

Prof. dr hab. inż. Maciej Sitarz
Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
Katedra Chemii Krzemianów i Związków Wielkocząsteczkowych
30-059 Kraków
Al. Mickiewicza 30

Kraków 29.04.2019

OCENA
rozprawy doktorskiej mgr Aleksandry Korzeniowskiej
„Nanostrukturalne materiały porowate jako katalizatory oraz nośniki leków w
medycynie i ochronie środowiska”
opracowana na zlecenie Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego

1. Charakterystyka pracy

Przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Aleksandry Korzeniowskiej dotyczy badań związanych z otrzymywaniem i wykorzystaniem dwuwymiarowych zeolitów do konstrukcji katalizatorów oraz jako nośników wybranych leków. W dzisiejszych czasach trudno jest przecenić znaczenie zeolitów i to zarówno z naukowego jak i utylitarnego punktu widzenia. Liczba prac naukowych poświęconych otrzymywaniu, badaniom zeolitów oraz możliwości ich różnorodnego wykorzystania jest ogromna, choć i tak słowo to nie oddaje chyba wystarczająco zainteresowania tą grupą glinokrzemianów. Równie ważny, a może i ważniejszy jest fakt iż w ślad za badaniami naukowymi idzie ich praktyczne wykorzystanie. Pomimo ogromu istniejących prac naukowych zainteresowanie zeolitami stale rośnie i związane jest z ich unikalnymi właściwościami stwarzającymi ogromne możliwości ich szerokiego, praktycznego wykorzystania. Właściwości zeolitów wynikają oczywiście z ich specyficznej budowy, której cechą charakterystyczną jest obecności dużych wolnych przestrzeni oraz systemu kanałów. Obecność systemu kanałów, których rozmiary wahają się od ok. 2 do 30 Å (materiały nanoporowate), decyduje w głównej mierze o specyficznych własnościach zeolitów. Oczywiście niebagatelny wpływ na własności zeolitów ma oczywiście również ich skład chemiczny, a w głównej mierze tzw. moduł krzemowy czyli stosunek Si/Al, który determinuje ich trwałość termiczną, własności powierzchniowe, zdolności jonowymienne oraz tzw. kwasowość.

Tak więc, opracowanie metod pozwalających na otrzymywanie zeolitów o z góry zaprogramowanej „architekturze” (rozmiary kanałów, komór itp.) oraz module krzemowym pozwala na projektowanie (często już na etapie syntezy) nowych materiałów o własnościach wynikających z ich przeznaczenia.

Paradoksalnie tak charakterystyczna dla zeolitów „architektura” i wynikająca stąd nanoporowatość, która determinuje większość ich własności, jest też często ich największą wadą. Wynika to z ograniczeń geometrycznych tj. braku dostępu dużych cząstek do centr aktywnych znajdujących się w większości wewnątrz kanałów. Stąd też podejmowane są liczne badania mające na celu modyfikacje porowatości zeolitów tak aby doprowadzić do skrócenia ścieżki dyfuzji reagentów np. poprzez utworzenie wtórnego systemu mezoporów. Opracowano wiele meto pozwalających modyfikować porowatość zeolitów bez utraty własności katalitycznych ale ze względu na ich skomplikowanie i inne liczne ograniczenia praktycznie nie wyszły one jeszcze poza mury laboratoriów.

Mając to wszystko na uwadze Autorka stwierdziła, że antidotum na wspomniane powyżej problemy może być wykorzystanie tzw. dwuwymiarowych (warstwowych) zeolitów, w których centra aktywne (w zdecydowanej większości) znajdują się na powierzchni warstwy lub tuż pod nią. Gwarantuje to radykalne skrócenie ścieżki dyfuzji reagentów i powinno wyeliminować lub przynajmniej ograniczyć wady klasycznych zeolitów.

Ocenianą rozprawę należy zliczyć do gatunku obszernych jeżeli chodzi o objętość, gdyż łącznie z aneksem i informacjami dotyczącymi dorobku naukowego Autorki obejmuje aż 215 stron.

2. Ocena merytoryczna pracy

W pierwszym (poza streszczeniami) rozdziale rozprawy Doktorantka precyzyjnie przedstawiła cel pracy, którym było zbadanie potencjału nowej klasy zeolitów dwuwymiarowych w katalizie oraz systemach kontrolowanego uwalniania leków. Rozdział ten przedstawia również motywacje którymi kierowała się Autorka przy wyborze wspomnianych materiałów.

W kolejnym bardzo obszernym rozdziale („Część literaturowa”), składającym się z 4 podrozdziałów przedstawiono analizę literatury związanej z tematyką pracy. Autorka uwzględniła aż 271 pozycji literaturowych opublikowanych głównie po 2010 roku. Tak duża liczba cytowanych prac oraz ich „świeżość” świadczy zarówno o aktualności podjętej tematyki jak i dogłębnym jej poznaniu przez Doktorantkę. W pierwszej części tego rozdziału Autorka skupiła się na opisie budowy klasycznych (trójwymiarowych) zeolitów oraz wynikających stąd właściwości determinujących możliwości ich zastosowania. Poznanie budowy tych minerałów ma kluczowe znaczenie przede wszystkim dla zrozumienia mechanizmów sorpcji, desorpcji, własności katalitycznych itp. ale również pozwala uświadomić sobie ograniczenia wynikające z istnienia w zeolitach trwałego systemu dobrze zdefiniowanych pod względem geometrycznym systemu kanałów. Przedstawiony w dalszej

części rozdziału szczegółowy opis budowy i własności zeolitów warstwowych oraz innych materiałów porowatych pozwala łatwo zrozumieć powody którymi kierowała się Autorka przy wyborze poszczególnych materiałów oraz metod ich modyfikacji.

Kolejny najobszerniejszy rozdział („Cześć doświadczalna. Wyniki i dyskusja”), składający się z 12 podrozdziałów, stanowi zasadniczą część rozprawy i podzielony jest na dwie części, z których pierwsza dotyczy wykorzystania zeolitów warstwowych w katalizie, a druga wykorzystaniu materiałów mikro i mezoporowatych w systemach kontrolowanego uwalniania leków.

Pierwsze podrozdziały tej części rozprawy doktorskiej poświęcone są optymalizacji warunków otrzymywania warstwowego zeolitu MCM-56, o jak najlepszych z punktu widzenia katalizy własnościach fizyko-chemicznych. Pomimo istniejącej na ten temat literatury oraz bogatego doświadczenia zespołu w którym pracuje Doktorantka, zadanie nie jest proste gdyż wpływ na końcowy produkt ma wiele parametrów w tym przede wszystkim rodzaj i ilość użytych prekursorów. Pożądany zeolit MCM-56 jest produktem przejściowym w związku z czym niemniej istotnym parametrem decydującymi o sukcesie syntezy jest czas jej prowadzenia. Mając to na uwadze Autorka w pierwszej kolejności podjęła się korelacji wpływu rodzaju użytego prekursora oraz czasu trwania syntezy na jakość uzyskiwanego materiału. Przeprowadzone badania struktury (XRD, MIR) oraz mikrostruktury (SEM, BET) a także testy własności katalitycznych pozwoliły na wytypowanie optymalnych warunków syntezy. Na tej podstawie do dalszych eksperymentów wybrano materiał otrzymywany na bazie aerosilu. W celu modyfikacji porowatości otrzymanych materiałów zdecydowano się na wprowadzenie (częściowe) aniliny w miejsce heksametylenoiminy. Przesłanką do tego były dane literaturowe, które wskazują na znacznie większą rozpuszczalność aniliny, co powinno prowadzić do lepszego jej zlokalizowania pomiędzy poszczególnymi warstwami zeolitu i w konsekwencji wyeliminować niepożądaną ich kondensację. Na podstawie badań struktury i mikrostruktury Autorka stwierdziła, że udało się uzyskać niejako hybrydowe materiały łączące zalety zeolitów warstwowych (wysoka powierzchnia zewnętrzna, dostępność centrów kwasowych) oraz zeolitów trójwymiarowych (zwiększone stężenie centrów kwasowych). Przeprowadzone testy katalityczne wykazały pozytywny wpływ aniliny na własności katalityczne otrzymywanych materiałów jednakże nie rozwiązało to dostatecznie problemu dostępności centr aktywnych. W związku z czym podjęto dalsze prace mające na celu jak najlepsze rozdzielenie warstw syntezowanych zeolitów dwuwymiarowych. Autorka zaproponowała post-syntetyczną modyfikację zeolitu poprzez interkalację podpórkami SiO₂. Przeprowadzone jak poprzednio badania struktury i mikrostruktury zmodyfikowanego

materiału wykazały, że proces interkalacji doprowadził do otrzymania podpórkowanego amorficzną krzemionką dwuwymiarowego zeolitu z dodatkowym systemem mezoporów międzywarstwowych. Powstały system mezoporów, pomimo znacznego zmniejszenia (o ok. 30%) całkowitej kwasowości ma korzystny wpływ na własności katalityczne zeolitu w związku ze wzrostem dostępności centr aktywnych ale przede wszystkim z ułatwieniem transportu do nich reagentów.

Kolejnym etapem pracy były badania nad otrzymywaniem katalizatorów wykorzystujących własności katalityczne tytanu. Katalizatory tytanowe są niezmiernie korzystne zwłaszcza z ekologicznego punktu widzenia gdyż jedynym produktem ubocznym podczas katalizy jest woda. W związku z czym stale poszukuje się nowych tego typu katalizatorów. Obecnie stosowany komercyjnie tytanokrzemianowy (TS-1) katalizator posiada ograniczenia geometryczne wynikające z istnienia w jego mikrostrukturze wąskich porów, co praktycznie wyklucza prowadzenie katalizy reakcji z udziałem związków o dużych cząsteczkach. Mając to na uwadze Doktorantka zaproponowała przeprowadzenie postsyntetycznej modyfikacji otrzymanych zeolitów warstwowych MCM-56 poprzez wprowadzenie jonów tytanu w miejsce jonów glinu. Zeolity te idealnie nadają się do zaproponowanej wymiany gdyż na powierzchni ich warstw istnieją specyficzne centra glinowe („piramidalne”), które mogą być stosunkowo łatwo zastępowane przez jony tytanu. Obecność aktywnych jonów tytanu na powierzchni warstw powinna zapewnić brak znaczących ograniczeń geometrycznych przy katalizie związków o dużych cząsteczkach. Wprowadzenie jonów tytanu wymaga wcześniejszego przeprowadzenia procesu dealuminacji, który odbywa się zazwyczaj z użyciem mocnych kwasów (tu HNO_3). Przeprowadzając szereg testów Autorka udowodniła kluczową rolę heksametylenoiminy w procesie selektywnej dealuminacji jonów glinu wyłącznie z powierzchni warstw zeolitu. Po zoptymalizowaniu procesu do najlepszego, z punktu widzenia własności fizyko-chemicznych, materiału wprowadzono jony tytanu używając różnych ilości izopropanolanu tytanu. Przeprowadzone badania strukturalne (XRD, MIR, UV-Vis) oraz mikrostruktury (BET) jednoznacznie wykazały, że zaproponowana metoda pozwala na otrzymanie tytanokrzemianowego zeolitu. Z kolei testy katalityczne z udziałem cząstek o dużych rozmiarach wykazały, że otrzymany materiał może być z powodzeniem stosowany do utleniania związków organicznych nadtlenkiem wodoru, a jego przewaga nad podobnymi katalizatorami wynika z braku negatywnego wpływu obecnych centr kwasowych Bronsteda na własności katalityczne.

Druga część rozprawy doktorskiej poświęcona jest otrzymywaniu, modyfikacjom oraz zastosowaniu materiałów mikro i mezoporowatych w systemach kontrolowanego uwalniania

leków. Odpowiednio dobrane materiały porowate cieszą się stale rosnącym zainteresowaniem z punktu widzenia nośników leków. Zainteresowaniem to związane jest z ich korzystnymi własnościami fizyko-chemicznymi tj. przede wszystkim: duża pojemność sorpcyjna, wysoka powierzchnia właściwa, nietoksyczność oraz stabilność termiczna i chemiczna. Własności te wynikają w głównej mierze z ich specyficznej mikrostruktury charakteryzującej się obecnością dobrze zdefiniowanych porów. Autorka skupiła się głównie na opisie wzajemnego oddziaływania poszczególnych leków i wybranych nośników. Do badań wybrano leki (piracetam, cyprofloksacyna) różniące się kształtem, geometrią oraz własnościami fizyko-chemicznymi. Leki te różnią się diametralnie (poza chemią) przede wszystkim rozmiarami i rozpuszczalnością - piracetam jest modelową cząsteczką o stosunkowo małych rozmiarach i bardzo dobrej rozpuszczalności, a cyprofloksacyna charakteryzuje się dużymi rozmiarami cząsteczek i jest praktycznie nierozpuszczalna w wodzie. Zarówno brak rozpuszczalności jak i nadmierna rozpuszczalność w wodzie jest niekorzystna z punktu widzenia terapeutycznego działania leków. Autorka stwierdziła, że rozwiązaniem tego problemu może być wykorzystanie porowatych materiałów nośnikowych, które pozwolą na regulację rozpuszczalności, poprzez stopniowe uwalnianie (spowolnienie - piracetam) lub modyfikację leku w wyniku silnego oddziaływania z nośnikiem (przyśpieszenie - cyprofloksacyna).

Przy doborze materiałów nośnikowych kierowano się przede wszystkim istnieniem systemu porów o odpowiedniej średnicy oraz możliwością ich regulacji. Do badań wytypowano trzy materiały - SBA-15, ZSM-55 i MCM-22 różniące się geometrią kanałów. W pierwszej kolejności zdecydowano się na wykorzystanie mezoporowatych materiałów krzemionkowych typu SBA-15. Wybór tego materiału podyktowany był przede wszystkim istnieniem systemu porów o stosunkowo dużych średnicach oraz możliwością ich stosunkowo prostej modyfikacji już na etapie syntezy poprzez regulację temperatury krystalizacji. Przeprowadzone badania struktury i mikrostruktury materiałów SBA-15 otrzymanych w różnych temperaturach pozwoliły stwierdzić, że otrzymano całą gamę mezoporowatych materiałów o systematycznie zmieniającej się porowatości. Otrzymane materiały posłużyły jako nośniki leków (piracetam, cyprofloksacyna) o różnej geometrii cząstek. Szczegółowe badania spektroskopowe (MIR) oraz niskotemperaturowej adsorpcji azotu pozwoliły stwierdzić, że wprowadzona do porów cyprofloksacyna jest w postaci amorficznej i silnie oddziałuje z nośnikiem, co daje nadzieję na poprawę jej rozpuszczalności. Przeprowadzone testy uwalniania wykazały, że silna interakcja cyprofloksacyny z nośnikiem poprawia jej biodostępność poprzez wzrost jej rozpuszczalności wynikający ze zmiany formy występowania leku.

Identyczne eksperymenty przeprowadzono w stosunku do piracetamu. Również w tym przypadku wykazano silne oddziaływanie leku z nośnikiem, co skutkuje w tym wypadku pożądanym spowolnieniem jego uwalniania.

Kolejnym materiałem testowanym jako nośnik leków był wąskoporowaty borokrzemian ZSM-55. Również w tym wypadku głównym powodem wyboru tego materiału była możliwość stosunkowo łatwej regulacji porów poprzez upęcznie i podpórkowanie. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że na bazie tego borokrzemianu, poprzez zaproponowaną obróbkę post-syntetyczną można otrzymać ciekawe nośniki leków o wysokiej powierzchni właściwej i niewielkiej średnicy porów (poniżej 3 nm). Przeprowadzone testy uwalniania piracetamu wskazują na silne oddziaływanie leku z nośnikiem, co gwarantuje opóźnienie jego uwalniania. Spowolnienie uwalniania wynika głównie z upakowania piracetamu pomiędzy warstwami zeolitu, które zapadają się stopniowo podczas uwalniania leku. Ze względu na niewielki rozmiar porów nośnik ten nie nadaje się do wprowadzania cyprofloksacyny (ograniczenia geometryczne).

Ostatnim testowanym materiałem był zeolit FeMCM-22, którego wybór podyktowany był możliwością łatwej regulacji porów poprzez upęcznie i podpórkowanie oraz obecnością jonów żelaza, które powinny przyspieszać produkcję czerwonych ciałek krwi. Obecność paramagnetycznego żelaza może pozwolić również na wykorzystanie nośnika jako kontrastu do obrazowania w tomografii MRI. Podobnie jak w poprzednim przypadku wykazano duży potencjał nośnika FeMCM-22 do kontrolowanego uwalniania piracetamu oraz brak takich możliwości w przypadku cyprofloksacyny (ograniczenia geometryczne). W tym wypadku spowolnienie uwalniania piracetamu wynika z oddziaływań pomiędzy centrami typu Bronsteda i Lewisa nośnika a cząsteczkami leku.

Oczywiście warunkiem użycia danego materiału jako nośnika leków jest również brak toksyczności oraz negatywnego wpływu na żywotność komórek. W związku z czym przeprowadzono badania *in vitro* na modelowych liniach komórkowych, które wykazały, że zarówno zeolit ZSM-55 jak i materiały mezoporowate (SBA-15) mogą być potencjalnie nośnikami leków.

Oceniając całość pracy należy stwierdzić, że stanowi ona bardzo oryginalne podejście do opisu struktury i mikrostruktury oraz wpływu różnych czynników na własności materiałów zeolitowych. Sposób przedstawienia wyników badań oraz ich interpretacja wskazują na bardzo dobre przygotowanie Doktorantki zarówno w zakresie chemii jak i biologii. Z przedstawionymi wynikami badań trudno dyskutować, zwłaszcza, że większość z nich została już poddana obiektywnej recenzji i ukazała się w formie artykułów. O jakości tych badań

niezbicie świadczy poziom naukowy czasopism w których zostały opublikowane jak pojawiające się już cytowania.

Recenzowano prace, jak każda tego typu praca, zawiera oczywiście kilka drobnych wad i niezręcznych sformułowań, które podzieliłbym na dwie grupy tj. usterki edytorskie i gramatyczne oraz uwagi polemiczne.

Usterki edytorskie i gramatyczne dotyczą przede wszystkim tzw. literówek, których nie jest dużo, oraz błędów gramatycznych, które wynikają w moim przekonaniu z poprawiania wcześniej napisanego tekstu.

Z poważniejszych uwag merytorycznych i polemicznych wymienię następujące:

- W pracy brak jest czasami w tekście odnośników do rysunków (rys. nr 1, 3, 4, 13, 21, 33, 34, 104, 105), co utrudnia czytanie pracy.

- Ogólna uwaga dotycząca rysunków przedstawiających zestawienia widm MIR - Autorka często nie opisuje pozycji poszczególnych pasm (nawet tych interpretowanych) i czytelnikowi naprawdę jest bardzo trudno ustalić które pasmo jest interpretowane, zwłaszcza że niekiedy zmiany są subtelne.

- Przy charakterystyce zeolitów Autorka powołuje się na jednostki PBU zapinając zupełnie o jednostkach SBU. Uważam, że użycie klasyfikacji zeolitów na podstawie jednostek SBU pozwoliłoby uniknąć kilku niezręcznych sformułowań dotyczących pierścieni glinokrzemotlenowych obecnych w strukturze poszczególnych zeolitów – np. strona 39 „.....zbudowanych z 10-członowych porów...”

- W pracy używane jest pojęcie tetraedrów glinowych i krzemowych – powinno się używać określenia krzemotlenowe i glinotlenowe.

- W pracy powtarza się pewna niekonsekwencja w posługiwaniu się terminami atom i jon. Krzemiany zazwyczaj traktuje się jako struktury jonowe dlatego też w całej pracy należałoby używać określenia jony krzemu, jony glinu itd.

- Strona 21. „Z kolei pirydyna.....powoduje powstanie pasma.....” Nie wolno traktować widm jak obrazków. Pirydyna na pewno nie powoduje powstanie pasma - wprowadzenie pirydyny powoduje powstanie określonych wiązań czego skutkiem jest pojawienie się pasma.

- Strona 21. Użyte są sformułowania częstotliwość – powinno być częstość oraz wibracjami a powinno być oscylacjami. Na tej samej stronie jest stwierdzenie, że zakres $500-700\text{cm}^{-1}$ to zakres drgań sieciowych – w literaturze nazywa się go raczej zakresem drgań pseudosieciowych.

- W pracy często mylone jest pojęcie struktury i mikrostruktury. Chciałbym usłyszeć jak Doktorantka rozumie te pojęcia.

- Strona 25. (i w kilku innych miejscach pracy) mamy stwierdzenie, że zeolity to struktury trójwymiarowe połączone wiązaniami kowalencyjnymi. Nie mogę się w pełni zgodzić z tym stwierdzeniem gdyż jonowość wiązań Si-O będących podstawą struktury zeolitów to ok. 50%, więc są to mocno spolaryzowane wiązania jonowo-kowalencyjne. Dlatego też, tak jak już wspominałem wcześniej, zeolity często traktuje się jak struktury jonowe.
- Strona 47. Błąd w numeracji rysunku 25 w tekście.
- Strona 71. „...obecność obniżenia...” W rentgenografii podniesienie tła nazywa się amorficznym halo.
- Strona 75. Zdjęcia SEM na rys. 41 są trudne do interpretacji z powodu niewidocznej skali.
- Strona 85. Ostatni wniosek. Mam wrażenie, że w jednym zdaniu Doktorantka sama sobie zaprzecza.
- Strona 100. Czy podane zawartości jonów tytanu w próbach są teoretyczne czy rzeczywiste?
- Przy analizie obecności TiO_2 w próbkach wskazane by było wykonanie pomiarów ramanowskich.
- Strona 114. Autorka stwierdza, że do badań wybrano zeolity ZSM-55 i MCM-56 a w dalszym opisie jest zeolit MCM-55?
- Strona 118. Pisząc o dyfraktogramach Autorka używa pojęcia pasma. Na dyfraktogramach są refleksy a nie pasma.
- Strona 137. „...zbadano jej dyfraktogram” Chyba raczej zanalizowano.
- Strona 143. Błąd podpisu na rysunku 91. W podpisie jest ZMS-55 a na rysunku ZSM-5.
- Strona 150. „...pasma przy ok. 4400 cm^{-1} ...” Ma być 3400 cm^{-1} .
- Nie znalazłem w tekście wytłumaczenia dlaczego testów *in vitro* nie przeprowadzono dla zeolitu Fe-MCM-22?
- Mam ogólne pytanie dotyczące syntez poszczególnych zeolitów, a mianowicie jaka jest ich powtarzalność?
- I najzabawniejsza uwaga. W aneksie na stronie 165 znalazłem pytania w odniesieniu do odczynników – czyj?, jaka?, czystość? i czyje? Jeżeli mają to być pytania do recenzenta to muszę rozczarować – nie mam pojęcia.....

Wymienione przeze mnie drobne potknięcia w żadnym stopniu nie umniejszają mojej bardzo wysokiej oceny recenzowanej pracy.

Na koniec chciałbym podkreślić moje wielkie uznanie dla zdolności Pani mgr Aleksandry Korzeniowskiej do logicznego zaplanowania badań jak i zdolności manualnych przy wykonywaniu wielu skomplikowanych eksperymentów.

3. Wniosek końcowy

Opiniowana praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim przez ustawę z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595) i na tej podstawie wnioskuję o dopuszczenie mgr Aleksandry Korzeniowskiej do publicznej obrony rozprawy przed Radą Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Simon Nowak