



UNIwersytet
WARSAWski

Wydział Chemii



dr hab. Wiktor Lewandowski, prof. ucz.

Wydział Chemii, Uniwersytetu Warszawskiego

ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa

e-mail: wlewandowski@chem.uw.edu.pl

Ocena pracy doktorskiej mgr inż. Anny Pniakowskiej p.t. „Metallic nanoclusters as fluorescent probes for multiphoton microscopy”

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Anny Pniakowskiej, pt. „Metallic nanoclusters as fluorescent probes for multiphoton microscopy” została wykonana w Katedrze Nanofotoniki Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej pod opieką dr hab. Joanny Olesiak-Bańskiej, prof. uczelni.

Nanoklastry (ang. nanoclusters, NCs) metali szlachetnych, w szczególności złota czy srebra, stanowią wyjątkową klasę nanomateriałów, w których właściwości optyczne determinowane są przez efekty kwantowe. Charakteryzują się wysoką wydajnością dwufotonowej absorpcji oraz generowana drugiej / trzeciej harmonicznej. Są to również ciekawe obiekty badań z perspektywy chemicznej, na przykład pod kątem precyzyjnej kontroli ich składu czy chemii powierzchni. Ma to bezpośrednie przełożenie na właściwości tych nanomateriałów. Na przykład, wprowadzenie chiralnych ligandów pozwala na znaczne wzmocnienie współczynników dwu- i trójfotonowej dichroizmu kołowego, a także generowanie kołowo spolaryzowanego światła. Te unikatowe właściwości otwierają drogę do wydajnego obrazowania tkanek, szyfrowania optycznego czy budowy enancjoselektywnych sensorów. Warto podkreślić, że tematyka syntezy i badań NCs jest intensywnie rozwijana przez wiele grup naukowych. W tym zespół promotora pracy, prof. Joannę Olesiak-Bańską, wieloletniego partnera naukowego Zespołu, prof. Thomas Bürgi z Uniwersytet Genewskiego, czyli jednego z najbardziej rozpoznawalnych naukowców tej dziedziny czy zespół profesora Rongchao Jin z Carnegie Mellon University.

Rozprawa mgr inż. Anny Pniakowskiej wpisuje się w powyższy nurt badań nad Nanoklastrami, skupiając się na komplementarnych strategiach kontrolowania ich właściwości optycznych. W dłuższej perspektywie czasowej celem jest uzyskanie optymalnych materiałów do chiroptycznego znakowania czy wykrywania materiałów biologicznych. Stąd zainteresowanie Doktorantki materiałami o wysokiej stabilności i dwufotonową (chiralną) odpowiedzią optyczną.

Autorka Dysertację rozpoczęła obszernym wstępem literaturowym. Uważam, że jest to wzorcowe wprowadzenie do tematyki pracy. Doktorantka omawia w nim podstawy chemii nanoklastrów dotyczące syntezy i klasycznych (jednofotonowych) własności optycznych. Porusza także tematy ściśle związane z pracą eksperymentalną, jak chemiczne podejście do wzmocnienia fluorescencji, uzyskiwanie chiralnych nanoklastrów, czy zagadnienie kwantowej



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Chemii



wydajności. Następnie płynnie przechodzi do zjawisk nieliniowych: dwufotonowej absorpcji i emisji. Doktorantka omawia także układy pomiarowe stosowane w badaniach nad nanoklastrami. Taki układ wstępu logicznie wprowadza czytelnika w problematykę rozprawy, szczególnie w kontekście kilkakrotnych odwołań do przedstawionej w kolejnych rozdziałach pracy eksperymentalnej. Warto także podkreślić, że już ta część dysertacji odzwierciedla interdyscyplinarny zakres wiedzy Doktorantki. Swobodnie porusza się Ona zarówno w tematyce struktur organicznych ligandów, zaawansowanych fizykochemicznych metod pomiarowych, jak i zastosowań NC w medycynie. Można też odnaleźć fragmenty świadczące o doświadczeniu Autorki w dyskusjach naukowych, np. kiedy omawiając technikę dichroizmu kołowego wykrywanego metodą fluorescencji wspomina że „FDCD is often incorrectly mistaken with CPL”.

Warto w tym miejscu odnieść się do bibliografii, gdyż większość cytowań w dystertacji podanych jest we wstępie literaturowym. Bibliografia liczy 151 pozycji. Lista cytowanych prac obejmuje pozycje z wieku XX-go, przełomowe prace z pierwszej dekady XXI w., a także najnowsze doniesienia z lat 2021-2024. Daje to pełny przegląd rozwoju wiedzy o NC, zarówno w kontekście syntezy jak chiralności czy nieliniowej optyki.

W dalszej części Autorka przechodzi do przedstawienia prac eksperymentalnych, zebranych w trzech artykułach naukowych. Warto podkreślić, że z dołączonych oświadczeń wynika, iż rola mgr inż. Anny Pniakowskiej obejmowała opracowanie metodologii, (częściowo) syntezę nanoklastrów, budowę układu do pomiarów nieliniowych, przeprowadzenie pełnej charakterystyki uzyskiwanych materiałów, analizę danych, przygotowywanie rysunków oraz pisanie pierwszych wersji manuskryptów. Wkład mgr inż. Anny Pniakowskiej można uznać za bardzo wysoki, wykraczający daleko poza standardowe oczekiwania. Nie mam wobec tego wątpliwości, że Doktorantka była głównym wykonawcą wszystkich trzech uwzględnionych prac naukowych.

Praca Doktorantki miała na celu weryfikację trzech hipotez. Po pierwsze, że luminescencję nanoklastrów można znacząco wzmocnić za pomocą metod chemicznych i fizycznych. Po drugie, że pomiar dwufotonowego dichroizmu kołowego (2PCD) przy użyciu sygnału fluorescencyjnego jest bardziej czuły od klasycznego CD. Po trzecie, że pojedynczy atom złota może silnie zmodyfikować jedno- i dwufotonowe właściwości optyczne nanoklastrów srebra. Wyprowadzając poniższy opis mogę stwierdzić, że postawione hipotezy zostały (pozytywnie) zweryfikowane w ramach trzech przedstawionych artykułów.

Pierwsza publikacja dotyczy NC złota, $Au_{18}(SG)_{14}$. Konkretnie Doktorantka postawiła sobie za cel zweryfikowanie, czy lokalne wzmocnienie pola elektromagnetycznego nanoprętów Au pozwoli uzyskać wzmocnienie dwufotonowo wzbudzonej emisji tychże nanoklastrów (ang. two-photon excited luminescence, TPEL). Wcześniej tego typu wzmocnienie było badane dla NC blisko powierzchni srebra czy w układach typu antena-w-pudle. Jednak przedstawiona praca była pierwszą w której tego typu wzmocnienia dowiedziono dla układu zawierającego nanopręty złota i nanoklastry. Biorąc pod uwagę fakt, iż są to klasyczne materiały dla nanotechnologii, czyli podstawowy typ anizotropowych nanocząstek i atomowo-precyzyjnych nanoklastrów, brak tego typu badań był zaskakujący i dobrze uzasadnia podjęcie tematyki. Warto podkreślić, że Autorka dowiodła dużej sprawności eksperymentalnej oraz umiejętności



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Chemii



Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski

planowania eksperymentów. Między innymi: (i) wykonała syntezę nanoklastrów złota, (ii) szczegółowo przemyślała wpływ otoczki organicznej nanoprętów na obserwowane zjawisko, a także, wykorzystując zaawansowany układ pomiarowy, (iii) uzyskała mapy wzmocnienia emisji w pobliżu pojedynczych nanoprętów. Doktorantka wykazała się także pomysłowością, zmieniając rozpuszczalniki tak, aby spowolnić dyfuzję NC. Ostatecznie, wykazała średnio 25-krotne wzmocnienie procesu TPEL, a krótkotrwałe wzmocnienia pozwoliły na przypisanie tych obserwacji do pojedynczych cząstek NC.

Pytania / komentarze:

1. W pracy stosowano nanopręty złota stabilizowane surfaktantem, który wielokrotnie odmywano, uzyskując nanopręty „pozbawione” otoczki organicznej. Czy w tym kontekście Doktorantka mogłaby szczegółowiej omówić zagadnienie stabilności koloidalnej nanocząstek w krytycznym stężeniu micelizacji w przygotowaniu i stabilności próbki (ang. critical micelle concentration, CMC). Czy alternatywnie surfaktant można by odmywać etanolem już po osadzeniu nanocząstek na powierzchni?
2. Jak na wzmocnienie mogłoby wpłynąć wykorzystanie układów plazmonowych o innej geometrii niż nanopręty? Czy Doktorantka rozważała eksperymenty kontrolne z nanoprętami o innym położeniu wzdłużnego pasma rezonansowego, czyli takimi o innym stosunku długości do szerokości. Jak takie zmiany mogłyby wpłynąć na obserwowane efekty?
3. Z mojego doświadczenia wynika, że nanocząstki anizotropowe o wysoce zakrzywionych elementach morfologii (np. nanotrójkąty) wykazują niską stabilność strukturalną po usunięciu surfaktanta. Czy kontrolowano stabilność strukturalną lub monitorowano właściwości plazmonowe nanoprętów w dłuższym okresie czasu niż trzy minuty? Czy stosowanie środowiska o parametrach charakterystycznych dla płynów ustrojowych mogłoby wpłynąć na stabilność nanoprętów „pozbawionych” otoczki organicznej?
4. Jaka jest statystyczna istotność różnicy dla wyników eksperymentów bez i w obecności nanoklastrów, zaprezentowanych na obrazku nr 4?

Druga publikacja, która została doceniona przez recenzentów i edytorów prestiżowego czasopisma *Angewandte Chemie*, opisuje badania prowadzone nad nieliniowymi właściwościami optycznymi nanoklastrów srebra, $Ag_{25}(DMBT)_{18}$, które były dopowane atomami złota. Już wcześniej wykazano, że wbudowanie heteroatomów może modulować właściwości optyczne tego typu NCs, np. powodować wzmocnienie kwantowej wydajności emisji, czy zwiększone przekroje dwufotonowej absorpcji. Jednak w literaturze brakowało systematycznych badań w tym zakresie. W ramach tej pracy Autorka wykazała się bardzo dużą sprawnością eksperymentalną związaną z przeprowadzeniem szczegółowych badań optycznych dla serii nanoklastrów – natywnych, z wymienionym jednym atomem, oraz z wymienionymi kilkoma atomami (5-10 atomów). Za kluczowe uznaje wskazanie, że wbrew intuicji, czy wskazaniom z badań innych typów NCs, systematyczne zmiany w składzie badanego materiału nie przekładają się na liniowy charakter zmian właściwości optycznych. Udało się tego Doktorantce bezsprzecznie dowieść dzięki starannie zaplanowanym badaniom optycznym. W sposób nie tylko jakościowy, ale również ilościowy określiła wpływ dopowania na przekrój dwufotonowej absorpcji, kwantową wydajność emisji wzbudzonej



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Chemii



dwufotonowo, czy dwufotonową jasność emisji. Podsumowując, zaprezentowane wyniki obrazują wagę systematycznych badań nad NCs i istotę atomowo precyzyjnej nanochemii.

Pytania / komentarze:

1. Czy możliwe jest uzyskanie pełnej serii dopowiania $Ag_{25-x}Au_x$ gdzie x będzie systematycznie zmieniane w zakresie 2-5, lub ewentualnie wprowadzanie innych metali jako heteroatomów?
2. Badania były prowadzone w rozpuszczalnikach organicznych, jednak docelowo tego typu materiały mają być stosowane w układach biologicznych. Zakładam, że wymagałoby to wymiany ligandów. Czy zmiana środowiska i ligandów może wpływać na uzyskane wyniki i jakich zmian Doktorantka by się spodziewała? Czy fotostabilność tych nanoklastrów jest wystarczająca dla badań w układach biologicznych?

Trzecia publikacja jest, moim zdaniem, zwieńczeniem rozwoju Doktorantki w kontekście nieliniowych właściwości NCs. W tej pracy wkład mgr inż. Anny Pniakowskiej obejmował syntezę nanomateriałów, zbudowanie zestawu do pomiaru dwufotonowego dichroizmu kołowego (2PCD), jak i przeprowadzenie zaawansowanych pomiarów optycznych, co jest zróżnicowanym i ponadstandardowym wkładem w pracę naukową. Praca rozpoczęła się od syntezy NCs. Doktorantka dowiodła, że wprowadzenie podwójnej otoczki organicznej, składającej się z chiralnego i achiralnego ligandu, pozwoliło na usztywnienie struktury nanoklastrów, a przez to wzmocnienie emisji. Wykazała także, że uzyskane NC wykazywały właściwości chiroptyczne (dichroizm kołowy) w zakresie spektralnym charakterystycznym dla NC. Po uzyskaniu materiału o pożądanym właściwościach, kluczowym elementem pracy było wykorzystanie samodzielnie zbudowanego zestawu pomiarowego do zmierzenia dwufotonowej odpowiedzi chiroptycznej (w konwencji dichroizmu kołowego monitorowanego za pomocą fluorescencji). Warto podkreślić, że były to pierwsze tego typu badania przeprowadzone dla NC, i jeden z niewielu przykładów tego typu pomiarów w literaturze. Doktorantka z sukcesem dowiodła, że z jednej strony dwufotonowy dichroizm kołowy badanych NC, jest znacząco wzmocniony względem pomiarów jednofotonowych, a z drugiej, że zbudowana aparatura jest niezwykle cennym narzędziem badawczym. Jestem pod olbrzymim wrażeniem tej pracy, szczególnie w kontekście wkładu Doktorantki.

Pytania / komentarze:

1. Czy optymalizowano skład otoczki organicznej pod kątem wzmocnienia fluorescencji i czy optymalizacja ta uwzględniała balans z (być może) obniżanymi właściwościami dichroizmu kołowego? Jaki jest stosunek molowy ligandów achiralnych do chiralnych?
2. Jaka jest zmienność wyników dwufotonowego dichroizmu kołowego dla próbek przechowywanych w czasie czy uzyskiwanych w niezależnych syntezach? Czy mogą one tłumaczyć różne wyniki dwufotonowej jasności emisji próbek o przeciwnych skrętnościach chiralnego ligandu?

Drobne komentarze redakcyjne, które podaję z obowiązku recenzenckiego:



UNIwersytet
Warszawski

Wydział Chemii



Nie zrozumiałem zdania: „Among them single-crystal diffraction is undoubtedly underestimated technique in terms of determination of chirality, since unlike other techniques it can characterize optical activity of racemic mixtures”. Proszę o rozwinięcie tej myśli. W pracy pojawiają się niezgrabne sformułowania, np.: „Doping of nanoclusters have already gained the interest to fulfil strong needs of highly emissive materials”, we wzorze nr 1 formalnie wydaje się, że ostatni znak równości powinien zostać zamieniony na znak przybliżenia.

Powyżej zawarte komentarze i pytania mają być jedynie przyczynkiem do dyskusji i nie wpływają na moją wysoką ocenę zaprezentowanej pracy.

Podsumowując, uważam, że wyniki uzyskane przez mgr inż. Annę Pniakowską są bardzo wartościowe i otwierają ważną ścieżkę do projektowania znaczników emisyjnych o dużym potencjale naukowym i wdrożeniowym. Stanowią spójny, oryginalny i niezwykle cenny wkład do nauki o materiałach, fotoniki czy nanotechnologii. Moim zdaniem Doktorantka wykazała się pomysłowością i skrupulatnością w pomiarach optycznych, dowiodła umiejętności syntetycznych, biegłej analizy danych, a także wysokiego poziomu prezentacji wyników w formie artykułów naukowych. Tak dobrze dopracowany i wielowymiarowy sposób prowadzenia badań jest wyjątkowy jak na ten etap kariery naukowej i potwierdza wyjątkową samodzielność Doktorantki, dobrze rokując na dalsze etapy rozwoju naukowego.

Mając na uwadze najwyższą merytoryczną jakość przedstawionych badań oraz wkład Doktorantki w zaprezentowane doniesienia naukowe, oraz fakt, iż recenzowana rozprawa doktorska spełnia warunki stawiane pracom doktorskim, zarówno zwyczajowe, jak i ustawowe, wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie mgr inż. Anny Pniakowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na unikatową wiedzę na temat dwufotonowych właściwości optycznych nanoklastrów metali przedstawioną w dysertacji, a konkretnie (i) systematycznych zmian w zależności od dopowania heteroatomami, oraz (ii) dwufotonowej odpowiedzi chiroptycznej w konwencji dichroizmu kołowego monitorowanego za pomocą fluorescencji, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.

Z poważaniem

Wiktor Lewandowski