



prof. dr hab.  
Wiesław Wiczek  
Wydział Chemii UG

Gdańsk, 30.01.2015

Recenzja pracy doktorskiej mgra Dawida Jankowskiego

pt. "Badanie właściwości fotofizycznych wzmocnionej emisji fluoroforów sprzężonej z plazmonami powierzchniowymi metali w układach jedno- i dwuskładnikowych" wykonana w Zakładzie Spektroskopii Molekularnej, Instytutu Fizyki Doświadczalnej, Wydziału Matematyki, Fizyki i Informatyki UG pod kierunkiem prof. Piotra Bojarskiego

Początek badań nad fluorescencją sięga połowy 19-wieku i związany jest z badaniami Herschela i Stokesa. Natomiast zastosowanie fluorescencji w badaniach biologicznych zaczęło się od pionierskich prac Webera w połowie 20-wieku. Przez blisko 150 lat badania fluorescencyjne prowadzone były w układach makroskopowych, w porównaniu do rozmiaru fluoroforów (co najmniej kilka długości fali), czyli w warunkach tzw. dalekiego pola. W ostatnich latach obserwuje się duże zainteresowanie oddziaływaniami fluoroforu z cienką powierzchnią metaliczną lub nanostrukturami metalicznymi. Zastosowanie nanostruktur plazmonicznych zainicjowało zasadniczą zmianę w pomiarach fluorescencyjnych. Umożliwia to badania w zakresie „bliskiego pola” w których wzbudzony fluorofor występuje w odległości od źródła fali elektromagnetycznej porównywalnej z długością fali świetlnej. Oddziaływanie bliskiego pola wzbudzonej cząsteczki fluoroforu z chmurą elektronową obecną w metalu znacząco zmienia właściwości spektralne fluoroforu. Efekt bliskiego pola, pozwala w pewnym zakresie, na kontrolę procesu wzbudzenia i emisji oraz kontrolę przestrzennego rozkładu emitowanego promieniowania. Wzmocniona, kierunkowa emisja fluoroforów ulokowanych w pobliżu cienkich warstw metalicznych lub nanostruktur metalicznych jest intensywnie badana i stwarza możliwość zastosowania układów wieloskładnikowych w analizie biochemicznej i chemicznej. Pomimo jej wielorakich potencjalnych zastosowań,



UNIWERSYTET GDAŃSKI



istnieje wiele zagadnień, chociażby przeniesienia energii wzbudzenia elektronowego w układach dwu- i wieloskładnikowych, których opis teoretyczny jest niewystarczający.

Precyzyjne pomiary różnych wielkości fotofizycznych przeprowadzonych w tych samych warunkach pozwolą na usystematyzowanie wiedzy, jak i na weryfikacje teoretycznego opisu badanych zjawisk.

W tym kontekście temat pracy doktorskiej mgra Jankowskiego jest aktualny i ważny.

Autor rozprawy postawił sobie bowiem za główny cel konstrukcję uniwersalnego i unikalnego stanowiska pomiarowego do badania zjawiska kierunkowej emisji zachodzącej przy udziale plazmonów powierzchniowych, płaskich filmów metalicznych. Uniwersalność skonstruowanej aparatury związana jest z szerokim wachlarzem metod pomiarowych umożliwiającymi pomiary:

- a/ widm emisji fluoroforów rozdzielonych kątowno,
- b/ rozkładów natężenia emisji w wybranym kącie,
- c/ zaników natężenia fluorescencji w czasie.

Unikalność zaś wynika z możliwości przeprowadzenia powyżej wymienionych pomiarów na jednym stanowisku pomiarowym z zapewnieniem tych samych warunków przeprowadzenia eksperymentu. Dodatkową zaletą skonstruowanej aparatury jest możliwość pomiaru widm rezonansu plazmonowego.

Z lektury rozprawy jednoznacznie wynika, iż Autor w pełni osiągnął postawione przed sobą cele. Zbudował zautomatyzowany układ pomiarowy cechujący się dużą dokładnością, za pomocą którego wykonał szereg wartościowych pomiarów. Warto tu podkreślić, że część uzyskanych tą drogą wyników dotyczących rodaminy i jej dimeryzacji w warstwie krzemionki została opublikowana w bardzo dobrych czasopiśmie naukowych (J. Chem. Phys. Lett, ChemPhysChem). Dodatkową zaletą tej aparatury jest możliwość pomiarów rezonansu powierzchniowego, co w połączeniu z komercyjnym oprogramowaniem do projektowania oraz analizy zachowania się fali elektromagnetycznej na granicy cienkich filmów (TFCalc) pozwoliło Autorowi na precyzyjne wyznaczanie grubości warstwy dielektryka. Zgadzam się z Autorem, iż (cytuje): „Pełna automatyzacja pomiarów SPCE, SPR, F-SE, zaników natężenia emisji po stronie próbki i po stronie pryzmatu, a także fotowybielania, wykonywanych na jednym stanowisku aparaturowym w tych samych warunkach i z tego samego obszaru

WYDZIAŁ CHEMII

ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

tel. (58) 523 52 77, fax (58) 523 50 12, email: wieslaw.wiczka@ug.edu.pl



UNIwersytet GDAŃSKI



próbki dla konfiguracji KR i RK, pozwala na zgromadzenie dużej ilości danych, a tym samym jeszcze większej ilości porównań odsłaniających ukryte dla mniej precyzyjnych badań zależności. Złożoność i precyzyjność układu pomiarowego, a co za tym idzie dokładność otrzymanych wyników, gęstość punktów pomiarowych, pozwala na głębszą analizę badanych zagadnień i daje możliwość uzyskania informacji niedostępnych przy wykorzystaniu klasycznych metod pomiarowych stosowanych w eksperymentach spektroskopowych” (koniec cytatu). Sadzę, iż dołączenie kuwety przepływowej uczyni z tej części aparatury w pełni funkcjonalną część do badań oddziaływań receptor-ligand szeroko stosowanych w biologii molekularnej, o jakości porównywalnej z komercyjnie dostępną aparaturą SPR. Doktorant powinien zastanowić się nad możliwością komercjalizacji zbudowanej przez siebie aparatury, która wymagałaby tylko niewielkich modyfikacji.

#### Ocena formalna rozprawy.

Praca ma układ zgodny z ogólnie przyjętym dla prac z zakresu nauk ścisłych i obejmuje wraz z dodatkami 188 stron. Podzielona jest na 4 rozdziały oraz spis literatury (272 pozycje wraz z tytułami), wykaz najczęściej używanych oznaczeń, streszczenie w języku angielskim oraz dwa dodatki dotyczące oprogramowania sterującego aparaturą napisanego w środowisku LabView.

Rozdział pierwszy obejmuje wstęp i cel pracy przedstawiony na trzech stronach.

Należy stwierdzić pewien dysonans pomiędzy jasno przedstawionym celem pracy i tytułem rozprawy. Cel to budowa aparatury, natomiast tytuł rozprawy sugeruje badanie właściwości fotofizycznych wzmocnionej emisji fluoroforów. Dopiero na str. 92 pojawia się zdanie, iż jako jeden z celów wybrano analizę czasowo-rozdzielczą emisji w cienkich warstwach PVA w obecności i nieobecności platform plazmonicznych, jednak czas zaniku emisji jest tylko jednym z parametrów opisujących fotofizykę molekuł. Moim zdaniem należałoby rozwinąć cel rozprawy lub zmodyfikować jej tytuł.

Następny rozdział zatytułowany „Wprowadzenie w zagadnienie oddziaływań plazmonów powierzchniowych z fluoroforami” liczy 22 strony i zawiera podstawowe informacje dotyczące oddziaływań plazmonów powierzchniowych z fluoroforami oraz transferu energii wzbudzenia elektronowego w obecności plazmonów. Przedstawiony w tej części dysertacji materiał świadczy o umiejętności dokonania trafnego wyboru przez Autora, z

#### WYDZIAŁ CHEMII

ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk  
tel. (58) 523 52 77, fax (58) 523 50 12, email: wieslaw.wiczka@ug.edu.pl



UNIwersytet GDAŃSKI



obszernej literatury przedmiotu, ważnych, istotnych publikacji, oraz ich syntetycznego przedstawienia.

Najbardziej obszerny, liczący 122 strony jest rozdział trzeci zatytułowany „Część doświadczalna”. Składa się on z pięciu podpunktów. Podpunkt „Aparatura i metody pomiarowe” zawiera opis aparatury pomocniczej użytej do realizacji zagadnień rozprawy oraz elementów optycznych i źródeł promieniowania zastosowanych do budowy aparatu. W podpunkcie drugim wymienione są zastosowane w badaniach fluorofory charakteryzujące się zróżnicowanymi widmami absorpcji i emisji oraz czasami zaniku intensywności fluorescencji: jodek 3,3'-dietylotiocyaniny, jodek 3,3'-dietylooksadikarbocyaniny oraz rodamina 110. Ponadto obejmuje on opis preparatyki cienkich warstw PVA o różnej grubości, zawierających wymienione wyżej barwniki o odpowiednich stężeniach. W następnym podpunkcie znajdujemy opis wyznaczania parametrów cienkich warstw PVA osadzanych na podkładzie szkło BK7/Cr (3nm)/Ag (50 nm)/SiO<sub>2</sub> (5 nm) z zastosowaniem elipsometrii, mikroskopu sił atomowych (AFM) oraz metody SPR. Kolejny podrozdział poświęcony jest zjawisku kierunkowej emisji w układach zawierających jeden fluorofor. Opisane zostały w nim wyniki kalibracji urządzenia z wykorzystaniem podanych wcześniej barwników, natężenia emisji w funkcji kąta obserwacji w zakresie od 0 do 180 stopni dla różnych długości fali emisji przy wzbudzeniu w konfiguracji Kretschmanna i odwrotnej konfiguracji Kretschmanna. Ów podrozdział zawiera także badania fotostabilności stosowanych barwników, pomiary widm emisji dla różnych kątów obserwacji, wpływ rodzaju metalicznego podkładu oraz grubości warstwy dielektryka (PVA) na zjawisko kierunkowej emisji, efekt wzmacniania emisji fluoroforów od metalu oraz wpływ obecności nanowarstw metalicznych na szybkość zaniku intensywności fluorescencji. Otrzymane wyniki zostały przedstawione w formie graficznej na licznych rysunkach i szczegółowo przeanalizowane. Zdaniem recenzenta Autor zbyt szczegółowo pragnął opisać otrzymane przez siebie rezultaty pomiarów. Biorąc pod uwagę, iż identyczne pomiary wykonane zostały dla trzech fluoroforów można byłoby pokusić się o pewne uogólnienia, co zmniejszyłoby objętość rozprawy ułatwiając jej lekturę, bez uszczerbku na jej wartości merytorycznej. Ostatni z podrozdziałów części doświadczalnej dotyczy bezpromienistego przekazu energii

**WYDZIAŁ CHEMII**

ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

tel. (58) 523 52 77, fax (58) 523 50 12, email: wieslaw.wiczka@ug.edu.pl



UNIWERSYTET GDAŃSKI



wzbudzenia elektronowego w obecności płaskich filmów metalicznych dla układów donor–akceptor DTTHCI-rodamina 110, DTTHCI-DODCI oraz układów trójskładnikowych donor-mediator-akceptor: DTTHCI-rodamina 110-DODCI na podkładach srebrnych i złotych, dla różnej grubości warstwy dielektryka i stężeń akceptora. W kontekście tych układów zbadane zostały rozkłady emisji w funkcji kąta obserwacji dla długości fali odpowiadającej emisji donora i akceptora oraz czasy zaniku intensywności fluorescencji dla donora i akceptora energii. Otrzymane wyniki z pomiarów SPCE zostały przedyskutowane w połączeniu ze stacjonarnymi widmami fluorescencji badanych układów. Wykonane pomiary wykazały, iż obserwowane zależności są wynikiem procesu oddziaływań z plazmonami oraz obecności powierzchni odbijającej, a dla cienkich warstw dielektryka zachodzi konkurencja pomiędzy przekazem energii donor-akceptor i przekazem energii do metalu. Uzyskane wyniki potwierdzają skomplikowany mechanizm transferu energii wzbudzenia elektronowego w obecności plazmonu powierzchniowego, a jednocześnie potwierdzają konieczność budowy precyzyjnej aparatury w celu uzyskania dużej ilości dobrej jakości danych pozwalających na sformułowanie rozsądnej teorii.

Różnorodność wykonanych pomiarów oraz skrupulatna analiza uzyskanych wyników świadczą o dużej wiedzy Autora i bardzo dobrym przygotowaniu do prowadzenia tego typu prac badawczych. Uzyskane przez Autora wyniki stanowią istotny wkład do poznania skomplikowanych procesów związanych ze wzmocnioną emisją fluoroforów sprzężonych z plazmonami powierzchniowymi, jak również z przeniesieniem energii wzbudzenia elektronowego w obecności plazmonu powierzchniowego.

Recenzowaną rozprawę czyta się z zainteresowaniem. Wpływa na to nie tylko bardzo staranna szata graficzna, z czytelnymi rysunkami, ale przede wszystkim interesujące, szczegółowo przedyskutowane relacje zachodzące w badanych układach.

Dwustronicowe podsumowanie i wnioski końcowe stanowią zakończenie rozprawy doktorskiej.

Niestety, ta interesująca i bogata eksperymentalnie rozprawa ma również wady. Z przykrością muszę odnotować, że jest w niej dużo błędów stylistycznych i określeń żargonowych. Rozprawa sprawia wrażenie, że została przygotowana w pośpiechu i Autor nie poświęcił wystarczającej ilości czasu na jej korektę. Trudno byłoby przytoczyć wszystkie niepoprawne wyrażenia czy błędy edytorskie. Ze względu na to, iż nie mają

WYDZIAŁ CHEMII

ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

tel. (58) 523 52 77, fax (58) 523 50 12, email: wieslaw.wiczka@ug.edu.pl



UNIWERSYTET GDAŃSKI



one wpływu na ogólną ocenę merytoryczną wartości rozprawy nie będę ich wymieniał. Na plus rozprawy zaliczyć trzeba natomiast czytelne i starannie wykonane ilustracje i rysunki, a jest ich w rozprawie sporo (około 120, w tym wiele złożonych z kilku rysunków).

Doktorant ma wszelkie cechy dobrego badacza. Zrealizowanie z nawiązką celów pracy wymagało od Niego wszechstronnych umiejętności. Mgr Jankowski wykazał się dobrą znajomością wielu metod eksperymentalnych. Dla przeprowadzenia wnikliwej i krytycznej analizy otrzymanych wyników niezbędna była wiedza z różnych dziedzin z pogranicza fizyki, chemii i informatyki. W każdym z tych obszarów badawczych doktorant potwierdził swoje kompetencje. Część wyników otrzymanych za pomocą zbudowanej przez niego aparatury została opublikowana w bardzo dobrych czasopismach naukowych.

W oparciu o wyrażoną powyżej opinię stwierdzam, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgra Dawida Jankowskiego spełnia ustawowe (ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz.U. 2003 nr 65 poz. 595, z późn. zm.) oraz Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października 2014 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. 2014 poz. 1383)) i zwyczajowe wymagania stawiane rozprawom doktorskim i stawiam wniosek o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie kandydata do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

*Wiesław Wiczek*

WYDZIAŁ CHEMII

ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

tel. (58) 523 52 77, fax (58) 523 50 12, email: wieslaw.wiczek@ug.edu.pl