



Prof. dr hab. inż. Magdalena Parlińska-Wojtan

Zakład Materiałów Funkcjonalnych

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Kingi Hęćlik

„Tworzenie i agregacja nanocząstek metali szlachetnych w ekstraktach torfu. Biosynteza, izolacja, identyfikacja i badania cytotoksyczności”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Kingi Hęćlik pt. „Tworzenie i agregacja nanocząstek metali szlachetnych w ekstraktach torfu. Biosynteza, izolacja, identyfikacja i badania cytotoksyczności”, została przygotowana w Kolegium Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Rzeszowskiego pod opieką Promotorów Prof. dr hab. Anny Lankoff oraz dr hab. inż. Dariusza Pogockiego, Prof. UR.

Kandydatka podjęła ciekawą i aktualną tematykę badawczą, jaką jest tworzenie się w środowisku naturalnym, a dokładnie w pokładach torfu nanocząstek metali i ich wpływ na środowisko, a w szczególności na organizmy żywe. Niestety, hipoteza badawcza nie jest nigdzie zdefiniowana w rozprawie – w streszczeniu jest jedynie sformułowane zdanie: *„W dalszej części pracy podjęto się weryfikacji hipotezy, że otrzymane nanocząstki mogą mieć toksyczny wpływ na organizmy wyższe za względu na swoje niewielkie rozmiary, które mogą umożliwić im pokonanie bariery komórkowej i zaburzenie istotnych procesów życiowych, zachodzących we wnętrzu komórki.”*

Rozprawa stanowi jednolite opracowanie naukowe o bardzo obszernym materiale doświadczalnym dotyczącym cytotoksyczności na organizmach modelowych. Wstęp jest przydługi i rozwlekły, szczególnie część dotycząca nanotechnologii – jest to zaskakujące, gdyż rozprawa doktorska jest z dziedziny biologii. Następnie, kandydatka poświęciła pół strony na określenie celu badań i nie sformułowała w tym miejscu tezy rozprawy. Opis technik badawczych pozostawia wiele do życzenia, w szczególności techniki UV-Vis i SEM. Dwa powyższe rozdziały stanowią ok 1/3 rozprawy, co w mojej ocenie jest dość sporo. Jako kolejny, jest rozdział zawierający wyniki badań prowadzonych przez Kandydatkę. Zajmują one ok. 100 stron, z czego 2/3 to analizy statystyczne wyników badań biologicznych. Wyniki dotyczące modelowania oraz tzw. charakterystyki fizyko-chemicznej zostały opisane raczej mało wyczerpująco, w przeciwieństwie to wyników analiz statystycznych. Dyskusja wyników jest bardzo płytka, przypomina sprawozdanie z badań str. 170: *„W przypadku nanocząstek miedzi zastosowanie metody M1 skutkowało otrzymaniem nanocząstek o największej średnicy hydrodynamicznej, a zastosowanie metody M2, skutkowało otrzymaniem nanocząstek o najmniejszej średnicy hydrodynamicznej. ...”*. Jest to raczej opis wyników niż ich dyskusja. Podsumowanie jest krótkie i nie zawiera konkretnych wniosków: *„... metanaupilusy okazały*



INSTYTUT FIZYKI JĄDROWEJ
im. Henryka Niewodniczańskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

się być bardzo wrażliwymi na obecność analizowanych nanocząstek metali.” Sformułowanie „bardzo wrażliwy na obecność nanocząstek” jest nieprecyzyjne i mało naukowe, tym bardziej, że w pracy były konkretne wartości otrzymane z doświadczeń. Z takich sformułowań składają się wnioski pracy.

Praca zawiera niezliczone błędy merytoryczne i fundamentalne. Pierwszy, rzucający się w oczy błąd jest już w tytule: „Tworzenie i agregacja nanocząstek metali szlachetnych w ekstraktach torfu...”, w pracy badane były nanocząstki srebra, miedzi i cyrkonu. Cyrkon na pewno nie należy do metali szlachetnych, natomiast miedź jest półszlachetna. Ponadto praca jest z dziedziny biologii, natomiast tytuł sugeruje coś zupełnie innego, w przeciwieństwie do treści pracy.

Fundamentalnym błędem całej rozprawy jest brak dowodów eksperymentalnych na otrzymanie nanocząstek. Podstawowym założeniem całej pracy i wszystkich badań biologicznych jest otrzymanie nanocząstek metali: Ag, Cu i Zr w wyniku syntezy. Celem pracy jest opracowanie metod syntezy, a później określenie mechanizmu powstawania nanocząstek w oparciu o obliczenia kwantowo-mechanistyczne i szczegółowa analiza właściwości fizykochemicznych otrzymanych nanocząstek. W mojej ocenie, żadne przedstawione wyniki badań, ani użyte techniki pomiarowe nie wykazały jednoznacznie, że w wyniku syntez powstały metaliczne nanocząstki srebra, miedzi lub cyrkonu. Doktorantka nie wie i nawet nie może spekulować z otrzymanych wyników, jaki nanocząstki mają kształt, rozmiar czy skład, czy są metaliczne, czy może tlenkowe. Jakieś spekulacje pojawiają się na str. 58, 168 – Kandydatka twierdzi, że na podstawie koloru otrzymanych roztworów można wnioskować o otrzymanym kształcie nanocząstek. W literaturze owszem, pojawiają się takie stwierdzenia, jednakże wszystkie prace cytowane przez Doktorantkę zawierają zdjęcia z transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM), który jako jedyny umożliwia jednoznaczną identyfikację morfologii nanocząstek. Wtedy kolor roztworu jest informacją dodatkową.

- W rozprawie nigdzie nie udowodniono naukowo, że w wyniku syntez otrzymano nanocząstki. Brakuje TEM, a SEM pokazuje wysuszone, rozdrobnione próbki. Opis tych zdjęć w wynikach pozostawia niedosyt, nawet skala na zdjęciach jest praktycznie niewidoczna. Umieszczenie w podpisach zdjęć SEM powiększeń jest zupełnie nieinformacyjne, gdyż na podstawie powiększenia nie można w żaden sposób wyznaczyć rozmiaru jakichkolwiek obiektów na zdjęciach. Nieco dokładniejszy opis zdjęć SEM, a może TEM, bo Autorka wymiennie używa tych skrótów, znajduje się na stronie 171 w dyskusji. Niestety nie wiem, na których zdjęciach Autorka obserwuje „...kule z tendencją do tworzenia aglomeratów o wielkości kilkuset nanometrów. Podobne skupiska nanocząstek zidentyfikowano na zdjęciach mikroskopowych dotyczących nanocząstek Cu i Zr. Otrzymane nanocząstki miedzi również tworzyły skupiska o znacznych rozmiarach.” Jest to zresztą w sprzeczności z wynikami NTA, gdyż z badań techniką NTA wynika, że największy rozmiar nanocząstek Ag wynosił ok. 50 nm. W następnym zdaniu Autorka pisze: „Z obrazów TEM wynika, że przynajmniej część NPs Cu posiada kształt kulisty o rozmiarach ok. 5 nm”. Po pierwsze nigdzie w pracy



Doktorantka nie pokazała wyników TEM, po drugie, jeśli jest to tzw. literówka, to TEM i SEM są dwiema zupełnie różnymi technikami, a poza tym SEM nie umożliwia odróżnienia nanocząstek zatopionych w aglomeratach, jak to jest widoczne za zdjęciach, a już na pewno nie nanocząstek o rozmiarze 5 nm. A formalnie pisze się Cu NPs i Ag NPs, a nie odwrotnie. Ponadto Doktorantka pisze dalej na str. 171: „w rozdziałach 4.5 i 4.6 przedstawiono zdjęcia ... NPs Cu. Ich kształty zbliżone są do igieł lub prętów od wielkości od kilkudziesięciu do kilkuset nm. Mikrofotografie przedstawiające NPsZn ukazują ich warstwową budowę”. Tylko na podstawie zdjęć topograficznych właściwie nie jest możliwe zidentyfikowanie czy struktury określone jako igły lub pręty rzeczywiście są z metalu. Nie wiem, które zdjęcia dokumentują warstwową strukturę Zn NPs, ale na pewno nie te na Rys. 46. I również na tych zdjęciach nie widzę żadnych „błyszczących płytek”, jak Autorka pisze na dole str. 171. Elementy metalowe w osnowie z organiki nie będą świecić na zdjęciach SEM. Elementy o ostrych krawędziach czasem mogą mieć jaśniejszy kontrast. Ponadto, nie rozumiem idei, która przyświecała Autorce, aby umieścić mapy EDS rozkładu takich pierwiastków jak tlen czy węgiel, które są zanieczyszczeniami, natomiast nie ma map rozkładu Ag, Cu i Zn, które byłyby tutaj kluczowe. Podsumowując, dla mnie cała analiza SEM w najmniejszym stopniu nie dokumentuje otrzymania nanocząstek metalicznych w wyniku syntezy.

- Spektra EDS na rys. 41, 44 i 47 – sygnał od metali nie udowadnia obecności nanocząstek – będzie zawsze widoczny, gdyż w roztworze są sole metali – ale nie jest to żaden dowód na syntezę nanocząstek.
- Przedstawienie wyników UV-Vis w formie tabeli jest nie do przyjęcia. Kolejny fundamentalny błąd jest w tytule paragrafu 4.3: od kiedy UV-Vis daje jako wynik badania morfologię? Wynikiem UV-Vis są widma. Nie dość, że ich nie ma w pracy, to zakresy maksimum pików SPR dla Ag podanych w tabeli są całkowicie błędne, gdyż srebro ma pik SPR w okolicy 400 nm [J of Pharmaceutical Sciences 12(1) 29 (2013)].
- Obliczenia przedstawione w rozprawie – dotyczą połączenia jonów metali podczas reakcji syntezy z kwasami. Jak Autorka pisze na str. 104: „... liczba ewentualnych miejsc, które oddziałują z jonem metalu wynosi 2 (Rys. 51). Ułatwia to proces tworzenia prawdopodobnych struktur nanocząstek – opierając się bowiem tylko i wyłącznie na rysunkach (...) można sądzić, że hipotetycznych miejsc, do których może przyłączyć się jon metalu jest bardzo dużo. Zaznaczone na rysunkach (...) miejsca reaktywne pozwalają na zredukowanie liczby możliwych postaci cząsteczek kwasów koordynujących jon metalu.” Nanocząstka metalu, z definicji, składa się wyłącznie z atomów metalu (czyli zredukowanych jonów, które były dostarczone do roztworu w postaci soli), które są ułożone w sposób uporządkowany (nanocząstka o strukturze krystalicznej) lub nieuporządkowany (nanocząstka o strukturze amorficznej). Tak więc jeśli dobrze rozumiem powyższe zdanie, to Autorka uważa, że kwasy humusowe, zawierające jon danego metalu w swojej strukturze, aglomerują tworząc nanocząstki. Niestety, aglomerat kwasów z jonem metalu w strukturze nie jest nanocząstką, tylko



cząstką składającą się z kwasów z jonem metalu. Nie wiem również co Autorka miała na myśli używając sformułowania, że „cząsteczki kwasów koordynują jon metalu”. W pracy poszukiwany jest reduktor, który zredukuje jon metalu z soli do atomów, które następnie połączą się w nanocząstki. Ponadto, mechanizm tworzenia nanocząstek nigdzie nie został wyjaśniony, również w dyskusji.

- Str. 169/170 nie bardzo rozumiem, dlaczego Autorka uważa, że rozpuszczalność soli metali w wodzie jest jedynym parametrem limitującym stężenie otrzymanych nanocząstek, a co np. z reduktorem. Oczywiście ideą syntez przeprowadzonych w ramach badań była zielona syntez przy użyciu kwasów fulwowych czy humusowych. Ale może np. do redukcji miedzi czy cyrkonu potrzebny jest mocniejszy reduktor? Są sole, których nie da się zredukować pewnymi reduktorami, tylko aby otrzymać nanocząstki trzeba zastosować inne reduktory.
- Str. 168 w dyskusji Autorka pisze, że „... Powstałe drobiny metaliczne były amorficzne, wytworzyły aglomeraty...” czy Kandydatka wie, co oznacza struktura amorficzna i jak wykazać eksperymentalnie, że nanocząstka ma strukturę amorficzną? Jeśli atomy w nanocząstce są ułożone w sposób nieuporządkowany to wtedy ma ona strukturę amorficzną, a jeśli w sposób uporządkowany to wtedy ma strukturę krystaliczną np. kubiczną albo heksagonalną. Można to stwierdzić wyłącznie wykonując pomiar XRD wysuszonego roztworu lub dyfrakcję elektronową w trybie TEM lub obrazując nanocząstki w rozdzielczości atomowej w TEM. W pracy Kandydatka nie używała w/w technik, więc nie wiem, na jakiej podstawie twierdzi, że nanocząstki mają strukturę amorficzną.
- Zwykle wyniki pomiarów NTA są w postaci histogramów ukazujących rozrzut wielkości nanocząstek w danym roztworze. W niniejszej pracy rozmiar nanocząstek w każdym roztworze jest przedstawiony jako słupek. Zastanawiające jest, dlaczego ani dla nanocząstek Ag, ani dla Cu NPs ani dla Zr NPs nie ma żadnego związku pomiędzy stężeniem reduktora, czyli kwasów, a rozmiarem nanocząstek. Słupki mają zupełnie losowe wartości i bardzo duży rozrzut wielkości o kilkunastu nanometrów do ponad 200 nm. Autorka nie zastanowiła się nad tym faktem, dlaczego otrzymała takie wyniki pomiarów i czy rzeczywiście mierzyła nanocząstki czy jakieś aglomeraty powstałe w wyniku procesu syntezy. Świadczy o tym również dyskusja na str. 169. Dyskusja wyników otrzymanych z pomiarów NTA rozmiarów nanocząstek sprowadza się do następujących stwierdzeń: „W przypadku nanocząstek miedzi najbardziej efektywną metodą ich otrzymania była metoda M1. Najmniej efektywną metodą ich otrzymania była metoda M3. W przypadku nanocząstek srebra najbardziej efektywną metodą ich otrzymania była metoda M1. Najmniej efektywną metodą ich otrzymania była metoda M2. W przypadku nanocząstek cyrkonu najbardziej efektywną metodą ich otrzymania była metoda M1. Najmniej efektywną metodą ich otrzymania była metoda M2.” Myślę, że na poziomie doktoratu, można przeprowadzić bardziej szczegółową analizę i napisać bardziej dogłębną dyskusję.



INSTYTUT FIZYKI JĄDROWEJ
im. Henryka Niewodniczańskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

- Żadna część wyników pracy, ani chemiczno-fizyczna ani biologiczna, nie zostały nigdzie opublikowane.

Praca zawiera również rażące podstawowe błędy, wskazujące na kompletny brak znajomości technik pomiarowych i ich zastosowania. Opisy zasad pomiarowych technik są lakoniczne i nie zawierają właściwie w ogóle zasady ich działania:

- Str. 80 tytuł podpunktu 4.3: „Analiza morfologii otrzymanych nanocząstek za pomocą spektroskopii UV-Vis” – żadna metoda spektroskopowa, w tym UV-Vis, nie umożliwia na określenie morfologii jakiegokolwiek materiału. Morfologia może być określona wyłącznie techniką pozwalającą na zobrazowanie materiału np. mikroskopią optyczną czy elektronową w zależności od rodzaju i rozmiarów materiału. Spektroskopia służy do identyfikacji chemicznej materiału. Ponadto w opisie techniki UV-Vis na str. 58 Autorka pisze o wiązaniu węgla-metal w nanocząstce. Nanocząstki składają wyłącznie z atomów metali, ewentualnie nanocząstki tlenkowe składają się z atomów metalu i atomów tlenu. Natomiast nie wiem, gdzie w nanocząstkach Ag, Cu i Zr są wiązania metalu z węglem. Poza tym nigdy się nie spotkałam ze zjawiskiem występowania różnych ładunków na jednej nanocząstce po jednej stronie dodatniego, a po drugiej ujemnego. Dzięki zjawisku powierzchniowego rezonansu, fala elektromagnetyczna wzbudza chmurę elektronową, którą jest otoczona nanocząstka i wtedy jest możliwy przepływ elektronów z innym materiałem, ale te dwa materiały muszą być różnie naładowane. Natomiast napisanie, że nanocząstka po jednej stronie jest ujemnie a na drugiej dodatnio naładowana jest po prostu błędem. Ponadto, po samym kolorze nie można określić kształtu nanocząstek w zawiesinie.
- Str. 59 opis skaningowego mikroskopu elektronowego: mikroskopem skaningowym nie da się badać struktury wewnętrznej przez dyfrakcję – zachodzi ona przy prześwietlaniu bardzo cienkiej próbki w transmisyjnym mikroskopie elektronowym. Penetracja wiązki elektronowej w SEM do wnętrza próbki zachodzi do głębokości ok. 1 μm , powodując interakcję elektronów z materiałem próbki, ale obraz generowany jest wyłącznie z powierzchni. Ponadto, być może w instrukcji obsługi, nominalnie SEM Philips 515 ma rozdzielczość 5 nm, ale w rzeczywistości oznacza to, że na obrazie można rozróżnić obiekty o nieostrych kształtach o rozmiarach ok. 5 nm. Będą to nieostre punkty, obserwowalne pod warunkiem, że np. będą się bardzo różniły kontrastem od gładkiego podłoża, na którym będą się znajdować. Nanocząstek w wysuszonym ekstrakcie lub zaglomerowanych nie będzie się dało zobrazować, co widać na zdjęciach na rys. 39-41.
- Str. 59 spektrometria EDS – skrót EDS nie został nawet rozwinięty, nie wspominając już o jakiegokolwiek zasadzie działania spektrometru analizującego promieniowanie X generowane podczas interakcji wiązki elektronowej z powierzchnią próbki. Wyniki też pozostawiają do życzenia, Doktorantka nie zadała sobie nawet trudu, żeby się zastanowić na otrzymanymi wynikami. Czy należy brać pod uwagę skład wagowy czy atomowy? Czy analiza chemiczna powierzchni próbki, która jest pokryta węglem ma sens? Poza tym, jeśli próbki składały się z nanocząstek metalicznych, to byłyby przewodzące i nie powinno było być konieczne pokrywanie ich ochronną warstwą



węgla. Węgiel też znajduje się w taśmie samoprzylepnej a także powstaje na powierzchni badanej próbki podczas interakcji z wiązką. Żaden z tych aspektów nie został nigdzie poruszony. Skąd np. w próbce zawierającej miedź znalazły się pierwiastki takie jak krzem aluminium, siarka czy wapń? Aluminium pewnie jest ze stolika. A tlen? Może nanocząstki miedzi były utlenione? A chlor w próbce ze srebrem? Przecież sól srebra była azotanem, to skąd chlor? Tutaj też Doktorantka nie zadała sobie żadnego z powyższych pytań.

- Str. 97 – opis zdjęć C i G na Rys. 40 oraz D i H przedstawiających rozmieszczenie atomów węgla i tlenu w próbkach miedzi jest kompletnym nonsensem. Po pierwsze w jakim celu naukowym jest pokazany rozkład węgla (a nie atomów, bo w SEMie nie widać atomów), który został napyłony na powierzchnię próbki? Bardziej logiczne byłoby pokazanie rozkładu miedzi. Ponadto EDS nie nadaje się do analizy ilościowej pierwiastków lekkich takich jak tlen czy azot, a w szczególności węgiel, który jest w każdej próbce, gdyż powstaje jako kontaminacja na powierzchni próbki, w wyniku jej interakcji z wiązką elektronów.
- Stężenie danego pierwiastka jest obliczane nie na podstawie stopnia zagęszczenia plamek na zdjęciach tylko z widma EDS (na których nic kompletnie nie widać ani na skalach, ani w podpisach) – a z intensywności pików, w oprogramowaniu można stosować różne modele kwantyfikacji.
- Str. 18 brak referencji na górze strony.

Punkty, które wypisałam powyżej nie są zwyczajnymi przeoczeniami czy drobnymi błędami, tylko są to fundamentalne błędy, które uniemożliwiają dopuszczenie rozprawy do obrony publicznej. Ponadto, rozprawa sprawia wrażenie bardzo powierzchownej, wyniki praktycznie nie zostały zanalizowane (UV-Vis), a ich opisy są lakoniczne (SEM, UV-Vis).

Do części biologicznej nie mam większych zastrzeżeń, tutaj teza, że nanocząstki mogą mieć toksyczny wpływ na organizmy wyższe została udowodniona, z jednym ale, że nie wiadomo, co ma toksyczny wpływ na organizmy żywe, ponieważ w pracy nie udowodniono, że otrzymano metaliczne nanocząstki. W zależności od wyników spektroskopii UV-Vis, być może okaże się, że to jony metali mają toksyczny wpływ na organizmy żywe. Nie będzie to negatywny wynik rozprawy, po prostu trzeba będzie przepisać część wyników oraz dyskusję i wnioski.

Większość powyższych uwag dotyczy nanocząstek, niemniej jednak, jeśli Kandydatka swoją rozprawę zatytułowała „Tworzenie i agregacja nanocząstek metali szlachetnych w ekstraktach torfu...” to czytelnik oczekuje, że w pracy nanocząstki zostaną scharakteryzowane, a przede wszystkim zobrazowane. Niestety w pracy nie została pokazana morfologia badanych nanocząstek. Nie wiadomo, czy są sferyczne, czy mają bardziej nieregularne kształty. Metody syntezy, które opracowała Kandydatka, są nowe, zaliczają się na pewno do metod tzw. „zielonej syntezy”, i imitują warunki w prawdziwym torfowisku. Sama teza pracy, że w torfowisku w wyniku interakcji jonów metali z kwasami zawartymi w torfie jest jak najbardziej poprawna, tylko rozprawa doktorska miała posłużyć do udowodnienia jej. Niestety, Pani Hęćlik nie



INSTYTUT FIZYKI JĄDROWEJ
im. Henryka Niewodniczańskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

wykorzystała dostępnych metod badawczych jak np. UV-Vis i nie udowodniła obecności nanocząstek wykorzystanych metali w roztworach po syntezie.

Badania statystyczne przeżywalności różnych organizmów żywych w obecności roztworów zawierających sole metali stanowią potwierdzenie hipotezy o zmniejszaniu żywotności organizmów przez obecność nanocząstek, czy raczej jonów metali.

Co do dorobku naukowego Kandydatki, to ciężko jest mi go ocenić, ponieważ w rozprawie nie został zamieszczony ani życiorys, ani spis publikacji Pani Hęćlik. Po własnych poszukiwaniach na Scopusie, znalazłam, że Pani Hęćlik jest współautorką 4 publikacji, ale w żadnej nie jest pierwszym autorem. Szkoda, że kandydatka nie wykorzystała szansy jaką jest okres realizacji pracy doktorskiej do zdobycia umiejętności pisania publikacji. Tak więc dorobek naukowy Kandydatki oceniam raczej jako skromny.

Podsumowując, stwierdzam, że ponieważ przedstawiona praca zawiera taką ilość błędów merytorycznych i fundamentalnych, a ponadto przyjęto całkowicie błędne założenia (brak dowodów naukowych na wytworzenie nanocząstek metalicznych w wyniku syntez), nie spełnia ona ustawowych i zwyczajowych wymagań stawianych pracom doktorskim z zakresu biologii i wnioskuję o jej radykalną poprawę oraz uzupełnienie o wyniki i interpretacje opisane powyżej. Dlatego też wnioskuję o poprawę rozprawy doktorskiej, albowiem w obecnej postaci, nie może ona zostać dopuszczona do publicznej obrony.

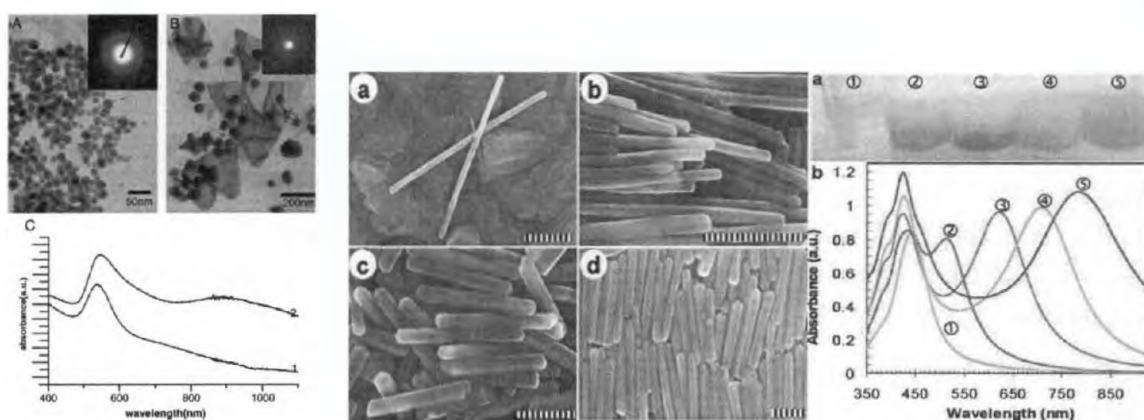
W ramach poprawy bardzo proszę przede wszystkim o usunięcie Rys. 15-17 (pokazują graficznie to samo co jest ujęte w Tabelach) i zamiast nich umieszczenie widm UV-Vis dla wszystkich próbek. Rysunek dla Ag powinien zawierać 6 widm na jednym wykresie, który będzie pokazywał cały zakres pomiarowy UV-Vis. Wtedy też będzie widać przesunięcia poszczególnych maksimów absorbancji. Ponadto identyfikacja maksimów absorbancji polega nie tylko na podaniu zakresów jak w tabeli 10, ale również znalezienia i zacytowania odnośników literaturowych potwierdzających położenie maksimów pików SPR. I tak Ag – maksimum pików SPR jest położone ok 400 nm [J of Pharmaceutical Sciences 12(1) 29 (2013)], a u Pani maksima są położone ok 300 nm (tabela 10). Najprawdopodobniej [Bioprocess Biosyst Eng. 39 (2016) 1213–1223] jest to pik pochodzący o kwasów huminowych lub fulwowych lub innej organiki. Akurat w cytowanej przykładowo pracy były to terpenoidy. Ale Rys. 4 daje pogląd, jak powinno wyglądać widmo UV-Vis dla samego ekstraktu oraz ekstraktu zawierającego Ag NPs i roztworu z Ag NPs zsyntezowanych z glukozą. Takie widmo udowadnia, że w roztworze są nanocząstki Ag. I takie widma powinna Pani zamieścić dla każdego mierzonego roztworu opisanego w Tabeli 10.

Ponadto, jednoznacznym dowodem, że zsyntezowane roztwory zawierają nanocząstki jest obrazowanie TEM, a nie SEM, ze względu na rozdzielczość tego ostatniego oraz fakt, że nanocząstek w bryle organiki, którą Pani musiała rozbijać w moździerzu przed przeprowadzeniem obserwacji po prostu nie widać. Nanocząstki należało po syntezie odplukać, odwirować i oczyścić a następnie nanieść na siateczkę TEM. Nie bardzo rozumiem, dlaczego nie skorzystała Pani z możliwości analizy TEM, który jest dostępny na Uniwersytecie Rzeszowskim, a która to technika pozwoliłaby na jednoznaczne udowodnienie istnienia nanocząstek. Ponadto, wniosłaby do doktoratu dodatkowe informacje dotyczące morfologii otrzymanych nanocząstek.

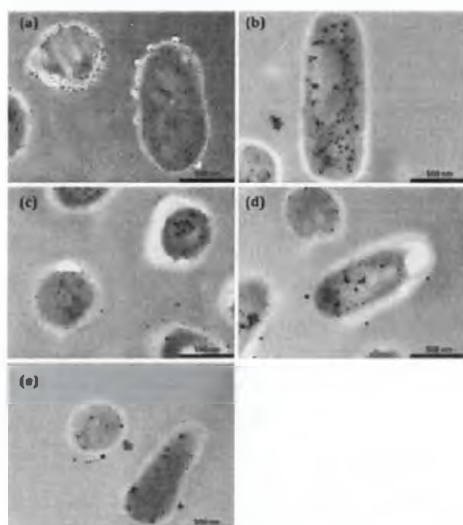


INSTYTUT FIZYKI JĄDROWEJ
im. Henryka Niewodniczańskiego
POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Jeżeli widma UV-Vis nie wykażą obecności nanocząstek w roztworach po syntezie, to jedyną możliwością poprawy tej rozprawy doktorskiej będzie zmiana tytułu oraz wszystkich wyników, ponieważ będą one dotyczyły wpływu jonów metali obecnych w torfie na organizmy żywe, a nie wpływu nanocząstek. Oczywiście uwagi wymienione powyżej dotyczące pozostałych technik badawczych, również powinny zostać ujęte w poprawie doktoratu. Poniżej zamieszczam przykładowe wyniki z dwóch publikacji, cytowanych zresztą przez Kandydatkę – obydwa zawierają zarówno zdjęcia TEM, jak i SEM, ukazujące jednoznacznie morfologię i rozmiar nanocząstek oraz widma UV-Vis. Gdyby w rozprawie znalazły się trzy takie rysunki/widma (po jednym dla każdego rodzaju nanocząstek), to nie miałabym najmniejszych wątpliwości, że Kandydatka z sukcesem zsyntezowała zieloną metodą nanocząstki Ag, Cu i Zr.



He, Materials Letters 61(18) 2007, 3984-3987 (cytowane w pracy str. 167 – wpływ pH na syntezę NPs); Nanodruty Ag Goldys, & Drozdowicz-Tomsia, (2011). Gold and Silver Nanowires for Fluorescence Enhancement. 10.5772/16330.



Sintubin Microbiol Biotechnol (2009) 84:741-749

Prof. Magdalena Parlińska-Wojtan