



UNIwersytet Medyczny

IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Wydział Farmaceutyczny
Katedra i Zakład Chemii Fizycznej i Biofizyki
Kierownik: prof. dr hab. Witold Musiał

Wrocław, dn. 17 listopada 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej pt.

„Zastosowanie ozonu do stabilizacji mikrobiologicznej wybranych serii materiałów oraz końcowych produktów – suplementów diety”

przygotowanej przez mgr Anetę Marię Mrozek-Szetełę
pod kierunkiem dr hab. inż. Katarzyny Wińskiej, profesora UPWr
z Katedry Chemii Żywności i Biokatalizy, Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

Wprowadzenie

Przedstawioną mi do recenzji rozprawę doktorską stanowi praca pisemna o typowym układzie w którym zawarto streszczenie w języku polskim i angielskim, wprowadzenie – wstęp, cel pracy, badania własne z materiałami i metodami, wyniki z dyskusją, podsumowanie i wnioski, bibliografię, razem 102 strony z ilustracjami i tabelami.

Sylwetka Kandydata

Pani Aneta Maria Mrozek-Szetele jest absolwentką studiów drugiego stopnia Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, posiada tytuł zawodowy magistra i opublikowała jako pierwszy autor pracę pt. „A Review of Hygienization Methods of Herbal Raw Materials” w recenzowanym czasopiśmie naukowym (Appl. Sci. 2020, 10, 8268; doi:10.3390/app10228268). Pracę doktorską realizowała we współpracy jednostki badawczej (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu) i jednostki przemysłu (Wedes Concept Piotr Rejda).

Opis osiągnięcia naukowego

Kandydatka we wprowadzeniu teoretycznym określiła bardzo praktyczny, ważny społecznie oraz gospodarczo cel pracy, który jednocześnie ma charakter ściśle naukowy, odnoszący się do technologii żywności i żywienia, pozostający jednak w kontekście nauk medycznych. Tekst doktoratu wyraźnie prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki w dyscyplinie technologii żywności i żywienia. Przedmiotem rozprawy doktorskiej było oryginalne rozwiązanie problemu naukowego trwałości surowców zielarskich, w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych nad tymi

surowcami, w sferze gospodarczej nakierowanej na przetwarzanie i obrót tymi surowcami, oraz ich dystrybucję. Celem pracy było określenie możliwości obniżenia zawartości drobnoustrojów potencjalnie chorobotwórczych w wybranych surowcach zielarskich oraz w mieszaninach takich surowców poprzez zastosowanie metody ozonowania, a przeznaczonych do wytwarzania produktów dystrybuowanych jako suplementy diety o prawdopodobnym, korzystnym oddziaływaniu na fizjologiczne funkcje organizmu ludzkiego. Ten oryginalny pomysł higienizacji surowców zielarskich, mający już swoje odzwierciedlenie w literaturze, został skutecznie zrealizowany na przykładzie kilku popularnych w obrocie krajowym surowców: kwiatostanu rumianku pospolitego, owoców kopru włoskiego, kłącza tataraku zwyczajnego, oraz ziela wrotyczu pospolitego i wstępnie zweryfikowany na mieszankach wytwarzanych przemysłowo.

Pani mgr Aneta Mrozek-Szetela zastosowała twórcze i oryginalne rozwiązania, zarówno w obszarze technologicznym, jak i analitycznym, a w ten sposób zaprezentowała umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Układ do ozonowania próbek surowców zielarskich został sprawdzony w dostępnej literaturze i zmodyfikowany w sposób pozwalający uzyskać optymalne efekty higienizacyjne. Badania mikrobiologiczne surowców, przed ozonowaniem i po ozonowaniu w różnym nasileniu, konsekwentnie wykonano dla relewantnych grup drobnoustrojów, analizując CFU/mL dla TAMC, TYMC oraz liczby bakterii z rodziny Enterobacteriaceae. Autorka przebadła równolegle wpływ ozonowania na trwałość wybranych składników badanych surowców zielarskich w olejkach eterycznych pochodzących z tych surowców - metodą GC-MS, oraz w ekstraktach z tych surowców – metodą spektrofotometryczną (polifenole ogółem) i metodą LC-MS (składniki polifenolowe). Poza badaniem trwałości w odniesieniu do zawartości wybranych związków w surowcach, Pani Magister przeprowadziła badania porównawcze właściwości przeciwutleniających wymienionych wyżej surowców przed i po procedurze higienizacji metoda ozonowania. Kandydatka zastosowała dwie uzupełniające się metody – z wykorzystaniem kwasu 2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolino-6-sulfonowego), oraz z wykorzystaniem rodnika 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowego. Autorka trafnie przyjęła, że wykazanie aktywności przeciwutleniającej mieszaniny licznych substancji winno być potwierdzone w alternatywnych metodach.

Wyniki, dyskusja i wnioski zostały sformułowane poprawnie, a w mojej opinii aspekt naukowy dorównuje aspektowi praktycznemu, bowiem Autorka przebadła szczegółowo wybrane surowce zielarskie kilkoma metodami, porównując surowce poddane kontaktowi z wysokimi stężeniami trójatomowego tlenu z surowcami odniesienia. Wyniki uzyskane w tej pracy na pewno są ważnym wkładem do ogólnej wiedzy ludzkości na temat składu i zmian składu surowców zielarskich pod wpływem ozonu, który nie tylko jest intencjonalnie stosowany, ale w niewielkich ilościach towarzyszy cząsteczkom tlenu dwuatomowego w naszym środowisku. Niepodważalnym efektem pracy jest dopracowanie konstrukcji do ozonowania surowców pochodzenia roślinnego, oraz wykazanie skuteczności ozonowania w zmniejszaniu liczby drobnoustrojów o potencjalnym działaniu chorobotwórczym na ludzki organizm.

Uwagi dodatkowe

(1) W opinii Recenzenta bardzo optymistycznie przedstawiono możliwość skutecznego wykorzystania świata roślin, a szczególnie suplementów diety, do poprawy stanu zdrowotnego populacji ludzkiej. Gdyby było to możliwe w krótkim okresie czasu, zapewne zbiorowe wysiłki globalnej wspólnoty, której częścią jest *nolens volens* każdy z nas, już by do tego doprowadziły po wiekach eksperymentów z roślinami o działaniu leczniczym. Wyżej wymieniona przez recenzenta opinia jest konsekwencją bardziej szczegółowego spojrzenia na zagadnienie fitoterapii, zielarstwa oraz metod etnomedycyny.

Surowiec zielarski charakteryzuje się zmiennym składem jakościowym i ilościowym w zależności od wielu czynników. Zgodnie z dostępnymi danymi, jego oddziaływanie na molekularne mechanizmy funkcji życiowych komórki wynika z interakcji konkretnych molekuł pochodzących z surowca, na konkretne molekuly składowe struktur komórkowych – receptorów farmakologicznych. Stąd określenie efektu leczniczego, profilaktycznego lub podobnego w przypadku surowców roślinnych może być trudne do ustalenia i weryfikacji. Autorka wykazała, że ozonowanie zmniejsza liczbę identyfikowanych drobnoustrojów, oraz że nie zmniejsza znacząco stężenia wybranych substancji zawartych w tych surowcach. Jednak nie ma pewności, że ozonowanie jest obojętne dla tzw. efektów prozdrowotnych tych produktów, bowiem nie ustalono, która z substancji lub jaka ich mieszanina ma istotne działanie na określoną strukturę komórki – organelle, cykl biochemiczny, katalizator, etc. Powyższy wywód nie zmienia głębokiego przekonania recenzenta o licznych korzyściach z racjonalnego i uzasadnionego badaniami naukowymi wykorzystania surowców zielarskich np. jako źródła związków chemicznych o działaniu leczniczym, jako środków wspomagających terapię i farmakoterapię, lub uzupełniających zdrowe nawyki żywieniowe.

(2) W tekście pracy Kandydatka nie ustrzegła się kilku wyrażen żargonowych lub skracających spojrzenie badawcze, oraz drobnych uchybień stylistycznych i błędów literowych, które przykładowo wymieniam z obowiązku recenzenta: strona 4 – „popularne na terenie Polski zioła [...] skuteczne remedia” – chodzi zapewne o surowce które planowała badać Kandydatka i są one często stosowane w polskiej kuchni i jako środki wspomagające leczenie; strona 7 – „współczesna farmakologia na nowo odkrywa leczniczy potencjał ziół” – zapewne chodzi o to, że szeroko prowadzone są badania nad farmakologią substancji czynnych pochodzących z surowców roślinnych, np. gdyby otworzyć podręcznik farmakologii sprzed 70 lub 100 lat zobaczylibyśmy tam znacznie więcej „zioł”, a nie jest to nowoczesna farmakologia; strona 11 – wątpliwości budzi umieszczenie minerałów i witamin w zielonej strefie piramidy, np. jony potasowe w podwyższonych stężeniach mogą stanowić zagrożenie dla układu krążenia pacjentów przyjmujących inhibitory konwertazy angiotensyny, ponadto trudno się odnieść do określenia „multiwitamina”, lub „witamina B-Compleks”, należałoby uściślić o jakie konkretnie witaminy chodzi, podobnie w przypadku obecności kofeiny i napojów energetycznych w żółtej strefie piramidy – wypadaloby uściślić o jakie składniki napojów chodzi; zapewne rycina została zaadaptowana z publikacji, w której pewne zagadnienia przedstawiono bardzo obrazowo; strona 14 – na końcu rozdziału 3.1 pojawia się zapowiedź „Poniżej opisano budowę i funkcje roślinnego układu odpornościowego.”, ale brak dalej tekstu na ten temat i recenzent nie mógł się niestety z tą budową zapoznać; strona 38 i 41 – Europejska Agencja ds. Leków posługuje się oficjalnym skrótem EMA; strona 49, rycina 18 – zastosowano słowo „zioła” na konkretne surowce zielarskie, np. kłącze tataraku nie jest zieleń tataraku, strona 56 – pyłki zamiast płytki. Ponadto bibliografia winna być podawana w kolejności stosowania, jednak w tekście po cytowaniu nr 71 pojawia się jako następny nr 91, a pozycje powyżej 71 pojawiają się w dalszej części tekstu.

Mocne strony osiągnięcia naukowego

Podane wyżej uwagi dodatkowe dotyczące wybranych aspektów pracy w najmniejszym stopniu nie podważają osiągnięcia naukowego, którego poziom oceniam jako bardzo wysoki, m.in. ze względu na aspekt praktycznego zastosowania, ale także ze względu na umiejętność Kandydatki skutecznego stosowania naukowej, racjonalnej metody badawczej.

(1) Pani Magister bardzo racjonalnie ustaliła właściwe położenie wlotu tlenu trójatomowego w aparaturze do ozonowania, biorąc zapewne pod uwagę podstawowe spostrzeżenia Ludwiga Boltzmann w odniesieniu do molekularno-kinetycznej teorii gazów.

(2) Wyniki badań porównawczych składu olejku eterycznego i wyciągów, otrzymanych z ozonowanych i nieozonowanych surowców stanowią istotny wkład w wiedzę na temat roślin leczniczych i możliwości ich stosowania.

(3) Doktorantka potwierdziła swoją biegłość w wykorzystaniu aparatury oraz znakomitą zdolność interpretacji wyników w metodach mikrobiologicznych, GC-MS, LC-MS, spektrofotometrii oraz badaniach właściwości przeciwutleniających.

(4) Kandydatka zaproponowała skuteczną metodę oraz model aparaturowy do zmniejszania lub usuwania drobnoustrojów potencjalnie chorobotwórczych z surowców zielarskich i ich mieszanin.

(5) Podjęty temat, oraz sposób jego rozwiązania, w tym zakres badań interpretacja wyników oraz metody badawcze, zasługują na wyróżnienie.

Podsumowanie

Na podstawie dostarczonych mi dokumentów stwierdzam, że Pani mgr Aneta Mrozek-Szetela spełniła wymagania wynikające z przepisów Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r., Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w szczególności artykułu 186, punkty 1.1) – 1.3), oraz artykułu 187 punkty 1-4, i wnioskuję o dopuszczenie Pani mgr Anety Mrozek-Szeteli do dalszych etapów procedury nadawania stopnia doktora. Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej ze względu na wagę poruszanych problemów oraz wysoki poziom zaproponowanego rozwiązania naukowego i technicznego.

Prof. dr hab. Witold Musiał

