WYDZIAŁ CHEMICZNY
KATEDRA TECHNOLOGII CHEMICZNEJ ORGANICZNEJ
I PETROCHEMII

mgr inż. Anna Wolny

Inżynieria Chemiczna

STRESZCZENIE ROZSZERZONE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Projektowalne układy katalityczne dla sektora lekkiej syntezy organicznej

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

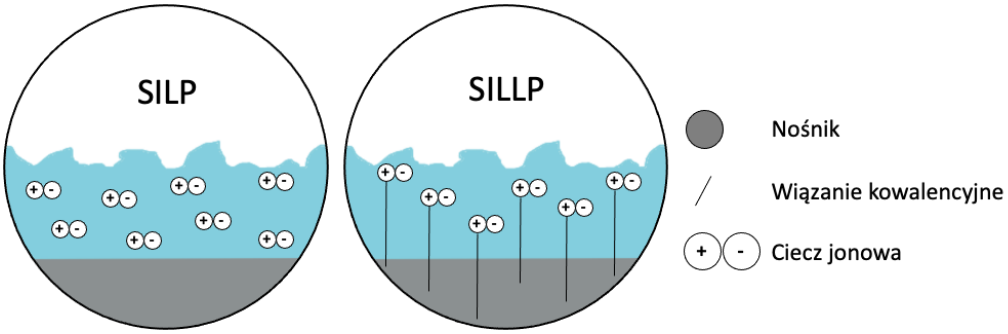
Gliwice 2024

Do głównych wyzwań związanych z ekologiczną transformacją technologii chemicznych 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. Projektowanie i wdrażanie nowych układów katalitycznych o wysokiej aktywności i stabilności, które umożliwiają ich wielokrotny odzysk i ponowne wykorzystanie, odgrywa kluczową rolę w redukcji negatywnego wpływu przemysłu chemicznego na środowisko naturalne. 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 i znikomą toksycznością. 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.

Celem badań realizowanych w ramach pracy doktorskiej było opracowanie wysoce aktywnych i stabilnych katalizatorów opartych o enzymy lub kwasowe ciecze jonowe dedykowanych dla czystych technologii chemicznych z sektora lekkiej syntezy organicznej. Istotnym aspektem pracy była również transformacja wybranych procesów z trybu okresowego na tryb ciągły.

Ciecze jonowe (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. Ciecze jonowe charakteryzują się również niską prężnością par, wysoką stabilnością termiczną oraz szerokim zakresem temperatur, w których pozostają w stanie ciekłym. Istotną grupą ILs stosowanych jako katalizatory są kwasowe ciecze jonowe (AILs), które można podzielić na typy Brønsteda i Lewisa, w zależności od rodzaju kwasowego centrum. Możliwe jest również projektowanie AILs poprzez połączenie obu typów kwasowości, co zwiększa ich potencjał katalityczny. Głównym

wyzwaniem przy zastosowaniu AILs w przemyśle jest zapewnienie ich stabilności oraz możliwość ich wielokrotnego wykorzystania. W tym celu stosuje się ich immobilizację na stałych nośnikach, w postaci fizycznej (SILP) lub chemicznej (SILLP) (Rysunek 1).



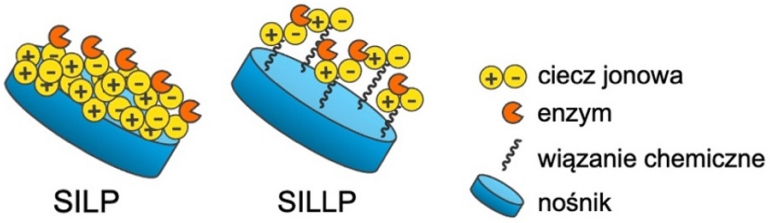
Rysunek 1. Graficzne przedstawienie technik SILP i SILLP.

Immobilizacja pozwala na łatwe oddzielenie katalizatora od mieszaniny reakcyjnej, a także poprawia transfer masy do centrów katalitycznych, co czyni je efektywnymi zarówno w procesach okresowych, jak i ciągłych. Najczęściej do immobilizacji ILs stosuje się materiały krzemionkowe ze względu na ich dobrze rozwiniętą powierzchnię i kontrolowaną porowatość. Stabilność tych katalizatorów i możliwość wielokrotnego wykorzystania sprawia, że mają one duży potencjał w zastosowaniach przemysłowych. Obecnie kluczowym kierunkiem badań jest eliminacja halogenowych anionów, co pozwoli na zwiększenie bezpieczeństwa i efektywności procesu oraz obniżenie kosztów związanych z korozją i utylizacją odpadów. 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.[P1]

Enzymy to biokatalizatory o coraz szerszym zastosowaniu w przemyśle chemicznym. Składają się z aminokwasów, a ich centrum aktywne obejmuje tylko kilka z nich, co nadaje im unikalną selektywność i specyficzność reakcji. Lipazy, będące grupą hydrolaz, są najczęściej stosowanymi enzymami w syntezie organicznej ze względu na szeroką specyficzność substratową i stabilność w środowisku organicznym. Mogą one działać w wysokich temperaturach i szerokim zakresie pH, co sprawia, że są używane w różnych gałęziach przemysłu, takich jak produkcja farmaceutyków, biopaliw czy polimerów. Lipazy wykazują zdolność katalizowania reakcji na granicy faz olej-woda dzięki zjawisku zwanemu „aktywacją międzyfazową". W przypadku większości lipaz centrum aktywne jest osłonięte zewnętrznie hydrofilowym, a wewnętrznie hydrofobowym wieczkiem. W środowisku hydrofobowym

wieczko to częściowo się otwiera, odsłaniając centrum aktywne, które staje się bardziej dostępne dla substratów, co zwiększa efektywność katalizy.

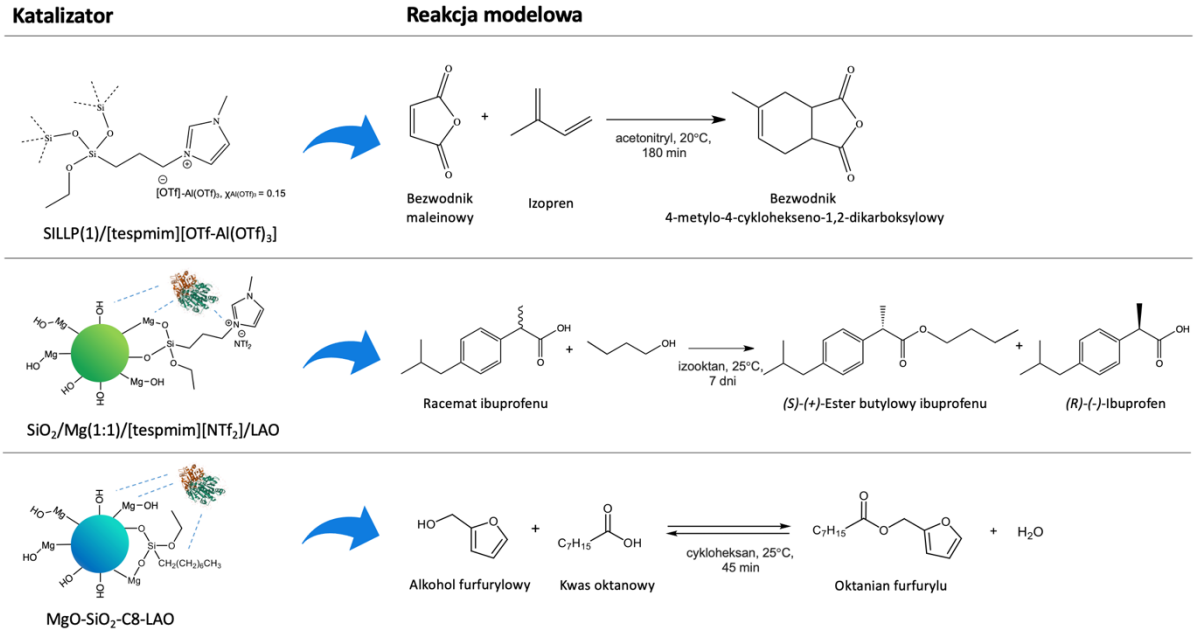
Jednym z wyzwań związanych z użyciem lipaz w przemyśle jest ich stabilność w zmiennych warunkach reakcyjnych. Jednym z rozwiązań tego problemu jest immobilizacja enzymów na stałej matrycy, co nie tylko zwiększa ich stabilność, ale również aktywność i selektywność. Najczęściej stosowaną metodą immobilizacji jest adsorpcja na nośniku, który musi być odpowiednio dobrany, by zapewniał odporność mechaniczną i termiczną oraz możliwość modyfikacji powierzchni. Do immobilizacji lipaz często stosuje się hydrofobowe nośniki, takie jak węgiel aktywny czy polimery. W niektórych przypadkach używa się także krzemionki, której powierzchnia może być modyfikowana hydrofobowymi grupami, co sprzyja efektywnej immobilizacji lipaz. Ciecze jonowe (ILs) odgrywają istotną rolę w stabilizacji enzymów, tworząc supramolekularne sieci, które stabilizują enzymy i zwiększają ich aktywność. Interakcje między enzymami a ILs są kluczowe dla utrzymania trójwymiarowej struktury białek. Popularnymi cieczami jonowymi stosowanymi w stabilizacji lipaz są związki oparte na kationach imidazoliowych i anionach, takich jak chlorki czy tetrafluoroborany. Połączenie technik immobilizacji i stabilizacji enzymów w środowisku IL może znacząco poprawić ich efektywność. Dostępne są różne metody łączenia IL z nośnikami, w tym unieruchamianie enzymów na nośnikach pokrytych ILs (SILP) lub chemicznie zmodyfikowanych cieczami jonowymi (SILLP) (Rysunek 2). Techniki te minimalizują ryzyko wymywania enzymów i pozwalają na wielokrotne użycie katalizatorów, co znacząco zwiększa efektywność procesów przemysłowych. 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.[P2] 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”*.[P3]



Rysunek 2. Techniki stabilizacji enzymów na nośnikach modyfikowanych cieczami jonowymi.

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, które zostały wykorzystane w modelowych procesach syntezy związków z grupy fine chemicals.

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 3. 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.



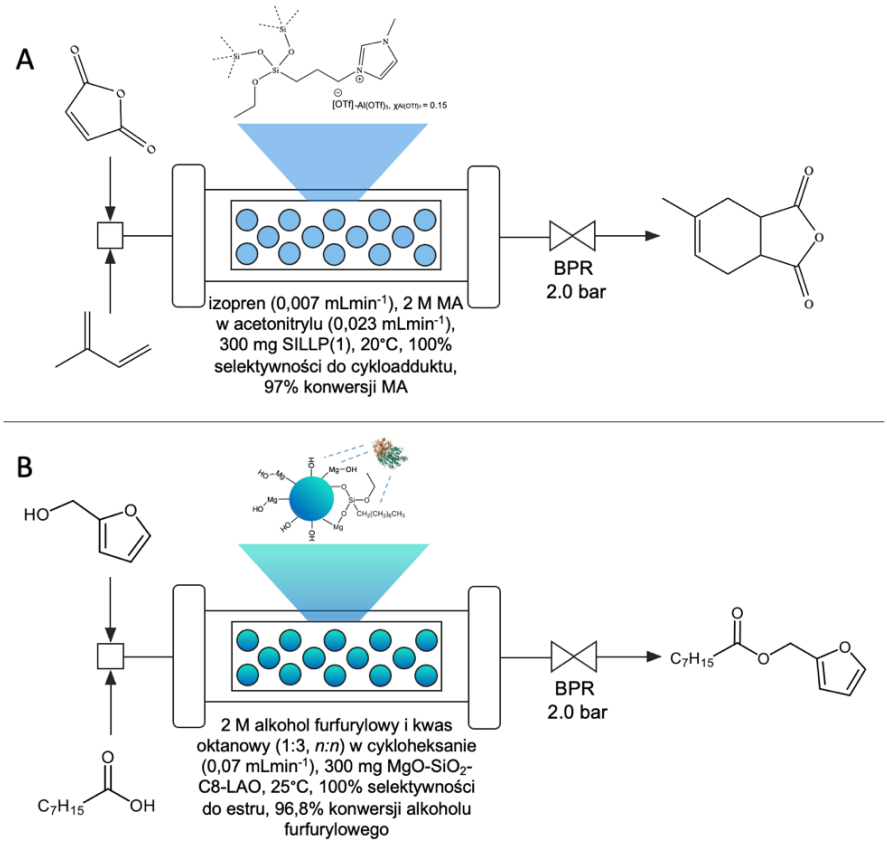
Rysunek 3. Struktury katalizatorów oraz schematy reakcji modelowych stosowanych w badaniach.

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 bezwodnika maleinowego z izoprenem w reakcji Dielsa-Aldera (97%) w dziesięciu cyklach reakcyjnych.[P4]

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 SiO_2/Mg(1:1)/[tespmim][NTf$_2$]/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.[P5]

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-SiO_2-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-SiO_2-C8-LAO umożliwił syntezę estrów furfurylowych kwasu oktanowego, nonanowego, dekanowego, laurynowego oraz oleinowego ze 100% selektywnością.[P6]

W przypadku, gdy stabilność katalizatora w układzie reakcyjnym była wystarczająca, proces dostosowywałam do warunków przepływowych (Rysunek 4). 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 4. 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 bezwodnika maleinowego przez 432 h (TOF 104,3 h^{-1}) (Rysunek 4A). 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.[P4]

Transformacja syntezy oktanianu furfurylu w obecności biokatalizatora MgO-SiO_2-C8-LAO umożliwiła intensyfikację procesu do 96,8% konwersji alkoholu furfurylowego przy przepływie 0,07 $mLmin^{-1}$ (τ = 10,5 min) i wydajności syntezy 6651 ($gh^{-1}L^{-1}$) (Rysunek 4B). 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 $gh^{-1}L^{-1}$ system ciągły i 320 $gh^{-1}L^{-1}$ system okresowy). 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. Dodatkowo rozważyłam inne podejście oceny ekologiczności opracowanej metody, analizując nie tylko metodę syntezy estrów, ale także wcześniejsze etapy cyklu życia przygotowując drzewo syntetyczne. Podsumowanie analiz opracowanej metody pod kątem zielonej chemii doprowadziło do wniosku, że opracowana w tej pracy technologia ciągłej syntezy estrów furfurylowych w obecności biokatalizatora MgO-SiO_2-C8-LAO 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.[P6]

Badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej wykazały, że odpowiednie zaprojektowanie matrycy pod immobilizację fazy aktywnej ma kluczowe znaczenie dla uzyskania heterogenicznego, aktywnego i stabilnego układu katalitycznego. Zaprojektowane przeze mnie układy katalityczne wykazują się wysoką aktywnością oraz stabilnością. W większości przypadków stabilność katalizatorów pozwoliła na przekształcenie syntezy z trybu okresowego na ciągły, co umożliwiło maksymalizację wydajności procesu produkcji. Opracowane w ramach pracy doktorskiej technologie charakteryzują się zminimalizowanym wpływem na środowisko naturalne, co jest zgodne z zasadami zrównoważonego projektowania procesów chemicznych, a ponadto uzyskane wyniki przewyższają dotychczasowe doniesienia literaturowe w tej dziedzinie. 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.

Lista publikacji:

P1. A. Wolny, A. Chrobok, Silica-Based Supported Ionic Liquid-like Phases as Heterogeneous Catalysts, *Molecules* **2022**, 27, 5900. IF_{2022}=4,600; $MNiSW_{2022}$=140.

P2. A. Wolny, A. Chrobok, Ionic Liquids for Development of Heterogeneous Catalysts Based on Nanomaterials for Biocatalysis, *Nanomaterials* **2021**, 11, 2030. IF_{2021}=5,719; $MNiSW_{2021}$=100.

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

P4. A. Wolny, P. Latos, K. Szymańska, S. Jurczyk, A. Jakóbik-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. IF_{2023}=4,700; $MNiSW_{2024}$=100.

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. IF_{2022} = 7,100; $MNiSW_{2022}$ = 70.

P6. A. Wolny, D. Więcławik, 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. IF_{2023} = 9,300; $MNiSW_{2024}$ = 200.

Podsumowanie wkładu własnego:

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.