



dr hab. Dawid Tomasz Piątkowski, prof. UMK
Instytut Fizyki UMK / Katedra Nanofotoniki
e-mail: dapi@fizyka.umk.pl
tel.: +48 56 611 3292

Toruń, 25 kwietnia 2025

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

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została przygotowana w Instytucie Materiałów Zaawansowanych na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod kierunkiem profesor uczelni dr hab. Joanny Olesiak-Bańskiej. Rozprawa ma formę tematycznie spójnego zbioru artykułów opublikowanych w indeksowanych czasopismach naukowych w latach 2022-2023. Dysertacja składa się zasadniczo z dwóch części. Część pierwszą stanowi wprowadzenie do poruszanej tematyki badawczej, natomiast druga zawiera zbiór publikacji stanowiących trzon rozprawy, opatrzonej autorskim komentarzem i wprowadzeniem, wraz z uzupełnieniami oraz niezbędnymi oświadczeniami współautorów. Całość zajmuje 123 numerowane strony.

Część pierwszą rozprawy rozpoczyna krótkie streszczenie, po którym Autorka opisuje cele i hipotezy badawcze, na co poświęca pierwszy rozdział. Na kolejnych stronach przedstawia najważniejsze zagadnienia dotyczące ściśle poruszanej tematyki badawczej. Omawia podstawowe właściwości nanoklastrów metali szlachetnych, metody ich syntezy oraz rolę ligandów. Następnie opisuje podstawowe właściwości optyczne nanoklastrów, metody wzmacniania ich odpowiedzi optycznej jak również właściwości chiralne. Wreszcie podejmuje zagadnienie nieliniowych procesów optycznych, a w szczególności dwufotonowym wzbudzeniu luminescencji w tychże układach. Wszystkie te informacje zawarto w drugim rozdziale, który opatrzone jest licznymi odnośnikami do literatury przedmiotu, co stanowi jednocześnie przegląd bieżących osiągnięć w poruszanej tematyce. Część pierwsza rozprawy zajmuje łącznie 36 stron.





Część drugą rozprawy stanowi zbiór trzech publikacji naukowych, w których Doktorantka figuruje jako pierwsza autorka, są to:

1. A. Pniakowska, J. Olesiak-Banska, Plasmonic Enhancement of Two-Photon Excited Luminescence of Gold Nanoclusters, *Molecules* **2022**, 27, 807
2. A. Pniakowska, K. Kumaranchira Ramankutty, P. Obstarczyk, M. Perić Bakulić, Ž. Sanader Maršić, V. Bonačić-Koutecký, T. Bürgi, J. Olesiak-Bańska, Gold-Doping Effect on Two-Photon Absorption and Luminescence of Atomically Precise Silver Ligated Nanoclusters, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, 61, e202209645
3. A. Pniakowska, M. Samoć, J. Olesiak-Bańska, *Nanoscale* **2023**, 15(19), 8597

Publikacje należą do tzw. „listy filadelfijskiej”, a na liście opublikowanej przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego przypisano im od 140 (p. 1, 3) do 200 punktów (p. 2). Artykuły te są już rozpoznawalne w środowisku naukowym i uzyskały dotychczas około 60 cytowań. Zbiór publikacji został uzupełniony o oświadczenia współautorów, z których jednoznacznie wynika, że Pani mgr inż. Anna Pniakowska aktywnie uczestniczyła w ich powstaniu, a w szczególności brała udział m.in. w syntezie nanoklastrów, przygotowaniu próbek pomiarowych, charakteryzacji morfologicznej oraz optycznej, analizie danych oraz przygotowaniu manuskryptów. Na tej podstawie stwierdzam, iż złożona rozprawa doktorska nie budzi zastrzeżeń formalnych.

Moja ocena pierwszej części pracy, którą traktuję jako wprowadzenie do lektury publikacji, jest pozytywna. Opis jest przejrzysty i dobrze zorganizowany. Autorka w sposób przystępny i fachowy tłumaczy podstawowe pojęcia i procesy towarzyszące syntezie nanoklastrów, charakteryzuje zachodzące procesy optyczne oraz dogłębnie opisuje wykorzystane metody pomiarowe. Zawarte w tej części pracy informacje jednoznacznie wskazują, że Autorka osiągnęła poziom wiedzy i umiejętności jakimi powinni legitymować się młodzi doktorzy.

W tej części pracy nie dopatrzyłem się poważnych nieścisłości merytorycznych. Pojawiły się nieliczne sformułowania żargonowe oraz zbyt liczne akronimy, które miejscami utrudniają płynną lekturę. Moje jedyne na tym etapie zastrzeżenia dotyczą opracowania edytorskiego pracy. Zdarza się, że rysunki i odpowiadające im podpisy są rozdzielone, a same opisy bywają zbyt skromne. Poza tym, niektóre wykresy posiadają nieopisane osie i nie wiadomo co przedstawiają (np. rys. 2). Te drobne uszczerbki są częściowo efektem wykorzystania rysunków zaczerpniętych z opracowań innych autorów, na co – co trzeba podkreślić – Doktorantka uzyskała formalne pozwolenie. Uważam jednak, że ta część pracy stanowi doskonałą okazję do zaprezentowania własnych ilustracji i komentarzy, które w sposób najwłaściwszy i najbardziej trafny oddawałyby sens i złożoność diskutowanych problemów, a z czego Autorka nie skorzystała.





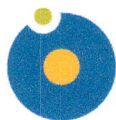
Właściwa prezentacja wyników badań uzyskanych przez Doktorantkę została zebrana i przedstawiona w drugiej części rozprawy, w rozdziale trzecim, składającym się z trzech publikacji naukowych. W pierwszej z tych prac Autorka porusza problem wykorzystania nanocząstek plazmonicznych (złotych nanoprętów) do modyfikowania odpowiedzi optycznej nanoklastrów. Publikację tę, podobnie jak ma to miejsce w kolejnych podrozdziałach, poprzedza przygotowane przez Doktorantkę wprowadzenie, w tym krótki opis metodologii oraz prezentacja najważniejszych rezultatów.

Wyniki badań zaprezentowane w pierwszej publikacji uważam za bardzo interesujące. Pokazano w nich, że relatywnie niska wydajność kwantowa klastrów złota ($\text{Au}_{18}(\text{SG})_{14}$), w tym przypadku stabilizowanych glutationem, może zostać efektywnie zwiększona przez oddziaływanie z nanocząstką złota. Dokładnej analizie morfologicznej i spektroskopowej poddano zarówno klastry jak i nanopręty oraz powstałe w wyniku ich oddziaływania układy hybrydowe. Wykorzystano przy tym szeroki zakres technik eksperymentalnych, obejmujący spektroskopię optyczną, mikroskopię AFM, mikroskopię optyczną ciemnego pola oraz konfokalną. Dokładnie opisany został proces syntezy oraz preparatyki próbek. Główną konkluzję z niniejszej pracy stanowi obserwacja 25-krotnego wzrostu natężenia luminescencji nanoklastrów znajdujących się w sąsiedztwie nanocząstek złota, operujących w warunkach pobudzenia dwufotonowego.

W drugiej publikacji poruszone zostało zagadnienie domieszkowania nanoklastrów srebra pojedynczymi atomami złota. Celem takiego zabiegu było zmodyfikowanie ich właściwości optycznych, podobnie jak to miało miejsce w pracy pierwszej. Tutaj jednak badano wpływ pojedynczych atomów domieszki, stanowiących integralną część nanoklastra. Załączona praca obejmuje bardzo szeroki zakres badań, włączając zarówno proces syntezy nanoklastrów, ich charakteryzacji morfologicznej oraz optycznej, wspomaganą obliczeniami teoretycznymi w oparciu o metodę DFT. Badane były ich szeroko rozumiane liniowe oraz przede wszystkim nieliniowe właściwości spektroskopowe. Na każdym etapie badań otrzymywane wyniki były konfrontowane z danymi otrzymanymi dla wyjściowych (referencyjnych) nanoklastrów. Pokazano m.in., że wprowadzenie do nanoklastra Ag_{25} domieszki w postaci pojedynczego atomu złota drastycznie zwiększa wydajność kwantową (z około 3 do niemal 30 %), modyfikuje czasy zaniku luminescencji oraz wydajność wzbudzenia dwufotonowego. Co ciekawe, zademonstrowano również, że stopniowe zwiększanie liczby atomów złota nie zawsze skutkuje dalszą poprawą parametrów badanego układu.

Trzecia publikacja podejmuje niezwykle interesującą tematykę chiralności nanoklastrów złota w kontekście optycznych procesów wielofotonowych. Zsyntezowane i zbadane zostały nanoklastry stabilizowane ATT oraz enancjomerami argininy. Po pierwsze, pokazano, że wprowadzenie argininy wyraźnie poprawia właściwości emisyjne układu co przypisano





ograniczeniu relaksacji bezpromienistej. Najciekawszą w mojej ocenie część pracy stanowi eksperyment, w którym dichroizm kołowy badano pośrednio, analizując natężenie luminescencji aktywowanej w procesie nieliniowej absorpcji dwóch fotonów światła spolaryzowanych prawo- i lewoskrętnie. Pokazano, że w takich warunkach wzbudzenia pomiar dichroizmu charakteryzuje się znacznie wyższą czułością niż klasyczna spektroskopia CD. Dla nanoklastrów stabilizowanych L- oraz D-argininą, dwufotonowy dichroizm kołowy jest ponad 200-krotnie silniejszy niż ma to miejsce w procesie jednofotonowym. Układ ten wydaje się być niezwykle ciekawy dla zastosowań w mikroskopii wielofotonowej.

Publikacja trzecia wraz z uzupełnieniami kończy rozdział trzeci dysertacji, obejmujący łącznie 79 stron. Rozdział czwarty stanowi krótkie podsumowanie otrzymanych wyników, nawiązujące do postawionych hipotez badawczych. W tej części Autorka zamieszcza również ciekawe plany badawcze, dotyczące dalszej eksploracji nanoklastrów złota.

Przygotowanie recenzji na temat rozprawy doktorskiej opartej na zbiorze publikacji naukowych stanowi dla mnie zawsze pewne wyzwanie. Trudno bowiem polemizować ze słusznością tez czy też poprawnością wyników opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych. Wnikliwa analiza przedstawionego dorobku zwróciła jednak moją uwagę na kilka kwestii, które w mojej ocenie wymagają wyjaśnienia bądź komentarza. Dlatego też proszę o ustosunkowanie się Doktorantki do poniższych pytań bądź uwag dotyczących drugiej części rozprawy.

Moja pierwsza, bardzo ogólna uwaga dotyczy przygotowanych przez Doktorantkę opisów, każdorazowo poprzedzających publikacje. Podobnie jak ma to miejsce w pierwszej części pracy, tutaj również zdarzają się niedopatrzienia edytorskie, takie jak np. tytuły akapitów kończące stronę (str. 39, 43, 103) czy też niepełne podpisy rysunków (np. na rys. 12 brak opisu do części c oraz d). Wątpliwości budzi również celowość takich opisów, które nie wnoszą żadnych nowych informacji ponad te zawarte w publikacjach. Są one oparte częściowo o rysunki zamieszczone w publikacjach i ograniczają się wyłącznie do ich streszczenia. Analizę pracy ułatwiłby również jednolity system numerowania stron, obejmujący również załączone artykuły.

Pytania i komentarze dotyczące pierwszej publikacji:

1. Czy pojedyncze nanoklasyry złota posiadają trwały moment dipolowy? Jaką naturę mają obserwowane przejścia absorpcyjno-emisyjne?
2. Jaki mechanizm wzmocnienia luminescencji stoi za warunkiem dopasowania rezonansu plazmonowego do pasma emisji nanoklastra (strona 41, akapit 2, linia 2)?





3. Czy znana jest natura trzech linii absorpcyjnych położonych na 465, 515 i 590 nm, widocznych na Rys. 1a (strona 46)? Jaka była długość fali promieniowania wzbudzającego użytego do zarejestrowania widma emisji zamieszczonego na Rys. 1b?
4. Bardzo proszę o przedstawienie Rys. 3 (strona 48) z wykazem filtrów optycznych wykorzystanych do akwizycji zaprezentowanych sygnałów luminescencyjnych.
5. Proszę o wytłumaczenie natury nieregularnych spotów obserwowanych na mapach natężenia luminescencji, zamieszczonych na Rys. 3a i b. Obraz pojedynczego emitera o rozmiarach mniejszych od długości fali światła stanowi zwykle (w przypadku modu gaussowskiego) owalną plamkę.
6. Czy dostępna jest mapa uzupełniająca do Rys. 3a i b, przedstawiająca rozmieszczenie przestrzenne emisji nanoklastrów w obszarach występowania nanorodów złota?
7. Proszę o wytłumaczenie sposobu szacowania współczynnika wzmocnienia natężenia luminescencji nanoklastrów w oparciu o dane zamieszczone na Rys. 3, stężenie nanoklastrów oraz rozmieszczenia nanorodów.
8. Czy w analizie wzmocnienia luminescencji uwzględniono znany efekt tłumienia emisji, który może występować w przypadku zbyt bliskiego kontaktu emitera z nanocząstką plazmoniczną (strona 50, akapit 1, linia 8)?
9. Histogram przedstawiony na Rys. S1b wskazuje na dość dużą dyspersję rozmiaru nanoklastrów w ramach danego typu. Jak w tym kontekście należy interpretować deklarowaną atomową precyzję składu poszczególnych klastrów?

Pytania i komentarze dotyczące drugiej publikacji:

1. Jakie kryterium porównawcze przyjęto oraz na jakiej podstawie wyciągnięto wniosek o dużej zgodności pomiędzy doświadczalnymi, a obliczonymi teoretycznie (DFT) widmami absorpcji kolejnych nanoklastrów, zamieszczonymi na Rys. 1c, d i e? Warto zauważyć, że w zakresie 400–500 nm widoczne są liczne rozbieżności pomiędzy danymi eksperymentalnymi a wynikami obliczeń.
2. Opis osi rzędnych na Rys. 1c, d i e jako „normalized intensity” jest mylący. Właściwszym byłby „normalized absorbance”. Ponadto, modele strukturalne nanoklastrów umieszczone w wykresach widm są nieczytelne.
3. Czy zaprezentowane widma emisji (Rys. 1b) uwzględniają korekcję związaną z czułością spektralną sekcji detekcji?
4. Zmierzone profile zaniku luminescencji wykazują zwykle charakter wielowykładniczy, które w pracy aproksymowano modelem dwuwykładniczym. Czy znany jest mechanizm odpowiedzialny za takie przebiegi czasowy emisji? Jakie filtry optyczne zastosowano podczas akwizycji danych przedstawionych na Rys. S4?
5. Dyskusja dotycząca stabilności nanoklastrów w różnych warunkach oświetlenia laserowego, oparta wyłącznie na jednostce mocy promieniowania jest niemiarodajna przy braku znajomości parametrów optycznych układu (strona 79, akapit 3, linia 4).





Pytania i komentarze dotyczące trzeciej publikacji:

1. Jaką wartość retardacji ustawiono na kompensatorze Babinet-Soleil'a w eksperymencie TP-FDCD (Rys. 16a)? Jakie były parametry spektralne zastosowanych filtrów oraz długość fali promieniowania laserowego (Rys. 17b)?
2. Brak oznaczeń poszczególnych paneli rysunku 17 (str. 99) oraz błąd symbolu w równaniu nr 1 (str. 105).
3. Brakuje podpisów pod Rys. S4 (str. 113) oraz Rys. S6 (str. 114).

Pragnę w tym miejscu podkreślić, że wymienione powyżej uwagi nie umniejszają w żadnym stopniu wartości naukowej niniejszej rozprawy doktorskiej. Jest rzeczą naturalną, że charakterystyka nowych, dotąd niepoznanych nanomateriałów może być skomplikowana, a otrzymane wyniki wymagają dalszej dyskusji.

Podsumowując, bardzo dobrze oceniam poziom prowadzonych badań naukowych zawartych w niniejszej rozprawie. Pani mgr inż. Anna Pniakowska pokazała, że jest nie tylko wprawnym chemikiem syntetykiem potrafiącym wytwarzać nowe nanomateriały o wysokiej jakości ale jednocześnie nabyła umiejętności ich charakterystyki oraz opisu zachodzących w nich, często złożonych procesów fizykochemicznych. W mojej ocenie Doktorantka udowodniła, iż posiada niezbędne kompetencje do ubiegania się o stopień naukowy doktora.

W związku z powyższym jednoznacznie stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszelkie wymogi zawarte Art. 187 ust. 1 i 2 ustawy *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* z dnia 20 lipca 2018 r. (z późniejszymi zmianami). Wobec powyższego wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne w Politechnice Wrocławskiej o przyjęcie rozprawy doktorskiej oraz dopuszczenie Pani mgr inż. Anny Pniakowskiej do dalszych etapów postępowania.

David Hrbkowi

