

Warszawa, 31.08.2017 r.

Prof. dr hab. Jacek Michalik
Instytut Chemii i Techniki Jądrowej
ul. Dorodna 16, 03-195 Warszawa

Recenzja pracy doktorskiej
mgr Kamili Sobańskiej

**Reaktywne formy tlenu w układach heterogenicznych – oddziaływanie H_2O_2
z powierzchnią amorficznych tlenków metali przejściowych grup IV i V**

Reaktywne formy tlenu (ROS) odgrywają istotną rolę w procesach chemicznych i biologicznych. Udział rodników hydroksylowych, nadtlenkowych, anionorodnika ponadtlenkowego, a także nadtlenu wodoru w uszkodzeniach oksydacyjnych DNA, białek czy kwasów tłuszczowych w komórkach jest dobrze udokumentowany. Stres oksydacyjny wywołany zakłóceniem równowagi między stężeniem ROS a stężeniem antyoksydantów prowadzi do szeregu zmian w komórkach powodujących choroby nowotworowe i neurodegeneracyjne, takie jak choroba Parkinsona czy Alzheimer. Zmiany te wpływają także na procesy starzenia. Reaktywne formy tlenu pełnią w organizmie również pozytywną rolę jako przekaźniki i sygnalizatory w procesach wzmacniania odpowiedzi immunologicznej, programowanej śmierci komórek czy uruchamiania reakcji organizmu na szok termiczny i promieniowanie jonizujące.

Reakcje rodnikowe z udziałem ROS mają istotne znaczenie w wielu procesach radiacyjnych, a przede wszystkim w radiolizie wody i roztworów wodnych. Stanowią także produkty pośrednie licznych reakcji chemicznych, zwłaszcza fotochemicznych i katalitycznych. Mechanizmy tych reakcji często nie są w pełni poznane ze względu na ich złożoność i krótki czas życia ROS. Dodatkowo w katalizie heterogenicznej reakcje powstawania i przekształceń ROS wyraźnie zależą od natury powierzchni katalizatora.

Reaktywne formy tlenu, przede wszystkim rodniki hydroksylowe i tlen singletowy, mają olbrzymie znaczenie dla stabilizacji warstwy ozonowej. W ciągu dnia chemia atmosfery jest zdominowana przez reakcje rodnika $\cdot OH$.

Przytoczone powyżej przykłady dobitnie potwierdzają wagę tematyki podjętej przez doktorantkę.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr Kamili Sobańskiej została wykonana pod kierownictwem prof. dr hab. Zbigniewa Sojki na wydziale Chemii UJ w Krakowie. Przedmiotem pracy jest badanie rozkładu nadtlenu wodoru na powierzchni amorficznych tlenków metali przejściowych – niobu, tantalu, cyrkonu i hafnu. Tlenki te nie wykazują

własności redoksowych, dzięki którym rozkład H_2O_2 zachodzi według mechanizmu Fentona z utworzeniem reaktywnych form tlenu (ROS).

Cel pracy został jasno sprecyzowany jako poznanie mechanizmów tworzenia ROS na powierzchni badanych tlenków w wyniku rozkładu H_2O_2 , a w szczególności określenie roli procesów elektroprotocnych zachodzących na granicy ciało stałe – ciecz. Prace prowadzono w szerokim zakresie badając wpływ różnych czynników, takich jak stopień krystaliczności tlenków czy pH roztworu na wydajność reaktywnych form tlenu oraz kinetykę rozkładu H_2O_2 .

Wybór tematyki jest trafny nie tylko dlatego, że mechanizm rozkładu nadtlenu wodoru na materiałach nie wykazujących własności redoksowych jest dotąd słabo poznany, ale ponieważ ma ona także istotne znaczenie poznawcze poszerzając ogólną wiedzę o roli rodnikowych produktów przejściowych w reakcjach na granicy faz.

Rozprawa liczy 146 stron i jest uzupełniona dwoma aneksami i obszerną bibliografią zawierającą 192 pozycje literaturowe. Na część literaturową rozprawy składają się 3 rozdziały poświęcone kolejno nadtlenu wodoru, reaktywnym formom tlenu oraz aktywności tlenków metali w tworzeniu ROS. W pierwszym z nich autorka przedstawia strukturę i własności H_2O_2 oraz szczegółowo opisuje reakcje Fentona i rozkład nadtlenu wodoru na układach redoksowych zawierających kationy ceru, chromu, manganu i rutenu. Rozdział kończą doniesienia literaturowe dotyczące rozkładu H_2O_2 na tlenkach nieredoksowych oraz roli nadtlenu wodoru w procesach komórkowych i zastosowaniach H_2O_2 w chemii.

Rozdział „*Reaktywne formy tlenu*” stanowi najobszerniejszy fragment części literaturowej. Doktorantka przedstawia w nim strukturę elektronową i właściwości chemiczne badanych form reaktywnego tlenu, a także metody chemiczne i spektroskopowe ich identyfikacji, oraz omawia ich rolę w chemii katalitycznej, ochronie środowiska i układach biologicznych. Zabrakło mi w tej części odniesienia do chemii radiacyjnej, zwłaszcza roztworów wodnych, w której reaktywne formy tlenu odgrywają kluczową rolę. W dozymetrii chemicznej podstawową metodą oznaczania dawki promieniowania jonizującego jest dozymetr Frickego, w którym oznacza się spektrofotometrycznie stężenie jonów Fe^{3+} powstających w wyniku radiacyjnego utleniania roztworu siarczanu żelazawego przez rodniki $\cdot OH$ i nadtlenek wodoru. Szkoda również, że wśród odnośników literaturowych nie znalazła się książka „*Druga twarz tlenu – wolne rodniki w przyrodzie*” (PWN wydanie drugie 2003) prof. Grzegorza Bartosza z Uniwersytetu Łódzkiego. Książka, przeznaczona przede wszystkim dla biologów, jest ciekawie napisana i godna polecenia wszystkim zajmującym się wolnymi rodnikami.

Tytuł następnego rozdziału „*Tlenki aktywne w rozkładzie i tworzeniu ROS*” sugeruje, że jego główną treścią będzie opis specyficznych cech tych tlenków decydujących o ich aktywności. W rzeczywistości autorka przedstawia w nim strukturę i metody otrzymywania amorficznych tlenków oraz właściwości redoks tlenków krystalicznych w oparciu o położenie pasm walencyjnych i przewodnictwa. Według mnie w tym miejscu powinno się znaleźć więcej informacji o centrach i grupach aktywnych na powierzchni oraz absorpcji i przekształceniach cząsteczek oddziałujących z powierzchnią. Jako przykład mógłby posłużyć mechanizm fotokatalitycznego rozkładu wody np. na TiO_2 . Wspominam o tym, bo jestem przekonany, że praca odnosi się do dużo szerszej tematyki niż przedstawia to autorka. Otrzymywanie wodoru w wyniku fotokatalitycznego rozkładu wody to tylko jeden z aspektów tego zagadnienia. Powszechnie akceptowany obecnie pogląd o kluczowej roli rodników hydroksylowych i formylowych w powstawaniu złożonych związków węglowych w kosmosie dobrze ilustruje, moim zdaniem, znaczenie reakcji rodnikowych na powierzchni ciał stałych. Rodniki te tworzą się w gęstych obłokach międzygwiazdnych w wyniku oddziaływania UV i promieniowania kosmicznego z cząsteczkami lodu kosmicznego.

Badania własne doktorantki są przedstawione w 5 rozdziałach, z których dwa pierwsze zawierają krótki opis syntezy amorficznych tlenków oraz metodyki pomiarów EPR, Ramana, UV-VIS i innych. Podstawy teoretyczne głównych metod spektroskopowych stosowanych w pracy autorka przejrzyście opisała w Aneksie. Różnorodność metod eksperymentalnych stosowanych w pracy jest imponująca. Analiza morfologii, stopnia krystaliczności i jednorodności próbek została przeprowadzona w oparciu o wyniki dyfrakcji rentgenowskiej oraz skaningowej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Procesy dehydratacji i dehydroksylacji próbek w podwyższonych temperaturach były badane termograwimetrycznie. Identyfikację ROS na powierzchni tlenków prowadzono przy pomocy spektroskopii EPR. Pomiary EPR były wykonywane zarówno klasyczną techniką fali ciągłej w paśmie X jak i pulsową techniką Hyscore w 40 K. Rodniki stabilizowane na powierzchni tlenków były rejestrowane bezpośrednio techniką EPR, natomiast rodniki powstające w roztworze pośrednio z wykorzystaniem techniki pułapkowania spinowego. Pomiary Ramana służyły identyfikacji powierzchniowych grup O_2^- , badaniu kinetyki rozkładu H_2O_2 oraz ocenie krystaliczności próbek. Przy pomocy rentgenowskiej spektroskopii fotoelektronów (XPS) oraz termograwimetrii z analizą produktów gazowych (TG-QMS) zidentyfikowano zaadsorbowane formy tlenowe i powierzchniowe grupy hydroksylowe.

Wykorzystanie tak wielu różnorodnych metod w celu wszechstronnego scharakteryzowania badanych tlenków uważam za istotne osiągnięcie mgr Kamili Sobańskiej, które pozwoliło pewniej stawiać hipotezy badawcze i wyciągać konkretne wnioski.

Następne rozdziały dotyczące tworzenia reaktywnych form tlenu na powierzchni tlenków oraz wpływu pH na te procesy stanowią najważniejszą część rozprawy. Wnioski, które autorka sprecyzowała w oparciu o wyniki przedstawione w tych rozdziałach wnoszą istotne, nowe informacje dla pełnego poznania zachodzących procesów. I tak, na podstawie wyników pomiarów XPS oraz termograwimetrii z analizą produktów gazowych metodą QMS doktorantka wykazała, że w wyniku oddziaływania nadtlenu wodoru z powierzchnią amorficznych tlenków tworzą się reaktywne formy tlenu. Rodniki ponadtlenkowe zostały zidentyfikowane na podstawie pomiarów EPR, natomiast grupy nadtlenkowe, O_2^- przy pomocy pomiarów Ramana. Parametry hamiltonianu spinowego obliczone w oparciu o symulowane widma EPR anionorodnika O_2^- pozwoliły ustalić charakter wiązania O_2^- z centrum metalicznym na powierzchni badanych tlenków. W przypadku ZrO_2 i HfO_2 rodniki są stabilizowane elektrostatycznie, natomiast dla Nb_2O_5 i Ta_2O_5 wartości hamiltonianu są pośrednie między wartościami charakterystycznymi dla wiązania elektrostatycznego i kowalencyjnego. Autorka badała ROS nie tylko na powierzchni tlenków, ale również w fazie ciekłej przy użyciu techniki pułapkowania spinowego. Takie podejście eksperymentalne z pewnością zasługuje na podkreślenie, ponieważ stworzyło możliwość pełnego scharakteryzowania zmian zachodzących w układzie katalitycznym. Dominującą formą reaktywnego tlenu w roztworze dla wszystkich badanych tlenków są rodniki hydroksylowe, ale pomiary zawiesiny fazy stałej techniką pułapkowania spinowego wykazały istotne różnice dla poszczególnych tlenków. Rodniki O_2^- na powierzchni tlenków niobu i tantalum są zdolne do dysocjacji i przejścia do roztworu, natomiast wiązanie rodników ponadtlenkowych na powierzchni tlenków cyrkonu i hafnu jest znacznie mocniejsze uniemożliwiając taki proces.

Doktorantka w przekonujący sposób udokumentowała rolę grup hydroksylowych w tworzeniu rodników ponadtlenkowych na powierzchni ZrO_2 . W próbkach kalcynowanych w temperaturach w zakresie 373 – 873 K intensywność widma EPR rodnika O_2^- maleje wykładniczo z temperaturą. Po ogrzaniu do 873 K sygnał O_2^- praktycznie nie jest rejestrowany. Pomiary IR ATR pokazały, że w tej temperaturze następuje całkowita dehydratacja powierzchni.

Analiza widm HYSCORE amorficznego tlenku cyrkonu po reakcji z nadtlenkiem wodoru umożliwiła oszacowanie odległości między niesparowanym elektronem rodnika $\cdot\text{O}_2^-$ a wodorem grupy hydroksylowej na 4.3 Å. Wskazuje to, że rodnik $\cdot\text{O}_2^-$ jest wiązany z powierzchnią przez stosunkowo długie wiązanie wodorowe. Autorka na str.84 pisze, że „charakterystyka pozostałych żeli wskazuje, że podobny obraz otoczenia jest dla nich słuszny”. Nie jest dla mnie jasne, czy pomiary HYSCORE były wykonywane także dla próbek innych tlenków czy też to stwierdzenie wynika z innych przesłanek.

Interesujące rezultaty przyniosły również badania wpływu pH na ilość tworzonych reaktywnych form tlenu w wyniku rozkładu H_2O_2 . Przy wartościach pH poniżej 4 tworzą się przede wszystkim anionorodniki ponadtlenkowe i rodniki hydroksylowe, natomiast w środowisku zasadowym grupy $\cdot\text{O}_2^{2-}$. Zmiany stężeń rodników $\cdot\text{O}_2^-$ i $\cdot\text{OH}$ w funkcji pH dla tlenków cyrkonu i hafnu przebiegają podobnie sugerując, że rodniki te powstają jednocześnie w trakcie rozkładu H_2O_2 . Doktorantka postuluje, że w wyniku oddziaływania cząsteczek H_2O_2 z powierzchniowymi grupami HO_2^- następuje równoczesne przeniesienie elektronu i protonu z utworzeniem rodnika $\cdot\text{OH}$ w roztworze i jonorodnika $\cdot\text{O}_2^-$ związanego z powierzchnią. Powierzchnia amorficznych tlenków pełni funkcje gąbki jonowej wywołując międzyfazową wymianę protonów i przesuwając równowagę reakcji elektroprotycznej. Dla tlenków tantalum i hafnu przebieg zmian stężenia rodników $\cdot\text{OH}$ i $\cdot\text{O}_2^-$ jest bardziej złożony i został zinterpretowany jako konkurencja dwu mechanizmów – homolitycznego i elektroprotycznego. Przy niskich wartościach pH dominuje mechanizm homolityczny, według którego pierwotnie utworzone rodniki $\cdot\text{OH}$ ulegają następnie przekształceniu do rodników $\cdot\text{O}_2^-$. Ze wzrostem pH coraz większą rolę zaczyna odgrywać mechanizm elektroprotyczny jednoczesnego tworzenia obu rodników. W oparciu o uzyskane zależności autorka sformułowała jeden z najważniejszych wniosków rozprawy, a mianowicie, że w powstawaniu ROS uczestniczą protony, a ich podział między powierzchnią tlenku a roztwór odgrywa istotną rolę w specjacji ROS.

W ostatnim rozdziale autorka przekonywująco udowadnia, że zmieniając pH można sterować aktywnością katalityczną układu i wpływać na rodzaj produktów rozkładu H_2O_2 . Przy niskich wartościach pH amorficzne tlenki Zr, Nb, Ta i Hf wykazują aktywność typu peroksydazy, która charakteryzuje się tworzeniem rodników hydroksylowych, Przy wyższych wartościach pH wydziela się molekularny tlen wskazując na aktywność typu katalazy. Rola ROS została potwierdzona w badaniach reakcji katalitycznego utleniania cykloheksenu i glicerolu na badanych tlenkach z udziałem H_2O_2 . Wyniki tych prac prowadzonych we współpracy z zespołem prof. M. Ziółek z Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu zostały opublikowane w Applied Catalysis B.

Dzięki pełnej charakteryzacji badanych tlenków, zarówno ich morfologii jak i chemizmu powierzchni oraz identyfikacji reaktywnych form tlenu zarówno na powierzchni jak również w roztworze, doktorantka uzyskała nowe informacje o mechanizmie rozkładu H_2O_2 na amorficznych tlenkach metali przejściowych. Za najważniejsze osiągnięcia pracy doktorskiej uważam:

- ✓ zaproponowanie nowego mechanizmu rozkładu H_2O_2 na amorficznych tlenkach metali przejściowych, różnego od mechanizmu z udziałem tlenków krystalicznych. Na amorficznych tlenkach Zr i Nb rozkład prowadzi do równoczesnego powstawania rodników $\cdot\text{OH}$ i $\cdot\text{O}_2^-$ zgodnie z mechanizmem elektroprotycznym, natomiast dla tlenków Hf i Ta jest wypadkową procesów elektroprotycznych i homolitycznych;
- ✓ udowodnienie, że rodniki $\cdot\text{OH}$ powstające w wyniku rozkładu H_2O_2 występują jedynie w fazie ciekłej, natomiast jonorodniki $\cdot\text{O}_2^-$ mogą być stabilizowane na powierzchni lub przechodzić do roztworu w zależności od natury tlenku;

- ✓ ustalenie, że pH środowiska ma zdecydowany wpływ na wydajność różnych form reaktywnego tlenu. W roztworach o pH bliskim punktu izoelektrycznego danego tlenku dominują rodniki $\cdot\text{OH}$ i $\cdot\text{O}_2^-$, powyżej grupy O_2^{2-} . Pozwala to w sposób ciągły kontrolować specjację produktów rozkładu H_2O_2 .

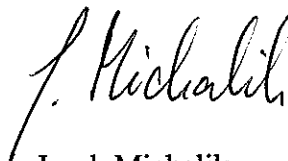
Praca wyróżnia się wysokim poziomem edytorskim i przejrzystością materiału ilustracyjnego. Jest dobrze zredagowana a błędy występują sporadycznie. Z recenzenckiego obowiązku przytaczam niektóre potknięcia językowe i inne błędy dostrzeżone w tekście:

- Na str. 53 autorka pisze „powierzchnia jest terminowana przez grupy OH”. Razi mnie słowo „terminowana”, choć trudno znaleźć dobry polski odpowiednik.
- Na str. 128 pojawia się określenie „bardzo słabo intensywne pasmo”. Chyba lepiej brzmi pasmo o małej intensywności.
- Na str. 139 jest podana inna wartość energii aktywacji rozkładu H_2O_2 na Nb_2O_5 niż w tabeli na str.124.
- Na str. 133 znajduje się zdanie „Rozkład H_2O_2 na tlenku Nb powoduje, że ilość generowanego tlenu jest niewiele większa niż w przypadku bez zastosowania amorficznego tlenku”, którego sensu nie udało mi się uchwycić.
- Doktorantka używa wymiennie słów „proszki tlenków i żele tlenków”. Sądzę, że nie jest to prawidłowe. Słowo „żel” może odnosić się do ciała stałego, ale nie w formie proszku.

Reasumując stwierdzam, że przedłożona do recenzji rozprawa doktorska spełnia bez zastrzeżeń warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i dlatego wnoszę o dopuszczenie mgr Kamili Sobańskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

W moim przekonaniu rozprawa mgr Kamili Sobańskiej zasługuje na wyróżnienie, przede wszystkim ze względu na sposób, w jaki autorka zrealizowała ambitny cel badawczy. Dotyczy to zarówno doboru metod eksperymentalnych i interpretacji wyników jak i przekonująco prowadzonych dyskusji szczegółowych zagadnień. Dzięki temu formułowane wnioski i proponowane mechanizmy opierają się o solidne podstawy eksperymentalne wsparte rzetelną wiedzą doktorantki.

Z przyczyn przedstawionych powyżej, a także biorąc pod uwagę dorobek publikacyjny doktorantki, na który składają się 3 publikacje zamieszczone w Applied Catalysis B, Topics in Catalysis i ACS Catalysis o łącznym IF powyżej 22 stawiam wniosek o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Kamili Sobańskiej.



Jacek Michalik