lub fotosieciowania. Omówione zostały również sposoby sieciowania fizycznego kolagenu z zastosowaniem metody dehydrotermalnej (połączenie wysokiej temperatury i obniżonego ciśnienia) oraz promieniowania UV. Praca **D5** jest skoncentrowana na stanie wiedzy dotyczącym metod leczenia i pielęgnacji



skóry. Autorzy wymieniają tutaj terapię fotodynamiczną, leki antyseptyczne (pochodne disiarczku diallilu, pirfenidon), antagonistów receptora dla melanokortyny 5 (MC5R), inhibitory produkcji sebum, a także probiotyki i suplementy, a w przypadku pielęgnacji detergenty dedykowane do oczyszczania skóry, związki nawilżające czy peelingi. Publikacja **D4** opisuje stan wiedzy dotyczący materiałów na bazie alginianu, ich budowę, sposoby ekstrakcji i zastosowania. Jest ona moim zdaniem bardzo luźno związana z pozostałą częścią pracy – alginian był testowany jako jeden z możliwych składników proponowanej maski!

Wydział Chemii

Prace oryginalne obejmują cykl 4 publikacji: D2 oraz D6-D8. Praca **D2** była opublikowana w roku 2020 i udział Doktorantki był tutaj mniejszy, związany głównie z przygotowaniem materiałów kolagenowych. Badania dotyczyły wpływu promieniowania UV na właściwości reologiczne kolagenu rybiego, uzyskanego ze skóry karpia srebrnego. Badania prowadzono na roztworach i na tworzących się w procesie samoorganizacji łańcuchów białka fizycznych żelach kolagenowych. Zmiany we właściwościach reologicznych pod wpływem krótkotrwałego (15 minut) naświetlania promieniowaniem UV wykazały, iż wpływa ono na podatność kolagenu na proces denaturacji. Pomiary reologiczne wskazywały, iż kolagen rybi denaturował w stosunkowo niskiej temperaturze tj. 32 °C, na co wskazywała skokowa zmiana lepkości względnej w wąskim zakresie temperatur (30-32°C). Pod wpływem promieniowania UV dochodziło najpierw do zwiększenia lepkości względnej, najprawdopodobniej na skutek sieciowania, a następnie do jej spadku, co mogło być skutkiem denaturacji białka. A zatem możliwe jest sieciowanie i jednoczesna sterylizacja materiałów na bazie rybiego kolagenu, jednak czasy naświetlania powinny być bardzo krótkie.

Prace **D6-D8** dotyczyły badań nad wpływem związków aktywnych zawartych w ekstraktach roślinnych: z kory wierzby (salicyna) (D6) i ziela melisy (D7) oraz ksantohumolu rozpuszczonego w propanediolu (D8) na właściwości filmów kolagenowych. Badania dotyczyły morfologii i szorstkości otrzymanywanych filmów (SEM, AFM), ich składu (ATR-FTIR, EDX), właściwości mechanicznych, zwilżalności, a w przypadku publikacji D7

ul. Gronostajowa 2  
30-387 Kraków  
tel. +48 12 686 26 00  
fax +48 12 686 27 50  
sekretar@chemia.uj.edu.pl  
www.chemia.uj.edu.pl



również właściwości antyutleniających. Analiza składu filmów potwierdziła obecność wszystkich spodziewanych składników; trochę szkoda, że nie określono faktycznej zawartości substancji aktywnych w filmach. Badania potwierdziły, iż ekstrakt z kory wierzby zawierający co najmniej 5 % salicyny poprawiał zarówno właściwości mechaniczne, jak i powierzchniowe filmów kolagenowych, a także zmniejszał hydrofilowość powierzchni, co mogło ułatwić adhezję filmu do skóry. Dodatek ekstraktu z ziela melisy powodował pogorszenia właściwości powierzchniowych filmów, zaś dodatek ksantohumolu – pogorszenie ich właściwości mechanicznych. Badania wskazywały zatem na największy potencjał wyciągu z kory wierzby, zwłaszcza, iż salicyna wykazuje aktywność przeciwtrądzikową.

Podsumowując przedstawioną mi do recenzji pracę doktorską, biorąc pod uwagę zarówno przedstawione, szerokie, kompetentne opracowanie dołączone do cyklu publikacji, jak i obecne w cyklu prace przeglądowe, a także fakt, iż Doktorantka miała wiodący udział w przeprowadzonych przeglądach literaturowych i przygotowaniu manuskryptów, stwierdzam, że Pani Adamiak dowiodła swojej szerokiej znajomości tematyki badawczej i dobrze orientuje się w stanie wiedzy dotyczącym zastosowań kolagenu i innych polimerów naturalnych, chemicznych i fizycznych sposobów ich modyfikacji oraz w sposób adekwatny i dojrzały potrafi dobrać i wykorzystać dostępne, najnowsze techniki eksperymentalne w celu rozwiązania problemu badawczego. Duży udział Doktorantki w planowaniu, wykonaniu eksperymentów, ich analizie i przygotowaniu manuskryptów publikacji wskazuje, iż posiada ona umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Przygotowana przez Panią Adamiak rozprawa posiada również element nowości naukowej zarówno jeśli chodzi o badania podstawowe (określenie wpływu trzech różnych ekstraktów roślinnych na właściwości filmów kolagenowych) jak i aplikacyjne (opracowanie maski kosmetycznej, zakończone zgłoszeniem patentowym z perspektywą wdrożenia).

Do roli recenzenta należy, obok ogólnej oceny pracy, również przedstawienie uwag polemicznych i wskazanie ewentualnych uchybień. **W związku z tym chciałabym poniżej zebrać kilka wątpliwości i uwag dotyczących pracy.**



1. Na pierwszej stronie opracowania Doktorantka zalicza do fizycznych czynników sieciujących kolagen próżnię – czy faktycznie sama próżnia/obniżone ciśnienie może doprowadzić do usieciowania kolagenu, czy też konieczne są inne czynniki (np. temperatura jak w metodzie hydrotermalnej)?
2. W publikacjach D6-D8 wykonane zostały analizy metodą mikroskopii AFM i analiza szorstkości uzyskanych filmów. Zmiany w obliczonych wartościach  $R_q$  i  $R_a$  nie zawsze ze sobą korelowały. Jaka może być tego przyczyna i czy w takiej sytuacji możemy stwierdzić, która z wartości lepiej określa zmiany w filmie?
3. W niektórych widmach ATR-FTIR w publikacji D8 na rysunkach Fig.1 i Fig. 2 pojawiają się dodatkowe pasma w zakresie  $3500-4000\text{ cm}^{-1}$ , które nie zostały wspomniane w publikacjach – czy mogłabym prosić o komentarz dotyczący pochodzenia tych pasm?
4. Skąd wiadomo, że podczas naświetlania roztworów kolagenowych promieniowaniem UV dochodzi jedynie do denaturacji białka, a nie do jego częściowej degradacji? Czy były wykonane jakieś analizy?

Wszystkie powyższe uwagi mają jedynie charakter polemiczny i nie mają wpływu na moją pozytywną ocenę zarówno dokonań naukowych Doktorantki opisanych w recenzowanej pracy jak i samej pracy.

Stwierdzam, iż przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wszelkie 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 naukowym w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 nr 65 poz 595, z późniejszymi zmianami)* oraz w *Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 22 września 2011 r. w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora i wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr Katarzyny Adamiak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.*

  
Dr hab. Anna Karewicz