



Dr hab. Tomasz Martyński, prof. nadzw.  
e-mail: [Tomasz.Martynski@put.poznan.pl](mailto:Tomasz.Martynski@put.poznan.pl)  
tel.: 61 6653172

Poznań, 27 stycznia 2015 r.

Dziekanat Wydziału Mat., Fiz. i Inf. UG

Pismo wpłynęło dnia 04 LUT. 2015

### Recenzja

pracy doktorskiej mgr Dawida Jankowskiego pod tytułem „**Badanie własności fotofizycznych wzmocnionej emisji fluoroforów sprzężonej z plazmonami powierzchniowymi metali w układach jedno- i dwuskładnikowych**”, wykonanej pod kierunkiem Pana prof. dr. hab. Piotra Bojarskiego realizowanej w Instytucie Fizyki Doświadczalnej Uniwersytetu Gdańskiego.

Pomiary natężenia światła emitowanego przez atomy i molekuly są jedną z najczulszych metod badawczych. Pozwalają określić rodzaj emitera, jego stan i wpływ mikrootoczenia. W wielu przypadkach, a najczęściej w przypadku układów biologicznych, natężenie emitowanego światła jest niezwykle słabe, co nastrocza wiele problemów z dokładną rejestracją i analizą widm. Wynika to z małej wydajności kwantowej emisji oraz/lub bardzo małymi stężeniami badanych molekuł. Rozwój zaawansowanych technik pomiarowych umożliwia dzisiaj śledzenie pojedynczej fluoryzującej cząsteczki. Jedną z metod poprawiających warunki pomiarów jest wzmocnienie emisji poprzez oddziaływania powierzchniowe. Podobnie jak w technice SERS – powierzchniowo wzmocnionego rozproszenia ramanowskiego, tak i w zjawisku fluorescencji zaobserwowano efekt wzmocnionej powierzchniowo fluorescencji (SEF). SERS ma już solidne podstawy teoretyczne i wielorakie zastosowanie w sondach z powodu sięgającego wielu rzędów wzmocnienia. Powierzchniowe wzmocnienie fluorescencji nie jest tak duże a podstawy teoretyczne i zrozumienie zjawiska nie jest ciągle dostatecznie głębokie. Jedną z metod zwiększenia rejestrowanych fotonów emisji jest stworzenie warunków do emisji fotonów w wąskim kącie czyli zebranie emitowanych fotonów w wąskim kącie bryłowym.

Przedłożona mi do recenzji praca doktorska jest w nurcie badań doświadczalnych,

dotyczących emisji światła sprzężonej z plazmonami powierzchniowymi (SPCE) fluoryzujących molekuł osadzonych na ultra-cienkiej warstwie metalicznej. Badania te stanowią duży wkład do poznania podstawowych mechanizmów odpowiedzialnych z wzmocnioną i kierunkową emisję. Dogłębne poznanie tego zjawiska doprowadzi do licznych zastosowań w szerokiej gamie sensorów optycznych, stosowanych w biochemii i ochronie środowiska naturalnego.

Rozprawa doktorska mgr. Dawida Jankowskiego jest bardzo obszerna, zawiera 188 numerowanych stron, składa się z czterech rozdziałów, spisu literatury zawierającego 272 pozycji, krótkiego spisu stosowanych skrótów i dwóch dodatków. Dane eksperymentalne zaprezentowane są na 112 najczęściej złożonych rysunkach (plus 7 w dodatku A i B) i zgromadzone w 5 tabelach. Rozprawa jest skomponowana poprawnie i ma przejrzystą strukturę pozwalającą czytelnikowi na analizę bogatego materiału.

Cel pracy, jaki sobie postawił mgr Jankowski, to określenia optymalnych warunków występowania wzmocnionej emisji światła sprzężonej z plazmonami powierzchniowymi ultra-cienkich warstw zawierających standardowe barwniki fluorescencyjne. Z tego powodu zbudował stanowisko do badań kierunkowej emisji światła i stworzył oprogramowanie precyzyjnie sterujące pomiarami natężenia emisji w zależności od kąta wzbudzenia i obserwacji dla wzbudzeń światłem ciągłymi i impulsowym.

W rozdziale drugim Doktorant przedstawia podstawy teoretyczne emisji sprzężonej z plazmonami powierzchniowymi w cienkich warstwach metalowych i naświetla obecny stan wiedzy. Dzięki temu łatwo można się zorientować jak duży jest wkład Doktoranta w pogłębienie znajomości tego zjawiska i jakie znaczenie ma konstrukcja unikatowej aparatury dla precyzyjnych pomiarów. Całość zagadnień wstępnych zawarta została na 16 stronach i wsparta dużym wykazem literatury. Następne 120 stron pracy to prezentacja wyników pomiarów. Rozdział trzeci rozprawy zatytułowany „Część doświadczalna” rozpoczyna się opisem unikatowego stanowiska pomiarowego do badania zjawiska rezonansu plazmonowego, kąтового rozkładu promieniowania, kierunkowej emisji i promienistej depopulacji stanów wzbudzonych metodą skorelowanego w czasie zliczania fotonów. Pomiary emisji sprzężonej z plazmonami mogą być wykonywane w konfiguracji Kretschmanna (KR) i odwrotnej konfiguracji Kretschmanna (RK), a światło może być zbierane przed (Free-Space Emission – FSE) i za pryzmatem sferycznym. Konstrukcja aparatury pomiarowej, a zwłaszcza tak skomplikowanej, wymagającej ogromnej precyzji i wytworzenia oprogramowania musi być zawsze wysoko oceniana ponieważ umożliwia wykonanie wcześniej niewykonalnych pomiarów, tym samym

zapewniając ich unikatowość. Wydaje się, że ta aparatura może zostać opisana w specjalistycznym czasopiśmie typu Review of Scientific Instruments.

Do swoich badań Doktorant wybrał trzy barwniki o dużej wydajności kwantowej fluorescencji w rozpuszczalnikach organicznych. Barwniki posiadają pasma absorpcji i fluorescencji w różnych zakresach widma światła widzialnego. Dobór ich był również podyktowany możliwością uzyskania układów donor-akceptor w celu badania wpływu przekazywania energii między barwnikami w ultra-cienkich warstwach w obecności plazmonów powierzchniowych. Warstwy o nanometrowej grubości wytwarzane były metodą rozwirowania (spin coating) roztworu barwnika w alkoholu poliwinylowym (PVA) na podłożach ze szkła BK7 i na 50 nm warstwach srebra lub złota naparowanego termicznie na podłoża szklane. W ten sposób wytworzone zostały próbki o różnej grubości warstwy PVA zawierającej barwnik z możliwością doboru stężenia barwnika. Pisząc o gradiencie grubości warstw, Doktorant podaje różnice grubości bez podania odległości na jakiej te zmiany występują. Warstwy nanoszone na podłoża BK7 stanowiły odnośnik do badań układów ze sprzężeniem plazmonowym. Na uwagę zasługuje dokładne scharakteryzowanie stosowanych warstw PVA z zastosowaniem wielu komplementarnych metod. Do charakteryzacji optycznych warstw stosowano metody spektroskopii optycznej, rezonansu plazmonowego (SPR), elipsometrii i mikroskopii próbnikowej (AFM). Dzięki tym pomiarom Doktorant zgromadził dane na temat właściwości optycznych warstw, tekstury i grubości. Wszystkie pomiary cechowała bardzo duża dokładność, choć Doktorant nie wyjaśnia jak tą dokładność określał. Wydaje się, że pomiary elipsometryczne nie wniosły istotnych informacji o właściwościach badanych układów. Pomiary grubości warstw uzyskane bezpośrednio za pomocą AFM z profilu wysokościowego tekstur warstw z zarysowaniami uważam za najdokładniejsze. Pozostałe metody optyczne choć obarczone małym błędem wymagają doboru wielu parametrów i dopasowywania pomiarów do modelu teoretycznego. Dla wszystkich trzech barwników umieszczonych w warstwach PVP wykonano pomiary kalibrujące aparaturę pomiarową poprzez pomiary reflektanci powierzchniowego rezonansu plazmonowego SPR w funkcji kąta padania światła dla kilku długości fali i porównanie z obliczonymi wartościami korzystając z programu TFCalc. Na tej podstawie była określana grubość warstw polimeru, jak pisze Doktorant, z dużą dokładnością ( $\pm 2$  nm), choć i tu nie wiadomo jak tą dokładność oszacował. Wiadomo, że warstwy alkoholu poliwinylowego są higroskopijne, w związku z tym nasuwa się pytanie czy Doktorant określił zmiany grubości warstw, które były przechowywane w atmosferze o różnej wilgotności? Na ile zmiana

wilgotności wpływa na przesunięcie minimum SPR i kątów kierunkowej emisji SPCE?

Następnie mgr Jankowski rozpoczął badania kierunkowej emisji światła wybranych trzech barwników rozpuszczonych w warstwach PVA rozwiroanych na podłożach metalicznych. Zjawisko to jest na tyle silne, że można obserwować intensywne pierścienie na papierowym ekranie umieszczonym za pryzmatem sferycznym. Spektakularne są zamieszczone zdjęcia pierścieni kierunkowej emisji SPCE. Doktorant precyzyjnie dobiera warunki eksperymentalne, tak by nie następowała degradacja barwnika, badając między innymi wpływ mocy lasera wzbudzającego na fotobłaknięcie.

W następnej części rozdziału trzeciego Doktorant kolejno opisuje wyniki dla trzech stosowanych barwników w warstwach o różnej grubości i różnym stężeniu barwnika w funkcji kąta wzbudzania i obserwacji w obu konfiguracjach RK i KR. Wyniki pomiarów prezentowane są na bardzo licznych wykresach, a dane liczbowe pojawiają w tekście. Zamieszczanie części rysunków nie wydaje się konieczne. Dla prezentacji rezultatów należało wykonać zestawienia w tabelach. Taka prezentacja wyników umożliwia łatwiejsze podążanie za trybem argumentacji Autora oraz pozwala czytelnikowi znajdować dodatkowe prawidłowości i własną ocenę materiału eksperymentalnego.

Badania spektroskopowe kierunkowej emisji sprzężonej plazmonowo Doktorant przeprowadził bardzo systematycznie dla wszystkich trzech barwników dla szerokiej gamy parametrów eksperymentalnych, w tym dla 50 nm warstw srebra i złota. Równocześnie mierzył refleksyjność próbek dla zjawiska SPR i wykonywał dopasowania komputerowe. Wykazał, że grubość warstwy PVA zawierającej barwnik ma decydujące znaczenie dla badanego efektu. Wraz ze zmianą grubości następuje zmiana kąta oraz polaryzacji emitowanego światła. Doktorant nie podaje jaka była polaryzacja światła laserowego wzbudzającego emisję (np. na rys. 3.4.2.1, 3.4.2.2, brak również oznaczenia konfiguracji KR lub RK) a jedynie podaje polaryzację światła emitowanego pod danym kątem. Sprzężenie plazmonów powierzchniowych w warstwach złota z emisją barwnika jest znacznie słabsze niż dla warstw srebra. Porównując zarejestrowane widma emisji barwników w warstwach PVA naniesionych na podłoża metalowe i bezpośrednio na płytkach szklanych BK7 Doktorant wykazał wygaszającą rolę nanometrowej warstwy. Utrudnieniem w śledzeniu wyników jest brak pełnych parametrów eksperymentalnych, np. na rys. 3.4.3.1 i 3.4.3.8 nie podano pod jakim kątem rejestrowane były widma emisji rodaminy.

Kolejnym ważnym obszarem badań układów plazmonicznych były pomiary krzywych zaniku

emisji światła. Doktorant zestawiał skomplikowany układ optyczny składający się z impulsowych laserów i głowicy detekcyjnej firmy PicoQuant. Dla śledzenia zmian czasów życia stanów wzbudzonych barwników w warstwach PVA w funkcji grubości warstw i stężenia barwnika wykonano dekonwolucje zarejestrowanych profili zaniku metodą dwuwykładniczą. Doktorant wykonał bardzo dużą liczbę pomiarów i obliczeń dla konfiguracji KR i RK oraz FSE i porównywał z wynikami uzyskanymi dla warstw PVA naniesionymi na płytki ze szkła BK7. Badania zostały poprawnie zaplanowane i w pełni zrealizowane. Doktorant wykazał, że dla najcieńszych warstw wyznaczone czasy życia emisji są najkrótsze, co tłumaczy bezpromienistym transferem energii do warstwy metalu. W rozprawie zbyt rzadko jest prezentowanie na wykresach licznych profili zaniku emisji bez podawania w podpisach obliczonych czasów życia. Zaletą jest sporządzenie tabel i diagramów (np. rys. 3.4.4.18) pozwalających na znajdowanie prawidłowości w dużej liczbie danych. W tekście brak jest definicji (sposobu obliczania) średniego czasu życia  $\tau_{max}$ . Tekst na stronie 93 nie jest wystarczający. W tabeli 3.4.4.1 są zebrane czasy  $\tau_1$ ,  $\tau_2$  i adekwatne amplitudy uzyskane z dwueksponecjentalnej dekonwolucji, ale nie wiadomo jakie znaczenie ma  $\tau_{sr}$ ? Podobnie, nie jest jasne jak Doktorant wyznaczał  $\tau_{max}$  do obliczania względnych czasów zaniku emisji.

Opis najbardziej złożonego procesu w rozprawie przedstawia ostatni rozdział. Badania dotyczą przekazywania energii w układach dwóch wcześniej stosowanych barwników jako donora i akceptora umieszczonych w cienkich warstwach PVA i naniesionych na 50 nanometrowe warstwy srebra lub złota. Proces migracji energii ma ogromne znaczenie i konsekwencje w przyrodzie. Badanie migracji wymaga kontroli wielu parametrów na poziomie molekularnym. Jak zauważa Doktorant, nie ma do tej pory pełnego opisu tego zjawiska dla układów oddziałujących z plazmonami. W eksperymentach związanych z kierunkową emisją SPCE przekazywanie energii między donorem a akceptorem ujawnia się bardzo wyraźnie, można powiedzieć naocznie, poprzez różnice w barwie i intensywności pierścieni obserwowanych na ekranie. Dobrze dobrany układ barwników pozwolił mgr. Jankowskiemu na zarejestrowanie istotnych różnic w migracji energii w badanych układach. Pozwoliło to na wykazanie konkurencyjności procesu przekazywania energii między donorem i akceptorem a przekazywaniem energii bezpośrednio do metalu. Proces ten silnie zależy od grubości warstwy zawierającej barwniki ponieważ ogranicza migrację energii z trzech wymiarów (3D) do dwóch (2D). Wydaje się zasadne pytanie czy w obecności plazmonów powierzchniowych maleje sprawność przekazywania energii między donorem i akceptorem, czy jest taka sama a tylko

część energii donora i akceptora przechodzi do warstwy metalu.

Bardzo pomocny dla czytelnika jest rozdział ostatni – Podsumowanie zawierający syntetyczny zbiór dokonań i wniosków Doktoranta. Wnioski z bardzo bogatego materiału doświadczalnego jest trudno uogólnić tak by uzyskać pełen wgląd w skomplikowane procesy oddziaływania plazmonów z fluoroforami, kierunkowej emisji i migracji energii. Rozprawa doktorska mgr. Dawida Jankowskiego stanowi ważny przyczynek w eksplorowaniu tego złożonego zagadnienia.

Rozprawę kończą dwa dodatki opisujące wytworzone oprogramowanie aparatury pomiarowej w środowisku LabVIEW (dodatek A) i opis procedury cechowania układu optycznego (dodatek B).

Praca zawierająca tak bogaty materiał doświadczalny nie jest niestety starannie zredagowana i zawiera błędy edytorskie co utrudnia percepcję. W kilku miejscach Autor nie ustrzegła się określeń potocznych lub żargonowych, buduje zdania wieloznaczne. Dla recenzenta nie brzmią dobrze określenia „podkłady metaliczne”, „widmo ... w kącie”, „BK7 na kontakt optyczny ...”, „unormowane do pola” itp., a czasami w tekście zdarzają się poprawne sformułowania np. „kątowy rozkład natężenia emisji” zamiast „rozkład emisji w kącie”. Zdecydowanie więcej danych powinno być zamieszczonych w tabelach kosztem rysunków przedstawiających kolejne widma, wtedy rozprawa zawierałaby się na 100 a nie 190 stronach.

Powyższe uwagi nie umniejszają wartości merytorycznej przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej. Ogromną zaletą pracy jest zestawiona, oprogramowana i precyzyjnie przetestowana aparatura, na której Doktorant wykonał bardzo dużo pomiarów zgodnie z dobrze przemyślanym planem. Mgr Dawid Jankowski wykazał, że ma zdolności wytrawnego eksperymentatora. Wyniki badań związanych z tematyką rozprawy zostały opublikowane w trzech publikacjach w renomowanych czasopismach o wysokim współczynniku wpływu IF znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) (np. ChemPhysChem – IF=3.236, J.Phys. Chem. Lett. – IF=6,9) oraz były z zapewne licznie prezentowane na konferencjach krajowych i zagranicznych (w rozprawie brak zestawienia publikacji i wykazu konferencji Doktoranta).

W podsumowaniu stwierdzam, że praca doktorska mgr. Dawida Jankowskiego stanowi bezspornie duże osiągnięcie Doktoranta, która znacznie poszerza wiedzę o wpływie plazmonów powierzchniowych na emisję fluoroforów. W moim przekonaniu, przedłożona mi do oceny praca spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim w myśl artykułu 13 ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14

marca 2013 roku i wnoszę o dopuszczenie Pana mgr. Dawida Jankowskiego do dalszych etapów  
przewodu doktorskiego.

*Tamara Jankowska*