

Warszawa, 2021.07.19

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Damiana Kaczmarka

Synteza i właściwości amoniowych cieczy jonowych wykazujących aktywność biologiczną wobec roślin

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Juliusza Pernaka w Zakładzie Technologii Chemicznej
Instytutu Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej

Mianem cieczy jonowych (CJ) określa się sole organiczne o temperaturze topnienia $<100^{\circ}\text{C}$. Kation jest zawsze organiczny, natomiast anion może być nieorganiczny lub organiczny. Za pierwszą ciecz jonową uważa się azotan etyloamoniowy, o temperaturze topnienia $13\text{--}14^{\circ}\text{C}$, otrzymany w 1914 r. przez Paula Waldena. Zbiór CJ jest systematycznie rozbudowywany, a ich popularność ciągle wzrasta. Świadczy o tym liczba publikacji, rosnąca w ostatnim dziesięcioleciu od ponad 100 w 2001 do ponad 6000 od 2014. W Polsce niekwestionowanym liderem w dziedzinie cieczy jonowych jest promotor doktoranta – profesor Juliusz Pernak, współautor kilkudziesięciu artykułów o tej tematyce.

CJ mają szereg korzystnych właściwości, jak np. niska prężność pary nasyconej, wysoka stabilność termiczna i elektrochemiczna, ograniczona mieszalność z wieloma rozpuszczalnikami, w tym często z wodą, czy bioaktywność!, które umożliwiają ich różnorodne zastosowania. Stwarzają szansę ograniczenia zużycia rozpuszczalników i katalizatorów oraz negatywnego oddziaływania na środowisko środków biologicznie czynnych. W tym sensie są nadzieją zielonej chemii i zrównoważonego rozwoju technologicznego. Pierwszym przykładem przemysłowego zastosowania CJ jest, cytowany przez Doktoranta, proces BASIL (*Biphasic Acid Scavenging utilizing Ionic Liquids*), który został uruchomiony w BASF w 2002 roku. Polega on na wykorzystaniu 1-metyloimidazolu do wychwytywania HCl powstającego ubocznie w syntezie dietoksyfenylofosfiny. Reakcja ta prowadzi do powstania CL, chlorku 1-metyloimidazoliowego, który wydziela się jako druga, łatwo rozdzielająca się ciepla faza podczas reakcji. W ten sposób HCl jest usuwany ze środowiska reakcji i nie powoduje niekorzystnych reakcji następczych.

Odrębna grupa zastosowań dotyczy wykorzystania aktywności biologicznej CJ i jest od lat przedmiotem zainteresowania i badań prowadzonych przez zespół promotora Doktoranta, do przykładów należą balsamowanie i konserwacja tkanek, ochrona przeciw drobnoustrojom czy środki ochrony roślin (herbicydowe CJ).

Ciecze jonowe są określane jako „projektowalne” – można dobrać wiele kombinacji kationów i anionów, przewidując właściwości CJ na podstawie analizy właściwości substratów

i wcześniej otrzymanych podobnych CJ. Dla mnie jako technologa ten aspekt tematyki CJ jest szczególnie interesujący i ekscytujący. Doktorant wykazał, że nie jest to czcze stwierdzenie i potwierdził wiele tez postawionych na podstawie takiej analizy.

Celem rozprawy było opracowanie efektywnych metod otrzymywania nowych cieczy jonowych wykazujących bezpośrednią lub pośrednią aktywność biologiczną wobec roślin oraz wyznaczenie zależności pomiędzy ich strukturą, właściwościami fizykochemicznymi oraz aktywnością biologiczną (ładnie przedstawione graficznie). Doktorant poszukując takich CJ, postanowił otrzymać znaczną grupę nowych cieczy jonowych z kationami i/lub anionami pochodzenia naturalnego i zbadać ich właściwości aplikacyjne. Cel uważam za słuszny, jasno sprecyzowany i niezwykle ambitny.

Rozprawę przedstawiono w formie cyklu 5 monotematycznych artykułów, w których udział Doktoranta jest przeważający, oraz 7 zgłoszeń patentowych. Tematykę omówiono syntetycznie, ale wyczerpująco w pięciu rozdziałach (*wprowadzenie, dotychczasowy stan wiedzy dotyczący tematu rozprawy, cel i zakres pracy, omówienie najważniejszych osiągnięć zawartych w cyklu publikacji, najważniejsze osiągnięcia naukowe opisane w publikacjach D1–D5*). Ta część rozprawy liczy 70 stron. Ponadto w rozprawie umieszczono wszystkie publikacje wraz z materiałami uzupełniającymi (*Supplementary materials*) i spis zgłoszeń patentowych będące jej podstawą oraz oświadczenia współautorów i wykaz pozostałego dorobku naukowego Doktoranta. Układ opracowania jest prawidłowy i mimo przyzwyczajenia do umieszczania celu pracy, ewentualnie w połączeniu ze wstępem, przed częścią literaturową, dostrzegam zaletę i logikę propozycji Doktoranta, czyli cel pracy po omówieniu literatury. Spis oznaczeń, ułatwia czytelnikowi prawidłowe rozszyfrowanie skrótów, które często pochodzą od nazw angielskich. Materiały uzupełniające w połączeniu z opisem eksperymentów z publikacji zadowalająco zastępują część doświadczalną.

Część literaturowa (*dotychczasowy stan wiedzy dotyczący tematu rozprawy*), obejmująca 27 stron i 226 pozycji (dodatkowe 8 stron) (154 z ostatnich 10 lat), opracowana jest w sposób obszerny i dojrzały. Uważam, że można ją wykorzystać do napisania paru artykułów przeglądowych, po uzupełnieniu cytowań patentów, jak w pracy o charakterze aplikacyjnym.

W obszarze **cieczy jonowych**, Doktorant przedstawił ich historię, ze szczególnym podkreśleniem aspektów aplikacyjnych i wdrożeń, ilustrując je przykładami i rysunkiem (rys. 2). Omówił podział na trzy grupy pod kątem projektowania właściwości i aktywności CJ. Bardzo ważne jest omówienie większości zalet i wad CJ, z ładną grafiką (rys. 3). Zestawienie to niejako ostrzega przed bezkrytycznym zachwytem nad CJ. Pytanie: gdzie umieścić biodegradowalność? Może być zaletą (głównie), jak i wadą.

Doktorant przedstawił wpływ CJ na środowisko naturalne, co należało do podstawowych aspektów aplikacyjnych rozprawy, gdyż projektował on CJ w celu uzyskania przyjaznych dla środowiska związków do zastosowania w rolnictwie, jako regulatorów wzrostu roślin i adiuwantów pestycydowych. Słusznie podkreślił, że w trakcie projektowania CJ należy brać

pod uwagę wpływ otrzymanego produktu na środowisko naturalne, opracowanie bezpiecznej metody syntezy oraz założenie poprawy pożądanych właściwości i aktywności. Zwrócił uwagę, że w przeciwieństwie do syntetycznych CJ z długim łańcuchem alkilowym, ciecze jonowe z kationami naturalnymi są nietoksyczne w stosunku do większości typów mikroorganizmów, a wymiana halogenku na odpowiedni anion organiczny redukuje toksyczność. Ostatecznie doszedł do wniosku, że odpowiednio określając założenia projektowe można całkowicie wyeliminować szkodliwą toksyczność CJ wobec bakterii, grzybów czy alg (być może także wobec roślin, zwierząt oraz ludzi) oraz poprawić ich biodegradowalność.

Doktorant omówił tematykę **regulatorów wzrostu roślin**, podając definicję, charakterystykę i klasyfikację. Zwrócił uwagę, że przekształcaniem naturalnych substancji, aktywnych biologicznie wobec roślin zainteresowano się dopiero w 2020 roku w ramach badań, w których naturalne auksyny oraz kwas giberelinowy zostały przekształcone w nowe sole z kationami organicznymi. Przedstawił ścieżki biosyntezy i właściwości kwasu indolilo-3-masłowego (IBA), produkowanej przemysłowo naturalnej auksyny oraz jego zastosowanie jako regulatora wzrostu roślin. Zwrócił uwagę, że zarówno syntetyczne, jak i naturalne fitohormony wpływają na wszystkie elementy ekosystemu zarówno pozytywnie, jak i negatywnie, w zależności od zastosowanej dawki. Podkreślił konieczność poszukiwania nowych, bezpiecznych i skutecznie działających PGRs, a jednocześnie przestrzegania zasad użytkowania i stosowania ich wyłącznie w niezbędnych sytuacjach.

Omawiając tematykę **adiuwantów pestycydowych**, Doktorant wyjaśnił, że są to substancje nie będące pestycydami, poprawiające działanie substancji biologicznie aktywnych i przedstawił ich funkcje pełnione w mieszaninie zbiornikowej. Tu zaprezentował koncepcję połączenia adiuwantów z substancją aktywną w jedną strukturę, bez ingerencji w struktury substancji aktywnych biologicznie, przez przeprowadzenie adiuwantów w ciecze jonowe, w których pestycyd w postaci kationu lub anionu byłby uzupełniony przeciwjonem wykazującym aktywność powierzchniową. Na podstawie analizy badań literaturowych stwierdził, że możliwe jest uzyskanie w ten sposób wysokiej skuteczności przy jednoczesnym zachowaniu ograniczonego wpływu na organizmy żywe i środowisko naturalne. Koncepcję uważam za bardzo ciekawą. Pytanie: czy ograniczenie stosunku pestycyd/adiuwant do stechiometrii kation/anion w CJ nie jest niekorzystnym ograniczeniem? Doktorant słusznie zauważył, że nie wszystkie związki chemiczne można przeprowadzić w biologicznie aktywne CJ, dlatego koniecznym jest rozwijanie i poszukiwanie nowych soli z grupy adiuwantów pestycydowych. Doktorant zwrócił uwagę na nowatorskość wprowadzenia pochodnych związków naturalnych zarówno do kationu, jak i anionu cieczy jonowej i postanowił zaprojektować takie ciecze oczekując ich pozytywnych właściwości biologicznych.

W ramach badań własnych, Doktorant wykonał ważną i obszerną pracę doświadczalną, której efektem jest duża grupa nowych cieczy jonowych i czwartorzędowych soli amoniowych,

z których znaczna część ma korzystne właściwości i nadaje się do zastosowania w rolnictwie. Przeprowadzone badania można podzielić na trzy części.

1) Opracowanie metod syntezy. Doktorant wybrał substraty (23 pochodzenia naturalnego i 6 syntetycznego) o niskiej toksyczności wobec środowiska naturalnego i opracował szereg oryginalnych metod syntezy, wykorzystujących reakcję protonowania grupy karboksylowej, reakcję wymiany lub reakcję dwuetapową z wykorzystaniem żywicy jonowymiennej. Po analizie rozpuszczalności substratów w różnych rozpuszczalnikach i wykorzystując informacje o promowaniu reakcji S_N2 w acetonitrylu, zoptymalizował syntezę halogenków alkilocholiny w akrylonitrylu z dodatkiem metanolu (10:1 v/v) w układzie homogenicznym, w reaktorze automatycznym EasyMaxTM (Mettler Toledo). Istotne złagodzenie warunków (60°C, 0,5 h) jest znacznym osiągnięciem technologicznym. W porównaniu do opisów literaturowych, oznacza obniżenie temperatury o ok. 20°C i ponad 20-krotne skrócenie czasu, przy jednoczesnym zmniejszeniu oddziaływania rozpuszczalników na środowisko. Doktorant otrzymał 39 „naturalnych” cieczy jonowych oraz 5 czwartorzędowych soli amoniowych. W celu dokładnego scharakteryzowania nowych związków opracował oryginalne procedury oczyszczania otrzymując czyste produkty z wydajnością >70%. Do stosowania produktów w rolnictwie, dokładne ich oczyszczanie raczej nie będzie potrzebne.

Po analizie rozpuszczalności substratów i stabilności produktów, Doktorant opracował oryginalną metodę syntezy 2 soli amoniowych oraz 2 mieszanin dwuskładnikowych zawierających IBA i aminokwasy. Warunki reakcji: rozpuszczalnik – woda z dodatkiem etanolu (10:1 v:v), bez dostępu światła, temperatura 40°C, 24 h, wydajność prawie ilościowa.

Doktorant bardzo dobrze opanował metodykę projektowania i otrzymywania CJ wzbogacając tę ważną grupę o 39 związków o założonych właściwościach. Reakcje przebiegały w łagodnych warunkach, szybko, w większości z bardzo dobrą wydajnością (>70%). Pytanie: Czy nie można było zastosować metod planowania eksperymentów?

2) Charakterystyka otrzymanych CJ pod kątem możliwości ich wykorzystania, w tym w rolnictwie. Doktorant nie tylko wyznaczył obszerną grupę właściwości fizykochemicznych CJ istotnych dla ich projektowania (temperatura zeszklenia, topnienia i krystalizacji, stabilność termiczna, aktywność powierzchniowa, lepkość, gęstość, współczynnik refrakcji oraz rozpuszczalność), ale też określił zależności niektórych właściwości od elementów struktury kationu i anionu CJ. Na podstawie analizy ¹H- i ¹³C-NMR oraz IR i UV, a także obliczeń molekularnych potwierdził strukturę otrzymanych związków i zachodzące w nich oddziaływania (w przypadku protonowych soli amoniowych i mieszanin dwuskładnikowych lokalizację protonu).

Do najistotniejszych zależności należą: wpływ grup funkcyjnych oraz pierścieni aromatycznych na przemiany fazowe i stabilność termiczną; wpływ długości podstawnika alkilowego na gęstość, lepkość, współczynnik refrakcji, krytyczne stężenie micelizacji, napięcie powierzchniowe oraz kąt zwilżania; wpływ podstawników zdolnych do tworzenia wiązania

wodorowego na mierzone parametry aktywności powierzchniowej; synergistyczne działanie dwóch jonów wykazujących aktywność powierzchniową.

Wyniki w tej części rozprawy istotnie wzbogaciły wiedzę na temat możliwości projektowania cieczy jonowych i stwarzają szerokie możliwości zastosowań technologicznych.

3) Zbadanie aktywności biologicznej otrzymanych związków. Zadanie to było kluczowe dla potwierdzenia zakładanych właściwości zaprojektowanych i otrzymanych CJ oraz wykorzystania ich w rolnictwie. Wymagało jednak posiadania specjalnego warsztatu badawczego i przeprowadzenia badań szklarniowych, co przekraczało możliwości chemika syntetyka. Na tym polu Doktorant wykazał się umiejętnością współpracy ze specjalistycznymi ośrodkami badawczymi, czego oczekuję od chemika technologa. Niewątpliwie pomocne były tu kontakty i finansowanie promotora. Analizy aktywności biologicznej przeprowadzono we współpracy z zespołami badawczymi Politechniki Poznańskiej oraz Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego, Uniwersytetu Przyrodniczego i Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.

Otrzymane cieczy jonowe, protonowe sole amoniowe i mieszaniny dwuskładnikowe zawierające anion indolilo-3-maślanowy (IBA) były po raz pierwszy zastosowane jako nowe stymulatory wzrostu roślin. Zgodnie z założeniami projektowymi otrzymane produkty zachowały swoją aktywność biologiczną. Ponadto przekształcenie IBA w formę jonową wpłynęło na zwiększenie plonowania roślin w stosunku do eksperymentów referencyjnych. Najlepsze rezultaty w obu eksperymentach uzyskano dla CJ z kationem choliny.

Testy szklarniowe wykonane dla soli projektowanych jako nowe adiuwanty pestycydowe potwierdziły, że dodatek odpowiedniego adiuwantu jest niezbędny dla zapewnienia wysokiej aktywności biologicznej testowanych sulfonomoczników. Odnotowano także, że istotny wpływ na poprawę aktywności biologicznej substancji aktywnej ma struktura zaproponowanych związków. Zaobserwowano liniową zależność aktywności biologicznej od kąta zwilżania roztworów opryskowych, co pozwala określać aktywność herbicydową na podstawie wyznaczenia kąta zwilżania mieszanin zbiornikowych.

Związki z kationami alkilocholiny oraz alkilobetainy mogą być nieszkodliwe dla mikroorganizmów, owadów i roślin. Analizowana biodegradowalność i toksyczność wobec bakterii i grzybów pokazuje, że otrzymane związki powinny co najmniej w średnim stopniu być usuwane przez mikroby w glebie. Przeprowadzone badania ich fitotoksyczności wykazały, że mogą one być inertne dla roślin.

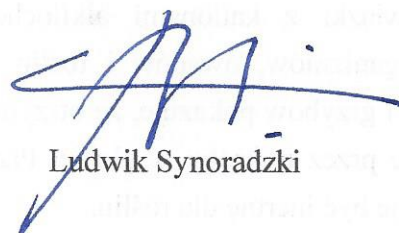
Każda z części rozprawy jest istotnym wkładem w rozwój tematyki cieczy jonowych. Szczególnie jestem usatysfakcjonowany skutecznym zaprojektowaniem i otrzymaniem „naturalnych CJ” i potwierdzeniem ich oczekiwanej aktywności biologicznej. Uważam to za działania pionierskie na tym polu. Ze względu na stwierdzone korzystne właściwości biologiczne, niską aktywność przeciw ustrojową i toksyczność wobec roślin, ten fragment aplikacyjny uważam za mocny punkt pracy.

Rozprawa jest napisana w sposób dojrzały i wyczerpujący, poprawnym językiem, przy czym muszę podkreślić, że część polskojęzyczna jest tylko obszernym skrótem i omówieniem cyklu anglojęzycznych publikacji i zgłoszeń patentowych. Doktorant wykazał się niewątpliwie dużą pracowitością, dobrą znajomością chemii i warsztatu doświadczalnego. Wykorzystał i poprawnie zinterpretował wyniki analiz spektralnych i badań molekularnych. Zauważyłem jednak kilka błędów/niejasności. Na str. 70, podpis pod rys. 20, po słowach „drugiego dnia” brakuje chyba słów „gorczyca białej”, chyba, że chodzi o kiełkowanie sałaty. Na str. 78, 11wg wnioski w zdaniu od „Natomiast związki...” nie zgadzają się z wynikami na rys. 26. Omawiając wyniki własne należało zacytować nie tylko opublikowane artykuły (D1–D5), ale też zgłoszenia patentowe (DP1–DP7). Wskazane uchybienia nie zmieniają mojej ogólnie pozytywnej opinii o wykonanej rozprawie doktorskiej.

Podsumowując, z satysfakcją stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska jest oryginalnym osiągnięciem badawczym, o znaczeniu zarówno podstawowym, jak i przede wszystkim technologicznym. Rozprawa spełnia wymagania ustawy w sprawie warunków i trybu przeprowadzania przewodów doktorskich i habilitacyjnych, wobec czego przedstawiam Radzie Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej w Poznaniu wniosek o dopuszczenie mgr inż. Damiana Kaczmarka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę wysoki poziom merytoryczny recenzowanej pracy skuteczne zaprojektowanie i wykonanie obszernej grupy nowych związków, opublikowanie wyników badań w 5 obszernych publikacjach w bardzo dobrych anglojęzycznych czasopismach naukowych o łącznym IF 24,372, 7 zgłoszeń patentowych i prezentacje na konferencjach oraz duże znaczenie aplikacyjne otrzymanych przez Doktoranta związków, wnioskuję o jej wyróżnienie.

Dodatkowo, pozwalam sobie zaproponować Radzie Wydziału, utworzenie startupu (może wspólnie z Poznańskim Parkiem Naukowo-Technologicznym), który doprowadziłby do wdrożenia przemysłowego i produkcji najlepiej rokujących związków, a następnie do stosowania ich w rolnictwie.



Ludwik Synoradzki