



Poznański Park
Naukowo-Technologiczny

Poznański Park
Naukowo-Technologiczny

ul. Rubież 46
61-612 Poznań
T +48 61 827 97 00
E ppnt@ppnt.poznan.pl



Biznes
Innowacja
Technologia
Nauka

Poznań, 26.09.2022 r.

dr hab. inż. Marcin Śmiglak
Zespół Syntez Materiałowych
Poznański Park Naukowo-Technologiczny
Fundacja Uniwersytetu im. A. Mickiewicza
Ul. Rubież 46
61-612 Poznań

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Darii Szymaniak pt. „Czwartorzędowe sole amoniowe jako auksyny”.

Promotor pracy: Prof. dr hab. inż. Juliusz Pernak

Rozprawa doktorska mgr inż. Darii Szymaniak wykonana pod kierunkiem Prof. dr hab. inż. Juliusza Pernaka – promotora pracy, dotyczy badań nad syntezą, właściwościami i zastosowaniem czwartorzędowych soli amoniowych oraz podwójnych cieczy jonowych, zawierających aniony pochodzenia zarówno naturalnego jak i syntetycznego o właściwościach auksynowych.

W ramach pracy Doktorantka otrzymała i zbadała kilkadziesiąt nowych cieczy jonowych, mono- oraz dikationowych, których aniony bazowały na auksynach syntetycznych i naturalnych. Badane związki opierały się na anionach takich kwasów jak 3,6-dichloro-2-metoksybenzoesowy (dikamba), 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (2,4-D) czy trans-cynamonowy i Ltryptofen. Opracowano metodę otrzymywania dibromków bis-amoniowych, różniących się między sobą długością mostka łączącego czwartorzędowe atomy azotu jak i również długością podstawników alkilowych. W wyniku reakcji metatezy, przeprowadzonej zarówno w sposób klasyczny jak i z wykorzystaniem żywicy jonowymiennej, Doktorantka otrzymała kilkanaście podwójnych cieczy jonowych z takimi anionami jak anion trans-cynamonianowy, 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy oraz L-tryptofanianowy. Wszystkie przygotowane związki zostały zbadane pod kątem ich właściwości fizykochemicznych, jak i również spektroskopowo i chromatograficznie w celu potwierdzenia budowy soli. W ostatnim etapie prac badawczych, otrzymane cieczy jonowe zostały sprawdzone w szeregu testów biologicznych, w celu określenia ich aktywności auksynowej, zarówno hamującej jak i promującej wzrost roślin.

Rozprawa doktorska została przedłożona w formie oprawionej monografii. Praca jest tematycznie związana z tytułem rozprawy. Rozprawa obejmuje 133 strony, 38 rysunków oraz 20 tabel. Spis literatury zawiera 168 pozycji. Praca składa się ze spisu treści (3 strony), wprowadzenia (1 strona), przeglądu literatury (26 stron),

celu pracy (1 strona), części doświadczalnej (14 stron), omówienia wyników (53 strony), podsumowania i wniosków (6 stron), odnośników literaturowych (15 stron), streszczeń w języku polskich jak i angielskim (8 stron) oraz wykazu dorobku naukowego Doktorantki (1 strona).

Przegląd literaturowy podzielony jest na 3 zasadnicze części bezpośrednio związane z tematem pracy doktorskiej. Rozpoczyna się od charakterystyki auksyn, zaczynając od ich historii, następnie przedstawiając naturalne pochodne, które są używane jako środki ochrony roślin. W kolejnej części Autorka poświęca uwagę czwartorzędowym solom amoniowym, po krótko przedstawiając ich historię, definicję oraz budowę. Przedstawiona została korelacja pomiędzy budową soli, a ich właściwościami biologicznymi, przytaczając odpowiednią literaturę. Następnie, kontynuując temat Doktorantka wprowadza pojęcie cieczy jonowych, wskazując na wyjątkowość właściwości fizycznych takich związków, m.in. temperatura topnienia poniżej 100° C, a po krótkim wstępie historycznym następuje opis z podziałem cieczy jonowych na różne ich generacje ze względu na pełnione przez nie funkcje. Najbardziej wnikliwie Autorka opisuje dotychczasowe doniesienia literaturowe wskazujące na właściwości biologiczne ILS, takie jak antybakteryjność czy grzybobójczość zarówno mono- jak i dikationowych soli amoniowych. Doktorantka analizuje również ciecze jonowe pod względem ich budowy chemicznej, a wynikających z niej aktywności biologicznej. W końcowej części tego podrozdziału pojawia się charakterystyka specjalnej grupy cieczy jonowych, mianowicie herbicydowe ciecze jonowe, z którymi przemysł rolniczy wiąże duże nadzieje ze względu na ich wysoki stopień projektowalności, znikomą lotność oraz wyższą aktywność przeciwko chwastom, w porównaniu do handlowych herbicydów. W ostatniej części wstępu teoretycznego Doktorantka opisuje syntetyczne auksyny w kontekście ich zastosowania w procesie otrzymywania cieczy jonowych. Scharakteryzowane zostały właściwości biologiczne takich związków, w których anion odpowiadał syntetycznej soli auksyny, np. pikloram, bentazon, bromoksynil czy fomesafen.

Analizując całość przedłożonego wstępu teoretycznego odnoszę wrażenie, że jest on dość chaotycznie przedstawiony. Moim zdaniem to rozdział o cieczach jonowych powinien pojawić się jako pierwszy, a dopiero następnie powinno zostać wprowadzone pojęcie auksyn, tym bardziej, iż to część poświęcona związkom jonowym jest najbardziej obszerna i liczy 12 stron, w porównaniu do opisu auksyn, który znajduje się na 8 stronach pracy. Obecne przedstawienie przeglądu literatury momentami zdaje się być zlepkiem dużej ilości informacji, dotyczących różnego rodzaju aktywności biologicznej związków zarówno na bazie auksyn syntetycznych jak i również klasycznych cieczy jonowych. Uważam, iż przedstawienie w formie tabeli, wszystkich opisywanych przez Autorkę przykładów zdecydowanie ułatwiłoby czytanie oraz porównywanie opisywanych informacji. Dodatkowo sądzę, iż wskazanym uzupełnieniem wstępu teoretycznego byłoby zaprezentowanie metod syntezy charakteryzowanych przez Doktorantkę związków, biorąc pod uwagę fakt, iż etap syntetyczny jest dużą częścią doświadczalną przedłożonej rozprawy doktorskiej.

Podsumowując stwierdzam, że wstęp teoretyczny pracy został merytorycznie dobrze opracowany, pomimo uwag przedstawionych przeze mnie powyżej. Obszerna liczba zacytowanych pozycji literaturowych jednoznacznie wskazuje na duże zaangażowanie Autorki w przygotowanie tej części pracy. Zebrane i przedstawione informacje są ważnym uzupełnieniem części eksperymentalnej, przez co są niezbędne do poprawnego opisanie uzyskanych wyników badań oraz ich dyskusji w następnych rozdziałach rozprawy doktorskiej.

Celem pracy była synteza czwartorzędowych soli amoniowych oraz podwójnych cieczy jonowych, zawierających aniony zarówno pochodzenia naturalnego jak i syntetycznego o aktywności auksynowej. W ramach współpracy z dwoma krajowymi ośrodkami badawczymi przeprowadzono również badania aktywności chwastobójczej otrzymanych związków oraz ich wpływ na wzrost, plon i skład substancji mikro- i makroelementów roślin uprawnych (na przykładzie sałaty). W tym miejscu chciałbym zapytać Doktorantkę o hipotezę jej pracy badawczej? W tym krótkim, jednostronicowym opisie celu pracy nie została przedstawiona jednoznacznie hipoteza, do udowodnienia której Autorka rozprawy powinna dążyć.

Część przedłożonej pracy doktorskiej, dotycząca omówienia wyników badań została przez Doktorantkę podzielona na trzy główne sekcje. Pierwsza z nich dotyczy związków acetylocholinozylu z anionami pochodzącymi od kwasów o właściwościach herbicydowych. Omówienie syntezy Autorka rozpoczyna od przedstawienia i krótkiej dyskusji wydajności poszczególnych reakcji metatezy, postulując, iż niższe wydajności związane są z procesem oczyszczania otrzymanych związków z produktu ubocznego jakim był chlorek sodowy lub potasowy. Następnie, przy wykorzystaniu spektroskopii NMR przeprowadzona zostaje dokładna analiza struktur cieczy jonowych. W kolejnym podrozdziale omawiane zostają właściwości termiczne soli amoniowych, tj. analiza wyników skaningowej kalorymetrii różnicowej oraz analiza termogravimetryczna. Doktorantka pisze „Syntezowane ILs **2**, **5** i **7** charakteryzują się niższymi temperaturami topnienia i krystalizacji i w przeciwieństwie do swoich prekursorów, ulegają zeszkleniu.” – w tabeli 5, do której nawiązuje przytoczone zdanie, zawarte są jedynie informacje na temat temperatury zeszklenia i krystalizacji, nie ma natomiast informacji dotyczących temperatury topnienia. Skoro przedstawione są temperatury, w których otrzymane związki krystalizują, a będąc precyzyjnym, jedna temperatura krystalizacji, zasadnym byłoby przedstawienie również temp. topnienia, tym bardziej, iż w przytoczonym zdaniu Autorka przedstawia wnioski wyciągnięte z analizy DSC. W kolejnej części omawianego rozdziału, Doktorantka skupia się na właściwościach fizycznych czwartorzędowych soli, tj. lepkości, gęstości oraz współczynnika refrakcji. Otrzymane wyniki, poparte są poprawnymi wnioskami, opierającymi się na różnicach w budowie chemicznej anionów otrzymanych cieczy jonowych, które zgadzają się z wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi na temat omawianych właściwości fizycznych. W dwóch kolejnych, krótkich podrozdziałach, przedstawione zostają analizy wyników rozpuszczalności oraz aktywności powierzchniowej soli acetylocholinozylu. Ostatnią

badaną właściwością była aktywność herbicydowa pochodnych acetylocholin. Do przeprowadzenia tego testu Doktorantka wykorzystwała samosiew rzepaku. Wysoka redukcji świeżej masy badanych roślin wskazuje na wysoką aktywność chwastobójczą, znacznie przewyższając wartości otrzymane dla próbek kontrolnych, do których wykorzystano komercyjnie dostępne środki. Następnie autorka pracy omawia uzyskane wyniki w porównaniu do obojętnych związków, ponadto wskazując na bardzo ważną informację, mianowicie możliwość stosowania otrzymanych przez nią związków w znacznie mniejszych ilościach aniżeli tych komercyjnie dostępnych. Podsumowując uważam, iż przedstawiony rozdział poświęcony nowym pochodnym acetylocholin jest poprawnie opisany, zawierając wszystkie najważniejsze analizy właściwości zarówno fizycznych jak i chemicznych.

W drugiej części omówienia wyników Doktorantka zajmuje się tematem dikationowych cieczy jonowych. W wyniku optymalizacji reakcji czwartorzędowania, otrzymano kilkanaście cieczy jonowych z wydajnościami powyżej 95%. Wszystkie otrzymane związki różnią się między sobą długością łańcucha węglowego, łączącego atomu azotu, pochodzącymi od trzeciorzędowych amin. Analizując zależności właściwości termicznych otrzymanych bromków, Autorka słusznie zauważyła spadek wartości temperatury topnienia, wraz z wydłużeniem łączącego mostka węglowego. W celu potwierdzenia aktywności powierzchniowej podwójnych dibromków, wykonano badania aktywności powierzchniowej oraz kątu zwilżania. Z otrzymanych wyników badań, Doktorantka poprawnie wnioskuje, iż napięcie powierzchniowe ulegało zmniejszeniu wraz ze wzrostem stężenia soli w roztworach wodnych. Ponadto, wraz ze wzrostem długości łańcucha węglowego, kąt zwilżania również ulega zwiększeniu. W kolejnej części Autorka omawia syntezę podwójnych cieczy jonowych z anionem trans-cynamonianowym oraz z anionem MCPA. Otrzymując w pierwszym etapie potasowe sole kwasów odpowiadających wcześniej wspomnianym anionom, dibromki uległy reakcji metatezy, dzięki której otrzymano podwójne ciecze jonowe zawierające oba aniony. Grupa nowo otrzymanych związków została scharakteryzowana przy pomocy protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego, jak i również wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Ta druga metoda pozwoliła na dokładne określenie stosunków molowych anionów. Uważam, że w tym miejscu warto zapytać o pozostałości nieorganicznej soli. Doktorantka opisuje, iż wykorzystwała metodę ekstrakcji rozpuszczalnikowej, w której bromek potasu rozpuszcza się w wodzie, a otrzymane sole w fazie organicznej. Jednak na potwierdzenie skuteczności zastosowanej metody należałoby przeprowadzić analizę chromatografii jonowej, w celu potwierdzenia nieobecności zarówno jonów potasowych jak i bromkowych. Wykonane analizy termiczne dla omawianych w tej części recenzji związków, jednoznacznie wskazują na ich ciekły stan skupienia, w których wartość temperatury zeszklenia malała wraz z wydłużeniem podstawnika alkilowego w kationie bis-amoniowym. W przypadku analizy termogravimetrycznej wykazano, iż otrzymane podwójne ciecze jonowe nie ulegają rozpadowi w temperaturze poniżej 190 °C, a Doktorantka poprawnie wnioskuje, iż

stabilność termiczną związków jonowych głównie determinują aniony. W kolejnych podrozdziałach Autorka przedstawia wyniki badań właściwości fizycznych soli, tj. rozpuszczalności, aktywności powierzchniowej. Względem rozpuszczalności w najważniejszych rozpuszczalnikach w badaniach aplikacyjnych Autorki, otrzymane sole bardzo dobrze rozpuszczają się w rozpuszczalnikach protonowych polarnych, tj. wodzie i metanolu. Przeprowadzenie kwasów organicznych, odpowiadających anionom, w postaci jonową zwiększyło ich powinowactwo do wody, w przypadku MCPA ponad 400-krotnie. Wpływ anionów na wartości napięcia powierzchniowego oraz kąta zwilżania, wykonana w porównaniu do wcześniej otrzymanych dibromków. Otrzymane wyniki wskazują, na możliwość modyfikacji aktywności powierzchniowej cieczy jonowych poprzez odpowiedni dobór anionów. Wszystkie DSILs miały niższe wartości napięcia powierzchniowego aniżeli ich dibromkowe odpowiedniki. W przypadku analizy kąta zwilżania otrzymanych związków, zaobserwowano taką samą zależność jak w przypadku soli dibromkowych. Ostatnim podrozdziałem omawiających dikationowe sole, jest aktywność chwastobójcza. Jako rośliny testowe Autorka wykorzystywała komosę białą oraz rzepak. Otrzymane wyniki badań szklarniowych wskazują, iż wszystkie aplikowane podwójne sole powodują 3-krotnie wyższą redukcję świeżej masy rzepaku, w porównaniu do komercyjnie dostępnego herbicydu. Dodatkowo, odnosząc wyniki badań bezpośrednio do produktu Chwastox 300SL, Doktorantka wykazała, iż otrzymane przez nią substancje przewyższają go w swojej skuteczności, zarówno w przypadku komosy białej jak i rzepaku. Wyciągnięto więc poprawne wnioski, które pozwalają zakwalifikować otrzymane sole jako podwójne herbicydowe ciecze jonowe.

W kolejnej części tego rozdziału Autorka omawia ciecze jonowe zawierające anion L-tryptofanianowy oraz MCPA. Struktura tego segmentu pracy jest analogiczna do poprzednich dwóch recenzowanych części. Zaczynając od syntezy, Doktorantka przeprowadziła najpierw sole dibromkowe w formę wodorotlenków, z wykorzystaniem żywicy jonowymiennej, a następnie w wyniku reakcji kwas-zasada otrzymała nowe podwójne ciecze jonowe. Zarówno analiza NMR jak i HPLC potwierdziła skuteczność metody otrzymywania cieczy jonowych. Kolejno opisywana analiza termiczna określiła wartości temperatur zeszklenia cieczy jonowych, a analiza termogravimetryczna wykazała, iż związki te są stabilne termicznie poniżej temperatury 131 °C. Wyniki testu rozpuszczalności potwierdziły dobrą rozpuszczalność w polarnych rozpuszczalnikach, takich jak woda czy metanol. Dopełnieniem badania właściwości fizycznych nowo otrzymanych związków jest podrozdział poświęcony aktywności powierzchniowej, w którym Autorka wnioskuje, iż uzyskane wyniki pozwalają uważać te związki jako aktywne powierzchniowo. Zamykającą częścią tego segmentu jest określenie aktywności chwastobójczej na podstawie badań szklarniowych, dla komosy białej i rzepaku. Otrzymane wyniki są analogiczne do tych przedstawionych wcześniej, mianowicie, że przeprowadzenie kwasu w postaci jonową powoduje zwiększenie skuteczności chwastobójczej.

Podsumowując obszerny rozdział poświęcony cieczom jonowym, zawierającym jonowe odpowiedniki kwasów herbicydowych, stwierdzam, iż jest on napisany dokładnie i poprawnie. W tym miejscu chciałbym zapytać Doktorantkę o porównanie zarówno właściwości fizykochemicznych, jak i tych chwastobójczych soli monokationowych, z anionem pochodzenia herbicydowego, względem tych opisywanych przez Doktorantkę, posiadających dwa różne takie aniony. Zakładam oczywiście, że aktywność chwastobójcza jest lepsza w przypadku dikationowych soli, jednak brakuje mi tutaj swoistego porównania, dzięki któremu wybrzmiałoby ważność przeprowadzonych przez Autorkę badań.

Ostatni rozdział badawczy opisuje aminokwasowe ciecze jonowe, zawierające anion L-Tryptofanianowy. W pierwszej kolejności przedstawiona jest dwuetapowa synteza, gdzie najpierw przeprowadzono sól halogenkową w formę wodorotlenek, z wykorzystaniem żywicy jonowymiennej, a następnie w wyniku reakcji kwas-zasada otrzymano aminokwasowe ciecze jonowe. Jako źródła kationów wykorzystano dwie grupy, tetralakiloamoniowe chlorki i bromki oraz prekursorzy zawierające grupy benzytowe, hydroksyetylowe lub alkilowe długołańcuchowe. Wszystkie otrzymane związki charakteryzują się temperaturą topnienia poniżej 100 °C, z wyjątkiem trzech, które przekraczają tę wartość o około 30 °C. Doktorantka dobrze wnioskuje, iż ze względu na wysoką podatność tryptofanu na degradację oksydacyjną, aminokwasowe ciecze jonowe są mało stabilne chemicznie. Aby zapobiec rozpadowi, związki przechowywane były w specjalnym eksykatorze próżniowym. Na koniec, w celu potwierdzenia struktur chemicznych otrzymanych związków wykonano analizę NMR. Dyskutując o otrzymanych wynikach z analiz termicznych, Autorka dobrze je interpretuje, powołując się na przykłady z literatury. Chcąc sprawdzić stabilność chemiczną aminokwasowych cieczy jonowych, przeprowadzono test, którego rezultaty obserwowano z wykorzystaniem protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego. Jedna z badanych próbek została poddana warunkom stresowym, tj. dostęp światła i tlenu oraz podwyższona temperatura. Test wykonano w odniesieniu do L-tryptofanu, który jest stabilny chemicznie w warunkach przeprowadzonego doświadczenia. W przypadku analogicznego testu dla cieczy jonowej stwierdzono zmniejszoną stabilność chemiczną, wnioskując, iż forma jonowa aminokwasu powoduje obniżenie stabilności chemicznej związku. W następnej części Autorka przedstawia uzyskane wyniki rozpuszczalności AAILs, które wykazały, iż wszystkie związki są rozpuszczalne nie tylko w wodzie i metanolu, ale także i w acetonie i DMSO. Analizując uzyskane wyniki aktywności powierzchniowej stwierdzono, iż wydłużenie podstawników alkilowych w kationie, rozpuszczalność produktów w wodzie zmniejszyła się, co nie wpłynęło jednak na zdolność do obniżania napięcia powierzchniowego. Jako ostatnią część Doktorantka opisuje aktywność biologiczną aminokwasowych cieczy jonowych, przeprowadzając testy na sałacie gatunku *Lactuca sativa* L. Najpierw wyznaczono optymalne stężenie badanych związków, ponieważ w zbyt niskich lub wysokich stężeniach mogą one albo stymulować wzrost roślin albo działać fitotoksycznie. Stosując tak wyznaczone optymalne stężenie udowodniono wzrost

plonu sałaty o kilkanaście procent względem roztworu referencyjnego. Jako ostatni etap części doświadczalnej, Doktorantka sprawdziła stopień modyfikacji składu chemicznego roślin. Wyniki te potwierdzają pozytywny wpływ AAILs na zawartość mikroelementów w sałacie.

Ostatnim rozdziałem recenzowanej rozprawy doktorskiej jest podsumowanie i wnioski otrzymanych wyników badań. Ta część pracy przedstawiona jest od punktów i skupia się najpierw na podsumowaniu części syntetycznej przeprowadzonych prac, następnie na przedstawieniu zależności właściwości fizykochemicznych. Na końcu przedstawione są obserwacje i wnioski dotyczące aktywności herbicydowej wszystkich otrzymanych związków. Otrzymane przez Doktorantkę ciecze jonowe, które powstawały w wyniku odpowiedniego doboru budowy chemicznej kationów i anionów, pozwoliły wykazać, iż komercyjnie dostępne produkty charakteryzują się słabszymi właściwościami chwastobójczymi, aniżeli ich jonowe odpowiedniki.

Z powinności recenzenta, chciałbym jeszcze poruszyć kilka drobnych kwestii. Nie wiem, czy Autorka była ograniczona ilością stron w rozprawie doktorskiej, ale zdecydowanie brakuje mi w niej graficznego przedstawienia wszystkich struktur chemicznych otrzymanych związków. Zdaję sobie sprawę, iż są one dostępne w aneksie pracy, natomiast użytkowanie tego aneksu jest mało praktyczne, gdyż znajduje się on na zewnętrznym nośniku, co z kolei uniemożliwia szybkie odszukiwanie poszukiwanych treści. O ile rozumiem zawieranie wszystkich widm NMR w takim aneksie, tak zamieszczanie tam wzorów struktur chemicznych jest dla mnie nowością, która zdecydowanie nie ułatwia czytania pracy.

Podsumowując, praca została napisana dobrze, poprawnie opracowana edytorsko i graficznie. W pracy znajdują się drobne błędy edytorskie, które nie mają jednak wpływu na wartość merytoryczną pracy i na moją pozytywną opinię o pracy.

O zaangażowaniu Doktorantki w przedstawioną tematykę pracy świadczą opublikowane prace naukowe (6) w dobrych czasopismach chemicznych. Wartę uwagi jest natomiast to, iż w 5 z nich Doktorantka jest pierwszym autorem. Równie imponujący jest dorobek patentów Autorki, która ma na swoim koncie 8 polskich patentów i 8 zgłoszeń patentowych. Bardzo dobrym dorobkiem może się również pochwalić, jeśli chodzi o prezentowanie swoich wyników badań na konferencjach zarówno krajowych jak i międzynarodowych. Doktorantka była też wykonawcą w 3 różnych projektach naukowych, a kierownikiem jednego.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr Darii Szymaniak w pełni spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce. Wnioskuje do Rady Naukowej Dyscypliny Politechniki Poznańskiej w Poznaniu o dopuszczenie mgr Darii Szymaniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.