

Kraków, 05.06.2025

**Recenzja rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Anny Pniakowskiej
pt. „Metallic nanoclusters as fluorescent probes for multiphoton
microscopy”**

Nanocząstki i nanostruktury metaliczne od wielu lat pozostają interesującymi obiektami badań ze względu na ich właściwości spektroskopowe, zarówno związane z procesami absorpcji jak i emisji. O ile wzbudzenia plazmonowe dzięki swojej zdolności do silnej lokalizacji i wzmacniania pola elektromagnetycznego mogą być procesami wykorzystywanymi w wielu obszarach obejmujących fotowoltaikę, fotokatalizę, fototerapię, o tyle właściwości fluorescencyjne nanoklasterów metalicznych mogą stanowić o ich wielu ciekawych zastosowaniach analitycznych i diagnostycznych. Tematyka liniowych i nieliniowych właściwości optycznych nanoklasterów metalicznych zainteresowała również Panią mgr inż. Annę Pniakowską, która przedstawiła rozprawę doktorską pt. „Metallic nanoclusters as fluorescent probes for multiphoton microscopy” („Metaliczne nanoklasy jako fluorescencyjne znaczniki w mikroskopii wielofotonowej”). Została ona przygotowana na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem Pani dr. hab. inż. Joanny Olesiak-Bańskiej, prof. PWr, w ramach realizacji projektu Sonata Bis pt. „Nanoklasy złota o zdefiniowanej liczbie atomów jako nowe znaczniki w mikroskopii jedno- i wielofotonowej”, którego kierownikiem była Pani promotor.

Rozprawa przygotowana została w języku angielskim jako zbiór trzech publikacji opatrzonej wstępem obejmującym zdefiniowanie hipotez badawczych i celów pracy, wprowadzenie i przegląd literatury w zakresie syntezy i charakterystyki nanoklasterów metali szlachetnych, ich jedno- i dwufotonowych właściwości optycznych ze szczególnym uwzględnieniem procesów luminescencji. Każdy artykuł poprzedzony został krótkim omówieniem i oświadczeniami Autorki oraz pozostałych współautorów o ich wkładach w powstanie prac. Całość zwieńczona jest podsumowaniem z opisem dalszych perspektyw rozwoju badań w poruszanej tematyce, a także listą prac opublikowanych przez Doktorantkę. Czasopisma, w których opublikowane zostały badania Pani Pniakowskiej, to kolejno *Molecules* (IF = 4,2), *Angewandte Chemie International Edition* (IF = 16,1) oraz *Nanoscale* (IF = 5,8). Prace są wieloautorskie (od dwóch do ośmiu autorów), jednak we wszystkich Pani Pniakowska jest pierwszym autorem. Pozycja na liście autorów oraz oświadczenia współautorów wskazują,

że Doktorantka odgrywała kluczową rolę w wykonaniu badań, analizie wyników i przygotowaniu manuskryptów wszystkich prac.

Wstęp do pracy uważam za dobrze przygotowany przegląd informacji wprowadzających w tematykę rozprawy i stanowiących wspólne tło spinające trzy niezależne artykuły. Opisane metody syntezy nanoklastrów złota (AuNCs) obejmują moką syntezę chemiczną, wymianę ligandów i redukcję soli złota(III). W kolejnych rozdziałach opisana została fluorescencja nanoklastrów ze szczególnym uwzględnieniem sposobów zwiększenia wydajności tych procesów, obejmujących usztywnienie struktury klastrów, ich agregację, samoorganizację, dotowanie i tworzenie struktur stopowych. Autorka poświęciła również jeden z rozdziałów zagadnieniom chiralności nanoklastrów, sposobów jej uzyskiwania oraz technikom pomiaru właściwości spektroskopowych chiralnych cząstek i cząsteczek. W ostatnim podrozdziale opisała nieliniowe właściwości optyczne nanoklastrów, w tym fluorescencję wywołaną wzbudzeniem dwufotonowym oraz absorpcję dwufotonową. O ile wprowadzenie to uważam za bardzo wartościowe i dobrze wyważone (Autorka uniknęła zbyt szczegółowych opisów, luźno związanych z przedstawionymi wynikami), o tyle dziwi mnie fakt zdefiniowania hipotez badawczych już w pierwszych zdaniach rozprawy. Moim zdaniem powinny one wynikać z przedstawionego stanu wiedzy, analizy zagadnień, które wymagają poprawy i uzasadnienia propozycji sposobu rozwiązania problemu w oparciu o dane literaturowe. Takie podejście pozwoliłoby sformułować bardziej ambitne i lepiej uzasadnione hipotezy i cele badawcze, podczas gdy Autorka definiując je już na pierwszej stronie w pewnym sensie zmuszona jest do dość ogólnikowych sformułowań typu „luminescencja może być narzędziem do wyznaczania dwufotonowego dichroizmu kołowego nanoklastrów” albo „dotowanie nanoklastrów srebra atomami złota wpływa na jedno- i dwufotonowe właściwości optyczne AgNCs”. W ten sposób zamiast ambitnych problemów badawczych wyznaczających kierunek podjętych badań mamy dość oczywiste stwierdzenia, których prawdziwość jest dość oczywista. Swoją drogą, luminescencja jako proces czy zjawisko nie jest narzędziem.

Trzy publikacje stanowiące rdzeń rozprawy zawarte zostały w kolejnych rozdziałach poprzedzonych ich kilkustronicowymi omówieniami. Aby ułatwić dalszy opis pozwolę sobie przedstawić listę tych prac:

1. A. Pniakowska, J. Olesiak-Bańska; Plasmonic enhancement of two-photon excited luminescence of gold nanoclusters. *Molecules* **2022**, 27, 807.
2. A. Pniakowska, K. Ramankutty, P. Obstarczyk, M. Perić, Z. S. Maršić, V. Bonačić-Koutecký, T. Bürgi, J. Olesiak-Bańska; Gold-doping effect on two-photon absorption and luminescence of atomically precise silver ligated nanoclusters. *Angewandte Chemie International Edition* **2022**, 61, e202209645.
3. A. Pniakowska, M. Samoć, J. Olesiak-Bańska; Strong fluorescence-detected two-photon circular dichroism of chiral gold nanoclusters. *Nanoscale* **2023**, 15, 8597.

W pierwszej publikacji silne wzmocnienie fluorescencji nanoklastrów złota (Au₁₈) w wyniku wzbudzenia dwufotonowego zostało osiągnięte poprzez umieszczenie ich w sąsiedztwie nanocząstek plazmonicznych, którymi były nanoprety złota. Najbardziej

intensywna fluorescencja została zaobserwowana w wyniku rezonansowego wzbudzenia nanocząstek plazmonicznych (pik wzbudzenia plazmonowego powinien znajdować się pomiędzy pikami wzbudzenia i emisji fluoryzującej cząsteczki). Zwrócono uwagę na stosunkowo dużą stabilność działania tych układów.

Druga publikacja opisuje właściwości emisyjne nanoklastrów srebra dotowanych pojedynczymi atomami złota, $\text{Ag}_{25-x}\text{Au}_x$, dla $x = 0, 1$ oraz 5-10. Wprowadzenie atomów złota powoduje hipsochromowe przesunięcie zarówno maksimum absorpcji jak i luminescencji nanoklastrów AgNCs. Dla $x = 1$ zaobserwowano silną zmianę liniowych i nieliniowych właściwości optycznych, w tym silny wzrost wydajności kwantowej emisji (około dziesięciokrotny) w porównaniu z nanoklastrami srebra. Wprowadzenie większej liczby atomów złota powodowało odwrotny efekt – wydajność kwantowa emisji malała. Czasowo rozdzielcze pomiary luminescencji pozwoliły wyciągnąć wnioski odnośnie mechanizmu poprawy wydajności emisji. W przypadku Ag_{24}Au spowolnieniu ulega bezpromienista ścieżka wygaszania wzbudzenia, podczas gdy proces ten zachodzi szybciej w przypadku nanoklastrów domieszkowanych większą liczbą atomów złota. W pracy przeanalizowano również wpływ domieszkowania złotem na przebieg procesów dwufotonowych. Wyniki pracy wskazują, że zamiana jednego atomu srebra na atom złota w AgNCs może być dobrą metodą uzyskania cząstek luminescencyjnych dla bioobrazowania.

W trzeciej pracy obiektem badań były chiralne nanoklastry złota. Chiralność wynikała z obecności różnych enancjomerów argininy wykorzystanej jako ligand kompleksujący nanoklastry. Dla tych układów zaobserwowano silne wzmocnienie (około 245-krotne) dwufotonowego dichroizmu kołowego w porównaniu ze wzbudzeniem jednofotonowym. Wyniki tej pracy wskazują na potencjał nanocząstek złota o dobrze zdefiniowanej chiralności w analizie biomedycznej i enancjoselektywnym obrazowaniu.

Moja ocena prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej jest jednoznacznie pozytywna. Poruszone zostały trzy ciekawe wątki, z których za najciekawsze z poznawczego punktu widzenia uważam drugi i trzeci. Wyniki badań zostały szczegółowo zinterpretowane wnosząc istotny przyczynek w zrozumienie optycznych właściwości liniowych i nieliniowych nanocząstek metali szlachetnych. Za najważniejsze osiągnięcia Doktorantki uważam zaobserwowanie i omówienie trzech metod wzmocnienia emisji nanoklastrów złota lub srebra, w szczególności poprzez wymianę jednego z atomów (artykuł 2) oraz wprowadzenie chiralności (artykuł 3). Interesującym aspektem praktycznym przedstawionych badań jest możliwość wykorzystania opisanych materiałów w bioobrazowaniu. Mam jednak kilka uwag i pytań, które chciałbym omówić w trakcie obrony:

1. O ile w artykule 2 poruszone zostało w pewnym stopniu zagadnienie struktury (nie tylko składu pierwiastkowego) nanoklastrów, o tyle w artykule 3 nie znalazłem satysfakcjonującego opisu struktury badanych układów. Czy Doktorantka może przedstawić więcej informacji na temat struktur NCs stosowanych w swoich pracach? W jaki sposób były one weryfikowane? Czy zastosowanie ligandów chiralnych indukuje chiralność samych struktur złota?

2. Opis układów chiralnych w ostatniej części pracy dotyczył chiralności wynikającej z zastosowania enancjomerów argininy. Czy testowane były również inne ligandy chiralne? Na ile wnioski płynące z tej pracy można uogólnić na inne układy chiralne?
3. W artykule 2 wzrost wydajności fluorescencji Ag_{24}Au wytłumaczono obniżeniem szybkości procesów rekombinacji bezpromienistej. Z kolei większa zawartość złota przyspiesza taką rekombinację. Czy można w jakiś racjonalny sposób wyjaśnić te efekty? Czy da się je powiązać ze strukturą geometryczną lub elektronową takich układów?
4. Wzmocnienie emisji opisane w artykule 1 wynikające z lokalizacji nanoklasterów w pobliżu nanocząstek złota powinno być silnie zależne od względnej odległości tych struktur. Czy efekt taki był analizowany? W jaki sposób można byłoby zbadać wpływ odległości na wydajność luminescencji?

Rozprawa zawiera kilka mankamentów, których można było uniknąć. W streszczeniu w języku polskim zamiennie stosowany jest w osobie pierwszej rodzaj męski i żeński (zsyntetyzowałem, przeprowadziłem, a także określiłem, zaobserwowałem). Świadczyć to może o wykorzystaniu translatorów w tłumaczeniu tekstu angielskiego, co samo w sobie nie jest zarzutem pod warunkiem starannego zweryfikowania uzyskanego rezultatu. Warto było również przeprowadzić korektę językową tekstu, w którym wielokrotnie pojawiają się błędy związane z użyciem końcówki „s” w czasownikach w trzeciej osobie. Ponadto na stronie 17 przedstawione równanie reakcji jest źle zbilansowane, a rysunek 2 na stronie 40 został niepoprawnie opisany (litery a-d).

Warto zwrócić uwagę na fakt, że Pani Pniakowska realizowała swoje prace badawcze w ramach projektu Sonata Bis. W swoim dorobku ma już 9 publikacji (wg bazy Scopus oraz zamieszczonego w rozprawie spisu publikacji).

Podsumowując ocenę rozprawy doktorskiej Pani Anny Pniakowskiej, uważam, że stanowi ona istotny wkład w zrozumienie liniowych i nieliniowych procesów optycznych zachodzących z udziałem nanoklasterów metali szlachetnych. Rezultaty badań mogą mieć również znaczenie praktyczne, gdyż mogą znaleźć zastosowanie w analityce medycznej i bioobrazowaniu. Wyniki Doktorantki stanowiące podstawę ocenianej rozprawy zostały opublikowane w trzech publikacjach, z czego jedna ukazała się w prestiżowym czasopiśmie *Angewandte Chemie*. Przedstawiona do oceny rozprawa spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tekst jednolity: Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zm.). Wnoszę zatem o dopuszczenie Pani mgr inż. Anny Pniakowskiej do dalszych etapów postępowania w procedurze nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

