

**RECENZJA****Rozprawy doktorskiej mgr inż. Eweliny Klem-Marciniak pt., „Technologia mikroelementowych chelatów EDDHA i EDDHSA do celów nawozowych”.**

Przedłożona do oceny praca doktorska została wykonana w Zakładzie Technologii i Procesów Chemicznych Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem Pani dr hab. inż. Krystyny Hoffmann prof. P.Wr. specjalisty z fizykochemii i technologii nawozów mineralnych (w tym nowej generacji płynnych nawozów mikroelementowych). Promotorem pomocniczym rozprawy był Pan dr hab. inż. Tomasz Olszewski prof. P. Wr. specjalista z syntezy reagentów chelatujących. W zespole naukowym Pani profesor Krystyny Hoffmann od szeregu lat prowadzone są szeroko zakrojone badania nad zastosowaniem różnego typu reagentów chelatujących w tym kwasów aminopolikarboksylowych do wiązania jonów mikroelementów w stabilne związki koordynacyjne rozpuszczalne zarówno w wodzie jak i w płynnych nawozach mineralnych oraz nad biodegradowalnością tych chelatów.

Kwasy aminopolikarboksylowe są multidentnymi reagentami chelatującymi charakteryzującymi się wysokim w stosunku do jonów metali powinowactwem i z tego też względu są szeroko wykorzystywane do różnych celów. Do reagentów chelatujących z grupy kwasów aminopolikarboksylowych zalicza się m.in. EDTA, NTA i DTPA. W/w reagenty powszechnie zaczęto stosować dopiero po wprowadzeniu w niektórych krajach zakazu stosowania polifosforanów. Od tego czasu reagenty te a zwłaszcza EDTA wykorzystywane są jako związki kompleksujące i maskujące jony metali ciężkich. Stosowane są w technologiach jonowymiennych otrzymywania pierwiastków ziem rzadkich o wysokim stopniu czystości, w przemyśle jądrowym, papierniczym, tekstylnym, nawozowym, fotograficznym, kosmetycznym oraz w galwanotechnice. Ich obecność pozwala na stabilizację jonów metali w szerokim zakresie pH oraz w obecności innych związków. Roztwory kompleksów żelaza(III) z organicznymi ligandami chelatującymi stosowane są w procesie usuwania siarkowodoru z biogazu. Procesy wykorzystujące kompleksy żelaza(III) z EDTA lub NTA są stosowane do odsiarczania gazu ziemnego. W przypadku kompleksonów takich jak NTA, EDTA i DTPA jedynie NTA ulega biodegradacji. Podczas gdy procesem odpowiadającym za usuwanie EDTA ze środowiska jest fotodegradacja.

Dużym przełomem w chemii reagentów chelatujących był koniec XX wieku kiedy to wyprodukowano pierwsze czynniki kompleksujące nowej generacji. W miarę poznania ich właściwości, tanich i wydajnych metod otrzymywania i modyfikacji pojawiły się także nowe możliwości ich zastosowania. Kierunek ten jest także następstwem zaostrzonych wymogów legislacyjnych z zakresu ochrony środowiska, kładących szczególny nacisk na zdrowie człowieka. Do grupy tego typu reagentów chelatujących zalicza się m.in. kwas iminodibursztynowy – IDHA, kwas -2-hydroksyetyliminodioctowy – EDDS, kwas glutamino-N,N-dioctowy – GLDA, kwas metyloglicynodioctowy – MGDA, kwas



etylenodiamino-N,N' – di[(5-karboksy-2-hydroksyfenylo)octowy] - EDDCHA, kwas etylenodiamino-N,N' – di[(2-hydroksy-5-sulfofenylo)octowy] - EDDHSA, kwas N,N' – di(2-hydroksybenzylo)-etylenodiamino-N,N' – dioctowy- HBED, kwas etylenodiamino –N,N' – di[(orto-hydroksyfenylo)octowy]- (o,o)EDDHA, kwas etylenodiamino–N-[(orto-hydroksyfenylo)octowy]–N' – [(parahydroksyfenylo)-octowy] –(o,p)EDDHA, kwas etylenodiamino-N, N' – di[(para-hydroksyfenylo)octowy]- (p,p)EDDHA, kwas etylenodiamino – N,N' – di[(orto-hydroksymetylofenylo)octowy] – (o,o)EDDHMA, kwas etylenodiamino – N-[(orto-hydroksymetylofenylo)octowy] –N'–[(parahydroksy-metylofenylo)-octowy] – (o,p)EDDHMA oraz kwas etylenodiamino-N,N' – di[(parahydroksy-metylofenylo)octowy] – (p,p)EDDHMA.

W rozporządzeniu UE o nawozach zamieszczono 11 syntetycznych reagentów chelatujących (takich jak: EDTA, HEEDTA, DTPA, (o,o)EDDHA, (o,p)EDDHA, (o,o)EDDHMA, (o,p)EDDHMA, EDDCHA, EDDHSA, IDHA, HBED) stosowanych do kompleksowania mikroelementów. Spośród wszystkich dogłębowych nawozów żelazowych, chelaty żelaza(III) z kwasami aminopolikarboksyłowymi z grupą fenolową(EDDHA, EDDHMA) są stosowane najczęściej i są najbardziej efektywne w uzupełnianiu niedoboru jonów żelaza przy chlorozach wywołanych brakiem tego pierwiastka. Ostatnio w literaturze pojawiły się wzmianki (Nahim-Granados S., Oller I., Malato S., Applied Catalysis B: Environmental, 253(2019)286-292) na temat możliwości wykorzystania nawozu żelazowego (Fe(III)-EDDHA) stosowanego do remediacji chlorozy żelazowej w rolnictwie, jako aktywnego środka bakteriobójczego w procesie słonecznej dezynfekcji ścieków.

Zastosowanie trudnobiodegradowalnych kompleksonów takich jak EDTA i DTPA na szeroką skalę m.in. w mikroelementowych płynnych nawozach mineralnych pociąga za sobą pewne zagrożenia dla środowiska naturalnego. Reagenty te w swoim składzie zawierają azot, w związku z czym mogą stanowić cenną pożywkę dla występujących w wodzie alg. Ponadto ponieważ wykazują one silne właściwości chelatujące mogą także uwalniać i przenosić zaadsorbowane w osadach sedymentacyjnych toksyczne jony metali ciężkich przyczyniając się w ten sposób do zwiększenia ich biodostępności dla organizmów żywych. W celu uniknięcia takich niedogodności jako substytuty EDTA stosuje się m.in. biodegradowalne kwasy aminopolikarboksyłowe (względnie ich sole sodowe, potasowe lub amonowe) takie jak np: EDDHA, EDDHMA, EDDCHA, EDDHSA, HBED i IDHA.

Stąd też uważam, że temat rozprawy mgr inż. Eweliny Klem- Marciniak jest aktualny i ważny zarówno z poznawczego jak i aplikacyjnego punktu widzenia. Praca doktorska obejmuje 224 stron maszynopisu, 38 tabel, 97 rysunków, a także 190 merytorycznie dobrze dobranych odnośników literaturowych z których 60 obejmuje ostatnie dziesięć lat.

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka jest współautorką bardzo dużego dorobku naukowego wynoszącego aż 39 artykułów naukowych opublikowanych w monografiach konferencyjnych (16) w czasopismach 23 (w tym Desalination and Water Treatment -1, Ecological Chemistry and Engineering -3, Proceedings of ECOpole- 11, Przemysł Chemiczny -8), dwóch patentów i jednego zgłoszenia patentowego. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorantka jest pierwszym autorem 16 artykułów. Rozprawa została zredagowana starannie pod względem edytorskim. Poszczególne rozdziały logicznie następują po sobie, z czego widać, że pod względem konstrukcyjnym była głęboko



przemysłana. Wyniki badań przedstawiono w sposób uporządkowany, zwarty i komunikatywny, a omówienie ich jest rzeczowe i wyczerpujące.

Celem rozprawy było opracowanie koncepcji technologicznej otrzymania EDDHA i EDDHSA i ich związków koordynacyjnych z żelazem(III)

Zakres rozprawy obejmował :

- Opracowanie metody syntezy EDDHA i EDDHSA
- Określenie stopnia skompleksowania jonów żelaza(III), cynku(II), manganu(II) i miedzi(II) przez EDDHA oraz EDDHSA metodą woltamperometryczną w środowiska wodnym lub nawozowym
- Badanie zmiany zawartości jonów mikroelementów oraz chelatów w zależności od parametrów środowiska
- Określenie stopnia biodegradacji metodą testu statycznego i kinetycznego
- Opracowanie koncepcji technologicznej.

Praca doktorska ma charakter monografii, która w logiczny sposób łączy dane literaturowe na temat tworzenia się związków koordynacyjnych mikroelementów z wybranymi kwasami aminopolikarboksyłowymi w zależności od stosunku ligand: mikroelement i wartości pH zarówno w środowisku wodnym jak i nawozowym oraz porównanie trwałości i biodegradowalności tych kompleksów z otrzymanymi przez Autorkę wynikami.

Recenzowana rozprawa ma charakter zarówno badań podstawowych jak i stosowanych o szerokim zakresie i otrzymane przez Doktorantkę wyniki mogą znaleźć m.in. zastosowanie w technologiach płynnych nawozów mineralnych oraz w chemii rolnej.

Rozprawa doktorska składa się z sześciu rozdziałów. Pracę można podzielić na dwie części. Część pierwszą literaturową oraz część drugą eksperymentalną. Część literaturowa jest przedstawiona systematycznie i wyczerpująco. Doktorantka w części literaturowej streściła się zasadniczo do zagadnień które wykorzystuje w części eksperymentalnej do interpretacji otrzymanych wyników. Omówiła charakterystykę składników pokarmowych roślin. Znajomość składu chemicznego roślin pozwala określić ich wymagania pokarmowe, będące podstawą racjonalnego nawożenia. Najczęściej do mikroelementów zalicza się żelazo, mangan, cynk, miedź, bor, molibden oraz kobalt. Doktorantka przedstawiła informację na temat roli i znaczenia jonów mikroelementów oraz niklu(II) w uprawie roślin. Zastosowanie nawozów wzbogaconych w mikroelementy jest bardzo ważne z punktu widzenia ograniczenia ich deficytu w roślinach i diecie ludzi (np. deficyt cynku występuje w około połowie gleb uprawnych na świecie). Deficyt mikroelementów powoduje tzw. „ukryte niedożywienie”, wywołuje wiele dolegliwości i groźnych chorób wśród ludności, a szczególnie dzieci. Nawozy mikroelementowe mogą być stosowane dogłębowo, dolistnie oraz w systemie fertygacji a mikroelementy mogą występować w postaci chelatów względnie innych formach. Udział produktów mikroelementowych jest coraz większy – np. światowa konsumpcja nawozów chelatowych w 2018 r. wynosiła 63-69 tys. ton (wg Fertilizer International, 492 (2019)22-27). Nawozy mikroelementowe można podzielić na: sole techniczne, makronawozy wzbogacone w mikroelementy, szkliwa (fryty) nawozowe, chelaty nawozowe oraz odpady przemysłowe i kopaliny.

Doktorantka omówiła typy nawozów mikroelementowych ze szczególnym uwzględnieniem chelatów nawozowych. Do najbardziej znanych reagentów chelatowych



należą aminopolikarboksylany, hydroksykarboksylany, fosfoniany, aminofosfoniany itp. Należą one do reagentów chelatujących, które w niskim pH tworzą związki koordynacyjne z jonami pierwiastków d-elektronowych trwalsze niż z jonami wapnia i magnezu. Charakteryzują się niewielką ekotoksycznością, ale ich nadmierna ilość w środowisku może powodować negatywne skutki. Ważny jest stopień rozkładu zarówno kompleksonów jak i ich chelatów z jonami metali w warunkach naturalnych. Dobra rozpuszczalność kompleksonów w wodzie oraz niski stopień biodegradowalności wpłynął na obecność w/w związków zarówno w wodach powierzchniowych jak i ściekach. Wykazano, że obecność trudno biodegradowalnych kwasów aminopolikarboksylowych w środowisku naturalnym może być przyczyną: remobilizacji jonów metali ciężkich zaabsorbowanych w osadach, solubilizacji pierwiastków promieniotwórczych i zwiększenia ich oddziaływania na środowisko, eutrofizacji wód oraz ich kompleksy z jonami metali ciężkich mogą zwiększyć ich biodostępność.

Część literaturową rozprawy kończą wartościowe informacje na temat właściwości, syntezy, analityki i zastosowania reagentów chelatujących takich jak kwasy: (o,o)EDDHMA, (o,p)EDDHMA, EDDCHA, HBED, (o,o)EDDHA, (o,p)EDDHA oraz ich związków koordynacyjnych z jonami mikroelementów. Wykazano, że Fe(III)-(o,o)EDDHMA jest stosowany w przemyśle nawozowym do uzupełniania tego pierwiastka lub zwalczania chlorozy. Reagenty chelatujące, takie jak: EDDHMA, EDDHA, EDDHSA i EDDCHA tworzą trwałe kompleksy z żelazem(III) i są najczęściej stosowane na glebach wapiennych i zasadowych. Stwierdzono, że skuteczność działania kompleksów Fe(III)-EDDHMA i Fe(III)-EDDHA w uprawach glebowych i hydroponicznych jest porównywalna. Reagent ten zawiera dwa chiralne atomy węgla. Występuje w postaci izomerów(R,R), (R,S), (S,R) i (S,S). Wykazano, że różnice w trwałości związków koordynacyjnych żelaza(III) lub miedzi(II) z rac- EDDHMA i meso-EDDHMA wynikają prawdopodobnie z położenia obu grup metylowych. W środowisku kwasowym chelaty Fe(III)-EDDHMA nie są trwałe. Żelazo(III) znajduje się głównie w postaci jonowej i jest sorbowane. W środowisku zasadowym kompleks Fe(III)-EDDHMA ulega rozpadowi mikroelement tworzy tlenki, uwodnione tlenki, hydroksotlenki lub wodorotlenki nieprzyswajalne przez rośliny. Kolejnym kompleksonem jest EDDCHA najczęściej używany jako reagent chelatujący jony żelaza(III) i aplikowanym na glebach zasadowych, głównie wapiennych. Powoduje to, że jony mikroelementów w formie związków koordynacyjnych z EDDCHA są przyswajalne przez rośliny w szerokim przedziale pH co znajduje zastosowanie m.in. w uprawach drzew owocowych. Sól sodowa kwasu iminodiburszynowego została wyprodukowana po raz pierwszy przez firmę Bayer AG pod nazwą Baypure CX100 w wyniku reakcji bezwodnika maleinowego z amoniakiem i wodorotlenkiem sodu. IDHA należy do reagentów, które łatwo ulegają biodegradacji. Charakteryzuje się dobrymi właściwościami kompleksotwórczymi w stosunku do jonów mikroelementów w szerokim zakresie pH. Uważany jest za reagent chelatujący, który może zastąpić EDTA. HBED nie posiada chiralnego atomu węgla i nie tworzy izomerów optycznych. Jest stosowany w przemyśle farmaceutycznym i nawozowym. Związki koordynacyjne jonów żelaza z tym reagentem stosowane są w leczeniu anemii Cooley'a. HBED tworzy trwałe kompleksy z jonami żelaza(III), których wartość stałej trwałości jest ok.  $10^4$  większa niż w przypadku Fe(III) – (o,o)EDDHA. Jak wynika z danych literaturowych HBED pozostaje w roztworze glebowym w okresie pomiędzy kolejnymi aplikacjami. Ponadto



charakteryzuje się wysokim powinowactwem w stosunku do jonów żelaza(III) w porównaniu z konkurencyjnymi jonami metali oraz selektywnością związaną z rozpuszczaniem żelaza zawartego w glebie. Okazało się, że chelaty Fe(III)-HBED oraz Fe(III)-EDDHA równie skutecznie uzupełniają niedobory żelaza w roślinach. (o,o)EDDHA jest uważany za najskuteczniejszy reagent chelatujący stosowany do uzupełniania niedoboru żelaza w glebie o pH obojętnym lub zasadowym. Chelaty nawozowe Fe(III)-EDDHA zawierające do 6% żelaza stosowane są dla wrażliwych na chlorozę roślin. EDDHA może występować w postaci trzech regioizomerów: (o,o)EDDHA, (o,p)EDDHA oraz (p,p) EDDHA. Izomer (o,o) charakteryzuje się niską reaktywnością na glebach wapiennych oraz wysoką efektywnością uzupełniania niedoborów żelaza. Związki koordynacyjne żelaza(III) z reagentem (o,p) EDDHA charakteryzują się mniejszą trwałością niż z ligandem (o,o)EDDHA. Wykazano, że obecność jonów magnezu(II) i wapnia(II), które występują w glebach wapiennych nie wpływa na trwałość chelatu Fe(III)-(o,p)EDDHA. Kompleks ten ulega reakcjom konkurencyjnym tylko gdy w roztworze glebowym występuje wysokie stężenie jonów miedzi(II). Stwierdzono, że stężenie jonów żelaza w tkankach roślin jest większe jeżeli do nawożenia zastosuje się mieszaninę chelatów Fe(III)-(o,o)EDDHA i Fe(III)-(o,p)EDDHA niż czysty Fe(III)-(o,o)EDDHA. Wykazano, że zastosowanie w/w mieszaniny daje długotrwały efekt-chelat Fe(III)-(o,o)EDDHA oraz szybkie działanie – kompleks Fe(III)-(o,p)EDDHA. Dostępne w handlu chelaty nawozowe zawierają mieszaninę związków koordynacyjnych mikroelementów z izomerami (o,o), (o,p) i (p,p)EDDHA. Stwierdzono, że produkty komercyjne charakteryzują się podobnymi zdolnościami dostarczania mikroelementów (Fe(III), Mn(II), Zn(II)) przy wysokiej wartości pH oraz w obecności węglanu wapnia jak czysty izomer(o,p)EDDHA oraz ligandy takie jak EDTA, HEEDTA i DTPA. Są znane dwa izomery (o,o)EDDHA: forma meso i mieszanina racemiczna. Ligand ten z jonami żelaza(III) tworzy chelaty meso oraz mieszaninę racemiczną dwóch diastereoizomerów, składającą się z izomeru meso i izomeru d,l- racemicznego o stosunku molowym 1:1. W/w związki koordynacyjne różnią się właściwościami fizykochemicznymi oraz wartościami stałych trwałości. Różna jest również ich reaktywność w roztworze glebowym oraz mechanizm pobierania jonów mikroelementów przez roślinę. Zdolność tych nawozów chelatowych do dostarczania jonów żelazowych w uprawach hydroponicznych zależy od wartości pH oraz obecności konkurencyjnych jonów metali. Stwierdzono, że przy wartości  $pH < 4$  kompleks Fe(III)-(o,o)EDDHA ulega stopniowemu rozkładowi, a przy  $pH = 1$  zarówno chelaty d,l jak i meso ulegają całkowitemu rozkładowi. Szybszej degradacji przy niskiej wartości pH ulega mniej trwały kompleks meso, który dostarcza żelazo(III) roślinom. Izomery Fe(III)-EDDHA występujące w chelatach nawozowych można podzielić na cztery grupy: Fe(III)-rac-(o,o)EDDHA, konfiguracja (R,R) lub (S,S);

Fe(III)-meso-(o,o)EDDHA, konfiguracja (R,S) lub (S,R);

Fe(III)-(o,p)EDDHA, cztery konfiguracje oraz

Fe(III)-rest-EDDHA, trzy konfiguracje Fe(III)-(p,p)EDDHA, polikondensaty i półprodukty.

Wykazano, że efektywność dostarczania jonów żelaza roślinom przez poszczególne izomery Fe(III)-EDDHA maleje w szeregu: Fe(III)-rac-(o,o)EDDHA > Fe(III)-meso-(o,o)EDDHA > produkty uboczne Fe(III)-EDDHA > Fe(III)-(o,p)EDDHA. Chelat Fe(III)-EDDHA stosowany jest do upraw hydroponicznych oraz doglebowo. Aplikowany jest głównie na glebach o wysokiej wartości pH czyli w krajach obszaru Morza Śródziemnego oraz na Bliskim



Wschodzie. Skuteczność tego chelatu określona jest przez takie cechy jak: zdolność do pozostania nawozu w roztworze glebowym pomiędzy kolejnymi aplikacjami, zdolność do tworzenia chelatów żelaza(III) w porównaniu z konkurencyjnymi jonami metali, selektywność reagenta chelatującego w rozpuszczaniu natywnym żelaza z gleby oraz zdolność do efektywnego dostarczania jonów żelaza roślinie. Wykazano, że skuteczność jonów żelaza(III) w postaci skompleksowanej może być zmniejszona przez sorpcję chelatów lub reagentów chelatujących w formie stałej gleb. Stwierdzono, że istotny wpływ na adsorpcję Fe(III)-EDDHA mają dodatnio naładowane powierzchnie tlenków żelaza i glinu. W środowisku silnie kwaśnym kompleksy Fe(III)-EDDHA nie są trwałe, żelazo występuje wówczas w formie jonowej, która jest łatwo absorbowana. W środowisku silnie zasadowym kompleks rozkłada się i żelazo występuje w postaci nieprzyswajalnych przez roślinę tlenków, hydroksotlenków lub wodorotlenków. Chelat Fe(III)-meso-EDDHA jest silniej absorbowany przez tlenki oraz w większym stopniu przez torf i Ca-montmorylonit niż mieszanina racemiczna. Mimo powszechnego stosowania nawozów zawierających chelat Fe(III)-EDDHA nadal nie jest znany zarówno mechanizm jego rozkładu jak i samego liganda w środowisku naturalnym.

Ostatnim z omawianych reagentów chelatujących jest NaEDDHSA. Reagent ten oraz produkty kondensacji są stosowane do uzupełniania niedoborów żelaza(III) oraz zwalczania przyczyn chlorozy. Obecność grup sulfonowych powoduje zarówno większą rozpuszczalność w wodzie jak i kwasowość co skutkuje zwiększeniem powinowactwa żelaza(III) do tego reagenta. Stwierdzono, że ilość schelatowanego żelaza(III) w Fe(III)-EDDHSA oraz jego rozpuszczalność powoduje, że może być stosowany w dawce 1,4-1,7 niższej niż w chelacie Fe(III)-EDDHA wykazując analogiczną skuteczność i stabilizując mikroelement w zakresie pH4-9. W środowisku o wartości pH powyżej 9 wzrasta stężenie żelaza(III) nieschelatowanego. Wykazano, że nieschelatowane żelazo(III) w nawozach na bazie Fe(III)-EDDHSA jest stabilne przy wartości pH charakterystycznych dla gleb wapiennych, ale ma podwyższoną reaktywność w podłożach, w których występują tlenki oraz materia organiczna. Wpływa to negatywnie na potencjał aplikacji doglebowej. Wykazano, że w glebie oraz torfie chelaty EDDHSA charakteryzują się niższą retencją ze względu na większy ładunek ujemny (-3) w porównaniu z Fe(III)-EDDHA (-1). Ze względu na właściwości reagent ten jest jednym z najskuteczniejszych ligandów stosowanych do uzupełnienia niedoboru żelaza(III). Nawozy na bazie Fe(III)-EDDHSA aplikowane są na wielu gatunkach roślin, a w szczególności drzew owocowych. Wykazano, że koszt produkcji Fe(III)-EDDHSA jest niższy niż innych chelatów nawozowych należących do tej samej rodziny. Jego właściwości oraz metoda wytwarzania powodują, że stanowi konkurencyjny produkt stosowany w zwalczaniu i leczeniu skutków chlorozy. Podsumowując można stwierdzić, że część literaturowa rozprawy, a zwłaszcza poświęcona nowej generacji kompleksonów i ich chelatów z mikroelementami stanowi dobrze przemyślaną analizę danych literaturowych. Ta część rozprawy ma bardzo dużą wartość jako materiał źródłowy, ponadto dobrze uzasadnia celowość podjętych badań eksperymentalnych.

Moim zdaniem ta część po uzupełnieniu danych literaturowych ze względu na dużą wartość zarówno poznawczą jak i aplikacyjną oraz aktualność tematyki powinna być opublikowana w stosownym czasopiśmie względnie monografii zagranicznej poświęconej nawozom mikroelementowym względnie stosowanej chemii koordynacyjnej.



Metodyka badań przedstawionych w części eksperymentalnej jest dokładnie opisana i pod względem merytorycznym nie budzi najmniejszych zastrzeżeń. Doktorantka włożyła w wykonanie rozprawy wiele trudu. Zgromadziła bardzo duży materiał doświadczalny, co nie było proste i wymagało wiele cierpliwości, dokładności i wiedzy. W badaniach stosowała takie techniki instrumentalne jak:  $^1\text{H}$  NMR, MS, chromatografię par jonowych oraz woltamperometrię pulsacyjną różnicową (DPV).

Doktorantka zsyntetyzowała EDDHA, EDDHSA, Fe(III)-EDDHA oraz Fe(III) – EDDHSA. Przeprowadziła syntezę EDDHA metodą Mannich'a. Określiła wpływ ilości fenolu (od ilości stechiometrycznej do 25-krotnego nadmiaru) na wydajność reakcji oraz jej selektywność. Do układu reakcyjnego dodała stechiometryczne ilości etylenodiaminy, wodorotlenku sodu oraz kwasu glioksalowego. Wartość pH doprowadziła do 9 roztworem wodorotlenku sodu. Reakcje przeprowadzała w temperaturze  $75^\circ\text{C}$  przez 3 godziny ciągle mieszając. Po tym czasie do układu dodała wodę oraz dichlorometan lub toluen w celu przeprowadzenia ekstrakcji fenolu. Następnie do fazy wodnej dodała kwas chlorowodorowy. Testowała efektywność krystalizacji EDDHA przy różnych wartościach pH (6, 6.5, 7). Strukturę otrzymywanych produktów określiła metodami  $^1\text{H}$  NMR, oraz MS. Zawartość poszczególnych izomerów w produktach finalnych oznaczała metodą chromatografii par jonowych. Zaletą metody Mannich'a jest jednoetapowość syntezy oraz dostępność substratów. Produkt finalny zawierający 91.1% (o,o)EDDHA (przy optymalnym 20-krotnym nadmiarze fenolu) otrzymała z wydajnością 61%. Na podstawie chromatogramu Fe(III)-EDDHA obliczyła zawartość poszczególnych izomerów, która przedstawia się następująco: Fe(III)-(o,o)EDDHA-2.6%, Fe(III)-(p,p)EDDHA-6.3%, d,l-rac-Fe(III)-(o,o)EDDHA-44.3% oraz meso-Fe(III)-(o,o)EDDHA-46.8%. W celu porównania zastosowała metodę Strecker'a otrzymania EDDHA zmodyfikowaną przez Sierra i współpracowników. Stwierdziła, że tą metodą można otrzymać 99% izomer EDDHA z wydajnością 54%. Za pomocą chromatografii par jonowych oznaczyła jego skład, który przedstawia się następująco: Fe(III)-(p,p)EDDHA- 0.6%, d,l-rac-Fe(III)-(o,o)EDDHA-58.2% i meso-Fe(III)-(o,o)EDDHA-41.2%. Syntezę tą ze względu na duży koszt odczynników oraz wieloetapowość można jedynie stosować do produkcji wzorców.

W celu otrzymania EDDHSA wykorzystwała metodę Mannich'a. Zastosowała 10% nadmiar kwasu para- hydroksybenzenosulfonowego oraz stechiometryczną ilość etylenodiaminy. Następnie dodała 50% mas. wodnego roztworu NaOH i kolejno kwas glioksalowy w ilościach stechiometrycznych. Syntezę prowadziła przez 3 godziny w temperaturze  $70^\circ\text{C}$ . Po ochłodzeniu mieszaniny do temperatury pokojowej za pomocą NaOH doprowadziła układ do pH=11. Strukturę otrzymanego związku określiła  $^1\text{H}$ NMR i MS. Otrzymała monomer EDDHSA i produkty jego kondensacji z wydajnością 64%. Metodą chromatograficzną oznaczyła skład tego produktu, który przedstawia się następująco: 50.4% monomeru i 49.6% produktów kondensacji. Jednoetapowość syntezy oraz dostępność substratów powoduje, że ta metoda może być zastosowana na skalę przemysłową. Zastosowała po raz pierwszy w literaturze zmodyfikowaną metodę Strecker'a do otrzymywania EDDHSA. Otrzymała produkt o składzie 68.5% monomeru i 31.5% produktów kondensacji który może zostać wykorzystany do celów nawozowych. Jednak ze względu na ceny substratów oraz wieloetapowość syntezy jej zastosowanie na skalę przemysłową jest aktualnie problematyczne. Natomiast otrzymanie czystego monomeru, który będzie mógł być



wykorzystany jako wzorzec wymaga przeprowadzenia dalszych badań. Stwierdziła, że chelaty nawozowe Fe(III)-EDDHA i Fe(III)-EDDHA można otrzymać metodą Mannich'a. Wykazała, że reakcje chelatacji jonów żelaza(III) za pomocą w/w reagentów przebiegają z wydajnością około 100% przy wartości pH 5.5. Oba chelaty są dobrze rozpuszczalne w wodzie.

Doktorantka wyznaczyła stopień skompleksowania mikroelementów nawozowych kwasami aminopolikarboksylowymi przy stosunku 1:1. w zależności od wartości pH za pomocą woltamperometrii pulsowej różnicowej z zastosowaniem elektrody rtęciowej pracującej w trybie SMDE. Do zalet tej metody instrumentalnej można zaliczyć oznaczanie śladowych ilości jonów metali, szybkość pomiaru, równoczesne oznaczanie kilku pierwiastków oraz możliwość rozróżnienia stopnia utlenienia jonów metali. Przeprowadziła kompleksowe badania nad trwałością związków koordynacyjnych cynku(II) miedzi(II), manganu(II) i żelaza(III) z reagentami chelatującymi takimi jak EDDHA, EDDHA oraz w celu porównawczym z EDTA, IDHA oraz HBED przy różnych wartościach pH zarówno w środowisku wodnym (w obecności elektrolitu podstawowego Zn(II), Mn(II) – KCl, Cu(II), Fe(III) – NaClO<sub>4</sub>) jak i w środowiskach nawozowych (N, NP, NPK). Do badań zastosowała trzy rodzaje roztworów zawierających makroelementy nawozowe: środowisko azotowe N-składające się z mieszaniny mocznika i azotan(V) amonu w stosunku molowym 1:1 (3.5% mas. azotu całkowitego w tym 1.75% mas. azotu amidowego i tyle samo azotu amonowego i azotanowego), środowisko azotowo-fosforowe(NP) –składające się z mieszaniny azotan(V) amonu, mocznika oraz fosforanu amonu (3.5% mas. azotu całkowitego w tym 0.96% mas. azotu amidowego, 2.54% mas. azotu amonowego i azotanowego oraz 3.5% mas. fosforu) oraz środowisko azotowo-fosforowo-potasowe (NPK) – składające się z mieszaniny azotan(V) amonu, mocznika, fosforanu(V) amonu i chlorku potasu (3.5% mas. azotu całkowitego w tym 0.96% mas. azotu amidowego, 2.54% mas. azotu amonowego i azotanowego, 3.5% mas. fosforu oraz 3.5% potasu). Określiła stopień skompleksowania jonów mikroelementów przez EDDHA, EDDHA, HBED, EDTA oraz IDHA w środowisku elektrolitu podstawowego o wartości pH od 3 do 7. Stwierdziła, że EDDHA i EDDHA skompleksowały jony cynku(II) przy badanych wartościach pH w stopniu powyżej 90%. Stopnie skompleksowania cynku(II) są nieznacznie wyższe dla EDDHA niż EDDHA. Uszeregowała ligandy ze względu na ich właściwości chelatujące w stosunku do cynku(II) dla wartości pH 3,5 i 7.

IDHA>EDTA>EDDHA>HBED>EDDHA przy pH 3

EDDHA> HBED >EDDHA >EDTA >IDHA przy pH 5

HBED ≈ EDTA >EDDHA >EDDHA>IDHA przy pH 7

Wykazała, że wyznaczenie stopnia skompleksowania miedzi(II) było możliwe tylko przy wartości pH 3 i 5. Stwierdziła, że EDTA oraz IDHA nie skompleksowały miedzi(II) w wymaganym stopniu (<80%). Uzyskane wyniki pozwalają uszeregować reagenty ze względu na ich zdolności chelatujące w stosunku do miedzi(II) w badanych wartościach pH.

EDDHA>EDDHA>HBED>EDTA>IDHA przy pH 3

EDDHA>EDDHA>HBED>IDHA>EDTA przy pH 5

Wykazała, że stopień skompleksowania manganu(II) przez wszystkie badane reagenty był większy od 80% dla pH 5 i 7. Najkorzystniejszymi właściwościami chelatującymi charakteryzują się HBED oraz EDDHA. Uszeregowała kompleksy ze względu na ich właściwości chelatujące w stosunku do manganu(II) w przypadku wartości pH 5 i 7.





HBED>EDTA>EDDHA>EDDHSA>IDHA> przy pH 5  
EDDHA>EDTA>HBED>IDHA>EDDHSA przy pH7

Stwierdziła, że stopień skompleksowania żelaza(III) przez HBED, EDDHA oraz EDDHSA wynosił ponad 90%. Podczas gdy stopień skompleksowania żelaza(III) przez IDHA oraz EDTA był niższy niż 80%. Uzyskane wyniki pozwalają uszeregować ligandy ze względu na zdolności do tworzenia kompleksów z żelazem(III) w warunkach prowadzenia eksperymentu.

HBED>EDDHSA>EDDHA>EDTA>IDHA> przy pH6  
HBED>EDDHA>EDDHSA>EDTA>IDHA przy pH 6.5  
HBED>EDDHSA>EDDHA>EDTA>IDHA przy pH 7

Wykazała, że w środowisku elektrolitu podstawowego największy stopień skompleksowania badanych mikroelementów za pomocą w/w kompleksonów osiągnięto dla cynku(II) i manganu(II) przy pH 7, dla miedzi(II) przy pH 5 oraz dla żelaza(III) przy pH 6.5

Następnie określiła wartości stopni skompleksowania jonów Zn(II), Cu(II), Mn(II) i Fe(III) przez reagenty chelatujące w środowisku nawozów azotowych, azotowo-fosforowych oraz azotowo-fosforowo-potasowych. Stwierdziła, że EDDHA, EDDHSA, HBED skompleksowały jony cynku(II) w stopniu ok. 100%. Uszeregowała ligandy ze względu na ich właściwości chelatujące w stosunku do cynku(II) przy określonych wartościach pH.

EDDHA>HBED>EDDHSA>IDHA>EDTA przy pH 3 i 7.  
EDDHA=EDDHSA=HBED> IDHA>EDTA przy pH 5 .

Wykazała, że EDDHA, EDDHSA, MBED oraz EDTA skompleksowały jony miedzi(II) w ok.100%. Najniższy stopień skompleksowania miedzi(II) uzyskała w przypadku IDHA. Uszeregowała ligandy ze względu na ich właściwości kompleksujące w stosunku do miedzi(II) w przypadku wartości pH 3 i 5.

HBED>EDDHA>EDDHSA>EDTA>IDHA przy pH 3 i 5

Stwierdziła, że jony manganu(II) zostały skompleksowane przez EDDHA, EDDHSA, HBED oraz EDTA w stopniu powyżej 90%. Uzyskane wyniki pozwoliły na uszeregowanie reagentów ze względu na ich właściwości chelatujące w stosunku do manganu(II) przy pH 5 i 7.

HBED>EDTA>EDDHA>EDDHSA>IDHA przy pH 5  
HBED>EDDHA>EDDHSA>EDTA>IDHA przy pH 7.

Wykazała, że jony żelaza(III) zostały skompleksowane przez EDDHA, EDDHSA oraz HBED w stopniu powyżej 90%. Najwyższy stopień skompleksowania jonów żelaza(III) w środowisku azotowym uzyskała przy pH 6.5. Uszeregowała reagenty ze względu na ich właściwości chelatujące w stosunku do żelaza(III) przy określonych wartościach pH.

EDDHSA>HBED>EDDHA>EDTA>IDHA przy pH 6  
HBED>EDDHA>EDDHSA>EDTA>IDHA przy pH 6.5  
HBED>EDDHSA>EDDHA>EDTA>IDHA przy pH 7

EDDHA i EDDHSA w środowisku azotowym chelatowały jony badanych mikroelementów w prawie 100%. Otrzymane chelaty mogą być stosowane jako składniki nawozów mineralnych.

Stwierdziła, że ocena stopnia skompleksowania żelaza(III) przez w/w ligandy w układach azotowo-fosforowych oraz azotowo-fosforowo-potasowych jest niemożliwa ze względu na wytrącanie się trudno rozpuszczalnego fosforanu żelaza.



Wykazała, że jony cynku(II) zostały skompleksowane w stopniu powyżej 85%. przez EDDHA, EDDHSA oraz HBED w środowisku azotowo-fosforowym przy różnych wartościach pH. EDTA i IDHA w/w środowisku skompleksowały jony cynku(II) w 100%. Uszeregowała reagenty ze względu na ich zdolność do kompleksowania jonów cynku(II) przy wartości pH 3,5 oraz 7.

EDTA ~ IDHA > EDDHA > EDDHSA > HBED przy pH3

EDTA ~ IDHA > EDDHA > HBED > EDDHA przy pH5

EDTA ~ IDHA > EDDHA > EDDHSA > HBED przy pH7

Stwierdziła, że jony miedzi(II) w środowisku NP zostały skompleksowane przez w/w reagenty w stopniu poniżej 50% zarówno przy wartości pH 3 jak i 5 co jest przypuszczalnie spowodowane częściowym wytrącaniem się fosforanu miedzi.

Wykazała, że jony manganu(II) zostały skompleksowane w stopniu powyżej 85% przez EDDHA, EDDHSA oraz HBED w środowisku azotowo-fosforowym. Ligandy te kompleksują jony manganu(II) w znacznie wyższym stopniu przy pH 5 niż 7 (poniżej 78%). Uszeregowała kompleksy ze względu na ich zdolność do chelatowania jonów manganu(II) przy różnych wartościach pH w środowisku azotowo-fosforowym.

HBED > EDDHA > EDDHSA > IDHA > EDTA przy pH 5

HBED > EDDHA > EDDHSA > EDTA > IDHA przy pH 7

Stwierdziła, że chelatowanie jonów mikroelementów przez EDDHA oraz EDDHSA w środowisku azotowo-fosforowym zachodzi z mniejszą wydajnością niż w środowisku roztworu podstawowego lub azotowym. Prawdopodobnie jest to spowodowane przez konkurencyjne reakcje jonów mikroskładników z jonami fosforanowymi. Określiła stopień skompleksowania jonów cynku(II) i manganu(II) przez stosowane chelatory w środowisku azotowo-fosforowo-potasowym. Stwierdziła, że jony cynku(II) w środowisku NPK zostały skompleksowane w stopniu powyżej 80% przez EDDHA, EDDHSA, HBED oraz EDTA przy pH 3 i 5. Uszeregowała reagenty ze względu na ich zdolność chelatowania jonów cynku(II) przy różnym pH w środowisku NPK.

EDDHA > HBED > EDDHSA > EDTA > IDHA przy pH 3 i 5

Wykazała, że jony manganu(II) zostały skompleksowane w środowisku NPK przez EDDHA, EDDHSA oraz HBED w wyższym stopniu (>96%) w środowisku o pH 5.

Uszeregowała stosowane reagenty ze względu na ich zdolność do chelatowania jonów manganu(II) w środowisku NPK o pH5 lub 7

HBED > EDDHA > EDDHSA > IDHA > EDTA > przy pH5

HBED > EDDHA > EDDHSA > EDTA > IDHA > przy pH 7

Stwierdziła, że EDDHA i EDDHSA chelatowały jony cynku(II) i manganu(II) w wymaganym (przez Rozporządzenie dotyczące nawozów) stopniu. Mogą być one stosowane jako składniki nawozów NPK.

Wykazała, że chelaty Fe(III)-EDDHA w roztworach wodnych są najbardziej trwałe przy wartości pH 7 a ich stężenie w czasie nie zmienia się. Stwierdziła, że stężenie izomerów(o,o) oraz (o,p) w czasie jest stałe natomiast zawartość izomeru (p,p) zmalała do ok.0.1% w badanych roztworach. Z przeprowadzonych przez Doktorantkę obliczeń wynika, że obecność nawozów typu N, NP lub NPK powoduje najmniejsze różnice pomiędzy zawartością poszczególnych izomerów Fe(III)-EDDHA w czasie .



Wykazała, że chelat nawozowy Fe(III)-EDDHA charakteryzował się największą trwałością w środowisku wodnym podczas trwania eksperymentu. Stwierdziła, że obecność makroskładników nawozowych nieznacznie wpływa na jego całkowite stężenie (rośnie zawartość monomeru a maleje zawartość produktów kondensacji). Wykazała, że ten chelat może zostać użyty jako składnik nawozów.

Na szczególne podkreślenie zasługują badania stopnia biodegradacji reagentów chelatujących EDDHA i EDDHSA metodami testu statycznego i kinetycznego. Doktorantka wykazała, że w warunkach testu statycznego stopień degradacji obu kompleksów wynosi 20%. Stwierdziła, że w warunkach testu kinetycznego stopień biodegradacji stosowanych w rozprawie kompleksów przedstawia się następująco: IDHA-100% (okres adaptacji mikroorganizmów -120h), EDDHA-55,4% (okres adaptacji mikroorganizmów - 336 h), EDDHSA – 33,7% (okres adaptacji mikroorganizmów - 192 h), EDTA -22.6% (okres adaptacji mikroorganizmów - 312 h) oraz HBED-1.1% (okres adaptacji mikroorganizmów - 336 h). Na podstawie wykonanych testów statycznego i kinetycznego zakwalifikowała EDDHA i EDDHSA jako substancje trudno ulegające procesowi biodegradacji. Ich obecność w środowisku może być przyczyną eutrofizacji wód, remobilizacji toksycznych jonów metali ciężkich z osadów dennych i rzecznych oraz ich wprowadzenie do łańcucha pokarmowego. Możliwością zwiększenia degradacji tych reagentów jest zastosowanie metody fotodegradacji względnie degradacji chemicznej. Część eksperymentalna rozprawy kończy koncepcja technologiczna otrzymywania kompleksów Fe(III)-EDDHA i Fe(III)-EDDHA zakładająca zastosowanie metody Mannich'a. W ramach rozprawy przedstawiła schemat ideowy otrzymywania w/w chelatów nawozowych ze zdolnością produkcyjną 5Mg/dobę.

Z obowiązku recenzenta chciałbym zwrócić uwagę na szereg usterek lub dyskusyjnych sformułowań, niektóre z nich przykładowo przytaczam.

I tak:

Str.19 – metale alkaliczne i ziem alkalicznych – powinno być litowce i berylowce

Str. 20 – wartościowość - powinno być stopień utlenienia

Str. 28 – kwas ortoborowy - powinno być kwas trioksoborowy

Str. 32 – Chelatory o dużych wartościach stałych trwałości nie ulegają takim reakcjom - powinno być Chelaty o dużych wartościach stałych trwałości nie ulegają takim reakcjom

Str. 53 – Charakteryzuje się podobną rozpuszczalnością żelaza z tlenków żelaza, jak (o,o)EDDHA – powinno być charakteryzuje się podobną roztwarzalnością tlenków żelaza jak (o,o)EDDHA

Str. 62 – kwas solny powinno być kwas chlorowodorowy

Str. 69 – ASA powinno być AAS

Str.71 – wodorotlenek tertabutyloamonowy - powinno być wodorotlenek tetrabutyloamoniowy

Str.122 –  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}$  – powinno być  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$

Usterki te niczym nie umniejszają wysokiej wartości merytorycznej rozprawy. Pracę doktorską mgr inż. Eweliny Klem-Marciniak należy ocenić pod kątem przydatności zawartych w niej wyników jako źródło dobrze opracowanych eksperymentalnych danych, które wraz z przedstawioną interpretacją oraz szeroko widzianą perspektywą dalszych badań przyczynią się zapewne do dalszego rozwoju fizykochemii i technologii płynnych nawozów mikroelementowych.




W podsumowaniu należy stwierdzić, że Pani mgr inż. Ewelina Klem-Marciniak w pełni opanowała szereg metod fizykochemicznych, przeprowadziła szeroko zakrojone badania i uzyskała nowe wyniki o znaczeniu zarówno poznawczym jak i przede wszystkim aplikacyjnym. Uważam, że rozprawa doktorska jest pracą wartościową, nowatorską i stanowi cenny wkład zarówno do fizykochemii i technologii płynnych nawozów mikroelementowych jak i do chemii kompleksonów nowej generacji.

Reasumując przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska spełnia wymogi stawiane tego typu pracom zawarte w Dz. U. nr 65, ustawa 595 z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz § 5 ust.1 Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2018, poz. 261).

Biorąc powyższe pod uwagę stawiam wniosek do Wysokiej Komisji ds. stopni naukowych w dyscyplinie Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Pani mgr inż. Eweliny Klem-Marciniak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie w przekonaniu o wysokiej wartości merytorycznej rozprawy zawierającej elementy nowości naukowej popartej dużym dorobkiem naukowym (39 artykułów, 2 patenty i 1 zgłoszenie patentowe) wnioskuję o jej wyróżnienie stosowną nagrodą.

Lublin 14.01.2020

  
Prof. dr hab. Zbigniew Hubicki

