



WYDZIAŁ CHEMICZNY
KATEDRA TECHNOLOGII CHEMICZNEJ ORGANICZNEJ
I PETROCHEMII

mgr inż. Anna Wolny

Inżynieria Chemiczna

ROZPRAWA DOKTORSKA

Projektowalne układy katalityczne dla sektora
lekkiej syntezy organicznej

Projectable catalytic systems for the fine
chemicals synthesis sector

Promotor pracy: prof. dr hab. inż. Anna Chrobok



Praca realizowana w ramach konsorcjum Uniwersytet Europejski EURECA-PRO

GLIWICE 2024

Pragnę z głębi serca podziękować mojej Promotor, **prof. dr hab. inż. Annie Chrobok**, za wieloletnią inspirację, wsparcie merytoryczne, cierpliwość oraz bezcenną wiedzę, której przekazanie umożliwiło mi ukończenie niniejszej pracy. Jestem również wdzięczna za wiarę w moje umiejętności i otwarcie przede mną wielu ścieżek rozwoju w przyjaznym otoczeniu.

Składam serdeczne podziękowania: **dr inż. Piotrowi Latosowi, dr hab. inż. Jakubie Zdarcie, prof. PP, prof. dr hab. inż. Teofilowi Jesionowskiemu, dr hab. inż. Katarzynie Szymańskiej prof. PŚ, dr inż. Agnieszce Siewniak, dr hab. inż. Agacie Jakóbiak-Kolon, prof. PŚ, dr Sebastianowi Jurczykowi oraz mgr inż. Dagmarze Więctawik** za owocną współpracę naukową.

Dziękuję również naukowcom z Monash University w Melbourne, w szczególności **prof. Douglas Macfarlane oraz dr inż. Karolinie Matuszek** za współpracę naukową i umożliwienie odbycia stażu.

Bardzo dziękuję wszystkim **Pracownikom Katedry Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii**, z którymi miałam okazję współpracować w trakcie studiów doktoranckich, a w szczególności, **dr hab. inż. Alinie Brzęczek-Szafran, dr inż. Karolowi Erfurtowi, dr inż. Annie Szelwickiej, mgr inż. Natalii Barteczko, mgr inż. Bartłomiejowi Gaidzie, mgr inż. Justynie Więctawik mgr inż. Magdalenie Gwóźdz oraz mgr Angelice Mieszczanin** za ogromną życzliwość i okazaną pomoc, a także za to, że każdy dzień w pracy dawał mi wiele radości.

Chciałabym w szczególności podziękować **Narzeczonemu, Rodzicom, Babci** oraz **Przyjaciołom** za nieustającą wiarę w moje możliwości, motywowanie do pokonywania słabości oraz wieloletnie wsparcie, które pozwoliły mi się znaleźć w tym miejscu, w którym obecnie się znajduję. To właśnie im chciałabym dedykować niniejszą pracę.

Spis treści

WYKAZ PUBLIKACJI MONOTEMATYCZNYCH	5
OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE ZWIĄZANE Z PRACĄ DOKTORSKĄ.....	6
ALFABETYCZNY SPIS SKRÓTÓW I AKRONIMÓW	9
I WPROWADZENIE I CEL PRACY	10
II OMÓWIENIE WYNIKÓW.....	20
1. SYNTEZA, CHARAKTERYSTYKA ORAZ ZASTOSOWANIE KATALIZATORA TYPU SILLP OPARTEGO O TRIFLOGLINIANOWĄ CIECZ JONOWĄ I KRZEMIONKĘ O MULTIMODALNEJ POROWATOŚCI W REAKCJI DIELSA-ALDERA W SYSTEMIE OKRESOWYM ORAZ CIAŁYM.....	20
1.1. <i>Synteza i charakterystyka katalizatora typu SILLP opartego o imidazoliową trifloglinianową ciecz jonową i krzemionkę o multimodalnej porowatości.</i>	<i>21</i>
1.2. <i>Badanie wpływu wybranych parametrów na przebieg reakcji Dielsa-Aldera w obecności katalizatora typu SILLP w układzie okresowym.</i>	<i>24</i>
1.3. <i>Transformacja procesu Dielsa-Aldera przebiegającego w obecności katalizatora typu SILLP z systemu okresowego na ciągły.</i>	<i>28</i>
2. SYNTEZA, CHARAKTERYSTYKA ORAZ ZASTOSOWANIE BOKATALIZATORA TYPU SILLP OPARTEGO O LIPAZĘ Z <i>ASPERGILLUS ORYZAE</i> ORAZ HYBRYDOWY MATERIAŁ KRZEMIONKOWY MODYFIKOWANY IMIDAZOLIOWĄ CIECZ JONOWĄ W ROZDZIALE KINETYCZNYM RACEMATU IBUPROFENU W SYSTEMIE OKRESOWYM.	30
2.1. <i>Opracowanie i badanie wpływu wybranych parametrów na rozdział kinetyczny racematu ibuprofenu w obecności natywnej lipazy z <i>Aspergillus oryzae</i>.</i>	<i>32</i>
2.2. <i>Synteza i charakterystyka biokatalizatora typu SILLP opartego o lipazę z <i>Aspergillus oryzae</i> oraz materiały krzemionkowe modyfikowane imidazoliową cieczą jonową.</i>	<i>33</i>
2.3. <i>Testy aktywności katalitycznej opracowanych biokatalizatorów typu SILLP opartych o lipazę z <i>Aspergillus oryzae</i> oraz materiały krzemionkowe modyfikowane imidazoliową cieczą jonową w rozdział kinetycznym racematu ibuprofenu.</i>	<i>38</i>
3. SYNTEZA, CHARAKTERYSTYKA ORAZ ZASTOSOWANIE BOKATALIZATORA OPARTEGO O LIPAZĘ Z <i>ASPERGILLUS ORYZAE</i> ORAZ MATERIAŁ KRZEMIONKOWY DOMIESZKOWANY TLENKIEM MAGNEZU I MODYFIKOWANY GRUPAMI OKTYLOWYMI W REAKCJI ESTRYFIKACJI ALKOHOLU FURFURYLOWEGO I KWASÓW TŁUSZCZOWYCH C8-C18 W SYSTEMIE OKRESOWYM ORAZ CIAŁYM.	42
3.1. <i>Synteza i charakterystyka biokatalizatora opartego o lipazę z <i>Aspergillus oryzae</i> oraz materiał krzemionkowy domieszkowany tlenkiem magnezu i modyfikowany grupami oktylowymi.</i>	<i>43</i>
3.2. <i>Badanie wpływu wybranych parametrów na przebieg reakcji estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasów tłuszczowych C8-C18 w obecności opracowanych biokatalizatorów w systemie okresowym.</i>	<i>47</i>
3.3. <i>Transformacja procesu estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasów tłuszczowych C8-C18 w obecności opracowanych biokatalizatorów z systemu okresowego na ciągły.</i>	<i>52</i>



3.4. <i>Analiza opracowanych technologii reakcji estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasów tłuszczowych C8-C18 w obecności zaprojektowanego biokatalizatora w systemie okresowym oraz ciągłym pod kątem zielonej chemii.</i>	54
III PODSUMOWANIE	59
IV LITERATURA	63
V INNE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE	67
VI WKŁAD AUTORSKI	70
VII WKŁAD POZOSTAŁYCH WSPÓŁAUTORÓW	73
VIII PUBLIKACJE	87

WYKAZ PUBLIKACJI MONOTEMATYCZNYCH

Publikacja P1. A. Wolny, A. Chrobok, Silica-Based Supported Ionic Liquid-like Phases as Heterogeneous Catalysts, *Molecules* **2022**, 27, 5900. IF₂₀₂₂ = 4,600; MNiSW₂₀₂₂ = 140.

Publikacja P2. A. Wolny, A. Chrobok, Ionic Liquids for Development of Heterogeneous Catalysts Based on Nanomaterials for Biocatalysis, *Nanomaterials* **2021**, 11, 2030. IF₂₀₂₁ = 5,719; MNiSW₂₀₂₁ = 100.

Publikacja P3. A. Wolny, A. Chrobok, Supported Ionic Liquid Phase for Biocatalysis: The Current Applications, Synthesis and Prospects, *Curr. Org. Chem.* **2023**, 27, 1119–1122. IF₂₀₂₃ = 1,700; MNiSW₂₀₂₃ = 70.

Publikacja P4. A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbi-Kolon, A. Chrobok, Construction of trifloaluminate ionic liquid catalyst on the silica surface dedicated for continuous flow Diels-Alder synthesis, *Appl. Catal. A Gen.* **2024**, 676, 119676. IF₂₀₂₃ = 4,700; MNiSW₂₀₂₄ = 100.

Publikacja P5. A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, L.D. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen *Environ. Technol. Innov.* **2022**, 28, 102936. IF₂₀₂₂ = 7,100; MNiSW₂₀₂₂ = 70.

Publikacja P6. A. Wolny, D. Więclawik, J. Zdarta, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, Robust biocatalyst for the green continuous flow synthesis of esters from biomass-derived furfuryl alcohol and C8-C18 carboxylic acids *Green Chem.* **2024**, Advance article. doi.org/10.1039/D4GC03821E. IF₂₀₂₃ = 9,300; MNiSW₂₀₂₄ = 200.

OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE ZWIĄZANE Z PRACĄ DOKTORSKĄ

A. Zgłoszenia patentowe:

1. A. Wolny, A. Chrobok, A. Siewniak, P. Latos, Sposób otrzymywania (S)-(+)-ibuprofenu (P.441467; WIPO ST 10/C PL441467) 2022.
2. A. Wolny, A. Chrobok, Sposób otrzymywania estrów furfurylowych (WIPO ST 10/C PL447899) 2024.

B. Projekty:

1. Projekt NCN PRELUDIUM22 UMO-2023/49/N/ST8/01633 pt. Projektowanie biokatalizatorów na bazie cieczy jonowych i projektowalnych nośników w modelowych procesach chemicznych (01.2024-01.2026). Pełniona funkcja: kierownik.
2. Projekt NCN OPUS20 2020/39/B/ST8/00693 pt. Projektowalne ciekłe związki kompleksowe metali jako katalizatory modelowych procesów chemicznych i elektrochemicznych (07.2023-07.2024). Pełniona funkcja: wykonawca stypendysta.
3. Realizacja doktoratu w ramach Uniwersytetu Europejskiego projektu EURECA-PRO „Odpowiedzialna konsumpcja i produkcja” (13.01.2023-30.09.2024).

C. Staże naukowe i szkoły letnie:

1. 01.08.2021 – 01.12.2021: uczestnictwo w „International Summer School 2021 Responsible consumption and production for digitized higher education” finansowane w ramach Uniwersytetu Europejskiego EURECA-PRO, TU Bergakademie Freiberg, Niemcy.
2. 7.11.2022 – 26.11.2022: uczestnictwo w „International PhD Journey 2022 Clean energy” finansowane w ramach Uniwersytetu Europejskiego EURECA-PRO, Montanuniversität Leoben, Austria.
3. 12.02.2024 – 12.03.2024: staż zagraniczny w Monash University w Melbourne, Australia finansowany w ramach projektu Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (PPI/APM/2018/1/00004).
4. 24.06.2024 – 26.08.2024: staż krajowy w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN w Krakowie finansowany w ramach Stypendium Rektora dla najlepszych doktorantów 2023/2024 (Uczelnia Doskonałości – Uczelnia Badawcza).

D. Prezentacje na konferencjach krajowych i międzynarodowych

1. VI International Interdisciplinary Conference of PhD students of Technical Universities – InterTechDoc'2021 21-23.07.2021, Ustroń, Polska; New method for pure ibuprofen synthesis (wystąpienie ustne).
2. VIII Łódzkie Symposium of Chemistry PhD Students 24.09.2021, Łódź, Polska; Supported ionic liquid phase as innovative biocatalysts for fine chemicals synthesis (poster).
3. 6th International Conference on Ionic Liquid-Based Materials 22-26.11.2021, Strasbourg, Francja; High enantioselective resolution of ibuprofen racemate via enzymatic esterification (poster).
4. VII International Interdisciplinary Conference of PhD students of Technical Universities – InterTechDoc'2022 5-7.04.2022, Ustroń, Polska; Synteza czystego (S)-ibuprofenu (Synthesis of (S)-ibuprofen) (wystąpienie ustne).
5. X Kongres Technologii Chemicznej 11-14.05.2022, Wrocław, Polska; Heterogeniczny rozdział kinetyczny racematu ibuprofenu poprzez enzymatyczną estryfikację do estru (S)-ibuprofenu (wystąpienie ustne).
6. 5th Symposium on Biotransformations for Pharmaceutical and Cosmetic Industry 13-15.06.2022, Kraków-Częstochowa, Polska; Heterogeneous kinetic resolution of the ibuprofen racemate by enzymatic esterification to (S)-ibuprofen ester (poster).
7. The 3rd International Congress on Advanced Materials Sciences and Engineering 21-25.07.2022, Opatija, Chorwacja; Title: Supported ionic liquid phase as catalyst for fine chemicals synthesis (poster).
8. IV National Symposium Bioorganic and Organic Chemistry, and Biomaterials 3.12.2022, Poznań, Polska; Biotransformacja α -angelika laktonu w obecności rozpuszczalników głęboko eutektycznych (poster).
9. 9th Congress on Ionic Liquids 24-28.04.2023, Lyon, Francja; Water-tolerant silica-based trifloaluminat ionic liquids dedicated for Diels-Alder reaction (wystąpienie ustne).
10. Ogólnopolska Konferencja Naukowa – Zrównoważony Rozwój w Obszarze Kosmetyków i Detergentów, ICSO 12.04.2024, Kędzierzyn Koźle, Polska; Wysoce aktywny heterogeniczny biokatalizator dedykowany dla syntezy estrów furfurylowych kwasów C8 – C18 w systemie ciągłym (poster).

11. XXII Konferencja Ochrona Środowiska – Nauka i Przemysł dla ochrony Ziemi, 24-26.04.2024, Ustroń, Polska; Biodegradowalny biokatalizator dedykowany dla zielonej syntezy estrów furfurylowych kwasów C8 – C18 w systemie ciągłym (poster).
12. 6th Symposium on Biotransformations for Pharmaceutical and Cosmetic Industry, 17-19.06.2024, Kraków, Polska; Active and stable biocatalyst for the continuous flow synthesis of C8-C18 carboxylic acids esters of biomass-derived furfuryl alcohol (wystąpienie ustne).
13. XI Kongres Technologii Chemicznej 16-19.09.2024, Poznań, Polska; Biokatalizator do syntezy estrów kwasów karboksylowych C8-C18 i alkoholu furfurylowego w systemie przepływowym (wystąpienie ustne).
14. Green Technology for Sustainable Environment 2024 22.09-26.09.2024, Poznań, Polska; An effective biocatalyst for the continuous flow production of C8-C18 carboxylic acid esters derived from biomass based furfuryl alcohol (wystąpienie ustne).

E. Nagrody oraz wyróżnienia

1. Nagroda II stopnia za prezentację posterową na 5th Symposium on Biotransformations for Pharmaceutical and Cosmetic Industry, Kraków, 13-15.06.2022.
2. Nagroda II stopnia w konkursie BASF Polska „Drive Innovation – Rozwiązania dla Zrównoważonego Rozwoju”, Warszawa, 14.03.2024.
3. Nagroda I stopnia za prezentację posterową na Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej – Zrównoważony Rozwój w Obszarze Kosmetyków i Detergentów, ICSO Kędzierzyn Koźle, 12.04.2024.
4. Nagroda I i III stopnia za prezentacje posterowe na XXII Konferencji Ochrony Środowiska – Nauka i Przemysł dla ochrony Ziemi, Ustroń, 24-26.04.2024.
5. Stypendium Rektora Politechniki Śląskiej dla najlepszych doktorantów w latach 2021/2022, 2022/2023, 2023/2024.
6. Nagroda II stopnia Rektora Politechniki Śląskiej w 2023 roku za wysoko punktowane publikacje, udzielone patenty, pozyskane projekty badawcze, prace naukowo-badawcze.

ALFABETYCZNY SPIS SKRÓTÓW I AKRONIMÓW

²⁹ Si MAS NMR	Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego ciała stałego krzemu
AILs	Kwasowe ciecze jonowe (z ang. <i>Acidic Ionic Liquids</i>)
BET	Analiza powierzchni właściwej metodą Brunauer-Emmett-Tellera
BJH	Analiza powierzchni właściwej metodą Barrett-Joyner-Halenda
CALB	Lipaza B z <i>Candida antarctica</i>
COX	Cyklooksygenazy
EDX	Rentgenowska spektroskopia dyspersji energii
ee	Nadmiar enancjomeryczny (z ang. <i>enantiomeric excess</i>)
FT-IR	Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
GC	Chromatografia gazowa
HPLC	Wysokosprawna chromatografia cieczowa
ILs	Ciecze jonowe (z ang. <i>Ionic Liquids</i>)
LAO	Lipaza z <i>Aspergillus oryzae</i>
MA	Bezwodnik maleinowy
RME	Efektywność masowa reakcji (z ang. <i>Reaction Mass Efficiency</i>)
SCIL	(z ang. <i>Solid Catalyst with Ionic Liquid Layer</i>)
SEM	Skaningowa mikroskopia elektronowa
SILC	(z ang. <i>Supported Ionic Liquid Catalyst</i>)
SILLP	(z ang. <i>Supported Ionic Liquid-Like Phase</i>)
SILP	(z ang. <i>Supported Ionic Liquid Phase</i>)
TGA	Analiza termogravimetryczna
TOF	Częstotliwość cykli katalitycznych (z ang. <i>Turnover Frequency</i>)

I WPROWADZENIE I CEL PRACY

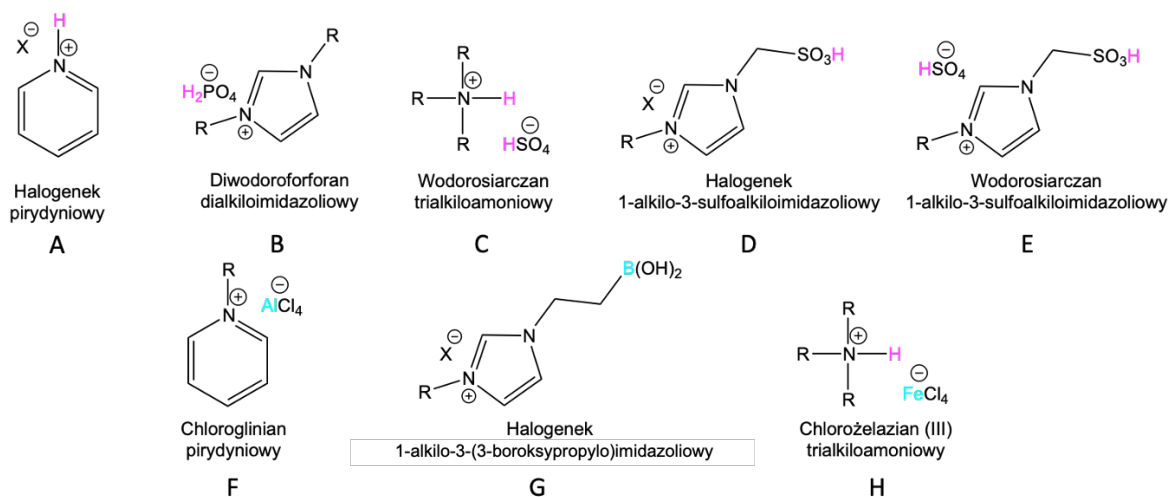
Celem badań realizowanych w ramach pracy doktorskiej było opracowanie wysoce aktywnych i stabilnych katalizatorów opartych o enzymy lub kwasowe cieczy jonowe dedykowanych dla czystych technologii chemicznych z sektora lekkiej syntezy organicznej.

Projektowanie zrównoważonych procesów chemicznych wpisuje się w światowy trend dążenia do wdrażania neutralnych dla środowiska technologii produkcyjnych. Idea ta jest ściśle powiązana z Agendą 2030 na rzecz zrównoważonego rozwoju przyjętą przez kraje członkowskie ONZ. Szczególny nacisk nakłada się na modernizację procesów produkcji związków z sektora lekkiej syntezy organicznej, które charakteryzuje często wieloetapowość i generowanie dużych ilości odpadów. Do głównych wyzwań związanych z ekologiczną transformacją metod syntezy tych związków zalicza się poszukiwanie alternatywnych, wysoce selektywnych, aktywnych i stabilnych katalizatorów w miejsce dotychczas stosowanych konwencjonalnych kwasowych katalizatorów, eliminację lotnych związków organicznych oraz toksycznych reagentów i środków pomocniczych.^{1,2}

Zgodnie z ideą gospodarki w obiegu zamkniętym, katalizator powinien nie tylko charakteryzować się wysoką aktywnością i selektywnością w procesie, ale również wysoką stabilnością umożliwiającą jego ponowne wykorzystanie. Choć katalizatory homogeniczne charakteryzują się wysoką aktywnością, głównie dzięki łatwej dostępności miejsc aktywnych, to ich trudności w oddzielaniu od mieszaniny poreakcyjnej sprawiają, że w przemyśle częściej stosuje się katalizatory heterogeniczne. Zwiększona dystrybucja miejsc aktywnych w katalizatorach heterogenicznych, a tym samym aktywność, może być modelowana za pomocą materiałów o rozbudowanej powierzchni właściwej, na których unieruchamiana jest faza katalityczna. Dodatkową przewagą katalizatorów heterogenicznych nad katalizatorami homogenicznymi jest możliwość ich zastosowania w reaktorach przepływowych.³

Poszukiwania alternatywnych katalizatorów dla przemysłowych procesów chemicznych, o niskiej toksyczności, bezpiecznych dla środowiska są istotnym elementem transformacji technologii chemicznych na świecie. Dlatego też w pracy doktorskiej skupiłam się nad badaniami dotyczącymi wykorzystania jako faz aktywnych katalizatorów kwasowych cieczy jonowych lub enzymów.

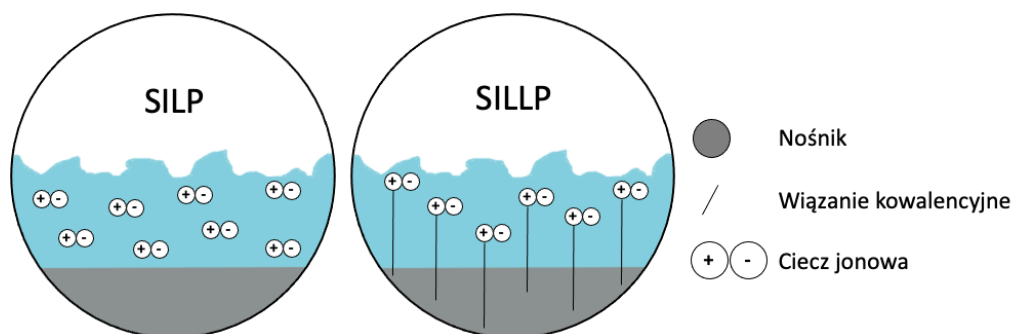
Ciecze jonowe (z ang. *Ionic Liquids*, ILs) to związki składające się z organicznego kationu oraz organicznego lub nieorganicznego anionu. Ich główną zaletą jest możliwość projektowania struktury poprzez odpowiedni dobór kationu i anionu, co pozwala na uzyskanie specyficznych właściwości, dzięki czemu znajdują one szerokie zastosowanie w przemyśle chemicznym. Dodatkowymi atutami wykorzystania ILs w technologiach chemicznych jest niska prężność par, wysoka stabilność termiczna oraz szeroki zakres temperaturowy, w którym pozostają w stanie ciekłym.⁴⁻⁶ Istotną grupę cieczy jonowych stosowanych jako katalizatory stanowią kwasowe ciecze jonowe (z ang. *Acidic Ionic Liquids*, AILs).⁷ AILs można sklasyfikować na podstawie rodzaju kwasowego centrum na typy kwasów Brønsteda i Lewisa. Możliwe jest wprowadzenie więcej niż jednej grupy kwasowej do struktury AILs oraz projektowanie cieczy jonowych poprzez połączenie kwasowych typów Brønsteda i Lewisa. Kwasowe centrum Brønsteda można wprowadzić do cieczy jonowych jako: kwasowy wodór w kationie (A), anionie (B) lub obu jonach (C), kwasowy wodór znajdujący się w grupie funkcyjnej (D) lub kwasowy wodór znajdujący się zarówno w grupie funkcyjnej, jak i w kationie/anionie (E). Kwasowe ciecze jonowe typu kwasu Lewisa są głównie oparte na anionach halometalicznych (F) oraz atomie boru w kationie (G) (Rysunek 1). Powstawanie mieszanych cieczy jonowych Brønsteda–Lewisa zostało również przedstawione na Rysunku 1 (H).⁸⁻¹⁰



Rysunek 1. Przykładowe struktury kwasowych cieczy jonowych typu Brønsteda i Lewisa.

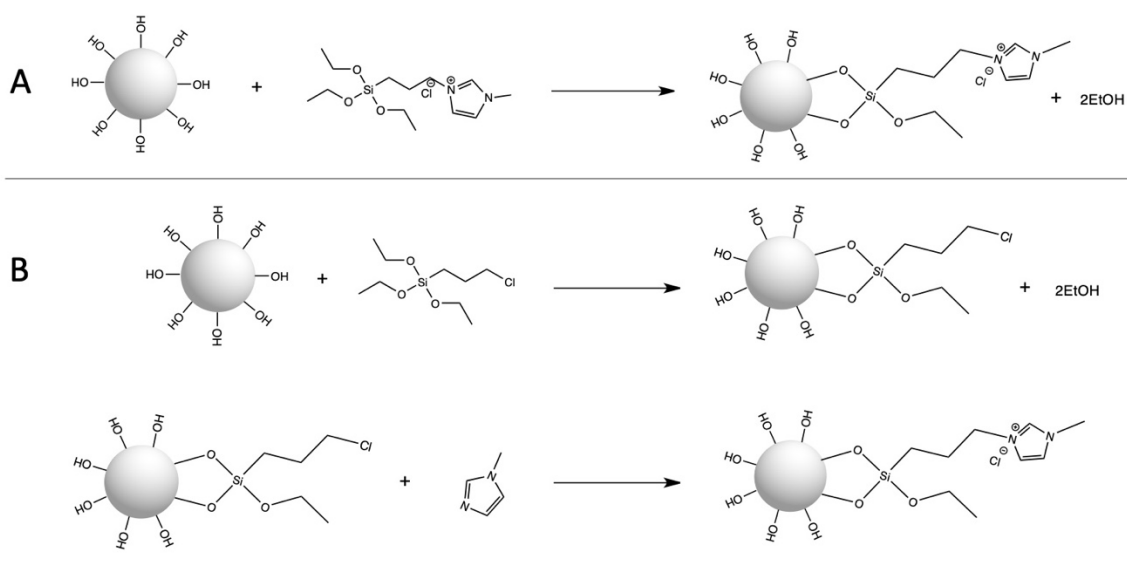
Głównym wyzwaniem związanym z zastosowaniem kwasowych cieczy jonowych w przemyśle jest ich stabilność w procesie i możliwość stosowania w wielu cyklach reakcyjnych. Możliwość immobilizacji AILs na stałej matrycy w sposób fizyczny (z ang. *Supported Ionic Liquid Phase*, SILP) lub poprzez wiązania chemiczne (z ang. *Supported Ionic Liquid-Like Phase*, SILLP),

pozwała na łatwe oddzielenie katalizatora od mieszaniny reakcyjnej. Graficzną wizualizację obu opisanych technik immobilizacji AILs przedstawiono na Rysunku 2. Podczas unieruchomienia, AIL tworzy cienką warstwę na nośniku, co redukuje jej ilość w procesie. Dodatkowo immobilizacja AIL poprawia transfer masy do centrów katalitycznych na granicy faz ciecz-ciecz. Co więcej, heterogeniczny katalizator SILP lub SILLP może być z powodzeniem stosowany zarówno w procesach okresowych, jak i ciągłych, w tym w reaktorach ze złożem stałym lub fluidalnym.¹⁰⁻¹³

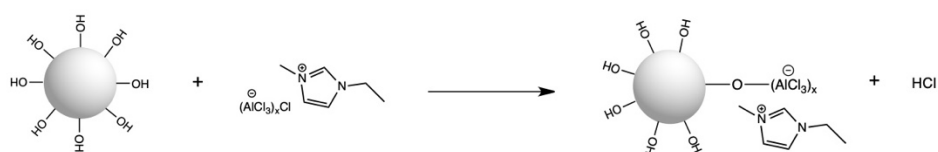


Rysunek 2. Graficzne przedstawienie technik SILP i SILLP.

Immobilizacja przez kation



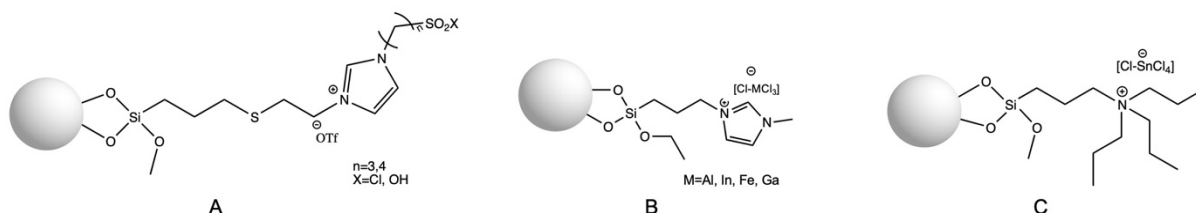
Immobilizacja przez anion



Rysunek 3. Immobilizacja chemiczna cieczy jonowej na powierzchni krzemionki poprzez kation lub anion. Przywiązanie IL do nośnika można uzyskać poprzez bezpośrednią immobilizację IL (A) lub poprzez budowanie struktury IL na nośniku (B).

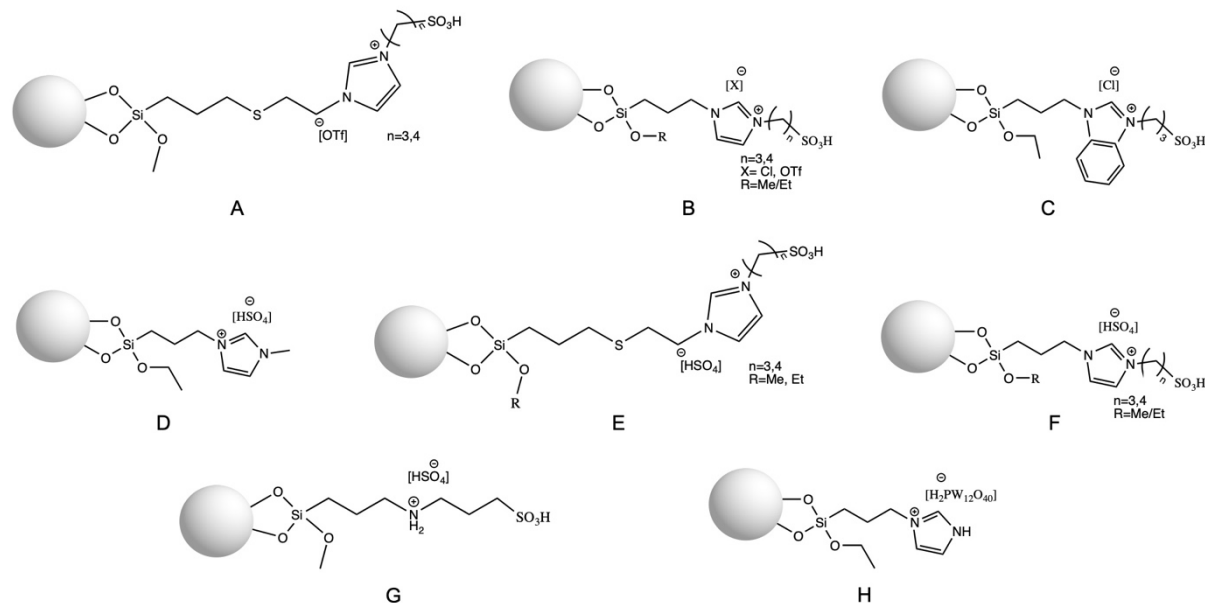
Chemiczne wiązanie cieczy jonowej z powierzchnią nośnika zapobiega jej wymywaniu. Dzięki obecności licznych grup hydroksylowych, dobrze rozwiniętej powierzchni właściwej oraz kontrolowanej porowatości, materiały krzemionkowe stały się powszechnie stosowanymi nośnikami do chemicznej immobilizacji IL. Metody przygotowania materiałów SILLP na bazie krzemionki obejmują reakcję między IL lub prekursorem IL a grupami hydroksylowymi obecnymi na powierzchni krzemionki lub technikę zol-żel. IL może być przyłączona do grupy Si-OH poprzez kation lub anion (Rysunek 3). Przywiązanie IL do nośnika można uzyskać poprzez bezpośrednie unieruchomienie IL (Rysunek 3A) lub przez budowanie struktury IL na nośniku (Rysunek 3B).¹⁰

Katalizatory SILLP typu Lewisa na bazie materiałów krzemionkowych są zazwyczaj syntezowane poprzez przywiązanie kationu IL z wykorzystaniem prekursorów, takich jak: 3-(chloropropyl)trietoksylsilan, 3-(chloropropyl)trimetoksylsilan lub 3-(merkaptopropyl)trimetoksylsilan, uzyskując struktury przedstawione na Rysunku 4. Materiał SILLP może charakteryzować się centrum kwasowym Lewisa zlokalizowanym w łańcuchu alkilowym zmodyfikowanym grupami $-SO_2Cl$ lub $-SO_2OH$ (Rysunek 4A), bądź w anionie na bazie halogenku metalu, który powstaje w reakcji kompleksowania z odpowiednim halogenkiem metalu (Rysunek 4B, C).^{8,10-12}



Rysunek 4. Struktury katalizatorów SILLP typu Lewisa.

Katalizatory SILLP typu Brønsteda na bazie materiałów krzemionkowych są syntezowane poprzez przywiązanie kationu IL. Ciecze jonowe typu Brønsteda są przyłączane do powierzchni krzemionki za pomocą takich samych prekursorów jak wymienione powyżej, tworząc struktury przedstawione na Rysunku 5. Centrum kwasowości Brønsteda, które znajduje się w anionie, to najczęściej $[HSO_4]^-$, natomiast w kationie zazwyczaj jest zlokalizowane w łańcuchu alkilowym zmodyfikowanym grupą $-SO_3H$.^{10,11}



Rysunek 5. Struktury katalizatorów SILLP typu Brønsteda.

Większość katalizatorów typu SILLP zawiera w swojej strukturze aniony halogenkowe, co stanowi istotny problem w ich potencjalnym przemysłowym zastosowaniu. W celu zapobiegania hydrolizie i powstawaniu niebezpiecznych kwasów, takich jak HCl, zastępowanie anionów halogenkowych jest kluczowym elementem badań w tej dziedzinie. Ich eliminacja pozwala na obniżenie kosztów związanych z potrzebą stosowania specjalistycznego sprzętu, korozją aparatury oraz toksycznymi odpadami. Dodatkowo budowa anionu cieczy jonowej ma kluczowy wpływ na właściwości katalityczne SILLP, które mogą być może być bardziej lub mniej kwasowe, w zależności od specyficznych wymagań.

W pracy przeglądowej pt.: „*Silica-Based Supported Ionic Liquid-like Phases as Heterogeneous Catalysts*” zaprezentowałam przegląd literatury dotyczącej zastosowania chemicznie immobilizowanych kwasowych cieczy jonowych na materiałach krzemionkowych jako katalizatorów w syntezie organicznej. Opisałam metody immobilizacji AILs na materiałach krzemionkowych, przedstawiłam również metody ich charakterystyki oraz przykłady zastosowania jako katalizatorów z podziałem na SILLP typu Lewisa i Brønsteda w reakcjach syntezy organicznej (np. alkilowanie Friedla-Craftsa, cykloaddycja Dielsa-Aldera, estryfikacja Fischera, utlenianie Bayera-Villigera, transestryfikacja, hydroliza, kondensacja).¹⁴

Enzymy stanowią kolejny typ alternatywnych biokatalizatorów, które znajdują coraz szersze zastosowanie w przemyśle chemicznym.¹⁵ Enzymy to biodegradowalne wielkocząsteczkowe związki zbudowane z uporządkowanej sekwencji od kilkudziesięciu do nawet tysięcy aminokwasów, gdzie centrum aktywne zazwyczaj tworzy jedynie kilka z nich.

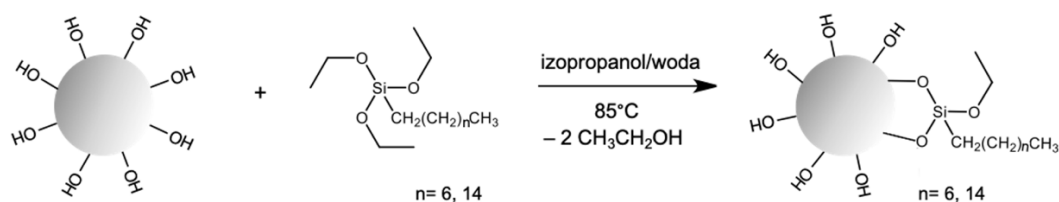
W związku z tym enzymy posiadają unikalną zdolność katalizowania reakcji z wyjątkową selektywnością oraz specyficznością. Dużą zaletą enzymów jest wysoka aktywność, co umożliwia prowadzenie procesów w łagodnych warunkach. Podwyższenie stabilności enzymów w zmiennych warunkach reakcyjnych jest przedmiotem wielu badań.¹⁶

Lipazy są najpowszechniej stosowanymi enzymami w syntezie organicznej ze względu na ich szeroką specyficzność substratową i wysoką enancjoselektywność. Lipazy należą do grupy hydrolaz i są naturalnie odpowiedzialne za hydrolizę trójglicerydów w organizmach żywych. W porównaniu z innymi enzymami wykazują one stosunkowo wysoką stabilność w środowisku organicznym pozwalając na przeprowadzanie procesów w wysokich temperaturach (nawet do 120 °C) i w szerokim zakresie pH. Dzięki temu lipazy zyskały znaczące znaczenie w wielu gałęziach przemysłu chemicznego, takich jak: produkcja farmaceutyków, tekstyliów, biopaliw, polimerów, surfaktantów czy w przemyśle spożywczym oraz piekarniczym.^{17,18} Białka te wykazują zdolność katalizowania reakcji na granicy faz olej-woda dzięki zjawisku zwanemu „aktywacją międzyfazową”. W przypadku większości lipaz centrum aktywne jest osłonięte zewnętrznymi hydrofilowymi, a wewnętrznymi hydrofobowymi wiezkiem. W środowisku hydrofobowym wiezko to częściowo się otwiera, odsłaniając centrum aktywne, które staje się bardziej dostępne dla substratów, co zwiększa efektywność katalizy.¹⁹⁻²⁰

Na aktywność i stabilność lipaz w procesach organicznych wpływa wiele czynników, z których najważniejszym jest obecność niezbędnej ilości wody umożliwiającej lipazom utrzymanie katalitycznej konformacji w środowisku hydrofobowym. Przekroczenie optymalnej ilości wody powoduje natomiast szybszą dezaktywację białka.²¹

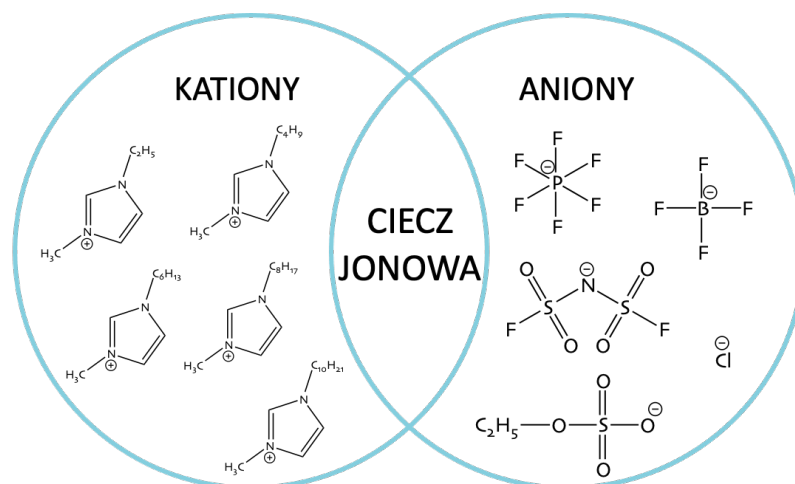
Jedną z metod zwiększenia stabilności lipaz w zmiennych warunkach procesu jest ich immobilizacja na stałej matrycy poprzez oddziaływania fizyczne (adsorpcja, pułapkowanie) lub wiązania chemiczne (związanie kowalencyjne z nośnikiem, sieciowanie). Często immobilizacja enzymów nie tylko zwiększa ich stabilność podczas procesu, ale także powoduje wzrost ich aktywności, selektywności, odporności na uszkodzenia mechaniczne i termiczne oraz umożliwia łatwy zawrót do kolejnego cyklu reakcyjnego. Najpopularniejszą z metod immobilizacji enzymów jest adsorpcja fizyczna na nośniku ze względu na niski koszt i prostotę procedury. Istotnym aspektem podczas immobilizacji danego białka jest dobór właściwego nośnika, który powinien charakteryzować się odpornością mechaniczną i termiczną, dobrze rozwiniętą powierzchnią właściwą i porowatością oraz możliwością modyfikacji powierzchni.²²⁻²⁴

Jedną z najskuteczniejszych metod stabilizacji lipaz jest fizyczna immobilizacja na hydrofobowej matrycy, która jednocześnie zwiększa ich aktywność dzięki mechanizmowi aktywacji międzyfazowej.²⁵⁻²⁷ W związku z tym najczęściej wybieranymi matrycami do immobilizacji lipaz są materiały węglowe (np. węgiel aktywny, nanorurki węglowe) lub materiały polimerowe (np. poli(metakrylan metylu-co-diwinylbenzen)).²²⁻²⁴ W niektórych przypadkach, ze względu na korzystniejszą cenę oraz korzystniejsze właściwości strukturalne, do immobilizacji lipaz wybiera się materiały hydrofilowe, takie jak krzemionka. Obecność grup hydroksylowych na powierzchni krzemionki umożliwia jej funkcjonalizację cząsteczkami hydrofobowymi, takimi jak n-alkilotrietoksylany lub ciecze jonowe, co zapewnia efektywną immobilizację lipaz (Rysunek 6).^{28,29}



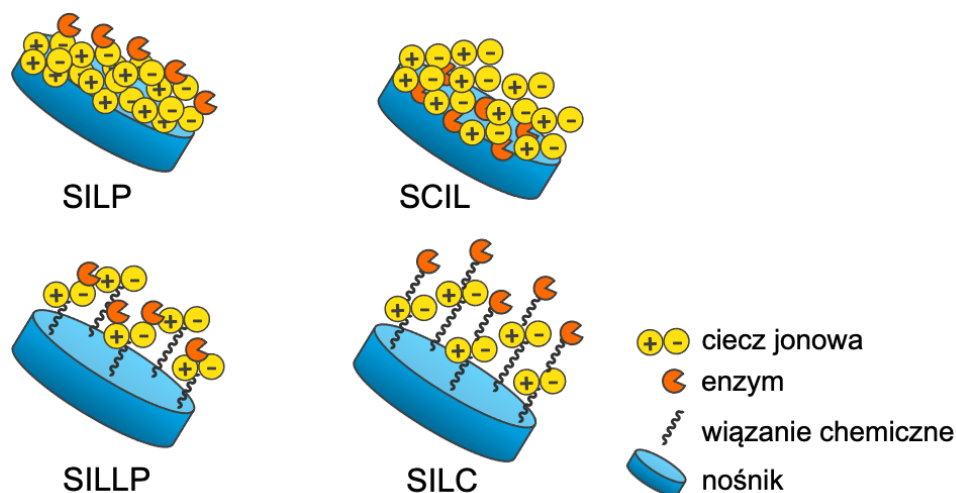
Rysunek 6. Chemiczna funkcjonalizacja materiałów krzemionkowych grupami alkilowymi.

Ciecze jonowe odgrywają istotną rolę w procesie stabilizacji enzymów. Struktura ILs przypomina sieć, w której kationy i aniony są połączone za pomocą wiązań wodorowych, tworząc zarówno regiony polarne, jak i niepolarne. Białka zajmują hydrofilowy obszar supramolekularnej sieci ILs, który jest stabilizowany przez silne interakcje jonowe. Interakcja między enzymami a ILs odgrywa kluczową rolę w stabilizacji złożonej, trójwymiarowej struktury białek. Kluczowe właściwości ILs, które wpływają na aktywność enzymatyczną, to: polarność, hydrofobowość, nukleofilowość anionu, długość łańcucha alkilowego w kationie, zdolność do tworzenia wiązań wodorowych oraz lepkość. Najpopularniejszymi ILs stosowanymi w stabilizacji lipaz są związki oparte o kation imidazoliowy i aniony, takie jak: chlorkowy Cl^- , bis(trifluorometanosulfonowy)imidkowy $[\text{NTf}_2]^-$, dietylosiarczanowy (VI) $[\text{Et}_2\text{SO}_4]^-$, heksafluorofosforanowy $[\text{PF}_6]^-$ i tetrafluoroboranowy $[\text{BF}_4]^-$ (Rysunek 7).^{30,31}



Rysunek 7. Struktury cieczy jonowych stosowanych w stabilizacji enzymów.

Interesującym podejściem jest połączenie techniki immobilizacji białek z ich stabilizacją w środowisku IL. W tej metodzie można wyróżnić cztery różne techniki (Rysunek 8). Pierwsza z nich polega na fizycznym unieruchomieniu enzymu na nośniku, na którym wcześniej została zaadsorbowana ciecz jonowa (SILP), natomiast gdy białko zostanie fizycznie unieruchomione na nośniku chemicznie zmodyfikowanym cieczą jonową, proces ten określa się jako SILLP. Różnica w syntezie opisanych nośników polega na odmiennym podejściu do unieruchomienia cieczy jonowej na matrycy: dla SILP jest to sposób fizyczny, a dla SILLP poprzez wiązanie kowalencyjne. Inne rozwiązanie zakłada unieruchomienie enzymu na stałej matrycy, która następnie jest pokrywana warstwą cieczy jonowej (z ang. *Solid Catalyst with Ionic Liquid Layer*, SCIL), a ostatnia technika polega na przyłączeniu enzymu, poprzez wiązanie kowalencyjne, do grup cieczy jonowej, które są chemicznie osadzone na stałej matrycy (z ang. *Supported Ionic Liquid Catalyst*, SILC). Wykorzystanie nośników modyfikowanych cieczami jonowymi do immobilizacji lipaz minimalizuje ryzyko wymywania enzymów z matrycy, a dzięki zdolności cieczy jonowej do utrzymania aktywnej konformacji lipazy, można znacząco poprawić aktywność, stabilność i możliwość wielokrotnego użycia immobilizowanych enzymów.^{29,32}



Rysunek 8. Techniki stabilizacji enzymów na nośnikach modyfikowanych cieczami jonowymi.

W pracy przeglądowej pt.: „*Ionic Liquids for Development of Heterogeneous Catalysts Based on Nanomaterials for Biocatalysis*” zaprezentowałam przegląd literatury dotyczącej zastosowania fizycznie immobilizowanych enzymów na nośnikach typu SILP i SILLP jako biokatalizatorów w syntezie organicznej. Przedstawiłam metody immobilizacji enzymów na materiałach modyfikowanych ILS, opisałam czynniki wpływające na stabilizację enzymów w ILS oraz przykłady zastosowania biokatalizatorów typu SILP i SILLP w reakcjach syntezy organicznej ze szczególnym wyróżnieniem nośników opartych o nanomateriały.³³ Dodatkowo przedstawiłam krytyczne spojrzenie na zastosowanie biokatalizatorów typu SILP i SILLP w syntezie organicznej wraz z perspektywami rozwoju tej ścieżki badawczej w komentarzu naukowym pt.: „*Supported Ionic Liquid Phase for Biocatalysis: The Current Applications, Synthesis and Prospects*”. Kluczowym aspektem dotyczącym układów biokatalitycznych typu SILP i SILLP jest ocena cyklu życia, analiza egzergii oraz analiza energetyczna. To cenne narzędzia do oceny wpływu na środowisko opracowanej technologii oraz zrównoważonego rozwoju powinny zostać używane do oceny każdego biokatalizatora typu SILP i SILLP.³⁴

Podsumowując, wpisując się w nurt transformacji przemysłu chemicznego w kierunku zrównoważonych technologii i poszukiwania nowych, wysoce selektywnych, aktywnych i stabilnych układów katalitycznych dla procesów z sektora lekkiej syntezy organicznej, w ramach pracy doktorskiej zaprezentowałam nowe układy katalityczne (Tabela 1), które zostały wykorzystane w modelowych procesach syntezy związków z grupy *fine chemicals*.

Tabela 1. Nowe układy katalityczne opracowane w ramach pracy doktorskiej zastosowane w wybranych procesach chemicznych.

Lp.	Katalizator (skrót)	Reakcja modelowa	System
1	Katalizator typu SILLP oparty o trifloglinianową ciecz jonową oraz krzemionkę (SILLP(1)/[tespmim][OTf-Al(OTf) ₃]) ³⁵	Cykloaddycja Dielsa-Aldera	Okresowy oraz ciągły
2	Biokatalizator typu SILLP oparty o lipazę z <i>Aspergillus oryzae</i> oraz materiały krzemionkowe (SiO ₂ /Mg(1:1)/[tespmim][NTf ₂]/LAO) ³⁶	Rozdział kinetyczny racematu ibuprofenu	Okresowy
3	Biokatalizator oparty o lipazę z <i>Aspergillus oryzae</i> oraz hybrydowy materiał krzemionkowy modyfikowany grupami alkilowymi (MgO-SiO ₂ -C8-LAO) ³⁷	Estryfikacja alkoholu furfurylowego i wyższych kwasów tłuszczowych	Okresowy oraz ciągły

Zaprojektowane przeze mnie katalizatory heterogeniczne oparte są o fazy aktywne składające się z kwasowych cieczy jonowych typu Lewisa lub lipaz oraz ich nośniki w postaci materiałów krzemionkowych. Ich potencjał katalityczny został zaprezentowany zarówno w układach reakcyjnych ciągłych jak i okresowych.

W szczególności w ramach niniejszej pracy doktorskiej opracowałam następujące układy katalityczne (Tabela 1):

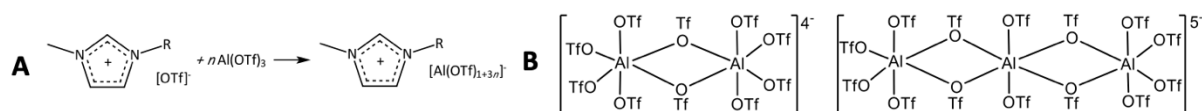
- katalizator typu SILLP oparty o imidazoliową trifloglinianową ciecz jonową oraz mezoporowatą krzemionkę o hierarchicznej strukturze porów zastosowany w cykloaddycji Dielsa-Aldera bezwodnika maleinowego i innych dienów w układzie okresowym oraz ciągłym,³⁵
- biokatalizator typu SILLP oparty o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz hybrydowe materiały krzemionkowe zastosowany w rozdziale kinetycznym racematu ibuprofenu poprzez enancjoselektywną estryfikację w układzie okresowym,³⁶
- biokatalizator oparty o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz hybrydowy materiał krzemionkowy modyfikowany grupami oktylowymi zastosowany w estryfikacji alkoholu furfurylowego i wyższych kwasów tłuszczowych w układzie okresowym oraz ciągłym.³⁷

W wyniku realizacji pracy doktorskiej powstały dwie prace przeglądowe,^{14,33} komentarz naukowy³⁴ (opisane powyżej) oraz 3 publikacje opisujące wyniki badań.³⁵⁻³⁷ Poniżej zostaną przedstawione najważniejsze osiągnięcia uzyskane w ramach publikacji wyników badań. Szczegółowe informacje znajdują się w załączonych do przewodnika publikacjach.

II OMÓWIENIE WYNIKÓW

1. Synteza, charakterystyka oraz zastosowanie katalizatora typu SILLP opartego o trifloglinianową ciecz jonową i krzemionkę o multimodalnej porowatości w reakcji Dielsa-Aldera w systemie okresowym oraz ciągłym.

Wprowadzenie metalu (np. Al, Fe, Sn, In) do struktury cieczy jonowej zapobiega jego wymywaniu się podczas procesu, dzięki czemu otrzymywane są produkty o wysokiej czystości, co jest istotnym aspektem w szczególności w syntezie farmaceutyków. Dotychczas stosowane i szeroko opisane w literaturze chlorometaliczne ciecze jonowe wykazywały niską stabilność hydrolityczną.^{14,38,39} Poszukiwania stabilniejszych ILs na bazie metali doprowadziły do opracowania trifloglinianowych odpowiedników chlorometalicznych ILs.^{37,38}



Rysunek 9. Schemat syntezy imidazoliowej trifloglinianowej cieczy jonowej (A). Prawdopodobne struktury anionów występujące w trifloglinianowej cieczy jonowej, blisko maksymalnego stężenia of $\text{Al}(\text{OTf})_3$: $[\text{Al}_2(\text{OTf})_{10}]^{4-}$ and $[\text{Al}_3(\text{OTf})_{14}]^{5-}$ (B).

Trifloglinianowe ILs otrzymuje się w reakcji kompleksowania triflanu glinu i triflanowej imidazoliowej cieczy jonowej, np. triflanu1-etylo-3-metyloimidazoliowego w 85 °C, przy ułamku molowym triflanu glinu w cieczy jonowej $\chi\text{Al}(\text{OTf})_3$ wynoszącym 0,15 lub 0,25 (Rysunek 9A). Wcześniejsze badania prowadzone w naszej grupie wykazały, że trifloglinianowe ILs składają się z sześciokrotnie skoordynowanego atomu glinu w wielokrotnie naładowanych, oligonuklearnych kompleksach anionowych, wykazujących różne sposoby mostkowania anionu triflanowego (Rysunek 9B). Kwasowość Lewisa trifloglinianowych IL została zmierzona za pomocą wyznaczenia liczby akceptorowej Gutmanna (AN), która klasyfikuje je jako kwasy Lewisa o średniej mocy (AN = ok. 65).⁴⁰

Trifloglinianowe ILs zostały już wykorzystane w katalizie, w szczególności ich fizycznie immobilizowane na wielościennych nanorurkach węglowych formy zostały użyte w syntezie chromanów otrzymując wysokie wartości konwersji 2,4-dimetylofenolu (99%) oraz selektywności do 2,2-dimetylo-2,4-dimetylochromanu (84%).⁴⁰ Ten sam układ katalityczny wykorzystano do produkcji lewulinianu butylu z laktonu α -angelika obserwując pełne

przereagowanie surowca oraz 100% selektywności otrzymywania estru.⁴¹ W poprzednich badaniach prowadzonych z moim udziałem, trifloglinianowa IL została unieruchomiona za pomocą wiązań kowalencyjnych na powierzchni krzemionki oraz hybrydowych materiałów krzemionkowych (CaO-SiO₂, MgO-SiO₂) i zastosowana w aminolizie epoksydów w systemie okresowym oraz ciągłym. W obecności katalizatora SILLP opartego na MgO-SiO₂ osiągnięto 81,1% przereagowania tlenku styrenu z selektywnością do 2-anilino-1-fenyletanolu wynoszącą 95,9% w ciągu 72 h w układzie przepływowym.⁴²

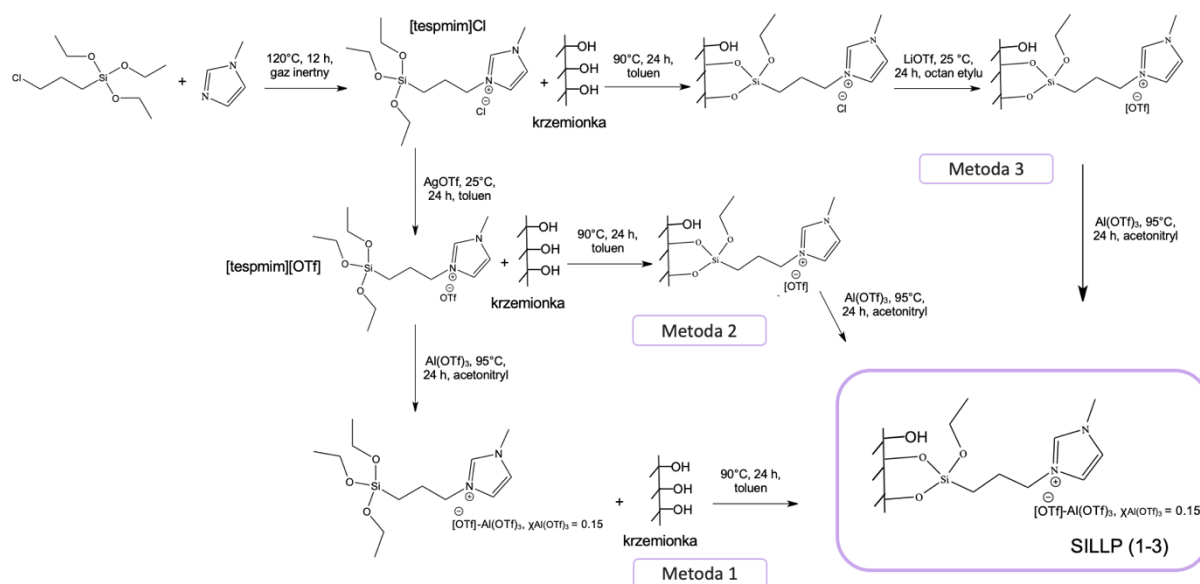
Celem niniejszych badań było opracowanie optymalnej metody chemicznej immobilizacji imidazoliowych trifloglinianowych ILs na powierzchni krzemionki dla uzyskania stabilnego układu katalitycznego o dużym potencjale aplikacyjnym.

1.1. Synteza i charakterystyka katalizatora typu SILLP opartego o imidazoliową trifloglinianową ciecz jonową i krzemionkę o multimodalnej porowatości.

We wcześniejszych doniesieniach literaturowych zauważono, że podczas unieruchamiania chloroglinianowych ILs za pomocą grup trietoksylilowych zlokalizowanych w kationie i następczego kompleksowania anionu już na powierzchni nośnika poprzez dodawanie chlorku glinu, jako ubocznie mogą tworzyć się wiązania między glinem a tlenem znajdującym się na powierzchni krzemionki i wewnątrz jej porów. Prowadzi to do bezpośredniego przywiązania AlCl₃ do powierzchni krzemionki, co obniża aktywność powstałego katalizatora.^{11,14}

W związku z powyższym głównym celem tej części badań w ramach pracy doktorskiej było ustalenie optymalnej kolejności etapów stosowanych w syntezie układów typu SILLP z wykorzystaniem trifloglinianowych cieczy jonowych (Schemat 1).

Do badań wybrałam krzemionkę o multimodalnej hierarchicznej strukturze porów z makroporami, małymi mezoporami o średnicy 4 nm i większymi o rozmiarze 36 nm oraz powierzchni właściwej równej 284,2 m²g⁻¹. Wybór tego typu materiału był uzasadniony jego dobrze rozwiniętą powierzchnią właściwą zapewniającą efektywną immobilizację trifloglinianowych ILs. Dodatkowo wysoce rozbudowana porowatość multimodalnej krzemionki usprawnia transport masy podczas katalizy oraz intensyfikuje mieszanie i przepływ reagentów przez materiał poprawiając właściwości katalityczne w systemie przepływowym. Krzemionka do prowadzonych przeze mnie badań została zsyntezowana przez Panią dr hab. inż. Katarzynę Szymańską, prof. Politechniki Śląskiej.



Schemat 1. Synteza katalizatorów typu SILLP (1–3) za pomocą trzech różnych ścieżek.

W każdej wybranej przeze mnie ścieżce (Metoda 1-3) otrzymywania katalizatora (SILP 1-3) wykorzystałam jako pierwszy etap syntezy [tespmim]Cl w celu wprowadzenia grupy trietoksylowej do struktury cieczy jonowej pełniącej funkcję łącznika z grupami hydroksylowymi na powierzchni krzemionki. Dla wszystkich metod zastosowałam ciecz jonową zawierającą odpowiednią ilość triflanu glinu, $\chi_{\text{Al(OTf)}_3} = 0,15$ (ułamek molowy Al(OTf)_3 użyty do kompleksowania anionu $[\text{OTf}]^-$), aby zaprojektować katalizator o średniej sile kwasowości Lewisa. Zawartość przywiązanej IL oraz Al(OTf)_3 do materiału krzemionkowego została oznaczona za pomocą analizy termogravimetrycznej (TGA).

Pierwsza metoda (Metoda 1) syntezy SILLP (1) polega na tym, że w pierwszym kroku syntezuje się trifloglinianową ciecz jonową ($[\text{tespmim}][\text{OTf-Al(OTf)}_3]$, $\chi_{\text{Al(OTf)}_3} = 0,15$), poprzez wymianę anionu $[\text{tespmim}]\text{Cl}$ z triflanem srebra (1:1, n/n), reakcją kompleksowania z triflanem glinu ($\chi_{\text{Al(OTf)}_3} = 0,15$) w temperaturze 95 °C. W następnym kroku następuje chemiczna immobilizacja IL na powierzchni krzemionki w toluenie w temperaturze 90 °C (zawartość IL 25,3 wt%). Następne podejście (**Metoda 2** do syntezy SILLP (2)) zakłada najpierw syntezy $[\text{tespmim}][\text{OTf}]$, następnie chemiczną immobilizację cieczy jonowej na powierzchni krzemionki (zawartość IL 19,2 wt%) i kolejno kompleksowanie anionu poprzez dodanie triflanu glinu ($\chi_{\text{Al(OTf)}_3} = 0,15$) w acetonitrylu w temperaturze 95 °C (zawartość IL 19,2 wt%). **Metoda 3** syntezy SILLP (3) polega na bezpośrednim przywiązaniu $[\text{tespmim}]\text{Cl}$ do powierzchni krzemionki

(zawartość IL 19,7 wt%), następnie wymianie anionu chlorkowego na triflanowy poprzez działanie LiOTf w octanie etylu (zawartość IL 19,7 wt%), kończąc na kompleksowaniu z triflanem glinu ($\chi\text{Al}(\text{OTf})_3 = 0,15$) w acetonitrylu w temperaturze 95 °C (zawartość IL 19,7 wt%). Wszystkie trzy metody prowadziły do otrzymania materiałów SILLP o właściwościach katalitycznych. Dla dalszych celów porównawczych zsyntezowałam również triflan glinu przewiązany do krzemionki ($\text{SiO}_2\text{-Al}(\text{OTf})_3$) poprzez rozpuszczenie w acetonitrylu i mieszanie w temperaturze 90 °C (zawartość $\text{Al}(\text{OTf})_3$ 36,5 wt%) z następczym sączeniem. W Tabeli 1 przedstawiono charakterystykę zsyntezowanych materiałów.

Tabela 2. Charakterystyka zsyntezowanych materiałów typu SILLP i krzemionki o multimodalnej porowatości.

Materiał	S_{BET} , (m^2g^{-1})	V_p , (cm^3g^{-1})	d_p , (nm)	IL zawartość, (wt% ± 0.3) ^a	Al stężenie (zmierzone) ($\text{mgL}^{-1} \pm 2\%$) ^b	Al stężenie (teoretyczne) (mgL^{-1})
SiO_2	284,2	1,12	36	-	-	-
SILLP (1)	92,9	0,55	28	25,3	1,14	1,18
SILLP (2)	113,7	0,59	28	19,2	1,70	1,79
SILLP (3)	109,7	0,61	28	19,7	1,74	1,83

^aanalizowane za pomocą TGA, odchylenie standardowe z 3 prób; ^banalizowane za pomocą ICP, odchylenie standardowe z 3 prób.

W celu dokonania pełnej charakterystyki otrzymanych materiałów typu SILLP zostały przeprowadzone następujące analizy: analiza termogravimetryczna, analiza atomowej spektrometrii emisyjnej (ICP), analiza adsorpcji – desorpcji metodami Barrett-Joyner-Halenda (BJH) i Brunauer-Emmett-Tellera (BET), analiza skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) sprzężonej z spektrometrią dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDX) oraz analiza spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego ciała stałego krzemu (^{29}Si MAS NMR). Zawartość [tespmim][OTf-Al(OTf)₃], $\chi\text{Al}(\text{OTf})_3 = 0,15$ unieruchomionej na krzemionce o multimodalnej porowatości została zmierzona za pomocą TGA (Tabela 2). Najwyższą zawartość IL uzyskano dla SILLP (1) wynoszącą 25,3 wt%, podczas gdy dla SILLP (2) i SILLP (3) wartości wynosiły odpowiednio 19,7 wt% i 19,2 wt%. Analiza ICP również potwierdziła wysoką efektywność kompleksowania triflanu glinu z anionem IL niezależnie od stosowanej metody syntezy SILLP (Tabela 2). Mniejsze zawartości IL w przypadku SILLP (2–3) mogą sugerować mniejsze powinowactwo konkretnych cieczy jonowych (w zależności od budowy anionu, Cl^- lub $[\text{OTf}]^-$) do powierzchni krzemionki, co utrudniło ich immobilizację.

Po unieruchomieniu IL na powierzchni krzemionki zaobserwowałam obniżenie powierzchni właściwej BET we wszystkich materiałach SILLP, co potwierdza obecność IL na powierzchni nośnika (Tabela 2). Modyfikacja krzemionki o multimodalnej porowatości cieczą jonową doprowadziła do zmniejszenia rozmiaru i objętości porów, co potwierdziłam za pomocą analizy BJH. Krzemionka wykazuje małe mezopory (4 nm), większe mezopory (36 nm) zgodnie z diagramem rozkładu wielkości porów oraz makropory widoczne na obrazach SEM. W przypadku materiałów SILLP (1–3) widoczne są większe mezopory wraz z makroporami. Izotermy adsorpcji-desorpcji dla krzemionki i SILLP (1–3) wykazują podobny charakter typu IV, typowy dla materiałów mezoporowatych, co stanowi dowód na zachowanie charakterystyki materiału pomimo modyfikacji. Dobrze rozwinięta porowatość SILLP (1–3) jest wyraźnie widoczna na obrazach SEM, uzupełnionych analizami EDX, które pokazują obecność nowych pierwiastków, takich jak Al, C, N, S, na powierzchni materiału.

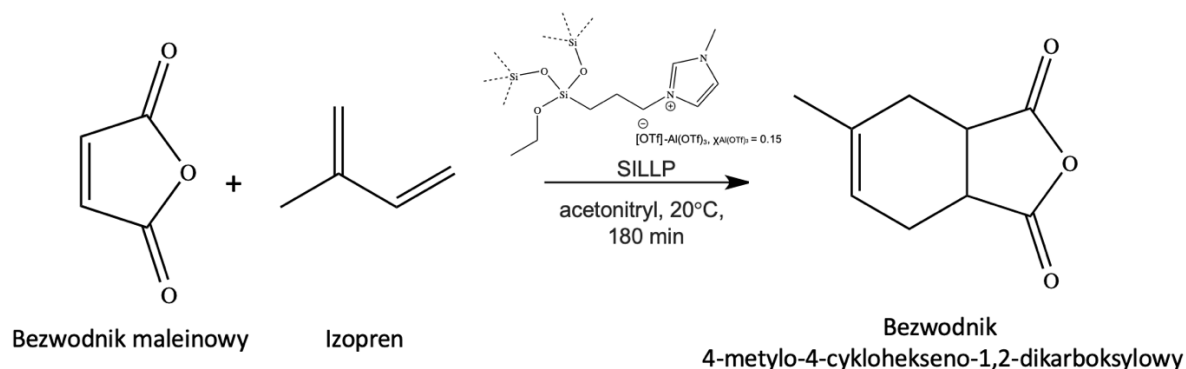
Chemiczne przywiązanie [tespmim][OTf-Al(OTf)₃], $\chi_{\text{Al(OTf)}_3} = 0,15$ do powierzchni krzemionki zostało potwierdzone za pomocą ²⁹Si MAS NMR. Widma MAS NMR wskazują na zanik sygnałów pochodzących od grup (SiO)₂Si-(OH)₂ i (SiO)₃Si-OH oraz pojawienie się nowego sygnału przy -66 ppm.

1.2. Badanie wpływu wybranych parametrów na przebieg reakcji Dielsa-Aldera w obecności katalizatora typu SILLP w układzie okresowym.

Aktywność katalityczna heterogenicznych materiałów typu SILLP (1–3) została przeze mnie przetestowana w modelowej reakcji Dielsa-Aldera pomiędzy bezwodnikiem maleinowym (MA) a izoprenem (Schemat 2). Cykloaddukty powstające podczas reakcji Dielsa-Aldera są głównie wykorzystywane jako półprodukty w produkcji farmaceutyków, agrochemikaliów, aromatów, zapachów, surfaktantów lub polimerów pochodzenia biologicznego.^{43,44} Reakcja Dielsa-Aldera jest zazwyczaj przeprowadzana przy użyciu szkodliwych rozpuszczalników organicznych i często wymaga długich czasów reakcji oraz podwyższonego ciśnienia.⁴⁵⁻⁴⁷

Stosując wszystkie typy katalizatorów SILLP 1–3 uzyskałam bardzo wysokie wartości konwersji MA wynoszące 97,5% po 180 min ze 100% selektywnością do cykloadduktu (Tabela 3). Aktywność katalityczna tych związków nie różniła się od aktywności wolnej immobilizowanej cieczy jonowej. Dodatkowo w porównaniu do triflanu glinu oraz immobilizowanego triflanu glinu, opracowane katalizatory wykazywały wyższą aktywność w badanym procesie. Wyższa zawartość fazy aktywnej na krzemionce o multimodalnej porowatości (36,5 wt%) spowodowała

pogorszenie przepływu wolnych reagentów przez materiał, a w konsekwencji do spadku wydajności katalitycznej $\text{SiO}_2\text{-Al}(\text{OTf})_3$.



Schemat 2. Schemat reakcji modelowej Dielsa-Aldera zachodzącej w obecności opracowanego katalizatora typu SILLP.

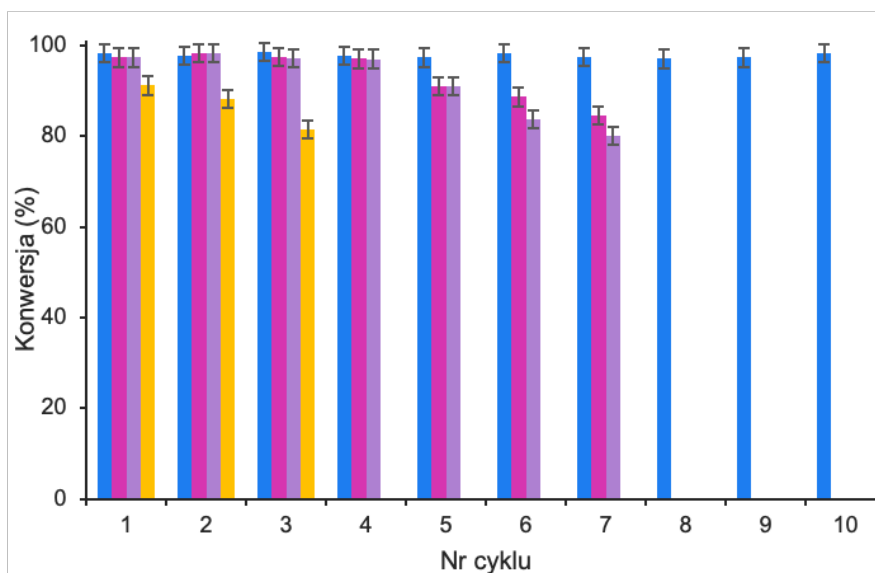
Tabela 3. Wpływ struktury katalizatorów opartych na $\text{Al}(\text{OTf})_3$ na aktywność katalityczną w reakcji modelowej Dielsa-Aldera.

Katalizator	Czas (min)	Konwersja MA (%)
SILLP (1)	180	97,45
SILLP (2)	180	97,31
SILLP (3)	180	97,45
$\text{SiO}_2\text{-Al}(\text{OTf})_3$	240	91,17
$[\text{tespmim}][\text{OTf-Al}(\text{OTf})_3]$	180	95,57
$\text{Al}(\text{OTf})_3$	240	84,01

Warunki reakcji: izopren 3 mmol, MA 2 mmol, acetonitryl 0,5 mL, katalizator SILLP (1–3), $\text{SiO}_2\text{-Al}(\text{OTf})_3$, $\text{Al}(\text{OTf})_3$ lub $[\text{tespmim}][\text{OTf-Al}(\text{OTf})_3]$ 0,1 mol% $\text{Al}(\text{OTf})_3$ względem MA, 20 °C. Konwersję MA analizowałam za pomocą chromatografii gazowej GC.

Biorąc pod uwagę brak różnic w aktywności katalitycznej pomiędzy otrzymanymi materiałami SILLP (1–3) na tym etapie badań, wybrałam SILLP (1) do dalszej optymalizacji warunków reakcji. Zastosowanie wyższej temperatury (40 °C) doprowadziło do niemal pełnej konwersji (97,8%) MA po 120 min, natomiast zaobserwowałam pojawienie się ciemnej barwy w mieszaninie reakcyjnej, prawdopodobnie wynikającej z częściowej polimeryzacji nadmiarowego izoprenu. Badania doboru rozpuszczalnika koniecznego do rozpuszczenia stałego bezwodnika maleinowego obejmowały zastosowanie: acetonitrylu, dichlorometanu i octanu etylu, gdyż MA nie rozpuszcza się w toluenie, heksanie, cykloheksanie, izopropanolu i eterze dietylowym. Podobne stopnie przereagowania MA uzyskano przy użyciu acetonitrylu i dichlorometanu (97,5% po 180 min), a dla octanu etylu konwersja MA wyniosła 89,4% po

180 min. Ze względu na konieczność eliminacji chlorowanych rozpuszczalników w trakcie projektowania zielonych technologii do dalszych badań używałam acetonitrylu. Badania nad wpływem ilości rozpuszczalnika na konwersję MA wykazały, że 0,5 ml acetonitrylu jest optymalną ilością stosowaną na 2 mmol bezwodnika maleinowego (4 mmol mL^{-3}). Mniejsze ilości utrudniały efektywne mieszanie reagentów ze względu na dużą objętość katalizatora. Następnie określiłam wpływ stosunku molowego MA do izoprenu na jego konwersję. Najkorzystniejszy wynik uzyskałam przy stosunku molowym 1:1,5 MA: izopren. Dalsze zwiększenie ilości izoprenu nie wpływało na zwiększenie stopnia konwersji MA. Finalnie zbadałam wpływ ilości katalizatora na przebieg reakcji modelowej. Otrzymane wyniki wskazały, że zastosowanie 0,1 mol% $\text{Al}(\text{OTf})_3$ na 2 mmol MA wystarcza do osiągnięcia 97,5% przereagowania MA w 180 min. Mniejsze ilości nie były wystarczające, aby uzyskać prawie pełną konwersję substratu.



Wykres 1. Badanie zawrotu katalizatorów SILLP (1–3) oraz $\text{SiO}_2\text{-Al}(\text{OTf})_3$ w reakcji modelowej Dielsa-Aldera (SILLP (1) – niebieski; SILLP (2) – różowy; SILLP (3) – fioletowy; $\text{SiO}_2\text{-Al}(\text{OTf})_3$ – żółty). Warunki reakcji: izopren 3 mmol, MA 2 mmol, acetonitryl 0,5 mL, katalizator SILLP (1–3) lub $\text{SiO}_2\text{-Al}(\text{OTf})_3$ 0,1 mol% $\text{Al}(\text{OTf})_3$ względem MA, 20 °C, czas procesu 180 min. Konwersję MA analizowałam za pomocą GC.

Kolejnym krokiem było wykazanie stabilności otrzymanych katalizatorów SILLP w 10 kolejnych cyklach reakcji Dielsa-Aldera w opracowanych warunkach. Po każdym zakończonym cyklu katalizator był odfiltrowywany, przemywany acetonitrylem, suszony na linii Schlenka i wykorzystywany ponownie. Tym razem różnice w aktywności katalitycznej były wyraźne, co pokazało znaczenie kolejności etapów modyfikacji powierzchni krzemionki trifloglinianową

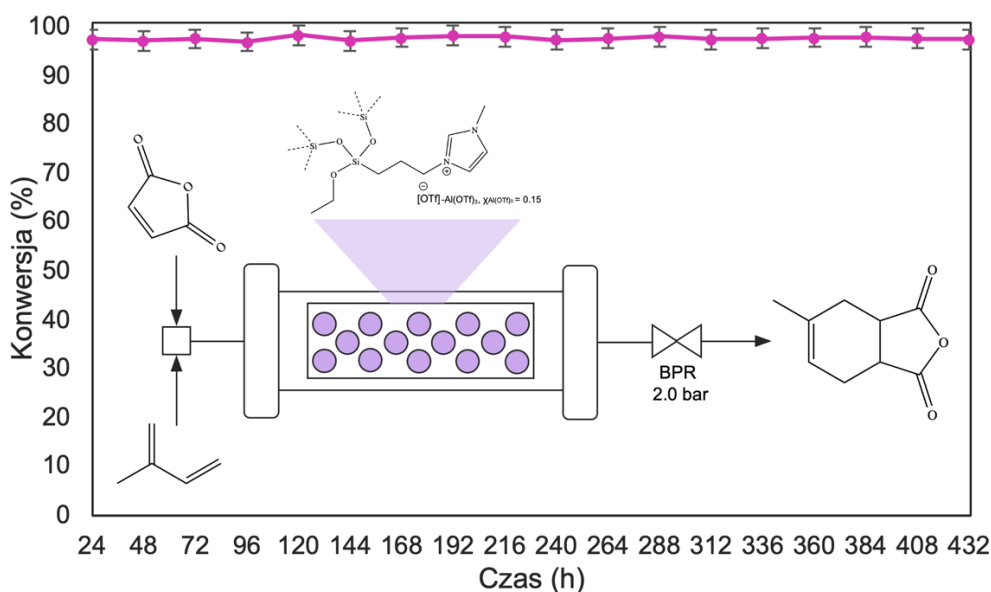
cieczą jonową (Wykres 1). Najwyższą stabilność wykazał materiał SILLP (1), który utrzymywał aktywność we wszystkich badanych cyklach. SILLP (2) i SILLP (3) zaczęły tracić aktywność w piątym cyklu reakcji, a konwersja MA po 180 min spadła odpowiednio do 91,1% i 90,9%. Warto podkreślić, że oba materiały zostały zsyntezowane z kompleksowaniem triflanu glinu po immobilizacji IL ([tespmim][OTf] dla SILLP (2) lub [tespmim]Cl dla SILLP (3)) na powierzchni krzemionki. Może to wskazywać, że niektóre cząsteczki triflanu glinu zostały unieruchomione bezpośrednio na powierzchni krzemionki i częściowo reakcja kompleksowania nie miała miejsca, bądź niektóre fragmenty [tespmim][OTf]-Al(OTf)₃, χ Al(OTf)₃ = 0.15 zostały wymyte z matrycy nośnika (zawartość IL wyniosła 10,8 wt% dla SILLP (2) i 9,2 wt% dla SILLP (3) po czwartym cyklu). Katalizator SILLP (1) zachował prawie taką samą ilość IL (25,1 wt%) jak przed recyklem (25,3 wt%). Przeprowadzone przez mnie badania zawrotu katalizatorów wykazały także, że wprowadzenie triflanu glinu do struktury cieczy jonowej zwiększa jego stabilność i zapobiega wymywaniu z materiału. Potwierdziły to próby zawrotu SiO₂-Al(OTf)₃, gdzie triflan glinu jest bezpośrednio związany z powierzchnią. Dla tego katalizatora konwersja MA wyniosła jedynie 82% po 180 min w trzecim cyklu reakcyjnym.

Podsumowując, najbardziej stabilnym układem katalitycznym był SILLP (1) otrzymany w następującej sekwencji reakcji: synteza trifloglinianowej cieczy jonowej, a następnie jej chemiczne związanie z powierzchnią krzemionki.

Ważnym aspektem w trakcie opracowywania technologii jest również uniwersalność badanego układu katalitycznego. Przeprowadziłam szereg reakcji cykloaddycji z zastosowaniem różnych dienów (np. izopren, cyklopentadien, β -myrcen, ocimen) i dienofili (np. bezwodnik maleinowy, akrylan metylu, akrylan etylu) w obecności katalizatora SILLP (1). Uzyskano całkowite konwersje w czasie 1–300 min w temperaturze 20 °C, gdzie konwersja badanych substratów mieściła się w zakresie 80,2–98,7 %.

1.3. Transformacja procesu Dielsa-Aldera przebiegającego w obecności katalizatora typu SILLP z systemu okresowego na ciągły.

Na podstawie obiecujących wyników uzyskanych w układzie okresowym opracowany katalizator trifloglinianowy SILLP (1) został przetestowany w trybie ciągłym. Eksperymenty przeprowadzałam w pełni zautomatyzowanym kolumnowym reaktorze przepływowym Syrris Asia, wyposażonym w dwie pompy. Pompa A pompowała roztwór bezwodnika maleinowego w acetonitrylu, podczas gdy pompa B – izopren. Strumienie reagentów były łączone w standardowym mikserze typu T, a następnie były kierowane do reaktora kolumnowego wypełnionego 0,3 g materiału SILLP (1) (Wykres 2).



Wykres 2. Stabilność katalityczna SILLP (1) w cykloaddycji Dielsa-Aldera między MA a izoprenem w systemie przepływowym. Warunki reakcji: izopren $0,007 \text{ mLmin}^{-1}$, MA $0,023 \text{ mLmin}^{-1}$ (2 M w acetonitrylu), katalizator SILLP (1) 0,3 g, $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Konwersję MA analizowałam za pomocą GC.

Wpływ molowego stosunku substratów na konwersję MA badałam w zakresie od 1:1 do 1:2,5 (MA : izopren) dla całkowitego przepływu reagentów wynoszącego $0,06 \text{ mLmin}^{-1}$. Konwersja bezwodnika maleinowego rosła wraz z nadmiarem izoprenu aż do osiągnięcia optymalnego stosunku molowego 1:1,5 MA do izoprenu. Dalsze zwiększanie stosunku molowego substratów nie prowadziło do wyższej konwersji MA. Wszystkie badania optymalizacyjne prowadziłam przez 48 h, a ustalenie stanu stacjonarnego następowało w bardzo krótkim czasie).

Wpływ czasu przebywania na konwersję MA określiłam dla stosunku molowego 1:1,5 MA do izoprenu przy całkowitym przepływie od 0,03 do 0,06 mLmin⁻¹. Wydłużenie czasu przebywania z 18,3 do 36,7 min skutkowało wyższą wydajnością katalizatora, a konwersja substratu wzrosła z około 78% do 97%. Bezpośrednie porównanie czasów przebywania dla systemów okresowego i przepływowego wykazało lepszą efektywność syntezy w przepływie. We wszystkich przeprowadzonych eksperymentach w systemie ciągłym zaobserwowałam stabilną aktywność katalityczną co najmniej przez 48 h trwania procesu.

Wyjątkowa stabilność trifloglinianowego materiału SILLP (1) w testach okresowych i przepływowych skłoniła do badań nad długoterminową stabilnością katalizatora. Eksperyment przeprowadziłam w wyznaczonych korzystnych warunkach, przy stosunku molowym 1:1,5 MA do izoprenu, przy całkowitym przepływie 0,06 mLmin⁻¹ w temperaturze 20 °C (Rysunek 7). Opracowany katalizator SILLP (1) wykazał niezwykle stabilną aktywność, osiągając 97% konwersji MA przez 432 h z TOF (z ang. *Turnover Frequency*) wynoszącym 104,3 h⁻¹. Wyjątkowa aktywność katalizatora SILLP (1) w warunkach przepływowych może być wyjaśniona zastosowaniem krzemionki o multimodalnej porowatości jako nośnika dla IL. Wysoka porowatość krzemionki intensyfikowała mieszanie reagentów i przepływ przez materiał, poprawiając właściwości katalityczne.

Podsumowując, w przedstawionych badaniach wykazałam, że kolejność wprowadzania fazy aktywnej na powierzchnię nośnika ma kluczowe znaczenie. W ramach badań przeprowadziłam optymalizację syntezy katalizatora typu SILLP opartego o imidazoliową trifloglinianową IL oraz krzemionkę o multimodalnej porowatości, co umożliwiło otrzymanie wysoce aktywnego i stabilnego katalizatora. Metoda zakładająca początkową syntezę trifloglinianowej cieczy jonowej, a następnie jej związanie z powierzchnią krzemionki (zawartość IL 25,3 wt%) pozwoliła na otrzymanie katalizatora, dla którego zaobserwowałam konwersję MA wynoszącą 97% w dziesięciu cyklach reakcyjnych. Transformacja modelowej reakcji Dielsa-Aldera na tryb ciągły doprowadziła do 97% konwersji MA przez 432 h (TOF 104,3 h⁻¹). W tej pracy, dzięki dokładnemu przeanalizowaniu syntezy trifloglinianowych materiałów SILLP osiągnięto wysoce wydajny i stabilny katalizator, który umożliwił opracowanie technologii syntezy cykloadduktów Dielsa-Aldera w systemie okresowym oraz ciągłym.

2. Synteza, charakterystyka oraz zastosowanie biokatalizatora typu SILLP opartego o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz hybrydowy materiał krzemionkowy modyfikowany imidazoliową cieczą jonową w rozdziale kinetycznym racematu ibuprofenu w systemie okresowym.

Projektowanie nośników do immobilizacji lipaz, które zwiększają ich stabilność i aktywność w procesie, stanowi obecnie kluczowy obszar badań. Unieruchomienie białka na stałej matrycy nie tylko poprawia jego właściwości, ale także umożliwia łatwą separację z mieszaniny reakcyjnej oraz ponowne wykorzystanie w kolejnych cyklach reakcji, co jest istotnym aspektem podczas syntezy farmaceutyków, których wysoka czystość jest szczególnie pożądana.¹ Wiele z nich należy do związków chiralnych, a ich przemysłowa produkcja początkowo prowadzi często do powstania racematów, czyli mieszaniny równych ilości molowych obu enancjomerów. W większości przypadków dwa enancjomery tego samego związku różnią się od siebie pod względem efektów terapeutycznych i toksykologii. Z tego względu enancjoselektywna konwersja chiralnych farmaceutyków jest przedmiotem istotnego zainteresowania środowiska naukowego.

Ibuprofen, lek przeciwbólowy i przeciwgorączkowy, jest jednym z najbardziej powszechnie stosowanych chiralnych farmaceutyków. Dwa enancjomery ibuprofenu, (*R*)-(-)-ibuprofen i (*S*)-(+)-ibuprofen, wykazują znacznie różniące się właściwości farmakologiczne i profile metaboliczne. Enancjomer (*S*)-(+)-ibuprofenu ma pożądane działanie farmakologiczne i jest zdolny do inhibicji cyklooksygenazy (COX), podczas gdy (*R*)-(-)-ibuprofen nie jest inhibitorem COX i odpowiada za intensyfikację procesu zapalnego. Enancjomer (*S*)-(+)-ibuprofenu jest 160 razy bardziej aktywny terapeutycznie niż (*R*)-(-)-ibuprofen, a dodatkowo (*R*)-(-)-ibuprofen może powodować potencjalne skutki uboczne.^{48,49}

Rozdział mieszaniny racemicznej ibuprofenu może być osiągnięty w rozdziale kinetycznym poprzez enzymatyczną estryfikację, wysokosprawną chromatografię cieczową lub krystalizację diastereoizomeryczną. Rozdział kinetyczny racematu ibuprofenu poprzez estryfikację polega na wykorzystaniu różnic w szybkości reakcji enancjomerów z alkoholem w obecności enancjoselektywnego biokatalizatora. W zależności od rodzaju lipazy może ona konwertować (*R*)-(-)-ibuprofen do (*R*)-(-)-estru ibuprofenu lub (*S*)-(+)-ibuprofen do (*S*)-(+)-estru ibuprofenu. Najważniejszymi parametrami procesu jest wysoki nadmiar enancjomeryczny

(z ang. *enantiomeric excess*, *ee*) oraz konwersja wynosząca maksymalnie 50% (przy *ee* = 100%).⁵⁰

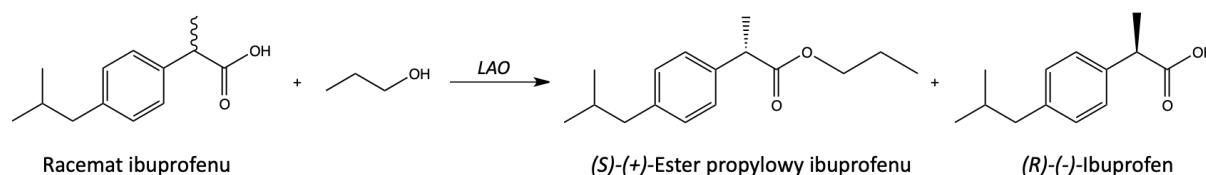
W wielu doniesieniach literaturowych *ee* czystego estru ibuprofenu osiągnąć było na poziomie znacznie poniżej 50% przy uzyskaniu wysokich wartościach konwersji, podczas gdy pozostałe badania przedstawiały jedynie średnie wartości *ee*, do 90% przy niskiej konwersji enancjomeru ibuprofenu.^{51,52} Tylko trzy prace opisują zarówno wysoką konwersję jak i nadmiar enancjomeryczny. W jednej z nich uzyskano niemal całkowitą konwersję (*S*)-(+)-ibuprofenu (49,8%) z wysokim nadmiarem enancjomerycznym do (*S*)-(+)-enancjomeru estru ibuprofenu (97,3%) przy użyciu lipazy z *Candida rugosa* w postaci mikrokryształów jako katalizatora. Podane wyniki otrzymano po 8 h trwania procesu prowadzonego w izooktanie z użyciem 1-izooktanolu.⁵³ W innym doniesieniu literaturowym immobilizowana na krzemionce lipaza z *Candida rugosa* umożliwiła uzyskanie 45% konwersji (*S*)-(+)-ibuprofenu do estru 1-propyloвого (*ee* = 96%) w 37 °C po 50 min.⁵⁴ Interesujące wyniki otrzymano również w obecności esterazy (EST10) z *Thermotoga maritima* stabilizowanej w cieczy jonowej o anionie [BF₄]⁻. Ester etylowy (*S*)-(+)-ibuprofenu został otrzymany z konwersją wynoszącą 47,4% i *ee* równym 96,6% w 75 °C po 10 h trwania procesu.⁵⁵

Aktywacja lipaz podczas procesu zachodzi na granicy faz-olej woda, dlatego kluczowe jest zaprojektowanie nośnika o charakterze hydrofobowym w celu utrzymania aktywnej konformacji biokatalizatora. Zastosowanie nośnika typu SILLP opartego o hydrofobową ciecz jonową zapewnia efektywną immobilizację białka, stabilne i wysoce aktywne działanie enzymu podczas reakcji oraz umożliwia łatwe wydzielenie białka z mieszaniny poreakcyjnej. Dodatkowo wprowadzenie jonów metali (np. Mg²⁺, Ca²⁺, K⁺) do układu reakcyjnego często zwiększa aktywność lipaz.^{56,57}

Celem niniejszych badań było opracowanie aktywnego układu biokatalitycznego opartego o lipazę z *Aspergillus oryzae* (LAO) i krzemionkowych materiałów SILLP do efektywnego rozdziału kinetycznego racematu ibuprofenu w systemie okresowym.

2.1. Opracowanie i badanie wpływu wybranych parametrów na rozdział kinetyczny racematu ibuprofenu w obecności natywnej lipazy z *Aspergillus oryzae*.

W badaniach wstępnych przeprowadziłam optymalizację warunków prowadzenia reakcji estryfikacji racematu ibuprofenu z dwukrotnym nadmiarem molowym 1-propanolu jako modelowego alkoholu, używając izooktanu jako rozpuszczalnika w obecności komercyjnie dostępnego roztworu LAO (Schemat 3). Konwersja racematu ibuprofenu oraz nadmiar enancjomeryczny enancjomeru (*S*)-(+)*ibuprofenu* lub (*R*)-(-)*ibuprofenu* zostały określone za pomocą chiralnej wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).



Schemat 3. Enancjoselektywna estryfikacja racematu ibuprofenu z 1-propanolem w izooktanie.

Badania rozpoczęłam od zbadania ilości LAO niezbędnej do konwersji racematu ibuprofenu do estru z wysoką konwersją i selektywnością. Zwiększenie ilości LAO z 0,50 do 1,0 mL spowodowało wzrost szybkości reakcji, natomiast konwersja (*S*)-(+)-ibuprofenu nie była pełna. Użycie 1,5 mL LAO umożliwiło przekształcenie racematu ibuprofenu z konwersją równą 34,8% (*ee* = 99,9%) po 24 h oraz przereagowaniem wynoszącym 45,2% (*ee* = 99,9%) po 48 h. Dalsze zwiększenie ilości LAO do 2,0 mL nie miało wpływu na wydajność i selektywność procesu. Dla porównania reakcję przeprowadziłam w tych samych warunkach przy użyciu lipazy B z *Candida antarctica* przy użyciu 1,5 mL enzymu, w wyniku czego uzyskano jedynie 11% konwersji substratu po 48 h (z 26,1% *ee* do estru (*R*)-(-)-ibuprofenu).

Następnie zbadłam wpływ temperatury w zakresie od 15 °C do 40 °C. Zaobserwowałam jedynie niewielki wzrost szybkości reakcji, a konwersja osiągnęła prawie 50% przy 40 °C, natomiast *ee* gwałtownie spadło do 82% z powodu postępującej dezaktywacji enzymu w wyższej temperaturze. Najbardziej korzystną temperaturą procesu jest 20 °C. Dalej sprawdziłam wpływ rozpuszczalnika na szybkość reakcji. Zadowalającą konwersję i *ee* (ok. 90%) uzyskano w takich rozpuszczalnikach jak heksan, cykloheksan i heptan. Dichloroetan, acetonitryl i węgiel propylu miały negatywny wpływ na przebieg reakcji. Przetestowałam również dodatek hydrofobowej IL [bmim][NTf₂] (bis(trifluorometanosulfonylo)imidek 1-butylo-3-metyloimidazoliowy) do izooktanu, co doprowadziło do otrzymania obiecujących wyników

(konwersja 46,9% i 90,4% *ee* po 48 h). Podsumowując, najlepsze wyniki uzyskano w izooktanie (konwersja 45,2% i 99,9% *ee* po 48 h), gdzie system reakcyjny był dwufazowy. Górna faza składała się z rozpuszczalnika i reagentów, a LAO tworzyło drugą fazę. Dodatkowo, testy dotyczące ilości izooktanu użytego do reakcji wykazały, że im bardziej stężona mieszanina reakcyjna, tym niższa uzyskiwana enancjoselektywność.

Odpowiedni dobór alkoholu (C1–C4) ma znaczący wpływ na konwersję i enancjoselektywność reakcji estryfikacji. Zastosowanie 1-butanolu i 1-propanolu prowadziło do otrzymania konwersji oraz *ee* równych odpowiednio 45,4% (*ee* = 99,9%) i 45,2% (*ee* = 99,9%) po 48 h. Użycie metanolu lub etanolu do estryfikacji powoduje drastyczne obniżenie czystości produktu (*ee* poniżej 88% dla metanolu). Dłuższy łańcuch alkoholu, a co za tym idzie, zwiększona hydrofobowość substratu poprawia stabilność lipazy.

Na koniec zbadalam wpływ stosunku molowego ibuprofenu do 1-propanolu. Rozcieńczenie mieszaniny reakcyjnej alkoholem (1:4, *n:n*) spowodowało spowolnienie reakcji, z kolei zwiększenie stężenia ibuprofenu (1:0,5, *n:n*) spowodowało obniżenie *ee*.

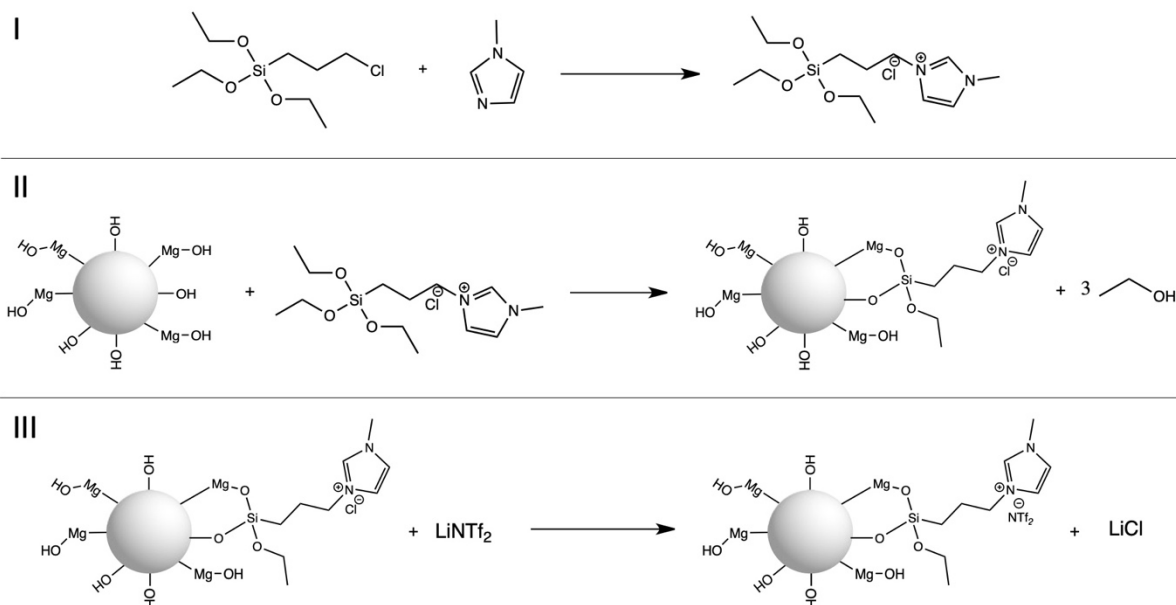
Podsumowując tę część badań, wykazałam wysoką wydajność dwufazowego układu reakcyjnego w rozdziale kinetycznym racematu ibuprofenu w obecności roztworu LAO z wysoką konwersją (*S*)-(+)-ibuprofenu wynoszącą 45,2% oraz *ee* równym 99,9% w optymalnych warunkach. Kolejnym krokiem było podjęcie próby immobilizacji enzymu na nośniku typu SILLP w celu umożliwienia łatwej separacji białka z mieszaniny poreakcyjnej oraz zwiększenie jego aktywności katalitycznej w badanym procesie.

2.2. Synteza i charakterystyka biokatalizatora typu SILLP opartego o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz materiały krzemionkowe modyfikowane imidazoliową cieczą jonową.

W celu zaprojektowania odpowiedniego nośnika typu SILLP dla enzymu LAO wybrałam różne materiały krzemionkowe o zróżnicowanych właściwościach strukturalnych. W celu poprawy właściwości strukturalnych krzemionek są one często łączone z tlenkami metali, w tym m.in. tlenkiem magnezu, tlenkiem wapnia lub tlenkiem cyrkonu. Przygotowanie takich materiałów hybrydowych pozwala na tworzenie nośników o bardziej rozwiniętej powierzchni właściwej lub porowatości, co poprawia ich właściwości sorpcyjne. Funkcjonalność przygotowanych lub komercyjnie dostępnych materiałów na bazie krzemionki wynika w większości przypadków z charakteru powierzchniowych grup silanolowych ($\equiv\text{Si-OH}$) lub innych ($-\text{Mg-OH}$, $-\text{Ca-OH}$, $\equiv\text{Zr-OH}$), które wykazują względnie wysokie powinowactwo, np. do

enzymów, a jednocześnie poprawiają ich aktywność i enancjoselektywność poprzez oddziaływania elektrostatyczne i zmiany konformacji białka.^{56,57} Krzemionkowe materiały hybrydowe oparte o tlenek krzemu (SiO_2) oraz tlenek magnezu (MgO-SiO_2), tlenek cyrkonu ($\text{ZrO}_2\text{-SiO}_2$), lub tlenek wapnia (CaO-SiO_2), zostały dostarczone przez Pana dr hab. inż. Jakuba Zdartę, prof. Politechniki Poznańskiej z grupy badawczej Pana prof. dr hab. inż. Teofila Jesionowskiego.

W kolejnym etapie ciecz jonowa została unieruchomiona na wcześniej przygotowanych materiałach krzemionkowych poprzez grupy trietoksylilowe zlokalizowane w łańcuchu alkilowym kationu IL (Schemat 4). W pierwszym kroku otrzymałam IL chlorek 1-metylo-3-(trietoksylilopropyl)imidazoliowy ([tespmim]Cl) w reakcji 3-(chloropropyl)trietoksylilanu z 1-metyloimidazolem. Następnie ciecz jonowa została kowalencyjnie przyłączona do materiałów krzemionkowych i przeprowadziłam wymianę anionu Cl^- na $[\text{NTf}_2]^-$, co doprowadziło do otrzymania końcowych nośników typu SILLP, np. $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]$ (Schemat 4). Wymianę anionu na $[\text{NTf}_2]^-$ przeprowadziłam ze względu na doniesienia literaturowe, które wskazują wyższą aktywność lipaz w środowisku IL z anionem bis(trifluorometanosulfonyl)imidkowym.³³ W Tabeli 3 przedstawiłam charakterystykę zsyntezowanych materiałów.



Schemat 4. Chemiczna immobilizacja $[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]$ na powierzchni materiałów krzemionkowych.

W celu dokonania pełnej charakterystyki otrzymanych materiałów typu SILLP zostały przeprowadzone analizy: TGA, analizy powierzchni właściwej BET, SEM, EDX oraz ^{29}Si MAS NMR. Zawartość IL została oznaczona za pomocą TGA. Maksymalną ilość cieczy jonowej przywiązanej do nośnika uzyskano w reakcji 0,3 mmol IL na 0,3 g materiału krzemionkowego, np. dla MgO-SiO₂ (1:1) 6,79 wt%. Zwiększenie ilości cieczy jonowej w procesie jej immobilizacji (z 0,3 mmol do 0,5 mmol) nie spowodowało zwiększenia ilości IL na matrycy, natomiast zmniejszenie ilości IL (z 0,3 mmol do 0,2 mmol) skutkowało obniżeniem jej ilości (zawartość IL 4,09 wt%).

Tabela 3. Charakterystyka materiałów krzemionkowych i biokatalizatorów.

Materiał	S_{BET} , (m^2g^{-1})	V_p , (cm^3g^{-1})	d_p , (nm)	IL zawartość, (wt% ± 0.3) ^a	LAO zawartość (wt% ± 0.3) ^a
MgO-SiO ₂ (1:1)	469	0,07	2,1	6,79	3,96
MgO-SiO ₂ (1:5)	289	0,12	2,8	5,05	5,12
MgO-SiO ₂ (5:1)	72	0,05	1,3	7,53	2,64
CaO-SiO ₂ (1:1)	24,9	0,01	1,2	4,29	4,98
ZrO ₂ -SiO ₂ (1:1)	394	0,10	2,3	-	-
SiO ₂ ^b	118	0,33	11,1	-	-
SiO ₂ ^c	200	0,59	11,8	9,4	19,38

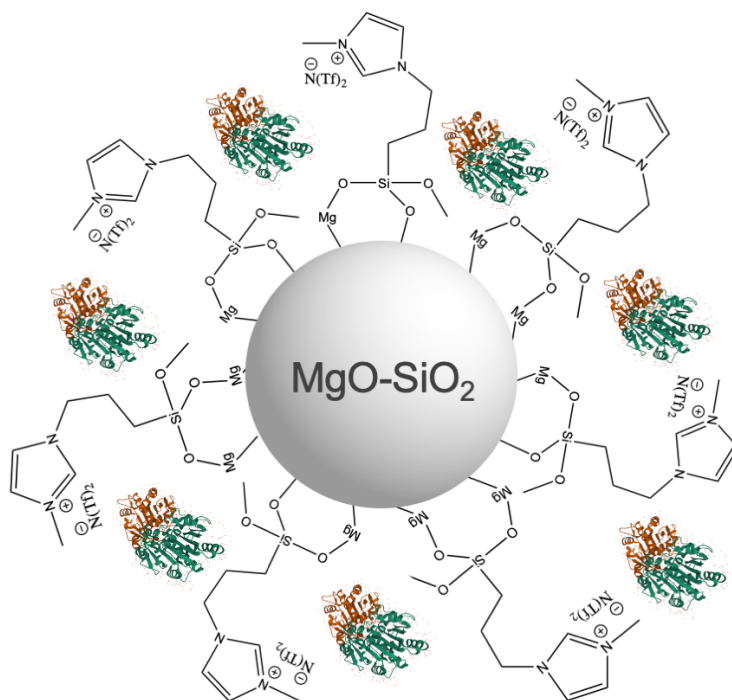
^aanalizowane za pomocą TGA, odchylenie standardowe 3 z prób; ^bkrzemionka przygotowana metodą zol-żel; ^ckrzemionka komercyjnie dostępna.

Przyłączenie cieczy jonowej do materiałów krzemionkowych zostało potwierdzone za pomocą analizy ^{29}Si MAS NMR. Spektra MAS NMR obrazują zanik sygnałów przypisanych grupom (SiO)₂Si-(OH)₂ i (SiO)₃Si-OH, a także pojawienie się nowego sygnału przy -66 ppm, co jednoznacznie wskazuje na przywiązanie IL do powierzchni matrycy. Dodatkowo, obrazy SEM materiałów przed i po immobilizacji IL pokazały obecność cząsteczek o nieregularnym kształcie, z większą tendencją do tworzenia aglomeratów w przypadku próbek z cieczą jonową.

Materiał MgO-SiO₂ (1:1) charakteryzuje się najwyższą wartością powierzchni właściwej BET wynoszącą 469 m^2g^{-1} spośród badanych materiałów, z objętością porów 0,07 cm^3g^{-1} i rozmiarem porów 2,1 nm. Zmiany w początkowym stosunku prekursorów (z MgO-SiO₂ (1:1), na MgO-SiO₂ (1:5) oraz MgO-SiO₂ (5:1)) podczas syntezy materiału hybrydowego spowodowały znaczący spadek powierzchni właściwej materiałów, natomiast ilość cieczy jonowej wahała się od 5,05 wt% dla MgO-SiO₂ (1:5) do 7,53 wt% dla MgO-SiO₂ (5:1), sugerując, że właściwości strukturalne nośnika, jak i również rodzaj grup funkcyjnych na powierzchni, wpływają na ilość

immobilizowanej cieczy jonowej. W przypadku nośnika MgO-SiO₂ im więcej MgO w strukturze materiału tym większa ilość IL została unieruchomiona. Połączenie krzemionki z CaO skutkowało obniżeniem ilości immobilizowanej IL wynoszącą 4,29 wt%. Największa ilość cieczy jonowej została unieruchomiona na komercyjnie dostępnej krzemionce (9,4 wt%), głównie ze względu na dobrze zdefiniowaną strukturę porowatą, obecność licznych grup hydroksylowych na powierzchni i ich równomierne rozmieszczenie, co zmniejsza przeszkody steryczne i sprzyja efektywnemu związaniu znacznych ilości cząsteczek cieczy jonowej.

Ostatni etap przygotowania biokatalizatora obejmował unieruchomienie LAO na powierzchni nośnika za pomocą metody adsorpcji fizycznej. Natywna lipaza z *Aspergillus oryzae* jest komercyjnie dostępnym produktem (Sigma-Aldrich) w formie wodno-glicerynowego roztworu (aktywność 100 000 U_g⁻¹). W celu określenia ilości białka w roztworze lipazy przeprowadziłam test Lowry'ego, (43,7 mgmL⁻¹). Ilość osadzonego enzymu na nośniku oznaczono za pomocą TGA. Fizyczne unieruchomienie LAO przeprowadziłam w wodzie, przy 7-krotnym nadmiarze masy roztworu LAO w stosunku do nośnika SILLP, uzyskując np. 3,96 wt% zawartości enzymu dla SiO₂/Mg(1:1)/[tespmim][NTf₂]/LAO, którego graficzną wizualizację przedstawiono na Rysunku 10. Zwiększenie ilości LAO podczas etapu unieruchamiania (z 7-krotnej do 10-krotnej) nie zwiększyło ilości zaadsorbowanej lipazy, natomiast zmniejszenie ilości do 3-krotnej spowodowało jej obniżenie (2,09 wt%).



Rysunek 10. Graficzna wizualizacja biokatalizatora SiO₂/Mg(1:1)/[tespmim][NTf₂]/LAO.

Zsyntezowane biokatalizatory typu SILLP, np. $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$, zostały poddane analizie TGA oraz SEM-EDX, których wyniki potwierdzają skuteczne osadzenie się enzymu. Największa ilość LAO (19,38 wt%) została zaadsorbowana na powierzchni komercyjnie dostępnej krzemionki. Zwiększona funkcjonalizacja cieczą jonową niż w przypadku pozostałych materiałów wpłynęła pozytywnie na efektywność osadzenia się enzymu. Inne materiały zawierały od 2,64 wt% do 5,12 wt% LAO. Zaobserwowałam, że najmniejsza ilość IL (5,05 wt%) została przyłączona do materiału MgO-SiO_2 (1:5), na którym jednocześnie oznaczono największą ilość immobilizowanego enzymu (5,12 wt%). To potwierdza, że nawet mała ilość IL jest w stanie dostarczyć wystarczającą ilość grup funkcyjnych zdolnych do efektywnego unieruchomienia lipazy.

Dla najlepszego układu biokatalitycznego $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$ oraz samego nośnika $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]$ przeprowadzono analizę powierzchni właściwej BET oraz określono rozmiar i objętość porów (Tabela 4). Zmniejszenie się powierzchni właściwej po immobilizacji IL oraz enzymu świadczy o efektywnym przeprowadzeniu obu procesów.

Tabela 4. Charakterystyka materiałów krzemionkowych i biokatalizatorów.

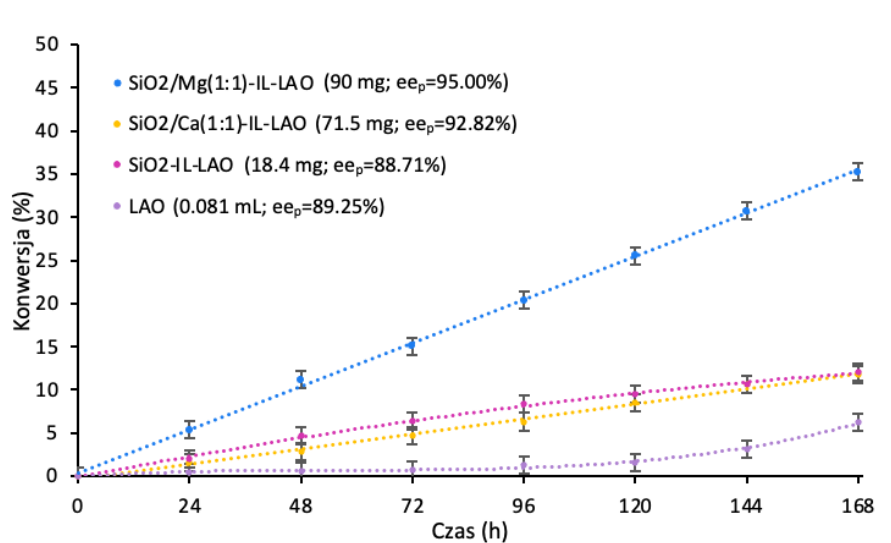
Material	S_{BET} , (m^2g^{-1})	V_p , (cm^3g^{-1})	d_p , (nm)
MgO-SiO_2 (1:1)	469	0,07	2,1
$\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]$	117	0,07	2,2
$\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$	82,2	0,04	2,2

Podsumowując, zsyntezowałam i scharakteryzowałam 7 układów biokatalitycznych opartych o LAO oraz różne materiały krzemionkowe chemicznie modyfikowane $[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]$. Wprowadzenie do krzemionki również innych tlenków metali ma istotny wpływ na rozwinięcie powierzchni właściwej oraz zmianę porowatości materiału, a dodatkowo skutkuje obecnością nowych grup funkcyjnych związanych, np. z magnezem, które powodują wzrost efektywności immobilizacji cząstek cieczy jonowych oraz enzymów na powierzchni matrycy.

2.3. Testy aktywności katalitycznej opracowanych biokatalizatorów typu SILLP opartych o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz materiały krzemionkowe modyfikowane imidazoliową cieczą jonową w rozdział kinetycznym racematu ibuprofenu.

Aktywność katalityczna heterogenicznych biokatalizatorów typu SILLP przetestowałam w rozdziale kinetycznym racematu ibuprofenu w opracowanych wcześniej warunkach reakcji w układzie homogenicznym (Wykres 2). Masę każdego biokatalizatora przeliczyłam, tak aby uzyskać biokatalizator o tej samej zawartości LAO (3,56 mg/1 mmol racematu ibuprofenu). W tym celu użyłam 0,082 mL natywnego LAO, który zawiera 3,56 mg białka. Najbardziej aktywnym biokatalizatorem był $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$, który pozwolił na uzyskanie 35% konwersji racematu ibuprofenu po 7 dniach z 95% *ee* (*S*)-(+)-estru butylowego.

Zaskakującym faktem była całkowita dezaktywacja LAO na nośnikach MgO-SiO_2 (5:1) oraz MgO-SiO_2 (1:5), a więc ze zwiększoną lub zmniejszoną zawartością MgO w strukturze. Prawdopodobnie ilość MgO w nośniku MgO-SiO_2 (1:1) zgodnie z zaproponowanym mechanizmem unieruchamiania cieczy jonowej poprzez wiązanie chemiczne była na odpowiednim poziomie, co powodowało efektywną immobilizację IL i aktywację LAO.



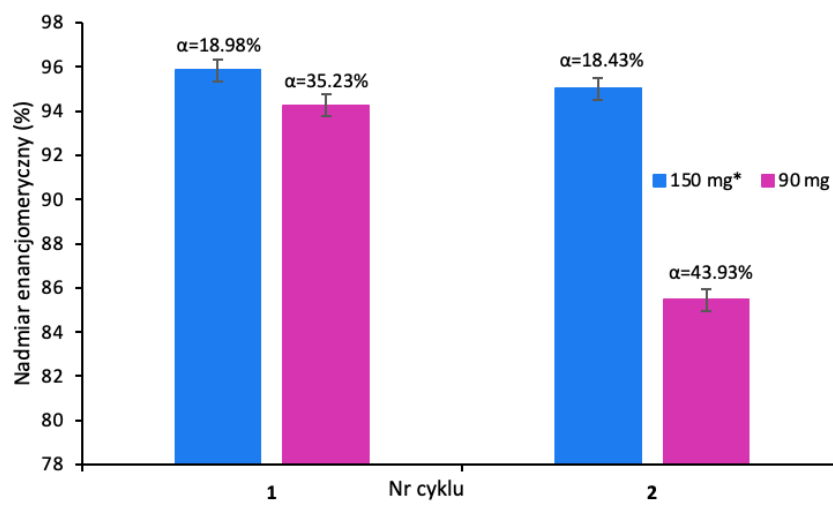
Wykres 2. Wpływ nośnika SILLP na aktywność LAO w estryfikacji racematu ibuprofenu. Warunki reakcji: racemat ibuprofenu 0.1 mmol, 1-butanol 0.2 mmol, izooktan 0.4 mL, 3.56 mg LAO w formie natywnej lub immobilizowanej, 20 °C, 250 rpm. Konwersję racematu ibuprofenu analizowałam za pomocą chiralnej HPLC.

Wydłużenie czasu trwania procesu nie poprawiło wydajności procesu ani uzyskania wyższego *ee*, natomiast należy podkreślić, że mniejsza ilość enzymu osadzonego na powierzchni generuje wyższą aktywność heterogenicznego biokatalizatora, a dodatkowo

immobilizacja białka poprawia jego stabilizację i ułatwia jego potencjalny zawrót do kolejnego cyklu reakcyjnego. Biokatalizator $\text{SiO}_2/\text{Ca}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$ nie wykazał wystarczającej aktywności, co skutkowało niską konwersją racematu ibuprofenu. To samo zjawisko zaobserwowałam w przypadku biokatalizatora o bardzo wysokiej zawartości lipazy osadzonej na powierzchni komercyjnej krzemionki $\text{SiO}_2/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$. Zastosowanie tego biokatalizatora nie wpłynęło znacząco na konwersję racematu ibuprofenu, prawdopodobnie z powodu przeładowania powierzchni krzemionki lipazą (aglomeracja), co doprowadziło do blokowania miejsc aktywnych enzymu i powstawania ograniczeń dyfuzyjnych reagentów.

Eksperyment aktywności natywnej LAO użytej w takiej samej ilości (3,56 mg), jakiej użyto w przypadku heterogenicznych biokatalizatorów, wykazał niską aktywność homogenicznego białka. Jest to dowód na aktywację LAO na powierzchni krzemionki domieszkowanej magnezem modyfikowanej $[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]$. Immobilizacja lipazy na niemodyfikowanej matrycy MgO-SiO_2 (1:1) nie powiodła się (metodą TGA nie wykryto białka). Dopiero po modyfikacji powierzchni cieczą jonową, lipaza była w stanie osadzić się na nośniku i katalizować proces rozdziału kinetycznego ibuprofenu. Nośnik SILLP, bez enzymu na powierzchni, nie był katalitycznie aktywny w reakcji.

Następnie zbadalam wpływ ilości $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$ w zakresie 40–90 mg biokatalizatora w celu przyspieszenia procesu estryfikacji racematu ibuprofenu. Większa ilość biokatalizatora (150 mg) wymagała zwiększenia ilości rozpuszczalnika, co było spowodowane utrudnionym mieszanym mieszaniny reakcyjnej, która była wyjątkowo gęsta. Dodanie dodatkowej ilości rozpuszczalnika spowodowało rozcieńczenie mieszaniny reakcyjnej, spowolnienie tempa reakcji i obniżenie konwersji do 19%. Optymalna ilość $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$ w reakcji wynosiła 90% umożliwiając osiągnięcie konwersji racematu ibuprofenu równej 35% z *ee* (*S*)-(+)-estru butylowego równym 95% po 7 dniach.



Wykres 3. Badanie zawrotu biokatalizatorów $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$ w estryfikacji racematu ibuprofenu. Warunki reakcji: racemat ibuprofenu 0.1 mmol, 1-butanol 0.2 mmol, izooktan 0,4 mL, 3.56 mg LAO w formie natywnej lub immobilizowanej, 20 °C, 250 rpm. Konwersję racematu ibuprofenu analizowałam za pomocą chiralnej HPLC. *izooktan 1 mL.

Kolejnym krokiem było zbadanie możliwości zawrotu $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$ do kolejnego cyklu reakcyjnego. Uzyskane wyniki przedstawiłam na Wykresie 3. W przypadku zastosowania 90 mg biokatalizatora zaobserwowałam spadek nadmiaru enancjomerycznego w drugim cyklu reakcji z *ee* 96,7% do 88% po 5 dniach reakcji oraz z *ee* 95,5% do 85,5% po 7 dniach. Pomimo, że rozcieńczenie układu reakcyjnego do 1 mL spowodowało spadek szybkości reakcji, pozwoliło to na utrzymanie tak samo wysokiego nadmiaru enancjomerycznego (1. cykl *ee* 96,3%, 2. cykl *ee* 95,4% po 5 dniach oraz 1. cykl *ee* 95,8%, 2. cykl *ee* 94,2% po 7 dniach). Długotrwała stabilność biokatalizatora wynika z efektu stabilizacji SILLP, który charakteryzuje się zdolnością do utrzymania aktywnych konformacji enzymów. Dodatkowo, użyta ciecz jonowa zapewnia odpowiednie mikrośrodowisko dla immobilizowanej lipazy, co ułatwia ponowne użycie biokatalizatorów typu SILLP. Analiza TGA biokatalizatora po drugim cyklu (eksperyment z użyciem 90 mg biokatalizatora) wykazała, że ilość enzymu na zmodyfikowanej powierzchni krzemionki ($\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$) pozostała niezmienną (4,04 wt%). Dodatkowo, eksperyment polegający na szybkiej filtracji biokatalizatora z mieszaniny reakcyjnej wykazały brak dalszej konwersji ibuprofenu w przesączu po usunięciu $\text{SiO}_2/\text{Mg}(1:1)/[\text{tespmim}][\text{NTf}_2]/\text{LAO}$. Uzasadnia to, że przyczyną niższej aktywności lipazy jest jej inhibicja w długotrwałym procesie (186 h), która była widoczna nawet przy zastosowaniu nadmiaru biokatalizatora (150 mg).

Podsumowując, w niniejszych badaniach zastosowałam dwa nowatorskie podejścia do kinetycznego rozdzielania racematu ibuprofenu poprzez enancjomeryczną estryfikację w obecności lipazy z *Aspergillus oryzae*. Nośnik typu SILLP został wykorzystany do zaprojektowania heterogenicznego biokatalizatora opartego na hybrydowych nośnikach krzemionkowych poprawiając aktywność i stabilność białka oraz umożliwiając jego recykl. Zastosowanie natywnej LAO umożliwiło osiągnięcie *ee* 99,9% (*S*)-(+)-estru ibuprofenu przy konwersji równej 34,8% po 24 h oraz odpowiednio *ee* 99,9% przy konwersji 45,2% po 48 h, co jest konkurencyjne wobec innych doniesień literaturowych. Przy użyciu heterogenicznego biokatalizatora SiO₂/Mg(1:1)/[tespmim][NTf₂]/LAO (zawartość IL 6,79 wt%, zawartość LAO 3,96 wt%) konwersja racematu ibuprofenu osiągnęła 35% po 7 dniach z 95% *ee* estru. Pomimo, że rozcieńczenie układu reakcyjnego spowodowało spadek szybkości reakcji, pozwoliło utrzymać wysoki nadmiar enancjomeryczny (*S*)-(+)-enancjomeru ibuprofenu w drugim cyklu.

3. Synteza, charakterystyka oraz zastosowanie biokatalizatora opartego o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz materiał krzemionkowy domieszkowany tlenkiem magnezu i modyfikowany grupami oktylowymi w reakcji estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasów tłuszczowych C8-C18 w systemie okresowym oraz ciągłym.

Korzystanie z surowców odnawialnych, do których należy biomasa lignocelulozowa, kieruje przemysł chemiczny w stronę zrównoważonego rozwoju i gospodarki o obiegu zamkniętym. Biomasa lignocelulozowa jest dobrym surowcem do produkcji wartościowych chemikaliów pochodzenia biologicznego. Hemiceluloza, składnik lignocelulozy, ulega hydrolizie, w wyniku której powstaje D-ksyloza, a następnie podlega dehydratacji, przekształcając się w furfural.⁵⁸ Furfural następnie konwertowany jest do alkoholu furfurylowego.⁵⁹ Większość alkoholu furfurylowego jest wykorzystywana do produkcji żywic furanowych, alkoholu tetrahydrofurfurylowego, kwasów karboksylowych oraz estrów.⁶⁰ Estrы alcoholufurfurylowego i kwasów tłuszczowych są głównie stosowane jako biolubrykanty, surfaktanty, rozpuszczalniki, plastyfikatory, dodatki do biopaliw, emulgatory, dodatki do żywności oraz aromaty.^{61,62}

Osiągnięcie wysokiej selektywności estryfikacji alkoholu furfurylowego stanowi istotny problem, ponieważ łatwo ulega on polimeryzacji w obecności kwasów mineralnych lub silnych kwasów organicznych, co prowadzi do powstawania termostabilnych polimerów lub eterów difurfurylowych.⁶³⁻⁶⁵

Alternatywnym podejściem jest wdrożenie biokatalizy z wykorzystaniem lipaz, które charakteryzują się wysoką aktywnością w procesach estryfikacji. W dostępnych doniesieniach literaturowych można znaleźć prace, w których komercyjnie dostępny Novozyme 435 został użyty w estryfikacji alkoholu furfurylowego z kwasem oleinowym, kwasem oktanowym lub olejem rycynowym w temperaturach od 55 do 60 °C, co skutkowało niemal pełną konwersją kwasu oleinowego (99%) i oleju rycynowego (89%) oraz tylko 77% przereagowaniem kwasu oktanowego po 24 h.⁶⁶⁻⁶⁸ Novozyme 435 to lipaza z *Candida antarctica* B (CALB) unieruchomiona na makroporowatej żywicy akrylowej. Ponowne wykorzystanie Novozyme 435 jest ograniczone z powodu tendencji żywicy do pęcznienia w rozpuszczalnikach organicznych, co utrudnia izolację i ponowne użycie.⁶⁹⁻⁷⁰

Prowadzenie badań w kierunku projektowania trwałych, stabilnych i aktywnych biokatalizatorów jest kluczowe, aby sprostać wyzwaniom wdrożenia ich do technologii

przepływowym. Immobilizacja cząsteczek enzymu na odpowiednio zaprojektowanej matrycy poprawia wszystkie wyżej wymienione cechy, które są niezbędne do opracowania efektywnej metody produkcji. Jak wykazano w poprzedniej pracy dotyczącej enzymatycznej estryfikacji racematu ibuprofenu odpowiednie zaprojektowanie nośnika poprzez nadanie mu właściwości hydrofobowych oraz wprowadzenie tlenków metali może znacznie poprawić aktywne działanie lipaz oraz ich immobilizację.³⁶

Nadanie właściwości hydrofobowych materiałom krzemionkowym może być osiągnięte przez chemiczną modyfikację grupami alkilowymi. Modyfikacja krzemionki grupami alkilowymi (np. metylowymi, oktylowymi, heksadecylowymi) i jej zastosowanie jako nośnika dla CALB zostało już wcześniej przetestowane w reakcji utleniania Bayera-Villigera cyklicznych ketonów do laktonów z użyciem 60% roztworu nadtlenu wodoru. Wysoka aktywność biokatalizatora (98% wydajności syntezy γ -butyrolaktonu) została osiągnięta pomimo trudnych warunków reakcji.²⁸

Głównym celem tej pracy było opracowanie zrównoważonej metody estryfikacji alkoholu furfurylowego pochodzącego z biomasy z kwasami karboksylowymi C8-C18 w obecności immobilizowanej lipazy z *Aspergillus oryzae* na materiale krzemionkowym domieszkowanym tlenkiem magnezu i modyfikowanym grupami oktylowymi w systemie okresowym oraz ciągłym. Opracowana technologia została przeanalizowana pod kątem zgodności z zasadami zielonej chemii.

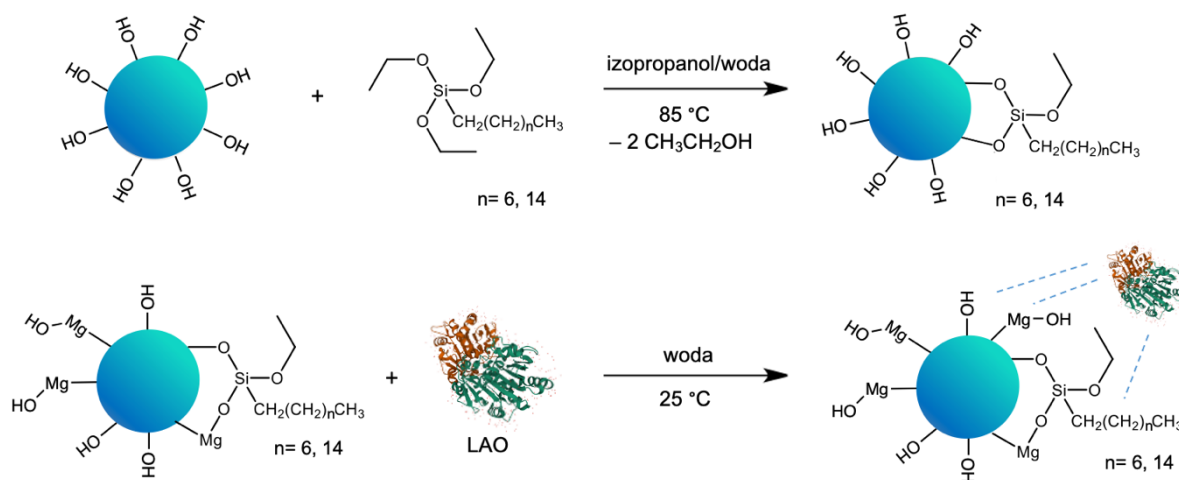
3.1. Synteza i charakterystyka biokatalizatora opartego o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz materiał krzemionkowy domieszkowany tlenkiem magnezu i modyfikowany grupami oktylowymi.

Wybór lipazy z *Aspergillus oryzae* wynikał z jej wysokiej aktywności katalitycznej w reakcjach estryfikacji. Dodatkowo, LAO jest stosunkowo stabilna w rozpuszczalnikach organicznych oraz przy wysokich stężeniach substratów. Co ważne, LAO została uznana przez Agencję Żywności i Leków jako enzym powszechnie uznany za bezpieczny.⁷¹ W celu uproszczenia protokołu immobilizacji enzymu zastosowałam prostą adsorpcję LAO. Jako nośnik enzymu LAO wybrałam hybrydowy materiał składający się z MgO i krzemionki (MgO-SiO₂ (1:1)). Jak wspomniałam wcześniej w Rozdziale 2, MgO wprowadza zmiany w strukturalnych właściwościach materiału poprzez wprowadzenie, oprócz grup silanolowych ($\equiv\text{Si-OH}$), także grup magnezylowych ($-\text{Mg-OH}$), co dodatkowo zwiększa aktywność lipaz. Wzmocnienie

powinowactwa enzymu do powierzchni uzyskałam poprzez zwiększenie hydrofobowości nośnika.^{56,57} Hydrofobowość powierzchni krzemionki można wprowadzić poprzez prostą modyfikację za pomocą fizycznego unieruchomienia lub chemicznego wiązania np. alkilowych organosilanów, hydrofobowych cieczy jonowych lub poprzez prowadzenie reakcji w hydrofobowych rozpuszczalnikach, takich jak ciecze jonowe.^{28,29} W tej pracy przeprowadziłam modyfikację chemiczną przy użyciu oktylotrietoksylanu lub heksadecylotrietoksylanu (Schemat 5).

W pierwszym etapie syntezy biokatalizatora, nośnik MgO-SiO₂ (1:1), *n:n*) został otrzymany metodą zol-żel zgodnie z metodą opisaną w literaturze.⁷² Zsyntetyzowany materiał hybrydowy został chemicznie zmodyfikowany alkilowymi organosilanami, takimi jak oktylotrietoksylan (C8) lub heksadecylotrietoksylan (C16), poprzez mieszanie reagentów w mieszaninie izopropanolu z wodą w temperaturze 85 °C przez 24 h. Do celów porównawczych nośnik MgO-SiO₂ został poddany procesowi kalcynacji w temperaturze 800 °C, aby sprawdzić, jak zmiany w porowatości materiału wpłyną na jego właściwości w kontekście modyfikacji grupami alkilowymi oraz immobilizacji LAO.

W celu uzyskania pełnej charakterystyki otrzymanych materiałów i biokatalizatorów przeprowadzono analizy: TGA, SEM, EDX, adsorpcji – desorpcji (BJH i BET) oraz spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR).



Schemat 5. Przygotowanie MgO-SiO₂-C8-LAO, gdzie niebieskie linie przerywane oznaczają oddziaływania fizyczne.

Chemiczne przywiązanie grup alkilowych do materiałów krzemionkowych (MgO-SiO₂-C8, MgO-SiO₂-C16, MgO-SiO₂-C8_(kalc.), SiO₂-C8) zostało potwierdzone za pomocą FT-IR. Dzięki obecności charakterystycznych pasm grup metylowych i metylenowych pochodzących od cząsteczek modyfikatora w zakresie 2850–3000 cm⁻¹, można jednoznacznie stwierdzić, że zarówno grupy C8 i C16 zostały skutecznie przyłączone.

Tabela 5. Zawartość grup alkilowych oraz LAO na materiałach krzemionkowych.

Materiał	Grupy alkilowe zawartość, (wt% ±0,3) ^a	LAO zawartość (wt% ±0,3) ^a
MgO-SiO ₂ -C8-LAO	8,03	4,24
MgO-SiO ₂ -C8 _(kalc.) -LAO	1,21	2,16
MgO-SiO ₂ -C16-LAO	5,86	1,54
SiO ₂ -C8-LAO	5,87	9,25
MgO-SiO ₂ -LAO	-	<i>nie wykryto</i>

^aanalizowane za pomocą TGA, odchylenie standardowe z 3 prób.

Obecność oraz ilość przyłączonych grup alkilowych do powierzchni MgO-SiO₂ została określona za pomocą TGA i przedstawiona w Tabeli 5. Z otrzymanych analiz wynika, że im dłuższy łańcuch węglowy modyfikatora, tym mniejsza ilość grup alkilowych została przyłączona do materiału, odpowiednio 8,03 wt% C8 i 5,86 wt% C16. Dodatkowo, kalcynacja nośnika MgO-SiO₂ doprowadziła do zmniejszenia ilości immobilizacji grup C8 (1,21 wt%), co prawdopodobnie jest związane z mniejszą liczbą dostępnych powierzchniowych grup hydroksylowych zdolnych do wiązania modyfikatora. Ten sam efekt zaobserwowałam przy modyfikacji krzemionki, co skutkowało wprowadzeniem jedynie 5,87 wt% grup C8. Sugeruje to, że obecność tlenku magnezu dostarczyła dodatkowe grupy hydroksylowe na powierzchni materiału hybrydowego, co umożliwiło bardziej efektywne przyłączenie grup oktylowych.

Dodatkowo, obrazy SEM przed i po modyfikacji grupami alkilowymi pokazały tendencję cząsteczek materiałów krzemionkowych do aglomeracji i tworzenia nieregularnych struktur po wprowadzeniu grup alkilowych. Jednocześnie skład pierwiastkowy powierzchni materiałów SiO₂, MgO-SiO₂, MgO-SiO₂(kalc.) przed i po modyfikacji został przeanalizowany przy użyciu detektora EDX. Analizy potwierdziły obecność atomów węgla równomiernie rozmieszczonych na powierzchni, pochodzących od przyłączonych grup alkilowych, co potwierdza skuteczne wprowadzenie grup hydrofobowych na powierzchnię materiałów krzemionkowych.

W celu przygotowania biokatalizatorów i przeprowadzenia fizycznej immobilizacji LAO, wodny roztwór lipazy został zmieszany z materiałami krzemionkowymi MgO-SiO₂-C8, MgO-SiO₂-C16, MgO-SiO₂-C8_(kalc.), SiO₂-C8 oraz MgO-SiO₂ w temperaturze pokojowej przez 3 h. Na podstawie analiz TGA (Tabela 5) zaobserwowałam, że dłuższy łańcuch alkilowy prowadził do zmniejszenia ilości immobilizowanej lipazy z 4,24 wt% dla MgO-SiO₂-C8-LAO do 1,54 wt% dla MgO-SiO₂-C16-LAO. Prawdopodobnie było to spowodowane większą zawadą steryczną w przypadku dłuższego łańcucha alkilowego. Mniejsza ilość grup funkcyjnych wprowadzonych podczas etapu modyfikacji (1,21 wt%) skutkowała zmniejszoną adsorpcją LAO (2,16 wt%) na kalcynowanym materiale. W porównaniu z SiO₂-C8 (9,25 wt% LAO), MgO-SiO₂-C8 wykazywał mniejszą zdolność sorpcyjną z powodu większej ilości wprowadzonych grup C8 na powierzchni MgO-SiO₂, co powodowało większą zawadę steryczną w adsorpcji cząsteczek LAO. Brak LAO na powierzchni niemodyfikowanego MgO-SiO₂, co zostało stwierdzone na podstawie TGA, potwierdził, że obecność grup alkilowych jest kluczowa do immobilizacji lipazy. Powierzchnia pierwotnego MgO-SiO₂ ma zbyt niską zdolność do adsorpcji lipazy, aby umożliwić efektywną immobilizację jej cząsteczek. Modyfikacja powierzchni krzemionki MgO zwiększyła zarówno powinowactwo enzymu do matrycy, jak i zdolność adsorpcyjną nośnika. Zwiększona porowatość powierzchni, przypisywana dodatkowym grupom -Mg-OH, została również zaobserwowana w poprzednich badaniach (Rozdział 2).

Po immobilizacji lipazy, obrazy SEM zobrazowały jeszcze większą aglomerację cząstek materiału, która nasilała się od pierwotnych matryc SiO₂ i MgO-SiO₂ poprzez materiały zmodyfikowane alkilami aż do końcowych biokatalizatorów. Największa aglomeracja cząstek była obserwowana dla biokatalizatora SiO₂-C8-LAO, gdzie zaadsorbowała się największą ilość lipazy (9,25 wt%), co wyraźnie pokazywało, że immobilizacja zwiększyła skłonność cząstek nośnika do tworzenia agregatów. Analizy EDX potwierdziły obecność atomów azotu pochodzących ze struktury białka we wszystkich biokatalizatorach.

Tabela 6. Charakterystyka strukturalna biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO.

Materiał	S _{BET} , (m ² g ⁻¹)	S _{BET} , mikropory (m ² g ⁻¹)	V _p , (cm ³ g ⁻¹)	d _p , (nm)	Grupy C8 zawartość, (wt% ±0,3) ^a	LAO zawartość (wt% ±0,3) ^a
MgO-SiO ₂	421	314	0,06	2,1	-	-
MgO-SiO ₂ -C8	325	243	0,05	2,1	8,03	-
MgO-SiO ₂ -C8-LAO	236	169	0,02	2,1	8,03	4,24

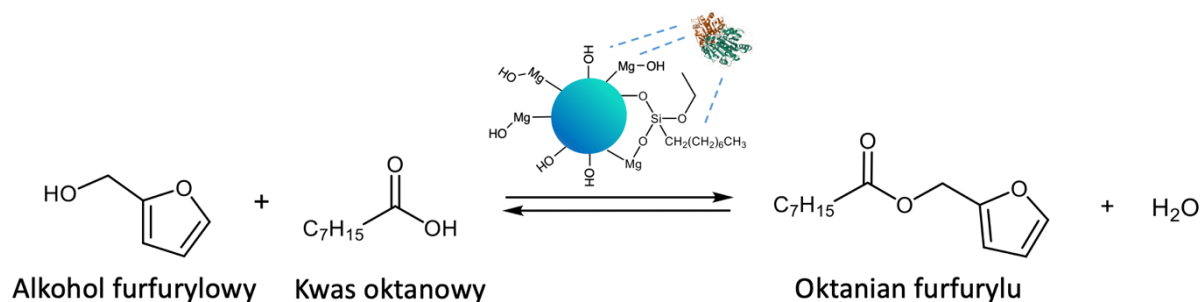
^aanalizowane za pomocą TGA, odchylenie standardowe z 3 prób.

Biokatalizator, MgO-SiO₂-C8-LAO, który wykazał najwyższą aktywność katalityczną w procesie estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego został poddany analizie adsorpcji – desorpcji (BJH, BET) (Tabela 6). Izotermy adsorpcji-desorpcji, diagram rozkładu rozmiaru porów, powierzchnia właściwa S_{BET} i analiza mikroporów wykazały wysoką mikroporowatość nośników oraz biokatalizatora. Dane zamieszczone w Tabeli 6 wyraźnie pokazują, że wprowadzenie grup alkilowych, a także adsorpcja lipazy spowodowały zmniejszenie powierzchni właściwej i częściowe zablokowanie mikroporów, co wynika z sukcesywnego zmniejszania się powierzchni właściwej mikroporów. Spadek powierzchni i objętości porów są typowe dla materiałów po immobilizacji enzymów.

Podsumowując, w tej części badań zsyntezowałam i scharakteryzowałam biokatalizatory oparte o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz nośniki krzemionkowe modyfikowane grupami alkilowymi, których aktywność katalityczną porównałam w następnym dziale.

3.2. Badanie wpływu wybranych parametrów na przebieg reakcji estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasów tłuszczowych C8-C18 w obecności opracowanych biokatalizatorów w systemie okresowym.

Aktywność katalityczną MgO-SiO₂-C8-LAO zbadałam w przemysłowo istotnym procesie estryfikacji alkoholu furfurylowego z kwasami tłuszczowymi (C8-C18). W badaniach wstępnych przetestowałam aktywność opracowanych biokatalizatorów w modelowej estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego w układzie okresowym (Schemat 6). Reakcję przeprowadziłam w temperaturze pokojowej z użyciem cykloheksanu jako rozpuszczalnika oraz trzykrotnego nadmiaru molowego kwasu oktanowego względem alkoholu furfurylowego. W każdym przypadku zaobserwowałam 100% selektywność, co oznacza, że konwersja równała się wydajności. Ilość użytego biokatalizatora w reakcjach porównawczych, przedstawiona w Tabeli 7, została przeliczona w taki sposób, aby każdy układ reakcyjny zawierał taką samą ilość enzymu (6,36 mg LAO).



Schemat 6. Estryfikacja alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego w obecności opracowanych katalizatorów.

Tabela 7. Wpływ modyfikacji nośnika krzemionkowego na aktywność katalityczną biokatalizatora w estryfikacji alkoholu furfurylowego.

Biokatalizator	Czas (min)	Konwersja alkoholu furfurylowego (%) ^a	Aktywność (μmolmin^{-1})	Aktywność właściwa ($\mu\text{molmg}^{-1}\text{min}^{-1}$)	Aktywność zachowana (%)
LAO	120	83,5	7,3	1,1	-
CALB	120	74,7	6,1	1,0	-
Novozyme 435	30	92,4	30,1	4,7	493
MgO-SiO ₂ -LAO ^c	120	6,1	-	-	-
SiO ₂ -C8-LAO	90	87,1	10,0	1,6	137
MgO-SiO ₂ -C8-LAO	45	90,2	20,2	3,2	277
MgO-SiO _{2(kalc)}} -C8-LAO	45	89,4	20,3	3,2	277
MgO-SiO ₂ -C16-LAO	45	87,3	20,4	3,2	277

Warunki reakcji: alkohol furfurylowy 1,0 mmol, kwas oktanowy 3,0 mmol, cykloheksan 0.5 mL, biokatalizator zawierający 6,36 mg LAO, (146 μL roztworu natywnej LAO (43.7 mgmL^{-1}); 530 μL roztworu natywnej CALB (12 mgmL^{-1}); 118 mg Novozyme 435; 300 mg MgO-SiO₂-LAO; 69 mg SiO₂-C8-LAO; 150 mg MgO-SiO₂-C8-LAO; 294 mg MgO-SiO_{2(kalc)}}-C8-LAO; 413 mg MgO-SiO₂-C16-LAO), 25°C, 250 rpm; ^aoznaczono za pomocą GC; ^bAktywność zachowana=(aktywność immobilizowanego enzymu/aktywność natywnego enzymu) ·100%; ^c300 mg biokatalizatora (maksymalna możliwa ilość w mieszaninie reakcyjnej).

Heterogenizacja LAO doprowadziła do znacznie wzrostu aktywności katalitycznej lipazy w porównaniu do jej formy natywnej (konwersja alkoholu wynosząca 87,1–90,2% w porównaniu do 83,5%), wykazując 277% aktywności (względem formy natywnej lipazy) i 90,2% konwersji alkoholu furfurylowego w obecności MgO-SiO₂-C8-LAO po 45 min reakcji. Jest to istotny aspekt w kontekście izolacji i zawrocie enzymu. Dostępna komercyjnie natywna forma CALB, użyta w takiej samej ilości jak LAO, była nieco mniej aktywna (74,7%).

Zgodnie z oczekiwaniami, najwyższą aktywność zaobserwowałam dla wzorcowego Novozyme 435 (92,4% konwersji alkoholu furfurylowego po 30 min), natomiast test zawrotu Novozyme 435 wykazał problemy z odfiltrowaniem biokatalizatora po reakcji z powodu

pęcznienia żywicy. Jak wspomniałam wcześniej, celem tego badania było znalezienie alternatywy dla Novozyme 435 z powodu problemów technicznych związanych z jego użyciem, takich jak filtracja, pełnienie funkcji złoza stacjonarnego w reaktorze przepływowym oraz trudności z regeneracją.

Kluczowym parametrem opracowanych heterogenicznych biokatalizatorów jest struktura i hydrofilowość powierzchni nośnika. Dodatkowa kalcynacja matrycy MgO-SiO_2 nie wpłynęła na stabilizację aktywnej konformacji LAO (89,4% konwersji po 45 min). Zmiany w strukturze krystalicznej miały wpływ na ilości przyłączonych grup C8 (dla $\text{MgO-SiO}_2\text{-C8}$ 8,03 wt% C8, dla $\text{MgO-SiO}_2(\text{kalc})\text{-C8}$ 1,21 wt% C8) oraz adsorbowanego LAO na powierzchni (dla $\text{MgO-SiO}_2\text{-C8-LAO}$ 4,24 wt% LAO, dla $\text{MgO-SiO}_2(\text{kalc})\text{-C8-LAO}$ 2,16 wt% LAO), które są mniejsze w przypadku niekalcynowanych materiałów. Warto podkreślić, że niższe obciążenie nośnika enzymem skutkowało zwiększeniem jego aktywności (względem natywnej formy enzymu) i konwersją substratu, prawdopodobnie dzięki równomiernemu osadzeniu enzymu oraz uniknięcia blokowania się centrów aktywnych białka. Z tego względu, aby uniknąć dodatkowego energochłonnego etapu w przygotowaniu katalizatora, który nie poprawia aktywności lipazy, kalcynacja matrycy nie jest zalecana.

Wprowadzenie dłuższej grupy alkilowej C16 zamiast C8 do materiałów tlenkowych miało wpływ na etap immobilizacji lipazy (dla $\text{MgO-SiO}_2\text{-C16}$ 1,54 wt% w porównaniu do $\text{MgO-SiO}_2\text{-C8-LAO}$ 4,24 wt%) i nieznacznie zmniejszyło aktywność enzymu (87,3% konwersji po 45 min). Dłuższe łańcuchy alkilowe powodowały większą zawadę steryczną, zmniejszając zdolność białka do adsorpcji na powierzchni i efektywną dyfuzję substratów do centrów aktywnych.

Obecność hydrofobowych grup alkilowych na powierzchni MgO-SiO_2 jest kluczowa dla efektywnej immobilizacji LAO i utrzymania jej wysokiej aktywności, co zostało udowodnione przez analizy TGA. W reakcji z udziałem $\text{MgO-SiO}_2\text{-LAO}$ zaobserwowałam tylko 6,1% konwersji alkoholu furfurylowego po 120 min, nawet przy maksymalnej możliwej ilości biokatalizatora w mieszaninie reakcyjnej (300 mg). Większa ilość biokatalizatora utrudniała efektywne mieszanie.

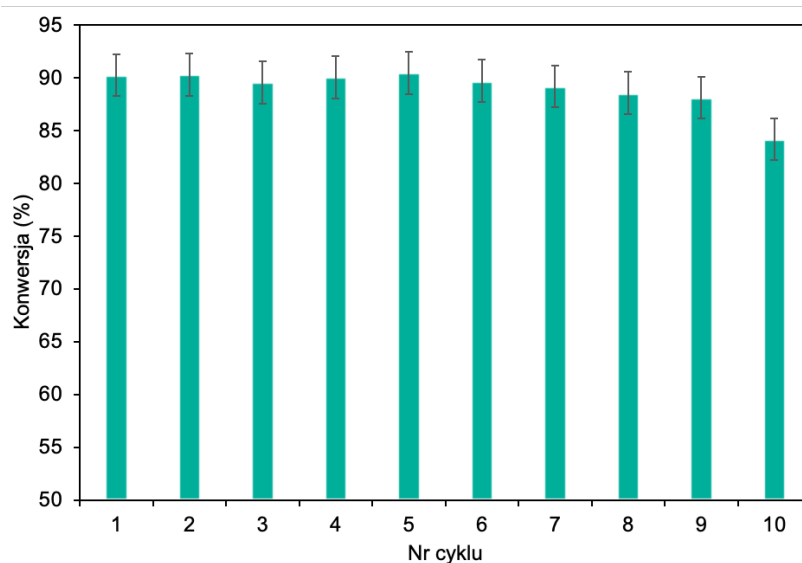
Ważnym aspektem poprawy aktywności LAO było wprowadzenie jonów magnezu do krzemionki i otrzymanie tlenkowego materiału MgO-SiO_2 . Obecność magnezu w materiale krzemionkowym poprawiła aktywację i stabilizację aktywnej konformacji enzymu prawdopodobnie poprzez oddziaływania elektrostatyczne między jonami Mg^{2+}

a aminokwasami LAO, co prowadziło do dodatkowych zmian w ułożeniu α -helis i β -harmonijek. Ten efekt skutkował wyższą aktywnością katalityczną unieruchomionych białek.

W dalszej części badań przeprowadziłam optymalizację parametrów modelowej reakcji w obecności biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO. Na początku przetestowałam wpływ rodzaju rozpuszczalnika (cykloheksan, toluen, heksan, izooktan) użytego w reakcji. Wybór odpowiedniego rozpuszczalnika w biokatalizie jest niezbędny, aby uniknąć szybkiej dezaktywacji enzymu. Biokatalizator wykazał najwyższą aktywność katalityczną w cykloheksanie (konwersja alkoholu 86,2% w 60 min), a następnie w toluenie (konwersja 85,7% w 90 min), osiągając 100% selektywności w obu przypadkach. Przy użyciu heksanu i izooktanu, konwersje alkoholu furfurylowego wyniosły odpowiednio 52,6% i 37,4% w czasie 180 min. Przetestowałam również acetonitryl, będący bardziej hydrofilowym rozpuszczalnikiem, w którym nie zaobserwowałam przereagowania alkoholu furfurylowego. Można to przypisać silnemu powinowactwu acetonitrylu do wody, która jest niezbędna do utrzymania aktywnej konformacji lipazy. Rozpuszczalniki takie jak metanol, etanol czy alkilowe węglany jako bardziej ekologiczne alternatywy nie były odpowiednie z powodu ich reaktywności w stosunku do kwasu oktanowego. Zastosowanie mniej niż 0,50 mL cykloheksanu na 1 mmol alkoholu furfurylowego skutkowało niższą aktywnością biokatalizatora z powodu problemów z mieszaniem reagentów w obecności heterogenicznego MgO-SiO₂-C8-LAO. Większe ilości cykloheksanu, takie jak 0,75 mL i 1,0 mL, prowadziły do obniżenia szybkości reakcji ze względu na zmniejszenie się stężeń reagentów.

Następnie zbadałam wpływ ilości biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO. Użycie 150 mg biokatalizatora na 1 mmol alkoholu furfurylowego skutkowało wysoką konwersją alkoholu furfurylowego (90,2%) w 45 min. Zwiększenie ilości biokatalizatora do 175 mg nie doprowadziło do uzyskania większego przereagowania alkoholu furfurylowego ani zwiększenia szybkości reakcji (90,4% w 45 min). Zaobserwowałam, że użycie tylko 25 mg biokatalizatora nadal umożliwiło uzyskanie wysokiej konwersji alkoholu furfurylowego (84,8%), ale w dłuższym czasie 180 min. Obserwacja ta potwierdza wyjątkowo wysoką aktywność opracowanego biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO. Zbadałam również wpływ stosunku molowego alkoholu furfurylowego do kwasu oktanowego na aktywność katalityczną biokatalizatora w reakcji estryfikacji alkoholu furfurylowego. Najlepszy wynik uzyskano przy trzykrotnym nadmiarze molowym kwasu oktanowego, osiągając 90,2% konwersji alkoholu furfurylowego w 45 min. Zwiększenie nadmiaru molowego kwasu nie wpłynęło na przereagowanie alkoholu

furfurylowego. Badania dotyczące wpływu temperatury wykazały podobną aktywność katalityczną MgO-SiO₂-C8-LAO w temperaturach 25 °C, 30 °C i 35 °C. Zgodnie z oczekiwaniami, niższa temperatura (20 °C) spowodowała niewielkie zmniejszenie szybkości reakcji, co wskazuje 25 °C jako optymalną temperaturę procesu. Wyższa temperatura (40 °C) spowodowała spowolnienie reakcji, prawdopodobnie z powodu częściowej dezaktywacji biokatalizatora opartego o lipazę. Zgodnie z literaturą, LAO utrzymuje optymalną aktywność w temperaturze około 30 °C i pH 7, przy czym znaczny spadek aktywności obserwuje się przy 40 °C, co jest zgodne z uzyskanymi wynikami.⁷³



Wykres 4. Badanie zawrotu MgO-SiO₂-C8-LAO w estryfikacji alkoholu furfurylowego. Warunki reakcji: alkohol furfurylowy 1,0 mmol, kwas oktanowy 3,0 mmol, cykloheksan 0.5 mL, MgO-SiO₂-C8-LAO 150 mg, 25 °C, 250 rpm, 45 min. Konwersję alkoholu furfurylowego oznaczono za pomocą GC.

Kolejnym krokiem było wykazanie możliwości łatwego i bezpiecznego ponownego użycia biokatalizatora, co jest kluczowe dla rozwoju przyjaznych środowisku i efektywnych systemów katalitycznych. Zdolność do ponownego wykorzystania MgO-SiO₂-C8-LAO zbadalam w reakcji estryfikacji alkoholu furfurylowego, przy dwukrotnym zwiększeniu skali procesu do 2 mmol alkoholu furfurylowego, co wymagało użycia 300 mg biokatalizatora w układzie okresowym. Opracowany MgO-SiO₂-C8-LAO zachował swoją aktywność katalityczną przez 9 kolejnych cykli estryfikacji alkoholu furfurylowego (Wykres 4), po którym dopiero zaobserwowałam stopniowy spadek. W 10 cyklu reakcji zaobserwowałam zmniejszenie konwersji alkoholu furfurylowego do 84,6%. Analizy TGA biokatalizatora po kolejnych cyklach nie wykazały zmian w ilości LAO, co wskazuje na powolną dezaktywację LAO w procesie.

Dodatkowo, eksperyment „reakcja stop”, który polegał na szybkim usunięciu biokatalizatora z mieszaniny reakcyjnej, wykazał brak dalszej konwersji alkoholu furfurylowego w filtracie, co potwierdza, że nie wystąpiło wymywanie LAO do układu reakcyjnego. Zatem zaobserwowany spadek właściwości biokatalitycznych jest głównie związany z inhibicją enzymu przez substrat lub produkty lub z dezaktywacją białka wskutek denaturacji.

Ważnym aspektem w trakcie opracowywania technologii jest również uniwersalność badanego układu katalitycznego. Przeprowadziłam szereg reakcji estryfikacji z zastosowaniem różnych kwasów tłuszczowych (kwas oktanowy, kwas nonanowy, kwas dekanowy, kwas laurynowy, kwas oleinowy) w obecności biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO. Uzyskałam wysokie wartości konwersji alkoholu furfurylowego (88,7%–60,2%) w temperaturze 25 °C w czasie 45–90 min, gdzie wydajności wyizolowanych produktów mieściła się w zakresie 85–88%. Selektywność estryfikacji osiągnęła 100% dla każdego estru.

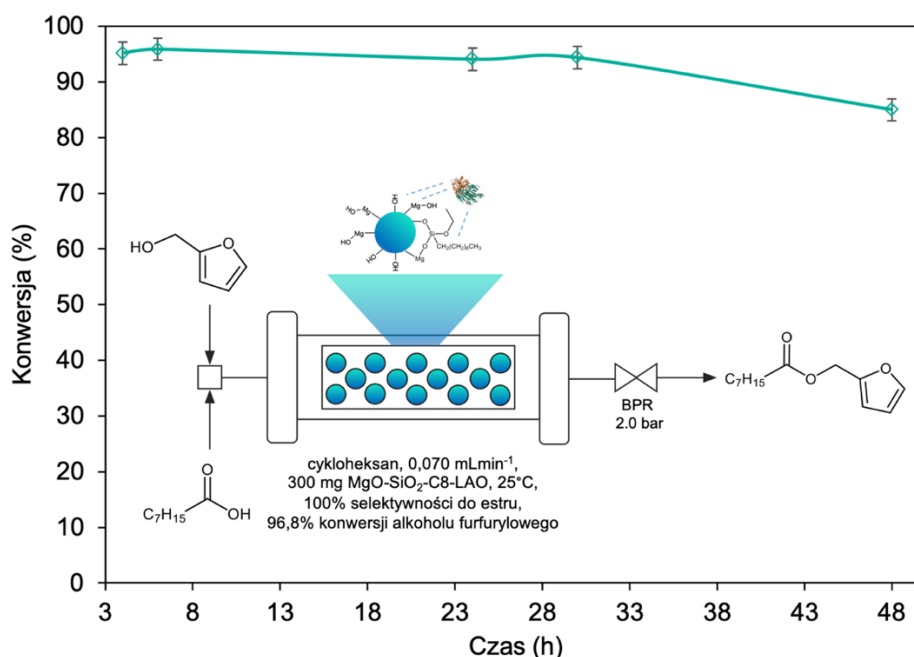
3.3. Transformacja procesu estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasów tłuszczowych C8-C18 w obecności opracowanych biokatalizatorów z systemu okresowego na ciągły.

Na podstawie obiecujących wyników uzyskanych w układzie okresowym opracowany biokatalizator MgO-SiO₂-C8-LAO przetestowałam w trybie ciągłym. Eksperymenty przeprowadziłam w pełni zautomatyzowanym kolumnowym mikroreaktorze przepływowym Syrris Asia, wypełnionym 300 mg MgO-SiO₂-C8-LAO. Przed każdym eksperymentem przygotowywałam świeżą mieszaninę alkoholu furfurylowego (6,2 g), kwasu oktanowego (27,4 g) i cykloheksanu (31,7 mL), która następnie była pompowana do reaktora wypełnionego biokatalizatorem. W celu utrzymania stabilnego przepływu reagentów przez złożę, układ został wyposażony w regulator ciśnienia wstecznego, ustawiony na 2 bary (Wykres 5). Eksperymenty przeprowadzałam w warunkach zoptymalizowanych dla systemu okresowego.

Wpływ czasu przebywania na konwersję alkoholu furfurylowego określiłam przy całkowitym natężeniu przepływu reagentów od 0,04 do 0,20 mLmin⁻¹. Czasy przebywania reagentów w strefie katalitycznej w zakresie od 10,5 do 18,4 min, związane z przepływem reagentów na poziomie 0,04 mLmin⁻¹, 0,06 mLmin⁻¹, 0,07 mLmin⁻¹ ($\tau = 18,4$ min, 12,3 min, 10,5 min), skutkowały wysoką konwersją alkoholu furfurylowego, sięgającą 96,8% i utrzymującą się stabilnie przez co najmniej 3 h. Skrócenie czasu przebywania poniżej 10,5 min prowadziło do obniżenia konwersji alkoholu furfurylowego. Dla przepływów reagentów

0,08 mLmin⁻¹, 0,1 mLmin⁻¹ i 0,2 mLmin⁻¹ zauważyłam znaczące pogorszenie się wartości konwersji alkoholu furfurylowego do odpowiednio 92,3%, 85,2% i 79,1%.

Biorąc pod uwagę najwyższą konwersję alkoholu furfurylowego (96,8%) przy przepływie 0,07 mLmin⁻¹ ($\tau = 10,5$ min) i wydajności objętościowej syntezy 6651 (gh⁻¹L⁻¹), uznałam te warunki jako optymalne i wykorzystałam do długotrwałych testów stabilności biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO. Biokatalizator wykazał doskonałą stabilność przez 30 h, z konwersją alkoholu furfurylowego wynoszącą 96,8%. Niewielki spadek do 85,7% zaobserwowałam po 48 h prowadzenia procesu (Wykres 5).



Wykres 5. Stabilność katalityczna MgO-SiO₂-C8-LAO w estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego w systemie przepływowym. Warunki reakcji: alkohol furfurylowy w cykloheksanie (2 M), kwas oktanowy (1:3, *n*:*n*, alkohol furfurylowy : kwas oktanowy), 0,07 mLmin⁻¹, MgO-SiO₂-C8-LAO 300 mg, 25 °C. Konwersję alkoholu furfurylowego analizowałam za pomocą GC.

Produktywność przeprowadzonego procesu wynosząca 0,376 g/h (1,67 mmol/h) jest dość efektywna, zwłaszcza biorąc pod uwagę rozmiar reaktora (objętość złoża 0,735 mL) i wydajność równą 6651 gh⁻¹L⁻¹. Dodatkowo, stabilność biokatalizatora przez 30 h pozwala na wytworzenie 11,28 g estru. Warto podkreślić, że osiągnęłam 21 razy wyższą produktywność w systemie ciągłym w porównaniu do procesu w układzie okresowym (6651 gh⁻¹L⁻¹ system ciągły i 320 gh⁻¹L⁻¹ system okresowy).

Podsumowując, w warunkach przepływowych uzyskałam wyższą konwersję alkoholu furfurylowego wynoszącą 96,8% w porównaniu do 90,2% w systemie okresowym, przy

jednoczesnym skróceniu czasu przebywania reagentów do 10,5 min w porównaniu do 45 min w procesie okresowym. Te doskonałe wyniki dla procesu przepływowego mogą być wyjaśnione skuteczną adsorpcją enzymu oraz zapewnieniem odpowiedniego dla lipazy hydrofobowego mikrośrodowiska, co skutkowało wysoką aktywnością enzymu przez dłuższy okres czasu.

3.4. Analiza opracowanych technologii reakcji estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasów tłuszczowych C8-C18 w obecności zaprojektowanego biokatalizatora w systemie okresowym oraz ciągłym pod kątem zielonej chemii.

W celu podkreślenia zrównoważonego charakteru opracowanej metody otrzymywania estrów furfurylowych, przeprowadziłam analizę *Green Metrics* wszystkich dostępnych danych literaturowych dotyczących syntezy estrów furfurylowych zgodnie z zasadami Zielonej Chemii, korzystając z zestawu narzędzi Green Chemistry Metrics J. Clark (Tabela 8).⁷⁴

Biokatalizator MgO-SiO₂-C8-LAO użyty w syntezie oktanianu furfurylu w systemie okresowym i ciągłym porównałam z katalizatorami metalicznymi (Y₂O₃-ZrO₂, Fe-DTP-ZIF-8), komercyjnym biokatalizatorem (Novozyme 435) oraz odczynnikiem sprzęgającym (*N*-(3-dimetyloaminopropyl)-*N'*-etylokarbodiimid, EDC), które zostały opisane w literaturze w syntezie: octanu furfurylu, oleinianu furfurylu, oktanianu furfurylu, rycynolanu furfurylu i 2-furanianu furfurylu.

W prawie wszystkich przypadkach nie zaobserwowałam produktów ubocznych, osiągając 100% selektywności procesu, z wyjątkiem niższej selektywności estryfikacji wynoszącej 86,3%, uzyskanej w obecności katalizatora Fe-DTP-ZIF-8 (heteropolikwas zamknięty w zeolicie typu ZIF-8 domieszkowany żelazem). Wydajność estru wyższa niż 90% została otrzymana tylko w dwóch przypadkach: z biokatalizatorami opisanymi w tej pracy i z Novozyme 435 (Nr 3, 7, 8), co podkreśla znaczenie przeprowadzonych badań. W tym miejscu warto podkreślić, że brak lub trudności z recyklingiem Novozyme 435 mogą stanowić istotną przeszkodę w jego zastosowaniu w systemie ciągłym.

Tabela 8. Analiza syntezy estrów furfurylowych pod kątem zielonej chemii.

Katalizator/Reagent	Y ₂ O ₃ -ZrO ₂ ^a	Fe-DTP-ZIF-8 ^b	Novozyme 435 ^c	Novozyme 435 ^d	Novozyme 435 ^e	EDC ^f	MgO-SiO ₂ -C8-LAO System okresowy ^g	MgO-SiO ₂ -C8-LAO System ciągły ^h
Nr	1	2	3	4	5	6	7	8
Kwas	Kwas octowy	Kwas octowy	Kwas oleinowy	Kwas oktanowy	Kwas rycynolowy	Kwas furanowy	Kwas oktanowy	Kwas oktanowy
Wydajność produktu (%)	88	75,7	99,9	73	88,6	70,8	90,2	96,8
Selektywność reakcji (%)	100	86,3	100	100	100	100	100	100
Ekonomia atomu (%)	88,6	88,6	95,3	92,6	95,5	91,4	92,6	92,6
RME (%)	31	47,9	95,1	68,7	56,1	31,3	38,1	40,9
Rozpuszczalnik		- i	- i	- i	- i			
Katalizator czy reagent								
Recykł			Brak danych	Brak danych	Brak danych			
Pierwiastki krytyczne								
Energia								
Reakcja prowadzona poniżej punktu wrzenia								
System okresowy/ciągły								
Metoda wydzielenia produktu		- i	- i	- i	- i			
Zdrowie i bezpieczeństwo								
Literatura	76	75	66	67	68	77	Ta praca	Ta praca

^aWarunki reakcji: alkohol furfurylowy 10 mmol, kwas octowy 50 mmol, Y₂O₃-ZrO₂ 0,2 g, 110 °C, 7 h. ^bWarunki reakcji: alkohol furfurylowy 46 mmol, kwas octowy 28 mmol, Fe-DTP-ZIF-8 0,006 g, 100 °C, 6 h. ^cWarunki reakcji: alkohol furfurylowy 71 mmol, kwas oleinowy 71 mmol, Novozyme 435 1 g, 60°C, 533,29 Pa, 6 h. ^dWarunki reakcji: alkohol furfurylowy 1 mmol, kwas oktanowy 1 mmol, Novozyme 435 (0,01 g), 55 °C, 24 h. ^eWarunki reakcji: alkohol furfurylowy 3 mmol, kwas oktanowy 1 mmol, Novozyme 435 0,06 g, 60 °C, 28 mmHg próżnia, 5 h. ^fWarunki reakcji: alkohol furfurylowy 2 mmol, kwas 2-furanowy 6 mmol, EDC 0,06 g, dichlorometan 3 mL, 90 °C, mikrofała 200 W, 30 min. ^gWarunki reakcji: alkohol furfurylowy 1 mmol, kwas oktanowy 3 mmol, cykloheksan 0,50 mL, MgO-SiO₂-C8-LAO 0,15 g, 25 °C, 45 min. ^hWarunki reakcji: alkohol furfurylowy 19 mmol, kwas oktanowy 57 mmol, cykloheksan 95 mL, MgO-SiO₂-C8-LAO 0,30 g, 0,070 mLmin⁻¹, 25 °C, 10,5 min (czas przebywania), 48 h (pełna konwersja). ⁱbez rozpuszczalnika, brak danych dotyczących wydzielenia; System flagowania: zielona – preferowany, żółta – akceptowalny, czerwona – niepożądany.

Biokatalizatory są uważane za biodegradowalne i przyjazne dla środowiska alternatywy dla katalizatorów metalicznych i tradycyjnych kwasów, co zwiększa ekologiczny charakter opracowanych metod (Nr 3, 4, 5, 7, 8). Możliwość zawrotu katalizatora i jego stabilność w procesie to jedne z najważniejszych aspektów przy rozważaniu wpływu na środowisko i zastosowalności opracowanej metody. Możliwość ponownego wykorzystania opisanych w literaturze układów katalitycznych wykazano tylko dla Fe-DTP-ZIF-8 przez co najmniej 5 cykli (Nr 2) w porównaniu do co najmniej 10 cykli uzyskanych dla MgO-SiO₂-C8-LAO w systemie okresowym oraz wysokiej wydajności produkcji równej 6651 gh⁻¹L⁻¹ w systemie ciągłym (odpowiednio Nr 7 i 8). Możliwość zawrotu Y₂O₃-ZrO₂ (Nr 1) i Novozyme 435 (Nr 4) była tylko postulowana.

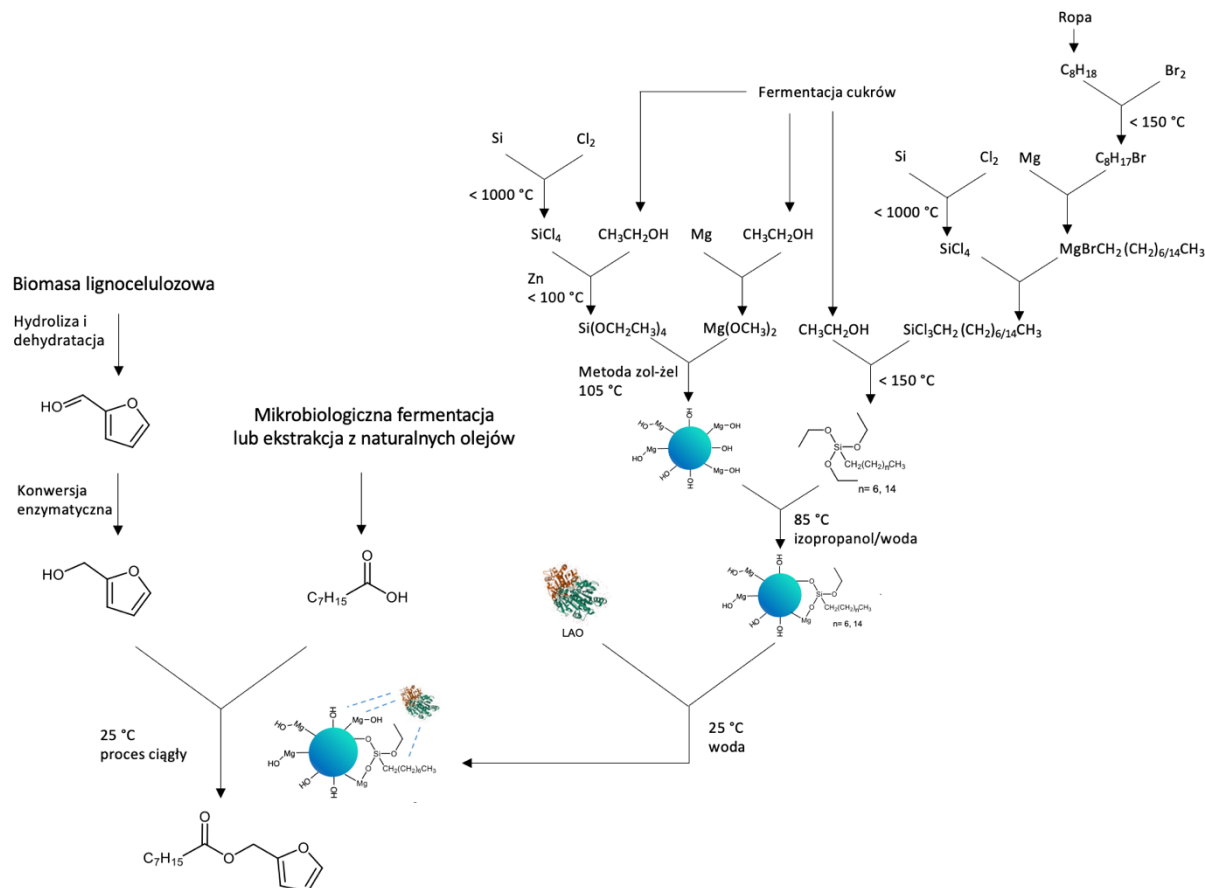
Ekonomia atomowa dla reakcji estryfikacji jest niższa niż 100% z powodu tworzenia się cząsteczki wody podczas syntezy. Jak wspomniałam wcześniej, obecność wody może być korzystna podczas procesów katalizowanych przez lipazy. Efektywność masowa reakcji (z ang. *Reaction Mass Efficiency*, RME) dla syntezy estrów furfurylowych zazwyczaj wynosi od 31% do 69%, z wyjątkiem Nr 3 (95,1%). Zależy ona w dużej mierze od wydajności i nadmiaru reagentów używanych w każdej metodzie.

Synteza estrów furfurylowych może być przeprowadzana w warunkach bezrozpuszczalnikowych, ale w wysokiej temperaturze, pod ciśnieniem i z długim czasem reakcji (110°C, 7 h, Nr 1; 100 °C, 6 h, Nr 2; 60 °C, 533,29 Pa, 6 h, Nr 3; 55°C, 24 h, Nr 4; 60. °C, 28 mmHg próżni, Nr 5) lub z rozpuszczalnikiem, takim jak dichlorometan (90 °C, mikrofałe 200 W, 30 min, Nr 6) i cykloheksan (25 °C, 45 min, Nr 7; 25 °C, 10,5 min czasu przebywania, Nr 8).

Warto zauważyć, że większość opisanych przykładów otrzymywania estrów furfurylowych były prowadzone w systemach okresowych (Nr 1–7). Synteza w systemie ciągłym zaprezentowana w tej pracy nie tylko zwiększa efektywność produkcji, ale także poprawia aspekty dotyczące oddziaływania technologii na środowisko.

Procedura oczyszczania została opisana tylko dla Nr 1, 6 oraz 7, 8. Estry furfurylowe można izolować poprzez destylację w warunkach obniżonego ciśnienia lub wysokiej temperatury, lub ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi, takimi jak heptan (co opisano w tej pracy), dichlorometan^{76,77} oraz chromatografia kolumnowa^{76,77}. Czerwone flagi w wierszu Zdrowie i bezpieczeństwo dla naszych badań wynikały z konieczności użycia hydrofobowego rozpuszczalnika organicznego do ekstrakcji estru furfurylowego z mieszaniny poreakcyjnej.

Dodatkowo w ramach niniejszej pracy rozważyłam inne podejście oceny ekologiczności opracowanej metody, analizując nie tylko metodę syntezy estrów, ale także wcześniejsze etapy cyklu życia. W celu analizy opracowanej metody w kontekście cyklu życia, przygotowałam drzewo syntetyczne (Schemat 7).⁷⁸



Schemat 7. Drzewo syntetyczne dla syntezy oktanianu furfurylu w systemie ciągłym katalizowanym przez MgO-SiO₂-C8-LAO.

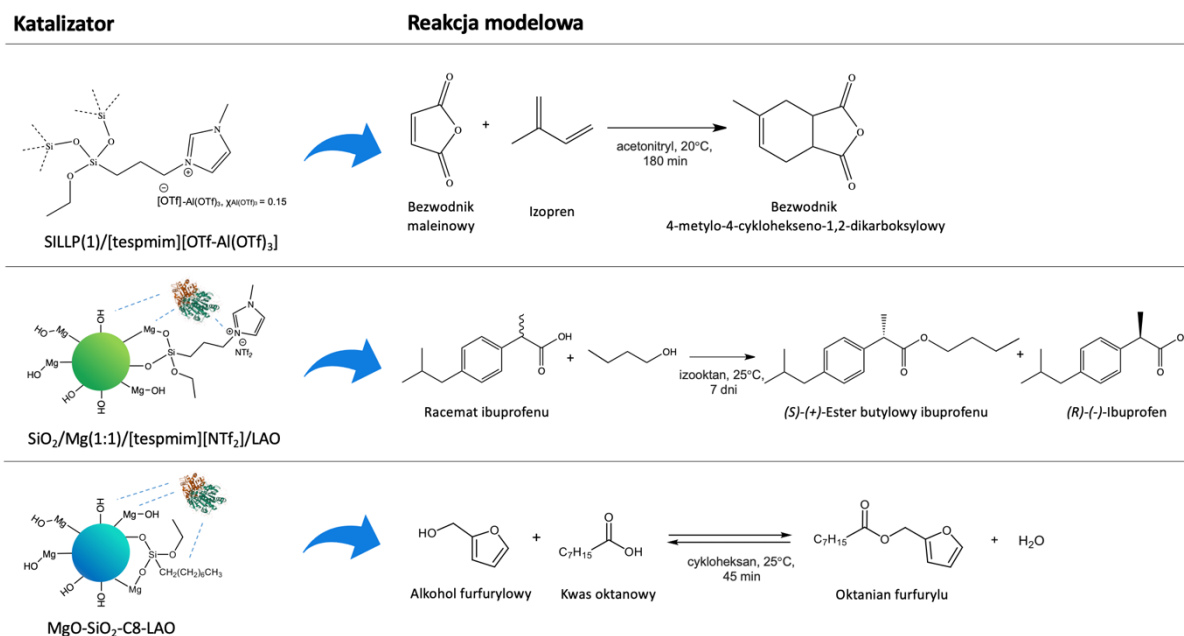
Wszystkie niezbędne substraty do produkcji estru, alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego można pozyskać ze źródeł naturalnych, takich jak biomasa lignocelulozowa,⁷⁹⁻⁸¹ olej kokosowy i palmowy⁸² lub poprzez produkcja mikrobiologiczną z odnawialnych źródeł węgla.⁸³ W kontekście zarządzania odpadami i zasad gospodarki w obiegu zamkniętym, szczególnie ważne jest wykorzystanie odpadów jako surowca do produkcji innych substancji. Metody produkcji dotyczące alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego obejmują różne strategie, w tym produkcję w systemie ciągłym, wykorzystanie rozpuszczalników głęboko eutektycznych, cieczy jonowych oraz enzymów. Wszystkie opisane podejścia mają na celu osiągnięcie najbardziej ekologicznych metod syntezy.⁷⁹⁻⁸³ Produkcja biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO obejmuje wykorzystanie LAO, która jest uznawana za enzym bezpieczny, natomiast

w procesie syntezy nośnika MgO-SiO₂-C8 można zaobserwować kilka krytycznych elementów. Głównym problemem jest włączenie lotnych fluorowodorów w syntezę związków krzemoorganicznych, co stwarza ryzyko dla środowiska, takie jak kwaśne deszcze, niszczenie warstwy ozonowej i globalne ocieplenie. Niemniej jednak, trwają prace nad poszukiwaniem alternatywnych metod syntezy cennych cząsteczek krzemoorganicznych przy użyciu enzymów.⁸⁴

Podsumowując, opracowana w tej pracy metoda ciągłej syntezy estrów furfurylowych w obecności biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO, analizowana pod kątem zielonej chemii, znajduje równowagę między wysoko aktywnym, stabilnym, nadającym się do wielokrotnego zastosowania i biodegradowalnym katalizatorem, a także podejściem przyjaznym dla środowiska i zrównoważonym w produkcji chemicznej.

III PODSUMOWANIE

Głównym celem badań realizowanych w ramach niniejszej pracy było opracowanie aktywnych i stabilnych układów katalitycznych opartych o enzymy lub kwasowe ciecze jonowe dedykowanych dla sektora lekkiej syntezy organicznej. Zaprezentowałam trzy nowe układy katalityczne, które zostały wykorzystane w trzech modelowych procesach: cykloaddycji Dielsa-Aldera, rozdziale kinetycznym racematu ibuprofenu oraz estryfikacji alkoholu furfurylowego i wyższych kwasów tłuszczowych. Nowe heterogeniczne katalizatory były oparte o kwasowe ciecze jonowe typu Lewisa lub lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz materiały krzemionkowe. Graficzne przedstawienie opracowanych katalizatorów oraz schematy reakcji modelowych zaprezentowałam na Rysunku 10. Wszystkie nowo otrzymane katalizatory poddawałam w pierwszej kolejności szczegółowej charakterystyce metodami TGA, SEM-EDX, ^{29}Si MAS NMR, FT-IR, ICP oraz analizie adsorpcji-desorpcji (BET/BJH), a następnie przeprowadzałam ich testy aktywności katalitycznej w wybranych reakcjach modelowych z sektora lekkiej syntezy organicznej w systemie okresowym.



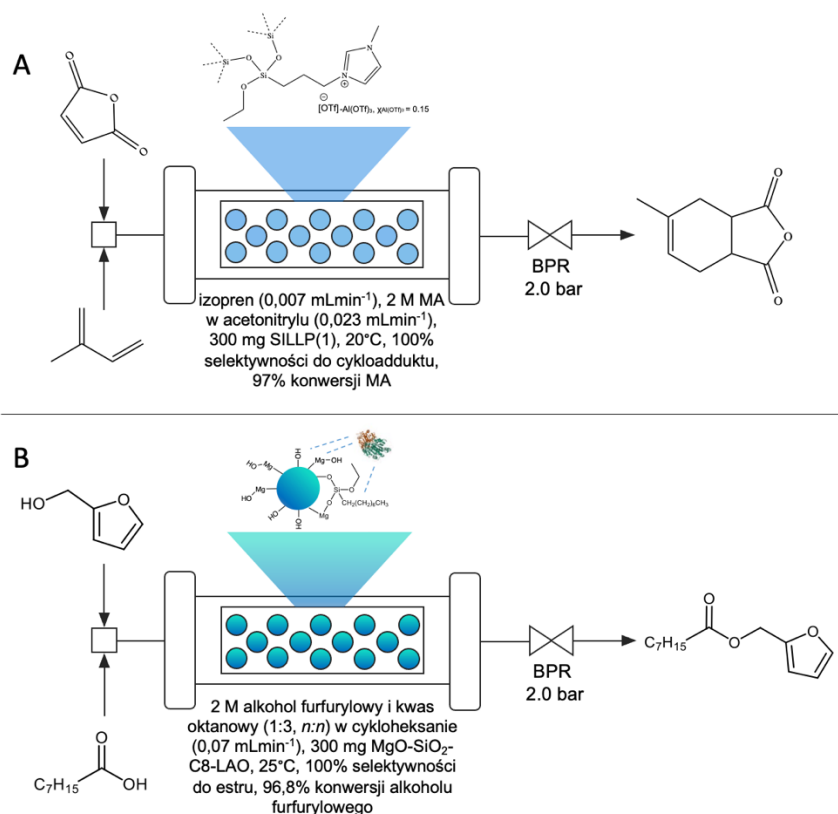
Rysunek 10. Struktury katalizatorów oraz schematy reakcji modelowych stosowanych w badaniach.

W badaniach nad opracowaniem heterogenicznego katalizatora opartego o kwasową ciecz jonową typu Lewisa [tespmim][OTf-Al(OTf)₃] i krzemionkę o multimodalnej porowatości wykazałam, że kolejność wprowadzania fazy aktywnej na powierzchnię nośnika ma kluczowe znaczenie. Metoda zakładająca początkową syntezę trifloglinianowej cieczy jonowej, a następnie jej związanie z powierzchnią krzemionki (zawartość IL 25,3 wt%) pozwoliła na otrzymanie katalizatora, dla którego zaobserwowałam wysoką konwersję MA z izoprenem w reakcji Dielsa-Aldera (97%) w dziesięciu cyklach reakcyjnych.

W dalszych badaniach opracowałam dwa systemy biokatalityczne do kinetycznego rozdzielania racematu ibuprofenu poprzez enancjomeryczną estryfikację w obecności lipazy z *Aspergillus oryzae*. Zaprojektowałam heterogeniczny biokatalizator oparty na nośniku SILLP oraz hybrydowych materiałach krzemionkowych, co przyczyniło się do zwiększenia aktywności i stabilności białka oraz umożliwiło jego ponowne wykorzystanie. Użycie natywnej LAO pozwoliło uzyskać enancjoselektywność 99,9% (*S*)-(+)-estru ibuprofenu przy konwersji racematu wynoszącej 34,8% po 24 h, oraz 99,9% *ee* przy 45,2% konwersji po 48 h, co jest konkurencyjne w stosunku do obecnych danych literaturowych. Heterogeniczny biokatalizator SiO₂/Mg(1:1)/[tespmim][NTf₂]/LAO (z 6,79 wt% IL i 3,96 wt% LAO) osiągnął 35% konwersji racematu ibuprofenu po 7 dniach, z 95% *ee* estru. Chociaż rozcieńczenie układu reakcyjnego spowodowało spadek szybkości reakcji, wysoki nadmiar enancjomeryczny (*S*)-(+)-estru ibuprofenu został zachowany w kolejnym cyklu reakcji.

Kolejne badania, które prowadziłam w ramach pracy doktorskiej doprowadziły do opracowania wysoce aktywnego i stabilnego biokatalizatora opartego o lipazę z *Aspergillus oryzae* oraz materiał krzemionkowy domieszkowany tlenkiem magnezu i modyfikowany grupami oktylowymi MgO-SiO₂-C8-LAO. Aktywność układu biokatalitycznego testowałam w estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego. Udowodniłam, że odpowiednie przygotowanie matrycy pod immobilizację lipazy umożliwia jej efektywną immobilizację na nośniku oraz aktywne działanie w procesie. Domieszkowanie krzemionki tlenkiem magnezu dodatkowo spowodowało wzrost aktywności katalitycznej białka. Opracowany przeze mnie biokatalizator wykazał swoją aktywność katalityczną przez 9 kolejnych cykli estryfikacji alkoholu furfurylowego, po którym dopiero zaobserwowałam stopniowy spadek konwersji substratu z 90,2% do 84,6%. MgO-SiO₂-C8-LAO umożliwił syntezę estrów furfurylowych kwasu oktanowego, nonanowego, dekanowego, laurynowego oraz oleinowego ze 100% selektywnością.

W przypadku, gdy stabilność katalizatora w układzie reakcyjnym była wystarczająca, proces dostosowywałam do warunków przepływowych (Rysunek 11). Technologie przepływowe umożliwiają maksymalizację procesu produkcji poprzez efektywniejszą wymianę masy, dzięki korzystnemu stosunkowi powierzchni kontaktu do objętości wprowadzanych reagentów. Dodatkowo, syntezy ciągłe są łatwiejsze do skalowania, bardziej ekologiczne oraz łatwiej je integrować z zaawansowanymi systemami monitoringu i automatyzacji. Wszystkie wymienione zalety procesów prowadzonych w systemie przepływowym prowadzą do zwiększenia bezpieczeństwa i efektywności produkcji.



Rysunek 11. Graficzne przedstawienie opracowanych procesów w systemach przepływowych.

Transformacja modelowej reakcji Dielsa-Aldera bezwodnika maleinowego z izoprenem na tryb ciągły w obecności katalizatora SILLP(1)/[tespmim][OTf-Al(OTf)₃], po optymalizacji warunków w systemie przepływowym, doprowadziła do 97% konwersji MA przez 432 h (TOF 104,3 h⁻¹) (Rysunek 11A). W tej części pracy, dokładna optymalizacja ścieżki syntezy trifloglinianowych materiałów SILLP pozwoliła na otrzymanie wysoce wydajnego i stabilnego katalizatora, który umożliwił opracowanie technologii syntezy cykloadduktów Dielsa-Aldera w systemie okresowym oraz ciągłym.

Transformacja syntezy oktanianu furfurylu w obecności biokatalizatora MgO-SiO₂-C8-LAO umożliwiła intensyfikację procesu do 96,8% konwersji alkoholu furfurylowego przy przepływie 0,07 mLmin⁻¹ ($\tau = 10,5$ min) i wydajności syntezy 6651 (gh⁻¹L⁻¹) (Rysunek 11B). W tych warunkach biokatalizator wykazał doskonałą stabilność przez 30 h, z konwersją alkoholu furfurylowego wynoszącą 96,8%, a niewielki spadek do 85,7% zaobserwowałam po 48 h prowadzenia procesu. Osiągnięta przeze mnie produktywność w układzie ciągłym jest 21 razy wyższa w porównaniu do procesu w układzie okresowym (6651 gh⁻¹L⁻¹ system ciągły i 320 gh⁻¹L⁻¹ system okresowy).

Podsumowując, zaprojektowane przeze mnie układy katalityczne wykazują się wysoką aktywnością oraz stabilnością. Pozwoliło to na opracowanie technologii z sektora lekkiej syntezy organicznej, które wpisują się w ideę zielonej chemii oraz cele zrównoważonego rozwoju przemysłu chemicznego. Część prowadzonych przeze mnie badań została wyróżniona grantem naukowym Narodowego Centrum Nauki w ramach programu Preludium-22. Dodatkowo, procesy oraz metody syntezy katalizatorów były przedmiotem dwóch zgłoszeń patentowych.

IV LITERATURA

- [1] R.A. Sheldon, *Green. Chem.* **2017**, 19, 18–43.
- [2] R. Ratti, *SN Appl. Sci.* **2020**, 2, 263.
- [3] C.M. Friend, B. Xu, *Acc. Chem. Res.* **2017**, 50, 517–521.
- [4] N.V. Plechkova, K.R. Seddon, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 123–150.
- [5] J.P. Hallett, T. Welton, *Chem. Rev.* **2011**, 111, 3508–3576.
- [6] T. Welton, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2071–2084.
- [7] Chiappe, C.; Rajamani, S.; D'Andrea, F. *Green Chem.* **2013**, 15, 137–143.
- [8] L.C. Brown, J.M. Hogg, M. Swadźba-Kwaśny, *Top Curr. Chem.* **2017**, 375, 78.
- [9] T.L. Greaves, C.J. Drummond, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 206–237.
- [10] A.S. Amarasekara, *Chem. Rev.* **2016**, 116, 6133–6183.
- [11] R. Skoda-Földes, *Molecules* **2014**, 19, 8840–8884.
- [12] M.H. Valkenberg, C. deCastro, W.F. Hölderich, *Top. Catal.* **2000**, 14, 139–144.
- [13] F. Giacalone, M. Gruttadauria, *ChemCatChem* **2016**, 8, 664–684.
- [14] A. Wolny, A. Chrobok, *Molecules* 2022, 27, 5900. [Publikacja 1]**
- [15] R.A. Sheldon, J.M. Woodley, *Chem. Rev.* **2018**, 118, 801–838.
- [16] M.T. Reetz, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 12480.
- [17] E.M. Anderson, K.M. Larsson, O. Kirk, *Biocatal. Biotransform.* **1998**, 16, 181.
- [18] F. Hasan, A. A. Shah, A. Hamed, *Enzyme Microb. Technol.* **2006**, 39, 235.
- [19] R. Verger, *Trends Biotechnol.* **1997**, 15, 32–38.
- [20] A. Brzozowski, U. Derewenda, Z.S. Derewenda, G.G. Dodson, D.M. Lawson, J.P. Turkenburg, F. Bjorkling, B. Huge-Jensen, S.A. Patkar, L. Thim, *Nature* **1991**, 351, 491–494.
- [21] A. Kumar, K. Dhar, S.S. Kanwar, *Biol. Proced. Online* **2016**, 18, 1–11.
- [22] C. Mateo, J.M. Palomo, G. Fernandez-Lorente, J.M. Guisan, R. Fernandez-Lafuente, *Enzyme Microb. Technol.* **2017**, 40, 1451–1463.
- [23] C. Garcia-Galan, Á. Berenguer-Murcia, R. Fernandez-Lafuente, R.C. Rodrigues, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353, 2885–2904.
- [24] E.P. Cicolatti, A. Valério, R.O. Henriques, D.E. Moritz, J.L. Ninow, D.M.G. Freire, E.A. Manoel, R. Fernandez-Lafuente, D. De Oliveira, *RSC Adv.* **2016**, 6, 104675–104692.

- [25] R. Fernandez-Lafuente, P. Armisén, P. Sabuquillo, G. Fernández-Lorente, J.M. Guisán, *Chem. Phys. Lipids*, **1998**, 93, 185–197.
- [26] G. Fernandez-Lorente, J. Rocha-Martín, J.M. Guisan, *Methods Mol. Biol.* **2020**, 2100, 143–158.
- [27] S. Arana-Peña, N.S. Rios, D. Carballares, L.R.B. Gonçalves, R. Fernandez-Lafuente, *Catal. Today* **2021**, 362, 130–140.
- [28] A. Drozd, A. Chrobok, S. Baj, K. Szymańska, J. Mrowiec-Białoń, A.B. Jarzębski, *Appl. Catal. A Gen.* **2013**, 467, 163–170.
- [29] E. Garcia-Verdugo, P. Lozano, S.V. Luis, Biocatalytic Processes Based on Supported Ionic Liquids. W R. Fehrmann, A. Riisager, M. Haumann, *Supported Ionic Liquids: Fundamental and Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH: Berlin, Germany, **2014**, str. 351–368.
- [30] F. Van Rantwijk, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 3065–3066.
- [31] M. Potdar, G. Kelso, L. Schwarz, C. Zhang, M. Hearn, *Molecules* **2015**, 20, 16788–16816.
- [32] A. Riisager, R. Fehrmann, M. Haumann, P. Wasserscheid, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 4, 695–706.
- [33] A. Wolny, A. Chrobok, *Nanomaterials* **2021**, *11*, 2030. [Publikacja 2]
- [34] A. Wolny, A. Chrobok, *Curr. Org. Chem.* **2023**, *27*, 1119–1122. [Publikacja 3]
- [35] A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbi-Kolon, A. Chrobok, *Appl. Catal. A Gen.* **2024**, *676*, 119676. [Publikacja 4]
- [36] A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, L.D. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, *Environ. Technol. Innov.* **2022**, *28*, 102936. [Publikacja 5]
- [37] A. Wolny, D. Więclawik, J. Zdarta, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, *Green Chem.* **2024**, [Publikacja 6]
- [38] A.P. Abbott, G. Capper, D.L. Davies, H.L. Munro, R.K. Rasheed, V. Tambyrajah, *Chem. Commun.* **2001**, 2010–2011.
- [39] B.A. Silveira Neto, G. Ebeling, R.S. Gonçalves, F.C. Gozzo, M.N. Eberlin, J. Dupont, *Synthesis* **2004**, 8, 1155–1158.
- [40] P. Latos, A. Culkin, N. Barteczko, S. Boncel, S. Jurczyk, L.C. Brown, P. Nockemann, A. Chrobok, M. Swadźba-Kwaśny, *Front. Chem.* **2018**, 6, 535.
- [41] P. Latos, A. Szelwicka, S. Boncel, S. Jurczyk, M. Swadźba-Kwaśny, A. Chrobok, *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2019**, 7, 5184–5191.

- [42] P. Latos, A. Wolny, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, *Environ. Technol. Innov.* **2023**, 31, 103164.
- [43] J.A. Funel, S. Abele, *Angew. Chem.* **2013**, 52, 3822–3863.
- [44] B. Briou, B. Améduri, B. Boutevin, *Chem. Soc. Rev.* **2021**, 50, 11055–11097.
- [45] X.-C. Lv, Z.-C. Tan, Q. Shi, H.-T. Zhang, L.-X. Sun, T. Zhang, *J. Chem. Eng. Data* **2005**, 36, 932–935.
- [46] N. Tomotaka, I. Yusuke, S. Masaki, I. Yoshio, A. Yasuhiko, *AIChE J.* **1998**, 44, 1706–1708.
- [47] Y. Ikushima, N. Saito, M. Arat, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, 64, 282–284.
- [48] A.M. Evans, *Clin. Rheumatol.* **2001**, 20, 9–14.
- [49] S.S. Adams, P. Bresloff, C.G. Mason, *J. Pharm. Pharmacol.* **1976**, 28, 256–257.
- [50] C. Jose, M.V. Toledo, L.E. Briand, *Crit. Rev. Biotechnol.* **2015**, 36, 891–903.
- [51] T. Siódmiak, J.K. Rumiński, M.P. Marszałł, *Curr. Org. Chem.* **2012**, 16, 972–977.
- [52] M. Mohammadi, S. Gandomkar, Z. Habibi, M. Yousefi, *RSC Adv.* **2016**, 6, 52838–52849.
- [53] S. Huang, X. Li, L. Xu, C. Ke, R. Zhang, Y. Yan, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2015**, 177, 36–47.
- [54] S. Ghofrani, A. Allameh, P. Yaghmaei, D. Norouzian, *J. Pharm. Sci.* **2021**, 29, 117–123.
- [55] T. Wei, K. Yang, B. Bai, J. Zang, X. Yu, D. Mao, *Molecules* **2016**, 21, 905.
- [56] S. Salgin, S. Takac, *Chem. Eng. Technol.* **2007**, 30, 1739–1743.
- [57] A. Kołodziejczak-Radzimska, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, T. Jesionowski, *Korean J. Chem. Eng.* **2018**, 35, 2220–2231.
- [58] A. Racha, C. Samanta, S. Sreekantan, B. Marimuthu, *Energy and Fuels* **2023**, 37, 11475–11496.
- [59] N. Li, M. H. Zong, *ACS Catal.* **2022**, 12, 10080–10114.
- [60] Q. Li, C. Ma, J. Di, J. Ni, Y.C. He, *Bioresour. Technol.* **2022**, 34.
- [61] V. Ant.n, J. Mu.oz-Embid, I. Gasc.n, M. Artal, C. Lafuente, *Energy and Fuels* **2017**, 31, 4143–4154.
- [62] M.E. Fortunato, F. Taddeo, R. Vitiello, R. Turco, R. Tesser, V.Russo, M. Di Serio, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2023**, 11, 12406–12413.
- [63] E.M. Wewerka, *J. Appl. Polym. Sci.* **1968**, 12, 1671–1681.
- [64] R. González, R. Martínez, P. Ortiz, *Die Makromol. Chemie* **1992**, 193, 1–9.
- [65] H.E. Hoydonckx, D.E. De Vos, S.A. Chavan, P.A. Jacobs, *Top. Catal.* **2004**, 27, 83–96.
- [66] A. Sengupta, T. Dey, M. Ghosh, J. Ghosh, S. Ghosh, *J. Inst. Eng. Ser. E.* **2012**, 93, 31–36.

- [67] Y. Satyawali, V. Akemeier, W. Dejonghe, H. De Wever, W. Van Hecke, *Waste Biomass Valor.* **2019**, 10, 311–317.
- [68] S. Mukherjee, M. Ghosh, *Carbohydr. Polym.* **2017**, 157, 1076–1084.
- [69] M. Markiton, S. Boncel, D. Janas, A. Chrobok, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, 5, 1685–1691.
- [70] A. Szelwicka, S. Boncel, S. Jurczyk, A. Chrobok, *Appl. Catal. A Gen.* **2019**, 574, 41–47.
- [71] J.J. Shangguan, Y.Q. Liu, F.J. Wang, J. Zhao, L.Q. Fan, S.X. Li, J.H. Xu, *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2011**, 165, 949–962.
- [72] F. Ciesielczyk, M. Przybysz, J. Zdarta, A. Piasecki, D. Paukszta, T. Jesionowski, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2014**, 71, 501–513.
- [73] J. Toida, K. Kondoh, M. Fukuzawa, K. Ohnishi, J. Sekiguchi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1995**, 59, 1199–1203.
- [74] C.R. McElroy, A. Constantinou, L.C. Jones, L. Summerton, J.H. Clark, *Green Chem.* **2015**, 17, 3111–3121.
- [75] R.S. Malkar, H. Daly, C. Hardacre, G.D. Yadav, *React. Chem. Eng.* **2019**, 4, 1790–1802.
- [76] P. Kumar, R.K. Pandey, M.S. Bodas, S.P. Dagade, M.K. Dongare, A. V. Ramaswamy, *J. Mol. Catal. A Chem.* **2002**, 181, 207–213.
- [77] Ł. Janczewski, D. Zieliński, B. Kolesińska, *Open Chem.* **2021**, 19, 265–280.
- [78] P. Jessop, *Green Chem.* **2020**, 22, 13–15.
- [79] V. K. Vaidyanathan, K. Saikia, P. S. Kumar, A. K. Rathankumar, G. Rangasamy, G. D. Saratale, *Bioresour. Technol.* **2023**, 378, 128975.
- [80] Y. Bao, Z. Du, X. Liu, H. Liu, J. Tang, C. Qin, C. Liang, C. Huang, S. Yao, *Green Chem.* **2024**, 26, 6318–6338.
- [81] K. J. Yong, T. Y. Wu, C. B. T. Loong Lee, Z. J. Lee, Q. Liu, J. Md Jahim, Q. Zhou, L. Zhang, *Biomass Bioenergy*, **2022**, 161, 106458.
- [82] Y. Chen, Y. She, J. Lei, D. Wang, S. Wu, K. Men, *Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* **2021**, 705, 012013.
- [83] J. H. Ahn, K. H. Jung, E. S. Lim, S. M. Kim, S. O. Han, Y. Um, *Bioresour. Technol.* **2023**, 381, 129147.
- [84] N. S. Sarai, B. J. Levin, J. M. Roberts, D. E. Katsoulis, F. H. Arnold, *ACS Cent. Sci.* **2021**, 7, 944–953.

V INNE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWE

A. Publikacje naukowe

1. P. Latos, **A. Wolny**, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, Highly stable Lewis acidic trifloaluminate ionic liquid supported on silica and metallosilicates as an efficient catalyst for continuous flow aminolysis of epoxides, *Environ. Technol. Innov.* **2023**, 31, 103164.
2. A. Szelwicka, **A. Wolny**, M. Grymel, S. Jurczyk, S. Boncel, A. Chrobok, Chemo-enzymatic Baeyer-Villiger oxidation facilitated with lipases immobilized in the supported ionic liquid phase, *Materials*, **2021**, 14, 3443.
3. M. Heba, **A. Wolny**, A. Kastelik-Hryniewiecka, D. Stradomska, S. Jurczyk, A. Chrobok, N. Kuźnik, Green Dynamic Kinetic Resolution—Stereoselective Acylation of Secondary Alcohols by Enzyme-Assisted Ruthenium Complexes. *Catalysts* **2022**, 12, 1395.
4. P. Latos, **A. Wolny**, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase catalysts dedicated for continuous flow synthesis, *Materials*, **2023**, 16, 1-18.
5. S. Bajkacz, K. Rusin, **A. Wolny**, J. Adamek, K. Erfurt, A. Chrobok, Highly efficient extraction procedures based on natural deep eutectic solvents or ionic liquids for determination of 20-hydroxyecdysone in spinach, *Molecules*, **2020**, 25, 4736.
6. N. Barteczko, A. Brzęczek-Szafran, **A. Wolny**, S. Jurczyk, A. Jakóbi-Kolon, A. Chrobok, Supported ionic liquids for effective ruthenium olefin metathesis, *Appl. Catal. A. Gen.* **2023**, 661, 119226.
7. A. Tabaszewska, **A. Wolny**, Zastosowanie enzymów w produkcji przemysłowej, *Chemik*, **2024**, 1, 42-47.
8. W. Chromy, **A. Wolny**, Metody stabilizacji biokatalizatorów w syntezie organicznej, *Chemik*, **2024**, 1, 36-40.

B. Patenty:

1. P. Latos, A. Chrobok, A. Wolny, Sposób immobilizacji enzymów na stałym nośniku, PL442134A1, 2024.

C. Projekty:

1. Projekt o symbolu NB-87/RCh-5/2020 pt. Badanie aktywności innowacyjnych enzymów w wybranych reakcjach chemicznych (5.06.2020-4.12.2020). Pełniona funkcja: wykonawca.
2. Projekt o symbolu 04/050/NB_22/0160 pt. Testy aktywności roztworów lipaz pochodzenia mikrobiologicznego w wybranych reakcjach modelowych (9.06.2022-5.09.2022). Pełniona funkcja: wykonawca.
3. Projekt o symbolu NB-187/RCH-5/2022 – Losentech sp. z o.o. pt. Przeskalowanie skali procesu przemysłowego. Optymalizacja parametrów procesu utleniania Bayera-Villigera (24.08.2022-25.01.2023). Pełniona funkcja: wykonawca.
4. Projekt NCN OPUS23 UMO-2022/45/B/ST8/02288 pt. Projektowanie kompozytów cementowych z wykorzystaniem zrównoważonych związków jonowych: Ocena właściwości strukturalnych i użytkowych (03.02.2022-do teraz). Pełniona funkcja: wykonawca.
5. Projekt o symbolu NB-262/RCH-5/2023 – Orlen Południe S.A. Opracowanie metod otrzymywania zielonych rozpuszczalników organicznych: estrowych i jonowych, wraz z optymalizacją procesu ich produkcji w skali laboratoryjnej (5.10.2023 – 04.10.2024). Pełniona funkcja: wykonawca.
6. Projekt o symbolu NB-296/RCH-5/2023 – Losentech sp. z o.o. Prowadzenie reakcji utleniania kwasu dekanowego z rozdziałem faz (9.11.2023 – 10.04.2024). Pełniona funkcja: wykonawca.

D. Prezentacje na konferencjach krajowych i międzynarodowych:

1. II Pomeranian Students Chemical Symposium 20-21.03.2021, Gdańsk, Polska; Innovative supported ionic liquid phase biocatalysts in Bayer-Villiger oxidation (poster).
2. 7th International Conference on Ionic Liquid-Based Materials, 21-24.11.2023, Porto, Portugalia; Poly(ionic liquid) compounds as multifunctional cement additives (poster).

E. Inne aktywności naukowe i dydaktyczne

1. Członek Uczelnianej Rady Samorządu Doktorantów Politechniki Śląskiej w kadencji 2023/2024.
2. Członek Students Council EURECA-PRO w kadencji 2023/2024.
3. Opiekun naukowy w Studenckim Kole Naukowym Chemików przy Politechnice Śląskiej.



4. Opiekun pomocniczy w 3 projektach badawczych ze szkołami średnimi w ramach „Projekt Politechnika”: Rozdział racematu metoprololu – produkcja leku na nadciśnienie (31/010/SDU/2-26-39), Bio-produkcja dodatków do biopaliw z biomasy lignocelulozowej (31/010/SDU/2-26-10), Zielona synteza czystego (*S*)-ibuprofenu (31/010/SDU/2-26-145).
5. Opiekun pomocniczy w projekcie „Opracowanie aktywnego układu biokatalitycznego w syntezie dodatków do biopaliw z biomasy lignocelulozowej” finansowanym w ramach VI konkursu finansowania projektów studenckich kół naukowych (IDUB).
6. Liczne prowadzenie zajęć laboratoryjnych dla uczniów szkół ponadpodstawowych.
7. Nagroda II stopnia za pracę pt. „Badania nad metodami modyfikacji nanorurek węglowych przeznaczonych do immobilizacji lipaz” w 31. edycji konkursu na najlepszą pracę dyplomową z zakresu chemii, posiadającą praktyczne znaczenie dla przemysłu 2019/2020, SITPChem, Gliwice, 27.07.2021.

VI WKŁAD AUTORSKI

Publikacja P1 (80%):

- konceptualizacja badań,
- przeprowadzenie przeglądu literatury,
- przygotowanie roboczego manuskryptu,
- przygotowanie wszystkich grafik i tabel,
- wkład w edycje manuskryptu i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

Publikacja P2 (80%):

- konceptualizacja badań,
- przeprowadzenie przeglądu literatury,
- przygotowanie roboczego manuskryptu,
- przygotowanie wszystkich grafik i tabel,
- wkład w edycje manuskryptu i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

Publikacja P3 (90%):

- konceptualizacja badań,
- przeprowadzenie przeglądu literatury,
- przygotowanie roboczego manuskryptu,
- przygotowanie wszystkich grafik i tabel,
- wkład w edycje manuskryptu i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

Publikacja P4 (55%):

- konceptualizacja badań,
- przeprowadzenie przeglądu literatury,
- opracowanie warunków analizy GC oraz analiza otrzymanych danych,
- przeprowadzenie syntezy materiałów typu SILLP oraz eksperymentów dotyczących testów aktywności katalitycznej materiałów SILLP w reakcji modelowej Dielsa-Aldera, optymalizacji warunków procesu, przeprowadzenie testów stabilności katalitycznej oraz uniwersalności katalizatora wobec innych dienów i dienofili w systemie okresowym,

- analiza materiałów krzemionkowych typu SILLP za pomocą SEM-EDX,
- wydzielenie wszystkich otrzymanych cykloadduktów,
- przeprowadzenie eksperymentów aktywności i stabilności katalitycznej wybranego materiału SILLP w reakcji modelowej Dielsa-Aldera w systemie ciągłym oraz optymalizacja warunków procesu,
- analiza i interpretacja wszystkich otrzymanych wyników badań,
- przygotowanie wszystkich wykresów, grafik i tabel,
- przygotowanie roboczego manuskryptu,
- wkład w edycje manuskryptu i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

Publikacja P5 (40%):

- konceptualizacja badań,
- przeprowadzenie przeglądu literatury,
- opracowanie warunków analizy HPLC oraz analiza otrzymanych wyników,
- przeprowadzenie eksperymentów dotyczących rozdziału racematu ibuprofenu poprzez estryfikację w obecności natywnych lipaz, optymalizacja warunków procesu,
- analiza nośników krzemionkowych oraz biokatalizatorów za pomocą SEM-EDX,
- przeprowadzenie syntezy nośników krzemionkowych typu SILLP i biokatalizatorów oraz eksperymentów dotyczących aktywności biokatalizatorów SILLP w reakcji modelowej rozdziału racematu ibuprofenu poprzez estryfikację, optymalizacja warunków procesu i testy stabilności katalitycznej biokatalizatora,
- wydzielenie otrzymanego estru ibuprofenu,
- analiza i interpretacja wszystkich otrzymanych wyników badań,
- przygotowanie wszystkich wykresów, grafik i tabel,
- przygotowanie roboczego manuskryptu,
- wkład w edycje manuskryptu i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

Publikacja P6 (50%):

- konceptualizacja badań,
- przeprowadzenie przeglądu literatury,
- opracowanie warunków analizy GC oraz analiza otrzymanych wyników,
- przeprowadzenie eksperymentów dotyczących estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego w obecności natywnych lipaz,
- przeprowadzenie modyfikacji nośników krzemionkowych grupami alkilotrietoksysilanowymi i syntezy biokatalizatorów oraz eksperymentów dotyczących aktywności biokatalizatorów w reakcji modelowej estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego, optymalizacja warunków procesu, przeprowadzenie testów stabilności katalitycznej oraz uniwersalności biokatalizatora wobec innych kwasów tłuszczowych w systemie okresowym,
- analiza nośników krzemionkowych oraz biokatalizatorów za pomocą SEM-EDX,
- przeprowadzenie eksperymentów aktywności i stabilności katalitycznej biokatalizatora w reakcji modelowej estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego w systemie ciągłym oraz optymalizacja warunków procesu,
- opracowanie metody wydzielenia wszystkich otrzymanych estrów furfurylowych,
- analiza i interpretacja wszystkich otrzymanych wyników badań,
- przeprowadzenie analizy opracowanego procesu estryfikacji alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego pod kątem zieloności metody za pomocą analizy *Green Metrics*, porównanie z innymi metodami opisanymi w literaturze oraz przygotowanie drzewa syntetycznego produkcji obejmującego wszystkie wykorzystane reagenty,
- przygotowanie wszystkich wykresów, grafik i tabel,
- przygotowanie roboczego manuskryptu,
- wkład w edycje manuskryptu i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

VII WKŁAD POZOSTAŁYCH WSPÓŁAUTORÓW

Deklaracje i wkład wszystkich pozostałych współautorów publikacji wchodzących w cykl publikacji monotematycznych niniejszej pracy doktorskiej zostały zamieszczone poniżej. W Tabeli 9 przedstawiono wszystkich współautorów oraz ich procentowy wkład w poszczególne publikacje wchodzący w skład pracy doktorskiej.

Tabela. 9. Lista współautorów i ich procentowy wkład w publikacje wchodzące w skład pracy doktorskiej.

Autor	P1, %	P2, %	P3, %	P4, %	P5, %	P6, %
Anna Wolny	80	80	90	55	40	50
Anna Chrobok	20	20	10	20	15	20
Agnieszka Siewniak					5	
Agata Jakóbiak-Kolon				5		
Dagmara Więctawik						10
Filip Ciesielczyk					5	
Jakub Zdarta					10	10
Katarzyna Szymańska				10		
Long D. Nghiem					10	
Piotr Latos				5	5	
Sebastian Jurczyk				5	5	5
Teofil Jesionowski					5	5



Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii

Prof. dr hab. inż.
Anna Chrobok
Profesor

Gliwice, 23.09.2024 r.

Deklaracja

o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora

Jako współautor wymienionych publikacji:

P1: A. Wolny, A. Chrobok, Silica-Based Supported Ionic Liquid-like Phases as Heterogeneous Catalysts, *Molecules* **2022**, 27, 5900.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 20% i obejmował:

- konceptualizacja badań,
- pomoc w interpretacji i opisie danych literaturowych,
- edycja i przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu,
- korespondencja z wydawnictwem i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

P2: A. Wolny, A. Chrobok, Ionic Liquids for Development of Heterogeneous Catalysts Based on Nanomaterials for Biocatalysis, *Nanomaterials* **2021**, 11, 2030.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 20% i obejmował:

- konceptualizacja badań,
- pomoc w interpretacji i opisie danych literaturowych,
- edycja i przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu,
- korespondencja z wydawnictwem i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

Politechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i
Petrochemii

ul. Krzywoustego 4, 44-100 Gliwice
+48 32 237 29 17/+48 32 237 10 32 (fax)
anna.chrobok@polsl.pl

NIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230
1000 0002 0211 3056



Politechnika
ŚląskaUCZELNIA
BADAWCZA
INICJATYWA DOSKONAŁOŚĆWydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i PetrochemiiProf. dr hab. inż.
Anna Chrobok
Profesor

P3: A. Wolny, A. Chrobok, Supported Ionic Liquid Phase for Biocatalysis: The Current Applications, Synthesis and Prospects, *Curr. Org. Chem.* **2023**, 27, 1119–1122.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 10% i obejmował:

- konceptualizacja badań,
- pomoc w interpretacji i opisie danych literaturowych,
- edycja i przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu,
- korespondencja z wydawnictwem i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

P4: A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbiak-Kolon, A. Chrobok, Construction of trifluoroaluminate ionic liquid catalyst on the silica surface dedicated for continuous flow Diels-Alder synthesis, *Appl. Catal. A Gen.* **2024**, 676, 119676.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 20% i obejmował:

- konceptualizacja badań,
- pomoc w interpretacji i opisie wszystkich otrzymanych wyników badań,
- edycja i przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu,
- zapewnienie finansowania badań,
- korespondencja z wydawnictwem i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

P5: A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, D.L. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen, *Environ. Technol. Innov.* **2022**, 28, 102936–102947.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 20% i obejmował:

- konceptualizacja badań,
- pomoc w interpretacji i opisie wszystkich otrzymanych wyników badań,
- edycja i przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu,

Politechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i
Petrochemiiul. Krzywoustego 4, 44-100 Gliwice
+48 32 237 29 17/+48 32 237 10 32 (fax)
anna.chrobok@polsl.plNIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230
1000 0002 0211 3056

Politechnika
ŚląskaUCZELNIA
BADAWCZA
INICJATYWA DOSKONALOSCIWydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i PetrochemiiProf. dr hab. inż.
Anna Chrobok
Profesor

- zapewnienie finansowania badań,
- korespondencja z wydawnictwem i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

P6: A. Wolny, D. Więclawik, J. Zdarta, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, Robust biocatalyst for the green continuous flow synthesis of esters from biomass-derived furfuryl alcohol and C8-C18 carboxylic acids, *Green Chem.* **2024**, Advance article, doi.org/10.1039/D4GC03821E.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 20% i obejmował:

- konceptualizacja badań,
- pomoc w interpretacji i opisie wszystkich otrzymanych wyników badań,
- edycja i przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu,
- zapewnienie finansowania badań,
- korespondencja z wydawnictwem i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

.....
podpisPolitechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i
Petrochemiiul. Krzywoustego 4, 44-100 Gliwice
+48 32 237 29 17/+48 32 237 10 32 (fax)
anna.chrobok@polsl.plNIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230
1000 0002 0211 3056

Politechnika
ŚląskaUCZELNIA
BADAWCZA
INICJATYWA DOSKONALOŚCIWydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej
Organicznej i Petrochemiidr inż.
Agnieszka Siewniak
adiunkt

Gliwice, 20.09.2024

Deklaracja

o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora

Jako współautor wymienionej publikacji:

P5: A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, D.L. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, *Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen*, Environ. Technol. Innov. 2022, 28, 102936–102947.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 5% i obejmował:

- asystę w opracowaniu metody analitycznej (HPLC) i analizie danych

podpis

Politechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemiiul. Krzywoustego 4, 44-100 Gliwice
+48 32 237 2973
agnieszka.siewniak@polsl.plNIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230 1000 0002 0211 3056



Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Nieorganicznej, Analitycznej i Elektrochemii

dr hab. inż.
Agata Jakóbk-Kolon
Prof. PŚ.

Gliwice, dn. 23.09.2024 r.

Deklaracja o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora

Jako współautor wymienionej publikacji:

P4: A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbk-Kolon, A. Chrobok, Construction of trifloaluminat ionic liquid catalyst on the silica surface dedicated for continuous flow Diels-Alder synthesis, Appl. Catal. A Gen. 2024, 676, 119676.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 5% i obejmował:

- przeprowadzenie analiz ICP katalizatorów SILLP.


HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Nieorganicznej Analitycznej i Elektrochemii
ul. B. Krzywoustego 6, pok. 231A, 44-100 Gliwice
+48 32 237 19 90
agata.jakobik@polsl.pl
NIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230 1000 0002 0211 3056



Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii

mgr inż.
Dagmara Więćławik

Gliwice, 23.09.2024 r.

Deklaracja

o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora

Jako współautor wymienionej publikacji:

P6: A. Wolny, D. Więćławik, J. Zdarta, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, Robust biocatalyst for the green continuous flow synthesis of esters from biomass-derived furfuryl alcohol and C8-C18 carboxylic acids, *Green Chem.* **2024**, Advance article, doi.org/10.1039/D4GC03821E.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 10% i obejmował:

- asystę w przeprowadzaniu eksperymentów dotyczących syntezy biokatalizatorów oraz testów ich aktywności katalitycznej, optymalizacji warunków reakcji modelowej alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego oraz testów stabilności wybranego biokatalizatora w systemie okresowym,
- asystę we wstępnych eksperymentach aktywności katalitycznej biokatalizatora w reakcji modelowej alkoholu furfurylowego i kwasu oktanowego w systemie ciągłym.

podpis

Politechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii
ul. Krzywoustego 4, 44-100 Gliwice



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

NIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230 1000 0002 0211 3056



**POLITECHNIKA POZNAŃSKA**

WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ

dr hab. inż. Filip Ciesielczyk, prof. PP

Prodzikan ds. nauki

ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań, tel. +48 61 665 2351, fax +48 61 665 2852

e-mail: office_dctf@put.poznan.pl, filip.ciesielczyk@put.poznan.pl, www.fct.put.poznan.pl

Poznań, 23.09.2024 r.


Deklaracja***o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora***

Jako współautor wymienionej publikacji:

P5: A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, D.L. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen, *Environ. Technol. Innov.* **2022**, 28, 102936–102947.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 5% i obejmował:

- syntezę hybrydowych materiałów krzemionkowych,
- wkład w edycję manuskryptu.


.....
podpis

**POLITECHNIKA POZNAŃSKA**

dr hab. inż. Jakub Zdarta, prof. PP
WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań,
tel. +48 616653747, fax +48 61 665 3649
e-mail: jakub.zdarta@put.poznan.pl

Poznań, 23.09.2024

Deklaracja*o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora*

Jako współautor wymienionej publikacji:

P5: A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, D.L. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen, *Environ. Technol. Innov.* 2022, 28, 102936–102947.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 10% i obejmował:

- syntezę hybrydowych materiałów krzemionkowych oraz charakterystykę ich powierzchni właściwej,
- wkład w interpretację i opis wyników badań,
- wkład w edycje manuskryptu i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

P6: A. Wolny, D. Więclawik, J. Zdarta, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, Robust biocatalyst for the green continuous flow synthesis of esters from biomass-derived furfuryl alcohol and C8-C18 carboxylic acids, *Green Chem.* 2024, Advance article, doi.org/10.1039/D4GC03821E.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 10% i obejmował:

- syntezę hybrydowych materiałów krzemionkowych,
- wkład w interpretację i opis wyników badań,
- wkład w edycje manuskryptu i przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

.....
podpis

Dr hab. inż. Katarzyna Szymańska, prof. PŚ
Katedra Inżynierii Chemicznej
i Projektowania Procesowego
Politechnika Śląska

Gliwice, 23.09.2024

Deklaracja
o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora

Jako współautor wymienionej publikacji:

P4: A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbk-Kolon, A. Chrobok, Construction of trifloaluminat ionic liquid catalyst on the silica surface dedicated for continuous flow Diels-Alder synthesis, *Appl. Catal. A Gen.* **2024**, 676, 119676.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 10% i obejmował:

- syntezę materiału krzemionkowego o multimodalnej porowatości oraz przeprowadzenie analizy adsorpcji – desorpcji (BET, BJH) nośnika i katalizatorów SILLP,
- pomoc merytoryczna w przygotowaniu eksperymentów prowadzonych w systemie ciągłym,
- wkład w przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu.

Katarzyna Szymańska
.....
podpis

Politechnika
ŚląskaUCZELNIA
BADAWCZA
INICJATYWA DEKONWERSJIWydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i PetrochemiiProf. dr hab. inż.
Anna Chrobok
Profesor

Gliwice, 23.09.2024 r.

Deklaracja**o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora****prof. Long D. Nghiem**

Jako autor korespondencyjny publikacji:

P5: A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, D.L. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen, *Environ. Technol. Innov.* **2022**, 28, 102936–102947.

Oświadczam, że wkład procentowy prof. Long D. Nghiem w tą pracę wynosił 10% i obejmował:

- konsultację merytoryczną otrzymanych wyników badań,
- korektę językową ostatecznej wersji manuskryptu,
- przygotowanie odpowiedzi dla recenzentów.

.....
podpisPolitechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i
Petrochemiiul. Krzywoustego 4, 44-100 Gliwice
+48 32 237 29 17/+48 32 237 10 32 (fax)
anna.chrobok@polsl.plNIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230
1000 0002 0211 3056

HR EXCELLENCE IN RESEARCH





Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i Petrochemii

Prof. dr hab. inż.
Anna Chrobok
Profesor

Gliwice, 23.09.2024 r.

Deklaracja

o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora

dr inż. Piotra Latosa

Jako autor korespondencyjny wymienionych publikacji:

P4: A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbiak-Kolon, A. Chrobok, Construction of trifloaluminated ionic liquid catalyst on the silica surface dedicated for continuous flow Diels-Alder synthesis, *Appl. Catal. A Gen.* **2024**, 676, 119676.

Oświadczam, że wkład procentowy dr inż. Piotra Latosa w tą pracę wynosił 5% i obejmował:

- analizę NMR wydzielonych cykloadduktów,
- pomoc merytoryczną w zakresie syntezy i immobilizacji trifloglinianowych cieczy jonowych.

P5: A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, D.L. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen, *Environ. Technol. Innov.* **2022**, 28, 102936–102947.

Oświadczam, że wkład procentowy dr inż. Piotra Latosa w tą pracę wynosił 5% i obejmował:

- analizę NMR wydzielonego estru ibuprofenu,
- pomoc merytoryczną w zakresie immobilizacji cieczy jonowych.

podpis

Politechnika Śląska
Wydział Chemiczny
Katedra Technologii Chemicznej Organicznej i
Petrochemii

ul. Krzywoustego 4, 44-100 Gliwice
+48 32 237 29 17/+48 32 237 10 32 (fax)
anna.chrobok@polsl.pl
NIP 631 020 07 36
ING Bank Śląski S.A. o/Gliwice 60 1050 1230
1000 0002 0211 3056



Gliwice, 24.09.2024

Dr Sebastian Jurczyk
Instytut Inżynierii Materiałów Polimerowych i Barwników
Oddział Farb i Tworzyw w Gliwicach
Sieć Badawcza Łukasiewicz

Deklaracja

o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora

Jako współautor wymienionej publikacji:

P4: A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbi-Kolon, A. Chrobok, Construction of trifloaluminat ionic liquid catalyst on the silica surface dedicated for continuous flow Diels-Alder synthesis, *Appl. Catal. A Gen.* **2024**, 676, 119676.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tę pracę wynosił 5% i obejmował:

- przeprowadzenie analiz TGA wszystkich materiałów i katalizatorów SILLP.

P5: A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, D.L. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen, *Environ. Technol. Innov.* **2022**, 28, 102936–102947.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tę pracę wynosił 5% i obejmował:

- przeprowadzenie analiz TGA wszystkich nośników i biokatalizatorów.

P6: A. Wolny, D. Więćławik, J. Zdarta, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, Robust biocatalyst for the green continuous flow synthesis of esters from biomass-derived furfuryl alcohol and C8-C18 carboxylic acids, *Green Chem.* **2024**, Advance article, doi.org/10.1039/D4GC03821E.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tę pracę wynosił 5% i obejmował:

- przeprowadzenie analiz TGA wszystkich materiałów i biokatalizatorów.



.....
podpis

**POLITECHNIKA POZNAŃSKA**

Prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski
WYDZIAŁ TECHNOLOGII CHEMICZNEJ
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań,
tel. +48 616653747, fax +48 61 665 3649
e-mail: teofil.jesionowski@put.poznan.pl

Poznań, 23.09.2024

Deklaracja**o indywidualnym wkładzie procentowym i merytorycznym współautora**

Jako współautor wymienionej publikacji:

P5: A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, D.L. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, *Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen*, Environ. Technol. Innov. 2022, 28, 102936–102947.

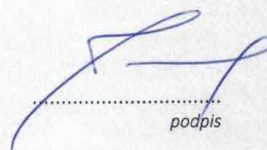
Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 5% i obejmował:

- wkład w edycję oraz weryfikację ostatecznej wersji manuskryptu.

P6: A. Wolny, D. Więclawik, J. Zdarta, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, Robust biocatalyst for the green continuous flow synthesis of esters from biomass-derived furfuryl alcohol and C8-C18 carboxylic acids, *Green Chem.* 2024, Advance article, doi.org/10.1039/D4GC03821E.

Oświadczam, że mój wkład procentowy w tą pracę wynosił 5% i obejmował:

- wkład w edycję oraz weryfikację ostatecznej wersji manuskryptu.



.....
podpis

VIII PUBLIKACJE

W dalszej części pracy zamieszczono artykuły naukowe wraz z materiałami uzupełniającymi, które stanowią cykl publikacji monotematycznych niniejszej rozprawy doktorskiej, w podanej kolejności:

Publikacja P1. A. Wolny, A. Chrobok, Silica-Based Supported Ionic Liquid-like Phases as Heterogeneous Catalysts, *Molecules* **2022**, 27, 5900. IF₂₀₂₂ = 4,600; MNiSW₂₀₂₂ = 140.

Publikacja P2. A. Wolny, A. Chrobok, Ionic Liquids for Development of Heterogeneous Catalysts Based on Nanomaterials for Biocatalysis, *Nanomaterials* **2021**, 11, 2030. IF₂₀₂₁ = 5,719; MNiSW₂₀₂₁ = 100.

Publikacja P3. A. Wolny, A. Chrobok, Supported Ionic Liquid Phase for Biocatalysis: The Current Applications, Synthesis and Prospects, *Curr. Org. Chem.* **2023**, 27, 1119–1122. IF₂₀₂₃ = 1,700; MNiSW₂₀₂₃ = 70.

Publikacja P4. A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbi-Kolon, A. Chrobok, Construction of trifloaluminate ionic liquid catalyst on the silica surface dedicated for continuous flow Diels-Alder synthesis, *Appl. Catal. A Gen.* **2024**, 676, 119676. IF₂₀₂₃ = 4,700; MNiSW₂₀₂₄ = 100.

Publikacja P5. A. Wolny, A. Siewniak, J. Zdarta, F. Ciesielczyk, P. Latos, S. Jurczyk, L.D. Nghiem, T. Jesionowski, A. Chrobok, Supported ionic liquid phase facilitated catalysis with lipase from *Aspergillus oryzae* for enhance enantiomeric resolution of racemic ibuprofen *Environ. Technol. Innov.* **2022**, 28, 102936. IF₂₀₂₂ = 7,100; MNiSW₂₀₂₂ = 70.

Publikacja P6. A. Wolny, D. Więclawik, J. Zdarta, S. Jurczyk, T. Jesionowski, A. Chrobok, Robust biocatalyst for the green continuous flow synthesis of esters from biomass-derived furfuryl alcohol and C8-C18 carboxylic acids *Green Chem.* **2024**, Advance article. doi.org/10.1039/D4GC03821E. IF₂₀₂₃ = 9,300; MNiSW₂₀₂₄ = 200.