



prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski  
WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel. +48 61 665 3720, fax +48 61 665 3649  
e-mail: teofil.jesionowski@put.poznan.pl

Poznań, 24.08.2018 r.

## RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Markiton**

z tytułu

***„Studies on the Baeyer-Villiger oxidation of cyclic ketones to lactones  
with hydrogen peroxide”***

opracowana na zlecenie Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej z dnia 2.07.2018 r.

Rozprawa doktorska Pani mgr inż. Magdaleny Markiton została zrealizowana w Katedrze Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej. Pracę wykonano pod kierunkiem Pani dr hab. inż. Anny Chrobok, prof. nadzw. PŚI, wysokiej klasy specjalistki w obszarze technologii chemicznej organicznej, biokatalizy, „zielonej chemii” i dziedzin pokrewnych.

Oceniając merytoryczną stronę pracy doktorskiej brano pod uwagę następujące kryteria: oryginalność badań i ich nowatorski charakter, trafność wyboru problemu badawczego, metodologię postępowania, dobór wykorzystanych metod czy technik badawczych, jak i również poprawność interpretacji wyników oraz dyskusji z uwzględnieniem aktualnego stanu wiedzy. Ważny element oceny stanowi efektywność zrealizowanego celu badań, jak również użyteczny charakter pracy. Istotny, aczkolwiek dodatkowy, aspekt oceny stanowiły ponadto osiągnięcia naukowe Pani mgr inż. Magdaleny Markiton.

Reakcja Baeyera-Villigera jest znana od ponad 100 lat. Dzięki jej zastosowaniu wytwarza się wiele cennych produktów z grupy *fine chemicals*. Polega na utlenianiu cyklicznych i acyklicznych ketonów do odpowiednich laktonów lub estrów. Jako czynniki utleniające w tej reakcji stosuje się m.in. nadtlenek wodoru oraz wodoronadtlenki alkilowe, jednak utleniaczami najczęściej stosowanymi w reakcji Baeyera-Villigera (BV) są nadkwasy organiczne. Stwarzają one liczne problemy użytkowe

ze względu na wysoką reaktywność oraz ograniczoną stabilność. Niedogodności te mogą zostać wyeliminowane poprzez wprowadzenie biokatalizatorów. Zastosowanie wyselekcjonowanych enzymów w reakcji utleniania BV umożliwiło otrzymanie najwyższych wydajności (powyżej 99%) oraz czystości enancjomerycznych (ca. 99%) produktów. Biokatalizatory wykorzystywane w enzymatycznej reakcji Baeyera-Villigera to przede wszystkim monooksygenazy. Niestety reakcja prowadzona w obecności białek katalitycznych ma również istotne wady (stosowanie kofaktora, trudności z wydzielaniem z układu reakcyjnego, obniżenie aktywności i stabilności w środowisku organicznym), co powoduje, że w ostatnich latach prowadzone są badania nad wykorzystaniem biokatalizatorów o wyższej stabilności. W reakcji chemo-enzymatycznej, bo o niej mowa, czynnikiem utleniającym jest także nadkwas organiczny, ale jest on generowany *in situ* w obecności biokatalizatora. W pierwszym etapie reakcji estry bądź kwasy karboksylowe o długich lub średnich łańcuchach alkilowych ulegają utlenieniu za pomocą nadtlenu wodoru do nadkwasów w wyniku katalizy enzymatycznej, następnie świeżo utworzony nadkwas zużywa się w procesie utleniania ketonów do laktonów. Jako biokatalizator stosuje się powszechnie znany enzym przemysłowy, tj. lipazę typu B pochodzącą z grzyba z gatunku *Candida antarctica*. Dzięki takiemu rozwiązaniu unika się operacji z niestabilnymi nadkwasami. W reakcjach chemo-enzymatycznych najczęściej stosuje się lipazę immobilizowaną na stałych nośnikach (polimerach organicznych – żywicy akrylowej, czy nieorganicznych – krzemionce). Najpowszechniejszym komercyjnie dostępnym i powszechnie stosowanym katalizatorem jest Novozym<sup>®</sup>435, który jest znacznie tańszy od monooksygenazy cykloheksanonu (klasyczna reakcja enzymatyczna BV). Poszukuje się także nowych nośników, enzymów czy ich modyfikatorów.

Utlenianie cyklicznych ketonów do laktonów jest szczególnie ważne ze względu na ich olbrzymie znacznie użytkowe. Mają one bowiem właściwości sensoryczne, są stosowane w przemyśle spożywczym i kosmetycznym. Niewątpliwie ich rola w wytwarzaniu cennych materiałów chemicznych jest także warta podkreślenia. Na przykład biodegradowalny polimer, poli( $\epsilon$ -karplakton) – PCL – produkt polimeryzacji z otwarciem pierścienia  $\epsilon$ -kaprolaktanu, jest powszechnie stosowany w kontrolowanym uwalnianiu leków, wytwarzaniu implantów czy rusztowań (z ang. *tissue engineering*) metodami druku 3D czy alternatywnymi.

Poszukuje się zatem nowych sposobów otrzymywania laktonów z zastosowaniem reakcji Baeyera-Villigera, stosując zarówno klasyczną katalizę, jak i enzymatyczną.

Kluczowe zagadnienia z ww. obszarów są domeną ocenianej pracy, co świadczy o aktualności problemu badawczego, jak i umiejętności doboru tematyki badawczej, celem poszerzenia wiedzy w ujęciu poznawczym, ale co istotniejsze z punktu widzenia rozwoju technologicznego, także

użytecznym. O znaczeniu wyżej nakreślonych kierunków badań świadczą dane statystyczne zaczerpnięte z bazy SCOPUS, z dn. 17.08.2018 r. I tak dla poszczególnych obszarów tematycznych wynoszą one odpowiednio: *chemo-enzymatic Baeyer–Villiger reaction* – 398, *lactones* – 171 034, *cyclic ketones oxidation* – 37 169, *lipase B Candida antarctica* – 11 460, *acidic catalysis* – 129 209, *enzymatic catalysis* – 175 586, *ionic liquids* – 45 652.

Oceniana rozprawa doktorska została przedstawiona na 167 stronach maszynopisu w języku angielskim. Pierwszy element pracy stanowią *Spis treści* oraz *Objaśnienia skrótów i symboli*. Dalsze rozdziały to *Cel i zakres badań*, *Omówienie literatury przedmiotu* oraz *Rezultaty i dyskusja*. Następnie Doktorantka zawarła *Podsumowania i wnioski* oraz *Część eksperymentalną*. Taki układ pracy jest typowy dla chemii organicznej czy technologii organicznej. Całość pracy wieńczą: *Literatura* (piśmiennictwo stanowi 201 aktualnych pozycji publikacyjnych i monograficznych, czy danych technicznych), *Spis materiałów* oraz *Osiągnięcia naukowe*. Oceniana rozprawa zawiera 33 schematy, 42 rysunki i 38 tabel. Jest estetycznie zredagowana, co przyczynia się do bardzo efektywnej absorpcji materiału przez czytelnika.

W części literaturowej dysertacji doktorskiej, Pani mgr inż. Magdalena Markiton przedstawiła, w syntetyczny sposób, aktualny stan wiedzy z obszaru właściwości i kierunków zastosowania laktonów, jak i znaczenia reakcji Baeyera-Villigera w utlenianiu cyklicznych ketonów celem wytworzenia laktonów (uwzględniając mechanizm reakcji, wskazując zalety i ograniczenia, podkreślając rodzaje katalizatorów). Fragment części literaturowej opisujący stosowane procesy katalizacyjne w utlenianiu Baeyera-Villigera z nadtlaniem wodoru uznaję za bardzo wartościowy. Autorka pracy zwróciła uwagę na realizowanie reakcji BV w obecności katalizatorów generujących nadkwasę *in situ* (organiczne związki selenu, katalizatory z udziałem metali i nitryli, enzymy), kompleksów metaloorganicznych (kompleksy Pt czy Ru, kompleksy V na nośnikach zeolitowych) metali przejściowych (krzemiany tytanu i tlenki metali przejściowych), kwasów Lewisa (katalizatory na bazie cyny, chlorki metali, trifluorometanosulfoniany metali) oraz Brønsteda (ciecze jonowe, katalizatory z ugrupowaniami sulfonowymi i heteropolikwasy). Zagadnienie to zostało opublikowane w polskojęzycznym czasopiśmie. Mimo, że czasopismo *Przemysł Chemiczny* cenię, to uważam, że ten materiał mógłby stanowić *minireview* o bardziej istotnym oddziaływaniu. Z kolei, znając obszary działań przemysłu chemicznego, m.in. Grupy Azoty, informacje zawarte w tym artykule przeglądowym mogą nieść czy niosą także pewną wartość dodaną.

Dalszy element części literaturowej pracy Pani mgr inż. Magdalena Markiton dedykowała wiadomościom z zakresu chemo-enzymatycznego utleniania Baeyera-Villigera. Opisano przykładowy mechanizm utleniania cyklicznych ketonów prowadzony z zastosowaniem tej

efektywnej metody. Autorka ponadto wspomniała o autokatalitycznym sposobie syntezy laktonów z użyciem lipazy – powszechnie stosowanym biokatalizatorze w wielu zastosowaniach przemysłowych (komercyjna nazwa handlowa najpopularniejszego preparatu immobilizowanej lipazy to Novozym®435). Relatywnie nowym sposobem realizowania reakcji chemo-enzymatycznego utleniania ketonów jest prowadzenie procesu w środowisku cieczy jonowych – jako stabilizatora enzymu. Bardzo ciekawe jest zestawienie tabelaryczne utleniania 2-metylocykloheksanonu czy cykloheksanonu w reakcji chemo-enzymatycznej BV. Podsumowując tę część pracy Autorka dysertacji wskazała na kierunki rozwoju tej metody, jak i istniejące wyzwania/ograniczenia (m.in. konieczność poprawy stabilności biokatalizatora, oraz problemy z jego powtórny/wielokrotnym użyciem).

Pani mgr inż. Magdalena Markinton zdefiniowała nadrzędny cel pracy jako rozwój metody Baeyera-Villigera utleniania cyklicznych ketonów do laktonów w obecności nadtlenu wodoru. Do osiągnięcia sukcesu opracowano nowe układy katalityczne działające efektywnie w określonych warunkach procesowych, również w medium wodnym. Zaproponowano więc pięć strategicznych sposobów syntezy laktonów. Realizowano utlenianie Baeyera-Villigera w obecności katalizatorów kwasowych – chlorogalowych cieczy jonowych, trifluorometanosulfonianu galu(III) szczepionego z nośnikiem krzemionkowym czy katalitycznych centrów galu osadzonych na złożu krzemionkowym, alternatywnie prowadzono syntezę katalizowaną enzymatycznie. Jako biokatalizator wykorzystano lipazę typu B z *Candida antarctica* immobilizowaną na wielościennych nanorurkach węglowych (MWCNTs). Finalnie, zweryfikowano potencjał użytkowy nowo opracowanego sposobu chemo-enzymatycznego utleniania Baeyera-Villigera w testach przemysłowych.

Nie opisując szczegółowo niekwestionowanych i bardzo wartościowych dokonań naukowych Doktorantki, w opinii przedstawię tylko najważniejsze osiągnięcia, a także otwarte kwestie badawcze i dyskusyjne.

Przyprowadzając testy aktywności katalitycznej z zastosowaniem wybranych chlorków metali w modelowej reakcji utleniania Baeyera-Villigera 2-adamanantanonu wykazano bardzo dużą efektywność chlorku galu(III). Dodatkowo proces katalityczny BV realizowano stosując chlorki metali i wprowadzając jednocześnie chlorogalowe cieczy jonowe w obecności 30-proc. nadtlenu wodoru. Uzyskano przez to dualny układ katalityczno-rozpuszczalnikowy o zdefiniowanych silnych właściwościach kwasowych Lewisa, stanowiący ciekawą alternatywę do różnych zastosowań. Taki sposób syntezy zapewnia dużą wszechstronność w ilościowym generowaniu laktonów w czasie od 1 do 120 min. Zaproponowany sposób, obok wielu cech pozytywnych, ma istotną wadę związaną z problemami izolowania/wydzielania cieczy jonowych. Jest to niestety częsty przypadek gdy jako medium reakcyjne stosuje się „zielone rozpuszczalniki” w oparciu o *ILs*. Zaproponowano więc nowe

katalizatory heterogenne na bazie galu. Prekursor centrów aktywnych stanowił trifluorometanosulfonian galu(III). Wytworzono dwa systemy katalityczne typu Ga(OTf)<sub>3</sub>-SiO<sub>2</sub> oraz Ga-SiO<sub>2</sub>. Dla obu układów otrzymano zadowalające parametry procesowe i wydajności utleniania 2-adamanantanonu (przykładowo dla Ga-SiO<sub>2</sub> – 20 min czas reakcji, możliwość 5-krotnego zawrotu katalizatora).

W następnych testach sprawdzono aktywność katalityczną triflatów licznych metali tj. Ag(I), Li(I), Sn(II), Sc(II), Zn(II), Yt(II), Al(III), Ga(III), In(III) oraz La(III), w modelowej reakcji utleniania 2-adamanantanonu stosując H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Najkorzystniejszym pod względem aktywności okazał się układ triflatu cyny(II). Natomiast po fizycznym zimmobilizowaniu triflatu cyny(II) na nośniku w postaci wielościennych nanorurek węglowych znacznie zwiększono stabilność układu katalitycznego. Warto wspomnieć o homogenicznym naniesieniu nanocząstek trifluorometanosulfonianu cyny(II), co udowodniono dokonując obserwacji mikroskopowych (TEM). Wykazano wysoką aktywność dla ilości 0,26 % mol katalizatora (stosując Sn(OTf)<sub>2</sub>) przy pełnym stopniu konwersji 2-adamanantanonu w czasie 20 min, przy zastosowaniu 60-proc. nadtlenu wodoru w temp. 90 °C lub w nieco dłuższym czasie 60 min. ale w korzystniejszych warunkach termodynamicznych (70 °C). Układ katalityczny wykazywał akceptowalną aktywność dla 5 cykli.

Drugi nurt badań, jak już wzmiankowano w opinii, dotyczył prac nad rozwojem metody chemo-enzymatycznego utleniania Baeyera-Villigera ketonów cyklicznych. Jak wiadomo, reakcja ta polega na utlenianiu kwasów karboksylowych w środowisku nadtlenu wodoru jako głównego utleniacza w obecności enzymów, które efektywnie katalizują syntezę nadkwasów *in situ*, jako czynników utleniających ketony do laktonów.

Pani mgr inż. Magdalena Markiton dokonała immobilizacji lipazy typu B z *Candida antarctica* na MWCNTs celem przetestowania biokatalizatora w modelowej reakcji chemo-enzymatycznego utleniania BV 2-metylocykloheksanonu. Kwas oktanowy był użyty jako prekursor nadkwasu i 30-proc. roztwór H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w dwukrotnym nadmiarze w odniesieniu do nadkwasu. Reakcje prowadzono w środowisku organicznym (toluen). 6-Metylo-ε-kaprolakton otrzymano ilościowo w czasie 10 h w temp. 20 °C i w czasie 3 h w 40 °C. Układ z lipazą zimmobilizowaną na wielościennych nanorurkach węglowych wykazuje wysoką stabilność w temp. 20 °C i można go wielokrotnie stosować (max. 5 razy) bez utraty aktywności. Na podstawie testów TGA i TEM pośrednio udowodniono, że enzym (w czasie kolejnych cykli procesowych) ulegał deaktywacji na skutek sił mechanicznych czy warunków utleniających. Podsumowując ten etap pracy, wykazano dużą wszechstronność i uniwersalność chemo-enzymatycznego procesu, który jest niewątpliwie bardziej przyjazny środowisku i bezpieczniejszy w ujęciu techniczno-technologicznym.

Najważniejszym osiągnięciem, z punktu widzenia rozwoju technologii chemicznej, jest podjęcie się trudnego i ambitnego wyzwania implementacji osiągniętych rezultatów do praktyki przemysłowej. Doktorantka zastosowała wyżej opisany układ biokatalityczny do pro-ekologicznej syntezy  $\epsilon$ -kaprolaktonu z cykloheksanonu i nadtlenu wodoru. Prace te realizowano, we współpracy z wiodącym producentem chemikaliów – Grupą Azoty – Zakłady Azotowe Puławy, w ramach projektu INNOCHEM finansowanego przez NCBiR. Wyniki przeprowadzonych testów przemysłowych wydają się być bardzo obiecujące.

Do zrealizowanego istotnego celu naukowego i utylitarnego, jak i ambitnych zadań Pani mgr inż. Magdalena Markiton zastosowała niezbędne metody i techniki.

Praca została zredagowana bardzo poprawnie, a jej szata graficzna jest godna pochwały.

Generalnie dysertacja doktorska zawiera nieliczne błędy edytorskie czy stylistyczne, których znaczenie można pominąć. Pozwolę sobie jednak wskazać kilka kwestii dyskusyjnych czy problematycznych, a wynikają one z obowiązków recenzenta i dają pośrednio dowód na zapoznanie się z pracą:

1. Jakie było kryterium doboru tak specyficznego (mimo wszystko) nośnika enzymu jak MWCNTs? Czy Autorka rozprawy brała pod uwagę także zanieczyszczenia tego rodzaju nośników, jak i aspekty ekonomiczne?
2. Na str. 13 pracy widnieje dwa razy enancjomer R, a z tekstu wynika, że któryś musi być enancjomerem S (wg mojej wiedzy enancjomer R jest obecny np. w brzoskwiniach).
3. Autorka nie zawsze odnosi się w tekście do przedstawionych rysunków/schematów. Nie jest to kwestia kluczowa niemniej jednak proszę w przyszłości zwrócić na ten fakt baczniejszą uwagę.
4. Str. 29. We fragmencie opisu kompleksów platyny wskazane byłyby pełne nazwy, gdyż posługiwanie się symbolami „a, b, c” jest trochę mylące, zwłaszcza przy rzeczowej analizie. Ponadto cytowana literatura przedmiotu (poz. 68) nie podaje nazw tych kompleksów.
5. Analizując dane zawarte w tabeli 19 nasuwa się pytanie: z czym może być związany fakt, że rzeczywisty stosunek Ga:SiO<sub>2</sub> po procesie jest dużo niższy niż użyta wyjściowa ilość reagentów?
6. Na stronie 87 pomyłono numer rysunku.
7. Str. 94. Mam pewne wątpliwości co do zasady przeprowadzenia procesu "regeneracji katalizatora". Nie jest to zbyt szczegółowo opisane, a samo naniesienie nowej porcji katalizatora, bez wcześniejszego wymycia/usunięcia starego jest mylące, bo tak na prawdę mamy wówczas do czynienia z dodatkiem nowej porcji substancji aktywnej, a nie regeneracją całego katalizatora.

8. Rezultaty zademonstrowane na rys. 41 nie wskazują jednoznacznie polepszenie stabilności termicznej enzymu. W wyższych temperaturach enzymu nie da się właściwie wykorzystać kilkakrotnie. Być może immobilizacja jest mało efektywna (oddziaływania fizyczne) i w podwyższonej temperaturze enzym ulega znacznemu wymyciu.

Aktywność naukowa Pani mgr inż. Magdaleny Markiton wyrażona jest w postaci dziewięciu opublikowanych prac, w tym 8 bezpośrednio związanych z tematyką dysertacji doktorskiej. Doktorantka opublikowała swoje dokonania m.in. w tak prestiżowych czasopismach jak: *New J. Chem., Appl. Catal. Gen. A, ACS Sustainable Chem. Eng., RSC Adv.* Są to czasopisma o dużym współczynniku wpływu. O oryginalności tematu badawczego świadczy aktywność wynalazcza Autorki pracy doktorskiej, jest ona współtwórczynią 1 patentu oraz 4 zgłoszeń wynalazków. Doktorantka brała czynny udział w realizacji 4 projektów. Dwa z nich był finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, jeden przez NCBiR i jeden przez wiodącą firmę chemiczną – Grupę Azoty – Zakłady Azotowe Puławy SA. Pani mgr inż. Magdaleny Markiton odbyła także dwa staże: przemysłowy LosenTech sp. z o.o. oraz naukowy Queen's Ionic Liquid Laboratories, Queen's University of Belfast – wiodący ośrodek naukowy i grupa badawcza z liderem światowego formatu – prof. K.R. Seddonem. Wartym uznania jest także zakres działalności związany z czynnym udziałem Doktorantki w prezentacjach osiągnięć zarówno w formie komunikatów ustnych, jak i posterów. Warto nadmienić, że Pani Magdalena Markiton była wielokrotnie wyróżniana, co pośrednio świadczy o Jej dużym potencjale naukowym.

Chciałbym zaznaczyć istotny wkład Pani mgr inż. Magdaleny Markiton w rozwój technologii chemicznej organicznej i dziedzin pokrewnych. Sposób zaplanowania eksperymentów, zrealizowania badań, jak i forma przedstawienia oryginalnych wyników oraz ich wnikliwa i rzeczowa analiza, świadczą o niekwestionowanych, wysokich kompetencjach naukowo-badawczych Autorki rozprawy i są niepodważalnym dowodem Jej wysokiego poziomu przygotowania do prowadzenia badań naukowych czy pracy w jednostkach działalności gospodarczej.

**Na podstawie oceny pracy doktorskiej Pani mgr inż. Magdaleny Markiton zatytułowanej „*Studies on the Baeyer-Villiger oxidation of cyclic ketones to lactones with hydrogen peroxide*” jednoznacznie stwierdzam, że recenzowana rozprawa spełnia wszystkie wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku „o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule naukowym w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65, poz. 595 z 16.04.2003 r., wraz z późniejszymi**

zmianami), wnioskuję ponadto do Wysokiej Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej o przyjęcie pracy i przeprowadzenie dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę niepodważalny wkład w rozwój uprawianej przez Panią Magdalенę Markiton dziedziny naukowej, wyróżniający dorobek naukowy oraz wynalazczy, jak i wykazaną aktywność w pracochłonnej i szczególnie trudnej implementacji otrzymanych rezultatów do gospodarki, stawiam wniosek o wyróżnienie dysertacji.

