



dr hab. Małgorzata GUZIK
e-mail: malgorzata.guzik@uwr.edu.pl
Tel. +48 71 3757373

Wrocław, 4 grudnia 2023 r.

RECENZJA PRACY DOKTORSKIEJ

Pani mgr Natalii JURGI

pt. „Surface modification and functionalization of upconverting nanoparticles and their biological studies”

Wykonanej na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. Tomasza GRZYBA

Przedstawiona do recenzji dysertacja została przygotowana w języku angielskim w formie spójnego tematycznie cyklu czterech artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych z Listy Filadelfijskiej, co jest zgodne z obowiązującą ustawą o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

Praca podejmuje aktualnie bardzo atrakcyjny i bardzo intensywnie badany przez wiele grup na świecie temat dotyczący aktywowanych jonami lantanowców nanomateriałów wykazujących zjawisko konwersji energii fotonów w górę (ang. upconversion). Ich wyjątkowe właściwości spektroskopowe w połączeniu z możliwością rozpuszczania ich w wodzie pozwalają na wykorzystanie w zaawansowanej biomedycynie. Najczęściej badane nanocząstki konwertujące energię w górę są oparte o fluorki metali ziem rzadkich ze względu na ich niską energię fononów, wydają luminescencję oraz dobrą stabilność chemiczną. Powszechnie bardzo popularne jest także pokrywanie nanocząstek dodatkową powłoką w celu zwiększenia intensywności ich luminescencji tworząc tzw. układy rdzeń/powłoka (ang. core/shell). Najbardziej efektywną metodą syntezy wysokiej jakości nanocząstek typu rdzeń/powłoka jest wytrącanie w rozpuszczalnikach o wysokiej temperaturze wrzenia. Zsyntetyzowane tą metodą nanocząstki mają na swojej powierzchni organiczne ligandy, przez co wymagają dodatkowej modyfikacji, aby stały się hydrofilowe. Jednym z najprostszych sposobów przeniesienia nanocząstek z fazy organicznej do wody jest protonowanie ligandów organicznych silnym kwasem, co skutkuje usunięciem ich z powierzchni. Pozbawione ligandów nanocząstki tworzą koloidy, które utrzymują swoją stabilność w wodzie przez kilka miesięcy. Tak zmodyfikowane nanocząstki mogą być stosowane w medycynie jako biosensory, czujniki termiczne i chemiczne oraz znaczniki w testach immunologicznych do wykrywania markerów chorobowych.

Celem niniejszej pracy doktorskiej była synteza nanocząstek typu rdzeń/powłoka konwertujących energię fotonów w górę, modyfikacja i funkcjonalizacja ich powierzchni oraz zbadanie ich potencjalnego zastosowania, ukierunkowanego na biologię oraz medycynę.

Autorka z powodzeniem zrealizowała wyznaczone cele badawcze. Zebrane prace tworzące jednotematyczną całość zostały opublikowane w cieszących się wysoką renomą recenzowanych czasopismach anglojęzycznych z Listy Filadelfijskiej



o zasięgu międzynarodowym i wysokim współczynniku oddziaływania takich jak: Journal of Colloid and Interface Science (IF = 9.965) 2 artykuły, Scientific Reports (IF = 5.516) oraz Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy (IF = 4.4). Sumaryczny IF dla tych 4 publikacji wynosi 30 czyli średnio na jedną publikację IF = 7.46. Prace te zostały ocenione przez specjalistów przed ich ogłoszeniem drukiem. Ja chciałabym skupić się natomiast wyrażeniu mojej opinii odnoszącej się do wkładu Doktorantki we wspólnie wykonanych badaniach, opracowaniu uzyskanych rezultatów oraz stworzeniu opublikowanych artykułów naukowych. W trzech z czterech prac stanowiących osiągnięcie Doktorantka jest pierwszym autorem, w jednej drugim współautorem. Wszystkie prace są wieloautorskie. W dysertacji zostały załączone oświadczenia współautorów, na podstawie których mogę wyciągnąć wniosek o dominującej roli Doktorantki w powstawaniu publikacji stanowiących osiągnięcie. Deklaracje Autorki wskazują na Jej ogromną samodzielność i imponujący wkład pracy Doktorantki polegający na: przeprowadzaniu prac syntetycznych obejmujących te nad modyfikacją i funkcjonalizacją wszystkich nanostruktur, ich systematycznej charakterystyce strukturalnej i morfologicznej oraz fizykochemicznej, a w następnej kolejności przeprowadzeniu szeregu pomiarów. Autorka także przeprowadziła analizę i interpretację otrzymanych wyników, jak również przygotowała rysunki i teksty manuskryptów. Rozprawa prezentuje znakomity poziom naukowy.

Dysertacja liczy 165 stron, z czego przewodnik jest zamieszczony na 81 stronach, a pozostałą część tworzą kopie publikacji wchodzące w skład osiągnięcia wraz z materiałami uzupełniającymi. Zamieszczone na początku pracy bardzo profesjonalnie przygotowane streszczenia w języku angielskim i polskim pozwalają czytelnikowi w szybki i łatwy sposób zapoznać się z zawartością dysertacji. W krótkim opisie Autorka przedstawiła motywację dotyczącą wybranych materiałów oraz w przejrzysty sposób wyjaśniła celowość podjętych prac badawczych. Następnie można uzyskać informację o bogatym dorobku naukowym Doktorantki. Ta część pracy zawiera wykaz wszystkich publikacji, z wyróżnieniem tych, które są przedmiotem pracy doktorskiej, wykaz wystąpień konferencyjnych, odbytych staży, otrzymanych nagród oraz informacje o udziale Doktorantki w projektach naukowych.

W kolejnej części pracy nakreślone zostały cele podjętych i zrealizowanych badań tj.:

- Synteza nanocząstek typu rdzeń/powłoka domieszkowanych jonami Ln^{3+} , wykazujących zjawisko konwersji energii fotonów w górę i w efekcie intensywną luminescencję pod wpływem naświetlenia promieniowaniem z obszaru NIR. Najważniejszym elementem była także modyfikacja i funkcjonalizacja ich powierzchni aby były czyniąc je wysoce stabilne w roztworze wodnym, a w kolejnym etapie zbadanie ich właściwości pod kątem potencjalnego zastosowania, ukierunkowanego na biologię oraz medycynę. Do badań wykorzystano głównie nanocząstki, które mogą zostać wzbudzone w zakresie twz. okien biologicznych co gwarantuje uzyskanie lepszego kontrastu, większej możliwości penetracji tkanek a także uniknięcie zjawiska autofluorescencji. W celu osiągnięcia jak najlepszych rezultatów biokompatybilności, zostały przeprowadzone precyzyjne analizy wpływu modyfikacji powierzchni nanocząstek na ich fundamentalne właściwości. Nanocząstki oparte na matrycach fluorków sodowo-itrowych aktywowane były jonami Yb^{3+} i Er^{3+} lub Yb^{3+} i Tm^{3+} , gdzie jony Yb^{3+} pełniły rolę uczulacza natomiast Er^{3+} lub Tm^{3+} aktywatora luminescencji.
- Opracowanie zoptymalizowanych procedur syntezy, w celu uzyskania pożądanego rozmiaru, morfologii i zwiększenia obserwowanej luminescencji nanomateriałów wraz ze



szczegółową analizą wszystkich zsyntetyzowanych i zmodyfikowanych nanocząstek pod kątem struktury, morfologii, rozmiaru i właściwości luminescencyjnych.

- Zaprojektowanie metody modyfikacji tak, aby nadały materiałowi właściwości hydrofilowe bez zmiany ich właściwości fizycznych i chemicznych, co umożliwi późniejszą biokoniuagację białek.
- Sprawdzenie możliwości wykorzystania niektórych z przygotowanych nanocząstek w biomedycynie do:
 - Wykrywania temperatury poprzez pomiar ich właściwości termoczułych.
 - Generowania tlenu singletowego, co pozwala na ich późniejsze wykorzystanie w terapii fotodynamicznej.
 - Wykrywania nukleoproteiny SARS-CoV-2 przy użyciu wysoce czułego testu immunosorbcyjnego związanego z upkonwersją.
 - Określenie głębokości penetracji ludzkiej krwi przez lasery o długości fal 808, 975, 1208 i 1532 nm wraz z wyznaczeniem grubości warstwy krwi umożliwiającej obserwację sygnału luminescencyjnego nanocząstek. Zaprojektowanie układu do określenia tych właściwości w celu zmniejszenia błędów w badaniach początkowych w testach na zwierzętach.

Kolejno w dysertacji następuje zwięzły wstęp teoretyczny, w którym Pani mgr Natalia JURGA pozwala zapoznać się czytelników z nanomateriałami, lantanowcami i ich fizykochemicznymi właściwościami, zjawiskiem i mechanizmami konwersji w górę oraz materiałami wykazującymi to zjawisko. W tej części w opisie teoretycznym zjawiska konwersji w górę mogłyby się znaleźć dwa diagramy obrazujące transfery energii, które zachodzą dla par jonów (Yb^{3+} , Er^{3+} i Yb^{3+} , Tm^{3+}) wybranych przez Autorkę do badań w dysertacji. W mojej ocenie zabrakło także krótkiego podrozdziału zawierającego opisy struktur związków wykorzystanych w pracy jako sieci macierzyste. W ramach pracy została przebadana obszerna grupa materiałów, krystalizujących w różnych układach krystalograficznych i moim zdaniem takie zestawienie, zawierające zebrane informacje o promieniach jonowych dla różnych koordynacji kluczowych pierwiastków, o których mowa w pracy bardzo ułatwiło by lekturę. Przypuszczam, że Autorka założyła, że wybrane matryce są bardzo dobrze znane, bowiem są obszernie raportowane w literaturze. Jednak myślę, że warto było pokusić się o przypomnienie czytelnikom dysertacji, które jony są podstawiane domieszkami aktywnymi, jakie są promienie jonowe aktywatorów wprowadzanych do poszczególnych matryc i jak ich wprowadzanie skutkuje zmianami w strukturze, co ma bezpośrednio wpływ na właściwości spektroskopowe. Proszę zatem Autorkę o zwięzłe przedstawienie właściwości strukturalnych przebadanych materiałów.

Dalej Pani mgr JURGA sporo uwagi poświęca opisaniu metod syntezy nanomateriałów wykazujących konwersję energii w górę, oraz modyfikacji i funkcjonalizacji ich powierzchni, co stanowi główny przedmiot badań w dysertacji. W części teoretycznej czytelnik znajdzie także informacje o możliwościach potencjalnych zastosowań w biologii i medycynie oraz toksyczności. Przed przejściem do części opisującej otrzymane wyniki Autorka zwięzle opisuje metody użyte do charakterystyki fizyko-chemicznej otrzymanych materiałów, które obejmowały: badania strukturalne przy użyciu proszkowej dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego, badania zawartości metali w otrzymanych nanomateriałach metodą ICP-OES, analizę termogravimetryczną (TGA), badania morfologii i rozmiaru ziaren z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej TEM wraz z analizą składu pierwiastkowego przy



pomocy EDX, metodę hydrodynamiczną DLS wraz badaniem potencjału zeta, metody spektroskopowe przy użyciu spektroskopii FT-IR oraz spektroskopii luminescencyjnej obejmującej pomiary widma emisji, czasów zaniku luminescencji (w tym w różnych temperaturach), a także pomiary wydajności kwantowych. Brak jednak informacji w jakim zakresie temperatur były prowadzone badania. Pewien niedosyt czuję z powodu braku opisu metod, które były użyte do zbadania otrzymanych nanomateriałów pod kątem ich biologicznego zastosowania. Myślę, że taki krótki opis byłby w tym miejscu przydatny. W tym miejscu wg. mnie zabrakło także krótkiego zestawienia materiałów, które były przedmiotem badań objętych dysertacją. Oczywiście te informacje można znaleźć w załączonych publikacjach, ale takie zestawienie w postaci tabeli w przejrzysty sposób mogło by uwidocznic ilość związków objętą badaniami do zrealizowania wytyczonego celu.

Rozdział 3 - Experimental part raczej powinien mieć tytuł Wyniki i dyskusja. W tym miejscu bowiem rozpoczyna się bardzo zwięzły rzeczowy opis wyników otrzymanych w trakcie realizacji pracy doktorskiej, będących przedmiotem 4 publikacji, których kopie zostały kolejno zamieszczone w dysertacji. Po tej części następuje podsumowanie zbierające wypunktowane najważniejsze osiągnięcia. Dyplomantka przygotowując się do prowadzenia badań oraz opracowując uzyskane wyniki korzystała z aktualnej literatury, której spis zawierający 145 pozycje został zamieszczony w rozdziale 5. Zakres źródeł literaturowych oraz ich dobór został wykonany poprawnie. Spis jest zrobiony bardzo starannie. Jednak w bardzo wielu przypadkach Autorka przytacza tylko pierwszego autora nie podając pozostałych nazwisk, w zamian pisząc et al. Sugeruję Pani Natalii, aby w przyszłości cytując odnośniki literaturowe pokusiła się o podawanie wszystkich współautorów, bowiem to szybko dostarcza czytelnikowi pełnej informacji bez konieczności szukania w publikacjach.

Zakończenie dysertacji stanowią deklaracje Autorki oraz wszystkich współautorów o ich osobistym udziale w prowadzonych badaniach.

Poziom edytorski pracy jest wysoki, wykonane rysunki są bardzo przejrzyste. Dobrze opracowane i omówione wyniki świadczą o zaangażowaniu Autorki w swoją pracę badawczą oraz o Jej dojrzałości naukowej, która przejawia się umiejętnościami zaprezentowania wyników swojej pracy w sposób interesujący i przekonywujący. Praca przygotowana jest w sposób bardzo przemyślany, przejrzysty i staranny, co sprawia, że czyta się ją naprawdę z przyjemnością. Napisana jest bardzo poprawnym fachowym językiem, nie znalazłam w niej błędów edytorskich. Myślę też, że na początku pracy mógł zostać zamieszczony spis użytych w pracy skrótów, co ułatwiłoby lekturę, jednak uwagi te nie wpływają w żaden sposób na bardzo dobry odbiór pracy.

Jak można wywnioskować wszystkie prace nad modyfikacją powierzchni i pomiary zostały przeprowadzone przez Autorkę samodzielnie, co świadczy o Jej bardzo dobrych umiejętnościach eksperymentalnych. Z kolei umiejętność wykorzystania zdobytej wiedzy teoretycznej do interpretacji otrzymanych wyników przekłada się na ich poprawną i bardzo dojrzałą dyskusję. Chciałabym zwrócić uwagę, że publikacje wchodzące w skład dysertacji są rozbudowane i poruszają wiele ważnych aspektów. Przedstawiona do oceny dysertacja zawiera bardzo dużo obiecujących i ważnych wyników wnoszących wkład w rozwój dziedziny i tematycznie doskonale wpisuje się w prowadzone na świecie aktualnie badania. Otrzymane bardzo wartościowe rezultaty, stanowiące elementy nowości naukowej wnoszą wiedzę podstawową jak i aplikacyjną. Będą one niezwykle przydatne do dalszych badań dla zastosowań nanometrycznych luminoforów, w szczególności do aplikacji w biomedycynie.



Przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej badania są niezwykle ważne i pragnę podkreślić, że przedstawioną do oceny pracę oceniam bardzo wysoko.

Jako, że obowiązkiem recenzenta jest wskazanie ewentualnych potknięć czy kwestii dyskusyjnych pozwolę sobie poruszyć kilka aspektów:

- Moją uwagę przykuwa brak, zarówno w dwóch pierwszych publikacjach jak i w dysertacji, podanych koncentracji jonów aktywatorów (taka informacja pojawia się tylko w materiałach uzupełniających dla P1). Czym to było spowodowane i jakie były koncentracje aktywatorów w materiałach wykorzystywanych do optymalizacji syntez. Jest to bardzo istotna informacja i bardzo proszę Autorkę o ustosunkowanie się do mojej uwagi.
- Do wszystkich przeprowadzonych syntez Dyplomantka użyła tlenku iterbu o czystości 99.99% firmy Stanford. Niestety odczynniki pochodzące z tej firmy nie cieszą się dobrą jakością. Chodzi tu o ich czystość chemiczną. Doświadczenie pokazuje, że odczynnik o czystości 99.99% zawiera spore domieszki jonów Er^{3+} i Tm^{3+} . Wykonana przez Doktorantkę analiza elementarna metodą ICP-OES dla otrzymanych związków wykazała niższe zawartości jonów Yb^{3+} i Er^{3+} w układach domieszkowanych tymi jonami, niż zakładano. A czy brała Pani pod uwagę przeprowadzenie analizy na obecności ewentualnych zanieczyszczeń jonami Tm^{3+} . Być może można by tu wykorzystać także technikę EDX? Powszechnie wiadomym jest, że te jony Er^{3+} i Tm^{3+} występują bardzo często w dostępnych na rynku solach czy tlenkach Yb^{3+} nawet gdy podawana czystość wynosi 99.995%. Ich obecność może wpływać w znaczący sposób na procesy przekazywania energii. Obecność jonów Er^{3+} i Tm^{3+} jest też łatwa do wykrycia w pomiarze emisji kooperatywnej dla związków aktywowanych wyłącznie jodem Yb^{3+} .
- W części teoretycznej Doktorantka często posługuje się skrótem RE, który moim zdaniem powinien być doprecyzowany do RE^{3+} , bowiem w swojej pracy używa tylko jonów ziem rzadkich na III stopniu utlenienia. Jest to o tyle istotne, że jon Yb używany w badaniach może także występować na II stopniu utlenienia. Także w części teoretycznej opisującej jony lantanowców występujących na II stopniu utlenienia, oprócz jonów Eu^{2+} , Sm^{2+} powinien się znaleźć także Yb^{2+} .
- Wśród wymienionych metod badawczych Doktorantka wymienia metodę Scherrera jako tą, której można użyć do wyznaczenia wielkości krystalitów. Chciałam też zapytać, czy w przypadku Pani materiałów ta metoda była przydatna oraz która z zastosowanych metod wyznaczania rozmiarów nanomateriałów według Pani jest najlepsza i obarczona najmniejszym błędem.

Oceniając cały dorobek naukowy Pani mgr Natalii JURGI z ogromną przyjemnością stwierdzam, że jest on bardzo bogaty tak ilościowo i jakościowo, obejmuje łącznie 7 oryginalnych prac ogłoszonych w prestiżowych, specjalistycznych czasopismach naukowych o wysokim współczynniku wpływu (IF), które są często cytowane. Sumaryczny IF dla 7 publikacji wynosi 48 (co daje średni IF = 6.85) z liczbą cytowań 36, w tym bez autocytowań 30, przy czym należy zaznaczyć, że są to bardzo dobre prace opublikowane w przeciągu ostatnich 4 lat, z czego 4 w roku 2023 i liczba ich cytowań na pewno szybko wzrośnie. Indeks Hirsza Doktorantki wynosi 4 zarówno wg. bazy Web of Science (1.12.2023) jak i Scopus (1.12.2023).

Doktorantka jest bardzo aktywna jeżeli chodzi o uczestnictwo w wydarzeniach naukowych. W swoim naukowym CV wykazuje listę składającą z aż 20 komunikatów naukowych, które



prezentowane były na 10 konferencjach o zasięgu międzynarodowym w formie prezentacji ustnych (4) oraz w formie plakatów (6) i na 10 konferencjach o zasięgu krajowym w formie prezentacji ustnych (8) oraz w formie plakatów (2). Pragnę podkreślić, że Pani mgr JURGA była wielokrotnie nagrodzana za prezentacje zarówno podczas konferencji międzynarodowych jak np. nagrodą The Marelene De Luca Award za najlepszą prezentację ustną na konferencji w Gijon w Hiszpanii czy nagrodą za najlepszy poster na konferencji w Brnie w Republice Czeskiej. Wśród nagród Doktorantki są także te za najlepsze wystąpienia ustne i plakatowe otrzymane na sympozjach krajowych. Bez wątpienia Pani mgr JURGA potrafi bardzo ładnie prezentować i promować uzyskane przez siebie wyniki badań, co jest ogromną zaletą. Jej osiągnięcia naukowe były także kilkakrotnie nagradzane stypendiami dla najlepszych doktorantów m.in. JM Rektora Uniwersytetu (w 2022 i 2021) czy projakościowym (w 2020 i 2022). Na uwagę zasługuje także fakt, że już jako studentka Pani JURGA wyróżniała się wyjątkową aktywnością naukową prezentując wyniki na licznych sympozjach krajowych i otrzymując przez prawie cały okres studiów stypendium dla najlepszych studentów JM Rektora Uniwersytetu.

Dodatkowo, osiągnięcia naukowe Dyplomantki wzbogacają liczne staże naukowe takie jak: -4 staże na Uniwersytecie Masaryka w Brnie pod opieką Prof. Hansa-Heinera Gorrissa i Prof. Zdenka Farka (miesięczny w sierpniu 2023, dwutygodniowy marcu 2023, sześciomiesięczny czerwiec-grudzień 2021 oraz dwumiesięczny w maju 2017 pod opieką Prof. Přemysla Lubala)

-10 dniowy staż na Uniwersytecie Paris Saclay w Orsay we Francji pod opieką dr Eriki Porcel -trzymiesięczny staż na Uniwersytecie w Aveiro w Portugalii pod opieką Prof. Isabel Lopes oraz w lipcu 2019 udział w Summer School on Science Management for Scientists and Engineers w Genui we Włoszech.

W czerwcu tego roku miałam przyjemność spotkać się osobiście z Panią Natalią i wspólnie uczestniczyć w międzynarodowej konferencji IS-OM'9, na której prezentowała swoje badania w postaci prezentacji ustnej. Miałam także okazję porozmawiać kilkakrotnie z Doktorantką i mogę z całym przekonaniem stwierdzić, że jest Ona ogromnie zaangażowana w badania, które wykonuje, opowiada o nich z entuzjazmem i posiada ogromną wiedzę na temat aktualnych trendów badań w swojej dziedzinie. W mojej ocenie świetnie zaprezentowała wyniki swojej pracy, była bardzo chętna do dyskusji wykazując dojrzałość naukową.

Pani mgr Natalia JURGA w latach 2018-2023 była wykonawcą w trzech projektach NCN (OPUS 23, SONATA BIS 6, SONATA 12). Jednak ogromnie ważny jest fakt, że Doktorantka samodzielnie wykazała także aktywność w pozyskiwaniu środków finansowych na prowadzone badania. Swoje pomysły badawcze realizuje obecnie w kierowanym przez siebie projekcie finansowanym przez NCN PRELUDIUM 21 pt. „*Sensitive detection and visualization of cancer biomarkers using upconversion nanoparticles excited above 1000 nm*”. Ponadto jest także stypendystką w ramach Funduszy Europejskich „HighChem- interdyscyplinarne i międzynarodowe studia doktoranckie z elementami współpracy międzysektorowej”.

Podsumowując, po szczegółowej analizie przedstawionej pracy doktorskiej Pani mgr Natalii JURGI stwierdzam, że w świetle Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742 z późn. zmianami), który brzmi „Rozprawa doktorska, przygotowana pod opieką promotora, powinna stanowić oryginalne rozwiązanie problemu naukowego lub artystycznego oraz wykazywać ogólną



ZAKŁAD CHEMII ANALITYCZNEJ

ul. F. Joliot-Curie 14
50-383 Wrocław

tel. +48 71 375 73 73

www.chem.uni.wroc.pl

wiedzę teoretyczną kandydata w danej dyscyplinie naukowej lub artystycznej, a także umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej” pragnę stwierdzić, że praca doktorska Pani mgr mgr Natalii JURGI pt. **„Surface modification and functionalization of upconverting nanoparticles and their biological studies”** spełnia wymogi ustawowe i może być przedstawiona do publicznej obrony.

Biorąc pod uwagę bardzo szeroki zakres wykonanych badań, trudność tematu, ogromne ważne znaczenie aplikacyjne otrzymanych rezultatów oraz imponujący dorobek naukowy Doktorantki wnoszę do Szanownej Rady Naukowej Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o wyróżnienie recenzowanej przeze mnie rozprawy.

Z wyrazami szacunku,