

Lublin, 7 grudnia 2018 r.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki
Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Magdaleny Klekotko pt. „Synteza i charakterystyka nanocząstek złota otrzymywanych przy użyciu ekstraktów roślinnych”

Bardzo wyrazisty trend rozwoju technologicznego przejawia się dążeniem do miniaturyzacji układów funkcjonalnych, niemalże do granic typowych literaturze science fiction, czyli, na przykład, obejmuje konstrukcję robotów o wymiarach rzędu wielkości pojedynczych makromolekuł, tzw. nanorobotów. Jednym z przejawów takiej aktywności okazuje się być projektowanie i synteza nanocząstek mających znaczenie biologiczne, na przykład w przenoszeniu substancji aktywnych do zdefiniowanych rejonów żywych organizmów, objętych stanami chorobowymi. Modyfikacja powierzchni nanocząstek (tzw. funkcjonalizacja), na przykład specyficznymi przeciwciałami, umożliwia również programowanie lokalizacji nanocząstek w określonych organach bądź zmienionych chorobowo tkankach, co umożliwia zogniskowane oddziaływanie na te obszary, w tym na drodze terapii fotodynamicznej bądź foto-termicznej. Tych właśnie zagadnień dotyczy bezpośrednio rozprawa doktorska przedstawiona przez panią mgr inż. Magdalenę Klekotko, w związku z czym tematykę pracy postrzegam nie tylko jako interesującą ale również szczególnie ważną. Wrażenie to potęguje fakt, iż do syntezy nanocząstek metalicznych, w ramach swojej pracy doktorskiej, pani mgr Klekotko stosowała ekstrakty roślinne, co wydaje się wskazywać, iż projekt doktorski realizowany

Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki
Wydział Matematyki, Fizyki i Informatyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

pl. Marii Curie-Skłodowskiej 1
20-031 Lublin
tel. (81) 537 62 50
fax (81) 537 61 91
e-mail: info@biofizyka.umcs.lublin.pl



był w odniesieniu do innego popularnego oraz ważnego trendu badawczego związanego z tzw. „zieloną chemią”.

Praca doktorska wykonana została pod kierunkiem prof. dr. hab. inż. Marka Samocia, na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Rozprawa zredagowana została w języku polskim, na 113. stronach standardowego maszynopisu. Rozprawę otwiera krótki rozdział I. pt. „Teza, Cel i Motywacja Pracy”, w ramach którego sformułowane zostały, zarówno strategiczne jak i szczegółowe cele projektu doktorskiego, które w skrócie określić można jako synteza nanocząstek złota z zastosowaniem przyjaznych środowisku ekstraktów roślinnych oraz wszechstronna charakterystyka wytworzonych nanocząstek. Kolejne rozdziały, II. i III. stanowią streszczenia w języku polskim oraz angielskim, czyniące zadość wymaganiom formalnym rozprawy. W ramach rozdziału IV. Autorka zamieszcza stosunkowo obszerny wykaz skrótów i oznaczeń, bardzo ułatwiających lekturę pracy. Dalsza część rozprawy podzielona została na tzw. część literaturową (jako rozdział V.) oraz część eksperymentalną, zredagowaną w ramach rozdziału VI. Część literaturowa stanowi bardzo cenne, moim zdaniem, wprowadzenie w tematykę formowania oraz badania nanocząstek, uwzględniające zarówno te klasyczne jak i najnowsze doniesienia literaturowe w tym obszarze (o łącznej liczbie 179). Szczególnie cenne wydaje mi się również prezentowanie zagadnień związanych z potencjalnymi aplikacjami medycznymi nanocząstek, w tym nanocząstek metalicznych. W moim odczuciu, tak zredagowana część wstępna stanowić może cenną lekturę studentom oraz młodym adeptom nauki. Najważniejszą częścią rozprawy, stanowiącą o jej wysokim poziomie merytorycznym, jest bez wątpienia część eksperymentalna, prezentowana jako rozdział VI. Część ta zredagowana została w oparciu o podstrukturę czterech podrozdziałów, odpowiadających poszczególnym zadaniom badawczym projektu doktorskiego. Szczegóły eksperymentalne prowadzonych prac prezentowane są równoległe z opisami poszczególnych badań i moim zdaniem ich precyzja odpowiada standardom, zgodnie z którymi adresat tych opisów byłby w stanie odtworzyć przeprowadzone syntezy i badania. W tym aspekcie, mógłbym jedynie zalecić podawanie warunków wirowania w jednostkach przyspieszenia w miejsce ilości obrotów, przy założeniu, że dysponować możemy w naszych wirówkach odmiennymi rotorami.



Podkreślić należy, iż w większości realizowanych przez Doktorantkę zadań badawczych, ekstrakty roślinne pełniły potrójną rolę; czynnika redukującego, czynnika zamykającego formowanie nanostruktur (tzw. capping agent) oraz czynnika wpływającego na kierunek syntezy, prowadzącego do odmiennych geometrii finalnych nanocząstek. Wśród realizowanych w ramach projektu doktorskiego zadań badawczych znalazły się, między innymi:

1. Synteza nanocząstek złota z ekstraktów mięty, prowadząca do powstawania struktur sferycznych, heksagonalnych oraz trójkątnych,
2. Szczegółowa analiza poszczególnych etapów formowania nanocząstek złota, w zależności od warunków (w tym od poziomu pH mieszaniny reakcyjnej),
3. Badanie cytotoksyczności otrzymanych nanocząstek złota,
4. Badania stabilności nanocząstek w warunkach ekspozycji na intensywne promieniowanie laserowe,
5. Synteza oraz badania strukturalne i spektroskopowe rozgałęzionych nanocząstek złota.

W tym miejscu swojej analizy chciałbym zwrócić szczególną uwagę na zastosowanie całego wachlarza zaawansowanych technik analitycznych, umożliwiających pozyskiwanie informacji o charakterze strukturalnym (na przykład mikroskopia sił atomowych, AFM, oraz transmisyjna mikroskopia elektronowa, TEM), jak również informacji spektroskopowych (na przykład techniki spektroskopii absorpcyjnej w obszarze UV-VIS oraz wielofotonowego wzbudzenia luminescencji). Wzajemne, a w zasadzie komplementarne zastosowanie tak wielu podejść metodologicznych, w ramach realizacji pracy doktorskiej, zaowocowało, na drodze synergii, uzyskaniem wielu cennych wyników naukowych.

W pełni podzielam zdanie Doktorantki w zakresie wskazania najważniejszych osiągnięć pracy, wyartykułowanych w ramach rozdziału VII. pt. „Wnioski i podsumowanie pracy”. Według mojego, subiektywnego oglądu, szczególnie wartościowe wyniki łączą się z odkryciem oraz opisaniem szlaków syntezy nanocząstek złota z zastosowaniem ekstraktów roślinnych, głównie mięty. Wskazanie składników ekstraktów odpowiedzialnych bezpośrednio za postępowanie reakcji oraz charakterystyka otrzymanych



nanocząstek w aspekcie ich potencjalnego zastosowania w diagnostyce oraz terapii medycznej.

Na podkreślenie zasługuje również wyjątkowo wysoki poziom edytorski rozprawy doktorskiej, zarówno w aspekcie jakości grafik jak i precyzji i poprawności językowej. Pomimo uważnej, jak sądzę, lektury, nie mam, w zasadzie propozycji korekcji bądź uzupełnień. Może jedynie, zamianę stosowanego powszechnie sformułowania „dłuższe długości fal (np. str. 27, 54, 64, 78) na sformułowanie „większe długości fal” bądź „dłuższe fale”.

Tak wieloaspektowe oraz obszernie opracowanie, jakim znajduję rozprawę doktorską pani mgr inż. Magdaleny Klekotko, dostarcza wielu nowych oraz cennych informacji, pobudzając jednocześnie ciekawość poznawczą. Wyrazem tego mogą być następujące pytania:

1. Bardzo cenny wynik wiąże się, moim zdaniem, z określeniem frakcji białkowej ekstraktu z mięty, charakteryzującej się stosunkowo niską masą cząsteczkową (poniżej 3 kD), zaangażowanej bezpośrednio w syntezę nanocząstek złota. W związku z etapem inkubacji mieszaniny reakcyjnej w wysokiej temperaturze, można sądzić, iż w produkcie finalnym białka te przybierają formę zdenaturowaną. Wniosek taki nie musi być jednakże obligatoryjny, zważywszy wzajemne, stabilizacyjne oddziaływanie nanocząstek na struktury białkowe. Ciekaw jestem, czy zastosowanie analizy porównawczej FTIR, w obszarze pasma Amid I, ekstraktu roślinnego oraz uformowanych nanocząstek mogło by przybliżyć rozwiązanie tak sformułowanego problemu? Dobrą techniką w tym aspekcie, która mogłaby zostać zastosowana do analizy pasm białkowych w układach nanocząstek, wydaje się być również spektroskopia rozpraszania ramanowskiego, wzmocniona powierzchniowo przez metaliczne podłoże.
2. Szczególnie interesujące wydają mi się również zestawienia widm absorpcyjnych rejestrowanych w trakcie ekspozycji nanocząstek na promieniowanie laserowe, o relatywnie wysokiej mocy (30 mW, Rys. 51, str. 81). Analizy wskazują na zachodzenie procesu indukowanej termicznie fragmentacji większych



nanocząstek. Wskazuje na to stopniowy zanik pasma długofalowego, w obszarze spektralnym powyżej 700 nm. Jednocześnie, zaobserwować można jedynie niewielki wzrost ekstynkcji w obszarze pasma krótkofalowego, z maksimum w rejonie 540 nm. Ciekaw jestem, czy na podstawie tego typu eksperymentów możliwe byłoby oszacowanie wzajemnej relacji molowych współczynników ekstynkcji obu frakcji nanocząstek?

3. Zdaję sobie sprawę z kunsztu jakim władać musi eksperymentator rejestrujący wielofotonowe widma wzbudzenia luminescencji wzbudzanej wielofotonowo z zastosowaniem ultraszybkich impulsowych wiązek laserowych. Przykłady takich widm przedstawione są na Rys. 58., na str. 93. Gratulując Doktorantce, chciałbym zaprosić do dyskusji dotyczącej źródeł podstruktury subtelnej takich widm zaobserwowanych w przypadku nanocząstek syntetyzowanych z zastosowaniem ekstraktu z czystka ale nie w przypadku syntezy prowadzonej w obecności 2- merkaptoetanolu?

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pani mgr inż. Magdalena Klekotko przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, opierającą się na wynikach precyzyjnie zaprojektowanych oraz starannie przeprowadzonych prac eksperymentalnych. Część wyników tych badań ogłoszona została już równolegle w oryginalnych publikacjach w czasopismach specjalistycznych, w tym w Journal of Nanoparticle Research oraz w czasopiśmie Physical Chemistry and Chemical Physics. Inne wyniki stały się również podstawą artykułów naukowych będących na kolejnych etapach procesu ich publikacji. Doktorantka rozwijała dodatkowo swój warsztat naukowy w trakcie realizacji innych zadań badawczych, nie związanych bezpośrednio z tematyką doktoratu, jednakże prowadzących do interesujących wyników ogłoszonych w innych czasopismach i doniesieniach konferencyjnych. W mojej ocenie, rozprawa doktorska przedstawiona przez panią mgr inż. Magdalenę Klekotko zawiera rozwiązania ważkich oraz oryginalnych wyzwań badawczych i spełnia w zupełności warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz



o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2014 r. poz. 1852 oraz z 2015 r. poz. 249 i 1767). Co więcej, w moim odczuciu, walory samej rozprawy, w szczególności zaś ważne wyzwania badawcze oraz znaczna liczba oraz waga uzyskanych rezultatów sprawiają, iż rozprawę doktorską postrzegam jako wyróżniającą. Gratulując tak wartościowych rezultatów uprzejmie wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej we Wrocławiu o dopuszczenie pani mgr inż. Magdaleny Klekotko do dalszych etapów postępowania doktorskiego, w szczególności do publicznej obrony.