

Dr hab. inż. Juan Carlos Colmenares Quintero
Profesor IChF-PAN
Kierownik zespołu
"Kataliza dla zrównoważonego przetwarzania
energii i ochrony środowiska. CatSEE"

Kasprzaka 44/52, PL-01 224 Warszawa
Tel.: +48 22 343 3215
Fax: +48 22 343 3448
e-mail: jcarloscolmenares@ichf.edu.pl
<http://photo-catalysis.org>

30 marca 2022

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Kinastowskiej pt.:
„Photoregeneration of cofactor molecules through non-enzymatic methods” w
dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki chemiczne

W grupie zbadanych i rozwijanych aktualnie metod syntezy związków organicznych o dużej wartości dodanej biokataliza jest silnym i „zielonym” narzędziem, w tym dla produkcji chiralnych związków co odgrywają ważną rolę w przemyśle farmaceutycznym. Oksydoreduktazy są najbardziej używane w przemyśle enzymy ale ich użycie na dużą skalę jest drastycznie ograniczone ze względu na wysokie koszty kofaktorów, zwłaszcza ich mniej stabilne zredukowane formy działające jak donory elektronów w biotransformacji opartej na redukcji. Stechiometryczna konsumpcja tych kofaktorów (np. NADH, z ang. nicotinamide adenine dinucleotide, polska nazwa: dinukleodyt nikotynoamidoadeninowy) w procesach biokatalitycznych powoduje ogromną potrzebę ich regeneracji do ich zredukowanych form, i właśnie tu, wśród innych metod, heterogeniczna fotokataliza wkracza jako zrównoważona i zielona metoda do regeneracji tych bardzo drogiej i kluczowych kofaktorów.

Zaprezentowana dysertacja miała na celu zaprojektowanie i rozwinięcie fotokatalitycznych metod dla heterogenicznej regeneracji NADH jako modelowy kofaktor. Ten cel został osiągnięty przez następujące dwie ścieżki: **a.** synteza nowych fotokatalizatorów, **b.** systematyczne badania nad fotokatalitycznym mechanizmem heterogenicznej regeneracji NADH przy użyciu tryetanoloaminy.

Przestawiona rozprawa doktorska do recenzji obejmuje takie zagadnienia jak:

1. Biokataliza
2. Nanomateriały, nanotechnologia,
3. Fizyko-chemia powierzchni,
4. Fotokataliza heterogeniczna,

Rozprawa doktorska przygotowana na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod opieką prof. dr hab. inż. Wojciecha Bartkowiaka (z promotorem pomocniczym Dr. Markiem Grzelczakiem), została napisana w języku angielskim, liczy 167 stron, oraz 224 pozycji literaturowych. Rozprawa doktorska ma tradycyjny powszechnie wykorzystany układ, tj.: wprowadzenie, omówienie literatury przedmiotu, cel i zakres pracy, część doświadczalna, wyniki badań i dyskusja, wnioski, wykaz referencji, a także dorobek naukowy autorki pracy. Praca zawiera również obszerne streszczenie w języku polskim, i w

języku angielskim (obie części powinny być bardziej skrócone) oraz zabrakło spisu rysunków i tabel. Układ pracy jest przejrzysty i logiczny, jednak praca zawiera nieliczne literówki, jak np.:

str. 69: w zdaniu „*The photosensitizing character of MB caused its gradual degradation (Fig. 18a...*” powinno być „Fig. 32a”.

Cele naukowe i hipotezy badawcze badań rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Karoliny Kinastowskiej zostały sformułowane w bardzo klarowny i rzetelny sposób. Metodologia badań została dobrze zaprojektowana i uzasadniona, dostarczając wystarczające dowody na weryfikację postawionych hipotez. Duża część eksperymentalnych wyników tej rozprawy doktorskiej została wykonana w laboratoriach dwóch instytucji naukowych w Hiszpanii (San Sebastian), więc rozprawa oparta jest na międzynarodowej współpracy. Badania literaturowe zawarte w rozprawie (od strony nr 19 do strony nr 50) są przedstawione w sposób rzetelny i klarowny obejmujące najważniejsze cytowane prace naukowe, i dający czytelnikowi możliwość zrozumienia zagadnienia z łatwością.

Badania eksperymentalne przeprowadzone przez panią mgr inż. Kinastowską obejmowały:

- Syntezę, charakterystykę i fotokatalityczne testy (utlenianie wody i degradacja błękitu metylenowego (MB)) materiałów kompozytowych składających się z $\text{Ag}_3\text{PO}_4/\text{Co}_3\text{O}_4$.
- Szerokie badania nad mechanizmem fotokatalitycznej reakcji redukcji/regeneracji kofaktora (NADH) przy użyciu trzyetanoloaminy (donor elektronu).

Do najważniejszych osiągnięć rozprawy doktorskiej stanowiących jednocześnie elementy nowości naukowej zaliczam:

- ✓ Bardzo ważna i oryginalna metoda stosowania heterogenicznej fotokatalizy do regeneracji kofaktorów przy użyciu wody jako donor elektronów. Ta praca jest ważny wkład w światowej literaturze naukowej (i potencjalnie patentowej) dla procesów enzymatycznych sprzęganych z heterogeniczną regeneracją kofaktorów bezpośrednio przez fotoutlenianie wody pod wpływem światła w zakresie widzialnym. W tejże metodzie autorka próbowała łączyć fotokatalityczne utlenianie wody z fotokatalityczną redukcją kofaktora (przy użyciu trzyetanoloaminy (TEOA) jako donor elektronów, i światła w zakresie widzialnym) w jednym bardzo wymagającym procesie gdzie potencjał redoks dla utleniania wody i redukcji kofaktora są bardzo oddalone od siebie.
- ✓ Autorka udowodniła (przez gruntowe dobrze zaprojektowane badania eksperymentalne), że ko-katalizator tlenek kobaltu (spinel Co (II, III) Co_3O_4) ulepsza utlenianie wody i zminimalizuje degradację (co w literaturze jest odwrotnie) organicznego barwnika: błękitu metylenowego (MB, z ang. Methylene blue) w obecności fosforanu srebra (Ag_3PO_4) jako fotokatalizatora. Obecność Co_3O_4 jako ko-katalizator na powierzchni Ag_3PO_4 spowodowało tworzenia się zubożonej powierzchni dla adsorpcji MB na części powierzchni (z całego katalizatora) zajętej przez silny utleniacz Co_3O_4 (preferowana jest adsorpcja MB na powierzchni Ag_3PO_4 , przez to degradacja jest prawie ominięta), co skutkowało pozytywnie na redukcję organicznego związku wykorzystując wodę jako donor elektronów.
- ✓ Badania nad mechanizmem fotokatalitycznej reakcji redukcji/regeneracji kofaktora (NADH) przy użyciu trzyetanoloaminy (donor elektronu) były subtelnie i poprawnie przeprowadzone w wyniku których autorka udowodniła że aldehyd glikolowy jest właściwym redukującym indywidualnym chemicznym w tej reakcji, co uważam za wysoką naukową wartość dodaną tej rozprawy w światowej naukowej literaturze w tym temacie. Szerokimi badaniami autorka

udowodniła że aldehyd glikolowy (GA, powstały w wyniku fotodegradacji trzyetanolaminy (TEOA)) jest właściwym reduktorem NAD^+ , podkreślając również dodatkową rolę TEOA w utrzymaniu odpowiedniej wysokiej alkaliczności roztworu dla kontynuacji reakcji (wykorzystana całkowita moc redukcyjna GA).

Myślę, że wszystkie wyniki charakterystyki instrumentalnej preparowanych materiałów otrzymano wykorzystując w poprawny sposób odpowiednie techniki to tego celu.

W części doświadczalnej tej rozprawy doktorskiej jedynie mogą mieć następujące uwagi, pytania, komentarze lub wątpliwości, które liczę na to że doktorantka wyjaśni lub/i odpowie podczas publicznej obrony, mianowicie:

- Na stronach nr 27 i nr 28 jest omówiona absorpcja wodnego roztworu NADH w widzialnym spectrum światła z maksimum absorpcji przy 340 nm długości fali światła. Czy to jest poprawny?. Na podstawie Rysunku nr 4, można jednoznacznie stwierdzić że NADH tylko absorbuje w nadfiolecie (do 400 nm długości fali światła).
- Proszę przybliżyć recenzentowi kluczowe–naukowe–racjonalne korelacje badan pomiędzy rozdziałami z numerami 2 i 3. Czy w ogóle istnieje jakaś korelacja naukowo-techniczna pomiędzy tymi rozdziałami?.
- Na stronie 44: „*On the other hand, graphitic carbon nitride, an earth-abundant polymeric semiconductor, ...*”, Czy synteza grafitowego azotku węgla ($\text{g-C}_3\text{N}_4$) jest prosta i wydajna?, Czy autorka spreparowała ten materiał?, Co to znaczy „*earth-abundant*”?.
- Jeśli autorka porówna jej fotokatalizatory ze znanym (z literatury) TiO_2 modyfikowanym węglem lub fosforem, jaka jest realna przewaga autorki fotokatalizatorów?
- Dlaczego w tej rozprawie błękit metylenowy (MB, z ang. Methylene blue) jest wykorzystany jako modelowy kofaktor?
- Synteza nanocząstek Co_3O_4 jest, w mojej opinii, czasochłonna i energetycznie wymagająca. Czy to jedyna metoda syntezy?, Dlaczego akurat ta metoda?.
- W syntezie $\text{Ag}_3\text{PO}_4/\text{Co}_3\text{O}_4$: **a.** Czy można nazwać ten końcowy materiał hybrydą?, **b.** Skąd wartość 0,5% dla Co_3O_4 ?, **c.** Czy metoda fizycznego mieszania („*physical mixing*”) jest skuteczna w syntezie „hybrydowego” materiału?, Jaka jest interakcja/oddziaływanie między komponentami hybrydy?, **d.** Jakie są właściwości teksturalne materiału (powierzchnia właściwa, porowatość)?.
- Myślę, że to daleki krok w sformułowaniu na podstawie pomiarów XPS-u (Rentgenowska spektrometria fotoelektronów) że istnienie bliskiego kontaktu Co_3O_4 z bogatym w elektrony Ag_3PO_4 podwyższa moc utleniającą hybrydowego materiału. Poza tym, skąd Co_3O_4 charakteryzuje się tym wyższym stopniem utlenienia (przesunięcie o 0,8 eV w kierunku wyższych energii wiązań na XPSie) kiedy jego oddziaływanie (według autorki) jest tak silny z bogatym w elektrony Ag_3PO_4 . Dodatkowo, według autorki, chemiczna stabilność Ag_3PO_4 była zachowana po funkcjonalizacji jego powierzchni tlenkiem kobaltu (Co_3O_4), więc, Skąd ten „bliski kontakt między składnikami hybrydowego materiału”?
- Testowe reakcje fotokatalityczne: Czy możemy się spodziewać jakiegokolwiek efektu przez obecność buforu ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{NaOH}$, $\text{pH}=8$)?, Czy stężenie użytego katalizatora (1,1 mg/mL) było zoptymalizowane?

- Na podstawie „*Linear sweep voltametry*” (Woltoamperometria liniowa), autorka wnioskuje, że Co_3O_4 spełnia rolę akceptora fotogenerowanych dziur (hole) w ten sposób opóźniając rekombinację ładunków (elektron-dziura) i, naturalnie, poprawiając właściwości redoks fotokatalizatora. Przy omawianiu wyników fotoluminescencji, autorka dochodziła do wniosku, że elektrony wygenerowane w Ag_3PO_4 migrują do katalizatora (Co_3O_4) obniżając w ten sposób szybkość rekombinacji elektron-dziura. Prosiłbym autorkę o przedstawienie jaka jest tu precyzyjna rola Co_3O_4 akceptując jednocześnie dziury i elektrony. Myślę, że należałoby przeprowadzić charakterystykę dla samego Co_3O_4 przy użyciu fotoluminescencji (PL).
- Myślę, że autorka powinna przedstawić wyniki normalizacji (Rysunek nr 28) dot. produkcji tlenu i degradacji MB wykorzystując powierzchnię właściwą [m^2/g] materiału.
- Czy autorka testowała (Rysunek 29b) fizyczną mieszaninę (w odpowiednich proporcjach) Ag_3PO_4 i Co_3O_4 ? Myślę, że co najmniej (i w kilku innych przypadkach całego doktoratu) wyniki pokazane na rysunku 29b powinny zawierać analizę statystyczną („*standard deviation error*”)
- Na stronie 74: „...*Thus, the process of water oxidation and MB degradation are driven solely by Ag_3PO_4 while cobalt oxide nanoparticles play the role of oxygen-evolving centers, which at the same time reduces the formation of reactive oxygen species...*”. Czy jest jakaś różnica w centrum aktywnym odpowiedzialnym za „*water oxidation*” vs. „*oxygen-evolving center*”? Jak stabilny jest ten kompozytowy katalizator?.
- Patrząc na Rysunek 39b: Jakie indywidualne chemiczne typy ROS zostały zidentyfikowane, i czy one mogą utleniać NAD^+ ?
- Czy autorka testowała $\text{Ag}_3\text{PO}_4/\text{Co}_3\text{O}_4$ w fotokatalitycznej regeneracji kofaktora przy użyciu TEOA?.
- Dla proponowanego mechanizmu z Rysunku nr 62; Które proponowane przejściowe produkty zostały zidentyfikowane?.
- Zastanawiam się czy część rozprawy doktorskiej pod tytułem „*5. Summary in English*” (od strony nr 111 do strony nr 125, w sumie 14 stron) jest konieczna. Myślę, że część „*4. Summary and Perspectives*” jest wystarczająca.

Finalna ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

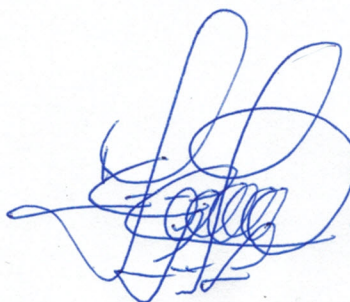
Pani mgr inż. Karolina Kinastowska w pracy przedstawiła wyniki swych badań w bardzo rozszerzonej, uporządkowanej i logicznej formie. Pomimo zaprezentowanych uwag z mojej strony, bardzo pozytywnie oceniam pracę pani mgr inż. Kinastowskiej. Praca jest ciekawa, porusza bardzo ważne zagadnienia kluczowe dla zaprojektowania lepszych fotokatalizatorów dla regeneracji ważnych kofaktorów w procesach biokatalitycznych kluczowych dla zastosowań w syntezie związków organicznych o bardzo wysokiej wartości dodanej.

Mogę z całą pewnością stwierdzić, że autorka rozprawy doktorskiej umiejętnie posługuje się stosowanymi metodami syntezy preparowanych materiałów i technikami instrumentalnymi ich charakterystyki.

Pani mgr inż. Karolina Kinastowska jest współautorką trzech (3) publikacji naukowych (we wszystkich jako pierwszy autor, dwie z tych prac omówione w ramach tej rozprawy) w bardzo dobrych czasopismach JCR. W dorobku naukowym zabrakło przedstawienia wystąpień konferencyjnych, i innej działalności naukowej autorki.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska pt. „*Photoregeneration of cofactor molecules through non-enzymatic methods*” jest dowodem umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Rozprawa spełnia warunki określone w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym stawiane pracom doktorskim (art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017r. poz. 1789 z późn. zm.)). W związku z tym, i biorąc pod uwagę wartość naukową przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej, wnioskuję do Rady na Wydziale Chemii Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie pani mgr inż. Karoliny Kinastowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z poważaniem,



Dr hab. inż. Juan Carlos Colmenares Quintero
(Profesor IChF-PAN)

**Institute of Physical Chemistry PAS
Kasprzaka 44/52
01-224 Warsaw, Poland**