



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Radosława Szlązaka
pt. *Spektroskopowe badania oddziaływania nanostruktur metalicznych z cząsteczkami*
o znaczeniu biologicznym

Przedstawiona do oceny praca doktorska Pana mgr. Radosława Szlązaka została wykonana w Zakładzie Biofizyki Instytutu Fizyki Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, pod kierunkiem prof. dr. hab. Wiesława Gruszeckiego. Badania wykonano w ramach programu TEAM Fundacji Nauki Polskiej. Rozprawa posiada klasyczną formę z logicznym, wyraźnym podziałem na zagadnienia wprowadzające oraz prezentację własnych wyników badań. Recenzowana praca liczy 114 stron tekstu. Została podzielona na dziesięć rozdziałów, wliczając w to szczegółowy spis użytych skrótów i symboli, wstęp, rozdziały wprowadzające, charakteryzujące użytych materiałów i technologii otrzymywania próbek, opis oraz dyskusję wyników badań, podsumowanie i spis literatury. Struktura podziału treści pracy jak również kolejność rozdziałów nie budzą wątpliwości.

Celem pracy doktorskiej mgr. Radosława Szlązaka, przedstawionym precyzyjnie w rozdziale wstępnym, było wytworzenie aktywnych platform plazmonicznych funkcjonalizowanych nanocząstkami metalicznymi oraz molekułami i kompleksami o znaczeniu biologicznym, jak również charakteryzacja ich właściwości spektroskopowych. Zarówno cel, jak i zakres badań, w powiązaniu z wynikami innych autorów, zostały w rozprawie określone jednoznacznie. Przedstawiona do recenzji praca doktorska, w znacznym stopniu ma charakter technologiczny. Idea Autora zastosowania prostej i taniej metody wytwarzania platform plazmonicznych zdolnych do wzmocnienia emisji fluorescencji oraz sygnału ramanowskiego jest aktualna. Mimo iż badania właściwości układów wykazujących kolektywne, powierzchniowe oscylacje elektronów są prowadzone, od ponad 100 lat, to tematyka poszukiwania struktur wykazujących wzmocnienie rezonansu plazmonowego nadal utrzymuje się w nurcie modnego kierunku badań.

W rozdziale drugim rozprawy, mgr. Radosław Szlązak przedstawił zarys teorii oddziaływania fali elektromagnetycznej z układami zawierającymi atomy cząstki i nanocząstki metaliczne, z głównym uwzględnieniem ich wkładu w funkcję dielektryczną. Zagadnienie jest opracowane ambitnie, a żałować można jedynie, że zaprezentowane zależności (np. dyspersyjne) Autor wykorzystał w dalszej części pracy w dość małym stopniu.

Rozdział trzeci Doktorant poświęcił literaturowemu przeglądowi teorii wzbudzeń plazmonowych, oraz zmian pola lokalnego w przypadku oddziaływania plazmonów powierzchniowych z nanocząsteczkami. Omówił również zagadnienie wzmocnienia intensywności fluorescencji, sygnału ramanowskiego (SERS) oraz zmian absorpcji w podczerwieni, w przypadku sprzężenia plazmonowego.

Opisowi aktualnych metod i technologii wytwarzania nanocząstek metalicznych został poświęcony rozdział czwarty, a zwarty rozdział piąty stanowi powtórzenie sformułowania celu pracy, nakreślonego uprzednio w Streszczeniu. Rozdział szósty zawiera opis użytych w pracy materiałów i bogatego zakresu zastosowanych metod i technik pomiarowych.

Najbardziej obszerny, siódmy rozdział pracy prezentuje wyniki doświadczalne. W pierwszej części szczegółowo opisano syntezę zastosowanych nanocząstek metalicznych Ag, Au, Cu, Pd. Przeprowadzono analizę wpływu warunków technologicznych na kształt widma absorpcji oraz na rozmiary nanocząstek, określone na podstawie badań przy użyciu mikroskopu elektronowego.

Podrozdział 7.2 dotyczy opisu procedur tworzenia liposomowych układów hybrydowych nanocząstka metaliczna - lipid. Badania przeprowadzono dla kombinacji dwóch rodzajów metalu Ag i Au oraz czterech typów syntetycznych lipidów. Struktury uzyskanych kompleksów zobrazowano przy użyciu transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM), oraz zarejestrowano widma absorpcji, określając położenie maksimów pasm.

Niewątpliwym sukcesem Autora (Rozdział 7.3) było wytworzenie układu z kompleksami fotosyntetycznymi LHC II w obecności koloidu nanocząstek srebra oraz wykazanie skrócenia czasu życia fluorescencji chlorofili. Efekt ten zinterpretowano jako następstwo rezonansu plazmonowego, ale brakuje nieco pogłębionej analizy. Rysunek 7.3.1 (lewy panel) wymaga opisu, gdyż kształt gaussowski przebiegu wzbudzenia i zaniku fluorescencji jest odbiegający od typowych przebiegów szybszego wzbudzenia i zwykle wolniejszego, wykładniczego zaniku (lewa gałąź krzywej posiada charakteru narastania sygnału).

Lepiej udokumentowany jest z kolei efekt niemal 30 krotnego skrócenia czasów życia fluorescencji erytrozyny B osadzonej na platformie plazmonicznej z piramidowymi strukturami AgCyt (Rozdział 7.3.1). Wynik jest o tyle atrakcyjny, że wzbudzenie plazmonowe występuje w prostym, suchym układzie o strukturze porowatej, a nie periodycznej. Doktorant zauważa aspekt aplikacyjny takich układów w zastosowaniu do detektorów fotonów nieczułych na efekt kolorów.

Nieco powierzchownie zostały w rozprawie potraktowane interesujące zagadnienia tworzenia platform plazmonicznych barwnika NBD wbudowanego w łańcuch lipidowy i osadzanego metodą Langmuir-Blodgett na nanocząstkach AgDT. Rysunek 7.3.2.1 pokazuje widma absorpcji i fluorescencji dla barwnika NBD wbudowanego w lipid, bez określenia ośrodka (w roztworze wodnym?). Żałować można, że nie zaprezentowano widm porównawczych dla odpowiadających im układów w postaci warstw L-B.

W kolejnych podrozdziałach zostały opisane interesujące wyniki badań wzbudzeń plazmonowych uzyskiwanych w układach, dla których wybrane barwniki i kompleksy były immobilizowane na różnorodnych platformach plazmonicznych: z porowatego tlenku tytanu, szkła funkcjonalizowanego APTES-em (3-aminopropylotrietoksysilanem), nanostruktur wyspowych srebra samoorganizujących się (Silver-Island). Na pochwałę zasługuje pomysłowość i duża różnorodność zastosowanych podłoży i typów struktur. Zabrakło jedynie systematyczności i zastosowania podobnej metodyki badań w odniesieniu do wszystkich układów. Dla części platform zaprezentowano widma absorpcji, dla części obrazowanie topografii powierzchni AFM (bez przydatnych profili wysokości), a dla pewnej klasy, widma fluorescencji z wrywkową informacją o współczynniku wzmocnienia emisji.

Rozprawa zawiera również interesujący, trochę skrótowo potraktowany, podrozdział 7.4 prezentujący wyniki badań wzmocnienia absorpcji w podczerwieni (SEIRA), w układzie kompleksów LHC II i Chl *b* osadzonych na nanocząstkach złota (AuCTAB).

Oryginalnym, najbardziej spektakularnym osiągnięciem Pana mgr. R. Szlązaka było przeprowadzenie syntezy nanocząstek srebra, poprzez użycie reduktora - amfoterycyny B, w celu wytworzenia układów micellarnych z metalicznym rdzeniem otoczonym antybiotykiem (Rozdział 7.5). Wyniki badań mikrobiologicznych, wybranych szczepów zarodników grzybowych i bakterii na platformach plazmonicznych, pozwoliły na określenie działania grzybobójczego.

Oceniając całą pracę doktorską, na uznanie zasługuje poprawny dobór i wykorzystanie aparatury badawczej, dostępnej w Instytucie Fizyki UMCS. Autor przeprowadził charakteryzację znacznej liczby struktur i funkcjonalizowanych powierzchni przy użyciu sporej liczby klasycznych technik stacjonarnej spektrometrii absorpcyjnej i fluorescencyjnej, fluorescencji rozdzielczej czasowo, spektroskopii w podczerwieni oraz ramanowskiej.

Doktorant wykonał wartościową pracę technologiczną. Pewnym, drobnym mankamentem pracy jest zbyt słabe uzasadnienie wyboru zastosowanych cząsteczek o znaczeniu biologicznym i wyboru użytych nanostruktur metalicznych. Brakuje również informacji o, wspomnianych w rozdziale podsumowującym, fotostabilności oraz powtarzalności wyników i reprezentatywności próbek. W tekście rozprawy nie znalazłem wyników dla zapowiedzianych (§7, str. 62) układów z nanocząstkami miedzianymi, palladowymi i platynowymi.

Formalna strona rozprawy jest bez zarzutu, język jest precyzyjny i poprawny. W tekście dostrzeżono jedynie, następujące, drobne błędy natury edytorskiej:

- str. 15 (4 wiersz od dołu) jest: *...niech świadczy fakt, iż w 2014 trzech fizyków...* – powinno być: *...niech świadczy fakt, iż w 2014 r. trzech fizyków...* ;

- str. 16 (15 wiersz od dołu) jest: *...zapewniałaby zwiększenie ilości sygnału...* – powinno być: *...zapewniałaby zwiększenie wartości sygnału...*;
- str. 19 (6 wiersz od dołu) jest: *...Równomierne rozmieszczenie ładunku elektrycznego..., przypisywana jest mobilność...* – powinno być: *...Równomiernemu rozmieszczeniu ładunku elektrycznego..., przypisywana jest mobilność...*;
- str. 21, wzór 2.1.9 wydaje się niepoprawny, jeśli wielkości fizyczne wyrazić w układzie SI;
- str. 66/67, §7.1.4 – brak odniesienia w tekście do rysunku 7.1.4.1 (w podpisie jest mowa o zawiesinie w izopropanolu, a w tekście na str. 66 w toluenie);
- str. 73 (6 wiersz od dołu) wzór 7.1.9.1 na objętość kuli wydaje się zbędny w rozprawie doktorskiej;
- str. 85 (3-5 wiersz od góry) w tekście występuje nieuzasadnione powołanie się na Rys. 7.3.2.1 (w podpisie pod rysunkiem brakuje ponadto informacji czy barwnik w lipidzie występuje w roztworze czy warstwie L-B);
- str. 86 (5 wiersz od góry) jest: *...próbki badano na mikroskopie...* – powinno być: *...próbki badano przy użyciu mikroskopu...*;
- str. 86 (6 wiersz od góry) jest: *...Emisję obserwowano na długości 530 nm...* – powinno być: *...Emisję obserwowano przy długości 530 nm...*;
- str. 87 (1-2 wiersz od dołu) w zdaniu brak orzeczenia;
- str. 88 (6 wiersz od dołu) jest: *...Detekcja ustawiono na zakres...* – powinno być: *...Detekcję ustawiono na zakres...*;
- str. 96, Rys. 7.4.1 A zawiera błędną legendę utrudniającą analizę (niejednoznaczne przypisanie kolorów krzywych i legendy).

Przedstawione powyżej, nieliczne uwagi nie umniejszają rzeczywistej wartości pracy i powinny posłużyć jedynie jako zachęta do dyskusji. Zaproponowane zagadnienie badawcze jest aktualne i ma swoje uzasadnienie w doniesieniach najnowszej, światowej literatury. Uporządkowane, strukturyzowane układy hybrydowe cząsteczek o znaczeniu biologicznym, oddziałujące z nanostrukturami metalicznymi, są niezwykle interesujące z aplikacyjnego punktu widzenia. Układy takie posiadają szereg unikatowych właściwości o potencjalnym znaczeniu praktycznym w konstrukcji detektorów bioelektronicznych, organicznych elementów elektronicznych, pamięciach optycznych oraz układach transportu molekularnego.

Wytworzenie i charakteryzacja optycznych i strukturalnych właściwości różnorodnych platform plazmonicznych z cząsteczkami o znaczeniu biologicznym, wykazujących rezonans plazmonowy, są znaczącymi wynikami naukowymi. Sukcesem Pana mgr. R. Szlązaka było skonstruowanie wielu typów nanostruktur metalicznych. Otrzymanie i charakteryzacja takich układów wymagały od Doktoranta znacznego nakładu czasu, wiedzy teoretycznej, doboru odpowiednich technik otrzymywania oraz umiejętności charakteryzacji układów. Uzyskane dane pomiarowe zostały wydajnie zinterpretowane, co świadczy o dojrzałości naukowej Pana mgr. Radosława Szlązaka. Wyniki badań opisanych w rozprawie zostały opublikowane w sześciu recenzowanych artykułach, w renomowanych, indeksowanych czasopismach obiegu światowego.

W podsumowaniu stwierdzam, że tematyka badawcza rozprawy doktorskiej mgr. Radosława Szlązaka jest oryginalna, a zagadnienie ważne poznawczo. Na uznanie zasługuje dyskusja otrzymanych wyników w oparciu o aktualne i należycie wykorzystane źródła literaturowe. **Rozprawę doktorską Pana magistra Radosława Szlązaka oceniam pozytywnie i stwierdzam, że spełnia wymagania stawiane przez *Ustawę o tytule naukowym i stopniach naukowych*. Wnoszę zatem o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

