



Dr hab. Renata Siedlecka, prof. uczelni  
Katedra Chemii Organicznej i Medycznej  
Wydział Chemiczny  
Politechnika wrocławska

Wrocław, 14.09.2023 r.

Recenzja pracy doktorskiej mgr Agnieszki Lipke  
pt.: " *Właściwości spektroskopowe i biokatalityczne wybranych porfiryn immobilizowanych  
w żelach krzemionkowych z dodatkiem surfaktantów*"

Praca doktorska mgr Agnieszki Lipke wykonana została w Katedrze Chemii Nieorganicznej Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, pod kierunkiem prof. dr hab. Marka Majdana. Praca obejmuje tematykę związaną z badaniem właściwości związków o charakterze porfiryn i możliwościami ich różnorodnych aplikacji zarówno analitycznych, jak i katalitycznych. Zredagowana jest w układzie klasycznym, zawierając kolejno: wstęp, część literaturową a następnie część eksperymentalną z omówieniem metodyki badań i dyskusją wyników oraz wnioskami, następnie streszczenia i bibliografię liczącą 201 pozycji. Na końcu zamieszczono wykaz dorobku naukowego doktorantki.

Przyznam szczerze, że ocena przedstawionej mi dysertacji była pewnym wyzwaniem bo obejmuje ona obszerny materiał badawczy zbierany przez autorkę w ciągu kilkunastu lat (2009-2022), a jednocześnie było to zadanie dość proste, gdyż rzadko doktoranci w momencie przystępowania do obrony mogą wylegitymować się dorobkiem tylu publikacji - sumaryczna lista zamieszczona w pracy liczy 37 pozycji, nie licząc komunikatów konferencyjnych. W tej bogatej liście pani Lipke jest wymieniona jako pierwsza autorka w trzech czasopismach z listy JCR (*J Mol Structure* 2013, *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2018 oraz *Przemysł Chemiczny* 2012) oraz w czterech monografiach wydawanych przez UMCS (*Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości* 2011, 2011, 2014, 2015). Jednak z pewnym żalem muszę stwierdzić, że materiał w nich przedstawiony nie był główną podstawą przygotowania niniejszej dysertacji. Prowadząc badania opisane w pracy doktorskiej pani Agnieszka wykazała się umiejętnościami współpracy z pracownikami zarówno macierzystej Katedry Chemii Nieorganicznej, jak również pozostałych jednostek w ramach Wydziału Chemii. Szereg prac pani Lipke wieńczy wieloletnią współpracę z dr hab. Mariuszem Trytkiem, prof. UMCS z Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej (Wydział Biologii i Biotechnologii, UMCS), dotyczącą zastosowania układów porfiryńowych w procesach transformacji monoterpenów, w ramach tej

współpracy była też współwykonawcą grantu NCN (OPUS 9). Dwie prace są owocem współpracy z zespołem pani prof. dr hab. Doroty Gryko z IChO PAN z Warszawy, a kolejną przyniosła współpraca z Yulią Bolbukh z Narodowej Akademii Nauk Ukrainy.

Jaka była historycznie geneza badań nad porfirynami wyjaśnia nam autorka dość obrazowo w obszernym wstępie, przywołując jednocześnie ich współczesne znaczenie w diagnostyce i terapii schorzeń w różnych obszarach medycyny (dermatologia, laryngologia, pulmonologia, ginekologia, ortopedia i inne) a także przykłady zastosowań katalitycznych w syntezie organicznej. W części literaturowej autorka wyjaśnia złożoność budowy układów porfiryńowych, wskazuje ich właściwości kwasowo-zasadowe oraz ilustruje różnego typu interakcje w zależności od warunków środowiska, w tym oddziaływania z dodatkami o charakterze powierzchniowoczynnym. Obszerny fragment został poświęcony omówieniu specyficznych właściwości spektroskopowych porfiryn, które mogą być i są podstawą do ich zastosowań analitycznych.

Na początku części doświadczalnej pani Lipke przedstawia cel swoich własnych badań, oraz w dość detaliczny sposób informuje o kolejnych zaplanowanych etapach prac. W następnych podrozdziałach dokładnie przedstawiona została metodyka prac oraz używana aparatura badawcza. Jak zasygnalizowano w tytule dysertacji, badania prowadzone przez doktorantkę były dwutorowe: spektroskopowe i biokatalityczne. Eksperymentalne prace w pierwszym etapie dotyczą otrzymania zol-żelowych materiałów krzemionkowych dotowanych czterema rodzajami porfiryn (hematoporfiryna IX, oktaetyloporfiryna oraz protoporfiryna IX lub jej amidowa pochodna) w obecności domieszek środka powierzchniowo czynnego o różnym charakterze (bromek heksadecylotrimetyloamoniowy, dodecylosiarczan(VI) sodu lub Triton X-100) oraz zebrania ich charakterystyki fizykochemicznej a zwłaszcza spektroskopowej. W efekcie przeprowadzonych syntez otrzymano dwanaście serii próbek o wzrastającym stężeniu surfaktantu. Dla wybranych matryc krzemionkowych, z wykorzystaniem porozymetrii gazowej wyznaczono parametry porowatości (powierzchnię właściwą, powierzchnię zewnętrzną, całkowitą objętość i średnią wielkość porów oraz powierzchnię i objętość mikroporów) badanych materiałów, oraz wyznaczono zależność tych parametrów od charakteru i ilości domieszkowanego surfaktantu. Na podstawie analizy termicznej (widma TG, DTG i DSC) badanych układów autorka scharakteryzowała ich odporność i wyznaczyła zmianę zawartości wody w zależności od stężenia dodawanych detergentów. Z kolei analiza techniką Transmisyjnej Mikroskopii Elektronowej pozwoliła uzyskać informacje o dyspersji porfiryn w matrycy krzemionkowej. Spektrofotometryczna analiza dotowanych materiałów (widma UV-Vis) potwierdziła, że porfiryny mogą występować w formie monomerycznej lub w postaci agregatów, jednocześnie wyznaczono korelacje obu form w zależności od rodzaju i ilości obecnego w układzie surfaktantu. Uzupełnieniem analizy widm absorpcyjnych były przeprowadzone przez panią Lipke pomiary widm emisyjnych, na podstawie których autorka wnioskuje o formie występowania analizowanych porfiryn (wolna zasada  $H_2P$ , monokation  $H_3P^+$ , dikation  $H_4P^{2+}$ ) oraz o formach oddziaływania z otaczającym środowiskiem, porządkując je na typy: porfiryna-porfiryna, porfiryna-surfaktant oraz porfiryna-SiO<sub>2</sub>. Przed

przystąpieniem do zastosowań fotokatalitycznych opracowanych układów, zbadano wpływ dodatku surfaktantów na zdolność badanych porfiryn do generowania tlenu singletowego. Po analizie widm fosforescencji NIR tlenu singletowego (zakres 1200-1300 nm), autorka stwierdziła, że spośród analizowanych interkalowanych układów to oktaetyloporfiryra wykazuje największą, a protoporfiryra IX najniższą zdolność do generowania  $^1\text{O}_2$ . Ogólnie wzrost zawartości formy monomerycznej porfiryny sprzyja zdolności do generowania  $^1\text{O}_2$ , jednak w zależności od rodzaju oraz zawartości dodatku surfaktantu zmienia się ilość i lokalizacja zjonizowanej formy monomerycznej, co wyraźnie modyfikuje mierzoną fluorescencję, świadczącą o ilości generowanego tlenu singletowego.

W drugim etapie prac eksperymentalnych pani Lipke wykorzystwała praktycznie zdolności fotosensybilizacyjne porfiryn, do oksydatywnej transformacji dwóch terpenów, tj.  $\alpha$ -pinenu i limonenu, jednocześnie sprawdzając jak immobilizacja w matrycach  $\text{SiO}_2$  oraz domieszkowanie różnego typu surfaktantami wpływa na właściwości fotokatalityczne badanych porfiryn. Na podstawie analizy chromatograficznej mieszanin po reakcji oraz odpowiednich widm masowych potwierdzono wcześniejsze wnioski dotyczące najwyższej aktywności katalitycznej oktaetyloporfiryny, zarówno wobec  $\alpha$ -pinenu jak i limonenu, w porównaniu z pozostałymi użytymi do badań. Udało się przy jej zastosowaniu otrzymać produkty utlenienia łącznie o stężeniu powyżej  $3 \text{ g/dm}^3$ . W reakcji fotokatalitycznego utleniania  $\alpha$ -pinenu zaobserwowano 13 produktów, z czego udało się zidentyfikować 9, natomiast po utlenianiu limonenu zidentyfikowano 13 na 16 utworzonych produktów. Dla obu serii utlenianych substratów sporządzono profil ilościowy i jakościowy powstających produktów. Jednak ich proporcje w mieszaninie były zdecydowanie zmienne, np. dla OEP profil stężeniowy produktów był taki sam przy minimalnej zawartości SDS oraz HDTMA, ale jednocześnie odpowiadał on profilowi bez surfaktantu. Podobnie w utlenianiu limonenu, próba kontrolna dała taką samą mieszaninę produktów, jak układy z niższymi stężeniami zarówno SDS, HDTMA jak i TX100. Stwierdzono, że proces monomeryzacji pod wpływem surfaktantów nie wpływa znacząco na przebieg fotokatalizy. Minimalny dodatek środka powierzchniowoczynnego zwykle podnosił nieco wydajność utleniania, ale już zwiększanie jego stężenia miało raczej niekorzystny wpływ i to niezależnie od typu surfaktantu. Wyniki potwierdzają, że OEP wykazuje najwyższą efektywność fotokatalityczną, generuje najwięcej tlenu singletowego, posiada dobre właściwości elektronodonorowe oraz zdolność do emisji fluorescencji o wyższej energii w porównaniu z pozostałymi porfirynami i w związku z tym autorka w niej upatruje obiecujący fotokatalizator. Autorka podjęła się też próby analizy mechanizmu oksydatywnej transformacji monoterenów, zaproponowała mechanizm mieszany, tzn. zarówno z udziałem wygenerowanego tlenu singletowego, jak i reakcji wolnorodnikowych, który tłumaczy tworzenie tak skomplikowanej matrycy produktów. Równowaga między postulowanymi mechanizmami może zależeć od budowy fotokatalizatora, jego oddziaływań z matrycą krzemionkową oraz z surfaktantem. Na podstawie analizy profili głównych produktów w wykonanych seriach eksperymentów wprowadzono pojęcie

współczynnika selektywności, który może usprawnić dobór warunków eksperymentu w celu prowadzenia reakcji bardziej wydajnie i zmniejszyć ilości produktów niepożądanych.

Główną część pracy kończą wnioski oraz streszczenia w języku polskim i angielskim.

Muszę tu przyznać, że autorka włożyła ogromny wysiłek w realizację celu pracy. Wykazała się dużą biegłością w stosowaniu i interpretowaniu wyników bardzo wielu technik pomiarowych i analiz. Ilość wykonanych eksperymentów, pomiarów i obliczeń przytoczonych w dysertacji w postaci masy wykresów i zależności robi naprawdę duże wrażenie. Uzyskane wyniki stanowią niewątpliwie istotny wkład w obszarze badań nad immobilizowanymi układami porfiryowymi. Warte podkreślenia są też przykłady efektywnego zastosowania wybranych układów w reakcji fotokatalitycznego utleniania monoterpenów, z punktu widzenia ich ew. praktycznego/przemysłowego zastosowania.

Praca pani Lipke napisana jest bardzo starannie, poprawnym naukowym językiem, a profesjonalna i przejrzysta strona graficzna sprawia, że całość jest „przyjazna dla czytelnika”. Pod względem merytorycznym praca ta daje wrażenie ambitnie zaplanowanego zadania badawczego i jego skutecznej realizacji. Z obowiązku recenzenta muszę jednak wskazać pewne niedoskonałości i prosić o wyjaśnienie wątpliwości.

W części literaturowej:

- na Rys. 7. zamieniono podpisy przy strukturach modyfikowanych w sferze peryferyjnej –  $\beta$ -podstawienie z *meso*-podstawieniem.
- na Rys. 8. pokazano m. in. porfodimetan, a w linijce tekstu powyżej nazwano go porfodimetenem.
- na Rys. 11. w strukturze dikationu  $H_4P^{2+}$  brakuje atomu wodoru.
- na str. 49 wydaje mi się, że brakuje przecinka w określeniu zakresu stężeń HDTMA w buforze.

W części doświadczalnej:

- skoro na wstępie zamieszczono wykaz skrótów, to konsekwentnie powinny się w nim znaleźć wszystkie oznaczenia i akronimy, tymczasem wielu wcześniej i później używanych brakuje w zestawieniu, np. SHPS ze str. 52, SKL ze str. 54, SAXS ze str. 56, SDT oraz PDT ze str. 65, PDI ze str. 66, STEM oraz EDS ze str. 98 itd.
- na str. 98 do analizy rozproszenia cząsteczek porfiryn w matrycy krzemionkowej wzięto tylko 6 układów (4 z HmPIX i 2 z OEP). Moje pytanie brzmi dlaczego wybrano właśnie te? Dlaczego nie wszystkie stężenia surfaktantu? Dlaczego w ogóle pominięto protoporfirynę IX i jej amidową pochodną?
- do Rys. 53 (str. 116) oraz Rys. 63. (str. 127) przydałaby się jakaś „legenda” pozwalająca łatwiej zorientować się w stosowanych oznaczeniach, kolorach itp., co ułatwiłoby interpretację.

- są drobne nieścisłości w podawanych wartościach przesunięć pasm na str. 134 i na Rys. 64.
- mam mieszane uczucia co do sposobu liczenia stopnia przereagowania (w %) pokazywanego w Tab. 30 dla  $\alpha$ -pinenu oraz Tab. 34 dla limonenu. Na str. 188 wspomniano, że jest to właściwie stosunek sumarycznej masy produktów do masy użytego substratu. Może błąd nie jest zasadniczy, ale przecież wszystkie produkty mają masę co najmniej o 16 g/mol większą niż substrat. Czy to świadome podejście? A może zaznaczyć w tekście, że jest to pewne „przybliżenie”?
- Mam pytanie, czy próbowano rozdzielić i wydzielić (choćby z użyciem ilościowego HPLC) główne produkty reakcji fotoutleniania? Albo, czy autorka wykonała eksperyment, w którym zaplanowano warunki w celu otrzymania wybranego/celowanego produktu o maksymalnej czystości? Dałoby to faktyczne podstawy do wykazania skuteczności posługiwania się współczynnikiem selektywności oraz planowania przyszłych zastosowań metody fotokatalitycznego utleniania.

Wymienione uwagi i pytania nie umniejszają mojej pozytywnej oceny przedstawionej mi do recenzji pracy. Podsumowując, uważam, że dysertacja pani Agnieszki Lipke wypełnia kryteria stawiane pracom doktorskim przez właściwą ustawę o stopniach naukowych i tytule naukowym. Doktorantka wykazała się bardzo dobrym przygotowaniem merytorycznym, bardzo dobrą jakością pracy eksperymentalnej oraz doskonałą umiejętnością analizy wyników. Udowodniła swoje kompetencje badacza umiejętnie wykorzystującego różnorodne nowoczesne metody badawcze i skutecznie współpracującego z innymi specjalistami. Dlatego zwracam się do Rady Instytutu Nauk Chemicznych, Wydział Chemii Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie o dopuszczenie pani mgr Agnieszki Lipke do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



Dr hab. inż. Renata Siedlecka, prof. uczelni