

Prof. dr hab. Wiesław Stręk

Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych

Polska Akademia Nauk, Wrocław

### **Recenzja**

**rozprawy doktorskiej mgr. Bartłomieja Sojki**

***„Functionalization and optical investigation of inorganic nanocrystals  
for application in biomedicine”***

Promotorem rozprawy doktorskiej mgr. Bartłomieja Sojki z Wydziału Podstawowych Problemów Techniki jest dr hab. inż. Artur Podhorodecki, prof. Politechniki Wrocławskiej. Tematyka dysertacji doktorskiej jest związana z technologią wytwarzania nieorganicznych nanokrystalicznych materiałów domieszkowanych jonami ziem rzadkich w aspekcie ich zastosowań biomedycznych. Rozprawa liczy 178 str., składa się 7 rozdziałów poprzedzonych spisem używanych skrótów i zakończonych spisem rysunków, tabel i bibliografią, liczącą 91 pozycji.

Rozdział I **”Introduction”** (str. 11-24) składa się z czterech podrozdziałów (Nanomaterials, Nano-imaging, Nanomarkers, Requirements) i przedstawia w zwięzły sposób nanomateriały stosowane w obrazowaniu i wymagania, które muszą efektywnie spełniać w praktycznych zastosowaniach medycznych. Opis ten w dalszej części posłużył w oryginalny sposób do przedstawienia koncepcji rozprawy. Część przedstawionych w pracy wyników została uzyskana w wyniku współpracy z grupami badawczymi biologiczno-medycznymi z Ukrainy i Słowacji i opublikowane w 6 artykułach.

W rozdziale II **”Materials and methods”** (str.25-62) zostały przedstawione w pięciu podrozdziałach (Lanthanide doped nanocrystals, Semiconductor nanocrystals, Experimental details, Structural characterization, Optical measurements) podstawowe informacje dotyczące właściwości strukturalnych, morfologicznych i spektroskopowych nanokryształów domieszkowanych jonami ziem rzadkich. W tej części teoretycznej autor krótko przedstawił model przejść radiacyjnych nanokryształów domieszkowanych jonami ziem rzadkich

oparty na teorii Judd-Ofelta oraz definicje różnych procesów emisji w jonach lantanowców (emisji, transferu energii, dwufotonowych przejść absorpcyjnych).

Autor do swoich badań wybrał dwa rodzaje związków: pierwsza jest oparta na nieorganicznych nanokryształach  $\text{NaLnF}_4$  domieszkowanych jonami  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Gd}^{3+}$ ,  $\text{Er}^{3+}$ ,  $\text{Yb}^{3+}$ , które charakteryzują się niskimi energiami fononów, ograniczając nieradiacyjne przejścia wielofononowe. Drugą grupę związków, którą autor wybrał do badań były półprzewodnikowe nanokryształy  $\text{CdSe/CdS}$  (kropki kwantowe). Dla zbadania możliwości zastosowania tych związków jako znaczników biologiczno-medycznych autor wybrał dwa zjawiska optyczne: luminescencję stokesowska oraz anty-stokesowska up-konwersję.

#### *Uwagi krytyczne*

*Mam wiele zastrzeżeń do tej części rozprawy. Autor pominiął lub przedstawił bardzo zdawkowo informacje o mechanizmach przejściach niepromienistych, przejściach kooperatywnych, transferze energii, wygaszaniu koncentracyjnym i temperaturowym, modelu up-konwersji, chociażby w układzie jonów  $\text{Yb}^{3+}$  i  $\text{Er}^{3+}$ , gdzie nie przedstawił nawet diagramu relaksacji elektronowej.*

Rozdział III "**Functionalization**" (str.63-78) dotyczy opisu różnych metod funkcjonalizacji powierzchni nanokryształów w celu ich zdyspergowania w cieczach poprzez dołączenie do ich powierzchni organicznych związków zmieniających ich hydrofobowość na hydrofilowość. Jest to starannie przedstawiony opis różnych technik chemicznych wraz z procedurami postępowania, które autor zastosował do badanych w pracy nanokryształów.

W rozdziale IV "**RENCs results**" (str. 78-100) zostały przedstawione wyniki badań nanokryształów ziem rzadkich (RENC)  $\text{NaYF}_4:\text{Eu}^{3+}$  i  $\text{NaGdF}_4:\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^{3+}$  ich własności strukturalnych, morfologicznych i spektroskopowych. Badane nanokryształy charakteryzowały się rozmiarami 3-50 nm. Zobrazowane zostały nanokryształy czyste (hydrofobowe) oraz z sfunkcjonalizowanymi powierzchniami (hydrofilowe) uzyskanymi przy pomocy różnych technik, w celu otrzymania informacji o ich efektywnych rozkładach rozmiarów i agregacji. Optyczne własności badanych nanokryształów zostały przedstawione w drugim podrozdziale. Były to widma wzbudzenia i emisji kryształów  $\beta\text{-NaGdF}_4$  domieszkowanych jonami  $\text{Eu}^{3+}$  i  $\text{Tb}^{3+}$ , które w badaniach biologicznych miały pełnić rolę markerów. Autor przedstawił wyniki pomiarów czasów życia luminescencji i analizę kinetyki luminescencji jonów  $\text{Eu}^{3+}$  dla nanocząsteczek o różnej architekturze i trzech rozmiarach W dyskusji nieliniowego charakteru



zaników luminescencji dyskusję oparł na analizie statystycznej MEM (Maximum Entropy Method), uzyskując informacje o czasach życia fluorescencji i powiązał wielkości zmierzonych czasów z rozmiarami i architekturą cząsteczek. W konkluzji stwierdza, że najbardziej optymalnymi dla zastosowań są nanocząteczki o architekturze typu core-shell o dużym rdzeniu i małej koncentracji jonów  $\text{Eu}^{3+}$ .

*Uwagi krytyczne:*

1. *Analiza optycznych własności i kinetyki zaniku luminescencji została potraktowana skąpo - brak przyporządkowania przejść f-f, brak dyskusji transferu energii, brak dyskusji krzywych narostu.*

2. *Analiza dystrybucji czasów życia metodą MEM na Rys. 4.12 jest niedostatecznie objaśniona, co znaczą kolory czerwony i zielony?*

3. *Co to znaczy określenie "ion diffusion to outer" str. 87?*

W podrozdziale IV.2.1 autor przedstawił wyniki badań wpływu funkcjonalizowania powierzchni nanokryształów  $\text{RENC:Eu}$  na podstawie analizy widm i kinetyce procesów luminescencji (Rys. 4.13). Wyróżnił dwie składowe czasów zaniku luminescencji, które przypisał odpowiednio jonom  $\text{Eu}^{3+}$  zlokalizowanym na powierzchni (szybka składowa) bądź w rdzeniu nanocząteczki (długa składowa). Następnie próbował przedyskutować zmianę czasów życia, uwzględniając zmianę efektywnego współczynnika refrakcji  $n$  (efekt rozpuszczalnika).

*Uwagi krytyczne*

*Widma emisji oprócz wąskich przejść charakterystycznych dla jonu  $\text{Eu}^{3+}$  demonstrują także szerokie pasmo z maksimum przy 520 nm. Niestety autor pominął w dyskusji jego naturę.*

W podrozdziale IV.2.2 autor przedstawił krótko wyniki badań dot. wpływu funkcjonalizowania powierzchni nanokryształów  $\text{NaGdF}_4:\text{Er}^{3+}, \text{Yb}^3$  wykazujących zjawisko up-konwersji pod wpływem wzbudzenia laserem podczerwonym o długości fali 975 nm. W zasadzie skoncentrował się na dyskusji stosunku intensywności przejść jonu  $\text{Er}^{3+}$  - pasma czerwonego R do pasma zielonego G. Na rys. 4.17 przedstawił krzywe zaniku luminescencji zmierzonych dla pasma czerwonego i zielonego.

Autor podjął się także dyskusji zmian efektywnego czasu zaniku luminescencji pod wpływem rozpuszczalnika (eter, n-heksan, cykloheksan, chloroform, toluen, benzen) zmierzonych dla nanokryształów o odwróconej strukturze (inverted core-shell). Nie zaobserwował istotnej korelacji między współczynnikami refrakcji  $n$  i czasami życia fotoluminescencji.

#### *Uwagi krytyczne*

- 1. Przejścia emisyjne jonu  $Er^{3+}$  powinny być precyzyjnie zdefiniowane.*
- 2. Na rys. 4.17 wyznaczone czasy zaniku luminescencji są stanowczo za duże (185.44 ms, 347,83 ms,...?) - to nie są milisekundy.*
- 3. Podpis na rys. 4.18 jest raczej błędny: "...406 (black) powinno być (blue), 536 (red) powinno być (green), 650 nm (blue) powinno być (red)...".*

W kolejnym podrozdziale IV.3 autor przedstawił wyniki badań stabilności pH w czasie oraz stabilności optycznej sfunkcjonalizowanych nanokryształów.

Uzyskane wyniki dla poszczególnych badanych hydrofilowych nanokryształów zostały podsumowane w podrozdziale IV.4 w tabeli 4.4.

W rozdziale V "**SNCs results**" (str.79-110) autor przedstawił wyniki badań półprzewodnikowych nanokryształów CdSe/CdS hydrofobowych i hydrofilowych w aspekcie ich własności strukturalnych i spektroskopowych. Ponadto zbadał ich stabilność w czasie przez pomiar pH w wodzie. Autor nie poddał nanokryształów SNC dalszym badaniom w aspekcie biologiczno-medycznym, tym nie mniej zaproponował kilka rekomendacji dla ich zastosowania.

W rozdziale VI zatytułowanym „**Toxicology and application**” (str.111 -150) autor przedstawił wyniki badań w aspekcie immunotoksyczności i neurotoksyczności hydrofobowych i hydrofilizowanych nanokryształów RENC. W szczególności proliferacji limfocytów, uwalniania aktywnych form tlenu i aktywności fagocytalnej. Autor uzyskał szereg bardzo wartościowych wyników przeprowadzonych w warunkach *in vitro* i *ex vivo* dla komórek nowotworowych.

W rozdziale VII zatytułowanym "**Chapters Summary**" (str. 151-162) autor podsumował w siedmiu podrozdziałach swoje osiągnięcia przedstawione w rozprawie, dotyczące opisu procedur chemicznych, funkcjonalizacji, własności nanokryształów RENC oraz kropek kwantowych SNC, charakteryzacji



toksykologicznej i bio-obrazowania, końcowych wniosków i perspektyw badawczych związanych z zastosowaniem nanokryształów w medycynie.

## **Podsumowanie**

Rozprawa doktorska ma charakter interdyscyplinarny składa się zasadniczo z dwóch części: I-szej fizyko-chemicznej i II-jej biologiczno-medycznej. Odnoszę wrażenie, że pierwsza część była wstępem do drugiej, zasadniczej części rozprawy. Tematyka pracy jest aktualna i mieści się w ważnym nurcie nanotechnologii medycznej.

W I-szej części autor opisał raczej standardowe procedury syntezy nanokryształów, które zamierzał zastosować w części drugiej rozprawy do badania ich toksykologicznych własności oraz jako markerów biomedycznych. Do badań wybrał dwa rodzaje nanokryształów: nieorganiczne nanokryształy typu  $\text{NaGd(Y)F}_4$  domieszkowanych jonami ziem rzadkich oraz półprzewodnikowe nanokryształy w postaci kropek kwantowych typu  $\text{CdSe/CdS}$ . Autor w ciekawy sposób opisał etapy syntezy, charakteryzacji strukturalnej, morfologicznej i optycznej, funkcjonalizacji powierzchni, biofunkcjonalności oraz testy stabilności w mediach symulujących otoczenie biologiczne.

W II-jej części rozprawy autor opisał wyniki doświadczeń dotyczących zastosowania nanokryształów w medycynie. W tym celu przeprowadził kompleksowe badania w celu określenia warunków efektywnej biokoniugacji w powiązaniu z immunotoksycznością. Przeprowadzone badania we współpracy z jednostkami medycznymi wykazały duży potencjał aplikacyjny, szczególnie dla wizualizacji nowotworów w eksperymentach *ex vivo*.

Rozprawa doktorska mgr. B. Sojki jest napisana w języku angielskim w formie małej monografii, bogato zilustrowana, z interesującym źródłem przypisów literaturowych. Tym nie mniej mam sporo uwag do redakcyjnej formy, zbyt wiele pustych stron.

Wyniki badań przedstawione w rozprawie mgr. B. Sojki zostały opublikowane w 6 pracach w czasopiśmie o wysokim IF. W czterech był pierwszym autorem. Ponadto jest współautorem zgłoszenia patentowego i europejskiego patentu.

Pomijając kilka uwag krytycznych rozprawę doktorską oceniam pozytywnie. Reasumując, stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska mgr. Bartłomieja Sojki spełnia wymogi ustawowe określone w art. 13 ustawy z dnia 14.03.2003r.

“O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” (Dz. U. nr 65/03, poz. 595) oraz w rozporządzeniu Ministra Edukacji Narodowej i Sportu z dnia 30.10.2015r. w sprawie szczegółowego trybu prowadzenia czynności w przewodach doktorskim i habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz. U. 2016, poz. 1586) i wnoszę o dopuszczenie mgr. Bartłomieja Sojki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wrocław, dn. 11.02.2018

Prof. dr hab.  Wiesław Stręk