

Szczecin 11 czerwca, 2020

prof. dr hab. inż. Artur Bartkowiak
Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych
Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Ocena pracy doktorskiej p. mgr Arkadiusza Żarskiego
p.t.: „**Biokatalizowana synteza i badania strukturalne hydrofobowych pochodnych skrobi ukierunkowane na otrzymanie materiałów polimerowych do produkcji opakowań biodegradowalnych**”

wykonanej w Katedrze Dietetyki i Badań Żywności
na Wydziale Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych
Uniwersytetu Humanistyczno – Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie
pod kierunkiem dr hab. Janusza Kapuśniaka, prof. UJD
oraz promotora pomocniczego dr inż. Krzysztofa Bajera
z Sieci Badawczej Łukasiewicz - Instytut Inżynierii Materiałów
Polimerowych i Barwników w Toruniu

Podstawą opracowania oceny jest:

- pismo Pana Przewodniczącego Rady ds. Nadawania Stopni Naukowych i Stopni w Zakresie Sztuki Uniwersytety Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie dr hab. Roberta Majznera , prof. UJD z dnia 21 kwietnia 2020 roku, który na wniosek Rady zwrócił się do mnie o dokonanie recenzji ww. pracy doktorskiej;
- praca doktorska mgr Arkadiusza Żarskiego

W okresie ostatnich kilkunastu lat można zaobserwować wzrastające zainteresowanie wykorzystaniem biopolimerów do różnego rodzaju zastosowań w tym opakowaniowych jako alternatywy do obecnie produkowanych materiałów syntetycznych otrzymywanych w procesach przetwórstwa ropy naftowej, gazu ziemnego lub węgla. Jedną z grup takich biopolimerów są polisacharydy, które są chętnie wykorzystywane szczególnie w dziedzinach, gdzie istotne jest to, aby otrzymane materiały spełniały zdefiniowane funkcje użytkowe przy określonych właściwościach fizyko-chemicznych oraz docelowo zachowaniu swojego biodegradowalnego charakteru.

Jednym z takich biopolimerów cieszącym się dużym zainteresowaniem ze względu z jednej strony na ogólną dostępność a z drugiej możliwość wykorzystania jako materiału w różnych gałęziach przemysłu jest skrobia. Niestety pomimo szerokiej dostępności jej wysoka hydrofilowość, niska odporność na wilgoć, wysoka kruchość, niekompatybilność z polimerami hydrofobowymi znacznie ogranicza przemysłowe zastosowanie tego biopolimeru np. do celów opakowaniowych. Dlatego od lat trwają poszukiwanie efektywnych metod jej modyfikacji, gdzie hydrofobizacja poprzez estryfikację to jedna z wielu znanych metod poprawy właściwości wytrzymałościowych i przetwórczych. Biosynteza estrów skrobi katalizowana lipazą została uznana za metodę przyjazną dla

środowiska z wielu powodów, m.in. takich jak brak szkodliwych produktów ubocznych i bardzo łagodne warunki prowadzonej reakcji co jest zgodne z ogólnymi zasadami tzw. zielonej chemii i wychodzi naprzeciw oczekiwaniom społecznym i gospodarczym związanymi z rozwojem biogospodarki oraz zrównoważoną gospodarką surowcową w obiegu zamkniętym m.in. mającą na celu zastępowanie opakowań z materiałów syntetycznych ich naturalnymi bioodnawialnymi odpowiednikami.

Dlatego uważam wybór tematu pracy, mający na celu opracowanie nowych metod funkcjonalizacji skrobi poprzez jej biokatalizowaną enzymatycznie estryfikację specjalnie pozyskanymi w procesie hydrolizy wybranych olejów roślinnych nienasyconymi kwasami tłuszczowymi w celu poprawy jej właściwości użytkowych takich jak hydrofobowość oraz zweryfikowanie możliwości otrzymywania z nich dedykowanych biodegradowalnych materiałów foliowych, jako celowy i trafny z punktu widzenia oryginalności pracy badawczej, gdzie przykładem tego rodzaju pracy jest rozprawa doktorska p. mgr Arkadiusza Żarskiego.

Celem pracy było uzyskanie nowych materiałów polimerowych poprzez biokatalizowaną estryfikację skrobi ziemniaczanej zarówno w reakcji modelowej czystym kwasem oleinowym lub docelowo bardziej praktycznie poddanymi hydrolizie wysokooleinowymi olejami roślinnymi.

Przedstawiona do oceny rozprawa doktorska liczy 132 strony i po streszczeniu, wprowadzeniu i wykazie stosowanych skrótów została podzielona na 7 zasadniczych części: część teoretyczną obejmującą przegląd literatury, wydzieloną część opisującą główną tezę i cel pracy, część eksperymentalną podzieloną na materiały i metody badawcze, wyniki i dyskusja oraz wnioski, oraz na zakończenie literatura, spis norm, tabel i rysunków. Układ pracy jest typowy dla tego typu opracowań badawczo-naukowych.

Doktorant w wprowadzeniu opisuje i podkreśla złożoność tematyki związanej z otrzymywaniem dedykowanych biokompozytów w postaci filmów z wykorzystaniem skrobi i jej pochodnych, co jest m.in. związane z jej wysoką hydrofilowością i ograniczoną mieszalnością z hydrofobowymi polimerami. Wybór skrobi uważam za trafny ze względu z jednej strony na jej ogólną dostępność i potwierdzone zdolności tworzenia filmów w procesie wylewania zarówno roztworów wodnych oraz w postaci termoplastycznych stopów najczęściej z dodatkiem hydrofilowych plastyfikatorów z grupy alkoholi wielowodorotlenowych oraz polioli z wykorzystaniem typowych urządzeń jakie są stosowane w przetwórstwie tworzyw sztucznych oraz produkcji materiałów opakowaniowych.

Właściwa „Część teoretyczna” licząca 31 stron jest zwięzłą próbą zaprezentowania obecnego stanu wiedzy i genezy wyboru celu pracy w świetle dostępnej literatury. Wszystko rozpoczyna opis dotyczący występowania, budowy i właściwości skrobi ze szczegółowym omówieniem składu i budowy chemicznej, co istotne z uwzględnieniem różnic pomiędzy ziarnami skrobiowymi występujących w różnych odmianach botanicznych roślin. Autor omówił także w sposób szczegółowy właściwości fizyczne i chemiczne skrobi co jest istotnym elementem późniejszych rozważań dotyczących argumentacji i wyboru zakresu tematycznego pracy doktorskiej

Na stronie 24 w części poświęconej metodom fizycznym modyfikacji skrobi umieszczono informacje na temat dezintegracji blend skrobia/polietylen poprzez zastosowanie związków metali przejściowych jako dodatków prooksydacyjnych, katalizujących przemiany foto i termooksydacyjne. W tym miejscu chciałbym podkreślić, że tego rodzaju układy z punktu widzenia zagrożenia zanieczyszczenia środowiska mikroplastikami są jednym z najgorszych rozwiązań jakie można sobie wyobrazić. Uważam, że takie „pseudo-ekologiczne” produkty powinny być opisywane z odpowiednim komentarzem, że nie spełniają one jakichkolwiek

norm związanych z bezpieczeństwem środowiska naturalnego w tym z nową dyrektywą UE z 2019 roku „Single Use Plastics” i są szkodliwe lub wręcz niebezpieczne dla żywych organizmów. Nie zgadzam się także, że stwierdzeniem na str. 25, że w ostatnich latach odchodzi się od łączenia polimerów biodegradowalnych z nie biodegradowalnymi. Według mnie ten proces rozpoczął się już 20 lat temu i dlatego dzisiaj trudno wskazać produkty komercyjne typu produkowane wielkotonażowo opakowania o takiej hybrydowej naturalno-syntetycznej strukturze.

Za bardzo ciekawy uważam pkt. 2.2 Metody chemiczne i biochemiczne, gdzie mgr Żarski w sposób szczegółowy i wyczerpujący omówił obecny stan wiedzy dotyczący chemicznej i biochemicznej modyfikacji skrobi z wykorzystaniem jako środowiska cieczy jonowych w tym m.in. procesów hydrofobizacji skrobi za pomocą estryfikacji kwasami tłuszczowymi i ich pochodnymi. Fragment ten stanowi silny argument potwierdzający zasadność i celowość podjętego tematu rozprawy doktorskiej.

W ostatniej trzeciej części przeglądu literatury autor omówił materiały na bazie skrobi dedykowane do zastosowań w przemyśle opakowaniowym. Fragment ten można podsumować ogólną konkluzją przytoczoną za autorem pracy, że dla wszystkich omawianych układów mieszanek z udziałem skrobi im lepsza jest dyspersja skrobi w matrycy termoplastycznej tym lepsze są właściwości mechaniczne końcowego produktu.

Nie do końca rozumiem tak duże poświęcenie uwagi w części literaturowej otrzymywaniu kompozytów skrobi z polimerami syntetycznymi np. z polietylenem. Takie materiały kompozytowe są już od ponad 10 lat uznawane za rozwiązania nieekologiczne szczególnie w kontekście ostatnich przepisów i wytycznych UE dotyczących Gospodarki w Obiegu Zamkniętym w obszarze tworzyw syntetycznych stosowanych do produkcji opakowań oraz zagrożenie zanieczyszczenia środowiska naturalnego mikroplastikami. Z drugiej strony informacji dotyczących kompozytów skrobi z polimerami biodegradowalnymi np. PLA, PHA czy PBS, które spełniają wymagania dot. biotworzyw biokompostowalnych jest zdecydowanie mniej a niektóre istotne prace w tym temacie zostały pominięte. Na przykład są to następujące pozycje literaturowe:

- R. Wool, X.S. Sun, Bio-Based Polymers and Composites, Elsevier, 2011 rozd. 11: Plastic derived from starch and poly(lactic acid), 369-407;
- Y. Parulekar, A. Mohanty, Extruded Biodegradable Cast Films from Polyhydroxyalkanoate and Thermoplastic Starch Blends: Fabrication and Characterization, Macromolecular Materials and Engineering, 2007, 292(12): 1218-1228
- I.S. Yun, S.W. Hwang, J.K. Shim, K.H. Seo, A study on the thermal and mechanical properties of poly (butylene succinate)/thermoplastic starch binary blends, International Journal of Precision Engineering and Manufacturing-Green Technology 2016, 3, 289–296

Uważam, że cennym ułatwieniem dla czytelnika byłoby w punkcie 3. Materiały na bazie skrobi dla przemysłu opakowaniowego dokonać podziału i omówić oddzielnie produkty z udziałem polimerów syntetycznych oraz polimerów pochodzenia naturalnego i ich pochodnych.

W wydzielonej części na stronie 45 zaprezentowano główną tezę i cel pracy wraz z dwoma celami szczegółowymi. Uważam, że zarówno postawiona teza jako oba cele szczegółowe dot. zarówno otrzymania estryfikowanej skrobi ziemniaczanej poprzez zastosowanie bardzo ciekawej kombinowanej chemiczno-enzymatycznej reakcji prowadzonej w środowisku cieczy

jonowej w celu poprawy jej wybranych właściwości funkcjonalnych takich jak hydrofobowość i właściwości termoplastyczne, jak i przebadania możliwości wykorzystania takich skrobi do produkcji materiałów dedykowanych dla przemysłu opakowaniowego są adresowane właściwie i mają unikalny charakter poznawczy z punktu widzenia dotychczasowego stanu wiedzy.

Rozdział „Część eksperymentalna” rozpoczyna się od omówienia na 12 stronach wykorzystanych w pracy materiałów i metod badawczych wraz ze szczegółowym opisem postępowania doświadczalnego, które zostało omówione w 15 sekcjach 1.3.1-1.3.15 poświęconych kolejnym etapom stosowanych metod modyfikacji i charakteryzacji fizyko-chemicznej skrobi, metodyki ich otrzymywania i badania właściwości użytkowych, w tym wybranych właściwości biologicznych materiałów takich jak podatność na biodegradację oraz fitotoksyczność. Za cenne należy wskazać wykorzystanie w wielu badaniach znormalizowanych metod badawczych co zdecydowanie ułatwia i umożliwia bezpośrednio porównanie otrzymanych wyników z wynikami prac innych autorów. W wykazie zastosowanych odczynników zabrakło informacji o stopniu czystości i/lub przeznaczeniu części wykorzystanych odczynników i substancji - pkt. 1.1 na stronie 46. Metody analityczne zostały przyjęte w sposób prawidłowy adekwatnie do wskazanego zakresu i przedmiotu analizy. To samo dotyczy zastosowanych metod charakteryzacji właściwości otrzymanych pochodnych skrobi i materiałów biokompozytowych oraz zaproponowanych badań biologicznych.

Dziwi brak opisu oraz zastosowania jakiegokolwiek metodyki analizy statystycznej wyników co w przypadku badań zarówno fizyko-chemicznych właściwości materiałów na bazie naturalnych polisacharydów o nie w pełni jednolitej i powtarzalnej strukturze chemicznej jak i stosowanych badań o charakterze biologicznym wydaje się być podstawą rzetelnej analizy otrzymanych wyników. Uważam, że taka analiza powinna być ostatecznie przeprowadzona aby zweryfikować i potwierdzić istotność obserwowanych i omawianych w pracy różnic.

Rozdziały 2.1 – 2.13 stanowią zasadniczą część pracy, opisując poszczególne przeprowadzone badania, otrzymane wyniki i ich interpretację.

Autor wykazał, że w reakcji enzymatycznej estryfikacji skrobi ziemniaczanej w obecności lipazy grzybowej z *T. lanuginosus* niezależnie od stosowanego czynnika estryfikującego zarówno w formie oczyszczonej jak i zastosowanego bezpośrednio po procesie hydrolizy enzymatycznej można poprzez odpowiedni dobór warunków procesu w tym obecności środka powierzchniowo-czynnego otrzymać średniopodstawione estry skrobiowe o stopniu podstawienia kwasami tłuszczowymi w zakresie 1,3-1,5 z bardzo wysoką ok. 80% wydajnością. Zaproponowana dwuetapowa metoda syntezy estrów skrobiowych pozwala na otrzymanie materiałów o nowych ciekawych cechach i ulepszonych właściwościach przetwórczych w porównaniu do skrobi natywnej. W pracy zaproponowano i zweryfikowano nowy sposób recyklingu olejów odpadowych z przemysłu spożywczego w kierunku pozyskiwania kwasów tłuszczowych. Po przeprowadzonej estryfikacji wzrosła nie tylko hydrofobowość skrobi, ale także dla materiałów kompozytowych z niej otrzymanych 2 krotnie wytrzymałość na rozciąganie oraz ponad 3 krotnie wytrzymałość na rozdarcie. Co ciekawe obserwowane istotne zmiany właściwości modyfikowanej skrobi w tym wysokie stopnie podstawienia nie przyczyniły się do zaniku naturalnych cech skrobi natywnej takich jak biodegradowalność i nietoksyczność. Wyniki prób przetwórstwa termoplastycznego otrzymanych modyfikowanych materiałów skrobiowych wskazują na możliwość ich zastosowanie w produkcji nowych, ekologicznych i biodegradowalnych opakowań.

Podsumowując, należy stwierdzić, że recenzowana rozprawa doktorska ma bardzo wysoki aspekt nowości naukowej. Doktorant przeprowadził usystematyzowane badania możliwości estryfikacji skrobi w wybranym układzie cieczy jonowej. Charakteryzacja otrzymanych produktów została przeprowadzona wieloma uzupełniającymi się technikami, co pozwoliło na wyciąganie komplementarnych wniosków niemożliwych do osiągnięcia tylko przy zastosowaniu pojedynczych metod badawczych.

Jakość wykonanych przez mgr Arkadiusza Żarskiego badań oraz sposób ich opisu oceniam bardzo wysoko. W trakcie lektury części doświadczalnej oraz opisu wyników przeprowadzonych badań nasunęły mi następujące pytania i wątpliwości i proszę, aby Doktorant w czasie obrony ustosunkowała się do następujących kwestii:

Str. 70: Doktorant tłumaczy coraz niższy stopień podstawienia skrobi kwasem oleinowym w przeprowadzonej enzymatycznej reakcji estryfikacji wraz ze wzrostem temperatury i wydłużeniem czasu procesu termiczną inaktywacją enzymu oraz pojawieniem się większej ilości wody w środowisku reakcji co powoduje przesunięcie równowagi w kierunku hydrolizy estrów. Czy autor dysponuje dowodem na wyżej postawioną hipotezę dot. pojawiającej się większej ilości wody w trakcie procesu ogrzewania skrobi kolejno w 4, 6 i 8 godzinie co może prowadzić do spadku stopnia estryfikacji kolejno w 6 i 8 godzinie procesu?

Str. 94-95: Wydaje mi się, że Doktorant zbyt ogólnie opisał sam proces przetwórstwa modyfikowanych skrobi co z punktu widzenia poznawczego i aplikacyjnego ma zasadnicze znaczenie. Z czego wynikało zastosowanie wskazanych w pracy w pkt. 1.3.12 parametrów i warunków przygotowania filmów takich jak ilość dodanego plastyfikatora, grubość warstwy oraz parametry przetwórstwa termicznego np. dlaczego nie zastosowano wyższych temperatur? Czy były przeprowadzone próby z innymi udziałami dodawanego plastyfikatora, które potwierdziły że udział 20:80 jest najbardziej optymalny? Dlaczego nie dokonano prób wylewania filmów cieńszych w tym z wykorzystaniem alternatywnej do procesu wylewania „cast” techniki rozdmuchu?

Str. 104: Stwierdzono, że podczas oceny fitotoksyczności nie zaobserwowano istotnych zmian pod względem anatomicznym badanych roślin tj. w zawartości głównych barwników roślinnych takich jak chlorofil czy z barwników z grupy karotenoidów. Wobec błędnej numeracji cytowanych rysunków można się domyślać, że chodzi o rys. 2.42 i 2.43. Niestety brak opisu skrótów na tych rysunkach tzn. FSN, FKO, FHR i FHS uniemożliwia faktycznie potwierdzenie tej obserwacji. Proszę o wyjaśnienie dlaczego największy spadek ilości chlorofilu i karotenoidów obserwuje się wraz ze wzrostem ilości badanego materiału w glebie niezależnie od rodzaju badanej rośliny dla próbek FKO np. w porównaniu do próbek FHR i FHS?

Pracę zamykają syntetyczne wnioski końcowe oraz bardzo obszerny (zawierający 282 pozycji) spis cytowanej literatury. Wnioski są zaprezentowane i sformułowane prawidłowo, adekwatnie do zakresu badań i otrzymanych wyników ze wskazaniem wszystkich najważniejszych właściwości poszczególnych otrzymanych modyfikowanych skrobi oraz otrzymanych z nich kompozytowych materiałów foliowych.

Od strony graficznej praca jest wykonana starannie, z czytelnymi tabelami, rysunkami oraz zdjęciami. W pracy pojawiają się nieliczne błędy edytorskie (m.in. brak odpowiedników odnośników w tekście w pkt. 2.12 do wszystkich umieszczonych w tej części rysunków 2.33-

2.36; błędna numeracja wszystkich rysunków na stronie 104 m.in. powoływanie się na rysunki 2.45-2.46, których nie ma w pracy). Pojawiają się także błędy interpunkcyjne oraz nieprecyzyjne lub czasami niewłaściwe określenia wynikające z bezpośredniego tłumaczenia pewnych sformułowań np. niepotrzebne użycie terminów zapożyczonych z języka angielskiego „blendowanie” i „derywatywacja” na str. 36.

Wszystkie przytoczone powyżej uwagi wynikają z moich jako recenzenta wątpliwości oraz pytań do dyskusji w trakcie obrony pracy. Jednakże w tym miejscu chciałem podkreślić moją opinię na temat wysokiego poziomu merytorycznego pracy doktorskiej mgr Arkadiusza Żarskiego.

Wyniki badań przeprowadzonych przez Doktoranta w ramach recenzowanej rozprawy zostały dotychczas częściowo opublikowane w dwóch artykułach w czasopiśmie Carbohydrate Polymers listy JCR:

- Żarski, A., Bajer, K., Zarska, S., Kapusniak, J. (2019). From high oleic vegetable oils to hydrophobic starch derivatives: I. Development and structural studies. Carbohydrate Polymers, 214, 124–130.

- Żarski, A., Ptak, S., Siemion, P., Kapusniak, J. (2016). Esterification of potato starch by a biocatalysed reaction in an ionic liquid. Carbohydrate Polymers, 137, 657–663.

Na uwagę zasługuje kierowanie przez doktoranta grantem badawczym w ramach konkursu Preludium w latach 2017-2020, organizowanego przez Narodowe Centrum Nauki (umowa nr 2016/21/N/ST8/03600) dotyczącym tematyki zrealizowanej pracy doktorskiej.

Zaproponowane w pracy produkty w postaci hydrofobowych pochodnych skrobi ziemniaczanej stanowią ciekawą proekologiczną alternatywę dla obecnie stosowanych materiałów opakowaniowych. Praca ta jest ściśle związana z dziedziną chemii i technologii chemicznej a konkretnie z poszukiwaniem nowych rozwiązań modyfikacji chemicznej w celu formowania produktów do potencjalnego zastosowań w przemyśle opakowaniowym co zostało wykazane w ramach przedstawionej do oceny pracy.

Otrzymane wyniki stymulują do dalszych badań związanych z poszukiwaniem alternatywnych układów i procesów estryfikacji do tych opisanych w pracy doktorskiej m.in. z zastosowaniem mniej toksycznych cieczy jonowych, alternatywnych kwasów tłuszczowych oraz innych substancji stabilizujących należących do związków powierzchniowo-czynnych. Docelowo takie badania mogą pozwolić na lepsze zrozumienie mechanizmu procesu enzymatycznej estryfikacji oraz doprowadzą do opracowania takiej metody modyfikacji, która pozwoli na w pełni kontrolowany i powtarzalny sposób otrzymywania estryfikowanych pochodnych skrobi o doskonałych wł. hydrofobowych i pozostałych właściwościach użytkowych formowanych materiałów termoplastycznych z ich udziałem zgodnie z oczekiwaniami i wymaganiami stawianymi w całym łańcuchu wartości w tym produkcyjnym.

Po zapoznaniu się z przedstawioną do oceny pracą doktorską mgr Arkadiusza Żarskiego stwierdzam, że spełnia ona wszelkie wymogi formalne stawiane tego typu opracowaniom zgodnie z art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14.03.2003 (Dz. U. Nr 65, poz 595 z późniejszymi zm.) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. W związku z powyższym wnoszę do Rady ds. Nadawania Stopni Naukowych i Stopni w Zakresie Sztuki Uniwersytety Humanistyczno-Przyrodniczego im. Jana Długosza w Częstochowie o dopuszczenie Pana mgr Arkadiusza Żarskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

DYREKTOR
Centrum Bioinżynierii i Innowacyjnych
Materiałów Opakowaniowych
Prof. dr hab. inż. Artur Bartkowiak